



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.250396  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.250396  
China Journal of General Surgery, 2026, 35(3):512-523.

· 基础研究 ·

## 雨蛙素诱导急性胰腺炎中胰腺再生修复的损伤程度依赖性差异研究

涂广平<sup>1</sup>, 陈浪<sup>1</sup>, 黄琿<sup>1</sup>, 余梟<sup>1</sup>, 李志强<sup>1</sup>, 余灿<sup>2</sup>, 刘云飞<sup>1</sup>

(中南大学湘雅三医院 1. 肝胆胰外科二病区 2. 重症监护病区, 湖南 长沙 410013)

### 摘要

**背景与目的:** 急性胰腺炎 (AP) 再生修复过程具有显著异质性, 其与初始损伤程度的关系尚缺乏系统阐明。本研究构建不同损伤强度的 AP 小鼠模型, 探讨胰腺再生修复的病理学特征及其损伤程度依赖性规律。

**方法:** 采用雨蛙素腹腔注射建立 AP 小鼠模型, 分为 7 次注射组 (轻度) 和 10 次注射组 (中重度)。于造模后第 1、3、5、7 天取材, 通过 HE 染色及病理评分评估胰腺损伤程度; 免疫荧光检测腺泡-导管化生 (ADM) 标志物 (CK19、SOX9) 及巨噬细胞极化标志物 (F4/80、iNOS、CD206); Masson 染色及  $\alpha$ -SMA 免疫组化评估纤维化水平; Ki-67 免疫组化分析细胞增殖活性。

**结果:** 10 次注射组胰腺损伤显著重于 7 次注射组 ( $P < 0.05$ ), 表现为弥漫性受累及修复延迟。ADM 反应显著增强, CK19 及 SOX9 表达明显升高; 巨噬细胞浸润增加并以 M1 型极化为主; 纤维化沉积 (胶原体积分数及  $\alpha$ -SMA 表达) 显著加重 ( $P < 0.05$ )。细胞增殖呈“早期增强、峰值延迟”特征。相比之下, 7 次注射组损伤局限、修复较快, 各项病理改变程度较轻。

**结论:** 雨蛙素不同注射强度可诱导 AP 小鼠呈现梯度化损伤表型, 胰腺再生修复过程具有明确的损伤程度依赖性异质性, 涉及 ADM、巨噬细胞极化、纤维化及细胞增殖的协同调控。

### 关键词

胰腺炎; 模型, 动物; 雨蛙素; 病理过程; 再生

中图分类号: R657.5

## Injury severity-dependent differences in pancreatic regeneration and repair in cerulein-induced acute pancreatitis

TU Guangping<sup>1</sup>, CHEN Lang<sup>1</sup>, HUANG Hui<sup>1</sup>, YU Xiao<sup>1</sup>, LI Zhiqiang<sup>1</sup>, YU Can<sup>2</sup>, LIU Yunfei<sup>1</sup>

(1. Department of Hepatopancreatobiliary Surgery II 2. Intensive Care Unit, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

### Abstract

**Background and Aims:** Pancreatic regeneration following acute pancreatitis (AP) exhibits marked heterogeneity, which is closely related to the initial injury severity but remains insufficiently characterized. This study aimed to investigate the pathological features of pancreatic regeneration and repair under different injury severities.

**基金项目:** 湖南省长沙市自然科学基金资助项目 (kq2502238); 湖南省自然科学基金资助项目 (2022JJ40740)。

**收稿日期:** 2025-07-14; **修订日期:** 2026-02-12。

**作者简介:** 涂广平, 中南大学湘雅三医院博士研究生, 主要从事肝胆胰相关疾病方面的研究 (陈浪为共同第一作者)。

**通信作者:** 刘云飞, Email: liyunfeix1@126.com; 余灿, Email: yu198610@163.com

**Methods:** Cerulein-induced AP mouse models were established using two regimens: 7 injections (mild injury) and 10 injections (moderate-to-severe injury). Pancreatic tissues were collected on days 1, 3, 5, and 7. Histopathological injury was evaluated using HE staining and scoring. Immunofluorescence was used to assess acinar-to-ductal metaplasia (ADM) markers (CK19, SOX9) and macrophage polarization markers (F4/80, iNOS, CD206). Fibrosis was evaluated by Masson staining and  $\alpha$ -SMA immunohistochemistry. Cell proliferation was assessed by Ki-67 staining.

**Results:** The 10-injection group exhibited significantly more severe pancreatic injury and delayed repair compared with the 7-injection group ( $P<0.05$ ). ADM was markedly enhanced, with increased expression of CK19 and SOX9. Macrophage infiltration was elevated with a predominance of M1 polarization. Fibrosis was significantly aggravated, as evidenced by increased collagen deposition and  $\alpha$ -SMA expression ( $P<0.05$ ). Cell proliferation showed a pattern of early activation with a delayed peak. In contrast, the 7-injection group showed localized injury and rapid recovery with milder pathological changes.

**Conclusion:** Different cerulein injection regimens induce graded injury phenotypes in AP mice. Pancreatic regeneration exhibits injury severity-dependent heterogeneity, involving coordinated regulation of ADM, macrophage polarization, fibrosis, and cell proliferation.

#### Key words

Pancreatitis; Models, Animal; Cerulein; Pathologic Processes; Regeneration

CLC number: R657.5

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是临床最常见的急腹症之一, 以起病急骤、严重程度异质性为主要特征, 病情可从轻症、中重症进展至危及生命的重症阶段, 其较高的发病率和死亡率给全球医疗系统带来了沉重负担<sup>[1-4]</sup>。AP 的病理生理过程复杂且涉及多因素调控, 核心起始环节为胰腺腺泡细胞内胰酶的过早激活, 进而引发胰腺实质自我消化, 随后启动局部及全身性炎症反应级联<sup>[5]</sup>。该病理进程可导致胰腺坏死、局部并发症 (如胰腺假性囊肿、包裹性坏死等) 及全身性炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS); 在严重情况下, 重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP) 相关的多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 仍是患者死亡的主要原因<sup>[6-7]</sup>。因此, 在 AP 早期阻断炎症进展, 对于促进胰腺组织修复再生、改善患者预后至关重要。

AP 的疾病进展具有明确的阶段性特征, 主要包括初始的炎症反应阶段与后续的组织再生修复阶段<sup>[8-9]</sup>。其中, 再生修复过程是损伤后胰腺功能与结构完整性恢复的核心环节, 但其效率与性质显著依赖于初始损伤的严重程度<sup>[10]</sup>。在轻症 AP (mild acute pancreatitis, MAP) 中, 胰腺组织的再

生反应通常较为完全, 可有效恢复正常结构与功能; 而 SAP 常伴随广泛的胰腺坏死、纤维化及再生能力受损, 进而增加慢性胰腺炎或胰腺功能不全的发生风险<sup>[11-12]</sup>。目前, 关于这种损伤程度依赖性再生修复差异的调控机制尚未完全阐明, 成为制约靶向治疗研发的关键瓶颈<sup>[13]</sup>。

雨蛙素诱导的 AP 模型因能紧密模拟人类 AP 的临床特征与病理进程, 已被广泛应用于相关基础研究<sup>[13-14]</sup>。该模型通过调整雨蛙素的给药剂量与注射频率, 可精准诱导出不同严重程度的胰腺炎表型: 已有研究证实, 7 次腹腔注射雨蛙素可成功构建 MAP 模型<sup>[15]</sup>, 而更高的注射频率 (如 10 次注射) 则可诱导中重症急性胰腺炎 (moderately severe acute pancreatitis, MSAP) 表型, 为系统比较不同损伤程度下胰腺再生修复机制提供了理想的实验工具。现有研究表明, AP 的再生修复过程受多种细胞与分子机制的协同调控, 包括胰腺星状细胞激活、炎性细胞因子信号传导及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑等<sup>[16-17]</sup>, 但 MAP 与 SAP 中这些调控机制的差异仍缺乏系统性解析。

尽管雨蛙素诱导 AP 模型已在胰腺炎研究中得到广泛应用, 但 MAP 与 SAP 之间再生修复过程的组织学特征及核心调控机制尚未被全面阐明。明

确这些差异对于开发促进胰腺再生的靶向治疗策略、阻断疾病向慢性化进展具有重要意义。本研究通过构建梯度损伤的AP小鼠模型，系统整合腺泡-导管化生（acinar-to-ductal metaplasia, ADM）、巨噬细胞极化、纤维化及细胞增殖等关键病理过程，揭示胰腺再生修复的损伤程度依赖性协同调控机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。实验前，所有小鼠均饲养于SPF级无菌环境中，给予标准实验室饲料及自由饮水，环境温度控制在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，采用12 h光照/12 h黑暗的循环光照模式。所有动物实验严格遵循减少（reduction）、优化（refinement）、替代（replacement）的3R原则，并经中南大学动物伦理委员会批准（编号：22240）。

### 1.2 试剂

雨蛙素（Cerulein，货号HY-A0190）购自美国MedChemExpress公司。一抗：F4/80（货号GB11027）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；CD206（货号24595）、诱导型一氧化氮合酶（iNOS，货号13120）购自美国Cell Signaling Technology公司（中国上海分公司）。二抗：辣根过氧化物酶（HRP）标记山羊抗兔IgG（H+L，货号GB23303）、Cy3标记山羊抗兔IgG（H+L，货号GB21303）、FITC标记驴抗兔IgG（货号GB22403）及FITC标记山羊抗鼠IgG（货号GB22301）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；F（AB'）<sub>2</sub>片段化抗鼠IgG（H+L，Alexa Fluor®594偶联，货号8890）、抗大鼠IgG（H+L，Alexa Fluor®488偶联）购自美国Cell Signaling Technology公司。

### 1.3 小鼠AP模型的建立

本研究采用两种梯度损伤模型：7次注射诱导模型与10次注射诱导模型。选取同批次6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠，随机分为7次注射组、10次注射组及同龄正常对照组，每组均设置足够样本量以保障实验重复性与统计效力。其中，7次注射组小鼠每间隔1 h腹腔注射 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 雨蛙素，累计注射7次；10次注射组按相同剂量与间隔腹腔注射雨蛙素，累计注射10次；正常对照组不进行雨蛙

素注射，仅给予等体积生理盐水腹腔注射处理。

模型构建后，于末次注射后第1、3、5、7天进行分时间点样本采集，每个时间点从各组中随机选取适量小鼠实施麻醉处死，剖取胰腺组织，用于后续各项组织学及分子生物学检测；同时收集正常对照组对应时间点的胰腺组织，作为基线参照用于对比分析，确保损伤程度与再生修复特征的量化评估具有可靠对照依据。

### 1.4 样本采集

经指定处理后，严格遵循动物福利伦理要求及实验动物伦理审查规范，对小鼠实施麻醉处死，以最大限度减少小鼠痛苦，随后立即开展样本采集操作：用无菌镊子小心摘除小鼠眼球，采集眶静脉血，将血液样本转移至1.5 mL EP管中，静置后用于淀粉酶和脂肪酶的定量检测。随后迅速解剖小鼠并取出胰腺组织，胰腺组织分为两部分处理：一部分立即放入4%多聚甲醛溶液中固定，用于后续HE染色、Masson染色等组织学分析；另一部分快速置于 $-80^\circ\text{C}$ 超低温冰箱中保存，备用后续分子生物学及生化检测实验。

### 1.5 组织学评估

胰腺组织样本经4%多聚甲醛固定后石蜡包埋，连续切片（厚度 $3\sim 5 \mu\text{m}$ ）进行HE染色，用于组织病理学评分。参照Schmidt等<sup>[18]</sup>提出的标准评估AP损伤的病理特征（补充表1），评分指标包括水肿、坏死、炎症及出血。由2名经验丰富的病理医师对HE切片进行双盲观察与评估：每张切片随机选取10个高倍视野分别评分，最终得分取各视野评分的平均值。

### 1.6 Masson染色

严格按照试剂盒说明书步骤进行操作，具体流程如下：将固定后的胰腺组织切片依次放入Masson二甲苯I、二甲苯II、二甲苯III中进行梯度脱蜡，每步浸泡时间遵循试剂盒说明，确保脱蜡彻底；脱蜡完成后，经无水乙醇、95%乙醇、75%乙醇进行梯度复水，使切片恢复水合状态以适配后续染色；复水后采用1%冰醋酸进行分化处理，分化完成后迅速进行脱水操作，最后滴加中性树脂胶进行封片，晾干后备用。Masson染色可使组织中的胶原纤维呈现特异性蓝色，便于区分纤维化区域与正常胰腺组织。采用Image J 1.52软件对Masson染色切片进行定量分析，计算纤维化区域占比，以胶原体积分数（collagen volume fraction，

CVF)表示,具体计算公式为:CVF=胶原纤维面积/组织总面积×100%,每个样本选取3~5个随机视野进行测量,取平均值用于统计学分析。

### 1.7 免疫荧光染色

免疫荧光石蜡切片常规脱蜡至水后,放入pH6.0柠檬酸盐缓冲液修复盒中,121℃高温高压抗原修复20 min,自然冷却后用PBS(pH7.4)洗涤3次。滴加5%牛血清白蛋白(BSA)封闭液,37℃孵育30 min以阻断非特异性结合位点。切片分别加入对应一抗(F4/80、iNOS、CD206、Amylase、CK19、SOX9),4℃湿盒孵育过夜;次日室温复温30 min, PBS洗涤3次后,加入荧光素标记二抗,室温避光孵育1 h。PBS洗涤后,滴加DAPI染液室温避光染色5 min以标记细胞核,同时加入自发荧光淬灭剂降低背景干扰。对于同源物种来源的一抗,采用酪胺信号放大试剂盒(货号G1235-100T,武汉赛维尔生物科技有限公司)进行荧光双标染色。通过荧光显微镜采集图像,使用Image J 1.52软件定量分析F4/80<sup>+</sup>iNOS<sup>+</sup>、F4/80<sup>+</sup>CD206<sup>+</sup>、Amylase<sup>+</sup>CK19<sup>+</sup>及Amylase<sup>+</sup>SOX9<sup>+</sup>双阳性细胞数量及平均灰度值(MGV),平均荧光强度(Mean)=区域内荧光强度总和/区域面积,以此反映目的蛋白表达水平。

### 1.8 免疫组化染色

小鼠胰腺组织经4%多聚甲醛固定24~48 h后,常规梯度脱水、石蜡包埋并制作4 μm连续切片。切片脱蜡至水后,置于pH6.0柠檬酸盐缓冲液中121℃高温高压抗原修复20 min,自然冷却后用PBS(pH7.4)洗涤。滴加3%过氧化氢溶液室温避光孵育15 min阻断内源性过氧化物酶活性, PBS洗涤后,5%牛血清白蛋白(BSA)37℃封闭30 min。分别加入兔抗小鼠α-SMA多克隆抗体(1:200)、兔抗小鼠Ki-67单克隆抗体(1:150),4℃湿盒孵育过夜,阴性对照以PBS替代一抗;次日室温复温30 min后, PBS洗涤3次。滴加HRP标记山羊抗兔IgG二抗(1:500),37℃孵育30 min, PBS洗涤后DAB室温避光显色3~5 min,蒸馏水终止显色,苏木素复染5 min,盐酸乙醇分化30 s,自来水返蓝10 min。经梯度脱水、二甲苯透明后中性树胶封片。由2名资深病理医师双盲选取5个×400高倍视野,采用Image J 1.52软件定量分析阳性细胞数

量及平均光密度(MOD),MOD=区域内积分光密度(IOD)/区域面积,以此反映目的蛋白相对表达水平。

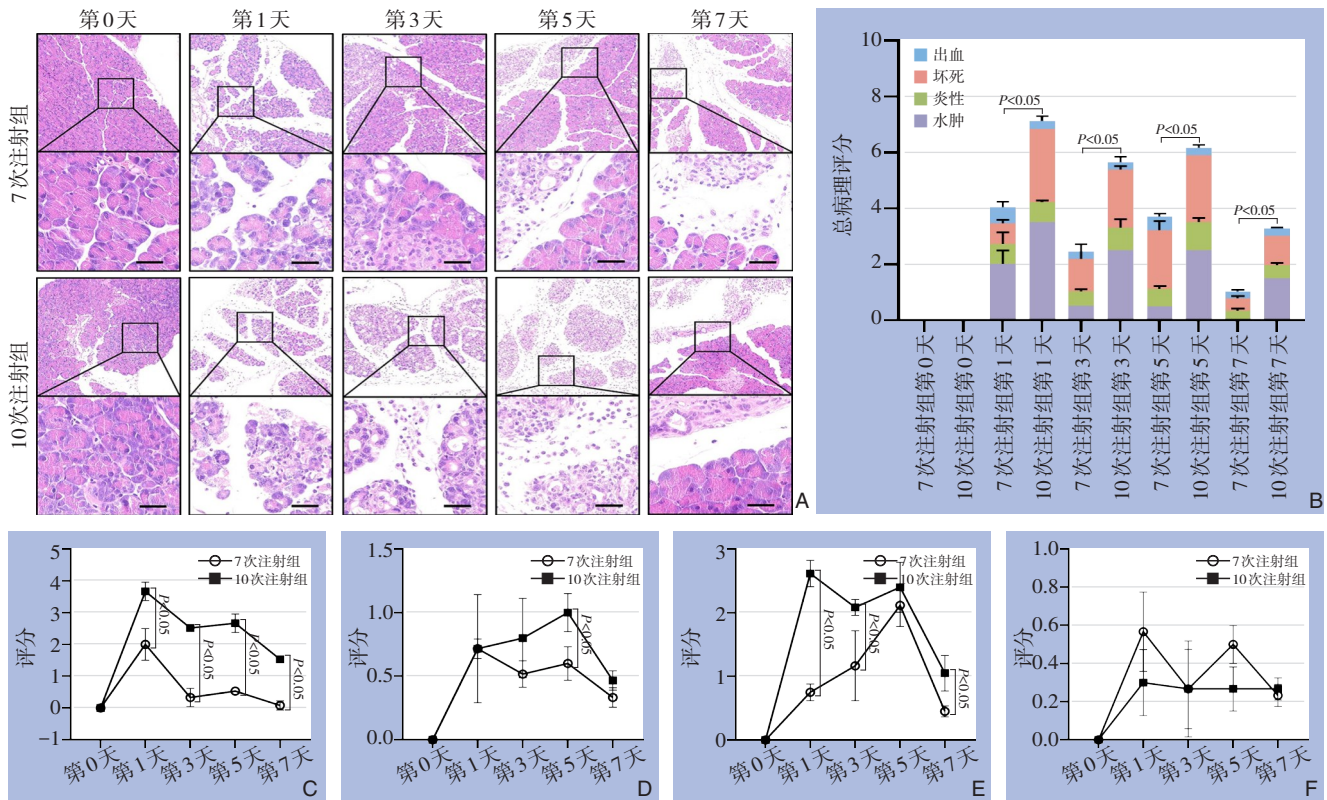
### 1.9 统计学处理

所有数据均以至少3次独立实验的均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。在采用参数统计方法前,对数据分布进行了正态性检验评估。采用GraphPad Prism 8.1软件进行统计学分析。两组间比较采用双尾独立样本t检验;多组间比较采用单因素方差分析,后续以Dunnett检验进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胰腺组织病理改变

胰腺组织病理学观察结果显示,7次注射组与10次注射组于造模后第1天均出现显著的胰腺组织损伤。其中,7次注射组仅表现为局灶性胰腺损伤,病变区域周边仍保留大量正常胰腺组织;而10次注射组胰腺损伤程度随时间进展持续加重,损伤范围于第1、3、5天逐步扩大并最终累及全胰腺腺体(图1A)。两组病理学半定量评分结果证实,在第1、3、5、7天各观察时间点,10次注射组的总体胰腺损伤评分均显著高于7次注射组(图1B),具体体现为水肿程度、炎性细胞浸润及组织坏死均较7次注射组更为严重,而两组间出血评分差异无统计学意义。两组胰腺组织的损伤后修复进程存在显著差异:至第7天时,7次注射组胰腺组织结构已基本恢复,而10次注射组仅呈现部分修复,该差异在水肿消退及腺泡细胞坏死修复过程中尤为显著。水肿消退方面,两组均自第3天起进入缓解阶段,第7天时7次注射组水肿已基本消退,10次注射组仍存在明显水肿病灶;炎性浸润方面,7次注射组于第3天即出现炎性细胞浸润减少,10次注射组则表现为延迟性炎症缓解;腺泡细胞坏死修复存在明显时序差异,7次注射组至第7天才呈现明确修复特征,而10次注射组于第3天即启动部分修复反应;出血程度方面,7次注射组在各观察时间点均保持相对稳定,10次注射组则表现出显著的动态波动(图1C-F)。



**图1 不同注射次数诱导小鼠AP后的胰腺病理损伤及评分** A: 两组小鼠胰腺组织病理形态学改变 (HE 染色) (比例尺: 10 μm); B: 胰腺组织总病理损伤评分; C: 胰腺组织水肿评分; D: 炎性细胞浸润评分; E: 组织坏死评分; F: 胰腺出血评分

**Figure 1 Pancreatic histopathological injury and scoring in mice with acute pancreatitis induced by different injection regimens** A: Representative HE-stained sections (scale bar: 10 μm); B: Total pathological score; C: Edema score; D: Inflammation score; E: Necrosis score; F: Hemorrhage score

**2.2 ADM相关标志物的表达**

胰腺组织免疫荧光结果显示, CK19作为导管上皮特征性标志物, 其在7次注射组中的表达于第1天开始升高, 第5天达到峰值, 第7天明显下降 ( $P<0.05$ ); SOX9是调控ADM发生与进展的关键转录因子, 其表达同样自第1天起上调, 第1、3、7天无明显差异, 第5天达最高水平。10次注射组CK19表达的整体变化趋势与7次注射组一致, 但各时间点平均荧光强度均明显更高 (部分  $P<0.05$ ); SOX9表达在第1天即显著升高并达到峰值, 其余时间点的变化趋势与7次注射组相近 (图2)。

**2.3 胰腺组织巨噬细胞浸润及极化表型**

巨噬细胞是调控胰腺炎症损伤与修复进程的核心免疫细胞, 主要分为促炎型M1表型与抗炎修复型M2表型。其中, F4/80为总巨噬细胞标志物, iNOS为M1型巨噬细胞特异性标志物, CD206为

M2型巨噬细胞特异性标志物。胰腺组织免疫荧光染色及定量分析结果显示: 7次注射组中, 总巨噬细胞标志物F4/80于第3天上调, 第5天逐渐下降, 至第7天基本无阳性表达; M1型巨噬细胞标志物iNOS自第3天开始升高, 第7天降至极低水平; M2型巨噬细胞标志物CD206于第1天即出现表达升高, 并在整个观察周期内维持相对稳定水平。10次注射组中, F4/80的动态变化趋势与7次注射组基本一致, 但各时间点阳性细胞数量均显著高于7次注射组; iNOS表达于第1天即显著上调, 第3天达到峰值, 随后自第5天至第7天呈逐渐下降趋势; CD206表达自第1天开始升高, 第5天达到峰值, 第7天有所降低 (图3)。定量统计结果证实, 在胰腺炎症损伤与修复的整个动态过程中, F4/80阳性、iNOS阳性的M1型巨噬细胞浸润始终占据主导地位。

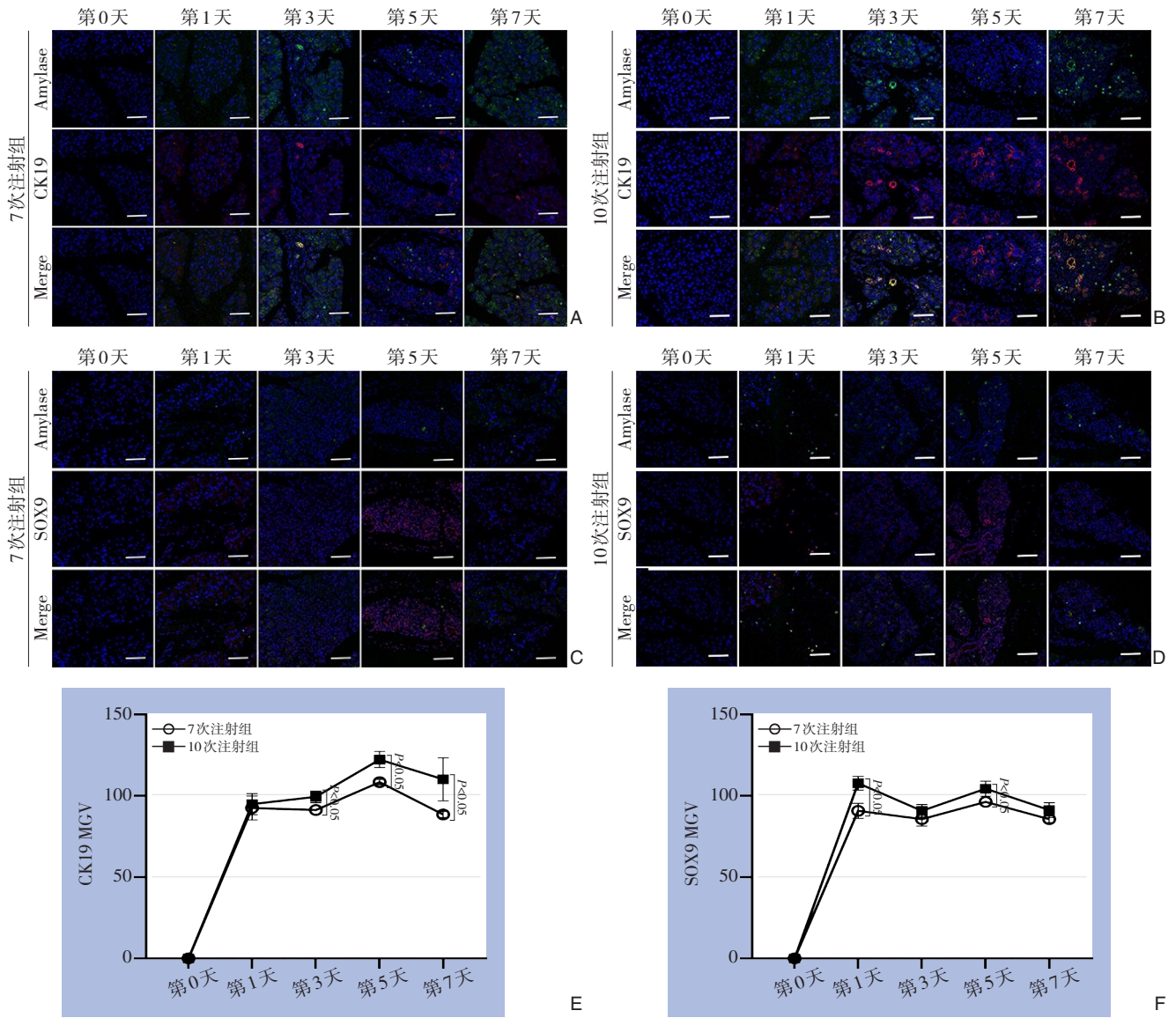


图2 不同注射次数对小鼠胰腺腺泡ADM及CK19、SOX9表达的影响 A-D: 免疫荧光染色检测胰腺组织中CK19与SOX9的表达与定位(比例尺: 40 μm); E: CK19平均荧光强度定量分析; F: SOX9平均荧光强度定量分析

Figure 2 Effects of different injection regimens on ADM and expression of CK19 and SOX9 in mouse pancreas A-D: Immunofluorescence staining of CK19 and SOX9 (scale bar: 40 μm); E: Quantification of CK19 fluorescence intensity; F: Quantification of SOX9 fluorescence intensity

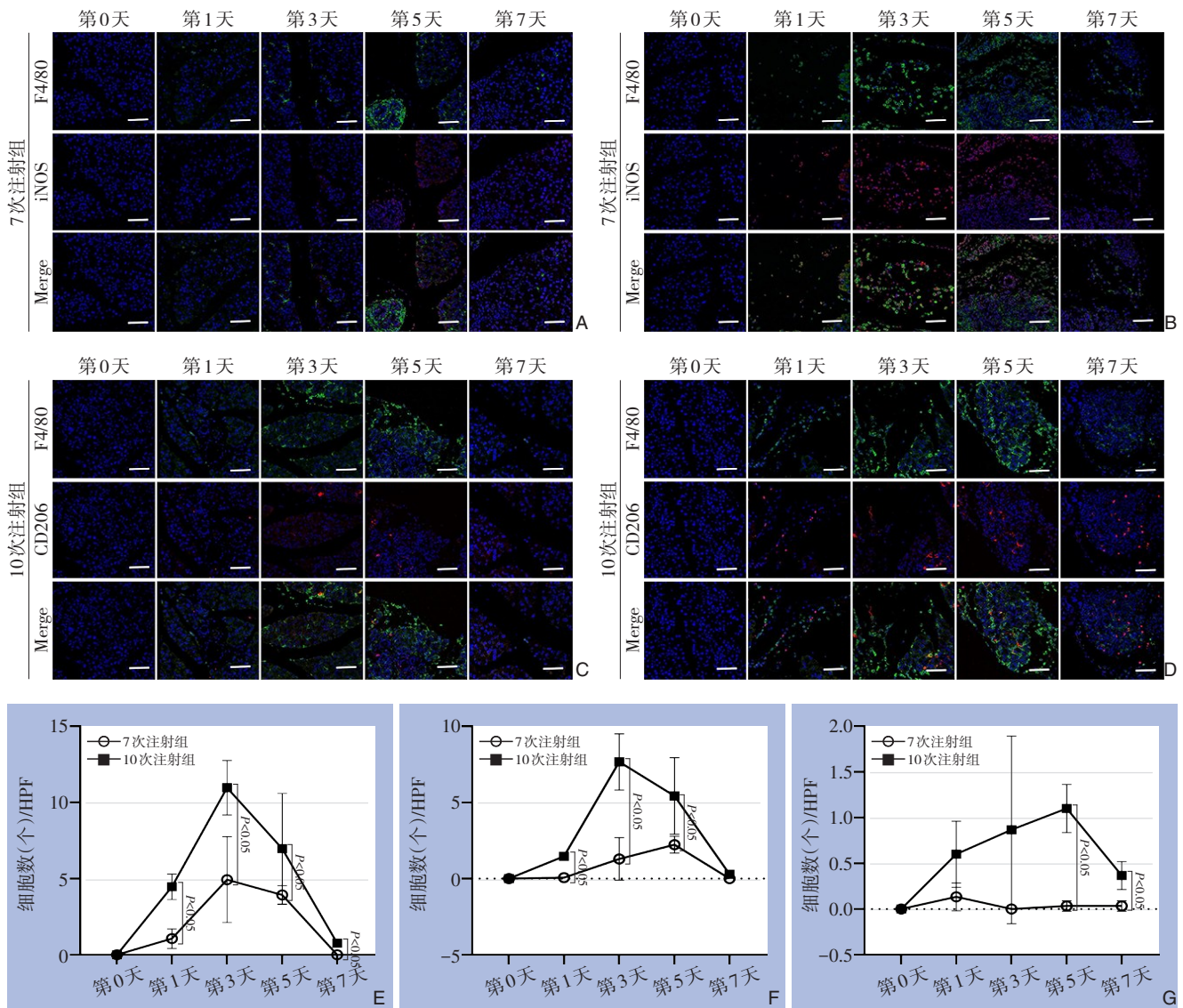


图3 两组不同处理小鼠巨噬细胞极化相关指标的变化趋势 A-D: 免疫荧光染色显示胰腺组织中M1型巨噬细胞标志物iNOS与M2型巨噬细胞标志物CD206的表达定位(比例尺: 40 μm); E: 总巨噬细胞标志物F4/80阳性细胞数量定量分析; F: M1型巨噬细胞标志物iNOS阳性细胞数量定量分析; G: M2型巨噬细胞标志物CD206阳性细胞数量定量分析

Figure 3 Macrophage infiltration and polarization in pancreatic tissues under different injury severities A-D: Immunofluorescence staining of iNOS (M1) and CD206 (M2) (scale bar: 40 μm); E: Quantification of F4/80+ macrophages; F: Quantification of iNOS+ M1 macrophages; G: Quantification of CD206+ M2 macrophages

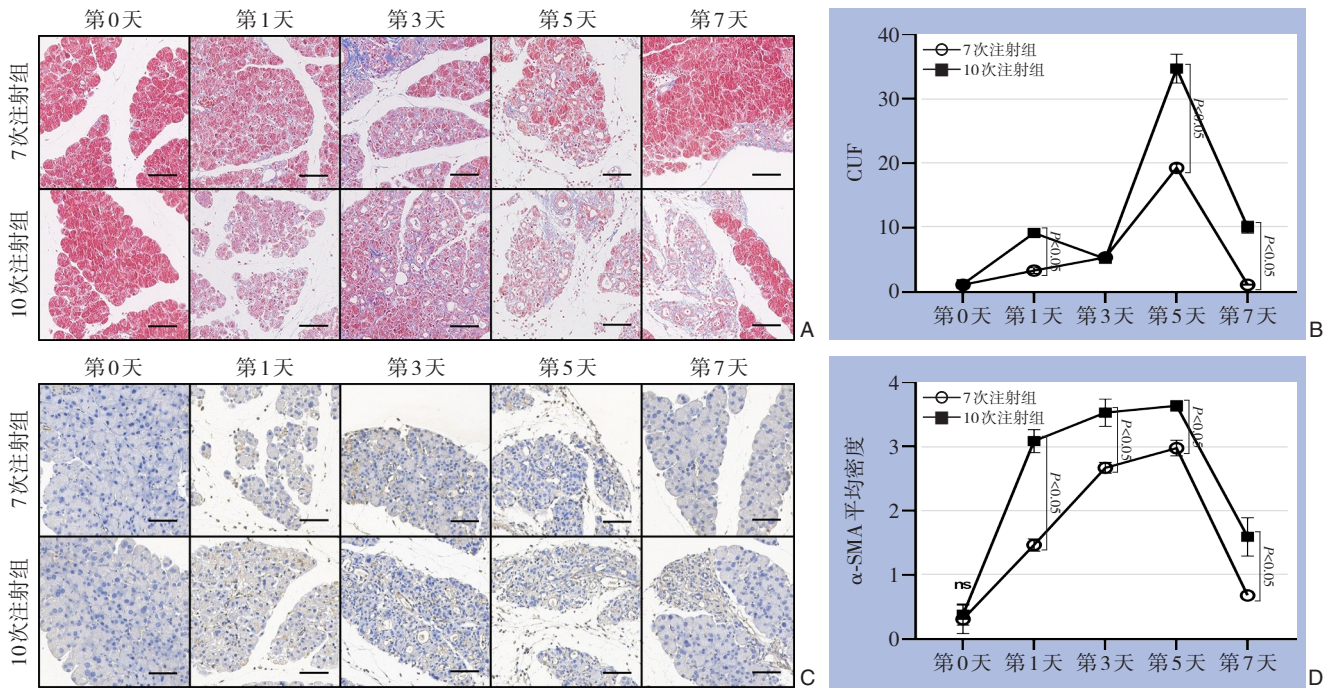
### 2.4 胰腺组织胶原沉积及肌成纤维细胞活化

胰腺组织 Masson 染色结果显示, ADM 较显著的区域伴随更高的 CVF, 提示该区域胶原沉积更为明显。7次注射组 CVF 自第1天起缓慢升高, 第5天达到峰值, 第7天呈回落趋势; 10次注射组 CVF 于第1天缓慢上升, 第3天出现短暂下降后, 第5天急剧升高, 第7天最终降低, 且在第1、5、7天各时间点的 CVF 均显著高于7次注射组(图4A-B)。胰腺组织 α-SMA 免疫组化染色结果显示, 7次注射组 α-SMA MOD 于第1天上调, 第5天

达到峰值, 第7天逐渐下降; 10次注射组 α-SMA 表达的动态变化趋势与7次注射组一致, 但各对应时间点的 MOD 值均显著高于7次注射组(图4C-D)。

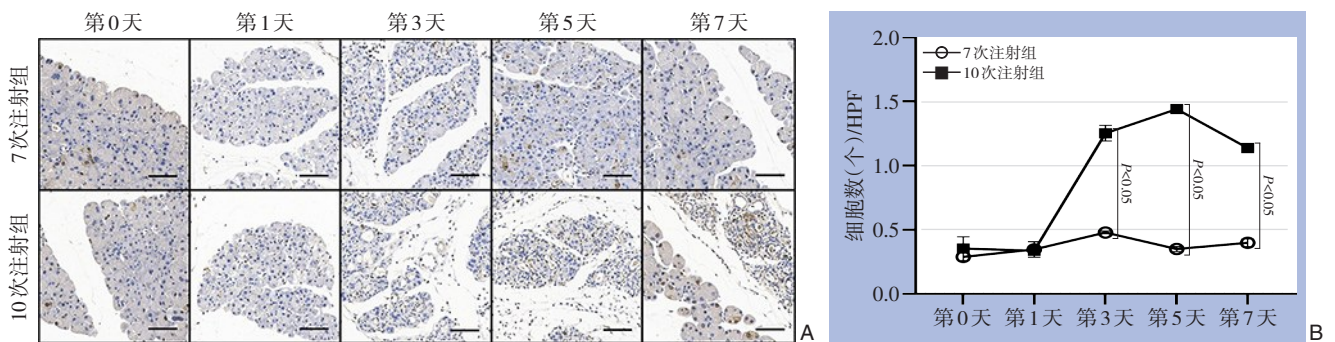
### 2.5 胰腺组织增殖活性

胰腺组织 Ki-67 免疫组化染色结果显示: 与第0天比较, 7次注射组各时间点 Ki-67 阳性细胞数量仅呈现轻微波动, 无明显改变; 而10次注射组 Ki-67 阳性细胞数量于第3天显著升高, 第5天达到峰值, 第7天有所回落(图5)。



**图4 不同注射次数对小鼠胰腺组织胶原沉积及肌成纤维细胞活化的影响** A-B: Masson染色观察胰腺组织胶原沉积及CVF定量分析(比例尺: 10 μm); C-D: α-SMA免疫组化染色及MOD定量分析(比例尺: 10 μm)

**Figure 4 Collagen deposition and myofibroblast activation in pancreatic tissues** A-B: Masson staining and CVF analysis (scale bar: 10 μm); C-D: α-SMA immunohistochemistry and quantitative analysis (scale bar: 10 μm)



**图5 两组不同处理小鼠的细胞增殖趋势** A-B: Ki-67免疫组化染色及Ki-67阳性细胞数量定量分析(比例尺: 10 μm)

**Figure 5 Cell proliferation dynamics in pancreatic tissues** A-B: Ki-67 staining and quantitative analysis (scale bar: 10 μm)

### 3 讨论

AP的病理生理进程本质是炎症损伤与再生修复的动态失衡,该过程涉及腺泡细胞、免疫细胞、间质细胞及ECM的复杂网络调控<sup>[19-22]</sup>。本研究通过雨蛙素梯度注射构建MAP、MSAP小鼠模型,系统解析胰腺损伤程度与再生修复表型的关联性,核心发现如下:重度损伤(10次注射组)可诱导更广泛的ADM、M1型巨噬细胞主导的极化失衡、显著增强的纤维化沉积及“早期激活、峰值延迟”的细胞增殖特征,且上述病理过程存在紧密的相

互调控关系,共同决定胰腺修复的效率与结局。该发现不仅为AP损伤修复的“程度依赖性异质性”提供了直接实验证据,更揭示了多病理环节协同调控的潜在机制,为临床干预策略的优化提供了新思路。

胰腺具有强大的再生潜能,其修复模式高度依赖初始损伤强度<sup>[23-24]</sup>。本研究中,7次注射组(轻度损伤)表现为局灶性损伤及快速完全修复,而10次注射组(中重症损伤)呈现弥漫性胰腺受累、损伤持续加重及修复延迟,这与临床MAP和SAP的预后差异高度吻合<sup>[25]</sup>。值得注意的是,两种

模型的损伤-修复特征为 AP 基础研究提供了精准工具：7 次注射模型可用于解析生理性修复机制，10 次注射模型则更适合模拟 SAP 中“损伤放大-修复受阻”的病理进程；该精细化模型选择，弥补了既往研究多采用单一损伤模型、难以全面覆盖 AP 疾病异质性的不足。

从机制层面分析，重度损伤对胰腺修复的阻碍作用通过多重途径协同实现：一方面，广泛的腺泡细胞坏死导致“再生种子细胞”大量减少，直接削弱胰腺再生基础；另一方面，持续的炎症微环境打破修复相关信号通路的时空平衡，进一步抑制修复进程<sup>[26]</sup>。本研究发现，10 次注射组 M1 型巨噬细胞浸润峰值提前且强度显著升高，而 M2 型巨噬细胞极化明显延迟（CD206 峰值于第 5 天出现），这种“促炎-抗炎失衡”是损伤放大的核心驱动因素-M1 型巨噬细胞分泌的肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素 6 等炎症因子，既可加剧腺泡细胞坏死，又能直接抑制腺泡细胞增殖与再分化<sup>[27-30]</sup>。本研究进一步证实，这种巨噬细胞极化失衡与损伤程度存在剂量依赖性关联，为“靶向巨噬细胞极化调控 AP 损伤强度”提供了直接实验依据，也与既往研究中巨噬细胞极化失衡参与 AP 严重程度调控的结论相呼应<sup>[31-33]</sup>。

ADM 作为胰腺损伤后腺泡细胞可塑性的核心表现，是连接损伤与再生的关键病理节点<sup>[34-35]</sup>。本研究发现，ADM 的发生范围与强度随损伤程度增加而显著增强（10 次注射组呈现全胰腺弥漫性 ADM），且 ADM 区域与胶原沉积呈明显空间相关性，提示 ADM 不仅是胰腺修复的启动环节，更可能通过调控 ECM 重塑参与纤维化进程。机制上，ADM 的启动依赖 SOX9 介导的转录重编程<sup>[36-37]</sup>；本研究中，10 次注射组 SOX9 表达于第 1 天即达峰值，且导管上皮标志物 CK19 表达持续升高，表明重度损伤可通过快速激活 SOX9 信号，加速腺泡细胞向导管样细胞转化。ADM 的“双刃剑”效应在不同损伤模型中表现尤为显著：7 次注射组 ADM 呈局灶性分布，且随修复进程（第 7 天）逐渐逆转，体现其生理性修复价值；而 10 次注射组 ADM 持续存在且伴随纤维化加重，提示持续重度损伤可能导致 ADM 从“可逆性修复”向“癌前病变启动”转化<sup>[34,38]</sup>。这与临床观察到的“反复 AP 发作增加胰腺导管腺癌风险”现象高度一致<sup>[34,39]</sup>，本研究为该临床关联提供了明确的病理机制解释，即损伤程

度过强或持续时间过长，可打破 ADM 的可逆性平衡，推动其向胰腺上皮内瘤变病变进展。

胰腺纤维化是 AP 修复失败的核心标志，其本质是 ECM 合成与降解的失衡<sup>[40-41]</sup>。本研究通过 Masson 染色（CVF 定量）与  $\alpha$ -SMA 免疫组化证实，10 次注射组纤维化程度显著高于 7 次注射组，且纤维化进程与 ADM、巨噬细胞极化存在紧密的协同调控关系：一方面，ADM 区域的导管样细胞可分泌转化生长因子 $\beta$ （transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ）等细胞因子，激活胰腺星状细胞（pancreatic stellate cells, PSC）转化为肌成纤维细胞（ $\alpha$ -SMA 阳性）；另一方面，M1 型巨噬细胞分泌的白细胞介素 1 $\beta$  可进一步放大 PSC 激活，形成“ADM-巨噬细胞-PSC”的促纤维化调控网络。该发现与 Xiang 等<sup>[42]</sup>提出的观点一致，而本研究的创新点在于首次明确该网络的损伤程度依赖性激活特征-重度损伤通过增强 ADM 与 M1 型巨噬细胞极化，共同加速胰腺纤维化进程。值得注意的是，10 次注射组 CVF 在第 3 天短暂下降后急剧升高，这一动态变化可能反映了“炎症消退-修复启动”的短暂干预窗口：第 3 天前，M1 型巨噬细胞主导的炎症反应抑制 PSC 激活；第 3 天后，尽管 M2 型巨噬细胞极化（CD206 升高）启动修复，但过度的 ADM 与 ECM 沉积已形成不可逆损伤，最终导致纤维化持续加重。该结果提示，临床干预需精准把握“炎症消退期”（本研究中为第 3 天左右），通过抑制 ADM 过度激活或调控巨噬细胞极化，阻断胰腺纤维化进展。

细胞增殖是胰腺再生的核心动力，Ki-67 作为增殖标志物的动态变化可直接反映胰腺修复潜能。本研究发现，7 次注射组（轻度损伤）Ki-67 阳性细胞数量无显著变化，而 10 次注射组呈现“第 3 天升高、第 5 天达峰、第 7 天回落”的特征，这种“损伤依赖性增殖增强”可能是胰腺对重度损伤的代偿性机制，即通过加速残留腺泡细胞或导管样细胞增殖，弥补广泛坏死导致的细胞丢失。但 10 次注射组第 7 天增殖活性明显下降，且伴随纤维化持续加重，提示增殖潜能耗尽可能与 ECM 僵硬微环境密切相关：过度沉积的胶原可通过整合素信号抑制细胞增殖，形成“纤维化-增殖抑制”的恶性循环，这也明确解释了 SAP 患者胰腺功能恢复率显著降低的核心病理机制。与既往研究相比，本研究的创新点在于揭示了细胞增殖与 ADM、

纤维化的协同调控关系:10次注射组ADM峰值(第3~5天)与Ki-67增殖峰值高度重合,提示ADM过程中可能存在“导管样细胞增殖-再分化”的修复路径,但过度纤维化最终阻断了该修复路径的完成。该发现为临床促进SAP患者胰腺再生提供了新的干预靶点,即在增强细胞增殖的同时,需同步抑制胰腺纤维化,避免“增殖-纤维化失衡”。

本研究仍存在一定局限性:其一,未深入探讨调控“ADM-巨噬细胞-纤维化”网络的关键分子机制(如TGF- $\beta$ /Smad、NF- $\kappa$ B等信号通路的具体作用);其二,未关注胰腺内分泌功能的修复情况,而SAP患者常伴随胰岛功能损伤,其修复规律仍需进一步明确;其三,动物模型与人类AP的病理生理特征存在一定差异,本研究发现的损伤-修复规律需临床样本进一步验证。基于上述局限性,未来研究可从三个方面展开:首先,通过单细胞测序技术解析ADM细胞、巨噬细胞与PSC的异质性及其相互作用的分子对话机制;其次,开发靶向SOX9或M1型巨噬细胞的特异性抑制剂,验证其在改善SAP胰腺修复中的作用,为临床转化提供实验依据;最后,构建更贴近临床的AP动物模型(如合并胆道梗阻或高脂血症的AP模型),进一步验证本研究发现的核心规律。

综上,本研究通过梯度损伤AP小鼠模型,系统揭示了胰腺再生修复的损伤程度依赖性异质性,明确了ADM、巨噬细胞极化、纤维化与细胞增殖的协同调控网络。该发现不仅深化了对AP病理生理机制的理解,更为临床优化SAP的治疗策略、改善患者长期预后提供了重要的实验依据与理论支撑。

作者贡献声明:涂广平负责实验操作、组织病理学检测、免疫组化与图像分析等;陈浪负责数据统计分析及论文撰写;李志强、黄琿负责数据采集与数据处理;余泉负责论文修改;余灿、刘云飞负责实验方案设计、论文审阅与定稿。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

补充材料:<http://www.zpwz.net/zgptwkzz/article/abstract/pw250396>

## 参考文献

[1] Trikudanathan G, Yazici C, Evans Phillips A, et al. Diagnosis and

management of acute pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2024, 167(4):673-688. doi:10.1053/j.gastro.2024.02.052.

[2] Beij A, Verdonk RC, van Santvoort HC, et al. Acute pancreatitis: an update of evidence-based management and recent trends in treatment strategies[J]. *United European Gastroenterol J*, 2025, 13(1):97-106. doi:10.1002/ueg2.12743.

[3] 纪连栋,袁洪涛,魏伟,等.2024年《美国胃肠病学会指南:急性胰腺炎的管理》更新解读[J].*中国普通外科杂志*,2024,33(9):1414-1421. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.008.

Ji LD, Yuan HT, Wei W, et al. Interpretation of the updates in the 2024 American College of Gastroenterology Guidelines: Management of Acute Pancreatitis[J]. *China Journal of General Surgery*, 2024, 33(9): 1414-1421. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.2024.09.008.

[4] Leppäniemi A, Tolonen M, Tarasconi A, et al. 2019 WSES guidelines for the management of severe acute pancreatitis[J]. *World J Emerg Surg*, 2019, 14(1): 27. doi: 10.1186/s13017-019-0247-0.

[5] Wang Z, Wang W, Xu JY, et al. Development and validation of dynamic clinical subphenotypes in acute pancreatitis patients using vital sign trajectories in intensive care units: a multinational cohort study[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2025, 10: 180. doi: 10.1038/s41392-025-02261-4.

[6] Zhang L, Wang KP, Jiang W, et al. Neferine ameliorates severe acute pancreatitis-associated intestinal injury by promoting NRF2-mediated ferroptosis[J]. *Int J Biol Sci*, 2025, 21(7):3247-3261. doi: 10.7150/ijbs.112888.

[7] Chen X, Chen X, Yan D, et al. GV-971 prevents severe acute pancreatitis by remodeling the microbiota-metabolic-immune axis[J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 8278. doi: 10.1038/s41467-024-52398-z.

[8] Glaubitz J, Asgarbeik S, Lange R, et al. Immune response mechanisms in acute and chronic pancreatitis: strategies for therapeutic intervention[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1279539. doi: 10.3389/fimmu.2023.1279539.

[9] Hegyi P. Necrotic amplification loop in acute pancreatitis: pancreatic stellate cells and nitric oxide are important players in the development of the disease[J]. *J Physiol*, 2018, 596(14): 2679-2680. doi:10.1113/JP275930.

[10] Gukovskaya AS, Gukovsky I, Algül H, et al. Autophagy, inflammation, and immune dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(5): 1212-1226. doi: 10.1053/j.gastro.2017.08.071.

[11] Hollemans RA, Hallensleben NDL, Mager DJ, et al. Pancreatic exocrine insufficiency following acute pancreatitis: Systematic review and study level meta-analysis[J]. *Pancreatol*, 2018, 18

- (3):253–262. doi:10.1016/j.pan.2018.02.009.
- [12] Giorga A, Hughes M, Parker S, et al. Quality of life after severe acute pancreatitis: systematic review[J]. *BJs Open*, 2023, 7(4): zrad067. doi:10.1093/bjsopen/zrad067.
- [13] Wang H, Ciccocioppo R, Terai S, et al. Targeted animal models for preclinical assessment of cellular and gene therapies in pancreatic and liver diseases: regulatory and practical insights[J]. *Cytotherapy*, 2025, 27(3):259–278. doi:10.1016/j.jcyt.2024.11.008.
- [14] Demcsák A, Tran T, Sahin-Tóth M, et al. Strain-specific differences in cerulein-induced acute and recurrent acute murine pancreatitis[J]. *Sci Rep*, 2025, 15:16030. doi:10.1038/s41598-025-98914-z.
- [15] Glaubitz J, Wilden A, van den Brandt C, et al. Experimental pancreatitis is characterized by rapid T cell activation, Th2 differentiation that parallels disease severity, and improvement after CD4<sup>+</sup> T cell depletion[J]. *Pancreatology*, 2020, 20(8): 1637–1647. doi:10.1016/j.pan.2020.10.044.
- [16] Geisz A, Sahin-Tóth M. Sentinel acute pancreatitis event increases severity of subsequent episodes in mice[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(5):1692–1694. doi:10.1053/j.gastro.2021.06.013.
- [17] Chelpuri Y, Pabbathi S, Alla GR, et al. Tropolone derivative hinokitiol ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108915. doi:10.1016/j.intimp.2022.108915.
- [18] Schmidt J, Lewandrowsi K, Warsaw AL, et al. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat[J]. *Int J Pancreatol*, 1992, 12(1):41–51. doi:10.1007/BF02927069.
- [19] Hu Q, Hu Y, Tan C, et al. Acute pancreatitis: mechanisms and therapeutic approaches[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2026, 11:15. doi:10.1038/s41392-025-02394-6.
- [20] Liang LP, Zhang L, Jin DD, et al. Beyond anti-inflammatory strategies: Epigenetic targets as emerging therapeutic frontiers in acute pancreatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2026, 32(3): 114229. doi:10.3748/wjg.v32.i3.114229.
- [21] 雷寰, 夏鑫, 林治宇, 等. RhoA/ROCK 信号通路在急性胰腺炎中的作用机制研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2025, 34(3):563–571. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240649.
- Lei H, Xia X, Lin ZY, et al. The role and mechanisms of the RhoA/ROCK signaling pathway in acute pancreatitis: research progress[J]. *China Journal of General Surgery*, 2025, 34(3): 563–571. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240649.
- [22] Mihoc T, Latcu SC, Secasan CC, et al. Pancreatic morphology, immunology, and the pathogenesis of acute pancreatitis[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(11): 2627. doi:10.3390/biomedicines12112627.
- [23] Yang N, Li B, Pan Y, et al. Hypertriglyceridaemia delays pancreatic regeneration after acute pancreatitis in mice and patients[J]. *Gut*, 2019, 68(2):378–380. doi:10.1136/gutjnl-2017-315560.
- [24] Wu J, Zhang L, Shi J, et al. Macrophage phenotypic switch orchestrates the inflammation and repair/regeneration following acute pancreatitis injury[J]. *EBioMedicine*, 2020, 58:102920. doi:10.1016/j.ebiom.2020.102920.
- [25] 曹锋, 李非, 赵玉沛. 《中国急性胰腺炎诊治指南(2021)》解读[J]. *中国实用外科杂志*, 2021, 41(7):758–761. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2021.07.06.
- Cao F, Li F, Zhao YP. Interpretation of guidelines for the diagnosis and treatment of acute pancreatitis in China(2021) [J]. *Chinese Journal of Practical Surgery*, 2021, 41(7):758–761. doi:10.19538/j.cjps.issn1005-2208.2021.07.06.
- [26] Yu Y, Yue Z, Xu M, et al. Macrophages play a key role in tissue repair and regeneration[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e14053. doi:10.7717/peerj.14053.
- [27] Qi X, Liu Q, Wei Z, et al. Chronic exposure to BDE-47 aggravates acute pancreatitis and chronic pancreatitis by promoting acinar cell apoptosis and inflammation[J]. *Toxicol Sci*, 2024, 199(1):120–131. doi:10.1093/toxsci/kae024.
- [28] Wang R, Jiang J, Song P, et al. Kinsenoside alleviates experimental acute pancreatitis by suppressing M1 macrophage polarization via the TLR4/STAT1 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 345:119551. doi:10.1016/j.jep.2025.119551.
- [29] Hou X, Wang C, Chen C, et al. Galangin protects against acute pancreatitis by inhibiting ROS-induced acinar cell apoptosis and M1-type macrophage polarization[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2025, 1871(6): 167887. doi:10.1016/j.bbdis.2025.167887.
- [30] Duan F, Wang X, Wang H, et al. GDF11 ameliorates severe acute pancreatitis through modulating macrophage M1 and M2 polarization by targeting the TGFβR1/SMAD-2 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 108: 108777. doi:10.1016/j.intimp.2022.108777.
- [31] Ding FD, Liu GZ, Gao F, et al. Adropin attenuates pancreatitis-associated lung injury through PPARγ phosphorylation-related macrophage polarization[J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(4): 95. doi:10.3892/ijmm.2023.5298.
- [32] Shen Q, Wang S, Wu KY, et al. Identification of Grb2 protein as a potential mediator of macrophage activation in acute pancreatitis based on bioinformatics and experimental verification[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1575880. doi:10.3389/fimmu.2025.1575880.
- [33] Allawadhi P, Beyer G, Mahajan UM, et al. Novel insights into macrophage diversity during the course of pancreatitis[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(6): 1802–1805. doi:10.1053/j.

- [gastro.2021.09.049](#).
- [34] Marstrand-Daucé L, Lorenzo D, Chassac A, et al. Acinar-to-ductal Metaplasia (ADM): on the road to pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) and pancreatic cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12):9946. doi:10.3390/ijms24129946.
- [35] Do CTP, Prochnau JY, Dominguez A, et al. The road ahead in pancreatic cancer: emerging trends and therapeutic prospects[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(9): 1979. doi: 10.3390/biomedicines12091979.
- [36] Carrasco-Garcia E, Lopez L, Moncho-Amor V, et al. SOX9 triggers different epithelial to mesenchymal transition states to promote pancreatic cancer progression[J]. *Cancers(Basel)*, 2022, 14(4):916. doi:10.3390/cancers14040916.
- [37] Prévot PP, Simion A, Grimont A, et al. Role of the ductal transcription factors HNF6 and Sox9 in pancreatic acinar-to-ductal Metaplasia[J]. *Gut*, 2012, 61(12): 1723-1732. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300266.
- [38] Saba E, Farhat M, Daoud A, et al. Oral bacteria accelerate pancreatic cancer development in mice[J]. *Gut*, 2024, 73(5): 770-786. doi:10.1136/gutjnl-2023-330941.
- [39] Aney KJ, Jeong WJ, Koak P, et al. Novel acinar metaplastic states uncovered in exocrine pancreas disease[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2025, 20(5):101717. doi:10.1016/j.jcmgh.2025.101717.
- [40] Qi L, Han H, Han MM, et al. Remodeling of imbalanced extracellular matrix homeostasis for reversal of pancreatic fibrosis[J]. *Biomaterials*, 2023, 292: 121945. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121945.
- [41] Chitty JL, Cox TR. The extracellular matrix in cancer: from understanding to targeting[J]. *Trends Cancer*, 2025, 11(9):839-849. doi:10.1016/j.trecan.2025.05.003.
- [42] Xiang H, Yu H, Zhou Q, et al. Macrophages: a rising star in immunotherapy for chronic pancreatitis[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 185:106508. doi:10.1016/j.phrs.2022.106508.

( 本文编辑 宋涛)

本文引用格式:涂广平,陈浪,黄琛,等.雨蛙素诱导急性胰腺炎中胰腺再生修复的损伤程度依赖性差异研究[J].中国普通外科杂志,2026,35(3):512-523. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.250396

Cite this article as: Liu YF, Chen L, Tu GP, et al. Injury severity-dependent differences in pancreatic regeneration and repair in cerulein-induced acute pancreatitis[J]. *Chin J Gen Surg*, 2026, 35(3):512-523. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.250396



微信扫一扫  
关注该公众号

## 敬请关注《中国普通外科杂志》官方微信平台

《中国普通外科杂志》官方公众微信正式上线启动(订阅号:ZGPTWKZZ),我们将通过微信平台定期或不定期推送本刊的优秀文章、工作信息、活动通知以及国内外最新研究成果与进展等。同时,您也可在微信上留言,向我们咨询相关问题,并对我们的工作提出意见和建议。《中国普通外科杂志》公众微信号的开通是在移动互联网时代背景下的创新求变之举,希望能为广大读者与作者带来更多的温馨和便利。

欢迎扫描二维码,关注《中国普通外科杂志》杂志社官方微信服务平台。

中国普通外科杂志编辑部