

· 药理研究 ·

DOI: 10.26946/j.cnki.1000-3649.sczy.2506210005

基于 HMGB1/RAGE 通路探讨清腹通肠颗粒对急性胰腺炎大鼠模型炎症因子抑制作用

肖昕¹, 郭辉^{2,△}, 孙建飞², 司明明²

(1. 北京同仁堂中医医院, 北京 100010; 2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘要: **目的** 基于高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) / 晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 通路探究清腹通肠颗粒 (QFTC) 对急性胰腺炎 (AP) 大鼠模型的治疗作用及其抑制炎症因子的机制。**方法** 取 70 只大鼠, 随机分为空白组 (CON) 10 只, AP 模型组 (AP 组)、清腹通肠颗粒组 (QFTC 组) 各 30 只。AP 组和 QFTC 组进一步细分为 6 小时组、12 小时组、24 小时组, 每组 10 只。QFTC 组在造模 30 分钟后即刻予以配置好的清腹通肠颗粒灌胃, 随后每隔 6h 予以 QFTC 灌胃一次, 并于 6h、12h、24h 末次给药后 1h 收集样本, 空白组、模型组以同法予以生理盐水灌胃。对比观察各组大鼠的胰腺组织变化。随后检测血清淀粉酶 (AMY); 使用 ELISA 法检测白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 表达水平; 显微镜观察各组大鼠胰腺组织病理情况; 用蛋白免疫印迹 (WB) 检测 HMGB1、RAGE 表达情况; 免疫荧光进一步检测胰腺组织 HMGB1、RAGE 水平。**结果** 经清腹通肠颗粒治疗后: ① QFTC 组胰腺组织较 AP 组均有不同程度改善; ② QFTC 组血清淀粉酶水平明显降低 ($P<0.01$); ③ AP 组对比 QFTC 组病理评分均出现不同程度降低且具有统计学意义 ($P<0.01$); ④相比 AP 组, QFTC 组血清 TNF- α 、IL-6 水平明显下降 ($P<0.01$); ⑤ QFTC 组大鼠胰腺组织中 HMGB1、RAGE 水平较 AP 组相比明显降低 ($P<0.01$); ⑥与 AP 组相比, QFTC 组大鼠胰腺组织中 HMGB1、RAGE 荧光显像明显减少。**结论** QFTC 能够有效减轻胰腺组织的损害和炎症反应, 改善大鼠精神状态, 从而起到对 AP 的治疗作用, 其作用机制可能与抑制 HMGB1/RAGE 通路激活有关。

关键词: 清腹通肠颗粒; 急性胰腺炎; HMGB1; RAGE; 炎症反应

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1000-3649(2026)01-0105-11

Study on the inhibitory effect of Qingfu Tongchang Granules on inflammatory factors in acute pancreatitis rat model based on HMGB1/RAGE pathway

XIAO Xin¹, GUO Hui^{2,△}, SUN Jianfei², SI Mingming²

(1. Beijing Tongrentang Traditional Chinese Medicine Hospital, Beijing 100010, China; 2. Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China)

Abstract: Objective To explore the therapeutic effect of Qingfu Tongchang Granules (QFTC) on acute pancreatitis (AP) in rat models and its mechanism of inhibiting inflammatory factors based on the high mobility group protein 1(HMGB1)/late glycation end product receptor (RAGE) pathway. **Methods** 70 rats were randomly divided into a blank group (CON, $n=10$), an AP model group (AP group, $n=30$), and a Qingfu Tongchang Granule group (QFTC group, $n=30$). The AP group and QFTC group were further subdivided into 6-hour, 12-hour, and 24-hour subgroups with 10 rats each. In the QFTC group, QFTC was administered by gavage immediately 30 minutes after modeling, followed by gavage every 6 hours. Samples were collected at 1 hour after the last administration at 6h, 12h, and 24h. The blank group and AP group were given normal saline by gavage using the same method. Changes in pancreatic tissue of rats in each group were observed and compared. Subsequently, serum amylase (AMY) was detected; the expression levels of interleukin-6(IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured by ELISA; the pathological conditions of pancreatic tissue in each group were observed under a microscope; the expressions of HMGB1 and RAGE were detected by Western

基金项目: 陕西省中医药管理局科技产业与发展处 (2021-ZZ-LC012); 陕西省教育厅科研计划项目 (23JP032); 陕西中医药大学科学研究项目 (2020XK03; 2020ZJ003; 2020QN005)。

第一作者: 肖昕, 硕士, 医师, 研究方向: 中西医结合临床研究, E-mail: 985520461@qq.com。

[△]通讯作者: 郭辉, 硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合临床研究, E-mail: 18291008544@163.com。

引用格式: 肖昕, 郭辉, 孙建飞, 等. 基于HMGB1/RAGE通路探讨清腹通肠颗粒对急性胰腺炎大鼠模型炎症因子抑制作用[J]. 四川中医, 2026, 44(1): 105-115.

blot (WB); the levels of HMGB1 and RAGE in pancreatic tissue were further detected by immunofluorescence.

Results After treatment with QFTC: ① The pancreatic tissue of the QFTC group improved to varying degrees compared with the AP group; ② The serum amylase level in the QFTC group was significantly reduced ($P<0.01$); ③ The pathological scores of the QFTC group were decreased to varying degrees compared with the AP group, with statistical significance ($P<0.01$); ④ Compared with the AP group, the serum levels of TNF- α and IL-6 in the QFTC group were significantly decreased ($P<0.01$); ⑤ The levels of HMGB1 and RAGE in the pancreatic tissue of the QFTC group were significantly lower than those in the AP group ($P<0.01$); ⑥ Compared with the AP group, the fluorescence imaging of HMGB1 and RAGE in the pancreatic tissue of the QFTC group was significantly reduced. **Conclusion** QFTC can effectively reduce pancreatic tissue damage and inflammatory response, improve the mental state of rats, thereby exerting a therapeutic effect on AP. Its mechanism of action may be related to inhibiting the activation of the HMGB1/RAGE pathway.

Keywords: Qingfu Tongchang Granules; Acute pancreatitis; HMGB1; RAGE; Inflammatory response

急性胰腺炎 (Acute pancreatitis, AP) 是一种胰腺炎症性改变及胰腺腺泡细胞受到损害引起的疾病, 以胰蛋白酶原异常激活为主要发病机制, 临床症状从轻微到暴发不等, 基本表现为持续上腹痛、发热、胰腺淀粉酶升高, 伴有轻微的器官功能障碍, 发病率每年以 3% 的速度增长。大部分轻症患者一般预后较好, 但如不及时治疗仍有 20% 的患者发展至中度, 甚至重症胰腺炎 (Severe acute pancreatitis, SAP), 其重症每年死亡率在 10%~30% 左右^[1]。西医治疗方面, 临床常用的液体复苏, 营养支持、抑制胰酶分泌药、抗生素等, 尽管在一定程度上能缓解症状, 但极难改善预后。近年来各项研究发现, 通过中医治疗 AP 在预防、疗效及预后方面均有显著优势。清腹通肠颗粒作为我院临床应用 20 余年经验方, 由生大黄、芒硝、枳实、莱菔子、槟榔、黄芩、木香、丹皮、红藤、桃仁、陈皮、茯苓、川楝子、党参等药物组成。在治疗腹腔感染、肠粘连、肠梗阻、AP 方面均有较好的临床疗效, 因此本研究以急性胰腺炎大鼠为对象, 基于 HMGB1/RAGE 通路, 探讨清腹通肠颗粒对炎症因子的抑制作用, 为后续临床应用指导及研究提供依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

由西安交通大学医学部实验中心提供并配送, 鼠龄 60~110 天 SD 雄性大鼠 70 只, 体重 220~240g (平均 230g)。在陕西省中药资源产业化协同创新中心进行饲养。饲养条件: 温度 (22 ± 3) °C, 相对湿度 (50 ± 10) %, 正常昼夜循环; 大鼠分笼饲养, 每笼 10 只, 大鼠进入实验室后先予以普通饲性喂养 1 周后, 在进行实验前 12h 禁食但不禁饮。本研究获得陕西中医药大学实验动物伦理委员会批准 (批号: SUCMDL20230214007)。

1.2 实验药物及制备

该药物系陕西中医药大学附属医院院内制剂, 每袋规格为 10g。其药物组成包含: 生大黄、芒硝、枳实、莱菔子、槟榔、木香、黄芩、丹皮、红藤、桃仁、陈皮、茯苓、川楝子以及党参。依据人与动物体重剂量的折算系数进行换算, 换算公式为: $D_{鼠} = D_{人} \times K_{鼠} / K_{人} \times W_{鼠} / W_{人}$ (D : 药物剂量; K : 常量; $W_{鼠}$: 大鼠体重; $W_{人}$: 人体体重。人的 K 常量取值为 1.6, 大鼠的 K 常量取值为 9.1, 经计算可得 $D_{鼠} = 5.6875 \times D_{人}$)。清腹通肠颗粒在成人中的治疗剂量为 60g/d (常规人体剂量按 1g/kg 计算)。按照人和大鼠间体表面积折算的等效剂量比值 5.68 来计算, 对应的大鼠用量为 5.68g/kg/d。通过预实验, 再结合本课题组前期的研究成果以及上述公式换算得出, 最终选定清腹通肠颗粒的最优浓度为 0.426g/3mL^[2]。

1.3 实验试剂及仪器

4% 多聚甲醛 (福州宏仓生物科技有限公司), L-精氨酸、2.0mL 冻存管、国产 50mL 离心管 (西安灏洋生物技术有限公司), PBS 漂洗缓冲液、IL-6、TNF- α 试剂盒、苏木素-伊红染色试剂、HMGB1、RAGE 抗体、免疫荧光试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司)、手术器械和无菌纱布 (北京中科慧达科技有限公司), 病理切片机、包埋机 (武汉俊杰电子有限公司), 酶标仪、台式低温高速离心机 (美国 Thermo 公司), 电子显微镜 (日本 Olympus 公司), 全自动洗板机 (深圳雷杜生命科技有限公司)。

2 实验方法

2.1 动物分组

随机选取鼠龄为 60~110 天的清洁雄性大鼠 70 只, 体重为 200g 左右, 将 SD 大鼠适应性喂养 7 天后, 开始实验研究。为契合急性胰腺炎进行性

发展的疾病特点,精准评估清腹通肠颗粒干预效果的时间依赖性,同时验证 HMGB1/RAGE 通路激活与病情进展的关联性并排除偶然因素干扰,按随机数字表法将 70 只大鼠分为空白组 (CON 组) 10 只, AP 模型组 (AP 组)、清腹通肠颗粒组 (Qingfu Tongchang Granule, QFTC 组) 各 30 只。AP 组和 QFTC 组又根据试验时间节点的不同分为 6h 组、12h 组和 24h 组, 每小组 $n=10$ 为初始分组数量, 实验过程中存在因灌胃操作所致的大鼠死亡, 最终有效样本量如表 1 所示。所有大鼠在实验前 12h 可允许自由饮水, 但禁止饲喂。

表 1 各组大鼠死亡率

分组	数量(只)	死亡(只)	死亡率(%)
CON 组	10	0	0
AP6h 组	10	0	0
AP12h 组	9	1	10%
AP24h 组	9	1	10%
QFTC6h 组	10	0	0
QFTC12h 组	10	0	0
QFTC24h 组	9	1	10%

2.2 实验动物造模及给药

空白组常规饲养, 给予等量生理盐水灌胃。AP 组及 QFTC 组采用 20%、PH 为 7.0 的 L- 精氨酸溶液腹腔注射制备急性胰腺炎模型^[3]。大鼠造模前 12 小时禁食不禁饮。实验前给大鼠称重, 做好分组标记。使用 20% 的 L- 精氨酸溶液, 调节其 PH 至 7.0。将配制好的 L- 精氨酸溶液注入腹腔, 每次剂量为 4g/kg 体重, 每隔一小时注射一次, 总共两次。完成模型制作后, 测定血清淀粉酶 (Serum amylase, AMY) 水平, 若达到正常水平的 3 倍以上, 则认定模型制作成功。造模完成后记录大鼠生存状态 20min。同时在造模成功后即刻使用生理盐水灌胃及每隔 6h 予以等量生理盐水灌胃, 并于 24h 末次灌药后 1h 收集样本。QFTC 组在建立模型组造模成功后即刻给药及每隔 6h 给药一次, 并于 24h 末次给药后 1h 收集样本。给药液量为 5.68g/kg。空白组、模型组给予同等容量生理盐水灌胃进行对照。

2.3 实验标本采集与保存

各组大鼠在 24h 末次灌药后 1h, 进行腹腔注射麻醉。将麻醉后的大鼠仰卧位固定, 取腹部正中作一长约 2.5cm 的纵向切口, 用手术剪将皮肤逐层剪

开, 对比观察各组大鼠的胰腺组织有无体积增大、质地变硬、表面有无皂化斑, 胰腺头部水肿、充血, 然后进行拍照保存。暴露大鼠的腹主动脉, 使用一次性采血针和采血管进行采血, 取血约 5mL, 室温下静置 1h, 然后用高速离心机离心 10 分钟, 随后取上层血清置入无菌管, 冻存备用。取完血, 其中一部分胰腺组织在 4% 多聚甲醛溶液中固定, 用于免疫组化检测和 HE 染色作病理切片观察; 另一部分迅速存放于 -80℃ 冰箱中保存用于 Western blot 法检测。

2.4 检测指标及方法

2.4.1 AMY 含量测定 在陕西中医药大学附属医院检验科专业技术人员的指导下, 根据制造商提供的说明书, 使用全自动生化分析仪测定血液样本中 AMY 水平。

2.4.2 酶联免疫吸附法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测大鼠血清白细胞介素 -6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的水平, 采用 ELISA 试剂盒进行检测, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

2.4.3 胰腺组织病理学变化 将胰腺组织滤水后, 经二甲苯多次浸润, 随后进行包埋并冷藏, 待石蜡凝固以固定组织形态。使用切片机将包埋好的胰腺组织切成约 5 μ m 厚的切片, 将切片在 40℃ 温水上平铺, 用载玻片捞出后烘干保存。随后进行脱蜡与清洗去除切片上的石蜡和残留溶剂, 完成染色处理。最后进行脱水、封片、完成制作。将制作好的病理切片在显微镜下观察, 并根据改良 Kusske 评分标准 (详见表 2)^[4], 采用双盲法对胰腺组织进行病理学评分进一步判定胰腺损伤情况。

2.4.4 Western Blot 法检测胰腺组织 HMGB1、RAGE 水平 从胰腺组织中提取蛋白质, 并用 SDS 和加热处理使蛋白质变性。将处理后的蛋白质样品加载到 SDS-PAGE 凝胶上进行电泳。电泳后, 将凝胶上的蛋白质转移到膜上, 随后用 5% 的牛奶封闭膜上的非特异性位点常温下封闭 30 分钟。将特异性抗体与封闭后的膜进行孵育, 使抗体与目标蛋白质结合。将酶标二抗孵育使与洗涤后的膜进行孵育, 用底物显色生成可见信号, 最后使用 AIWBwell™ 分析软件进行数据分析。

2.4.5 免疫荧光法检测 HMGB1、RAGE 表达水平

胰腺组织用 4% 多聚甲醛固定、包埋、烘干 24 小时。石蜡切片经脱蜡液和无水乙醇处理, 随即用蒸馏水冲洗。切片在抗原修复缓冲液中修复, 冷却

表2 胰腺病理改良 Kusske 评分标准

病理状态	病理改变	评分
水肿	无	0
	小叶间区域性水肿	1
	小叶间弥漫性水肿	2
	小叶间隙增大,腺泡肿胀	3
	小叶结构完全破坏,细胞间隙增宽	4
出血	无	0
	1~2个区域	1
	3~4个区域	2
	5~6个区域	3
	≥7个区域	4
坏死	无	0
	坏死面积1%~10%	1
	坏死面积11%~20%	2
	坏死面积21%~30%	3
	坏死面积>30%	4
炎症细胞浸润	0~1个	0
计数高倍视野(×400)	2~10个	1
血管周围或小叶内白细胞数量	11~20个	2
	21~30个	3
	>30个	4

后用 PBS 清洗。切片甩干后画圈,加入 BSA 封闭孵育 30 分钟。加入一抗,冷藏孵育过夜。冲洗后加入二抗,室温孵育 10 分钟。加入 DAPI,进一步室温孵育。孵育后加入荧光淬灭剂,冲洗后封片。最后在荧光显微镜下采集图像。

2.5 统计学方法

本研究数据统计分析采用 SPSS 25.0 软件进行分析;绘图选用 GraphPad Prism 软件直观展示成果。数据统一以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组数据用 t 检验对比均数差异;多组数据先进行单因素方差分析,依据方差齐性选方法:方差齐时用 LSD 法,不齐则用 Tamhane 法。以 $P<0.05$ 判定差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况观察比较

各组大鼠 10 只,造模成功 24h 后,AP 组共死亡 2 只(分别位于 12h 和 24h 小组),QFTC 组死

亡 1 只(位于 24h 小组),其死亡原因为灌胃所致死亡,每组死亡率为 10%,其余各组均无死亡(见表 1)。CON 组、QFTC 组生存状态良好,其中空白组解剖见腹腔内无明显腹水,未见皂化斑或其他异常,胰腺及周围组织结构、肠道以及肺组织都清晰完整。AP 组腹腔内可见中度黏连,大量积液和皂化斑;肠道充血水肿,肠壁变薄;胰腺表面化脓,可见少量淡红色出血,偶见红色泡沫样液体渗出。经清腹通肠颗粒灌胃治疗后,大鼠胰腺组织的大体损伤有所改善。

3.2 胰腺组织 HE 染色及评分

如图 1 所示,镜下 CON 组大鼠胰腺组织腺泡、导管结构清楚可见,未见有胰腺组织水肿、充血等;腺泡细胞排列整齐;AP 模型组可见胰腺组织水肿、充血、坏死及中性粒细胞浸润,以 24 小时组症状最为严重,可见腺泡细胞大面积坏死,细胞核破裂,胰岛边缘毛刺状,基本无清晰细胞轮廓,叶间隙明显变宽;QFTC 组相较于 AP 组组织损伤有明显改善,细胞排列逐渐整齐,炎症细胞浸润逐渐减少,细胞水肿和坏死情况减轻,细胞间质接近正常水平。各 AP 组与 CON 组、各 QFTC 组与同时间点 AP 组相比,病理评分差异均具有统计学意义($P<0.01$),见图 2。

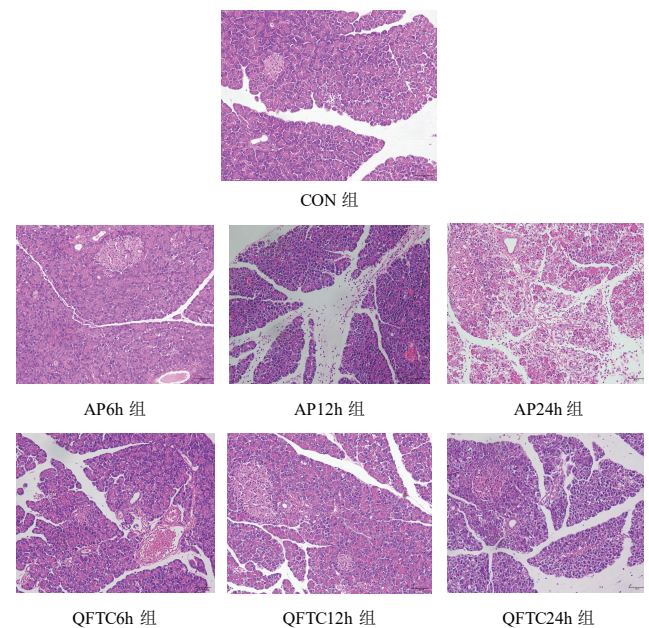


图1 各组大鼠胰腺炎组织病理变化(×10)

注:图中标尺长度为 200μm。

3.3 血清淀粉酶活性

实验结果见图 3,根据各组结果显示,与空白

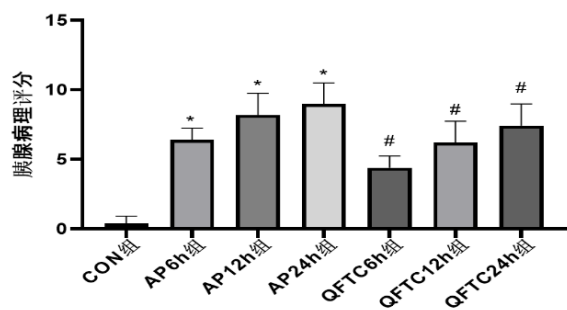


图2 各组大鼠胰腺病理评分

注：与空白组相比：*： $P<0.05$ ，**： $P<0.01$ ，模型组比较，#： $P<0.05$ ，##： $P<0.01$ 。

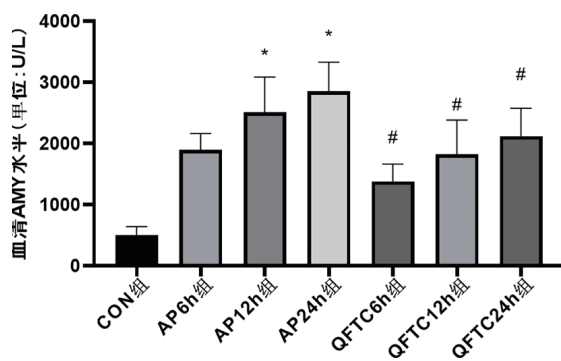


图3 各组大鼠血清淀粉酶水平变化 ($\bar{x} \pm s$, U/L)

组比较，AP各时间段组大鼠的血清淀粉酶活性均升高 ($P<0.01$)，提示造模成功。而在使用清腹通肠颗粒处理后，QFTC组的血清淀粉酶活性与AP同时时间点模型组相比均有明显降低 ($P<0.05$)。

3.4 血清TNF- α 、IL-6

如图4所示，相较于空白组，模型组中血清TNF- α 、IL-6水平均升高明显 ($P<0.01$)；经过清腹通肠颗粒灌胃，QFTC6h组、QFTC12h组、QFTC24h组与同时时间点模型组相比，血清TNF- α 、IL-6均有不同程度的降低 ($P<0.01$)。

3.5 Western Blot检测各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达情况

研究结果如图5所示，与空白组相比，AP6h组、AP12h组、AP24h组显著增加了HMGB1、RAGE蛋白水平的表达 ($P<0.01$)，差异具有统计学意义；而经过清腹通肠颗粒干预，QFTC6h组对比AP6h组、AP12h组、AP24h组后发现HMGB1、RAGE蛋白的表达受到了明显的抑制 ($P<0.01$)，差异具有统计学意义。

3.6 免疫荧光检测各组大鼠胰腺组织中HMGB1、RAGE蛋白表达情况

根据免疫荧光法表达、免疫荧光强度统计所示，与空白组相比，AP6h组、AP12h组、AP24h

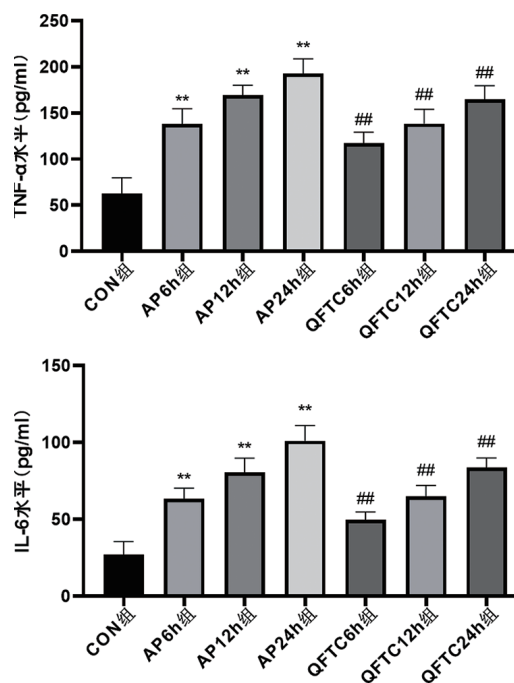


图4 各组大鼠血清TNF- α 、IL-6水平

组中HMGB1、RAGE蛋白荧光水平明显增强，尤其以AP24h组增强最为显著，通过使用清腹通肠颗粒干预后，QFTC6h组对比AP6h组、AP12h组、AP24h组HMGB1、RAGE蛋白荧光水平均存在明显减弱 ($P<0.01$)。(见图6、图7)。

4 讨论

急性胰腺炎作为急腹症中最常见的消化系统疾病之一，是一种影响各年龄段的炎症性胰腺疾病，研究调查表明全球年发病率为每10万人10-50例，国内发病率由0.19%上升至0.71%^[5]。其主要发病原因有胆结石迁移、高脂血症和酗酒等。其中，这些发病的主要原因在于社会经济、种族和文化差异^[6]。大多数AP患者表现为轻度且自限性的疾病。另一方面，15%~20%的AP患者可出现局部或全身并发症，经常导致多种（呼吸、心血管、肾脏和肝脏）器官衰竭（Multiple organ failure, MOF）甚至死亡。目前西医常规治疗以及手术治疗尽管能暂时缓解症状，但仍没有从根本上解决问题。而中医药治疗相较于西医能更好改善AP患者预后，在治疗AP方面给予了更多的可能。

中医对AP的记载可依据其症状纳入“胃脘痛”“脾心痛”等范畴，如《杂病源流犀烛·心病源流》中提到“腹胀胸满，胃脘当心痛，上支两肋，咽膈不通，此为胃心痛”，《灵枢·厥病》中也有“厥心痛，痛如锥针刺心，心痛甚者，乃脾心痛也”的记载。本病病位在脾，与胃、肝、胆、心、肺、肠等脏腑

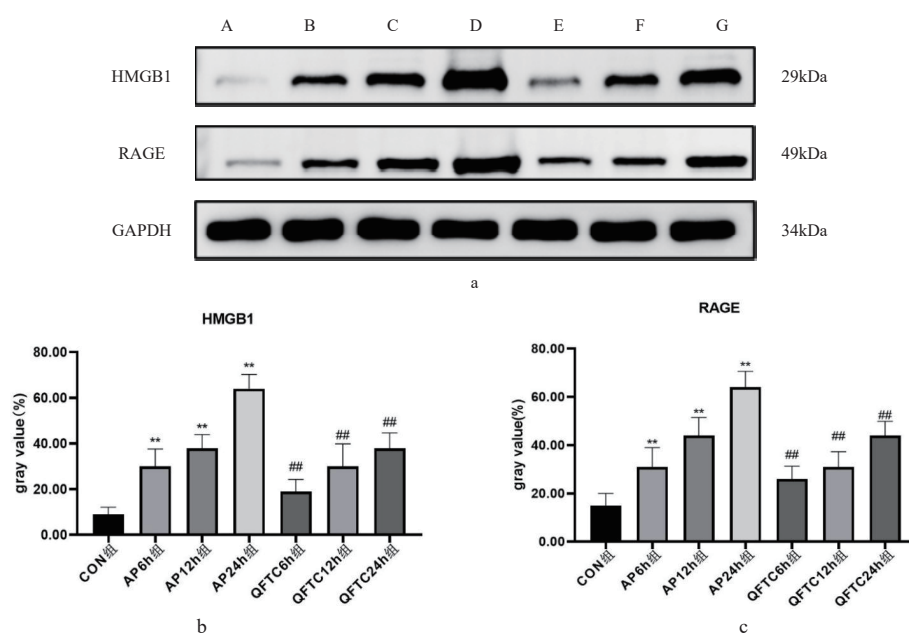


图5 Western blot 法检测胰腺组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达

注: a: Western blot 法检测胰腺组织中 HMGB1、RAGE 蛋白表达; b: HMGB1 蛋白水平; c: RAGE 蛋白水平; A: 空白组; B: AP6h 组; C: AP12h 组; D: AP24h 组; E: QFTC6h 组; F: QFTC12h 组; G: QFTC24h 组; 与空白组相比: *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$; 模型组比较, #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$ 。

密切相关,病性以里实热居多。中医理论认为,先天禀赋不足,后天饮食不节、外感六淫之邪、胆石、虫积、外伤等多种因素均可引发 AP,近年来回顾性研究显示,胆石疾病、饮食不节、素体肥胖是诱发 AP 的主要病因^[7],这些因素致使中焦气机阻滞,脾胃运化功能失常,痰湿内生,久则化热,热极成毒,热毒灼伤血液而形成血瘀,热毒与血瘀相互交结,导致气血逆乱,阴阳失调,进而引发该病,故临床常以理气攻下、清热解毒为治疗原则。

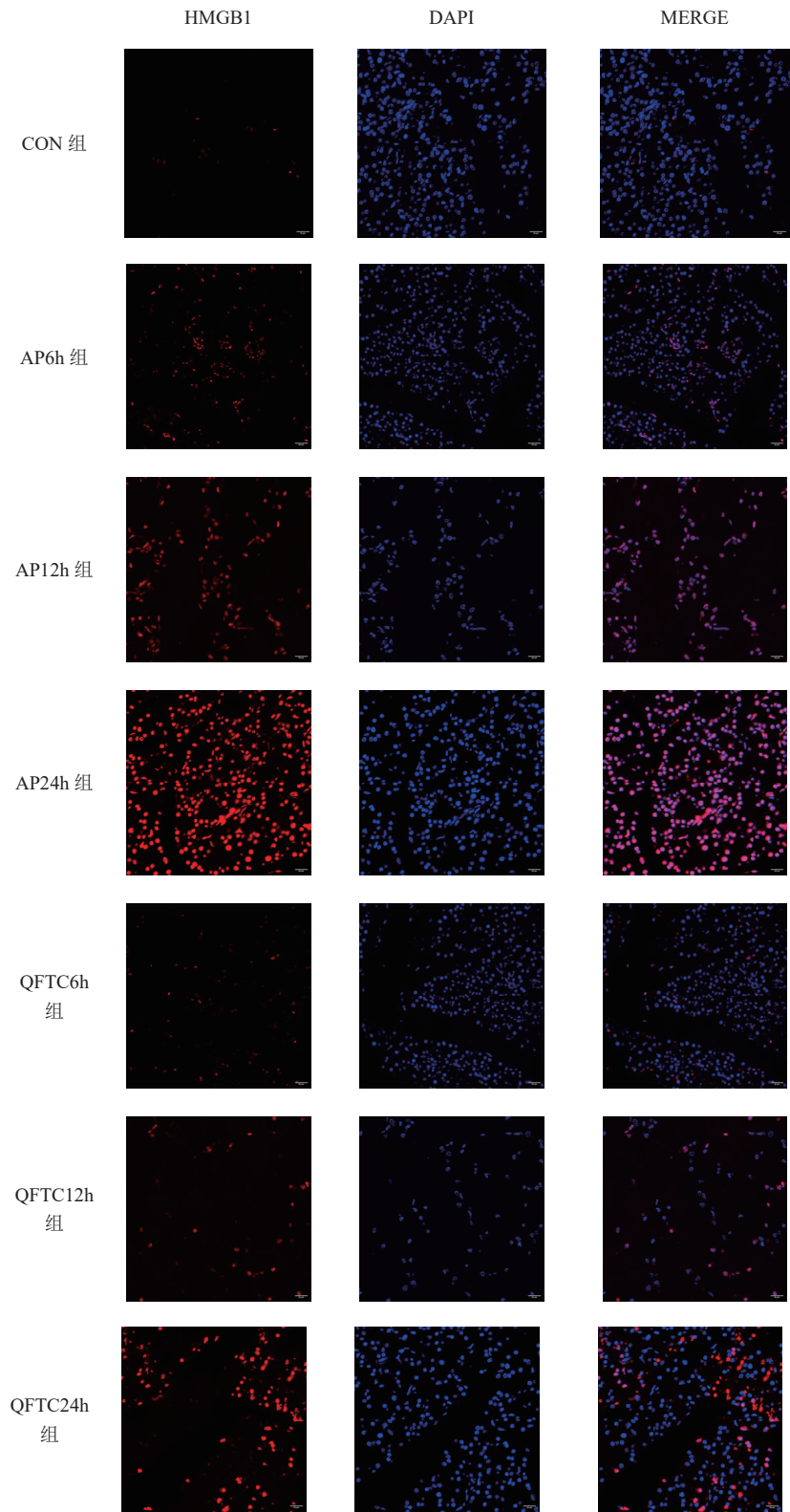
清腹通肠颗粒作为陕西中医药大学附属医院院内制剂,由生大黄、芒硝、枳实、莱菔子、槟榔、黄芩、木香、丹皮、红藤、桃仁、陈皮、茯苓、川楝子、党参等药物组成,其具有清腹通肠、清热解毒、理气祛瘀的功效。方中君药选取莱菔子、红藤用以理气活血、清热祛瘀,其中红藤更为治疗腹腔感染之要药;现代药理研究表明,红藤通过抑制核因子- κ B (Nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 通路,对 SAP 大鼠炎症反应起到明显减轻作用^[8];莱菔子性平味辛甘,入肺、脾、胃经,既能消食除胀、下气化痰以缓解 AP “腹部疼痛”的核心症状,更能通过通腑理气改善肠道动力。其“调畅气机”的功效不仅为胰腺炎症产物的排出开辟通路,还能间接减轻肠道对胰腺的局部压迫,避免“不通则痛”的病理状态加重。二者一“抑”一“通”,从“阻断炎症源头”与“清除炎症产物”两个关键环节形成初步

协同,直指 AP “气滞血瘀、热毒内蕴”的核心病机。

臣药配大黄、黄芩,既强化君药的清热祛瘀之力,又与君药形成协同抗炎作用。丁伟超^[9]等通过网络药理学研究得出,大黄含有的诸如 β -谷甾醇、芦荟大黄素、泽兰黄醇这类关键活性成分在发挥效能,它们精准作用于肿瘤蛋白 p53 (Tumor protein 53, TP53)、肿瘤坏死因子 (Tumor necrosis factor, TNF)、MYC 原癌基因 (MYC proto-oncogene, MYC)、半胱天冬酶 3 (Caspase 3, CASP3)、雌激素受体 1 (Estrogen receptor 1, ESR1) 等一系列核心靶点,进而助力 AP 的治疗。深入探究其内在机制,极有可能是借由 p53 信号通路以及 TNF 信号通路,一方面调控细胞走向凋亡程序,促使受损或异常细胞有序死亡,减少对机体的不良影响;另一方面,对炎症反应予以强力抑制,降低炎症因子的过度释放,缓解机体因炎症风暴带来的损伤,最终实现对 AP 的有效治疗。陈曦等人^[10]的临床研究也进一步证实,含生大黄、芒硝的醒脾汤通过保留灌肠,可显著降低急性重症胰腺炎患者血清 HMGB1、IL-6 水平,其机制与大黄素刺激大肠蠕动、改善胰腺微循环以减少炎症介质堆积,及芒硝增强网状内皮系统吞噬功能、抑制促炎因子释放密切相关,这与清腹通肠颗粒中大黄、芒硝作为臣药协同抗炎的作用逻辑高度一致。黄芩则清热燥湿,与大黄共奏通腑泄热之效,加速肠道内毒素(如内毒素脂多糖)与

炎性代谢产物的排出，避免肠源性感染通过“肠—胰轴”加重胰腺炎症，进一步巩固君药建立的抗炎基础^[11]。洪美琳^[12]等对重症急性胰腺炎患者的研究也发现，含大黄、芒硝、枳实的清胰汤合大承气汤加减治疗，可使患者血清 TNF- α 、IL-6 水平较单纯西医组显著降低，同时内毒素、二胺氧化

酶（Diamine oxidase, DAO）等肠黏膜损伤标志物水平也明显下降，该结果不仅印证了“通腑类中药可通过减少肠源性炎症介质入血发挥抗炎作用”的共性规律，更从临床层面支撑了清腹通肠颗粒中大黄、芒硝、枳实配伍在抗炎及保护肠黏膜屏障中的合理性。



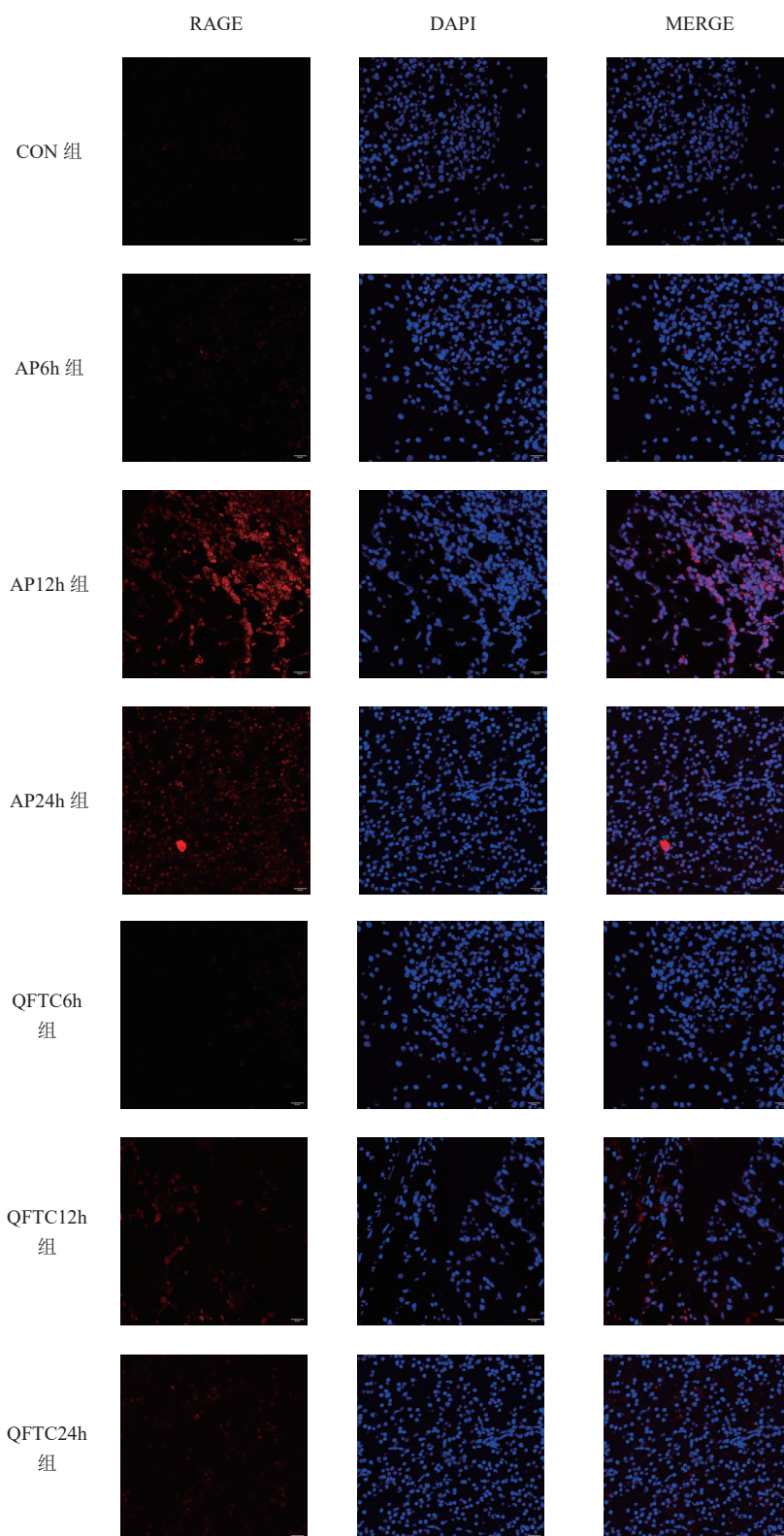


图6 免疫荧光法观察 HMGB1、RAGE 在胰腺组织中的分布 (50×)

注：图中标尺长度为 20μm。

佐药从“理气、活血、扶正”三方面弥补君臣药作用的单一性：枳实、木香、槟榔、陈皮、川楝子等行气药，既能增强莱菔子的通腑理气之功，改善肠道动力以促进炎症产物排泄，又能通过调

节肠道气机间接改善胰腺微循环，为胰腺组织修复提供良好环境；牡丹皮、桃仁则以活血祛瘀为核心，既配合红藤增强化瘀之力，减少胰腺局部的充血水肿与缺血坏死，其提取物丹皮酚更能激

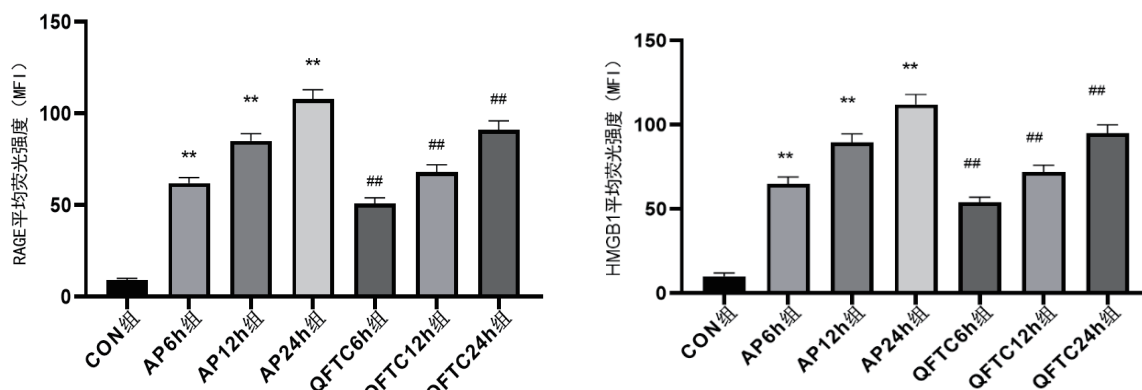


图7 HMGB1、RAGE 平均免疫荧光强度定量分析

注：与空白组相比：*：P<0.05，**：P<0.01，模型组比较，#：P<0.05，##：P<0.01。

活核因子 E2 相关因子 2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) / 血红素氧合酶 -1 (Heme oxygenase-1, HO-1) 通路, 该通路通过促进超氧化物歧化酶 (SOD)、血红素氧合酶 -1 (HO-1) 等抗氧化酶的表达, 减轻胰腺组织的氧化应激损伤, 与君药的 NF- κ B 抑制、臣药的 TNF 调控形成“促炎—抗炎平衡网络”(NF- κ B/TNF 介导促炎反应, Nrf-2/HO-1 介导抗炎抗氧化), 从“抑制促炎”与“增强抗炎”双向拓宽抗炎维度^[13]。同时另一项研究表明, 在给大鼠注射丹皮酚后, 急性胰腺炎症状明显好转, 且血清炎症因子均有所下降^[14]。党参、茯苓则以益气健脾为核心, 防止红藤、大黄苦寒伤胃; 二者不仅能维护脾胃功能, 避免通下过度导致的肠黏膜损伤, 还能增强肠道屏障的完整性, 减少肠道菌群移位引发的继发感染, 从而实现“祛邪不伤正”^[15]。此 14 味药共奏清腹通肠, 理气活血, 清热解毒, 祛瘀止痛之功。清腹通肠颗粒作为陕西中医药大学附属医院经验方, 临床应用超过 20 年, 在前期的研究发现中, 清腹通肠颗粒对于肠功能紊乱、肠粘连、肠梗阻等急腹症、慢传输性便秘具有一定的疗效, 且对于腹部术后出现腹胀、腹痛等症状有明显改善作用^[16]。实验研究表明: 清腹通肠颗粒联合护理干预有助于胃癌患者术后胃肠道功能的恢复, 减少并发症的发生^[17]。更有近期研究表明, 在治疗急性胰腺炎上, 应用西医常规疗法基础上结合中药制剂清腹通肠颗粒联合中药封包外敷, 取得了良好的临床疗效, 进一步证明清腹通肠颗粒对急性胰腺炎具有一定疗效^[18]。

高迁移率族蛋白 1 (High mobility group box1, HMGB1) 是一种具有电泳迁移率的非组蛋白染色质蛋白, 它可与 NF- κ B 和糖皮质激素受体等结合

并调节各种转录因子^[19]。HMGB1 也可以从坏死或受损的细胞中被动释放; 这两种机制都可以释放大量的细胞外 HMGB1^[20]。细胞外 HMGB1 可以与晚期糖基化终末产物受体 (Receptor for advanced glycation end products, RAGE)、Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 结合, 从而介导炎症^[20]。HMGB1 和 RAGE 是炎症性疾病的公认治疗靶点。由细胞外分泌的 HMGB1 与 RAGE 结合后介导炎症反应, 从而通过 NF- κ B 信号通路激活促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的释放。现已有多种应对 RAGE 的治疗方法。通过抗体或可溶性 RAGE 阻断 RAGE 信号传导也已被证明对多种疾病模型有效, 包括糖尿病并发症、脓毒症和自身免疫疾病^[21-23]。

该实验采取 Western blot 法对胰腺组织中 HMGB1 及 RAGE 的表达进行检测, 并且为了解胰腺组织 HMGB1、RAGE 显像状况, 基于免疫荧光法进行测试。检测结果提示, 与空白组进行对比, AP 模型组中的 RAGE 与 HMGB1 表达均显示明显增强, 符合前期文献查阅结果。DENG 等^[24]人提出 HMGB1 能够在酸性条件下充当洗涤剂, 因此, HMGB1 转运的协同分子在溶酶体中并不会发生降解, 而是通过透化溶酶体进入胶质溶胶, 最终进入同源胞质受体内进行激活诱发炎症, 充分阐明了 HMGB1 与炎症之间密切相关。Mouri^[25]提出 HMGB1 与炎症介质在基因方面也存在密切的联系, 两者基于分泌效应相互作用从而生成分泌调节网络。除此之外, 有学者表示^[26]腺泡细胞受损后会释放 HMGB1, 进而激活 NF- κ B 信号通路生成炎症因子引起炎症反应。综上所述, HMGB1 能够基于单核—巨噬细胞的主动分泌, 坏死细胞的被动释放两种通道进入炎症过程, 从而干预炎症反应, 是

十分重要的晚期炎症介质;同时能够推进炎症反应,对AP的疾病进展产生深刻影响^[27]。

伴随着大鼠急性胰腺炎症状持续加重,胰腺组织中HMGB1、RAGE表达水平均有所升高,由此得出HMGB1和RAGE两者之间紧密联系。与前者研究认为RAGE是第一个与HMGB1结合的受体说法相吻合,Michael等人^[28]认为,细胞外分泌的HMGB1与RAGE结合后介导炎症反应,从而通过NF- κ B信号通路激活促炎细胞因子如TNF- α 、IL-6和白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)的释放。Huttunen^[29]等人首先报道了HMGB1的A盒氨基酸(23-50)、B盒氨基酸和酸性尾部(150-183)主要负责其与RAGE的结合,从而激活这些炎症信号通路并介导多种疾病状况。现代研究表明,HMGB1在RAGE受体的作用下调节免疫细胞和细胞的趋化、增殖等^[30]。因此,我们可以认为RAGE作为HMGB1最重要的受体之一,在两者相互结合后可以激活免疫细胞并释放炎症因子,而这些炎症因子又可以反向促进HMGB1的分泌,使得炎症症状持续发展。在清腹通肠颗粒作用于AP模型大鼠后,通过比较QFTC各时间段组、AP模型各时间段组,观察发现清腹通肠颗粒治疗后的大鼠精神状态明显好于AP模型各时间段组,活动度较好、扭体反应减轻、毛发光泽度较好。通过Western blot、免疫荧光法检测对比AP模型组各时间段组,QFTC组各时间段组胰腺组织中的HMGB1、RAGE表达均明显下降;在血清淀粉酶检测、ELISA检测的TNF- α 、IL-6均显示QFTC组低于AP模型各组,且相关差异具有统计学意义($P<0.05$),这说明清腹通肠颗粒可以明显干预AP的发生发展,从而缓解AP对机体的损害。

综上所述,清腹通肠颗粒能有效改善AP的症状且对AP具有一定的治疗效果,减轻胰腺水肿、胰腺坏死、胰腺出血等病理损伤。其机理可能是通过抑制HMGB1/RAGE通路激活,进而阻断炎症级联反应,从而使AP大鼠模型的炎症因子下降。本研究从实验角度系统探究了清腹通肠颗粒对AP大鼠的治疗作用及机制,虽取得一定成果,但未来仍需在多方面深入探索,以推动其临床应用与学术研究的发展。

参考文献

- [1] Pavlidis TE, Pavlidis ET, Sakantamis AK. Advances in prognostic factors in acute pancreatitis: A mini-review[J]. Hepatobiliary and Pancreatic Diseases International, 2010, 9(5): 482-486.
- [2] 韦庄怡,任小鹏,张泳,等.清腹通肠冲剂对急性肺损伤大鼠TNF- α 、NF- κ B p65的影响[J].现代中医药,2020,40(6): 20-24, 41.
- [3] Abdelzaher WY, Mahmoud AS, Nermeen WN, et al. Vinpocetine ameliorates L-arginine induced acute pancreatitis via Sirt1/Nrf2/TNF pathway and inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis[J]. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2021, 133: 110976.
- [4] Kusske AM, Rongione AJ, Ashley SW, et al. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice[J]. Surgery, 1996, 120(2): 284-288, 289.
- [5] 王兴鹏,李兆申,袁耀宗,等.中国急性胰腺炎诊治指南(2013年,上海)[J].临床肝胆病杂志,2013,29(9): 656-660.
- [6] Párnitzky A, Kui B, Szentesi A, et al. Prospective, multicentre, nationwide clinical data from 600 cases of acute pancreatitis[J]. PLoS One, 2017, 11(10): e0165309.
- [7] 龚福林.急性胰腺炎病因与其严重度的临床分析[J].天津医药,2017,45(11): 1195-1198.
- [8] 韩明.基于NF- κ B通路探讨红藤对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障损伤的保护作用机制[D].咸阳:陕西中医药大学,2022.
- [9] 丁伟超,周京江,耿润露,等.基于网络药理学探讨大黄治疗急性胰腺炎的机制研究[J].中国新药与临床杂志,2023,42(7): 474-480.
- [10] 陈曦,王志安.醒胰汤保留灌肠辅助治疗对急性重症胰腺炎患者HMGB1、IL-6、PGE2水平及肠黏膜屏障功能的影响[J].四川中医,2024,42(12): 95-97.
- [11] 钟科.大黄在急性胰腺炎并发症防治及辅助治疗中的应用效果观察[J].海南医学,2014,25(16): 2425-2427.
- [12] 洪美琳,张翠柳.清胰汤合大承气汤加减治疗对重症急性胰腺炎患者炎症应激、肠黏膜功能及免疫功能的影响[J].四川中医,2021,39(8): 86-89.
- [13] 张鹏,李俞甫,吴尚泽,等.丹皮酚对L-精氨酸诱导的小鼠急性胰腺炎氧化损伤的影响[J].畜牧兽医学报,2021,52(7): 1983-1990.
- [14] 季力同,熊吉东,刘博秀,等.丹皮酚注射液对急性胰腺炎模型大鼠血清炎症因子的影响[J].中医药导报,2019,25(2): 39-42.
- [15] 郭梅芳,肖嫩群,谭周进,等.参苓白术散对脾气亏虚证泄泻小鼠肠道微生物、酶活性及肺肠结构的影响[J].中国微生态杂志,2025,37(4): 421, 427, 444.
- [16] 赵晓平,杨长江,武昌学,等.清腹通肠冲剂治疗粘连性肠梗阻30例[J].陕西中医学院学报,2000, (5): 26.
- [17] 韩琳,张永梅,陈飞娟,等.清腹通肠汤联合护理干预对胃癌术后胃肠道功能恢复的临床效果[J].现代医学,2016,44(7): 1037-1039.
- [18] 尚文惠,孙建飞,雷霆,等.清腹通肠冲剂联合中药封包治疗急性胰腺炎的临床观察[J].中国中医急症,2020,

- 29(9): 1622-1625.
- [19] Erlandsson HH, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: A multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease[J]. *Nature Reviews. Rheumatology*, 2012, 8(4): 195-202.
- [20] Paola S, Tom M, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation[J]. *Nature*, 2002, 418(6894): 191-195.
- [21] Flyvbjerg A, Denner L, Schrijvers BF, *et al.* Long-term renal effects of a neutralizing RAGE antibody in obese type 2 diabetic mice[J]. *Diabetes*, 2004, 53(1): 166-172.
- [22] Johnson LL, Johnson J, Ober R, *et al.* Novel receptor for advanced glycation end products-blocking antibody to treat diabetic peripheral artery disease[J]. *Journal of the American Heart Association*, 2020, 10(1): e016696.
- [23] Christaki E, Opal SM, Keith JC, *et al.* A monoclonal antibody against RAGE alters gene expression and is protective in experimental models of sepsis and pneumococcal pneumonia[J]. *Shock*, 2011, 35(5): 492-498.
- [24] Deng MH, Tang YT, Li WB, *et al.* The endotoxin delivery protein HMGB1 mediates caspase-11-dependent lethality in sepsis[J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 740-753, e7.
- [25] Mouri F, Tsukada J, Mizobe T, *et al.* Intracellular HMGB1 transactivates the human IL1B gene promoter through association with an Ets transcription factor PU. 1[J]. *European Journal of Haematology*, 2008, 80(1): 10-19.
- [26] Smolarczyk R, Cichoń T, Jarosz M, *et al.* HMGB1--its role in tumor progression and anticancer therapy[J]. *Postępy Higieny I Medycyny Doświadczalnej (Online)*, 2012, 66: 913-920.
- [27] Li W, Zhu S, Li J, *et al.* EGCG stimulates autophagy and reduces cytoplasmic HMGB1 levels in endotoxin-stimulated macrophages[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2011, 81(9): 1152-1163.
- [28] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): Nuclear weapon in the immune arsenal[J]. *Nature Reviews. Immunology*, 2005, 5(4): 331-342.
- [29] Huttunen HJ, Fages C, Kuja PJ, *et al.* Receptor for advanced glycation end products-binding COOH-terminal motif of amphoterin inhibits invasive migration and metastasis[J]. *Cancer Research*, 2002, 62(16): 4805-4811.
- [30] Wang M, Gauthier A, Daley L, *et al.* The role of HMGB1, a nuclear damage-associated molecular pattern molecule, in the pathogenesis of lung diseases[J]. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2019, 31(13): 954-993.

(收稿日期: 2025-06-21; 本文编辑: 叶世英)