·论著·

基于PINK1/Parkin介导线粒体自噬探讨Nrf2影响急性胰腺炎氧化应激及炎症反应的机制

张芷若，谷登凯，张彩灵，张天盈，覃月秋
右江民族医学院附属医院消化内科，广西百色 533000

摘要：目的 基于PTEN诱导假定激酶（PINK1）/E3泛素连接酶（Parkin）介导线粒体自噬探讨核因子E2相关因子2（Nrf2）在急性胰腺炎（AP）氧化应激及炎症调节中的作用机制。**方法** 将SPF级雄性SD大鼠随机分为5组，每组10只。Sham组开腹翻动肠道后关腹，AP组开腹后经胰管逆行入路注射3.5%牛磺胆酸钠建立AP模型后关腹，TBHQ组建立AP模型关腹后腹腔注射Nrf2激活剂TBHQ，ML385组建立AP模型关腹后腹腔注射Nrf2抑制剂ML385，TBHQ + Mdivi-1组建立AP模型关腹后腹腔注射Nrf2激活剂TBHQ和线粒体自噬抑制剂Mdivi-1。采用ELISA法检测大鼠血清淀粉酶（AMS）、脂肪酶（LPS）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）及白细胞介素6（IL-6）水平；HE染色观察大鼠胰腺组织病理学变化；DCFH-DA荧光探针检测胰腺组织活性氧（ROS）水平；RT-qPCR及Western blotting分别检测胰腺组织Nrf2、PINK1、Parkin、p62、LC3B mRNA及蛋白表达。**结果** 与Sham组相比，AP组可见胰腺组织水肿及炎症损伤，AMS、LPS、TNF-α、IL-6及ROS升高，Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B表达降低，p62表达升高（*P*均<0.05）。与AP组相比，TBHQ组胰腺病理损伤减轻，AMS、TNF-α、IL-6及ROS降低，Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B表达升高，p62表达降低（*P*均<0.05）；ML385组病理损伤加重，AMS、LPS、TNF-α、IL-6及ROS升高，Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B表达降低，p62表达升高（*P*均<0.05）。与TBHQ组相比，TBHQ + Mdivi-1组病理损伤进一步加重，AMS、LPS、TNF-α、IL-6及ROS升高，PINK1、Parkin及LC3B表达降低，p62表达升高（*P*均<0.05）。**结论** Nrf2激活可减轻AP氧化应激及炎症反应，其机制可能与Nrf2促进PINK1/Parkin介导线粒体自噬有关。

关键词：急性胰腺炎；核因子E2相关因子2；线粒体自噬；PTEN诱导假定激酶；E3泛素连接酶；氧化应激
doi：10.3969/j.issn.1002-266X.2026.07.006
中图分类号：R576　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1002-266X（2026）07-0028-06
开放科学（资源服务）标识码（OSID）

Mechanism of Nrf2 in regulating oxidative stress and inflammatory response in acute pancreatitis based on PINK1/Parkin-mediated mitophagy

ZHANG Zhiruo, GU Dengkai, ZHANG Cailing, ZHANG Tianying, QIN Yueqiu
Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, *China*

Abstract: Objective To investigate the regulatory effect of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) on PTEN-induced kinase 1 (PINK1)/Parkin-mediated mitophagy and to explore its underlying mechanism in oxidative stress and inflammatory responses in acute pancreatitis (AP). **Methods** Fifty SPF male SD rats were randomly divided into five groups, with 10 rats in each group: the Sham group (received laparotomy with intestinal manipulation followed by abdominal closure), the AP group (underwent laparotomy, followed by retrograde injection of 3.5% sodium taurocholate through the pancreatic duct to establish an AP model, after which the abdomen was closed), the TBHQ group (received intraperitoneal injection of the Nrf2 activator TBHQ after AP model establishment and abdominal closure), the ML385 group (received intraperitoneal injection of the Nrf2 inhibitor ML385 after AP model establishment and abdominal closure), and the TBHQ + Mdivi-1 group (received intraperitoneal injection of both the Nrf2 activator TBHQ and the mitophagy inhibitor Mdivi-1 after AP model establishment and abdominal closure), respectively. Serum levels of amylase (AMS), lipase

基金项目：国家自然科学基金项目（82260134）；广西自然科学基金项目（2023GXNSFAA026118）；广西高校中青年教师科研基础能力提升项目（2025KY0553）；右江民族医学院附属医院高层次人才科研项目（R202011702）。
第一作者简介：张芷若（2000-），女，硕士研究生在读，主要研究方向为胰腺疾病的基础与临床。E-mail：20231002080@stu.ymun.edu.cn
通信作者简介：覃月秋（1976-），女，博士研究生，教授，主任医师，主要研究方向为胰腺疾病的基础与临床。E-mail：gbsqyq@126.com

(LPS), tumor necrosis factor-α (TNF-α), and interleukin-6 (IL-6) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Histopathological changes in pancreatic tissues were evaluated by HE staining. Reactive oxygen species (ROS) levels in pancreatic tissues were detected using the DCFH-DA fluorescent probe. The mRNA and protein expression levels of Nrf2, PINK1, Parkin, p62, and LC3B in the pancreatic tissues were determined by RT-qPCR and Western blotting, respectively. **Results** Compared with the Sham group, the AP group exhibited pancreatic edema and inflammatory injury, accompanied by significantly increased levels of AMS, LPS, TNF-α, IL-6, and ROS, decreased expression of Nrf2, PINK1, Parkin, and LC3B, and increased p62 expression (all $P<0.05$). Compared with the AP group, the TBHQ group showed attenuated pancreatic pathological injury, reduced levels of AMS, TNF-α, IL-6, and ROS, increased expression of Nrf2, PINK1, Parkin, and LC3B, and decreased p62 expression (all $P<0.05$). In contrast, the ML385 group exhibited aggravated pancreatic injury, increased levels of AMS, LPS, TNF-α, IL-6, and ROS, decreased expression of Nrf2, PINK1, Parkin, and LC3B, and increased p62 expression (all $P<0.05$). Compared with the TBHQ group, the TBHQ + Mdivi-1 group exhibited more severe pancreatic injury, accompanied by increased levels of AMS, LPS, TNF-α, IL-6, and ROS, decreased expression of PINK1, Parkin, and LC3B, and increased p62 expression (all $P<0.05$). **Conclusion** Activation of Nrf2 attenuates oxidative stress and inflammatory response in AP, and the mechanism may be related to Nrf2 promoting PINK1/Parkin-mediated mitophagy.

Key words: acute pancreatitis; Nrf2; mitophagy; PTEN-induced kinase 1; Parkin; oxidative stress

急性胰腺炎(AP)是一种临床常见的急腹症,全球发病率呈上升趋势。AP发病机制复杂、进展迅速,部分患者可发展为重症急性胰腺炎(SAP),病情危重,病死率较高[1]。研究发现,AP的发生发展与氧化应激、炎症反应、线粒体功能异常及线粒体自噬密切相关[2]。泛素依赖性LC3适配体蛋白途径中的PTEN诱导假定激酶(PINK1)/E3泛素连接酶(Parkin)介导的线粒体自噬是目前研究较为广泛的经典线粒体自噬通路之一[3]。核因子E2相关因子2(Nrf2)是广泛存在于机体内调控氧化还原平衡的关键核转录因子,在维持细胞氧化还原稳态中起关键作用[4]。Nrf2除参与抗氧化调控外,还可能与线粒体自噬调节密切相关。在溃疡性结肠炎、慢性肾脏病、2型糖尿病等疾病研究中,激活Nrf2可调节PINK1/Parkin相关线粒体自噬,从而减轻氧化应激及炎症介质释放,发挥组织保护作用[5]。然而,在AP病理进程中,Nrf2是否通过调控PINK1/Parkin介导的线粒体自噬,进而减轻AP氧化应激及炎症反应,目前尚不明确。因此,本研究于2024年9月—2025年12月采用SD大鼠建立AP模型,通过调控Nrf2表达,并结合线粒体自噬抑制干预,观察Nrf2对AP氧化应激、炎症反应及PINK1/Parkin相关线粒体自噬水平的影响,初步探讨Nrf2在AP损伤过程中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂 SPF级雄性SD大鼠50只,8周龄,体重(200 ± 20)g,实验动物使用许可证号:SCXK(粤)2022-0063,饲养于右江民族医学院动物实验室。所有大鼠在温度(22 ± 2)℃中饲养,12 h光照/12 h黑暗交替,自由饮水、摄食,分笼饲养,适应性饲养1周后开始实验。本研究经右江民族医学院动物伦理委员会批准(2024101201)。牛磺胆酸钠、DMSO、PEG300、Tween80购自美国GlpBio公司;Nrf2激活剂TBHQ(HY-15886)、Nrf2抑制剂ML385(HY-100523)、线粒体自噬抑制剂Mdivi-1(HY-100489)购自美国MCE公司;淀粉酶(AMS)检测试剂盒、脂肪酶(LPS)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素6(IL-6)ELISA试剂盒购自睿信生物科技有限公司;活性氧(ROS)检测试剂盒、RIPA裂解液、10×TBST、PMSF、蛋白磷酸化酶抑制剂均购自北京索莱宝科技有限公司;mRNA逆转录试剂盒、SYBR Green Master Mix、彩虹Maker、SDS-PAGE凝胶快速制备试剂盒购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;快速封闭液、通用型抗体稀释液购自上海雅酶生物医药科技有限公司;PVDF膜购自Millipore公司;TRIzol购自上海赛默飞生物科技有限公司;RT-qPCR引物均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;Nrf2兔一抗(T55136)、p62/SQSTM1兔一抗(T55546)、LC3B兔一抗(T55992)购自abmart生物医药(上海)有限公司;PARK2/Parkin兔一抗(14060-1-AP)、GAPDH兔一抗(81640-5-RR)购自武汉三鹰生物技术有限公司;PINK1兔一抗(507131)购自成都正能生物技术有限责任公司;山羊抗兔IgG(H+L)HRP购自南京博研生物科技有限公司;超敏ECL化学发光试剂盒购自苏州莫纳生物科技有限公司。

1.2 实验分组、AP模型建立与干预 SD大鼠采用随机数字表法分为5组,每组10只。所有大鼠术前禁食12 h,以2.5%异氟烷吸入维持麻醉状态。

Sham组行假手术，开腹后翻动肠道后即缝合关腹，术后同步常规饲养48 h后完成样本取材；其余4组开腹后经胰管逆行入路，以1 mL/kg匀速（0.1 mL/min）持续注射3.5%牛磺胆酸钠建立AP模型，输注完成后以生理盐水冲洗腹腔，确认无活动性出血后缝合关腹，造模约5 min后可见大鼠胰腺发白、水肿等典型AP病理表现[6]；其中AP组术后常规饲养48 h后完成样本取材，TBHQ组、ML385组及TBHQ + Mdivi-1组于术后48 h内分别腹腔注射TBHQ（16.7 mg/kg）、ML385（30 mg/kg）、TBHQ（16.7 mg/kg）联合Mdivi-1（3 mg/kg），每8 h给药1次，共6次[7-9]，干预结束后同步完成样本取材。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 血清AMS、LPS、TNF-α、IL-6检测 腹主动脉采血，静置1 h后，于4 ℃条件下以3 000 r/min离心10 min；取上清部分，采用ELISA法按照试剂盒说明书检测大鼠血清AMS、LPS、TNF-α及IL-6水平。

1.3.2 胰腺组织病理学观察 取胰腺组织，用10%的甲醛溶液固定24 h后依次进行脱水、二甲苯透明、石蜡包埋，制备5 μm连续切片；行苏木精-伊红（HE）染色，光学显微镜下观察胰腺组织病理学变化并采集图像。

1.3.3 胰腺组织ROS水平检测 采用DCFH-DA荧光探针检测胰腺组织ROS水平。取新鲜胰腺组织制备厚度为5 μm的冰冻切片，室温复温晾干；用PBS轻轻冲洗切片，去除杂质；加入1∶1 000稀释的DCFH-DA探针，37 ℃避光孵育20 min；PBS洗涤2～3次，每次5 min。加入30 μL的DAPI染液，室温孵育10 min；PBS再次洗涤10 min后采用抗荧光淬灭封片液封片，于荧光显微镜下观察ROS荧光信号并采集图像，统计各组平均荧光强度。

1.3.4 胰腺组织Nrf2及PINK1/Parkin通路、线粒体自噬相关指标检测 ①采用RT-qPCR检测Nrf2、PINK1、Parkin、p62及LC3B mRNA表达水平。采用TRIzol试剂盒提取胰腺组织总RNA，紫外分光光度计检测RNA浓度及纯度，使用逆转录试剂盒获得cDNA，以GAPDH作为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算各基因相对表达量。PCR反应条件：95 ℃预变性300 s，95 ℃变性10 s，60 ℃退火20 s，72 ℃延伸20 s，共40个循环。GAPDH上游引物序列5'-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3'，下游引物序列5'-AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3'；Nrf2上游引物序列5'-TGTCAGCTACTCCCAGGTTG-3'，下游引物序列5'-AGGGCAAGCGACTGAAATG-TAG-3'；PINK1上游引物序列5'-GATCCTCCAGC-GAAGCCATC-3'，下游引物序列5'-CGCCTGAACT-GTTGAAGGGTG-3'；Parkin上游引物序列5'-GCAGTTTGTCCACGACGCTC-3'，下游引物序列5'-CCTCGGCACCATACTGCTGG-3'；p62上游引物序列5'-AAGAGCGGGTACTGATCCCTG-3'，下游引物序列5'-CCACCCTTGCGCAACTCTTC-3'；LC3B上游引物序列5'-CGTCCGAGAAGACCTTCAAAC-3'，下游引物序列5'-TCGCTCTATAATCACTGGGATCT-3'。②采用Western blotting检测Nrf2、PINK1、Parkin、p62及LC3B蛋白表达。取胰腺组织，按组织∶RIPA裂解液∶PMSF为10 mg∶100 μL∶1 μL的比例加入RIPA裂解液及PMSF，研磨后提取总蛋白；经SDS-PAGE电泳分离蛋白后转移至PDVF膜，洗膜，快速封闭液封闭，分别加入Nrf2（1∶1 000）、PINK1（1∶1 000）、Parkin（1∶3 000）、LC3B（1∶1 000）、p62（1∶7 000）一抗，4 ℃摇床孵育过夜；洗膜后加入HRP标记二抗，室温摇床孵育1 h后洗膜，ECL显影，采用ImageJ软件进行灰度值分析。

1.4 统计学方法 采用SPSS 27.0、Graphpad Prism 11.0统计软件。计量资料采用Shapiro-Wilk法进行正态性检验，Levene法进行方差齐性检验，符合正态分布以$\bar{x} \pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清AMS、LPS、TNF-α、IL-6水平比较 与Sham组相比，其余4组血清AMS、LPS、IL-6水平升高，AP组、ML385组及TBHQ + Mdivi-1组TNF-α水平升高（P均<0.05）；与AP组相比，TBHQ组血清AMS、TNF-α、IL-6水平降低，ML385组AMS、LPS、TNF-α、IL-6水平升高（P均<0.05），TBHQ + Mdivi-1组AMS、TNF-α、IL-6水平升高（P均<0.05）；与TBHQ组相比，ML385组和TBHQ + Mdivi-1组血清AMS、LPS、TNF-α、IL-6水平升高（P均<0.05）；与ML385组相比，TBHQ + Mdivi-1组血清AMS、LPS、TNF-α、IL-6水平降低（P均<0.05）。见表1。

2.2 各组大鼠胰腺组织病理形态比较 HE染色结果显示，Sham组胰腺组织结构正常，腺泡细胞大小基本一致，排列相对整齐紧凑，无水肿、坏死及炎性细胞浸润。与Sham组相比，AP组胰腺组织可见中度水肿，间质结缔组织排列疏松，腺泡细胞排列不规则，间隔增宽，并伴少量淋巴细胞浸润。与AP组相比，TBHQ组仅见灶性轻微水肿，腺泡细胞排列相对规则，间隔减小；ML385组可见胰腺组织重度水肿，

表1　各组大鼠血清AMS、LPS、TNF-α、IL-6水平比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	AMS（U/L）	LPS（U/L）	TNF-α（pg/mL）	IL-6（pg/mL）
Sham组	10	931.4 ± 242.2	28.3 ± 7.5	12.9 ± 0.6	34.0 ± 1.3
AP组	10	2 171.0 ± 316.1[a]	58.4 ± 3.0[a]	16.8 ± 0.2[a]	43.1 ± 1.9[a]
TBHQ组	10	1 383.0 ± 16.8[ab]	46.5 ± 8.3[a]	13.4 ± 0.7[b]	36.7 ± 2.0[ab]
ML385组	10	4 134.0 ± 307.9[abc]	105.6 ± 8.2[abc]	25.6 ± 1.2[abc]	52.9 ± 2.6[abc]
TBHQ + Mdivi-1组	10	2 851.0 ± 341.0[abcd]	64.6 ± 2.8[acd]	18.4 ± 1.1[abcd]	48.5 ± 3.1[abcd]

注：与Sham组相比，[a]P<0.05；与AP组相比，[b]P<0.05；与TBHQ组相比，[c]P<0.05；与ML385组相比，[d]P<0.05。

腺泡细胞排列不规则，间质结缔组织排列疏松，间隔增宽，并伴较多淋巴细胞浸润，少量腺泡细胞坏死。与TBHQ组相比，TBHQ + Mdivi-1组可见中度水肿，腺泡细胞排列不规则，间质结缔组织排列疏松，间隔增宽，伴较多淋巴细胞及巨噬细胞浸润，少量腺泡细胞坏死。见OSID码图1。

2.3　各组大鼠胰腺组织ROS水平比较　Sham组、AP组、TBHQ组、ML385组及TBHQ + Mdivi-1组ROS平均荧光强度分别为58.63 ± 10.87、104.25 ± 11.61、76.34 ± 4.49、141.22 ± 14.50、131.02 ± 4.09。与Sham组相比，其余4组ROS水平升高（P均<0.05）；与AP组相比，TBHQ组ROS水平降低，ML385组、TBHQ + Mdivi-1组ROS水平升高（P均<0.05）；与TBHQ组相比，ML385组、TBHQ + Mdivi-1组ROS水平升高（P均<0.05）。ROS荧光染色图见OSID码图2。

2.4　各组大鼠胰腺组织Nrf2及PINK1/Parkin通路、线粒体自噬相关指标比较　RT-qPCR结果显示，与Sham组相比，AP组Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B mRNA表达降低，p62 mRNA表达升高（P均<0.05）。与AP组相比，TBHQ组Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B mRNA表达升高，p62 mRNA表达降低（P均<0.05）；ML385组Nrf2、PINK1、Parkin及LC38 mRNA表达降低，p62 mRNA表达升高（P均<0.05）。与TBHQ组相比，TBHQ + Mdivi-1组p62 mRNA表达升高，PINK1、Parkin及LC3B mRNA表达降低（P均<0.05）。见表2。

表2　各组大鼠胰腺组织中Nrf2、PINK1、Parkin、p62、LC3B mRNA相对表达量比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	Nrf2 mRNA	PINK1 mRNA	Parkin mRNA	p62 mRNA	LC3B mRNA
Sham组	10	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
AP组	10	0.57 ± 0.02[a]	0.46 ± 0.03[a]	0.48 ± 0.01[a]	1.91 ± 0.35[a]	0.67 ± 0.04[a]
TBHQ组	10	0.75 ± 0.08[ab]	0.92 ± 0.09[b]	0.65 ± 0.09[ab]	1.15 ± 0.17[b]	0.98 ± 0.10[b]
ML385组	10	0.22 ± 0.01[abc]	0.18 ± 0.03[abc]	0.19 ± 0.01[abc]	3.08 ± 0.26[abc]	0.41 ± 0.03[b]
TBHQ + Mdivi-1组	10	0.84 ± 0.04[abd]	0.33 ± 0.02[abcd]	0.41 ± 0.01[abcd]	3.38 ± 0.43[abc]	0.38 ± 0.11[ac]

注：与Sham组相比，[a]P<0.05；与AP组相比，[b]P<0.05；与TBHQ组相比，[c]P<0.05；与ML385组相比，[d]P<0.05。

Western blotting结果显示，与Sham组相比，AP组Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B蛋白表达降低，p62蛋白表达升高（P均<0.05）。与AP组相比，TBHQ组Nrf2、PINK1、Parkin及LC3B蛋白表达升高，p62蛋白表达降低（P均<0.05）；ML385组Nrf2、PINK1、Parkin及LC38蛋白表达降低，p62蛋白表达升高（P均<0.05）。与TBHQ组相比，TBHQ + Mdivi-1组PINK1、Parkin及LC3B表达降低，p62蛋白表达升高（P均<0.05）。见表3和OSID码图3。

表3　各组大鼠胰腺组织中Nrf2、PINK1、Parkin、p62、LC3B蛋白相对表达量比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	Nrf2	PINK1	Parkin	p62	LC3B
Sham组	10	1.06 ± 0.03	0.79 ± 0.03	0.68 ± 0.10	0.27 ± 0.04	0.53 ± 0.01
AP组	10	0.72 ± 0.04[a]	0.32 ± 0.02[a]	0.40 ± 0.06[a]	0.55 ± 0.08[a]	0.27 ± 0.03[a]
TBHQ组	10	0.99 ± 0.15[b]	0.55 ± 0.05[ab]	0.49 ± 0.05[ab]	0.30 ± 0.14[b]	0.38 ± 0.03[ab]
ML385组	10	0.39 ± 0.01[abc]	0.18 ± 0.02[abc]	0.21 ± 0.03[abc]	0.91 ± 0.07[abc]	0.17 ± 0.03[abc]
TBHQ + Mdivi-1组	10	1.01 ± 0.16[bd]	0.16 ± 0.02[ac]	0.29 ± 0.06[acd]	0.84 ± 0.04[abc]	0.23 ± 0.05[ac]

注：与Sham组相比，[a]P<0.05；与AP组相比，[b]P<0.05；与TBHQ组相比，[c]P<0.05；与ML385组相比，[d]P<0.05。

3　讨论

AP是胰腺组织自身消化引发的炎症性损伤，胆石症、酒精摄入及高脂血症为主要病因，其特征是胰腺局部炎症反应，临床主要表现为急性上腹痛及AMS或LPS水平升高[10]。近年来，AP发病率呈上升趋势，且患者可进一步出现全身炎症反应综合征及多器官功能障碍，导致死亡风险增加[11]。虽然AP的发病机制尚未明确，但相关研究发现，AP的发生发

展与氧化应激、炎症介质释放、钙超载、线粒体功能障碍及线粒体自噬等机制密切相关[12]。氧化应激是AP早期重要病理过程之一，炎症细胞活化和炎症反应会诱导ROS大量生成，引起氧化应激，从而损伤腺泡细胞[13]。此外，AP还涉及TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8等多种炎症因子的异常表达，其中TNF-α、IL-6的表达水平与AP的严重程度呈正相关[14]。因此，调控氧化应激及炎症反应可能成为改善AP损伤的重要方向。

近期研究发现，Nrf2在抗氧化及抗炎过程中发挥重要调控作用[15]。生理状态下，Nrf2主要与Kelch样ECH关联蛋白1（Keap1）结合，并通过泛素化降解维持低水平表达；当受ROS介导的氧化应激刺激时，Nrf2则与Keap1解离并转移到细胞核中，诱导下游抗氧化剂和解毒酶如血红素加氧酶1、NAD（P）H醌氧化还原酶1、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽等表达，从而发挥抗氧化作用[16]。此外，Nrf2还参与调节炎症反应，Nrf2激活后可抑制TNF-α、IL-6等促炎因子的表达，发挥抗炎作用，从而减轻AP炎症反应[17]。本研究通过TBHQ激活Nrf2以及ML385抑制Nrf2，对AP大鼠进行干预。结果显示，激活Nrf2后，AP大鼠血清TNF-α、IL-6水平降低，ROS荧光强度减弱，提示Nrf2激活可减轻AP氧化应激及炎症反应；而抑制Nrf2则导致ROS蓄积，加剧氧化应激反应，加重炎症反应。

Nrf2发挥抗氧化、抗炎作用可能与调控线粒体自噬相关，但其作用机制仍需进一步探讨。线粒体自噬是维持线粒体质量的重要调控机制，该过程发生损伤时会导致线粒体功能障碍，这一特征在多种病理状态下存在。因此，通过特异性清除受损线粒体，可减少异常ROS生成，减轻氧化应激，维持细胞稳态。泛素依赖性PINK1/Parkin信号通路是哺乳动物受损线粒体最常见的线粒体自噬途径[18]。现有研究发现，Nrf2作为上游关键调控因子，可通过调控PINK1/Parkin介导的线粒体自噬，在多种疾病中发挥细胞保护功能：在帕金森病中，Nrf2激活可上调PINK1/Parkin通路活性，促进受损线粒体清除，同时还能抑制α-突触核蛋白病理性聚集并减少氧自由基释放，保护多巴胺能神经元[19]；在衰老诱导的肌肉减少症模型中，给药Nrf2激动剂后可上调PINK1、Parkin蛋白表达，增强线粒体自噬，抑制氧化应激，进而延缓骨骼肌纤维化的病理进程[20]；在碳离子照射诱导的认知缺陷模型中，Nrf2与PINK1存在分子相互作用，二者共同激活可改善线粒体功能障碍，减少胞内ROS病理性蓄积，恢复认知能力[21]。在机制方面，Nrf2主要通过调控下游靶基因转录或直接与PINK1相互作用，最终共同促进PINK1/Parkin线粒体自噬通路的激活，缓解氧化应激与组织损伤。本研究结果显示，AP大鼠胰腺组织中Nrf2表达降低，同时PINK1、Parkin及LC3B表达下降，p62表达升高，提示AP过程中可能存在线粒体自噬功能受损。激活Nrf2后，PINK1、Parkin及LC3B表达增加，p62表达降低，同时氧化应激水平降低且胰腺组织损伤得以减轻；而抑制Nrf2则产生相反变化。此外，应用Mdivi-1后，TBHQ对AP损伤的抑制作用部分减弱，炎症因子升高、ROS增加且PINK1/Parkin相关蛋白表达下降。这提示Nrf2可能通过调节PINK1/Parkin介导的线粒体自噬过程，改善线粒体功能障碍，从而减轻AP中的氧化应激及炎症反应，但Nrf2通过PINK1/Parkin介导线粒体自噬改善线粒体功能的具体机制仍有待进一步研究。

综上所述，Nrf2激活可减轻AP氧化应激与炎症反应，其可能通过促进PINK1/Parkin相关线粒体自噬、改善线粒体功能发挥抗氧化、抗炎作用，这为进一步探索AP的分子机制及潜在治疗方向提供了实验基础和理论依据。

作者贡献：张芷若负责实验构思、设计与操作，撰写论文；谷登凯、张彩灵负责整理数据与统计分析；张天盈负责辅助实验操作；覃月秋负责指导实验设计及修改论文。

利益冲突：所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] AMMER-HERRMENAU C, ANTWEILER K L, ASENDORF T, et al. Gut microbiota predicts severity and reveals novel metabolic signatures in acute pancreatitis[J]. Gut, 2024, 73(3): 485-495.

[2] WEN E, CAO Y, HE S W, et al. The mitochondria-targeted Kaempferol nanoparticle ameliorates severe acute pancreatitis [J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 148.

[3] GAN Z Y, CALLEGARI S, COBBOLD S A, et al. Activation mechanism of PINK1[J]. Nature, 2022, 602(7896): 328-335.

[4] ZHAO T M, FANG R, DING J, et al. Melatonin ameliorates multiorgan injuries induced by severe acute pancreatitis in mice by regulating the Nrf2 signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2024, 975: 176646.

[5] KONG J R, XIANG Q Z, SHI G X, et al. Licorice protects against ulcerative colitis via the Nrf2/PINK1-mediated mitochondrial autophagy[J]. Immun Inflamm Dis, 2023, 11(1): e757.

[6] 牛小龙，陈佳靓，郑华群，等. 三种急性胰腺炎大鼠模型的制备及特点比较[J]. 中国组织工程研究，2024，28(34)：5480-5486.

（下转第59页）