

清解化攻方调控 HMGB1/TLR9/NF- κ B 信号通路对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障保护作用的研究

杨 昕¹, 秦百君¹, 唐曦平², 郑日辉¹, 陈小霞¹, 谢彩杏¹, 陈国忠^{3*}

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530001; 2. 广西医科大学附属肿瘤医院, 广西南宁 530021;

3. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

摘要:目的 研究清解化攻方基于 HMGB1/TLR9/NF- κ B 信号通路对重症急性胰腺炎(Severe acute pancreatitis, SAP)大鼠肠黏膜屏障的保护作用及潜在机制。方法 将 40 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、清解化攻方组、乌司他丁组, 每组 10 只。除正常组外其他组采用雨蛙素联合脂多糖腹腔注射制备 SAP 大鼠模型, 造模后采集各组大鼠血清、胰腺和回肠组织。HE 染色观察胰腺和回肠组织病理变化; ELISA 检测血清脂肪酶(LIP)、淀粉酶(AMS)、肿瘤坏死因子(TNF) α 、白细胞介素 6(IL-6)含量; RT-PCR 法检测回肠组织 HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 mRNA 表达; Western Blot 法检测回肠组织 HMGB1, TLR9、NF- κ B p65 蛋白表达; IHC 检测回肠组织肠黏膜屏障相关闭锁蛋白 Occludin 和 ZO-1 表达。结果 与正常组相比, 模型组胰腺及回肠组织出现明显的病理改变, LIP、AMS、TNF- α 、IL-6 含量明显升高($P < 0.05$); HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白表达水平上调($P < 0.05$); Occludin, ZO-1 蛋白表达明显降低($P < 0.05$); 与模型组比较, 清解化攻方组和乌司他丁组大鼠胰腺及回肠组织病理损伤明显缓解, LIP、AMS、TNF- α 、IL-6 含量明显降低($P < 0.05$); HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白表达水平下调($P < 0.05$); Occludin, ZO-1 蛋白表达明显升高($P < 0.05$)。结论 清解化攻方可以保护 SAP 大鼠肠黏膜屏障, 其机制可能与该方减轻 SAP 的炎症反应, 下调 HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白表达, 并上调肠黏膜屏障相关闭锁蛋白 Occludin 和 ZO-1 表达相关。

关键词: 重症急性胰腺炎; 清解化攻方; 肠黏膜屏障; 高迁移率族蛋白 B1; Toll 样受体 9; 核转录因子- κ B

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2022.10.11

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2022)10-2346-04

重症急性胰腺炎(Severe acute pancreatitis, SAP)是由多种因素激活胰腺内胰酶, 导致胰腺组织自身消化, 出现全身炎症反应, 器官功能衰竭的严重疾病, 死亡率高, 预后凶险^[1]。肠屏障功能障碍(Intestinal barrier dysfunction, IBD)是 SAP 最常见并发症之一, 肠黏膜屏障损伤致使肠内的细菌及毒素进入体循环, 加速 SAP 病情发展^[2]。如何有效的阻止 IBD 的发生进而减轻胰腺炎症反应从而缓解病情成为当前研究的重点之一。清解化攻方(Qing Jie Hua Gong decoction, QJHGD)是广西中医药大学第一附属医院治疗 SAP 有效经验方, 前期研究^[3,4]表明 QJHGD 临床疗效显著, 可有效控制炎症因子的爆发, 具有保护肠黏膜屏障等功能。肠黏膜屏障损伤常伴随紧密连接蛋白的闭锁蛋白(Occludin)和紧密粘连蛋白-1(ZO-1)等多种蛋白的丢失致使肠上皮结构完整性被破坏。近年来, 高迁移率族蛋白 B1(high-mobility group box 1, HMGB1)在 SAP 肠黏膜屏障损伤中备受关注, 研究^[5,6]表明 HMGB1 及下游信号通路 Toll 样受体 9(toll-like receptor9, TLR9)、核转录因子- κ B(nuclear factor kappa- κ B, NF- κ B)可能作为关键性介质参与了 SAP 肠黏膜屏障损伤发展的全过程。本研究拟探讨 QJHGD 基于 HMGB1/TLR9/NF- κ B 通路对 SAP 大鼠肠黏膜屏障的保护作用的可能机制, 为深入研究 QJHGD 防治 SAP 及肠黏膜损伤的分子机制提供参考。

1 材料和仪器

1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 40 只, 体重(200 \pm 20)g, 8 周龄,

购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 动物生产合格证号: SCXK(湘)2019-0004, 许可证号: SYXK(湘)2019-0001, 饲养于广西中医药大学第一附属医院医学生物分子实验中心, 环境温度 20~26 $^{\circ}$ C, 湿度 50%~60%, 大鼠适应性喂养 1 周, 大鼠造模前禁食 12h, 自由饮水。

1.2 药物 QJHGD 由大黄、枳实、厚朴、柴胡、黄芩、豆蔻、桃仁、莱菔子、木香、延胡索、醋香附、白芍、丹参、甘草组成, 药材经广西中医药大学中药真伪鉴定技术中心认定为正品, 符合《中华人民共和国药典》规定^[7]。QJHGD 为广西中医药大学第一附属医院自制水煎剂, 规格: 100ml/袋, 专利号: CN108815458B。乌司他丁, 10 万单位/支(广东天普生化医药股份有限公司, 批号: 032005103)。

1.3 主要试剂及仪器 雨蛙素(上海源叶生物, S62702); 脂多糖(sigma 公司, L2880); 逆转录试剂盒(新贝生物, F2976); 实时荧光定量试剂盒(新贝生物, F3528); TLR9 polyclonal Antibody(Bioswamp, PAB39034); HMGB1 polyclonal Antibody(Bioswamp, PAB46173); NF- κ B p65(Bioswamp, PAB45935); GAPDH(Affinity, AF7021); Goat Anti-Rabbit IgG(Affinity, S0001); ZO-1(Affinity, AF5145); Occludin(Solarbio, K106466P); 山羊血清(Solarbio, #SL038); 通用二步法试剂盒(中杉金桥, PV-9000); DAB 显色试剂盒(中杉金桥, ZLI-9018); LIP(Dogesce, DG96276Q); AMS(Dogesce, DG96286Q); TNF- α (云克隆, L210604650); IL-6(云克隆, L210405259); 切片机(Thermo); 烤片机(爱华); 高压修复机(Thermo); HE 染色试剂盒(Solarbio, #G1120); 组织包埋机(Thermo); 荧光定量 PCR 仪(Light Cycler480); PCR 循环仪(德国艾本德); 超微量紫外可见分光光度计(Thermo); M-Blot 快速转膜仪(中科通仪); 超灵敏多功能成像(Amersham Imager 600 RGB); 赛默飞酶标仪(Thermo); 冷冻混合研磨仪(德国莱驰)。

2 方法

2.1 动物造模及分组干预 40 只 SD 大鼠随机分为正常组(Normal 组)、模型组(SAP 组)、清解化攻方组(QJHGD 组)、乌司他丁

收稿日期: 2022-02-20; 修订日期: 2022-08-16

基金项目: 国家自然科学基金(82160890);

广西壮族自治区医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2019021);

广西中医药大学研究生教育创新计划项目(YCXJ2021033)

作者简介: 杨 昕(1997-), 女(汉族), 湖南怀化人, 广西中医药大学在读硕士研究生, 学士学位, 主要从事中医药防治脾胃病研究工作。

* 通讯作者简介: 陈国忠(1970-), 男(汉族), 江西丰城人, 广西中医药大学第一附属医院主任医师, 博士研究生导师, 博士学位, 主要从事中医药防治脾胃病研究工作。

组(WSTD组),每组10只。SAP组、QJHGD组、WSTD组参考Liu Y^[8]的文献采用雨蛙素联合脂多糖腹腔注射建立SAP大鼠模型,实验方法为大鼠腹腔连续注射6次雨蛙素 $50\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,每次间隔1h。最后一次注射间隔1h后腹腔注射脂多糖 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。造模大鼠禁食,自由饮水。给药剂量以成人常规剂量按人与动物体表面积系数折算^[9]。正常组和SAP组生理盐水灌胃 $0.4\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$,每次间隔6h,QJHGD组予以QJHGD灌胃 $0.4\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$,每次间隔6h,WSTD组乌司他丁腹腔注射 $5\text{U}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[10]。24h后10%水合氯醛麻醉大鼠,取血清、胰腺组织及回肠组织。胰腺和回肠组织用4%多聚甲醛浸泡保存,剩余组织放入无酶无菌管于 -80°C 冰箱。

2.2 检测指标及方法

2.2.1 HE染色观察胰腺和回肠组织病理变化 胰腺及回肠组织浸泡于多聚甲醛24h后石蜡包埋,组织切片机切片(厚度为 $5\mu\text{m}$), 70°C 烤片1h,行HE染色,显微镜下查看各切片病理改变。

2.2.2 ELISA法检测大鼠血清LIP、AMS、IL-6、TNF- α 水平 腹主动脉采血收集各组大鼠的血液,常温放置2h沉淀, $3000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15min,分离血清取上清液。按相应ELISA试剂盒说明书操作检测LIP、AMS、IL-6、TNF- α 的浓度。

2.2.3 RT-PCR法检测回肠组织HMGB1、TLR9、NF- κB p65基因表达 取50~80mg回肠组织加入Trizol研磨完全加入氯仿分层,取上清于新的EP管中,放入等量异丙醇混匀离心后可见絮状物,即为提取的总RNA。按照HyperscriptIII RT SuperMix试剂盒进行逆转录,参照2xS6 Unlversal SYBR试剂盒步骤行RT-PCR,引物序列见表1,实验条件: 95°C 30s 预变性, 95°C 30s, 60°C 1min,40个循环,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析数据。

表1 各基因引物序列

基因名称	引物序列	引物大小/bp
HMGB1	上游5'-CGCCGCCAGGAAAAT-3'	124
	下游5'-AAGTTGACAGAAGCATCCGGG-3'	
TLR9	上游5'-CGGTTGCTGACTGGGTGTAT-3'	140
	下游5'-ATCTCGGTCTCCAGACACA-3'	
NF- κB p65	上游5'-TGAAGTCTGGGGAAGGACT-3'	180
	下游5'-GGTCTCGCTTCTTCACACACT-3'	
GAPDH	上游5'-TCTCTGCTCCCTGTTCT-3'	141
	下游5'-GTTACACCCGACCTTCACCA-3'	

2.2.4 Western-Blot法检测回肠组织HMGB1、TLR9、NF- κB p65蛋白表达

50mg回肠组织加入 $600\mu\text{l}$ RIPA(含蛋白酶、磷酸酶抑制剂),研磨机研磨5次,每次2min。 4°C 下 $12000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15min,取上清液,BCA试剂盒测蛋白浓度,加 $5\times$ 上样缓冲液煮沸15min,制备15%和8%的胶进行电泳,转膜,脱脂奶粉封闭,加入HMGB1(1:1000)、TLR9(1:500)、NF- κB p65(1:1000)、GAPDH(1:3000)一抗 4°C 孵育14h,洗膜,加入山羊抗兔二抗(1:5000)常温孵育1h,在超灵敏多功能成像仪进行显影,用Image J分析各条带的灰度值。

2.2.5 IHC检测回肠组织ZO-1、Occludin蛋白表达 回肠组织切片烤片脱蜡,高压修复机修复抗原,过氧化氢酶阻断、封闭、加入ZO-1(1:100)、Occludin(1:100)一抗 4°C 过夜,PBS冲洗三次后加入山羊抗小鼠/兔IgG,常温孵育20min,DAB显色,苏木素复染脱水后封片,光镜下观察。ImageJ Pro软件对阳性结果进行半定量分析,IOD值计算方法参考李枫的文献^[11]。

2.3 统计学方法 SPSS22.0软件进行统计学分析。计量资料表示为 $\bar{x}\pm s$,不同组比较用One-way ANOVA分析,进行两两比较。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 QJHGD对大鼠胰腺及回肠组织病理变化的影响 如图1所示,光镜下观察正常组胰腺组织无明显的病理改变。与正常对照组比较,SAP组胰腺组织有明显的充血水肿,大量中性粒细胞浸润,腺体结构被破坏,腺泡细胞有坏死。而经干预的QJHGD组和

WSTD组,腺体结构较为完整,存在少量的炎性细胞浸润。

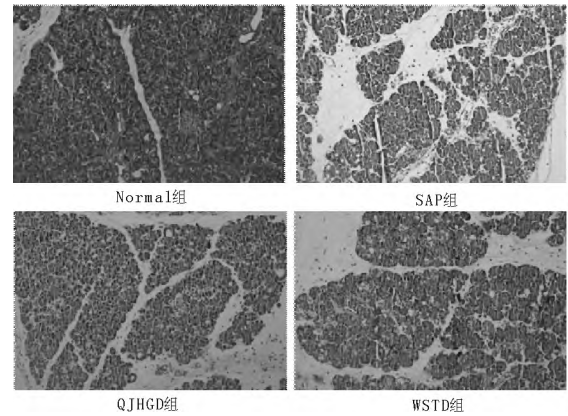


图1 大鼠胰腺组织病理变化(HE,200 \times)

如图2所示,镜下显示正常对照组大鼠回肠组织未见明显异常,绒毛排列整齐,未见炎性细胞浸润。SAP组大鼠回肠组织可见肠绒毛脱落,破损,间隔稀疏,排列紊乱,水肿增粗,肠黏膜细胞坏死,大量中性粒细胞浸润。经治疗的QJHGD组和WSTD组肠绒毛排列较为整齐,无明显的肠绒毛水肿,绒毛脱落减轻,可见少量中性粒细胞浸润。

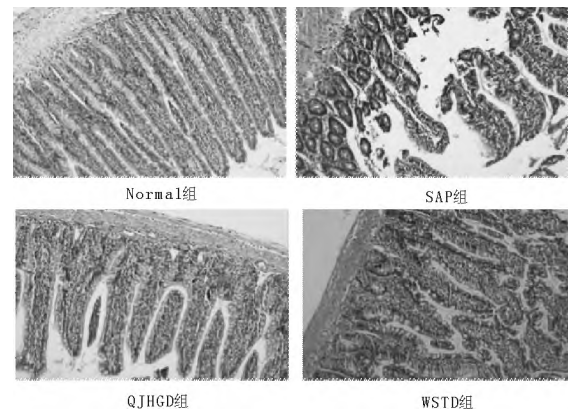


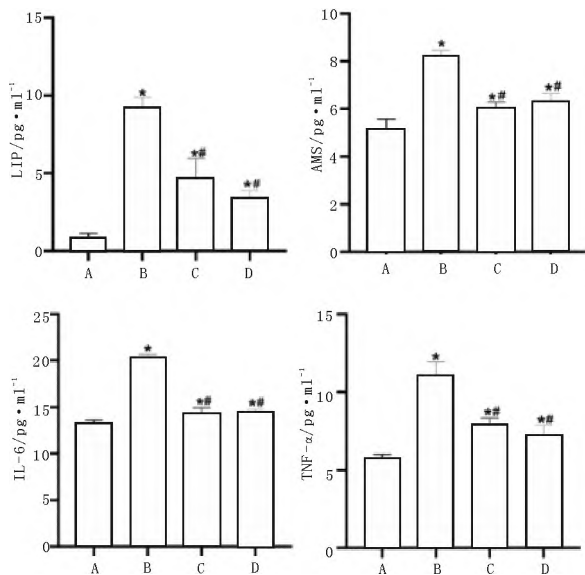
图2 大鼠回肠组织病理变化(HE,200 \times)

3.2 QJHGD对大鼠血清LIP、AMS、IL-6、TNF- α 的影响 与正常对照组比较,SAP组血清LIP、AMS、IL-6、TNF- α 含量升高($P<0.05$);与SAP组比较,经干预的QJHGD组和WSTD组血清LIP、AMS、IL-6、TNF- α 含量下降($P<0.05$)。见图3。

3.3 QJHGD对大鼠回肠组织HMGB1、TLR9、NF- κB p65 mRNA表达的影响 与正常对照组相比,SAP组HMGB1、TLR9、NF- κB p65 mRNA的表达明显上调($P<0.05$);与SAP组比较,经干预的QJHGD组和WSTD组HMGB1、TLR9、NF- κB p65 mRNA明显下调($P<0.05$)。见表2,图4。

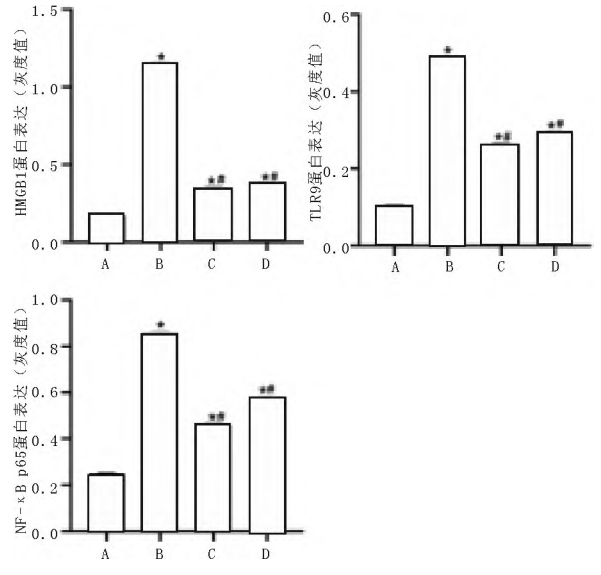
3.4 QJHGD对大鼠回肠组织HMGB1、TLR9、NF- κB p65蛋白表达的影响 SAP组HMGB1、TLR9、NF- κB p65蛋白表达及其与GAPDH比值较正常对照组明显上升($P<0.05$);经干预的QJHGD组和WSTD组HMGB1、TLR9、NF- κB p65蛋白表达及其与GAPDH比值明显低于SAP组($P<0.05$)。见图5~6。

3.5 QJHGD对大鼠回肠组织Occludin、ZO-1蛋白表达的影响 经IHC染色后,光镜下显示Occludin、ZO-1蛋白阳性表达为在肠细胞膜周围可见大量棕黄色的颗粒。与正常对照组比较,SAP组棕黄色颗粒明显减少;与SAP组比较,经干预的QJHGD组和WSTD组均可见棕黄色颗粒增多。通过ImageJ Pro对光镜拍下图片半定量分析IOD值进行统计学数据分析,不同组别差异具有统计学意义($P<0.05$)。见图7~8。



A. Normal 组 B. SAP 组 C. QJHGD 组 D. WSTD 组
与正常组比较, * P < 0.05; 与模型组比较, # P < 0.05

图 3 大鼠血清炎症因子的水平

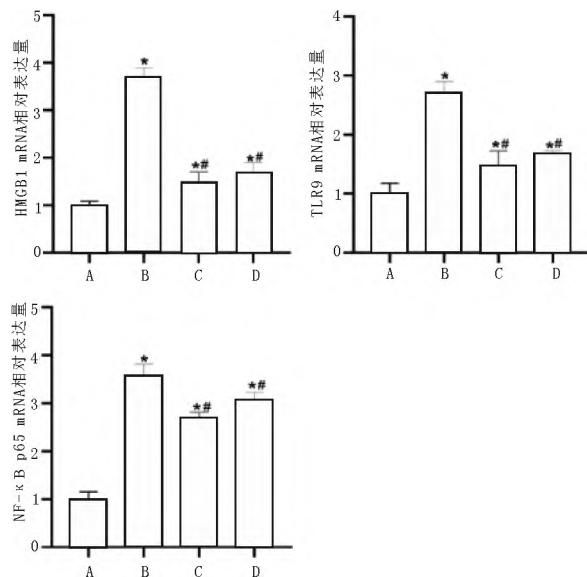


A. Normal 组 B. SAP 组 C. QJHGD 组 D. WSTD 组
与正常组比较, * P < 0.05; 与模型组比较, # P < 0.05

图 6 大鼠回肠组织 HMGB1、TLR9、NF-κB p65 蛋白表达灰度值

表 2 大鼠回肠组织 HMGB1、TLR9、NF-κB p65 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	HMGB1	TLR9	NF-κB p65
Normal 组	0.90 ± 0.09	0.85 ± 0.14	0.86 ± 0.29
SAP 组	3.72 ± 0.17*	2.71 ± 0.18*	3.58 ± 0.26*
QJHGD 组	1.50 ± 0.17* #	1.48 ± 0.28* #	2.70 ± 0.13* #
WSTD 组	1.71 ± 0.22* #	1.68 ± 0.04* #	3.08 ± 0.17* #



A. Normal 组 B. SAP 组 C. QJHGD 组 D. WSTD 组
与正常组比较, * P < 0.05; 与模型组比较, # P < 0.05

图 4 大鼠回肠组织 HMGB1、TLR9、NF-κB p65 mRNA 表达

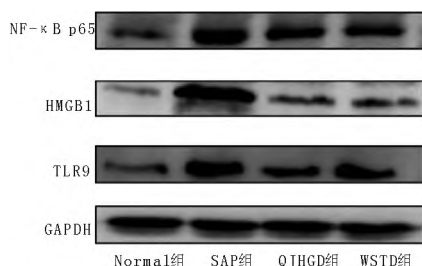


图 5 大鼠回肠组织 HMGB1、TLR9、NF-κB p65 蛋白电泳图

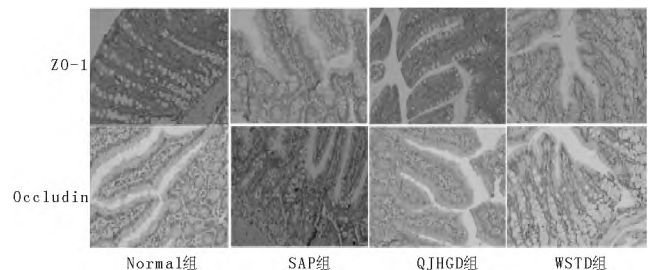
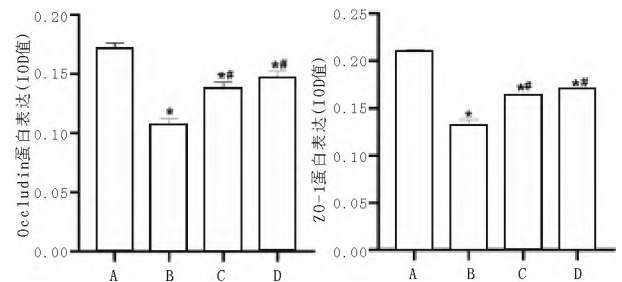


图 7 大鼠回肠组织 ZO-1、Occludin 蛋白表达(IHC, 400 ×)



A. Normal 组 B. SAP 组 C. QJHGD 组 D. WSTD 组
与正常组比较, * P < 0.05; 与模型组比较, # P < 0.05

图 8 大鼠回肠组织 Occludin、ZO-1 蛋白表达 IOD 值

4 讨论

中医学认为 SAP 病机为“湿、热、毒、瘀”，并呈动态性变化，以致中焦脾胃气机壅滞，肝胆疏泄不畅、大肠传化失调，进而加快 SAP 病情进展。在此认识的基础上，陈国忠教授针对此关键病机并结合多年临床经验和大量文献研究提出 SAP 的主要治疗方法“清热解毒化湿，活血化瘀攻下”，并创立了清解化攻方(QJHGD)。方中小承气汤泻下通腑，黄芩、白芍、豆蔻清热行气化湿，配柴胡加强清热祛湿之效，桃仁、醋香附活血化瘀，莱菔子、木香、延胡索、丹参、甘草同用行气补气。根据中医阴阳学说，肠内内容与人体是对立又统一的关系，肠道既是感受邪气之地，也是蕴生毒邪之地，肠黏膜屏障功能受损是导致 SAP 发病迅速的主要原因之一。临床实践^[3,4]表明 SAP 早期采用清解化攻方进行干预，能有效缓解肠麻痹、维护肠道屏障功能，减轻炎症反应，抑制 SAP 的病情发展。

SAP 肠黏膜屏障损伤的发病机制包含炎症介质的刺激,免疫缺陷,肠道菌群失调以及肠道黏膜营养障碍等^[12]。HMGB1 被认为是 SAP“晚期”重要炎症介质,并能与 Toll 样受体结合,例如 TLR2、TLR4、TLR9,激活 NF- κ B,上调炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达从而损伤肠黏膜屏障^[13,14]。TLR9 在肠道免疫系统的平衡中发挥着至关重要的作用,是调控 HMGB1 触发的炎症过程的主要受体,也是 SAP 发病机制的主要中介。TLR9 的信号传导属于典型的 Toll 样信号通路,可以促发 NF- κ B 激活,直接或间接参与 HMGB1 促发的信号调控过程^[15],从而影响肠黏膜屏障功能。NF- κ B p65 是 NF- κ B 信号亚单位之一,NF- κ B p65 激活,NF- κ B 信号水平也相对应增加^[16]。研究表明^[17]通过抑制 NF- κ B 信号通路,可增加肠黏膜 Occludin 蛋白表达,对 SAP 肠黏膜起到保护作用。Occludin 是构成肠上皮细胞间最重要的蛋白质分子之一,其与 ZO-1 等蛋白结合形成紧密连接。SAP 早期可伴随大量炎症因子产生,而 TNF- α 拥有调控肠上皮细胞紧密连接功能,通过诱导 NF- κ B 活化,造成肠道 ZO-1 蛋白的表达下降和连接点的改变,引起肠黏膜屏障受损^[18]。HMGB1 抗体可降低血清中促炎细胞因子水平,下调下游 TLR4 和 TLR9 的表达,维持 Occludin、ZO-1 表达水平,改善肠黏膜屏障损伤^[19,20]。因此, HMGB1/TLR9/NF- κ B 信号通路参与 SAP 肠黏膜屏障损伤的发生、发展密切相关。

钦丹萍等^[21]发现,大承气汤加味方能抑制 SAP 晚期炎症介质 HMGB1 的表达,更好地减轻胰腺及小肠损伤,保护肠黏膜屏障;钱哲等^[22]发现,芍药苷可以通过调控 HMGB1/NF- κ B 信号通路降低组织中 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 的含量,抑制炎症反应;Li J 等^[23]研究发现肠道病毒可通过 SAP 中的 TLR9 发挥负面作用,伴随肠道病毒减少的 SAP,胰腺和肠中 TLR9 的表达均被下调。江勇等^[24]发现白术多糖通过抑制 NF- κ B 活化,可以减少 SAP 大鼠炎症因子 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 释放,改善胰腺和肠组织病理损伤,从而维护 SAP 大鼠肠黏膜免疫屏障功能。本实验通过雨蛙素联合脂多糖建立 SAP 大鼠模型,LIP、AMS、IL-6、TNF- α 的含量升高及胰腺病理变化对于判断造模是否成功具有重要意义。SAP 组较正常组 Occludin、ZO-1 明显下降且回肠病理损伤明显,QJHGD 组 Occludin、ZO-1 较 SAP 组明显上升且回肠病理损伤改善,提示 QJHGD 能改善肠黏膜屏障损伤。本实验研究结果表明,与 SAP 组比较,QJHGD 组 HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 mRNA 和蛋白表达均明显下降,说明 QJHGD 可通过抑制 HMGB1、TLR9、NF- κ B p65 的活化,达到保护 SAP 肠黏膜屏障的作用。

综上所述,清解化攻方通过抑制 HMGB1/TLR9/NF- κ B 通路相关基因和蛋白表达,减轻 SAP 大鼠胰腺和回肠上皮组织炎症反应,上调 Occludin 和 ZO-1 从而保护 SAP 肠黏膜。本研究结果为清解化攻方治疗 SAP 提供新思路、新靶点,也为未来深入研究清解化攻方防治 SAP 肠黏膜屏障损伤的分子机制打下基础。但 SAP 发展过程中关于肠黏膜屏障损伤机制复杂,或还有其他因素的作用与干扰,本研究并未进行更深入的上下游机制调控研究,后续还需进一步深入探讨相关分子机制。

参考文献:

- [1] Liu G, Liu F, Xiao L, et al. Treatment of hyperlipidemic acute pancreatitis with modified Dachengqi decoction combining with conventional therapy based on "six - hollow - organs to be unblocked" theory [J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(4): 2045.
- [2] 陈辉, 兰涛. 肠黏膜屏障功能障碍在重症急性胰腺炎中的研究

- 进展 [J]. *中华实验和临床感染病杂志*, 2016, 10(6): 659.
- [3] 彭鸿, 陈国忠, 方丽娇, 等. 清解化攻法合并高强度综合治疗在重症急性胰腺炎早期的作用 [J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(5): 991.
- [4] 吴瑕. 清解化攻法对轻症急性胰腺炎患者肠屏障功能影响的研究 [D]. 广西中医药大学硕士学位论文, 2020.
- [5] 柏超, 陈霞, 李昌平. HMGB1 在重症急性胰腺炎肠黏膜屏障损伤中作用的研究进展 [J]. *山东医药*, 2016, 56(34): 103.
- [6] 鲜黎明, 王秀蓉, 张巡. 血清 HMGB1、TLR9 与急性胰腺炎肠黏膜屏障损伤的关系 [J]. *热带医学杂志*, 2019, 19(9): 1111.
- [7] 国家药典委员会. *中国药典*, 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [8] Liu Y, Zhou D, Long FW, et al. Resolvin D1 protects against inflammation in experimental acute pancreatitis and associated lung injury [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2016, 310(5): G303.
- [9] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069.
- [10] 杨超, 单爱军, 钟源波. 乌司他丁对急性重症胰腺炎大鼠 NF- κ B 活性 NF- κ B mRNA 表达的实验研究 [J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(12): 1620.
- [11] 李枫. 图像分析中光密度参数物理意义的正确理解和使用 [J]. *解剖学杂志*, 2009, 32(2): 271.
- [12] 崔勇鹤, 王文俊. 重症急性胰腺炎肠道屏障障碍及治疗研究进展 [J]. *临床急诊杂志*, 2019, 20(1): 77.
- [13] Manti S, Cuppari C, Tardino L, et al. HMGB1 as a new biomarker of celiac disease in children: A multicenter study [J]. *Nutrition*, 2017, 37(1): 18.
- [14] Shen X, Li WQ. High - mobility group box 1 protein and its role in severe acute pancreatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(5): 1424.
- [15] 蒲玫静, 赵宏贤, 柏超, 等. 高迁移率族蛋白 B1/Toll 样受体 9 途径在重症急性胰腺炎肠黏膜屏障损伤中的作用及机制分析 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(5): 1037.
- [16] 刘雷雷, 马淑然. 基于肠道菌群介导的炎症反应研究黄芪多糖对结肠炎相关癌症的作用 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(2): 226.
- [17] 弥亮钰. PARP-1 通过 NF- κ B 信号通路对重症急性胰腺炎致肠黏膜屏障损伤的作用机制研究 [D]. 青岛大学硕士学位论文, 2020.
- [18] Billmeier U, Dieterich W, Neurath MF, et al. Molecular mechanism of action of anti - tumor necrosis factor antibodies in inflammatory bowel diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(42): 9300.
- [19] Huang L, Zhang D, Han W, et al. High - mobility group box - 1 inhibition stabilizes intestinal permeability through tight junctions in experimental acute necrotizing pancreatitis [J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(8): 677.
- [20] Chen X, Zhao HX, Bai C, et al. Blockade of high - mobility group box 1 attenuates intestinal mucosal dysfunction in experimental acute pancreatitis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6799.
- [21] 钦丹萍, 魏霞, 方国栋, 等. 全程应用大承气汤加味方对重症急性胰腺炎模型大鼠肠黏膜屏障的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(12): 1482.
- [22] 钱哲, 缪文兴, 李林东, 等. 基于 Nf-2/HMGB1/NF- κ B 信号通路的芍药苷干预下家兔半月板损伤修复的实验研究 [J]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(A1): 99.
- [23] Li J, Pan X, Yang J, et al. Enteral virus depletion modulates experimental acute pancreatitis via toll - like receptor 9 signaling [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 171(1): 113710.
- [24] 江勇, 朱大侠, 刘礼剑. 白术多糖通过调控 TLR4/NF- κ B 信号通路对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜免疫屏障的影响 [J]. *中成药*, 2021, 43(3): 624.