

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.16.002
文章编号: 1005-8982 (2018) 16-0006-05

胸腺素 $\alpha 1$ 对重症急性胰腺炎 大鼠肺损伤作用的实验研究*

邱兆磊, 王振杰, 程峰, 郑传明, 李磊, 姜海, 杜召辉
(蚌埠医学院第一附属医院 急诊外科, 安徽 蚌埠 233004)

摘要: 目的 探讨胸腺素 $\alpha 1$ (T $\alpha 1$) 对重症急性胰腺炎 (SAP) 大鼠肺损伤的保护作用及可能机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 24 只随机均分为 3 组: 对照组 (A 组)、重症急性胰腺炎组 (B 组)、T $\alpha 1$ 干预组 (C 组)。经逆行胆胰管注射 5% 牛磺胆酸钠 (0.1 ml/100 g) 复制重症急性胰腺炎 SD 大鼠动物模型, C 组在复制模型前 30 min 经腹皮下注射 T $\alpha 1$ 6 mg/kg, 复制模型后 12 h 处死大鼠。分别测定各组大鼠血清淀粉酶的含量, 计算肺湿干比 (W/D), Western blot 法检测各组肺组织细胞间黏附分子 (ICAM-1) 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的蛋白表达; 观察大鼠胰腺和肺组织病理学改变。**结果** B、C 组大鼠与 A 组比较, 血清淀粉酶、肺组织 ICAM-1 及 TNF- α 的蛋白表达、W/D 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), B、C 组高于 A 组; C 组与 B 组比较, 血清淀粉酶、肺组织 ICAM-1 及 TNF- α 的蛋白表达、W/D 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), C 组较 B 组降低, 病理损伤较 B 组轻; A 组无明显病理改变。**结论** T $\alpha 1$ 能够减轻 SAP 大鼠肺水肿严重程度, 降低肺组织 ICAM-1 及 TNF- α 的蛋白表达水平, 减轻肺损伤, 对大鼠肺损伤具有一定的保护作用。

关键词: 胸腺素 $\alpha 1$; 重症急性胰腺炎; 肺损伤; 肿瘤坏死因子 α

中图分类号: R-332

文献标识码: A

Experimental study about effect of thymosin alpha 1 on lung injury in rats with severe acute pancreatitis*

Zhao-lei Qiu, Zhen-jie Wang, Feng Cheng, Chuan-ming Zheng, Lei Li, Hai Jiang, Zhao-hui Du
(Department of Emergent Surgery, the First Affiliated Hospital to Bengbu Medical College,
Bengbu, Anhui 233004, China)

Abstract: Objective To explore the protective effect of thymosin alpha 1 on lung injury in rats with severe acute pancreatitis (SAP) and its possible mechanism. **Methods** Twenty-four adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: control group (A), severe acute pancreatitis group (B) and thymosin alpha 1 intervention group (C) with 8 in each group. Animal models of SAP were made by retrograde injection of 5% sodium taurocholate (0.1 ml/100 g) into the cholangiopancreatic duct. The rats in the group C were treated with thymosin $\alpha 1$ (6 mg/kg) by subcutaneous administration 30 min prior to SAP modeling. The rats from each group were sacrificed 12 h after SAP modeling. The serum level of amylase and lung W/D ratio were detected in each group. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were studied using Western blot. Histopathological changes of pancreatic and pulmonary tissues were observed by light microscopy. **Results** The levels of serum amylase, the expressions of ICAM-1 and TNF- α in the lungs, the lung W/D ratio, and the lung and pancreas pathologic scores were increased in the groups B and C compared with the group A ($P < 0.05$).

收稿日期: 2017-11-17

* 基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目 (No: KJ2015B113by); 安徽省蚌埠医学院科技发展资助项目 (No: BYKF1768)
[通信作者] 王振杰, E-mail: ahbyfywj@163.com; Tel: 13956399828

The levels of serum amylase, the expressions of ICAM-1 and TNF- α in the lungs, the lung W/D ratio, and the lung and pancreas pathological scores in the group C were much lower than those in the group B ($P < 0.05$). The changes of histopathology were milder in the group C. There was no obvious pathological changes in the group A. **Conclusions** Thymosin $\alpha 1$ can decrease pulmonary edema, reduce pulmonary injury and has protective effect on lung injury in the rats with SAP by reducing the expressions of TNF- α and ICAM-1.

Keywords: thymosin $\alpha 1$; severe acute pancreatitis; lung injury; tumor necrosis factor- α

重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是急性胰腺炎发展的重症阶段, 常伴有重要脏器功能障碍, 仍是并发症多、死亡率高的疾病之一^[1]。急性肺损伤是 (acute lung injury, ALI) 是 SAP 常见且严重并发症, 据统计 SAP 出现肺损伤等多脏器衰竭的死亡率高达 54%。

胸腺素 $\alpha 1$ (Thymosin $\alpha 1$, T $\alpha 1$) 是一种细胞免疫增强剂^[2], 具有促进体内细胞因子的分泌以及淋巴细胞的功能, 而 T $\alpha 1$ 对 SAP 大鼠相关肺损伤的作用国内外鲜见报道。本文通过复制 SAP 肺损伤大鼠动物模型, 探讨 T $\alpha 1$ 在 SAP 大鼠肺脏损伤中的作用, 观察肺组织病理以及肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 的变化, 为探索 SAP 肺损伤相关机制和保护性治疗提供新策略。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与分组

清洁级成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 24 只, 体重 180 ~ 210 g, 随机平均分为 3 组: 对照组 (A 组)、SAP 组 (B 组) 和 T $\alpha 1$ 干预组 (C 组), 每组各 8 只。

1.2 SAP 模型复制和处理

所有大鼠术前禁食 12 h, 自由饮水。吸入性麻醉药异氟烷 (上海雅培制药有限公司) 对大鼠进行麻醉, 无菌条件下行腹正中切口入腹。A 组大鼠入腹后仅翻动十二指肠及胰腺后即刻关腹; B 组大鼠采用 5% 牛磺胆酸钠 (0.1 ml/100 g, 美国 Sigma 公司) 经胆胰管逆行匀速缓慢注入 (0.1 ml/min) 复制 SAP 动物模型; C 组大鼠在复制模型前 0.5 h 经腹皮下注射 T $\alpha 1$ (6 mg/kg) (上海实业联合集团长城药业有限公司)。

1.3 观察指标与检测方法

分别于复制模型成功后 12 h 处死各组大鼠, 经腹主动脉采血备用, 取肺组织和胰腺组织用于光镜病理学检查。另一部分肺组织经液氮置入 -80°C 冰箱冷冻保存, 用于检测肺组织细胞间黏附分子 (intercellular

adhesion molecule, ICAM-1) 及 TNF- α 的蛋白表达。

1.3.1 各组大鼠血清淀粉酶检测 采用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清淀粉酶水平。

1.3.2 胰腺组织和肺组织病理学检查 ①病理学检查: 胰腺、肺组织标本以 10% 甲醛溶液常规固定、石蜡包埋、苏木素-伊红染色。② Western blot 法检测肺组织 ICAM-1 蛋白和 TNF- α 蛋白表达情况。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料以均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用方差分析和 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清淀粉酶及肺湿干比比较

3 组血清淀粉酶及肺湿干比 (W/D) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), C 组与 B 组比较, C 组降低 ($q = 12.133, P = 0.000$), B 组与 A 组比较, B 组升高 ($q = 35.688, P = 0.000$)。见表 1。

2.2 胰腺、肺脏组织病理改变

B、C 组胰腺组织可见腺泡水肿、炎症细胞浸润, 有的间质坏死, 损伤较 A 组重; 而 C 组胰腺组织损伤较 B 组减轻; A 组胰腺组织未见明显病理改变。见图 1 ~ 3。

B、C 组肺组织间质炎症细胞的浸润、水肿, 损伤较 A 组加重; C 组肺组织损伤较 B 组减轻; A 组肺

表 1 3 组大鼠血清淀粉酶及肺 W/D 比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	血清淀粉酶 / (u/L)	肺 W/D
A 组	1 107.42 \pm 83.80	1.71 \pm 0.24
B 组	6 378.31 \pm 537.22	3.26 \pm 0.14
C 组	4 586.42 \pm 477.41	2.14 \pm 0.33
F 值	329.293	82.567
P 值	0.000	0.000

组织未见明显病理改变。见图 4 ~ 6。

2.3 各组肺组织 ICAM-1 和 TNF- α 蛋白表达比较

3 组肺组织 ICAM-1 和 TNF- α 蛋白表达比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), B、C 组较 A 组升高 ($q = 10.850$ 和 3.574 , 均 $P = 0.000$), C 组较 B 组降低 ($q = 7.276$, $P = 0.000$)。见表 2 和图 7。

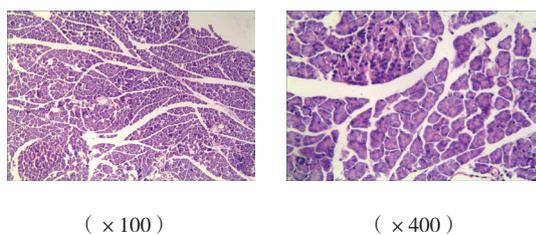


图 1 A 组胰腺组织病理改变 (HE 染色)

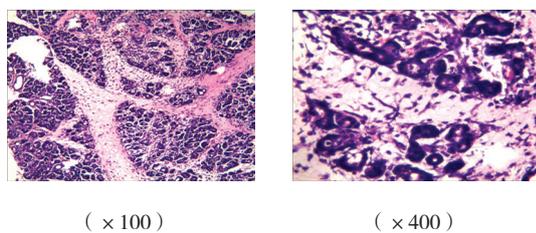


图 2 B 组胰腺组织病理改变 (HE 染色)

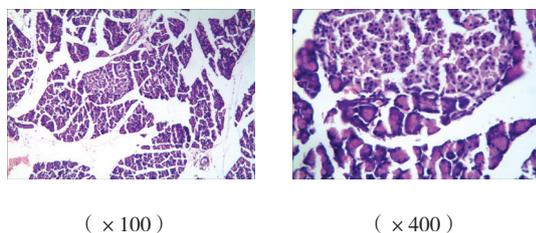


图 3 C 组胰腺组织病理改变 (HE 染色)

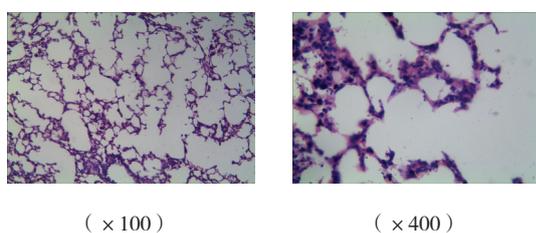


图 4 A 组肺组织病理改变 (HE 染色)

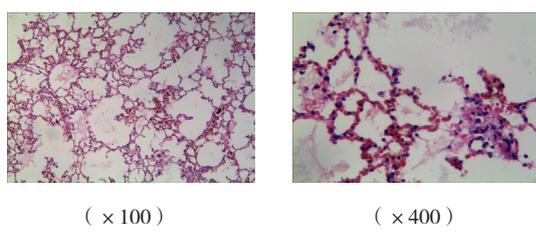


图 5 B 组肺组织病理改变 (HE 染色)

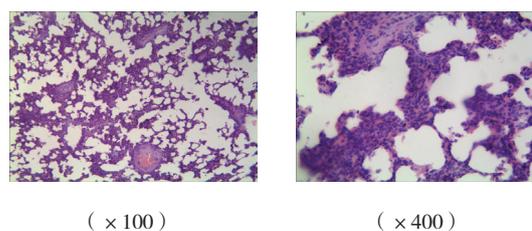
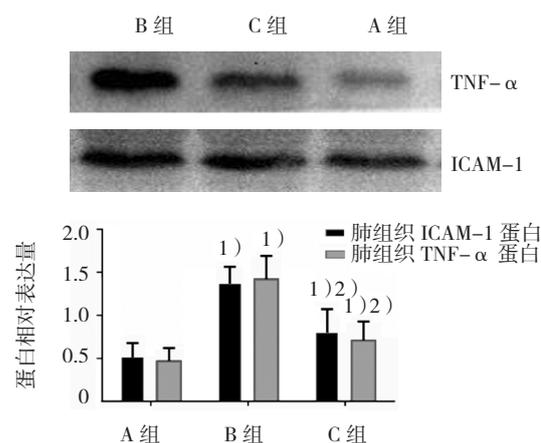


图 6 C 组肺组织病理图 (HE 染色)

表 2 3 组肺组织 ICAM-1 和 TNF- α 蛋白表达比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	ICAM-1 蛋白	TNF- α 蛋白
A 组	0.53 ± 0.17	0.47 ± 0.15
B 组	1.38 ± 0.20	1.42 ± 0.27
C 组	0.81 ± 0.28	0.71 ± 0.22
F 值	30.571	40.732
P 值	0.000	0.000



1) 与 A 组比较, $P < 0.05$; 2) 与 B 组比较, $P < 0.05$

图 7 3 组肺组织 ICAM-1 和 TNF- α 蛋白表达

3 讨论

SAP 发病机制错综复杂, 病情危重, 迄今缺乏特异性治疗方法。SAP 时会促使炎症细胞释放大量细胞因子, 导致的全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 及多脏器衰竭 (multiple organ failure, MOF) 是 SAP 死亡的重要因素^[3]。目前研究认为^[4], TNF- α 、IL-6 等是 SAP 引起全身炎症反应综合征的强效介质, 其中 TNF- α 是最早产生并起关键作用的炎症介质, 并且 TNF- α 可直接促使组织细胞坏死及蛋白酶激活^[5], 作用于血管内皮细胞, 导致组织出血及坏死。TNF- α 可作为启动因子可引起瀑布样连锁及级联效应^[6], 促使机体释放氧自由基、

前列环素、IL-6、缓激肽等, 形成复杂和高度偶联的网络体系, 这种失控性的炎症级联反应在 SAP 组织持续性损伤中起关键作用, 可导致组织结构与功能的改变、细胞坏死, 产生 ARDS、SIRS、MODS 及 DIC 等。在炎症反应过程中, ICAM-1 的表达受 TNF- α 调节, ICAM-1 可和粒细胞的整合素相作用, 介导白细胞的游出和紧密连接, 导致组织器官损伤^[7]。

本实验中 B 组大鼠复制模型成功 12 h 后血清淀粉酶、肺组织 ICAM-1 及 TNF- α 蛋白水平较 A、C 组升高, 肺组织可见炎症细胞浸润、组织水肿, 损伤较重。肺是 SAP 发生时最先累及的胰腺外脏, 肺损伤时大量的炎症介质迁移到肺组织, 释放大量的炎症介质, 对肺泡上皮及肺毛细血管上皮严重造成损害, 引起肺不张及肺水肿等, 最终导致多器官衰竭, 病死率高达 40% ~ 50%^[8-9]。SAP 发生时, 肺组织脂质过氧化物迅速增高, NF- κ B 激活, TNF- α 、IL-6 等炎症介质及 ICAM-1 等基因表达上调, 炎症介质大量释放, 中性粒细胞的活化、浸润, 产生过多的活性氧, 导致肺组织炎症介质浸润, 可导致肺组织及毛细血管的损害, 从而加重肺损伤^[10]。本实验中 B 组大鼠肺组织损伤较 A、C 组重, 肺组织 ICAM-1 及 TNF- α 蛋白水平较 A、C 组升高。

T $\alpha 1$ 是胸腺肽组分中活性最强的成分, 在细胞免疫等方面具有重要调节作用^[11]。T $\alpha 1$ 在机体炎症调节、细胞凋亡等病理生理过程中可通过作用于胸腺细胞, 刺激 T 淋巴细胞的分化成熟, 激活 NK 细胞、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞, 促进前 NK 细胞的补充、成熟, 增强 NK 细胞的杀伤能力, 增强机体的免疫功能^[12], 并可抑制有害炎症介质的产生。因此, T $\alpha 1$ 具有增强机体的细胞免疫及体液免疫功能。T $\alpha 1$ 调节作用是双向性, 其可以上调有益的细胞因子如干扰素、IL-2 等, 对有害的炎症因子如 TNF- α 等可以下调。研究表明^[13], T $\alpha 1$ 在联合动脉导管化疗药物灌注栓塞治疗原发性肝癌安全性高, 疗效显著; 在治疗恶性肿瘤过程中可提高 CD4⁺/CD8⁺ 比值及 NK 细胞数量、功能, 对于 T 淋巴细胞功能和骨髓造血功能均具有一定的保护作用^[14]; 在治疗丙型肝炎肝硬化患者方面已取得满意的效果^[15], 而 T $\alpha 1$ 对 SAP 肺损伤的疗效如何目前鲜见报道。本实验通过用 T $\alpha 1$ 对 SAP 大鼠肺损伤进行干预, 结果表明, B 组大鼠肺组织 TNF- α 、ICAM-1 及淀粉酶水平至复制模型成功后 12 h 升高, 胰腺及肺组织可见炎症细胞浸润, 组织

水肿、出血。使用 T $\alpha 1$ 干预后, C 组大鼠血清淀粉酶和肺组织 TNF- α 、ICAM-1 蛋白水平较 B 组降低, 胰腺及肺组织损害情况较 B 组减轻, 但仍高于 A 组, 本结果表明 T $\alpha 1$ 能够降低 SAP 肺损伤大鼠炎症介质及细胞因子水平, 能够减轻 SAP 的肺组织坏死及炎症细胞浸润, 具有一定的保护作用。本实验通过血清学检查、蛋白水平分析 T $\alpha 1$ 对 SAP 大鼠肺损伤的保护作用, ICAM-1 及 TNF- α 等炎症介质的下调, 肺组织损伤减轻。由于 SAP 并发肺损伤是多炎症因子参与的动态过程^[16], 早期安全有效地抑制这些炎症介质活性将有利于控制肺损伤的进一步恶化, 为临床治疗 SAP 患者提供了新的策略, 其保护机制仍有待进一步探讨。

参 考 文 献:

- [1] FROSSARD J L, STEER M, PASTOR C M. Acute pancreatitis[J]. *Lancet*, 2008, 371(9607): 143-152.
- [2] GARACI E. Thymosin alpha-1: a historical overview[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1112(1): 14-20.
- [3] WANG Y Z, WANG S W, ZHANG Y C, et al. Protective effect of exogenous IGF-I on the intestinal mucosal barrier in rats with severe acute pancreatitis[J]. *World J Emerg Med*, 2012, 3(3): 213-220.
- [4] MOTHOFER K, CASTILLO CFD, FRICH T W, et al. Increased intrapancreatic trypsinogenactive ischemia induced experimental pancreatitis[J]. *Annual of Surgery*, 1995, 221(4): 364-371.
- [5] SENDLER M, DUMMER A, WEISS F U, et al. Tumour necrosis factor alpha secretion induces protease activation and acinar cell necrosis in acute experimental pancreatitis in mice[J]. *Gut*, 2013, 62(3): 430-439.
- [6] 余佳, 金浩, 陈辰, 等. 聚 ADP 核糖聚合酶抑制剂对重症急性胰腺炎大鼠肺炎症介质表达和肺损伤的影响 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2012, 21(1): 38-42.
- [7] HSU W Y, CHAO Y W, TSAI Y L, et al. Resistin induces monocyte-endothelial cell adhesion by increasing ICAM-1 and VCAM-1 expression in endothelial cells via p38MAPK-dependent pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(8): 2181-2188.
- [8] 刘松桥, 邱海波. 急性呼吸窘迫综合征诊治进展 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2014, 23(3): 248-251.
- [9] MIKKELSEN M E, SHAH C V, MEYER N J, et al. The epidemiology of acute respiratory distress syndrome in patients presenting to the emergency department with severe sepsis[J]. *Shock*, 2013, 40(5): 375-381.
- [10] 武雅琴, 蒋峰, 黄建峰. 辛伐他汀通过 PI3K/Akt 通路缓解肺泡 II 型细胞缺氧复氧损伤 [J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(11): 1941-1943.
- [11] 吕永丰, 陈清霞, 李国成, 等. 乌司他丁对氟尿嘧啶植入剂治疗肝癌手术后恶性胸腹水患者免疫功能的影响观察 [J]. *成都医学院学报*, 2011, 6(3): 254-256.

- [12] MOODY T W. Thymosin alpha 1 as a chemopreventive agent in lung and breast cancer[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 112(1): 297-304.
- [13] 黄祥忠, 高峰, 任冬青, 等. 胸腺素 $\alpha 1$ 联合动脉导管化疗药物灌注栓塞治疗原发性肝癌的疗效观察 [J]. *实用临床医药杂志*, 2012, 16(15): 11-13.
- [14] NAYLOR P H, QUADRINI K, GARACIE, et al. Immunopharmacology of thymosin alpha 1 and cytokine synergy[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1112: 235-244.
- [15] 章前标, 范磊. 胸腺素 $\alpha 1$ 治疗丙型肝炎肝硬化 29 例临床分析 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7(24): 11873-11874.
- [16] 魏明, 刘佳, 涂玲, 等. 重症急性胰腺炎肺损伤大鼠磷脂酰肌醇-3 激酶表达及其抑制剂对肿瘤坏死因子- α 表达的影响 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24(1): 51-54.

(张蕾 编辑)