

# 基于 LncRNA ELFN1-AS1 表达探究 BrMC 对溃疡性结肠炎相关结直肠癌变的调控作用\*

张荣莉 苗玉 周玮玮 田亮

(沧州市中心医院病理科, 河北 沧州 061600)

**【摘要】** 目的 观察 8-溴-7-甲氧基白杨素(BrMC)对溃疡性结肠炎相关结直肠癌变(UCAC)小鼠的疗效,并基于长链非编码 RNA(LncRNA)ELFN1-AS1 表达探讨 BrMC 调控小鼠 UCAC 的分子机制。方法 采用葡聚糖硫酸钠(DSS)联合氧化偶氮甲烷(AOM)法构建小鼠 UCAC 模型,将 15 只 SPF 级 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、BrMC 组,每组 5 只。实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测 3 组小鼠结肠组织 ELFN1-AS1 表达变化。另选取 50 只 SPF 级 C57BL/6 小鼠分为对照组、模型组、BrMC 组、BrMC+NC 组、BrMC+ELFN1-AS1 组,每组 10 只,除对照组外的其余 4 组小鼠均构建 UCAC 模型,给予 BrMC 灌胃或尾静脉注射 ELFN1-AS1 阴性对照(NC)、过表达 ELFN1-AS1 质粒脂质体复合物;给药结束后,观察各组小鼠一般情况,测定各组小鼠的体质量与疾病活动指数(DAI),检查各组小鼠结肠病理学损伤及成瘤情况,苏木精-伊红(HE)染色观察各组小鼠结肠组织病理学变化,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 原位末端标记(TUNEL)染色检测各组小鼠结肠组织细胞凋亡情况,酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组小鼠结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平,qRT-PCR 检测各组结肠组织中 ELFN1-AS1 表达水平。结果 模型组小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量较对照组显著上调( $P < 0.05$ ),BrMC 组小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量较模型组显著下调( $P < 0.05$ )。进一步研究表明,与模型组比较,BrMC 组小鼠活动程度、精神状态等均得到明显改善,体质量显著升高( $P < 0.05$ ),DAI 评分显著降低( $P < 0.05$ ),结肠黏膜充血、水肿及溃烂等现象明显减轻,肿瘤数目显著减少( $P < 0.05$ ),结肠黏膜组织上皮细胞损伤、炎症细胞浸润程度均减小,TUNEL 标记的凋亡细胞数目比例显著降低( $P < 0.05$ ),结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平显著下降( $P < 0.05$ ),同时,结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量显著下调( $P < 0.05$ )。与 BrMC 组比较,BrMC+ELFN1-AS1 组小鼠活动程度下降、精神萎靡,体质量显著下降( $P < 0.05$ ),DAI 评分显著升高( $P < 0.05$ ),结肠黏膜仍充血、溃烂,肿瘤数目显著增加( $P < 0.05$ ),结肠黏膜组织上皮细胞受损并且伴有炎症细胞浸润,TUNEL 标记的凋亡细胞数目比例显著升高( $P < 0.05$ ),结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平显著升高( $P < 0.05$ ),结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量也显著上调( $P < 0.05$ )。结论 LncRNA ELFN1-AS1 异常表达可能与小鼠 UCAC 有关,BrMC 能够通过下调 LncRNA ELFN1-AS1 表达抑制 UCAC。

**【关键词】** 溃疡性结肠炎相关结直肠癌变;小鼠;8-溴-7-甲氧基白杨素;LncRNA ELFN1-AS1

**【中图分类号】** R574.62 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2025.04.004

## The regulatory effect of BrMC on colorectal cancer associated with ulcerative colitis based on LncRNA ELFN1-AS1 expression

ZHANG Rongju, MIAO Yu, ZHOU Weiwei, TIAN Liang

(Department of Pathology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061600, Hebei, China)

**【Abstract】 Objective** To observe the curative effect of 8-bromo-7-methoxychrysin (BrMC) on ulcerative colitis associated colorectal cancer (UCAC) mice, and explore the molecular mechanism of BrMC regulation of UCAC mice based on the expression of long non-coding RNA (LncRNA) ELFN1-AS1. **Methods** The UCAC model of C57BL/6 mice was established by sodium glucan sulfate (DSS) combined with azomethane oxide (AOM), the mice were given BrMC intra-gastric treatment, and the expression of ELFN1-AS1 in colon tissue was detected by real-time quantitative fluorescence

基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20240590)

引用本文:张荣莉,苗玉,周玮玮,等.基于 LncRNA ELFN1-AS1 表达探究 BrMC 对溃疡性结肠炎相关结直肠癌变的调控作用[J].西部医学,2025,37(4):490-496,504. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2025.04.004

polymerase chain reaction (qRT-PCR). The experiment was divided into 5 groups, including control group, model group, BrMC group, BrMC+NC group, and BrMC+ELFN1-AS1 group, with 10 mice in each group. UCAC model was constructed for the other 4 groups except the control group, BrMC was given intragastric administration or caudal vein injection of ELFN1-AS1 negative control (NC) and overexpressed ELFN1-AS1 plasmid liposome complex. After the administration, the general conditions of mice in each group were observed, body mass and disease activity index (DAI) of mice in each group were determined, pathological injury and tumorigenesis of colon of mice in each group were examined, hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to observe the histopathological changes of colon, terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) was used to detect the apoptosis of colon tissue cells in each group, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of inflammatory cytokines tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6 and IL-12 in colon tissue of mice in each group, and the expression levels of ELFN1-AS1 in colon tissue of mice in each group were detected by qRT-PCR. **Results** The relative expression level of ELFN1-AS1 in colon tissue of mice in model group was significantly up-regulated compared with that in control group ( $P < 0.05$ ), and the relative expression level of ELFN1-AS1 in colon tissue of mice in BrMC group was significantly down-regulated compared with that in model group ( $P < 0.05$ ). Further study showed that compared with model group, activity level and mental state of mice in BrMC group were significantly improved, body weight was significantly increased ( $P < 0.05$ ), DAI score was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), colonic mucosal congestion, edema and ulceration were significantly alleviated, and the number of tumors was significantly reduced ( $P < 0.05$ ), the damage of epithelial cells and the degree of inflammatory cell infiltration in colon mucosal tissue were decreased, the proportion of TUNEL-labeled apoptotic cells was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-12 in colon tissue were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the relative expression level of ELFN1-AS1 in colon tissues was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with BrMC group, BrMC+ELFN1-AS1 group showed decreased activity and lethargy, body weight significantly decreased ( $P < 0.05$ ), DAI score was significantly increased ( $P < 0.05$ ), colonic mucosa was still hyperemia and ulceration, and the number of tumors was significantly increased ( $P < 0.05$ ), epithelial cells were damaged and infiltrated by inflammatory cells, the number of apoptotic cells with TUNEL labeling was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-12 in colon tissue were significantly increased ( $P < 0.05$ ), the relative expression of ELFN1-AS1 in colon tissues was also significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The abnormal expression of lncRNA ELFN1-AS1 may be related to UCAC in mice, and BrMC can inhibit UCAC by down-regulating lncRNA ELFN1-AS1 expression.

**【Key words】** Ulcerative colitis associated colorectal cancer; Mice; 8-bromo-7-methoxychrysin; LncRNA ELFN1-AS1

溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC) 是一种始于直肠并向近端延伸以累及结肠其他区域的炎症性肠病。UC 临床症状取决于疾病的发生范围和严重程度, 主要包括出血性腹泻、直肠出血、里急后重、尿急和便秘[1], 其病理过程和机制十分复杂, 病情容易反复发作, 迁延难愈。溃疡性结肠炎相关结直肠癌变 (Ulcerative colitis associated colorectal cancer, UCAC) 是 UC 患者严重的并发症之一, 包括炎症-异型增生-浸润性腺癌这一癌变过程[2]。近年来, 随着 UC 发病率的不断升高, UCAC 也成为 UC 患者致死率增高的重要原因[3]。因此, 积极探寻 UCAC 的病理机制对于该疾病的临床预防及治疗意义重大。长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, LncRNA) 是长度超过 200 个核苷酸的非编码转录本亚型, 通过表观遗传学调控、转录及转录后调控等多种方式发挥功能。已知 LncRNA 参与调节包括结直肠癌在内各种肿瘤细胞的生物学过程, 包括增殖、侵袭、凋亡、分化

等, 某些 LncRNA 现已成为结直肠癌的预后标志物及治疗的有效靶点[4-5]。ELFN1-AS1 是一种新发现的 LncRNA, 位于人类染色体 7p22.3 上。先前研究证明, ELFN1-AS1 在结直肠癌患者血清中高表达, 其表达水平与患者肿瘤大小、区域淋巴结转移、远处转移以及临床分期相关[6], 并揭示了 ELFN1-AS1 通过靶向 miR-4270 上调蛋白极光激酶 B (aurora kinase B, AURKB) 促进结直肠癌肿瘤发生与发展[7]。然而, 关于 ELFN1-AS1 是否参与 UCAC 过程尚不清楚。白杨素是一种在蜂蜜和许多植物提取物中发现的活性天然生物类黄酮, 具有许多生物活性, 包括抗氧化作用、抗炎作用和抗癌作用[8]。8-溴-7-甲氧基白杨素 (8-bromo-7-methoxychrysin, BrMC) 是一种新型白杨素衍生物, 比先导化合物白杨素的抗癌活性更加有效, 其诱导的细胞周期停滞和凋亡可能是其抗癌作用的机制[9]。基于以上内容, 本研究通过观察 UCAC 小鼠模型中 ELFN1-AS1 的表达变化, 进一步探究 BrMC

对 UCAC 的作用情况及对 ELFN1-AS1 表达的调控作用,为临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 65 只 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠,8 周龄,体质量 20~22 g,购自河北省实验动物中心,生产许可证号:SCXK(冀)2021-002,小鼠饲养于 SPF 级屏障环境内,实验室通风良好,小鼠自由进食与饮水,定期更换垫料。适应性喂养 7 d 后进行实验研究。本研究获得我院伦理委员会批准(伦理号:20230306078)。

1.2 主要试剂 BrMC 根据文献<sup>[10]</sup>合成(纯度 $\geq 95\%$ ),氧化偶氮甲烷(Azoxymethane, AOM)购自美国 Sigma 公司,葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium salt, DSS)购自美国 MP 公司,UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 抽提试剂盒和 M-MLV 逆转录酶购自上海生工生物工程公司, TB Green<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> 荧光定量试剂盒购自日本 Takara 公司, Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司,苏木精-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染色液购自北京雷根生物有限公司,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 原位末端标记法(Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝生物公司,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染料购自北京康瑞纳生物公司, TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 IL-12 酶联免疫吸附实验(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒购自武汉博士德生物公司, ELFN1-AS1 阴性对照(NC)、含 ELFN1-AS1 的重组载体质粒交由吉玛基因(上海)公司设计构建。

## 1.3 方法

1.3.1 动物造模与处理 采用 AOM 联合 DSS 法<sup>[11]</sup>制备 UCAC 小鼠模型。将 15 只小鼠随机分为对照组、模型组、BrMC 组,每组 5 只,模型组和 BrMC 组单次腹腔注射 10 mg/kg AOM,7 d 后,以 2% DSS 水溶液作为饮用水,连续饮用 7 d,随后,模型组给予正常饮用水饮用 14 d, BrMC 组每天以 20 mg/kg BrMC 灌胃给药 1 次,连续 14 d,上述过程作为 1 个循环,共进行 3 个循环。对照组小鼠同期腹腔注射等量生理盐水,并保持正常饮用水饮用。实验结束后,麻醉处死小鼠,解剖取全段结肠组织,迅速置于液氮冷冻后保存于-80℃冰箱。

1.3.2 实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 ELFN1-AS1 表达水平 将冻存的结肠组织取出后剪碎,移入研钵内,并倒入液氮研磨至粉末状。采用 UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 抽提试剂盒对组织样

本的 RNA 进行提取,核酸定量仪测定浓度。通过 M-MLV 逆转录酶对 RNA 进行反转录合成 cDNA,保存于-20℃冰箱备用。根据实时荧光定量检测试剂盒说明书,在无酶洁净离心管内依次加入底物 cDNA 与各试剂,轻轻混匀,ABI 7900 定量测定系统进行扩增反应,程序设置为 95℃ 2 min、1 个循环,94℃ 20 s、60℃ 20 s、72℃ 30 s,40 个循环。扩增结束后,根据溶解曲线,以 GAPDH 作为定量结果分析的内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析各待测样本内 ELFN1-AS1 相对表达量,实验重复 3 次。使用引物如下:ELFN1-AS1,上游引物 5'-AATAACCCAAAGTCAAGCTGAC-3',下游引物 5'-TTGGAGCAGCCACTTAGAC-3'; GAPDH,上游引物 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAA AAT-3',下游引物 5'-GGCTGTTGTCATACTTCT CATGG-3'。

1.3.3 实验分组与处理 实验分为对照组、模型组、BrMC 组、BrMC+NC 组、BrMC+ELFN1-AS1 组,每组 10 只。除对照组外的其余 4 组小鼠均采用 AOM 联合 DSS 法制备 UCAC 模型,其中,BrMC 组、BrMC+NC 组及 BrMC+ELFN1-AS1 组均给予 20 mg/kg BrMC 灌胃给药,具体同“1.3.1”;此外,BrMC+NC 组与 BrMC+ELFN1-AS1 组在每个循环结束时,分别通过尾静脉注射尾静脉注射 ELFN1-AS1 NC、含 ELFN1-AS1 质粒的脂质体复合物,对照组、模型组及 BrMC 组均通过尾静脉注射等量的 Opti-MEM 培养基。脂质体复合物配制过程:采用 Opti-MEM 培养基将 10  $\mu$ L Lipofectamine 2000 脂质体转染试剂、5  $\mu$ g ELFN1-AS1 NC 或含 ELFN1-AS1 的重组载体质粒分别稀释至 30  $\mu$ L,静置后将脂质体转染试剂与重组载体质粒混匀,即得到质粒脂质体复合物。

1.3.4 小鼠体质量与疾病活动指数(Disease active index, DAI)测定 实验结束后,电子天平称量各组小鼠体质量,并观察粪便性状、隐血程度程度。参考文献<sup>[12]</sup>方法,根据小鼠体质量下降率、粪便性状及隐血程度进行 DAI 评分,DAI=(体重下降率计分+粪便性状计分+隐血程度计分)/3。

1.3.5 小鼠结肠病理学损伤及成瘤情况检查 将各组小鼠处死后,解剖取结肠组织,用预冷的生理盐水冲洗干净,沿纵轴切开,采用放大镜观察黏膜病理损伤程度,包括炎症、溃疡及肿瘤形成情况等,并计数每个结肠上形成的肿瘤数目。

1.3.6 HE 染色观察小鼠结肠组织病理学变化 分离各组小鼠全部结肠,4%多聚甲醛固定,蒸馏水冲洗干净,酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制备成厚度约为 4  $\mu$ m 的组织切片。将切片脱蜡水化,常规苏木

素染色、伊红染色,脱水透明后,封片,在光学显微镜下观察小鼠结肠组织病理学变化并拍照,并截取溃疡或肿瘤处病变肠段进行观察、拍照。

1.3.7 TUNEL 染色检测小鼠结肠组织细胞凋亡情况 取制备的各组小鼠结肠组织切片,脱蜡水化,蒸馏水冲洗干净。在切片上滴加蛋白酶 K 工作液,置于 37 °C 恒温箱内孵育 20 min, PBS 清洗,滴加 TUNEL 检测液后,放于湿盒内避光孵育 1 h, PBS 清洗,再将 DAPI 均匀滴加至组织切片上,室温避光染色 10 min。PBS 清洗多余染液,抗荧光淬灭剂封片,在荧光显微镜观察组织内染色情况并拍照。每张切片随机选取 6 个不重叠视野,计数 TUNEL 标记的死亡细胞数目与总细胞数目,以 TUNEL 标记细胞数目/总细胞数目作为 TUNEL 阳性比例(%)。

1.3.8 ELISA 检测小鼠结肠组织内炎性细胞因子水平 将各组小鼠结肠组织剪碎,加入无菌双蒸水,通过超声匀浆器制成匀浆,通过离心机 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,参照 ELISA 试剂盒说明书方法检测样本中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 IL-12 水平。

1.4 统计学分析 GraphPad Prism 8.30 软件进行数据分析并绘制统计图,符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析进行多组间数据比较,组内两两数据比较采用 LSD-*t* 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 溃疡性结肠炎相关结直肠癌变小鼠中 ELFN1-AS1 表达情况 经过 qRT-PCR 检测发现,模型组小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量较对照组显著上调( $P < 0.05$ ),而经 BrMC 处理的模型小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 相对表达量又较模型组显著下调( $P < 0.05$ ),见图 1。

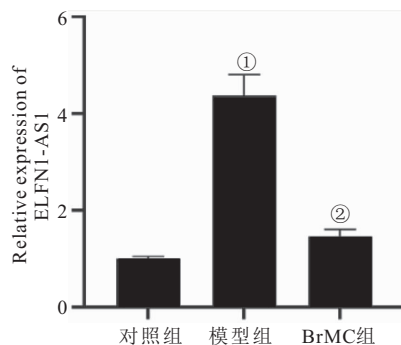


图 1 各组小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 表达水平测定结果

Figure 1 The expression level of ELFN1-AS1 in colon tissue of mice in each group was determined

注:与对照组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ 。

2.2 各组小鼠一般情况和 DAI 评分比较 实验过程

中未小鼠死亡。通过对各组小鼠生理状态观察发现,对照组小鼠毛色光泽,反应敏捷,活动自如,饮水、进食、排便均正常;模型组小鼠毛发粗糙、失去光泽,精神萎靡,反应迟钝,饮水、进食量减退,肉眼可见排便出现脓血便,体质量较对照组显著下降( $P < 0.05$ ),DAI 评分较对照组显著增高( $P < 0.05$ );与模型组比较,BrMC 组小鼠毛发、活动、精神状态、饮水、进食及排便等均得到明显改善,体质量显著升高( $P < 0.05$ ),DAI 评分显著降低( $P < 0.05$ );BrMC+ELFN1-AS1 组小鼠毛发、活动、精神状态、饮水、进食及排便等均未改善,且体质量较 BrMC 组显著下降( $P < 0.05$ ),DAI 评分均较 BrMC 组显著升高( $P < 0.05$ ),而 BrMC+NC 组与 BrMC 组小鼠毛发、活动、精神状态、饮水、进食及排便等改善程度较为一致,两组小鼠的体质量和 DAI 评分之间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 各组小鼠体质量与 DAI 评分检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Test results of body mass and DAI score of mice in each group

组别	n	体质量(g)	DAI 评分(分)
对照组	10	29.54±2.63	0.00±0.00
模型组	10	23.97±2.25 <sup>①</sup>	5.95±0.63 <sup>①</sup>
BrMC 组	10	27.08±2.71 <sup>②</sup>	1.60±0.15 <sup>②</sup>
BrMC+NC 组	10	26.97±2.58	1.52±0.13
BrMC+ELFN1-AS1 组	10	24.03±2.40 <sup>③</sup>	5.98±0.57 <sup>③</sup>

注:与对照组比较,① $P < 0.05$ ;与模型组比较,② $P < 0.05$ ;与 BrMC 组比较,③ $P < 0.05$ 。

2.3 各组小鼠结肠形态学改变比较 采集各组小鼠结肠后进行肉眼观察,对照组结肠黏膜光滑,未见充血、水肿、溃烂等病理改变,也未见肿瘤生成;模型组结肠黏膜苍白,周围有粘连,部分出现充血、溃烂等现象,同时有不规则状的隆起或瘤状肿块,模型组结肠肿瘤数目显著增加( $P < 0.05$ );与模型组比较,BrMC 组结肠黏膜充血、水肿及溃烂等现象得到明显改善,结肠肿瘤数目显著减少( $P < 0.05$ );与 BrMC 组比较,BrMC+ELFN1-AS1 组结肠黏膜欠光滑,充血、水肿及溃烂现象加重,结肠肿瘤数目也显著增加( $P < 0.05$ ),而 BrMC+NC 组结肠改善程度与 BrMC 组基本一致,结肠肿瘤数目比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2。

2.4 各组小鼠结肠组织病理学染色结果 对各组小鼠结肠组织病理切片进行观察,对照组结肠黏膜组织上皮结构完整,上皮细胞整齐、紧密排列;模型组结肠黏膜组织上皮细胞排列紊乱,大量炎症细胞浸润至黏膜固有层,出现明显的异型增生现象,上皮内瘤变;与模型组比较,BrMC 组结肠黏膜组织上皮细胞排列较为整齐,炎症细胞浸润程度明显减轻,部分出现低度

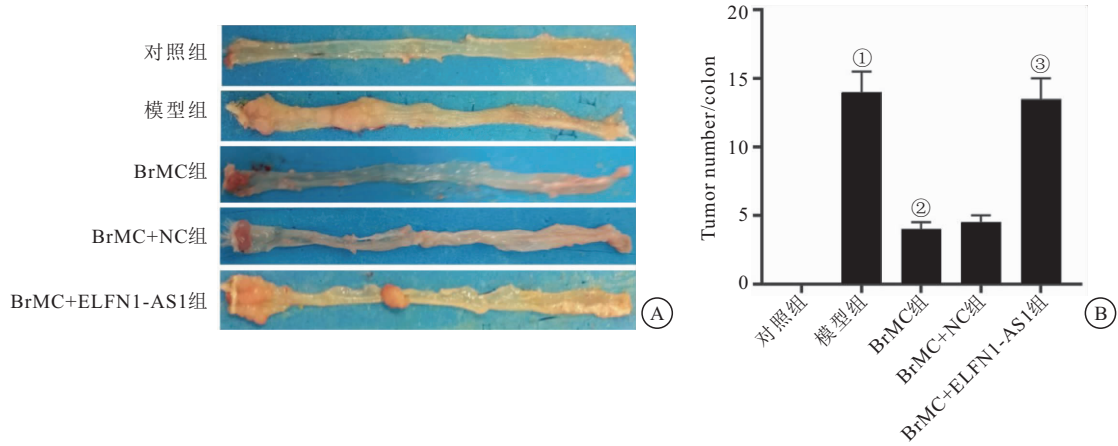


图 2 各组小鼠结肠形态学表现

Figure 2 Colonic morphology of mice in each group

注: A. 小鼠结肠组织; B. 结肠肿瘤数。与对照组比较, ① $P < 0.05$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$ ; 与 BrMC 组比较, ③ $P < 0.05$ 。

不典型增生及瘤变现象; 与 BrMC 组比较, BrMC + ELFN1-AS1 组结肠黏膜上皮结构破坏, 炎症细胞仍

浸润至黏膜固有层, 而 BrMC + NC 组结肠黏膜病变改善程度与 BrMC 组相似。见图 3。

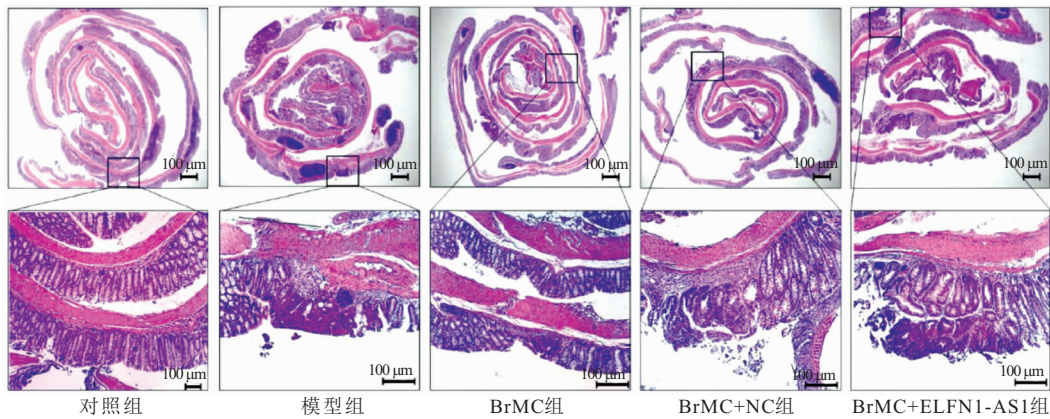


图 3 各组小鼠结肠组织病理学变化(HE 染色, 100×)

Figure 3 Changes of colon histopathology of mice in each group

2.5 各组小鼠结肠组织内细胞凋亡比较 各组小鼠结肠组织内细胞凋亡情况染色结果显示, 与对照组比较, 模型组结肠组织内 TUNEL 标记的凋亡细胞数目明显增多, TUNEL 阳性比例显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, BrMC 组结肠组织内 TUNEL 标记的凋亡细胞数目明显减少, TUNEL 阳性比例显著降低( $P < 0.05$ ); 与 BrMC 组比较, BrMC + ELFN1-AS1 组结肠组织内 TUNEL 标记的凋亡细胞数目又增多, TUNEL 阳性比例显著升高( $P < 0.05$ ), BrMC + NC 组与 BrMC 组的 TUNEL 阳性比例差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见图 4。

2.6 各组小鼠结肠组织炎性细胞因子水平比较 对各组小鼠结肠组织炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 IL-12 测定结果显示, 与对照组比较, 模型组结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平显著升高( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, BrMC 组结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-

1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平显著下降( $P < 0.05$ ); 与 BrMC 组比较, BrMC + ELFN1-AS1 组结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平显著升高( $P < 0.05$ ), BrMC + NC 组与 BrMC 组的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 水平比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

2.7 各组小鼠结肠组织中 ELFN1-AS1 表达水平比较 对各组小鼠结肠组织中 ELFN1-AS1 表达水平进行检测发现, 与对照组比较, 模型组结肠组织中 ELFN1-AS1 相对表达量显著上调( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, BrMC 组结肠组织中 ELFN1-AS1 相对表达量显著下调( $P < 0.05$ ); 与 BrMC 组比较, BrMC + ELFN1-AS1 组结肠组织中 ELFN1-AS1 相对表达量显著上调( $P < 0.05$ ), 同时, BrMC + NC 组与 BrMC 组的 ELFN1-AS1 相对表达量之间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见图 5。

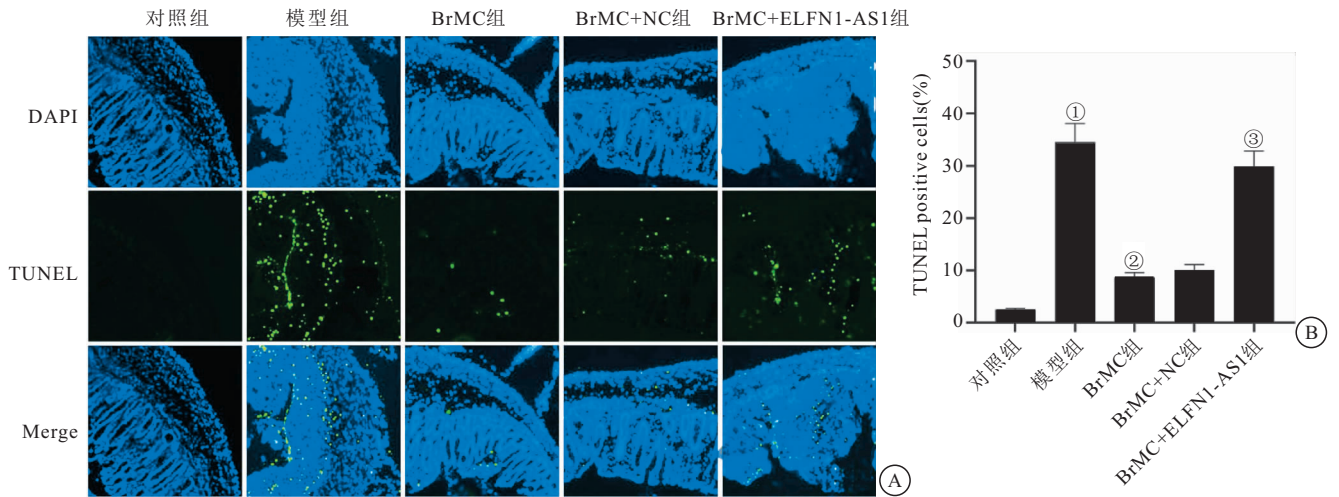


图 4 各组小鼠结肠组织内细胞凋亡情况

Figure 4 Cell apoptosis in colon tissue of mice in each group

注:A. 凋亡染色情况(100×);B. 凋亡细胞阳性比较。与对照组比较,① $P<0.05$ ;与模型组比较,② $P<0.05$ ;与 BrMC 组比较,③ $P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠结肠组织炎症细胞因子水平测定结果( $\bar{x}\pm s$ , pg/mL)

Table 2 Determination results of inflammatory cytokines in colon tissue of mice in each group

组别	n	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-12
对照组	10	14.49 $\pm$ 0.99	17.57 $\pm$ 1.82	21.47 $\pm$ 2.25	19.36 $\pm$ 2.02
模型组	10	68.38 $\pm$ 6.73 <sup>①</sup>	94.16 $\pm$ 9.7 <sup>①</sup>	154.20 $\pm$ 16.49 <sup>①</sup>	70.33 $\pm$ 6.99 <sup>①</sup>
BrMC组	10	14.66 $\pm$ 1.52 <sup>②</sup>	30.92 $\pm$ 3.07 <sup>②</sup>	28.19 $\pm$ 2.86 <sup>②</sup>	21.46 $\pm$ 2.34 <sup>②</sup>
BrMC+NC组	10	13.81 $\pm$ 1.28	31.14 $\pm$ 3.18	26.97 $\pm$ 2.73	20.96 $\pm$ 2.15
BrMC+ELFN1-AS1组	10	66.72 $\pm$ 6.84 <sup>③</sup>	96.02 $\pm$ 9.75 <sup>③</sup>	148.87 $\pm$ 15.09 <sup>③</sup>	72.05 $\pm$ 7.30 <sup>③</sup>

注:与对照组比较,① $P<0.05$ ;与模型组比较,② $P<0.05$ ;与 BrMC 组比较,③ $P<0.05$ 。

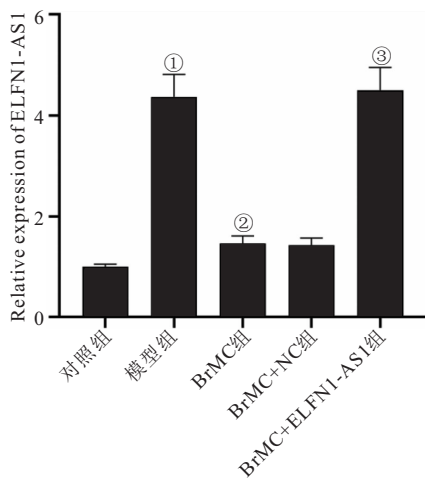


图 5 各组小鼠结肠组织中 ELFN1-AS1 表达水平

Figure 5 The expression level of ELFN1-AS1 in colon tissues of mice in each group

注:与对照组比较,① $P<0.05$ ;与模型组比较,② $P<0.05$ ;与 BrMC 组比较,③ $P<0.05$ 。

### 3 讨论

UC 的临床表现一般为持续复发和缓解的复杂病程,伴有复发性结肠黏膜溃疡和黏膜坏死再生等病理改变,这种反复损伤和修复的过程增加了 UC 患者的癌变风险。流行病学研究表明,UC 是诱发结直肠癌

的高危因素之一,可导致患结直肠癌的风险增加 10 倍<sup>[13]</sup>;且越来越多的研究表明,UC 和 UCAC 的发生发展密切相关<sup>[14-15]</sup>。目前,尚无结肠恶性肿瘤的特效根治药物,手术治疗影响因素多,且一旦延误手术时机或进行不规范的外科处理,会引起相关并发症甚至出现不良后果<sup>[16]</sup>。因此,需要探寻 UCAC 有效的诊断和治疗靶点进行早期临床风险评估和治疗。

LncRNA 已被列为肿瘤、代谢疾病和炎症性疾病等各种疾病的潜在治疗靶点。ELFN1-AS1 作为一种 LncRNA,于 2014 年首次被 Poley 等<sup>[17]</sup>报道,并表明其在肿瘤中普遍高表达但在正常组织中低表达。目前,已揭示 ELFN1-AS1 与一些肿瘤的发机制有关,例如,Ma 等<sup>[18]</sup>通过生物信息分析和体内外实验研究发现,ELFN1-AS1 在胰腺癌数据集中高度富集并在胰腺癌细胞系和组织中高表达,敲低其表达明显促进了胰腺癌细胞死亡,并抑制了上皮间质转化过程以及裸鼠移植瘤肿瘤组织生长;Yang 等<sup>[19]</sup>研究表明 ELFN1-AS1 在非小细胞肺癌组织和细胞中显著上调表达,与 TNM 分期、淋巴结转移状态和患者总生存期密切相关,并发现敲低 ELFN1-AS1 表达能够抑制非小细胞肺癌细胞上皮间质转化过程,该作用机制是 ELFN1-

AS1 通过海绵化 miR-497/细胞周期蛋白 E1 (cyclin E1, CCNE1) 轴实现的; Zhuang 等<sup>[20]</sup> 在胃癌组织及胃癌细胞系中观察到 ELFN1-AS1 表达增加, 敲低胃癌细胞中 ELFN1-AS1 表达能够降低细胞增殖、侵袭、迁移水平以及对凋亡抵抗力, 并表明 ELFN1-AS1 将 DNA 甲基转移酶募集到 ZBTB16 的启动子区域以诱导其转录抑制, 从而通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (Serine-threonine kinase, AKT) 信号通路进一步促进胃癌的发展。目前, 关于 ELFN1-AS1 对结直肠癌的作用已有报道, 提示靶向 ELFN1-AS1 可作为结直肠癌的前瞻性治疗策略<sup>[21]</sup>。但关于 ELFN1-AS1 在 UCAC 中的表达及作用尚未明确。本研究通过检测 UCAC 小鼠结肠组织内 ELFN1-AS1 表达, 结果显示 UCAC 小鼠结肠组织中的表达水平显著高于正常小鼠结肠组织中的表达水平, 由此推测, ELFN1-AS1 异常高表达可能也与 UCAC 有关。

在本研究中, 经过 BrMC 作用的 UCAC 小鼠结肠组织黏膜充血、水肿及溃烂等得到明显改善, 结肠肿瘤数目减少, 结肠黏膜组织上皮细胞损伤与炎性细胞浸润程度减小, 凋亡细胞数目减少, 同时, 结肠组织内炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及 IL-12 水平明显下降, 以上结果均说明 BrMC 对小鼠 UCAC 过程起到抑制作用。白杨素药理活性广泛, 但由于水溶性差、生物利用度低等因素限制, 使得其在临床上的应用度也较低。随着研究的不断深入, 研究者们通过人合成白杨素衍生物并将其应用到抗癌治疗研究中<sup>[22]</sup>。BrMC 作为一种新型白杨素衍生物, 目前已报道了其在一些肿瘤中的作用效果及详细机制, 例如, Cao 等<sup>[23]</sup> 研究发现 BrMC 对人表皮生长因子受体 2 (Human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)/neu 过表达的乳腺癌细胞生长起到抑制作用, 并以浓度依赖性方式抑制 HER-2/neu 表达和酪氨酸磷酸化; 李程等<sup>[24]</sup> 研究指出 BrMC 能够抑制人肝癌细胞系 SMMC-7721 球细胞 DNA 甲基转移酶 1 (DNA Methyltransferase 1, DNMT1) 活性, 降低肝癌球形成率, 并下调干细胞表面标志物 CD133 和 CD44 的表达。此外, 本研究结果还显示, 在 BrMC 作用下 UCAC 小鼠结肠组织中 ELFN1-AS1 表达水平降低, 该结果提示, BrMC 对小鼠 UCAC 的治疗作用可能与其抑制 ELFN1-AS1 表达水平有关。为了进一步验证这一猜测, 在 BrMC 治疗 UCAC 小鼠过程中给予含 ELFN1-AS1 质粒的脂质体复合物进行干预, 检测结果显示, 小鼠结肠组织受损情况又加重, 结肠肿瘤数目增加,

结肠黏膜组织上皮细胞损伤明显, 伴随大量炎性细胞浸润, 组织内凋亡细胞数目增加, 此外, 结肠组织内炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及 IL-12 水平又明显升高, ELFN1-AS1 表达水平也上调, 由此说明, BrMC 可能通过抑制 ELFN1-AS1 表达发挥改善小鼠 UCAC 的作用。

#### 4 结论

在小鼠 UCAC 模型中 ELFN1-AS1 表达水平上调, BrMC 能够通过抑制 ELFN1-AS1 表达水平减轻结肠组织损伤与炎性反应、减少结肠组织内细胞凋亡, 从而发挥抗 UCAC 的作用。

#### 【参考文献】

- [1] KRUGLIAK CLEVELAND N, TORRES J, RUBIN D T. What does disease progression look like in ulcerative colitis, and how might it be prevented? [J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(5):1396-1408.
- [2] YADAV A, JENA A, ARPITHA K, *et al.* Colon cancer in ulcerative colitis: a mimicker of a flare of disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2022, 28(8):e116-e117.
- [3] LI W, ZHAO T, WU D, *et al.* Colorectal cancer in ulcerative colitis: mechanisms, surveillance and chemoprevention [J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(9):6091-6114.
- [4] 邓巧玲, 柳家翠, 喻明霞, 等. 结直肠癌中 LncRNA 介导的内源性竞争性 RNA 调控网络 [J]. *西部医学*, 2020, 32(2):166-170.
- [5] AZIZDOOST S, GHAEDRAHMATI F, ANBIYAEE O, *et al.* Emerging roles for lncRNA-NEAT1 in colorectal cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):209.
- [6] 董利阳, 徐小卫, 郑婷婷, 等. 长链非编码 RNA ELFN1-AS1 在结肠癌患者血清中的表达及临床意义 [J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(2):143-145, 151.
- [7] PENG S, LUO Y, CHEN L, *et al.* lncRNA ELFN1-AS1 enhances the progression of colon cancer by targeting miR-4270 to upregulate AURKB [J]. *Open Med (Wars)*, 2022, 17(1):1999-2012.
- [8] SALARI N, FARAJI F, JAFARPOUR S, *et al.* Anti-cancer activity of chrysin in cancer therapy: a systematic review [J]. *Indian J Surg Oncol*, 2022, 13(4):681-690.
- [9] XIAO G, TANG X, YAO C, *et al.* Potentiation of arsenic trioxide-induced apoptosis by 8-bromo-7-methoxychrysin in human leukemia cells involves depletion of intracellular reduced glutathione [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2011, 43(9):712-721.
- [10] ZHENG X, MENG W D, XU Y Y, *et al.* Synthesis and anti-cancer effect of chrysin derivatives [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13(5):881-884.
- [11] 林艺娟, 陈金通, 黄循铷, 等. 前列腺素 D2 在小鼠溃疡性结肠炎癌变模型中的作用探讨 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2020, 29(9):992-997.

- [10] HEINISCH S, KIRBY L G. SDF-1 $\alpha$ /CXCL12 enhances GABA and glutamate synaptic activity at serotonin neurons in the rat dorsal raphe nucleus[J]. *Neuropharmacology*, 2010, 58(2):501-514.
- [11] 刘晓东, 秦治伟, 郭斌丹, 等. 基于网络药理学探讨栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠的作用机制[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(4):719-728.
- [12] 刘丽微. 酸枣仁汤联合栀子豉汤对焦虑性失眠的效果研究[J]. *中国实用医药*, 2018, 13(7):138-139.
- [13] 陶伟伟, 白子君, 岳启予, 等. 栀子豉汤对慢性应激诱导的抑郁模型小鼠脑组织神经炎症和突触可塑性的影响[J]. *中医杂志*, 2022, 63(11):1073-1079.
- [14] ZHANG Y, LUO Y S, ZHANG D Q, *et al.* Predicting a Potential Link to Antidepressant Effect: Neuroprotection of Zhi-zi-chi Decoction on Glutamate-induced Cytotoxicity in PC12 Cells[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11:625108.
- [15] FENG R Y, ZHU Q Y, LI Q C, *et al.* Microbiota-ear-brain interaction is associated with generalized anxiety disorder through activation of inflammatory cytokine responses[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1117726.
- [16] RYTOVA V, GANELLA DE, HAWKES D, *et al.* Chronic activation of the relaxin-3 receptor on GABA neurons in rat ventral hippocampus promotes anxiety and social avoidance[J]. *Hippocampus*, 2019, 29(10):905-920.
- [17] LIANG R, YONG S L, HUANG X, *et al.* Aquaporin-4 Mediates the Suppressive Effect of Lipopolysaccharide on Hippocampal Neurogenesis[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2016, 23(5-6):309-317.
- [18] LI M M, LI C L, YU H J, *et al.* Lentivirus-mediated interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety- and depression-like behaviors in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1):190.
- [19] DONG Y, LI S S, LU Y M, *et al.* Stress-induced NLRP3 inflammasome activation negatively regulates fear memory in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):205.
- [20] ROWE J, POPPENK J, SQUIRES S, *et al.* Anxious arousal predicts within-person changes in hippocampal volume in adults with a history of childhood maltreatment: A CAN-BIND4 report[J]. *J Psychopathol Clin Sci*, 2023, 132(7):797-807.
- [21] 刘宁, 纪鹏飞, 胡阳, 等. 中央杏仁核 GABA 神经元对小鼠情绪和摄食的调控研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(4):588-598.
- [22] TRAN L, KEELE N B. CaMKII $\alpha$  knockdown decreases anxiety in the open field and low serotonin-induced upregulation of GluA1 in the basolateral amygdala[J]. *Behav Brain Res*, 2016, 303:152-159.
- [23] LUO X, WANG X M, XIA Z Y, *et al.* CXCL12/CXCR4 axis: an emerging neuromodulator in pathological pain[J]. *Rev Neurosci*, 2016, 27(1):83-92.
- [24] SHI L J, BI Q, LI W, *et al.* CXCL12 impairs the acquisition and extinction of auditory fear conditioning in rats via crosstalk with GABAergic system[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2016, 148:21-27.

(收稿日期:2024-01-15; 修回日期:2025-03-06; 编辑:黎仕娟)

(上接第 496 页)

- [12] 杜明民, 郎晓猛, 崔建从, 等. 参黛清肠汤介导 PI3K/Akt-mTOR 通路抗溃疡性结肠炎相关癌变的作用研究[J]. *中医药导报*, 2022, 28(5):35-41.
- [13] SHAH S C, ITZKOWITZ S H. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: mechanisms and management[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(3):715-730. e3.
- [14] LIN V A, LOHSE R, MADSEN M T, *et al.* Long-term outcomes after colorectal surgery in patients with ulcerative colitis-associated colorectal cancer versus sporadic colorectal cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2022, 29(4):2505-2512.
- [15] SAHU P, BOPANNA S, KEDIA S, *et al.* Risk of colorectal cancer in Asian patients with ulcerative colitis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(8):1451.
- [16] 刘永芳, 杨柳青, 张洪川, 等. 直结肠恶性肿瘤切除术手术部位感染的发生率及影响因素[J]. *西部医学*, 2016, 28(9):1254-1256, 1260.
- [17] POLEV D E, KARNAUKHOVA I K, KRUKOVSKAYA L L, *et al.* ELFN1-AS1: a novel primate gene with possible microRNA function expressed predominantly in human tumors[J]. *Biomol Res Int*, 2014, 2014:398097.
- [18] MA G, LI G, GOU A, *et al.* Long non-coding RNA ELFN1-AS1 in the pathogenesis of pancreatic cancer[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(10):877.
- [19] YANG B, MIAO S. lncRNA ELFN1-AS1 predicts poor prognosis and promotes tumor progression of non-small cell lung cancer by sponging miR-497 [J]. *Cancer Biomark*, 2022, 34(4):637-646.
- [20] ZHUANG S H, MENG C C, FU J J, *et al.* Long non-coding RNA ELFN1-AS1-mediated ZBTB16 inhibition augments the progression of gastric cancer by activating the PI3K/AKT axis[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2022, 38(7):621-632.
- [21] LI Y, GAN Y, LIU J, *et al.* Downregulation of MEI1 mediated by ELFN1-AS1/EZH2/DNMT3a axis promotes tumorigenesis and oxaliplatin resistance in colorectal cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):87.
- [22] 李鑫萍, 于漾璇, 况婷瑞, 等. 黄酮类衍生物抗肿瘤作用研究进展[J]. *药学报*, 2021, 56(4):913-923.
- [23] CAO X Z, XIANG H L, QUAN M F, *et al.* Inhibition of cell growth by BrMC through inactivation of Akt in HER-2/neu-overexpressing breast cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(5):1632-1638.
- [24] 李程, 陈阿, 许畅, 等. 白杨素及其类似物 BrMC 对 SMMC-7721 细胞系球细胞 DNMT1 活性和球形成的影响[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2020, 17(6):1-3.

(收稿日期:2023-12-29; 修回日期:2024-07-30; 编辑:黎仕娟)