

清胰汤对大鼠急性坏死性胰腺炎 IL-6、IL-10 及肠道通透性影响

杨兴华 孙运波[△] 邢金燕 杨洁婷 董雪芹

(青岛大学医学院附属医院 山东 青岛 266003)

摘要 目的 探讨清胰汤改善大鼠急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis) ANP 炎症反应及肠道通透性功能的治疗效果及机制。方法:将 72 只雄性 SD 大鼠随机分为 3 组,其中 2 组大鼠采用从胰腺被膜下多点缓慢均匀注入 3.8 % 牛黄胆酸钠(0.5 ml/100 g)建立大鼠急性坏死性胰腺炎模型,再分为急性坏死性胰腺炎常规治疗组(A 组)、清胰汤干预治疗组(B 组),其他 24 只大鼠为假手术组(S 组),每组再随机分为 24h、48h、72h 组。各组于 12h 后给予肠内营养,B 组肠内营养后给予 2 次清胰汤 2.5 ml/100 g,A 组、S 组给予同等剂量生理盐水。各组于建模后 24h、48h、72h 处死,腹腔动脉取血检测血清淀粉酶浓度、IL-6、IL-10、D-乳酸水平。结果:48h 时点 B 组 IL-10 水平较 A 组高($P<0.05$),72 时点 B 组血清淀粉酶水平较 A 组低($P<0.01$),IL-6 水平较 A 组低($P<0.01$),IL-10 水平较 A 组高($P<0.01$),D-乳酸水平较 A 组低($P<0.01$)。结论 清胰汤可以上调 IL-10 改善大鼠急性胰腺炎炎症反应从而降低肠道通透性。

关键词 急性坏死性胰腺炎 清胰汤 白细胞介素-6 白细胞介素-10 D-乳酸

中图分类号 R576 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)09-1647-04

Effect of Qingyitang on IL-6 IL-10 and Intestinal Permeability in Rats with Acute Necrotizing Pancreatitis

YANG Xing-hua, SUN Yun-bo[△], XING Jin-yan, YANG Jie-ting, DONG Xue-qin

(Department of ICU, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect and mechanism of Qingyitang on inflammation and gut dysfunction in rats with acute necrotizing pancreatitis (ANP). **Methods:** 72 rats were randomly divided into 3 groups with 24 rats in each group. The rats of two groups were treated by injecting 0.5 ml/100g of 3.8 % sodium taurocholate beneath the pancreatic capsule to get the model of ANP. The 48 rats were divided into the ANP group (A group) and the ANP group treated with Qingyitang (B group). The other 24 rats were sham operation group (S group). The rats of each group were divided into 24h group, 48h group and 72h group. Enteral nutrition was given to rats in each group 12 hours after operation. Rats in group B were given Qingyitang (2.5 ml/100 g) 2 times every day. Rats in other groups were treated with same volume of normal saline solution. Rats were sacrificed by abdominal aorta exsanguinations at 24th, 48th and 72nd hour after the operation. The blood samples were collected for analysis of serum amylase, IL-6, IL-10 and D-Lactate. **Results:** The serum IL-10 level of group B was higher than that of group A at 48th hour ($P<0.05$); The serum amylase, IL-6 and D-Lactate levels of group B were lower than that of group A ($P<0.01$), was higher than that of group A at 72nd hour ($P<0.01$). **Conclusion:** Qingyitang improves the IL-10 level and maintain the intestinal permeability.

Key words: Acute necrotizing pancreatitis; Qingyitang; Interleukin-6; Interleukin-10; D-Lactate

Chinese Library Classification: R576 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)09-1647-04

前言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的急腹症,其起病急、病情凶险、并发症较多、病死率高达 40%^[1]。目前的研究认为急性胰腺炎的发生及病情发展与在“共同通道”学说基础上的胰酶的异常激活、胰腺微循环障碍、炎症反应失衡、机体免疫抑制等有关^[2]。急性胰腺炎时炎性介质释放失控,炎症介质触发“瀑布样”连锁反应可导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)甚

至多器官功能障碍综合征(Multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。重症急性胰腺炎早期,由于严重的炎症反应可引起肠道通透性增高从而导致大量液体丢失,液体不足导致肠道粘膜缺血,影响肠功能。因此,早期减轻炎症反应和预防肠道衰竭成为该疾病早期非手术治疗的关键。本实验通过观察炎症因子 IL-6、IL-10 和 D-乳酸水平变化从而探讨本院自制中药汤剂清胰汤治疗急性坏死性胰腺炎的疗效及作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

牛黄胆酸钠购自 Sigma 公司,IL-6、IL-10 细胞因子酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司,D-乳酸(D-lactate)标准品和 D-乳酸脱氢酶(D-LDL)购自 sigma 公司;自制中药汤剂“清胰汤”[大黄 9 g 芒硝 15 g (冲) 厚朴 30 g

作者简介 杨兴华,硕士研究生,研究方向:急诊医学重症医学专业。E-MAIL:yangxinghua00000@163.com

△通讯作者 孙运波,硕士研究生导师,主任医师。

E-MAIL:sunyunbo163@163.com

(收稿日期 2011-02-04 接受日期 2011-02-28)

木香 9 g 丹皮 9 g 柴胡 15 g 黄芩 9 g 姜下 9 g 竹茹 9 g 乌贼骨 30 g]青岛大学医学院附属医院中药房煎制。

1.2 实验动物分组及模型建立

健康雄性 SD 大鼠 72 只,体重 180-220 g,随机分为 3 组,其中两组 48 只大鼠采用从胰腺被膜下多点缓慢均匀注入牛黄胆酸钠建立急性坏死性胰腺炎模型,再分为 ANP 组(A 组)、清胰汤干预治疗组(B 组),其他 24 只大鼠为假手术组(S 组),每组再随机分为 24h、48h、72h 组,每组 8 只。胰腺炎模型组术前 8h 禁食不禁水,给予 1 %戊巴比妥钠(4 mg/100g 大鼠体重)腹腔注射麻醉,打开腹腔后找到胰腺,用 4 号针给予 3.8 %牛磺胆酸钠(0.5 ml/100 g)从胰尾部开始被膜下多点均匀注入,使整个胰腺隆起。5 分钟左右当胰腺组织发生水肿、渗出、局部出现暗红色时,证实急性坏死性胰腺炎大鼠模型成功,缝合关闭腹腔,假手术组仅翻动胰腺,不作牛黄胆酸钠注射。各组大鼠均经胃幽门区,置入用生理盐水充盈的外径 1.5 mm 无菌硅胶管,远端放置于十二指肠乳头以下 1 cm 左右,荷包缝合固定,经皮下将管从颈部引出,缝扎固定于颈部皮肤,不推注液体时夹闭管口,建模术后于大鼠背部皮下注射生理盐水(2 ml/100 g)补充丢失液体量。建模后 6h 后给予生理盐水(2 ml/100 g)冲洗肠管,24 小时内肠内间歇推注肠内营养制剂百普素 50 ml (每袋 125 g 用温开水溶解成 500 mL 的溶液)。B 组肠内营养后给予清胰汤 2.5 ml/100 g 灌肠一日两次,A 组和 S 组则给给予同等剂量的生理盐水。

1.3 标本采集及检测指标

ANP 成模后于各组分别于 24h、48h、72h 时点处死大鼠,腹主动脉取血装于 EDTA 抗凝管内,待行血淀粉酶、部分血清标本保存于 -80℃冰箱待行 IL-6、IL-10 检测,部分血浆标本保存于 -80℃冰箱,待行 D- 乳酸检测。自动生化分析仪测定血清中淀粉酶浓度,应用 ELISA 方法按试剂盒操作测定 IL-6、IL-10,酶学分光光度法检测血 D- 乳酸水平

1.4 统计学分析

实验数据用平均数± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS16.0 统计学软件进行统计学分析,采用成组设计两样本均数 t 检验,以 P<0.05 表示有统计学意义,P<0.01 表示有显著统计学意义。

2 结果

A 组和 B 组大鼠制模成功后 24h、48h、72h 时点血清淀粉酶(表 1)、血清 IL-6(表 2)、血清 IL-10(表 3)、D- 乳酸水平(表 4)较 S 组明显升高(P<0.01)。A 组与 B 组血清淀粉酶、IL-6 水平、D- 乳酸在 24h、48h 时点差别无统计学意义(P>0.05),B 组与 A 组相比,B 组淀粉酶水平、IL-6 在 72h 时点明显下降(P<0.01)。B 组与 A 组相比,血清 IL-10 水平在 24h 时点无差别(P>0.05),在 48h 时点 B 组血清 IL-10 水平升高(P<0.05),在 72h 时点 B 组血清 IL-10 水平升高有显著统计学意义(P<0.01),结果见表 1-4。

表 1 血清淀粉酶水平(u/L) ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Serum amylase levels (u/L) ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	24h	48h	72h
A	8	5453.7± 454.16	5404.81± 345.25	5322.97± 369.06
B	8	5471.6± 368.96	5511.03± 423.17	4920.19± 308.51 [△]
S	8	1212.8± 247.51	975.35± 118.06	905.04± 145.55

Note:△ P<0.01 B group compared with group A at 72h

表 2 血清 IL-6 水平(pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The serum IL-6 levels (pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	24h	48h	72h
A	8	607.25± 49.02	707.11± 40.02	805.77± 48.68
B	8	598.72± 51.11	678.84± 59.41	581.51± 49.58 [△]
S	8	153.70± 15.25	183.50± 11.52	236.70± 24.21

Note:△ P<0.01 B group compared with group A at 72h

表 3 血清 IL-10 水平(pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 The serum IL-10 levels (pg/mL) ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	24h	48h	72h
A	8	88.79± 14.44	159.78± 16.59	193.42± 15.98
B	8	85.86± 9.52	177.93± 16.14 ^{△△}	222.52± 14.32 [△]
S	8	21.61± 2.71	34.68± 6.76	35.42± 4.55

Note:△△P<0.05 at 48h; △ P<0.01 at 72h compared with group A

表 4 血 D- 乳酸水平(ug/mL) ($\bar{x} \pm s$)
Table 4 The serum D-Lactate levels (ug /mL) ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	24h	48h	72h
A	8	67.26± 5.17	82.01± 7.02	106.28± 10.45
B	8	64.23± 5.75	76.63± 9.44	86.39± 6.49 [△]
S	8	16.48± 4.47	19.13± 3.66	15.38± 4.55

Note: △ P<0.01 B Group compared with group A

3 讨论

研究证实促炎细胞因子在胰腺炎发病及后继的 MODS 中起着重要的作用^[3]。IL-6 是一种重要的急性反应期炎症递质,主要由活化的单核巨噬细胞产生,IL-6 水平能很好地评估急性胰腺炎的严重程度,IL-6 可作为预测急性胰腺炎疾病程度的重要指标^[4-5]。在 SAP 早期,若全身炎症反应综合症不能有效控制,炎性因子增加,抗炎性因子相对不足,则 MODS 的发生率将明显增加^[6]。IL-10 是由巨噬细胞、树突状细胞、T 淋巴细胞等释放的一种主要抗炎因子,能够抑制巨噬细胞和树突状细胞的活化,抑制它们分泌细胞因子和辅助其他细胞的能力,限制炎症反应^[7]。Van Laethem JL 等研究发现,IL-10 通过控制 TNF-α 的生成对胰腺局部和全身器官起到保护作用^[8]。血清 IL-10 浓度能够反映 AP 的严重程度,IL-10 是一个早期预测 AP 预后的有用变量^[9-10]。人们在评价治疗胰腺炎的各种方法时常常通过测定 IL-10 的水平来判断治疗是否有效^[11]。胰腺炎急性期时常伴大量液体丢失到第三间隙,肠道是对缺血再灌注损伤最敏感的器官之一,其损害常伴有肠黏膜通透性增高和肠上皮坏死^[12]。大鼠肠道缺血早期可出现肠黏膜上皮细胞紧密连接处的丝状肌动蛋白丢失,导致黏膜通透性增加^[13]。有研究已经证实 SAP 早期阶段就可以引起肠道屏障功能障碍^[14]。D- 乳酸是肠道固有细菌的代谢终产物,当肠道发生急性缺血时,局部细菌大量繁殖,破坏肠黏膜生物屏障,肠黏膜通透性增加,大量 D- 乳酸进入血液,故检测血中 D- 乳酸水平可以反应肠黏膜损害程度和通透性变化,Sun 等认为 D- 乳酸可成为 SAP 肠功能衰竭的评价指标^[15]。中医学认为,急性胰腺炎属于中医学 " 胁痛 "、" 腹痛 " 等范畴,急性胰腺炎的发生多因肝郁气滞,脾失健运,湿热内蕴,瘀阻于胰而成。目前清热、解毒、活血、攻下是中医治疗胰腺炎的主要方略^[16]。因此应用的清胰汤,具有活血化瘀、通里攻下、推陈致新等功效。药方中大黄素具有促进肠蠕动,解除肠麻痹,中合内毒素,避免胰腺和全身感染的作用,还可抑制胰酶活性^[17]。本实验显示大鼠急性胰腺炎造模后 24 小时,清胰汤处理组 B 组和急性坏死性胰腺炎组 A 组的淀粉酶水平、炎性因子水平和 D- 乳酸水平显著升高,表明急性胰腺炎大鼠存在严重的炎症反应和肠道通透性增加,与其他实验证实 ANP 时肠道黏膜屏障损伤相符^[18]。徐新建等研究急性坏死性胰腺炎大鼠 IL-6,IL-10 造模后开始升高,72 小时明显^[19]。本实验 A 组 IL-6,IL-10 水平于造模后升高,72 小时达高峰。B 组与 A 组 48h 时点血清淀粉酶、IL-6、D- 乳酸水平差别无意义,但 IL-6 水平 48 小时达高峰,72 小时降低,表明本药可以下调 IL-6 水平。本药下调 IL-6 的作用与以往研究结果相符^[20]。B 组 IL-10 水平

48 小时与 A 组比较升高有意义,IL-6、D- 乳酸水平在 72h 时点比 A 组显著降低,IL-10 显著升高。可推断本中药汤剂通过上调 IL-10 水平,降低 IL-6 水平,使促炎介质和抗炎介质达到平衡,从而减轻过度炎症介质释放所造成的肠道黏膜组织损伤。肠道黏膜组织损伤减轻使降低肠道的通透性,如本实验所示表现为血 D- 乳酸的下降,可以进一步减少内毒素的吸收,形成良性循环。本药还可刺激肠道蠕动,中和肠道内毒素,清洁肠道,从而减少细菌移位和各种毒素吸收,减少肠道内有害物质对肠道的损害。

参考文献 (References)

[1] Ioannidis O, Lavrentieva A, Botsios D. Nutrition support in acute pancreatitis[J]. JOP, 2008, 9: 375-390

[2] Raraty MG, Connor S, Criddle DN, et al. Acute pancreatitis and organ failure pathophysiology, natural history, and management strategies strat[J]. Curr Ges Rep, 2004,6(2):99 -103

[3] 林旭红, 李永渝. 急性胰腺炎发病机制及相关治疗的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26 (5) : 1029-1032

Lin Xu-hong, Li Yong-yu. Progress of mechanism and related treatment of acute pancreatitis [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2010,26 (5): 1029-1033

[4] Isogai M, Yeallo A, Fourren D, et al. Hepatic histopathological changes in biliary pancreatitis [J]. Am J Gastroenterol, 1995, 90(5): 449-454

[5] Leser HG, Gross V, Scheibenbogen C, et al. Elevation of serum interleukin-6 concentration precedes acute-phase response and reflects severity in acute pancreatitis[J].Gastroenterology, 1991; 101: 782-785

[6] De Waede JJ, Vogelaers D, Hoste E. Emergence of antibiotic resistance in infected pancreatic necrosis [J]. Arch Surg, 2004,139(12): 1371-1375

[7] Van Laethem JL, Marchant A, Delvaux A, et al. Interleukin-10 prevents necrosis in murine experimental pancreatitis [J]. Gastroenterology, 1995, 108 :1917-1922

[8] Van Laethem JL, Kskinazi R, Louis H, et al. Multisystemic production of interleukin -10 limits the severity of acute pancreatitis in mice[J]. Gut, 1998, 43(3):408-413

[9] Han XC, Zhang YC, Wang Y, et al. Clinical evnhmion of serum interlonkin 10 in patients with acute poncreatitis[J]. Hepatobiliary Poncreat Dis Int, 2003, 2(1):135

[10] Mentula P, Kylanpää ML, Kempainen E, et al. Early predictionof organ failure by combined markers in patients with acute pancreatitis [J]. Br J Surg, 2005, 92: 68-75

[11] Ramudo L, Manso MA, Vicente S, et al. Pro- and anti-inflammatory response of acinar cells during acute pancreatitis, effect of N-acetyl

- cysteine[J]. Cytokine, 2005, 3(32): 125-131
- [12] Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes [J]. World J Surg, 1996, 20:411-417
- [13] Thuijls G, Haan JJ, Derikx JP, et al. Intestinal cytoskeleton degradation precedes tight junction loss following hemorrhagic shock [J]. Shock, 2009, 31(2): 164-169
- [14] Liu H, Li W, Wang X, et al. Early gut mucosal dysfunction in patients with acute pancreatitis[J]. Pancreas, 2008, 36 (2): 192-196
- [15] Sun XQ, Fu XB, Zhang R, et al. Relationship between plasma D-lactate and intestinal damage after severe injuries in rats[J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(4):555-558
- [16] 邹贤德. 中医药治疗急性胰腺炎的进展 [J]. 中国中医急症, 2006, 15(4) 418-419
- Zou Xian-de. Progress in Treatment of Acute Pancreatitis with Traditional Chinese Medicine[J]. Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine, 2006, 15(4) 418-419
- [17] 袁楚明, 陈梦云, 李奕琰, 等. 早期应用生大黄对重症急性胰腺炎的疗效[J]. 胰腺病学. 2007, 7:31-33
- Yuan Chu-ming, Chen Meng-yun, Li Yi-lian, et al. Early use of rhubarb in treatment of severe acute pancreatitis [J]. Chinese Journal of Pancreatology, 2007, 7:31-33
- [18] Cicalese L, Sahai A, Sileri P, et al. Acute pancreatitis and bacterial translocation[J]. Dig Dis Sci, 2001, 46 1127-1132
- [19] 徐新建, 王喜艳, 温浩, 等. 高渗盐水对重症急性胰腺炎全身炎症反应的影响[J]. 中华普通外科杂志, 2004, 19:684-686
- Xu Xin-jian, Wang Xi-yan, Wen hao, et al. Effect of hypertonic saline on systemic inflammatory response in rat with severe acute pancreatitis[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2004, 19:684-686
- [20] 刘晓红, 赵零卿, 钱家鸣. 大黄对大鼠急性出血性胰腺炎的影响[J]. 中华消化杂志, 2004, 24:14-17
- Liu Xiao-hong, Zhao Ling-qing, Qian Jia-ming. Effect of rhubarb on acute hemorrhagic pancreatitis in rats [J]. Chinese Journal of Digestion, 2004, 24: 14-17

·重要信息·

《分子影像学》第二版已正式出版发行

卜丽红¹ 戴薇薇²

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院医学影像科 150001 ; 2 人民卫生出版社医药教育出版中心第四编辑室)

由哈尔滨医科大学附属第四医院申宝忠教授主编的《分子影像学》第二版(ISBN 978-7-117-13344-9/R·13345)一书已于2010年9月14日由人民卫生出版社出版发行。《分子影像学》是国内第一分子影像学大型专著。对于分子影像学的基本概念、基本原理、基本方法 and 应用概况都有精彩而详细的论述,充分体现了国际分子影像学的最新进展。

《分子影像学》第二版由著名医学影像学家、中国工程院院士刘玉清教授和美国分子影像学专家、美国医学科学院院士 Sanjiv Sam Gambhir 教授亲自作序。编委会包括美国哈佛大学、斯坦福大学等国外知名院校 7 名专家作为国外编委,国内多家知名大学、研究中心学术带头人 13 名作为国内编委,还包括国内外共 40 名专家参与编写。

全书共计 130 余万字,收录图片 378 幅,共分基础篇和应用篇。

基础篇共分 10 章,主要介绍了分子影像学的发展简史,分子成像的相关概念、基本原理、基本技术和设备等,内容较第一版更为精准、完善,覆盖面更加宽泛。着重针对探针合成这一当前分子成像研究的技术瓶颈,纳入了材料学、生物学和化学等相关技术内容。

应用篇共分 7 章,着重介绍了分子影像学技术的最新进展和应用情况,并详细介绍了分子成像在肿瘤、中枢神经系统和心血管系统疾病诊断中的应用情况,重点阐述了分子成像在监测基因治疗、活体细胞示踪以及新药研发等方面的最新研究进展,并就分子影像学向临床转化所面临的问题进行了深入剖析。

本书内容系统详实,深入浅出,图文并茂,可读性强。可供医学影像学专业、临床专业学生使用,并可为临床各学科研究生、临床医师及其他相关生命科学的研究人员提供参考。

《分子影像学》精装本定价 260 元,全国各大书店有售。