

锗对关节炎大鼠 PGE₂ 的影响

张 哲, 郭苗莉, 郭俊生 (第二军医大学海军医学系, 上海 200433)

摘要 目的: 探讨锗 (Germanium, Ge) 对关节炎大鼠前列腺素 E₂ (Prostaglandin E₂, PGE₂) 的调节作用。方法: 利用弗氏完全佐剂 (Freund's complete adjuvant, FCA) 诱导制造关节炎大鼠模型, 用不同剂量的 β-羧乙基锗倍半氧化物 (carboxyethylgermanium sesquioxide, Ge-132) 进行治疗。于造模前、造模后第 3、6、9、12、15、18、21 d 观测每只大鼠的一般情况, 计算体重增长率和足跖肿胀率。造模后 21 d 断头处死大鼠, 测量组织内炎症介质 PGE₂ 的含量。结果: 经过干预后, 锗中、高剂量组及阳性药物组大鼠的食欲、活力、体重和足跖肿胀等状况优于模型组。组织内炎症介质 PGE₂ 的含量, 锗中、高剂量组及阳性药物组均显著低于模型组 ($P < 0.01$), 干预组中锗高剂量组最低, 其次为锗中剂量和阳性药物组, 锗低剂量组为最高。结论: 各剂量的锗均可显著下调关节炎大鼠炎症介质 PGE₂, 高剂量的锗效果优于吲哚美辛 (indomethacin, DMT), 锗对关节炎大鼠的 PGE₂ 调节作用有剂量效应关系。

关键词 锗; 关节炎; 前列腺素 E₂

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2009)03-0174-03

Influence of germanium on PGE of rat with rheumatoid arthritis

ZHANG Zhe GUO Miaoli GUO Junsheng (School of pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective To investigate the regulatory effect of germanium (Ge) on PGE₂ of the rheumatoid arthritis model. **Methods** The rat model of rheumatoid arthritis (RA) induced by Freund's complete adjuvant (FCA) was interfered with different dosages of β-carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132). The body weight and the paw volume of each rat model were measured at the 3rd, 6th, 12th, 15th, 18th and 21st days, and the weight growth rate and paw swelling rate were calculated. After rats were quickly beheaded at the 21st day, the contents of Prostaglandin E₂ (PGE₂) in the tissue were measured. **Results** Appetite, energy, weight gains and the paw volume of germanium with middle and high dosages and Indomethacin (DMT) treated groups were better than those of the model group ($P < 0.01$). Compared with the DMT treated group, the level of tissue inflammatory mediator PGE₂ in germanium with middle and high dosages and the normal saline treated groups were significantly lower than that of the model group ($P < 0.01$), and the germanium with high dosage was the lowest one, while the germanium with middle dosage and the DMT treated groups were in the second place, and the germanium with low dosage was the highest one among all the groups. **Conclusion** All the dosages of germanium were able to decrease PGE₂ significantly by measuring the content of the inflammatory mediator, the high dosed germanium gave better anti-inflammatory effects on the experimental RA rat model than DMT. There was a relationship between the dose and enhancement effect of germanium.

KEY WORDS germanium; rheumatoid arthritis; prostaglandin E₂

锗 (germanium, Ge) 是德国化学家 Winkler 于 1886 年 2 月最先从矿石中分离出并命名的, 原子序数 32, 原子量 72.6。1968 年 3 月日本浅井一彦首次报道了他们最先合成的水溶性有机化合物 β-羧乙基锗倍半氧化物 (carboxyethylgermanium sesquioxide, Ge-132) 具有广谱的药理活性。之后研究发现, 锗除了具有免疫调节、抗突变和抗癌等作用

外^[1-3], 还对关节炎大鼠有较好的抗炎作用^[4], 而炎症介质前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 在炎症的发生发展中发挥着重要作用^[5], 为进一步探讨锗的抗炎效果及意义, 本研究建立在弗氏完全佐剂 (Freund's complete adjuvant, FCA) 诱导的关节炎大鼠模型的基础上, 研究不同剂量的 Ge-132 对 PGE₂ 的影响。

1 材料与方法

1.1 动物与材料 雄性 SD 大鼠, 体重 160-200g, 健康, 清洁级, 及动物饲料购自第二军医大学动物中

基金项目: 中国营养学会科研基金 (y j606)。

作者简介: 张哲 (1981-), 男, 助教。Tel (021) 81870396, E-mail zhangzhe1999@home.com。

通讯作者: 郭俊生。Tel (021) 81871123, E-mail guoj@shyy.com。

心。UV 751紫外可见分光光度计(上海分析仪器厂生产)、足跖测容仪(山东省医学科学院设备站)、802型离心机(江苏金南仪器厂)、恒温水浴箱(江苏红旗医疗器械厂)、FA1 104型电子天平(上海精密科学仪器有限公司)等。

1.2 实验动物分组 70只 SD 大鼠按每组 10只随机分为 7组:模型对照组,空白对照组,Ge-132低、中、高剂量组,生理盐水组,阳性药物对照组。

1.3 炎症模型制备与干预 PGE₂标准品、FCA购自 Sigma公司; Ge-132粉剂,购自上海实业有限公司,用蒸馏水溶解成 1、2、4 mg/mL浓度的药液;吲哚美辛(indomethacin, IDMT),购自山西临汾制药厂, IDMT用蒸馏水按照 0.1 mg/mL浓度配成药液。除空白对照组、生理盐水组外其余各组大鼠右后足跖皮下注射 FCA 0.1 mL制造动物炎症模型,空白对照组足跖皮下不作处理,生理盐水组大鼠右后足跖皮下注射生理盐水 0.1 mL。于造模后第 2天开始,用 10 mL/kg体重配成的药液或蒸馏水给每组大鼠灌胃,每日一次,连续 14 d。Ge-132低、中、高剂量组每日干预剂量分别为 10、20、40 mg/kg体重,阳性药物对照组每日给予 IDMT 1 mg/kg体重。

1.4 一般情况的观测 分别于造模前、造模后第 3、6、9、12、15、18、21天观察记录大鼠的饮食、排便、精神状态及生长发育等情况,测量每只大鼠的体重,计算体重增长率。在大鼠右后踝关节处作标记,测右后足跖容积。计算每只大鼠的右后足跖肿胀率,肿胀率(%) = 致炎前后足跖容积之差 / 致炎前的足跖容积 × 100%。

1.5 PGE₂的测量 造模后 21 d大鼠断头处死,于踝关节上 0.5 cm处剪切炎性肿胀足,称重,生理盐水 5 mL浸泡 1 h,取出,离心浸泡液,吸取上清液 1 mL,加 0.5 mol/L KOH-甲醇溶液 2 mL,在 50 °C下异构化 20 min,用甲醇稀释至 20 mL,置紫外-可见分光光度计(λ = 278 nm)测定 OD值。

1.6 统计学处理 本文运用 SAS9.1.3中的一般线性模型过程(PROC GLM)实现方差分析以及多组间的两两比较,实验数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,检验的显著性水平为 0.05。

2 结果

2.1.1 一般生理状况 造模后第 2天起,除空白对照组和生理盐水组外,其余组大鼠食欲明显下降,活动减少,精神萎靡,右后足肿胀明显。自第 6天起,锺中、高剂量组,阳性药物组食欲开始恢复,活动增加,精神状态好转。第 18天起,锺低、中、高剂量组,

阳性药物组大鼠足肿胀明显减轻。

2.1.2 体重增长的变化 通过对体重增长率的统计学分析。与空白对照组和生理盐水组对比,模型组在造模后的各个时间点上,体重增长均有显著性差异($P < 0.01$);与模型组对比,锺低剂量组,体重增长无显著性差异($P > 0.05$);自第 6天起,锺中、高剂量组及药物对照组大鼠的体重增长与模型组有显著性差异($P < 0.01$)。与阳性药物组对比,自第 6天后,锺低剂量组与药物组有显著性差异;第 12天开始,锺中、高剂量组与药物组无显著性差异($P < 0.05$),见图 1。

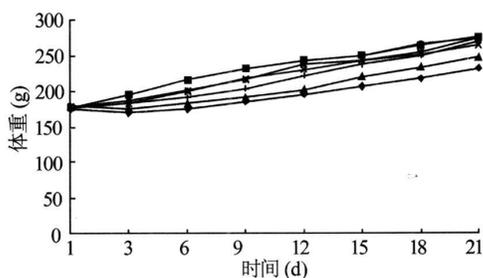


图1 实验大鼠体重增长趋势图

◆模型组 ■空白组 ▲低剂量组 ×中剂量组
*高剂量组 ●生理盐水组 +阳性药物组

2.1.3 足跖肿胀的变化 通过对足跖肿胀率的统计学分析。与空白对照组和生理盐水组对比,模型组在造模后的各个时间点上,足跖肿胀率均有显著性差异($P < 0.01$)。与模型组对比,中剂量的锺在第 3和第 12天时,高剂量的锺在第 3天时对关节炎大鼠足跖肿胀有明显抑制作用($P < 0.01$),之后自第 18天起,3个剂量的锺均对肿胀有显著抑制作用($P < 0.01$); IDMT在 7个时间点上对肿胀有显著抑制作用($P < 0.05$)。与阳性药物组对比,低剂量的锺在 4个时间点上具有显著性差异,中、高剂量的锺在 3个时间点上具有显著性差异($P < 0.05$),见图 2和表 1。

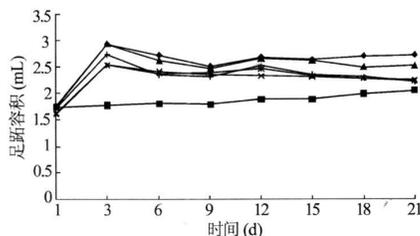


图2 实验大鼠足跖容积增长趋势图(原发病灶,右足)

◆模型组 ■空白组 ▲低剂量组 ×中剂量组
*高剂量组 ●生理盐水组 +阳性药物组

2.2 对炎症介质 PGE₂ 的影响 各组分别与模型组对比,均有显著性差异 ($P < 0.01$)。与阳性药物组对比,模型组、空白组、锗低、高剂量组和生理盐水组与其有显著性差异 ($P < 0.01$)。锗低、中、高 3 个

剂量两两对比,均有显著性差异(表中未列出)。锗高剂量组与空白组、生理盐水组对比无显著性差异(表中未列出)。见图 3 和表 2。

表 1 实验大鼠的足跖肿胀率(原发病灶,右足) ($n = 10 \bar{x} \pm s, \%$)

组别	剂量 mg/kg·d	FCA 诱导大鼠关节炎后 (d)						
		3	6	9	12	15	18	21
模型组		69.04 ± 12.67	56.15 ± 14.84 ⁴⁾	44.39 ± 10.76 ⁴⁾	54.17 ± 10.94	51.33 ± 13.02 ⁴⁾	56.13 ± 11.93 ⁴⁾	56.19 ± 11.70 ⁴⁾
空白组		1.11 ± 2.33 ²⁾⁴⁾	3.14 ± 3.12 ²⁾⁴⁾	2.91 ± 2.50 ²⁾⁴⁾	8.06 ± 4.72 ²⁾⁴⁾	8.51 ± 6.32 ²⁾⁴⁾	14.00 ± 5.37 ²⁾⁴⁾	17.44 ± 5.16 ²⁾⁴⁾
低剂量组	10	66.52 ± 12.44	48.84 ± 11.84 ⁴⁾	40.91 ± 12.48	50.54 ± 11.99	49.35 ± 17.88 ³⁾	42.10 ± 10.70 ²⁾³⁾	43.78 ± 7.74 ²⁾³⁾
中剂量组	20	56.80 ± 8.44 ²⁾	49.44 ± 8.96 ⁴⁾	45.55 ± 5.53 ⁴⁾	43.44 ± 5.97 ²⁾	43.31 ± 3.63	40.91 ± 5.68 ²⁾	38.55 ± 5.87 ²⁾³⁾
高剂量组	40	56.01 ± 11.03 ²⁾	46.45 ± 9.50 ¹⁾³⁾	46.53 ± 10.09 ⁴⁾	50.52 ± 8.64	43.49 ± 9.84	39.66 ± 7.19 ²⁾	36.78 ± 7.97 ²⁾⁴⁾
生理盐水组		1.13 ± 2.00 ²⁾⁴⁾	3.14 ± 2.88 ²⁾⁴⁾	2.93 ± 2.47 ²⁾⁴⁾	8.11 ± 4.73 ²⁾⁴⁾	8.55 ± 6.46 ²⁾⁴⁾	14.04 ± 5.36 ²⁾⁴⁾	17.48 ± 5.29 ²⁾
阳性药物组	1	59.27 ± 10.46 ¹⁾	36.65 ± 10.97 ²⁾	34.60 ± 6.81 ²⁾	47.05 ± 9.86	37.57 ± 9.89 ²⁾	34.75 ± 8.68 ²⁾	29.18 ± 7.82 ²⁾⁴⁾

1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 与模型组比较; 3) $P < 0.05$, 4) $P < 0.01$ 与阳性药物组比较。

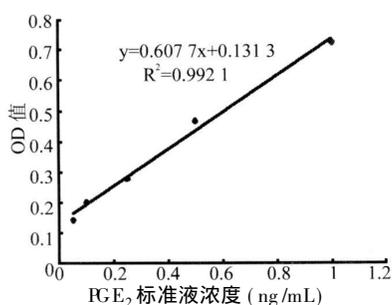


图 3 PGE₂ 标准曲线图

表 2 实验大鼠组织内 PGE₂ 的含量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg·d)	PGE ₂ (ng/mL)
模型组		0.344 ± 0.028 ^{5) 2)}
空白组		0.121 ± 0.006 ^{4) 2)}
低剂量组	10	0.283 ± 0.014 ^{9) 2)}
中剂量组	20	0.207 ± 0.013 ⁷⁾
高剂量组	40	0.123 ± 0.008 ^{5) 2)}
生理盐水组		0.122 ± 0.005 ^{1) 2)}
阳性药物组	1	0.208 ± 0.012 ⁰⁾

1) $P < 0.01$ 与模型组比较; 2) $P < 0.01$ 与阳性药物组比较。

3 讨论

前列腺素 (prostaglandins, PGs) 是花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 的代谢产物之一,它在体内各组织普遍存在,不仅具有多种生理功能,而且在某些疾病的发生发展过程中起着重要的病理生理作用,例如,PGs 在类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的发病机制中就有重要作用,其中以 PGE₂ 为主要炎性介质。RA 病人体内的 PGE₂ 水平明显升高,其炎症组织中含有大量的 PGE₂,且 PGE₂ 总是与水肿、软骨和骨侵蚀相关联。PGE₂ 与肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素 - 1

(interleukin-1, IL-1)、白介素 - 6 (interleukin-6, IL-6) 等细胞因子形成网络,相互影响、相互作用,共同参与炎症的发生、发展。

在本实验中,模型组与空白对照组和生理盐水组对比,有典型的炎症表现,明显食欲下降,活动减少,精神萎靡,右后足红肿明显。经过干预后,锗中、高剂量组及阳性药物组大鼠的食欲、活力和体重等基本状况均优于模型组。自第 18 天后,3 个剂量的锗均对足跖肿胀有显著抑制作用 ($P < 0.05$),但中、高剂量的锗效果更好。模型组的炎症介质 PGE₂ 显著升高,各剂量的锗和 DMT 均能使之下降 ($P < 0.01$),但高剂量的锗下调效果最好,与空白组和生理盐水组对比无显著性差异。综合来看,提示各剂量的锗均可显著下调关节炎大鼠炎症介质 PGE₂,高剂量的锗效果优于 DMT,锗对关节炎大鼠的 PGE₂ 调节作用有剂量效果关系。

参考文献:

- [1] 季 晖,潘维新.富锗金菇对小鼠的免疫增强作用毒性研究 [J].营养学报,1994,16(3):332.
- [2] 司传平,党锡连,于 江,等.有机锗(Ge-132)对免疫功能的增强作用 [J].上海免疫学杂志,1994,14(1):14.
- [3] 方益华,杨育爱.微量元素锗的研究进展 [J].广东微量元素科学,1998,5(1):1.
- [4] Lee JH, Kim KW, Yoon MY, et al. Anti-inflammatory effect of gemanin-concentrated yeast against paw oedema is related to the inhibition of arachidonic acid release and prostaglandin E₂ production in RBL 2H3 cells [J]. Autonomic & Autacoid Pharmacology, 2005, 25(4):129.
- [5] 徐红梅,魏 伟.前列腺素 E₂ 与类风湿关节炎及其药物研究 [J].中国药理学通报,2005,21(3):262.

收稿日期:2009-03-10