

· 论 著 ·

## 大承气汤治疗重症急性胰腺炎大鼠的实验研究

唐 晋, 宋孟龙, 程 飞, 张献全<sup>△</sup>  
(重庆医科大学第二附属医院肿瘤科 400010)

**摘要:**目的 探讨大承气汤治疗重症急性胰腺炎(SAP)的作用机制。方法 健康 Wistar 大鼠 50 只随机分成 5 组,分别为:假手术组(A 组),SAP 模型组(B 组),SAP+乌司他丁治疗组(C 组),SAP+大承气汤治疗组(D 组),SAP+大承气汤+乌司他丁治疗组(E 组)。采用胰胆管逆行注射 5%牛磺胆酸钠法建立 SAP 大鼠模型,于制模后 24 h 收集样本,检测大鼠肺组织、回肠和血浆中促炎因子白细胞介素-6(IL-6)、内毒素(ET)和抑炎因子白细胞介素-10(IL-10)的含量变化。结果 SAP+乌司他丁治疗组、SAP+大承气汤治疗组、SAP+大承气汤+乌司他丁治疗组与 SAP 模型组比较血浆及组织 ET、IL-6 含量明显降低( $P<0.05$ ),IL-10 含量明显升高( $P<0.05$ );SAP+大承气汤+乌司他丁治疗组与 SAP+乌司他丁治疗组、SAP+大承气汤治疗组比较血浆及组织 ET、IL-6 含量明显降低( $P<0.05$ ),IL-10 含量明显升高( $P<0.05$ )。结论 大承气汤可能通过减少致炎因子 ET、IL-6 和增加抑炎因子 IL-10 来影响 SAP 的炎症反应,大承气汤和乌司他丁对大鼠 SAP 具有相加或协同的抗炎作用。

**关键词:**重症急性胰腺炎;大承气汤;炎症因子

中图分类号:R365.576

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)09-1051-02

## Effects of Dachengqi Decoction on rats with severe acute pancreatitis

TANG Jin<sup>1</sup>, SONG Meng-long<sup>1</sup>, CHENG Fei<sup>1</sup>, et al.

(Department of Oncology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

**Abstract: Objective** To observe the effects of Dachengqi Decoction on rats with severe acute pancreatitis(SAP). **Methods** Fifty Wistar rats were randomly divided into sham operation group (A group), SAP group (B group), SAP+ulinastatin group (C group), SAP+Dachengqi Decoction group(D group) and SAP+Dachengqi Decoction+ ulinastatin group (E group). SAP was induced by retrograde injection of 5% sodium taurocholate, the levels of IL-6, IL-10 and ET from lung, ileum and blood plasma were detected after 24 h since SAP induced. **Results** The levels of IL-6 and ET of lung, ileum and blood plasma in SAP+ ulinastatin group, SAP+Dachengqi Decoction group, SAP+Dachengqi Decoction + ulinastatin group decreased significantly than that in SAP group ( $P<0.05$ ), and they were significantly lower in the SAP+Dachengqi Decoction + ulinastatin group compared with other two group ( $P<0.05$ ); but the levels of IL-10 increased significantly ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Dachengqi Decoction could affect inflammatory reaction of SAP by reducing proinflammatory factors of ET and IL-6 and increasing anti-inflammatory factor of IL-10. Dachengqi Decoction and ulinastatin have additive or synergetic effects on anti-inflammatory action in rats with SAP.

**Key words:** severe acute pancreatitis; Dachengqi Decoction; inflammatory factor

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是临床常见的急危重症之一,是指急性胰腺炎伴有其他器官功能障碍或胰腺出现坏死、脓肿或假性囊肿等局部并发症者,Ranson 评分大于 3 分,APACHE II 评分大于 8 分,Balthazar CT 分级在 II 级或以上者。SAP 具有起病急、变化快、并发症多等特点,常伴发休克、呼吸功能不全、肾功能不全、感染等并发症,死亡率高达 20%~30%。SAP 发病机制复杂,近年研究显示,炎症因子参与 SAP 的发病,临床应用大承气汤治疗 SAP 可以降低死亡率,但其机制尚不清楚。本实验研究大承气汤治疗 SAP 大鼠炎症因子的变化情况,探讨大承气汤治疗 SAP 的机制。

## 1 材料与方

**1.1 动物及分组** 健康 Wistar 大鼠 50 只(购自重庆医科大学实验动物中心,清洁级)体质量 220~250 g,随机分成 5 组,每组 10 只。分为 A 组:假手术对照组;B 组:SAP 模型组;C 组:SAP+乌司他丁治疗组;D 组:SAP+大承气汤治疗组;E 组:SAP+大承气汤+乌司他丁治疗组。

**1.2 药物** 乌司他丁(ulinastatin, UTI, 天普生物化学制药有限公司);大承气汤(重庆医科大学附属第二医院中药房提供),

配方为大黄 20 g,枳实 10 g,厚朴 10 g,芒硝 15 g,熬制成 W/W 为 1:1 的药液。

**1.3 主要仪器和试剂** SP-100 型微量注射泵(日本 JMS 公司);TGL-16G 恒温高速离心机(上海安亭科学仪器厂);LP-4000 型酶标仪(法国 Basture 公司);BX50 生物光学显微镜(日本 Olympus 公司);超低温冰箱(日本 SANYO 公司);牛磺胆酸钠(美国 Sigma 公司);大鼠 IL-6 ELISA 测试药盒(中国晶美生物工程公司);大鼠 IL-10 ELISA 测试药盒(中国晶美生物工程公司);内毒素(ET)检测采用上海市医学化验所生产的鲎试剂盒(II)。

**1.4 动物模型的制备** 参照 Frossard 和 Pastor<sup>[1]</sup>的方法,采用胰管内逆行注入 5% 硫磺胆酸钠 0.1 mL/100 g 建立大鼠 SAP 模型。

**1.5 实验动物处理** 假手术组(A 组):大鼠开腹后翻动胰腺数次后关腹;乌司他丁治疗组(C 组):制模后 30 min 以 4 万 u/kg 静脉注入乌司他丁;大承气汤治疗组(E 组):制模后 12 h 灌入熬制好的大承气汤 1 mL/100 g;乌司他丁+大承气汤治疗组(F 组):用两种药物治疗 SAP 大鼠,方法同上。术后 24 h 取

<sup>△</sup> 通讯作者。

静脉血标本分离血浆置冰箱备用,取大鼠胰腺、左肺、回肠末端组织行病理检查,右肺组织、部分回肠组织液氮速冻后提取组织匀浆,置-70℃保存备用。

**1.6 大鼠肺、回肠组织匀浆的获取** 参照 Tulzo 等<sup>[2]</sup>的方法制作组织匀浆,肺、回肠组织匀浆分别以 1:8 和 1:10 的比例加入 PBS 缓冲液(0.1 mmol/L, pH=7.4)并用匀浆器搅匀,于低温高速离心机(4℃, 8 000 r/min, 30 min)分离出上清液分装于小离心管于-70℃冰箱保存用于检测蛋白。

**1.7 观察指标及方法**

**1.7.1 胰腺、左肺、回肠组织病理学检查** 10%中性甲醛固定,石蜡包埋切片,HE 染色后,光镜下观察各组动物病理变化。

**1.7.2 内毒素、IL-6、IL-10 测定** 内毒素采用鲎试剂偶氮基质显色法定量检测,IL-6、IL-10 采用酶联免疫测定(ELISA)试剂盒测定。

**1.8 统计学方法** 所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  来表示,统计学分析采用 SAS8.0 软件行单因素方差分析,组间均数比较用 *t* 检验。

**2 结果**

**2.1 病理学变化** 模型组胰腺腺泡细胞肿胀,可见灶性坏死,腺泡细胞间有大量炎症细胞浸润;小叶排列紊乱,其间有大量炎性渗出;坏死区内腺泡结构消失,胞核溶解;叶间隙增宽,间质微血管破裂,大量红细胞溢出;肺脏及回肠组织均有程度不同的充血、水肿及间质白细胞浸润,并可见白细胞贴附于血管内膜。各治疗组均有不同程度的改善,炎症细胞浸润减少。

**2.2 ET 检测结果** B 组 ET 表达水平明显高于 A 组, E 组与 B、C 组比较, ET 表达水平明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血浆、肺和回肠内毒素的浓度比较 (Eu/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	血浆	肺组织	回肠组织
A 组	0.068±0.005	2.44±0.25	2.60±0.31
B 组	0.332±0.309	4.19±0.13	4.49±0.73
C 组	0.186±0.004★	3.35±0.22★	3.47±0.20★
D 组	0.183±0.004★	3.29±0.80★	3.48±0.17★
E 组	0.102±0.021★☆	2.74±0.38★☆	2.93±0.20★☆

★:与 B 组比较,  $P < 0.05$ ; ☆:与 C、D 组比较,  $P < 0.05$ 。

**2.3 IL-6 检测结果** B 组 IL-6 表达水平明显高于假手术组(A 组), E 组与 B、C 组比较, IL-6 表达水平明显降低,  $P < 0.05$ 。见表 2。

表 2 各组大鼠血浆、肺和回肠 IL-6 比较 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	血浆	肺组织	回肠组织
A 组	6.56±1.01	4.85±0.14	9.43±0.39
B 组	114.70±16.03	33.90±1.42	42.44±1.59
C 组	93.16±10.04★	26.31±3.21★	28.33±1.14★
D 组	101.84±11.60★	26.70±4.32★	33.40±1.93★
E 组	69.38±7.21★☆	20.72±2.30★☆	21.86±2.44★☆

★:与 B 组比较,  $P < 0.05$ ; ☆:与 C、D 组比较,  $P < 0.05$ 。

**2.4 IL-10 检测结果** 模型组 IL-10 表达水平明显高于 A 组, E 组与 B、C 组比较, IL-10 表达水平明显升高,  $P < 0.05$ 。见表 3。

表 3 各组大鼠血浆、肺和回肠组织 IL-10 的浓度比较 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	血浆	肺组织	回肠组织
A 组	0.68±0.15	10.21±0.22	14.04±2.95
B 组	11.50±1.28	46.89±4.08	27.40±4.17
C 组	16.30±2.04★	56.96±4.47★	36.34±2.30★
D 组	20.70±2.99★	60.30±5.00★	39.85±2.30★
E 组	32.12±4.30★☆	73.81±8.42★☆	45.16±1.81★☆

★:与 B 组比较,  $P < 0.05$ ; ☆:与 C、D 组比较,  $P < 0.05$ 。

**3 讨论**

大承气汤治疗 SAP 的疗效已在临床得到证实并广泛应用,但其确切机制至今尚不明确。大承气汤为临床经验方制剂,主要由柴胡、大黄、芒硝、枳实等组成,具有通里攻下、清热解毒、活血化瘀之功效。柴胡、枳实可促使胃排空,枳实、厚朴增加小肠蠕动,芒硝有清热泻下之功效,可以降低肠管压力,协助大黄通腑泄浊。生大黄促使结肠蠕动,改善胃肠黏膜微循环,降低血清和小肠组织肿瘤坏死因子、磷脂酶 A<sub>2</sub> 和血小板激活因子(PAF)的含量,从而减轻上述介质引发的其他炎症介质的释放和炎症反应<sup>[3]</sup>。本实验发现, SAP 大鼠分别经大承气汤治疗、乌司他丁治疗和大承气汤+乌司他丁治疗 24 h 后,大鼠血清、肺组织和回肠末端组织的内毒素水平明显降低,与陈海龙等<sup>[4]</sup>和王春妍等<sup>[5]</sup>研究相似,表明大承气汤具有减少内毒素的生成和吸收、加快灭活和排泄等作用,并因此减轻内毒素引起的全身炎症反应综合征和急性肺损伤以及内毒素引起的肠黏膜屏障的损害。本研究还发现, SAP 大鼠应用大承气汤治疗后血浆、肺和回肠组织的 IL-6 水平明显下降,与乌司他丁治疗结果相似,但大承气汤结合乌司他丁治疗 IL-6 水平较单独应用乌司他丁或大承气汤明显下降,提示二者对治疗 SAP 大鼠有相加或者协同作用。IL-6 是炎症反应中一个非常重要的因子,可以作为促炎因子引起炎症反应的一系列连锁反应和放大效应,导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生。最近的研究显示, IL-6 在 SAP 的发病中起重要作用,其升高的幅度与 SAP 的严重程度密切相关,发病后 24 h 内检测血浆 IL-6 含量预测 SAP 是目前早期评价 SAP 严重程度的较好指标<sup>[6]</sup>。实验还发现,经大承气汤、乌司他丁和大承气汤+乌司他丁分别治疗后,大鼠血浆、肺和回肠组织中的抑炎因子 IL-10 的水平明显升高,与吕冠华等<sup>[7]</sup>研究结果相一致,表明大承气汤具有双重调节作用,即具有降低致炎因子 IL-6 和内毒素和提高抑炎因子 IL-10 的双向作用,提示大承气汤可能是通过参与炎症反应的调控而发挥治疗 SAP 的作用的。何俊等<sup>[8]</sup>研究也发现,应用生长抑素联合柴芍承气汤鼻饲和生大黄灌肠治疗 SAP,可更快改善患者腹痛、腹胀症状,恢复心率、呼吸,降低死亡率。由于大承气汤的成分不是很单一,加上 SAP 的发病机制复杂,调控炎症反应可能只是大承气汤治疗 SAP 一条比较重要的途径。

**参考文献:**

[1] Frossard JL, Pastor CM. Experimental acute pancreatitis: new insights into the pathophysiology(下转第 1055 页)

上过量使用尼可刹米引起中枢兴奋、精神错乱、恶心、呕吐、抽搐、血压升高、心律失常、惊厥等不良反应,这些症状与钠通道不能正常关闭导致组织细胞兴奋性增高的钠通道变异疾病表现相似<sup>[14]</sup>,也间接提示尼可刹米的作用与呼吸神经元细胞膜钠电流有关,为作者的实验提供了佐证。 $\text{Na}^+$ 内流被认为是缺血性脑损害的始动因素之一。在缺血缺氧条件下神经元能量代谢障碍、胞内 ATP 减少使  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  泵活性降低,膜静息电位朝去极化方向变化。神经元膜电位去极化促使钠通道开放增加,进一步增加胞内钠浓度。胞内钠浓度升高除了引起神经元水肿外还直接或间接引起钙超载和以一些兴奋性递质释放,从而加重神经元的缺血缺氧性损伤。临床上治疗缺血性脑损伤常采用低温、高压氧、改善微循环、增加神经元抗缺氧能力等措施。低温降低神经元代谢率、减少 ATP 的消耗,同时也降低了钠通道活性,降低了细胞钠浓度,有利于神经元正常功能的恢复<sup>[15]</sup>。高压氧治疗提高了动脉血氧分压,有利于神经元摄取足够的氧以恢复正常功能<sup>[16]</sup>。本实验从尼可刹米对钠电流的作用方面,探讨了尼可刹米兴奋中枢神经系统的作用机制,根据尼可刹米对钠电流的兴奋作用为尼可刹米的临床使用提供了实验依据和指导意见。

#### 参考文献:

- [1] Biella G, Di Febo F, Goffredo D, et al. Differentiating embryonic stem-derived neural stem cells show a maturation-dependent pattern of voltage-gated sodium current expression and graded action potentials[J]. *Neuroscience*, 2007, 149(1): 38.
- [2] Catterall WA. Molecular properties of brain sodium channels: an important target for anticonvulsant drugs[J]. *Adv Neurol*, 1999, 79: 441.
- [3] Reckziegel G, Beck H, Schramm J, et al. Electrophysiological characterization of  $\text{Na}^+$  currents in acutely isolated human cortical dentate granule cells[J]. *J Physiol*, 1998, 509(Pt 1): 139.
- [4] 千智斌, 吴中海. 5-HT<sub>2A</sub>受体在尼可刹米引起新生大鼠延髓脑片呼吸放电增强中的作用[J]. *生理学报*, 2008, 60(2): 216.
- [5] 陈余清, 蔡映云. 慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭应用尼可刹米的临床思维[J]. *中国临床药理学杂志*, 2002, 11(4): 241.
- [6] Bushma MI, Legon'kova LF, Zverinskiĭ IV, et al. Disturbed functioning of enzyme systems of microsomal oxidation, glucuro-, and glutathione conjugation of xenobiotics in the liver of rats intoxicated by deoxycholate and their correction[J]. *Biull Eksp Biol Med*, 2000, 129(3): 297.
- [7] 张敏芳, 陈明英, 张碧瑞. 应用苯巴比妥加尼可刹米(鲁可合剂)防治新生儿黄疸 35 例分析[J]. *福建医药杂志*, 2007, 29(4): 55.
- [8] Elkharraz K, Faisant N, Guse C, et al. Paclitaxel-loaded microparticles and implants for the treatment of brain cancer: preparation and physicochemical characterization[J]. *Int J Pharm*, 2006, 314(2): 127.
- [9] Baek N, Lee J, Park K, et al. N-diethylnicotinamide (DE-NA) solution as a medium for accelerated release study of paclitaxel[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2004, 15(4): 527.
- [10] Baccaglioni PI, Spitzer NC. Developmental changes in the inward current of the action potential of Rohon-Beard neurones[J]. *J Physiol*, 1977, 271(1): 93.
- [11] Munoz-Cuevas J, Vara H, Colino A. Augmentation of excitability in the hippocampus of juvenile rat[J]. *Neuroscience*, 2006, 143(1): 39.
- [12] Bushma MI, Legon'kova LF, Zverinskiĭ IV, et al. Disturbed functioning of enzyme systems of microsomal oxidation, glucuro-, and glutathione conjugation of xenobiotics in the liver of rats intoxicated by deoxycholate and their correction[J]. *Biull Eksp Biol Med*, 2000, 129(3): 297.
- [13] 查锡良. 生物化学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 440.
- [14] Cannon SC. Sodium channel gating: no margin for error[J]. *Neuron*, 2002, 34(6): 853.
- [15] 宋伦贤. 重型颅脑损伤经过亚低温治疗的疗效研究[J]. *重庆医学*, 2006, 35(4): 322.
- [16] 王强. 高压氧对中枢神经细胞损伤后的保护与重塑[J]. *重庆医学*, 2008, 37(9): 897.

(收稿日期: 2009-08-17 修回日期: 2009-10-19)

(上接第 1052 页)

- [1] [J]. *Front Biosci*, 2002, 7(1): 257.
- [2] Tulzo YL, Shenkar R, Kancko D, et al. Hemorrhage increase cytokine expression in lung mononuclear cells in mice[J]. *Clin Invest*, 1997, 99(7): 1516.
- [3] 刘峰, 高士杰, 胡慧刚, 等. 大黄治疗休克后胃肠功能障碍的研究[J]. *中国急救医学*, 2003, 23(1): 38.
- [4] 陈海龙, 吴咸中, 关凤林, 等. 大承气汤对 MODS 时肠道细菌微生物学影响的实验研究[J]. *中国微生态学杂志*, 2007, 19(2): 132.
- [5] 王春妍, 杨世忠, 迟宝荣. 大承气汤对急性肝损伤大鼠肠源性内毒素血症生物学效应的阻断作用[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2006, 16(6): 356.
- [6] Garg PK, Prasad H, Tandon RK. Elevated level of interleukin-6 predicts organ failure and severe disease in patients with acute pancreatitis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(4): 550.
- [7] 吕冠华, 王长洪, 王立新, 等. 大承气汤对重症急性胰腺炎大鼠细胞因子及外周血  $\gamma\delta\text{T}$  细胞的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2008, 16(6): 355.
- [8] 何俊, 何庆玲, 陈忠华, 等. 生长抑素联合柴芍承气汤鼻饲和生大黄灌肠治疗重症急性胰腺炎 50 例分析[J]. *重庆医学*, 2008, 37(22): 2603.

(收稿日期: 2009-10-19 修回日期: 2009-11-12)