益母草碱通过调节HMGB1/RAGE信号通路对重症急性胰腺炎大鼠的改善作用Δ

代静静*，王　兆，唐　奇[遵义市第一人民医院（遵义医科大学第三附属医院）重症医学科，贵州 遵义　563000]

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）14-1722-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.14.08

摘　要　目的　研究益母草碱对重症急性胰腺炎（SAP）大鼠胰腺损伤的影响，并基于高迁移率族蛋白1（HMGB1）/晚期糖基化终产物受体（RAGE）信号通路探讨其作用机制。**方法**　采用胰胆管注射5%牛磺胆酸钠构建SAP大鼠模型，造模成功的大鼠随机分为模型组、低剂量益母草碱组（8 mg/kg）、高剂量益母草碱组（16 mg/kg）、HMGB1过表达组（8 μg/kg）、高剂量益母草碱+HMGB1过表达组（16 mg/kg益母草碱+8 μg/kg HMGB1），每组14只；另取14只大鼠作为假手术组。各组大鼠腹腔或尾静脉注射相应药物或生理盐水，每日1次，连续5 d。末次给药后，检测大鼠血清中淀粉酶（AMS）、脂肪酶（LPS）水平；观察其胰腺组织病理损伤；检测其胰腺组织中肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）、丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）水平以及HMGB1、RAGE mRNA和蛋白表达水平。**结果**　与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织结构逐渐恢复、炎症细胞浸润逐渐减少，病理损伤评分和AMS、LPS、TNF-α、IL-6、MDA水平以及HMGB1、RAGE mRNA和蛋白表达水平均显著降低，SOD水平均显著升高（$P<0.05$），且高剂量益母草碱组改善效果更明显（$P<0.05$）；HMGB1过表达组大鼠胰腺组织病理损伤加重，除SOD水平显著降低外，其余各指标均显著升高（$P<0.05$）。HMGB1过表达可减弱高剂量益母草碱对SAP大鼠上述指标的改善效果（$P<0.05$）。**结论**　益母草碱可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路激活来减轻SAP大鼠的胰腺损伤和胰腺组织的炎症反应、氧化应激。

关键词　益母草碱；重症急性胰腺炎；高迁移率族蛋白1；晚期糖基化终产物受体；胰腺损伤

Effects of leonurine on the improvement of rats with severe acute pancreatitis by regulating HMGB1/RAGE signaling pathway

DAI Jingjing, WANG Zhao, TANG Qi[Dept. of Critical Care Medicine, Zunyi First People's Hospital (Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University), Guizhou Zunyi 563000, China]

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the effects of leonurine on pancreatic injury in rats with severe acute pancreatitis (SAP), and to explore its mechanism based on the high-mobility group box 1 (HMGB1)/receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathway. **METHODS** SAP rat model was constructed by injecting 5% sodium taurocholate into the bile duct of the pancreas. Model rats were randomly divided into model group, low dose leonurine group (8 mg/kg), high dose leonurine group (16 mg/kg), HMGB1 overexpression group (8 μg/kg), and high dose leonurine+HMGB1 overexpression group (16 mg/kg+8 μg/kg), with 14 rats in each group. Another 14 rats were selected as the sham operation group. Rats in each group were injected with corresponding drugs or normal saline via abdominal cavity or tail vein once a day for 5 consecutive days. After the last administration, the levels of serum amylase (AMS) and lipase (LPS) were detected; the pathological injury of pancreatic tissue was observed; the levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD), mRNA and protein expressions of HMGB1 and RAGE in pancreatic tissues were detected. **RESULTS** Compared with model group, the structure of pancreatic tissue in rats gradually recovered in low and high dose leonurine groups; inflammatory cell infiltration gradually decreased; the pathological injury score and the levels of AMS, LPS, TNF-α, IL-6, MDA, the mRNA and protein expressions of HMGB1 and RAGE were significantly decreased, while the SOD levels were significantly increased ($P<0.05$). The high dose leonurine group showed more significant improvement ($P<0.05$); the pathological damage of pancreatic tissue in the HMGB1 overexpression group worsened, and except for a decrease in SOD levels, all other quantitative indicators increased significantly ($P<0.05$). Overexpression of HMGB1 could reduce the improvement effect of high dose leonurine on the above indexes in SAP rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Leonurine may alleviate pancreatic injury, inflammation and oxidative stress in pancreatic tissue of rats with SAP by inhibiting the HMGB1/RAGE signaling pathway.

KEYWORDS　leonurine; severe acute pancreatitis; HMGB1; RAGE; pancreatic injury

重症急性胰腺炎（severe acute pancreatitis，SAP）属于急性胰腺炎中最严重的一种，是腹部炎症性疾病，其不仅会涉及胰腺实质和胰周组织，还会导致器官衰竭

Δ**基金项目**　贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题（No.QZYY-2023-079）

＊**第一作者**　主治医师，硕士。研究方向：急性胰腺炎诊治。E-mail：daijingjing827@sina.com

以及局部或全身并发症。全球急性胰腺炎的发病率为3/10 000～4/10 000，其中约20%的患者发展为SAP[1]。SAP的病死率很高，临床中对于SAP采取多模式治疗，包括监测、评估以及药物治疗等，但治疗效果不理想，急需寻找治疗SAP的有效药物，以降低SAP的病死率。

益母草碱是从中药益母草中提取、纯化得到的活性生物碱，最初广泛应用于治疗妇科疾病。近期研究显示，益母草碱可减轻阿尔茨海默病小鼠的认知功能障碍，改善其氧化应激[2]；可改善炎症性肠病小鼠炎症反应、氧化应激，抑制结肠细胞凋亡[3]；还可改善子宫内膜炎小鼠炎症反应[4]。以上研究表明，益母草碱对炎症性疾病具有较好的治疗效果，由此推测其对SAP可能也具有改善作用。另有报道显示，抑制高迁移率族蛋白1（high-mobility group box 1，HMGB1）/晚期糖基化终产物受体（receptor for advanced glycation end products，RAGE）信号通路可以降低小胶质细胞介导的神经炎症活性，阻断炎症级联反应，减轻SAP相关肺损伤炎症反应[5－6]。因此，本研究拟研究益母草碱对SAP大鼠胰腺损伤的影响，并基于HMGB1/RAGE信号通路探讨其作用机制，旨在为益母草碱用于SAP的治疗提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用的主要仪器包括DP-180型全自动生化分析仪、ContourGT型光学显微镜、DYY-8型电泳仪和Quantum CX5型蛋白成像仪（南京普东兴生物科技有限公司），PT-3600B型酶标仪、eQ164CP型实时荧光定量聚合酶链反应（PCR）仪（苏州东胜兴业科学仪器有限公司）。

1.2　主要药品与试剂

益母草碱原料药（批号Y7471-16-2，纯度≥99%）购自武汉沃轩科技有限公司；HMGB1过表达质粒（批号AD30356）购自广州艾迪基因科技有限责任公司；淀粉酶（amylase，AMS）、脂肪酶（lipase，LPS）检测试剂盒（批号分别为1913J、1724J），苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染液（批号1735D），肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）酶联免疫吸附检测（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（批号分别为1829D、2933F、2914F、3067F）和PCR试剂盒（批号325K）均购自宜昌京溢生物科技有限公司；TRIzol试剂盒（批号lm-103）和兔抗大鼠HMGB1、RAGE、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）单克隆抗体（批号分别为lm-114、lm-191、lm-204）均购自上海联迈生物工程有限公司；反转录试剂盒、山羊抗兔单克隆免疫球蛋白G二抗（批号分别为16349、17528）均购自武汉肽芯生物科技有限公司。

1.3　动物

本研究所用动物为Wistar大鼠（10周龄，雄性，SPF级），体重322～348 g，购自贵州中睿生物科技有限公司，生产许可证号为SCXK（贵）2022-0001，使用许可证号为SYXK（黔）2021-0004。大鼠购入后在遵义市第一人民医院基础实验室中常规饲养。本研究经遵义市第一人民医院伦理审查批准，批准号为基础L-2023-054。

2　方法

2.1　建模、分组与给药

依据文献方法进行造模[7]：将大鼠用戊巴比妥钠麻醉，切开腹部，用金属夹夹住十二指肠，在胰胆管中注入1 mg/kg的5%牛磺胆酸钠，结扎，5 min后可观察到胰腺出现充血、水肿；松开金属夹，缝合。造模6 h后，随机选择4只大鼠进行胰腺组织HE染色，若观察到胰腺组织出现坏死、水肿、充血、炎症浸润等现象，说明SAP造模成功。造模过程中大鼠的死亡率约为15%，大鼠死亡后用其他大鼠进行补充造模。

随机将70只SAP造模成功大鼠分为模型组、低剂量益母草碱组、高剂量益母草碱组、HMGB1过表达组、高剂量益母草碱+HMGB1过表达组，每组14只。另取14只健康大鼠按上述方法进行手术，并在胰胆管中注入1 mg/kg生理盐水，作为假手术组。低、高剂量益母草碱组大鼠分别腹腔注射8、16 mg/kg益母草碱（以生理盐水为溶剂）[8]；HMGB1过表达组大鼠尾静脉注射8 μg/kg的HMGB1过表达质粒[9]；高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠腹腔注射16 mg/kg的益母草碱，然后尾静脉注射8 μg/kg的HMGB1过表达质粒；模型组和假手术组大鼠腹腔注射生理盐水。注射体积均为10 mL/kg，每日给药1次，连续5 d。给药期间，HMGB1过表达组大鼠死亡4只（因病情加重），其余各组大鼠均未出现死亡。

2.2　大鼠血清中AMS、LPS水平检测

末次给药后24 h，取各组大鼠的腹主动脉血，低温离心后取血清，按试剂盒说明书操作，使用全自动生化分析仪检测血清中AMS、LPS水平。

2.3　大鼠胰腺组织病理损伤观察

大鼠采血完成后，随机从HMGB1过表达组中选取5只大鼠，从其余各组中选取7只大鼠，处死，取出胰腺组织，固定，石蜡包埋，切片，HE染色后，使用光学显微镜观察胰腺组织的病理变化，并评分[10]。评分标准为：0分——形态结构正常；1分——腺泡结构不清晰，小面积腺泡浆液性颗粒脱失，间质内小灶炎症细胞浸润；2分——组织结构消失，小面积腺泡和间质溶解性坏死，少量淋巴细胞浸润；3分——组织结构消失，较大面积腺泡和间质溶解性坏死，少量分叶粒细胞或淋巴细胞浸润；4分——组织结构消失，大面积腺泡和间质溶解性坏死，大量分叶粒细胞浸润，间质水肿。

2.4 大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA、SOD水平检测

大鼠采血完成后，将各组剩余大鼠处死，取部分胰腺组织制成匀浆，离心后取上清液，按试剂盒说明书操作，检测胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA、SOD水平。

2.5 大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达检测

按TRIzol试剂盒说明书操作，从“2.4”项下部分胰腺组织中提取总RNA，反转录成cDNA，再进行PCR扩增。以β-肌动蛋白（β-actin）为对照，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平，并以假手术组为对照进行归一化处理。引物由深圳子科生物科技有限公司合成。HMGB1的正向引物为5′-GACGAGCATCCTGGCTTATC-3′，反向引物为5′-CGCTGCTTGTCATCTGCTGA-3′，扩增产物长度为245 bp；RAGE的正向引物为5′-ACATGTGTGTCTGAGGGAAGC-3′，反向引物为5′-TGCTCTGACCGCAGTGTAAAG-3′，扩增产物长度为213 bp；β-actin的正向引物为5′-TTGCTGACAGGATGCAGAAGGAG-3′，反向引物为5′-ACTCCTGCTTGCTGATCCACATC-3′，扩增产物长度为168 bp。PCR的反应体系（30 μL）如下：PCR试剂9 μL，正、反向引物各2 μL，cDNA 6 μL，ddH_2O 11 μL。扩增条件如下：92 ℃预变性5 min；92 ℃变性19 s，56 ℃退火16 s，69 ℃延伸22 s，共35个循环。

2.6 大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达检测

取“2.4”项下部分胰腺组织，裂解后提取总蛋白，测定蛋白质浓度后，电泳分离，将蛋白质转移到硝酸纤维素膜上，用5%脱脂牛奶封闭；加入HMGB1、RAGE、GAPDH一抗（稀释比例分别为1∶1 200、1∶900、1∶1 600），在4 ℃下孵育过夜；次日清洗后，加入二抗（稀释比例为1∶3 000），在室温下孵育1 h；洗涤后使用电化学发光溶液成像，检测。使用Image J软件分析目的蛋白（HMGB1、RAGE）与内参蛋白（GAPDH）条带灰度值的比值，表示目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 26.0软件分析数据。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 各组大鼠血清中AMS、LPS水平比较

与假手术组比较，模型组大鼠血清中AMS、LPS水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠血清中AMS、LPS水平均显著降低，HMGB1过表达组大鼠血清中AMS、LPS水平均显著升高（$P<0.05$）；与低剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱组大鼠血清中AMS、LPS水平均显著降低（$P<0.05$）；与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠血清中AMS、LPS水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

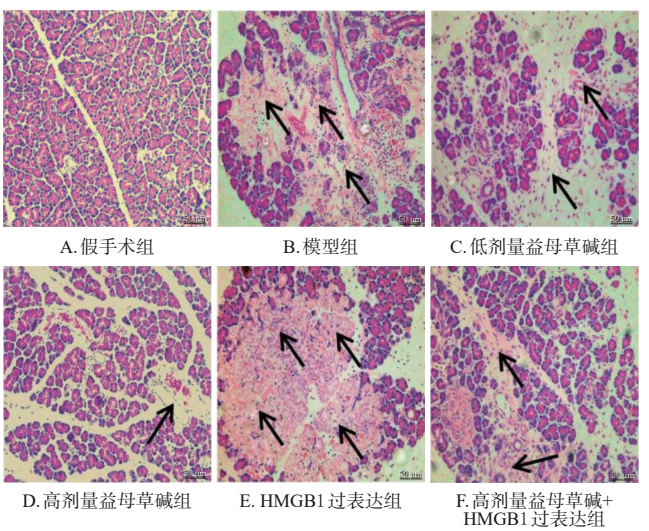
表1 各组大鼠血清中AMS、LPS水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	AMS/（U/L）	LPS/（U/L）
假手术组	14	317.57±39.02	10.53±1.72
模型组	14	1 356.29±134.62[a]	97.16±10.05[a]
低剂量益母草碱组	14	938.64±109.05[b]	55.08±7.16[b]
高剂量益母草碱组	14	424.36±51.78[bc]	18.72±2.51[bc]
HMGB1过表达组	10	1 786.45±157.35[b]	129.63±14.34[b]
高剂量益母草碱+HMGB1过表达组	14	809.72±91.53[d]	49.25±6.04[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与低剂量益母草碱组比较，$P<0.05$；d：与高剂量益母草碱组比较，$P<0.05$。

3.2 各组大鼠胰腺组织病理损伤比较

假手术组大鼠胰腺组织结构基本正常，无炎症细胞浸润。模型组大鼠胰腺组织结构出现异常，大面积的胰腺腺泡和间质出现溶解性坏死，并出现炎症细胞浸润。与模型组比较，低剂量益母草碱组大鼠胰腺组织结构异常减轻，腺泡和间质的溶解性坏死面积减少，炎症细胞浸润稍减少；高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织形态趋于正常，只见少许胰腺腺泡溶解性坏死，只有少量炎症细胞浸润出现；HMGB1过表达组大鼠的胰腺腺泡和间质坏死面积更大，炎症细胞浸润也更明显。与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠胰腺组织形态结构明显异常，胰腺腺泡和间质的坏死面积增大，炎症细胞浸润增多。结果见图1。



A.假手术组　B.模型组　C.低剂量益母草碱组

D.高剂量益母草碱组　E.HMGB1过表达组　F.高剂量益母草碱+HMGB1过表达组

箭头：胰腺腺泡和间质坏死部位。

图1 各组大鼠胰腺组织病理损伤显微镜图（HE染色）

与假手术组[（0.21±0.03）分]比较，模型组[（3.49±0.38）分]大鼠胰腺组织病理损伤评分显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、高剂量益母草碱组[（2.25±0.41）、（0.94±0.18）分]大鼠胰腺组织病理损伤评分均显著降低（$P<0.05$），HMGB1过表达组[（3.92±0.07）分]大鼠胰腺组织病理损伤评分显著升高（$P<0.05$）；与低剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织病理损伤评分显著降低（$P<0.05$）；与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组[（2.06±0.32）分]大鼠胰腺组织病理损伤评分显著升高（$P<0.05$）。

3.3 各组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA、SOD水平比较

与假手术组比较，模型组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著升高（$P<0.05$），SOD水平显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著降低（$P<0.05$），SOD水平均显著升高（$P<0.05$）；HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著升高（$P<0.05$），SOD水平显著降低（$P<0.05$）。与低剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著降低，SOD水平显著升高（$P<0.05$）。与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著升高（$P<0.05$），SOD水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表2 各组大鼠胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA、SOD水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	TNF-α/（ng/g）	IL-6/（ng/g）	MDA/（μmol/g）	SOD/（U/mg）
假手术组	7	76.61±10.04	21.45±3.70	101.24±15.27	42.58±6.05
模型组	7	364.19±39.07[a]	161.92±19.64[a]	217.06±23.64[a]	17.12±2.14[a]
低剂量益母草碱组	7	235.14±30.28[b]	94.05±11.58[b]	165.73±19.05[b]	28.70±4.09[b]
高剂量益母草碱组	7	97.07±13.25[bc]	32.60±4.83[bc]	124.59±14.13[bc]	36.04±5.24[bc]
HMGB1过表达组	5	451.52±42.16[b]	220.79±23.12[b]	263.47±26.41[b]	9.53±1.05[b]
高剂量益母草碱+HMGB1过表达组	7	219.03±24.58[d]	71.92±9.35[d]	148.04±20.79[d]	20.55±3.57[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与低剂量益母草碱组比较，$P<0.05$；d：与高剂量益母草碱组比较，$P<0.05$。

3.4 各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达比较

与假手术组比较，模型组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平均显著降低，HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达均显著升高（$P<0.05$）；与低剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平均显著降低（$P<0.05$）；与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表3。

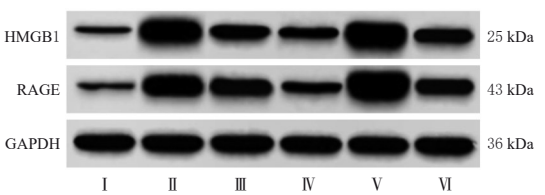
表3 各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	HMGB1 mRNA	RAGE mRNA
假手术组	7	1.00±0.07	1.00±0.05
模型组	7	3.81±0.48[a]	3.61±0.42[a]
低剂量益母草碱组	7	2.98±0.35[b]	2.95±0.33[b]
高剂量益母草碱组	7	1.73±0.24[bc]	1.93±0.25[bc]
HMGB1过表达组	5	4.69±0.53[b]	4.57±0.49[b]
高剂量益母草碱+HMGB1过表达组	7	2.42±0.41[d]	2.59±0.33[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与低剂量益母草碱组比较，$P<0.05$；d：与高剂量益母草碱组比较，$P<0.05$。

3.5 各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达比较

与假手术组比较，模型组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著降低，HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与低剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）；与高剂量益母草碱组比较，高剂量益母草碱+HMGB1过表达组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见图2和表4。



Ⅰ：假手术组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：低剂量益母草碱组；Ⅳ：高剂量益母草碱组；Ⅴ：HMGB1过表达组；Ⅵ：高剂量益母草碱+HMGB1过表达组。

图2 各组大鼠胰腺组织中HMGB1和RAGE蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	HMGB1/GAPDH	RAGE/GAPDH
假手术组	7	0.26±0.05	0.21±0.03
模型组	7	1.42±0.19[a]	1.33±0.15[a]
低剂量益母草碱组	7	0.91±0.17[b]	0.97±0.12[b]
高剂量益母草碱组	7	0.51±0.08[bc]	0.53±0.10[bc]
HMGB1过表达组	5	1.98±0.25[b]	2.21±0.29[b]
高剂量益母草碱+HMGB1过表达组	7	0.80±0.13[d]	0.94±0.14[d]

a：与假手术组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与低剂量益母草碱组比较，$P<0.05$；d：与高剂量益母草碱组比较，$P<0.05$。

4 讨论

SAP的特征是胰腺和全身炎症以及持续性的器官衰竭。在SAP早期，患者容易发生器官功能障碍并伴有继发感染；在SAP晚期则会出现胰腺组织坏死以及胰周积液引发的感染相关并发症，这也是患者死亡的主要原因[1]。血清中AMS、LPS水平的升高是SAP的典型临床症状，可作为SAP的诊断标准。氧化应激是导致胰腺腺泡细胞炎症的主要途径之一，而抗氧化处理可以改善SAP的氧化应激，降低促炎因子的表达[11]。MDA和SOD是典型的氧化应激标志物，可用于评估SAP的氧化应激状态[12]。本研究结果显示，模型组大鼠血清中AMS、LPS水平和胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均较假手术组显著升高，SOD水平较假手术组显著降低，且胰腺组织胰腺腺泡和间质出现溶解性坏死及炎症细胞浸润，这表明SAP大鼠模型构建成功。与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠血清中AMS、LPS水平和

胰腺组织中TNF-α、IL-6、MDA水平均显著降低，SOD水平均显著升高，胰腺组织病理形态逐渐恢复正常，组织坏死以及炎症细胞浸润减少，其中以高剂量益母草碱的改善作用更加明显。这提示益母草碱可以减轻SAP诱发的炎症、氧化应激以及胰腺损伤，具有治疗SAP的潜力。

HMGB1是一种损伤相关分子模式的重要分子，参与一系列病理疾病，包括自身免疫性疾病、缺血再灌注损伤等，其除了影响免疫反应之外还可以调节炎症反应。细胞损伤后，HMGB1会释放到细胞外，然后通过RAGE等受体途径，引发炎症。研究发现，HMGB1/RAGE信号通路可以驱动多种疾病的炎症损伤，HMGB1与RAGE结合后可以过表达TNF-α、IL-6等炎症因子，是炎症过程的重要介质[13]。所以目前阻断HMGB1/RAGE信号通路是抑制炎症反应的一种思路。本研究结果显示，模型组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA及其蛋白表达水平均较假手术组显著升高；与模型组比较，低、高剂量益母草碱组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE mRNA及其蛋白表达水平均显著降低，且以高剂量益母草碱的降低效果更明显。本研究结果与文献[6]报道结果相似。这提示益母草碱可能抑制HMGB1/RAGE信号通路激活。为了进一步验证益母草碱可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路激活来减轻SAP大鼠的胰腺损伤，本研究利用HMGB1过表达干预经高剂量益母草碱处理的SAP大鼠，发现HMGB1过表达可减弱高剂量益母草碱对SAP大鼠胰腺损伤的改善作用，同时，单独过表达HMGB1可加重SAP大鼠的胰腺损伤。以上结果证明了益母草碱可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路激活来改善SAP大鼠的胰腺损伤，降低SAP大鼠胰腺炎症反应和氧化应激水平。

综上所述，益母草碱可能通过抑制HMGB1/RAGE信号通路来改善SAP大鼠的胰腺损伤，减轻胰腺组织的炎症反应、氧化应激。但涉及调控SAP的信号通路较多，益母草碱能否影响其他信号通路参与治疗SAP有待后续研究。

参考文献

[1] SZATMARY P, GRAMMATIKOPOULOS T, CAI W H, et al. Acute pancreatitis: diagnosis and treatment[J]. Drugs, 2022, 82(12): 1251-1276.

[2] XIE Y, JIN Y N, LI S Y, et al. Leonurine alleviates cognitive dysfunction and reduces oxidative stress by activating Nrf2 pathway in Alzheimer's disease mouse model[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2023, 19: 1347-1357.

[3] QI L, CHEN X, PAN Y, et al. Leonurine exerts a protective effect in dextran sodium sulfate-induced experimental inflammatory bowel disease mice model[J]. Gen Physiol Biophys, 2022, 41(1): 43-51.

[4] WU H C, DAI A L, CHEN X X, et al. Leonurine ameliorates the inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced endometritis[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 61: 156-161.

[5] ZHANG S T, HU L, JIANG J L, et al. HMGB1/RAGE axis mediates stress-induced RVLM neuroinflammation in mice via impairing mitophagy flux in microglia[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 15.

[6] LIU X W, YUAN L, TANG Y S, et al. Da-Cheng-Qi decoction improves severe acute pancreatitis-associated acute lung injury by interfering with intestinal lymphatic pathway and reducing HMGB1-induced inflammatory response in rats[J]. Pharm Biol, 2023, 61(1): 144-154.

[7] 李建，常东鸽，霍刘斌，等. 齐墩果酸通过Nrf2抑制铁死亡并减轻重症急性胰腺炎大鼠肝损伤[J]. 中国病理生理杂志，2022，38(8)：1470-1477.
LI J, CHANG D G, HUO L B, et al. Oleanolic acid attenuates liver injury induced by severe acute pancreatitis via inhibiting ferroptosis by Nrf2 in rats[J]. Chin J Pathophysiol, 2022, 38(8): 1470-1477.

[8] 赵曼云，郭蔚虹，张霞. 益母草碱通过调节cAMP/PKA信号通路抑制脊髓损伤大鼠神经细胞凋亡[J]. 中成药，2022，44(7)：2315-2319.
ZHAO M Y, GUO W H, ZHANG X. Leonurine inhibits neuronal apoptosis in rats with spinal cord injury by regulating cAMP/PKA signaling pathway[J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(7): 2315-2319.

[9] 高海洋，陈曦，张金存，等. 牛蒡子苷元抑制HMGB1/TLR4/NF-κB信号通路减轻单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化[J]. 广州中医药大学学报，2023，40(7)：1734-1741.
GAO H Y, CHEN X, ZHANG J C, et al. Arctigenin inhibits HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway to alleviate renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2023, 40(7): 1734-1741.

[10] 黄力强，曾悦，庄倩，等. 大黄游离蒽醌抑制NLRP3/Caspase-1通路改善大鼠重症急性胰腺炎肝损伤的研究[J]. 中药药理与临床，2021，37(5)：54-59.
HUANG L Q, ZENG Y, ZHUANG Q, et al. Free anthraquinones in Dahuang improve liver injury in rats with severe acute pancreatitis by inhibiting NLRP3/Caspase-1 pathway[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(5): 54-59.

[11] ZHAO D B, YU W D, XIE W C, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorate severe acute pancreatitis by inhibiting oxidative stress in rats[J]. Mol Cell Biochem, 2022, 477(12): 2761-2771.

[12] HUANGFU Y R, YU X X, WAN C Y, et al. Xanthohumol alleviates oxidative stress and impaired autophagy in experimental severe acute pancreatitis through inhibition of AKT/mTOR[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1105726.

[13] HENDAWY N, SALAHELDIN T H, ABUELEZZ S A. PCSK9 inhibition reduces depressive like behavior in CUMS-exposed rats: highlights on HMGB1/RAGE/TLR4 pathway, NLRP3 inflammasome complex and IDO-1[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2023, 18(1/2): 195-207.

（收稿日期：2023-11-29　修回日期：2024-06-21）
（编辑：邹丽娟）