

· 基础研究 ·

大承气汤对重症急性胰腺炎大鼠肠屏障及
肠淋巴组织炎症因子的影响

唐义爽 周秉舵 孔 婧 刘晓文 王晓素 何 聪

王慧超 方盛泉 朱生樑

摘要 目的 研究大承气汤对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠肠屏障的保护作用及对肠淋巴组织中炎症因子的影响。**方法** 60只大鼠随机分为假手术组、模型组、善宁组和大承气汤组,每组15只。除假手术组外,其他各组均采用逆行胆胰管注射5%牛磺胆酸钠的方法建立SAP模型,并相应给予醋酸奥曲肽注射液(善宁)及大承气汤治疗后取材。观察大鼠胰腺和末端回肠病理学改变,ELISA检测血清D-乳酸、二胺氧化酶(DAO)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、细胞间黏附分子1(ICAM1),实时荧光定量PCR检测肠淋巴组织中TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA表达水平变化。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠胰腺和回肠病理损伤明显($P<0.01$);血清D-乳酸、DAO、TNF- α 、IL-6、ICAM1含量显著增高($P<0.01$),肠淋巴组织中TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA表达上调($P<0.01$)。与模型组比较,大承气汤组大鼠胰腺和回肠病理损伤均明显减轻($P<0.05$, $P<0.01$);血清D-乳酸、DAO、TNF- α 、IL-6和ICAM1表达降低($P<0.01$),肠淋巴组织中TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA表达下调($P<0.01$)。**结论** 大承气汤能有效减轻SAP大鼠胰腺和肠屏障损伤,其保护机制可能与减少炎症因子经肠淋巴途径的移位,抑制系统炎症反应有关。

关键词 大承气汤;重症急性胰腺炎;肠屏障;肠淋巴组织;炎症因子

Effect of Dachengqi Decoction on Intestinal Barrier and Inflammatory Factors in Intestinal Lymphoid Tissue of Severe Acute Pancreatitis Rats TANG Yi-shuang, ZHOU Bing-duo, KONG Jing, LIU Xiao-wen, WANG Xiao-su, HE Cong, WANG Hui-chao, FANG Sheng-quan, and ZHU Sheng-liang
Department of Digestion, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (200437)

ABSTRACT Objective To study the protective effect of Dachengqi Decoction (DCQD) on the intestinal barrier of severe acute pancreatitis (SAP) rats and to observe its effect on inflammatory factors in intestinal lymphoid tissues. **Methods** Totally 60 rats were randomly divided into sham operation group (SO), model group (SAP), Octreotide acetate Injection (Shanning) group (SN), and DCQD group, 15 in each group. Except rats in the SO group, all rats in the other groups were subjected to SAP model by retrograde injection of 5% sodium taurocholate into the biliopancreatic duct, and samples were collected after intervention with SN and DCQD respectively. The histopathological changes of pancreatic and terminal ileum tissues as well as the expressions of serum D-lactate, diamine oxidase (DAO), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-6, and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) were observed. Additionally, the expressions of TNF- α , IL-6 and ICAM1 mRNA in intestinal lymphoid tissue were also detected. **Results** Compared with the SO group, pathological damage of the pancreas and ileum of the SAP group was significant ($P<0.01$), and the levels of serum D-lactic acid, DAO, TNF- α , IL-6, and ICAM1 significantly increased ($P<0.01$), the expressions of TNF- α , IL-6, ICAM1 mRNA in intestinal lymphoid tissues were up-regulated ($P<0.01$). Compared with the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81973809);上海市中西医临床协作试点建设项目(No. ZY2018-2020-FWTX-1004);全国中医药创新骨干人才培养项目(No. 国中医药人教函〔2019〕128号);上海中医药大学“杏林传承型人才培养计划”项目[No. 上中医人字(2019)10号]

作者单位: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)

通讯作者:周秉舵, Tel: 021-65161782, E-mail: bingduozhou@163.com

DOI:10. 7661/j. cjim. 20201026. 365

model group, the pathological damage of pancreas and ileum in rats of the DCQD group was significantly alleviated ($P<0.05$, $P<0.01$), the expressions of serum D-lactic acid, DAO, TNF- α , IL-6, and ICAM1 decreased ($P<0.01$), and the expressions of TNF- α , IL-6, and ICAM1 mRNA in intestinal lymphoid tissue were down-regulated ($P<0.01$). **Conclusion** DCQD effectively attenuated the damage of pancreatic and intestinal barriers in SAP rats, and its protective mechanism might be related to reducing the translocation of inflammatory factors through intestinal lymph pathways and inhibiting systemic inflammatory responses.

KEYWORDS Dachengqi Decoction; severe acute pancreatitis; intestinal barrier; intestinal lymphoid tissue; inflammatory factor

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是由胰腺局部炎症引起的以全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 和多器官功能衰竭综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 为特点的消化系统常见急危重症之一, 并发多器官功能衰竭 (multiple organ failure, MOF) 是引起 SAP 患者高病死率的重要原因^[1]。作为机体应激的中心器官, 肠道缺血再灌注损伤是 SAP 常见并发症, 但其亦可作为炎症反应的放大器, 在诱导 SIRS 和 MODS 中起重要作用。有研究表明, 除细菌及其毒素外, 肠道损伤产生的某些炎症介质突破受损的肠屏障, 经肠淋巴途径移位至系统循环也是导致肠源性 MODS 发生的重要机制^[2]。因此, 保护肠黏膜屏障, 减少肠源性炎性介质经肠淋巴途径移位可能是抑制 MOF 发展, 治疗 SAP 的关键。

SAP 病理过程复杂, 目前尚无特效治疗药物, 中医药作为现代内科综合治疗 SAP 的重要组成部分, 在提高 SAP 临床疗效、改善 SAP 患者预后方面发挥了积极作用^[3,4]。根据 SAP 的病因病机及临床表现特点, 现代医家多将其归属于阳明腑实证范畴, “通里攻下” 是临床常用治疗方法^[5]。其中通里攻下代表方大承气汤协同西医药治疗 SAP 疗效确切^[6,7], 备受关注, 但大承气汤从肠论治胰腺疾病的机制尚未阐明。故本实验拟以肠屏障和肠淋巴组织中的炎症因子为切入点, 探讨大承气汤治疗 SAP 的部分作用机制, 以期为大承气汤在 SAP 的临床运用提供实验数据支持。

材料与方法

1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 60 只, 8 周龄, (200±20)g, 由中国科学院上海斯莱克实验动物有限公司提供[许可证号 SCXK(沪, 2017-0005)]。置于清洁级动物饲养室, 20~24℃, 光照和黑暗各 12 h 交替, 自由进食标准颗粒饲料及饮水, 适应性喂养 1 周。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-2018-087)。

2 药物 大承气汤组成及制备: 依据《伤寒论》原方比例(大黄:厚朴:枳实:芒硝为 4:8:4:3), 参考陈德兴等主编的《方剂学》^[8], 本实验中大承气汤方用: 生大黄 12 g 厚朴 24 g 枳实 12 g 芒硝 9 g, 饮片由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院中药房提供。加水 600 mL, 浸泡 30 min, 煎煮方法遵《伤寒论》: “用水先煮二物, 去滓; 纳大黄, 更煮, 去滓; 纳芒硝, 更上微火一二沸”。后用 4 层医用纱布过滤药液, 3 000 r/min 离心 30 min, 在 45℃ 的真空旋转蒸发器中减压浓缩至生药量含为 1 g/mL, 即浓度为 100%, 4℃ 保存备用, 使用前混匀。牛磺胆酸钠(sodium taurocholate, 美国 Sigma 公司, 批号: CAS145-42-6), 使用前用注射用水配成 5% 的牛磺胆酸钠, 4℃ 保存备用。戊巴比妥钠(pentobarbital sodium, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: WS20181129), 使用前用注射用水配成 2% 戊巴比妥钠, 4℃ 避光保存备用。醋酸奥曲肽注射液(善宁, 0.1 mg/mL, 诺华制药有限公司, 批号: H20180148)。

3 主要试剂及仪器 D-乳酸、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、IL-6、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM1) 大鼠 ELISA 试剂盒(南京建成科技有限公司, 批号: 20180215, 20180111, 20180310, 20180403, 20180323)。RT 试剂盒(TAKARA, 批号: AK3501), Sybr Green(TAKARA, 批号: AIF1688A)。BCA 蛋白试剂盒(Invitrogen, 批号: RF234172)。自动脱水机(TP1020, 德国 Leica), 包埋机(EG1160, 德国 Leica), 超薄切片机(德国 RM2135, Leica), Olympus 全自动显微镜照相装置(Zeiss AxioCam 512 color, 奥林巴斯光学工业株式会社), Olympus 显微镜(BX50, 奥林巴斯光学工业株式会社), 透射电子显微镜(Tecna G2 Spirit BioTWIN, 美国 ABI), 实时荧光定量 PCR 仪(7500fast, 美国 ABI)。

4 SAP 大鼠造模方法 采用逆胆胰管注射 5% 牛磺胆酸钠(1 mL/kg)的方法建立 SAP 模型^[9]。2% 戊

巴比妥钠(1 mL/kg)腹腔麻醉,开腹后用动脉夹阻断胆胰管入肝门处,用 22 号留置针针头缓慢穿刺胆胰管,进针 0.5 cm 后拔除针芯,继续进针 1 cm。用微量泵以 12 mL/h 持续匀速输入牛磺胆酸钠。在输注过程中,用生理盐水保持肠道湿润,并监测胆管和胰腺的外观。随着液体的输入,胰腺可出现明显水肿。输液完成后维持压力 3 min,去动脉夹,逐层关腹。术后于所有动物左右后肢皮下各注射生理盐水 10 mL/kg,禁食不禁水。

5 分组及干预方法 60 只 SD 大鼠随机分为 4 组,每组各 15 只。假手术组:仅在常规消毒后做开腹术,翻转胰腺后关腹,术后每次予生理盐水 2 mL/kg 灌胃;模型组:造模方法同上,术后每次予生理盐水 2 mL/kg 灌胃;善宁组:造模方法同上,术后每次予善宁(0.0017 mg/kg)皮下注射;大承气汤组:造模方法同上,术后予大承气汤[5.99 g/(kg·d)]灌胃。根据大鼠用药量为单位成人用药剂量的 6.3 倍^[10],大鼠体重统一按每只 300 g 计算,大承气汤大鼠的等效剂量为 5.99 g/kg,即大鼠每日给药剂量为 1.8 g,灌胃 1.8 mL 汤剂,每次 0.45 mL。善宁成人每次 0.1 mg,大鼠的等效剂量为 0.0017 mg/g,每只大鼠每次给药剂量 0.003 mg,给药体积为 0.03 mL。给药时间均为术前 1 h 和术后 1、11、23 h。

6 观察指标及检测方法

6.1 样本采集 造模后 24 h,腹腔注射 2%戊巴比妥钠 0.2 mL/100 g 麻醉,打开腹腔。(1)腹主动脉采血,静置 2 h 后 3 000 r/min 离心 10 min 取血清,冻存备用;(2)取肠淋巴组织冻存备用;(3)取约 0.5 cm 末端回肠组织,沿系膜剖开后生理盐水冲洗干净,用 10%福尔马林固定,行 HE 染色检查;另取约 0.5 cm 末端回肠组织用 2.5%戊二醛固定,制备电镜标本;(4)取约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 胰头部组织一块,10%福尔马林固定,行胰腺 HE 染色检查。

6.2 病理学观察 对充分固定的胰腺和回肠组织常规脱水、透明、石蜡包埋、切片(4 μm),HE 染色后观察组织学改变,根据 Spormann H 等^[11]的方法,在光镜下行胰腺损伤组织学评价。根据 Chiu C 等^[12]的方法在光镜下行肠损伤组织学评价。

6.3 透射电镜观察肠组织结构 固定好的肠组织标本经 PBS 清洗、1%四氧化锇溶液固定、脱水、包埋、切片等处理后,再经醋酸铀和柠檬酸铅染色,透射电镜下观察肠微绒毛结构及肠上皮细胞连接结构。

6.4 血清 D-乳酸、DAO、TNF-α、IL-6 及 ICAM1 的表达 采用 ELISA 检测,均严格按照说明书操作。

6.5 肠淋巴组织 TNF-α、IL-6、ICAM1 mRNA 表

达 采用实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测。取肠淋巴组织 50 mg,用 TRIzol 试剂提取 RNA,检测 RNA 浓度,并用 Prime Script RT 试剂盒反转录成 cDNA。使用 Sybr Green 试剂盒和不同的引物组进行 Real-time qPCR,检测程序为 95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,95 ℃ 15 s,40 个循环。目的基因的相对表达量采用 $\Delta\Delta C_t$ 法加以计算,样本的相对表达量 $=2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。实验中所用到的引物序列见表 1。引物由上海英俊生物技术有限公司合成。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因名称	引物	长度 (bp)
TNF-α	上游:5'-TGCCTCAGCCTCTTCTCATT-3'	108
	下游:5'-CCCATTGGGAACCTTCTCCT-3'	
IL-6	上游:5'-CCGGAGAGGAGACTTCACAG-3'	134
	下游:5'-CAGAATTGCCATTGCACAAC-3'	
ICAM1	上游:5'-TGGGGTTGGAGACTAACTGG-3'	118
	下游:5'-GTGCCACAGTTCTCAAAGCA-3'	
β-actin	上游:5'-AGCCATGTACGTAGCCATCC-3'	115
	下游:5'-ACCCTCATAGATGGGCACAG-3'	

7 统计学方法 本实验中的数据使用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD 法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

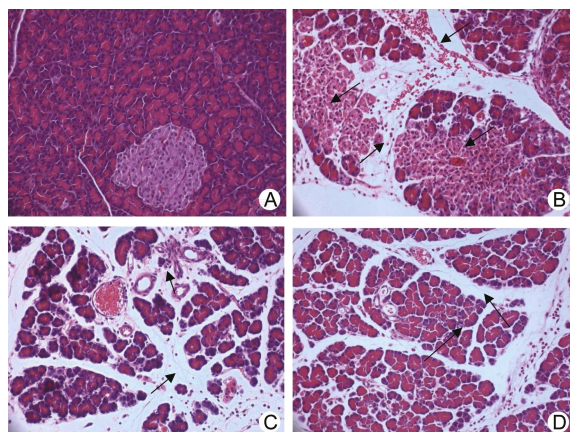
1 大鼠死亡情况 实验过程中,假手术组因为麻醉意外死亡 1 只,模型组死亡 5 只,善宁组死亡 4 只,大承气汤组死亡 3 只。

2 各组大鼠胰腺组织病理变化比较 (图 1,表 2) 光镜下观察可见假手术组胰腺组织包膜完整,细胞结构正常。模型组大鼠胰腺组织广泛凝固性坏死,夹杂大片出血灶,间质水肿,伴大量炎性细胞浸润。善宁和大承气汤治疗组亦可见胰腺组织类似病理改变,但较模型组均有不同程度改善,且大承气汤组的改善作用较善宁组明显,特别是在胰腺实质坏死方面。模型组病理积分最高,与假手术组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),善宁组和大承气汤组较模型组均明显降低($P<0.05$),但两组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠胰腺组织病理积分比较 (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	胰腺组织病理积分
假手术	14	0.29±0.47
模型	10	5.30±1.25
善宁	11	4.18±0.75 ^Δ
大承气汤	12	2.00±0.43 ^Δ

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,^Δ $P<0.05$



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为善宁组;D 为大承气汤组;图中箭头分别表示出血、坏死、间质水肿

图 1 各组大鼠胰腺组织病理变化比较 (HE, ×200)

3 各组大鼠肠黏膜组织形态学及血清 D-乳酸及 DAO 比较(图 2, 表 3) 在光镜下观察, 可见假手术组肠黏膜结构基本正常。模型组大鼠肠黏膜充血水肿, 绒毛变矮、脱落、缺损, 伴炎症细胞浸润。善宁组可见黏膜水肿, 局部绒毛脱落、消失, 炎细胞浸润。大承气汤组可见局部绒毛脱落, 但其他病理损伤明显减轻。模型组病理评分最高, 与假手术组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.01$); 与模型组比较, 善宁组病理积分降低, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$); 大承气汤组较模型组病理积分降低明显, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。在透射电镜下观察, 可见假手术组大鼠肠黏膜结构完整, 线粒体结构正常。模型组肠上皮绒毛局部稀疏脱落, 排列紊乱, 紧密连接结构被破坏, 部分线粒体肿胀, 内质网扩张。善宁组上述病理变化仍较明显。大承气汤组肠上皮绒毛无明显脱落, 紧密连接结构恢复, 线粒

体水肿及内质网扩张均减轻。与假手术组比较, 模型组血清 D-乳酸和 DAO 水平均显著升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 大承气汤组及善宁组血清 D-乳酸和 DAO 水平均明显下降, 且差异有统计学意义 ($P<0.01$), 且大承气汤组较善宁组下降更明显 ($P<0.01$)。

表 3 各组大鼠回肠病理积分、血清 D-乳酸及 DAO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	回肠病理积分 (分)	血清 D-乳酸 ($\mu\text{mol/L}$)	血清 DAO (U/L)
假手术	14	0.29±0.47	20.46±3.46	220.12±37.91
模型	10	3.30±0.68*	53.97±10.31*	1 068.93±200.47*
善宁	11	2.82±0.60	45.94±3.55 ^{△△}	904.01±122.74 ^{△△}
大承气汤	12	2.42±0.52 [△]	31.45±7.78 ^{△△△}	551.52±74.65 ^{△△△}

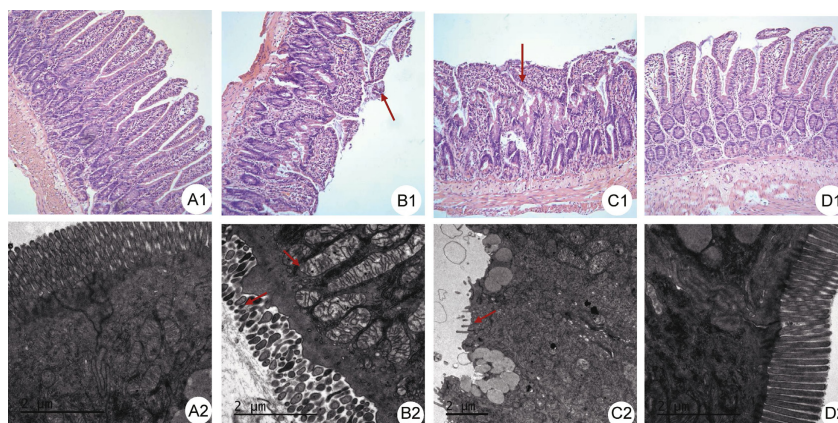
注: 与假手术组比较, * $P<0.01$; 与模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$; 与善宁组比较, ^{△△} $P<0.01$

4 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 及 ICAM1 水平比较(表 4) 与假手术组比较, 模型组血清促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6、ICAM1 水平均显著升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 善宁组和大承气汤组血清 TNF- α 、IL-6、ICAM1 水平均明显下降 ($P<0.05$, $P<0.01$), 且大承气汤的抑制作用较善宁组更显著 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 4 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-6 及 ICAM1 水平比较 (pg/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	TNF- α	IL-6	ICAM1
假手术	14	122.34±39.00	62.17±10.04	19.41±2.85
模型	10	396.88±82.67*	214.18±77.57*	67.06±14.85*
善宁	11	323.01±26.29 [△]	142.75±13.94 [△]	51.57±3.64 ^{△△}
大承气汤	12	214.58±26.46 ^{△△△}	87.33±27.66 ^{△△△}	29.59±11.21 ^{△△△}

注: 与假手术组比较, * $P<0.01$; 与模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$; 与善宁组比较, ^{△△} $P<0.05$, ^{△△△} $P<0.01$



注: A 为假手术组;B 为模型组;C 为善宁组;D 为大承气汤组;A1~D1 为光镜结果 (HE, ×200);A2~D2 为电镜结果 (×5 000);图 B1 中箭头表示绒毛脱落、变矮;B2 中箭头表示线粒体肿胀、绒毛稀疏;图 C1 中箭头表示绒毛紊乱;C2 中箭头表示绒毛稀疏、脱落

图 2 各组大鼠肠黏膜组织形态学变化

5 各组大鼠肠淋巴组织 TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA 结果比较(表 5) Real-time PCR 结果表明,与假手术组比较,模型组肠淋巴组织中 TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA 水平均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,善宁组和大承气汤组肠淋巴组织中 TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA 水平均明显下降($P<0.01$)。其中大承气汤对 TNF- α 下调作用更显著,与善宁组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 5 各组大鼠肠淋巴组织 TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA 结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TNF- α mRNA	IL-6 mRNA	ICAM1 mRNA
假手术	14	0.90 $\pm$ 0.11	1.64 $\pm$ 1.20	1.04 $\pm$ 0.13
模型	10	5.95 $\pm$ 1.31*	6.84 $\pm$ 1.28*	6.35 $\pm$ 1.31*
善宁	11	3.08 $\pm$ 0.96 Δ	3.55 $\pm$ 0.90 Δ	3.16 $\pm$ 0.39 Δ
大承气汤	12	2.11 $\pm$ 0.36 $\Delta\Delta$	2.45 $\pm$ 1.43 $\Delta\Delta$	1.95 $\pm$ 0.32 $\Delta\Delta$

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$;与善宁组比较, $\Delta\Delta P<0.05$

讨 论

SAP 是一种病死率高达 30% 的消化系统危重疾病,并发 MODS 或 MOF 是患者的主要死亡原因^[13],但其病理机制目前尚未明晰。普遍认为肠屏障损伤导致肠道细菌、内毒素移位,引起肠源性内毒素血症,从而诱发或加重多脏器功能衰竭,是导致 SAP 患者死亡风险增加的主要原因^[14],但其具体机制仍存在各种争议。传统的细菌移位理论认为,肠腔内的细菌及其毒素通过损伤的肠屏障,经门脉系统回流到肝脏,扩散至全身,是肠屏障损伤引起远隔组织器官损伤的主要机制。但在一些研究中,除肠系膜淋巴外,并未能在门脉血中找到移位的细菌及其毒素^[15]。

临床观察到在严重创伤、大手术、失血性休克等情况下,肺往往是第一个受累的器官。在 SAP 临床,急性肺损伤(acute lung injury, ALI)及急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)亦通常是患者 MOF 中首发且最常见的并发症,且约 60% SAP 患者的死亡与 ALI/ARDS 有关^[16]。而在解剖结构上,肺是第一个接受经肠淋巴介导的肠源性毒性物质的器官^[2]。于是有研究者推测细菌及其毒素可能经淋巴途径移位导致肺损伤,并对此进行了系列研究。结果表明对失血性休克的动物模型行淋巴管结扎或引流可以预防休克引起的器官功能障碍^[17],将失血性休克动物模型的淋巴液输入正常动物体内可以复制休克引起的肺病理损伤^[18]。这提示肠淋巴途径在上述疾病模型继发 ALI/ARDS,乃至

MODS 的机制中起重要作用。但其中间环节和具体机制仍未完全阐明,细菌及内毒素是否是造成 MODS 的唯一因素,以及通过何种途径造成 MODS 值得进一步研究。

于是有研究证明肠源性 MODS 的发生除细菌及内毒素在其中发挥作用外,肠道损伤产生的某些炎症介质也可能参与这一过程,淋巴液在创伤打击早期具有快速转运肠道和肠道相关淋巴组织产生的各种炎症介质的作用^[19]。基于此,有学者提出肠源性因子经肠淋巴途径到达系统循环的“肠淋巴途径”新理论,使得肠淋巴途径及肠屏障功能对系统影响成为近年的研究热点和重点。已有研究表明胸导管结扎可以减少中性粒细胞浸润和 TNF- α 释放,进而减轻急性出血坏死性胰腺炎大鼠的肺损伤,胸导管引流术可以同时减轻急性出血坏死性胰腺炎大鼠的肺、肠和胰腺损伤^[20]。将血压正常的急性胰腺炎大鼠的肠系膜淋巴液注入离体灌注的正常大鼠心脏,可引起急性心脏功能障碍,通过肠系膜淋巴外引流转移肠系膜淋巴液可预防这种心脏功能障碍并减轻心脏组织病理损伤^[21]。提示肠淋巴因素在 SAP 器官功能损伤和障碍中起重要作用,保护肠黏膜屏障,减少肠源性炎症介质经肠淋巴途径移位可能是抑制 MODS 发展,治疗 SAP 的关键。大承气汤通里攻下治疗 SAP 在减少系统并发症发生、改善患者预后方面疗效确切,但机制不明,肠淋巴途径会不会是它的另一潜在作用靶点?

本研究首先利用光镜和透射电镜从宏观和微观两个维度评估大承气汤对 SAP 大鼠肠屏障的保护作用。观察发现 SAP 模型组大鼠肠组织形态及超微结构发生明显损伤。大承气汤治疗不仅可以显著减轻实验性 SAP 大鼠肠黏膜屏障损伤,还可以降低血清肠黏膜屏障损伤标志物 D-乳酸和 DAO 水平。提示本实验中大承气汤对肠黏膜屏障具有保护作用。在现代关于 SAP 发病机制的各种学说中“细胞因子学说”占有重要地位。其中,促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-6 过表达与 SAP 密切相关,二者的血清浓度变化通常被用作判断 SAP 严重程度的指标^[22]。ICAM1 属于黏附分子中免疫球蛋白超家族中的成员,介导细胞间或细胞与细胞外基质间的黏附作用,参与炎症损伤病理过程。最新研究表明,急性胰腺炎患者血清 ICAM1 表达水平同样与病情进展有关,并可作为预测 SAP 发病及预后评估的依据^[23]。本实验研究结果表明,大承气汤治疗可显著降低 SAP 大鼠模型血清 TNF- α 、IL-6、ICAM1 水平,改善 SAP 大鼠胰腺病理损伤,并降低胰腺组织病理积分。提示大承气汤具有抑制系统炎症反应,减轻胰腺

损伤的作用。Real-time PCR 结果表明, SAP 大鼠肠淋巴组织中 TNF- α 、IL-6、ICAM1 mRNA 表达水平显著上调, 大承气汤治疗可降低其表达水平, 提示大承气汤治疗具有减少 SAP 大鼠肠淋巴组织中炎症因子的作用。

综上所述, 本研究表明大承气汤具有减轻 SAP 大鼠胰腺和肠黏膜屏障损伤的作用, 并初步证实其保护机制可能与减少炎症因子经肠淋巴途径的移位, 抑制系统炎症反应有关。本研究为从肠淋巴途径探讨 SAP 并发 MODS 打下基础并指明方向。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] Forsmark C, Vege S, Wilcox C. Acute pancreatitis [J]. N Engl J Med, 2016, 375(20): 1972-1981.
- [2] Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review [J]. Front Biol, 2006, 11: 520-528.
- [3] Li J, Zhang S, Zhou R, et al. Perspectives of traditional Chinese medicine in pancreas protection for acute pancreatitis [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(20): 3615-3623.
- [4] 崔云峰, 屈振亮, 齐清会, 等. 重症急性胰腺炎中西医结合诊治指南(2014 年, 天津) [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(3): 327-331.
- [5] 中华中医药学会脾胃病分会. 急性胰腺炎中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. 临床肝胆病杂志, 2017, 33(11): 2052-2057.
- [6] 黄野, 李红昌, 孙文杰, 等. 大承气汤治疗重症急性胰腺炎多中心随机对照研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(8): 949-953.
- [7] 徐艳琴, 朱海超, 李进, 等. 不同给药方式的大承气汤治疗重症急性胰腺炎临床研究 [J]. 国医论坛, 2019, 34(3): 19-21.
- [8] 陈德兴, 文小平主编. 方剂学 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2013: 72.
- [9] Aho HJ, Nevalainen TJ, Aho AJ. Experimental pancreatitis in the rat. Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection [J]. Eur Surg Res, 1983, 15(1): 28-36.
- [10] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [11] 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(5): 507-513.
- [12] Chiu C, McArdle A, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states [J]. Arch Surg, 1970, 101(4): 478-483.
- [13] Guidelines WGIAAP. IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis [J]. Pancreatol, 2013, 13(4 Suppl 2): 1-15.
- [14] Liu J, Huang L, Luo M, et al. Bacterial translocation in acute pancreatitis [J]. Crit Rev Microbiol, 2019, 45(5-6): 539-547.
- [15] MacFie J, Reddy B, Gatt M, et al. Bacterial translocation studied in 927 patients over 13 years [J]. Br J Surg, 2006, 93(1): 87-93.
- [16] Elder A, Saccone G, Dixon D. Lung injury in acute pancreatitis: mechanisms underlying augmented secondary injury [J]. Pancreatol, 2012, 12(1): 49-56.
- [17] He GZ, Dong LG, Chen XF, et al. Lymph duct ligation during ischemia/reperfusion prevents pulmonary dysfunction in a rat model with omega-3 polyunsaturated fatty acid and glutamine [J]. Nutrition, 2011, 27(5): 604-614.
- [18] Senthil M, Watkins A, Barlos D, et al. Intravenous injection of trauma-hemorrhagic shock mesenteric lymph causes lung injury that is dependent upon activation of the inducible nitric oxide synthase pathway [J]. Ann Surg, 2007, 246(5): 822-830.
- [19] Cavriani G, Domingos H, Soares A, et al. Lymphatic system as a path underlying the spread of lung and gut injury after intestinal ischemia/reperfusion in rats [J]. Shock, 2005, 23(4): 330-336.
- [20] Peng H, Zhi FW, Su MJ, et al. Blocking abdominal lymphatic flow attenuates acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis associated lung injury in rats [J]. J Inflamm (Lond), 2013, 10(1): 9.
- [21] Shanbhag S, Choong B, Petrov M, et al. Acute pancreatitis conditioned mesenteric lymph causes cardiac dysfunction in rats independent of hypotension [J]. Surgery, 2018, 163(5): 1097-1105.
- [22] Silva-Vaz P, Abrantes AM, Castelo-Branco M, et al. Multifactorial scores and biomarkers of prognosis of acute pancreatitis: applications to research and practice [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(1): 338-363.
- [23] 严伟, 陈辉. 血清 ICAM-1、SIL-2R、IL-2 水平对重症急性胰腺炎患者病情及预后评估的临床价值 [J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(1): 96-101.

(收稿: 2020-07-19 在线: 2020-12-09)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶