

基于 JAK2/STAT3 信号通路研究姜黄素治疗脓毒症大鼠胰腺损伤的作用机制

朱帅俊

(福建医科大学附属协和医院重症医学科 福建福州 350001)

【摘要】目的：探讨姜黄素治疗脓毒症继发胰腺损伤的作用及可能的机制。方法 取60只SD健康大鼠，采用盲肠结扎术建立脓毒症继发胰腺损伤模型。随机将大鼠分为观察组和对照组，每组各30只。观察组给予100 mg/ml姜黄素灌胃处理，对照组给予等量生理盐水灌胃处理。分别在干预前、干预后12h及干预后24h时每组随机选取10只，经下腔静脉采血2.5ml。检测大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白介素-6 (IL-6)，处死大鼠后取胰腺组织，以Western blot法检测大鼠胰腺组织JAK2和STAT3蛋白表达水平，记录胰腺病理评分。结果 干预12h和干预24h后观察组大鼠胰腺病理评分均显著低于对照组，血清TNF- α 和血清IL-6均显著低于对照组，胰腺组织JAK2、STAT3蛋白表达水平显著低于对照组，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 姜黄素用于脓毒症继发胰腺损伤大鼠有助于减轻胰腺损伤程度，保护胰腺组织，这可能与其通过JAK2/STAT3信号通路抑制炎症介质释放有关。

【关键词】姜黄素；脓毒症；胰腺损伤；JAK2/STAT3信号通路

Study on the mechanism of GK on the basis of JAK 2 / STAT 3 signaling pathway

Zhu Shuai jun

(Department of Critical Care Medicine, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001)

[Abstract] Objective: To investigate the effect and possible mechanism of curcumin on pancreatic injury secondary to sepsis. Methods 60 healthy SD rats were collected to establish a model of pancreatic injury secondary to sepsis. Rats were randomly divided into observation and control groups with 30 animals in each group. The observation group received 100 mg/ml curcumin and the control group received an equal amount of saline by gavage. Ten mice were randomly selected from each group before, 12h and 24h after intervention, and 2.5ml of blood was collected from the inferior vena cava. After serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were detected in rats were killed, the protein expression levels of JAK 2 and STAT 3 were measured by Western blot, and the pancreatic pathology score was recorded. Results After 12h and 24h, the observation group were significantly lower than those of the control group, serum TNF- α and serum IL-6 were significantly lower than those of the control group, and the expression levels of JAK 2 and STAT 3 were significantly lower than those of the control group, and the differences were significant ($P < 0.05$). Conclusion The use of curcumin in rats secondary to sepsis can help reduce the degree of pancreatic damage and protect pancreatic tissue, which may be related to its inhibition of inflammatory mediator release through JAK 2 / STAT 3 signaling pathway.

[Key words] Curcumin; sepsis; pancreatic injury; JAK 2 / STAT 3 signaling pathway

脓毒症是临床急危重症，随着病情进展，可累及其他脏器，导致多器官功能衰竭，增加病死率。胰腺是脓毒症后经常累及的脏器，脓毒症伴发胰腺损伤也备受关注^[1]。探讨脓毒症继发胰腺损伤的机制有助于指导临床进行早期干预，以改善预后。近年来，随着国家对中医重视程度提高，中医药在脓毒症患者中被广泛应用^[2]。姜黄素是具有抗氧化、抗炎作用的天然化合物^[3]，既往已有报道显示姜黄素可通过改善血清白介素-6 (IL-6)、NT-pro-BNP水平，保护脓毒症患者肺功能^[4]。但有关姜黄素对脓毒症继发胰腺损伤的治疗作用和机制，临床报道还较为少见。另外，既往研究显示磷酸化Janus 激酶2 (p-JAK2)/磷酸化信号传导与转录激活因子3 (p-STAT3)与胰腺损伤相关^[5]。为此，本研究探讨姜黄素治疗脓毒症继发胰腺损伤的效果，并分析其作用机制。现将结果报道如下，供临床参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

取60只SD清洁级健康大鼠，随机将大鼠分为观察组和对照组，每组30只。观察组雄性18只，雌性12只；鼠龄10-18周，平均(14.85 \pm 3.12)周；体质量180-300g，平均(240.36 \pm 31.29)g。对照组鼠龄雌性20只，雌性10只；鼠龄11-19周，平均(15.01 \pm 2.87)周；体质量180-290g，平均(238.17 \pm 35.20)g。两组大鼠性别、鼠龄及体质量比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，具有可比性。

1.2 实验方法

①小鼠建模：称重后采用10%水合氯醛(3.0 ml/kg)腹

腔注射的方法进行麻醉,麻醉起效后将大鼠仰卧固定于手术解剖台。备皮消毒后,在腹白线中段做1.5 cm切口,再依次切开皮肤、皮下肌层,暴露腹腔后分离盲肠,在盲肠末端至根部1/3处结扎,再用穿刺针在结扎远端贯穿盲肠1次,挤出少量粪便于腹腔,将盲肠回纳入腹腔,缝合腹膜后依次关腹。术后补充生理盐水24 ml/kg,继续常规喂养。②小鼠干预:建模后观察组大鼠给予姜黄素灌胃处理,100 mg/ml,对照组给予等量生理盐水,每组干预1次。③指标监测:分别在干预前、干预后12h及干预后24h时每组随机取10只大鼠,经下腔静脉采血2.5ml,以3000 r/min离心10min后

取血清,采用酶联免疫吸附法检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素-6 (IL-6)水平。然后处死大鼠,取0.5 cm \times 0.5 cm大小胰腺组织,用10%甲醛液固定,石蜡包埋、切片,行常规HE染色,将染色后的切片滴入中性树脂,并封片。在显微镜下记录胰腺组织病理评分,评分标准见表1。取100 mg胰腺组织,用PIPA裂解液裂解后冰浴下进行超声匀浆,常规离心后取上清,冷冻备用。以Bradford法进行蛋白定量,以 β -actin为内参,采用BandScan5.0凝胶电泳图像分析软进行条带灰度扫描,对JAK2和STAT3进行灰度值半定量水平分析检测。

表1 大鼠胰腺组织病理评分

评分	水肿	血管	脂肪坏死	腺泡坏死	钙化
0	无	无	无	无	无
1	小叶间隔的局灶性扩张	堵塞	小叶间或胰腺周边脂肪存在局灶性溶解	小叶边缘存在<10%斑片状坏死	钙化局限于脂肪或腺泡坏死
2	叶间间隔弥漫性扩张	充血,局部小叶间或小叶内出血	小叶间或胰腺周边脂肪的弥散溶解	小叶斑片状小叶坏死面积10%~30%	钙化扩散
3		多灶性弥漫性出血		存在<30%的融合性小叶坏死	
4		血管纤维蛋白样坏死或存在血栓		融合性小叶坏死面积30%~50%	
5				发现微脓肿	

1.3 统计学方法

选用SPSS 20.0软件包对数据进行统计学分析,以($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,多时点行单因素方差分析,两两比较行LSD-t检验, P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组胰腺病理评分

干预12h和干预24h后观察组大鼠胰腺病理评分均显著低于对照组和干预前,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表2。

表2 两组胰腺病理评分 ($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	例数	干预前	干预后12h	干预后24h
观察组	10	11.14 \pm 2.82	5.34 \pm 1.78*	3.71 \pm 0.89*
对照组	10	10.95 \pm 3.06	9.65 \pm 3.84	10.13 \pm 3.47
t值		0.144	3.220	5.667
P值		0.887	0.005	<0.001

注:与干预前比较,*P<0.05。

2.2 两组炎症因子比较

干预后12h和24h时观察组大鼠血清TNF- α 和血清IL-6均显著低于对照组和干预前,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表3。

表3 两组炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	例数	血清TNF- α			血清IL-6		
		干预前	干预后12h	干预后24h	干预前	干预后12h	干预后24h
观察组	10	90.32 \pm 28.57	53.03 \pm 14.62*	38.05 \pm 10.32*	82.15 \pm 16.08	39.63 \pm 10.05*	26.64 \pm 8.83*
对照组	10	92.81 \pm 30.46	98.43 \pm 23.28	96.28 \pm 23.91	80.43 \pm 15.21	78.87 \pm 12.23	82.20 \pm 10.11
t值		0.189	5.223	7.071	0.246	7.839	13.089
P值		0.853	<0.001	<0.001	0.809	<0.001	<0.001

注:与干预前比较,*P<0.05。

表4 两组JAK2、STAT3蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	JAK2			STAT3		
		干预前	干预后12h	干预后24h	干预前	干预后12h	干预后24h
观察组	10	0.76 \pm 0.15	0.56 \pm 0.12*	0.39 \pm 0.08*	0.56 \pm 0.09	0.35 \pm 0.05*	0.24 \pm 0.07*
对照组	10	0.81 \pm 0.19	0.83 \pm 0.16	0.81 \pm 0.11	0.60 \pm 0.12	0.67 \pm 0.10	0.60 \pm 0.11
t值		0.653	4.269	9.765	0.843	9.051	8.731
P值		0.522	0.001	<0.001	0.410	<0.001	<0.001

注：与干预前比较， $^*P < 0.05$ 。

2.3 两组 JAK2、STAT3 蛋白表达水平比较

干预后 12h 和 24h 时观察组胰腺组织 JAK2、STAT3 蛋白表达水平显著低于对照组和干预前，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)，见表 4。

3 讨论

胰腺是机体重要的消化腺体，但易受机体内环境影响发生病理性损害和功能障碍^[6]。脓毒症与胰腺损伤密切相关，脓毒症发生后可累及胰腺，造成胰腺内分泌胰岛功能降低，破坏胰腺组织，增加不良预后风险^[7-8]。因而，脓毒症后继发胰腺损伤的治疗备受关注。姜黄素即 1,7-双(4-羟基-3-甲氧基苯基)-1,6-庚二烯-3,5-二酮，分子式 $C_{21}H_{30}O_6$ ^[9]，刘显荣等^[10]研究显示姜黄素可通过调节缺氧诱导因子，纠正细胞代谢紊乱状态，促进氧自由基的清除，从而对辐射诱导的胰腺外分泌细胞损伤发挥保护作用，这提示姜黄素对胰腺组织损伤可能起到治疗作用，推测姜黄素可能有助于缓解脓毒症后胰腺损伤病情。

本研究通过大鼠实验，对比姜黄素的治疗作用，结果显示在干预 12h 和 24h 后观察组大鼠胰腺病理评分较干预前和对照组均显著降低，提示姜黄素可保护胰腺腺泡组织，抑制

脂肪坏死，减轻胰腺损伤，说明姜黄素用于脓毒症所致胰腺损伤的治疗具有可行性。炎症反应是脓毒症后胰腺损伤重要的病理基础，既往研究还发现胰腺损伤后，炎症反应呈进行性恶化，胰腺细胞释放 IL-6 和 TNF- α 等炎症介质，加重胰腺损伤病情^[11]。JAK2/STAT2 信号通路广泛参与多种细胞凋亡、坏死信号的传导，其中 JAK2 属可溶性酪氨酸蛋白激酶，STAT3 则是可与靶基因调控区 DNA 结合的细胞质蛋白，也是 JAKs 下游底物^[1]。张海云等研究显示干扰 JKAs 或 STAT3 后，可引起细胞上清液 IL-6 和 TNF- α 水平下降，提示 JKA2/STAT3 信号通路对血清 IL-6 和 TNF- α 具有调节作用。

因而，本研究在对脓毒症继发胰腺损伤的大鼠模型进行血清炎症因子和 JAK2、STAT2 蛋白检测，结果也显示，在进行姜黄素干预后，观察组 JAK2、STAT3 和血清因子均显著降低，提示姜黄素可影响 JAK2、STAT2 表达水平，进而经 JAK2/STAT3 信号通路调节血清炎症因子，并抑制胰腺腺泡凋亡和坏死，改善病情，这也是姜黄素治疗脓毒症继发胰腺损伤的机制之一，这将为今后姜黄素的应用推广提供依据。另外，姜黄素是否还通过及其机制发挥胰腺细胞保护作用还有待今后深入研究。

综上，姜黄素治疗脓毒症继发胰腺损伤疗效可靠，其可能通过 JKA2/STAT3 信号通路抑制炎症因子的释放，减轻胰腺损伤。

参考文献：

- [1]赵丽娜,杨飞,陈壮. 危重症患者继发性胰腺损伤相关危险因素及预后评价的回顾性分析[J]. 中国医刊,2019,54(2): 156-159.
- [2]程玲,高志凌,陈韵. 中西医结合治疗老年脓毒症继发急性胃肠功能损伤患者的临床研究[J]. 中国中医急症,2018,27(3): 494-497.
- [3]张永虎,张丹霞,曾良. 姜黄素通过 TLR-4/NF- κ B 信号通路减轻脓毒症相关的急性肠损伤[J]. 实用医学杂志,2020,36(6): 735-740.
- [4]张立华,张铁麟,杜金,等. 姜黄素对脓毒症肺损伤患者血清 NT-pro-BNP、IL-6、IL-10 及肺功能影响研究[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(7): 89-91.
- [5]Liu Y, Bi T, Liu L, et al. S-Adenosylmethionine synergistically enhances the antitumor effect of gemcitabine against pancreatic cancer through JAK2/STAT3 pathway[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2021,392(5): 615-622.
- [6]唐育鹏,莫武桂,黄维真,等. 脓毒症患儿血清炎症因子水平变化及其与胰腺功能指标的相关性研究[J]. 中国临床医生杂志,2017,45(8): 105-107.
- [7]朱云祥,韩波,李昊晋,等. 重症急性胰腺炎继发脓毒症与肠道细菌易位、炎症及免疫抑制的关系[J]. 中国病原生物学杂志,2017,12(10): 1010-1013.
- [8]任强,李小梅,刘泽玉. 姜黄素对脓毒症大鼠肠损伤作用效果及其相关信号通路和机制研究[J]. 世界临床药物,2020,41(1): 870-874.
- [9]刘显荣,何丽艳,卢先州. 姜黄素对辐射诱导的胰腺外分泌细胞损伤的保护作用[J]. 辐射防护,2019,39(2): 157-167.
- [10]沈银峰,巴元明,金文银,等. JAK2-STAT3 信号通路在急性坏死性胰腺炎大鼠胰腺损伤与全身炎症反应中的作用[J]. 中华胰腺病杂志,2019,19(3): 185-189.
- [11]张海云,常香菜. 黄芪甲苷通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路减轻重症急性胰腺炎大鼠肝损伤[J]. 中国病理生理杂志,2016,32(6): 984-989.