

# 雪菊中一种二氢黄酮醇糖苷对小鼠酒精性急性胰腺炎的作用研究\*

姚林波<sup>1</sup>, 夏庆<sup>1</sup>, 杜丹<sup>2△</sup>

1. 四川大学华西医院 中西医结合科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 华西-华盛顿线粒体与代谢研究中心(成都 610041)

**【摘要】** 目的 探讨雪菊中黄酮类化合物(2R,3R)-二氢槲皮素 7-O-β-D-吡喃葡萄糖(C1)可否减轻脂肪酸乙醇诱导的小鼠酒精性急性胰腺炎(FAEE-AP)的损伤。方法 将30只健康SPF级小鼠随机分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组及高剂量组,每组6只。除对照组外,其他组小鼠均采用2次腹腔注射1.75 g/kg乙醇和200 mg/kg棕榈油酸的混合物,诱导酒精性急性胰腺炎模型。低、中、高3个剂量组在第0 h、4 h和8 h分别予以12.5、25、50 mg/kg C1腹腔注射。造模后24 h,检测其血清淀粉酶、脂肪酶和白细胞介素(IL)-6水平,胰腺组织胰蛋白酶活性,胰腺和肺组织髓过氧化物酶(MPO)活性,HE染色观察胰腺组织病理学改变,并进行免疫组织化学染色检测胰腺组织中核因子-E2相关受体2(Nrf2)的表达。结果 模型组胰腺组织病理评分,血清淀粉酶、脂肪酶和胰腺胰蛋白酶活性,血清IL-6水平、胰腺和肺的MPO活性均高于对照组( $P < 0.01$ )。与模型组相比,低剂量(12.5 mg/kg)组的胰腺组织病理明显改善,评分差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且血清淀粉酶、脂肪酶和胰腺胰蛋白酶活性,血清IL-6水平、胰腺和肺的MPO活性降低( $P < 0.05$ ),并能上调胰腺组织中Nrf2表达。结论 12.5 mg/kg C1能够通过增强Nrf2的表达,下调炎症因子IL-6,减轻FAEE-AP的损伤。

**【关键词】** 急性胰腺炎 酒精性胰腺炎 雪菊 黄酮 核因子-E2相关受体2

**Protective Effect of a Dihydroflavonol Glycoside from *Coreopsis tinctoria* Nutt. in Mouse Model of Alcoholic Acute Pancreatitis** YAO Lin-bo<sup>1</sup>, XIA Qing<sup>1</sup>, DU Dan<sup>2△</sup>. 1. Department of Integrated Traditional and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China-Washington Mitochondria and Metabolism Centre, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: dudan1520@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the protective effect of (2R, 3R) - dihydroquercetin 7-O-β-D-glucopyranose (C1) extracted from *Coreopsis tinctoria* Nutt. in a mouse model of alcoholic acute pancreatitis (FAEE-AP) induced by fatty acid ethyl ester (FAEE). **Methods** The 30 healthy SPF mice were randomly divided into control group, model group, low dose group, middle dose group and high dose group, 6 in each group. Alcoholic pancreatitis was induced by ethanol and palmitoleic acid administration (1.75 g/kg ethanol, 200 mg/kg palmitoleic acid, 2 times peritoneal injections). The three treatment groups were given C1 (0 h, 4 h, 8 h) at the dose of 12.5, 25 and 50 mg/kg, respectively. After 24 h of molding, the serum amylase, lipase and IL-6 levels were detected. The trypsin level in pancreatic tissue and myeloperoxidase (MPO) level in pancreatic and lung tissue were detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of pancreatic tissue and immunohistochemical (IHC) staining was used to detect the expression of nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) in pancreatic tissue. **Results** The pancreatic histopathological scores, serum amylase and lipase activity, trypsin level in pancreatic tissue, serum IL-6 level, MPO level of pancreas and lung were significantly higher in the model group than in the control group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the pancreatic histopathologies of the low dose group was significantly improved ( $P < 0.05$ ), as well as the serum amylase and lipase activity, trypsin level of pancreas, serum IL-6 level, the pancreas and the lung's MPO level decreased significantly ( $P < 0.05$ ), and up-regulate that expression of Nrf2 in pancreatic tissue. **Conclusion** 12.5 mg/kg of (2R, 3R) -dihydroquercetin 7-O-β-D-glucopyranose (C1) improved the expression of Nrf2, reduced the expression of inflammatory factor IL-6, and protected acute pancreatitis caused by FAEE.

**【Key words】** Acute pancreatitis Alcoholic pancreatitis *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flavonoid Nuclear factor-erythroid 2 related factor 2

\* 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(No. 18PJ106)和政府间国际科技创新合作重点专项(No. 2016YFE0101800)资助

△ 通信作者, E-mail: dudan1520@163.com

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是最常见的胰腺外分泌和消化疾病之一,病因以胆源性、酒精性和高甘油三酯血症为主<sup>[1]</sup>,按照《2012 亚特兰大国际共识的急性胰腺炎分类和定义的修订》,AP 可以分为轻症、中度重症及重症<sup>[2]</sup>。其中重症 AP 起病急、发展快、病情重、并发症多,早期可出现单个或多器官功能衰竭,总体病死率高达 30%~50%<sup>[2]</sup>。AP 发病机制目前尚未完全阐明,报道的相关发病机制有胰酶自身消化学说、炎症因子学说、细胞凋亡学说、肠道菌群易位学说、钙超载学说、线粒体功能障碍、微循环障碍等<sup>[3]</sup>,其中胰酶自身消化学说、钙超载学说、线粒体功能障碍、微循环障碍都和氧化应激息息相关<sup>[4-6]</sup>。目前临床上 AP 的治疗包括禁食、肠外营养、静脉补液、抑制胰腺分泌、预防和治疗感染以及中药治疗等,尚无特效药物<sup>[7]</sup>。

雪菊,又名两色金鸡菊,为菊科金鸡菊属(*Coreopsis*)植物,味甘,性平,有清热解毒之功效,作为茶饮可用于治疗糖尿病<sup>[8]</sup>。现代植物化学和药理学研究表明雪菊中含有黄酮类、皂甙类、炔类、萜类、苯丙素类、甾类及挥发油类等化学成分<sup>[9]</sup>,具有抗氧化、降血糖、降血脂、抗过敏、抗癌、抗炎、抗菌以及抗病毒等功效<sup>[10-12]</sup>。我们前期研究<sup>[13]</sup>已经证实雪菊中的黄酮类化合物(2R,3R)-二氢槲皮素 7-O- $\beta$ -D 吡喃葡萄糖(C1)可通过调控核因子-E2 相关受体 2/抗氧化反应元件(nuclear factor-erythroid 2 related factor2/antioxidant response element, Nrf2/ARE)信号通路减轻雨蛙素和胆酸诱导的 AP 小鼠损伤。为了进一步探索该化合物治疗 AP 的机制,本研究选取了与氧化应激相关的脂肪酸乙酯(Fatty acid ethyl ester, FAEE)诱导的小鼠酒精性 AP 模型<sup>[14]</sup>,考察了不同剂量 C1 对其损伤的减轻作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

健康的雄性 Balb/c 小鼠 30 只,体质量 25~30 g,SPF 级,购自成都达硕实验动物有限公司,许可证:SCXK(川)2015-030。于四川大学实验动物中心动物房分笼饲养,恒温(25 $\pm$ 2)℃且照明控制(12 h 白天/黑夜循环),自由摄食、饮水,适应性喂养 1 周后正式开始实验。本实验由四川大学实验动物中心伦理委员会审核通过(伦理号 2017065A),所有的动物实验及相关操作均按照学校和国家标准执行。

### 1.2 药物

雪菊(维吾尔自治区药用植物研究所的研究基地);乙醇(Sigma, USA);棕榈油酸(Cayman Chemical, USA);生理盐水(四川科伦)。

### 1.3 主要试剂与仪器

BCA 蛋白浓度检测试剂盒(Thermo Fisher Scientific, USA);淀粉酶和脂肪酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);小鼠白细胞介素(IL)-6 ELISA 试剂盒(Roche, Switzerland);兔抗小鼠 Nrf2 单克隆抗体(Abcam, UK);蛋白酶抑制剂(Roche, Switzerland);底物 Boc-Gln-Ala-Arg-MCA(杭州中肽生化有限公司);十六烷基三甲基溴化铵(Sigma, USA);3,3',5,5'-四甲基联苯胺(Sigma, USA);3-吗啉丙磺酸(Sigma, USA);牛血清白蛋白(Sigma, USA);双氧水(上海碧云天生物科技有限公司);蔗糖(Sigma, USA);甲醛(Sigma, USA)。

漩涡振荡器 MX-F(北京大龙兴创实验仪器有限公司);磁力搅拌器 GL-3250A(海门其林贝尔仪器制造有限公司);均质匀浆器 Pro 200(Bio-Gen, USA);pH 计(上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司);低温离心机(Eppendorf, Germany);Synergy Mx 多功能酶标仪(BioTek, USA);AX10 imager A2/AX10 cam HRC 显微镜(Zeiss, Germany)。

### 1.4 造模及干预方法

按照团队既往研究方法<sup>[13]</sup>制备 C1,并用生理盐水进行配制。30 只雄性 Balb/c 小鼠(25~30 g)随机分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组及高剂量组,每组 6 只。实验开始前禁食 12 h,制作小鼠酒精性 AP 模型<sup>[14]</sup>,即先于腹腔注射部位注射 200  $\mu$ L 生理盐水,然后立即给予 1.75 g/kg 乙醇和 200 mg/kg 棕榈油酸的混合物腹腔注射,1 h 后再重复注射 1 次。第一次注射时记为 0 h。除对照组外,其它组小鼠均采用上述造模方法。对照组给予腹腔注射与受试药物等量的生理盐水;低、中、高剂量组在 0 h、4 h 和 8 h 时分别予以腹腔注射 12.5、25 和 50 mg/kg 的 C1;模型组小鼠在 0 h、4 h 和 8 h 注射与受试药物等量的生理盐水。在 24 h 时取材用于后续检测。

### 1.5 检测指标及方法

**1.5.1 胰腺组织病理 HE 染色及免疫组织化学染色** 观察 胰腺组织浸泡于体积分数为 10%多聚甲醛固定后石蜡包埋、切片后行苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin, HE)染色。由两位病理学家双盲

对 HE 染色胰腺组织在光学显微镜下进行形态学观察,切片置于显微镜下观察,先于低倍镜( $\times 4$ )下观察片子的整体情况,然后在高倍镜( $\times 200$ )下随机挑选 10 个具有代表性的部位成像参照文献中评分标准<sup>[15]</sup>分别从水肿、炎性浸润、坏死 3 个方面进行评分,按照严重程度分为 0~3 分。免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)染色观察 Nrf2 蛋白在胰腺组织中的表达,一抗采用兔抗小鼠单克隆抗体,稀释比例为 1:100,二抗为羊抗兔多克隆抗体,稀释比例为 1:1 000。IHC 染色切片观察同上,胞浆呈棕黄色为阳性,统一观察后,截取有代表性的视野。

### 1.5.2 血清胰淀粉酶、脂肪酶和 IL-6 水平检测

将血清标本室温融化并混匀,取 10  $\mu$ L 血清用超纯水稀释 200 倍,采用商业试剂盒测定血清胰淀粉酶、脂肪酶,严格按照试剂盒说明书进行操作。剩余血清采用双抗体夹心 ELISA 法测定血清 IL-6,严格按照试剂盒说明书进行操作。

### 1.5.3 胰蛋白酶活性测定

将需测定胰蛋白酶的胰腺组织加入样本缓冲液中匀浆及离心,详细步骤如文献描述<sup>[16]</sup>,检测上清中的胰蛋白酶活性并采用 BCA 法测定蛋白浓度。

### 1.5.4 胰腺与肺组织内髓过氧化物酶检测

将需

测定髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)的胰腺和肺组织加入磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)匀浆及离心,按照文献中报道的方法进行操作<sup>[17]</sup>,检测上清中的 MPO 活性并采用 BCA 法测定蛋白浓度。

## 1.6 统计学方法

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,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胰腺组织病理和免疫组化结果

如图 1 所示,对照组胰腺染色均匀,胰腺小叶、腺体和胰岛结构清晰,腺泡结构完整,轮廓清晰,核仁及胞浆成分着色清楚,无细胞水肿、炎症细胞浸润、出血和腺泡细胞坏死改变;模型组小鼠可见腺泡细胞肿大,小叶间隔、叶间隔增宽。导管及间质有大量炎性细胞浸润,以中性粒细胞为主。正常组织结构被破坏、腺泡细胞大量坏死,主要出现在胰腺边缘,且部分视野可见原有结构不清,与雨蛙素模型的弥漫性坏死不同。各剂量组小鼠在腹腔给予不同剂量的 C1 后,胰腺水肿、腺泡坏死及炎性细胞浸润均较模型组有不同程度减轻,其中对胰腺组织坏死的保护效果最佳。

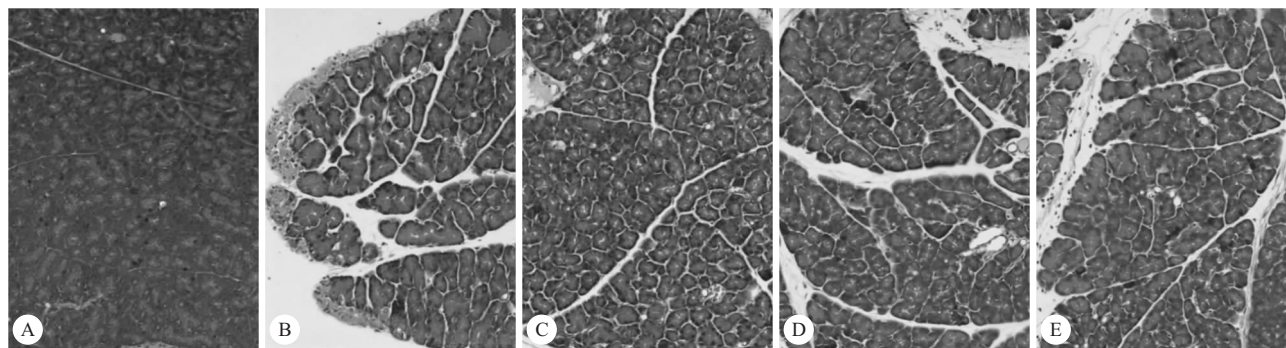


图 1 各组小鼠胰腺组织病理变化情况。HE  $\times 200$

Fig 1 Pathological changes of pancreas of mice in each group. HE  $\times 200$

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group; D: 25 mg/kg C1 group; E: 50 mg/kg C1 group

结合前期研究<sup>[13]</sup>和病理结果,低剂量组疗效最佳,故我们选取对照组、模型组、低剂量组进行免疫组化染色。如图 2 所示,胞浆内呈棕黄色为阳性,对照组切片整体呈淡蓝色染色,局部可见极少量散在黄色染色;模型组黄色染色相比对照组增多;低剂量组相比对照组和模型组,棕黄色染色明显增多且浓度明显增强,可见切片整体呈弥漫性棕黄色染色。

评分结果如图 3 所示,模型组的病理评分在水肿、炎性浸润、坏死和总分方面均高于对照组( $P <$

0.01)。给予不同剂量 C1 治疗后,均改善了胰腺的病理评分,其中低剂量和中剂量组与模型组病理总分差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而高剂量组与模型组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在改善水肿方面,3 个剂量组与模型组差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );在改善炎症方面,3 个剂量组与模型组差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),且效果呈浓度依赖性;而在改善坏死方面,低剂量组和中剂量组与模型组差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),但高剂量组与模型

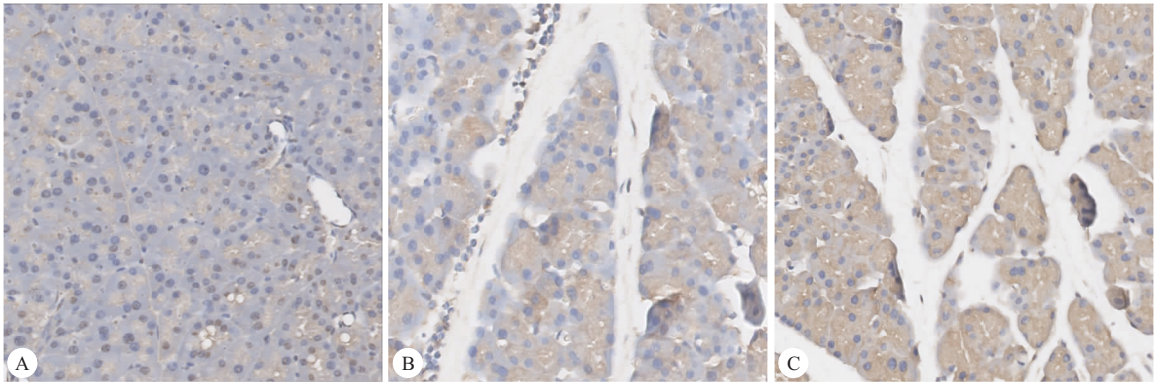


图 2 各组小鼠胰腺 Nrf2 免疫组化染色结果。IHC ×200

Fig 2 Immunohistochemical staining results of Nrf2 in pancreas of mice in each group. IHC ×200

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group

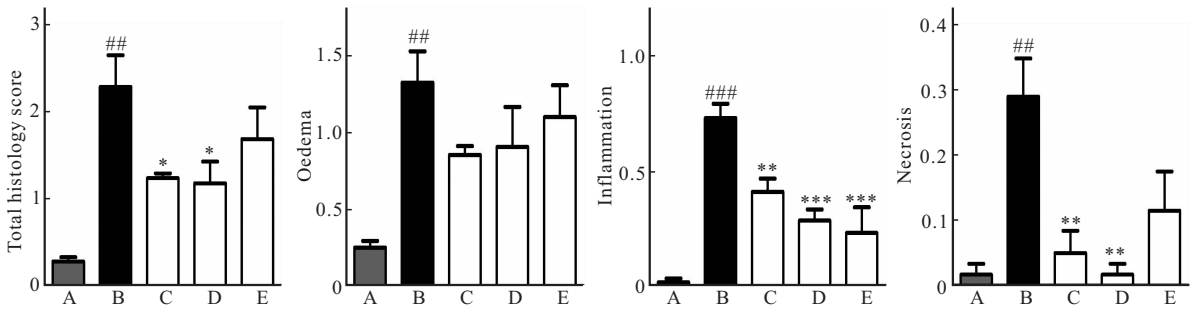


图 3 各组小鼠胰腺组织病理评分情况

Fig 3 Pathological score of pancreas of mice in each group: compared with the control group

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group; D: 25 mg/kg C1 group; E: 50 mg/kg C1 group. <sup>##</sup> $P < 0.01$ , <sup>###</sup> $P < 0.001$ , vs. control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ , vs. model group

组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.2 血清淀粉酶、脂肪酶水平测定结果

如图4所示,模型组血清淀粉酶和脂肪酶水平

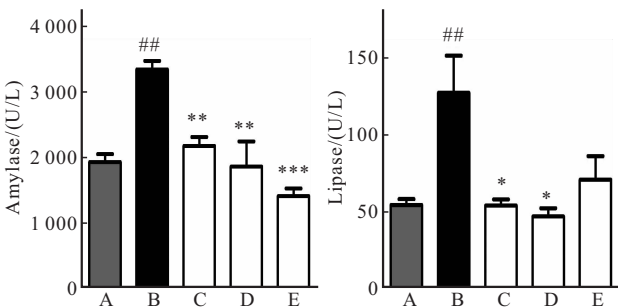


图 4 各组小鼠胰腺血清淀粉酶、脂肪酶水平比较

Fig 4 Comparison of serum amylase and lipase levels of mice in each group: compared with the control group

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group; D: 25 mg/kg C1 group; E: 50 mg/kg C1 group. <sup>##</sup> $P < 0.01$ , vs. control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ , vs. model group

明显增高且高于对照组( $P < 0.01$ )。分别给予低、中、高剂量的 C1 治疗后,各剂量组血清淀粉酶水平较模型组明显降低( $P < 0.01$ );低剂量组和中剂量组的脂肪酶水平较模型组降低( $P < 0.05$ ),而高剂量组的脂肪酶水平虽然较模型组降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.3 胰腺组织中胰蛋白酶和血清 IL-6 测定结果比较

如图 5 所示,模型组胰腺组织胰蛋白酶水平高于对照组( $P < 0.01$ )。分别予以低、中、高剂量的 C1 治疗后,低剂量组和中剂量组的胰蛋白酶水平较模型组降低( $P < 0.05$ ),而高剂量组的胰蛋白酶水平与模型组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。其中,低剂量 C1 治疗效果最为明显。

模型组血清 IL-6 水平高于对照组( $P < 0.01$ )。分别予以低、中、高剂量的 C1 治疗后,低剂量组和中剂量组的 IL-6 水平较模型组降低( $P < 0.05$ ),而高剂量组的 IL-6 水平与模型组比较差异无统计学

意义 ( $P > 0.05$ )。

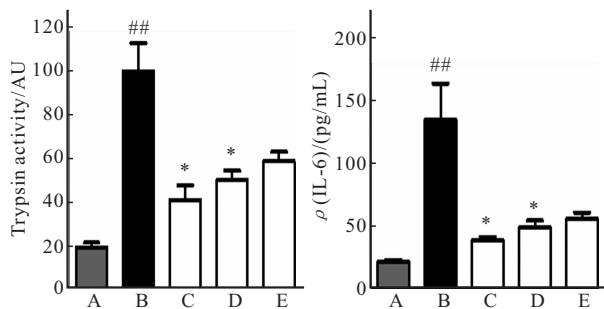


图 5 各组小鼠胰蛋白酶和 IL-6 水平比较

Fig 5 Comparison of trypsin and IL-6 levels of mice in each group

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group; D: 25 mg/kg C1 group; E: 50 mg/kg C1 group. ##  $P < 0.01$ , vs. control group; \*  $P < 0.05$ , vs. model group

## 2.4 胰腺和肺组织中 MPO 水平测定

如图 6 所示, 模型组的胰腺组织和肺组织中 MPO 水平均高于对照组 ( $P < 0.01$ )。分别予以低、中、高剂量的 C1 治疗后, 各组的胰腺组织和肺组织中 MPO 水平较模型组降低 ( $P < 0.01$ )。综合来看, 低剂量 C1 降低胰腺和肺组织 MPO 效果最为明显。

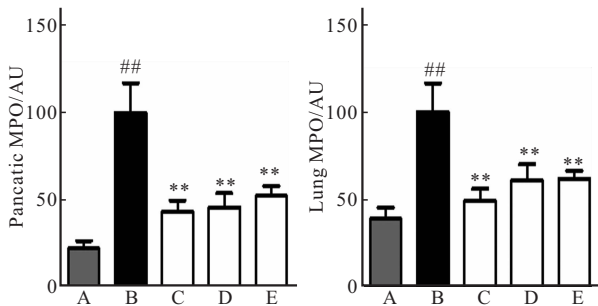


图 6 各组小鼠胰腺和肺组织中 MPO 比较

Fig 6 Comparison of MPO in pancreas and lung tissues of mice in each group

A: Control group; B: Model group; C: 12.5 mg/kg C1 group; D: 25 mg/kg C1 group; E: 50 mg/kg C1 group. ##  $P < 0.01$ , vs. control group; \*\*  $P < 0.01$ , vs. model group

## 3 讨论

目前 AP 的动物模型有雨蛙素模型、胆酸模型、酒精模型、氨基酸模型、饮食诱导以及免疫介导的模型等<sup>[18]</sup>, 而针对 AP 的病因建立的动物模型仅有胆酸模型和酒精模型<sup>[19]</sup>。胆酸模型通过胰管逆行注射胆酸, 模拟胆源性 AP 发生机制, 诱导 AP 发生; 而酒精性 AP 模型主要通过慢性酒精暴露或酒精联合棕榈油酸(即 FAEE 模型)诱导, 现有研究认为酒

精毒性代谢产物的生成, 导致细胞内消化酶及溶酶体酶含量升高, 使细胞处于氧化应激状态而诱发 AP<sup>[20]</sup>。

氧化应激在 AP 及其并发症的发生发展中发挥着重要作用<sup>[21]</sup>。Nrf2 通路已被证实为最重要的内源性抗氧化通路之一<sup>[22]</sup>, Nrf2 启动是细胞保护的“金钥匙”, Nrf2 激活后, 易位入核, 与 ARE 结合, 刺激下游大量的编码解毒酶和抗氧化酶的基因转录, 调节许多细胞保护蛋白质的表达, 产生层叠效应, 包括抗氧化和谷胱甘肽生成酶, 调节还原型谷胱甘肽合成, 发挥抑制炎症反应、抗凋亡、清除活性氧、抗氧化的保护作用<sup>[23]</sup>, 近年该通路与 AP 及并发症的相关性受到越来越多的关注<sup>[24-25]</sup>。

采用抗氧化的方法治疗 AP 已有较多研究, 但目前没有获得实质性进展, 如最近的一项 Meta 分析结果显示, 静脉应用抗氧化剂治疗并不能降低 AP 患者的病死率和减少住院天数<sup>[26]</sup>。这与抗氧化剂的用量、时间以及体内效果监测都存在较大关系, 还有待深入探讨。但不可否认的是, 天然产物中存在很多具有抗氧化作用的化合物, 以黄酮类化合物为代表的酚类化合物, 如木犀草素、圣草酚糖苷、大黄素、姜黄素等都对 AP 具有保护作用<sup>[27-30]</sup>。因此, 从传统中药中发现抗氧化活性的化学成分, 选用合适的剂量, 能够为 AP 的治疗起到促进作用。

根据中医经典论著对类似 AP 的描述, 本病应属于“脾心痛”、“脾热病”、“结胸病”的范畴<sup>[31]</sup>。病位涉及脾胃、肝胆、肠腑, 病势危重时累及多个脏器。而雪菊作为菊科类的一味重要中药, 其归经为胃经、脾经、肝经, 和 AP 发病所属经脉具有较高的一致性, 且历代药典中关于雪菊的药用价值记载颇多: 多成于秦汉时期的《神农本草经》, 其列雪菊为百草上品, 因富含多种对人体有益成分, 现今已经逐渐作为一种茶饮普及开来, 临床常用于糖尿病的治疗和胰腺功能的改善<sup>[8]</sup>。

现代植物化学成分和药理研究已经对雪菊的药效物质成分有了更清楚的认识, 如聚乙炔糖苷类和黄酮类成分是该植物的主要药效成分<sup>[32-33]</sup>, 其中黄酮类化合物由于含量高, 清除自由基、抗氧化、抗炎作用强而被广泛研究。前期, 我们发现从雪菊中分离的 6 种黄酮类化合物在体外对胰腺腺泡细胞的坏死有不同程度的保护作用, 其中二氢黄酮醇 > 黄烷酮 > 查耳酮 > 橙酮, 于是我们继续研究了二氢黄酮醇 C1 对雨蛙素和石胆酸引起的 AP 保护作用, 发现 C1 至少可以通过调控 Nrf2/血红素氧化酶-1(heme

oxygenase 1, HO-1)信号通路达到治疗 AP 目的。

在本实验中,我们依然选择了低、中、高 3 个剂量的 C1,探讨其对 FAEE-AP 模型的保护作用。观察多项与 AP 损伤相关的血清学指标,发现其低剂量组和中剂量组能够有效改善血清淀粉酶、脂肪酶水平,胰腺组织胰蛋白酶活性,胰腺和肺的 MPO 水平,减轻全身及组织局部炎症反应,减轻胰腺水肿、炎症浸润、坏死性改变,降低病理评分。其中,低剂量组的疗效尤为明显,进一步研究发现低剂量 C1 组较模型组能够增强胰腺组织的 Nrf2 表达,进而激活下游基因,从而发挥抗炎、抗氧化作用,减轻胰腺局部和全身炎症反应。

综上所述,12.5 mg/kg C1 即能够通过调控 Nrf2 保护小鼠 FAEE-AP 模型,但是否存在其他信号通路参与调控仍有待深入了解。另外深入研究该化合物的药物动力学和药效动力学结合模型(pharmacokinetics-pharmacodynamics, PK-PD)也能够为该疾病的治疗提供重要参考价值。同时,雪菊作为改善糖尿病患者血糖的中药,其 AP 治疗功能的发现,可以为国内外学者拓宽研究视野。

### 参 考 文 献

- [1] FORSMARK CE, VEGE SS, WILCOX CM. Acute pancreatitis. *N Engl J Med*, 2016, 375(20):1972-1981.
- [2] BANKS PA, BOLLEN TL, DERVENIS C, *et al.* Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*, 2013, 62(1):102-111.
- [3] GUKOVSKAYA AS, PANDOL SJ, GUKOVSKY I. New insights into the pathways initiating and driving pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol*, 2016, 32(5):429-435.
- [4] BOOTH DM, MUKHERJEE R, SUTTON R, *et al.* Calcium and reactive oxygen species in acute pancreatitis: friend or foe? *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(10):2683-2698.
- [5] YU JH. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(46):17324-17329.
- [6] PÉREZ S, PEREDA J, SABATER L, *et al.* Redox signaling in acute pancreatitis. *Redox Biology*, 2015, 5:1-14[2018-10-09]. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.014>.
- [7] CROCKETT SD, WANI S, GARDNER TB, *et al.* American gastroenterological association institute guideline on initial management of acute pancreatitis. *Gastroenterology*, 2018, 154(4):1096-1101.
- [8] 张邦能. 昆仑雪菊提取物对血糖、血脂影响的研究进展. *甘肃医药*, 2015, 34(7):502-505.
- [9] 过利敏, 张平, 张谦, 等. 雪菊化学成分分析、提取、鉴定及其生物活性研究进展. *食品科学*, 2014, 35(07):298-304.
- [10] 方瑞萍, 唐辉, 黄剑, 等. 雪菊的药理作用及营养成分的分析方法研究进展. *材料导报*, 2014, 28(10):143-146.
- [11] 李冬明. 昆仑雪菊的药学研究进展. *浙江中医杂志*, 2012, 47(10):776-777.
- [12] 丁豪, 杨海燕, 辛志宏. 昆仑雪菊黄酮类化合物的抗氧化相互作用研究. *食品科学*, 2015, 36(21):26-32.
- [13] DU D, YAO L, ZHANG R, *et al.* Protective effects of flavonoids from *coreopsis tinctoria* nutt. on experimental acute pancreatitis via Nrf2/ARE-mediated antioxidant pathways. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224:261-272[2018-10-09]. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.003>.
- [14] HUANG W, BOOTH DM, CANE MC, *et al.* Fatty acid ethyl ester synthase inhibition ameliorates ethanol-induced Ca<sup>2+</sup>-dependent mitochondrial dysfunction and acute pancreatitis. *Gut*, 2014, 63(8):1313-1324.
- [15] DAWRA R, KU YS, SHARIF R, *et al.* An improved method for extracting myeloperoxidase and determining its activity in the pancreas and lungs during pancreatitis. *Pancreas*, 2008, 37(1):62-68.
- [16] HUANG W, HAYNES AC, MUKHERJEE R, *et al.* Selective inhibition of BET proteins reduces pancreatic damage and systemic inflammation in bile acid- and fatty acid ethyl ester- but not caerulein-induced acute pancreatitis. *Pancreatology*, 2017, 17(5):689-697.
- [17] WILDI S, KLEEFF J, MAYERLE J, *et al.* Suppression of transforming growth factor beta signalling aborts caerulein induced pancreatitis and eliminates restricted stimulation at high caerulein concentrations. *Gut*, 2007, 56(5):685-692.
- [18] LERCH MM, GORELICK FS. Models of acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, 2013, 144(6):1180-1193.
- [19] GORELICK FS, LERCH MM. Do animal models of acute pancreatitis reproduce human disease? *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2017, 4(2):251-262.
- [20] LANKISCH PG, APTE M, BANKS PA. Acute pancreatitis. *Lancet*, 2015, 386(9988):85-96.
- [21] CHVANOV M, PETERSEN OH, TEPIKIN A. Free radicals and the pancreatic acinar cells: role in physiology and pathology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2005, 360(1464):2273-2284.
- [22] MA Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, 53(1):401-426.
- [23] KOBAYASHI EH, SUZUKI T, FUNAYAMA R, *et al.* Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun*, 2016, 7:11624.
- [24] ZHANG M, WU Y, XIE L, *et al.* Isoliquiritigenin protects against pancreatic injury and intestinal dysfunction after severe acute pancreatitis via Nrf2 signaling. *Front Pharmacol*, 2018, 9:936[2018-10-09]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00936>.

- [25] LI Y, PAN Y, GAO L, *et al.* Naringenin protects against acute pancreatitis in two experimental models in mice by NLRP3 and Nrf2/HO-1 pathways. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 3232491 [2018-10-09]. <https://doi.org/10.1155/2018/8621908>.
- [26] JEURNINK SM, NIJS MM, PRINS HA, *et al.* Antioxidants as a treatment for acute pancreatitis; a meta-analysis. *Pancreatology*, 2015, 15(3):203-208.
- [27] XIANG H, ZHANG Q, QI B, *et al.* Chinese herbal medicines attenuate acute pancreatitis; pharmacological activities and mechanisms. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 216 [2018-10-09]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00216>.
- [28] ZHONG K. Curcumin mediates a protective effect via tlr-4/nf- $\kappa$ b signaling pathway in rat model of severe acute pancreatitis. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2015, 73(1): 175-180.
- [29] XIONG J, WANG K, YUAN C, *et al.* Luteolin protects mice from severe acute pancreatitis by exerting HO-1-mediated anti-inflammatory and antioxidant effects. *Int J Mol Med*, 2017, 39(1):113-125.
- [30] LV JC, WANG G, PAN SH, *et al.* Lycopene protects pancreatic acinar cells against severe acute pancreatitis by abating the oxidative stress through JNK pathway. *Free Radical Research*, 2014, 49(2):151-163.
- [31] 夏庆, 邓力琿. 中西医结合治疗重症急性胰腺炎的几个热点问题. *四川大学学报(医学版)*, 2013, 44(6):962-965.
- [32] YAN L, DAN D, YONG L, *et al.* Novel polyacetylenes from *Coreopsis tinctoria* Nutt. *J Asian Nat Prod Res*, 2015, 17(7):744-749.
- [33] DU D, JIN T, XING ZH, *et al.* One new linear C14 polyacetylene glucoside with antiadipogenic activities on 3T3-L1 cells from the capitula of *Coreopsis tinctoria*. *J Asian Nat Prod Res*, 2016, 18(8):784-790.

(2018-11-26 收稿, 2019-04-25 修回)

编辑 汤洁

## · 个案报告 ·

### 45X核型的高龄Turner综合征先天卵巢未发育患者赠卵足月妊娠1例报告\*

周坤燕<sup>1,2</sup>, 陈锰<sup>1,2</sup>, 刘兴会<sup>1,2△</sup>

1. 四川大学华西第二医院 妇产科(成都 610041); 2. 出生缺陷与相关妇科疾病教育部重点实验室(四川大学)(成都 610041)

**【关键词】** Turner综合征 赠卵 体外受精 胚胎移植

患者,女,35岁,因“体外受精胚胎移植(IVF-ET)术后34<sup>+</sup>周,Turner综合征”入院。13岁时因身高发育不良,卵巢未发育,幼稚子宫,染色体45 XO,确诊Turner综合征,予生长激素、雌孕激素替代治疗,促进身高和子宫发育。14岁月经初潮。35岁有生育需求就诊,身高155 cm,体质量50 kg,人工月经周期,子宫正常,卵巢缺失,余无异常,建议行赠卵IVF-ET。配偶精液与赠卵形成胚胎。自月经第3天起依次给予戊酸雌二醇1 mg/2 mg/3 mg/4 mg bid共4 d,醋酸泼尼松5 mg qd;第20天加黄体酮60 mg im qd;第22天查子宫内膜厚度0.8 cm,移植一枚第3天胚胎。移植术后加用人绒毛膜促性腺激素(HCG)2 000 U im qod,黄体酮胶丸200 mg po qd,黄体酮阴道凝胶1支 qd。术后5天停醋酸泼尼松;第34天提示宫内早孕,停HCG,改戊酸雌二

醇为3 mg po bid;第44天改黄体酮为20 mg im qd,戊酸雌二醇为2 mg po bid;第64天起只用醋酸雌二醇1 mg po bid;第90天时停戊酸雌二醇,仅用地屈孕酮10 mg po q8 h至孕34周。我院产检,无产科并发症,胎儿染色体及发育正常。因系高龄初产胎儿珍贵,孕37周行剖宫分娩一男活婴, Apgar 满分,体质量3 240 g,外观无异常,术中见双侧卵巢缺如,余无异常。产后母乳喂养,母子健康。

**讨论** Turner综合征是常见性染色体疾病,发生率1/2 500左右,常见核型为45X和嵌合体,卵巢发育不全,自然妊娠率不足5%。Turner患者赠卵IVF-ET受孕后,流产率为30%~50%(与子宫发育及内膜容受性不良关系密切),最终能够足月分娩者不足50%(且多在30岁以内)。因其妊娠期高血压疾病发生率高达35%,可伴随一定概率的早产围产儿死亡,甚至发生子宫破裂、主动脉夹层破裂等致命性产科并发症。本例患者先天卵巢未发育,高龄35岁,且为赠卵IVF-ET,但是最终顺利足月分娩且无产科并发症,实属罕见。分析其原因有:患者青春期及时诊治,促进子宫发育;患者依从性高,定期复诊;胚胎移植前内膜准备充分,移植后激素替代妊娠黄体功能,维持妊娠;经生殖、产科、产前诊断多学科协作。本例中患者虽然高龄生产顺利,但仍然值得警醒,在早期明确Turner诊断时,就应做好充分的生育指导,建议适龄时考虑生育,减少产科并发症的发生。

(2018-11-13 收稿, 2019-03-17 修回)

编辑 吕熙

\* 国家卫计委国家重点研发计划项目(No. 2016 YFC1000400、No. 2016 YFC1000406)资助

△ 通信作者, E-mail: xinghui@163.com