

溃疡性结肠炎鼠糖皮质激素受体改变的意义

Change of glucocorticoid receptor in rats with ulcerative colitis

陈雪萍¹, 陈向芳², 邹俊杰², 刘志民^{2*}

(1. 解放军第 85 医院消化内科, 上海 200052; 2. 第二军医大学长征医院内分泌科, 上海 200003)

[摘要] **目的:**探讨鼠溃疡性结肠炎时糖皮质激素(GC)和糖皮质激素受体(GR)的相应改变。**方法:**Wistar 大鼠和 C57/L6 小鼠共 30 只, 随机分成 3 组($n=8$)进行灌注实验。超速离心鼠肝、胃、结肠组织, 取上清液, 以³H 地塞米松(Dex)为配体, 测定动物肝、胃、结肠组织血浆皮质醇及肝、胃、结肠组织 GR 结合量改变。**结果:**动物实验组血浆皮质醇明显升高($P<0.05$, $P<0.01$), 氢化可的松治疗组血浆皮质醇未继续升高; 实验组肝、胃、结肠³H-Dex 特异结合位点测定明显降低, 治疗组则有所回升($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论:**溃疡性结肠炎鼠血浆皮质醇明显升高, 提示溃疡性结肠炎属应激状态。肝、胃、结肠组织³H-Dex 结合量降低, 经氢化可的松治疗后肝、胃、结肠组织³H-Dex 结合量明显回升, 提示血浆皮质醇对 GR 之作用是正相关作用, 为临床合理应用糖皮质激素治疗提供依据。

[关键词] 结肠炎, 溃疡性; 受体, 糖皮质激素; 肝; 胃; 结肠

[中图分类号] R 574.1

[文献标识码] A

[文章编号] 0258-879X(2007)07-0796-02

已知烫伤及休克大鼠糖皮质激素受体(GR)降低。糖皮质激素(GC)属肾上腺皮质激素, 在应激状态时起着重要作用, 无论在生理状态下还是病理状态下均明显升高, 而相对应的在急性应激时 GR 明显降低^[1-5]。慢性溃疡性结肠炎属慢性病理性应激范畴, 其 GC 及 GR 均有不同程度的改变。为此, 应用葡聚糖制作大鼠及小鼠溃疡性结肠炎动物模型, 观察血浆皮质醇(F)及肝、胃、结肠 GR 结合容量改变, 进一步证实 GC 及 GR 在应激状态的共性改变, 并应用甲基氢化可的松腹腔注射观察 GC 及 GR 的改变, 为临床合理应用糖皮质激素治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 氢化可的松、地塞米松、葡聚糖 T72 (Dextran T72), 均购自 Sigma 公司。Wistar 大鼠和 C57/L6 小鼠, 购于第二军医大学实验动物中心。³H 地塞米松(³H-Dex, 1.78 TBq/mmol), 购于英国放射中心。

1.2 动物饲养及分组 2 个月龄 Wistar 大鼠及 C57/L6 小鼠适应性饲养 1 周, 然后分成 3 组, 每组 8 只。对照组腹腔灌注生理盐水; 实验组腹腔灌注 Dextran T72; 治疗组给予氢化可的松 1 mg/kg。实验结束时处死动物, 取出肝、胃、结肠, 液氮速冻, 超低温冰箱储存备用。

1.3 组织制备 以大鼠肝胞质制备为例: 用 4℃生理盐水冲洗肝组织, 剪成碎片, 加入 6 倍体积匀浆缓冲液[50 nmol/L 磷酸钾, 10 nmol/L 钼酸钠, 10%甘

油(V/V), 1.5 mmol/L EDTA, 10 mmol/L 巯基乙醇], 调 pH 7.4, 匀浆, 100 000×g 超速冷冻离心 30 min, 取上清液即肝胞质测定肝胞质糖皮质激素受体。并将蛋白浓度调整为 6~12 mg/ml。大鼠胃、结肠胞质制备方法与肝胞质制备方法相同。

1.4 组织³H-Dex 特异结合测定 方法参见文献[6]。仍以大鼠肝胞质为例, 在各管中加入一定量的标记配体³H-Dex, 再分别加入不同量的非标记配体 Dex, 非特异性结合管加入相当于标记配体 500 倍浓度的非标记配体, 0~4℃放置 3 h, 加 5% 活性碳(DCC)吸附游离配体, 静置 10 min, 离心后取上清液进行液闪计数。

1.5 统计学处理 采用 q 检验、线性相关分析和 t 检验。

2 结果

2.1 血浆 F 测定 对照组、实验组、治疗组大鼠血浆 F 含量分别为(205±58)、(383±91)、(390±87) μmol/L, 小鼠血浆 F 含量分别为(176±69)、(369±81)、(380±17) μmol/L。后两组与对照组比较有统计学差异($P<0.05$, $P<0.01$)。

2.2 ³H-Dex 特异结合位点测定 结果见表 1。从表 1 中可见动物实验组肝、胃、结肠³H-Dex 特异结合位点测定明显降低($P<0.05$), 治疗组则有所回升, 但仍较对照组为低($P<0.05$)。

[作者简介] 陈雪萍, 主任医师。E-mail: jacky008@163.com

* Corresponding author. E-mail: LZM@sh163.net

表1 动物肝、胃、结肠³H-Dex 特异结合位点测定

组别	(n=8, $\bar{x}\pm s$)					
	肝		胃		结肠	
	B _{max} (mB/fmol·mg ⁻¹)	K _d (cB/μmol·L ⁻¹)	B _{max} (mB/fmol·mg ⁻¹)	K _d (cB/μmol·L ⁻¹)	B _{max} (mB/fmol·mg ⁻¹)	K _d (cB/μmol·L ⁻¹)
大鼠						
对照组	468±34	59±11	387±51	63±17	422±56	73±14
实验组	205±47*	63±10*	196±45*	71±14*	211±75*	86±15*
治疗组	376±36*	71±17*	301±56*	82±16*	361±85*	96±28**
小鼠						
对照组	417±48	65±21	365±62	81±11	406±78	71±15
实验组	215±56*	78±17*	187±71*	72±9*	211±76*	63±18*
治疗组	374±37*	81±12**	306±59*	74±8*	366±68*	91±24**

* P<0.05, ** P<0.01 与对照组比较

3 讨论

溃疡性结肠炎是一种自身免疫引起的结肠黏膜非特异性炎症性疾病, 病变主要限于结肠的黏膜, 表现为炎症或溃疡, 多累及直肠和远端结肠, 但可向近端扩展, 以至遍及整个结肠。溃疡性结肠炎有持续性或反复作黏液血便、腹痛, 伴有不同程度的全身症状, 此外还可能累及到肠道外相关组织, 如肝、脾、胃、关节、眼、口腔等。作为常用治疗药物之一, 糖皮质激素具有强大的抗感染、抗免疫等药理作用, 因此临床上早期、短时间、适量应用可以减少巨噬细胞及中性白细胞进入炎症区, 削弱炎症早期的渗出、水肿、毛细血管扩张, 降低毛细血管通透性, 稳定细胞及溶解膜, 从而减轻炎症反应, 改善局部症状。此外, 糖皮质激素还通过抑制细胞免疫、增强 Ts 细胞对 B 淋巴细胞的抑制作用, 干扰体液免疫, 并阻滞白三烯、前列腺素等形成, 从而减轻溃疡性结肠炎局部免疫功能异常以及由此引起的结肠黏膜破坏, 使炎症消退、溃疡愈合、临床症状迅速改善, 疾病趋于愈合^[7]。

本研究通过应用 DextranT72 成功制备大鼠和小鼠溃疡性结肠炎动物模型, 在急性期经氢化可的松治疗后, 病情明显改变, 腹泻次数减少, 体质量减轻不明显, 表明其对 GC 急性期有较好的治疗作用。溃疡性结肠炎鼠血 F 明显升高, 提示溃疡性结肠炎属病理性应激状态, 与既往研究一致^[8]。

溃疡性结肠炎动物模型中, 结肠、肝、胃组织的³H-Dex 结合容量降低, 与休克及烫伤时改变一致,

提示无论急性应激还是慢性病理应激 GR 都是降低的。而经 F 治疗后, 肝、胃、结肠组织³H-Dex 结合容量明显回升, 提示其作用与 F 抗应激、抗炎作用有关; GR 水平升高, 推测 F 对 GR 可能具有正向调节作用, 但其机制及意义尚有待进一步明确。

[参考文献]

- [1] Golier J, Yehuda R. Neuroendocrine activity and memory-related impairments in post-traumatic stress disorder[J]. Dev Psychopathol, 1998, 10: 857-869.
- [2] Mathieu M, Gougat C, Jaffuel D, et al. The glucocorticoid receptor gene as a candidate for gene therapy in asthma[J]. Gene Ther, 1999, 6: 245-252.
- [3] Herman J P, Spencer R. Regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene transcription and protein expression *in vivo* [J]. J Neurosci, 1998, 18: 7462-7473.
- [4] Cole M A, Kim P J, Kalman B A, et al. Dexamethasone suppression of corticosteroid secretion: evaluation of the site of action by receptor measures and functional studies[J]. Psychoneuroendocrinology, 2000, 25: 151-167.
- [5] Okamoto K, Tanaka H, Cgawa H et al. Redox-dependent regulation of nuclear import of glucocorticoid receptor[J]. J Bio Chem, 1999, 274: 10363-10371.
- [6] 刘志民, 张家庆, 徐仁宝. 人外周血单个核及多形核白细胞糖皮质激素受体的测定及其临床意义[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1989, 5: 84-87.
- [7] 杨小军, 侯晓华. 肾上腺糖皮质激素在溃疡性结肠炎中的应用[J]. 临床消化病杂志, 2007, 19: 11-12.
- [8] 陆红芬, 许元初. 溃疡性结肠炎患者外周血白细胞糖皮质激素受体改变及意义[J]. 第二军医大学学报, 2001, 22: 1096.

[收稿日期] 2007-05-20

[修回日期] 2007-06-12

[本文编辑] 尹 茶