



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.250707
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.250707
China Journal of General Surgery, 2026, 35(5):1003-1011.

· 基础研究 ·

circSMARCA5通过miR-181-5p/LAMP-2轴调控急性胰腺炎细胞炎症损伤的机制研究

田仲明¹, 臧龙军¹, 朱红伟², 田孝东³, 张福生³, 张宝明¹, 苗青旺¹

(1.山西医科大学附属太原中心医院 甲状腺外科, 山西 太原 030009; 2.中南大学湘雅三医院 肝胆胰外科, 湖南 长沙 410013; 3.北京大学第一医院 肝胆胰外科, 北京 100034)

摘要

背景与目的: 急性胰腺炎 (AP) 是一种以胰腺腺泡细胞损伤和炎症反应为特征的消化系统急症。环状 RNA (circRNA) 在炎症相关疾病中的调控作用受到广泛关注, 但 circSMARCA5 在 AP 中的作用及机制尚不明确。本研究探讨 circSMARCA5 对 AP 细胞损伤的影响及其与 miR-181-5p/LAMP-2 轴的调控关系。

方法: 采用雨蛙肽刺激 AR42J 细胞建立体外 AP 模型。采用 qRT-PCR 检测 circSMARCA5、miR-181-5p 及 LAMP-2 表达; MTT 法检测细胞活力; ELISA 检测 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平; 双荧光素酶报告基因实验验证 circSMARCA5 与 miR-181-5p、miR-181-5p 与 LAMP-2 之间的靶向关系; 通过过表达 circSMARCA5、miR-181-5p 和 LAMP-2 进行功能回复实验。

结果: 雨蛙肽处理后 AR42J 细胞中 circSMARCA5 表达显著降低, 而 miR-181-5p 表达明显升高 (均 $P < 0.05$)。过表达 circSMARCA5 可显著提高细胞活力, 降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平 (均 $P < 0.05$)。双荧光素酶报告基因实验表明, circSMARCA5 可直接结合 miR-181-5p, LAMP-2 为 miR-181-5p 的靶基因。miR-181-5p 过表达可抑制 LAMP-2 表达, 降低细胞活力并促进炎症因子释放, 而 circSMARCA5 或 LAMP-2 过表达均可部分逆转上述作用。

结论: circSMARCA5 在 AP 细胞模型中表达下调, 其可通过竞争性吸附 miR-181-5p 上调 LAMP-2 表达, 减轻炎症反应并改善细胞损伤。circSMARCA5/miR-181-5p/LAMP-2 轴可能成为 AP 治疗的新型分子靶点。

关键词

胰腺炎; RNA, 环状; 微RNAs; 溶酶体相关膜蛋白质 2

中图分类号: R657.5

Mechanism of circSMARCA5-mediated regulation of inflammatory injury in acute pancreatitis through the miR-181-5p/LAMP-2 axis

TIAN Zhongming¹, ZANG Longjun¹, ZHU Hongwei², TIAN Xiaodong³, ZHANG Fusheng³, ZHANG Baoming¹, MIAO Qingwang¹

(1. Department of Thyroid Surgery, Taiyuan Central Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030009, China; 2. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China; 3. Department

基金项目: 山西省太原市科学技术局科技计划基金资助项目 (202247); 山西省基础研究计划基金资助项目 (202303021212363, 202303021222379)。

收稿日期: 2025-12-27; **修订日期:** 2026-05-14。

作者简介: 田仲明, 山西医科大学附属太原中心医院副主任医师, 主要从事胰腺疾病方面的研究 (臧龙军为本文共同第一作者)。

通信作者: 苗青旺, Email: Drmqw1971@163.com; 张福生, Email: zhangfs353@163.com; 张宝明, Email: zbmcqmu@126.com

of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

Abstract

Background and Aims: Acute pancreatitis (AP) is an acute gastrointestinal emergency characterized by damage to pancreatic acinar cells and an inflammatory response. Circular RNAs (circRNAs) have been implicated in the regulation of various inflammatory disorders; however, the role of circSMARCA5 in AP remains unclear. This study aimed to investigate the function of circSMARCA5 and its underlying mechanism involving the miR-181-5p/LAMP-2 axis in AP.

Methods: An in vitro AP model was established by treating AR42J cells with cerulein. The expression levels of circSMARCA5, miR-181-5p, and LAMP-2 were determined by qRT-PCR. Cell viability was assessed using the MTT assay, and the levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 were measured by ELISA. Dual-luciferase reporter assays were performed to verify the interactions between circSMARCA5 and miR-181-5p as well as between miR-181-5p and LAMP-2. Gain-of-function and rescue experiments were conducted to evaluate their biological effects.

Results: CircSMARCA5 expression was significantly decreased, whereas miR-181-5p expression was markedly increased in cerulein-treated AR42J cells (all $P < 0.05$). Overexpression of circSMARCA5 significantly enhanced cell viability and reduced the secretion of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 (all $P < 0.05$). Dual-luciferase reporter assays confirmed that circSMARCA5 directly bound to miR-181-5p, while LAMP-2 was identified as a downstream target of miR-181-5p. Overexpression of miR-181-5p suppressed LAMP-2 expression, decreased cell viability, and aggravated inflammatory responses. These effects were partially reversed by circSMARCA5 or LAMP-2 overexpression.

Conclusion: CircSMARCA5 alleviates inflammatory injury in AP by acting as a competing endogenous RNA for miR-181-5p and thereby upregulating LAMP-2 expression. The circSMARCA5/miR-181-5p/LAMP-2 regulatory axis may represent a potential therapeutic target for AP.

Key words

Pancreatitis; RNA, Circular; MicroRNAs; Lysosomal-Associated Membrane Protein 2

CLC number: R657.5

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是一种影响消化系统的常见急性炎症, 其发病机制被认为起源于胰腺腺泡细胞 (pancreatic acinar cells, PAC)。各种病因可促发这些细胞的损伤, 并可能升级为全身炎症反应, 甚至导致全身多器官功能障碍综合征^[1]。近年来, AP 全球年发病率约为 30~45/10 万, 且呈上升趋势^[2-3]。因此, 全面了解 AP 的分子途径并制定新的治疗策略势在必行。

研究^[4-5]表明抑制自噬可能通过减少胰腺细胞坏死来减轻 AP, 尽管自噬在 AP 发生和发展中的具体作用仍不明确。自噬广泛存在于真核细胞生理和病理中^[6]。自噬过程涉及自噬通量^[7-8]: 在饥饿、应激或病理状态等刺激下, 自噬前体在细胞质中形成, 延伸包裹细胞内物质被降解或受损的细胞器, 形成自噬体; 然后这些自噬体与溶酶体融合, 通过溶酶体相关膜蛋白 2 (LAMP-2) 的作用降解。

但某些病理生理刺激可阻碍这一过程, 导致细胞损伤。有研究假设, 这些空泡的形成可能源于自噬流被阻断。进一步的研究^[9-10]表明, LAMP-2 表达显著下调, 自噬体的积累远远超过自噬溶酶体。综上所述, 在 AP 的发生过程中, PAC 中 LAMP-2 的下调阻碍了自噬体与溶酶体的融合, 导致自噬通量受损。虽然大量研究证实 LAMP-2 的下调引起自噬通量的阻断, 但这种下调的确切机制仍未被探讨。这种理解上的差距阻碍了通过靶向下调 LAMP-2 逆转受损自噬通量的潜在治疗方法, 从而严重限制了这一理论的转化应用。因此, 阐明 LAMP-2 在 AP 中下调背后的机制至关重要。

大量研究证明, 环状 RNA (circRNA) 在多种疾病中发挥着至关重要的功能。研究^[11]发现, circPTPRA 通过海绵 miR-140-5p 在胰腺导管腺癌的进展中发挥重要作用。circMTO1 通过与 miR-9 结合

抑制肝癌进展^[12]。SMARCA5蛋白参与AP及后续癌变调控。而circSMARCA5作为竞争性内源RNA (ceRNA)或miRNA“海绵”,虽与多种肿瘤相关,但尚未发现其与AP的直接关联。来源于SMARCA5基因第15和第16外显子区域的circRNA已被证明可以抑制肝癌的生长和扩散^[13],然而它们在胰腺疾病中的作用仍未得到充分探索。微小RNA(miRNA)代表了一类进化上保存的、序列中跨越18~25个核苷酸的短链非编码RNA实体。miRNA通过附着在靶mRNA的3'-非翻译区(3'-UTR)调节基因表达,从而抑制蛋白质合成或促进mRNA降解^[14-15]。miRNA与多种细胞机制有关,包括细胞生长、细胞周期调控、凋亡和细胞分化^[16]。miR-181轴被认为与炎症通路高度相关^[17]。

既往研究提示LAMP-2下调导致自噬通量障碍是AP发生发展的重要机制,但其上游调控网络尚未完全阐明。circRNA作为重要的转录后调控因子,可通过竞争性结合miRNA调控靶基因表达。然而,circSMARCA5在AP中的生物学作用及其是否通过miR-181-5p/LAMP-2轴参与AP病理过程尚未见报道。因此,本研究拟构建体外AP模型,探讨circSMARCA5、miR-181-5p与LAMP-2之间的调控关系及其对PAC炎症损伤的影响,以期为AP的分子机制研究及靶向治疗提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和处理

PAC细胞AR42J(成都正能生物科技有限公司)在含10%胎牛血清(美国Gibco公司)和抗生素(100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素)的DMEM(美国Gibco公司)中于37℃、5%CO₂环境中培养。用10 nmol/L雨蛙肽处理AR42J细胞构建AR42J细胞体外AP模型。

1.2 酶联免疫吸附试验(ELISA)

收集培养48 h的待测细胞上清液后,用肿瘤坏死因子α(TNF-α)、IL-1β和IL-6 ELISA试剂盒(日本Takara Bio公司)定量测定AR42J细胞上清液中上述细胞因子浓度。

1.3 qRT-PCR

用TRIzol试剂(美国Life Technologies公司)从培养的AR42J细胞中提取总RNA。使用FastKing RT试剂盒(北京天根生化科技有限公司)。随后用SYBR green PCR试剂盒(日本Takara Bio公司)进

行qRT-PCR,以U6或甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参。

1.4 MTT实验

将AR42J细胞接种于96孔板中,贴壁24 h,分别孵育4、6、8 h。孵育后,加入20 μL MTT(美国Thermo Fisher公司),再放置细胞4 h。弃去上清液后,向各孔中加入150 μL DMSO,并在Multiskan SkyHigh荧光分光光度计(美国Thermo Fisher公司)中于570 nm波长处测定吸光度。活细胞百分比计算为处理细胞与对照细胞的平均吸光度比值。

1.5 细胞转染

circSMARCA5和LAMP-2的pcDNA过表达载体及各自空载体对照(pcDNA3.1),miR-181-5p模拟物和模拟物对照由GenePharma(上海)生产。采用Lipofectamine 3000(美国Invitrogen公司)将上述组分转染AR42J细胞中。

1.6 Western blot

用细胞裂解液充分裂解培养48 h的待测细胞,提取总蛋白,测定浓度并进行变性。蛋白质用于SDS-PAGE电泳。电泳后聚丙烯酰胺凝胶上的蛋白质用电转仪转移到NC膜上。在环境条件下,用5%脱脂奶粉封闭膜2 h。随后,将膜暴露于稀释的一抗溶液(LAMP-2抗体1:200)中,在4℃下孵育12~15 h。然后,将膜置于稀释的二抗溶液(辣根过氧化物酶标记的二抗1:1 000)中,在37℃下孵育1 h。最后,使用ECL化学发光试剂盒对膜进行显影,并在化学发光成像系统下曝光。

1.7 生物信息学分析

利用lncRNA数据库DIANA(<http://carolina.imis.athena-innovation.gr>)预测miR-181-5p与circSMARCA5、LAMP-2的结合位点。

1.8 双荧光素酶报告基因试验

将携带miR-181-5p结合位点circSMARCA5或LAMP-2 3-UTR的野生型(WT)序列和miR-181-5p结合位点突变型(MT)序列掺入pmirGLO荧光素酶载体(武汉基因科技有限公司)中,生成荧光素酶报告载体circSMARCA5-WT、circSMARCA5-MT、LAMP-2-WT或LAMP-2-MT。这些荧光素酶报告基因构建体(100 ng)随后与miR-181-5p模拟物或miR阴性对照(miR-NC)(50 ng)一起用Lipofectamine 3000(美国Invitrogen公司)共同转染AR42J细胞。最终采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒评价发光活性。

1.9 统计学处理

使用 GraphPad Prism 9 软件进行分析。数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并采用 Student *t* 检验或单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计学评估。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞中 circSMARCA5 表达及生物学行为的变化

qRT-PCR 检测结果显示, 与对照组 (无处理的 AR42J 细胞) 比较, 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞 circSMARCA5 表达水平明显降低, 且随着时间的推移逐渐下降 (均 $P < 0.05$) (图 1A)。MTT 实验结果显示, 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞的活力在各时间点均较对照组细胞明显减弱 (均 $P < 0.05$) (图 1B)。

ELISA 结果显示, 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞中的促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的水平均较对照组细胞明显升高 (均 $P < 0.05$) (图 1C)。

2.2 circSMARCA5 促进 AR42J 细胞增殖并抑制炎症反应

将 circSMARCA5 过表达质粒转染 AR42J 细胞后, 转染效率分析结果显示, 转染后的 AR42J 细胞与空白对照细胞 (无处理 AR42J 细胞) 及阴性对照细胞 (转染空载体的 AR42J 细胞) 相比, circSMARCA5 表达明显升高 (均 $P < 0.05$) (图 2A)。MTT 实验结果显示, 转染 circSMARCA5 过表达质粒后, 雨蛙肽对 AR42J 细胞活力的抑制作用被部分逆转 ($P < 0.05$) (图 2B)。ELISA 实验结果显示, 转染 circSMARCA5 过表达质粒后, 雨蛙肽诱导 AR42J 细胞 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 释放的作用被明显抑制 (均 $P < 0.05$) (图 2C)。

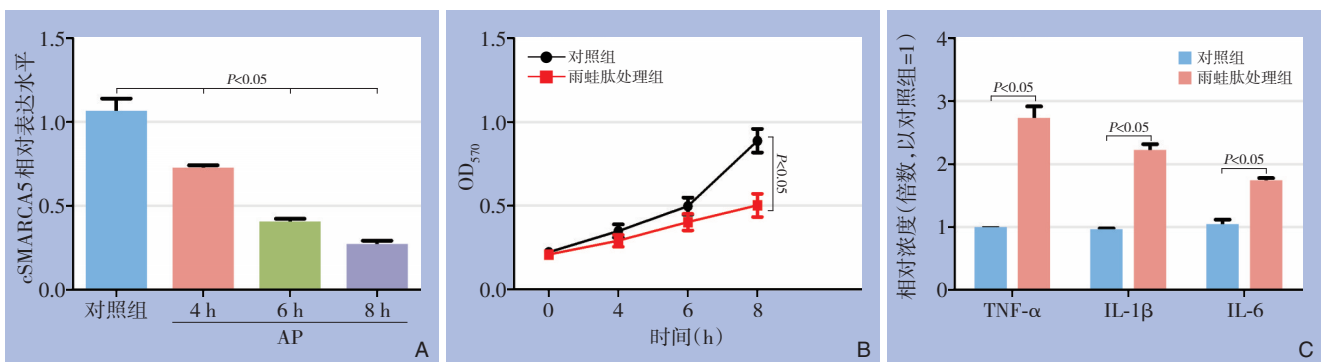


图1 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞 circSMARCA5 的表达、细胞活力及促炎细胞因子水平 A: 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞 circSMARCA5 表达水平降低; B: 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞的细胞活力减弱; C: 雨蛙肽处理的 AR42J 细胞 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达水平升高

Figure 1 Expression of circSMARCA5, cell viability, and pro-inflammatory cytokines in cerulein-treated AR42J cells A: Decreased circSMARCA5 expression after cerulein treatment; B: Reduced cell viability after cerulein treatment; C: Increased TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels after cerulein treatment

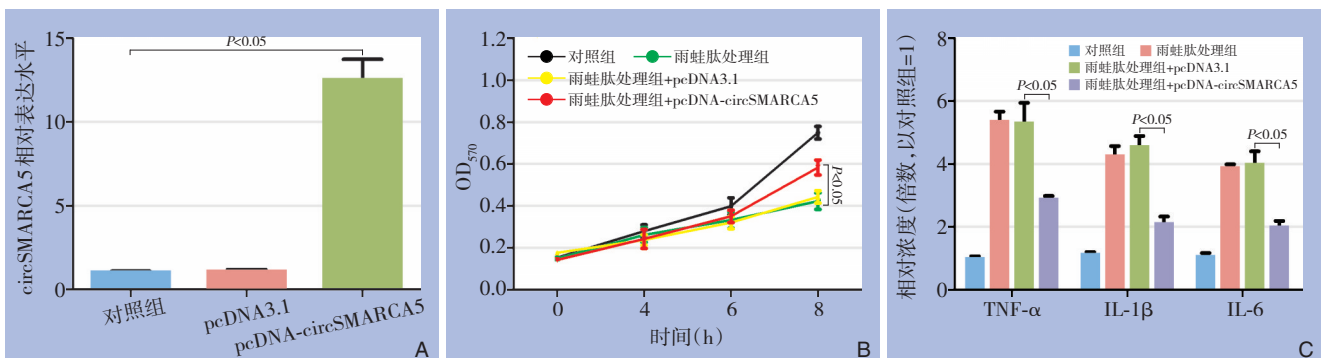


图2 circSMARCA5 对胰腺细胞增殖和促炎细胞因子表达的影响 A: qRT-PCR 检测转染效率; B: circSMARCA5 过表达改善 AR42J 细胞活力; C: circSMARCA5 过表达抑制 AR42J 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的表达

Figure 2 Effects of circSMARCA5 on pancreatic acinar cell viability and inflammatory cytokine expression A: Transfection efficiency determined by qRT-PCR; B: circSMARCA5 overexpression restored AR42J cell viability; C: circSMARCA5 overexpression inhibited TNF- α , IL-1 β , and IL-6 expression

2.3 circSMARCA5对miR-181-5p的靶向调控及其功能

DIANA数据库预测结果显示, circSMARCA5和miR-181-5p之间存在靶向结合序列(图3A)。双荧光素酶报告基因检测结果显示, 共转染miR-181-5p模拟物后, AR42J细胞中circSMARCA5-WT的荧光素酶活性明显降低($P<0.01$), 而circSMARCA5-MT的活性基本不变($P>0.05$)(图3B), 表明circSMARCA5和miR-181-5p之间存在直接相互作用。qRT-PCR实验证实, 加入miR-181-5p模拟物后, miR-181-5p的表达明显升高, 表明转染成功($P<0.05$)(图3C); 过表达circSMARCA5导致miR-181-5p表达明显下调($P<0.01$)(图3D)。当用雨蛙

肽处理AR42J细胞后, miR-181-5p的表达明显升高, 且随着时间的推移(4、6、8h)逐渐增加($P<0.05$ 、 $P<0.05$ 、 $P<0.01$)(图3E)。为分析在雨蛙肽诱导的AP过程中miR-181-5p与circSMARCA5的相互作用, 用circ-SMARCA5过表达质粒和(或)miR-181-5p模拟物转染AR42J细胞。MTT实验结果显示, 与空白对照细胞比较, 转染miR-181-5p模拟物后, AR42J细胞的增殖活性明显降低, 且随着时间的推移逐渐减弱, 炎症标志物TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的表达明显升高(均 $P<0.05$), 而同时转染circSMARCA5过表达质粒后, miR-181-5p模拟物的上述作用被明显逆转(均 $P<0.05$)(图3F-G)。

5' AGAAGACUGCAGACAUGAAUGAA 3' cSMARCA5
3' UGGGUGGCUGUCCUACUUACAA 5' miR-181-5p A

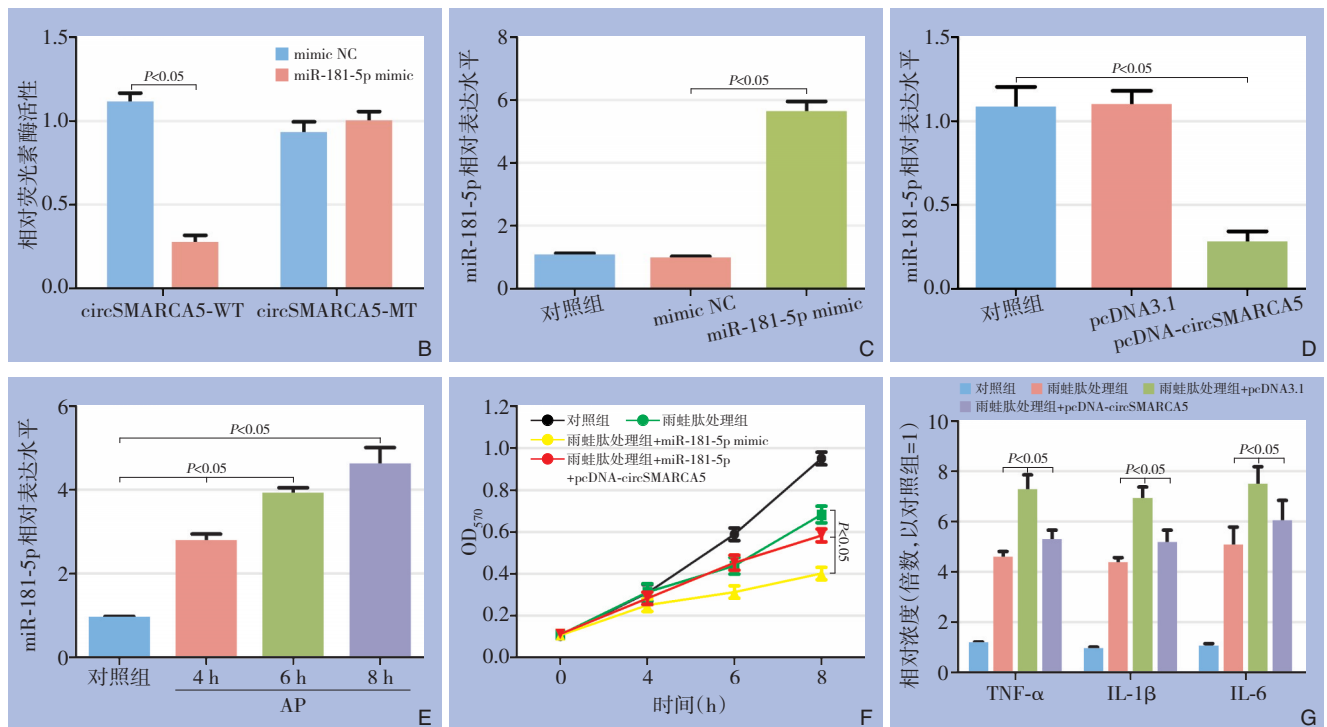


图3 circSMARCA5与miR-181-5p的相互作用 A: DIANA数据库预测circSMARCA5可能靶向miR-181-5p; B: 双荧光素酶报告基因检测; C: qRT-PCR检测miR-181-5p表达(评估转染效率); D: 过表达circSMARCA5显著下调miR-181-5p表达; E: qRT-PCR检测雨蛙肽处理后AR42J细胞中miR-181-5p的表达; F: MTT法检测各组AR42J细胞的增殖活性; G: ELISA检测各组AR42J细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的表达

Figure 3 Interaction between circSMARCA5 and miR-181-5p A: Predicted binding sites between circSMARCA5 and miR-181-5p; B: Dual-luciferase reporter assay; C: Transfection efficiency of miR-181-5p mimic; D: circSMARCA5 overexpression decreased miR-181-5p expression; E: Expression of miR-181-5p in cerulein-treated AR42J cells; F: Cell viability detected by MTT assay; G: Levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 detected by ELISA

2.4 miR-181-5p对LAMP-2的靶向调控及其功能

DIANA数据库预测miR-181-5p和LAMP-2之间存在靶结合序列(图4A)。qRT-PCR结果显示, 转

染miR-181-5p模拟物后, AR42J细胞LAMP-2 mRNA表达明显下降($P<0.01$), LAMP-2蛋白水平明显下调(图4B-C)。LAMP-2-WT和LAMP-2-MT构建体结

合 miR-181-5p 模拟物的荧光素酶活性检测显示，与 miR-181-5p 模拟物共转染后，AR42J 细胞中 LAMP-2-WT 的相对荧光素酶活性明显减弱 ($P < 0.01$)，而 LAMP-2-MT 的活性不受影响 ($P > 0.05$) (图 4D)。qRT-PCR 和 Western blot 检测证实，当 LAMP-2 过表达时，mRNA 和蛋白表达增加 (图 4E-F)。在雨

蛙肽处理的 AR42J 细胞上，在转染 miR-181-5p 模拟物的基础上，同时转染 LAMP-2 过表达质粒，miR-181-5p 模拟物对 AR42J 细胞的增殖活性的抑制以及对促炎细胞因子的诱导作用被明显逆转 (均 $P < 0.05$) (图 4G-H)。

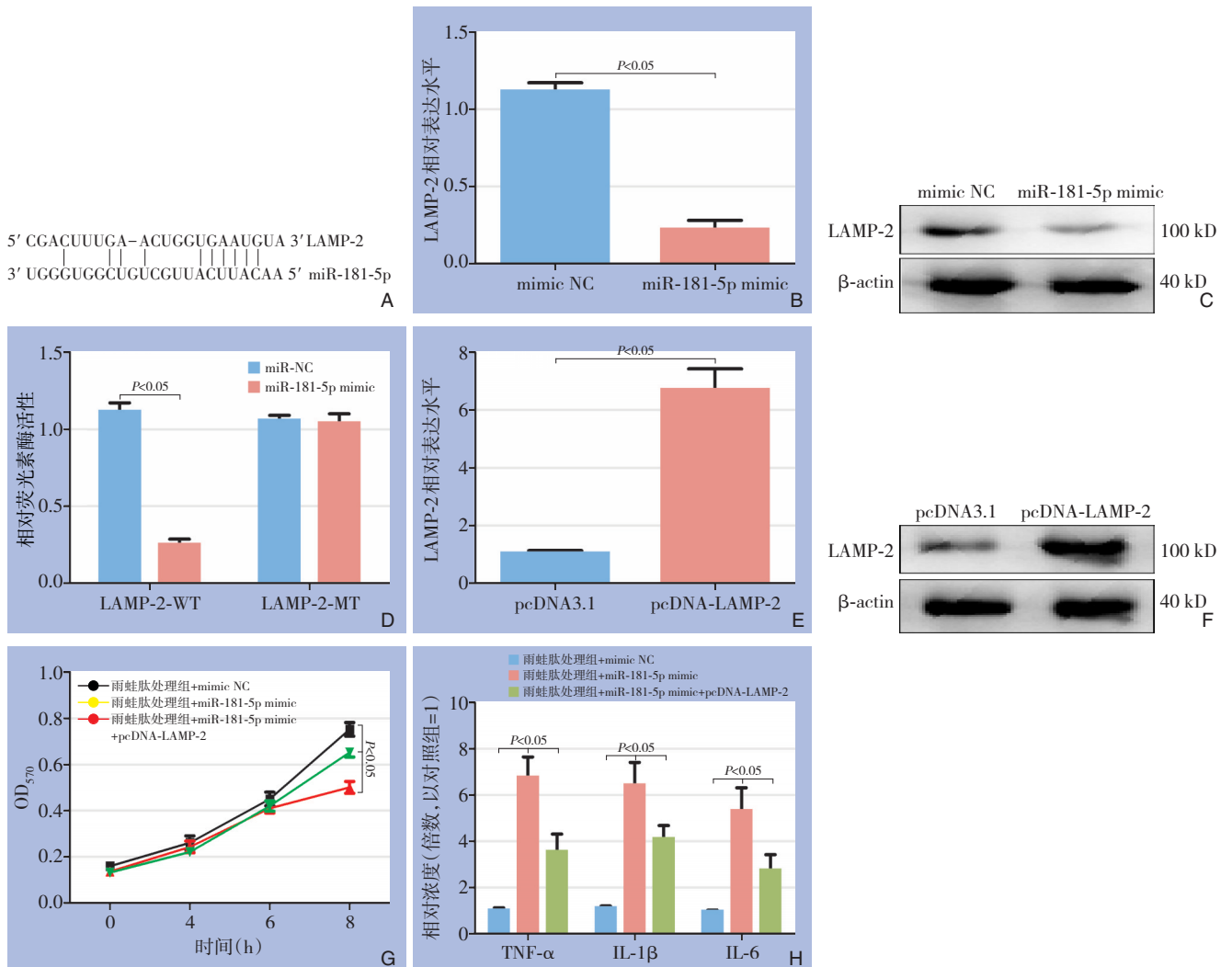


图4 miR-181-5p 与 LAMP-2 的相互作用 A: DIANA 数据库预测 LAMP-2 可能是 miR-181-5p 的靶基因; B: qRT-PCR 检测转染 miR-181-5p 模拟物后 AR42J 细胞 LAMP-2 mRNA 的表达; C: Western blot 检测转染 miR-181-5p 模拟物后 AR42J 细胞 LAMP-2 蛋白的表达; D: LAMP2-WT 和 LAMP2-MT 与 miR-181-5p 模拟物结合的荧光素酶活性检测; E-F: qRT-PCR 和 Western blot 检测转染 LAMP-2 过表达质粒后 LAMP-2 mRNA 和蛋白表达 (转染效率检测); G: MTT 检测各组 AR42J 细胞的增殖活性; H: ELISA 检测各组 AR42J 细胞 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的表达

Figure 4 Interaction between miR-181-5p and LAMP-2 A: Predicted binding sites between miR-181-5p and LAMP-2; B: LAMP-2 mRNA expression after miR-181-5p mimic transfection; C: LAMP-2 protein expression after miR-181-5p mimic transfection; D: Dual-luciferase reporter assay; E-F: Transfection efficiency of LAMP-2 overexpression plasmid determined by qRT-PCR and Western blot; G: Cell viability detected by MTT assay; H: Levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 detected by ELISA

3 讨论

circRNA 是一种闭合环状单链 RNA 分子长度通常在数百到数千核苷酸,在转录后加工过程中形成,通常不具有编码蛋白质的功能^[18]。研究表明, circRNA 参与多样的生物学过程,包括细胞周期、细胞分化和细胞衰老,因此 circRNA 是细胞内重要的调控 RNA。目前对 circSMARCA5 的研究主要集中在肝癌,研究发现其在肝癌生长和转移中至关重要^[13]。也有报道过表达 circSMARCA5 可激活 SRSF1/ β -catenin 轴,逆转 oxLDL 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 增殖抑制,可能为动脉粥样硬化的治疗提供新的靶点^[19]。

本研究最初观察到 circSMARCA5 在雨蛙肽处理的 PAC 中表现出表达减少。发现 circSMARCA5 水平升高可降低炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的释放,从而减缓炎症的进展。这些发现证实 circSMARCA5 可能通过其对细胞死亡和炎症过程的影响阻碍雨蛙肽诱导的 AP 的进展,突出了其在 AP 中的潜在重要性。

miRNA 是一种非编码 RNA,对人类各种疾病的病理过程产生相当大的影响。有研究^[20]表明, miRNA 在肿瘤发生发展中可作为癌基因或抑癌基因发挥作用。此外, miRNA 与细胞过程有关,包括增殖、凋亡、转移和受体驱动的通路^[21]。文献综述揭示, miR-181-5p 在多种类型的癌症中起抑癌作用^[22-24]。研究表明, circRNA 可以通过几种机制发挥作用:(1)作为 miRNA 的“海绵”;(2)与蛋白结合相互作用;(3)翻译成多肽。circRNA 已被广泛报道为通过 ceRNA 机制调控基因表达的重要分子^[25-27]。研究发现多个 circRNA 拥有一个或多个 miRNA 结合位点,使其充当吸附 miRNA 的“海绵”。通过隔离 miRNA,这些 circRNA 能够通过 ceRNA 机制调节被 miRNA 抑制的下游靶基因的表达^[25]。

miRNA 介导的转录后调控在 AP 的炎症反应和细胞损伤过程中具有重要作用,而 circRNA 通过充当 miRNA “海绵”构建 ceRNA 调控网络已成为近年来的研究热点。本研究证实 circSMARCA5 能够与 miR-181-5p 直接结合,并在雨蛙肽诱导的 AR42J 细胞中呈现低表达,而 miR-181-5p 则呈现高表达。功能实验进一步表明, circSMARCA5 过表达能够显著提高细胞活力并降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症

因子水平,而 miR-181-5p 过表达则产生相反作用,并部分抵消 circSMARCA5 的保护效应。上述结果提示, circSMARCA5 可能通过竞争性吸附 miR-181-5p 发挥抗炎和细胞保护作用。鉴于 miRNA 主要通过调控下游靶基因发挥生物学效应,本研究进一步对 miR-181-5p 的下游靶基因进行了筛选和验证,以期阐明 circSMARCA5 参与 AP 调控的具体分子机制。

溶酶体的单层膜维持了腔内酸性环境与胞质之间的区隔。该膜含有独特的蛋白质, LAMP-2 约占总溶酶体膜蛋白的 50%^[28-29]。研究^[30]表明, LAMP-2 表达下降在 AP 的初始阶段是至关重要的。Exendin-4 已被证明通过下调 LAMP-2 抑制胰腺腺泡 AR42J 细胞自噬流诱导细胞凋亡^[31]。溶酶体相关膜蛋白对于维持 PAC 稳态至关重要, LAMP-2 缺陷小鼠发生胰腺炎^[10]。这些发现表明 LAMP-2 在 AP 的发生中起着重要的作用。本研究中观察到 miR-181-5p 和 LAMP-2 表达之间存在负相关关系。双荧光素酶报告基因检测发现,共转染 miR-181-5p 模拟物后, LAMP-2-WT 的相对荧光素酶活性显著降低,而 LAMP-2-MT 的活性基本保持不变。雨蛙肽处理 AR42J 细胞后,随着时间的推移,加入 miR-181-5p 模拟物, PAC 的增殖逐渐下降,与炎症标志物 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达显著升高相吻合。这表明 AP 进行性加重。相反, LAMP-2 过表达后,细胞增殖得到改善,表明病理程度减轻。综上所述,过表达 LAMP-2 可以抑制 miR-181-5p 介导的雨蛙肽诱导的 AP。

本研究通过生物信息学分析预测 miR-181-5p 与 LAMP-2 之间存在潜在结合位点,并通过双荧光素酶报告基因实验进一步证实 LAMP-2 是 miR-181-5p 的直接靶基因。qRT-PCR 及 Western blot 检测结果显示, miR-181-5p 过表达可显著抑制 LAMP-2 的 mRNA 及蛋白表达水平。进一步功能实验发现, miR-181-5p 过表达能够降低 AR42J 细胞活力并促进 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的释放,而 LAMP-2 过表达可部分逆转上述作用。结合前述结果可知, circSMARCA5 通过竞争性吸附 miR-181-5p,减弱其对 LAMP-2 的抑制作用,从而维持 LAMP-2 表达水平并减轻炎症损伤。上述结果提示, circSMARCA5 可能通过调控 miR-181-5p/LAMP-2 轴维持自噬稳态,在 AP 发生发展过程中发挥保护作用,为 AP 的分子调控网络提供了新的实验依据。

本研究仍存在一定局限性。首先,仅采用

AR42J 细胞构建体外 AP 模型，缺乏动物实验及临床样本验证；其次，本研究主要关注 circSMARCA5/miR-181-5p/LAMP-2 调控轴对炎症反应的影响，尚未进一步检测自噬相关指标及自噬通量变化；此外，circSMARCA5 是否还存在其他下游靶点有待进一步研究。未来仍需结合体内实验和临床样本开展深入验证。

作者贡献声明：张福生、张宝明、苗青旺提出了本研究的构思；田仲明、臧龙军负责撰写论文并完成大部分基础实验；朱红伟、田孝东完成了部分实验、图表绘制、数据分析及其他相关工作。所有作者均参与了文章的撰写，并批准了提交的版本。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Petrov MS, Yadav D. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(3): 175-184. doi: 10.1038/s41575-018-0087-5.
- [3] Shah A, Mourad M, Bramhall S. Acute pancreatitis: current perspectives on diagnosis and management[J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11: 77-85. doi: 10.2147/jir.s135751.
- [4] Singh VP, Saluja AK, Bhagat L, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation of trypsinogen modulates the severity of acute pancreatitis[J]. *J Clin Invest*, 2001, 108(9): 1387-1395. doi: 10.1172/JCI12874.
- [5] Zhu HW, Huang LH, Zhu SH, et al. Regulation of autophagy by systemic admission of microRNA-141 to target HMGB1 in l-arginine-induced acute pancreatitis in vivo[J]. *Pancreatol*, 2016, 16(3): 337-346. doi: 10.1016/j.pan.2016.03.004.
- [6] Klionsky DJ, Abeliovich H, Agostinis P, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes[J]. *Autophagy*, 2008, 4(2): 151-175. doi: 10.4161/auto.5338.
- [7] Tanida I. Autophagosome formation and molecular mechanism of autophagy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(11): 2201-2214. doi: 10.1089/ars.2010.3482.
- [8] Gukovsky I, Pandol SJ, Mareninova OA, et al. Impaired autophagy and organellar dysfunction in pancreatitis[J]. *J Gastro and Hepatol*, 2012, 27(S2): 27-32. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.07004.x.
- [9] Fortunato F, Kroemer G. Impaired autophagosome-lysosome fusion in the pathogenesis of pancreatitis[J]. *Autophagy*, 2009, 5(6): 850-853. doi: 10.4161/auto.8839.
- [10] Mareninova OA, Sendler M, Malla SR, et al. Lysosome-associated membrane proteins (LAMP) maintain pancreatic acinar cell homeostasis: lamp-2-deficient mice develop pancreatitis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(6): 678-694. doi: 10.1016/j.jcmgh.2015.07.006.
- [11] Fu W, Wang X, Xiang J, et al. CircPTPRA promotes the progression of pancreatic ductal adenocarcinoma via the miR-140-5p/LMN1 axis[J]. *Cancer Med*, 2023, 12(10): 11651-11671. doi: 10.1002/cam4.5869.
- [12] Chen G, Shi Y, Liu M, et al. circHIPK3 regulates cell proliferation and migration by sponging miR-124 and regulating AQP3 expression in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 175. doi: 10.1038/s41419-017-0204-3.
- [13] Yu J, Xu QG, Wang ZG, et al. Circular RNA cSMARCA5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(6): 1214-1227. doi: 10.1016/j.jhep.2018.01.012.
- [14] Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression[J]. *Hepatology*, 2017, 66(4): 1151-1164. doi: 10.1002/hep.29270.
- [15] Bartel DP. microRNAs genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297. doi: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
- [16] Ebert MS, Sharp PA. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes[J]. *Cell*, 2012, 149(3): 515-524. doi: 10.1016/j.cell.2012.04.005.
- [17] Song YL, Wang ZG, Jiang JZ, et al. miR-181-5p attenuates neutrophilic inflammation in asthma by targeting DEK[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 112: 109243. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109243.
- [18] Chen P, Chen J, He L, et al. Identification of circRNA-miRNA-mRNA regulatory network in bladder cancer by integrated analysis[J]. *Urol Int*, 2021, 105(7/8): 705-715. doi: 10.1159/000512066.
- [19] Liang GY, Chen SH, Xin S, et al. Overexpression of hsa_circ_0001445 reverses oxLDL-induced inhibition of HUVEC proliferation via SRSF1[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24: 507. doi: 10.3892/mmr.2021.12146.
- [20] Rupaimoole R, Slack FJ. microRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222. doi: 10.1038/nrd.2016.246.
- [21] Iorio MV, Croce CM. microRNA dysregulation in cancer:

- diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(3): 143-159. doi: 10.1002/emmm.201100209.
- [22] Ma XF, Qin J, Guo XH. MiR-181-5p protects mice from sepsis via repressing HMGB1 in an experimental model[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24 (18): 9712-9720. doi: 10.26355/eurev_202009_23063.
- [23] Wang YL, An XH, Zhang XQ, et al. Morphine induces the apoptosis of mouse hippocampal neurons HT-22 through upregulating miR-181-5p[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24 (12):7114-7121. doi:10.26355/eurev_202006_21705.
- [24] Cui Y, Yin K, Gong YZ, et al. Atrazine induces necroptosis by miR-181-5p targeting inflammation and glycometabolism in carp lymphocytes[J]. Fish Shellfish Immunol, 2019, 94: 730-738. doi: 10.1016/j.fsi.2019.09.068.
- [25] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. Nature, 2013, 495 (7441):384-388. doi:10.1038/nature11993.
- [26] Li Z, Huang C, Bao C, et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. Nat Struct Mol Biol, 2015, 22(3): 256-264. doi:10.1038/nsmb.2959.
- [27] Granados-Riveron JT, Aquino-Jarquín G. The complexity of the translation ability of circRNAs[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1859(10):1245-1251. doi:10.1016/j.bbagr.2016.07.009.
- [28] Eskelinen EL. Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy[J]. Mol Aspects Med, 2006, 27(5/6):495-502. doi:10.1016/j.mam.2006.08.005.
- [29] Hunziker W, Simmen T, Höning S. Trafficking of lysosomal membrane proteins in polarized kidney cells[J]. Nephrologie, 1996, 17(7):347-350.
- [30] Fortunato F, Bürgers H, Bergmann F, et al. Impaired autolysosome formation correlates with lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis[J]. Gastroenterology, 2009, 137(1):350-360. doi:10.1053/j.gastro.2009.04.003.
- [31] Li Z, Zhu S, Huang L, et al. Exendin-4 impairs the autophagic flux to induce apoptosis in pancreatic acinar AR42J cells by down-regulating LAMP-2[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 496 (2):294-301. doi:10.1016/j.bbrc.2018.01.037.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:田仲明,臧龙军,朱红伟,等. circSMARCA5通过miR-181-5p/LAMP-2轴调控急性胰腺炎细胞炎症损伤的机制研究[J]. 中国普通外科杂志, 2026, 35(5):1003-1011. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.250707

Cite this article as: Tian ZM, Zang LJ, Zhu HW, et al. Mechanism of circSMARCA5-mediated regulation of inflammatory injury in acute pancreatitis through the miR-181-5p/LAMP-2 axis[J]. Chin J Gen Surg, 2026, 35(5):1003-1011. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.250707

关于一稿两投和一稿两用问题处理的声明

本刊编辑部发现仍有个别作者一稿两投和一稿两用,为了维护本刊的声誉和广大读者的利益,本刊就一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下。

1.一稿两投和一稿两用的认定:凡属原始研究的报告,同语种一式两份投寄不同的杂志,或主要数据和图表相同、只是文字表述可能存在某些不同之处的两篇文稿,分别投寄不同的杂志,属一稿两投;一经为两杂志刊用,则为一稿两用。会议纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿分别投寄不同的杂志,以及在一种杂志发表过摘要而将全文投向另一杂志,不属一稿两投。但作者若要重复投稿,应向有关杂志编辑部作出说明。

2.作者在接到收稿回执后满3个月未接到退稿通知,表明稿件仍在处理中,若欲投他刊,应先与本刊编辑部联系。

3.编辑部认为文稿有一稿两投或两用嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核对后再通知作者,在作出处理决定前请作者就此问题作出解释。编辑部与作者双方意见发生分歧时,由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

4.一稿两投一经证实,则立即退稿,对该作者作为第一作者所撰写的论文,2年内将拒绝在本刊发表;一稿两用一经证实,将择期在杂志中刊出作者姓名、单位以及该论文系重复发表的通告,对该作者作为第一作者所撰写的论文,2年内拒绝在本刊发表。本刊将就此事向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中国普通外科杂志编辑部