

• 论著 •

黄芪注射液对重症急性胰腺炎肺损伤大鼠
核转录因子- κ B 表达的影响

朱渊红, 陈芝芸, 王 真

(浙江中医药大学附属一院, 浙江 杭州 310006)

【摘要】 目的 探讨核转录因子- κ B(NF- κ B)在重症急性胰腺炎(SAP)肺损伤发病机制中的作用及黄芪注射液对胰腺炎相关性急性肺损伤(PALI)的潜在防治作用。方法 将 96 只 SD 大鼠随机分为假手术组、SAP 组及黄芪低、高剂量组,各组再分制模后 6、9、12 h 3 个时间点,每个时间点 8 只。通过逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠建立 PALI 大鼠模型。黄芪低、高剂量组在制模前 12 h、24 h 及制模后即刻经大鼠尾静脉注射黄芪注射液 2 ml/kg 或 4 ml/kg。各组于相应时间点处死大鼠,取肺组织检测 NF- κ B p65 蛋白表达和湿/干重(W/D)比值,并观察胰腺、肺组织病理改变。结果 与假手术组比较,SAP 组各时间点肺组织 NF- κ B p65 蛋白表达水平和肺 W/D 比值均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与 SAP 组比较,黄芪低、高剂量组 NF- κ B p65 蛋白表达水平明显下降,肺 W/D 比值也显著降低,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05);且胰腺和肺组织损伤程度也较 SAP 组明显减轻。黄芪低、高剂量组间 NF- κ B p65 蛋白表达水平和肺 W/D 比值比较差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。结论 SAP 时 NF- κ B 活化并参与了 SAP 并发肺损伤病理损害的发生发展;黄芪注射液能抑制 NF- κ B p65 蛋白在 SAP 时肺组织中的表达,并对 SAP 肺损伤具有防治作用。

【关键词】 黄芪注射液; 胰腺炎,急性,重症; 肺损伤; 核转录因子- κ B

中图分类号:R285.5;R256.1 文献标识码:A DOI:10.3969/j.issn.1008-9691.2009.05.009

The effect of astragalus injection (黄芪注射液) on nuclear factor- κ B in rats with lung injury associated with severe acute pancreatitis ZHU Yuan-hong, CHEN Zhi-yun, WANG Zhen. First Hospital Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

【Abstract】 **Objective** To explore the role of nuclear factor- κ B (NF- κ B) in the pathogenesis of severe acute pancreatitis (SAP)-associated lung injury (PALI) and the potential preventive and therapeutic role of astragalus injection (黄芪注射液) on PALI. **Methods** Ninety-six Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups: sham operation, SAP, astragalus low dose, and astragalus high dose groups, and each group were respectively subdivided into three groups, 6-, 9- and 12-hour groups (each, $n=8$). PALI animal model was induced by reverse injection of sodium taurocholate into the pancreatic duct. Six, nine and twelve hours after model establishment, the rats were sacrificed in the respective groups; the changes of wet/dry (W/D) weight ratio and the expression of NF- κ B p65 in lung tissues, and the pathology of pancreas and lung were investigated. **Results** Compared with sham operation group, the expression of NF- κ B p65 and W/D ratio of lung in SAP group had significantly higher levels at 6, 9 and 12 hours ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with SAP group, the expression of NF- κ B p65 and W/D ratio in lung tissues, the pathological changes of pancreas and lung in astragalus low and high dose groups had lower levels (all $P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of NF- κ B p65 between astragalus low and high dose groups (all $P > 0.05$). **Conclusion** In SAP, NF- κ B is activated and participates in the occurrence and development of SAP-associated lung injury. Astragalus injection can inhibit the expression of NF- κ B p65 in lung tissues in rats with SAP, thus it may prevent and treat PALI.

【Key words】 astragalus injection; severe acute pancreatitis; lung injury; nuclear factor- κ B

重症急性胰腺炎(SAP)由于起病急骤、病情重、并发症多,病死率居高不下。SAP 患者早期致死的主要原因

是多器官功能障碍综合征(MODS),出现

基金项目:浙江省医药卫生科研项目(2005C020)

作者简介:朱渊红(1972-),男(汉族),浙江省人,医学博士,副主任医师。

肺部并发症的患者占 60%以上^[1]。尽管目前关于 SAP 肺损伤的发病机制还未完全阐明,但近年研究表明,核转录因子- κ B(NF- κ B)活化及炎症因子的过度表达造成细胞因子网络失衡,导致扳机样细胞因子级联反应,在胰腺炎相关性急性肺损伤(PALI)发

病过程中可能起重要作用^[2]。本研究中探讨NF-κB在SAP肺损伤发病机制中的作用及黄芪注射液对PALI的潜在防治作用。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备与分组:SD大鼠96只,体重(250±20)g,由浙江省医学科学院实验动物中心提供。按随机数字表法分为假手术组、SAP组及黄芪低、高剂量组,各组再分6、9、12 h 3个时间点,每个时间点8只。①SAP组:采用逆行胰胆管注射牛磺胆酸钠方法制备SAP并发ALI大鼠模型。②假手术组:除胆管内不注入牛磺胆酸钠外,余同SAP组。③黄芪低、高剂量组在制模前12 h、24 h及制模后即刻分别经大鼠尾静脉注射黄芪注射液2 ml/kg或4 ml/kg。

1.2 标本采集与处理:各组分别于制模后6、9、12 h处死动物。开胸取左肺,用于肺湿/干重(W/D)比值测定。取右肺及胰腺组织,行常规苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察组织病理学改变。采用免疫组化二步法检测肺组织中NF-κB p65蛋白表达,NF-κB p65试剂盒(工作浓度1:75)为美国NeoMarkers公司产品(批号:163P606C)。

1.3 统计学处理:计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 11.5软件对数据进行统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺W/D比值(表1):SAP组及黄芪低、高剂量组大鼠肺W/D比值升高,且随制模时间延长呈进行性增高趋势,与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。黄芪低、高剂量组各时间点大鼠肺W/D比值均较SAP组显著下降,差异有统计学意义(P 均 < 0.05);但两组间比较差异无统计学意义。

表1 各组大鼠制模后不同时间点肺W/D比值的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	肺W/D比值		
	6 h	9 h	12 h
假手术组	3.13±0.27	3.20±0.24	3.25±0.20
SAP组	4.76±0.51 ^a	5.69±0.48 ^b	6.88±0.91 ^b
黄芪低剂量组	4.04±0.26 ^{ac}	4.59±0.30 ^{ac}	4.96±0.68 ^{ac}
黄芪高剂量组	3.92±0.28 ^{ac}	4.12±0.39 ^{ac}	4.77±0.56 ^{ac}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与SAP组比较,^c $P < 0.05$

2.2 各组大鼠胰腺及肺组织病理学改变:①胰腺:假手术组胰腺结构清晰,腺泡细胞无水肿,无炎性细胞浸润,无坏死及出血灶。SAP组胰腺腺泡细胞肿

胀、大片坏死,间质有充血、水肿及明显的中性粒细胞及单核细胞浸润。黄芪低、高剂量组腺泡破坏减轻,炎性细胞浸润减少,出血、渗出明显减轻。②肺:假手术组肺组织结构清晰,肺泡壁稍增厚但肺泡间隔无水肿,肺泡腔内未见水肿液,间质血管无扩张,无中性粒细胞浸润。SAP组肺泡间隔明显增厚,肺间质充血、水肿明显,肺泡和肺间质中有大量中性粒细胞浸润。黄芪低、高剂量组表现为轻度肺水肿,肺间质充血、水肿明显减轻,中性粒细胞浸润减少。

2.3 各组大鼠肺组织NF-κB p65蛋白表达的变化(彩色插页图1;表2):各组大鼠肺组织NF-κB p65阳性细胞主要为单核/巨噬细胞、中性粒细胞、肺泡上皮细胞、支气管黏膜上皮细胞,呈棕黄色颗粒。假手术组NF-κB p65蛋白在部分炎性细胞和肺泡间质细胞质内有表达,细胞核内极少表达;SAP组NF-κB p65蛋白在浸润的单核/巨噬细胞和中性粒细胞核内大量表达。各时间点SAP组及黄芪低、高剂量组大鼠肺组织NF-κB p65蛋白表达显著升高,与假手术组比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。黄芪低、高剂量组各时间点NF-κB p65蛋白在炎性细胞和肺泡间质中的表达均明显低于SAP组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05);但黄芪低、高剂量组间比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

表2 各组大鼠制模后不同时间点肺组织NF-κB p65蛋白表达的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	NF-κB p65 蛋白表达		
	6 h	9 h	12 h
假手术组	1.81±0.37	2.00±0.87	2.07±0.53
SAP组	5.31±0.70 ^b	5.81±0.37 ^b	5.88±0.19 ^b
黄芪低剂量组	3.78±0.36 ^{bc}	4.69±0.37 ^{bc}	4.75±0.53 ^{bc}
黄芪高剂量组	3.64±0.38 ^{bc}	4.19±0.59 ^{bc}	4.38±0.69 ^{bc}

注:与假手术组比较,^b $P < 0.01$;与SAP组比较,^c $P < 0.05$

3 讨论

PALI的发生与肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)、IL-8、血小板活化因子(PAF)等多种促炎细胞因子介导的全身炎症反应综合征(SIRS)有关。NF-κB是一种转录调节因子,可调控多种炎症因子基因的转录,在静息状态下,NF-κB与抑制蛋白家族IκB紧密结合,以无活性状态存在于细胞质中,不具有基因转录作用。已有研究证实,SAP时胰腺及肺组织内NF-κB激活伴有过度活化的炎性细胞,可释放多种与PALI关系密切的炎症介质,如TNF-α、IL-1、IL-6、IL-8、PAF及P-选择素、E-选择素等。这些炎症介质基因上的启动子和

增强子中都存在一个或多个 κB 序列,即 NF- κB 的结合位点,活化的 NF- κB 可单独与其他转录因子协同参与上述炎症介质基因的诱导表达。NF- κB 的活化是 SAP 并发急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS) 发病过程中各种细胞因子、趋化因子和其他产物大量表达的前提^[3]。NF- κB 活化及炎症因子的过度表达造成细胞因子网络失衡,导致扳机样细胞因子级联反应,是不同 SAP 模型发生发展并出现 ALI/ARDS 的共同机制。SAP 时肺组织内 NF- κB 活化可激活内皮细胞表面产生或增加多种黏附分子和趋化因子的表达,从而增加炎症细胞的肺内募集和黏附,造成肺内皮细胞损伤^[4]。NF- κB 的产物 NF- κB p65 在肺组织中表达,尤其在细胞核内的表达可间接反映 NF- κB 的活性。急性胰腺炎发生时,肺组织内 NF- κB 表达增强,而经 NF- κB 抑制剂干预后,可通过抑制 NF- κB 活化下调细胞因子表达,从而减轻胰腺和肺组织的病理损伤^[5]。本研究显示:假手术组 NF- κB p65 蛋白表达水平极低,主要在部分炎性细胞和肺泡间质细胞质内表达,细胞核内极少表达;SAP 组各时间点 NF- κB p65 蛋白在浸润的单核/巨噬细胞和中性粒细胞核内大量表达,同时胰腺与肺损伤进行性加重,说明 SAP 时 NF- κB 活化并参与了 SAP 并发肺损伤病理损害的发生发展。

应用 NF- κB 抑制剂或调节 NF- κB 活性可明显降低 SAP 过程中肺组织内的炎症反应^[6]。本实验研究显示,黄芪注射液有类似的作用,黄芪低、高剂量组各时间点 NF- κB p65 蛋白在炎性细胞和肺泡间质中的表达明显低于 SAP 组,提示黄芪注射液能在

一定程度上抑制 NF- κB p65 蛋白在 SAP 时肺组织中的表达;且胰腺和肺组织病理损伤程度也明显轻于 SAP 组,同时反映肺水肿程度的肺 W/D 比值也显著降低,表明黄芪注射液对 SAP 肺损伤具有一定的防治作用。李瑜等^[7]研究表明,黄芪可通过清除氧自由基对内毒素致 ALI 起到防治作用,但黄芪注射液对 SAP 肺损伤大鼠肺组织 NF- κB p65 蛋白表达的抑制作用是通过其降低氧自由基、细胞因子等对 NF- κB 活化的诱导作用,还是直接抑制 I $\kappa B\alpha$ 降解,从而抑制 NF- κB 的核移位等机制来实现,仍有待进一步研究明确。

参考文献

[1] Surbatović M, Jovanović K, Radaković S, et al. Pathophysiological aspects of severe acute pancreatitis-associated lung injury[J]. Srp Arh Celok Lek, 2005, 133(1-2): 76-81.
[2] Pedreira PR, García-Prieto E, Albaiceta GM, et al. Inflammatory response and apoptosis in acute pulmonary injury[J]. Med Intensiva, 2006, 30(6): 268-275.
[3] 薛育政, 刘宗良, 黄中伟, 等. 核转录因子- κB 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] Bhatia M, Brady M, Shokuchi S, et al. Inflammatory mediators in acute pancreatitis[J]. J Pathol, 2000, 190(2): 117-125.
[5] 刘牧林, 刘瑞林, 马良龙. 核转录因子- κB 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.
[6] Ethridge RT, Hashimoto K, Chung DH, et al. Selective inhibition of NF-kappaB attenuates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis[J]. J Am Coll Surg, 2002, 195(4): 497-505.
[7] 李瑜, 李琳璋, 王世端, 等. 黄芪对兔内毒素急性肺损伤的保护作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(6): 348-350.

(收稿日期: 2009-05-31)

(本文编辑: 李银平)

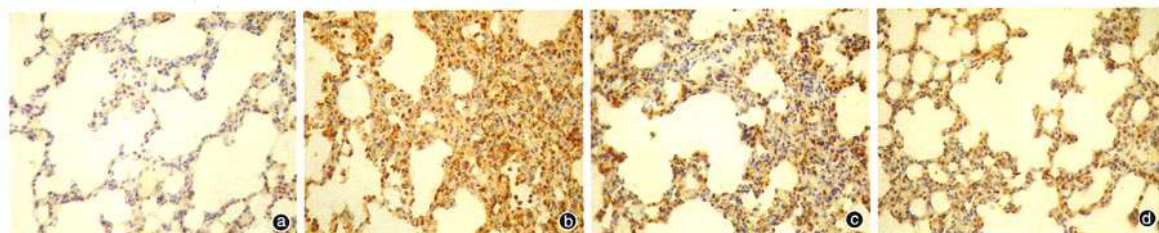
• 消息 •

科技部中国科技信息研究所 2008 年《中国科技期刊引证报告》核心版和《中国期刊引证报告》扩刊版
——中医学与中药学类和中国医学类期刊影响因子前 20 位排序表

核心版 中医学与中药学类			扩刊版 中国医学类		
排位	期刊名称	影响因子	排位	期刊名称	影响因子
1	中国中西医结合杂志	0.817	1	中国中西医结合杂志	1.245
2	中国中西医结合急救杂志	0.797	2	中国中西医结合急救杂志	1.101
3	中国中药杂志	0.693	3	中国中药杂志	1.052
4	中西医结合学报	0.674	4	中西医结合学报	0.997
5	中草药	0.531	5	国际中医中药杂志	0.894
6	北京中医药大学学报	0.491	6	中草药	0.814
7	中药新药与临床药理	0.440	7	中国针灸	0.797
8	上海中医药大学学报	0.433	8	中成药	0.774
9	中华中医药杂志	0.414	9	中国中医药科技	0.772
10	世界科学技术——中医药现代化	0.397	10	中华医药杂志	0.718
11	针刺研究	0.395	11	上海针灸杂志	0.710
12	中药材	0.393	12	针刺研究	0.708
13	广州中医药大学学报	0.391	13	中国现代中药	0.690
14	上海中医药杂志	0.373	14	浙江中医杂志	0.688
15	中国中医药科技	0.360	15	世界科学技术——中医药现代化	0.678
16	南京中医药大学学报	0.322	16	上海中医药杂志	0.667
17	中西医结合肝病杂志	0.320	17	中药药理与临床	0.641
18	中国针灸	0.315	18	中药材	0.639
19	中西医结合心脑血管病杂志	0.302	19	中医杂志	0.602
20	中国中西医结合肾病杂志	0.276	20	中西医结合肝病杂志	0.588

黄芪注射液对重症急性胰腺炎肺损伤大鼠核转录因子- κ B表达的影响

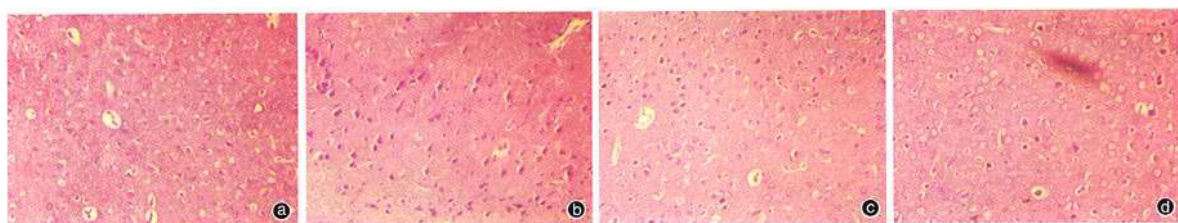
(正文见278页)



①:假手术组; ②:SAP组; ③:黄芪低剂量组; ④:黄芪高剂量组
图1 光镜下观察各组大鼠制模后6h肺组织NF- κ B p65蛋白表达(免疫组化, $\times 400$)

银杏达莫注射液对大鼠心肺复苏后血清低氧诱导因子-1 α 水平变化的影响

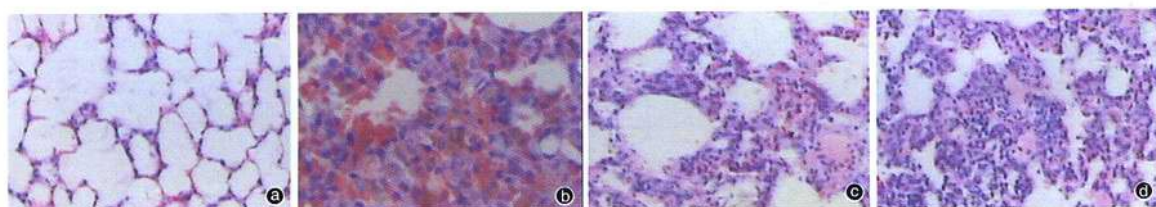
(正文见290页)



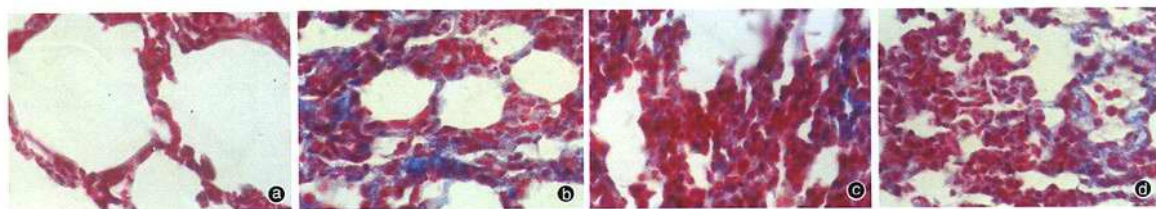
①:对照组; ②:模型组; ③:银杏达莫低剂量组; ④:银杏达莫高剂量组
图1 光镜下观察各组大鼠大脑皮质病理学改变(HE, $\times 400$)

姜黄素与地塞米松对百草枯中毒大鼠肺组织损伤治疗作用的对比研究

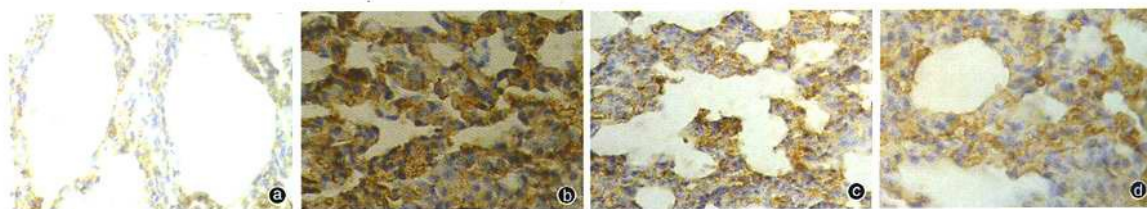
(正文见299页)



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组
图1 光镜下观察各组大鼠染毒或给药3d肺组织病理学改变(HE, $\times 100$)



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组
图2 光镜下观察各组大鼠染毒或给药14d肺组织胶原沉积情况(Masson, $\times 200$)



①:对照组; ②:百草枯组; ③:地塞米松组; ④:姜黄素组
图3 光镜下观察各组大鼠染毒或给药14d肺组织TGF- β 1表达(免疫组化, $\times 200$)