

基于 FOXA1/CLDN4 通路探讨瑞芬太尼 对子宫内膜癌细胞增殖及迁移的影响*

杨芳 赵炬仙 殷裕雄

(中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院麻醉科, 甘肃 兰州 730000)

【摘要】 目的 基于叉头盒蛋白 A1(FOXA1)/紧密连接蛋白 4(CLDN4)通路探讨瑞芬太尼(RF)对子宫内膜癌(EC)细胞增殖及迁移的影响。方法 体外培养人 EC 细胞 Ishikawa, 并分为 Control 组、L-RF 组(5 ng/mL RF)、H-RF 组(500 ng/mL RF)、H-RF+pcDNA-NC 组(500 ng/mL RF+转染 pcDNA-NC)、H-RF+pcDNA-FOXA1 组(500 ng/mL RF+转染 pcDNA-FOXA1)。qRT-PCR 检测各组细胞中 FOXA1、CLDN4 mRNA 相对表达水平;CCK8 和克隆形成检测细胞增殖;划痕实验检测细胞迁移;Transwell 实验检测细胞侵袭;流式细胞仪检测细胞凋亡;Western blot 检测细胞中增殖细胞核抗原(PCNA)、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、FOXA1/CLDN4 信号通路相关蛋白(FOXA1、CLDN4)表达。采用单因素方差分析进行多组数据比较,并通过 SNK-q 法进一步两两比较。结果 与 Control 组相比,L-RF 组、H-RF 组细胞的存活率、克隆数、划痕愈合率、侵袭数、PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 表达水平降低,细胞凋亡率水平升高(均 $P < 0.05$);与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比,H-RF+pcDNA-FOXA1 组细胞的存活率、克隆数、划痕愈合率、侵袭数、PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 表达水平升高,细胞凋亡率水平降低(均 $P < 0.05$)。结论 RF 可能是通过调节 FOXA1/CLDN4 通路,抑制 EC 细胞增殖、迁移、侵袭。

【关键词】 子宫内膜癌;瑞芬太尼;叉头盒蛋白 A1/紧密连接蛋白 4 通路;增殖;迁移;侵袭

【中图分类号】 R737.33 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2026.02.005

The effects of remifentanil on the proliferation and migration of endometrial cancer cells based on the FOXA1/CLDN4 pathway

YANG Fang, ZHAO Juxian, YIN Yuxiong

(Department of Anesthesiology, 940 Hospital of Joint Support Force of Chinese People's
Liberation Army, Lanzhou 730000, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of remifentanil (RF) on the proliferation and migration of endometrial cancer (EC) cells based on the forkhead box protein A1 (FOXA1)/Claudin 4 (CLDN4) pathway. **Methods** Human EC cells Ishikawa were cultured in vitro and separated into Control group, L-RF group (5 ng/mL RF), H-RF group (500 ng/mL RF), H-RF+pcDNA-NC group (500 ng/mL RF+transfected with pcDNA-NC), and H-RF+pcDNA-FOXA1 group (500 ng/mL RF+transfected with pcDNA-FOXA1). QRT-PCR was applied to detect the relative expression levels of FOXA1 and CLDN4 mRNA of cells in each group. CCK8 and clone formation were applied to detect the proliferation of cells in each group. Scratch experiment was applied to detect the migration of cells in each group. Transwell experiment was applied to detect the invasion of cells of various groups. Flow cytometry was applied to detect apoptosis of cells in various groups. Western blot was applied to detect the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, and FOXA1/CLDN4 signaling pathway related proteins (FOXA1, CLDN4) of cells in each group. **Results** Compared with the Control group, the survival rate, clone number, scratch healing rate, invasion number, the expression levels of PCNA, MMP-2, MMP-9, FOXA1, and CLDN4 in the L-RF group and H-RF

基金项目:甘肃省卫生健康行业科研项目(GSWSKY2025-63);中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院研究生导师专项项目(2022yxky018)

通信作者:殷裕雄,副主任医师,E-mail:13919914996@139.com

引用本文:杨芳,赵炬仙,殷裕雄.基于 FOXA1/CLDN4 通路探讨瑞芬太尼对子宫内膜癌细胞增殖及迁移的影响[J].西部医学,2026,38(2):

187-192,200. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2026.02.005

group were lower, while the apoptosis rate was higher($P < 0.05$). Compared with the H-RF group or H-RF+pcDNA-NC group, the survival rate, clone number, scratch healing rate, invasion number, the expression levels of PCNA, MMP-2, MMP-9, FOXA1, and CLDN4 were higher in the H-RF+pcDNA-FOXA1 group, while the apoptosis rate was lower ($P < 0.05$). **Conclusion** RF may inhibit proliferation, migration, and invasion of EC cells by regulating the FOXA1/CLDN4 pathway.

【Key words】 Endometrial cancer; Remifentanyl; Forkhead box protein A1/Claudin 4 pathway; Proliferation; Migration; Invasion

子宫内膜癌(Endometrial cancer, EC)是妇科最常见的癌症,其全球发病率正在上升,虽然人口老龄化和良性子宫切除术降低了这一趋势,但肥胖人数的增加已成为主要的潜在原因^[1]。早期 EC 通过子宫切除术可治愈,然而晚期疾病的患者预后较差。目前,微创前哨淋巴结活检为手术提供了低创伤的替代方案,且不影响肿瘤学结果;辅助放疗可降低中高风险病例的局部复发率^[2-3]。但对 EC 分子生物学的深入理解可为靶向化疗策略提供依据,为临床试验提供新的方案。瑞芬太尼(Remifentanyl, RF)是一种在临床上广泛使用的阿片类镇痛药。近期研究^[4-5]表明,阿片类药物可抑制肿瘤生长。其中,RF 被证实能通过调控 miR-212-3p/LIN28B 表达来抑制 EC 细胞 Ishikawa 的增殖、迁移和侵袭^[6]。然而,RF 影响 EC 的具体作用途径尚不完全清楚。叉头盒蛋白 A1(Forkhead box protein A1, FOXA1)作为“先锋因子”,在调控与细胞周期和代谢相关的多种基因中起关键作用,对细胞生长和侵袭有重要影响^[7]。已有研究^[8]指出,FOXA1 在 EC 组织中高表达,并与肿瘤高分级、肌层及淋巴结侵犯相关。同样,紧密连接蛋白 4(Claudin 4, CLDN4)是上皮紧密连接中的关键结构蛋白,在上皮发育、极性维持和物质运输中发挥着重要作用,且其在 EC 中表达上调,与 EC 的发生、发展密切相关^[9-10]。此外,FOXA1 过表达上调 CLDN4 的表达,而抑制 FOXA1/CLDN4 通路可抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭^[11]。基于此,本研究旨在探究 RF 是否可通过调节 FOXA1/CLDN4 通路对人 EC 细胞 Ishikawa 的增殖、迁移、侵袭产生影响,为 EC 的治疗提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 Ishikawa 细胞购自中国医学科学院基础医学研究所;RPMI-1640 培养基(货号:R8758)购自美国 Sigma Aldrich 公司;RF(CAS:132875-61-7)购自江苏恩华药业股份有限公司;RNA 抽提试剂盒(货号:R0017M)、cDNA 合成试剂盒(货号:D7168M)购自上海碧云天生物技术有限公司;SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(货号:CW0022S)购自江苏康为世纪公司;抗体增殖细胞核抗原(Prolifer-

ating cell nuclear antigen, PCNA)(货号:A5324)、FOXA1(货号:A5457)、GAPDH(货号:A5028)购自美国 Selleck 公司;基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMP)-2(货号:10373-2-AP)、MMP-9(货号:10375-2-AP)、CLDN4(货号:16195-1-AP)购自美国 Proteintech 公司;二抗山羊抗兔(货号:ab205718)或山羊抗鼠(货号:ab205719)购自英国 Abcam 公司;Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(货号:556547)购自美国 BD Biosciences 公司;倒置实验室显微镜(型号:DM IL LED)购自德国 Leica 公司;全自动凝胶成像系统(型号:K 8260)购自北京科创锐新生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 RF 浓度的筛选 在培养箱中使用含 10%胎牛血清和 1%青/链霉素的 RPMI-1640 完全培养基培养 Ishikawa 细胞,加入终浓度为(0、5、50、500、1 000 ng/mL)的 RF 处理 Ishikawa 细胞 24 h,采用 CCK8 检测细胞存活率。加入 CCK8 溶液(10 μ L/孔),培养箱孵育 2 h,置于多功能酶标仪 450 nm 处测量每孔的吸光值(OD₄₅₀),计算 Ishikawa 细胞存活率。

1.2.2 细胞分组 将 Ishikawa 细胞随机分为 Control 组、L-RF 组、H-RF 组、H-RF+pcDNA-NC 组、H-RF+pcDNA-FOXA1 组。其中 Control 组不做任何处理,L-RF 组、H-RF 组的细胞分别使用含 5、500 ng/mL RF 的完全培养基培养^[6],H-RF+pcDNA-NC 组转染 pcDNA-NC 后使用含 500 ng/mL RF 的完全培养基培养,H-RF+pcDNA-FOXA1 组转染 pcDNA-FOXA1 后使用含 500 ng/mL RF 的完全培养基培养。

1.2.3 qRT-PCR 检测 Ishikawa 细胞中 FOXA1、CLDN4 的表达 使用 RNA 抽提试剂盒提取细胞总 RNA,并采用 cDNA 合成试剂盒进行 cDNA 合成,再以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。最后使用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}方法,以 GAPDH 为内参,计算 FOXA1、CLDN4 表达水平。引物序列,见表 1。

1.2.4 CCK8 和克隆形成实验检测 Ishikawa 细胞的增殖 CCK8:将 Ishikawa 细胞以 2 000 cells/孔接种在 96 孔板中,按 1.2.2 中细胞分组进行处理。24 h 后再依据 1.2.1 中 CCK8 步骤,测量每孔吸光值

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 qRT-PCR primer sequence

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
FOXA1	GCAATACTCGCCTTA CGGCT	TACACACCTTGGTAGT ACGCC
CLDN4	CTGTGCCTTGCTCACC GAAAC	CCCTCTAAACCCGTCC ATCCA
GAPDH	GATGCAGAAGGAGAT CACTG	GGGTGTAACGCAACTA AGTT

(OD₄₅₀), 计算 Ishikawa 细胞存活率。克隆形成实验: 将 Ishikawa 细胞以 500 cells/孔接种在 6 孔板中, 形成肉眼可见克隆后, 甲醛固定并结晶紫染色, 拍照、统计 Ishikawa 细胞克隆数。

1.2.5 划痕实验检测 Ishikawa 细胞迁移 将 Ishikawa 细胞以 2×10^4 cells/孔接种在 6 孔板中, 细胞融合约 80%~90%, 无菌移液枪头划伤细胞, 继续培养 24 h, 对 0、24 h 创面拍照, 统计 Ishikawa 细胞划痕愈合率。

1.2.6 Transwell 实验检测 Ishikawa 细胞的侵袭 将 Transwell 上室均匀添加等比例混合的基质胶与无血清的 RPMI-1640 培养基, 晾干后加入对数生长期的 Ishikawa 细胞悬液, 同时在下室中加入含血清的 RPMI-1640 完全培养基, 继续培养 24 h, 固定液固定, 结晶紫染色, 并计算 Ishikawa 细胞侵袭数。

1.2.7 流式细胞仪检测 HeLa 细胞的凋亡 将 Ishikawa 细胞以 2×10^4 cells/孔接种在 6 孔板中。采用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒, 在流式细胞仪中检测 Ishikawa 细胞的凋亡率。

1.2.8 Western blot 检测 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 蛋白的表达 从 Ishikawa 细胞裂解液中分离蛋白, 并用 BCA 法定量总蛋白含量。蛋白样品经 SDS-PAGE 分离后转移到 PVDF 膜上。室温阻断 1 h 后, 在 4 °C 条件下, 使用一抗 PCNA(1:1 000)、MMP-2(1:1 000)、MMP-9(1:1 000)、FOXA1(1:1 000)、CLDN4(1:1 000)、GAPDH(1:1 000) 孵育过夜。随后与二抗山羊抗鼠或山羊抗兔孵育 2 h。通过凝胶成像系统检测条带, 计算蛋白相对表达水平。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析, 结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用单因素方差分析进行多组比较, 并进行 SNK-*q* 检验进一步两两比较。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RF 浓度筛选 RF 呈浓度依赖性抑制 Ishikawa 细胞的生长(P<0.05)(见表 2)。根据结果计算 IC₅₀ = 504.53 ng/mL。因此, 选取 5、500 ng/mL 为后续实验 L-RF、H-RF 组使用浓度。

表 2 不同浓度 RF 对 Ishikawa 细胞存活率的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of different concentrations of RF on the viability of Ishikawa cells

RF 浓度(ng/mL)	存活率(%)
0	100.00±0.00
5	88.42±7.86 ^①
50	69.05±7.00 ^①
500	51.99±4.20 ^①
1 000	34.76±3.48 ^①

注: 与 0 ng/mL 比较, ①P<0.05。

2.2 RF 对 Ishikawa 细胞中 FOXA1、CLDN4 mRNA 表达的影响 与 Control 组相比, L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞中 FOXA1、CLDN4 相对表达水平降低(P<0.05); 与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比, H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞中 FOXA1、CLDN4 相对表达水平升高(P<0.05)。见表 3。

表 3 RF 对 Ishikawa 细胞中 FOXA1、CLDN4 mRNA 表达的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of RF on FOXA1 and CLDN4 mRNA expression in Ishikawa cells

组别	FOXA1	CLDN4
Control 组	1.00±0.10	1.01±0.11
L-RF 组	0.78±0.07 ^①	0.80±0.08 ^①
H-RF 组	0.50±0.06 ^{②③}	0.47±0.05 ^{②③}
H-RF+pcDNA-NC 组	0.49±0.05	0.48±0.04
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	0.88±0.09 ^④	0.92±0.09 ^④

注: 与 Control 组比较, ①P<0.05; 与 L-RF 组比较, ②P<0.05; 与 H-RF 组比较, ③P<0.05; 与 H-RF+pcDNA-NC 组比较, ④P<0.05。

2.3 RF 对 Ishikawa 细胞增殖的影响 与 Control 组相比, L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞的存活率、克隆数降低(P<0.05); 与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比, H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞的存活率、克隆数升高(P<0.05)。见表 4、图 1。

表 4 RF 对 Ishikawa 细胞增殖的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of RF on Ishikawa cell proliferation

组别	存活率(%)	克隆数(个)
Control 组	100.00±0.00	130.57±9.98
L-RF 组	86.36±8.64 ^①	109.88±9.13 ^①
H-RF 组	51.13±4.11 ^{②③}	63.75±5.38 ^{②③}
H-RF+pcDNA-NC 组	52.34±4.35	65.11±5.55
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	90.26±8.03 ^④	119.63±8.96 ^④

注: 与 Control 组比较, ①P<0.05; 与 L-RF 组比较, ②P<0.05; 与 H-RF 组比较, ③P<0.05; 与 H-RF+pcDNA-NC 组比较, ④P<0.05。

2.4 RF 对 Ishikawa 细胞迁移的影响 与 Control 组相比, L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞的划痕愈合率降低(P<0.05); 与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比, H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞的

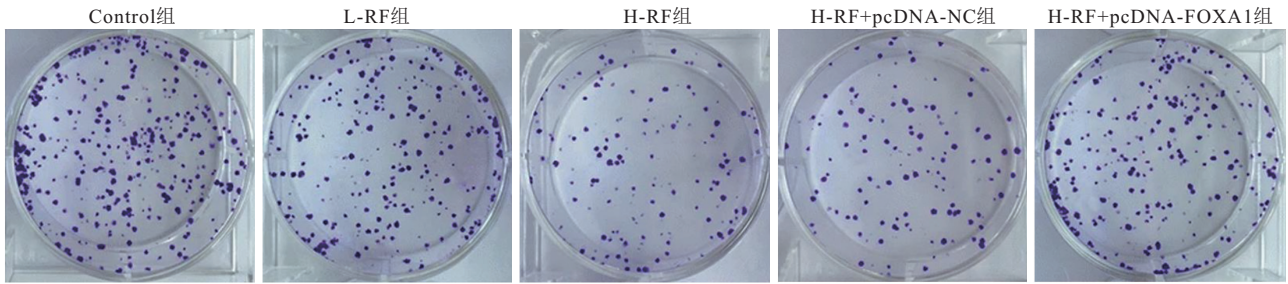


图 1 克隆形成实验检测 Ishikawa 细胞的增殖(10×)

Figure 1 Colony formation assay to detect Ishikawa cell proliferation

划痕愈合率升高($P < 0.05$)。见表 5、图 2。

2.5 RF 对 Ishikawa 细胞侵袭的影响 与 Control 组相比,L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞的侵袭数降

低($P < 0.05$);与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比,H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞的侵袭数升高($P < 0.05$)。见表 6、图 3。

表 5 RF 对 Ishikawa 细胞迁移的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of RF on Ishikawa cell migration

组别	划痕愈合率(%)
Control 组	77.59±8.01
L-RF 组	60.68±6.07 ^①
H-RF 组	37.97±3.80 ^{②③}
H-RF+pcDNA-NC 组	35.56±3.57
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	67.44±5.74 ^{③④}

注:与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 L-RF 组比较,② $P < 0.05$;与 H-RF 组比较,③ $P < 0.05$;与 H-RF+pcDNA-NC 组比较,④ $P < 0.05$ 。

表 6 RF 对 Ishikawa 侵袭的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of RF on Ishikawa invasion

组别	侵袭数(个)
Control 组	109.45±8.95
L-RF 组	90.32±7.35 ^①
H-RF 组	54.78±5.48 ^{②③}
H-RF+pcDNA-NC 组	56.69±5.65
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	100.11±9.01 ^{③④}

注:与 Control 组比较,① $P < 0.05$;与 L-RF 组比较,② $P < 0.05$;与 H-RF 组比较,③ $P < 0.05$;与 H-RF+pcDNA-NC 组比较,④ $P < 0.05$ 。

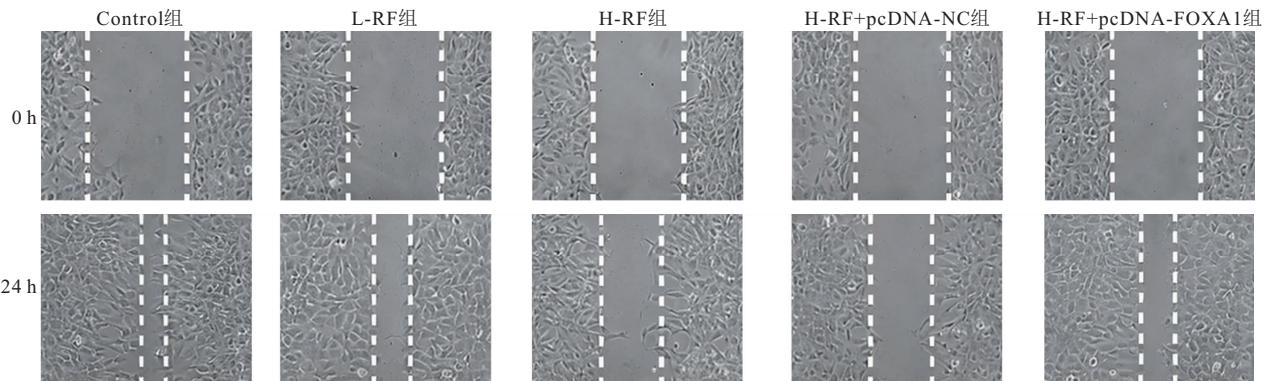


图 2 划痕实验检测 Ishikawa 细胞的迁移(200×)

Figure 2 Scratch assay to detect Ishikawa cell migration

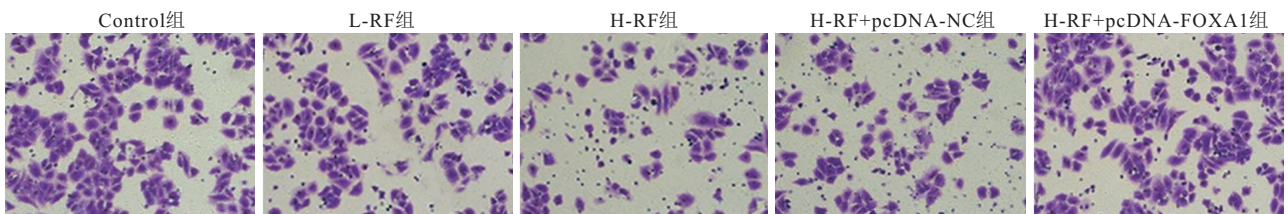


图 3 Transwell 实验检测 Ishikawa 细胞的侵袭(200×)

Figure 3 Transwell assay to detect Ishikawa cell invasion

2.6 RF 对 Ishikawa 细胞凋亡的影响 与 Control 组相比,L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞的凋亡率升高($P < 0.05$);与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相

比,H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞的凋亡率降低($P < 0.05$)。见表 7、图 4。

表 7 RF 对 Ishikawa 细胞凋亡的影响 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

Table 7 Effect of RF on apoptosis of Ishikawa cells

组别	凋亡率 (%)
Control 组	2.16 ± 0.22
L-RF 组	19.53 ± 1.95 ^①
H-RF 组	41.09 ± 4.11 ^{①②}
H-RF+pcDNA-NC 组	43.12 ± 4.31
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	11.34 ± 1.14 ^{③④}

注:与 Control 组比较,①P<0.05;与 L-RF 组比较,②P<0.05;与 H-RF 组比较,③P<0.05;与 H-RF+pcDNA-NC 组比较,④P<0.05。

2.7 RF 对 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 蛋白表达的影响 与 Control 组相比,L-RF 组、H-RF 组 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 表达水平降低 (P<0.05);与 H-RF 组或 H-RF+pcDNA-NC 组相比,H-RF+pcDNA-FOXA1 组 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 表达水平升高 (P<0.05)。见表 8、图 5。

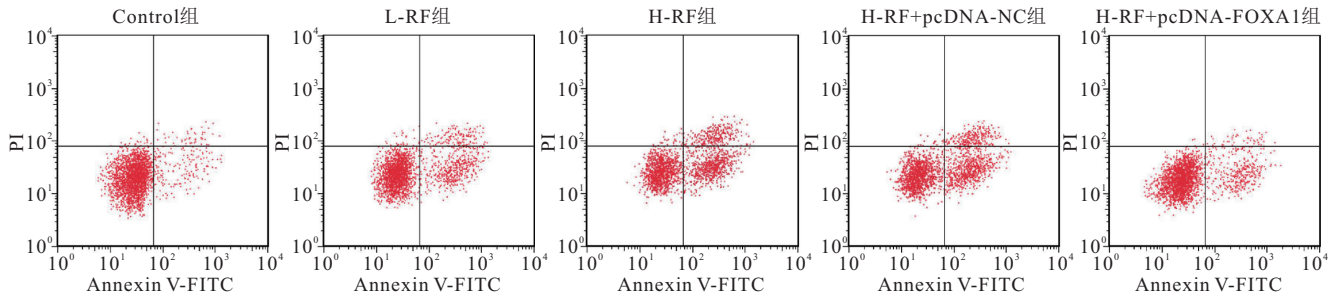


图 4 流式细胞仪检测 Ishikawa 细胞的凋亡

Figure 4 Flow cytometry to detect Ishikawa cell apoptosis

表 8 RF 对 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 蛋白表达的影响 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

Table 8 Effect of RF on the expression of PCNA, MMP-2, MMP-9, FOXA1 and CLDN4 proteins in Ishikawa cells

组别	PCNA	MMP-2	MMP-9	FOXA1	CLDN4
Control 组	1.00 ± 0.10	1.83 ± 0.18	1.51 ± 0.15	2.03 ± 0.20	1.76 ± 0.18
L-RF 组	0.87 ± 0.09 ^①	1.45 ± 0.15 ^①	1.32 ± 0.13 ^①	1.59 ± 0.16 ^①	1.41 ± 0.14 ^①
H-RF 组	0.49 ± 0.05 ^{①②}	0.91 ± 0.09 ^{①②}	0.75 ± 0.08 ^{①②}	1.04 ± 0.10 ^{①②}	0.84 ± 0.08 ^{①②}
H-RF+pcDNA-NC 组	0.51 ± 0.05	0.90 ± 0.09	0.77 ± 0.08	1.01 ± 0.10	0.83 ± 0.08
H-RF+pcDNA-FOXA1 组	0.94 ± 0.09 ^{③④}	1.65 ± 0.17 ^{③④}	1.42 ± 0.14 ^{③④}	1.80 ± 0.18 ^{③④}	1.59 ± 0.16 ^{③④}

注:与 Control 组比较,①P<0.05;与 L-RF 组比较,②P<0.05;与 H-RF 组比较,③P<0.05;与 H-RF+pcDNA-NC 组比较,④P<0.05。

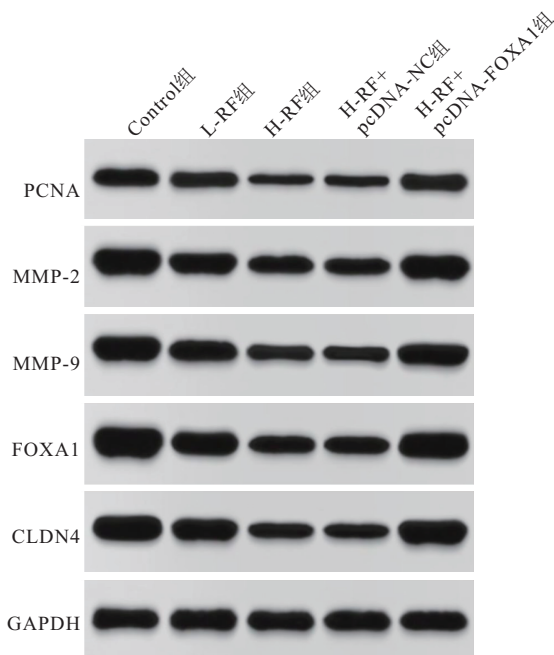


图 5 Western blot 检测 Ishikawa 细胞中 PCNA、MMP-2、MMP-9、FOXA1、CLDN4 蛋白表达

Figure 5 Western blot to detect the expressions of PCNA, MMP-2, MMP-9, FOXA1 and CLDN4 protein in Ishikawa cells

3 讨论

EC 是一种侵袭子宫内膜的上皮性恶性肿瘤,主要发生在围绝经期和绝经后女性群体中^[12]。其发病机制错综复杂,涉及年龄、体质指数、雌激素暴露、代谢综合征、遗传易感性等多种因素^[13]。尽管 EC 的治疗仍面临诸多挑战,但深入探究其遗传多样性和致病因素对于探索新颖治疗策略、提升此类复杂恶性肿瘤的治疗具有重大意义。

RF 是一种快速有效的短期阿片类镇痛药,常用于清醒插管的镇静和镇痛^[14]。然而,近年来的研究表明 RF 还具有抗肿瘤特性,这为癌症治疗带来了新的希望。Liang 等^[15] 研究指出,RF 可通过 lncRNA NBR2/miR-650/TIMP3 轴抑制肝癌细胞的增殖,迁移和侵袭。文竹等^[16] 进一步证明,RF 通过降低 lncRNA 00462 表达,增加 miR-2355-5p 表达,抑制肾癌细胞增殖,迁移和侵袭。此外,任帅帅等^[17] 表明,RF 可能通过抑制丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶信号通路的活化,抑制前列腺癌 PC-3 细胞增殖,迁移及侵袭。本研究进一步探索了 RF 在 EC 治疗中

的潜在作用,结果显示,RF 可显著降低 EC 细胞 Ishikawa 细胞的存活率、划痕愈合率、侵袭数及 PCNA、MMP-2、MMP-9 蛋白表达,进而抑制细胞的增殖、迁移、侵袭能力,促进细胞凋亡的发生。这提示 RF 作为一种具有多重作用机制的药物,不仅在镇痛领域有着广泛的应用,而且在抗肿瘤治疗中也展现出了巨大的潜力,可能成为一种新的有效治疗手段,为 EC 患者带来更好的治疗效果和生活质量。

FOXA1 是 FOX 转录因子家族的重要一员,也称为肝细胞核因子 3- α ,其最初是在肝脏中发现的,并调控转甲状腺素蛋白和 α 1-抗胰蛋白酶的表达^[18]。有研究^[19-20]发现,FOXA1 与 NK2 同源盒 1 协作,在肺癌中作为癌基因发挥作用,还与乳腺癌的转移有关。越来越多的研究报道,FOXA1 的表达与多种人类癌症有关。CLDN4 是上皮细胞紧密连接的关键成分,在多种上皮恶性肿瘤中高表达,并与肿瘤进展相关^[21]。在骨肉瘤中,上调 FOXA1 表达会增强癌细胞的致癌作用^[22]。而 CLDN4 在膀胱尿路上皮癌中的高表达进一步促进了肿瘤的恶性表型进展^[23]。在 EC 中,FOXA1 和 CLDN4 的异常表达同样引起了关注。FOXA1 高表达与 EC 高分级、肌层及淋巴结侵犯等恶性特征相关,而 CLDN4 上调则促进 EC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[8,10]。在本研究的结果中,RF 可降低 FOXA1、CLDN4 mRNA 及蛋白的表达,抑制 Ishikawa 细胞的增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡;但过表达 FOXA1 可部分逆转 RF 对 Ishikawa 细胞的抑制作用。与 Peng 等^[11]报道相似,FOXA1 可增强 CLDN4 的转录,抑制 FOXA1/CLDN4 轴可抑制 PI3K/AKT 的活化,最终阻止胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。研究揭示,RF 可通过调节 FOXA1/CLDN4 通路,抑制 Ishikawa 细胞增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡。

4 结论

RF 可能是通过调节 FOXA1/CLDN4 通路,抑制 Ishikawa 细胞的增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡,为 EC 治疗提供新策略。然而本研究仅在细胞实验上得到了初步验证,关于 FOXA1/CLDN4 调节的具体途径仍需深入研究。此外,RF 在人体内能否有效抑制 EC 的发生和发展,还需要进行体内或临床试验进一步验证。

【参考文献】

[1] CROSBIE E J, KITSON S J, MCALPINE J N, *et al.* Endometrial cancer[J]. *Lancet*, 2022, 399(10333):1412-1428.
[2] CHIU W K, KWOK S T, WANG Y K, *et al.* Applications and safety of sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(21): 6462.

[3] VAN DEN HEERIK A S V M, HOREWEG N, DE BOER S M, *et al.* Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2021, 31(4): 594-604.
[4] LI M M, GU K, KONG Q L, *et al.* Sufentanil inhibits the metastasis and immune response of breast cancer *via* mediating the NF- κ B pathway[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2023, 45(6): 663-671.
[5] WANG Q C, LIU Z F, TANG S H, *et al.* Morphine suppresses the immune function of lung cancer by up-regulating MAEL expression[J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2022, 23(1): 92.
[6] 唐婧英,李选发,邓小华,等. 瑞芬太尼通过调控 miR-212-3p/LIN28B 表达影响子宫内膜癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(23): 5370-5375.
[7] LIU N, WANG A R, XUE M G, *et al.* FOXA1 and FOXA2: the regulatory mechanisms and therapeutic implications in cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 172.
[8] YILDIRIM H T, NERGIZ D, SADULLAHOĞLU C, *et al.* FOXA1 is associated with high tumor grade, myometrial invasion and lymph node invasion in endometrial endometrioid carcinoma[J]. *Ginekol Pol*, 2021, 92(8): 544-549.
[9] HU P, LEI L, WANG Y, *et al.* CLDN4 as a novel diagnostic and prognostic biomarker and its association with immune infiltrates in ovarian cancer [J]. *Mediators Inflamm*, 2023, 2023: 1075265.
[10] WANG P L, LIU T, ZHAO Z D, *et al.* SPTBN2 regulated by miR-424-5p promotes endometrial cancer progression *via* CLDN4/PI3K/AKT axis [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 382.
[11] PENG W, CHEN L, LIU J. Celastrol inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion *via* the FOXA1/CLDN4 axis[J]. *Toxicol Res(Camb)*, 2023, 12(3): 392-399.
[12] 闫亚楠,龚咪,张磊. SKA1 通过 PI3K/AKT 通路调控子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭 [J]. *西部医学*, 2025, 37(9): 1274-1279.
[13] MAKKER V, MACKAY H, RAY-COQUARD I, *et al.* Endometrial cancer[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 88.
[14] CABRINI L, REDAELLI M B, BALL L, *et al.* Awake fiberoptic intubation protocols in the operating room for anticipated difficult airway: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Anesth Analg*, 2019, 128(5): 971-980.
[15] LIANG W, KE J Y. Remifentanil reduces the proliferation, migration and invasion of HCC cells *via* lncRNA NBR2/miR-650/TIMP3 axis[J]. *Int J Exp Pathol*, 2022, 103(2): 44-53.
[16] 文竹,李军,何洁. 瑞芬太尼调控 Linc00462/miR-2355-5p 对肾癌细胞生物学行为的影响[J]. *重庆医学*, 2022, 51(7): 1093-1099.
[17] 任帅帅,孙倩,刘春华. 瑞芬太尼对前列腺癌细胞增殖、迁移及 MAPK/ERK 信号通路的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(12): 3036-3039.
[18] DONG H Y, DING L, ZHOU T R, *et al.* FOXA1 in prostate cancer[J]. *Asian J Androl*, 2023, 25(3): 287-295.

果等重要临床病理特征有关。此外,HOXA1 与肿瘤微环境中的巨噬细胞 M2 型和中性粒细胞显著相关且与患者的预后和免疫治疗不良有关。细胞实验表明敲降 HOXA1 的表达在体外显著抑制了胶质瘤 U87 细胞的增殖、迁移和侵袭。因此,这些发现首次揭示 HOXA1 作为胶质瘤恶性进展的核心调控因子,其兼具诊断标志物、预后指标和治疗靶点的三重功能特征,为开发基于 HOXA1 信号轴的分子诊断和精准治疗策略提供了理论依据。

【参考文献】

- [1] GIANNO F, GIOVANNONI I, CAFFERATA B, *et al.* Paediatric-type diffuse high-grade gliomas in the 5th CNS WHO Classification[J]. *Pathologica*, 2022, 114(6): 422-435.
- [2] MOLINARO A M, TAYLOR J W, WIENCKE J K, *et al.* Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma[J]. *Nat Rev Neurol*, 2019, 15(7): 405-417.
- [3] LUO J, PAN M, MO K, *et al.* Emerging role of artificial intelligence in diagnosis, classification and clinical management of glioma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2023, 91: 110-123.
- [4] BI J F, CHOWDHRY S, WU S H, *et al.* Altered cellular metabolism in gliomas: an emerging landscape of actionable co-dependency targets[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(1): 57-70.
- [5] WANG L M, SUN H F, CAO L, *et al.* Role of HOXA1-4 in the development of genetic and malignant diseases[J]. *Biomark Res*, 2024, 12(1): 18.
- [6] ZHANG Z H, PENG J X, LI B S, *et al.* HOXA1 promotes aerobic glycolysis and cancer progression in cervical cancer[J]. *Cell Signal*, 2023, 109: 110747.
- [7] LIU J T, LIU J Q, LU X Y. HOXA1 upregulation is associated with poor prognosis and tumor progression in breast cancer[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1896-1902.
- [8] CHEN S C, SHU G, WANG G Q, *et al.* HOXA1 promotes proliferation and metastasis of bladder cancer by enhancing SMAD3 transcription[J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 239: 154141.
- [9] LUO S H, BAI Y F, WANG B Q, *et al.* HOXA1 promotes migration, invasion and cell cycle, and suppresses cisplatin sensitivity of laryngeal cancer cells by mediating AKT/mTOR pathway[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2025, 265(3): 161-171.
- [10] ZHU R F, MAO Y T, XU X Z, *et al.* HOXA1 silencing inhibits cisplatin resistance of oral squamous cell carcinoma cells via $\kappa\text{B}/\text{NF-}\kappa\text{B}$ signaling pathway[J]. *Anticancer Drugs*, 2024, 35(6): 492-500.
- [11] XU S C, TANG L, LI X Z, *et al.* Immunotherapy for glioma: current management and future application[J]. *Cancer Lett*, 2020, 476: 1-12.
- [12] ELGUINDY M M, YOUNG J S, HO W S, *et al.* Co-evolution of glioma and immune microenvironment[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(12): e009175.
- [13] WANG J, LIU Y X, ZHANG A H, *et al.* Investigational microbiological therapy for glioma[J]. *Cancers*, 2022, 14(23): 5977.
- [14] 陈运财,王捷鹏,朱伟,等. 结肠癌组织 THBS1 表达与临床病理特征及远期生存的关系[J]. *西部医学*, 2023, 35(11): 1637-1641, 1646.
- [15] LEVINE A B, HAWKINS C E. Molecular markers for pediatric low-grade glioma[J]. *Childs Nerv Syst*, 2024, 40(10): 3223-3228.
- [16] BELPAIRE M, TAMINIAU A, GEERTS D, *et al.* HOXA1, a breast cancer oncogene[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2022, 1877(4): 188747.
- [17] HAN S E, LIU Y, CAI S J, *et al.* IDH mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(11): 1580-1589.
- [18] WESSELING P, CAPPER D. WHO 2016 classification of gliomas[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44(2): 139-150.
- [19] BIKFALVI A, DA COSTA C A, AVRIL T, *et al.* Challenges in glioblastoma research: focus on the tumor microenvironment[J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(1): 9-27.
- [20] BOUTILIER A J, ELSAWA S F. Macrophage polarization states in the tumor microenvironment[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6995.
- [21] CHEN S Z, SAEED A F U H, LIU Q, *et al.* Macrophages in immunoregulation and therapeutics[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 207.
- [22] YI M, ZHENG X L, NIU M K, *et al.* Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 28.
- [23] WU J, GU X F. HOXA1 promotes epithelial-mesenchymal transition and malignant characteristics of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Mutat Res*, 2024, 829: 111882.
- (收稿日期:2025-01-17; 修回日期:2025-10-03; 编辑:王小菊)

(上接第 192 页)

- [19] HIGHT S K, MOOTZ A, KOLLIPARA R K, *et al.* An *in vivo* functional genomics screen of nuclear receptors and their co-regulators identifies FOXA1 as an essential gene in lung tumorigenesis[J]. *Neoplasia*, 2020, 22(8): 294-310.
- [20] LIU Y J, YU K R, KONG X T, *et al.* FOXA1 O-GlcNAcylation-mediated transcriptional switch governs metastasis capacity in breast cancer[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(33): eadg7112.
- [21] FUJIWARA-TANI R, MORI S, OGATA R, *et al.* Claudin-4: a new molecular target for epithelial cancer therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5494.
- [22] LI S L, ZHENG K, PEI Y, *et al.* Long noncoding RNA NR2F1-AS1 enhances the malignant properties of osteosarcoma by increasing forkhead box A1 expression *via* sponging of microRNA-483-3p[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(23): 11609-11623.
- [23] MAESAKA F, KUWADA M, HORII S, *et al.* Hypomethylation of CLDN4 gene promoter is associated with malignant phenotype in urinary bladder cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(12): 6516.
- (收稿日期:2024-11-05; 修回日期:2025-02-30; 编辑:王小菊)