

# 急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞 $\alpha$ SNAP 表达及其与肠黏膜通透性的关系

陈代兴 李力力 颜婧 周源 杨歆 游扬 凌贤龙

**【摘要】** 目的 探讨急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞  $\alpha$ SNAP 表达及其与肠黏膜通透性的关系。方法 采用逆行胰胆管注射 3.8% 和 0.5% 的牛黄胆酸钠溶液的方法制备重症急性胰腺炎模型和轻症急性胰腺炎模型。并分别于 1 d、2 d、3 d 处死动物, 比较各组的胰腺病理改变、肠黏膜病理改变; 肠道通透性的变化以及肠上皮 occludin 蛋白和  $\alpha$ SNAP 蛋白的表达状况。结果 SO 组胰腺组织无明显变化; 肠绒毛形态正常; 1 d、2 d、3 d 肠组织病理评分 (1 : 1 : 1); SO 组血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素水平无明显变化; 肠道通透性为 1 d, (11.08 $\pm$ 4.22)  $\mu$ g/20 ml; 2 d, (8.31 $\pm$ 1.74)  $\mu$ g/20 ml; 3 d, (16.50 $\pm$ 8.83)  $\mu$ g/20 ml。MAP 组胰腺小叶排列松散、水肿, 有少量炎症细胞浸润; 1 d、2 d、3 d 肠组织病理评分分别为 1.500 $\pm$ 0.54、1.88 $\pm$ 0.35、2.13 $\pm$ 0.64; 血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素水平轻微升高, 肠道通透性轻微升高[1 d: (75.39 $\pm$ 34.40)  $\mu$ g/20 ml; 2 d: (123.50 $\pm$ 5.09)  $\mu$ g/20 ml; 3 d: (66.11 $\pm$ 9.48)  $\mu$ g/20 ml]。SAP 组胰腺组织坏死、大量炎症细胞浸润; 肠绒毛出现明显水肿、倒伏、萎缩, 肠上皮细胞坏死、脱落, 1 d、2 d、3 d 肠组织病理评分分别为 3.38 $\pm$ 0.52、4.13 $\pm$ 0.84、5.13 $\pm$ 0.84; SAP 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素水平明显升高; 肠道通透性明显升高[1 d: (379.34 $\pm$ 25.38)  $\mu$ g/20 ml; 2 d: (586.52 $\pm$ 57.35)  $\mu$ g/20 ml; 3 d: (489.76 $\pm$ 105.36)  $\mu$ g/20 ml]; SAP 组大鼠肠上皮细胞 occludin 和  $\alpha$ SNAP 蛋白表达明显下调。结论 急性胰腺炎早期, 特别是 SAP, 常伴随肠黏膜通透性增加、血清 TNF- $\alpha$  和内毒素水平提高, 进一步诱发全身炎症反应综合征 (SIRS) 和多器官功能障碍综合征 (MODS)。肠上皮细胞  $\alpha$ SNAP 表达下调, 进而导致 occludin 表达降低, 进而引起肠黏膜屏障通透性的增加, 进一步诱发 SIRS 和 MODS。

**【关键词】** 胰腺炎; 肠屏障; 大鼠

## Expression of $\alpha$ SNAP in rats with acute pancreatitis and its relationship with intestinal permeability

CHEN Dai-xing, LI Li-li, YAN Jing, ZHOU Yuan, YANG Xin, YOU Yang, LING Xian-long. Department of Gastroenterology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China

Corresponding author: LING Xian-long, Email: lingxianlong@yeah.net

**【Abstract】** **Objective** To investigate the expression of  $\alpha$ SNAP in rats with acute pancreatitis and its relationship with intestinal permeability. **Methods** Seventy-two Sprague Dawley rats were randomized into groups of SO, MAP and SAP. MAP and SAP models of rats was induced by retrograde injection of sodium taurocholate into the biliopancreatic duct in a pressure- and volume-controlled manner over 10 min. All experimental animals were killed in 1 d, 2 d and 3 d for detecting pancreatic pathological condition, change of intestinal villi pathology and intestinal permeability, as well as the expression of occludin and  $\alpha$ SNAP in the intestinal epithelial cells. **Results** Pancreatic pathology of SO group showed that pancreatic tissue was normal; Intestinal villi morphology also was normal; intestinal pathology scores were 1 : 1 : 1; the level of serum TNF- $\alpha$  and endotoxin in the SO rats have no increase; Intestinal permeability in SO group [1 d: (11.08 $\pm$ 4.22) $\mu$ g/20 ml; 2 d: (8.31 $\pm$ 1.74) $\mu$ g/20 ml; 3 d: (16.50 $\pm$ 8.83) $\mu$ g/20 ml]. Pancreatic pathology of MAP group showed that pancreatic lobule arranged loosely edema a few of inflammatory cells infiltrate; intestinal pathology scores were 1.500 $\pm$ 0.54; 1.88 $\pm$ 0.35; 2.13 $\pm$ 0.64; the level of serum TNF- $\alpha$  and endotoxin in the SO rats Moderately elevated; Intestinal permeability in SO group [1 d, (75.39 $\pm$ 34.40) $\mu$ g/20 ml; 2 d, (123.50 $\pm$ 5.09) $\mu$ g/20 ml; 3 d, (66.11 $\pm$ 9.48) $\mu$ g/20 ml]. Pancreatic pathology in SAP group showed that pancreatic tissue necrosis, a large amount of inflammatory cells

infiltrate; Intestinal villi marked edema, lodging, atrophy, intestinal epithelial cells necrosis and abscission in SAP rats; serum TNF- $\alpha$  and endotoxin in the SAP rats markedly elevated; Intestinal permeability in SAP group markedly elevated [1 d: (379.34 $\pm$ 25.38) $\mu$ g/20 ml; 2 d: (586.52 $\pm$ 57.35) $\mu$ g/20 ml; 3 d: (489.76 $\pm$ 105.36) $\mu$ g/20 ml]. Immunofluorescence and Western blot showed that compared with the SO, MAP groups, expression of occluding and  $\alpha$ SNAP in rat intestinal epithelial cells were markedly downregulated in SAP group. **Conclusions** In early stage of acute pancreatitis, particularly SAP, often associated with increased permeability of the intestinal epithelium, and serum levels of TNF- $\alpha$  and endotoxin levels are increased.  $\alpha$ SNAP downregulation in intestinal epithelial cells might reduce occludin expression and cause increased permeability of the intestinal barrier, induced MODS and SIRS.

**【Key words】** Pancreatitis; Intestinal barrier; Rats

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 分为轻症急性胰腺炎 (mild acute pancreatitis, MAP) 和重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP)。作为临床常见的急腹症, SAP 早期胰腺局部损伤的同时往往伴发其他脏器功能障碍。肠道通透性增加、肠源性感染是导致 SAP 死亡的主要原因之一。研究显示, SAP 时大量细胞因子激活及内毒素造成机体毛细血管渗漏, 肠黏膜组织水肿、缺血、坏死, occludin 蛋白等表达下降<sup>[1-2]</sup>, 从而引起肠道屏障功能障碍、肠道细菌移位、内毒素和炎性细胞因子进入血液循环, 诱发和加重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)<sup>[3-4]</sup>。

Occludin 蛋白对维持肠上皮紧密连接基本结构和功能起重要作用<sup>[5]</sup>; 而  $\alpha$ SNAP (alpha soluble NSF-attachment proteins) 为一种新型的膜融合蛋白, 可调节上皮细胞间顶端连接和紧密连接的分解与重建, 进而影响细胞的跨膜电阻, 调节上皮细胞间的通透性<sup>[6]</sup>。因此, 研究 AP 时肠上皮通透性改变及其与 occludin 和  $\alpha$ SNAP 蛋白表达的关系, 对 AP 肠黏膜屏障保护可能具有重要意义。

## 材料和方法

### 一、实验动物与试剂

SD 雄性大鼠购自第三军医大学新桥医院实验动物中心, 体重 220~250 g。牛黄胆酸钠 (sodium taurocholate)、FITC-Dextran (MW, 71200 Da) 购自 Sigma 公司。TNF- $\alpha$ 、内毒素 ELISA 试剂盒购自 R&D 公司。兔抗 occludin 多克隆抗体、鼠抗  $\alpha$ SNAP 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司。兔抗  $\beta$ -actin 多克隆抗体、蛋白提取试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒购自碧云天公司。Alexa<sup>®</sup>488-驴抗兔二抗、Alexa<sup>®</sup>568-羊抗鼠二抗购自 Invitrogen 公司。

### 二、实验分组与模型制备

AP 实验大鼠模型制备参照 Schmidt 等<sup>[7]</sup>方法并改

良: SD 大鼠术前禁食 12 h、禁水 6 h; 1% 戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔麻醉, 无菌条件下上腹正中切口进腹, 于十二指肠内侧见片状分布的胰腺; 找到胆胰管, 将肝门部胆胰管用无损伤动脉夹夹闭。从胆胰管开口十二指肠系膜缘对侧肠壁穿刺插入导管, 导管进入肠腔后对准膨大壶腹中心插入胆胰管约 1 cm, 微量泵以 0.1 ml/min 速度推注 5% 牛黄胆酸钠溶液 1 ml/kg, 观察 10 min 后拔管; 去除动脉夹, 缝合十二指肠穿孔口并关腹, 即为 SAP 组模型。同法以 0.5% 的牛黄胆酸钠溶液制备 MAP 组模型。假手术组 (Sham-operated group, SO) 仅翻动胰腺后关腹。大鼠清醒后自由饮水、禁食。

### 三、观察指标

手术完成后 1 d、2 d、3 d 分别处死 SD 大鼠, 观察指标及方法如下。

1. 胰腺病理改变: 取胰体中部腺组织 5 g, 生理盐水轻柔冲洗, 4% 多聚甲醛溶液固定。苏木精-伊红染色, 病理切片光镜下观察, 按改进后 Schmidt 标准<sup>[7]</sup>进行评分以评价胰腺病理改变。

2. 肠黏膜病理学检查: 取末端回肠 10 cm, 4% 多聚甲醛溶液固定。苏木精-伊红染色, 病理切片 100 倍光镜下观察。小肠黏膜损伤程度评估参照 Chiu's<sup>[8]</sup>评分法: 0 分: 正常黏膜; 1 分: 绒毛顶端上皮间隙增大; 2 分: 上皮层和固有层中度分离; 3 分: 绒毛两侧有大量分离伴有部分绒毛顶端破损; 4 分: 绒毛破损伴有固有层毛细血管大量暴露; 5 分: 固有层破坏、出血及溃疡。每个动物观察 10 个视野, 评分总和为小肠黏膜病理评分。

3. 肠黏膜通透性检测<sup>[9]</sup>: 取距回盲部 4 cm 的末端空肠 5 cm 后, 生理盐水轻柔冲洗。将一端结扎封闭, 另一端灌入 200  $\mu$ l 浓度为 40 mg/ml 的 FITC-Dextran 溶液后结扎。将肠段放入装有 20 ml 生理盐水的小杯中, 37  $^{\circ}$ C 摇动 60 min。将荧光强度的标准曲线设定为 0、10、20、30、40、50  $\mu$ g/ml 梯度, 检测取肠囊外溶液 FITC-Dextran 荧光强度, 换算为  $\mu$ g/ml, 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。

4. 血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素检测：腹主动脉取血，分离血清，ELISA 法检测血清中 TNF- $\alpha$ 、内毒素浓度。

5. 免疫荧光检测肠黏膜 occludin 和  $\alpha$ SNAP 的分布：取距回盲部 9 cm 的空肠 2 cm 后，生理盐水轻柔冲洗，4%多聚甲醛 (pH 7.45) 固定 24 h 后，PBS 漂洗，冰冻切片剂包埋，5  $\mu$ m 连续切片。用 PBS 漂洗 5 min，以 0.1% TritonX-100 透明处理 10 min。PBS 漂洗 3 遍后滴加 6% 正常山羊血清，室温下封闭 1 h。弃去山羊血清后，滴加兔抗 occludin 抗体 (1:50) 和鼠抗  $\alpha$ SNAP 抗体 (1:100)，4  $^{\circ}$ C 冰箱孵育过夜，弃去一抗，PBS 漂洗 3 遍，滴加 Alexa<sup>®</sup>488-驴抗兔二抗 (1:500)，Alexa<sup>®</sup>568-羊抗鼠二抗 (1:500)，37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h，PBS 洗去二抗，DAPI 染核 5 min，蒸馏水漂洗 3 遍，封片，激光共聚焦显微镜下观察 occludin 和  $\alpha$ SNAP 的分布。

6. Western blot 检测  $\alpha$ SNAP 和 occludin 蛋白表达：取各组 SD 大鼠末端空肠，刮取肠黏膜组织。将取新鲜组织适量剪碎，加入预冷的裂解液匀浆，加入抽提试剂，低温离心 30 min，上清即总蛋白。用 BCA 法测定蛋白质浓度后，取 50 mg 蛋白上样，经 10% SDS-PAGE 分离胶电泳后转至 PVDF 膜上，脱脂奶粉封闭；分别加入兔抗 occludin 抗体 (1:1000) 和鼠抗  $\alpha$ SNAP 抗体 (1:1000)，4  $^{\circ}$ C 过夜；用 TBST 洗膜 10 min  $\times$  3 次，加入羊抗兔和羊抗鼠二抗，37  $^{\circ}$ C 微摇 1 h，TBST 洗膜 10 min  $\times$  3 次；曝光后照相，用 Alpha View 软件进行图像分析，以目的条带与  $\beta$ -actin 光密度值之比表示目的蛋白的相对表达量。

#### 四、统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学处理，计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示；两组均数的比较用 *t* 检验；多组均数的比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  有显著性差异。

### 结 果

1. 胰腺病理学检查：光镜下 SO 组的胰腺组织未见明显改变；MAP 组胰腺小叶排列松散、水肿，有少量炎性细胞浸润，3 d 后最为显著；SAP 组胰腺组织大片坏死，血管破裂出血，炎性细胞浸润明显，3 d 只见坏死后留下的胰腺腺泡空泡和少量炎性细胞 (图 1)。胰腺病理评分按改进后 Schmidt 标准的评分：MAP、SAP 组与 SO 组比较在 1 d、2 d、3 d 均有统计学差异 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。

2. 肠黏膜病理学检查：光镜下 SO 组肠黏膜未见明显损伤；MAP 组肠绒毛轻微缩短，其他未见明显改

变；SAP 组肠黏膜内炎症细胞浸润，间质水肿，绒毛形态不规则，黏膜糜烂坏死，炎性渗出物及脱落坏死的肠黏膜上皮。随着病程进展，以 3 d 最为显著 (图 2)。肠组织病理评分按 Chiu's 标准的评分：MAP、SAP 组与 SO 组比较在 1 d、2 d、3 d 均有统计学差异 ( $P < 0.05$ ，表 2)。

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

组别	鼠数	1 d	2 d	3 d
SO 组	8	1.88 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	2.09 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>	2.00 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>
MAP 组	8	4.86 $\pm$ 0.61 <sup>ab</sup>	5.06 $\pm$ 0.59 <sup>ab</sup>	5.35 $\pm$ 0.62 <sup>ab</sup>
SAP 组	8	10.63 $\pm$ 0.51	12.95 $\pm$ 0.39	13.91 $\pm$ 0.45
<i>F</i> 值		655.2	1246	896.3
<i>P</i> 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注：与 SO 组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与 SAP 组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$

表 2 各组大鼠肠黏膜病理 Chiu's 标准评分 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	1 d	2 d	3 d
SO 组	8	1 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
MAP 组	8	1.50 $\pm$ 0.54 <sup>ab</sup>	1.88 $\pm$ 0.35 <sup>ab</sup>	2.13 $\pm$ 0.64 <sup>ab</sup>
SAP 组	8	3.38 $\pm$ 0.52	4.13 $\pm$ 0.84	5.13 $\pm$ 0.84
<i>F</i> 值		67.97	75.93	98.56
<i>P</i> 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注：与 SO 组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与 SAP 组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$

3. 肠黏膜通透性：MAP 组和 SAP 组肠道通透性明显增加，MAP 组和 SAP 组在 2 d 的通透性达到顶峰，其中 SAP 组比 MAP 组增加更为显著 ( $P < 0.05$ ，表 3)。

表 3 各组大鼠肠黏膜屏障对 FITC-Dextran 的通透性 ( $\mu$ g/20 ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	1 d	2 d	3 d
SO 组	8	11.08 $\pm$ 4.22 <sup>b</sup>	8.31 $\pm$ 1.74 <sup>b</sup>	16.50 $\pm$ 8.83 <sup>b</sup>
MAP 组	8	75.39 $\pm$ 34.40 <sup>ab</sup>	123.50 $\pm$ 5.09 <sup>ab</sup>	66.11 $\pm$ 9.48 <sup>ab</sup>
SAP 组	8	379.34 $\pm$ 25.38	586.52 $\pm$ 57.35	489.76 $\pm$ 105.36
<i>F</i> 值		628.4	846.8	180.1
<i>P</i> 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注：与 SO 组比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；与 SAP 组比较，<sup>b</sup> $P < 0.05$

4. 血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素检测：MAP 组和 SAP 组血清 TNF- $\alpha$ 、内毒素浓度明显增加，SAP 组更加明显。血清 TNF- $\alpha$  水平在 2 d 时达到顶峰，3 d 时相对降低；而 SAP 组的血清内毒素水平在 1 d 即达到顶峰，随之开始降低，各组之间在各时相点均有统计学差异 ( $P < 0.05$ ，表 4、5)。

5. 免疫荧光检测 occludin 和  $\alpha$ SNAP 分布：SO 组肠绒毛形态完好，肠上皮的 occludin 和  $\alpha$ SNAP 表达无明显改变；MAP 组肠绒毛轻微缩短，3 d 时肠上皮的 occludin 和  $\alpha$ SNAP 表达减弱；SAP 组肠绒毛形态不规

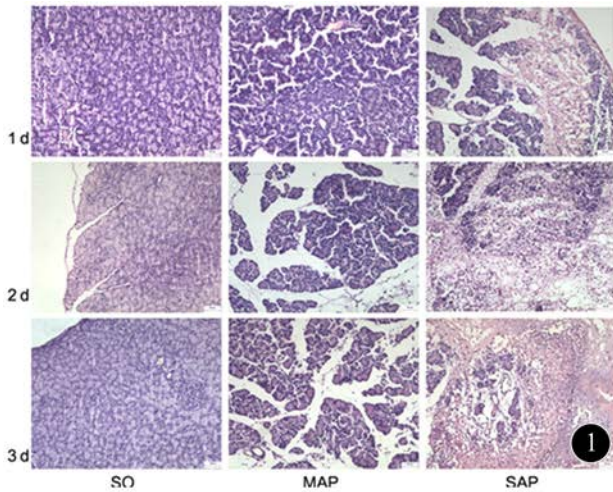


图1 急性胰腺炎大鼠胰腺病理改变 (HE ×200)

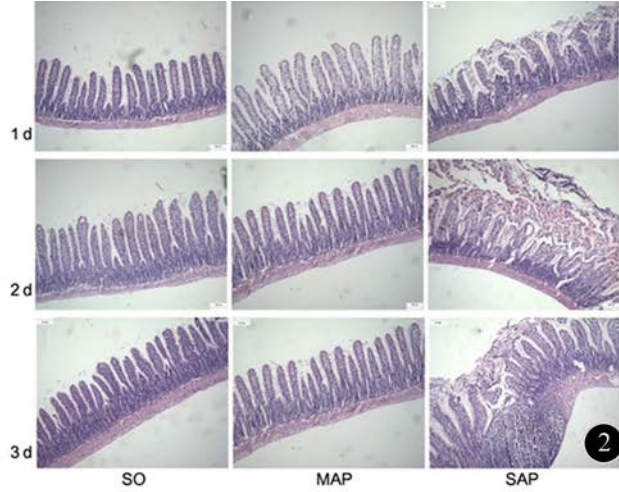


图2 急性胰腺炎大鼠肠黏膜病理改变 (HE ×100)

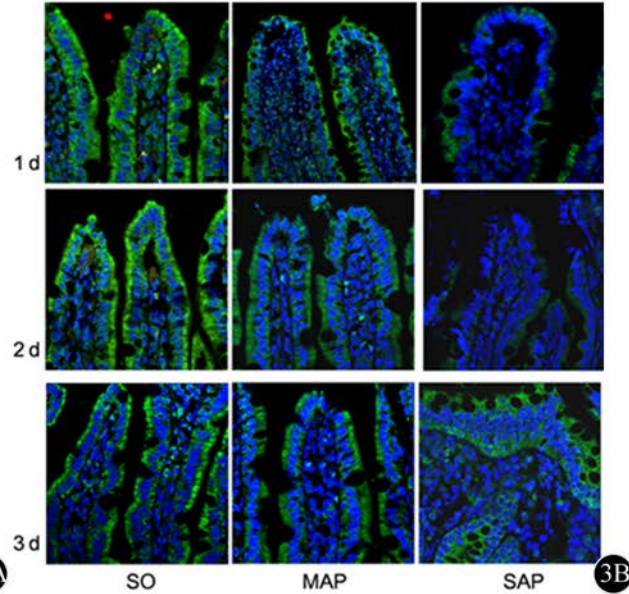
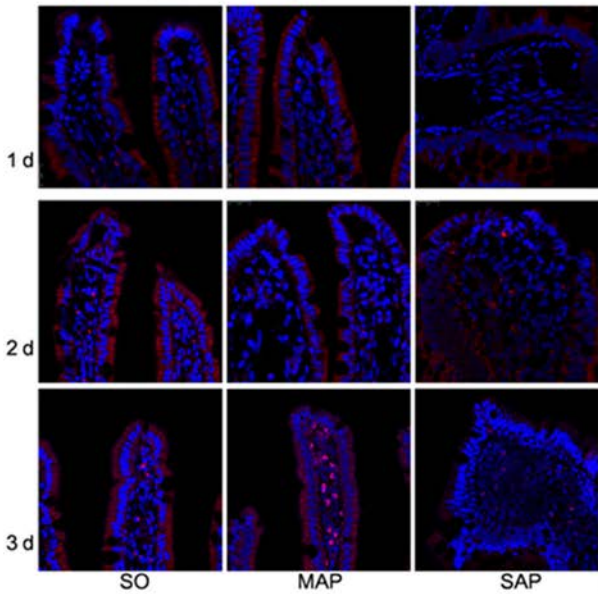


图3 免疫荧光检测肠黏膜occludin和αSNAP的表达与分布。3A为occludin蛋白，3B为αSNAP蛋白(共聚焦显微镜，20 μm)

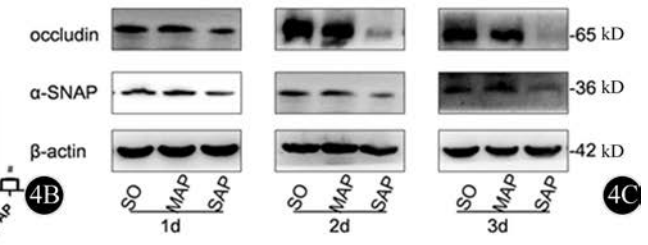
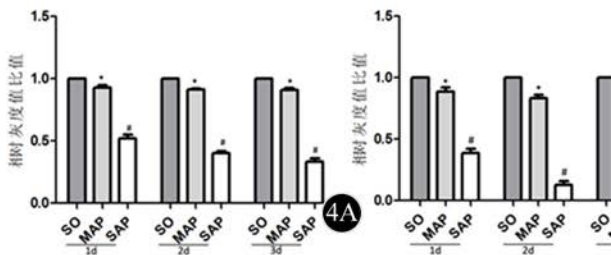


图4 肠上皮细胞occludin和αSNAP的表达。4A为western blot检测结果；4B、4C分别为occludin和αSNAP蛋白相对灰度值比值

表4 各组大鼠血清 TNF-α 水平 (pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	1 d	2 d	3 d
SO 组	8	11.59±5.55 <sup>b</sup>	17.64±5.75 <sup>b</sup>	14.11±4.83 <sup>b</sup>
MAP 组	8	55.43±9.62 <sup>ab</sup>	86.77±22.31 <sup>ab</sup>	38.26±10.93 <sup>ab</sup>
SAP 组	8	174.76±35.50	203.96±60.54	119.02±29.20
F 值		123.6	50.73	72.77
P 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注：与 SO 组比较，<sup>a</sup>P<0.05；与 SAP 组比较，<sup>b</sup>P<0.05

表5 各组大鼠血清内毒素水平 (pg/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	1 d	2 d	3 d
SO 组	8	9.53±7.92 <sup>b</sup>	8.87±4.05 <sup>b</sup>	8.65±5.03 <sup>b</sup>
MAP 组	8	54.36±11.43 <sup>a</sup>	67.98±8.86 <sup>ab</sup>	88.97±9.06 <sup>ab</sup>
SAP 组	8	208.15±24.47	197.51±22.99	137.18±31.70
F 值		355.3	357.6	90.52
P 值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注:与SO组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与SAP组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。则,明显萎缩,肠上皮细胞坏死、脱落,occludin和 $\alpha$ SNAP表达明显减弱(图3)。

6. Western blot检测肠上皮组织occludin和 $\alpha$ SNAP表达:MAP组较SO组肠上皮细胞的occludin和 $\alpha$ SNAP表达水平轻微降低;而SAP组与SO组、MAP组比较,肠上皮细胞的occludin和 $\alpha$ SNAP表达水平明显降低,以3d时最为显著。见图4。

## 讨 论

急性胰腺炎为临床常见重症急症,特别是SAP,死亡率约20%<sup>[10-11]</sup>。急性胰腺炎早期肠黏膜屏障损伤、肠道细菌易位,进而引发肠源性感染和全身炎性反应是死亡的主要原因。肠黏膜屏障由机械屏障、免疫屏障、化学屏障和生物屏障四部分组成,其中机械屏障能有效地阻止肠腔内细菌、毒素、炎症因子等移位<sup>[12]</sup>,对维持肠黏膜屏障结构和功能有重要作用。

本研究结果显示,急性胰腺炎时胰腺组织损伤的程度与肠黏膜组织损伤的程度是平行的。特别是SAP时,肠黏膜通透性增加,血清内毒素水平升高。这与Yasuda、Vasilescu等<sup>[13-14]</sup>的报道结果是一致的。SAP时产生的TNF- $\alpha$ 增加,加重肠屏障损伤,导致肠道通透性升高,进而引起血清内毒素升高,进一步诱发SIRS和MODS。

与肠黏膜屏障关系最为密切的机械屏障是由肠上皮细胞间的紧密连接构成。紧密连接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,能被多种因素所调控<sup>[15]</sup>。Occludin蛋白作为紧密连接最重要的蛋白质分子之一,其与胞质中ZO1等蛋白结合形成紧密连接的基本结构,相邻上皮细胞通过它进行连接,封闭细胞间隙。它的功能状态对上皮/内皮通透性变化起着重要调控作用<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,当SAP组肠黏膜组织受损,肠屏障通透性增加,相应地肠上皮细胞的occludin表达减少,提示:SAP时肠上皮occludin表达下调可能是肠道通透性增加的因素之一<sup>[17]</sup>。但occludin蛋白在肠黏膜屏障损害中的作用及是否有其他重要的调节途径尚需进一步探讨<sup>[18]</sup>。

$\alpha$ SNAP(35 kD)是Clary等发现的一个新型膜融合蛋白<sup>[19]</sup>,是SNARE调节囊泡融合的关键调控因子<sup>[20-21]</sup>,在各种SNARE复合体的分解和回收中起重要作用<sup>[22]</sup>。SNARE蛋白与上皮细胞间连接形成和顶端-基底细胞间极性的建立相关<sup>[23-24]</sup>。Naydenov等<sup>[6]</sup>的研究显示, $\alpha$ SNAP调节上皮细胞间顶端连接和紧密连接的分解与重建,进而影响细胞的跨膜电阻和上皮细胞间的通透性。本研究发现,在SAP组中,随着肠上皮

细胞的 $\alpha$ SNAP表达减少,肠黏膜屏障的通透性随之升高,且与occludin的表达变化是平行的。提示:SAP肠上皮细胞 $\alpha$ SNAP表达降低可能通过调节occludin的表达来影响肠黏膜屏障功能。

通过对大鼠急性胰腺炎模型的研究,结果显示:急性胰腺炎早期,特别是SAP,常伴随肠黏膜通透性增加、血清TNF- $\alpha$ 和内毒素水平提高,进一步诱发SIRS和MODS。肠上皮细胞 $\alpha$ SNAP表达下调,进而导致occludin表达降低,可能是引起肠黏膜屏障通透性增加的机制之一。

## 参 考 文 献

- [1] Asanuma Y, Furuya T, Tanaka J, et al. The application of immobilized polymyxin B fiber in the treatment of septic shock associated with severe acute pancreatitis: report of two cases. *Surg Today*, 1999, 29: 1177-1182.
- [2] Furuya T, Soeno T, Komatsu M. Strategy for bacterial translocation in acute pancreatitis. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, 2004, 101: 502-509.
- [3] Garside P, Millington O, Smith KM. The anatomy of mucosal immune responses. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1029: 9-15.
- [4] Harari Y, Weisbrodt NW, Moody FG. Ileal mucosal response to bacterial toxin challenge. *J Trauma*, 2000, 49: 306-313.
- [5] Musch MW, Walsh-Reitz MM, Chang EB. Roles of ZO-1, occludin, and actin in oxidant-induced barrier disruption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290: G222-231.
- [6] Naydenov NG, Brown B, Harris G, et al. A membrane fusion protein  $\alpha$ SNAP is a novel regulator of epithelial apical junctions. *PLoS One*, 2012, 7: e34320.
- [7] Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann Surg*, 1992, 215: 44-56.
- [8] Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg*, 1970, 101: 478-483.
- [9] Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, et al. Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res*, 2006, 135: 18-26.
- [10] Dang SC, Zhang JX, Qu JG, et al. Dynamic changes of IL-2/IL-10, sFas and expression of Fas in intestinal mucosa in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 2246-2250.
- [11] Beger HG, Rau BM. Severe acute pancreatitis: Clinical course and management. *World J Gastroenterol*, 2007, 13: 5043-5051.
- [12] Nusrat A, Parkos CA, Verkade P, et al. Tight junctions are membrane microdomains. *J Cell Sci*, 2000, 113: 1771-1781.
- [13] Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, et al. Protective effect of caspase inhibitor on intestinal integrity in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res*, 2007, 138: 300-307.
- [14] Vasilescu C, Herlea V, Buttenschoen K, et al. Endotoxin translocation in two models of experimental acute pancreatitis. *J Cell Mol Med*, 2003, 7: 417-424.
- [15] Forster C. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochem Cell Biol*, 2008, 130: 55-70.
- [16] Forster C, Silwedel C, Golenhofen N, et al. Occludin as direct target for glucocorticoid-induced improvement of blood-brain barrier properties in a murine *in vitro* system. *J Physiol*, 2005, 565: 475-486.
- [17] Xia XM, Wang FY, Wang ZK, et al. Emodin enhances alveolar epithelial barrier function in rats with experimental acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 2010, 16: 2994-3001.

- [18] Feldman GJ, Mullin JM, Ryan MP. Occludin: structure, function and regulation. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 883-917.
- [19] Clary DO, Griff IC, Rothman JE. SNAPs, a family of NSF attachment proteins involved in intracellular membrane fusion in animals and yeast. *Cell*, 1990, 61: 709-721.
- [20] Hong W. SNAREs and traffic. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1744: 493-517.
- [21] Malsam J, Kreye S, Sollner TH. Membrane fusion: SNAREs and regulation. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65: 2814-2832.
- [22] Andreeva AV, Kutuzov MA, Voyno-Yasenetskaya TA. A ubiquitous membrane fusion protein alpha SNAP: a potential therapeutic target for cancer, diabetes and neurological disorders? *Expert Opin Ther Targets*, 2006, 10: 723-733.
- [23] Nejsum LN, Nelson WJ. A molecular mechanism directly linking E-cadherin adhesion to initiation of epithelial cell surface polarity. *J Cell Biol*, 2007, 178: 323-335.
- [24] Sharma N, Low SH, Misra S, et al. Apical targeting of syntaxin 3 is essential for epithelial cell polarity. *J Cell Biol*, 2006, 173: 937-948.

(收稿日期: 2013-10-08)

(本文编辑: 马超)

陈代兴, 李力力, 颜婧, 等. 急性胰腺炎大鼠肠上皮细胞  $\alpha$ SNAP 表达及其与肠黏膜通透性的关系 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7 (22): 10129-10134.



中华医学会