

犬尿喹啉酸对大鼠急性坏死性胰腺炎的影响

焦小琴¹, 胡盼², 刘晓相³, 杜俊凯^{1*}

1. 西安交通大学第一附属医院 急诊中心, 陕西 西安 710061

2. 西安医学院第一附属医院 急诊科, 陕西 西安 710077

3. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院 综合内科, 甘肃 兰州 730050

摘要: **目的** 观察评价犬尿喹啉酸预处理对急性坏死性胰腺炎的保护作用。**方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、犬尿喹啉酸 (75、150、300 mg/kg) 组、乌司他丁组。采用苏木精-伊红 (HE) 染色检测胰腺病理结构; 检测胰腺组织湿/干质量比、血清淀粉酶和髓过氧化物酶 (MPO) 活性以及白细胞介素 (IL)-1 β 含量; Western blotting 检测胰腺组织热休克蛋白 72 (HSP72) 蛋白表达; 体内正交偏振光谱成像技术检测胰腺微循环血流动力学。体外分离胰腺腺泡细胞, 随机分为对照组、模型组、犬尿喹啉酸组, ELISA 法检测 IL-1 β 含量。分离各组大鼠血清中性粒细胞并利用试剂盒检测 H₂O₂ 含量。**结果** 与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组和乌司他丁组大鼠胰腺组织水肿程度减轻, 炎性细胞浸润减少, 坏死胰腺明显减少, 水肿评分、组织含水量、白细胞浸润评分、MPO 和血清淀粉酶活性、IL-1 β 含量表达降低, 浆膜红细胞速率、HSP72 表达及 pH 和 HCO₃⁻ 水平升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 犬尿喹啉酸组中性粒细胞在犬尿喹啉酸处理 70 min 后 H₂O₂ 产生显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 犬尿喹啉酸对 L-精氨酸诱导的急性坏死性胰腺炎大鼠炎症和血流动力学损伤具有保护作用, 其机制可能与上调 HSP72 蛋白表达有关。

关键词: 犬尿喹啉酸; 急性坏死性胰腺炎; 血清淀粉酶; 髓过氧化物酶; 白细胞介素-1 β ; 热休克蛋白 72; 血流动力学

中图分类号: R975 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2025)11-2700-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2025.11.002

Effect of kynurenic acid on acute necrotizing pancreatitis in rats

JIAO Xiaoqin¹, HU Pan², LIU Xiaoxiang³, DU Junkai¹

1. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

2. Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, China

3. Department of General Internal Medicine, 940th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the PLA, Lanzhou 730050, China

Abstract: **Objective** To observe and evaluate the protective effect of kynurenic acid pretreatment on acute necrotizing pancreatitis. **Methods** SD rats were randomly divided into the control group, the model group, the kynurenic acid (75, 150, 300 mg/kg) groups, and the ulinastatin group. The pathological structure of the pancreas was detected by hematoxylin-eosin (HE) staining. Detect the wet/dry mass ratio of pancreatic tissue, the activities of serum amylase and MPO, and the content of IL-1 β . Western blotting was used to detect the expression of HSP72 protein in pancreatic tissue. *In vivo* orthogonal polarization spectroscopy imaging technology was used to detect the hemodynamics of pancreatic microcirculation. Pancreatic acinar cells were isolated *in vitro* and randomly divided into the control group, the model group and kynurenic acid group. The content of IL-1 β was detected by ELISA. Serum neutrophils of rats in each group were isolated and the content of H₂O₂ was detected using the kit. **Results** Compared with the model group, the degree of pancreatic tissue edema in the kynurenic acid 300 mg/kg group and the ulinastatin group was alleviated, the infiltration of inflammatory cells was reduced, the necrotic pancreas was significantly decreased, and the expressions of edema score, tissue water content, white blood cell infiltration score, MPO and serum amylase activity, and IL-1 β content were decreased. The serous red blood cell rate, HSP72 expression, pH and HCO₃⁻ levels increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the production of H₂O₂ by

收稿日期: 2025-09-22

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2024SF-YBXM-525)

作者简介: 焦小琴, 女, 主治医师, 硕士, 研究方向为急危重症医学。E-mail: yqogpq@163.com

*通信作者: 杜俊凯, 男, 主任医师, 博士, 研究方向为急危重症医学。E-mail: 68631784@qq.com

neutrophils in the kynurenic acid group was significantly reduced after 70 min of kynurenic acid treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** Kynurenic acid has a protective effect on inflammation and hemodynamic injury in rats with *L*-arginine-induced acute necrotizing pancreatitis, and the mechanism may be related to the upregulation of HSP72 protein expression.

Key words: kynurenic acid; acute necrotizing pancreatitis; serum amylase; MPO; IL-1 β ; HSP72; hemodynamics

急性胰腺炎作为常见的胃肠道急症,其全球发病率持续攀升,总体死亡率约 2%,重症患者死亡率高达 30%^[1]。其病理机制涉及多重级联反应,如胰腺腺泡细胞内钙超载触发核因子- κ B(NF- κ B)活化,伴随自噬障碍、线粒体功能受损、活性氧(ROS)爆发及胰蛋白酶原等消化酶过早激活^[2]。进而促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 等炎性因子释放,介导中性粒细胞浸润。浸润的中性粒细胞通过再度激活胰蛋白酶原、释放髓过氧化物酶及过氧化氢(H_2O_2),形成炎症级联放大效应,加剧组织损伤^[3]。目前临床治疗仍以支持疗法为主,缺乏特异性靶向药物。色氨酸及其代谢产物是多种细胞过程的重要参与者,急性胰腺炎的严重程度受到色氨酸途径代谢产物的影响^[4]。色氨酸可代谢为 *N*-甲酰基-*L*-犬尿氨酸和 *L*-犬尿氨酸,*L*-犬尿氨酸进一步转化为犬尿喹啉酸或 3-羟基-*L*-犬尿氨酸,具体取决于酶的作用^[5]。研究发现,3-羟基-*L*-犬尿氨酸浓度在人急性胰腺炎样本中增加,其血浆水平与急性胰腺炎的系统性炎症进展和严重程度相关^[6],应用 3-羟基-*L*-犬尿氨酸抑制剂可预防啮齿类动物实验性急性胰腺炎的多器官衰竭^[7]。而犬尿喹啉酸具有抑制炎症及抗氧化效应^[8]。值得注意的是,犬尿喹啉酸具备较强血脑屏障穿透力,可显著调节线粒体呼吸并抑制单核/中性粒细胞释放 TNF- α 、高迁移率蛋白 B1(HMGB1)等促炎因子^[9]。然而,内源性犬尿喹啉酸及其高效衍生物 SZR-72 在急性胰腺炎病程中的作用机制尚未明确,亟待深入研究以开辟新的治疗路径。鉴于此,本研究拟通过构建急性胰腺炎大鼠模型,探讨犬尿喹啉酸对急性胰腺炎进展的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

L-精氨酸(货号 CDS021542)和犬尿喹啉酸(质量分数 $\geq 98\%$,货号 492-27-3)均购自美国 Sigma 公司;乌司他丁(规格 10 万单位/支,批号 032005103)购自广东天普生化医药股份有限公司;血清淀粉酶活性检测试剂盒(货号 SEB836Hu)购自上海信裕生物科技有限公司;髓过氧化物酶

(MPO)检测试剂盒(货号 CB11329-Hu)购自上海科艾博生物科技有限公司;IL-1 β 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(货号 220IR40)购自江苏菲亚生物科技有限公司;热休克蛋白 72(HSP72)抗体(货号 ab2787)购自美国 Abcam 公司;AmplexTM Red 过氧化氢/过氧化物酶检测试剂盒(货号 A22188)购自美国赛默飞公司。

Centrifuge5424R 微量离心机(德国 Eppendorf 公司);Multiskan 酶标仪(美国赛默飞世尔公司);多功能凝胶成像系统(Syngene 公司);TGL16MB 高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司);AVL Compact 2 型血气分析仪。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只,体质量 200~250 g,购自北京华富康生物科技股份有限公司,许可证号 SCXK(京)2019-0008。饲养在(23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 恒定室温下,12 h 光暗循环,并允许大鼠自由饮食。本实验遵循《实验动物管理和使用指南》,实验方案经西安交通大学医学部生物医学伦理委员会批准(2025-19)。

1.3 急性胰腺炎模型构建及分组处理

参照文献报道方法^[10],构建坏死性急性胰腺炎大鼠模型。将 *L*-精氨酸粉末 20 g 溶于 100 mL 氯化钠溶液,搅拌并调节 pH 值至 7.0,配成 20%的 *L*-精氨酸溶液。大鼠 ip 20% *L*-精氨酸溶液,剂量为 2.5 g/kg,每隔 1 h 注射 1 次,共注射 2 次。按照随机数字法将 50 只 SD 大鼠分为模型组、犬尿喹啉酸(75、150、300 mg/kg)组、乌司他丁组,另取 10 只健康 SD 大鼠作对照组。犬尿喹啉酸组在造模前 1 h 一次性 ip 相应剂量犬尿喹啉酸^[11];乌司他丁组在造模后 ip 乌司他丁 5 U/kg^[12],共 4 次,每次间隔 6 h;模型组和对照组仅给予等量生理盐水。

各组在注射 *L*-精氨酸后 24 h(胰腺炎症高峰期),ip 戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉,心脏穿刺采血,迅速收集胰腺标本。在冰上将胰腺组织中脂肪和淋巴结清洗干净,切为 4 块。将一块胰腺立即冷冻于液氮中并储存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。一块组织在 4%多聚甲醛中固定。第 3 块胰腺在室温下储存于

EP 管中用于干湿质量测量。最后一块 OCT 包埋后进行切片和免疫荧光染色。

1.4 苏木精-伊红(HE)染色检测胰腺病理结构

胰腺组织在 4%多聚甲醛中固定 48 h 后, 常规石蜡包埋, 行 3 μm 切片。按照 HE 染色试剂盒说明书对胰腺组织切片进行 HE 染色, 光学显微镜在 40 倍光镜下拍照记录。评估水肿评分、白细胞浸润评分和腺泡细胞坏死百分比。水肿评分为 0~3 分(0: 无水肿; 1: 斑片状小叶间水肿; 2: 弥漫性小叶间水肿; 3: 弥漫性小叶间和腺泡内水肿), 白细胞浸润 0~4 分(0: 无浸润; 1: 斑片状小叶间浸润; 2: 中度弥漫性小叶间浸润; 3: 轻度弥漫性小叶间浸润; 4: 弥漫小叶间和腺泡内浸润)^[13]。

1.5 胰腺湿/干质量比测定

在体实验结束后, 测量胰腺湿质量, 然后在 100 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱中干燥 24 h, 以评价组织含水量。然后测量干质量, 计算胰腺水肿含水量。

胰腺水肿含水量=(胰腺湿质量-胰腺干质量)/胰腺湿质量

1.6 血液酸碱度、血清淀粉酶和 MPO 活性检测

收集大鼠心脏血, 采用血气分析仪测定血样本的血液 pH 值、碳酸氢根离子(HCO_3^-)浓度。剩余样本室温静置 1 h 后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 3 000 r/min 离心 20 min, 将上层血清转移至 EP 管中, 利用相应试剂盒并根据试剂商说明书, 检测各组大鼠血清淀粉酶和 MPO 活性。

1.7 胰腺微循环血流动力学检测

造模 24 h 后, 用戊巴比妥钠静注麻醉动物, 在不影响血液循环的情况下, 将胰腺放在检测器上, 并用湿纱布保持胰腺湿润。利用体内正交偏振光谱成像技术连续观察胰腺微循环。该技术利用氧和脱氧血红蛋白等基点波长(548 nm)的反射偏振光。由于偏振在反射过程中得以保留, 因此只有从 2~300 μm 深度散射的光子才有助于形成图像。将 10 倍物镜置于胰腺浆膜表面, 用 S-VHS 录像机进行显微记录。通过对录像图像进行逐帧分析, 对微循环参数进行离线定量评估。通过计算机辅助图像分析系统(IVM Pictron)测定毛细血管后静脉中红细胞速率(RBCV)在 3 个独立区域的变化。

1.8 大鼠胰腺腺泡细胞分离与处理

利用胶原酶 V 消化新鲜分离的胰腺组织, 获取胰腺腺泡细胞悬液, 接种于细胞培养皿, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。培养 12 h 后, 以

1×10^6 细胞浓度接种于 6 孔板, 随机分为对照组、模型组和犬尿喹啉酸组, 模型组加入 20 mmol/L L-精氨酸构建体外急性胰腺炎模型, 犬尿喹啉酸组加入 250 $\mu\text{mol/L}$ 犬尿喹啉酸处理, 对照组仅给予等量 PBS。

1.9 ELISA 法检测大鼠胰腺组织中 IL-1 β 含量

取大鼠胰腺组织, 制备组织匀浆液, 采用 ELISA 试剂盒检测 IL-1 β 含量, 具体步骤按照试剂盒说明书进行, 酶标仪 450 nm 处检测吸光度(A), 计算中 IL-1 β 含量。

1.10 Western blotting 检测大鼠胰腺组织 HSP72 蛋白表达

将胰腺组织在 RIPA 裂解缓冲液中匀浆裂解 30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液并用 BCA 蛋白质测定试剂盒测量浓度。在 8% SDS-PAGE 凝胶中分离等量蛋白, 并转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。在用含 0.1%聚山梨酯-20 的 Tris 缓冲盐水(TBST)溶解的 5%脱脂牛奶中封闭 1 h 后, 将膜与 HSP72 一抗(1:400)在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜。次日, 将膜在 TBST 中洗涤 3 次, 与抗兔 IgG 过氧化物酶缀合的二抗(1:2 000)孵育 1 h。以 GAPDH 用作内参对照。使用 ECL 显色法对膜进行显影。使用 Image-Lab 软件定量所得条带灰度值。

1.11 大鼠血清中性粒细胞分离和 H_2O_2 含量检测

根据上述实验选取犬尿喹啉酸最佳治疗浓度 300 mg/kg 进行后续实验, 各组大鼠处死后, 分为对照组、模型组、犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组, 用 EDTA 涂层管采集心脏血液, 加入等体积 3%右旋糖酐溶液轻轻混合, 静置沉淀 40 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 、2 500 r/min 离心 40 min 获得多形核白细胞颗粒。用含 10 mmol/L 葡萄糖的磷酸盐缓冲液(PBS)重悬粒细胞并计数。细胞数调整为 $1.5 \times 10^4/100 \mu\text{L}$ 。使用 AmplexTM Red 过氧化氢/过氧化物酶检测试剂盒测量 H_2O_2 的产生。

1.12 大鼠胰腺腺泡细胞中 IL-1 β 含量

取大鼠分离的胰腺腺泡细胞, 制备细胞悬液, 采用 ELISA 试剂盒检测胰腺腺泡细胞 IL-1 β 含量, 方法同 1.9 项下。

1.13 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA), 然后进行 Tukey's post hoc 检验。

2 结果

2.1 犬尿喹啉酸对急性胰腺炎大鼠胰腺病理结构的影响

HE 染色结果显示, 对照组大鼠胰腺组织结构正常, 组织无明显病理学变化; 模型组大鼠胰腺组织大部坏死, 明显水肿且伴有大量炎性细胞浸润,

水肿评分、组织含水量和白细胞浸润评分升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组和乌司他丁组大鼠胰腺组织水肿程度减轻, 炎性细胞浸润减少, 坏死胰腺明显减少, 水肿评分、组织含水量和白细胞浸润评分明显降低 ($P<0.05$), 见图 1、表 1。

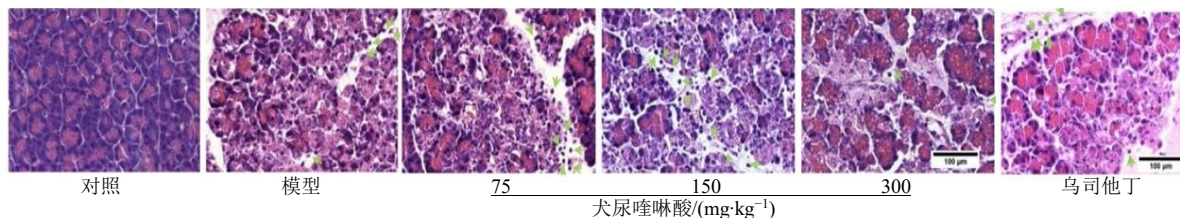


图 1 HE 染色检测大鼠胰腺组织病理结构 ($\times 40$)

Fig. 1 Pathological structure of pancreatic tissue in rats was detected by HE staining ($\times 40$)

表 1 各组大鼠胰腺组织病理评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Comparison of pancreatic tissue pathological scores in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	水肿评分	白细胞浸润评分	组织含水量/%
对照	—	0.13 ± 0.03	0.11 ± 0.02	71.65 ± 0.98
模型	—	$2.69 \pm 0.65^*$	$2.98 \pm 0.47^*$	$92.35 \pm 5.31^*$
犬尿喹啉酸	$75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.64 ± 0.58	2.67 ± 0.44	86.98 ± 1.65
	$150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.58 ± 0.75	2.56 ± 0.41	87.23 ± 1.98
	$300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1.37 \pm 0.35^\#$	$1.39 \pm 0.54^\#$	$75.72 \pm 7.23^\#$
乌司他丁	$5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1.48 \pm 0.28^\#$	$1.45 \pm 0.41^\#$	$78.25 \pm 8.34^\#$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与模型组比较: $^\#P<0.05$ 。

$^*P<0.05$ vs control group; $^\#P<0.05$ vs model group.

2.2 犬尿喹啉酸对急性胰腺炎大鼠胰腺组织 MPO 和血清淀粉酶活性的影响

与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组和乌司他丁组胰腺组织 MPO 和血清淀粉酶活性明显降低 ($P<0.05$), 见表 2。

2.3 犬尿喹啉酸对急性胰腺炎大鼠胰腺组织微循环和酸碱度的影响

与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组和乌司他丁组胰腺组织浆膜红细胞速率、pH 和 HCO_3^- 水平显著升高 ($P<0.05$), 见表 3。

表 2 各组大鼠胰腺组织 MPO 和血清淀粉酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Comparison of MPO in pancreatic tissue and serum amylase activities of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	MPO / ($\text{U}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	血清淀粉酶 / ($\times 10^3 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	—	0.34 ± 0.08	0.47 ± 0.03
模型	—	$2.34 \pm 0.37^*$	$3.42 \pm 0.67^*$
犬尿喹啉酸	$75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.17 ± 0.35	2.96 ± 0.24
	$150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.07 ± 0.21	2.88 ± 0.53
	$300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1.23 \pm 0.48^\#$	$1.48 \pm 0.32^\#$
乌司他丁	$5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$	$1.56 \pm 0.44^\#$	$1.72 \pm 0.41^\#$

与对照组比较: $^*P<0.05$; 与模型组比较: $^\#P<0.05$ 。

$^*P<0.05$ vs control group; $^\#P<0.05$ vs model group.

表 3 各组大鼠胰腺微循环和酸碱度情况比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Comparison of pancreatic microcirculation and pH levels in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	红细胞速率/(mm·s ⁻¹)	pH 值	HCO ₃ ⁻ /(mmol·L ⁻¹)
对照	—	1.14 ± 0.04	7.31 ± 0.32	26.15 ± 4.67
模型	—	0.56 ± 0.05*	7.03 ± 0.41*	17.87 ± 3.14*
犬尿喹啉酸	75 mg·kg ⁻¹	0.64 ± 0.04	7.06 ± 0.24	18.89 ± 3.46
	150 mg·kg ⁻¹	0.68 ± 0.05	7.11 ± 0.31	20.76 ± 4.25
	300 mg·kg ⁻¹	0.92 ± 0.15 [#]	7.39 ± 0.44 [#]	27.65 ± 6.65 [#]
乌司他丁	5 U·kg ⁻¹	0.83 ± 0.11 [#]	7.35 ± 0.34 [#]	25.39 ± 4.27 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.

2.4 犬尿喹啉酸对胰腺组织 IL-1 β 含量和 HSP72 表达的影响

与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组和乌司他丁组胰腺组织 IL-1 β 含量明显降低, HSP72 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 见图 2、表 4。

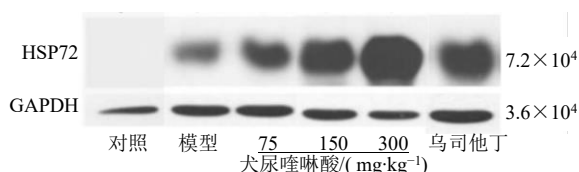


图 2 Western blotting 检测各组大鼠胰腺组织 HSP72 蛋白表达

Fig. 2 Western blotting was used to detect the expression of HSP72 protein in pancreatic tissues of rats in each group

表 4 各组大鼠胰腺组织 IL-1 β 含量和 HSP72 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 Comparison of IL-1 β content and HSP72 expression in pancreatic tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量	IL-1 β /(pg·mg ⁻¹)	HSP72 蛋白 相对表达量
对照	—	0.11 ± 0.02	1.01 ± 0.02
模型	—	25.67 ± 7.31*	5.32 ± 0.71*
犬尿喹啉酸	75 mg·kg ⁻¹	22.41 ± 5.38	7.98 ± 1.76
	150 mg·kg ⁻¹	20.98 ± 6.72	9.31 ± 2.19
	300 mg·kg ⁻¹	5.37 ± 0.44 [#]	13.82 ± 2.14 [#]
乌司他丁	5 U·kg ⁻¹	8.12 ± 0.72 [#]	11.38 ± 2.13 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.

2.5 犬尿喹啉酸对胰腺腺泡细胞 IL-1 β 表达的影响

ELISA 结果显示, 对照组、模型组和犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组胰腺腺泡细胞中 IL-1 β 水平分别为

(42.76 ± 8.92)、(37.81 ± 6.98)、(40.31 ± 9.85) pg/mg, 3 组间比较无显著统计学差异。

2.6 犬尿喹啉酸对中性粒细胞产生 H₂O₂ 的影响

从对照组、模型组、犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组大鼠中分离中性粒细胞。与模型组比较, 犬尿喹啉酸 300 mg/kg 组中性粒细胞在犬尿喹啉酸处理 70 min 后 H₂O₂ 的产生显著降低 ($P < 0.05$), 见表 5。

表 5 各组大鼠中性粒细胞 H₂O₂ 产生比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)
Table 5 Comparison of H₂O₂ production by neutrophils in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

时间/min	H ₂ O ₂ 产生量/(nmol·10 ⁴ 个中性粒细胞)		
	对照	模型	犬尿喹啉酸 300 mg·kg ⁻¹
0	0.015 ± 0.002	0.025 ± 0.002	0.019 ± 0.003
10	0.014 ± 0.002	0.028 ± 0.003	0.023 ± 0.001
20	0.013 ± 0.001	0.033 ± 0.002*	0.024 ± 0.002
30	0.015 ± 0.003	0.035 ± 0.003*	0.026 ± 0.001
40	0.014 ± 0.002	0.038 ± 0.002*	0.028 ± 0.002
50	0.013 ± 0.003	0.039 ± 0.004*	0.030 ± 0.002
60	0.015 ± 0.001	0.042 ± 0.002*	0.031 ± 0.003
70	0.014 ± 0.002	0.047 ± 0.003*	0.034 ± 0.004* [#]
80	0.014 ± 0.003	0.052 ± 0.006*	0.037 ± 0.005* [#]
90	0.015 ± 0.001	0.057 ± 0.004*	0.039 ± 0.003* [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group.

3 讨论

急性胰腺炎是临床常见病, 尽管近年来其诊疗水平有所提高, 但总体病死率仍高达 17%~30%。因此, 制定减轻急性胰腺炎损伤、改善临床结局的新策略是亟待解决的临床问题。急性胰腺炎的病理

生理学机制涉及多种细胞类型和生物学过程^[14-15]。在急性胰腺炎期间,色氨酸代谢途径明显受到干扰,导致犬尿氨酸-3 单加氧酶过度激活和促炎 3-羟基-L-犬尿氨酸过量产生^[6-7]。有研究显示,色氨酸代谢中的犬尿喹啉途径不仅产生了具有细胞毒性的 3-羟基-L-犬尿氨酸,也产生具有保护作用的犬尿喹啉酸^[16]。Mole 等^[7]发现,犬尿氨酸-3-单加氧酶抑制剂可减少 3-羟基-L-犬尿氨酸的产生,预防啮齿类动物实验性急性胰腺炎的多器官衰竭。但犬尿喹啉酸在急性胰腺炎中的作用尚无报道。

急性胰腺炎是一种典型的急性炎症性损伤疾病,炎性介质的释放引发全身炎症反应综合征,可能导致心血管、肺和肾功能障碍,伴或不伴继发性坏死、感染,甚至可能导致死亡^[17]。遗憾的是,旨在干扰抑制炎症介质的各种有前途的试验方法在临床环境中均未能显示出有益的效果^[18]。因此,需要探索新的有效抗炎药物和治疗方法来改善急性胰腺炎患者预后。免疫系统的运作与内源性犬尿氨酸代谢有关。最近的研究表明,使用犬尿喹啉酸或其类似物治疗后,几种与炎症相关的标志蛋白表达减少。如 Mándi 等^[19]和 Lajkó 等^[20]的研究表明,犬尿喹啉酸和其类似物会干扰体内和体外的免疫功能,不仅能减少热灭活金黄色葡萄球菌刺激的 U-937 细胞中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的产生,增加肿瘤坏死因子刺激基因-6 mRNA 的表达,还能抑制体外脂多糖刺激的小胶质细胞吞噬活性,同时抑制癫痫模型中小胶质细胞的活性。此外,犬尿喹啉酸及其合成类似物 SZR72 和 SZR104 可抑制脓毒症相关中性粒细胞活化^[11]。基于这些研究,由于犬尿喹啉酸具有已被证实的抗炎特性,本研究外源性给予急性胰腺炎大鼠犬尿喹啉酸预处理,检测其对急性胰腺炎炎症反应可能的抑制作用,研究发现 300 mg/kg 的犬尿喹啉酸预处理可减轻急性胰腺炎大鼠胰腺组织水肿程度和炎性细胞浸润,并降低白细胞浸润的标志指标 MPO 活性,提示犬尿喹啉酸在急性胰腺炎中具有很强的抗炎特性。

许多研究认为胰腺微循环功能障碍的发生与其自身的血供特点有关,其中淀粉酶、脂肪酶的表达以及胰腺湿/干质量比值是典型的胰腺损伤标志物^[21]。胰腺由小叶内动脉的单一分支供血,是对缺血高度敏感的胰腺微循环的解剖学基础。胰腺微循环功能障碍是导致急性胰腺炎的重要机制。研究显示,白藜芦醇可显著增加急性胰腺炎大鼠胰腺微血

管的浆膜红细胞速率、血流速度和功能性血管数量,降低血清淀粉酶和脂肪酶的表达,降低胰腺湿/干质量比值,显著缓解急性胰腺炎^[21]。此外,李晓渝等^[22]发现,柴黄清胰活血颗粒可通过调控 KEAP1/NRF2 信号通路减轻急性胰腺炎模型大鼠胰腺微循环障碍,改善急性胰腺炎。本研究亦发现,300 mg/kg 的犬尿喹啉酸预处理可降低急性胰腺炎大鼠胰腺微血管的浆膜红细胞速率和血清淀粉酶活性。

急性胰腺炎通常伴有酸碱紊乱,动物模型和临床研究均表明急性胰腺炎的严重程度与代谢性酸中毒的程度有关^[23-24]。引发急性胰腺炎期间代谢性酸中毒的机制有多种,如通过胰瘘或引流失去富含碳酸氢盐的胰液、休克或脓毒症导致的乳酸性酸中毒,这些都可能在急性胰腺炎期间发生。本研究结果显示,犬尿喹啉酸能有效恢复血浆中降低的 pH 值和 HCO_3^- 浓度,但它们影响酸碱平衡的确切机制尚不清楚,这种效应也可能有助于减轻疾病的严重程度。其可能的机制与改善休克导致的组织灌注、减轻全身炎症反应有关。

HSP72 是一种可诱导的伴侣蛋白,在炎症等不同应激条件下表达上调。早期的研究发现热应激诱导的 HSP72 增加可以保护急性胰腺炎^[25],BRX-220 药物诱导的 HSP72 上调也可有效治疗实验性急性胰腺炎^[26]。此外,在转基因小鼠中过表达 HSP72 加速了急性胰腺炎的恢复^[27]。本研究中,模型组胰腺组织 HSP72 蛋白表达增加,犬尿喹啉酸预处理进一步上调 HSP72 蛋白表达。犬尿喹啉酸对 HSP72 的促进作用可能是其在急性胰腺炎中发挥保护作用的机制之一。

本研究发现犬尿喹啉酸可显著降低体内胰腺组织 IL-1 β 的表达。然而,这种效应似乎不依赖于腺泡细胞。因此,犬尿喹啉酸最有可能影响白细胞,从而导致胰腺组织释放的细胞因子减少。中性粒细胞是急性胰腺炎期间第 1 个到达胰腺的炎症细胞。中性粒细胞大量产生 ROS,如 H_2O_2 ,这反映了中性粒细胞的活性。本实验表明,在体内给予犬尿喹啉酸减少了从急性胰腺炎大鼠分离的中性粒细胞中 H_2O_2 产生。由于中性粒细胞通过放大炎症级联反应参与急性胰腺炎,因此犬尿喹啉酸降低这些细胞的活性也有助于改善急性胰腺炎进程。然而,本研究使用的犬尿喹啉酸实验浓度梯度仅 300 mg/kg 显示出对急性胰腺炎显著的保护作用,其最佳治疗浓度

有待于未来实验进一步研究。

综上所述,犬尿喹啉酸对 *L*-精氨酸诱导的坏死性急性胰腺炎炎症和血流动力学损伤具有保护作用,其机制可能与上调 HSP72 蛋白表达有关。犬尿喹啉酸可能成为未来临床治疗急性胰腺炎的关键干预靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Oppenlander K E, Chadwick C, Carman K. Acute pancreatitis: Rapid evidence review [J]. *Am Fam Physician*, 2022, 106(1): 44-50.
- [2] Mayerle J, Sendler M, Hegyi E, *et al.* Genetics, cell biology, and pathophysiology of pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 1951-1968.
- [3] Sendler M, Weiss F U, Golchert J, *et al.* Cathepsin B-mediated activation of trypsinogen in endocytosing macrophages increases severity of pancreatitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(3): 704-718.
- [4] Jakkampudi A, Sarkar P, Unnisa M, *et al.* Kynurenine pathway alteration in acute pancreatitis and its role as a biomarker of infected necrosis [J]. *Pancreatol*, 2023, 23(6): 589-600.
- [5] Savitz J. The kynurenine pathway: A finger in every pie [J]. *Mol Psychiatry*, 2020, 25(1): 131-147.
- [6] Skouras C, Zheng X Z, Binnie M, *et al.* Increased levels of 3-hydroxykynurenine parallel disease severity in human acute pancreatitis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33951.
- [7] Mole D J, Webster S P, Uings I, *et al.* Kynurenine-3-monooxygenase inhibition prevents multiple organ failure in rodent models of acute pancreatitis [J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 202-209.
- [8] Wang Q X, Liu D X, Song P, *et al.* Tryptophan-kynurenine pathway is dysregulated in inflammation, and immune activation [J]. *Front Biosci*, 2015, 20(7): 1116-43.
- [9] Balla Z, Kormányos E S, Kui B, *et al.* Kynurenic acid and its analogue SZR-72 ameliorate the severity of experimental acute necrotizing pancreatitis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 702764.
- [10] 牛小龙, 陈佳靓, 郑华群, 等. 三种急性胰腺炎大鼠模型的制备及特点比较 [J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(34): 5480-5486.
- [11] Poles M Z, Nászai A, Gulácsi L, *et al.* Kynurenic acid and its synthetic derivatives protect against sepsis-associated neutrophil activation and brain mitochondrial dysfunction in rats [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 717157.
- [12] 朱晓东, 冯敏超, 刘锟荣, 等. 基于 RIPK1/RIPK3/MLKL 信号通路探讨清解化攻方对重症急性胰腺炎大鼠胰腺坏死性凋亡的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(8): 1489-1494.
- [13] Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Dósa S, *et al.* A new severe acute necrotizing pancreatitis model induced by L-ornithine in rats [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(7): 2117-2127.
- [14] Barreto S G, Habtezion A, Gukovskaya A, *et al.* Critical thresholds: Key to unlocking the door to the prevention and specific treatments for acute pancreatitis [J]. *Gut*, 2021, 70(1): 194-203.
- [15] 张荣展, 汤甜甜, 黄芳, 等. 基于内质网自噬系统探究泽泻汤对高脂血症急性胰腺炎的防治作用 [J]. *中草药*, 2024, 55(11): 3705-3715.
- [16] 刘玉河. 外源性犬尿喹啉酸对黑质多巴胺细胞保护作用实验研究 [D]. 北京: 中国人民解放军军医进修学院, 2002.
- [17] Mederos M A, Reber H A, Girgis M D. Acute pancreatitis: A review [J]. *JAMA*, 2021, 325(4): 382-390.
- [18] Uc A, Andersen D K, Borowitz D, *et al.* Accelerating the drug delivery pipeline for acute and chronic pancreatitis-knowledge gaps and research opportunities: Overview summary of a National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Workshop [J]. *Pancreas*, 2018, 47(10): 1180-1184.
- [19] Mándi Y, Endrész V, Mosolygó T, *et al.* The opposite effects of kynurenic acid and different kynurenic acid analogs on tumor necrosis factor- α (TNF- α) production and tumor necrosis factor-stimulated gene-6 (TSG-6) expression [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1406.
- [20] Lajkó N, Kata D, Szabó M, *et al.* Sensitivity of rodent microglia to kynurenines in models of epilepsy and inflammation in vivo and in vitro: Microglia activation is inhibited by kynurenic acid and the synthetic analogue SZR104 [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 9333.
- [21] Rong Y P, Ren J, Song W, *et al.* Resveratrol suppresses severe acute pancreatitis-induced microcirculation disturbance through targeting SIRT1-FOXO1 axis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8891544.
- [22] 李晓渝, 陆俊, 付娟, 等. 基于 KEAP1/NRF2 信号通路探讨柴黄清胰活血颗粒改善重症急性胰腺炎模型大鼠胰腺微循环障碍的机制 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(3): 26-31.
- [23] Rumbus Z, Toth E, Poto L, *et al.* Bidirectional relationship between reduced blood pH and acute pancreatitis: A translational study of their noxious combination [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1360.
- [24] Rahmati M, Yon D K, Lee S W, *et al.* New-onset type 1 diabetes in children and adolescents as postacute sequelae of SARS-CoV-2 infection: A systematic review and meta-

- analysis of cohort studies [J]. *J Med Virol*, 2023, 95(6): e28833.
- [25] Arriaga-Pizano L, Boscó-Gárate I, Martínez-Ordaz J L, *et al.* High serum levels of high-mobility group box 1 (HMGB1) and low levels of heat shock protein 70 (Hsp70) are associated with poor prognosis in patients with acute pancreatitis [J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(7): 504-511.
- [26] Rajapriya S, Geetha A. Effect of luteolin on the gene level expression of apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain of NLRP3 inflammasome and NF- κ B in rats subjected to experimental pancreatitis-influence of HSP70 [J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2021, 33(4): 477-486.
- [27] Lunova M, Zizer E, Kucukoglu O, *et al.* Hsp72 overexpression accelerates the recovery from caerulein-induced pancreatitis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e39972.

[责任编辑 高源]