

· 基础研究 ·

清下化瘀方改善重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障功能及对 p38MAPK/ATF2 信号通路的影响

孔 婧^{1,2} 王晓素^{1,2} 周秉舵^{1,2} 李 英¹ 徐亭亭¹

摘要 **目的** 探讨清下化瘀方通过改善肠屏障功能治疗急性胰腺炎的作用机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 50 只按随机数字表法分为 5 组:假手术组、模型组、清下化瘀方组(简称中药组)、醋酸奥曲肽注射液(善宁)组、空白组,每组 10 只。采用逆胆胰管注射牛磺胆酸钠的方法建立重症急性胰腺炎大鼠模型,分别予清下化瘀方及善宁干预后取材,观察胰腺病理损伤程度及检测大鼠肠黏膜屏障功能改变(肠黏膜上皮损伤程度),并分析 p38MAPK/ATF2 表达的变化。**结果** (1)胰腺组织病理损伤:与空白组及假手术组比较,模型组大鼠胰腺病理总积分明显升高($P < 0.01$),提示造模成功。与模型组比较,清下化瘀方中药组及善宁组胰腺病理变化半定量积分明显降低($P < 0.01$)。(2)肠上皮损伤程度比较:与空白组及假手术组比较,模型组肠黏膜损伤明显增加($P < 0.01$),而中药组及善宁组对肠黏膜损伤有改善作用($P < 0.01$)。中药组与善宁组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。(3)肠屏障功能变化:空白组及假手术组肠黏膜上皮细胞表面微绒毛排列整齐,实验各组回肠出现不同程度的线粒体肿胀,嵴不清,内质网肿胀,上皮细胞微绒毛脱落,上皮细胞连接增宽。(4) p38MAPK/ATF2 表达变化:模型组大鼠胰腺组织 p38MAPK、ATF2 阳性表达较空白组及假手术组明显升高($P < 0.01$),中药及善宁组表达较模型组显著降低($P < 0.01$)。**结论** 清下化瘀方作用于 SAP 的途径可能与减轻重症急性胰腺炎大鼠的肠黏膜屏障的损伤,从而调控 p38MAPK/ATF2 表达,减轻机体炎症反应有关。

关键词 重症急性胰腺炎;清下化瘀方;肠黏膜屏障;p38MAPK/ATF2

Qingxia Huayu Recipe Improved Intestinal Barrier Function in Acute Pancreatitis Rats and Its Effects on p38MAPK/ATF2 Signal Pathway KONG Jing^{1,2}, WANG Xiao-su^{1,2}, ZHU Bing-duo^{1,2}, LI Ying¹, and XU Ting-ting¹ 1 Department of Digestion, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai (200437); 2 Institute of Gastroenterology, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai (200437)

ABSTRACT **Objective** To observe the mechanism of Qingxia Huayu Recipe (QXHYR) in treating severe acute pancreatitis (SAP) rats by improving intestinal barrier function. **Methods** Totally 50 male SD rats were randomly divided into 5 groups, i.e., a sham-operation group, a model group, QXHYR group, Shanning (SN) group, and a blank group, 10 rats in each group. The SAP rat model was induced by retrograde injection of sodium taurocholate into the biliopancreatic duct, which were intervened by QXHYR and SN. The degree of intestinal mucosal injury and changes of rat intestinal mucosa barrier permeability were observed and detected, and changes of p38MAPK/ATF2 expressions analyzed. **Results** (1) Pathological injury of pancreatic tissues: Compared with the blank group and the sham-operation group, the total pathological score of pancreas increased significantly in the model group ($P < 0.01$), suggesting that the model was successfully established. Compared with the model group, the semi-quantitative integral of pancreatic pathological changes was significantly lower in the QXHYR group and the SN group ($P < 0.01$). (2) Intestinal epithelial injury index: Compared with the blank group and the sham-operation

基金项目:上海市教委重点学科项目(No. J50305);上海市中西医临床协作试点建设项目(No. ZY2018-2020-FWTX-1004)

作者单位:1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院消化内科(上海 200437); 2. 上海中医药大学脾胃病研究所(上海 200437)

通讯作者:王晓素, Tel: 021-65161782 转 1672, E-mail: xswangxs0084@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20190502. 147

group, intestinal mucosal injury was significantly aggravated in the model group ($P < 0.01$). But it was attenuated in the QXHYR group and the SN group ($P < 0.01$). The curative effects of QXHYR and SN were similar ($P > 0.05$). (3) Changes of intestinal barrier function: Routine transmission electron microscope showed that intestinal mucosal epithelial cell surface microvilli were arranged in neat rows in the blank group and the sham-operation group. Swelling of mitochondria and unclear crest appeared to different degrees in the ileum of three experimental groups. Endoplasmic reticulum was swollen. The microvilli of epithelial cells was shedding and the junction of epithelial cells was widened. (4) Changes of P38MAPK/ATF2 expressions: Higher positive expressions of p38MAPK and ATF2 occurred in pancreas tissue of the model group than in that of the blank group and the sham-operation group ($P < 0.01$), and they were lower in the QXHYR group and the SN group ($P < 0.01$). Conclusion The pathway of QXHYR on SAP might be related to reducing intestinal mucosal barrier injury in SAP rats, thus regulating the expressions of p38MAPK/ATF2 and alleviating inflammatory reactions.

KEYWORDS severe acute pancreatitis; Qingxia Huayu Recipe; intestinal mucosal barrier; p38MAPK/ATF2 signal pathway

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是常见的消化系统危重症之一, 发展至中度及重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 后因发生多器官功能衰竭 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 而致死率高达 50%^[1]。近年来, 肠屏障功能障碍在全身炎症反应综合征导致的多器官功能衰竭中的作用逐渐得到重视^[2]。本课题组前期研究发现^[3], 由于肠道黏膜破坏, 肠道细菌移位引起的内毒素血症是急性胰腺炎发展为重症乃至引起器官衰竭的重要原因, 而清下化瘀方对肠黏膜的保护作用是肯定的, 减少了肠源性内毒素血症的发生^[1]。此外, 本课题组已通过前期动物实验提示^[4], TLR4/NF- κ B 信号通路在急性胰腺炎的发生与进展中得到活化, 并可能参与启动调控 SAP, 在引发全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、MODS 环节中起着“信使”作用; 而清下化瘀方对此“信使”有某种抑制作用。尽管目前已经认识到肠屏障功能障碍的重要作用, 但对这一机制的中间环节和具体机制仍未完全阐明。而清下化瘀方是通过何种途径降低 TLR4/NF- κ B mRNA 表达? 从而改善肠黏膜屏障功能, 减轻炎症介质反应, 是本课题研究的方向。

清下化瘀方 (原清下解胰方), 该方临床用于治疗急性胰腺炎已数十年, 临床有效率为 92%^[3]。本研究进一步探讨该方作用于肠黏膜屏障, 减轻炎症反应的分子生物学机制, 为中医药治疗急性胰腺炎提供更充分的实验依据。

材料与方法

1 动物 雄性 SD 大鼠 50 只, 清洁级, 6 周龄,

体重 200 ~ 220 g。由中国科学院上海斯莱克实验动物有限公司提供 [SYXK (沪) 2018 - 0040], 实验前在上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物中心适应性饲养 1 周, 给予常规饲料及自由饮水, 昼夜交替 12 h, 饲养环境为清洁级。本实验经上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物使用与管理委员会批准 (No. YYLAC - 2018 - 025)。

2 主要试剂及仪器 牛磺胆酸钠 (sodium taurocholate, 美国 Sigma 公司, 批号: T - 4009), 使用前用注射用水配成 5% 的牛磺胆酸钠, 4 °C 存放。戊巴比妥钠 (pentobarbital sodium, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: WS20051), 使用前用注射用水配成 2% 戊巴比妥钠, 4 °C 避光保存。醋酸奥曲肽注射液 (善宁诺华制药有限公司, 0.1 mg/mL, 批号: H20180948)。免疫组化试剂, 购于上海沃森生物医学科技公司。樱花全自动密闭式组织脱水机、包埋机, 购自日本樱花精机株式会社 VIP-E300F; 超薄切片制刀机、切片机, 购自德国 Leica; OLYMPUS 全自动显微镜照相装置购自奥林巴斯光学工业株式会社; OLYMPUS 显微镜 BX50, 购自奥林巴斯光学工业株式会社; 透射电子显微镜, 购自荷兰 PHILIP; IMS 细胞图象分析系统, 购自上海申腾信息技术有限公司

3 清下化瘀方组成和制备 清下化瘀方组成: 生大黄 9 g 柴胡 12 g 延胡索 12 g 丹参 15 g 赤芍 15 g 焦山栀 9 g 枳实 10 g 枳壳 10 g 红藤 30 g。药物制备方法: 上述药物分别置于煎药锅内, 加水浸没生药约 1 cm, 浸泡半小时后先武火煮沸, 煮沸后改为文火煎煮 15 min, 去渣, 浓缩至每毫升含生药 1 g, 即浓度为 100%。置冰箱中 4 °C 保存, 使用前混

匀。实验所需中药由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院中药房提供。

4 动物分组及 SAP 大鼠动物模型建立 实验分组:50 只大鼠按随机数字表法分为 5 组:假手术组、模型组、清下化瘀方组(简称中药组)、善宁组、空白组,每组 10 只。模型组、中药组、善宁组进行造模。SAP 动物模型的建立已在前期工作中得到验证^[4]:造模前禁食 12 h,不禁水;2%戊巴比妥钠 0.2 mL/100 g 腹腔麻醉,待麻醉起效后固定于手术板,备皮,新洁尔灭消毒腹部皮肤,沿腹白线正中切口,切口长度为 2 cm 左右,用血管钳固定皮肤,避免损伤皮下小血管,暴露腹腔,用弯镊子寻找十二指肠(位于右侧腹腔深部,被肝叶覆盖,较一般小肠为粗)。双手持镊轻拉肠段,在无影灯下充分暴露胰腺;脾脏和胃底间呈条索状,为胰腺体部和尾部,胰头部分呈网膜状,胆管和胰管共有一通道,为胆胰管,肉眼可见其一端开口于十二指肠,呈一白色光点,另一端与胆道相连。用动脉夹阻断胆胰管入肝门处,左手中指垫纱布,拇指与食指夹持胰头部,用 22 号套管针针头沿白色光点处缓慢穿刺胆胰管,进针 0.5 cm 后拔除针芯,继续进针 1 cm。用微量泵以 12 mL/h 的速度,1 mL/kg 的剂量持续匀速输入 5% 的牛磺胆酸钠,注完后继续维持压力 3 min;去动脉夹,观察胰体和胰尾部情况,可见胰腺有明显出血点和水肿,逐层缝合肌层和皮肤。假手术组仅在常规消毒后,做开腹术,翻转胰腺,后关腹。空白组不作处理。术后,于所有实验动物左右后肢皮下各注射生理盐水 2 mL。

5 干预方法 根据大鼠和人用药剂量的折算倍数是 6.3 倍,中药每毫升含生药 1 g,按照大鼠灌胃容积 20 mL/kg,每只大鼠给药约 4 mL。中药组于造模前 2 h、造模后 1、11、23 h 予中药灌胃。善宁组于对应时间点根据大鼠体重按 10 μ g/kg 的剂量皮下注射善宁。对照组和模型组均于相同时间点予等量的生理盐水灌胃。

6 标本采集 所有组别均于造模后 24 h 取材。在距离回盲部 10 cm 处取约 1 cm 左右回肠组织,沿系膜剖开后于冰生理盐水中充分涮洗,10% 中性福尔马林溶液固定。将肠组织切成 0.5 mm 小块,2.5% 戊二醛固定后,常规电镜样品制备,透射电子显微镜下观察微绒毛结构及肠上皮细胞连接结构。活体取 0.5 cm³ 的(胰头部)胰腺组织一块,用体积分数为 4% 的甲醛固定,后行石蜡包埋、切片,免疫组织化学检测。

7 检测指标及方法

7.1 一般情况 各组大鼠术后表现及存活率

观察。

7.2 胰腺病理学观察 取各组大鼠胰腺组织做病理学评价,大鼠胰腺组织固定于 4% 甲醛溶液,常规脱水、透明、石蜡包埋、切片(4 μ m)、HE 染色后观察组织学改变,根据 Spormann 等评定标准评分^[5],以观察造模及治疗效果。

7.3 回肠组织电镜观察 取回肠末端组织标本,用生理盐水冲洗,常规电镜样品制备,透射电子显微镜下观察微绒毛结构及肠上皮细胞连接结构。根据 Chiu CJ 等^[6]方法测量肠黏膜损伤程度。0 级为正常;1 级为绒毛顶端上皮间间隙增宽;2 级为绒毛顶端上皮间间隙进一步扩大,绒毛尖端上皮抬高与固有膜剥离;3 级为绒毛上皮成块脱落;4 级为上皮完全脱落,仅有固有膜;5 级为固有层崩解,出现出血与溃疡。

7.4 大鼠胰腺组织 p38MAPK、ATF2 免疫组化法检测 采用 SP(链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶免疫组化)法检测胰腺 p38MAPK 的表达,具体步骤如下:二甲苯脱蜡;经梯度乙醇水化;浓度由高到低;微波抗原修复 15 min(98 $^{\circ}$ C)(修复液为 pH6.0 的枸橼酸盐缓冲液);室温冷却 20 min 后,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗 3 次,滴加质量分数为 0.3% 过氧化氢孵育 30 min,消除内源性过氧化物酶;0.01 mol/L PBS(pH7.4)漂洗 3 次,每次 5 min;加质量分数为 2% 的正常山羊血清封闭背景;弃去封闭血清,加一抗 p38MAPK 单克隆抗体 1:100,4 $^{\circ}$ C 过夜;PBS 液洗 3 次,每次 5 min;加生物素化羊抗鼠二抗 IgG(1:200 稀释),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h;PBS 液洗 3 次,每次 5 min;DAB 显色;自来水冲洗,苏木素复染细胞核;水洗,脱水,透明,中性树胶封固;阴性对照以 PBS 代替一抗进行上述染色。着色强度判断:(-)为未着色,(+)为浅黄色,(++)为黄色,(+++)为棕黄色;取 3 个高倍视野计算阳性细胞占总细胞的百分率作为阳性比例。ATF2 免疫组化法检测同上。

8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件,统计描述中计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料用单因素方差分析统计,组间多重比较采用 LSD 法;计数资料采用卡方检验,等级资料采用秩和检验。均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义

结 果

1 各组大鼠术后表现及死亡记录 造模 24 h 后,假手术组因麻醉意外死亡 1 只;模型组死亡 1 只。空白组及假手术组动物较活泼,反应较灵敏,进食正常;模型组动物,活动与摄食明显减少,精神萎靡,对

声、光、痛刺激反应迟钝。开腹后,模型组大鼠肉眼可见大量淡黄色或红色血性腹水,胃肠鼓胀明显,胰腺呈大片状凝固性坏死,腹腔脏器粘连,全胰及周围小网膜囊、邻近的肠系膜、腹膜后脂肪组织及切口部位均可见黄色皂化斑和黑紫色坏死灶。各给药组亦可见类似改变,但较模型组为轻。假手术组及空白组胰腺及腹腔无异常。

2 各组大鼠胰腺病理变化比较(图 1) 空白组及假手术组胰腺细胞结构正常,包膜完整。模型组大鼠出现广泛凝固性坏死,间质水肿明显,大量单核和中性粒细胞浸润,提示造模成功。中药及善宁治疗组较模型组病变程度相对减轻。

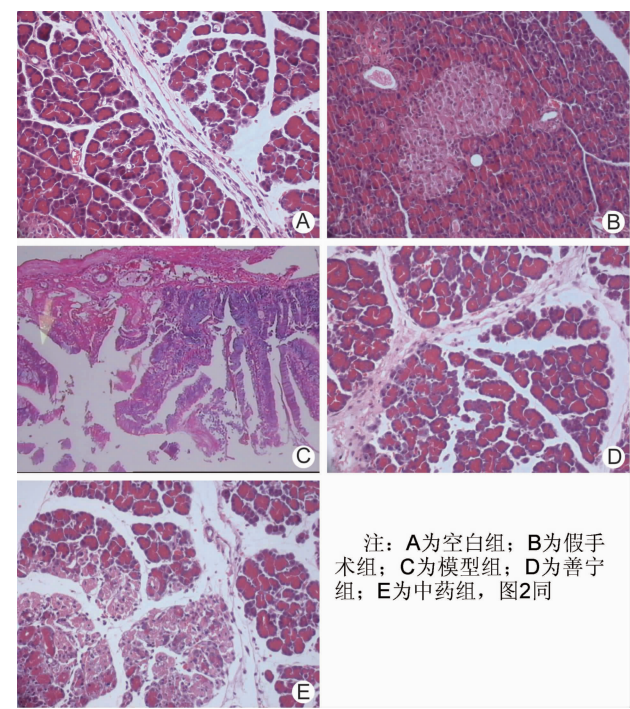


图 1 各组大鼠胰腺组织病理变化比较 (HE, ×200)

3 各组大鼠胰腺组织病理变化半定量积分比较(表 1) 与空白组及假手术组比较,模型组胰腺病理半定量积分明显升高($P<0.01$)。与模型组比较,中药组及善宁组胰腺病理变化半定量积分明显降低($P<0.01$)。中药组与善宁组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

4 各组大鼠小肠组织电镜结果(图 2) 空白组及假手术组肠黏膜上皮细胞表面微绒毛排列整齐,绒毛表面完整光滑,柱状上皮细胞结构完整;细胞质内细胞器丰富,结构完整、清晰,无水肿扩张;细胞间紧密连接、中间连接、桥粒及缝隙连接清楚,无增宽;固有层腺体结构及各种细胞结构正常。模型组、善宁组和中药

表 1 各组大鼠胰腺组织病理变化
半定量积分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	半定量积分
空白	10	0.20 ± 0.11
假手术	9	0.32 ± 0.14
模型	9	6.55 ± 0.53 * [△]
善宁	10	3.49 ± 0.49 [▲]
中药	10	3.34 ± 0.52 [▲]

注:与空白组比较,* $P<0.01$;与假手术组比较,[△] $P<0.01$;与模型组比较,[▲] $P<0.01$

组小肠主要表现为细胞死亡的两种不同形式 – 凋亡和坏死,包括不同程度的线粒体肿胀,嵴不清,内质网肿胀,上皮细胞微绒毛稀疏、长短不一,排列紊乱、部分呈倒伏脱落,上皮细胞连接增宽、部分紧密连接增宽或开放。

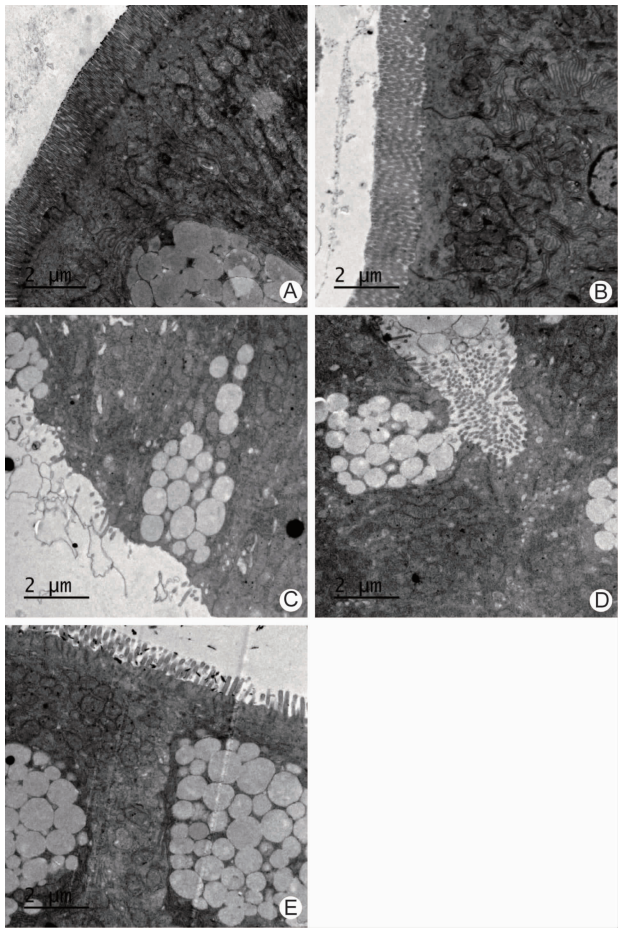


图 2 各组大鼠小肠组织电镜 (柠檬酸铅染色, ×5000)

5 各组大鼠肠黏膜损伤程度比较(表 2) 与空白组及假手术组比较,模型组肠黏膜损伤程度升高($P<0.01$)。与模型组比较,中药组及善宁组肠黏膜损伤程度明显减轻($P<0.01$)。中药组与善宁组比较,差异无统计学意义($P=0.975$)。

表 2 各组大鼠肠黏膜损伤程度比较 (只)

组别	n	肠黏膜损伤程度					
		0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	5 级
空白	10	9	1	0	0	0	0
假手术	9	8	1	0	0	0	0
模型	9	0	0	0	5	4	0
善宁	10	1	7	2	0	0	0
中药	10	0	9	1	0	0	0

6 各组大鼠胰腺 p38MAPK、ATF2 阳性表达比较(表 3) 与空白组及假手术组比较,模型组 p38MAPK、ATF2 阳性表达水平升高($P < 0.01$);与模型组比较,中药组及善宁组表达显著降低($P < 0.01$)。中药组与善宁组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组大鼠胰腺 p38MAPK、ATF2 阳性表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	p38MAPK	ATF2
空白	10	2.09 ± 1.45	1.86 ± 1.16
假手术	9	2.65 ± 1.73	2.09 ± 1.46
模型	9	6.63 ± 2.79 ^{*△}	5.06 ± 2.86 ^{*△}
善宁	10	4.59 ± 2.60 [▲]	2.42 ± 1.66 [▲]
中药	10	4.33 ± 1.46 [▲]	2.73 ± 1.60 [▲]

注:与空白组比较,^{*} $P < 0.01$;与假手术组比较,[△] $P < 0.01$;与模型组比较,[▲] $P < 0.01$

讨 论

近年来,随着科技发展与研究手段的进步,国内外研究学者在 SAP 的病因及发病机制等方面的认识日益加深,在 SAP 时伴有肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia,IETM)的发生,这一点已形成共识,就急性胰腺炎而言,IETM 可使急性胰腺炎由轻症向重症转化^[6]。由肠源性内毒素血症导致急性重症胰腺炎继发感染是胰腺炎患者死亡的第二大原因。然而,IETM 在 SAP 的发展中如何起作用,却罕见报道。

肠道是机体最大的细菌存储所和内毒素中心,肠道本身具有屏障保护功能,正常情况下肠黏膜上皮细胞、细胞间紧密连接具有机械屏障功能,能有效阻止有害物质从腔内移位至其他脏器,即使有少量细菌穿过肠黏膜屏障也能被肠道的免疫系统吞噬。SAP 时伴随肠屏障的损伤,大量肠源性内毒素释放入血激活体内炎症因子,促进全身炎症反应综合征和多器官功能障碍的发生^[7]。

SAP 时机体处于应激和休克状态,肠道作为机体应激器官之一,由于各种不利因素的影响,极易发生肠黏膜缺损、萎缩,肠屏障严重受损,肠道通透性增加。前期研究发现清下化瘀方对 SAP 发生时化学屏障、免

疫屏障的保护作用是肯定的^[3]。本研究进一步明确清下化瘀方可减轻肠黏膜损伤程度从而保护肠道机械屏障功能。

在 SAP 的发生进展过程中,由于循环血液中肠源性内毒素水平升高,会产生诸如 NF-κB、TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8 等多种细胞炎性因子,并产生一系列炎症级联瀑布反应,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase,MAPK)信号通路在炎症反应中可能起着重要的调节作用。各种体内外刺激因素如各种炎症细胞因子、生长因子、氧自由基、缺血缺氧、渗透压改变、休克和感染等均可激活该信号通路。激活的 p38MAPK 可使它的直属下游底物活化转录因子 2(activated transcription factor 2,ATF-2)磷酸化。已被磷酸化的 ATF-2 也能以同构二聚体或异构二聚体复合物的方式与 JNK 通路下游底物化因子蛋白 AP-1 结合,提高其生物学效应,促进下游靶基因的表达^[8]。MAPK 通过胞内信号通路传递调节体内细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡以及各种应激和炎症反应等多种生理过程,其中 p38MAPK 则是最主要、目前研究最深入的 MAPK 家族成员之一,是调节胰腺腺泡细胞中多种细胞因子和趋化因子表达的主要信号途径^[9]。

炎症刺激,如 LPS、TNF-α 和缺血-再灌注等均可介导中性粒细胞、单核细胞和内皮细胞等先天性免疫细胞 p38MAPK 激活^[10]。p38MAPK 信号的活化被认为与 SAP 的发生、发展密切相关^[11]。国内外动物实验研究发现,SAP 模型诱导后,胰腺组织的 p38MAPK 显著活化,并可进一步激活 NF-κB 等信号通路表达,而使用 p38MAPK 抑制剂能明显减少循环中 IL-1、TNF-α 这些促炎性细胞因子的量,从而能够降低 SAP 大鼠死亡率^[12,13]。但对其通路的具体作用途径未见详细阐述。

伴随肠源性内毒素的释放入血,在细胞膜作用于 Toll 样受体 4 后可激活两条通路:即 MAP3K 及 MyD88 通路,继而激活一系列下游调控因子,其中需要说明的是 MAP3K 通路。MAPK 超家族的 3 个亚族:ERK、JNK、p38MAPK,分别对应的下游底物是:SRF、AP-1、ATF2,而其底物之间又可以逐步化生,最终促使靶基因 NF-κB mRNA 的表达,导致炎症因子的泛滥。研究证实:P38 MAPK 的抑制剂 SB203580 的作用途径是竞争性地与 p38MAPK 的 ATP 位点结合而阻止其磷酸化下游的活化转录因子 ATF2,进而阻断其酶活性的活化,而并不直接参与 P38 MAPK 磷酸化^[14]。因此,ATF2 的含量高低是反映 p38 MAPK 酶

活性的重要指标。本研究发现 SAP 时 MAPK 信号通路中的 p38MAPK 及 ATF2 基因表达均上升,由此推断该条信号转导通路在疾病的发生发展过程中得到激活。清下化瘀方可作用调节 p38MAPK/ATF2 信号分子,降低其阳性表达,减少炎症介质释放。研究结果显示中药组也有相同趋势善宁组 p38MAPK、ATF2 表达与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),考虑 ATF2 为下游因子,存在着复杂的网络关系,不仅受 p38MAPK 调控,也可能与 AP-1 等激活有关,故 p38MAPK/ATF2 活化可能不是善宁的主要作用途径。

本研究发现清下化瘀方可调控作用 p38MAPK/ATF2 通路,对 SAP 起保护作用,并且在疾病发生发展过程中 ATF2 可能存在其它上游调控因子,说明也许还有其他通路参与其中,这也为今后中医药多靶点作用研究提供新一个思考方向。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Vege SS, Gardner TB, Chari ST, et al. Low mortality and high morbidity in severe acute pancreatitis without organ failure: a case for revising the Atlanta classification to include "moderately severe acute pancreatitis" [J]. *Am J Gastroenterol*, 2009, 104(3): 710-715.
- [2] Reintam Blaser A, Malbrain ML, Starkopf J, et al. Gastrointestinal function in intensive care patients: terminology, definitions and management. Recommendations of the ESICM Working Group on Abdominal Problems [J]. *Intens Care Med*, 2012, 38(3): 384-394.
- [3] 孔婧, 王晓素, 周秉舵, 等. 清下化瘀方及拆方对大鼠实验性重症胰腺炎肠黏膜屏障的影响研究[J]. *中国中医急症*, 2012, 21(2): 209-211.
- [4] 周秉舵, 王晓素, 孔婧, 等. 清下解胰方对重症胰腺炎大鼠 TLR4/NF-KB 信号通路的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2012, 35(12): 830-834.
- [5] Spormann H, Sokolowski A, Letko G. Effect of temporary ischemia upon development and histological patterns of acute pancreatitis in the rat [J]. *Pathol Res Pract*, 1989, 184: 507-513.
- [6] Chiu CJ, Mcardle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low flow states I. A morphologi-

cal, hemodynamic, and metabolic reappraisal [J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478-483.

- [7] Bollen TL, Singh VK, Maurer R, et al. A comparative evaluation of radiologic and clinical scoring systems in the early prediction of severity in acute pancreatitis [J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 10(1): 612-619.
- [8] Norman JG, Fink GW, Denham W, et al. Tissue specific cytokine production during experimental pancreatitis: a probable mechanism for distant organ dysfunction [J]. *Dig Dis Sci*, 1997, 42(8): 1783-1788.
- [9] Kaya E, Dervisoglu A, Polar C. Evaluation of diagnostic findings and scoring systems in outcome prediction in acute pancreatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(22): 3090-3094.
- [10] Ren HB, Li ZS, Xu GM, et al. Dynamic changes of mitogen-activated protein kinase signal transduction in rats with severe acute pancreatitis [J]. *Chin J Dig Dis*, 2004, 5(3): 123-125.
- [11] Arbabi S, Rosengart MR, Garcia I, et al. Priming interleukin 8 production: role of platelet-activating factor and p38 [J]. *Arch Surg*, 2010, 134(12): 1348-1353.
- [12] Eguchi H, Iwaki K, Shibata K, et al. Protease-activated receptor-2 regulates cyclooxygenase-2 expression in human bile duct cancer via the pathways of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor kappaB [J]. *J Hepato Biliary Pancreatic Sci*, 2011, 18(2): 147-153.
- [13] 任洪波, 李延青, 程宝泉, 等. 丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路抑制剂对重症急性胰腺炎治疗作用的实验研究[J]. *中华消化杂志*, 2006, 26(5): 343-345.
- [14] Hommes DW, Peppelenbosch MP, Deventer S. Mitogen activated protein (MAP) kinase signal transduction pathways and novel anti-inflammatory targets [J]. *Gut*, 2003, 52(1): 144-151.
- [15] Hove TT, Blink BVD, Pronk I, et al. Dichotomous role of inhibition of p38 MAPK with SB 203580 in experimental colitis [J]. *Gut*, 2002, 50(4): 507-512.

(收稿: 2018-11-08 在线: 2019-05-29)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶