·胰腺疾病·

DOI：10.12449/JCH260419

克老素衍生肽7对慢性胰腺炎小鼠模型胰腺纤维化的影响及其机制

李雨欣[1,2]，傅家财[3]，陈　赛[4]，齐　玲[1]，李凤金[1]

1 广州医科大学附属清远医院消化内科，广东 清远 511518

2 大理大学基础医学院，云南 大理 671000

3 四川大学华西医院药学部，成都 610041

4 遵义医科大学药学院，贵州 遵义 563000

通信作者：李凤金，wklifengjin@163.com（ORCID：0000-0002-8405-7922）；齐玲，qiling1718@gzhmu.edu.cn（ORCID：0000-0002-6275-3599）

摘要：目的　通过观察克老素衍生肽7（KL7）对雨蛙素诱导的慢性胰腺炎（CP）小鼠模型的影响，了解该药物抗胰腺纤维化的作用机制，进而为临床用药提供依据。**方法**　将40只雄性BALB/c小鼠随机分为对照组、模型组、KL7低剂量组（2 mg/kg）和KL7高剂量组（4 mg/kg），每组10只。除对照组外，其余各组小鼠腹腔注射雨蛙素（50 μg/kg），每天注射6次，每次间隔1 h，每周注射3 d，连续注射4周，进行CP造模。KL7低剂量、KL7高剂量组分别给予不同剂量的KL7治疗，每天给药1次，连续4周。活体成像观察KL7在胰腺中的富集情况；分子对接检测KL7与转化生长因子β Ⅱ型受体（TβRⅡ）的结合情况；称量小鼠体重及胰腺湿重；苏木素-伊红染色观察胰腺组织的病理变化；马松染色观察胰腺组织纤维化程度；免疫组化染色检测α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、Ⅰ型胶原α1链（COL1A1）的表达情况；蛋白质印迹法检测胰腺组织中α-SMA、TβRⅡ、磷酸化的母系抗十五表态蛋白同源物2/3（p-Smad2/3）蛋白的表达水平。计量资料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*和Dunnett's-T3检验。**结果**　KL7能够显著富集在CP小鼠胰腺组织，与TβRⅡ蛋白存在强结合活性。与对照组相比，模型组小鼠胰腺湿量和相对胰腺质量均显著降低（*P*<0.000 1），胰腺组织结构紊乱、炎细胞浸润增加，纤维化程度显著增加，α-SMA和COL1A1阳性面积均显著增加（*P*值均<0.000 1），α-SMA、TβRⅡ和p-Smad2/3蛋白表达水平显著升高（*P*值均<0.05）。与模型组相比，KL7高剂量组小鼠胰腺湿量和相对胰腺质量均显著升高（*P*值均<0.01），胰腺组织结构损伤和炎细胞浸润得到缓解，纤维化程度显著降低，α-SMA和COL1A1阳性面积均显著降低（*P*值均<0.001），α-SMA、TβRⅡ和p-Smad2/3蛋白表达水平均显著降低（*P*值均<0.01）。**结论**　KL7对CP小鼠胰腺纤维化具有显著的靶向治疗效果，其作用机制涉及KL7与TβRⅡ特异性结合，从而抑制TGF-β/Smad信号通路的激活。

关键词：胰腺炎，慢性；纤维化；克老素衍生肽7

基金项目：广东省医学科学技术研究基金（A2022163，A2024690）；广东省中医药局科研项目（20231412，20251478）；吴阶平医学基金会科研专项资助基金（320.6750.2024-03-49）；广东省基础与应用基础研究基金（2025A1515010072）

Effect of Klotho-derived peptide 7 on pancreatic fibrosis in a mouse model of chronic pancreatitis and its mechanism

LI Yuxin[1,2], *FU Jiacai*[3], *CHEN Sai*[4], *QI Ling*[1], *LI Fengjin*[1]

1. Department of Gastroenterology, Qingyuan Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Qingyuan, Guangdong 511518, China; 2. Basic Medical College of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China; 3. Department of Pharmacy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China

Corresponding authors: *LI Fengjin*, *wklifengjin@163.com* (*ORCID*: *0000-0002-8405-7922*); *QI Ling*, *qiling1718@gzhmu.edu.cn* (*ORCID*: *0000-0002-6275-3599*)

Abstract: **Objective** To investigate the anti-pancreatic fibrosis mechanism of Klotho-derived peptide 7 (KL7) by observing its effect on a mouse model of chronic pancreatitis (CP) induced by cerulean, and to provide a basis for clinical medication. **Methods** A total of 40 male BALB/c mice were randomly divided into control group, model group, low-dose KL7 group (2 mg/kg), and high-dose KL7 group (4 mg/kg), with 10 mice in each group. All mice except those in the control group were given intraperitoneal injection of cerulean (50 μg/kg) 6 times a day at an interval of 1 hour, twice a week for 4 consecutive weeks to establish a model of CP. The mice in the low-dose KL7 group and the high-dose KL7 group were treated with different doses of KL7 once a day for 4 consecutive weeks. In vivo imaging was used to observe the accumulation of KL7 in the pancreas; molecular docking was used to detect the binding of KL7 to transforming growth factor-β type Ⅱ receptor (TβRⅡ); the mice were measured in terms of body weight and pancreatic weight; HE staining was used to observe the pathological changes of pancreatic tissue; Masson staining was used to observe the degree of pancreatic fibrosis; immunohistochemical staining was used to measure the expression of α-smooth muscle actin (α-SMA) and type Ⅰ collagen (COL1A1); Western blotting was used to measure the protein expression levels of α-SMA, TβRII, and phosphorylated small mothers against decapentaplegic homolog 2/3 (p-Smad2/3) in pancreatic tissue. A one-way analysis of variance was used for comparison of continuous data between multiple groups, and the least significant difference *t*-test and the Dunnett's-T3 test were used for further comparison between two groups. **Results** KL7 was significantly enriched in the pancreatic tissue of CP mice, and there was a strong binding activity between KL7 and TβRⅡ. Compared with the control group, the model group had significant reductions in pancreatic mass and relative pancreatic mass (P<0.000 1), with disordered structure of pancreatic tissue, an increase in inflammatory cell infiltration, and significant increases in fibrosis degree, the positive areas of α-SMA and COL1A1 (P<0.000 1), and the protein expression levels of α-SMA, TβRⅡ, and p-Smad2/3 (P<0.05). Compared with the model group, the high-dose KL7 group had significant increases in pancreatic mass and relative pancreatic mass (P<0.01), with alleviation of structural damage of pancreatic tissue and inflammatory cell infiltration, a significant reduction in fibrosis degree, and significant reductions in the positive areas of α-SMA and COL1A1 (P<0.001) and the protein expression levels of α-SMA, TβRⅡ, and p-Smad2/3 (P<0.01). **Conclusion** KL7 has a significant targeted therapeutic effect on pancreatic fibrosis in CP mice through specific binding of KL7 to TβRⅡ, thereby inhibiting the activation of the TGF-β/Smad signaling pathway.

Key words: Pancreatitis, Chronic; Fibrosis; Klotho-Derived Peptide

Research funding: Guangdong Provincial Medical Science and Technology Research Fund (A2022163, A2024690); Guangdong Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Scientific Research Project (20231412, 20251478); Wu Jieping Medical Foundation Special Research Fund (320.6750.2024-03-49); Guangdong Basic and Applied Basic Research Fund (2025A1515010072)

慢性胰腺炎(chronic pancreatitis,CP)的病理表现为胰腺实质的萎缩与破坏,其中胰腺纤维化是其主要病理特征,导致胰腺组织不可逆损伤,并显著增加胰腺癌的发生风险[1]。近年来,CP的发病率与患病率呈现逐年上升趋势[2-3],且目前尚无有效的根治方法[4]。因此,开发可用于治疗CP胰腺纤维化的药物尤为迫切。

克老素是一种抗衰老的单边膜蛋白,在肾脏和脑中大量表达,同时存在于包括胰腺在内的各种内、外分泌组织中[5]。克老素缺陷易导致肾脏、心脏和肺等多个器官纤维化[6-7]。有研究表明,克老素衍生肽(Klotho-derived peptide, KL)1可通过靶向转化生长因子β(transforming growth factor-β,TGF-β)/母系抗十五表态蛋白同源物(mothers against decapentaplegic homolog, Smad)信号传导抑制肾纤维化进程[8];KL6可通过靶向Wnt/β-联蛋白(β-catenin)信号传导改善肾小球硬化和间质纤维化病变[9]。本课题组前期研究筛选获得了一段具有胰腺靶向性的KL7,通过分子对接发现KL7与TGF-βⅡ型受体(transforming growth factor-β type Ⅱ receptor, TβRⅡ)存在强结合活性。因此,本研究通过建立CP模型小鼠,评估KL7对CP纤维化的影响,并探讨其潜在的作用机制,以期为KL7作为CP治疗新策略的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 *实验药物* KL7(序列:YQTEGGW)由上海强耀生物科技有限公司合成,将其溶解于二甲基亚砜溶剂中,

初始浓度为40 mg/mL，使用生理盐水稀释至0.4 mg/mL，用于纤维化治疗。KL7-花青素7（CY7）由南京金斯瑞生物科技有限公司合成，粉末溶解于二甲基亚砜中，初始浓度为20 mg/mL，使用生理盐水稀释至0.2 mg/mL，用于活体成像分析。

1.2 实验动物 选用无特定病原体级BALB/c雄性小鼠40只，4周龄，购自广东省医学实验动物中心[动物生产许可证号：SCXK（粤）2022-0002]。所有小鼠饲养于广州医科大学附属清远医院实验动物中心[实验动物使用许可证号：SYXK（粤）2024-02-06]，饲养环境条件为：室温20～26 ℃，相对湿度40%～70%，12 h光照/12 h黑暗，自由进食和饮水。

1.3 实验试剂 雨蛙素（美国MCE公司，货号：HY-A0190B21327）；马松三色染色液（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号：G1006）；α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）抗体（英国Abcam公司，货号：ab124964）；Ⅰ型胶原α1链（collagen type Ⅰ，COL1A1）抗体（美国CST公司，货号：72026T）；p-Smad2、p-Smad3抗体（上海碧云天生物技术股份有限公司，货号：AF2545、AF1759）；Smad2/3抗体（武汉塞维尔生物科技有限公司，货号：GB111844）；TβRⅡ抗体（武汉Proteitech公司，货号：66636-1-Ig）；GAPDH抗体（江苏Affinity公司，货号：AF7021）；3，3′-二氨基联苯胺染色试剂盒（苏州百道医疗，货号：PK001）；12%预制胶（南京艾思易生物科技有限公司，货号：ET15012LGel）；超敏发光液（北京普利莱基因技术有限公司，货号：P1050）；蛋白酶和蛋白磷酸酶抑制剂（苏州新赛美生物科技有限公司，货号：P002）。

1.4 实验仪器 全自动脱水仪（德国Hettich公司，型号：320R）；石蜡切片机（德国Leica公司，型号：RM2235）；全自动封片机（日本SAKURA公司，型号：Film-JC2）；正置荧光显微镜（日本Olympus，型号：BX53）；冷冻研磨仪（上海净信实业发展有限公司，型号：JXFSTPRP-CLN）；电泳系统（美国Bio-Rad公司，型号：PowerPac HC）；动物活体成像系统（上海天能生命科学有限公司，型号：ABL X6）。

1.5 实验方法

1.5.1 分组与造模 40只BALB/c小鼠适应性饲养1周后，采用完全随机法分为对照组、模型组、KL7低剂量组（2 mg/kg）和KL7高剂量组（4 mg/kg），每组10只。除对照组外，其余3组小鼠腹腔注射雨蛙素（50 μg/kg），每天注射6次，每次间隔1 h，每周注射3 d，连续注射4周，制备CP模型[9]；给药组小鼠在造模同时尾静脉注射相应剂量的KL7，注射体积10 mL/kg，每天给药1次，连续给药4周；对照组和模型组小鼠给予等体积的溶剂。

1.5.2 胰腺质量及相对胰腺质量的测定 末次给药2 h后，麻醉小鼠，分离小鼠胰腺，随后颈椎脱臼处死小鼠，称量小鼠体重和胰腺湿重并计算相对胰腺质量。相对胰腺质量=胰腺湿重（mg）/体重（g）。

1.5.3 活体成像观察KL7组织分布情况 尾静脉注射30 min后，麻醉小鼠，分离小鼠心脏、肝脏、脾脏、肺、肾和胰腺组织，摆放在无菌培养皿上，置于小动物活体成像系统内对各脏器进行荧光成像观察和拍照。

1.5.4 苏木精-伊红（hematoxylin and eosin staining，HE）染色观察小鼠胰腺组织病理变化 将新鲜分离的小鼠胰腺组织放入4%多聚甲醛溶液中固定24 h以上，随后进行常规脱水、石蜡包埋，切片厚度3 μm；脱蜡后，进行HE染色，全自动封片机封片，于显微镜下观察和拍照。

1.5.5 马松染色检测胰腺组织纤维化程度 将切片置于60 ℃恒温箱2 h，常规脱蜡、水化；按说明书进行马松染色，随后全自动封片机封片，于显微镜下观察和拍照；随机选取3个视野，用Image J软件进行图像的数据分析。

1.5.6 免疫组织化学（immunohistochemistry，IHC）染色检测胰腺组织中α-SMA、COL1A1表达 将切片置于60 ℃恒温箱中2 h，常规脱蜡、水化；在柠檬酸缓冲液中高压修复抗原；在3%过氧化氢中灭活内源性过氧化物酶；在0.5% Triton X-100溶液中渗透打孔；用10%山羊血清封闭后，滴加一抗α-SMA（1∶250）、COL1A1（1∶100），在湿盒内4 ℃孵育过夜；滴加鼠/兔二抗室温孵育1 h，磷酸盐缓冲液漂洗3次；滴加3，3’-二氨基联苯胺显色，苏木精复染细胞核，常规脱水、透明，全自动封片机封片，于显微镜下观察和拍照；随机选取3个视野，用Image J软件进行图像数据分析。

1.5.7 分子对接 使用Discover studio软件构建衍生多肽结构，并通过Chem 3D对所构建的多肽结构进行能量最小化，转化为pdb格式后导入AutoDock Tools-1.5.6软件，并添加原子电荷、分配原子类型，保存为pdbqt文件；从PDB数据库下载TβRⅡ蛋白晶体结构，采用AutoDock Tools-1.5.6软件对TβRⅡ进行加氢、平衡电荷修饰，将TβRⅡ转化为pdbqt格式；应用AutoDock Vina 1.1.2对蛋白与七肽进行分子对接，获取结合能值。

1.5.8 蛋白质印迹法（Western blotting，WB）检测α-SMA、TβRⅡ、Smad2/3和p-Smad2/3蛋白表达 将小鼠胰腺组织放入含有蛋白酶抑制剂和蛋白磷酸酶抑制剂的裂解

液中，冷冻研磨仪研磨，冰浴裂解，离心收集上清，二喹啉甲酸法测定蛋白浓度；上样缓冲液煮沸变性后的蛋白样品进行电泳、转膜和封闭；一抗GAPDH（1∶3 000）、α-SMA（1∶10 000）、TβRⅡ（1∶5 000）、p-Smad2（1∶1 000）、p-Smad3（1∶1 000）和Smad2/3（1∶500）4 ℃孵育过夜；洗涤后，二抗（1∶5 000）室温孵育1 h；化学发光显色，凝胶成像系统中进行显色；用Image J软件分析蛋白条带灰度值。

1.6 统计学方法 使用SPSS 27.0、Image J和Graphpad Prism 8.0.2软件进行数据分析与图像处理。符合正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t（方差齐时）和Dunnett's-T3（方差不齐时）检验，P<0.05为差异有统计学意义。

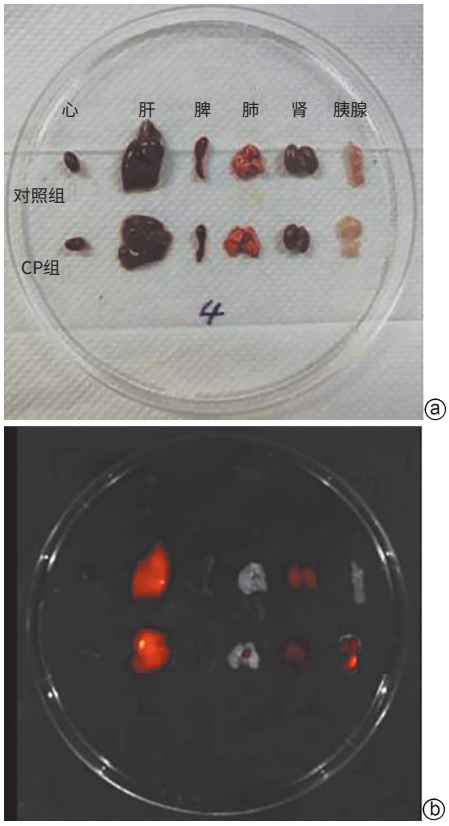
2 结果

2.1 KL7在CP小鼠各脏器中的富集情况 活体成像结果显示，与对照组相比，模型组小鼠的胰腺组织中KL7-CY7荧光强度显著增强（图1），表明KL7能够靶向富集在CP小鼠病变的胰腺组织。

2.2 分子对接验证KL7与TβRⅡ结合 分子对接结果显示，KL7可以稳定地结合在TβRⅡ蛋白由ARG-254、ALA-257、ASP-379、ASP-397、GLY-399、LEU-305、LEU-386、LEU-400、LYS-252、LYS-277、LYS-381、PHE-255、PHE-327、SER-383和VAL-258氨基酸组成的配体结合口袋中，KL7与口袋周围的氨基酸间形成了疏水作用和氢键作用，使小分子与蛋白稳定结合（图2）。根据Autodock软件的预测，KL7与TβRⅡ蛋白的最优结合能为-8.3 kcal/mol，表明两者之间具有较强的结合活性。

2.3 KL7对CP小鼠体重及胰腺重量的影响 与对照组相比，各组小鼠体重均无显著差异（P值均>0.05），模型组小鼠的胰腺湿重和相对胰腺质量显著降低（P值均<0.000 1）；与模型组相比，KL7高剂量组小鼠的胰腺湿重和相对胰腺质量均显著升高（P值均<0.01）（图3）。

2.4 KL7对CP小鼠胰腺组织大体形态和病理改变的影响 光镜观察发现，对照组小鼠胰腺组织呈黄色脂肪样，表面光滑平整，体积较大；与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织呈灰白色条索状，表面凹凸不平，体积明显缩小；与模型组相比，KL7低剂量组和高剂量组小鼠的胰腺组织接近正常状态。HE染色结果显示，对照组小鼠腺泡细胞排列整齐、边界清晰；与对照组相比，模型组小鼠腺泡细胞排列杂乱、边界模糊、萎缩、数量减少和体



注：a，脏器明场；b，脏器克老素衍生肽7-花青素7荧光成像。

图1 克老素衍生肽7在各组小鼠主要脏器中的富集情况

Figure 1 Enrichment of KL7 in the main organs of mice in various group

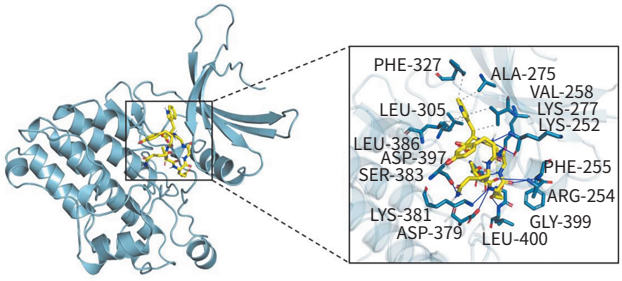
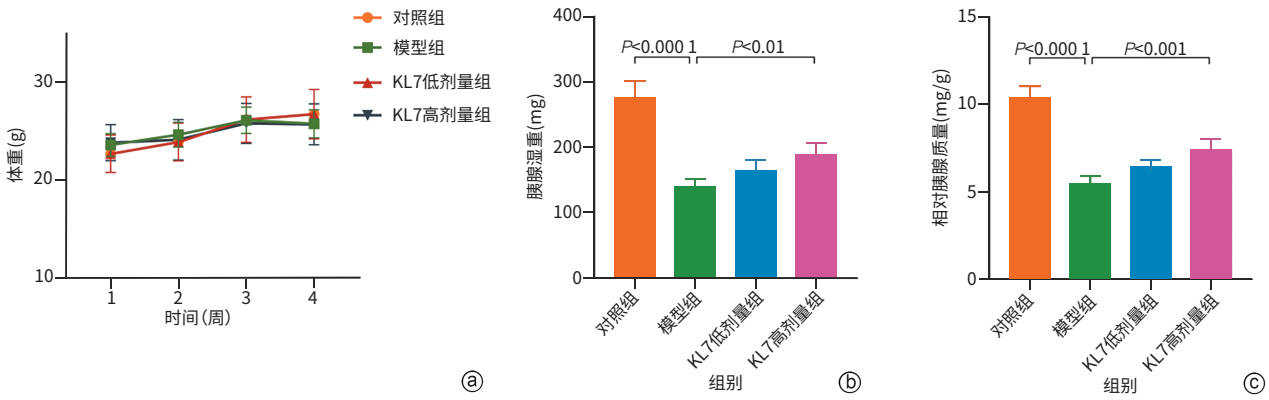


图2 克老素衍生肽7与转化生长因子β Ⅱ型受体分子对接图

Figure 2 Molecular docking diagram of KL7 and TβRⅡ

积变小，甚至出现空泡化和异常增生，并伴有以淋巴细胞、浆细胞为主的炎细胞浸润，经核验确定胰腺纤维化模型构建成功；与模型组相比，KL7低剂量组和高剂量组小鼠胰腺腺泡细胞排列相对整齐，边界清晰，仅存在少量空泡变性和炎症细胞浸润现象，仅有少量空泡化和异常增生细胞（图4）。

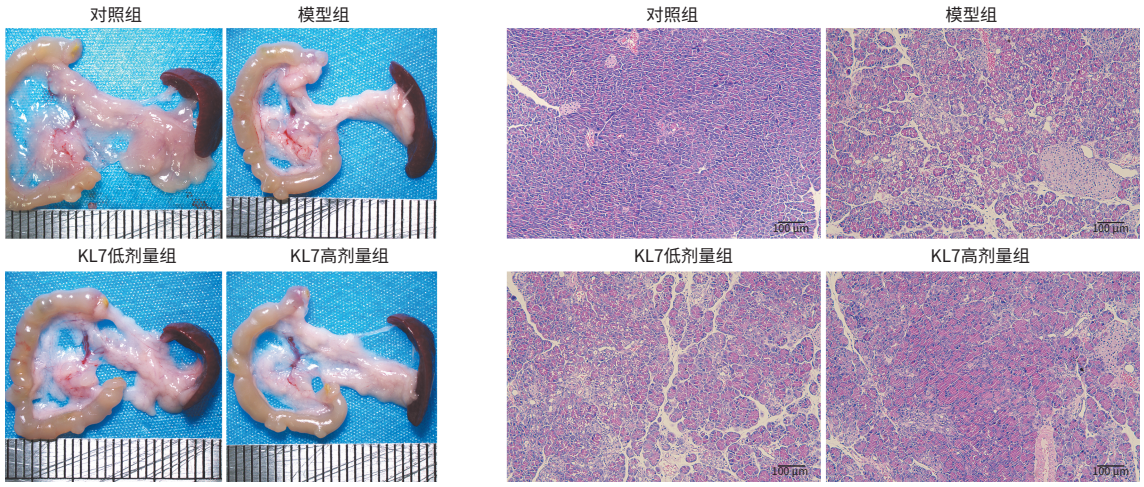
2.5 KL7对CP小鼠胰腺组织马松染色及α-SMA、COL1A1 IHC染色阳性面积的影响 与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织马松阳性面积显著升高（P<0.001）；



注：a，各组小鼠体重；b，各组小鼠胰腺湿重；c，各组小鼠相对胰腺质量。KL7，克老素衍生肽7。

图3　各组小鼠体重及胰腺湿重情况

Figure 3　Body weight and pancreatic weight of mice in various group



注：KL7，克老素衍生肽7。

图4　各组小鼠胰腺组织大体形态和苏木精-伊红染色结果（×100）

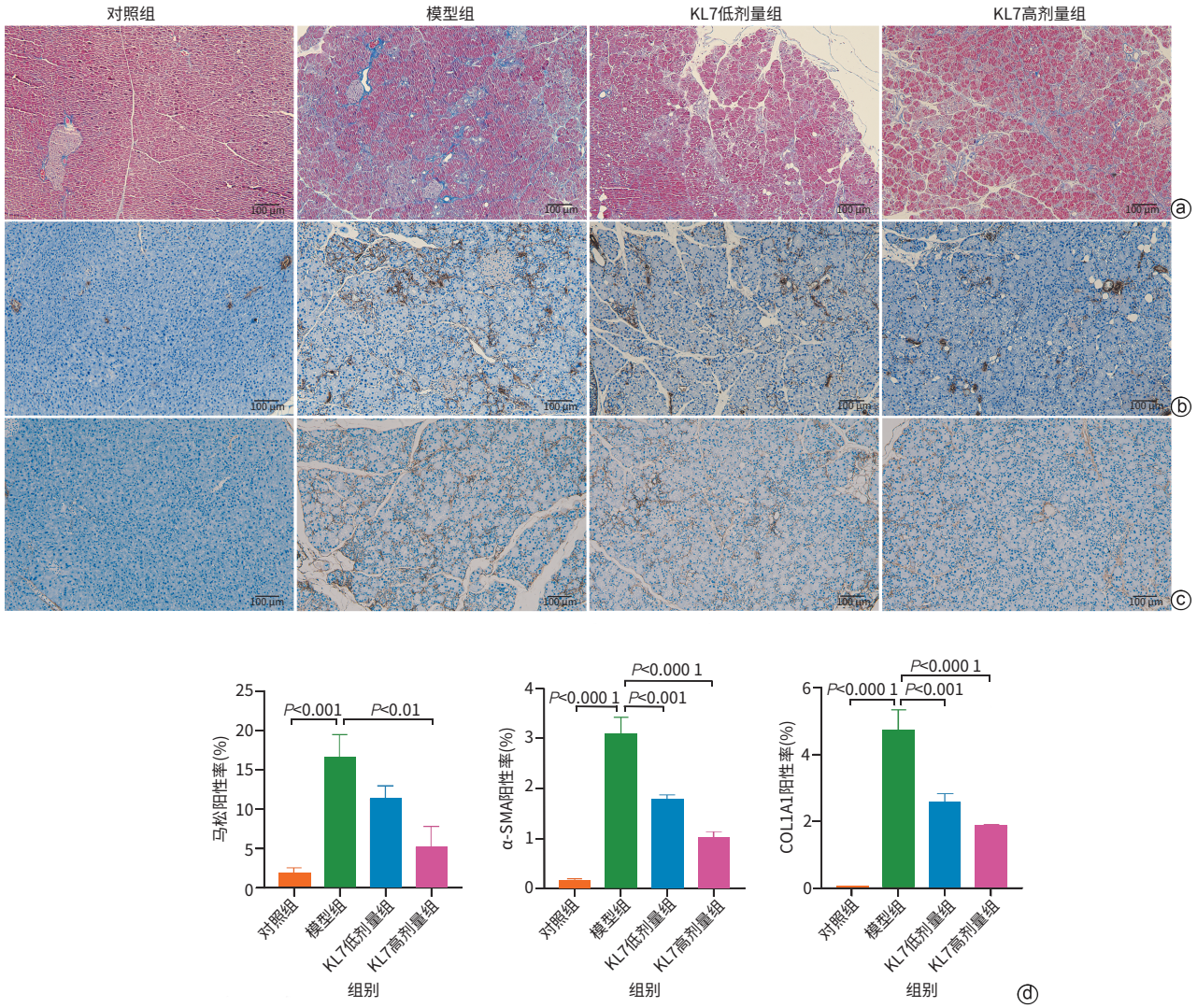
Figure 4　Gross morphology and HE staining results of pancreatic tissue in various group

与模型组相比，KL7高剂量组小鼠胰腺组织马松阳性面积显著降低（P<0.01）。与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织中α-SMA阳性面积显著升高（P<0.000 1）；与模型组相比，KL7低剂量组和高剂量组小鼠胰腺组织中α-SMA阳性面积均显著降低（P值均<0.001）。与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织中COL1A1阳性面积显著升高（P<0.000 1）；与模型组相比，KL7低剂量组和高剂量组小鼠胰腺组织中COL1A1阳性面积均显著降低（P值均<0.001）（图5）。

2.6　KL7对CP小鼠胰腺组织α-SMA、TβRⅡ、p-Smad2/3和Smad2/3蛋白表达的影响　WB结果显示，与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织中α-SMA和TβRⅡ蛋白表达水平均显著升高（P值均<0.001）；与模型组相比，KL7低剂量和高剂量组小鼠胰腺组织中α-SMA表达水平均显著降低（P值均<0.05），KL7高剂量组小鼠胰腺组织中TβRⅡ表达显著降低（P<0.001）。与对照组相比，模型组小鼠胰腺组织中p-Smad2、p-Smad3蛋白表达水平均显著升高（P值均<0.05）；与模型组相比，KL7高剂量组小鼠胰腺组织中p-Smad2、p-Smad3蛋白表达水平均显著降低（P值均<0.01）（图6）。

3　讨论

克老素是一种具有抗衰老特性的跨膜蛋白，参与多种生理过程的调控，具有抗炎、抗纤维化和抗氧化应激等生物活性，对多系统疾病及其纤维化病变，如心肌纤维化、肾纤维化和肺纤维化具有临床治疗潜能[10-11]。在胰腺疾病的治疗方面，已有研究表明，克老素治疗能够显著提升小鼠胰岛β细胞的质量，并减轻胰岛的炎症反应，提示其在1型糖尿病治疗中展现出潜在的应用价值[12]。此外克老素治疗还可显著抑制胰腺癌肿瘤的增



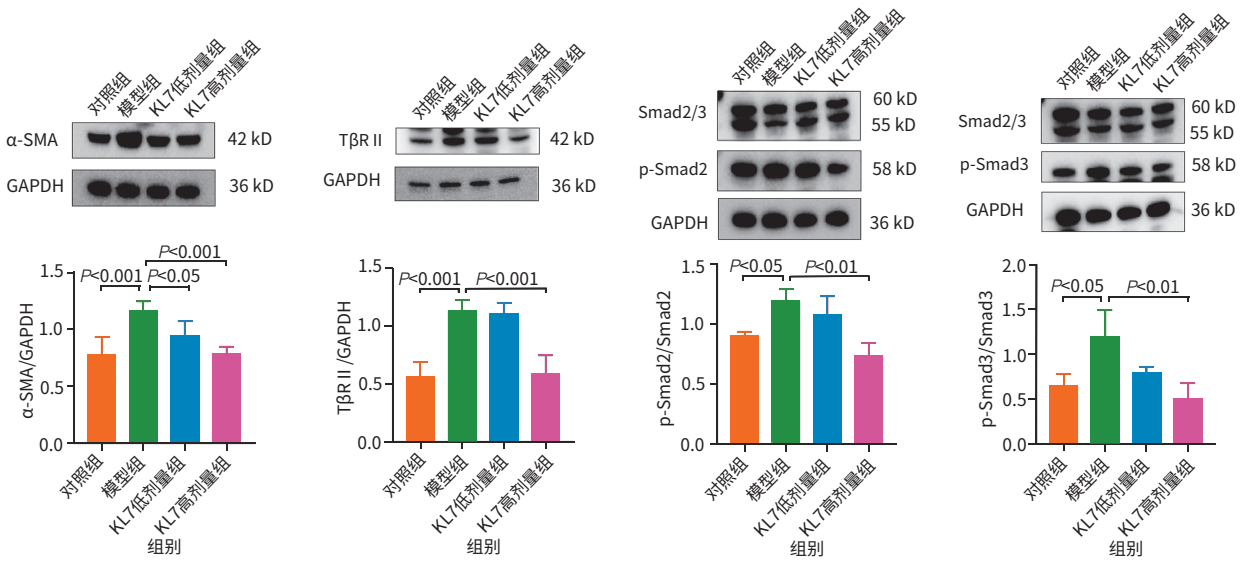
注：a，马松染色（×100）；b，α-SMA表达情况（免疫组织化学染色，×100）；c，COL1A1表达情况（免疫组织化学染色，×100）；d，各组小鼠胰腺组织马松染色和免疫组织化学染色面积半定量结果。α-SMA，α平滑肌肌动蛋白；COL1A1，Ⅰ型胶原α1链；KL7，克老素衍生肽7。

图5　各组小鼠胰腺组织染色情况

Figure 5　Staining status of pancreatic tissues in various groups of mice

殖，延长小鼠的生存期，为胰腺癌的治疗提供了新的思路[13]。然而，目前尚未有研究报道克老素在胰腺纤维化中的作用。本课题组在前期研究中筛选得到了一段能够显著富集在CP小鼠胰腺组织中的KL7。分子对接实验证实，KL7与TβRⅡ之间存在较强的结合能力，这一结果提示，KL7可能对胰腺纤维化具有治疗潜力。基于此，本研究通过腹腔注射雨蛙素成功建立了CP小鼠模型，进一步观察KL7对CP小鼠胰腺纤维化的治疗效果。结果显示，与模型组相比，KL7治疗组小鼠的胰腺湿重显著增加，胰腺损伤程度明显减轻，仅出现部分腺泡细胞萎缩和少量炎细胞浸润，胶原纤维沉积显著减少，且胰腺组织中COL1A1的表达水平显著降低。以上结果表明，KL7对CP引起的胰腺纤维化具有显著的治疗作用。

胰腺星形细胞（pancreatic stellate cell，PSC）是胰腺纤维化形成的主要效应细胞，活化的PSC以旁分泌和自分泌途径保持激活状态是纤维化发生的主要事件[14-15]。在正常的胰腺组织中，PSC以静息表型存在于腺泡细胞的基底外侧，细胞质中富含脂滴，负责合成细胞外基质蛋白及降解细胞外基质的酶，以维持正常的组织结构[16]。在外界因素作用下，PSC由静止表型转化为肌成纤维样细胞活化表型，脂滴消失，α-SMA表达增加，导致大量的细胞外基质合成和沉积，最终形成胰腺纤维化[17]。IHC染色和WB结果显示，模型组小鼠胰腺组织中α-SMA、COL1A1表达显著升高，而KL7治疗组中α-SMA、COL1A1表达显著降低。以上结果表明，KL7治疗胰腺纤维化的作用与抑制PSC的活化有关。



注：α-SMA，α平滑肌肌动蛋白；TβR Ⅱ，转化生长因子β Ⅱ型受体；p-Smad2，磷酸化的母系抗十五表态蛋白同源物2；p-Smad3，磷酸化的母系抗十五表态蛋白同源物3；KL7，克老素衍生肽7。

图6　各组小鼠胰腺组织中蛋白表达情况。

Figure 6　Protein expression in pancreatic tissues of mice in various groups

TGF-β是PSC活化的主要促纤维化细胞因子，通过与TβR结合，激活TGF-β/Smad信号通路，进而调控PSC的活化过程[18]。TβR根据结构和功能可分为TβR Ⅰ、TβR Ⅱ和TβR Ⅲ。在经典的TGF-β信号通路中，TGF-β首先与细胞表面的TβR Ⅱ结合，TβR Ⅱ发生自身磷酸化，招募并磷酸化TβR Ⅰ，形成配体-受体复合物，进一步磷酸化下游的Smad2/3蛋白，随后与Smad4结合并易位到细胞核中，转录调控靶基因表达[19]。TβR Ⅱ是TGF-β直接作用的受体，在下游信号的激活过程中起着“开关”的作用，是抗纤维化治疗的关键靶点。因此，本研究通过分子对接证实KL7可以稳定地结合在TβR Ⅱ蛋白中由ARG-254等15个氨基酸构成的口袋中，最优结合能为−8.3 kcal/mol，表明两者之间具有很强的结合活性。WB结果显示，模型组小鼠胰腺组织中TβR Ⅱ、p-Smad2和p-Smad3蛋白表达水平显著升高，而KL7治疗组中TβR Ⅱ、p-Smad2和p-Smad3蛋白表达水平显著下降，提示KL7可能通过与TβR Ⅱ特异性结合，竞争性抑制了TGFβ与TβR Ⅱ受体的结合，抑制了下游Smad2和Smad3蛋白的磷酸化，从而发挥抗纤维化作用。

综上所述，本研究发现KL7对CP小鼠胰腺纤维化具有显著的靶向治疗效果，其作用机制涉及KL7与TβR Ⅱ特异性结合抑制TGF-β/Smad信号通路的激活。然而，KL7对PSC活化的调控作用尚未阐明，仍有待深入研究。

伦理学声明：本研究方案于2023年8月18日经由广州医科大学附属清远医院实验动物伦理委员会审批，批号：LAEC-2023-042，符合实验室动物管理与使用准则。

利益冲突声明：本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明：李雨欣负责课题设计，起草论文；李雨欣、傅家财负责实验操作，研究过程的实施；陈赛负责数据收集，统计学分析，绘制图表；齐玲、李凤金负责拟定写作思路、指导撰写文章并最后定稿。

参考文献：

[1] HINES OJ, PANDOL SJ. Management of chronic pancreatitis[J]. BMJ, 2024, 384: e070920. DOI: 10.1136/bmj-2023-070920.
[2] SINGH VK, YADAV D, GARG PK. Diagnosis and management of chronic pancreatitis: A review[J]. JAMA, 2019, 322(24): 2422-2434. DOI: 10.1001/jama.2019.19411.
[3] CAI QY, TAN K, ZHANG XL, et al. Incidence, prevalence, and co-morbidities of chronic pancreatitis: A 7-year population-based study [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(30): 4671-4684. DOI: 10.3748/wjg.v29.i30.4671.
[4] de THIERENS N, VERDONK RC, LÖHR JM, et al. Chronic pancreatitis[J]. Lancet, 2025, 404(10471): 2605-2618. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)02187-1.
[5] KALE A, SANKRITYAYAN H, ANDERS HJ, et al. Epigenetic and non-epigenetic regulation of Klotho in kidney disease[J]. Life Sci, 2021, 264: 118644. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118644.
[6] ROSTAMZADEH F, MOOSAVI-SAEED Y, YEGANEH-HAJAHMADI M. Interaction of klotho and sirtuins[J]. Exp Gerontol, 2023, 182: 112306. DOI: 10.1016/j.exger.2023.112306.
[7] PRUD'HOMME GJ, KURT M, WANG QH. Pathobiology of the klotho antiaging protein and therapeutic considerations[J]. Front Aging, 2022, 3: 931331. DOI: 10.3389/fragi.2022.931331.
[8] YUAN Q, REN Q, LI L, et al. A Klotho-derived peptide protects against kidney fibrosis by targeting TGF-β signaling[J]. Nat Com-

mun, 2022, 13: 438. DOI: 10.1038/s41467-022-28096-z.
[9] CHEN XW, TAN HS, XU J, et al. Klotho-derived peptide 6 ameliorates diabetic kidney disease by targeting Wnt/β-catenin signaling[J]. Kidney Int, 2022, 102(3): 506-520. DOI: 10.1016/j.kint.2022.04.028.
[10] SHEN JL, BIN WY, LIN XN, et al. Klotho protein: A multifaceted guardian of healthy aging and its therapeutic potential[J]. Int J Nanomedicine, 2025, 20: 7251-7270. DOI: 10.2147/IJN.S514516.
[11] ZHAO XY, HAN DH, ZHAO C, et al. New insights into the role of Klotho in inflammation and fibrosis: Molecular and cellular mechanisms[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1454142. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1454142.
[12] PRUD'HOMME GJ, GLINKA Y, KURT M, et al. Systemic Klotho therapy protects against insulitis and enhances beta-cell mass in NOD mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 525(3): 693-698. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.02.123.
[13] ARBEL RUBINSTEIN T, REUVENI I, HESIN A, et al. A transgenic model reveals the role of klotho in pancreatic cancer development and paves the way for new klotho-based therapy[J]. Cancers, 2021, 13(24): 6297. DOI: 10.3390/cancers13246297.
[14] APTE MV, PIROLA RC, WILSON JS. Pancreatic stellate cells: A starring role in normal and diseased pancreas[J]. Front Physiol, 2012, 3: 344. DOI: 10.3389/fphys.2012.00344.
[15] BYNIGERI RR, JAKKAMPUDI A, JANGALA R, et al. Pancreatic stellate cell: *Pandora´s* box for pancreatic disease biology[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(3): 382-405. DOI: 10.3748/wjg.v23.i3.382.
[16] KONG FY, PAN YY, WU D. Activation and regulation of pancreatic stellate cells in chronic pancreatic fibrosis: A potential therapeutic approach for chronic pancreatitis[J]. Biomedicines, 2024, 12(1): 108. DOI: 10.3390/biomedicines12010108.
[17] MASAMUNE A, WATANABE T, KIKUTA K, et al. Roles of pancreatic stellate cells in pancreatic inflammation and fibrosis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2009, 7(11 Suppl): S48-S54. DOI: 10.1016/j.cgh.2009.07.038.
[18] ZHENG MF, LI HY, GAO YH, et al. Vitamin D_3 analogue calcipotriol inhibits the profibrotic effects of transforming growth factor- β1 on pancreatic stellate cells[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 957: 176000. DOI: 10.1016/j.ejphar.2023.176000.
[19] CHUNG JY, CHAN MK, LI JS, et al. TGF-β signaling: From tissue fibrosis to tumor microenvironment[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(14): 7575. DOI: 10.3390/ijms22147575.

收稿日期：2025-10-09；**录用日期：**2025-11-25
本文编辑：林姣

引证本文：LI YX, FU JC, CHEN S, et al. Effect of Klotho-derived peptide 7 on pancreatic fibrosis in a mouse model of chronic pancreatitis and its mechanism[J]. J Clin Hepatol, 2026, 42(4): 900-907.
李雨欣, 傅家财, 陈赛, 等. 克老素衍生肽7对慢性胰腺炎小鼠模型胰腺纤维化的影响及其机制[J]. 临床肝胆病杂志, 2026, 42(4): 900-907.

读者·作者·编者

《临床肝胆病杂志》关于论文中术语和英文缩略语的使用要求

为促进学术交流的准确与高效，减少歧义，根据中华人民共和国新闻出版行业标准《CY/T 119—2015 学术出版规范 科学技术名词》、中华人民共和国国家标准《GB/T 7713.2—2022 学术论文编写规则》及国际生物医学期刊编辑惯例，《临床肝胆病杂志》对投稿论文中术语和英文缩略语的使用作如下规定。

一、术语和英文缩略语使用原则

1. 标准性与通用性原则：术语应首选全国科学技术名词审定委员会审定公布的规范名词（检索方式：https://www.termonline.cn/），不宜使用“又称”“俗称”“曾称”名词。避免使用中文简称或自行创造的英文缩略语。术语的英文全称及缩略语均使用单数形式。

2. 必要性与适度性原则：英文缩略语的使用应以方便阅读、精简文字为目的，仅限于文中出现频次≥3次、汉字字数≥3个的中文术语。文章标题中不使用英文缩略语，文中亦尽可能减少英文缩略语的使用。

3. 自明性与统一性原则：摘要、正文及各个表格、插图中的同一英文缩略语需分别独立标注，即在摘要中已标注的英文缩略语，在正文中首次出现时需重新标注；在正文中已标注的英文缩略语，在各个图、表中出现时需重新标注。一个英文缩略语在全文仅对应一个术语，标注后再次出现该术语时，不再使用英文全称或中文名称。

二、英文缩略语使用格式

1. 摘要中首次出现时，标注格式为“中文全称（英文缩略语）”。示例：丙氨酸氨基转移酶（ALT）。

2. 正文中首次出现时，标注格式为“中文全称（英文全称，英文缩略语）”。示例：丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）。

3. 表格、插图（含表题、图题在内）中使用的英文缩略语，以表注、图注形式标注“英文缩略语，中文全称”。示例：注：ALT，丙氨酸氨基转移酶。

4. 特例：本刊仅认定DNA（脱氧核糖核酸）、RNA（核糖核酸）为公知公认的英文缩略语，可在文中直接使用。