

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.10.016

论著 · 基础

miR-132-3p 调节 Notch1/Hes1 通路对高脂血症急性胰腺炎大鼠肠道损伤的影响

徐卉, 单二波, 葛继跃, 穆龙龙, 张楚, 褚亮



基金项目: 安徽省高等学校科学研究项目(自然科学类)(2024AH051253)

作者单位: 233050 安徽蚌埠, 蚌埠市第四人民医院重症康复科(徐卉); 233099 安徽蚌埠, 上海市第一人民医院蚌埠医院/蚌埠医科大学第二附属医院普外科(单二波、褚亮), 急诊外科(葛继跃、穆龙龙、张楚)

通信作者: 褚亮, E-mail: chew8151@163.com

【摘要】 目的 探讨微小 RNA-132-3p(miR-132-3p) 调节缺刻基因 1(Notch1)/发状分裂相关增强子 1(Hes1) 通路对高脂血症急性胰腺炎(HLAP) 大鼠肠道损伤的影响。方法 2025 年 3—6 月于蚌埠医科大学动物实验中心进行实验。将造模成功的 HLAP 大鼠 72 只随机分为 HLAP 组、NC agomir 组(腹腔注射 50 mg/kg NC agomir)、miR-132-3p agomir 组(腹腔注射 50 mg/kg miR-132-3p agomir)、JFC 组(腹腔注射 50 mg/kg miR-132-3p agomir+灌胃 0.5 mg/kg 的 JFC), 每组 18 只。另选择 18 只大鼠为 sham 组, sham 组和 HLAP 组腹腔注射和灌胃等量生理盐水。双荧光素酶报告基因实验验证 miR-132-3p 与 Notch1 的相互作用; 检测各组大鼠血清中淀粉酶(AMY)、脂肪酶(LPS)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)水平; ELISA 试剂盒检测大鼠血清中白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-18、二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-Lac)水平; HE 染色检测 HLAP 大鼠胰腺和小肠组织病理变化; TUNEL 法检测 HLAP 大鼠小肠组织上皮细胞凋亡; qRT-PCR 法检测 HLAP 大鼠小肠组织 mRNA 表达; Western blot 检测 HLAP 大鼠小肠组织中 Notch1、Hes1 蛋白表达。结果 miR-132-3p 可以靶向负调控 Notch1。sham 组胰腺、小肠组织结构完整; HLAP 组、NC agomir 组胰腺组织出现肿胀、结构紊乱、出血, 存在大量炎性细胞浸润, 小肠组织明显紊乱, 可见大量的肠绒毛上皮细胞脱落和炎性细胞浸润, 同时可见固有层裸露, 毛细血管扩张、充血; miR-132-3p agomir 组胰腺、小肠组织病理损伤均明显减轻, 炎性细胞浸润均明显减少; JFC 组胰腺、小肠组织病理损伤较 miR-132-3p agomir 组均进一步加重, 炎性细胞浸润均增加。HLAP 组凋亡率、AMY、LPS、TC、TG、DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 、Notch1 mRNA 和蛋白、Hes1 mRNA 和蛋白高于 sham 组, miR-132-3p 低于 sham 组($P<0.01$); miR-132-3p agomir 组凋亡率、AMY、LPS、TC、TG、DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 、Notch1 mRNA 和蛋白、Hes1 mRNA 和蛋白低于 HLAP 组、NC agomir 组, miR-132-3p 高于 HLAP 组、NC agomir 组($P<0.01$); JFC 组凋亡率、AMY、LPS、TC、TG、DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 、Notch1 mRNA 和蛋白、Hes1 mRNA 和蛋白高于 miR-132-3p agomir 组($P<0.01$)。结论 miR-132-3p 可通过调节 Notch1/Hes1 通路, 抑制 HLAP 大鼠肠道损伤。

【关键词】 高脂血症急性胰腺炎; 肠道损伤; 微小 RNA-132-3p; 缺刻基因 1; 发状分裂相关增强子 1; 作用机制; 大鼠

【中图分类号】 R576**【文献标识码】** A

The effect of miR-132-3p adjusting the Notch1/Hes1 pathway on intestinal injury in rats with hyperlipidemia acute pancreatitis Xu Hui*, Shan Erbo, Ge Jiyue, Mu Longlong, Zhang Chu, Chu Liang.* Department of Intensive Care and Rehabilitation, The Fourth People's Hospital of Bengbu, Anhui, Bengbu 233050, China

Funding program: Anhui Province Higher Education Institutions Scientific Research Project (Natural Science Category) (2024AH051253)

Corresponding author: Chu Liang, E-mail: chew8151@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of microRNA-132-3p(miR-132-3p) adjusting the Notch1/hairy and enhancer of split homolog 1(Hes1) pathway on intestinal injury in rats with hyperlipidemia acute pancreatitis(HLAP). **Methods** From March to June 2025, the experiment was conducted at Bengbu Medical University in Anhui Province. The interaction between miR-132-3p and Notch1 was verified by dual-luciferase reporter gene assay. The successfully modeled HLAP rats were randomly separated into the HLAP group, the NC agomir group (intraperitoneal injection of 50 mg/kg NC agomir), the

miR-132-3p agomir group (intraperitoneal injection of 50 mg/kg miR-132-3p agomir), and the JFC group (intraperitoneal injection of 50 mg/kg miR-132-3p agomir+ gavage 0.5 mg/kg JFC), 18 rats in each group. Another 18 rats were selected as the sham group. The sham group and the HLAP group were intraperitoneally injected and intragastrally administered the same amount of normal saline. The levels of amylase (AMY), lipase (LPS), Total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) in serum of rats in each group were detected. ELISA kits were used to measure the levels of interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-18, diamine oxidase (DAO), and D-lactic acid (D-Lac) in rat serum. HE staining was implemented to measure the histopathology of pancreatic and small intestinal tissues in HLAP rats. The apoptosis of small intestinal tissue epithelial cells in HLAP rats was detected by the TUNEL method. The mRNA expression in the small intestinal tissue of HLAP rats was detected by qRT-PCR. In addition, Western blot was implemented to measure the protein expressions of Notch1 and Hes1 in the small intestinal tissues of HLAP rats. **Results** MiR-132-3p was able to target and negatively regulate Notch1. The pancreatic and small intestinal tissue structures in the sham group were intact. In the HLAP group and the NC agomir group, pancreatic tissues showed swelling, structural disorder, bleeding, and a large number of inflammatory cell infiltrations, the small intestinal tissue was clearly disordered, with a large number of intestinal villous epithelial cells shedding and inflammatory cell infiltration visible. At the same time, the lamina propria was exposed, and the capillaries were dilated and congested. In the miR-132-3p agomir group, the pathological damage of pancreatic and small intestinal tissues was clearly alleviated, and the infiltration of inflammatory cells was prominently reduced. In the JFC group, the pathological injuries of pancreatic and small intestinal tissues were further aggravated, and the infiltration of inflammatory cells increased. The HLAP group had higher apoptosis rate, AMY, LPS, TC, TG, DAO, D-Lac, IL-18, IL-6, TNF- α , Notch1 mRNA and protein, Hes1 mRNA and protein than the sham group, and a lower miR-132-3p than the sham group ($t=46.291/<0.001$, $29.962/<0.001$, $33.348/<0.001$, $36.566/<0.001$, $25.414/<0.001$, $26.754/<0.001$, $25.230/<0.001$, $29.379/<0.001$, $26.667/<0.001$, $23.375/<0.001$, $38.298/<0.001$, $21.882/<0.001$, $28.379/<0.001$, $18.844/<0.001$, $38.090/<0.001$). The miR-132-3p agomir group had lower apoptosis rate, AMY, LPS, TC, TG, DAO, D-Lac, IL-18, IL-6, TNF- α , Notch1 mRNA and protein, Hes1 mRNA and protein than the HLAP group and the NC agomir group, and a higher miR-132-3p than the HLAP group and the NC agomir group ($F/P=241.158/<0.001$, $209.783/<0.001$, $285.3093/<0.001$, $241.427/<0.001$, $104.275/<0.001$, $158.707/<0.001$, $125.111/<0.001$, $204.884/<0.001$, $194.494/<0.001$, $119.613/<0.001$, $233.623/<0.001$, $102.852/<0.001$, $119.277/<0.001$, $72.183/<0.001$, $282.118/<0.001$). The JFC group had higher apoptosis rate, AMY, LPS, TC, TG, DAO, D-Lac, IL-18, IL-6, TNF- α , Notch1 mRNA and protein, Hes1 mRNA and protein than the miR-132-3p agomir group ($t/P=22.299/<0.001$, $18.662/<0.001$, $23.332/<0.001$, $23.465/<0.001$, $13.583/<0.001$, $17.268/<0.001$, $17.926/<0.001$, $22.529/<0.001$, $22.688/<0.001$, $16.519/<0.001$, $24.448/<0.001$, $15.630/<0.001$, $13.169/<0.001$, $12.562/<0.001$). **Conclusion** MiR-132-3p inhibits intestinal injury in HLAP rats by adjusting the Notch1/Hes1 pathway.

【Key words】 Hyperlipidemia acute pancreatitis; Intestinal injury; MicroRNA-132-3p; Notch1; Hairy and enhancer of split homolog 1; Mechanism; Rat

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种起源于胰腺腺泡细胞的胰腺炎性疾病。临床研究发现,高脂血症(hyperlipidemia, HL)逐渐成为急性胰腺炎的常见病因之一,由其引发的高脂血症性急性胰腺炎(hyperlipidemic acute pancreatitis, HLAP)备受关注^[1-3]。在 HLAP 早期阶段,胰腺内原位产生的胰蛋白酶原发生异常激活,进而引起胰腺组织损伤,这种损伤促使炎症因子释放进入血液循环,破坏肠黏膜屏障并导致肠道损伤^[4]。因此,探讨 HLAP 肠道损伤的分子机制具有重要意义。微小 RNA(microRNAs, miRNAs)通过切割或抑制翻译等方式调控基因表达,参与重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的发生和进展^[5]。相关研究显示,miR-132-3p 在 AP 患者血浆和雨蛙素诱导的人胰腺导管细胞中低表达,过表达 miR-132-3p 可抑制雨蛙素诱导的人胰腺导管细胞损伤^[6]。缺陷

基因 1(neurogenic locus notch homolog protein 1, Notch1)信号通路在配体与受体结合后被激活,进而促进其靶基因 Hes1 的转录,参与多种疾病进展^[7]。已有研究证实,抑制 Notch1/Hes1 通路可减轻烧伤脓毒症大鼠的肠道损伤^[8]。此外,miR-132-3p 过表达可通过抑制 Notch1 缓解大鼠的神经性疼痛^[9]。本研究前期通过生物信息学发现,Notch1 是 miR-132-3p 的结合位点。据此推测,miR-132-3p 可能通过调控 Notch1/Hes1 通路影响 HLAP 大鼠的肠道损伤。本研究拟对此进行探讨,以期为提高 HLAP 的临床治疗效能提供依据,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 实验动物: 12~14 周龄雄性 Wistar 大鼠 90 只,体质量 280~320 g,购自合肥国科康源创新医药研究有限公司,生产许可证号: SCXK(皖) 2025—

001,于适宜环境 光照循环 12 h、恒温(24±2)℃、相对湿度(50±5)%]中饲养。(2) 试剂试剂:大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J(货号:PT-R3006,上海匹拓生物公司);NC agomic、miR-132-3p agomir、Notch1 激活剂 Jagged-1/FC 嵌合蛋白(JFC)(货号 HY-R04602A、HY-R00248A、HY-P70399, Med Chem Express LLC)。淀粉酶(AMY)、脂肪酶(LPS)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)试剂盒(货号 XFSW3253、XJC5143、xf20195179、XJC5233,上海信帆生物公司);白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL-18、二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(D-Lac) ELISA 试剂盒(货号: F15870、F16960、F15950、F15280、F15282,上海西唐生物公司);β-actin、Notch1、Hes1、HRP 试剂盒(货号: MA5-32479、MA5-38369、MA5-32258、31460,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。(3) 仪器设备: qRT-PCR 仪(型号 Archimed X4,北京鲲鹏基因科学仪器公司);倒置显微镜(型号: ACCUR2000,南京覃思科技公司)。

1.2 动物建模与分组 大鼠均接受 8 周的高脂饲料(82.6%基础饲料、10%猪油、2%胆固醇、0.2%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶、5%蔗糖)喂养,喂养后血清 TC、TG 水平较喂养前显著升高,表明高脂血症大鼠模型构建成功^[8]。将上述造模成功的 HL 大鼠 72 只经戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉并固定后,行腹中线切口暴露十二指肠壶腹部,逆行插管至胰胆管,缓慢注射牛黄胆酸钠 50 g/L,若 15 min 内胰腺出现水肿出血,即提示造模成功,继而完成关腹与消毒^[10]。设置假手术组(sham 组,仅开腹后提出十二指肠并轻轻翻动胰腺后即关腹),将造模成功的大鼠随机分为 HLAP 组、NC agomir 组(腹腔注射 50 mg/kg NC agomir)、miR-132-3p agomir 组(腹腔注射 50 mg/kg miR-132-3p agomir)、JFC 组(腹腔注射 50 mg/kg miR-132-3p agomir+灌胃 0.5 mg/kg 的 JFC^[11]),每组 18 只。sham 组和 HLAP 组腹腔注射和灌胃等量生理盐水。

1.3 实验方法 2025 年 3—6 月于蚌埠医科大学动物实验中心进行实验(伦科批字(2025)第 019 号)。

1.3.1 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-132-3p 与 Notch1 的相互作用:将含有 miR-132-3p 结合序列的突变型(MUT)和野生型(WT) Notch1 3'UTR 克隆到荧光素酶报告质粒中,选择 12 孔板中培养的 AR42J 细胞使用 Lipofectamine 200 试剂将商用质粒(1 μg)与 miR-132-3p-mimic 或 mimic-NC 进行共转染 24 h,检测荧光素酶活性。

1.3.2 血清 AMY、LPS、TC、TG 水平检测:采集麻醉大

鼠门静脉血液 2 ml,离心收集血清,以全自动生化仪检测血清中 AMY、LPS、TC、TG 的水平。

1.3.3 血清 IL-6、TNF-α、IL-18、DAO、D-Lac 水平检测:取上述血清样本按照相应 ELISA 试剂盒说明书操作,在酶标仪 450 nm 处测定吸光度,计算血清中 IL-6、TNF-α、IL-18、DAO、D-Lac 的水平。

1.3.4 HLAP 大鼠胰腺和小肠组织病理学检测:麻醉处死大鼠,收集胰腺和小肠组织置于 10%的甲醛溶液中固定,并用梯度乙醇进行脱水处理,再浸泡在透明的二甲苯中,石蜡包埋制成 4 μm 厚的切片,加入 HE 染液进行染色,在显微镜下进行观察。

1.3.5 HLAP 大鼠小肠组织上皮细胞凋亡检测:取上述 HLAP 大鼠小肠组织切片,进行脱蜡、水化、浸洗、固定、TUNEL 染色、DAPI 显色操作,在荧光显微镜下观察细胞凋亡情况。

1.3.6 HLAP 大鼠小肠组织 mRNA 表达检测:将冷冻的结肠组织 25 mg 加入 Trizol 试剂 0.5 ml 进行匀浆,在室温下静置 10 min 以使核蛋白与核酸完全分离,按照说明书操作提取总 RNA,通过逆转录试剂盒的操作步骤进行 cDNA 的合成,根据基因序列设计特异性引物,引物序列见表 1,以 β-actin 和 U6 作为内参基因,通过 qRT-PCR 进行定量检测,设置程序为 95℃ 3 min,95℃ 5 s,60℃ 30 s,共 45 个循环,通过 2^{-ΔΔCt} 法计算 mRNA 相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Tab.1 Sequences of qRT-PCR primers

基因	上游引物	下游引物
miR-132-3p	5'-CGCGTAACAGTCTAC-AGCCA-3'	5'-CGGCCAGTGTTCAGA-CTA-3'
Notch1	5'-TCAATGTTTCGAGGAC-CAGATG-3'	5'-TCACTGTTGCCTGTC-TCAAG-3'
Hes1	5'-CAGACATTCTGGAAA-TGACTGTGAA-3'	5'-CGCGGTATTTCCTCCA-ACAC-3'
U6	5'-CAAATTCGTGAAGCG-TTCCATA-3'	5'-ACTGCAGGGTCCGAG-GTATTC-3'
β-actin	5'-TGACGTTGACATCCG-TAAAGACC-3'	5'-GTGCTAGGAGCCAGG-GCAGTAA-3'

1.3.7 HLAP 大鼠小肠组织中 Notch1、Hes1 蛋白表达检测:使用 RIPA 裂解液从 HLAP 大鼠小肠组织中提取蛋白质,将蛋白质样本在 4℃ 下离心收集上清液,并使用 BCA 法测定蛋白质浓度,通过 SDS-PAGE 进行电泳,将分离出的等量蛋白质转移到 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶溶液封闭,加入 β-actin(1:10 000)、Notch1(1:500)、Hes1(1:5 000)一抗并在 4℃ 的温度下进行过夜

孵育, PVDF 膜在常温下与二抗 (1:10 000) 孵育 2 h, 并在凝胶成像系统中接受超灵敏 ECL 发光溶液的处理、曝光和摄片。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用 F 检验, 两两比较行 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-132-3p 和 Notch1 的靶向关系 miR-132-3p 和 Notch1 之间存在结合位点, 见图 1。在转染 Notch1-WT 的细胞中, miR-132-3p mimic 组的荧光素酶活性低于 mimic-NC 组 ($P < 0.01$); 在转染 Notch1-MUT 的细胞中, 2 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

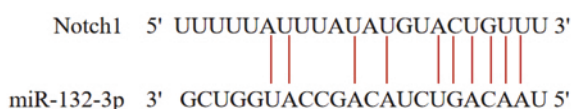


图 1 miR-132-3p 和 Notch1 的结合位点
Fig.1 The binding site of miR-132-3p and Notch1

2.2 miR-132-3p 过表达对 HLAP 大鼠血清 AMY、LPS、TC、TG 水平的影响 HLAP 组 AMY、LPS、TC、TG 高于 sham 组 ($q/P = 29.962 / < 0.001$ 、 $33.348 / < 0.001$ 、 $36.566 / < 0.001$ 、 $25.414 / < 0.001$); miR-132-3p agomir 组

表 2 双荧光素酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of dual luciferase activity

组 别	<i>n</i>	Notch1-WT	Notch1-MUT
mimic-NC 组	6	1.00±0.01	0.97±0.12
miR-132-3p mimic 组	6	0.34±0.04	0.92±0.09
<i>t</i> 值		39.210	0.816
<i>P</i> 值		<0.001	0.433

AMY、LPS、TC、TG 低于 HLAP 组、NC agomir 组 ($F/P = 209.783 / < 0.001$ 、 $285.3093 / < 0.001$ 、 $241.427 / < 0.001$ 、 $104.275 / < 0.001$); JFC 组 AMY、LPS、TC、TG 高于 miR-132-3p agomir 组 ($q/P = 18.662 / < 0.001$ 、 $23.332 / < 0.001$ 、 $23.465 / < 0.001$ 、 $13.583 / < 0.001$), 见表 3。

2.3 miR-132-3p 过表达对 HLAP 大鼠血清 DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 水平的影响 HLAP 组 DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 高于 sham 组 ($q/P = 26.754 / < 0.001$ 、 $25.230 / < 0.001$ 、 $29.379 / < 0.001$ 、 $26.667 / < 0.001$ 、 $23.375 / < 0.001$); miR-132-3p agomir 组 DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 低于 HLAP 组、NC agomir 组 ($F/P = 158.707 / < 0.001$ 、 $125.111 / < 0.001$ 、 $204.884 / < 0.001$ 、 $194.494 / < 0.001$ 、 $119.613 / < 0.001$); JFC 组 DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 高于 miR-132-3p agomir 组 ($q/P = 17.268 / < 0.001$ 、 $17.926 / < 0.001$ 、 $22.529 / < 0.001$ 、 $22.688 / < 0.001$ 、 $16.519 / < 0.001$), 见表 4。

表 3 各组大鼠血清 AMY、LPS、TC、TG 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of serum AMY, LPS, TC and TG expressions among different groups of rats

组 别	<i>n</i>	AMY (U/L)	LPS (U/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
sham 组	18	1 276.34±293.51	239.85±86.38	1.17±0.31	0.64±0.18
HLAP 组	18	3 625.58±361.83 ^a	973.26±98.56 ^a	4.91±0.53 ^a	2.38±0.37 ^a
NC agomir 组	18	3 579.25±360.32	968.39±97.21	4.84±0.48	2.36±0.34
miR-132-3p agomir 组	18	1 568.47±307.16 ^{bc}	314.57±89.48 ^{bc}	1.96±0.35 ^{bc}	1.04±0.23 ^{bc}
JFC 组	18	3 031.73±334.76 ^d	827.68±94.31 ^d	4.36±0.46 ^d	1.97±0.29 ^d
<i>F</i> 值		203.807	267.286	294.192	134.802
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 sham 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 HLAP 组比较, ^b $P < 0.01$; 与 NC agomir 组比较, ^c $P < 0.01$; 与 miR-132-3p agomir 组比较, ^d $P < 0.01$ 。

表 4 各组大鼠血清 DAO、D-Lac、IL-18、IL-6、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Comparison of the expression levels of serum DAO, D-Lac, IL-18, IL-6, and TNF- α among different groups of rats

组 别	<i>n</i>	DAO (μ g/L)	D-Lac (μ mol/L)	IL-18 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)
sham 组	18	43.26±6.96	26.17±4.02	6.19±1.17	68.93±11.65	38.45±3.89
HLAP 组	18	98.34±9.97 ^a	56.29±5.71 ^a	18.37±2.04 ^a	158.72±16.19 ^a	73.19±7.56 ^a
NC agomir 组	18	97.96±9.92	55.86±5.68	18.52±2.13	156.34±15.84	72.86±7.43
miR-132-3p agomir 组	18	51.03±7.35 ^{bc}	32.02±4.29 ^{bc}	7.46±1.38 ^{bc}	73.19±12.07 ^{bc}	43.02±4.81 ^{bc}
JFC 组	18	86.58±9.01 ^d	53.42±5.37 ^d	16.80±1.87 ^d	149.58±15.03 ^d	67.57±6.94 ^d
<i>F</i> 值		164.395	147.180	217.775	187.108	129.547
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 sham 组比较, ^a $P < 0.01$; 与 HLAP 组比较, ^b $P < 0.01$; 与 NC agomir 组比较, ^c $P < 0.01$; 与 miR-132-3p agomir 组比较, ^d $P < 0.01$ 。

2.4 miR-132-3p 过表达对 HLAP 大鼠胰腺和小肠组织病理学的影响 胰腺组织: sham 组胰腺组织结构完整; HLAP 组、NC agomir 组胰腺组织出现肿胀、结构紊乱、出血,存在大量炎性细胞浸润; miR-132-3p agomir 组胰腺组织损伤有明显缓解,炎性细胞浸润明显减少; JFC 组胰腺组织损伤较 miR-132-3p agomir 组进一步加重,炎性细胞浸润进一步增多,见图 2。小肠组织: sham 组小肠组织结构正常; HLAP 组、NC agomir 组小肠组织明显紊乱,可见大量的肠绒毛上皮细胞脱落和炎性细胞浸润,同时可见固有层裸露,毛细血管扩张、充血; miR-132-3p agomir 组小肠组织病理损伤明显减轻,存在少量肠绒毛上皮细胞脱落和炎性细胞浸润; JFC 组小肠组织病理损伤较 miR-132-3p agomir 组进一步加重,肠绒毛上皮细胞脱落和炎性细胞浸润进一步增多,见图 2。

2.5 miR-132-3p 过表达对 HLAP 大鼠小肠组织上皮细胞凋亡的影响 HLAP 组凋亡率高于 sham 组($q/P=46.291/<0.001$); miR-132-3p agomir 组凋亡率低于 HLAP 组、NC agomir 组($F/P=241.158/<0.001$); JFC 组凋亡率高于 miR-132-3p agomir 组($q/P=22.299/<0.001$),见表 5。

2.6 miR-132-3p、Notch1、Hes1 mRNA 在各组大鼠小肠组织中表达的比较 HLAP 组 Notch1、Hes1 mRNA 高于 sham 组,miR-132-3p 低于 sham 组($q/P=38.298/<0.001$ 、 $28.379/<0.001$ 、 $38.090/<0.001$); miR-132-3p agomir 组 Notch1、Hes1 mRNA 低于 HLAP 组、NC agomir 组,miR-132-3p 高于 HLAP 组、NC agomir 组($F/P=233.623/<0.001$ 、 $119.277/<0.001$ 、 $282.118/<$

0.001); JFC 组 Notch1、Hes1 mRNA 高于 miR-132-3p agomir 组($q/P=24.448/<0.001$ 、 $13.169/<0.001$),见表 6。

表 5 各组大鼠小肠组织上皮细胞凋亡率比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab.5 Comparison of apoptosis rate of intestinal epithelial cells in each group of rats

组 别	n	凋亡率
sham 组	18	0.75±0.18
HLAP 组	18	23.51±2.73 ^a
NC agomir 组	18	22.64±2.68
miR-132-3p agomir 组	18	8.34±1.27 ^{bc}
JFC 组	18	19.28±2.32 ^d
F 值		411.799
P 值		<0.001

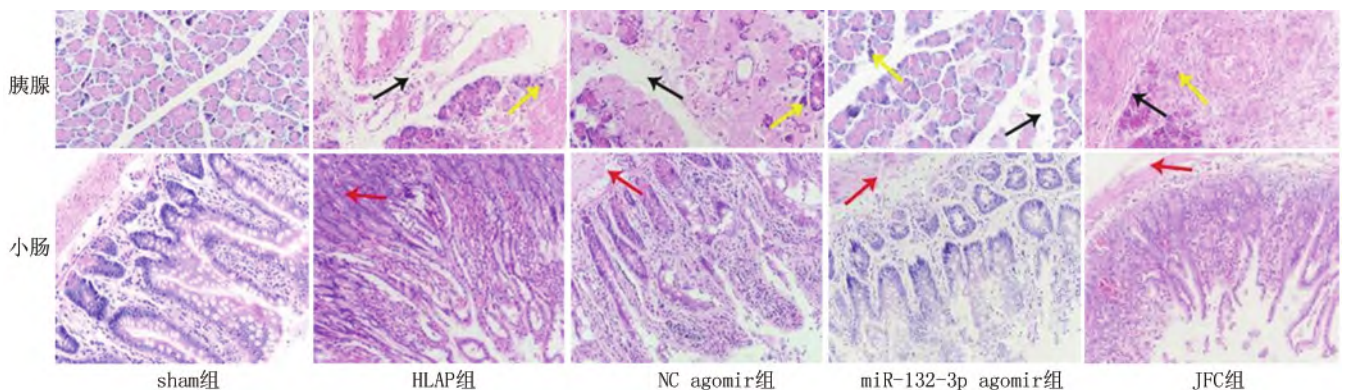
注:与 sham 组比较,^a $P<0.01$;与 HLAP 组比较,^b $P<0.01$;与 NC agomir 组比较,^c $P<0.01$;与 miR-132-3p agomir 组比较,^d $P<0.01$ 。

表 6 miR-132-3p、Notch1、Hes1 mRNA 在各组大鼠小肠组织中的表达 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.6 Expression of miR-132-3p, Notch1, and Hes1 mRNA in the small intestinal tissues in each group of rats

组 别	n	miR-132-3p	Notch1 mRNA	Hes1 mRNA
sham 组	18	1.00±0.03	1.00±0.01	1.00±0.06
HLAP 组	18	0.19±0.06 ^a	4.18±0.47 ^a	2.53±0.31 ^a
NC agomir 组	18	0.23±0.07	4.13±0.43	2.48±0.27
miR-132-3p agomir 组	18	0.84±0.13 ^{bc}	1.69±0.25 ^{bc}	1.34±0.19 ^{bc}
JFC 组	18	0.79±0.12	3.72±0.39 ^d	2.05±0.23 ^d
F 值		308.587	322.293	161.474
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 sham 组比较,^a $P<0.01$;与 HLAP 组比较,^b $P<0.01$;与 NC agomir 组比较,^c $P<0.01$;与 miR-132-3p agomir 组比较,^d $P<0.01$ 。

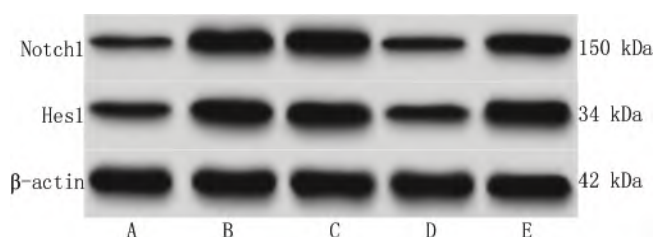


注:黑色箭头.结构紊乱;黄色箭头.炎性细胞浸润;红色箭头.上皮细胞脱落。

图 2 各组大鼠胰腺和小肠组织病理学变化(HE 染色,×100)

Fig.2 Histopathological changes in the pancreatic and intestinal tissues in each group of rats

2.7 miR-132-3p 过表达对 HLAP 大鼠小肠组织中 Notch1、Hes1 蛋白表达的影响 HLAP 组 Notch1、Hes1 蛋白表达高于 sham 组($q/P=21.882/<0.001$ 、 $18.844/<0.001$)；miR-132-3p agomir 组 Notch1、Hes1 蛋白表达低于 HLAP 组、NC agomir 组($F/P=102.852/<0.001$ 、 $72.183/<0.001$)；JFC 组 Notch1、Hes1 蛋白表达高于 miR-132-3p agomir 组($q/P=15.630/<0.001$ 、 $12.562/<0.001$)，见图 3、表 7。



注：A. sham 组；B. HLAP 组；C. NC agomir 组；D. miR-132-3p agomir 组；E. JFC 组。

图 3 各组大鼠小肠组织中 Notch1、Hes1 蛋白表达

Fig.3 Expression of Notch1 and Hes1 proteins in the small intestinal tissues in each group of rats

表 7 各组大鼠小肠组织中蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.7 Comparison of protein expression in the small intestinal tissues of rats in each group

组 别	n	Notch1	Hes1
sham 组	18	0.35±0.09	0.54±0.11
HLAP 组	18	0.98±0.15 ^a	1.17±0.17 ^a
NC agomir 组	18	0.95±0.14	1.14±0.16
miR-132-3p agomir 组	18	0.42±0.10 ^{bc}	0.63±0.12 ^{bc}
JFC 组	18	0.87±0.12 ^d	1.05±0.14 ^d
F 值		111.511	79.470
P 值		<0.001	<0.001

注：与 sham 组比较，^a $P<0.01$ ；与 HLAP 组比较，^b $P<0.01$ ；与 NC agomir 组比较，^c $P<0.01$ ；与 miR-132-3p agomir 组比较，^d $P<0.01$ 。

3 讨 论

HLAP 已成为我国 AP 的第二大常见病因，与其他类型 AP 相比，HLAP 患者复发倾向更高，发展为严重 AP 的风险更大^[13]。由于肠道在解剖学上接近且与胰腺直接连接，因此在胰腺炎发作期间特别容易受到炎症损伤^[13]。目前针对 HLAP 及其相关肠道损伤的治疗策略仍不够理想，因此迫切需要探讨 HLAP 分子损伤机制，并以此寻找相关治疗靶点的新药物。

HLAP 是由胰腺 LPS 水解过量的 TG，导致游离脂肪酸积聚引起的，这些脂肪酸破坏腺泡细胞的多种功能，导致胰蛋白酶原过早激活和胰腺组织自我消化，从

而损伤胰腺组织^[14]。此时，反映胰腺腺泡细胞损伤的血清 AMY 和 LPS 活性以及反映血脂水平的 TC 和 TG 会显著升高。由于胰腺腺泡细胞在自身消化过程中受到损伤，过度刺激胰腺实质炎症反应，导致中性粒细胞和巨噬细胞等炎症细胞浸润，并释放炎症标志物如 IL-18、IL-6、TNF- α 等^[15]。在 HL 改变肠道菌群和 AP 释放促炎因子的双重作用下，肠黏膜通透性进一步提高，打破封闭状态，进一步刺激机体释放炎症细胞因子，并诱导肠道黏膜上皮细胞发生凋亡，进而损害肠道功能屏障引起 DAO、D-Lac 表达升高，导致小肠组织损伤^[16]。本研究构建 HLAP 模型大鼠，结果发现，胰腺组织出现肿胀、结构紊乱、出血，存在大量炎症细胞浸润；小肠组织明显紊乱，可见大量的肠绒毛上皮细胞脱落和炎症细胞浸润，同时可见固有层裸露，毛细血管扩张、充血，小肠组织上皮细胞凋亡率明显升高，胰腺腺泡细胞损伤指标 (AMY、LPS)、血脂水平指标 (TC、TG)、促炎因子 (IL-18、IL-6、TNF- α)、肠道屏障功能指标 (DAO、D-Lac) 均显著升高，提示 HLAP 诱导炎症反应，促使胰腺腺泡细胞和组织损伤，进一步引起肠道屏障受损，上皮细胞凋亡，导致肠道损伤。

miRNA 具有高度的保守性，相关研究显示其在 AP、肠道损伤等疾病及生理过程中发挥重要作用^[17]。本研究发现，在 HLAP 模型大鼠小肠组织中 miR-132-3p 低表达，提示 miR-132-3p 可能参与 HLAP 疾病发生。Liu 等^[18]发现，在脂多糖诱导的急性肺损伤细胞模型小鼠肺组织中，miR-132-3p 表达下调，来自间充质干细胞的外泌体 miR-132-3p 通过抑制 TRAF6 进一步抑制炎症反应，在体内外均可抑制脂多糖诱导的急性肺损伤。Li 等^[19]发现，在体内使用盲肠灌洗液诱导的新生儿败血症小鼠模型和体外脂多糖诱导的新生儿败血症细胞中 miR-132-3p 表达降低，小檗碱通过诱导 miR-132-3p 抑制 FOXA1 和 NF- κ B 信号转导，抑制炎症反应、肠道细胞凋亡，减轻肠道损伤。Ren 等^[9]发现，miR-132-3p 过表达可通过抑制炎症反应、氧化应激，促进胰腺导管细胞的增殖，抑制细胞凋亡，进而减轻 AP 胰腺导管细胞损伤。本研究发现 miR-132-3p 过表达可以抑制胰腺腺泡细胞损伤指标 (AMY、LPS)、血脂水平指标 (TC、TG)、促炎因子 (IL-18、IL-6、TNF- α) 和肠道屏障功能指标 (DAO、D-Lac) 的表达，降低小肠组织上皮细胞凋亡，减轻胰腺和小肠组织损伤，提示 miR-132-3p 可通过抑制血脂代谢、炎症反应、细胞凋亡，进而减轻 HLAP 的肠道损伤，与前人研究一致。

Notch1/Hes1 通路通过调控细胞功能在多种疾病

进展中发挥重要作用^[20-23]。本研究发现,Notch1/Hes1 通路 mRNA 和蛋白在 HLAP 模型大鼠小肠组织中高表达,提示 Notch1/Hes1 通路的激活可能参与 HLAP 疾病进展。Wang 等^[24]发现,青蒿琥酯通过抑制 Notch1/Hes1 信号通路,抑制促炎因子 TNF- α 、IL-6 的表达,促进骨髓间充质干细胞的成骨分化,从而对骨质疏松症发挥保护作用。Xu 等^[25]发现,盐酸青藤碱通过抑制 Notch1/Hes1 信号通路,降低血清中促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 含量,减轻葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎。林燕玉等^[26]发现,藁砂口服液可通过抑制 Notch1/Hes1 信号通路,上调紧密连接蛋白表达,抑制结肠组织的炎症反应,减轻内脏敏感性,改善腹泻型肠易激综合征寒湿证大鼠腹泻症状。提示 Notch1/Hes1 通路的激活可能通过促进炎症反应,引起 HLAP 大鼠肠道损伤。此外,相关研究显示,miR-132-3p 可以靶向负调控 Notch1^[8]。本研究双荧光素酶结果与前人研究一致,且在 miR-132-3p 过表达的基础上添加 Notch1 激活剂可以逆转 miR-132-3p 过表达的作用,提示 miR-132-3p 对 HLAP 大鼠肠道损伤的抑制作用可能是通过调节 Notch1/Hes1 通路实现的。此外,相关研究显示维生素 D/维生素 D 受体通过上调 Notch1/Hes1 信号通路,保护肠道屏障免受溃疡性结肠炎的侵害^[27]。这可能是由于不同疾病以及不同细胞有较高的异质性,Notch1/Hes1 信号通路功能高度依赖于细胞类型和特定的微环境,后续将基于疾病背景等因素进行研究。

4 结 论

本研究通过双荧光素酶报告基因实验证实 miR-132-3p 可以靶向负调控 Notch1。本研究构建 HLAP 模型大鼠,结果发现胰腺和小肠组织出现病理损伤,小肠组织上皮细胞凋亡,伴有血清中胰腺损伤指标、血脂指标、炎症因子以及肠道屏障损伤标志物水平升高,同时小肠组织中 miR-132-3p 低表达,Notch1、Hes1 高表达。而过表达 miR-132-3p 可显著逆转上述指标变化,减轻胰腺及小肠病理损伤与细胞凋亡;而联用 Notch1 激活剂则导致 miR-132-3p 过表达产生的上述保护作用被部分抵消。综上所述,miR-132-3p 通过调节 Notch1/Hes1 通路,抑制 HLAP 大鼠肠道损伤,为 HLAP 肠道损伤的分子机制与靶向干预提供了实验依据。然而 HLAP 在临床上常与复杂的代谢紊乱(如肥胖、胰岛素抵抗)并存,而单纯的动物造模可能无法完全复制这种复杂的内环境,后续将设计临床研究继续探讨。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

徐卉:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;单二波、葛继跃:提出研究思路,分析实验数据;穆龙龙、张楚:进行统计学分析,论文修改;褚亮:课题设计,论文审核

参考文献

- [1] 叶莉琪祯,陈鑫钰,王金娜,等.血清 CaMK II、PLD2 在重症急性胰腺炎并发脓毒症患者中的表达及临床意义[J].疑难病杂志,2026,25(3):285-290.DOI:10.3969/j.issn.1671-6450.2026.03.006.
- [2] Ma J, Wan X, Liu J, et al. Precision nutrition management in hyperlipidemia-associated acute pancreatitis: Mechanistic insights and personalized therapeutic approaches[J]. Front Nutr, 2025, 12(1): 1583889-1583897. DOI: 10.3389/fnut.2025.1583889.
- [3] Zuo Z, Liu S, Pang W, et al. Beneficial effect of kidney bean resistant starch on hyperlipidemia-induced acute pancreatitis and related intestinal barrier damage in rats[J]. Molecules, 2022, 27(9): 2783-2796. DOI: 10.3390/molecules27092783.
- [4] Yang Q, Luo Y, Ge P, et al. Emodin ameliorates severe acute pancreatitis-associated acute lung injury in rats by modulating exosome-specific miRNA expression profiles[J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18(1): 6743-6761. DOI: 10.2147/IJN.S428924.
- [5] Ren S, Pan L, Yang L, et al. Interfering hsa_circ_0073748 alleviates caerulein-induced ductal cell injury in acute pancreatitis by inhibiting miR-132-3p/TRAF3/NF- κ B pathway[J]. Cell Cycle, 2022, 21(2): 172-186. DOI: 10.1080/15384101.2021.2014653.
- [6] Wang L, Zeng H, Li H, et al. Recombinant humanized type I collagen remodels decidua immune microenvironment at maternal-fetal interface by modulating Th17/Treg imbalance[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 276(Pt 2): 133994-134008. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.133999.
- [7] 吴辉振,彭坚,夏艳琼.瑞马唑仑通过调节 Notch-1/Hes 信号通路对烧伤脓毒症模型大鼠肠道损伤的作用机制研究[J].现代检验医学杂志,2025,40(2):150-155. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2025.02.028.
- [8] Cen Y, Zhu TF, Wang Y, et al. miR-132-3p regulates notch signaling to relieve neuropathic pain in rats[J]. Int J Clin Exp Med, 2020, 13(6): 4042-4051. DOI: 10.62347/IJCEM.2020.13.6.4042.
- [9] 罗旭娟,白雪,李增晖,等.粪菌移植与中药大黄治疗高脂血症急性胰腺炎大鼠模型的效果比较[J].临床肝胆病杂志,2022,38(12):2767-2773. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.12.016.
- [10] 刘烨,李莉,高福来,等.基于网络药理学和动物实验探究大黄芒硝药对治疗急性胰腺炎的作用机制[J/OL].天然产物研究与开发,2025,37(12):2344-2353. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2025.12.018.
- [11] 高晓卫,刘迎迎,韩聪,等.落新妇苷对慢性肾功能衰竭大鼠肾损伤的影响及机制[J].中国药房,2025,36(4):434-439.DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.04.08.
- [12] Ren D, Li Y, Zhang G, et al. Lipid metabolic profiling and diagnostic model development for hyperlipidemic acute pancreatitis[J]. Front Physiol, 2024, 15(1): 1457349-1457362. DOI: 10.3389/

- fphys.2024.1457349.
- [13] Zhang L, Wang K, 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.
 - [14] Gubensek J. The role of apheresis and insulin therapy in hypertriglyceridemic acute pancreatitis-a concise review [J]. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1): 341-348. DOI: 10.1186/s12876-023-02957-3.
 - [15] Li F, Wang Z, Cao Y, et al. Intestinal mucosal immune barrier: A powerful firewall against severe acute pancreatitis-associated acute lung injury via the gut-lung axis [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17(1): 2173-2193. DOI: 10.2147/JIR.S448819.
 - [16] Liu D, Wen L, Wang Z, et al. The mechanism of lung and intestinal injury in acute pancreatitis: A review [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9(1): 904078-904090. DOI: 10.3389/fmed.2022.904078.
 - [17] 庞国进, 周美佳, 皮丽娟, 等. 溃疡性结肠炎患者血清 miR-21、miR-155 表达与艰难梭菌感染的相关性分析 [J]. *疑难病杂志*, 2023, 22(3): 294-299. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2023. 03.013.
 - [18] Liu JH, Li C, Cao L, et al. Exosomal miR-132-3p from mesenchymal stem cells alleviated LPS-induced acute lung injury by repressing TRAF6 [J]. *Autoimmunity*, 2021, 54(8): 493-503. DOI: 10.1080/08916934.2021.1966768.
 - [19] Li B, Niu S, Geng H, et al. Berberine attenuates neonatal sepsis in mice by inhibiting FOXA1 and NF- κ B signal transduction via the induction of MiR-132-3p [J]. *Inflammation*, 2021, 44(6): 2395-2406. DOI: 10.1007/s10753-021-01510-2.
 - [20] Lu Y, Li SY, Lou H. Patchouli alcohol protects against myocardial ischaemia-reperfusion injury by regulating the Notch1/Hes1 pathway [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 949-957. DOI: 10.1080/13880209.2022.2064881.
 - [21] 罗淳, 贾雯, 高峰, 等. Notch1、Wnt3 在胃癌组织中表达及临床意义 [J]. *临床军医杂志*, 2022, 50(9): 980-982. DOI: 10.16680/j.1671-3826.2022.09.31.
 - [22] 宋宜忻, 李懂, 陈奇, 等. Notch1 调控在糖尿病周围神经病变中的意义 [J]. *中国临床实用医学*, 2020, 11(5): 54-60. DOI: 10.3760/ema.j.cn115570-20200417.00498.
 - [23] 李海斌, 吴振虎, 丁建峰. 肿瘤相关巨噬细胞内 Notch-1 通过抑制组织蛋白酶 S 过表达影响非小细胞肺癌腺癌侵袭转移的机制研究 [J]. *临床误诊误治*, 2024, 37(16): 88-95. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2024.16.016.
 - [24] Wang C, Tan J, Huang C, et al. Based on NF- κ B and Notch1/Hes1 signaling pathways, the mechanism of artesunate on inflammation in osteoporosis in ovariectomized rats was investigated [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2024, 29(7): 266-276. DOI: 10.31083/j.fbl2907266.
 - [25] Xu L, Liu W, Huang X, et al. Sinomenine hydrochloride improves DSS-induced colitis in mice through inhibition of the Notch signaling pathway [J]. *BMC Gastroenterol*, 2024, 24(1): 451-462. DOI: 10.1186/s12876-024-03546-8.
 - [26] 林燕玉, 刘启鸿, 胡露楠, 等. 基于 Notch1/Hes-1/Math-1 信号通路探讨藜芦口服液对腹泻型肠易激综合征寒湿证大鼠肠黏膜屏障的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2025, 32(5): 121-126. DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202408443.
 - [27] Li Y, Guo Y, Geng C, et al. Vitamin D/vitamin D receptor protects intestinal barrier against colitis by positively regulating Notch pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15(1): 1421577-1421591. DOI: 10.1186/s12876-024-03546-8.

(收稿日期: 2026-02-04)

(上接 1241 页)

- [17] Xiao X, Wang R, Qin L. Immune function (serum IL-4 and IL-5), nutritional status, and clinical outcomes in children with bronchial asthma after vitamin D supplementation [J]. *J Med Biochem*, 2025, 44(5): 1059-1066. DOI: 10.5937/jomb0-56915.
- [18] 杜笑青, 马玉昕, 姚丽敏, 等. 血清 PON1 及 1,25(OH)₂D₃ 对银屑病患儿并发心血管疾病的预测价值 [J]. *疑难病杂志*, 2024, 23(4): 472-477. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2024. 04.017.
- [19] Bassu S, Mangoni AA, Argiolas D, et al. A systematic review and meta-analysis of paraoxonase-I activity in asthma [J]. *Clin Exp Med*, 2023, 23(4): 1067-1074. DOI: 10.1007/s10238-022-00930-0.
- [20] Zhou A, Zhang X, Hu X, et al. Loss of interferon regulatory factor-1 prevents lung fibrosis by upregulation of pon1 expression [J]. *Respir Res*, 2024, 25(1): 394. DOI: 10.1186/s12931-024-02987-9.
- [21] Koumpagioti D, Dimitroglou M, Mpoutopoulou B, et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of childhood asthma: A comprehensive review [J]. *Children (Basel)*, 2025, 12(9): 111. DOI: 10.3390/children12091110.
- [22] Chen X, Jiang Y, Tan C, et al. Neuropilin-1: A critical regulator and potential therapeutic target in fibrotic diseases [J]. *Life Sci*, 2025, 379(1): 123917. DOI: 10.1016/j.lfs.2025.123917.
- [23] Lotfi R, Zamanimehr N. Semaphorin-3A: A promising therapeutic tool in allergic rhinitis [J]. *Immunol Res*, 2022, 70(2): 135-142. DOI: 10.1007/s12026-022-09264-1.
- [24] Dong Z, Wang R, Yi J, et al. A novel role for the regulatory NRP1 in immune and inflammatory reactions during radiation-induced lung injury [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 308(1): 142307. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.142307.
- [25] Zhang J, Qiu J, Zhou W, et al. Neuropilin-1 mediates lung tissue-specific control of ILC2 function in type 2 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(2): 237-250. DOI: 10.1038/s41590-021-01097-8.
- [26] Matsuyama T, Salter BM, Emami Fard N, et al. TNF superfamily and ILC2 activation in asthma [J]. *Biomolecules*, 2024, 14(3): 294. DOI: 10.3390/biom14030294.

(收稿日期: 2026-02-05)