·论著·

LncRNA EPB41L4A-AS1 调节 miR-30e-5p 对卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响*

吴莎　王莉　李月　邢璇

（石家庄市第四医院病理科，河北 石家庄 050011）

【摘要】 目的 探究长链非编码 RNA（LncRNA）EPB41L4A-AS1 调节微小 RNA-30e-5p（miR-30e-5p）对卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响。**方法** 用 qRT-PCR 法检测卵巢癌细胞系（SKOV3、A2780、OVCAR3、SW626、HO-89100）和组织中 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 水平；用双荧光素酶报告基因实验检测 LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 的结合关系；将 OVCAR3 细胞分为 Control 组、pcDNA-NC 组、pcDNA-EPB41L4A-AS1 组、pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-NC 组、pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-30e-5p-mimics 组；使用 Edu、划痕愈合、Transwell 实验检测 OVCAR3 细胞增殖、迁移、侵袭能力。用免疫印迹实验检测相关蛋白表达。裸鼠移植瘤实验验证 LncRNA EPB41L4A-AS1 对卵巢癌生长的影响。**结果** 与卵巢癌旁组织比较，癌组织中 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达水平降低，miR-30e-5p 表达水平升高（$P<0.05$）。StarBase 数据库预测显示，LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 有结合位点。与 pcDNA-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1 组 Edu 阳性率、细胞迁移数、侵袭细胞数下降，miR-30e-5p、CDK1、MMP-2、MMP-9、N-Cadherin、Vimentin 表达降低，LncRNA EPB41L4A-AS1、E-Cadherin 表达水平升高（$P<0.05$）；与 pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-30e-5p-mimics 组 Edu 阳性率、细胞迁移数、侵袭细胞数升高，miR-30e-5p、CDK1、MMP-2、MMP-9、N-Cadherin、Vimentin 表达升高，E-Cadherin 表达水平降低（$P<0.05$）。pcDNA-EPB41L4A-AS1 组肿瘤体积、重量比 pcDNA-NC 组小，LncRNA EPB41L4A-AS1 表达比 pcDNA-NC 组高，miR-30e-5p 表达比 pcDNA-NC 组低（$P<0.05$）。**结论** LncRNA EPB41L4A-AS1 过表达通过靶向 miR-30e-5p 抑制卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为。

【关键词】 卵巢癌；长链非编码 RNA EPB41L4A-AS1；微小 RNA-30e-5p；恶性生物学行为

【中图分类号】 R737.31　**【文献标志码】** A　**DOI**：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.007

Effects of LncRNA EPB41L4A-AS1 on the malignant biological behaviors of ovarian cancer cells by targeting miR-30e-5p

WU Sha, WANG Li, LI Yue, XING Xuan

(*Department of Pathology, Shijiazhuang Fourth Hospital, Shijiazhuang* 050011, *China*)

【Abstract】 Objective To probe the effect of long chain non-coding RNA (LncRNA) EPB41L4A-AS1 regulating microRNA-30e-5p (miR-30e-5p) on ovarian cancer cell proliferation, migration, and invasion. **Methods** QRT-PCR was used to detect the levels of LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p in ovarian cancer cell lines (SKOV3, A2780, OVCAR3, SW626, HO-89100) and tissues. The dual luciferase reporter gene assay was applied to detect the binding relationship between LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p. OVCAR3 cells were assigned into Control group, pcDNA-NC group, pcDNA-EPB41L4A-AS1 group, pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-NC group, and pcDNA-EPB41L4A-AS1＋miR-30e-5p-mimics group. Edu, scratch healing and Transwell experiments were applied to detect the proliferation, migration, and invasion ability of OVCAR3 cells. Immunoblotting experiment was applied to detect the expression of relevant proteins. The nude mouse transplant tumor experiment was applied to verify the effect of LncRNA EPB41L4A-AS1 on the growth of ovarian cancer. **Results** The expression level of LncRNA EPB41L4A-AS1 was decreased and the expression level of miR-30e-5p was increased in ovarian cancer tissues and ovarian cancer cell lines ($P<0.05$). StarBase da-

基金项目：石家庄市科学技术研究与发展计划项目（231460283）

通信作者：王莉，副主任医师，E-mail：43444038@qq.com

引用本文：吴莎，王莉，李月，等. LncRNA EPB41L4A-AS1 调节 miR-30e-5p 对卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响[J]. 西部医学，2026，38(9)：1292-1299. DOI：10.3969/j.issn.1672-3511.2026.09.007

tabase prediction showed that LncRNA EPB41L4A-AS1 had binding sites with miR-30e-5p. Compared with the pcDNA-NC group, the positive rate of Edu, number of cell migration, and number of invasive cells decreased in the pcDNA-EPB41L4A-AS1 group, the expression of miR-30e-5p, CDK1, MMP-2, MMP-9, N-Cadherin, and Vimentin decreased, while the expression levels of LncRNA EPB41L4A-AS1 and E-Cadherin increased ($P<0.05$). Compared with the pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC group, the positive rate of Edu, number of cell migration, and number of invasive cells increased in the pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics group, the expression of miR-30e-5p, CDK1, MMP-2, MMP-9, N-Cadherin, and Vimentin increased, while the expression levels of E-Cadherin decreased ($P<0.05$). The tumor volume and weight of the pcDNA-EPB41L4A-AS1 group were smaller than those of the pcDNA-NC group, the expression of LncRNA EPB41L4A-AS1 was higher than that of the pcDNA-NC group, and the expression of miR-30e-5p was lower than that of the pcDNA-NC group ($P<0.05$). **Conclusion** Overexpression of LncRNA EPB41L4A-AS1 inhibits malignant biological behaviors of ovarian cancer cells, such as proliferation, migration, and invasion, by targeting miR-30e-5p.

【Key words】 Ovarian cancer; Long non-coding RNA EPB41L4A-AS1; MicroRNA-30e-5p; Malignant biological behaviors

卵巢癌(Ovarian cancer,OC)是最常见的妇科癌症之一,发病率高,是全球女性常见的恶性肿瘤,其特点是多发性腹膜内肿瘤的快速生长和扩散[1]。由于卵巢癌相对无症状的性质,约 70%的患者在晚期被诊断,预后不良,导致高死亡率。卵巢癌的临床治疗主要依靠肿瘤减瘤后的化疗,通过使用化疗药物来抑制或控制癌细胞的生长。然而,治疗效果容易受到耐药性和药物副作用的影响[2-3]。因此,探索更有效的治疗策略和方法有助于改进患者的预后。长链非编码 RNA(Long non-coding RNA,LncRNA)具有强大的基因调控功能,参与多种病理生理过程,在癌症进展中发挥重要作用[4]。LncRNA EPB41L4A-AS1 在肿瘤代谢重编程(糖酵解和谷氨酰胺分解)中具有调节能力,可能作为癌症治疗的有效靶点,研究发现,LncRNA EPB41L4A-AS1 能够通过调节下游 miRNA 从而调节胃癌进展;LncRNA EPB41L4A-AS1 在胃癌中降低,过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 抑制胃癌细胞的活性,而敲低 LncRNA EPB41L4A-AS1 促进肿瘤恶化,沉默 EPB41L4A-AS1 有利于细胞增殖、迁移和侵袭[5]。然而 LncRNA EPB41L4A-AS1 对卵巢癌的恶性生物学行为尚不清楚。作为转录调节分子,miRNA 通常识别并结合 mRNA 的 3′-UTR,从而抑制表达或诱导降解。miRNA 通过与靶基因的启动子区和上游调控区结合来激活基因[6]。研究表明,在卵巢癌组织和细胞中,微小 RNA-30e-5p(microRNA-30e-5p,miR-30e-3p)上调表达,LncRNA MEG3 通过调控 miR-30e-3p 增加了 LAMA4 的表达,从而抑制了 OC 细胞的恶性行为[7]。本课题组前期通过生物信息学分析发现 miR-30e-3p 与 LncRNA EPB41L4A-AS1 之间有结合位点,说明 LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-3p 可能存在靶向调控关系。因此,本研究初步探索 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-3p 在卵巢癌恶性生物学行为中的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 BALB/C 小鼠购买于华中科技大学动物实验中心,许可证号:SCXK(鄂)2021-0009。人卵巢癌细胞株 SKOV3(A2728)、A2780(L0088)、OVCAR3(SY4390)购自上海酶研生物科技有限公司;SW626(HT-X2555)、HO-8910(HTX1819C)购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司;人正常卵巢上皮细胞(human ovarian surface epithelial cells,HOSEpiC)购买于上海酶研生物公司;pcDNA-NC、pcDNA-LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-NC、miR-30e-5p-mimics 质粒于温州科森生物公司购买;LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p、U6、GAPDH 引物序列于亚太恒信生物公司购买;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(MH1057-100T)购买于浙江麦飞生物科技有限公司;Edu 细胞增殖检测试剂盒(红色荧光)(FNCK112)购买于武汉菲恩生物科技有限公司;兔抗 CDK1(BM0027)、MMP-2(A00286)、MMP-9(BA0573)、N-Cadherin(A01577-3)、Vimentin(BM4029)、E-Cadherin(M00063-5)抗体购于武汉博士德生物公司。

1.2 方法

1.2.1 临床标本 收集 28 例在本院确诊并接受治疗的上皮性卵巢癌患者作为研究对象,其中浆液性癌 14 例,黏液性癌 14 例,经手术切除卵巢癌组织和癌旁组织,-80 ℃条件下保存。本研究经石家庄第四医院伦理委员会各项审核(批号:20230122),患者本人知情、同意,在知情同意书上签字,卵巢癌患者在研究开始前未接受任何治疗。

1.2.2 细胞培养及处理 将 HOSEpiC、SKOV3、A2780、SW626、OVCAR3、HO-89100 细胞进行 48 h 常规培养,分别提取细胞中 RNA,检测 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 水平。选取与 HOSEpiC 细胞相比 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平差异较大的 OVCAR3 细胞作为研究对象。将 OVCAR3 细胞随机分为 Control 组、pcDNA-NC 组、pcDNA-EPB41L4A-AS1 组、pcDNA-EPB41L4A-

AS1 + miR-NC 组、pcDNA-EPB41L4A-AS1 + miR-30e-5p-mimics 组，Control 组除外，其它组转染相应质粒 48 h，用于后续实验。

1.2.3　qRT-PCR 检测 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平　提取组织、细胞中 RNA，将 RNA 逆转录成为 cDNA，以 cDNA 作为模板，进行扩增，LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 分别以 GAPDH、U6 作内参，引物序列如下所示：LncRNA EPB41L4A-AS1 正向 5′-CCTGGTTTTATTTTCGTCA-3′，反向 3′-ATCCATCTTCCACCTGTAG-5′；miR-30e-5p 正向 5′-GGGTGTAAACATCCTTGAC-3′，反向 3′-TGCGTGTCGTGGAGTC-5′；U6 正向 5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′，反向 3′-AACGCTTCACGAATTTGCGT-5′；GAPDH 正向 5′-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3′，反向 3′-GGGGTCGTTGATGGCAACA-5′；用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 相对表达水平。

1.2.4　双荧光素酶报告基因实验验证靶向关系　用 Starbase 数据库在线预测 LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 之间的结合位点。构建 LncRNA EPB41L4A-AS1 野生型（EPB41L4A-AS1-WT）与突变型（EPB41L4A-AS1-MUT）载体，将上述载体分别与 miR-NC、miR-30e-5p mimics 共转染 OVCAR3 细胞，48 h 后分析相对荧光素酶活性。

1.2.5　细胞增殖活性检测　接种各组转染的 OVCAR3 细胞至 96 孔培养板，24 h 培养，根据 Edu 试剂盒说明，进行细胞孵育、固定，染色。显微镜观察，拍照，统计阳性率。

1.2.6　细胞迁移能力检测　将转染的 OVCAR3 细胞接种在 6 孔板内，用移液器枪头划痕细胞，加培养基，培养划痕至融合，显微镜观察，拍照，统计愈合率。

1.2.7　细胞侵袭能力检测　将转染后的 OVCAR3 细胞接种于上室，下室加 FBS 培养基，24 h 培养，室温用多聚甲醛固定 15 min，结晶紫染色 30 min。显微镜观察，统计侵袭数目。

1.2.8　蛋白表达检测　收集各组 OVCAR3 细胞，用细胞裂解液处理，提取细胞总蛋白，BCA 法检测蛋白浓度，电泳分离蛋白，湿转至 PVDF 膜，5%脱脂牛奶封闭、加 CDK1（1∶2 000）、MMP-2（1∶2 000）、MMP-9（1∶2 000）、N-Cadherin（1∶2 000）、Vimentin（1∶2 000）、E-Cadherin（1∶2 000）一抗，4 ℃过夜孵育，加二抗，37 ℃孵育，避光显色；分析蛋白条带灰度值。

1.2.9　体内实验　转染 sh-NC 或 sh-LncRNA EPB41L4A-AS1 至 OVCAR3 细胞中，调整 OVCAR3 细胞浓度后，注射在小鼠右前肢腋下。小鼠随机分组（sh-NC 组、sh-EPB41L4A-AS1 组），6 只/组。35 d 小鼠安乐死，将肿瘤完全分离后，称重，记录数据，制作肿瘤生长曲线，检测瘤组织中 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平。

1.3　统计学分析　采用 SPSS 25.0 进行统计学分析，计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，两组间差异比较采用独立样本 t 检验，单因素方差分析比较多组间差异，SNK-q 检验比较多组间差异，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 在卵巢癌细胞和组织中的表达　与卵巢癌旁组织比较，癌组织中 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达水平降低，miR-30e-5p 表达水平升高（$P<0.05$）；与 HOSEpiC 细胞比较，卵巢癌细胞系 SKOV3、A2780、SW626、OVCAR3、HO-89100 中 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达水平均降低，miR-30e-5p 表达水平均上升（$P<0.05$）；其中在 OVCAR3 细胞中，LncRNA EPB41L4A-AS1 表达水平最高，miR-30e-5p 表达水平最低，因此将 OVCAR3 细胞作为本研究对象，见表 1、表 2。

表 1　LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 在卵巢癌组织中的表达（$\bar{x} \pm s$，$n=28$）

Table 1　Expression of LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p in ovarian cancer tissues

组别	LncRNA EPB41L4A-AS1	miR-30e-5p
癌旁组织	1.01±0.12	1.00±0.11
癌组织	0.56±0.07	1.78±0.21
t	17.140	17.410
P	<0.001	<0.001

表 2　比较 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 在卵巢癌细胞中表达水平（$\bar{x} \pm s$，$n=6$）

Table 2　Comparison of LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p expression levels in ovarian cancer cells

组别	LncRNA EPB41L4A-AS1	miR-30e-5p
HOSEpiC	1.02±0.13	1.01±0.10
OVCAR3	0.32±0.04①	2.57±0.28①
A2780	0.45±0.05①	2.36±0.25①
SW626	0.58±0.06①	2.05±0.22①
HO-89100	0.66±0.08①	1.69±0.19①
SKOV3	0.78±0.09①	1.46±0.15①
F	56.412	47.503
P	<0.001	<0.001

注：与 HOSEpiC 细胞比较，①$P<0.05$。

2.2　LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 的靶向验证　StarBase 预测显示，LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 靶向结合。与LncRNA EPB41L4A-AS1-WT + miR-NC 比较，LncRNA EPB41L4A- AS1-WT + miR-30e-5p mimics 荧光素酶活性下降（$P<0.05$），见图 1、表 3。

miRNA	GeneID	GeneName	GeneType	TargetSite	Alignment
hsa-miR-30e-5p	ENSG00000224032	EPB41L4A-AS1	lncRNA	chr5:112161091-112161112[+]	Target: 5' GCUUC-GUCGAUUUGUGUUUACA 3' |:| |||:| :|||||| miRNA : 3' GAAGGUCAGUU-CCUACAAAUGU 5'
Search	Search	Search	Search	Search	Search

图 1 LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 结合位点

Figure 1 Binding site of LncRNA EPB41L4A-AS1 to miR-30e-5p

表 3 LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 靶向关系检测结果($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Detection results of targeting relationship between LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p

组别	荧光素酶相对光活性
EPB41L4A-AS1-WT+miR-NC	0.86±0.09
EPB41L4A-AS1-WT+miR-30e-5p mimics	0.45±0.05①
EPB41L4A-AS1-MUT+miR-NC	0.87±0.09
EPB41L4A-AS1-MUT+miR-30e-5p mimics	0.85±0.08

注：与 EPB41L4A-AS1-WT+miR-NC 比较，①$P<0.05$。

2.3 检测各组 OVCAR3 细胞中 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平 与 pcDNA-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1 组 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达水平升高，miR-30e-5p 表达水平降低($P<0.05$)；与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组 miR-30e-5p 表达水平升高($P<0.05$)。见表 4。

2.4 LncRNA EPB41L4A-AS1 调控 miR-30e-5p 对卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响 与 pcDNA-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1 组 Edu 阳性率、细胞迁移数、侵袭细胞数量下降($P<0.05$)；与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较，pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组 Edu 阳性率、细胞迁移数、侵袭细胞数量升高($P<0.05$)，结果见图 2～4、表 5。

表 4 各组 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 4 Comparison of LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p expression levels among different groups

组别	LncRNA EPB41L4A-AS1	miR-30e-5p
Control 组	1.02±0.10	1.01±0.11
pcDNA-NC 组	1.00±0.11	1.02±0.12
pcDNA-EPB41L4A-AS1 组	1.85±0.20①	0.46±0.05①
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组	1.83±0.19	0.44±0.04
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组	1.82±0.19	0.73±0.08②
F	40.009	56.988
P	<0.001	<0.001

注：与 pcDNA-NC 组比较，①$P<0.05$；与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较，②$P<0.05$。

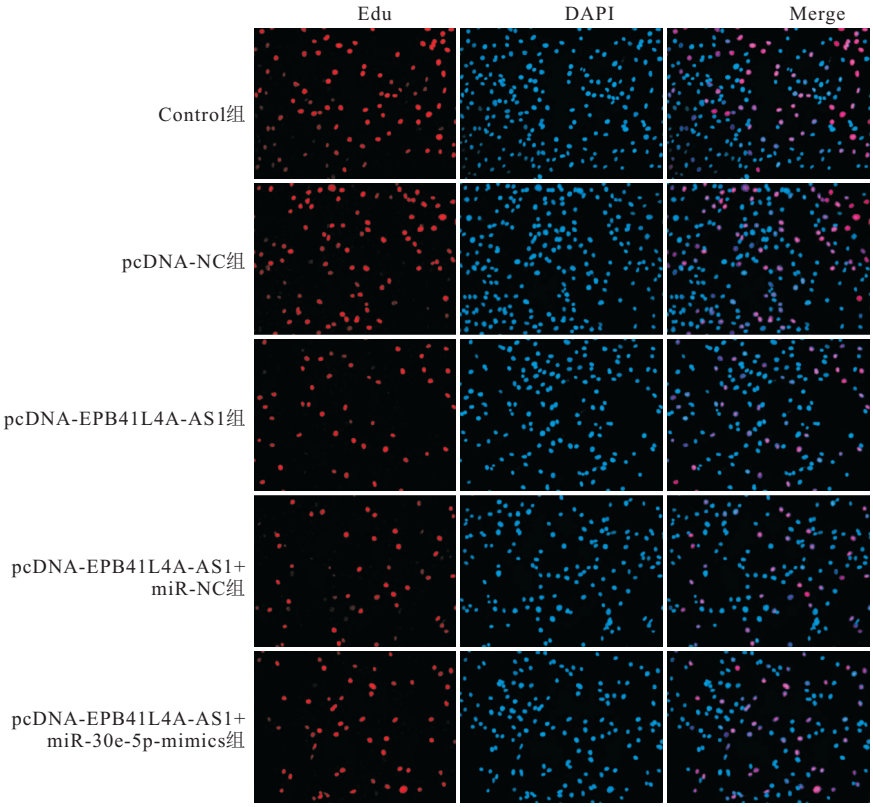

图 2 各组 OVCAR3 细胞增殖情况(200×)

Figure 2 Proliferation of OVCAR3 cells in each group

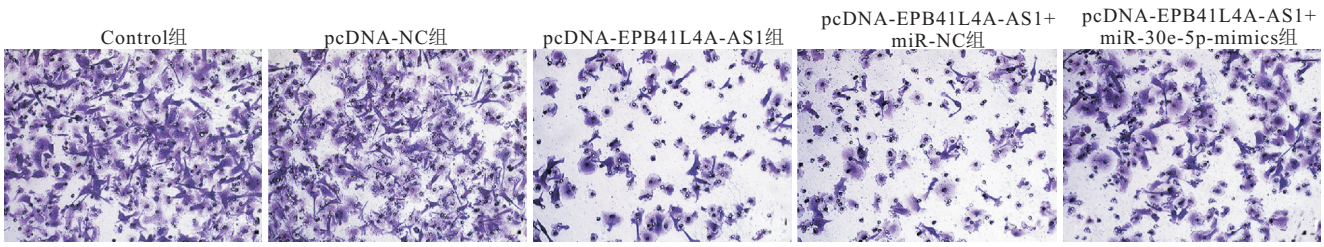

图 3　各组 OVCAR3 细胞迁移情况(200×)

Figure 3　Migration of OVCAR3 cells in each group

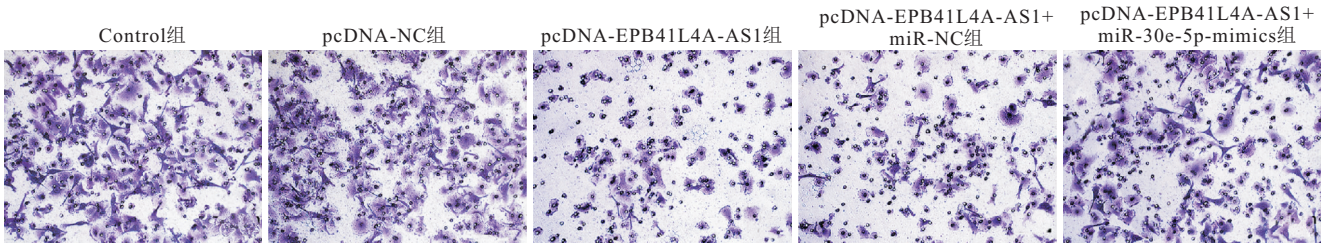

图 4　各组 OVCAR3 细胞侵袭情况(200×)

Figure 4　Invasion of OVCAR3 cells in each group

表 5　比较各组 OVCAR3 细胞增殖、迁移、侵袭能力($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 5　Comparison of proliferation, migration and invasion abilities of OVCAR3 cells in different groups

组别	Edu 阳性率(%)	细胞迁移数(个)	侵袭细胞数量(个)
Control 组	54.73±5.59	161.46±17.63	156.75±16.32
pcDNA-NC 组	53.25±5.64	159.57±16.59	153.98±16.47
pcDNA-EPB41L4A-AS1 组	27.32±2.96①	82.05±8.42①	86.58±8.87①
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组	28.64±3.01	81.49±8.53	87.62±9.03
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组	38.37±4.12②	120.13±13.27②	116.25±12.16②
F	46.131	45.202	36.558
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 pcDNA-NC 组比较,①$P<0.05$;与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较,②$P<0.05$。

2.5　LncRNA EPB41L4A-AS1 调控 miR-30e-5p 对卵巢癌细胞相关蛋白表达的影响　与 pcDNA-NC 组比较,pcDNA-EPB41L4A-AS1 组 CDK1、MMP-2、MMP-9、N-Cadherin、Vimentin 表达降低,E-Cadherin 表达水平升高($P<0.05$);与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较,pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组 CDK1、MMP-2、MMP-9、N-Cadherin、Vimentin 表达升高,E-Cadherin 表达水平降低($P<0.05$),结果见图 5、表 6。

2.6　LncRNA EPB41L4A-AS1 对移植瘤生长的影响　与 pcDNA-NC 组比较,pcDNA-EPB41L4A-AS1 组肿瘤体积减小,重量减少,LncRNA EPB41L4A-AS1 表达升高,miR-30e-5p 表达下降($P<0.05$),见图 6~7、表 7。

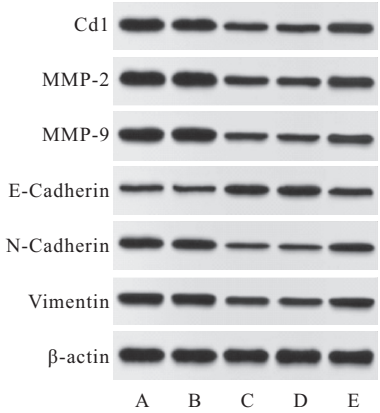

图 5　检测蛋白表达

Figure 5　Detection of protein expression

注:A. Control 组;B. pcDNA-NC 组;C. pcDNA-EPB41L4A-AS1 组;D. pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组;E. pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组。

3　讨论

目前,卵巢癌发展的发病机制仍然未知,可能是由多种因素介导的,包括遗传、环境和生活方式[8]。恶性卵巢肿瘤是一种高度异质性疾病,通常分为上皮性卵巢癌,包括高级别浆液性卵巢癌、子宫内膜样癌、透明细胞癌、粘液癌和低级别浆液性卵巢癌,以及恶性性索间质瘤[9]。卵巢癌大多数在晚期被诊断出来,并会发展为复发性和化疗耐药性疾病。细胞减灭术

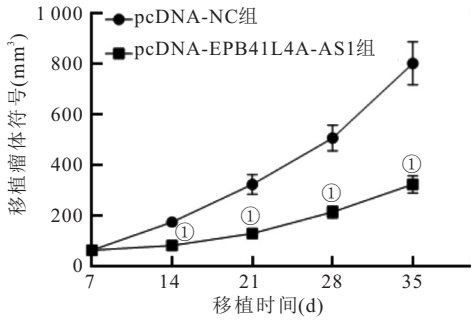

图 6 小鼠移植瘤生长情况

Figure 6 Growth of transplanted tumors in mice

注:与 pcDNA-NC 组比较,①$P<0.05$。

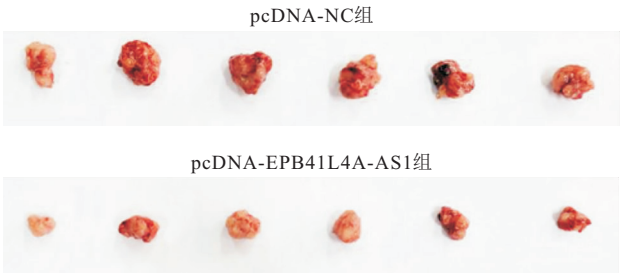

图 7 移植瘤图片

Figure 7 Transplanted tumor image

表 6 比较各组 OVCAR3 细胞各蛋白表达情况($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

Table 6 Comparison of protein expression in OVCAR3 cells among different groups

组别	CDK1	MMP-2	MMP-9	E-Cadherin	N-Cadherin	Vimentin
Control 组	1.08±0.12	1.26±0.14	1.14±0.12	0.39±0.04	0.86±0.09	0.95±0.10
pcDNA-NC 组	1.06±0.11	1.24±0.13	1.16±0.13	0.37±0.04	0.87±0.09	0.93±0.09
pcDNA-EPB41L4A-AS1 组	0.53±0.06①	0.65±0.07①	0.46±0.05①	0.85±0.09①	0.35±0.03①	0.58±0.06①
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组	0.54±0.06	0.66±0.07	0.47±0.05	0.86±0.09	0.37±0.04	0.57±0.06
pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-30e-5p-mimics 组	0.73±0.07②	0.89±0.09②	0.68±0.07②	0.56±0.06②	0.61±0.06②	0.78±0.07②
F	49.702	43.361	77.290	65.575	75.554	27.874
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 pcDNA-NC 组比较,①$P<0.05$;与 pcDNA-EPB41L4A-AS1+miR-NC 组比较,②$P<0.05$。

表 7 LncRNA EPB41L4A-AS1 对移植瘤及 LncRNA EPB41L4A-AS1、miR-30e-5p 表达水平的影响($\bar{x}\pm s$,$n=6$)

Table 7 Effects of LncRNA EPB41L4A-AS1 on transplanted tumors and the expression levels of LncRNA EPB41L4A-AS1 and miR-30e-5p

组别	肿瘤质量(g)	肿瘤体积(mm³)	LncRNA EPB41L4A-AS1	miR-30e-5p
pcDNA-NC 组	0.58±0.06	804.12±85.41	1.02±0.11	1.01±0.11
pcDNA-EPB41L4A-AS1 组	0.29±0.03	325.69±33.72	1.67±0.18	0.64±0.07
t	10.589	12.762	7.548	6.951
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

后铂类化疗仍然是卵巢癌患者一线治疗的标准。尽管大多数患者最初对治疗有反应,但耐药和复发的高频率阻碍了当代抗癌治疗在卵巢癌患者中的成功,使卵巢癌成为妇科恶性肿瘤患者死亡的主要原因[10]。探索卵巢癌肿瘤发生的分子机制可能会确定新的治疗靶点。

非编码 RNA(non-coding RNA,ncRNA)包含真核细胞中丰富多样的 RNA 分子,最初被定义为没有蛋白质合成信息的转录本[11]。研究表明,不同类型的 ncRNA 参与生命多个基本过程的调节,例如细胞分化、细胞分裂和增殖、细胞周期、细胞死亡、新陈代谢等[12]。LncRNA 是长度超过 200 个核苷酸但无蛋白质编码能力的功能性 RNA 分子,通过多种机制在各种癌症中发挥至关重要的作用。LncRNA 不仅在表观遗传和转录水平参与基因调控,还通过与 RNA 和蛋白质的相互作用在转录后和翻译水平参与基因调控[13]。Yang 等[14]研究报道,LncRNA EPB41L4A-AS1 在乳腺肿瘤组织中的表达显著低于非癌组织,过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 可显著降低乳腺癌细胞的增殖活性,上调LncRNA EPB41L4A-AS1 能够显著抑制乳腺癌的迁移和侵袭能力,说明 LncRNA EPB41L4A-AS1 在乳腺癌中发挥抑癌基因的作用。在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)组织和细胞中,LncRNA EPB41L4A-AS1 下调表达,其过表达降低了 NSCLC 细胞增殖,LncRNA EPB41L4A-AS1 海绵化 miR-105-5p 促进 NSCLC 细胞中 GIMAP6 转录。过表达 miR-105-5p 或敲低 GIMAP6 可逆转 LncRNA EPB41L4A-AS1 过表达对 NSCLC 细胞增殖的抑制,表明 LncRNA EPB41L4A-AS1 通过 miR-105-5p/GIMAP6 轴减轻 NSCLC 细胞增殖[15]。本研究中 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达趋势与既往报道结果相同,LncRNA EPB41L4A-AS1 在卵巢癌细胞系(SKOV3、A2780、SW626、OVCAR3、HO-89100)和癌组织中表达降低。为了进一步研究 LncRNA EPB41L4A-AS1 在卵巢癌细胞中的作用,将 pcDNA-LncRNA EPB41L4A-AS1 转染到 OVCAR3 细胞中从而提高 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达,结果显示卵巢癌细胞 Edu 阳性率、迁移数、侵袭数量降

低，说明过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 能够抑制卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭等恶性行为，提示 LncRNA EPB41L4A-AS1 在卵巢癌中可能发挥抑癌基因的作用。

上皮-间充质转化（Epithelial-mesenchymal transition，EMT）是指在生理条件下发生的动态过程。EMT 是一个连续的反向过程，在此期间，上皮细胞可以沿 E 到 M 光谱转换特性，从上皮表型转变为间充质表型[16]。在这个转变过程中，会发生一些分子、形态和功能变化，包括细胞极性、细胞间和细胞基质粘附以及细胞骨架重塑。在细胞动力学方面，癌细胞以 EMT 的中间状态存在，同时表达上皮和间充质基因；这些杂交细胞表现出更好的存活、迁移和定植潜力[17]。在卵巢癌中，患者死亡的主要原因是肿瘤转移。在转移中，细胞经历 EMT，这涉及上皮细胞失去其原始表面标志物并获得间充质细胞的特征，从而使肿瘤从其原始位置分离并扩散到远处区域。EMT 受各种转录因子的共同调控，例如 Snail、Slug、Twist、ZEB1 和 ZEB2。EMT 是癌上皮细胞获得移动能力的初始步骤，导致肿瘤转移。研究表明，肿瘤上皮细胞中 EMT 的小分子靶向治疗表明有可能治疗肿瘤转移[18]。本研究中，OVCAR3 细胞中过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 发现，N-Cadherin、Vimentin 表达水平减少，E-Cadherin 表达水平增加，说明过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 能够抑制卵巢癌细胞的 EMT 行为，从而抑制肿瘤转移，LncRNA EPB41L4A-AS1 可能是抑制卵巢癌肿瘤转移的潜在治疗靶点。

miRNA 可以从组织、细胞和体液（如血液和尿液等）中分离出来。在与癌症相关的各种生物过程中发挥重要作用，例如肿瘤发生、细胞增殖、分化、细胞凋亡、血管生成、侵袭和转移、肿瘤耐药、EMT 和预后[19]。在癌症的发病机制中，miRNA 可能充当肿瘤因子或肿瘤抑制因子。miRNAs 在卵巢癌的发生和进展中的潜在作用在肿瘤学领域具有重要意义[20]。魏可等[21]研究发现，过表达 miR-30e-5p 能够通过下调 PTEN 激活 CXCL12，促进结直肠癌细胞的增殖和迁移。本研究中，miR-30e-5p 在卵巢癌细胞系和组织中上调表达，与上述研究结果相同，过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 能够下调 miR-30e-5p 表达，从而抑制卵巢癌细胞增殖、迁移、侵袭和 EMT 等行为。本研究通过生信分析发现，LncRNA EPB41L4A-AS1 与 miR-30e-5p 有结合序列。通过进一步的双荧光素酶报告实验验证，发现在 OVCAR3 细胞中，miR-30e-5p 可能是 LncRNA EPB41L4A-AS1 的靶基因，以上结果说明过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 可能靶向下调 miR-30e-5p 从而抑制卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭与 EMT，抑制卵巢癌细胞恶性行为。体内移植瘤实验结果显示，过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达能够减缓小鼠肿瘤的生长速率，降低瘤体组织中 miR-30e-5p 的表达水平，提高 LncRNA EPB41L4A-AS1 的表达水平，再次证明过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 表达可下调 miR-30e-5p 表达来抑制卵巢癌细胞的恶性生物学行为。局限性在于本研究用细胞模型对 LncRNA EPB41L4A-AS1 在卵巢癌中的作用机制进行了初步研究，缺乏动物模型实验结果，后期应进一步研究。

4　结论

LncRNA EPB41L4A-AS1 在卵巢癌中作为抑癌基因发挥作用，LncRNA EPB41L4A-AS1 通过靶向调控 miR-30e-5p 参与了卵巢癌的增殖、迁移、侵袭与 EMT 行为，过表达 LncRNA EPB41L4A-AS1 能够抑制卵巢癌细胞恶性生物学行为，LncRNA EPB41L4A-AS1 可能是治疗卵巢癌的潜在靶点。

【参考文献】

[1] Almeida-Nunes D L, Mendes-Frias A, Silvestre R, *et al*. Immune tumor microenvironment in ovarian cancer ascites[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(18): 10692.

[2] Wu Y L, Yang Y, Lv X L, *et al*. Nanoparticle-based combination therapy for ovarian cancer[J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 1965-1987.

[3] Yan L M, He Z P, Li W, *et al*. P76RBE silencing inhibits ovarian cancer cell proliferation, migration, and invasion via suppressing the integrin β1/NF-κB pathway[J]. Cell Cycle, 2021, 20(18): 1875-1889.

[4] Liu F, Cao L Y, Zhang Y F, *et al*. LncRNA LIFR-AS1 overexpression suppressed the progression of serous ovarian carcinoma [J]. J Clin Lab Anal, 2022, 36(8): e25470.

[5] Ma J C, Feng Y Y, Xu J K, *et al*. Downregulation of lncRNA EPB41L4A-AS1 promotes gastric cancer cell proliferation, migration and invasion[J]. BMC Gastroenterol, 2024, 24(1): 136.

[6] Stieg D C, Wang Y F, Liu L Z, *et al*. ROS and miRNA dysregulation in ovarian cancer development, angiogenesis and therapeutic resistance[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(12): 6702.

[7] Liu Y, Xu Y C, Ding L, *et al*. LncRNA MEG3 suppressed the progression of ovarian cancer via sponging miR-30e-3p and regulating LAMA4 expression[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20: 181.

[8] Liu S C, Feng S W, Du F R, *et al*. Association of smoking, alcohol, and coffee consumption with the risk of ovarian cancer and prognosis: a Mendelian randomization study [J]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 256.

[9] Kielbik M, Przygodzka P, Szulc-Kielbik I, *et al*. Snail transcription factors as key regulators of chemoresistance, stemness and metastasis of ovarian cancer cells[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2023, 1878(6): 189003.

[10] Ma M J, Wang C, Wu M X, *et al*. CSGALNACT2 restricts ovarian cancer migration and invasion by modulating MAPK/ERK pathway through DUSP1[J]. Cell Oncol, 2024, 47(3): 897-915.

[11] 陈卓静，徐王昕，牛丽娜. 长链非编码 RNA 作为竞争性内源 RNA 在卵巢癌中的研究进展[J]. 癌症进展，2024，22(17)：1881-1886.

[12] López-Camarillo C, Ruíz-GarcíA E, Salinas-Vera Y M, *et al*. Deciphering the long non-coding RNAs and microRNAs coregulation networks in ovarian cancer development: an overview[J]. Cells, 2021, 10(6): 1407.

[13] Wu Y B, Li S Y, Liu J Y, *et al*. Long non-coding RNA NRSN2-AS1 promotes ovarian cancer progression through targeting PTK2/β-catenin pathway[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(10): 696.

[14] Yang F, Lv S X. LncRNA EPB41L4A-AS1 regulates cell proliferation, apoptosis and metastasis in breast cancer[J]. Ann Clin Lab Sci, 2022, 52(1): 3-11.

[15] Dong B W, Zhang F J, Zhang W B, *et al*. IncRNA EPB41L4A-AS1 mitigates the proliferation of non-small-cell lung cancer cells through the miR-105-5p/GIMAP6 axis[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2023, 33(2): 27-40.

[16] 杨阳，贾玉棉，李佳珍，等. 肌上皮通过分泌/刺激 TGFβ1 的表达促进腺上皮发生 EMT 进而参与乳腺导管原位癌浸润的发生[J]. 肿瘤，2024，44(10)：1003-1014.

[17] Lampropoulou D I, Papadimitriou M, Papadimitriou C, *et al*. The role of EMT-related lncRNAs in ovarian cancer[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(12): 10079.

[18] Xu X Y, Zhuang X F, Yu H W, *et al*. FSH induces EMT in ovarian cancer via ALKBH5-regulated Snail m6A demethylation[J]. Theranostics, 2024, 14(5): 2151-2166.

[19] Bracken C P, Goodall G J, Gregory P A. RNA regulatory mechanisms controlling TGF-β signaling and EMT in cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2024, 102-103: 4-16.

[20] Zhao L H, Liang X L, Wang L Y, *et al*. The role of miRNA in ovarian cancer: an overview[J]. Reprod Sci, 2022, 29(10): 2760-2767.

[21] 魏可，石纪雯，肖雨寒，等. miR-30e-5p 过表达促进结直肠癌细胞的增殖和迁移：基于下调 PTEN 激活 CXCL12 轴[J]. 南方医科大学学报，2023，43(7)：1081-1092.

（收稿日期：2025-05-26；修回日期：2026-04-20；编辑：张翰林）

（上接第 1291 页）

[9] Chen Y E, Zhu S M, Chen Z W, *et al*. Gingerenone a alleviates ferroptosis in secondary liver injury in colitis mice via activating Nrf2-Gpx4 signaling pathway[J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(39): 12525-12534.

[10] 石金沙，石浩龙，左涵珺，等. 天麻素通过 CCR5/JAK1/STAT1 信号通路抑制缺血缺氧新生小鼠小胶质细胞介导的炎症反应[J]. 中国病理生理杂志，2024，40(2)：309-316.

[11] 曹银利，孙亚洲，崔清洋，等. 青蒿琥酯通过抑制 NLRP3 炎性体激活和炎性细胞因子分泌减轻新生大鼠缺氧缺血性脑损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2023，39(5)：410-422.

[12] Proietti J, O'Toole J M, Murray D M, *et al*. Advances in electroencephalographic biomarkers of neonatal hypoxic ischemic encephalopathy[J]. Clin Perinatol, 2024, 51(3): 649-663.

[13] Peeplese S, Genaro-Mattos T C. Ferroptosis: a promising therapeutic target for neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7420.

[14] Zhu J, Chus F, Peng Y, *et al*. Pyk2 inhibition attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(4): 797-810.

[15] Reyes-Corral M, Gil-González L, González-Díaz Á, *et al*. Pretreatment with oleuropein protects the neonatal brain from hypoxia-ischemia by inhibiting apoptosis and neuroinflammation[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2025, 45(4): 717-734.

[16] Huang W Q, Wu X H, Chang S T, *et al*. Novel GLP-1/GIP Dual Receptor Agonist Alleviates Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy by Inhibiting TLR2/NF-κB/NLRP3 Mediated-Neuroinflammation: the role of DA5-CH in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Neurochem Res, 2025, 50(4): 235.

[17] Babboc C, Mellet J, Van Rensburg J, *et al*. Neonatal encephalopathy due to suspected hypoxic ischemic encephalopathy: pathophysiology, current, and emerging treatments[J]. World J Pediatr, 2024, 20(11): 1105-1114.

[18] Song Y H, Wu Z Y, Xue H, *et al*. Ferroptosis is involved in regulating perioperative neurocognitive disorders: emerging perspectives[J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1): 219.

[19] Li C, Wu Z Y, Xue H, *et al*. Ferroptosis contributes to hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: role of the SIRT1/Nrf2/GPx4 signaling pathway[J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 28(12): 2268-2280.

[20] Chen J H, Wang Y H, Wu J Y, *et al*. The potential value of targeting ferroptosis in early brain injury after acute CNS disease[J]. Front Mol Neurosci, 2020, 13: 110.

[21] Li C, Wu Z Y, Xue H, *et al*. Influence of sevoflurane postconditioning on hypoxic-ischemic brain injury via Nrf2-regulated ferroptosis in neonatal rats[J]. Anesth Analg, 2025, 141(3): 648-659.

（收稿日期：2025-08-31；修回日期：2026-04-12；编辑：张翰林）