

· 研究原著 ·

文章编号: 1000-2790(2000)02-0156-02

抗 TNF α 单克隆抗体对急性胰腺炎大鼠肠屏障无影响

陈冬利, 王为忠, 王俊义, 王涛, 罗兰 (第四军医大学西京医院胃肠外科, 陕西 西安 710033)

关键词: 肿瘤坏死因子 α 单克隆抗体; 急性胰腺炎; 全肠外营养; 肠屏障

中图分类号: R 657.51 **文献标识码:** A

摘要: **目的** 探讨抗肿瘤坏死因子 α 单克隆抗体 (anti-TNF α mAb) 对急性胰腺炎所致全肠外营养大鼠肠屏障损伤的影响 **方法** SD 大鼠 32 只, 采用 $35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 牛磺胆酸钠逆行胰胆管注射建立急性胰腺炎模型后, 随机分为对照组 ($n=16$) 及实验组 ($n=16$), 对照组给予全肠外营养支持, 实验组给予相同配方的全肠外营养支持, 并予 anti-TNF α mAb 静脉内注射 于建立急性胰腺炎模型后 1 及 5 d 处死, 检测大鼠肠道通透性、空肠粘膜湿重、微绒毛高度和面积、双糖酶活性及髓过氧化物酶活性 **结果** 治疗后两组动物间肠道通透性、空肠粘膜湿重、微绒毛高度及面积、双糖酶活性及髓过氧化物酶活性均无显著差别 **结论** anti-TNF α mAb 对急性胰腺炎全肠外营养大鼠肠屏障功能无明显影响

Influence of anti-TNF α monoclonal antibody on intestinal barrier in rats with acute pancreatitis

CHEN Dong-Li, WANG Wei-Zhong, WANG Jun-Yi, WANG Tao, LUO Lan

Department of Gastrointestinal Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China

Keywords: tumor necrosis factor α monoclonal antibody; acute pancreatitis; total parenteral nutrition; intestinal barrier

Abstract **AIM** To evaluate influence of anti-TNF α monoclonal antibody (anti-TNF α mAb) on intestinal barrier in rats with acute pancreatitis under total parenteral nutrition.

METHODS Thirty-two male Sprague-Dawley rats that underwent injection of 3.5% sodium taurocholate solution into the pancreatic duct were randomly divided into control group ($n=16$) and experiment group ($n=16$). Animals in control group received total parenteral nutrition (TPN). Animals in experiment group were given injections of anti-TNF α mAb, in addition to the identical TPN formula received by control group. Rats were sacrificed on day 1 or day 5 after the induced acute pancreatitis **RESULTS** There was no significant difference between the two groups in plasma fluorescein

iso thiocyanate⁻ dextran concentration, mucosal wet weight, villus height and area in jejunum, activities of sucrase and maltase, and myeloperoxidase in jejunal mucosa **CONCLUSION** Anti-TNF α mAb has no obvious effects on the intestinal barrier in rats with acute pancreatitis under total parenteral nutrition

0 引言

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 患者常伴有胃肠道损害, 须禁食, 以减少胰液分泌, 因而全肠外营养 (total parenteral nutrition, TPN) 成为最适宜选择。但长期 TPN 易损害肠粘膜屏障, 导致腹内感染。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α) 在 AP 的发病和发展中起重要作用, 以免抗鼠 TNF α 抗体阻断 TNF α 的产生, 可改善胰腺受损程度^[1]。但抗 TNF α 抗体对 AP 所致 TPN 大鼠肠屏障损伤的影响, 尚未见报道。我们利用 AP、自由体位接受 TPN 的大鼠模型, 观察抗 TNF α 单抗 (anti-TNF α mAb) 对大鼠肠道通透性、空肠粘膜湿重、微绒毛高度及面积、双糖酶活性、髓过氧化物酶活性的影响, 探讨其对 AP、TPN 大鼠肠屏障功能损伤的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 SD 大鼠 32 只, 体质量 (220 ± 10) g, 购自本校实验动物中心。抗 TNF α 单抗由本校免疫教研室提供。大鼠禁食过夜, 随机分为 2 组: 对照组 ($n=16$), 输注常规 TPN 溶液; 实验组 ($n=16$), 除输注相同常规 TPN 溶液外, 并参考刘沛等^[2]方法, 于诱发 AP 前 15 min *iv* anti-TNF α mAb ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。以戊巴比妥钠 ($35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) *ip* 麻醉后, 采用无菌技术作腹正中切口, 经胰胆管逆行注入 $35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 牛磺胆酸钠 ($1.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 诱导 AP 模型^[3]。于右颈外静脉插入硅胶管至上腔静脉, 接旋转轴装置, 使大鼠在自由状态下可持续输液, 以微量输液泵控制输液速度在 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 。TPN 营养液每日提供非蛋白热量 $933.03 \text{ kJ} \cdot \text{kg}^{-1}$, 供氮 $1.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 热氮比为 116:1。

1.2 方法 两组动物分别于术后 1 d ($n=8$) 及 5 d ($n=8$) 处死, 检测大鼠肠道通透性、空肠粘膜湿重、微绒毛高度及面积、双糖酶活性、髓过氧化物酶活性。

收稿日期: 1999-04-01; 修回日期: 1999-10-31

作者简介: 陈冬利 (1965-), 男 (汉族), 陕西省西安市人, 硕士, 发表论
文 10 篇。Tel (029) 3375265 Email xjwck@fmmu.edu.cn

= 8) 以乙醚麻醉后, 沿正中线开腹, 距屈氏韧带 20 cm 处将一段 60 cm 长的小肠两端结扎, 向其内注入 1.0 mL 荧光异硫氰酸盐-葡聚糖 (FITC-dextran, 25 mg) 溶液 30 min 后, 抽取肠系膜上静脉血液, 检测血浆中 FITC-dextran 浓度。小肠的通透性按我们以前的方法测定^[4], 表示为 mg FITC-dextran · L⁻¹; 从屈氏韧带远侧 2 cm 处开始取 5 cm 空肠, 以冰盐水冲洗干净肠内容和血迹, 检测空肠粘膜微绒毛高度及面积; 取其余空肠, 刮取空肠粘膜, 检测空肠粘膜湿重、双糖酶活性及髓过氧化物酶活性。双糖酶活性采用 Dahlqvist 法^[5]测定, 表示为 mmol · min⁻¹ · g⁻¹, 酶

催化底物为双糖; 髓过氧化物酶活性采用 Bradley 法^[6]测定, 表示为 μmol · min⁻¹ · g⁻¹, 酶催化底物为 H₂O₂。

结果用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 采用 Student *t* 检验进行分析, *P* < 0.05 时有显著差别。

2 结果

两组动物肠道通透性 (*P* > 0.05)、空肠粘膜湿重和微绒毛高度及面积 (*P* > 0.05), 空肠粘膜蔗糖及麦芽糖酶活性 (*P* > 0.05) 以及肠粘膜髓过氧化物酶活性 (*P* > 0.05) 均无显著差别 (Tab 1)。

表 1 Anti-TNFαmAb 对 AP 大鼠肠道损害

Tab 1 Effect of anti-TNFαmAb on intestinal damage in AP rats

(*n* = 8, $\bar{x} \pm s$)

<i>t/d</i> Group	FITC-dextran/ (mg · L ⁻¹)	Wet mass/ (mg · cm ⁻¹)	Villus height/ (μm)	Villus area/ (× 10 ⁻³ μm ²)	Sucrase/ (mmol · min ⁻¹ · g ⁻¹)	Maltase/ (mmol · min ⁻¹ · g ⁻¹)	Myeloperoxidase/ (μmol · min ⁻¹ · g ⁻¹)
1 Control	1.2 ± 0.5	35 ± 4	427 ± 36	37.9 ± 5.2	32 ± 7	105 ± 17	2.6 ± 0.7
Experiment	1.1 ± 0.4	36 ± 3	418 ± 30	36.9 ± 4.9	30 ± 4	109 ± 16	2.4 ± 0.5
5 Control	7.5 ± 0.9	30 ± 2	272 ± 21	18.7 ± 2.5	12 ± 3	50 ± 9	5.8 ± 0.7
Experiment	7.3 ± 0.8	32 ± 3	307 ± 18	28.9 ± 4.5	13 ± 4	55 ± 13	5.3 ± 0.8

3 讨论

近年来, 已有阻断 TNFα 治疗 AP 的报道^[1]。然而目前对急性胰腺炎的研究均侧重于发病后 24 h 内的急性病情变化, 而对于病程相对较长、模拟临床实际、禁食并接受 TPN 支持的研究, 则少有报道。我们利用 AP、自由体位接受 TPN 大鼠模型, 探讨 anti-TNFαmAb 对 AP 大鼠肠屏障功能的影响。肠道通透性和肠粘膜形态是反映肠粘膜屏障功能的重要指标。本结果发现, 两组动物空肠粘膜湿重、微绒毛高度及面积、肠道通透性无显著差 (*P* > 0.05), 提示 anti-TNFαmAb 不能减轻 AP 所致 TPN 大鼠肠粘膜萎缩和肠道通透性增加。两组动物空肠粘膜蔗糖酶及麦芽糖酶活性也无显著差别 (*P* > 0.05), 提示 anti-TNFαmAb 不能减轻 AP 对 TPN 大鼠肠粘膜蔗糖酶及麦芽糖酶活性的损害。两组动物空肠粘膜内髓过氧化物酶活性无显著差别 (*P* > 0.05), 提示 anti-TNFαmAb 不能减轻 AP 时 TPN 大鼠空肠粘膜内粒细胞浸润聚集^[7]所致的炎性损害。

Anti-TNFαmAb 对急性胰腺炎全肠外营养大鼠肠屏障之所以无明显影响, 可能因为 anti-TNFαmAb 阻断了 TNFα 介导巨噬细胞的调节活动, 阻断了 TNFα 对其他细胞因子的反馈调节如 IL-2; 使内源性抗氧化系统失活; 改变了 TNFα 对微血管紧张性的调节。这种结果也与 Abraham 等^[8]及 Guice

等^[9]的结果相似。因此, anti-TNFαmAb 尚不能用以防治急性胰腺炎所致全肠外营养大鼠肠屏障损害。

参考文献

- [1] 肖雪明, 邹声泉. 肿瘤坏死因子 α 与急性胰腺炎[J]. 国外医学外科学分册, 1997; 24(4): 331-334.
- [2] 刘沛, 周子文, 董祥家 *et al*. 肿瘤坏死因子 α 单克隆抗体阻断肝坏死发生的实验研究[J]. 中华消化杂志, 1994; 14(2): 150-151.
- [3] 秦仁义, 邹声泉, 吴在德 *et al*. 重症胰腺炎大鼠肿瘤坏死因子产生及吸收部位的研究[J]. 中华实验外科杂志, 1997; 14(3): 205-206.
- [4] Chen DL, Sando K, Chen K *et al*. Protective effects of selenium supplementation in minimizing 5-fluorouracil induced lipid peroxidative damage of the small intestine[J]. *J Trace Elem Exp Med*, 1997; 10(2): 163-171.
- [5] Dahlqvist A. A assay of intestinal disaccharidases. *Anal Biochem*, 1968; 22(1): 99-106.
- [6] Bradley PP, Priebe DA, Christensen RD *et al*. Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker[J]. *J Invest Dermatol*, 1982; 78(3): 206-210.
- [7] Chen DL, Wu GS, Wang WZ *et al*. Neutrophil infiltration is involved in 5-FU induced lipid peroxidative damage of the small intestine[J]. *Chin Med Sci J*, 1997; 12(2): 181-183.
- [8] Abraham E, Wunderink R, Silveira H *et al*. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor α in patients with sepsis syndrome[J]. *JAMA*, 1995; 273(6): 934-941.
- [9] Guice KS, Andersson D, Li TR *et al*. Anti-tumor necrosis factor antibody augments edema formation in caerulein-induced acute pancreatitis[J]. *J Surg Res*, 1991; 51(5): 495-499.

编辑 袁天峰