

尿石素 A 通过 TLR4/NF- κ B 信号通路对重症急性胰腺炎的保护作用及机制

曾家月¹, 马昕玥¹, 马凤雨¹, 陈霞^{1,2 Δ}

摘要:目的 探讨尿石素 A(UroA)对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠胰腺损伤的保护作用及机制。方法 36 只健康雄性 SD 大鼠随机分为假手术组(Sham 组)、SAP 组及 UroA 组,每组 12 只。采用逆行胆胰管注射 5% 牛磺胆酸钠溶液的方法构建 SAP 大鼠模型。UroA 组于 SAP 造模后灌胃 UroA 溶液(10 mg/kg),每 6 h 灌胃给药 1 次,共 4 次。建模 24 h 后,统计各组大鼠腹水量,检测血清脂肪酶(LPS)水平,酶联免疫吸附试验检测血清白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平,HE 染色观察胰腺组织病理损伤情况;实时荧光定量 PCR 分析胰腺组织 IL-6、TNF- α 、Toll 样受体 4(TLR4)、MyD88、核转录因子(NF)- κ B mRNA 表达水平;蛋白质免疫印迹法检测胰腺组织 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 蛋白表达水平。结果 与 Sham 组相比,SAP 组大鼠血清 LPS、IL-6、TNF- α 水平升高,腹水量及胰腺病理学评分增加($P < 0.05$),胰腺 IL-6、TNF- α 、TLR4、MyD88、NF- κ B 的 mRNA 水平升高($P < 0.05$),TLR4、MyD88、NF- κ B p65 的蛋白水平升高($P < 0.05$);与 SAP 组比较,UroA 组大鼠胰腺病理损伤改善,血清 LPS、IL-6、TNF- α 水平降低,TLR4、MyD88、NF- κ B 蛋白及 mRNA 水平降低($P < 0.05$)。结论 UroA 应用可改善 SAP 大鼠胰腺病理损伤,其机制可能与抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路活化,从而抑制炎症反应有关。

关键词: 胰腺炎; Toll 样受体 4; NF- κ B; 尿石素 A; 重症急性胰腺炎

中图分类号: R576 文献标志码: A DOI: 10.11958/20221590

The protective effect of urolithin A on severe acute pancreatitis through TLR4 / NF- κ B signaling pathway

ZENG Jiayue¹, MA Xinyue¹, MA Fengyu¹, CHEN Xia^{1,2 Δ}

¹ Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

² Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College

^{Δ} Corresponding Author E-mail: 970217858@qq.com

Abstract: Objective To investigate the effect and its protective mechanism of urolithin A (UroA) on pancreatic injury

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81600420); 泸州市人民政府-西南医科大学联合项目(2019LZXNYDJ48)

作者单位: 1 西南医科大学附属医院消化内科(邮编 646000); 2 成都医学院第一附属医院消化内科

作者简介: 曾家月(1995), 女, 硕士在读, 主要从事急性胰腺炎的基础和临床方面研究。E-mail: 20200299120017@stu.swmu.edu.cn

^{Δ} 通信作者 E-mail: 970217858@qq.com

- 瘤、抗炎作用及其机制[J]. 武警医学, 2020, 31(5): 401-404.
- CHU W W, YUAN F Y, DING G C, et al. Anti-tumor and anti-inflammatory effect of asperuloside on mice with Lewis lung cancer [J]. Med J Chin PAPF, 2020, 31(5): 401-404. doi: 10.3969/j.issn.1004-3594.2020.05.009.
- [12] SHAN W, LIAO X, TANG Y, et al. Dexmedetomidine alleviates inflammation in neuropathic pain by suppressing NLRP3 via Nrf2 activation [J]. Exp Ther Med, 2021, 22(4): 1046-1054. doi: 10.3892/etm.2021.10479.
- [13] LV X, ZHANG X Y, ZHANG Q, et al. lncRNA NEAT1 aggravates sepsis-induced lung injury by regulating the miR-27a/PTEN axis [J]. Lab Invest, 2021, 101(10): 1371-1381. doi: 10.1038/s41374-021-00620-7.
- [14] ACKERMAN M H, AHRENS T, KELLY J, et al. Sepsis [J]. Crit Care Nurs Clin North Am, 2021, 33(4): 407-418. doi: 10.1016/j.cnc.2021.08.003.
- [15] ZHUO Y, YANG L, LI D, et al. Syringaresinol resisted sepsis-induced acute lung injury by suppressing pyroptosis via the oestrogen receptor- β signalling pathway [J]. Inflammation, 2022, 45(2): 824-837. doi: 10.1007/s10753-021-01587-9.
- [16] DING H, YANG J, CHEN L, et al. Memantine alleviates acute lung injury via inhibiting macrophage pyroptosis [J]. Shock, 2021, 56(6): 1040-1048. doi: 10.1097/SHK.0000000000001790.
- [17] WANG L X, REN C, YAO R Q, et al. Sestrin2 protects against lethal sepsis by suppressing the pyroptosis of dendritic cells [J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 78(24): 8209-8227. doi: 10.1007/s00018-021-03970-z.
- [18] LI S, SUN Y, SONG M, et al. NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis exerts a crucial role in astrocyte pathological injury in mouse model of depression [J]. JCI Insight, 2021, 6(23): e146852-e146865. doi: 10.1172/jci.insight.146852.
- [19] WANG Y C, LIU Q X, ZHENG Q, et al. Dihydropyridinone alleviates sepsis-induced acute lung injury through inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in mice model [J]. Inflammation, 2019, 42(4): 1301-1310. doi: 10.1007/s10753-019-00990-7.

(2022-09-06 收稿 2022-12-22 修回)

(本文编辑 陆荣展)

in rats with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** Thirty-six healthy male SD rats were randomly divided into the sham group, the SAP group and the UroA group, with 12 rats in each group. The SAP model was established by retrograde perfusion of 5% sodium taurocholate into biliopancreatic duct. The UroA group was given intervention 10 mg/kg by UroA once 6 h for 4 times immediately after operation. Twenty-four hours after modeling, the ascites volume was counted. Meanwhile, the serum lipase (LPS) level was detected. The serum levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the pathological injury of pancreatic tissue was detected by HE staining. The expression levels of IL-6, TNF- α , TLR4, MyD88 and NF- κ B mRNA in pancreatic tissue were analyzed by RT-qPCR. The protein expressions of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in pancreatic tissue were detected by Western blot assay. **Results** Compared with the sham group, the serum levels of LPS, IL-6 and TNF- α increased in the SAP group ($P < 0.05$), ascites volume and pancreatic pathological score increased ($P < 0.05$) and the mRNA levels of IL-6, TNF- α , TLR4, MyD88, NF- κ B and the protein expression of TLR4, MyD88, NF- κ B p65 in pancreatic tissue were also up-regulated ($P < 0.05$). Compared with the SAP group, the pancreatic pathological injury significantly improved in the UroA group. The serum levels of LPS, IL-6 and TNF- α were significant decreased. In addition, TLR4, MyD88, NF- κ B protein and mRNA levels were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** UroA can alleviate the pathological injury of pancreas in rats with SAP, and its mechanism may be related to inhibiting the activation of TLR4/NF- κ B signaling pathway, and thereby inhibiting inflammatory response.

Key words: pancreatitis; Toll-like receptor 4; NF- κ B; urolithin A; severe acute pancreatitis

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是一种临床常见的重症急腹症,病情凶险,致残率及致死率高,给患者和社会造成了巨大的医疗负担及经济负担^[1-2]。据统计,2016年全球急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的发病率约为34/10万人,其中SAP占AP总数的2.4%~12%,病死率高达30%^[3-4]。大量炎性细胞因子释放在SAP早期的发展中发挥重要作用。早期抑制炎症级联反应,阻止病情进展,可有效降低SAP病死率。Toll样受体4(TLR4)/核转录因子(NF)- κ B通路是经典的炎症反应信号通路,在SAP早期阻断该通路可延缓病情进展,改善预后^[5]。尿石素A(urolithin A, UroA)是鞣花酸经肠道微生物代谢后的主要活性物质,具有抗炎、抗氧化、抗衰老等多种生物学作用,对缺血/再灌注微血管损伤^[6]、结肠炎^[7]等疾病有明显改善作用。目前,UroA对炎症反应的抑制作用受到越来越多的关注,但其能否抑制SAP的炎症反应,从而改善SAP胰腺病理损伤尚鲜见相关报道。本研究通过建立SAP大鼠模型,探索UroA对SAP大鼠胰腺损伤的影响,并基于炎症反应和炎症信号通路探讨其可能机制,以期对SAP治疗提供新的候选药物。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康成年SPF级雄性SD大鼠36只,体重200~250 g,购自西南医科大学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(川)2018-17。所有大鼠均饲养于SPF级动物房,室内温度维持在(22±2)℃,相对湿度40%~70%,模拟昼夜交替规律,每日更换饮用水、颗粒饲料。

1.1.2 主要试剂与仪器 UroA、羟甲基纤维素钠(CMC-Na)

均购自美国Selleck公司;牛磺胆酸钠化合物(上海西格玛德里奇贸易有限公司);鼠源抗MyD88抗体(英国Abcam公司);兔源抗NF- κ B p65抗体(美国cell signaling technology公司);鼠源抗TLR4、 β -actin抗体(圣克鲁斯生物技术有限公司);二甲基亚砜(DMSO)、辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP)标记的山羊抗鼠IgG抗体、山羊抗兔IgG抗体(上海碧云天生物技术有限公司);白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉科鹿生物科技有限责任公司);ECL发光液(重庆葆光生物技术有限公司)、脂肪酶(LPS)测定试剂盒(微板法)购自南京建成生物工程研究所;所有引物均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;动物组织总RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司);ReverTra Ace[®] qPCR RT Master Mix、荧光定量PCR试剂盒(上海东洋纺生物科技有限公司)。NanoDrop-2000分光光度计(美国Thermo公司);实时荧光定量PCR仪StepOnePlus(美国Applied Biosystems公司);多功能酶标仪(德国BMGLABTECH公司);荧光正置显微镜BX43(日本Olympus公司);化学发光成像仪Fusion solo4(法国VILBER公司)。

1.2 研究方法

1.2.1 动物造模及分组 36只SD大鼠适应性饲养1周后,按照随机数字表法分为假手术组(Sham组)、SAP组和UroA组,每组12只。禁食不禁水12 h后,参照文献^[8]的方法,大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉,在上腹部正中作一切口,暴露胰胆管,血管夹夹闭肝门部胰胆管,经十二指肠刺入胰胆管,夹闭胆总管末端,注射5%牛磺胆酸钠溶液(1 mL/kg)建立SAP模型。注射10~20 min后观察到胰管走行区域的胰腺组织出现充血、水肿,且随着时间延长红肿面积逐渐扩大,表明SAP模型制作成功,即可逐层缝合并关闭腹腔。Sham组开腹后仅翻动肠管后关闭腹腔。术后于大鼠背部皮下注射生理盐水(20 mL/kg)补充术中液体丢失。用DMSO将UroA粉末溶解成母液后置于-80℃冰箱保存,CMC-Na稀释母液制成UroA工作液。UroA组大鼠于术后苏醒时灌胃UroA溶液

(10 mg/kg), 每 6 h 灌胃给药 1 次, 共 4 次; SAP 组与 Sham 组灌胃等量 CMC-Na 溶剂。造模 24 h 后, 心脏穿刺采血后处死大鼠, 收集血清、胰腺组织标本进行相应检测。本研究方案由西南医科大学实验动物伦理委员会审批 (批准号 swmu20220017), 符合实验室动物管理与使用准则。

1.2.2 腹水量观察 建模 24 h 后, 观察各组大鼠死亡情况。大鼠采血后打开腹腔, 尽量吸尽腹水, 记录各组腹水量。

1.2.3 血清 LPS 测定 将贮存在 -80 °C 冰箱的血清样本取出, 置于冰上解冻, 按照 LPS 测定试剂盒说明书进行操作, 利用多功能酶标仪检测 580 nm 波长处光密度 (OD) 值, 根据公式计算血清 LPS 水平。每组随机抽取 5 个样本进行检测。

1.2.4 ELISA 检测血清 IL-6、TNF-α 水平 将 -80 °C 保存的血清样本放置在冰上解冻, 操作步骤完全按照相应指标的 ELISA 试剂盒说明书进行, 最后使用多功能酶标仪测量样本在 450 nm 波长处的 OD 值, 绘制标准曲线, 计算血清中 IL-6、TNF-α 水平。每组随机抽取 5 个样本进行检测。

1.2.5 胰腺组织病理学检测 从 SD 大鼠分离胰腺组织, 取部分置于 4% 多聚甲醛固定过夜, 脱水, 石蜡固定, 切片, 脱蜡脱苯, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 在荧光正置显微镜下观察胰腺组织病理变化情况, 并参考 Schmidt 等^[9] 的标准化评分系统, 对大鼠胰腺组织切片进行病理学评分。每组随机抽取 5 个样本进行检测。

1.2.6 蛋白质免疫印迹法检测胰腺组织 TLR4、MyD88、NF-κB p65 蛋白表达水平 将分离自 SD 大鼠的部分胰腺组织置于 EP 管中, 液氮速冻后保存至 -80 °C 冰箱。取部分冰冻组织, 在液氮中研磨成粉末状, 加入蛋白裂解液, 冰上超声裂解 10 min, 低温离心后取上清液, 按照 BCA 试剂盒说明书测量总蛋白浓度。取 30 μg 蛋白行 10% SDS-PAGE, 并将凝胶上的目的蛋白转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 添加 β-actin、TLR4、MyD88、NF-κB p65 一抗 (稀释比例均为 1:1 000), 于 4 °C 摇床孵育 PVDF 膜过夜, 随后用山羊抗小鼠 (稀释比例为 1:3 000) 或山羊抗兔 (稀释比例为 1:5 000) 二抗在室温下孵育 2 h; 最后将 ECL 发光液浸润 PVDF 膜, 利用电化学发光成像分析系统显影。用 Image J 软件分析各个蛋白条带的灰度值, 以目的蛋白与 β-actin 的灰度值之比代表目的蛋白的相对表达量。每组随机抽取 3 个样本进行检测。

1.2.7 RT-qPCR 法检测胰腺组织 IL-6、TNF-α、TLR4、MyD88、NF-κB mRNA 表达水平 取各组部分 SD 大鼠胰腺组织, 在液氮中研磨成粉末, 并转移至无 RNA 酶的 EP 管中, 加入 RZ 裂解液 (50~100 mg 组织加入 1 mL 裂解液), 后续步骤按照动物组织总 RNA 提取试剂盒说明书进行操作, 提取总 RNA, 测量 RNA 浓度, 按照逆转录试剂盒及 qPCR 试剂盒说明书的操作步骤进行 RT-qPCR。引物序列见表 1。每组随机检测 3 个样本, 每个样本设计 3 个复孔; 选择甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为内参基因, 反应条件: 95 °C 预变性 10 min; 95 °C 5 s, 55 °C 10 s, 72 °C 15 s, 共循环 40 次。根据 Ct 值计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 得到目的基因的相对表达量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件和 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据分析。计量资料经 Shapiro-Wilk 检验均呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 3 组间均数比较用单因素方差分析, 组间多重比较用 Bonferroni 法。P < 0.05 为差异有统计学意义。

Tab. 1 Primer sequences

表 1 引物序列

基因名称	引物序列 (5'→3')	产物大小 (bp)
TLR4	上游: TATCGGTGGTCAGTGTGCTT	104
	下游: CTCGTTTCTCACCCAGTCCT	
MyD88	上游: TTCGACGCCTTCATCTGCTA	116
	下游: CATGCGACGACACCTTTTCT	
NF-κB	上游: ACGCAAAGGACCTACGAGA	97
	下游: ATGCTGCTGAGGGATGTTGA	
IL-6	上游: GGAGTTCCTTTCTACCTGG	103
	下游: GCCGAGTAGACCTCATAGTG	
TNF-α	上游: GCGTGTTTCATCCGTTCTCTACC	167
	下游: TACTTCAGCGTCTCGTGTGTTTCT	
GAPDH	上游: CCATTCTTCCACCTTTGATGCT	181
	下游: TGTGCTGTAGCCATATTCATTGT	

2 结果

2.1 UroA 对 SAP 大鼠胰腺病理损伤的影响 HE 染色显示 Sham 组胰腺组织结构完整, 部分间质水肿, 可见少量炎性细胞浸润, 形态基本正常; SAP 组胰腺小叶及腺体结构紊乱, 大量炎性细胞浸润, 胰腺组织大片坏死、出血; UroA 组胰腺病理损伤较 SAP 组大鼠明显减轻, 见图 1。与 Sham 组相比, SAP 组及 UroA 组的胰腺病理学评分、血清 LPS 水平升高, 与 SAP 组相比, UroA 组胰腺病理学评分、血清 LPS 水平降低, 差异均有统计学意义 (P < 0.05), 见表 2。

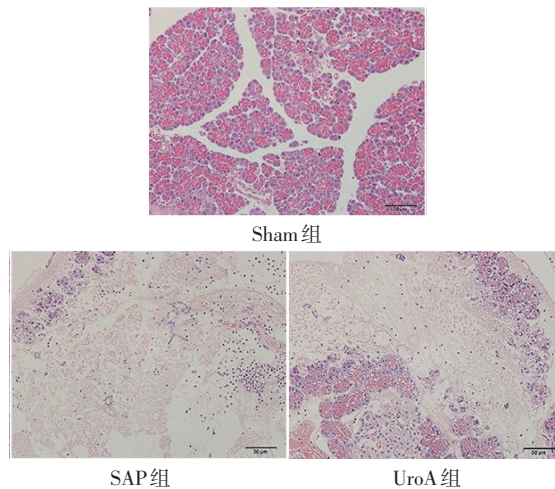


Fig. 1 Pancreatic tissue stained with HE in each group (×200)
图 1 各组大鼠胰腺组织 HE 染色 (×200)

2.2 UroA 对 SAP 大鼠腹水量的影响 Sham 组、SAP 组及 UroA 组大鼠分别死亡 0、5、2 只。Sham 组、SAP 组及 UroA 组的腹水量 (mL) 分别为 0.42±0.30、17.10±3.40、1.64±0.69, 差异有统计学意义 (n=5, F=107.086, P < 0.01)。与 Sham 组相比, SAP 组腹水量增加, 与 SAP 组相比, UroA 组腹水量减少 (均 P < 0.05)。

Tab. 2 Comparison of pancreatic histopathological scores and serum lipase levels between the three groups

表2 各组大鼠胰腺组织病理学评分及血清LPS水平比较
($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	胰腺病理学评分(分)	血清LPS(U/L)
Sham组	3.10±0.96	55.19±9.94
SAP组	13.20±1.15 ^a	139.70±5.36 ^a
UroA组	9.90±0.65 ^{ab}	90.82±7.19 ^{ab}
<i>F</i>	148.729 ^{**}	181.114 ^{**}

^{**} $P < 0.01$; ^a与Sham组比较, ^b与SAP组比较, $P < 0.05$; 表3—5同。

2.3 UroA对SAP大鼠血清及胰腺组织炎症因子表达水平的影响 与Sham组相比, SAP组大鼠血清及胰腺组织的IL-6、TNF- α 的表达升高($P < 0.05$); 与SAP组相比, UroA组大鼠血清及胰腺IL-6、TNF- α 的表达水平降低($P < 0.05$), 见表3。

Tab. 3 Comparison of IL-6 and TNF- α in serum and pancreatic tissue of rats between the three groups

表3 3组大鼠血清和胰腺组织IL-6、TNF- α 的表达水平比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	血清($n=5, \text{ng/L}$)		胰腺组织($n=3$)	
	IL-6	TNF- α	IL-6	TNF- α
Sham组	28.49±5.50	83.98±4.14	1.24±0.46	1.00±0.06
SAP组	66.15±4.09 ^a	172.80±24.53 ^a	48.72±4.99 ^a	5.34±0.38 ^a
UroA组	39.55±3.61 ^{ab}	102.00±10.11 ^b	24.48±8.14 ^{ab}	1.78±0.06 ^{ab}
<i>F</i>	93.652 ^{**}	45.869 ^{**}	55.545 ^{**}	319.328 ^{**}

2.4 UroA对SAP大鼠TLR4/NF- κ B mRNA和蛋白表达水平的影响 SAP组TLR4、MyD88、NF- κ B的mRNA水平及蛋白表达均高于Sham组, 与SAP组比较, UroA组TLR4、MyD88、NF- κ B的mRNA水平和蛋白表达则下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表4、5, 图2。

Tab. 4 Comparison of relative levels of TLR4, MyD88 and NF- κ B mRNA in pancreatic tissue of rats between the three groups

表4 各组大鼠胰腺组织匀浆中TLR4、MyD88、NF- κ B mRNA表达水平比较
($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	NF- κ B
Sham组	1.01±0.02	1.01±0.20	0.99±0.02
SAP组	2.43±0.17 ^a	5.24±0.36 ^a	1.94±0.09 ^a
UroA组	1.12±0.17 ^b	3.78±0.12 ^{ab}	1.56±0.12 ^{ab}
<i>F</i>	94.740 ^{**}	225.088 ^{**}	86.994 ^{**}

3 讨论

SAP是一种由多种原因引起的炎症性疾病, 无论其病因如何, 最终结果是导致局部甚至全身炎症反应。SAP时炎症细胞因子的过度生成, 以致大量

Tab. 5 Comparison of relative protein expression levels of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in pancreatic tissue of rats between the three groups

表5 各组大鼠胰腺组织中TLR4、MyD88及NF- κ B p65蛋白表达水平比较
($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	NF- κ B p65
Sham组	0.25±0.10	0.36±0.10	0.27±0.04
SAP组	0.95±0.16 ^a	0.91±0.06 ^a	0.98±0.07 ^a
UroA组	0.59±0.15 ^{ab}	0.49±0.12 ^b	0.42±0.09 ^{ab}
<i>F</i>	18.592 ^{**}	27.074 ^{**}	85.135 ^{**}

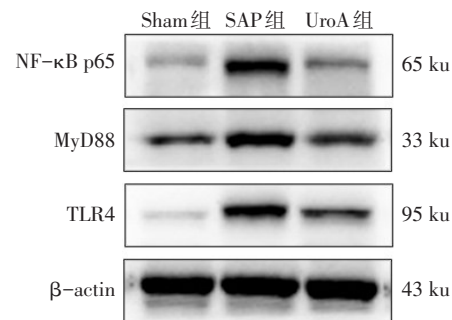


Fig. 2 Western blot detection of protein expression levels of TLR4, MyD88 and NF- κ B p65 in pancreatic tissue

图2 免疫印迹法检测大鼠胰腺组织TLR4、MyD88、NF- κ B p65的蛋白表达

细胞因子形成复杂的炎症级联反应, 介导了胰腺局部和胰腺外脏器官功能的损害, 导致全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能障碍, 甚至死亡。关于如何控制SAP时的炎症反应, 近年做了大量的探索研究, 但仍缺乏特异有效的针对性药物。针对天然植物来源的药物开发已成为药理学研究的热点之一。UroA来源于石榴、蓝莓、核桃等富含鞣花酸类物质的食物, 由肠道微生物代谢产生后分布在血浆和组织中。UroA具有良好的耐受性和安全性^[10], 其较好的抗炎效果使其在治疗SAP方面具有理论可行性和临床转化可能。因此本研究探讨了UroA对SAP胰腺病理损伤的作用。研究发现应用UroA后, SAP大鼠腹水量减少, 血清脂肪酶降低, 胰腺病理损伤明显改善, 显示UroA干预对SAP大鼠起到了保护作用。

UroA具有抗炎作用, 已在多种炎症性疾病中得到证实^[7,11]。Wang等^[12]研究发现UroA通过减弱促炎细胞因子TNF- α 、IL-1 β 等的表达, 减轻肾缺血再灌注损伤。尽管已有多项研究报道了UroA的抗炎活性, 但目前尚鲜见研究报道UroA对SAP中炎症反应的影响。本研究发现UroA组大鼠血清及胰腺组织IL-6、TNF- α 的水平较SAP组明显降低, 表明了UroA在SAP中具有抗炎作用, 并有可能通过抑制炎症细胞因子的释放, 从而改善SAP时的胰腺损伤。

近年来大量研究显示, TLR4/NF- κ B通路在SAP

发生发展中起到了重要作用。Li 等^[13]研究发现高迁移率族蛋白 B1 作为一种刺激因子,通过激活其下游的 TLR4/NF- κ B 信号通路加重了实验性 SAP 中胰腺损伤。TLR4 是模式识别受体家族中的一员,作为一种跨膜蛋白,主要分布在单核/巨噬细胞表面,在脂多糖等特定刺激下活化,主要通过依赖 MyD88 途径激活 NF- κ B,推动 SAP 的病理进展^[14]。NF- κ B 是一类核转录因子,能与多种基因启动子区域的特定位点发生特异性结合,并促进 DNA 转录,其异常活化导致炎性细胞因子的释放失控,是导致胰腺损伤的重要机制^[13,15]。有研究表明,普拉克索通过抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 炎性小体通路活化改善了 AP 中的胰腺炎症及细胞凋亡^[5]。Fu 等^[16]研究发现 UroA 可通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路活化减少 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症介质的产生,减轻骨关节炎的炎症反应。但 UroA 的抗炎反应是否与 TLR4 及 MyD88 相关尚鲜见报道。本研究发现,与 Sham 组相比,TLR4、MyD88、NF- κ B 在 SAP 组大鼠胰腺中的表达明显升高,这一结果验证了 TLR4/NF- κ B 信号通路在 SAP 中的促炎作用,与既往研究^[17]一致。UroA 干预后,大鼠胰腺组织 TLR4/NF- κ B 信号通路相关蛋白及炎性因子表达下降,提示 UroA 可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路活化,从而减少炎性因子的释放,发挥抗炎作用。

综上,UroA 可能通过阻断 TLR4/NF- κ B 信号通路活化,从而减少 SAP 大鼠炎性因子的释放,达到对胰腺的保护作用,表明了 UroA 对 SAP 中胰腺损伤具有潜在治疗价值。但 SAP 病情复杂,发病机制涉及多种因素,UroA 在 SAP 中的相关作用机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] SCHEPERS N J, BAKKER O J, BESSELINK M G, et al. Impact of characteristics of organ failure and infected necrosis on mortality in necrotising pancreatitis [J]. *Gut*, 2019, 68 (6) : 1044-1051. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314657.
- [2] BANG J Y, WILCOX C M, ARNOLETTI J P, et al. Superiority of endoscopic interventions over minimally invasive surgery for infected necrotizing pancreatitis: Meta-analysis of randomized trials [J]. *Dig Endosc*, 2020, 32(3) : 298-308. doi: 10.1111/den.13470.
- [3] XIAO A Y, TAN M L Y, WU L M, et al. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2016, 1 (1) : 45-55. doi: 10.1016/s2468-1253(16)30004-8.
- [4] LEE P J, PAPACHRISTOU G I. New insights into acute pancreatitis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(8) : 479-496. doi: 10.1038/s41575-019-0158-2.
- [5] FAWZY H A, MOHAMMED A A, FAWZY H M, et al. Reorienting of pramipexole as a promising therapy for acute pancreatitis in a rat model by suppressing TLR4/NF- κ B p65/NLRP3 inflammasome signaling [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2022, 100 (6) : 542-552. doi: 10.1139/cjpp-2021-0664.
- [6] WU D, JI H, DU W, et al. Mitophagy alleviates ischemia/reperfusion-induced microvascular damage through improving mitochondrial quality control [J]. *Bioengineered*, 2022, 13 (2) : 3596-3607. doi: 10.1080/21655979.2022.2027065.
- [7] SINGH R, CHANDRASHEKHARAPPA S, BODDULURI S R, et al. Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the Nrf2 pathway [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1) : 89. doi: 10.1038/s41467-018-07859-7.
- [8] AHO H J, NEVALAINEN T J, AHO A J. Experimental pancreatitis in the rat. Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection [J]. *Eur Surg Res*, 1983, 15(1) : 28-36. doi: 10.1159/000128330.
- [9] SCHMIDT J, RATTNER D W, LEWANDROWSKI K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy [J]. *Ann Surg*, 1992, 215 (1) : 44-56. doi: 10.1097/0000658-199201000-00007.
- [10] LIU S, D'AMICO D, SHANKLAND E, et al. Effect of urolithin A supplementation on muscle endurance and mitochondrial health in older adults: A randomized clinical trial [J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(1) : e2144279. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.44279.
- [11] TAO H, LI W, ZHANG W, et al. Urolithin A suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and postmenopausal osteoporosis by suppressing inflammation and downstream NF- κ B activated pyroptosis pathways [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 174 : 105967. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105967.
- [12] WANG Y, HUANG H, JIN Y, et al. Role of TFEB in autophagic modulation of ischemia reperfusion injury in mice kidney and protection by urolithin A [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 131 : 110591. doi: 10.1016/j.fet.2019.110591.
- [13] LI G, WU X, YANG L, et al. TLR4-mediated NF- κ B signaling pathway mediates HMGB1-induced pancreatic injury in mice with severe acute pancreatitis [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(1) : 99-107. doi: 10.3892/ijmm.2015.2410.
- [14] LIN M, HUANG J, CHEN W C, et al. The immunomodulatory effects and mechanisms of Tim-3 action in the early stage of mice with severe acute pancreatitis [J]. *Iran J Immunol*, 2020, 17 (1) : 52-63. doi: 10.22034/iji.2020.80294.
- [15] TANG G, YU C, XIANG K, et al. Inhibition of ANXA2 regulated by SRF attenuates the development of severe acute pancreatitis by inhibiting the NF- κ B signaling pathway [J]. *Inflamm Res*, 2022, 71 (9) : 1067-1078. doi: 10.1007/s00011-022-01609-8.
- [16] FU X, GONG L F, WU Y F, et al. Urolithin A targets the PI3K/Akt/NF- κ B pathways and prevents IL-1 β -induced inflammatory response in human osteoarthritis: in vitro and in vivo studies [J]. *Food Funct*, 2019, 10(9) : 6135-6146. doi: 10.1039/c9fo01332f.
- [17] CHEN Z, DONG W H, WU Q, et al. Two-layer regulation of TRAF6 mediated by both TLR4/NF- κ B signaling and miR-589-5p increases proinflammatory cytokines in the pathology of severe acute pancreatitis [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(6) : 2379-2395. (2022-09-28 收稿 2022-12-16 修回)

(本文编辑 李国琪)