DOI:10.16016/j.1000-5404.201511084

腺苷酸活化蛋白激酶在重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障损伤机制中的作用

游 扬,杨 歆,常 杏,邓盛瑜,李 静,杨仕明,凌贤龙 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院消化内科)

[摘要] **目的** 探讨腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)在重症急性胰腺炎SD大鼠肠道紧密连接损伤中的作用。**方法** 给予SD大鼠腹腔注射不同剂量的20% L-精氨酸溶液,分别制备大鼠重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis,SAP)及轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis,MAP)模型,通过检测血清淀粉酶水平、胰腺病理改变以证实胰腺炎模型构建成功。对SAP大鼠分别给予AMPK抑制剂Compound C和谷氨酰胺灌胃处理,小肠组织切片染色观察大鼠小肠组织损伤情况;FITC-Dextran通透实验检测肠道通透性;免疫组化和Western blot方法分别检测肠黏膜细胞αSNAP、AMPK和紧密连接蛋白occludin的表达情况。**结果** 病理切片证实胰腺炎模型构建成功,并且抑制AMPK后明显降低重症急性胰腺炎的病理损伤;SAP大鼠肠黏膜损伤明显,而加入AMPK抑制剂Compound C或肠黏膜保护剂谷氨酰胺可明显抑制SAP大鼠肠黏膜损伤;SAP组建模48 h(410.25±7.80)的肠道通透性相对于对照组(0.51±0.61)显著增强($P<0.05$),而加入AMPK抑制剂Compound C 48 h的Com组(372.95±9.33)或肠黏膜保护剂谷氨酰胺的Gln组(367.93±18.90)($P<0.05$),可明显降低SAP大鼠肠道通透性;重症急性胰腺炎时,αSNAP表达下调($P<0.05$),而AMPK表达明显增强($P<0.05$),加入AMPK抑制剂可以明显上调occludin的表达($P<0.01$),提示AMPK对occludin蛋白存在负性调控。**结论** AMPK信号在大鼠重症急性胰腺炎肠黏膜损伤中过度活化,可通过负性调控occludin蛋白的表达导致肠黏膜损伤,从而促进肠黏膜通透性增强。

[关键词] 重症急性胰腺炎;腺苷酸活化蛋白激酶;肠屏障;occludin;紧密连接
[中图法分类号] R-332; R574.502; R576.06 [文献标志码] A

AMP-activated protein kinase deteriorates intestinal tight junction damage in rats with severe acute pancreatitis

You Yang, Yang Xin, Chang Xing, Deng Shengyu, Li Jing, Yang Shiming, Ling Xianlong (Department of Gastroenterology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine of the role of AMP-activated protein kinase (AMPK) in the damage of intestinal tight junction in the rats with severe acute pancreatitis. **Methods** The models of mild (MAP) and severe acute pancreatitis (SAP) were prepared by intraperitoneal injection of different doses of L-arginine solution (20%) to SD rats respectively, and then the models were confirmed by detection of serum amylase level and pathological changes of pancreatic tissues. The SAP rats were treated with the AMPK inhibitor, compound C, and glutamine respectively by gavage. The damages of small intestine mucosa were examined by pathological staining, and the intestinal permeability was measured by FITC-Dextran permeability assay. The expression of αSNAP, AMPK and tight junction protein (occludin) were detected by immunohistochemical assay and Western blot analysis. **Results** The rat models of MAP and SAP were successfully prepared, and inhibition of AMPK significantly attenuated the pathological changes of pancreatic tissues. Significant damage of small intestinal mucosa was observed in SAP rats, while compound C or glutamine markedly alleviated these damages. The intestinal permeability was significantly stronger in the SAP

[通信作者] 凌贤龙,电话:(023)68774204, E-mail:lingxianlong@yeah.net
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160201.1434.025.html(2016-02-01)

rats in 48 h after model establishment when compared to the control group (410.25 ± 7.80 *vs* 0.51 ± 0.61, $P<0.05$), while AMPK inhibitor, compound C (372.95 ± 9.33) or glutamine (367.93 ± 18.90) significantly inhibited the increased intestinal permeability in SAP rats ($P<0.05$). In SAP rats, the expression level of αSNAP was decreased ($P<0.05$), while that of AMPK was increased obviously ($P<0.05$). Inhibition of AMPK greatly enhanced the expression of occludin ($P<0.05$), suggesting a negative regulation between AMPK and occludin. **Conclusion** AMPK signal is over-activated in the damage of intestinal mucosa in SAP rats, and exerts negative modulation on occludin to induce the damage, and thus leads to increased intestinal permeability.

[**Key words**] severe acute pancreatitis; adenosine monophosphate activated protein kinase; intestinal barrier; occludin; tight junction

Corresponding author: Ling Xianlong, E-mail: lingxianlong@yeah.net

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis,SAP)起病急、进展快、病死率高,早期即可诱发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome,SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome,MODS)等严重并发症。研究表明,SAP早期除了胰腺局部损伤外,同时伴随大量细胞因子产生、激活和释放,造成肠道紧密连接相关蛋白occludin等表达下降[1-2],促使肠道通透性增加,肠源性感染加重,诱发和加重全身并发症[3-4]。

可溶性NSF附着蛋白α(alpha soluble NSF-attachment proteins,α-SNAP)蛋白已被证实可调节包括Occludin蛋白在内的肠道紧密连接蛋白的表达,从而调节上皮细胞间顶端连接和紧密连接的分解与重建,最终影响肠道通透性[5-7]。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是一种真核细胞中高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在体内发挥重要的调控作用[8-10]。已有实验证实AMPK可被αSNAP负性调节[11],但AMPK在调控occludin表达中的作用并不清楚。本研究拟通过构建重症急性胰腺炎模型,通过给予AMPK抑制剂,以阐明重症急性胰腺炎时,AMPK可通过负性调控occludin的表达,而导致肠黏膜损伤和肠黏膜屏障的损害,进而促进肠道通透性增加,为重症急性胰腺炎肠道屏障的保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂

实验动物用SD大鼠30只、雄性、6周龄,体质量180~220 g/只,生产合格证号SYXK(军)2012-0013,购自第三军医大学新桥医院实验动物中心。L-精氨酸、L谷氨酰胺(Solarbio公司);AMPK抑制剂Compound C(Millipore公司);TNF-α、FITC-Dextran(MW,70000Da)(Sigma公司);兔抗occludin多克隆抗体、兔抗αSNAP单克隆抗体、兔抗AMPK单克隆抗体、αSNAP慢病毒质粒和表达载体(Origene公司);鼠抗GAPDH单克隆抗体、蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒(碧云天公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔lgG二抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠lgG二抗、生物素-链霉卵白素免疫组化检测试剂盒(S-P-9000)(北京中杉金桥公司)。

1.2 实验分组与模型制备

SAP实验大鼠模型制备参照Molero等[12-13]描述的方法,分别通过腹腔注射不同剂量的20%浓度L-精氨酸溶液诱导轻、重症急性胰腺炎。将SD大鼠30只随机分为5组,每组6只,分别为对照组、轻症急性胰腺组、重症组急性胰腺炎(SAP组)、Compound C处理组(重症Com组)和谷氨酰胺处理组(重症Gln组),大鼠诱导造模前禁食水12 h。SAP组、重症Com组和重症Gln组都诱导重症急性胰腺炎,均用制备的20% L-精氨酸溶液腹腔注射3次,每次间隔1 h,按照2.0 g/kg体质量给药;轻症胰腺炎组(MAP组)用20% L-精氨酸溶液腹腔注射1.0 g/kg体质量,方法同上;正常对照组腹腔注射等量无菌生理盐水3次,方法同上。造模成功后自由饮水、禁食。从最后1次注射后12 h开始灌胃给药[14-15],重症Com组给予Compound C水溶液2 mL,浓度10 μmol/L,8 h重复1次;重症Gln组给予谷氨酰胺溶液2 mL,浓度0.16 g/mL,方法同上;对照组给予等量生理盐水,方法同前。其间所有组给予自由饮水,禁食。

1.3 观察指标

最后1次腹腔注射后24 h和48 h分别处死SD大鼠,取大鼠胰腺和肠道组织,观察指标及方法如下。

1.3.1 血清淀粉酶和血钙 心脏采血、分离血清,检测血清淀粉酶活性和血钙浓度。

1.3.2 胰腺病理改变 取胰腺中部胰体组织约3 g,4%多聚甲醛溶液固定,HE染色,病理切片光镜下

观察,按改进后 Schmidt 标准[16]进行评分以评价胰腺病理改变。

1.3.3　肠黏膜病理学改变　　取末端回肠约 5 cm,生理盐水轻柔冲洗,4% 多聚甲醛溶液固定,HE 染色,病理切片光镜下观察。小肠黏膜损伤程度评估参照 Chiu's[17-18]评分法。每个动物观察 10 个视野,评分均数为小肠黏膜病理评分。

1.3.4　肠黏膜通透性检测　　大鼠离体肠黏膜通透性检测参照 Nevado 等[19]的方法。取末端空肠约 5 cm 肠段,灌入 200 μL 浓度为 40 mg/mL 的 FITC-Dextran 溶液后封闭两端。设定荧光强度标准曲线,检测肠囊外溶液 FITC-Dextran 荧光强度。按照标准曲线换算率计算出 20 mL 生理盐水内总的 FITC-Dextran 量,即反映肠黏膜通透性的变化[20]。

1.3.5　免疫组化检查肠黏膜蛋白表达　　取末端回肠约 5 cm,生理盐水轻柔冲洗,4% 多聚甲醛溶液固定后石蜡切片。将切片分为每组 3 张,按照 S-P-9000 试剂盒操作步骤,分别加载兔抗 αSNAP 抗体(1∶100)、兔抗 AMPK 抗体(1∶100)和兔抗 occludin 抗体(1∶200)孵育。光镜下观察并分析结果。

1.3.6　Western blot 检测 αSNAP、AMPK 和 occludin 蛋白表达　　取各组 SD 大鼠末端空肠,刮取肠黏膜组织。将适量新鲜肠黏膜组织剪碎,加入含 PMSF 的 RIPA 裂解液匀浆,低温裂解 20 min,离心 5 min 取上清即总蛋白。用 BCA 法测定蛋白浓度后,取 50 mg 蛋白上样,经 10% SDS-PAGE 分离胶电泳后转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭;分别加入兔抗 occludin 抗体(1∶1000)、兔抗 AMPK 抗体(1∶5 000)和兔抗 αSNAP 抗体(1∶5 000),4 ℃过夜;用 TBST 洗膜 10 min×3 次,加入羊抗兔和羊抗鼠二抗,37 ℃轻摇 1 h,TBST 洗膜 10 min×3 次;曝光后照相,采用 Alpha View 软件进行图像分析,以目的条带与 β-actin 光密度值之比表示目的蛋白的相对表达量。

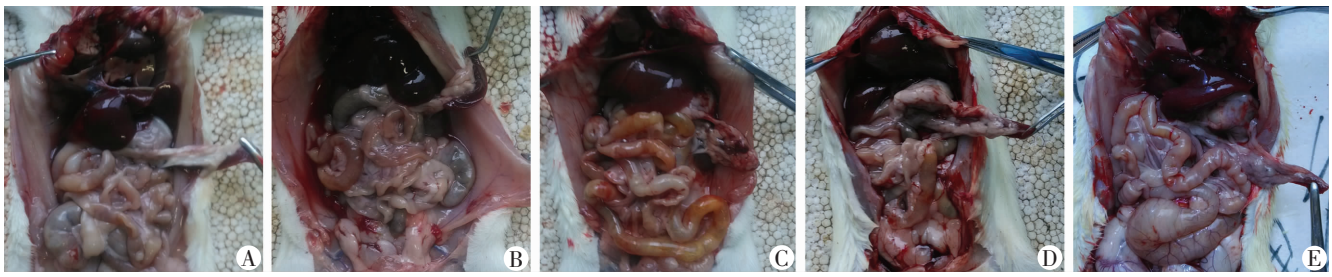
1.4　统计学处理

实验数据应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组均数的比较采用 t 检验;多组均数的比较采用单因素方差分析。

2　结果

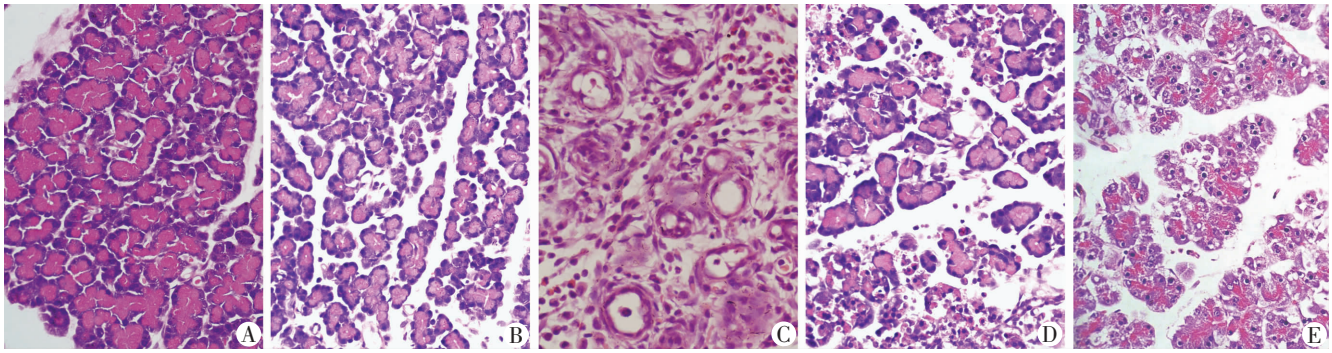
2.1　病理学检查

大体上,SAP 组大鼠胰腺出血明显,肠道黏膜水肿,腹腔积液;而 MAP 组大鼠胰腺仅见轻微充血(图 1)。光镜下显示:对照组胰腺组织未见明显病理改变;MAP 组胰腺小叶排列较为松散,有轻微水肿,少量炎性细胞浸润;SAP 组胰腺组织大片坏死,组织形态模糊,炎性细胞浸润明显。重症 Com 组和重症 Gln 组胰腺病理改变相对于 SAP 组明显减轻(图 2)。Schmidt[16]评分:MAP 组与 SAP 组在 24 h 和 48 h 均有统计学差异($P<0.05$);SAP 组与重症 Com 组和重症 Gln 组有统计学差异($P<0.05$,表 1)。



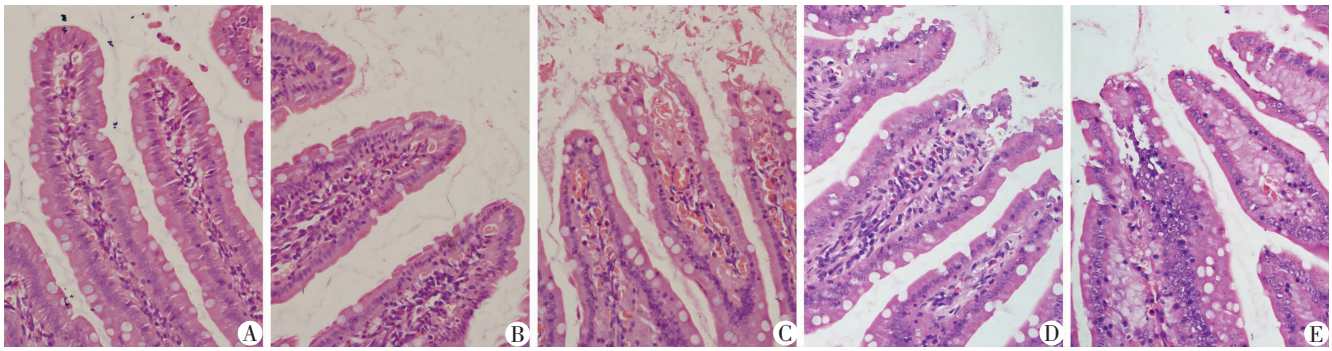
A:对照组; B:MAP 组; C:SAP 组; D:重症 Com 组; E:重症 Gln 组

图 1　各组大鼠急性胰腺炎造模 48 h 后胰腺以及腹腔大体观



A:对照组; B:MAP 组; C:SAP 组; D:重症 Com 组; E:重症 Gln 组

图 2　各组急性胰腺炎大鼠 48 h 胰腺组织病理变化　(HE ×400)



A:对照组; B:MAP 组; C:SAP 组; D:重症 Com 组; E:重症 Gln 组

图 3 各组急性胰腺炎大鼠 48 h 肠黏膜病理变化 (HE ×400)

表 1 各组大鼠胰腺组织病理 Schmidt 标准评分($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h
对照组	0.17 ± 0.26	0.33 ± 0.41
MAP 组	7.00 ± 0.63	6.92 ± 0.81
SAP 组	14.08 ± 0.86[a]	14.67 ± 0.68[a]
重症 Com 组	12.00 ± 0.71[ab]	12.50 ± 0.78[ab]
重症 Gln 组	12.67 ± 0.88[ab]	12.17 ± 0.82[ab]

a: $P<0.01$,与对照组比较; b: $P<0.01$,与 SAP 组比较

2.2 肠黏膜病理学检查

光镜下,对照组肠黏膜未见明显损伤;MAP 组肠绒毛轻微缩短,黏膜边缘轻微损伤;SAP 组肠黏膜内炎症细胞浸润,绒毛形态不规则,破坏明显,黏膜糜烂坏死,炎性渗出物及脱落坏死的肠黏膜上皮;重症 Com 组与重症 Gln 组肠黏膜相对较完整,有少量坏死,肠绒毛轻微缩短(图 3)。肠组织病理评分按 Chiu's 标准的评分:MAP 与 SAP 组、SAP 组与重症 Com 组和重症 Gln 组比较在 24 h 和 48 h 均有统计学差异($P<0.05$,表 2)。

表 2 各组大鼠小肠组织病理 Chiu's 标准评分($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h
对照组	1	1
MAP 组	1.83 ± 0.75	2.00 ± 0.63
SAP 组	3.50 ± 0.55[a]	4.33 ± 0.52[a]
重症 Com 组	3.00 ± 0.63[a]	3.33 ± 0.52[ab]
重症 Gln 组	3.00 ± 0.63[a]	3.50 ± 0.55[ac]

a: $P<0.01$,与对照组比较; b: $P<0.01$,c: $P<0.05$,与 SAP 组比较

2.3 肠黏膜通透性

与对照组大鼠比较,SAP 组、重症 Com 组和重症 Gln 组大鼠肠道通透性明显增加($P<0.05$)。给予 Compound C 以及谷氨酰胺后,重症 Com 组和重症 Gln 组大鼠肠道通透性较 SAP 组明显降低($P<0.05$,表 3)。

表 3 各组大鼠肠黏膜屏障对 FITC-Dextran 的通透性
($n=6$, μg/20 mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h
对照组	0.22 ± 0.14	0.51 ± 0.61
MAP 组	99.59 ± 5.34	102.42 ± 5.26
SAP 组	394.17 ± 19.93[a]	410.25 ± 7.80[a]
重症 Com 组	363.00 ± 18.45[ab]	372.95 ± 9.33[ac]
重症 Gln 组	351.08 ± 17.69[ac]	367.93 ± 18.90[ac]

a:$P<0.01$,与对照组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与 SAP 组比较

2.4 免疫组化、Western blot 检测肠上皮组织 αSNAP、AMPK 和 occludin 表达

48 h 大鼠肠黏膜组织免疫组化检测中,与对照组相比,SAP 组 αSNAP 和 occludin 表达明显下降,而 AMPK 表达明显增加;给予 Compound C 后,肠黏膜细胞 αSNAP 表达无明显变化,AMPK 表达受到抑制,occludin 蛋白表达增加,其中 AMPK 表达于细胞核,occludin 表达于细胞膜(图 4)。用 Western blot 检测小肠组织,也出现相同的表达趋势。与对照组 αSNAP 比较,SAP 组、重症 Com 组和重症 Gln 组均有明显降低($P<0.05$),重症 Com 组相对 SAP 组表达增高($P<0.05$),重症 Gln 组与 SAP 组间差异无统计学意义;SAP 组的 AMPK 相对对照组明显增高($P<0.05$),重症 Com 组和重症 Gln 组相对于对照组差异均无统计学意义,而重症 Com 组($P<0.01$)和重症 Gln 组($P<0.01$)的 AMPK 相对于 SAP 组降低;SAP 组相对于对照组的 occludin 表达降低($P<0.05$),重症 Com 组和重症 Gln 组相对于对照组差异均无统计学意义,重症 Com 组($P<0.01$)和重症 Gln 组($P<0.05$)的 occludin 蛋白表达较 SAP 组增高(图 5)。结果提示:①αSNAP 对 AMPK 蛋白负性调节;②使用 Compound C 后,肠黏膜细胞中 AMPK 的表达被抑制,occludin 蛋白表达增加。

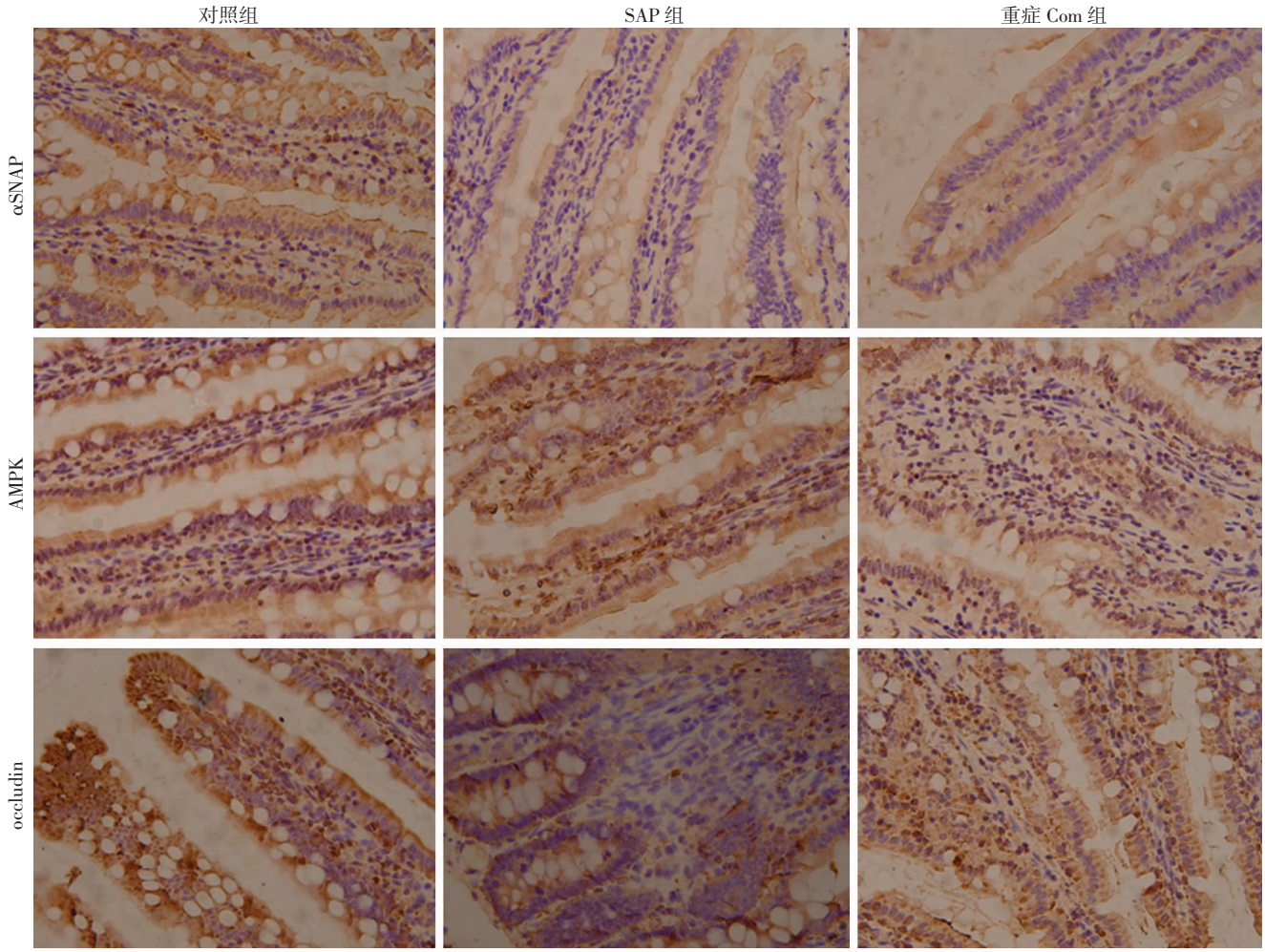
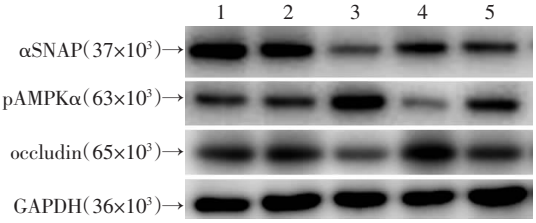


图 4 免疫组化检测各组急性胰腺炎大鼠造模 48 h 后肠黏膜 αSNAP、AMPK 和 occludin 的表达与分布 (S-P ×400)

表 4 Western blot 检测各组大鼠肠黏膜蛋白灰度值变化($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	αSNAP	AMPK	occludin
对照组	1	1	1
MAP 组	0.81±0.08	0.95±0.14	1.07±0.18
SAP 组	0.49±0.17[a]	1.56±0.22[a]	0.55±0.18[a]
重症 Com 组	0.65±0.14[ab]	0.65±0.18[c]	1.22±0.21[c]
重症 Gln 组	0.48±0.16[a]	1.22±0.21[c]	0.95±0.16[b]

a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,c:$P<0.01$,与 SAP 组比较



1:对照组;2:MAP 组;3:SAP 组;4:重症 Com 组;5:重症 Gln 组

图 5 Western blot 检测肠上皮组织 αSNAP、AMPK 和 occludin 表达

3 讨论

重症急性胰腺炎发病早期由于胰腺自身酶系的异常激活、胰液对胰腺及其周围组织的自身消化,释放出大量炎症细胞因子,引起肠黏膜损伤,肠道通透性增高,诱发和加重 SIRS 和 MODS[3-4,21]。

完整的肠屏障可以有效地阻止肠腔内细菌、毒素、炎症因子等移位[22]。与肠屏障关系最为密切的机械屏障由肠上皮细胞间的紧密连接构成,它是由一系列跨膜蛋白和外周蛋白相互作用而形成的一个复杂的蛋白体系。occludin 蛋白是构成细胞间紧密连接最重要的蛋白质分子之一,其与细胞质中 ZO1 等蛋白结合形成紧密连接的基本结构[5]。我们既往的研究[7]以及本研究的结果都显示,SAP 大鼠肠黏膜受到不同程度的损伤,肠道通透性升高,表明重症急性胰腺炎的确导致肠道黏膜屏障的破坏,进而引起肠道通透性增高,肠腔内的致病菌、毒素和炎症因子等入血,最终加重胰腺炎及并发症的症状。

肠道黏膜屏障损害的机制是什么呢? αSNAP 是一种新型的膜融合蛋白,是 SNARE 调节膜融合过程中的重要受体,而 SNARE 蛋白与上皮细胞间连接形成和顶端基地细胞间极性的建立密切相关[7]。我们前期的研究及本研究中均观察到,在 SAP 大鼠的小肠黏膜中,αSNAP 表达下降的同时伴随 occludin 表达的降低,肠道通透性的增加。提示重症急性胰腺炎时,肠上皮细胞 αSNAP 表达降低可能通过 occludin 的表达来影响肠黏膜屏障功能,进而影响肠道通透性。

我们还观察到,AMPK 的表达在重症急性胰腺炎时有明显变化。AMPK 作为细胞能量代谢的关键感受器,在体内可感受多种状态下的能量变化,包括机体在营养下降、激素、抗糖尿病药物和体育运动等应激条件下,调节细胞内 AMP/ATP 比例,促进细胞能量代谢[23-24]。同时,活化的 AMPK 还可引起 p53 聚集和抑制肿瘤细胞增殖[25]。此外,还有文献[26-27]报道 AMPK 在体内与线粒体功能和自噬等相关。本研究发现 AMPK 在重症急性胰腺炎肠黏膜细胞中表达明显增加,而 SAP 大鼠肠道 αSNAP 和 occludin 表达明显下降。在给予 Compound C 抑制 AMPK 表达后,occludin 蛋白表达增加,再给予肠黏膜保护剂谷氨酰胺后,occludin 蛋白表达亦增加。结果提示,AMPK 可负性调节 occludin 的表达,从而实现对肠道通透性的调节。

Wang 等[11]的研究已发现,αSNAP 可负性调控 AMPK 的磷酸化活性。结合我们的研究结果,在 SAP 大鼠肠道中,αSNAP 表达下降,负性调节 AMPK 表达,然后 AMPK 又负性调节 occludin 表达,从而实现对肠道通透性的调节。在重症急性胰腺炎治疗中,通过改善肠道通透性,阻断肠道有害物质入血,作为重症急性胰腺炎早期治疗和临床症状缓解的重要方法,对肠屏障调节的研究至关重要。但是,在重症急性胰腺炎时哪些因素影响 αSNAP 表达以及 AMPK 在肠屏障调节中的具体作用机制仍不清楚,还需进一步研究。

参考文献:

[1] Deng W S, Zhang J, Ju H, *et al*. Arpin contributes to bacterial translocation and development of severe acute pancreatitis [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(14): 4293 - 4301. DOI:10.3748/wjg.v21.i14.4293

[2] Naydenov N G, Baranwal S, Khan S, *et al*. Novel mechanism of cytokine-induced disruption of epithelial barriers: Janus kinase and protein kinase D-dependent downregulation of junction protein expression[J]. Tissue Barriers, 2013, 1(4): e25231. DOI:10.4161/tisb.25231

[3] Shen Q, Gan H, Yang M, *et al*. Improving RhoA-mediated intestinal epithelial permeability by continuous blood purification in patients with severe acute pancreatitis[J]. Int J Artif Organs, 2013, 36(11): 812 - 820. DOI: 10.5301/ijao.5000256

[4] Du X G, Chen X M, Gan H, *et al*. Continuous blood purification ameliorates RhoA-mediated endothelial permeability in severe acute pancreatitis patients with lung injury[J]. Int J Artif Organs, 2011, 34(4): 348 - 356. DOI: 10.5301/IJAO.2011.7742

[5] Fan Y H, Yang X, Tao Y Q, et al. Tight junction disruption of blood-brain barrier in white matter lesions in chronic hypertensive rats[J]. NeuroReport, 2015, 26(17): 1039 - 1043.

[6] Naydenov N G, Brown B, Harris G, *et al*. A membrane fusion protein αSNAP is a novel regulator of epithelial apical junctions[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e34320. DOI: 10.1371/journal.pone.0034320

[7] Chen D, Li L, Yan J, *et al*. The loss of αSNAP downregulates the expression of occludin in the intestinal epithelial cell of acute pancreatitis model[J]. Pancreatology, 2014, 14(5): 347 - 355. DOI:10.1016/j.pan.2014.06.007

[8] Hardie D G. AMP-activated protein kinase: an energy sensor that regulates all aspects of cell function[J]. Genes Dev, 2011, 25(18): 1895 - 1908. DOI:10.1101/gad.17420111

[9] Carling D, Mayer F V, Sanders M J, *et al*. AMP-activated protein kinase: nature's energy sensor[J]. Nat Chem Biol, 2011, 7(8): 512 - 518. DOI:10.1038/nchembio.610

[10] Qin S. Blockade of MerTK Activation by AMPK Inhibits RPE Cell Phagocytosis[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 854: 773 - 778. DOI:10.1007/978-3-319-17121-0_103

[11] Wang L, Brautigan D L. α-SNAP inhibits AMPK signaling to reduce mitochondrial biogenesis and dephosphorylates Thr172 in AMPKα *in vitro*[J]. Nat Commun, 2013, 4: 1559. DOI: 10.1038/ncomms2565

[12] Molero X, Vaquero E C, Flandez M, *et al*. Gene expression dynamics after murine pancreatitis unveils novel roles for Hnf1α in acinar cell homeostasis[J]. Gut, 2012, 61(8): 1187 - 1196. DOI:10.1136/gutjnl-2011-300360

[13] Hopanenko O O, Rivis J F. Fatty acid composition of phospholipids and esterified cholesterol of the blood plasma of rabbit under arginine acute pancreatitis[J]. Ukr Biochem J, 2015, 87(2): 133 - 140.

[14] Han T, Li X, Cai D, *et al*. Effect of glutamine on apoptosis of intestinal epithelial cells of severe acute pancreatitis rats receiving nutritional support in different ways[J]. Int J Clin

Exp Pathol, 2013, 6(3): 503 – 509.

[15] Hao J, Ho J N, Lewis J A, *et al*. *In vivo* structure-activity relationship study of dorsomorphin analogues identifies selective VEGF and BMP inhibitors[J]. ACS Chem Biol, 2010, 5(2): 245 – 253. DOI:10.1021/cb9002865

[16] 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.

[17] Zhang X Y, Liu Z M, Wen S H, *et al*. Dexmedetomidine administration before, but not after, ischemia attenuates intestinal injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats[J]. Anesthesiology, 2012, 116(5): 1035 – 1046. DOI:10.1097/ALN.0b013e3182503964

[18] Zhang J X, Dang S C, Yin K, *et al*. Protective effect of clodronate-containing liposomes on intestinal mucosal injury in rats with severe acute pancreatitis[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2011, 10(5): 544 – 551.

[19] Nevado R, Forcen R, Layunta E, *et al*. Neomycin and bacitracin reduce the intestinal permeability in mice and increase the expression of some tight-junction proteins[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2015, 107(11):672 – 676. DOI:10.17235/reed.2015.3868/2015

[20] Volynets V, Reichold A, Bardos G, *et al*. Assessment of the Intestinal Barrier with Five Different Permeability Tests in Healthy C57BL/6J and BALB/cJ Mice[J]. Dig Dis Sci, 2016, 61(3):737 – 746. DOI:10.1007/s10620-015-3935-y

[21] Banks P A, Bollen T L, Dervenis C, *et al*. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus[J]. Gut, 2013, 62(1): 102 – 111.

[22] Nakajima T, Ueda T, Takeyama Y, *et al*. Protective effects of vascular endothelial growth factor on intestinal epithelial apoptosis and bacterial translocation in experimental severe acute pancreatitis[J]. Pancreas, 2007, 34(4): 410 – 416. DOI:10.1097/mpa.0b013e3180335c64

[23] Xiao B, Sanders M J, Carmena D, *et al*. Structural basis of AMPK regulation by small molecule activators[J]. Nat Commun, 2013, 4: 3017. DOI:10.1038/ncomms4017

[24] Oakhill J S, Steel R, Chen Z P, *et al*. AMPK is a direct adenylate charge-regulated protein kinase[J]. Science, 2011, 332(6036): 1433 – 1435. DOI:10.1126/science.1200094

[25] Wu Z Z, Sun N K, Chien K Y, *et al*. Silencing of the SNARE protein NAPA sensitizes cancer cells to cisplatin by inducing ERK1/2 signaling, synoviolin ubiquitination and p53 accumulation[J]. Biochem Pharmacol, 2011, 82(11): 1630 – 1640. DOI:10.1016/j.bcp.2011.08.018

[26] 王艳, 黄德强, 罗志军. AMPK 对线粒体功能的调节[J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 35(10):1434 – 1443.

[27] Green D R, Van-Houten B. SnapShot: Mitochondrial quality control[J]. Cell, 2011, 147(4): 950, 950.e1. DOI: 10.1016/j.cell.2011.10.036

(**收稿**:2015-11-15;**修回**:2016-01-17)

(编辑 王 红)