

急性坏死性胰腺炎合并糖尿病大鼠早期细菌移位的研究

伍先权, 苏永辉, 卜巨源, 李霄凌, 侯鸿发, 侯冰宗

(中山大学附属第五医院普通外科, 广东 珠海 519000)

摘要:【目的】探讨糖尿病(DM)是否影响急性坏死性胰腺炎(ANP)早期细菌移位(BT)情况以及病情进展,以期指导临床早期治疗。【方法】35只Wistar雄性大鼠随机分为4组:DM+ANP组($n=10$)为ANP合并DM;DM组($n=10$)为DM后仅行开腹手术;ANP组($n=10$)为非糖尿病行ANP造模;空白组(SO, $n=5$)为非糖尿病仅行开腹手术。糖尿病成模7d后行ANP造模或开腹手术,12h后,取门静脉血、肠系膜淋巴结、胰腺、肝脏等行细菌培养与鉴定并计算细菌移位率;检测门静脉血淀粉酶以及内毒素;观察胰腺、回肠病理损伤程度。【结果】DM+ANP与ANP组死亡率为30%和10%。DM+ANP组与ANP组细菌总移位率分别为23/28(82.1%)、16/36(44.4%), $P=0.002$,革兰氏阳性菌分别为17/23(73.9%)、3/16(18.8%), $P=0.001$ 。ANP组淀粉酶(2302 ± 346)U/L较其他3组明显升高($P=0.000$),而DM+ANP组(501 ± 142)U/L未升高,与SO组存在明显差异($P=0.001$)。内毒素以及胰腺、回肠病理改变程度方面,DM+ANP组较ANP组、DM组、SO组明显改变($P<0.05$)。【结论】急性坏死性胰腺炎合并糖尿病早期移位细菌主要为革兰氏阳性菌。糖尿病加重急性坏死性胰腺炎病情、早期细菌移位、内毒素血症以及胰腺回肠损伤。

关键词:急性坏死性胰腺炎;糖尿病;细菌移位;内毒素血症;链脉佐菌素

中图分类号:R657.5

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2017)03-0372-07

Research of Acute Necrotizing Pancreatitis Associated with Diabetes Mellitus on Early Bacterial Translocation in Rat

WU Xian-quan, SU Yong-hui, BU Ju-yuan, LI Xiao-lin, HOU Hong-fa, HOU Bing-zong

(Department of General Surgery, The Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhuhai 51900, China)

Corresponding to: HOU Bing-zong, E-mail: weichangwaike2016@outlook.com

Abstract:【Objective】To explore whether diabetes mellitus (DM) can influence the early bacterial translocation (BT) and progression of acute necrotizing pancreatitis (ANP) for guiding the early clinical treatment. 【Methods】35 Wistar male rats were randomly allocated to 4 groups, Group ANP associated with DM (DM+ANP, $n=10$): DM underwent induction of ANP; Group DM ($n=10$): DM underwent laparotomy with only manipulation of the pancreas and duodenum; Group ANP ($n=10$): non-DM underwent induction of ANP; Group sham operation (SO, $n=5$): non-DM underwent SO. After 12 h of the induction of ANP or laparotomy, the following parameters were analyzed: bacterial culture and identification of portal vein blood, mesenteric lymph nodes (MLNs), pancreas and liver, and calculate the total incidence of BT; serum amylase and endotoxin levels of portal vein blood; histological assessment of pancreas and ileum lesions. 【Results】All animals except 3 in group DM+ANP (mortality rates: 30%) and 1 in group ANP (mortality rates: 10%) survived the experiment. The total incidence of BT was 23/28 (82.1%) in group DM+ANP whereas 16/36 (44.4%) in group ANP ($P=0.002$). Gram-positive bacteria were 17/23 (73.9%), 3/16 (18.8%) in group DM+ANP and group ANP, respectively ($P=0.001$). Amylase activity (2302 ± 346) U/L in group ANP increased significantly ($P=0.000$) compared with other groups. However, group DM+ANP (501 ± 142) U/L decreased significantly ($P=0.001$) in comparison to group SO. Regarding to endotoxin concentrations and the severity of pancreas and ileum lesions, group DM+ANP increased significantly compared with group ANP, group DM and group SO ($P<0.05$). 【Conclusion】Gram-positive bacteria translocates more frequently than Gram-negative bacteria in the early period of DM+ANP rats. DM aggravates the progression of ANP and increases early bacterial

收稿日期:2016-12-28

基金项目:广东省医学科学技术研究基金(B2013156)

作者简介:伍先权,硕士, E-mail:532867760@qq.com;侯冰宗,通信作者,副主任医师, E-mail:weichangwaike2016@outlook.com

translocation, endotoxemia and severity of pancreas and ileum lesions.

Key words: acute necrotizing pancreatitis; diabetes mellitus; bacterial translocation; endotoxemia; streptozotocin

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(3): 372-378]

胰腺具有内、外分泌功能。两者在胰腺正常生理和疾病的发生、发展中,相互作用,相互影响。因此,外分泌疾病常伴随内分泌疾病,反之亦然^[1]。外分泌常见疾病为急、慢性胰腺炎(acute/chronic pancreatitis, AP/CP), AP时高血糖提示不良预后,首次患 AP后发展成前期糖尿病、糖尿病(diabetes mellitus, DM)、需要胰岛素治疗糖尿病分别为16%、23%、15%^[2]。同时,美国糖尿病协会将由胰腺炎所致的糖尿病命名为3型糖尿病^[3]。内分泌常见疾病为2型糖尿病(type 2 DM, T2DM), 4个大型回顾性研究显示, T2DM增加患 AP的风险是1.86~2.89倍^[4]。AP是临床常见的急腹症,发病急、进展快、病情重而复杂。根据 Atlanta会议, AP分为急性间质水肿性胰腺炎、急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)^[5]。虽然 AP的总死亡率小于5%,但 ANP高达20%~25%^[6]。ANP病程分为2阶段,早期主要是系统炎症反应和器官衰竭,通常无感染,后期主要由于胰腺坏死组织感染所致的并发症^[7]。感染的发生率接近15%~20%,而感染患者死亡率接近30%^[8]。胰腺感染主要由于肠道屏障破坏和肠道通透性增加,来源于肠腔细菌移位(bacterial translocation, BT)^[8]。AP合并DM患者的发病率为54/10万人年^[9],研究主要为病例总结特点,然细菌移位方面研究很少,因此,为了早期更有效指导应用抗菌药物,本实验旨在探讨DM是否影响ANP早期BT情况以及病情进展。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器和试剂

链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ, Sigm公司), 牛磺胆酸钠(taurocholic acid, TLC, Sigma公司)、血糖仪以及试纸(三诺安稳)、大鼠内毒素试剂盒(Rat ET ELISA Kit, 北京索莱宝生物公司)、离心机(Eppendorf 5424R)、全自动生化分析仪(Beckman Coulter DXC800)、酶标仪(Bio-Rad Imark)、生化培养箱(上海博讯 SPX-150B-Z)、血培养瓶以及全自动血培养仪(BD Bactec 9120)、血琼脂培养基以

及MacConkey(郑州博赛生物公司)、快速革兰氏染色液(珠海贝索生物公司)、全自动微生物鉴定分析仪以及鉴定卡(Bio Mérieux VITEK 2 Compact)。

1.2 实验动物

26周龄SPF级Wistar雄性大鼠(中山大学实验动物中心提供)35只,体质量450~500 g。自由进食水,定期更换垫料,室内温度20℃左右,相对湿度40%~70%,动物饲养和处置都按照实验动物福利和伦理原则执行。

1.3 实验方案

造糖尿病大鼠成模第7天稳定后,随机分成4组(图1A):DM+ANP组($n=10$):ANP合并DM;DM组($n=10$):糖尿病后仅行开腹手术;ANP组($n=10$):非糖尿病行ANP造模;空白组(sham operation, SO, $n=5$):非糖尿病仅开腹手术。所有大鼠术后12 h后再次开腹按实验要求取标本检测。

1.4 模型制作

DM模型制作:采用STZ诱导DM模型^[10]。禁食禁水12 h后,左下腹单剂量腹腔注射STZ 50 mg/kg(将STZ溶于柠檬酸缓冲液配成浓度为10 g/L溶液,经无菌针头滤器过滤后,锡纸避光)。禁食禁水12 h后,每天上午8~12点测体质量以及针刺尾静脉测血糖,连续7 d。认为尾静脉血糖>16.7 mmol/L,以及明显出现多饮、多尿、体质量减轻等症状纳入糖尿病模型^[11]。非糖尿病模型则注射同等剂量柠檬酸缓冲液。

ANP模型制作:采用逆行胰胆管注射TLC制备ANP^[12]。禁食禁水12 h后,乙醚吸入麻醉,严格按照外科无菌原则操作,固定、备皮、消毒、铺巾,取上腹正中长约2 cm的切口,暴露腹腔,沿胃远端寻找十二指肠,轻柔拉出肠段,暴露胰腺,见胰腺被肠呈C型包围,胰胆管透明斜行开口于十二指肠,周围被粉红色胰腺呈片状包绕胆管(图1C)。显微血管夹阻断肝门部胆管,25 G 1次性静脉注射针穿刺胰胆管,助手将装有50 g/L TLC(2 mL/kg,经无菌针头滤器过滤)连接至微量注射泵,匀速持续推注约5 min,注完后继续维持压力约5 min,松开血管夹,8-0丝线缝合穿刺口,

检查腹腔无活动性出血后逐层关腹。术后保温以及背部皮下注射生理盐水(20 mL/kg)以补充术中失液。大鼠完全清醒后禁食水,每6 h巡视并皮下注射生理盐水。假手术(SO)则仅开腹、轻轻翻转胰腺后关腹。

1.5 观察指标及检测方法

1.5.1 细菌培养、鉴定及脏器细菌移位率 无菌条件下取门静脉血 2 mL,注入需氧血培养瓶后放入全自动血培养仪行门静脉血细菌培养。分别称取肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes, MLNs)、胰腺、肝组织各约 1 g,加入生理盐水 1 mL 充分研磨,各取 10 μ L 接种于血琼脂平板及 MacConkey 平板,37 $^{\circ}$ C 生化培养箱中做需氧菌培养 24 ~ 48 h。培养阳性标准为:大于 10^3 CFU/mL。阳性结果均观察菌落生长特性以及取菌落涂片后行快速革兰氏染色,观察菌落性质,再取菌落经比浊仪后放入全自动微生物鉴定分析仪鉴定细菌种类,最后计算各组脏器总细菌移位率(培养阳性脏器数/总培养脏器总数)。

1.5.2 血清内毒素以及淀粉酶的测定 门静脉血 2 mL 离心,1 000 g,10 min 后取血清,分装于无菌

EP 管内,一部分经全自动生化分析仪作血清淀粉酶测定,另一部分放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存,集中按 ET ELISA Kit 说明书行内毒素测定。

1.5.3 胰腺和回肠组织病理学评估 取胰头、回肠组织,用 100 mL/L 甲醛溶液固定,常规脱水、包埋、切片、HE 染色后,由两位病理学医师分别对胰腺组织进行双盲评分。胰腺、回肠损伤分别以 Schmidt^[13]、Chiu^[14] 标准进行评分。

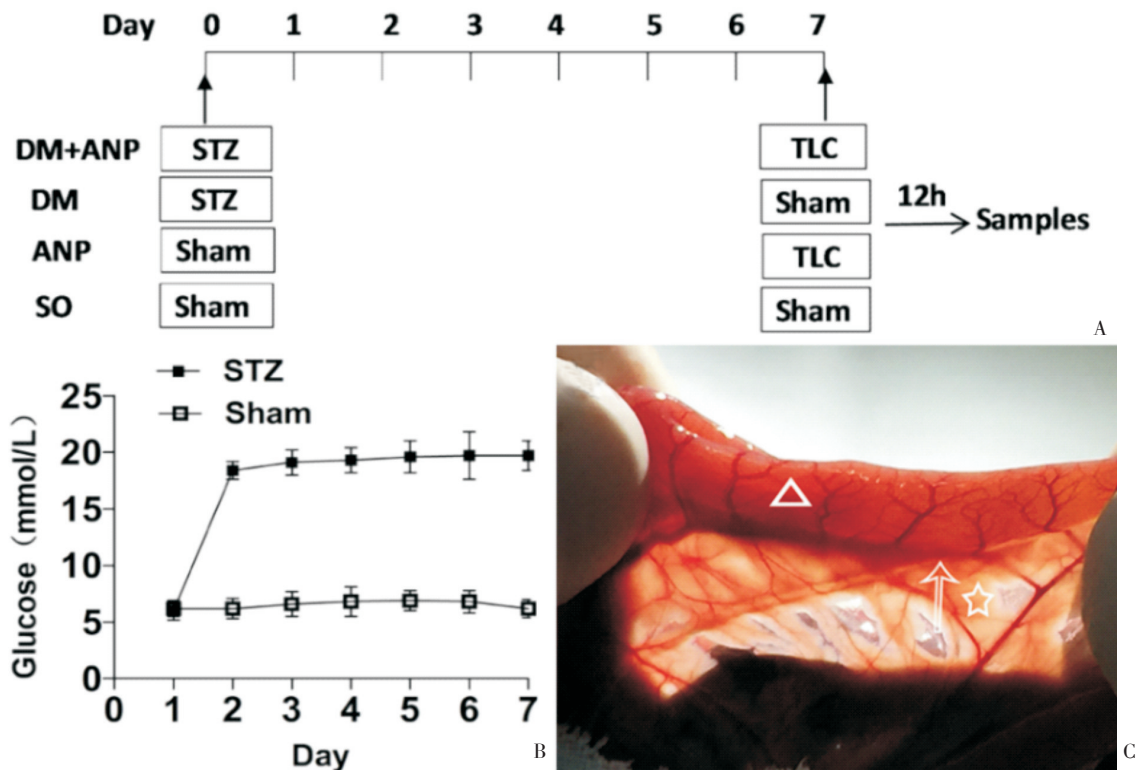
1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件分析,实验结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,定量资料符合正态分布以及方差齐时用完全随机设计的单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用 Bonferroni 法,同时校正 α 值,否则,采用 Kruskal Wallis 秩和检验。定性资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$,认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况观察

糖尿病大鼠模型出现多饮、多食、尿量增多



A: study protocol; B: tail vein glucose; C: anatomy of pancreas: duodenum(Δ), common biliopancreatic duct (CBPD) (\Rightarrow), pancreas(\star).

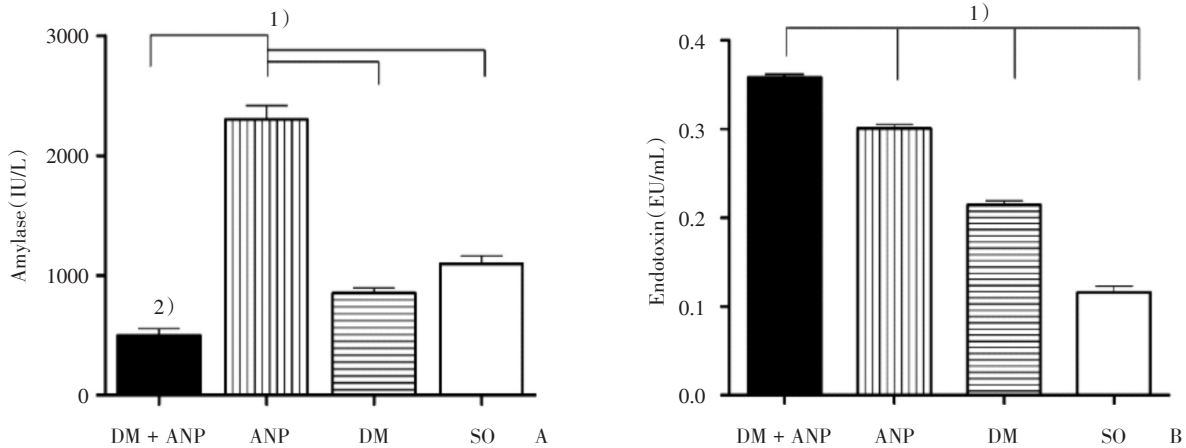
图1 实验方案、尾静脉血糖与胰腺解剖

Fig.1 study protocol, tail vein glucose and anatomy of pancreas

表1 各组微生物培养阳性种类

Table 1 Positive culture of tissues in study groups

Groups	n	Portal vein	MLNs	Pancreas	Liver
DM+ANP	7	<i>E. coli</i> (1)	<i>E.coli</i> (1)	<i>E. coli</i> (1)	<i>E. coli</i> (1)
		<i>Staphylococcus</i> (1)	<i>Proteus sp.</i> (1)	<i>Proteus sp.</i> (1)	<i>Enterococcus</i> (2)
		<i>Enterococcus</i> (3)	<i>Enterococcus</i> (2)	<i>Enterococcus</i> (2)	<i>Staphylococcus</i> (1)
			<i>Streptococcus</i> (2)	<i>Staphylococcus</i> (2)	
			<i>Staphylococcus</i> (1)	<i>Streptococcus sp.</i> (1)	
ANP	9	<i>E. coli</i> (2)	<i>E.coli</i> (2)	<i>E.coli</i> (2)	<i>E. coli</i> (2)
			<i>Proteus sp.</i> (1)	<i>Proteus sp.</i> (2)	
			<i>E.cloacae</i> (1)	<i>E.cloacae</i> (1)	
			<i>Staphylococcus</i> (1)	<i>Enterococcus</i> (1)	
				<i>Streptococcus sp.</i> (1)	
DM	10	0	<i>Staphylococcus</i> (1)	0	0
SO	5	0	0	0	0



DM + ANP: n = 7; ANP: n = 9; DM: n = 10; SO: n = 5. A: 1) P = 0.000, 2) P = 0.001 vs SO B: 1) P = 0.000

图2 门静脉血淀粉酶与内毒素浓度

Fig.2 Portal vein amylase levels and endotoxin concentrations

(垫料湿的快)、体质量减轻、排软便、毛松、懒动等现象。尾静脉血糖明显升高(图1B)。胰腺炎造模后,DM+ANP组死亡3只(死亡率约30%),ANP组死亡1只(死亡率约10%),病理证实死亡为肺出血。12 h后开腹可见腹腔内大量腹水,部分肠管粘连,胃肠积气积液,胰腺质地变薄,胰腺以及周围网膜、腹膜有灰白色钙化灶。

2.2 细菌鉴定和移位率

DM+ANP、ANP、DM、SO组总培养脏器份数为28、36、40、20,培养阳性脏器份数为23、16、1、0(表1),细菌总移位率分别为82.1%、44.4%、2.5%、0%。DM+ANP与ANP细菌总移位率有明显差异($\chi^2 = 9.403, P = 0.002$),G+分别为73.9%(17/23)、18.8%(3/16; $\chi^2 = 11.493, P = 0.001$)。DM+ANP与

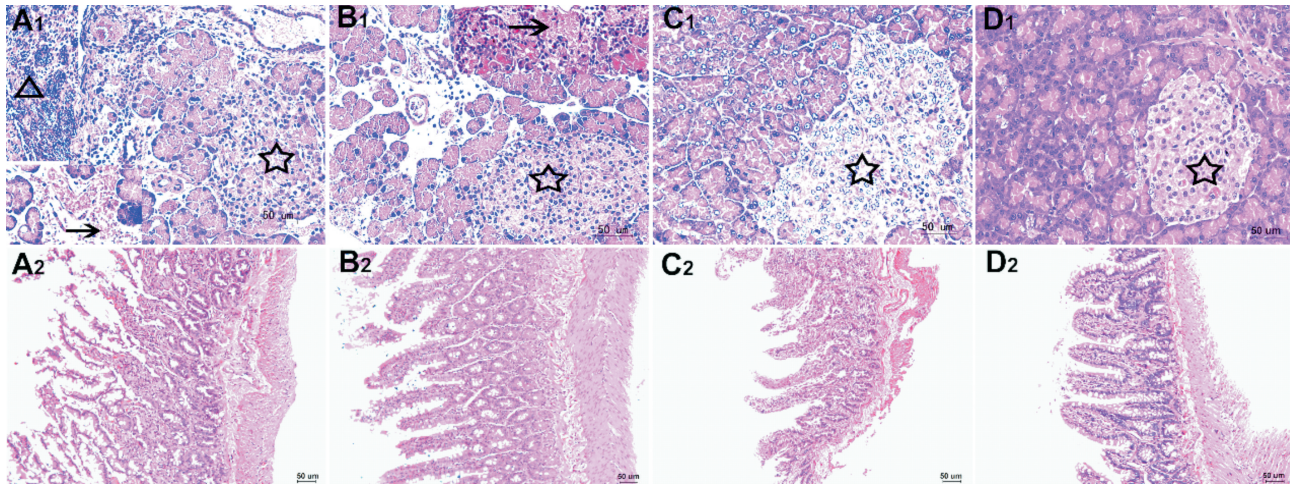
ANP组培养出细菌主要为肠球菌、大肠杆菌、变形杆菌、葡萄球菌等。

2.3 血淀粉酶和内毒素检测

SO组显示正常大鼠淀粉酶平均水平,DM组与SO组无差异($P > 0.05$,图2A)。ANP组12 h后血淀粉酶明显升高(2302 ± 346)U/L,与各组比较均有明显差异($P = 0.000$),然而,DM+ANP组血淀粉酶未见明显升高(501 ± 142)U/L,与SO组有明显差异($P = 0.001$)。内毒素DM+ANP组较ANP组、DM组、SO组明显升高($P = 0.000$;图2B)。

2.4 胰腺和回肠组织病理学改变以及评分

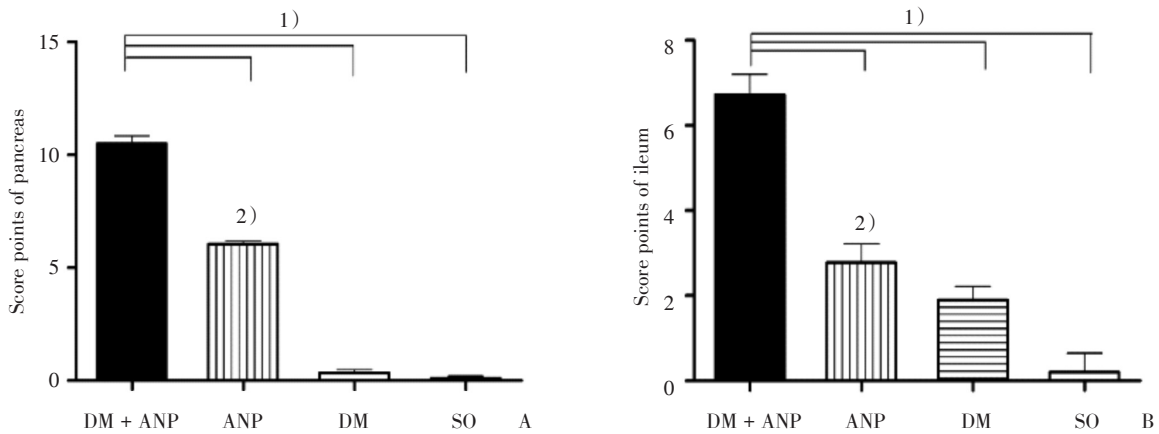
胰腺炎损伤程度以水肿、出血、坏死、炎症等特征来评估。DM + ANP组病理学改变较ANP组



A1: Group DM+ANP, diffuse expansion of interacinar septae, massive leukocyte infiltration in the pancreatic gland, even focal microabscesses, pancreatic hemorrhage (\rightarrow), diffuse necrosis of acinar cells, even calcification (Δ); B1: Group ANP, moderate leukocyte infiltration, focal necrosis (\rightarrow); C1: Group DM, exocrine cells stain lighter and contain less zymogen granules in comparison to Group SO; D1: Group SO, normal pancreatic histology without enlarged interstitial spaces or leukocyte infiltration, staining more strongly and containing more zymogen granules than that in C1. A1, C1 islet (\star) compared to B1, D1 islet (\star), wrinkling of the islet edge, a reduction in the number of cells and cell vacuolar degeneration in the islets of Langerhans. A2: group DM+ANP; B2: group ANP; C2: group DM; D2: group SO.

图3 各组胰腺(HE, $\times 200$)与回肠(HE, $\times 100$)组织学改变

Fig.3 Histological finding of pancreas(HE, $\times 200$) and ileum (HE, $\times 100$) in study groups



DM + ANP: $n = 7$; ANP: $n = 9$; DM: $n = 10$; SO: $n = 5$. A: 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.05$ vs DM and SO B: 1) $P < 0.05$, 2) $P = 0.001$ vs SO

图4 各组胰腺与回肠评分

Fig.4 Histopathological scores of pancreas and ileum in study groups

严重(图3、4A)。SO组与DM组评分无差异($P > 0.05$), ANP组与DM组、SO组评分有明显差异($P < 0.05$)。与胰腺病理改变一样,回肠DM+ANP组粘膜损伤、炎症反应、充血/出血比其他3组均严重($P < 0.05$;图3、4B), ANP组与SO组有差异($P = 0.001$),而ANP组与DM组无差异($P > 0.05$)。

3 讨论

DM是临床常见疾病,给社会和家庭带来沉

重负担。糖尿病患者随着空腹血糖的升高,肠道菌群出现改变,表现为厚壁菌门(*Firmicutes*)与梭菌属(*Clostridia*)比例以及具有保护作用的产丁酸盐(*butyrate*)细菌显著降低,拟杆菌属(*Bacteroidetes*)、大肠杆菌(*E.coli*)等条件致病菌水平明显升高^[15-17]。菌群结构的改变使肠道通透性增加,革兰氏阴性菌的脂多糖(*lipopolysaccharides*, LPS)入血,形成内毒素血症,促发机体慢性低度炎症反应,最终导致胰岛素抵抗和其它代谢障碍^[18]。本实验DM组内毒素、肠道损伤与上述结论一致。

AP通常是自限性炎症反应疾病,每年AP发病率约13~45/10万^[4]。发病机理目前认为是多种病因引起胰酶激活导致自身消化,继以胰腺局部炎症反应为主要特征,伴或不伴器官功能衰竭以及脓毒血症。已明确ANP并发肠道屏障功能障碍,出现肠道BT和内毒素移位,继发肠源性感染^[8]。BT是指肠道内活或者非活的细菌或其产物(如内毒素)穿过肠道黏膜层进入固有层,肠系膜淋巴结,血液,甚至远隔器官^[19]。我们实验ANP也进一步证实胰腺与回肠损伤程度,BT增加。

综上所述,DM改变肠道通透性,增加LPS。ANP也改变肠道通透性和代谢性内毒素血症,为来源于肠道的微生物、分子开启一扇“门”。肠道屏障功能障碍的叠加促进了BT和LPS进入血液或者淋巴。因此,DM+ANP组LPS浓度与其它组对比明显增加。LPS与能够识别微生物特殊分子结构Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)结合。TLR4激活腺泡细胞核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B),导致促炎因子表达^[20]。进而导致中性粒细胞和淋巴细胞浸润胰腺(图3A1、B1)和腹膜,放大炎症反应^[21]。而激活的中性粒细胞等能够再次释放各种因子。释放的这些因子反过来再次激活NF- κ B^[22]。最近研究显示TLR4基因敲除小鼠联合蛙皮素(cerulein)+LPS诱导ANP模型失败^[23]。因此,LPS可能是DM进一步加重ANP早期BT和胰腺肠道损伤程度更严重原因之一。同时,cerulein和TLC胰腺炎造模引起腺泡内Ca²⁺超载(图3A1),被认为也是激活NF- κ B非常重要的第二信使^[22]。

重要的是,临床上,血淀粉酶是诊断胰腺炎最常用的方法。DM+ANP更严重,甚至致死性,但淀粉酶并没有升高,可能由于以下因素所致。根据“胰岛-腺泡轴”假说,胰岛分泌的胰岛素影响胰腺生长、局部外分泌功能。由于STZ诱导的胰岛破坏在实验动物中不仅解剖上的萎缩(图3C1),而且功能上外分泌减少,尤其是淀粉酶^[24]。这些现象后来在人体进一步证实,如胰腺外分泌功能不足(用粪便弹性蛋白酶评价)在T1DM、T2DM患者发生率分别为25%~74%,28%~54%^[25]。另一方面,临床诊治时需警惕,根据指南,血淀粉酶浓度跟疾病的严重程度不相关^[4]。

针对感染,DM与AP治疗上都有抗生素的研究。肥胖以及DM鼠在抗生素的干扰下能够维持

肠道屏障,减少代谢性内毒素血症^[26-27]。然而,人体是否出现同样改变尚进一步研究。在牛脱氧胆酸钠诱导AP模型细菌去污(AP造模前5d饮用水中加入庆大霉素、杆菌肽、新霉素)能够减少BT^[28]。当胰腺坏死或者ANP时,多个指南建议常规使用抗生素,感染细菌常为G⁻^[29],但通常是疾病后期进入ICU后行细菌培养与鉴定。最近meta分析显示ANP早期使用抗生素能够减少坏死胰腺感染率和死亡率^[30]。结合本实验,DM+ANP时高血糖使胰腺腺炎感染更难以控制,早期即出现混合感染,但以G⁺为主,可能由于微生物失调,某些肠道微生物增殖与过度生长,也有可能G⁺迁徙性更强有关,需要更多的研究进一步阐明。建议经验性选用广谱且渗透性强抗生素,如碳青霉烯类、喹诺酮类、头孢菌素类。根据药敏调整抗生素,同时注意细菌耐药性以及真菌感染。另外,我们将会研究针对DM+ANP早期G⁺抗菌药物的使用或者预处理能否减少感染率以及提高治愈率。

如将本实验结果运用到临床时,需要考虑以下限制。首先,此研究的是大鼠胰腺,与人胰腺不同,毕竟DM与ANP动物模型不能完全模拟人类疾病。其次,因厌氧菌培养条件苛刻,本实验只研究了需氧菌培养,没有行厌氧菌和真菌等培养。另外本实验动物数量有限,且只研究ANP发生12h时段,为了能够得到更准确与全面的结论,则需大量实验证实。

(致谢:感谢中山大学附属第五医院中心实验室全体员工提供技术支持)

参考文献:

- [1] Chen N, Unnikrishnan IR, Anjana RM, et al. The complex exocrine-endocrine relationship and secondary diabetes in exocrine pancreatic disorders [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2011, 45(10): 850-861.
- [2] Das SL, Singh PP, Phillips AR, et al. Newly diagnosed diabetes mellitus after acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Gut*, 2014, 63(5): 818-831.
- [3] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(Suppl 1): S81-S90.
- [4] Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis [J]. *Lancet*, 2015, 386(9988): 85-96.

- [5] Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus [J]. *Gut*, 2013, 62(1): 102-111.
- [6] Company L, Saez J, Martinez J, et al. Factors predicting mortality in severe acute pancreatitis [J]. *Pancreatology*, 2003, 3(2): 144-148.
- [7] Vege SS, Chari ST. Organ failure as an indicator of severity of acute pancreatitis: time to revisit the Atlanta classification [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(4): 1133-1135.
- [8] Capurso G, Zerboni G, Signoretti M, et al. Role of the gut barrier in acute pancreatitis [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2012, 46(Suppl): S46-S51.
- [9] Gonzalez-Perez A, Schlienger RG, Rodriguez LA. Acute pancreatitis in association with type 2 diabetes and antidiabetic drugs: a population-based cohort study [J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(12): 2580-2585.
- [10] Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview [J]. *Indian J Med Res*, 2007, 125(3): 451-472.
- [11] King AJ. The use of animal models in diabetes research [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 166(3): 877-894.
- [12] Chan YC, Leung PS. Acute pancreatitis: animal models and recent advances in basic research [J]. *Pancreas*, 2007, 34(1): 1-14.
- [13] Schmidt J, Rattner DW, Lewandrowski K, et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy [J]. *Ann Surg*, 1992, 215(1): 44-56.
- [14] Chiu CJ, Mearld AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal [J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478-483.
- [15] Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2013, 27(1): 73-83.
- [16] Larsen N, Vogensen FK, Van Den Berg FW, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults [J]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9085.
- [17] Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55-60.
- [18] Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 242-249.
- [19] Berg RD. Translocation of enteric bacteria in health and disease [J]. *Curr Stud Hematol Blood Transfus*, 1992, 59: 44-65.
- [20] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(7): 499-511.
- [21] Gea-Sorli S, Closa D. In vitro, but not in vivo, reversibility of peritoneal macrophages activation during experimental acute pancreatitis [J]. *BMC Immunol*, 2009, 10: 42.
- [22] Jakkampudi A, Jangala R, Reddy BR, et al. NF-kappaB in acute pancreatitis: Mechanisms and therapeutic potential [J]. *Pancreatology*, 2016, 16(4): 477-488.
- [23] Zhou X, Liu Z, Cheng X, et al. Socs1 and Socs3 degrades Traf6 via polyubiquitination in LPS-induced acute necrotizing pancreatitis [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e2012.
- [24] Barreto SG, Carati CJ, Toouli J, et al. The islet-acinar axis of the pancreas: more than just insulin [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(1): G10-G22.
- [25] Piciocchi M, Capurso G, Archibugi L, et al. Exocrine pancreatic insufficiency in diabetic patients: prevalence, mechanisms, and treatment [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 595649.
- [26] Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6): 1470-1481.
- [27] Muccioli GG, Naslain D, Backhed F, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis [J]. *Mol Syst Biol*, 2010, 6: 392.
- [28] de Las HG, Forcelledo JL, Gutierrez JM, et al. Selective intestinal bacterial decontamination in experimental acute pancreatitis [J]. *Gastroenterol Hepatol*, 2000, 23(10): 461-465.
- [29] De Waele JJ, Rello J, Anzueto A, et al. Infections and use of antibiotics in patients admitted for severe acute pancreatitis: data from the EPIC II study [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2014, 15(4): 394-398.
- [30] Ukai T, Shikata S, Inoue M, et al. Early prophylactic antibiotics administration for acute necrotizing pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2015, 22(4): 316-321.

(编辑 徐杰)