

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.03.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201207.1654.009.html\(2020-12-09\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201207.1654.009.html(2020-12-09))

重症急性胰腺炎大鼠 CARD9 的早期表达及柴苓承气汤的干预研究*

门昌君¹, 张平平², 刘 钰³, 张国梁^{1△}, 王东强²

(1. 天津市第一中心医院消化科, 天津 300192; 2. 天津市第一中心医院中西医结合科, 天津 300192; 3. 天津医科大学, 天津 300070)

[摘要] **目的** 探讨胱天蛋白酶募集域蛋白 9(CARD9)在重症急性胰腺炎(SAP)大鼠中的早期表达,并探讨柴苓承气汤对其的调控机制。**方法** 将 SD 大鼠分为假手术组(SHAM 组)、SAP 组和柴苓承气汤组(CQCQD 组),每组 20 只。检测血清淀粉酶(AMY)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 水平及 CARD9 mRNA 表达;术后 3、6、12 h 分批处死大鼠,开腹观察胰腺组织的病理学变化;采用 Western blot 法检测 3、6、12 h 各组胰腺组织中 CARD9 蛋白磷酸化水平。**结果** SAP 组 AMP、TNF- α 、IL-1 β 、CARD9 mRNA 水平随造模时间延长而逐渐升高。与 SHAM 组比较,SAP 组炎症因子水平明显升高($P < 0.05$);同时间点 CQCQD 组 AMP、TNF- α 、IL-1 β 、CARD9 mRNA 水平较 SAP 组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。3、6、12 h CQCQD 组蛋白磷酸化水平较 SAP 组明显下降,较 SHAM 组有所升高($P < 0.05$)。CARD9 mRNA 表达的曲线下面积(AUC)为 0.923,灵敏度和特异度分别为 89.9%、94.8%,有较高的诊断准确性。**结论** 柴苓承气汤可降低血清 CARD9 mRNA 水平,从而减轻 SAP 时胰腺的炎症损伤。

[关键词] 胰腺炎,急性坏死性;大鼠,Sprague-Dawley;胱天蛋白酶募集域蛋白 9;肿瘤坏死因子 α ;白细胞介素 1 β ;柴苓承气汤

[中图分类号] R576

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)03-0361-06

Study on early expression of CARD9 in rats with severe acute pancreatitis and intervention of Chaifengchengqi Decoction*

MEN Changjun¹, ZHANG Pingping², LIU Yu³, ZHANG Guoliang^{1△}, WANG Dongqiang²

(1. Department of Gastroenterology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 2. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 3. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[Abstract] **Objective** To explore the early expression of caspase recruitment domain protein 9 (CARD9) in the rat model of severe acute pancreatitis (SAP), and to explore the regulation mechanism of Chaifengchengqi Decoction. **Methods** SD rats were divided into the sham operation group (the SHAM group), the SAP group and the Chaifengchengqi Decoction group (the CQCQD group), with 20 rats in each group. Serum amylase (AMY), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β levels and CARD9 mRNA expression were detected; rats were sacrificed in batches at 3, 6, and 12 h after surgery. Open the abdomen to observe the pathological changes of pancreatic tissue; Western-blot method was used to detect the phosphorylation level of CARD9 protein in the pancreatic tissue of each group at 3, 6, and 12 h. **Results** The levels of AMP, TNF- α , IL-1 β , CARD9 mRNA in the SAP group gradually increased with the prolonging of the modeling time. Compared with the SHAM group, the levels of inflammatory factors significantly increased ($P < 0.05$); at the same time point, the levels of AMP, TNF- α , IL-1 β and CARD9 mRNA in the CQCQD group were significantly lower

* 基金项目:天津市卫生健康委员会、天津市中医药管理局中医、中西医结合科研课题一般项目(2019100)。 作者简介:门昌君(1981—), 副主任医师,硕士,主要从事肝癌、肝移植术后及胆胰疾病研究。 △ 通信作者, E-mail: zgl_022@126.com。

than those in the SAP group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The protein phosphorylation level of the CQCQD group at 3, 6, and 12 h was significantly lower than that in the SAP group, while higher than that in the SHAM group ($P < 0.05$). Area under the curve (AUC) value of CARD9 mRNA expression was 0.923, the sensitivity and specificity was 89.9% and 94.8%, respectively, which had high diagnostic accuracy. **Conclusion** Chaiqinchengqi Decoction can reduce the content of serum CARD9 mRNA, thus reducing the pancreatic inflammatory injury in SAP.

[Key words] pancreatitis; acute necrotizing; rats; sprague-dawley; caspase recruitment domain-containing protein 9; tumor necrosis factor- α ; interleukin-1 β ; chaiqinchengqi decoction

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是一种以胰腺自身消化、坏死为主要特征引起的消化道组织水肿、胃肠道蠕动功能减退、黏膜屏障功能受损,并可引起全身炎性反应或导致多器官功能障碍的一种临床综合征^[1]。因其病情进展快速、病死率高达 30%~40%、预后差,易出现多器官衰竭 (multiple organs dysfunction syndrome, MODS), 是临床上常见的危重急腹症^[2], 并有近 20% 的急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 被诊断为 SAP^[3]。SAP 发生后多种炎症细胞被激活, 释放出白细胞介素 (interleukin, IL)-1、IL-6、IL-10 及其他炎性因子并启动全身炎性反应, 导致胰腺组织细胞凋亡即“炎性介质瀑布样级联效应”^[4-5]。因此, 在 SAP 早期控制炎性反应和细胞凋亡, 是提高患者的生存率和改善预后的重中之重。胱天蛋白酶募集域蛋白 9 (caspase recruitment domain-containing protein 9, CARD9) 是在巨噬细胞内高表达的一种新型蛋白, 作为多数受体路径的载体, 可以激活多种炎性反应信号传递路径, 促进炎性因子的生成。有研究发现, 在早期 AP 患者外周血中, CARD9 mRNA 表达明显增高, 且磷酸化 CARD9 的表达水平与胰腺炎病情程度呈正相关^[6]。柴芩承气汤是在中医“益活清下”治疗思想下加用活血化瘀、行气止痛化裁而成, 以大黄、芒硝为主, 辅以厚朴、黄芩、柴胡等中药。现代医学认为, 该方剂能清除肠道生物屏障, 能清除肠源性内毒素、抑制蛋白酶激活和肠道细菌移位, 清除血浆和组织内炎性反应递质和氧自由基, 阻断感染作用^[7]。研究发现, 柴芩承气汤作用于胆碱能通路上调巨噬细胞乙酰胆碱受体 $\alpha 7$ ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7$ -nAChR) 的表达^[8], 减少 SAP 炎性介质释放及胰腺的病理损害^[9]。本研究重点检测 SAP 大鼠胰腺组织 CARD9 早期表达并探讨柴芩承气汤对病情的干预作用, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选取健康 SD 大鼠 60 只, 体重 220~280 g, 雌雄不限, 待其适应国家卫生健康委员会危重病急救医学重点实验室 (天津市第一中心医院) 的实验室条件生

存 1 周。实验动物及其食用的标准饲料由天津医科大学实验动物中心提供, 单笼饲养、自由饮食饮水, 所有的实验操作均符合《中国动物研究协会》的所有规定。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备

实验动物术前禁食 12 h, 称重后通过行腹腔内注射 10% 水合氯醛 3.5 mL/kg 麻醉。待全身麻醉后备皮, 保持仰卧位。于剑下沿腹壁正中线开腹、暴露胃及十二指肠, 确定十二指肠乳头位置, 肝脏下垫无菌棉保护肝组织, 于肝门处与小动脉夹暂时夹闭胆管, 于十二指肠乳头开口插入 1 mL 注射器后将 5% 牛磺去氧胆酸钠 (1.0 mL/kg) 逆行进入胆胰管, 注射速度约为 0.2 mL/min。注射完毕待药液扩散 2 min 后松开小动脉夹、拔出注射器、取出肝下无菌棉关闭腹腔。大鼠苏醒后, 可自由饮水、保持禁食的状态, 直至出现大鼠胰腺组织水肿、出血或坏死等改变时提示建模成功, 见图 1。

1.2.2 分组

将 SD 大鼠分为假手术组 (SHAM 组)、SAP 组、柴芩承气汤组 (CQCQD 组), 每组 20 只。SAP 大鼠建模完成 3 h 后, SHAM 组于开腹后翻动胰腺数次后缝合腹壁; 按照 10 mL/kg 予 CQCQD 组柴芩承气汤灌胃; SHAM 组及 SAP 组均予生理盐水灌胃。

1.2.3 标本采集及检测

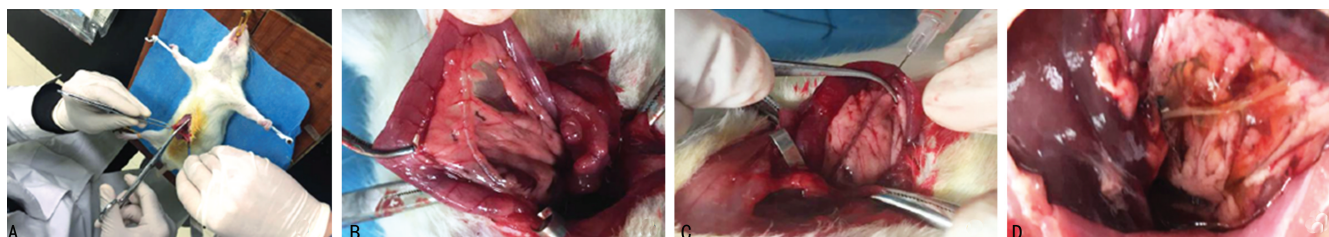
(1) 血清淀粉酶 (AMY): 建模 24 h 后麻醉大鼠, 经腹主动脉采血 5 mL, 离心后吸取上层透明血清标本分装标记, -80°C 保存检测 AMY。(2) 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β : 采用 ELISA 试剂盒检测血清 TNF- α 、IL-1 β 水平。

1.2.4 CARD9 mRNA 表达水平检测

采用 RNA 提取试剂盒提取胰腺组织中的总 RNA, 以其为模板逆转录生成 cDNA。再按照实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) SYBR Green 法步骤进行 PCR 扩增, qPCR 条件: 95°C 预变性 3 min; PCR 循环为 95°C 5 s, 56°C 30 s, 72°C 30 s, 扩增 40 个循环周期。循环完毕后进行熔解曲线分析。每个标本设 3

个复孔,经过 3 次独立实验后得到的数据,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值计算 CARD9 mRNA 的表达水平。PCR 试剂盒 SYBR Premix Ex Taq II (日本 TaKaRa 公司),荧光定量 PCR 仪 (LightCycler 96, 瑞士罗氏公司)。CARD9 上游引物: 5'-ATT GAC CCC TCA CGA

ATC AC-3';下游引物 5'-AGG AGC ACA CCC ACT TTC C-3'。内参 U6 上游引物: 5'-TGC GGG TGC CTG CTT CGG CAG CAC-3';下游引物: 5'-CCA GTG CAG GGT CCG AGG T-3',引物由上海生工生物工程股份有限公司设计并合成。



A:开腹;B:夹闭肝门部胆管、保留胰胆管;C:逆行缓慢注入 5%牛磺去氧胆酸钠;D:SAP 模型胰腺。

图 1 建模过程

1.2.5 计算病理评分

术后 3、6 和 12 h 分批处死大鼠,取部分胰腺组织置于 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 液氮罐保存;剩余胰腺组织置入甲醛固定液中 24 h 后,予液体石蜡包埋后以 $2\text{ }\mu\text{m}$ 连续切片进行苏木素-伊红(HE)染色观察病理学特征。从细胞水肿、炎性细胞浸润、出血和脂肪坏死 4 个方面进行综合评分。

1.2.6 Western-blot 法检测 CARD9 蛋白磷酸化水平

50 μg 蛋白上样于 10%聚丙烯酰胺凝胶上,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳;半干法转印分离蛋白到聚偏氟乙烯(PVDF)膜;5%脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜,1:1 000 一抗孵育 PVDF 膜,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;二抗孵育 PVDF 膜 1 h,ECL 化学发光试剂发光显色。

1.2.7 中药给药方剂及配制

方剂组成:金银藤 30 g,蒲公英 30 g,柴胡 15 g,黄芩 15 g,青香藤 10 g,金铃子 10 g,陈皮 10 g,大黄 10 g,芒硝 10 g。根据《动物实验给药剂量折算公式》计算给药量,本研究中所用药材均为“江苏江阴天江药业有限公司”生产的配方颗粒剂(批号:1701136)。颗粒剂混合后,加入蒸馏水 800 mL 搅拌直至溶解;后

分装为 100 mL,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,灌胃前给予 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅预热。

1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析灵敏度、特异度,并计算曲线下面积(area under the curve,AUC),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AMP、TNF- α 及 IL-1 β 水平变化

SAP 组 AMP、IL-1 β 水平随造模时间延长而逐渐升高,TNF- α 先升高后降低。与 SHAM 组比较,其炎性因子水平明显升高($P<0.05$)。同时间点 CQCQD 组 AMP、TNF- α 及 IL-1 β 水平较 SAP 组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 胰腺组织中 CARD9 mRNA 水平变化

SAP 组 CARD9 mRNA 水平随着建模时间延长而逐渐升高。与 SHAM 组比较,SAP 组 CARD9 mRNA 水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。同时间点 CQCQD 组 CARD9 mRNA 较 SAP 组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组 AMY、TNF- α 、IL-1 β 及 CARD9 mRNA 水平变化($\bar{x}\pm s$)

组别	AMY(U/L)	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (ng/L)	CARD9 mRNA
SHAM 组				
3 h	641.29 \pm 113.12	61.38 \pm 23.14	78.56 \pm 30.11	2.14 \pm 0.91
6 h	579.45 \pm 127.56	99.09 \pm 24.21	89.01 \pm 27.68	2.39 \pm 1.13
12 h	623.90 \pm 199.78	83.99 \pm 25.09	92.34 \pm 34.91	4.43 \pm 3.01
SAP 组				
3 h	6 123.89 \pm 879.04 ^a	387.23 \pm 65.34 ^a	196.19 \pm 29.01 ^a	7.13 \pm 3.91 ^a

续表 1 各组 AMY、TNF- α 、IL-1 β 及 CARD9 mRNA 水平变化($\bar{x}\pm s$)

组别	AMY(U/L)	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (ng/L)	CARD9 mRNA
6 h	7 274.03 \pm 931.92 ^a	583.24 \pm 41.58 ^a	279.02 \pm 23.11 ^a	21.09 \pm 6.92 ^a
12 h	8 901.45 \pm 1 003.67 ^a	429.07 \pm 71.19 ^a	393.66 \pm 39.93 ^a	24.81 \pm 7.57 ^a
CQCQD 组				
3 h	4 201.38 \pm 1 001.53 ^b	210.67 \pm 48.69 ^b	94.06 \pm 23.19 ^b	6.19 \pm 2.13 ^b
6 h	4 428.01 \pm 1 221.18 ^b	408.03 \pm 31.34 ^b	143.89 \pm 21.01 ^b	9.03 \pm 3.97 ^b
12 h	5 312.18 \pm 1 313.12 ^b	231.45 \pm 29.56 ^b	345.67 \pm 40.81 ^b	15.62 \pm 5.78 ^b

^a: $P<0.05$,与同时时间点 SHAM 组比较;^b: $P<0.05$,与同时时间点 SAP 组比较。

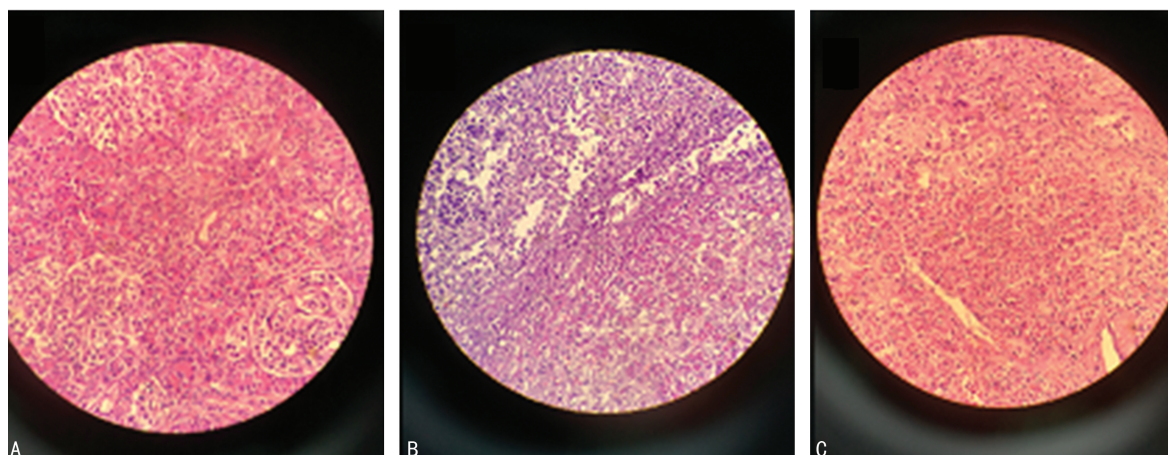
2.3 胰腺组织病理及评分

SHAM 组胰腺组织结构清晰,偶见红细胞及炎性细胞浸润,未见腺泡小叶受损及腺泡细胞坏死。SAP 组腺泡细胞变性坏死增多,小叶结构破坏更为明显,炎性细胞及红细胞浸润增加,随建模时间延长,胰腺病理评分增高。CQCQD 组 3、6、12 h 胰腺组织病理损伤和评分[(5.9 \pm 0.4)、(8.9 \pm 1.7)、(10.1 \pm 1.1)分]均较 SAP 组[(9.9 \pm 1.9)、(11.6 \pm 2.5)、

(12.8 \pm 2.4)分]低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

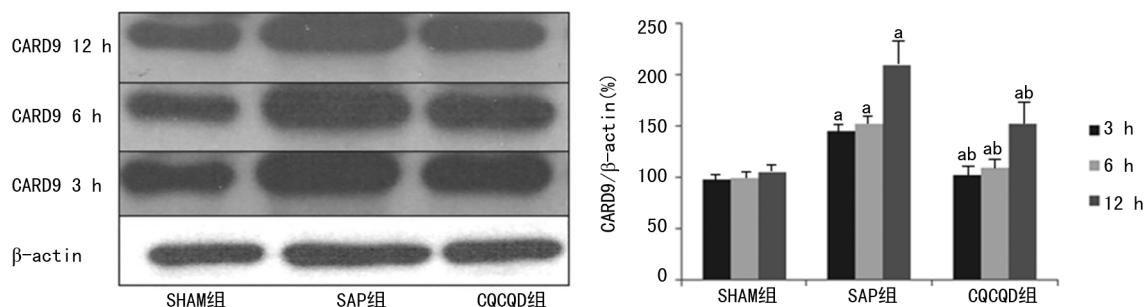
2.4 胰腺组织中 CARD9 蛋白的磷酸化检测

以磷酸化 CARD9 条带与 β -actin 条带灰度值之比表示 CARD9 蛋白的磷酸化水平,在 3、6 及 12 h 时间点 CQCQD 组蛋白磷酸化水平较 SAP 组明显下降,较 SHAM 组有所增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。



A:SHAM 组;B:SAP 组;C:CQCQD 组。

图 2 3 组 6 h 胰腺病理改变(HE 染色, $\times 400$)



^a: $P<0.05$,与 SHAM 组比较;^b: $P<0.05$,与 SAP 组比较。

图 3 Western-blot 检测 3 组各时间点磷酸化 CARD9 蛋白表达

2.5 TNF- α 、IL-1 β 、病理评分及 CARD9 mRNA 表达的 ROC 曲线分析

TNF- α 表达水平的 AUC 值为 0.842 ($P<0.05$),灵敏度和特异度分别为 78.4%、68.5%;IL-1 β

表达水平的 AUC 值为 0.887 ($P<0.05$),灵敏度和特异度分别为 88.4%、91.0%;病理评分的 AUC 值为 0.888 ($P<0.05$),灵敏度和特异度分别为 85.4%、92.2%;CARD9 mRNA 表达的 AUC 值为 0.923

($P < 0.05$), 灵敏度和特异度分别为 89.9%、94.8%。SAP 大鼠模型 CARD9 mRNA 表达水平灵敏度、特异度及 AUC 值最高, 有较高的诊断准确性, 见图 4。

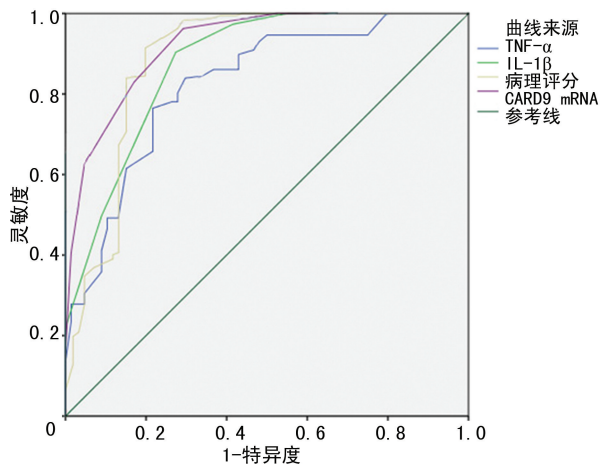


图 4 SAP 大鼠模型 ROC 曲线

3 讨 论

CARD9 是 1 个重要的衔接蛋白, 属于包含 CARD 蛋白家族中的一员, 定位于染色体 9q34.3, CARD9 cDNA 全长 2 108 bp。其能与巨噬细胞内 2 个含有 CARD 结构域的蛋白 B 细胞淋巴瘤因子 10 (B-cell lymphoma factor 10, BCL10)、黏膜相关组织淋巴瘤易位蛋白 (mucosa associated tissue lymphoma translocating protein, Malt1) 结合, 形成 CARD9/Bcl10/Malt1 复合体 (CARD9 复合体)。有研究发现, CARD9 主要参与固有免疫炎症反应, 而巨噬细胞在固有免疫炎症反应中起重要作用^[10]。已有研究表明, CARD9 作为核因子- κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 炎症信号通路的上游分子, 促进巨噬细胞产生和释放炎症因子, 对激活巨噬细胞起到重要作用^[11]。目前已经证实, NF- κ B 与 p38-丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 是 SAP 发病机制中调节促炎细胞因子产生的两条主要通道^[12-13]。本研究通过建立 SAP 大鼠模型, 检测各组各时间点 TNF- α 、IL-1 β 及 CARD9 mRNA 表达水平的变化, 得出 CARD9 mRNA 随建模时间延长的增高趋势及与 SAP 的严重程度呈正相关; 同时, SAP 组大鼠 AMY、TNF- α 、IL-1 β 水平及胰腺病理评分均明显升高且随建模时间延长逐渐增加, 验证了 CARD9 等作为新靶标在 SAP 发病早期的标志性意义。

刘媛琪等^[14]通过实验研究发现, 大黄可降低内毒素的吸收, 抑制 TNF- α 和 IL-1 β 的表达, 有解热、抗炎、镇痛、抑制胃酸和胰蛋白酶分泌等作用^[15]。XUE 等^[16]研究发现黄芩苷作用于 SAP 大鼠时, 可抑制 NF- κ B 活化, 减少 TNF- α 、IL-6 表达, 改善肝脏损伤。相关研究表明黄芩与柴胡配伍具有良好的保肝作

用^[17-18]。厚朴有抗病原微生物作用, 芒硝可促进肠内毒素的排泄, 枳实水煎液可促进胃肠蠕动。柴芩承气汤可排除胃肠积滞、清除肠道内的细菌和内毒素, 保护肠道的机械和免疫屏障, 减轻全身炎症反应, 减少 MODS 发生及病程, 从而降低病死率^[19-20]。本课题组将柴芩承气汤引入动物实验的对比研究, 结果发现: 大鼠的胰腺损伤程度随建模时间延长逐渐加重, 柴芩承气汤可有效改善 SAP 早期病情; 随着病情进展胰腺组织中的 CARD9 mRNA 表达及磷酸化 CARD9 蛋白亦随之增加; CQCQD 组大鼠胰腺组织中 CARD9 mRNA 表达及磷酸化 CARD9 蛋白明显低于同时时间点的 SAP 组。本研究证实: 柴芩承气汤不仅可以降低 SAP 模型大鼠血清淀粉酶水平及胰腺病理损伤, 而且可以降低血清 CARD9 mRNA、TNF- α 及 IL-1 β 水平。提示 SAP 血清促炎因子升高可能与巨噬细胞存在 CARD9 mRNA 表达上调有关; 早期给予 SAP 模型大鼠柴芩承气汤可降低其血清 TNF- α 及 IL-1 β 水平, 可能是其下调巨噬细胞内质网 CARD9 mRNA 表达, 抑制信号传导及炎症因子的释放, 从而减轻 SAP 时胰腺减轻胰腺的病理损伤。

综上所述, 本研究首次将 ROC 曲线引入大鼠 SAP 模型的研究, 通过 ROC 曲线分析发现 SAP 大鼠模型 CARD9 mRNA 表达水平较 TNF- α 、IL-1 β 、病理评分的灵敏度、特异度及 AUC 值高, 提示有较高的诊断准确性, 可以将其作为评估 SAP 病情的新靶标。但由于本研究样本量有限, 大鼠的个体性差异可能对实验结果有影响。此外, 课题组应同时制备多个脏器的病理切片来观察柴芩承气汤对多器官的保护作用。今后还应继续收集临床病例, 进行大样本量、多中心临床实验研究对动物实验成果进行验证。

参考文献

- [1] PUUSTINEN P, KELDSBO A, CORCELLE-TE RMEAU E, et al. DNA-dependent protein kinase regulates lysosomal AMP-dependent protein kinase activation and autophagy [J]. *Autophagy*, 2020, 16(10): 1871-1888.
- [2] JUKEMA J W, SZAREK M, ZIJLSTRA L E, et al. Alirocumab in patients with polyvascular disease and recent acute coronary syndrome: ODYSSEY OUTCOMES trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 74(9): 1167-1176.
- [3] DE-MADARIA E, MARTÍNEZ J, SEMPERE L, et al. Cytokine genotypes in acute pancreatitis: association with etiology, severity, and cy-

- tokine levels in blood[J]. *Pancreas*, 2008, 37(3):295-301.
- [4] PAN W, YU H, HUANG S, et al. Resveratrol protects against TNF- α -induced injury in human umbilical endothelial cells through promoting sirtuin-1-induced repression of NF-KB and p38 MAPK[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1):e0147034.
- [5] LI S, ZHANG S, LI R, et al. Prophylactic low-molecular-weight heparin administration protected against severe acute pancreatitis partially by VEGF/Flt-1 signaling in a rat model[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2020, 39(10):1345-1354.
- [6] HUNG C Y, CASTRO-LOPEZ N, COLE G T. Card9- and MyD88-mediated gamma interferon and nitric oxide production is essential for resistance to subcutaneous *Coccidioides posadasii* infection[J]. *Infect Immun*, 2016, 84(4):1166-1175.
- [7] 党琳, 张晓芹, 刘芳, 等. 柴芩承气汤对重症急性胰腺炎并肝损伤大鼠肝组织氧化应激的影响[J]. *新乡医学院学报*, 2015, 32(12):1059-1063.
- [8] XUE P, GUO J, YANG X N, et al. Changes of neuronal acetylcholine receptor alpha 7 of peritoneal macrophage in experimental acute pancreatitis treated by Chaiqinchengqi Decoction[J]. *Chin J Integr Med*, 2014, 20(10):770-775.
- [9] LI X, HE C, LI N, et al. The interplay between the gut microbiota and NLRP3 activation affects the severity of acute pancreatitis in mice[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(6):1774-1789.
- [10] 王长起, 李凯, 索胜利. 血尿酸淀粉酶、CRP、Card9 蛋白在 AP 患者中的变化及其意义[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(1):99-102.
- [11] WANG X, YANG G H, WANG C X, et al. Effects of Da-Cheng-Qi decoction on enteroparalysis and serum inflammatory cytokines in patients with severe acute pancreatitis[J]. *Tradit Med Res*, 2019, 4(4):205-212.
- [12] XU P, WANG J, YANG Z W, et al. Regulatory roles of the PI3K/Akt signaling pathway in rats with severe acute pancreatitis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e81767.
- [13] YANG Z W, WENG C Z, WANG J, et al. The role of Card9 overexpression in peripheral blood mononuclear cells from patients with aseptic acute pancreatitis[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(3):441-449.
- [14] 刘媛琪, 王璐璐, 陈立, 等. 大黄游离蒽醌对重症急性胰腺炎大鼠肝脏的影响[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(8):1827-1829.
- [15] 雷载权, 张廷模. *中华临床中药学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [16] XUE D, ZHANG W, ZHANG Y, et al. Adjusting effects of baicalin for nuclear factor-kappaB and tumor necrosis factor-alpha on rats with caerulein-induced acute pancreatitis[J]. *Mediators Inflamm*, 2006, 2006(5):26295.
- [17] 苗延青, 尤静, 薛鹏燕, 柴胡、黄芩、甘草、葛根四种药物颗粒剂与水煎剂抗炎镇痛作用比较[J]. *医学信息*, 2020, 33(21):73-75.
- [18] 王晓希, 贺晓芳, 季菲. 王文友应用“柴胡三仁汤”加减治疗杂病验案 4 则[J]. *江苏中医药*, 2020, 52(10):61-63.
- [19] ALOISI G, MARENGONI A, MORANDI A, et al. Drug prescription and delirium in older inpatients: results from the nationwide multicenter italian delirium day 2015-2016[J]. *J Clin Psychiatry*, 2019, 80(2):18m12430.
- [20] YANG Y, LIU R B, LIU Y, et al. Incidence and risk factors of pancreatitis in obstructive jaundice patients after percutaneous placement of self-expandable metallic stents[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2020, 19(5):473-477.

(收稿日期:2020-06-18 修回日期:2020-11-02)