

姜黄素对肺炎链球菌感染的抗炎和抑菌作用

余 璐 李海燕 温顺航 李昌崇

摘 要 **目的** 研究姜黄素(Cur)及其衍生物 6B、Y20 对肺炎链球菌(streptococcus pneumonia, SP)最小抑菌浓度及其致病因子 NanA、NF- κ B 表达调节,探讨 Cur、6B、Y20 对 SP 抑菌作用及减少 SP 感染炎症反应的作用机制。**方法** 利用微量浓度稀释法联合血琼脂平板涂布法检测 Cur、6B、Y20 对 SP 的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)值;培养人支气管上皮(BEAS-2B),建立体外 SP 感染模型,分为空白对照组、SP 感染组、Cur + SP 组、6B + SP 组、Y20 + SP 组。CCK8 法测试细胞存活率,ELISA 法检测 NanA、TNF- α 等的蛋白含量,用 Western blot 法检测 NF- κ B 的表达。**结果** Cur、6B、Y20 在高浓度有抑菌作用;随 SP 感染时间的延长,药物处理组细胞存活率较 SP 感染组相比增高($P < 0.01$);与空白对照组比较,SP 感染组中 NanA、NF- κ B、TNF- α 表达增加;与 SP 感染组比较,Cur、6B、Y20 药物预处理组 NF- κ B、NanA 表达降低($P < 0.05$),TNF- α 等表达水平较模型降低($P < 0.01$)。**结论** Cur、6B、Y20 高浓度有抑菌作用,并可通过下调 SP 表面毒力因子 NanA 的表达,减轻 SP 的毒力作用,并通过抑制 NF- κ B 转录激活,减少下游炎症因子表达,减轻 SP 引起炎症损伤。

关键词 姜黄素及其衍生物 肺炎链球菌 最小抑菌浓度 核转录因子- κ B 神经酰胺酶 A

中图分类号 R72 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.021

Effective of Curcumin on Anti-bacterial and Anti-inflammation Induced by Streptococcus Pneumoniae. Yu Lu, Li Haiyan, Wen Shunhang, et al. Department of Pediatric Pulmonology, The Second Affiliated Hospital & Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To study the the minimum inhibitory concentration of curcumin and curcuminoids such as 6B and Y20 on the inhibition of streptococcus pneumoniae(SP), and the regulation efficacy of curcumin and curcuminoids on NF- κ B and NanA expression, in order to discuss the anti-bacteria effect and mechanism of anti-inflammatory of Cur, 6B, Y20 against streptococcus pneumoniae infection. **Methods** According to micro dilution method combined with blood agar plate coating method, we calculated the MIC of Cur, 6B, Y20 on streptococcus pneumoniae. dThe SP infection model was established in vitro and performed by human bronchial epithelium (BEAS-2B) divided into blank control group, SP infection group and Cur + SP groups, 6B + SP groups, Y20 + SP groups. Cell survival rate was measured by CCK8. The protein level of NanA, TNF- α was measured by ELISA, the expression of NF- κ B was measured by Western blot. **Results** Cur, 6B, Y20 entirely inhibited the growth of SP at high concentrations. Over the time of infection, the survival rate was higher in Cur, Y20, 6B treated groups compared with SP groups($P < 0.01$), and compared with the SP infection group, the expressions of NF- κ B, NanA were decreased in the pre-treatment groups($P < 0.05$), also TNF- α expression reduced ($P < 0.01$). **Conclusion** Cur, Y20, 6B had an anti-bacteria effect at high concentrations. They could reduce the virulence of SP by effectively down-regulating the expression of NanA, decrease the inflammation injury by inhibiting NF- κ B activation and the expression of inflammation cytokines.

Key words curcumin and curcuminoids; SP; MIC; NF- κ B; NanA

肺炎链球菌(streptococcus pneumonia, SP)是儿童社区获得性肺炎的首要病原体,据报道 2013 年全球有 935000 例 5 岁以下儿童死于肺炎,其中以肺炎链球菌肺炎居首位^[1]。神经酰胺酶 A(neuraminidase A, NanA)作为肺炎链球菌毒力因子之一,在肺炎链球

菌感染中扮演着多种角色如细菌的黏附、繁殖、扩散、生物膜的形成等,进而引发一系列的感染如肺炎、中耳炎、脑膜炎等炎症反应^[2]。

姜黄素(curcumin, Cur)是一种具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗病毒等药理作用的多酚类化合物,主要从姜科植物根茎中提纯^[3~5],但其对肺炎链球菌的抑菌及表面毒力因子之一的 NanA 表达及 SP 感染相关炎症反应的作用尚未明确。本研究通过测定最小抑菌浓度及建立体外 SP 感染模型,观察 Cur 及其去除 β 二酮结构的衍生物 6B($C_{26}H_{25}NO_7$)、Y20(C_{21}

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LZ13H010001);温州市科技局基金资助项目(Y20160243)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院、育英儿童医院儿童呼吸科

通讯作者:李昌崇,电子信箱:wzlicch@21cn.com

H₁₆BrF₃O)处理后 NanA、NF- κ B 的表达情况,探讨 Cur、6B、Y20 的抑菌作用、对细胞的保护作用及炎症反应的调节及机制。

材料与方法

1. 细胞与细菌:人支气管上皮细胞(BEAS-2B)购自中国科学院上海细胞生物研究所。SP(ATCC 6303)购自美国模式培养物集存库。

2. 主要试剂:Cur、6B、Y20(温州医科大学药学院惠赠);MH 肉汤培养基、DMSO(北京 Solarbio 公司);DMEM 高糖培养基、0.25% 胰蛋白酶、胎牛血清、链霉素(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);哥伦比亚血琼脂平板(温州康泰生物);人 TNF- α 和 NanA ELISA 定量试剂盒(上海西塘);TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司);反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司);Western blot 法用一抗:兔抗 pNF- κ Bp65、兔抗 GAPDH(CST)。

3. 主要方法:(1)SP 培养:取出本课题组原先冻存的 SP 菌株,于 37℃ 水浴箱复苏,接种至哥伦比亚血琼脂平板,倒置于 37.0℃、5% CO₂ 培养箱培养 16~18h。挑取典型菌落溶于不含双抗完全的培养基制成菌悬液,采用麦氏比浊仪调至 A 值为 0.5 备用。(2)BEAS-2B 细胞培养:BEAS-2B 细胞加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基,置于 5% CO₂、37.0℃ 恒温箱培养,细胞约覆盖培养瓶底 80% 左右时传代。留取 2~6 代细胞进行后续实验。(3)微量肉汤稀释法联合血琼脂平板涂布法测定最小抑菌浓度:取 30 μ l 原液浓度为 20mmol/L 的 Cur、6B、Y20 药物溶于 270 μ l MH 肉汤中混匀,各取 100 μ l 加到预先加有 100 μ l MH 肉汤的 96 孔板的第 1 孔中,倍比稀释至第 11 孔,留取最后 1 孔作为细菌生长对照。每孔加入 100 μ l 菌悬液(1.5×10^5 CFU),封口膜密封后置 37.0℃ 培养箱中 16~20h,接种环取 96 孔板中的液体,涂布于哥伦比亚血琼脂平板,培养 24h 计数菌落。(4)SP 感染细胞模型的制备:将细胞按 3×10^5 个/孔接种于 6 孔板中,待细胞生长至 80% 分别加入浓度为 2.5、5、10 μ mol/L 的 Cur、6B、Y20,预处理固定时间段后加入 SP 混悬液,将感染系数控制在 20,置 37.0℃、5% CO₂ 培养箱中,培养 6h。(5)CCK8 检测 Cur、6B、Y20 对 SP 感染细胞的保护作用:取第 2~6 代 BEAS-2B 细胞用胰酶消化,离心,重悬成单细胞悬液(约 1×10^5 /ml),取 100 μ l 细胞悬液加入 96 孔板中,待细胞生长汇聚至 50%~60% 左右时,更换无血清的 DMEM 培养基培养细胞 12~16h,使所有细胞处

于相同生长状态。Cur、6B、Y20 预处理细胞 6h,于感染组和药物处理组中加入 SP 悬液,维持感染复数为 20。不同处理组的细胞均作 6 个复孔。SP 感染细胞 0、6、9、12h 后,吸弃培养基,无菌 PBS 洗板 3 次,重新加入 100 μ l 培养液及 10 μ l CCK8 试剂,37℃ 避光培养 1~2h,450nm 分光光度仪测各孔的 A 值,计算得出各组细胞的存活情况。(6)ELISA 法检测 NanA、TNF- α 分泌情况:留取体外模型的细胞培养液离心取上清,按 ELISA 试剂盒操作说明书,采用双抗夹心的方法检测培养中 NanA、TNF- α 的吸光值,根据标准曲线所得公式计算相应 NanA、TNF- α 浓度。(7)Western blot 法检测 pNF- κ Bp65 蛋白的表达:体外感染模型制备,不同浓度 Cur、6B、Y20 预处理固定时间加入 SP 感染 6h,弃去培养液,PBS 洗涤 3 次,加入裂解液于冰上裂解 20min。配置成 20 μ l 体系,100℃ 煮 10min 后进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 2h,TBST 洗膜,继而加入 1:1000pNF- κ B 和 1:5000 GAPDH 一抗中 4℃ 孵育 16h,TBST 洗膜 3 次,1:5000 稀释的兔二抗室温摇床孵育 2h,再次 TBST 洗膜后于 BIO-RAD 曝光机曝光。

4. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料均先进行正态分析,且均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,如符合正态分布,多组均数比较采取方差分析,方差齐性应用 LSD-t 法,方差不齐采用 Games-Howell 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Cur、6B、Y20 对 SP 最小抑菌浓度:用微量肉汤稀释法联合血琼脂涂布法检测 Cur、6B、Y20 对 SP 的最小抑菌浓度,血琼脂平板涂布结果显示 Cur、6B 在浓度为 0.25mmol/L 时可完全抑制 SP 的生长,Y20 在浓度为 0.5mmol/L 可完全抑制 SP 生长(图 1)。

2. Cur、6B、Y20 对细菌感染后细胞生存率的影响:使用 CCK8 试剂检测不同药物处理对细菌感染后细胞存活率的影响,Cur、6B、Y20 能增加细菌感染后细胞的生存率。如图 2 所示,空白组、SP 感染组和 Cur、6B、Y20 组感染 0、6、9、12h,其中 9、12h 药物预处理组细胞存活率较 SP 感染组增高,以 Cur 处理组细胞存活最为显著($P < 0.01$)。

3. 药物处理 SP 感染 BEAS-2B 细胞 NanA、TNF- α 蛋白分泌表达情况:NanA 作为 SP 表面毒力因子之一,在 SP 感染细胞时表达增加以促进 SP 的黏附,药物预处理后,NanA 的表达有所下降($P <$

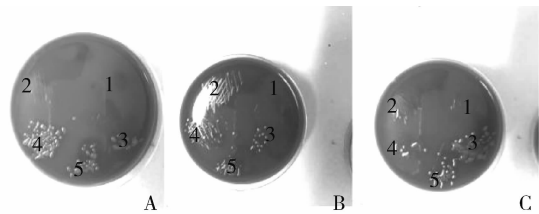


图 1 药物对细菌的抑制作用

A. Cur 处理组:1 表示浓度 0.5mmol/L,2 表示 0.25mmol/L,3 表示 0.125mmol/L,4 表示 0.0625mmol/L,5 表示为用药物处理组的肺炎链球菌;B. 6B 处理组:1 表示浓度 0.5mmol/L,2 表示 0.25mmol/L,3 表示 0.125mmol/L,4 表示 0.0625mmol/L,5 表示为用药物处理组的肺炎链球菌;C. Y20 处理组:1 表示浓度 0.5mmol/L,2 表示 0.25mmol/L,3 表示 0.125mmol/L,4 表示 0.0625mmol/L,5 表示为用药物处理组的肺炎链球菌

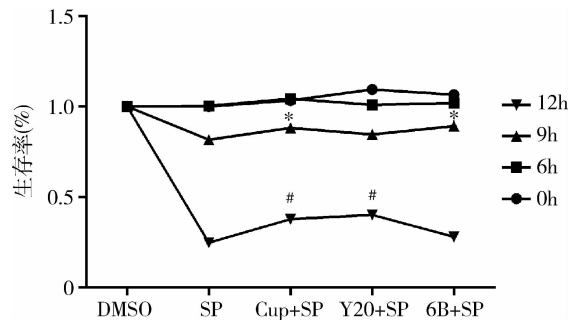


图 2 药物预处理后细菌感染 BEAS-2B 细胞的存活率比较

与 SP 感染组比较,感染 9h, * $P < 0.01$;与 SP 感染组比较,感染 12h, # $P < 0.01$

0.05), 且 SP 感染 BEAS-2B 后 TNF- α 表达较 DMSO 对照组组明显上升,不同浓度药物预处理组在 SP 感染后 TNF- α 表达有所下降,并随着 Cur、6B、Y20 浓度的增加,抑制效率越大,且 $P < 0.01$ (图 3)。

4. 药物处理 SP 感染 BEAS-2B NF- κ Bp65 的表达:用 Western blot 法检测浓度分别为 2.5、5、10 μ mol/L Cur、6B、Y20 处理后 SP 感染 BEAS-2B 活化 NF- κ B p65 的表达,不同药物预处理组 NF- κ B p65 表达均有所下降,且具有一定的浓度依赖效应 (图 4)。

讨 论

肺炎链球菌是呼吸道最常见的病原体之一,作为儿童社区获得性肺炎首要病原菌,除肺炎外还可以引起其他严重的感染性疾病,WHO 研究指出发展中国家中每年有高达 100000 例 5 岁以下儿童死于肺炎链球菌引起的肺炎、脑膜炎、脓毒血症等侵袭性感染,其中死于链球菌肺炎的儿童占 20% ~ 25%^[6,7]。近年

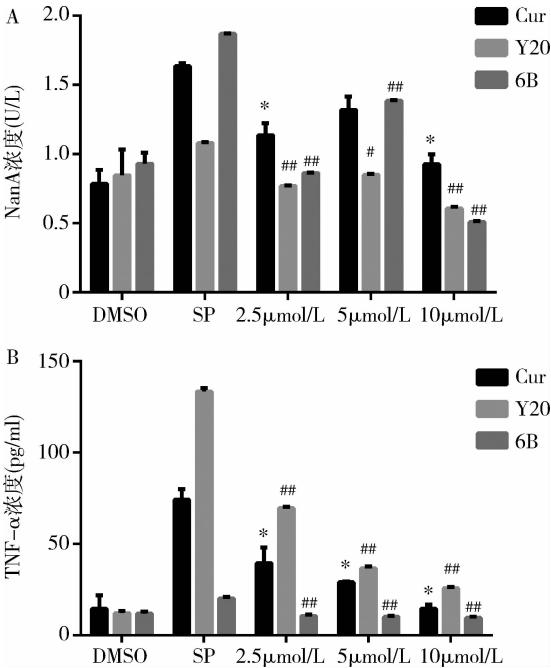


图 3 不同浓度药物处理后 NanA、TNF- α 表达比较

A. NanA;B. TNF- α ;与 SP 感染组比较,* $P < 0.01$;与 SP 感染组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

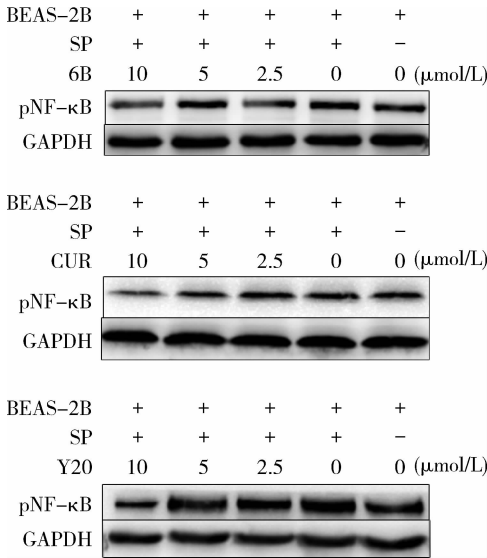


图 4 不同药物处理后 pNF- κ B 的表达抑制情况

Cur、Y20、6B 在浓度为 10 μ mol/L 时对 pNF- κ B 的抑制作用最明显

来随着抗生素不合理使用,日益增多的耐药菌、多重耐药菌已成临床感染性疾病治疗难点之一,且由于儿童用药的特殊性和局限性,更进一步限制了抗菌药物的选择。因此,研发新抗菌药物减少耐药菌的发展及传播已迫在眉睫。研究证实姜黄素及其衍生物能抑制细菌生长繁殖,并能通过与体内不同分子靶标相互作用在细菌介导的疾病中起到重要作用^[8]。

姜黄素自 1910 年从姜黄根茎中分离出来后经数十年研究表明其具抑菌、抗炎、抗氧化、抗病毒、抗癌等作用^[9]。Poonam 等^[10]研究指出姜黄素能增细菌细胞膜/壁对药物的渗透性,破坏细胞内环境稳态,增加对细菌的杀菌作用。此外姜黄素还能使细菌细胞膜去极化、增加钙离子(Ca^{2+})渗漏、DNA 片段化等凋亡反应,并促进细菌内类凋亡蛋白 RecA 蛋白的表达促进大肠杆菌细菌凋亡,进而起到抑菌作用^[11]。Dipti 等^[12]研究指出,姜黄素通过影响大肠杆菌细胞分裂蛋白细丝温度敏感蛋白 Z(filament temperature sensitive protein Z, FtsZ)初纤维类似物稳定性,干扰 GTP 酶的活性从而抑制细菌生长繁殖。另 Liang 等^[13]研究姜黄素及其衍生物对青霉素敏感株,青霉素中介株,青霉素抵抗株肺炎链球菌的抗菌作用及分子间的相互作用发现姜黄素葡萄糖苷,姜黄素二糖苷和姜黄素对肺炎链球菌尤其是青霉素抵抗菌株具有强大的抑菌作用。

本研究利用微量肉汤稀释法联合血琼脂涂布培养指出 Cur,另两种衍生物 6B、Y20 在浓度分别 0.125、0.25、0.5 mmol/L 对标准 3 型肺炎链球菌有完全的抑菌作用。

NanA 作为 SP 主要致病因子之一,也是公认新药或疫苗研究开发的靶向蛋白^[14]。已有体内外研究发现,NanA 促进肺炎链球菌在鼻咽部寄居以及向下呼吸道转移^[15],并有研究表明所有肺炎链球菌表面都有 NanA 的表达。Brittan 等^[16]研究表明 NanA 缺陷的肺炎链球菌其黏附在上皮细胞的能力减弱或被废除,提示 NanA 通过作用于黏附受体调节在上皮细胞中的黏附作用。

近年来研究发现,从面包果中分离出来的黄酮类化合物桂木黄素(artocarpin)对链球菌神经酰胺酶(NanA)有抑制作用,减少细菌对肺上皮细胞的黏附,并对抑制链球菌的生长及生物膜的形成具有浓度依赖效应^[17]。France 利用病毒抑制剂奥司他韦登治疗 SP 感染小鼠能通过降低 SP 表面 NanA 表达,降低 SP 的黏附繁殖能力,进而减轻 SP 感染。本实验 ELISA 结果提示 NanA 的表达在 SP 感染后有明显上升,用 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ Cur、6B、Y20 处理后 NanA 的表达有下降趋势,且药物浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时 NanA 下降最为明显。另本实验通过 CCK8 试剂检测细胞存活情况发现,姜黄素及其衍生物 Y20、6B 药物预处理后肺炎链球菌感染的细胞存活率较单用细菌感染组提高,其效应可能与降低 SP 表面 NanA 的表达,减轻 SP 的

侵袭力及对细胞的黏附能力相关。

NF- κB 在调节固有免疫反应中具有至关重要的作用^[18]。早期研究指出姜黄素能抑制 NF- κB 转录活化,并在下调下游炎性因子如 TNF- α 表达中起重要作用^[19]。Gupta 等^[20]研究证实姜黄素能减少不同类型细胞中 TNF- α 的表达。Liu 等^[21]通过姜黄素处理酵母聚糖介导鼠多器官功能障碍鼠模型,指出姜黄素能抑制 NF- κB 的活化进而减轻鼠多器官功能障碍。Xu 等^[22]研究指出姜黄素衍生物 CMC2.24 可以降低 NF- κB 的活性,减少炎性细胞的聚集,减轻金黄色葡萄球菌引起的肺损伤。本试验通过建立体外感染模型研究证实,姜黄素能抑制 SP 感染后 NF- κB 的活化及下调肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的表达进一步减轻炎性反应,与 Liu、Gupta 等研究结果一致,其衍生物 6B、Y20 对 NF- κB 活化、TNF- α 的表达也表现出上述效应。

Cur、6B、Y20 在高浓度对 SP 有抑菌作用,此外研究结果显示 Cur、6B、Y20 对 BEAS-2B 干预浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 对 NanA 及 NF- κB 的抑制作用最强,显著抑制 NF- κB 炎症通路,减少炎性因子的表达,并能增加细胞在细菌感染下的存活率,为进一步研究探讨 Cur、6B、Y20 减少 SP 感染 EBAS-2B 细胞体外感染模型的炎性反应机制及增加 BEAS-2B 细胞存活机制提供了实验参考。

参考文献

- 1 Liu L, Oza S, Hogan D, *et al.* Global, regional, and National causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis [J]. *Lancet*, 2015, 385 (9966):430-440
- 2 Walther E, Richther M, Xu Z, *et al.* Antipneumococcal activity of neuraminidase inhibiting artocarpin [J]. *Int J Med Microbiol*, 2015, 305(3):289-297
- 3 Nguyen TA, Friedman AJ. Curcumin: A novel treatment for skin-related disorders [J]. *J Drugs Dermatol*, 2013, 12(10):1131-1137
- 4 Lai PK, Roy J. Antimicrobial and chemopreventive properties of herbs and spices [J]. *Curr Med Chem*, 2004, 11(11):1451-1460
- 5 Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, *et al.* Curcumin and health [J]. *Molecules*, 2016, 21(3):264
- 6 Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, *et al.* The role of streptococcus pneumoniae virulence factors in host respiratory colonization and disease [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 32(4):139-153
- 7 Cripps AW, Leach AJ, Lenchmann D. Pneumococcal vaccination in developing countries [J]. *Lancet*, 2006, 368 (9526):1880-1882
- 8 Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB, *et al.* Curcumin as "curecumin": from kitchen to clinic [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(4):787-809

- 9 Todd AR, Rinderknecht, Geiger WB, *et al.* Antibacterial action of curcumin and related compounds[J]. *Nature*,1946,164(4167):456
- 10 Poonam T, Madhuri S, Himani K, *et al.* Bacterial activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane[J]. *PLoS one*, 2015,10(3):1-15
- 11 Dae GY, Dong GL. Antibacterai activity of curcumin via apoptosis – like response in *Escherichia coli* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016,100(12):5505-5514
- 12 Dipti R, Jay KS, Nilanjan R, *et al.* Curcumin inhibits FtsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity[J]. *Biochem J*,2008,410(1):147-155
- 13 Li LM, Li J, Zhang XY. Antimicrobial and molecular interaction studies on derivatives of curcumin against streptococcus pneumonia which caused pneumonia[J]. *Electronic J Biotechnol*, 2016,19(1):8-14
- 14 Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, *et al.* The role of streptococcus pneumonia virulence factors in the host respiratory colonization and disease[J]. *Nat Rev Microbiol*,2008,6(4):288-301
- 15 Papker D, Soong G, Planet P, *et al.* The NanA neuraminidase of streptococcus pneumonia is involved biofilm formation[J]. *Infect Immun*,2009,77(9):3722-3730
- 16 Brittan JL, Buckeridge TJ, Finn A, *et al.* Pneumococcal neuraminidase A: an essential upper airway colonization factor for *Streptococcus*

- pneumoniae*[J]. *Mol Oral Microbiol*,2012,27(4):270-283
- 17 Walther E, Ritchter M, Xu Z, *et al.* Antipneumococcal activity of neuraminidase inhibiting artocarpin[J]. *Int J Med Microbiol*,2015,305(3):289-297
- 18 Sivakumar V, Michael K. Regulation and function of NF – κ B transcription factors in the immune system [J]. *Ann Rev Immunol*, 2009,27: 693-733
- 19 Bharat BA, Subash CG, Bokyung S. Curcumin:an orally bioavailable blocker of TNF and other pro – inflammatory biomarkers[J]. *Br J Pharmacol*,2013,169(8):1672-1692
- 20 Gupta SC, Tyagi AK, Deshmukh – Taskar P, *et al.* Downregulation oftumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014,559(5): 91-99
- 21 Liu S, Zhang J, Pang Q, *et al.* The protective role of curcumin in zymosan – induced multiply organ dysfunction syndrome in mice[J]. *Shock*,2016,45(2):209-219
- 22 Xu Y, Ge L, Abdel – Razeq O, *et al.* Differential susceptibility of human SP – B genetic variants on lung injury caused by bacterial pneumonia and the effect of a chemically modified curcumin[J]. *Shock*, 2016,4(45):375-384

(收稿日期:2017-05-07)

(修回日期:2017-05-24)

(上接第 82 页)

- 11 吴县斌,苏东星,潘志刚,等. BISAP、APACHE II、Ranson 评分在预测急性胰腺炎预后中价值对比分析[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2016,21(2):294-296
- 12 张东,杨艺敏,段奥淞,等. AGI 分级系统引入 SOFA 评分对重症急性胰腺炎患者预后预测价值的研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2015,24(10):1118-1121
- 13 吴海棠. 中西医结合治疗急性重症胰腺炎临床观察[J]. *中国中医急症*,2015,24(1):169-170
- 14 Bakker OJ, Van Brunschot S, Farre A, *et al.* Timing of enteral nutrition in acute paner – eatitis: meta – analysis of individuals using a single – arm of randomised trials[J]. *Pancreatolgy*,2014,14(5):340-346
- 15 李颖,孙雪梅,陆霞. 集束化护理在重症胰腺炎肠功能障碍中的应用[J]. *护士进修杂志*,2014,29(3):250-251
- 16 李诗阳,王日兴,吕有凯,等. 早期肠内营养治疗对急性重症胰腺炎患者炎性因子水平的影响及临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2016,36(10):2429-2431
- 17 王海燕. 乌司他丁联合生长抑素治疗老年急性重症胰腺炎患者的疗效及对血清炎症因子的影响[J]. *中国老年学杂志*,2015,35(19):5554-5555
- 18 党胜春,冯舒,王平江,等. 巨噬细胞表型在重症胰腺炎肾损伤中的表达[J]. *中华急诊医学杂志*,2014,23(7):765-769

- 19 林浩,朱方擎,王桂良,等. 早期肠内营养对重症急性胰腺炎大鼠 TNF – α 、IL – 6 和 IL – 10 表达水平的影响[J]. *中华消化内镜杂志*,2014,31(2):105-107
- 20 叶泉忠,程瑾,刘龙群. 参麦注射液联合生长抑素对急性胰腺炎患者血清 TNF – α 、IL – 6 及 IL – 10 的影响[J]. *中国医药导报*, 2014,11(15):68-71
- 21 张晓飞,李亚斌,王焜. 血液灌流联合血液滤过对高脂血症胰腺炎患者生命体征的恢复效果评价[J]. *河北医药*,2017,39(3):425-427
- 22 夏瑾,杨小李,朱荣涛,等. 早期肠内营养对急性重症胰腺炎预后的影响[J]. *重庆医学*,2014,43(5):527-528
- 23 Han T, Li X, Cai D, *et al.* Effect of glutamine on apoptosis of intestinal epithelial cells of severe acute pancreatitis rats receiving nutritional support in different ways[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(3): 503-509
- 24 悦云. 早期肠内营养支持对重症急性胰腺炎患者临床预后的影响[J]. *解放军医学杂志*,2015,40(10):853-854
- 25 张宪华,王滨,方周宾. 早期肠内营养支持对重症急性胰腺炎患者机体免疫及营养状态的影响[J]. *海南医学*,2015,26(8):1132-1134

(收稿日期:2017-05-12)

(修回日期:2017-05-24)