

· 论著 ·

三七总皂苷对急性坏死性胰腺炎大鼠肺组织
核转录因子- κ B 活性及肺损伤的影响

刘明伟, 安明顺

(云南省昆明市延安医院急诊科, 云南 昆明 650051)

【摘要】 目的 探讨三七总皂苷能否抑制急性坏死性胰腺炎(ANP)大鼠肺核转录因子- κ B(NF- κ B)的活性,并减轻 ANP 时肺组织病理损害。方法 30 只 SD 大鼠被随机分为假手术组(sham 组)、ANP 模型组和三七总皂苷预处理组,每组 10 只。sham 组和 ANP 模型组制模前 1 h 腹腔注射质量分数为 0.9%的生理盐水(1 ml/kg),三七总皂苷组制模前 1 h 腹腔注射 50 g/L 三七总皂苷(1 ml/kg)。用质量分数为 5%的牛磺胆酸钠经大鼠胰胆管逆行注射制备大鼠 ANP 模型;sham 组进腹后仅翻动胰腺和十二指肠后关腹,不注入牛磺胆酸钠。各组于制模 6 h 后处死大鼠,取肺组织测定湿/干重(W/D)比值和 NF- κ B 活性。结果 ANP 模型组肺组织 NF- κ B 阳性细胞率 70%~100%所占比例(7 只比 0 只)和阳性细胞数[(72.52±7.63)PU 比(33.09±4.75)PU]明显高于 sham 组(P 均<0.05),经三七总皂苷预处理后 NF- κ B 阳性细胞率 70%~100%所占比例(0 只比 7 只)和阳性细胞数[(42.77±9.79)PU 比(72.52±7.63)PU]较 ANP 模型组明显下降(P 均<0.05)。ANP 模型组肺组织病理评分及 W/D 比值均较 sham 组显著增高,而三七总皂苷组较 ANP 模型组明显改善(P <0.05 或 P <0.01)。结论 NF- κ B 在 ANP 大鼠肺组织中被明显激活;三七总皂苷可以在体内抑制肺组织中 NF- κ B 的激活,减轻各脏器的病理损害。

【关键词】 胰腺炎,坏死性,急性;大鼠;核转录因子- κ B;三七总皂苷

中图分类号:R285.5;R256.1 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2008)01-0058-03

Effects of panax notoginseng saponins (三七总皂苷) on activity of lung nuclear factor- κ B and acute lung injury in rats with acute necrotizing pancreatitis LIU Ming-wei, AN Ming-shun. Emergency Department, Yan-an Hospital, Kunming 650051, Yunnan, China

【Abstract】 Objective To investigate whether panax notoginseng saponins (三七总皂苷, PNS) can inhibit the activity of lung nuclear factor- κ B (NF- κ B) and ameliorate the lung pathologic injury in rats with acute necrotizing pancreatitis (ANP). **Methods** Thirty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: sham operation group (group sham), ANP group (group ANP), PNS preconditioning group (group PNS). There were 10 rats in each group. Rat ANP model was induced by retrograde injection of 5% sodium taurocholate to pancreatic duct (1 ml/kg). The rats in the PNS preconditioning group were given by intraperitoneal injection of 50 g/L PNS (1 ml/kg) one hour before model establishment, and those in the other two groups were given 0.9% physiological saline (1 ml/kg) one hour before the operation. Put the rat in each group to death at 6 hours after the respective management was made, and the pulmonary tissues were taken to detect the activity of NF- κ B by immunohistochemistry and the wet/dry weight ratio of the lung tissue was measured. **Results** At 6 hours after the model was established in the ANP group, the NF- κ B positive cell number (70%-100% positive cells, 7 vs. 0) and the positive unit [(72.52±7.63)PU vs. (33.09±4.75)PU] in the lung tissue were remarkably increased in comparisons with those in the sham group (both P <0.05). After PNS preconditioning, the NF- κ B positive cell number (70%-100% positive cells, 0 vs. 7) and the positive unit [(42.77±9.79)PU vs. (72.52±7.63)PU, both P <0.05] were decreased significantly in comparisons with those in the ANP group. Histopathology scores and wet/dry weight ratio of lung in group ANP were significantly increased compared with group sham, while those were improved in group PNS compared with group ANP (P <0.05 or P <0.01). **Conclusion** NF- κ B is activated obviously in the lung tissue in ANP rat; PNS may inhibit the activation of NF- κ B in the lung tissue in the body and ameliorate the pathological injury in the various viscera.

【Key words】 acute necrotizing pancreatitis; rat; nuclear factor- κ B; panax notoginseng saponins

目前对急性胰腺炎(AP)发病机制的认识仍不完全清楚,一般认为,临床约 20%~30%的 AP 可发展为重症急性胰腺炎(SAP),其发病急、进展快、病情重,并可进展为全身炎症反应综合征(SIRS),病死率高,多器官功能障碍综合征(MODS)是其主要的死因。核转录因子-κB(NF-κB)被认为是炎症反应发生发展的核心,抑制其活化可能有助于降低 SAP 的病死率。本研究拟通过制备急性坏死性胰腺炎(ANP)大鼠模型,观察三七总皂苷对 ANP 大鼠肺损伤的保护作用及其机制。

1 材料与方 法

1.1 动物分组及模型制备:SD 大鼠 30 只,雌雄不限,体重 250~350 g,平均(300±50)g,购自昆明医学院动物实验中心。按随机数字表法编号分成 3 组:假手术组(sham 组)、ANP 模型组、三七总皂苷预处理组,每组 10 只。用质量分数为 3%的戊巴比妥(昆明医学院动物实验中心提供),1 ml/kg 腹腔内注射麻醉大鼠,开腹找到胰胆管,用左手食指垫起中段十二指肠,辨认肠管壁内潜行十二指肠乳头后,用 5 号注射针头于十二指肠外侧壁无血管区戳一小孔,硬膜外导丝从小孔进入肠管后沿乳头方向探入胰胆管,并与胰胆管呈平行方向顺行推入 1.0~1.5 cm,用显微血管镊夹管固定,同时于肝门下肝管汇合处用另一显微血管镊夹闭肝总管。硬膜外导丝末端连接输液转换器后逆行注入质量分数为 5%的牛磺胆酸钠(美国 Sigma 公司)1 ml/kg,然后以 0.2 ml/min 速度注射毕,停留 4 min,观察到大鼠胰腺出现肿胀、点状出血、坏死、皂化斑形成等改变,即为制模成功。打开微血管夹,移去硬膜外导丝,用 1-0 无损伤缝线缝闭小孔后逐层关腹。sham 组进腹后仅翻动胰腺和十二指肠后关腹,不注入牛磺胆酸钠,其余操作同 ANP 模型组。

1.2 药物干预措施及处理方法:三七总皂苷组大鼠于制模前 1 h 经腹腔注射 50 g/L 三七总皂苷(血塞通注射液,昆明兴中制药有限责任公司)1 ml/kg; ANP 模型组及 sham 组大鼠同时间点腹腔注射质量分数为 0.9%的生理盐水(1 ml/kg)。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 标本的采集与制备:制模 6 h 后处死大鼠,开腹取胰尾,经胸腔取右肺中叶,置于体积分数为 10%的中性甲醛溶液中浸泡固定 48 h 后,乙醇依次脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,4 μm 厚连续切片,分别用于苏木素-伊红(HE)和免疫组化染色。经胸腔取右肺下叶,测定肺组织湿重/干重(W/D)比值。

1.3.2 免疫组化结果判定:用链霉卵白法(SP)法测定 NF-κB 活性。正常情况下 NF-κB 亚单位 p65 区域被 NF-κB 抑制蛋白(IκB)所覆盖,抗 p65 单克隆抗体不能与之结合,只有当 IκB 释放后才能结合,故该抗体能够原位检测到 NF-κB 活性。NF-κB 试剂盒和即用型超敏过氧化物酶标记的 SP 免疫组化试剂盒均购自福州迈新公司。用 Image Pro Plus 图像分析软件(美国 Media Cy Bemetics 公司)计算肺组织 NF-κB p65 阳性细胞数量,以阳性单位(PU)表示。

1.3.3 胰腺和肺组织病理学检查结果判定:肺组织半定量积分参照 Osman 等^[1]和 Hofbauer 等^[2]的评分标准,按水肿、炎性细胞浸润、出血评分,最重者记 3 分,正常者记 0 分。

1.4 统计学分析:应用 SPSS 13.0 统计软件处理数据。检测数值采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行方差分析,计数资料用率和比例表示,等级资料用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺组织 NF-κB p65 阳性细胞率(表 1):ANP 模型组肺组织 NF-κB p65 阳性细胞率较 sham 组明显增多($P < 0.05$);三七总皂苷组与 ANP 模型组比较阳性细胞率明显减少($P < 0.05$)。

表 1 各组肺组织 NF-κB p65 阳性细胞率所占比例比较 只

组别	动物数	肺组织 NF-κB p65 阳性细胞率			
		阴性	1%~29%	30%~69%	70%~100%
sham 组	10	9	1	0	0
ANP 模型组	10	0	1	2	7 ^a
三七总皂苷组	10	0	6 ^{bc}	4	0 ^c

注:与 sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 ANP 模型组比较,^c $P < 0.05$

2.2 肺组织 NF-κB p65 阳性细胞数(表 2):sham 组肺组织有一定量的 NF-κB p65 阳性细胞表达; ANP 模型组 NF-κB p65 阳性细胞数较 sham 组明显升高;三七总皂苷组则较 ANP 模型组明显下降,但明显高于 sham 组(P 均 < 0.01)。

表 2 各组大鼠肺组织 NF-κB p65 阳性细胞数、病理评分和 W/D 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	NF-κB p65(PU)	病理评分(分)	W/D 比值
sham 组	10	33.09±4.75	0.10±0.32	3.97±0.59
ANP 模型组	10	72.52±7.63 ^b	4.30±0.95 ^b	5.93±1.23 ^a
三七总皂苷组	10	42.77±9.79 ^{bd}	1.90±0.99 ^{bd}	4.49±0.87 ^c

注:与 sham 组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与 ANP 模型组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

2.3 肺组织病理评分(表 2): ANP 模型组肺组织病理评分明显高于 sham 组 ($P < 0.01$); 三七总皂苷能明显减少肺组织病理评分 ($P < 0.01$), 但明显高于 sham 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.4 肺组织 W/D 比值(表 2): ANP 模型组肺组织 W/D 比值较 sham 组明显增加 ($P < 0.05$); 三七总皂苷组 W/D 比值较 ANP 模型组明显降低 ($P < 0.05$), 且与 sham 组比较差异无统计学意义。

3 讨论

已有研究表明, NF- κ B p65 在实验性 SAP 早期 (3 h) 即被激活^[3]; 并且 NF- κ B 激活导致腺泡细胞表达肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 等细胞因子和趋化因子^[4]; NF- κ B 通过参与多种细胞因子基因的转录而对这一调控网络产生复杂的影响, 激活的 NF- κ B 可增强 TNF- α 、IL-1 等众多细胞因子的转录, 因此, NF- κ B 是核内炎症递质基因转录的开关, 通过阻断 NF- κ B 的激活, 可以明显改善 AP 的症状^[5]。

三七总皂苷是从五加科人参属植物三七中提取的高效纯化分离物, 研究证明其具有扩张血管、改善微循环、抗炎、保护组织的抗氧化能力、抑制脂质过氧化反应、减少 Ca^{2+} 内流、影响自由基生成等药理作用^[6-8]; 同时是一种有效的抗炎介质, 能抑制激活的巨噬细胞及 T 细胞释放炎症因子, 对于阻断 AP 的病程进展有重要意义^[9]。近年来发现三七总皂苷能够抑制细胞内 NF- κ B 的活性。唐旭东等^[9-10]发现, 三七总皂苷能抑制中性粒细胞内 NF- κ B 的活化, 减少细胞间黏附分子及中性粒细胞浸润, 从而起到心肌保护的作用; 王勇等^[11]发现, 烫伤后巨噬细胞内 NF- κ B 活性与 TNF- α mRNA 的表达均显著升高, 三七总皂苷在一定浓度范围内呈剂量依赖性地抑制 NF- κ B 活性与 TNF- α mRNA 的表达。从本组结果中肺组织 W/D 比值可以看出, 三七总皂苷可抑制 ANP 大鼠肺的 NF- κ B 活性, 对 AP 所致的肺

损伤具有保护作用。

综上所述, 三七总皂苷可以在大鼠体内抑制 NF- κ B 在肺组织中的激活, 对三七总皂苷所致的急性肺损伤起到治疗作用, 能有效阻止 ANP 的病情进程, 减轻各脏器的病理损害, 有望用于治疗 ANP。

参考文献

- [1] Osman M O, Kristensen J U, Jacobsen N O, et al. A monoclonal anti-interleukin 8 anti body (WS-4) inhibits cytokine response and acute lung injury in experimental severe acute necrotising pancreatitis in rabbits [J]. Gut, 1998, 43 (2): 232-239.
- [2] Hofbauer B, Saluja A K, Bhatia M, et al. Effect of recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase on two models of experimental acute pancreatitis [J]. Gastroenterology, 1998, 115 (5): 1238-1247.
- [3] 薛育政, 刘宗良, 黄中伟, 等. 核转录因子- κ B 在大鼠重症急性胰腺炎中的表达 [J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19 (3): 176-177.
- [4] 刘牧林, 刘瑞林, 马良龙. 核转录因子- κ B 在大鼠急性胰腺炎发病机制中的作用研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17 (7): 434-435.
- [5] Rakonczay Z Jr, Járma K, Kaszaki J, et al. NF-kappaB activation is detrimental in arginine-induced acute pancreatitis [J]. Free Radic Biol Med, 2003, 34 (6): 696-709.
- [6] 李青, 詹文涛, 赵怀璧, 等. 三七总皂甙对急性有机磷农药中毒脏器的保护作用研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12 (7): 390-393.
- [7] 张喜平, 石焱. 中药单体治疗重症急性胰腺炎的研究概况 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12 (3): 184-186.
- [8] 关永源, 陈克敏, 孙家钧, 等. 三七皂甙对血管平滑肌 α 受体引起 Ca^{2+} 外溢与内流的影响 [J]. 中国药理学通报, 1990, 6 (4): 229-231.
- [9] 唐旭东, 姜建青, 赁常文, 等. 三七总皂甙对心肌缺血-再灌注中性粒细胞浸润的影响及其核转录机制的实验研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2002, 25 (3): 32-35.
- [10] 唐旭东, 姜建青, 赁常文, 等. 三七总皂甙对心肌缺血-再灌注损伤的影响 [J]. 中医杂志, 2003, 44 (1): 60-63.
- [11] 王勇, 黄文华, 彭代智, 等. 三七总皂苷对烫伤后核因子- κ B 及肿瘤坏死因子的影响 [J]. 医药导报, 2001, 20 (5): 279-281.

(收稿日期: 2007-07-22 修回日期: 2007-09-13)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国危重病急救医学》杂志稿约说明

《中国危重病急救医学》杂志每年在杂志上刊登 1 次稿约, 欢迎广大作者踊跃投稿, 投稿请严格按照稿约的要求。同时交付文稿 1 份、单位介绍信或文稿加盖公章、软盘 (Word 和纯文本形式排版)、审稿费 (每篇 40 元)、课题批件复印件, 以利于稿件审稿过程, 提高稿件刊出速度。

本刊对所有来稿均采用同行审稿的方式进行公平、公正地审定。

(期刊编辑部)