



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.007
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.007
Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(3):294-304.

· 基础研究 ·

骨髓间充质干细胞对急性重症胰腺炎大鼠的炎症抑制作用 及对 TLR4/NF- κ Bp65 通路的关系

秦亚飞¹, 霍星光², 李秋霞¹, 徐玉生³

(1. 河南省周口骨科医院 重症医学科, 河南 周口 466000; 2. 河南省周口市卫生计生监督局 公共卫生监督二科, 河南 周口 466000; 3. 郑州大学第一附属医院 骨科, 河南 郑州 450000)

摘要

背景与目的: 急性重症胰腺炎(SAP)为临床常见急危重症之一,炎症反应在其发生发展中发挥重要作用。目前认为骨髓间充质干细胞(MSC)移植具有修复SAP胰腺组织损伤潜能,但具体功能尚不清楚。本研究在SAP大鼠模型上探讨骨髓MSC对SAP炎症的抑制作用及机制。

方法: 分离、培养、鉴定SD骨髓MSC,并制成 1.0×10^6 /mL的悬浮液;以3.5%牛磺脱氧胆酸钠逆行胰胆管注射建立SD大鼠SAP模型,取造模成功36只大鼠随机均分为4组,分别于造模后12h后腹腔注射生理盐水(模型组)、腹腔注射MSC悬浮液(腹腔注射组)、尾静脉注射MSC悬浮液(尾静脉注射组)、腹腔联合尾静脉注射MSC悬浮液(联合注射组),注射剂量10 mL/kg;另取9只大鼠行假手术(假手术组),并在术后12h腹腔注射等量生理盐水。治疗后24h,处死各组大鼠获取血液与胰腺组织标本。用HE染色法观察胰腺组织病理形态学,进行病理评分;采用碘比色法检测大鼠血清淀粉酶(AMS)水平,甲基试卤灵底物法检测血清脂肪酶(LPS)水平;ELISA法检测胰腺组织IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量;羟胺法检测过氧化物歧化酶(SOD)活性,硫代巴比妥酸法检测丙二醛(MDA)浓度;RT-PCR检测Toll样受体4(TLR4)、髓样分化因子88(MyD88)、NF- κ Bp65的mRNA相对表达量;Western blot法检测TLR4、MyD88、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65蛋白表达量。

结果: 骨髓MSC呈梭形、漩涡样生长;低表达CD45(1.25%),高表达CD90(99.89%);细胞活力良好。与假手术组比较,其余各组胰腺组织均有不同程度的病理改变,血清AMS与LPS水平、胰腺组织IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MDA含量升高,而SOD活性降低,以及TLR4、MyD88 mRNA与蛋白相对表达量、p-NF- κ Bp65/NF- κ Bp65升高(均 $P < 0.05$)。但以上指标的变化程度在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组依次明显降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

结论: 骨髓MSC移植可抑制SAP大鼠炎症反应,减轻氧化应激反应,修复胰腺组织损伤,作用机制可能与调控TLR4/NF- κ Bp65通路有关。

关键词

胰腺炎,急性坏死性;间质干细胞移植;炎症;Toll样受体4;大鼠

中图分类号: R657.5

基金项目: 河南省高等学校重点科研资助项目(18A320010)。

收稿日期: 2020-09-23; **修订日期:** 2021-02-17。

作者简介: 秦亚飞,河南省周口骨科医院副主任医师,主要从事急、危、重症患者救治及基础医学方面的研究。

通信作者: 秦亚飞, Email: 13183228866@126.com

Anti-inflammatory effect of bone marrow mesenchymal stem cells in rats with severe acute pancreatitis and its association with TLR4/NF- Bp65 pathway

QIN Yafei¹, HUO Xingguang², LI Qiuxia¹, XU Yusheng³

(1. Department of Critical Care Medicine, Zhoukou Orthopedic Hospital, Zhoukou, Henan 466000, China; 2. the Second Public Health Supervision Division of Zhoukou Health and Family Planning Supervision Bureau, Zhoukou, Henan 466000, China; 3. Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

Abstract

Background and Aims: Severe acute pancreatitis (SAP) is one of the most frequently encountered serious acute illnesses in clinical practice. Inflammation plays an important role in its occurrence and development. At present, bone marrow mesenchymal stem cell (MSC) transplantation is considered having the potential to repair the pancreatic tissue injury caused by SAP, but the specific function is unclear. Therefore, this study was conducted to explore the anti-inflammatory effect of bone marrow MSC and its mechanism in SAP using SAP rat models.

Methods: The bone marrow MSCs were isolated from the SD rats, and then were cultured and identified, and finally prepared into cell suspension with a density of 1.0×10^6 /mL. Rat SAP models were created by retrograde injection of 3.5% sodium deoxycholate into the biliopancreatic duct. Thirty-six SD rats with successful model induction were randomly divided in four groups, and underwent intraperitoneal injection of normal saline (model group), intraperitoneal injection of MSC suspension (intraperitoneal injection group), tail vein injection of MSC suspension (tail vein injection group), or intraperitoneal injection plus tail vein injection of MSC suspension (combined injection group) at 12 h after modeling, respectively. In addition, another 9 SD rats underwent sham operation (sham operation group), and then received intraperitoneal injection of normal saline of the same volume 12 h after operation. The rats in each group were sacrificed 24 h after injection and the blood and pancreatic tissue samples were harvested. The pathological changes of pancreatic tissue were observed and the degrees of pancreatic damage were scored. The serum levels of amylase (AMS) and lipase (LPS) were measured by iodine colorimetry and methyl halide substrate methods respectively. The contents of IL-6, IL-1 β and TNF- α in pancreatic tissue were detected by ELISA assay. The activity of peroxidase (SOD) was detected by hydroxylamine method, and concentration of malondialdehyde (MDA) was detected by thiobarbituric acid method. The mRNA expressions of toll-like receptor 4 (TLR4), myeloid differentiation factor 88 (MyD88), NF- κ Bp65 were determined by RT-PCR, and the protein expressions of TLR4, MyD88, and NF- κ Bp65 were examined by Western blot.

Results: The MSCs were spindle-shaped and formed whirlpool-like patterns, with low CD45 expression (1.25%) and high CD90 expression (99.89%) as well as good viability. Compared with sham operation group, in all other groups, the pancreatic tissues showed varying degrees of damage, the serum levels of AMS and LPS, and the pancreatic contents of IL-6, IL-1 β , TNF- α and MDA were significantly increased, while the SOD activity was significantly decreased (all $P < 0.05$), and further, the changing amplitudes of all above variables were successively decreased in the order of model group, intraperitoneal injection group, tail vein injection group and combined injection group, and all differences had a statistical significance (all $P < 0.05$).

Conclusion: Bone MSC transplantation can inhibit inflammatory response, reduce oxidative stress and repair pancreatic tissue injury in SAP rats. The mechanism may be probably related to the regulation of TLR4/NF- κ Bp65 pathway.

Key words

Pancreatitis, Acute Necrotizing; Mesenchymal Stem Cell Transplantation; Inflammation; Toll-Like Receptor 4; Rats

CLC number: R657.5

急性重症胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 是一种常见急危重症, 并发症多, 病死率高^[1]。SAP 发病机制复杂, 包括炎症反应、氧化应激损伤、细胞凋亡、微循环障碍等, 发作时可激活胰蛋白酶, 引发胰蛋白酶原分子活化, 诱导分泌大量炎性细胞, 引发胰腺组织炎症反应、细胞死亡等, 还可增加肺损伤、肝损伤等并发症发生风险^[2-3]。因此, 探寻一种有效治疗方法, 抑制 SAP 患者炎症反应, 以减轻胰腺组织损伤, 降低相关并发症发生风险, 改善预后, 具有重要意义。间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 是一种成体干细胞, 具有多向分化潜能、低免疫原性, 可参与机体免疫调节, 目前已在类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等顽固性疾病治疗中取得一定进展^[4-5]。近期研究^[6]发现, MSC 移植具有修复 SAP 胰腺组织损伤的潜能, 但作用机制尚无深入研究。Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) / 核因子- κ Bp65 (nuclear factor- κ Bp65, NF- κ Bp65) 通路是一种典型炎症信号通路, 激活后能对炎性细胞因子表达进行调控, 参与炎症反应过程^[7]。相关报道^[8]显示, SAP 发病过程中 TLR4/NF- κ Bp65 通路激活发挥重要作用。本研究就骨髓 MSC 对 SAP 大鼠炎症抑制作用及其对 TLR4/NF- κ Bp65 通路影响进行分析, 以探讨骨髓间 MSC 治疗 SAP 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级 SD 健康雄性大鼠购自中国疾病预防控制中心, 许可证号: SYXK (京) 2019-0050, 7~8 周龄, 体质量 280~320 g。所有大鼠均在室温 22~24 °C、相对湿度 50%~60% 动物饲养房内适应性喂养 7 d, 标准饲料, 无菌蒸馏水。本研究经实验动物伦理委员会批准。

1.1.2 药物、主要试剂和仪器 戊巴比妥钠 (湖北鸿运隆生物科技股份有限公司), 牛磺脱氧胆酸钠 (美国 Sigma 公司)。淀粉酶 (amylase, AMS) 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司), 脂肪酶 (lipase, LPS) 试剂盒 (北京利德曼生化股份有限公司), 白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、白介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 酶联免

疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司), 改良 Eagle's 培养基 (DMEM, 美国 Hyclone 公司), 过氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (上海雅吉生物科技有限公司), 苏木精-伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE) 试剂盒 (中国碧云天生物科技有限公司), 兔抗大鼠 TLR4、髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88)、NF- κ Bp65、p-NF- κ Bp65 一抗及山羊抗兔 IgG 二抗 (北京百奥莱博科技有限公司)。FACSCanto II 流式细胞仪 (美国 BD 公司), OLYMPUSAU5400 全自动生化分析仪 (日本奥林巴斯有限公司), Multiskan 型酶标仪 (美国赛默飞世尔公司), 5418R 高速台式离心机 (德国 Eppendorf 公司), Mx3005P 实时荧光定量分析 (real-time fluorescence quantitative analysis, RT-PCR) 仪 (美国安捷伦科技公司), NI500 显微镜 (日本尼康公司)。

1.2 方法

1.2.1 骨髓 MSC 分离、培养、鉴定及制备 造模前 1 周, 随机取 5 只大鼠, 2% 戊巴比妥钠 50 mg/kg (0.25 mL/100 g) 腹腔注射麻醉, 断头处死, 自股骨、胫骨收集原始骨髓基质干细胞。骨髓腔以 DMEM 冲洗, 培养瓶内放置细胞, 加含 20% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素基础培养基, 置于潮湿孵化器孵化, 温度 37 °C, 湿度 95%。观察细胞融合超过 80% 时, 经多酶消化、传代收获, 取第 5 代细胞进行鉴定, 显微镜下观察细胞形态。经流式细胞仪检测干细胞表面标志物表达, 所用抗体为 CD45、CD90, 以同型对照抗体作为对照。移植前, 将 50 mg/L 含 4, 6- 联脒 -2- 苯基吡啶的无血清培养基加入骨髓 MSC 培养瓶, 避光, 孵育, 标记细胞, 共 24 h。未结合的 4, 6- 联脒 -2- 苯基吡啶以磷酸缓冲盐溶液冲洗, 0.25% 胰蛋白酶消化, 吹打。1 000 r/min 离心, 离心半径 5 cm, 共 5 min, 重复 2 次。随后以 1 500 r/min 离心, 离心半径 8 cm, 共 5 min, 弃上清液。加入培养液, 制备成细胞浓度 1.0×10^6 /mL 悬浮液。

1.2.2 骨髓 MSC 活力检测 采用细胞生长曲线、细胞贴壁率及细胞克隆形成率评估细胞活力。细胞生长曲线测定: 取第 5 代生长状态良好细胞, 0.25% 胰酶消化, 接种在 24 孔板, 密度 1×10^4 /孔。每

隔2 d,取3个孔消化计数,各孔计3次,取平均值,连续8 d,绘制生长曲线。细胞贴壁率测定:取第5代生长状态良好细胞,0.25%胰酶消化,经锥虫蓝染色计算活细胞百分比,在3.5 cm培养皿内接种,浓度 $3.5 \times 10^7/L$,每隔2 h,随机选择3个培养皿计算细胞数,连测18 h,取平均值,绘制曲线。细胞克隆形成率测定:取第5代对数生长期细胞,0.25%胰酶消化,在6孔板内接种,密度100个/孔,培养16 d。经锥虫蓝染色法计数克隆细胞数,计算细胞克隆形成率,即克隆细胞数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 模型制备与分组 取40只大鼠依据文献^[9]制定SAP大鼠模型:术前禁食12 h,2%戊巴比妥钠50 mg/kg(0.25 mL/100g)腹腔注射麻醉,平卧位固定于手术台。取上腹部正中切口,胰腺头部显露,探查十二指肠乳头位置,于十二指肠乳头旁,经留置针刺破肠壁,探入胰胆管,插入深度1.5 cm,肝总管以微血管镊夹闭。将3.5%牛磺脱氧胆酸钠0.1 mL/100 g注入,注射速度0.1 mL/min,输注后保持压力10 min。以造模后肉眼可见大鼠胰腺出现皂化斑形成、点状出血、坏死等变化,为造模成功标准。40只大鼠造模成功36只,成功率为90.0%。36只大鼠随机分为模型组、MSC腹腔注射组(腹腔注射组)、MSC尾静脉注射组(尾静脉注射组)、MSC腹腔注射+尾静脉注射(联合注射组),每组各9只。另取9只大鼠作为假手术组,假手术组仅开腹,翻动数次胰腺,关腹,不做其他处理。

1.2.4 动物干预 造模成功后12 h开始给药。腹腔注射组以 $1.0 \times 10^6/mL$ 骨髓MSC悬浮液进行腹腔注射移植,剂量10 mL/kg。尾静脉注射组以 $1.0 \times 10^6/mL$ 骨髓MSC悬浮液进行尾静脉注射移植,剂量10 mL/kg。联合注射组同时以 $1.0 \times 10^6/mL$ 骨髓MSC悬浮液进行腹腔注射+尾静脉注射,剂量10 mL/kg。假手术组、模型组以等量生理盐水腹腔注射,注射10 mL/kg。

1.2.5 取材及处理 治疗后24 h,大鼠以2%戊巴比妥钠50 mg/kg(0.25 mL/100g)腹腔注射麻醉,断头处死,打开腹腔,以静脉采血针刺下腔静脉,抽取3 mL血液,以备检测血清AMS、LPS水平;打开腹腔,找到并分离胰腺组织,将胰腺组织分为5份。其中4份置于液氮保存,以备检测炎症指标、氧化应激指标及TLR4、NF-κBp65蛋白;另外

1份置于4%多聚甲醛固定,用于HE染色。

1.2.6 胰腺组织病理形态学检测 采用HE染色法检测。取4%多聚甲醛保存胰腺组织,甩干残余多聚甲醛溶液,梯度酒精脱水,二甲苯透明,包埋,切片,厚度3 μm。石蜡切片置于恒温箱,加热2 h。进行HE染色,95%乙醇浸泡2 min,100%乙醇浸泡10 min。二甲苯透明,中性树胶封片。切片置于显微镜下观察,各切片随机选取5个高倍视野($\times 200$),分析胰腺组织病理形态学改变。根据Schmidt评分标准进行病理评分^[10]。病理评分包括水肿、出血、坏死、炎症4项。水肿:无水肿,计0分;小叶间隔扩大扩张,计1分;小叶间隔扩张,计2分;腺泡隔膜弥漫扩张,计3分;细胞间隙弥漫扩张,计4分。出血:无出血,计0分;1~2处出血,计1分;3~4处出血,计2分;5~6处出血,计3分; ≥ 7 处出血,计4分。坏死:无坏死,计0分;1~4/HP坏死,计1分;5~10/HP坏死,计2分;11~16/HP坏死,计3分; $\geq 17/HP$ 坏死,计4分。炎症:0~1/HP炎症细胞浸润,计0分;2~10/HP炎症细胞浸润,计1分;11~20/HP炎症细胞浸润,计2分;21~30/HP炎症细胞浸润,计3分; $\geq 31/HP$ 炎症细胞浸润,计4分。由2名经验丰富的病理科成员独立进行评分,取平均值。

1.2.7 血清AMS、LPS水平检测 取大鼠下腔静脉血,4℃,4 000 r/min离心,离心半径5 cm,共10 min,取上层血清。采用碘比色法检测血清AMS水平,应用全自动生化分析仪进行检测。采用甲基试卤灵底物法检测血清LPS水平,严格按照试剂盒使用说明书操作,根据产物红色的甲基试卤灵生成速率,对LPS活性进行检测。

1.2.8 IL-6、IL-1β、TNF-α水平检测 采用ELISA法检测。取液氮保存胰腺组织,冰浴下制备10%匀浆。4℃,10 000 r/min离心,离心半径8 cm,共10 min,取上清液。严格按照IL-6、IL-1β、TNF-α试剂盒使用说明书操作。观察酶标仪450 nm处吸光值。以吸光值为纵坐标,以标准品浓度为横坐标,创建标准曲线,按照标本吸光值获得浓度。

1.2.9 SOD、MDA水平检测 采用羟胺法检测SOD水平。取液氮保存胰腺组织,冰浴下制备10%匀浆。4℃,3 500 r/min离心,离心半径8 cm,共10 min,取上清液。严格按照SOD试剂盒使用说明书操作,每组3孔,实验重复3次,取平均值。采用硫代巴比妥酸法检测MDA水平。胰腺组织加

入 10 mL 离心管, 相同体积磷酸缓冲盐溶液加入调零管。各管分别加入 0.6% TBA 溶液 2 mL, 混匀, 沸水浴 15 min。完成沸水浴后快速流水冷却, 取离心管液体, 4 ℃, 10 000 r/min 离心, 离心半径 5 cm, 共 10 min, 取上清液, 加入酶标板。观察各组酶标仪 450 nm、532 nm、600 nm 波长处吸光度值, 以 $6.45 (D_{532 \text{ nm}} - D_{600 \text{ nm}}) - 0.56D_{450 \text{ nm}}$ 计算 MDA 水平。

1.2.10 胰腺组织 TLR4、MyD88、NF- κ Bp65 mRNA 相对表达量检测 采用 RT-PCR 法检测。取液氮保存胰腺组织, 经 Trizol 法提取总 RNA。经紫外分光光度计检测提取的总 RNA 质量、浓度, 将总 RNA 进一步逆转录成 cDNA, 实施 RT-PCR 反应。采用 GeneBank 基因库内大鼠 TLR4、MyD88、NF- κ Bp65 基因序列。引物设计: TLR4 正向: 5'-GAG GAC TGG GTG AGA AAG GA-3'; 反向: 5'-GAA ACT AGG GAT GGT GAG GA-3'。MyD88 正向: 5'-ATC GCT GTT CTT GAA CCC TCG-3'; 反向: 5'-CTC ACG GTC TAA CAG GCC AG-3'。NF- κ Bp65 正向: 5'-ATG TTC CAD GTA TGA CTA TCA GG-3'; 反向: 5'-GAA GAG ACC AGT AAT CAC GAC A-3'。 β -actin 正向: 5'-TAC GAT TCT CCC ATC AACT-3'; 反向: 5'-GTC TGG TAA TCT CGC ACT C-3'。反应条件: 95 ℃ 变性, 3 min; 95 ℃, 30 s; 55 ℃, 30 s; 72 ℃, 30 s; 72 ℃, 10 min, 40 个循环。反应体系: 12.5 μ L Power Taq PCR Master Mix, 1 μ L 上游引物、下游引物, 1.5 μ L cDNA。琼脂糖凝胶电泳, 采用凝胶图像分析系统分析电泳条带, 以 β -actin 为内参, 计算 TLR4、MyD88、NF- κ Bp65 mRNA 相对表达强度 ($2^{-\Delta\Delta CT}$)。

1.2.11 胰腺组织 TLR4、MyD88、NF- κ Bp65 蛋白相对表达量检测 采用 Western blot 法检测。取液氮保存胰腺组织, 置于玻璃匀浆容器, 加入 1 mL PIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂, 冰上匀浆, 超声粉碎机粉碎。4 ℃, 12 000 r/min 离心, 离心半径 5 cm, 共 15 min, 取上清液。以等体积 2 \times 上样缓冲液加入, 煮沸, 共 10 min, 蛋白变性, 收获组织总蛋白。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜反应。加入 5% 脱脂奶粉, 室温下, 摇床封闭 2 h。加入 TLR4、MyD88、p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65 一抗 (1:500), 4 ℃, 孵育过夜; 加入

山羊抗兔二抗 IgG (1:5 000), 室温下孵育 2 h。孵育后, 室温下以 TBST 摇床洗膜 10 min, 共 3 次。曝光, 显影, 定影, 置于凝胶成像仪, 观察 TLR4、MyD88、p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65 蛋白表达。以 ImageJ 图像分析软件, 对各目标条带的灰度值进行分析。以 β -actin 为内参, 目的蛋白表达水平根据目的蛋白条带灰度值/ β -actin 条带灰度值计算。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件分析数据, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 重复计量资料比较采用单因素方差分析, 两两样本比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨髓 MSC 鉴定

显微镜下显示骨髓 MSC 呈梭形、漩涡样生长 (图 1); 流式细胞仪显示细胞低表达 CD45, 表达量为 1.25%; 高表达 CD90, 表达率为 99.89% (图 2)。

2.2 骨髓 MSC 活力检测

细胞生长曲线结果显示, 第 5 代细胞生长曲线呈 “S” 形, 1 d 内为潜伏期, 2~5 d 为对数生长期, 自第 6 d 细胞生长减慢, 第 8 d 进入停止期。细胞贴壁率结果显示, 第 5 代活细胞比例为 97%, 接种 14 h 贴壁率达高值, 此后呈稳定状态, 贴壁率 (96.12 ± 0.85) %。细胞克隆形成率结果显示, 第 5 代细胞接种 6 d 镜下出现细胞集落。这些结果提示第 5 代细胞活力良好 (图 3)。

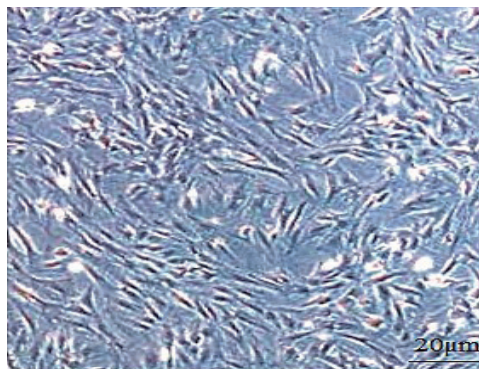


图 1 第 5 代骨髓 MSC 形态 ($\times 100$)

Figure 1 Morphology of bone marrow MSCs at 5th passage ($\times 100$)

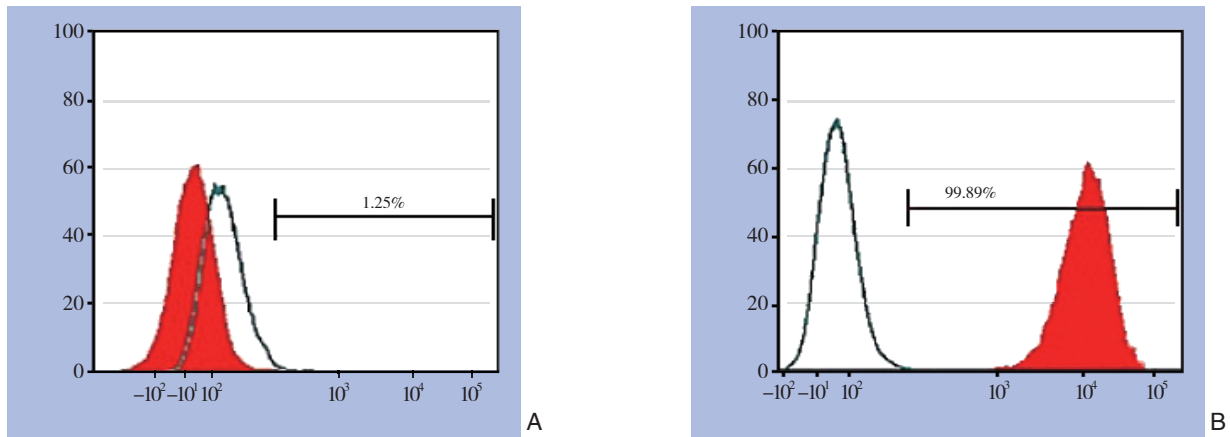


图2 流式细胞分析 A: 低表达 CD45 (1.25%) ; B: 高表达 CD90 (99.89%)
 Figure 2 Flow cytometry analysis A: Low CD45 expression (1.25%); B: High CD90 expression (99.89%)

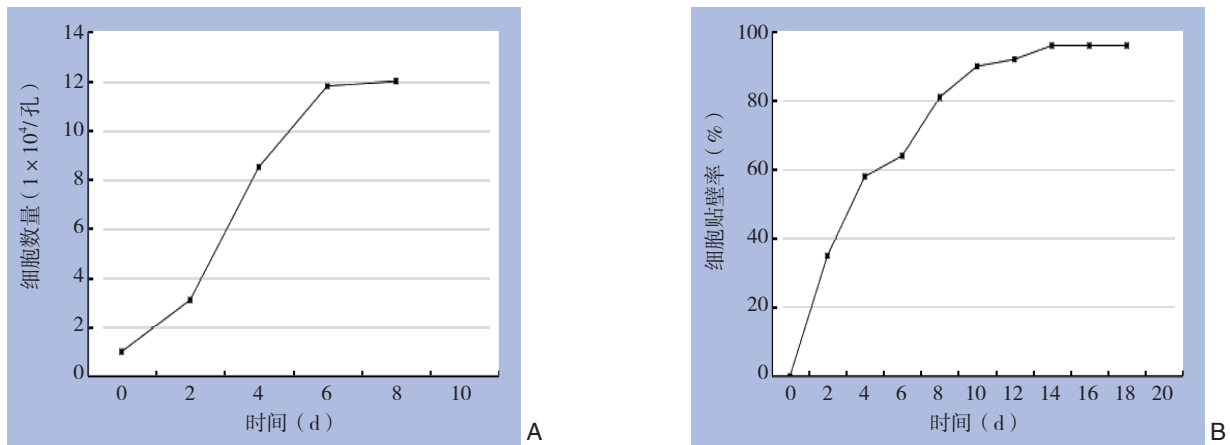


图3 骨髓 MSC 活力检测 A: 第5代骨髓 MSC 生长曲线; B: 第5代骨髓 MSC 的贴壁率
 Figure 3 Determination of the viability of the bone marrow MSCs A: Growth curve bone marrow MSCs at the 5th passage;
 B: Adherence rate of the bone marrow MSCs at the 5th passage

2.3 胰腺组织病理形态学及病理评分

假手术组胰腺组织形态正常, 结构清晰, 间质鲜见炎性细胞浸润。模型组胰腺组织腺体结构紊乱, 存在大量坏死细胞, 腺泡出现水肿、破裂, 伴有大量炎性细胞浸润, 腺体间隙及血管周围存在红细胞渗出。与模型组比较, 腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组胰腺组织病理变化不同程度减轻, 腺体结构轻微紊乱, 腺泡轻微水肿, 炎症细胞浸润减少, 其中联合注射组改善更为明显(图4)。各造模组水肿、出血、坏死、炎症评分比较, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组的水肿、出血、坏死、炎症评分依次降低, 组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$) (表1)。

2.4 血清 AMS、LPS 水平

与假手术组比较, 各造模组 AMS、LPS 水平

比均明显升高(均 $P < 0.05$), 但两项指标在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组的升高程度依次降低, 组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$) (表2)。

2.5 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平

与假手术组比较, 各造模组 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均明显升高(均 $P < 0.05$), 但各项指标在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组的升高程度依次降低, 组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$) (表3)。

2.6 SOD、MDA 水平

与假手术组比较, 各造模组 SOD 水平明显降低、MDA 水平明显升高(均 $P < 0.05$), 且两项指标的变化程度在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组依次降低, 组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$) (表4)。

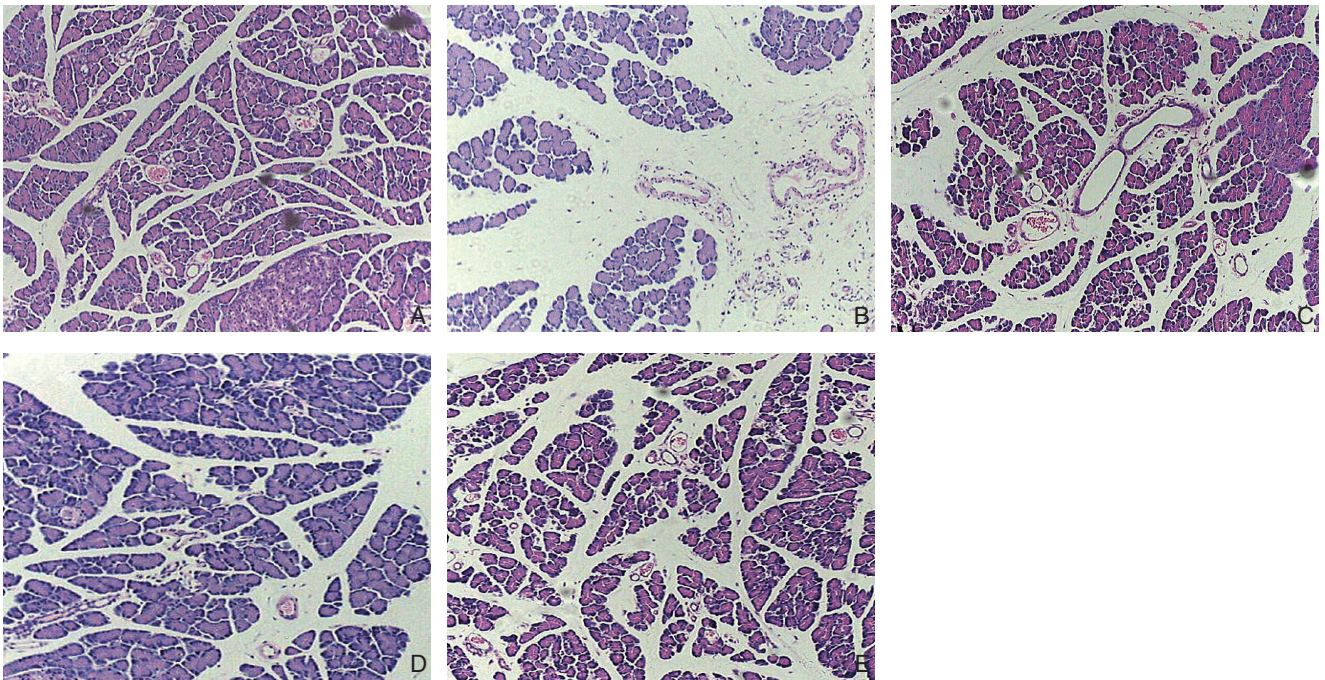


图 4 各组大鼠胰腺组织病理形态学改变 (HE × 200) A: 假手术组; B: 模型组; C: 腹腔注射组; D: 尾静脉注射组; E: 联合注射组

Figure 4 Comparison of pathological changes of the pancreatic tissue in each group (HE×200) A: Sham operation group; B: Model group; C: Intraperitoneal injection group; D: Tail vein injection group; E: Combined injection group

表 1 各组大鼠胰腺病理评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 1 Comparison of pathological scores of pancreas among groups ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

组别	水肿	出血	坏死	炎症
假手术组	0.20 ± 0.12	0.20 ± 0.11	0.20 ± 0.11	0.20 ± 0.13
模型组	3.60 ± 0.15 ¹⁾	3.20 ± 0.13 ¹⁾	1.80 ± 0.12 ¹⁾	2.40 ± 0.15 ¹⁾
腹腔注射组	1.80 ± 0.15 ^{1), 2)}	2.20 ± 0.14 ^{1), 2)}	1.60 ± 0.13 ^{1), 2)}	1.80 ± 0.13 ^{1), 2)}
尾静脉注射组	1.60 ± 0.15 ^{1), 2), 3)}	1.80 ± 0.12 ^{1), 2), 3)}	1.20 ± 0.12 ^{1), 2), 3)}	1.20 ± 0.13 ^{1), 2), 3)}
联合注射组	1.20 ± 0.18 ^{1), 2), 3), 4)}	1.20 ± 0.12 ^{1), 2), 3), 4)}	0.80 ± 0.11 ^{1), 2), 3), 4)}	0.80 ± 0.14 ^{1), 2), 3), 4)}
F	586.723	748.207	418.726	528.307
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 1) 与假手术组比较, $P < 0.05$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$; 3) 与腹腔注射组比较, $P < 0.05$; 4) 与尾静脉注射组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. sham operation group; 2) $P < 0.05$ vs. model group; 3) $P < 0.05$ vs. intraperitoneal injection group; 4) $P < 0.05$ vs. tail vein injection group

表 2 各组大鼠 AMS、LPS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$, U/mL)

Table 2 Comparison of the levels of AMS and LPS among groups ($\bar{x} \pm s$, $n=9$, U/mL)

组别	AMS	LPS
假手术组	2.42 ± 0.15	6.15 ± 0.46
模型组	6.91 ± 0.35 ¹⁾	12.65 ± 0.52 ¹⁾
腹腔注射组	5.57 ± 0.34 ^{1), 2)}	10.02 ± 0.57 ^{1), 2)}
尾静脉注射组	4.52 ± 0.29 ^{1), 2), 3)}	8.69 ± 0.54 ^{1), 2), 3)}
联合注射组	3.15 ± 0.28 ^{1), 2), 3), 4)}	7.51 ± 0.43 ^{1), 2), 3), 4)}
F	367.612	226.134
P	<0.001	<0.001

注: 1) 与假手术组比较, $P < 0.05$; 2) 与模型组比较, $P < 0.05$; 3) 与腹腔注射组比较, $P < 0.05$; 4) 与尾静脉注射组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. sham operation group; 2) $P < 0.05$ vs. model group; 3) $P < 0.05$ vs. intraperitoneal injection group; 4) $P < 0.05$ vs. tail vein injection group

表3 各组大鼠IL-6、IL-1β、TNF-α水平比较(̄x±s)

Table 3 Comparison of the levels of IL-6, IL-1β and TNF-α among groups (̄x±s)

组别	IL-6 (ng/mL)	IL-1β (pg/mL)	TNF-α (ng/mL)
假手术组	18.62 ± 2.51	19.58 ± 3.02	21.03 ± 4.62
模型组	124.15 ± 9.63 ¹⁾	104.16 ± 8.52 ¹⁾	118.62 ± 8.22 ¹⁾
腹腔注射组	92.51 ± 4.88 ^{1), 2)}	85.24 ± 5.23 ^{1), 2)}	95.23 ± 7.02 ^{1), 2)}
尾静脉注射组	81.24 ± 5.24 ^{1), 2), 3)}	72.15 ± 4.55 ^{1), 2), 3)}	77.12 ± 6.51 ^{1), 2), 3)}
联合注射组	50.65 ± 4.58 ^{1), 2), 3), 4)}	50.05 ± 5.12 ^{1), 2), 3), 4)}	42.62 ± 3.65 ^{1), 2), 3), 4)}
F	458.857	330.974	379.697
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 1) 与假手术组比较, P<0.05; 2) 与模型组比较, P<0.05; 3) 与腹腔注射组比较, P<0.05; 4) 与尾静脉注射组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. sham operation group; 2) P<0.05 vs. model group; 3) P<0.05 vs. intraperitoneal injection group; 4) P<0.05 vs. tail vein injection group

表4 各组大鼠SOD、MDA水平比较(̄x±s)

Table 4 Comparison of the levels of SOD and MDA among groups (̄x±s)

组别	SOD (NU/mg)	MDA (nmol/mg)
假手术组	115.24 ± 6.25	1.23 ± 0.26
模型组	80.02 ± 4.12 ¹⁾	2.95 ± 0.28 ¹⁾
腹腔注射组	88.96 ± 5.14 ^{1), 2)}	2.21 ± 0.25 ^{1), 2)}
尾静脉注射组	97.45 ± 5.27 ^{1), 2), 3)}	1.46 ± 0.22 ^{1), 2), 3)}
联合注射组	104.65 ± 6.18 ^{1), 2), 3), 4)}	1.30 ± 0.21 ^{1), 2), 3), 4)}
F	58.607	82.566
P	<0.001	<0.001

注: 1) 与假手术组比较, P<0.05; 2) 与模型组比较, P<0.05; 3) 与腹腔注射组比较, P<0.05; 4) 与尾静脉注射组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. sham operation group; 2) P<0.05 vs. model group; 3) P<0.05 vs. intraperitoneal injection group; 4) P<0.05 vs. tail vein injection group

2.7 TLR4、MyD88、NF-κBp65 mRNA 相对表达量

与假手术组比较, 各造模组TLR4、MyD88 mRNA相对表达量均明显升高(均P<0.05), 且两

项指标的变化程度在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组依次降低, 组间差异均有统计学意义(均P<0.05); 各组NF-κBp65表达水平组间差异无统计学意义(P>0.05)(表5)。

表5 各组TLR4、MyD88、NF-κBp65 mRNA相对表达量比较(̄x±s)

Table 5 Comparison of relative expressions of TLR4, MyD88 and NF-κBp65 mRNA among groups (̄x±s)

组别	TLR4	MyD88	NF-κBp65
假手术组	0.21 ± 0.03	1.03 ± 0.12	0.31 ± 0.05
模型组	0.78 ± 0.09 ¹⁾	3.06 ± 0.19 ¹⁾	0.32 ± 0.05
腹腔注射组	0.61 ± 0.08 ^{1), 2)}	2.54 ± 0.15 ^{1), 2)}	0.31 ± 0.06
尾静脉注射组	0.46 ± 0.05 ^{1), 2), 3)}	2.04 ± 0.16 ^{1), 2), 3)}	0.31 ± 0.08
联合注射组	0.34 ± 0.04 ^{1), 2), 3), 4)}	1.42 ± 0.13 ^{1), 2), 3), 4)}	0.32 ± 0.07
F	122.132	262.255	0.069
P	<0.001	<0.001	0.991

注: 1) 与假手术组比较, P<0.05; 2) 与模型组比较, P<0.05; 3) 与腹腔注射组比较, P<0.05; 4) 与尾静脉注射组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. sham operation group; 2) P<0.05 vs. model group; 3) P<0.05 vs. intraperitoneal injection group; 4) P<0.05 vs. tail vein injection group

2.8 TLR4、MyD88、p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65 蛋白相对表达量

与假手术组比较,各造模组TLR4、MyD88蛋白相对表达量及p-NF- κ Bp65/NF- κ Bp65均明显升高(均 $P<0.05$)。且各项指标的变化程度在模型组、腹腔注射组、尾静脉注射组、联合注射组依次降低,组间差异均有统计学意义(均 $P<0.05$) (图5) (表6)。

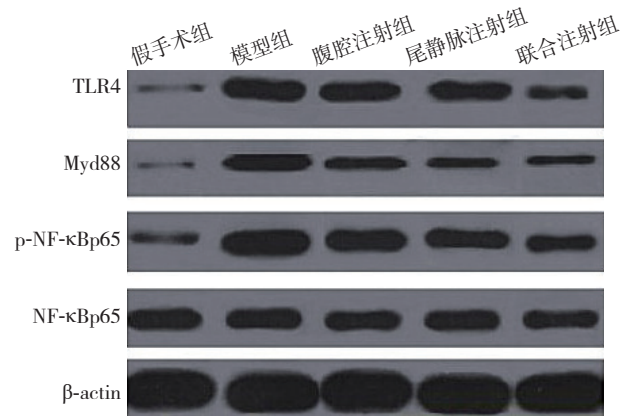


图5 Western blot 检测胰腺组织 TLR4、p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65 蛋白表达

Figure 5 Protein expressions of TLR4, p-NF- κ Bp65 and NF- κ Bp65 in pancreatic tissue determined by Western blot

表6 各组 TLR4、MyD88、p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Comparison of relative protein expressions of TLR4, MyD88, p-NF- κ Bp65 and NF- κ Bp65 among groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	TLR4	MyD88	p-NF- κ Bp65/NF- κ Bp65
假手术组	0.21 ± 0.05	0.17 ± 0.02	0.76 ± 0.06
模型组	0.65 ± 0.08 ¹⁾	0.42 ± 0.04 ¹⁾	1.35 ± 0.08 ¹⁾
腹腔注射组	0.41 ± 0.05 ^{1), 2)}	0.35 ± 0.02 ^{1), 2)}	1.15 ± 0.09 ^{1), 2)}
尾静脉注射组	0.38 ± 0.04 ^{1), 2), 3)}	0.28 ± 0.04 ^{1), 2), 3)}	0.96 ± 0.07 ^{1), 2), 3)}
联合注射组	0.31 ± 0.04 ^{1), 2), 3), 4)}	0.25 ± 0.04 ^{1), 2), 3), 4)}	0.88 ± 0.08 ^{1), 2), 3), 4)}
F	85.430	73.366	82.883
P	<0.001	<0.001	<0.001

注: 1) 与假手术组比较, $P<0.05$; 2) 与模型组比较, $P<0.05$; 3) 与腹腔注射组比较, $P<0.05$; 4) 与尾静脉注射组比较, $P<0.05$

Note: 1) $P<0.05$ vs. sham operation group; 2) $P<0.05$ vs. model group; 3) $P<0.05$ vs. intraperitoneal injection group; 4) $P<0.05$ vs. tail vein injection group

3 讨论

SAP起病急,病情重,可引发胰腺出血、坏死,且易继发全身炎症反应综合征、多器官功能障碍,病死率高^[11-12]。当前,围绕SAP机制及治疗的众多研究^[13-15]表明,中性粒细胞分泌的细胞因子在该病病理、生理变化中有一定作用,如TNF- α 。TNF- α 属于炎症始动因子,可介导IL-6、IL-1 β 、IL-8等多种炎症细胞因子释放,且能激活氧自由基、一氧化氮生成,促进白细胞趋化、黏附,造成胰腺组织受损^[16]。故需在SAP治疗中,探寻有效手段抑制炎症反应,减轻胰腺组织损伤,改善预后。骨髓MSC是一种成体干细胞,分化潜能较高,可分泌TNF- α 、IL-6等细胞因子,参与机体炎症及免疫调节^[17-18]。相关报道^[19]显示,骨髓MSC可随机体血液循环到达受损部位,经诱导分化成相应成体细胞,促进组织损伤修复,控制炎症反应。还有报道^[20]显示,随着机体骨髓

MSC的细胞量增多,干细胞转化率逐渐升高,可使炎症症状减轻,炎症介质减少,但就骨髓MSC对SAP炎症抑制调控机制尚无明确报道。而本研究就该问题进行分析,着重探讨骨髓MSC对SAP炎症抑制作用及机制,对SAP临床诊断、治疗有一定指导意义。

SAP治疗最直接的干细胞应为胰腺干细胞,但其数量少,再生能力低,较难满足胰腺损伤修复需求。而骨髓MSC取材方便,数量多,易培养,可分化成胰腺、血管、神经细胞等组织细胞,达到治疗目的,还能经由对SAP时过度炎症反应进行调节,控制炎症因子释放,减轻胰腺损伤^[21]。报道^[17]发现,骨髓MSC可在体内进一步转化成胰腺干细胞,进行再生、自我修复,减轻胰腺组织损伤。还有相关动物实验^[22]表明,经腹腔与尾静脉联合注射骨髓MSC,在控制SAP大鼠炎症细胞因子上效果显著,但并未就其作用机制进行深入分析。本研究发现,骨髓MSC治疗后IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MDA及血清AMS、LPS水平降低,SOA

升高,联合注射组改善更显著,说明骨髓MSC腹腔联合尾静脉注射移植可减轻SAP大鼠炎症反应、氧化应激反应,缓解病情。进一步分析胰腺组织病理形态学变化,还发现骨髓MSC腹腔联合尾静脉注射移植可减轻SAP大鼠胰腺组织损伤。傅明杰等^[23]也发现,骨髓MSC经腹腔与尾静脉联合注射可促使SAP大鼠胰腺病理评分降低,减少中性粒细胞浸润、出血、水肿等,减轻炎症反应,但具体作用机制仍未明确。

TLR4/p-NF-κBp65通路在SAP炎症反应调控中发挥重要作用,基因通常包括TLR4、MyD88、NF-κB 3种^[24-25]。NF-κB是一种蛋白质因子,能对细胞内多种基因转录过程进行调控,且可结合细胞因子、黏附因子等基因启动子,促进基因表达,而NF-κBp65为NF-κB激活后主要存在方式^[26-27]。胰腺细胞表面TLR4分布较多,一旦胰腺受缺血、感染、损伤等因素刺激,可激活TLR4,并经胞内一系列信号传导引发MyD88、NF-κB活化,对NF-κB上游IκB进行激活,使得p65进入细胞核,调控较多炎性细胞因子表达^[28]。相关报道^[29]显示,抑制TLR4/p-NF-κBp65通路,能对SAP小鼠胰腺组织产生保护作用,减轻胰腺损伤。本研究发现,骨髓MSC能促使TLR4、MyD88 mRNA相对表达量及TLR4、MyD88白表达量降低,p-NF-κBp65/NF-κBp65比值下降,且腹腔联合尾静脉注射移植给药时改善效果更显著,这说明骨髓MSC腹腔联合尾静脉注射可有效抑制TLR4/NF-κBp65通路,这可能是其抑制SAP大鼠炎症反应,减轻氧化应激反应,修复胰腺组织损伤的一个重要作用机制。

综上所述,骨髓MSC腹腔联合尾静脉注射能抑制SAP大鼠炎症反应,减轻氧化应激反应,缓解胰腺组织损伤,作用机制可能与抑制TLR4/NF-κBp65通路有关。但本研究也存在不足之处,比如涉及的样本量较少,且骨髓MSC抑制SAP大鼠炎症反应是否存在其他方面机制尚不明确,今后仍需深入分析。

参考文献

- [1] Leppäniemi A, Tolonen M, Tarasconi A, et al. 2019 WSES guidelines for the management of severe acute pancreatitis[J]. *World J Emerg Surg*, 2019, 14:27. doi: 10.1186/s13017-019-0247-0.
- [2] Shah AP, Mourad MM, Bramhall SR. Acute pancreatitis: current perspectives on diagnosis and management[J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11:77-85. doi: 10.2147/JIR.S135751.
- [3] Dumnicka P, Maduzia D, Ceranowicz P, et al. The Interplay between Inflammation, Coagulation and Endothelial Injury in the Early Phase of Acute Pancreatitis: Clinical Implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2):354. doi: 10.3390/ijms18020354.
- [4] 高乐女, 钟兵, 王勇, 等. 脐带间充质干细胞输注治疗难治性类风湿关节炎的疗效及安全性初探[J]. *重庆医学*, 2018, 47(2):206-208. doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.02.020.
- [5] Gao WN, Zhong B, Wang Y, et al. Preliminary study on efficacy and safety of umbilical cord mesenchymal stem cells infusion for treating refractory rheumatoid arthritis[J]. *Chongqing Med*, 2018, 47(2):206-208. doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.02.020.
- [5] 冯瑞海, 李文超, 张卓亚, 等. 间充质干细胞对系统性红斑狼疮患者CD4+LAP调节性T细胞的调节[J]. *中华风湿病学杂志*, 2018, 22(3):154-157. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2018.03.003.
- [6] Feng RH, Li WC, Zhang ZY, et al. Regulation of mesenchymal stem cells on CD4+LAP+Treg cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Chinese Journal of Rheumatology*, 2018, 22(3):154-157. doi: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2018.03.003.
- [6] 黄启林, 杨屹, 罗晨, 等. 胎盘间充质干细胞移植对大鼠重症急性胰腺炎的保护作用[J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42(7):646-655. doi:10.16016/j.1000-5404.201910113.
- [7] Huang QL, Yang Y, Luo C, et al. Protective effect of placenta-derived mesenchymal stem cell transplantation against severe acute pancreatitis in rats[J]. *Journal of third military medical university*, 2020, 42(7):646-655. doi:10.16016/j.1000-5404.201910113.
- [7] Wang Y, Wang G, Cui L, et al. Angiotensin 1-7 ameliorates caerulein-induced inflammation in pancreatic acinar cells by downregulating Toll-like receptor 4/nuclear factor-κB expression[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3):3511-3518. doi: 10.3892/mmr.2017.8354.
- [8] Chen Z, Dong WH, Wu Q, et al. Two-layer regulation of TRAF6 mediated by both TLR4/NF-κB 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.
- [9] 郭向辉, 吴雅坤. 紫草素对大鼠重症急性胰腺炎的保护作用及其对TLR4/NF-κB信号通路的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(23):2853-2857. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.23.008.
- [9] Guo XH, Wu YK. Protective effect of shikonin on severe acute pancreatitis in rats and its effect on TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2019, 35(23):2853-2857. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.23.008.
- [10] Schmidt J, Rattner DW, 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.
- [11] Deng LH, Hu C, Cai WH, et al. Plasma cytokines can help to identify the development of severe acute pancreatitis on admission[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(28):e7312. doi: 10.1097/MD.00000000000007312.
- [12] 李少一, 张昆鹏, 甄忠广. 经皮肾镜与腹腔镜手术治疗重症急性胰腺炎并感染性胰腺坏死的临床疗效比较[J]. *中国普通外科杂志*, 2020, 29(9):1112-1118. doi: 10.7659/

- j.issn.1005-6947.2020.09.012.
- Li SY, Zhang KP, Zhen ZG. Comparison of clinical efficacy between percutaneous nephroscopic and laparoscopic surgery for severe acute pancreatitis with infectious pancreatic necrosis[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(9):1112-1118. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2020.09.012.
- [13] Dong JX, Chen XS, Song Y, et al. Chaiqin Chengqi decoction inhibits inflammatory mediators and attenuates acute pancreatitis through deactivation of janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway[J]. J Trad Chin Med, 2019, 39(2):166-173.
- [14] Hanna S, Hannes H, Henrik T, et al. IL-1 β , IL-6, IL-8 and IL-10 are important chronological biomarkers in the inflammatory development of acute pancreatitis[J]. Pancreatology, 2018, 18(4):S100-102.
- [15] Jain S, Midha S, Mahapatra SJ, et al. Interleukin-6 significantly improves predictive value of systemic inflammatory response syndrome for predicting severe acute pancreatitis[J]. Pancreatology, 2018, 18(5):500-506. doi: 10.1016/j.pan.2018.05.002.
- [16] Charalabopoulos A, Davakis S, Lambropoulou M, et al. Apigenin Exerts Anti-inflammatory Effects in an Experimental Model of Acute Pancreatitis by Down-regulating TNF- α [J]. In Vivo, 2019, 33(4):1133-1141. doi: 10.21873/invivo.11583.
- [17] Chu DT, Phuong TNT, Tien NLB, et al. An Update on the Progress of Isolation, Culture, Storage, and Clinical Application of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem/Stromal Cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3):708. doi: 10.3390/ijms21030708.
- [18] Mohamed-Ahmed S, Fristad I, Lie SA, et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: a donor-matched comparison [J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1):168. doi: 10.1186/s13287-018-0914-1.
- [19] Mazini L, Rochette L, Amine M, et al. Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs)[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(10):2523. doi: 10.3390/ijms20102523.
- [20] Kangari P, Talaie-Khozani T, Razeghian-Jahromi I, et al. Mesenchymal stem cells: amazing remedies for bone and cartilage defects[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1):492. doi: 10.1186/s13287-020-02001-1.
- [21] 陈进玲, 陈艳霞, 张志勇. 骨髓间充质干细胞移植治疗重症急性胰腺炎肺损伤[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(45):6774-6781. doi: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.45.013.
- Chen JL, Chen YX, Zhang ZY. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of severe acute pancreatitis-associated lung injury[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2016, 20(45):6774-6781.
- [22] 李滢, 傅明杰, 谭雪莹, 等. 骨髓间充质干细胞治疗大鼠重症急性胰腺炎的实验研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2019, 22(5):337-343. doi:10.3969/j.issn.1009-9905.2019.05.001.
- Li Y, Fu MJ, Tan XY, et al. Experimental study on bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of severe acute pancreatitis in rats[J]. Chinese Journal of Current Advances in General Surgery, 2019, 22(5):337-343. doi:10.3969/j.issn.1009-9905.2019.05.001.
- [23] 傅明杰, 赵赫, 李志涛, 等. 不同方式移植骨髓间充质干细胞治疗急性重症胰腺炎大鼠的疗效对比[J]. 基础医学与临床, 2019, 39(10):1474-1482. doi:10.3969/j.issn.1001-6325.2019.10.018.
- Fu MJ, Zhao H, Li ZT, et al. Comparison of different methods of transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells for acute severe pancreatitis in rats[J]. Basic & Clinical Medicine, 2019, 39(10):1474-1482. doi:10.3969/j.issn.1001-6325.2019.10.018.
- [24] Piao X, Liu B, Sui X, et al. Picoside II Improves Severe Acute Pancreatitis-Induced Intestinal Barrier Injury by Inactivating Oxidative and Inflammatory TLR4-Dependent PI3K/AKT/NF- κ B Signaling and Improving Gut Microbiota[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 20:3589497. doi: 10.1155/2020/3589497.
- [25] Yu J, Ni L, Zhang X, et al. Surfactant Protein D Dampens Lung Injury by Suppressing NLRP3 Inflammasome Activation and NF- κ B Signaling in Acute Pancreatitis[J]. Shock, 2019, 51(5):557-568. doi: 10.1097/SHK.0000000000001244.
- [26] Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, et al. Cell Type-Specific Roles of NF- κ B Linking Inflammation and Thrombosis[J]. Front Immunol, 2019, 10:85. doi: 10.3389/fimmu.2019.00085.
- [27] Li S, Lv M, Qiu S, et al. NF- κ B p65 promotes ovarian cancer cell proliferation and migration via regulating mortalin[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(6):4338-4348. doi: 10.1111/jcmm.14325.
- [28] Su YR, Hong YP, Mei FC, et al. High-Fat Diet Aggravates the Intestinal Barrier Injury via TLR4-RIP3 Pathway in a Rat Model of Severe Acute Pancreatitis[J]. Med Inflamm, 2019, 2019:2512687. doi: 10.1155/2019/2512687.
- [29] 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.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 秦亚飞, 霍星光, 李秋霞, 等. 骨髓间充质干细胞对急性重症胰腺炎大鼠的炎症抑制作用及对TLR4/NF- κ Bp65通路的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(3):294-304. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.007

Cite this article as: Qin YF, Huo XG, Li QX, et al. Anti-inflammatory effect of bone marrow mesenchymal stem cells in rats with severe acute pancreatitis and its association with TLR4/NF- κ Bp65 pathway[J]. Chin J Gen Surg, 2021, 30(3):294-304. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.007