【基础研究】

长链非编码 RNA 淋巴细胞白血病缺失基因 1 与卵巢癌细胞紫杉醇耐药的相关性研究

刘明翠，唐江月*，缑萍萍，韩爱珺，任　蓉，益　华
（西安市第九医院妇产科，陕西西安 710054）

摘要：目的 探讨 lncRNA *DLEU1* 对卵巢癌紫杉醇耐药细胞的影响及作用机制。**方法** 分别对卵巢癌紫杉醇耐药细胞 SKOV3/TAX 转染 siRNA，过表达质粒及阴性对照（negative control，NC）序列，设为 DLEU1-siR 组，DLEU1（+）组及 NC 组，未经转染的细胞设为对照组。qRT-PCR 法验证 lncRNA *DLEU1* 转染情况；MTS 法检测 lncRNA *DLEU1* 对 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇耐药性的影响；流式细胞仪和 Traswell 实验检测 lncRNA *DLEU1* 对 SKOV3/TAX 细胞凋亡及侵袭能力的影响；双荧光素酶报告分析 lncRNA *DLEU1* 与 miR-149 的靶向关系，并经 qRT-PCR 和免疫印迹法证实 lncRNA *DLEU1* 对 miR-149 基因及 PI3K/AKT 通路蛋白的影响。**结果** 与对照组和 NC 组相比，DLEU1-siR 组 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇抑制率显著升高，DLEU1（+）组抑制率显著下降，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$）。DLEU1-siR 组细胞凋亡率为 16.8%，明显高于对照组（5.9%）和 NC 组（6.9%）；DLEU1（+）组细胞凋亡率为 3.4%，明显低于对照组和 NC 组，差异均有统计学意义（$P < 0.05$）。DLEU1-siR 组细胞侵袭穿膜数为（85±8）个，明显少于对照组（135±16）个和 NC 组（129±12）个；DLEU1（+）组细胞侵袭穿膜数为（189±15）个，明显多于对照组和 NC 组，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$）。LncRNA DLEU1 与 *miR-149* 之间存在靶向结合位点，两者呈负向调控。与对照组和 NC 组相比，DLEU1-siR 组磷酸 -PI3K 和磷酸 -AKT 蛋白表达显著下降，DLEU1（+）组两蛋白表达量显著上升，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$）。**结论** LncRNA *DLEU1* 过表达增强了 SKOV3/TAX 细胞对紫杉醇的耐药性，其作用机制可能与 lncRNA *DLEU1* 靶向结合 miR-149 调控 PI3K/AKT 通路有关。

关键词：卵巢癌；紫杉醇耐药；lncRNA *DLEU1*；miR-149；PI3K/AKT
中图分类号：R737.31　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2022）11-1412-09
DOI：10.13683/j.wph.2022.11.005

Study of relationship between long non-coding RNA deleted in lymphocytic leukemia 1 and drug resistance of ovarian cancer paclitaxel-resistant cells

LIU Mingcui, TANG Jiangyue*, GOU Pingping, HAN Aijun, REN Rong, YI Hua
(*Obstetrics and Gynecology of Xi'an Ninth Hospital, Xi'an 710054, Shannxi Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect and mechanism of lncRNA *DLEU1* on paclitaxel resistant ovarian cancer cells. ***Methods*** The ovarian cancer paclitaxel resistant SKOV3/TAX cells were transfected with small interfering RNA, siRNA(siRNA), overexpression plasmid and negative control(NC) sequence respectively, and were set as DLEU1-siR group, DLEU1(+) group and NC group, and the non-transfected cells were set as control group. qRT-PCR was used to verify lncRNA *DLEU1* transfection. MTS method was used to detect the effect of lncRNA *DLEU1* on the paclitaxel resistance of SKOV3/TAX cells. Flow cytometry and Traswell assay were used to detect the effects of lncRNA *DLEU1* on apoptosis

收稿日期：2021-09-22；**修回日期：**2022-07-12
作者简介：刘明翠，副主任医师，研究方向：妇产科肿瘤的诊治。
通信作者：唐江月，主治医师，研究方向：妇产科肿瘤的诊治。
基金项目：陕西省卫生计生科研项目(2016D036)

and invasion of SKOV3/TAX cells. The targeting relationship between lncRNA *DLEU1* and microRNA(miR)-149 was analyzed by dual luciferase reporter, and the effect of lncRNA *DLEU1* on the expression of miR-149 gene and PI3K/AKT pathway protein were confirmed by qRT-PCR and western blotting. ***Results*** Compared with the control group and NC group, the inhibition rate of paclitaxel in SKOV3/TAX cells in the DLEU1-siR group was significantly increased, and the inhibition rate in the DLEU1(+) group decreased significantly, and the difference was statistically significant($P<0.05$). The apoptosis rate of DLEU1-siR group was 16.8%, which was significantly higher than that of the control group(5.9%) and NC group(6.9%); The apoptosis rate of 3.4% in the DLEU1(+) group, which was significantly lower than that of the control group and the NC group, and the difference was statistically significant($P<0.05$). The number of invasion and perforation cells in the DLEU1-siR group was (85±8), which was significantly lower than that of the control group(135±16) and the NC group(129±12);The number of invasion and perforation cell in the DLEU1(+) group was (189±15), which was significantly higher than that of the control group and the NC group, and the difference was statistically significant($P<0.05$). There are targeted binding sites between lncRNA *DLEU1* and *miR-149*, and the two are negatively regulated. Compared with the control group and NC group, the expression of phospho-PI3K and phospho-AKT proteins in the DLEU1-siR group decreased significantly, while the expression of the two proteins in the DLEU1(+) group increased significantly, and the difference was statistically significant($P<0.05$). ***Conclusion*** Overexpression of lncRNA *DLEU1* can enhance the resistance of SKOV3/TAX cells to paclitaxel, and its mechanism of action may be related to the regulation of PI3K/AKT pathway by lncRNA *DLEU1* targeting *miR-149*.

Key words: ovarian cancer; paclitaxel resistance; lncRNA DLEU1; miR-149; PI3K/AKT

卵巢癌是女性常见的恶性肿瘤，由于早期症状不典型，患者总体 5 年生存率极低[1-2]。化疗是卵巢癌治疗的主要方法之一，紫杉醇联合卡铂是临床首选一线化疗药物，大多数患者早期治疗效果显著，但后期易复发，主要原因是肿瘤细胞对紫杉醇耐药[3]。因此，探究卵巢癌细胞对紫杉醇耐药的机制和寻找新的治疗靶点具有重要临床意义。长链非编码 RNA(long non-coding RNA，lncRNA) 淋巴细胞白血病缺失基因 1(deleted in lymphocytic leukemia 1，DLEU1) 定位于染色体 13q14.3，近年研究证实其在肺癌、乳腺癌等肿瘤中异常高表达，通过调控不同途径参与多种肿瘤的发生发展[4-6]。微 RNA(microRNA，miR)-149 作为具有调控作用的非编码 miR，在肿瘤发生和进展中具有关键功能，有学者通过功能获得和功能丧失实验表明 *miR-149* 在体内外均可抑制非小细胞肺癌的生长和转移[7]。另有研究[8]表明，上调 *miR-149* 可抑制 Akt、Cyclin B1 和 CDK1 的表达，诱导细胞周期停滞在 G2/M 期，增加结直肠细胞的化疗敏感性，表明 miR-149 的高甲基化可能是结直肠癌耐药的关键原因。但关于 lncRNA *DLEU1* 和 *miR-149* 在卵巢癌中的靶向结合关系及 lncRNA *DLEU1* 通过介导 *miR-149* 对卵巢癌细胞紫杉醇耐药的作用机制还鲜有报道。因此，本研究着重探讨了调控 lncRNA *DLEU1* 表达对卵巢癌细胞紫杉醇耐药及耐药细胞活性的影响及其相关的作用机制。

1 材料及方法

1.1 实验材料

卵巢癌紫杉醇耐药细胞 SKOV3/TAX(中国科学院细胞库)；胎牛血清、RPMI1640 培养基 (Gibico 公司)；LipofectAMINE 2000 细胞转染试剂(美国 Invitrogen 公司)；RNA 提取盒、RNA 逆转录试剂盒(北京全式金生物技术有限公司)；MTS 试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)；PI3K(AF7749)、磷酸 -PI3K(AF5905)、AKT(AA326) 和磷酸 -AKT 抗体 (AA329)，兔源一抗、辣根过氧化物酶偶联羊抗兔二抗 (A0208) (Cell Signaling Technology 公司)；细胞培养箱、酶标仪 (Thermo Fisher 公司)；流式细胞仪(美国 Beckman-Coulter 公司)；Transwell 小室(美国 Invitrogen 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

卵巢癌紫杉醇耐药细胞 SKOV3/TAX 用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基，在 37 ℃、5%CO_2 孵育箱中完全培养，待细胞长至融合度为 80% 时进行传代。

1.2.2 细胞转染

取上述培养的 SKOV3/TAX 细胞接种于 6 孔板，待细胞生长至融合时，利用 LipofectAMINE 2000 将干扰小 RNA（small interfering RNA，siRNA）序列、lncRNA *DLEU1* 过表达载体及无关序列［阴性对照（negative control，NC）］分别转染至细胞中，24 h 后将细胞转移至 RPMI1640 培养基中继续培养 48 h，获得稳定表达的细胞株，经转染后的细胞分别设为 DLEU1-siR 组、DLEU1(+) 组以及 NC 组，未经转染的细胞设为对照组，采用定量反转录聚合酶链反应（quantitative reverse transcriptase-mediated polymerase chain reaction，qRT-PCR）法验证转染情况。

1.2.3 MTS 法检测 lncRNA *DLEU1* 对 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇耐药性的影响

分别取各组对数生长期 SKOV3/TAX 细胞，接种于 96 孔板中，加入不同浓度（0、100、200、400 和 800 nmol/L）的紫杉醇溶液，每组设 3 个复孔，加药后培养 48 h 终止反应，吸出含药培养基，加灭菌后的 MTS 液 20 μl，37 ℃、5%CO_2 孵育箱中孵育 30 min，酶标仪测其波长 490 nm 处光密度（optical density，OD）值，并计算细胞生长抑制率 /% ＝（1 － $OD_{实验}/OD_{对照}$）×100%。

1.2.4 流式细胞仪检测 lncRNA *DLEU1* 对 SKOV3/TAX 细胞凋亡的影响

分别取转染后的各组细胞，加入胰蛋白酶消化、离心，收集全部细胞，磷酸盐缓冲液（phosphate buffer solution，PBS）洗涤 2 次，再次离心，收集细胞，室温避光下加入 5 μl 膜联蛋白 V（annexin V）- 异硫氰酸荧光素（fluorescein isothiocyanate，FITC）工作液，孵育 10 min，再加入 5 μl 碘化丙啶染色液，同一环境继续孵育 5 min，加入 500 μl PBS 并轻轻混匀，在 1 h 内通过流式细胞仪检测，激发波长 488 nm，检测波长 675 nm，使用 FL1 通道。

1.2.5 Transwell 实验检测 lncRNA *DLEU1* 对 SKOV3/TAX 细胞侵袭能力的影响

将 Transwell 小室放入培养板中，上室加入 Matrigel 基质胶，37 ℃、30 min 形成基质膜，将转染后的各组细胞接种于 Transwell 上室，在下室加入 500 μl 20% 胎牛血清细胞培养液，置 37 ℃、5%CO_2 培养箱中孵育 24 h，取出 Transwell 小室，弃去培养板中的培养液，用棉签擦拭上层未迁移的细胞，PBS 清洗下层细胞 3 次，乙醇固定 30 min，0.1% 结晶紫染色 20 min，倒置晾干，光学显微镜下随机选取 5 个高倍视野进行细胞计数。

1.2.6 荧光素酶报告基因实验

采用 Target Scan 软件预测 miR-149 的潜在靶基因，根据预测结果，采用 PCR 技术扩增含有与 miR-149 结合位点的 lncRNA *DLEU1* 核苷酸序列，构建 DLEU1 野生型质粒（wild type，WT-DLEU1）和突变型质粒（mutant，MUT-DLEU1）。分别将 WT-DLEU1、MUT-DLEU1 与 *miR-149* 转染至 SKOV3/TAX 细胞，培养 48 h 后，根据双荧光素酶活性检测试剂盒说明书检测荧光素酶活性。

1.2.7 qRT-PCR 检测 lncRNA *DLEU1* 对 *miR-149* 基因表达的影响

分别取对数生长期各组细胞，严格按照试剂盒相关步骤进行总 RNA 提取，并检测其纯度，OD_{260}/OD_{280} 的比值在 1.6 ～ 1.8 即可。使用反转录试剂盒合成第一链 cDNA，反应体系 20 μl，逆转录反应条件：37 ℃、5 min，85 ℃、5 s；用逆转录合成的 cDNA 作为模板进行 qRT-PCR 扩增，扩增体系为 20 μl，其中 SYBR Premix ExTaqII（2×）10 μl，cDNA 2.0 μl，上下游引物各 1 μl，ROX Reference DyeII（50×）0.5 μl，双蒸水 5.5 μl。PCR 引物序列如下。*MiR-149*：上游 5′-TCTGGCTCCGTGTCTTCAC-3′，下游 5′-GCCGGTACGTTATCACAGTGT-3′；内参 *U6*：上

游 5′-CTAACTGATACTGCGCTAGCA-3′，下游 5′-GGATTGCATGGCATGCG-GGTCA-3′。反应条件：94 ℃、5 min，94 ℃、30 s，60 ℃、30 s，72℃、40 s，循环 35 次，4 ℃保存备用。最后采用荧光定量 PCR 仪进行 qRT-PCR 检测，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *miR-149* 相对表达量。

1.2.8 免疫印迹（western blotting，WB）法检测 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达

分别取对数生长期各组细胞，加入细胞裂解液充分裂解后提取总蛋白，BCA 试剂盒检测各个样品中蛋白浓度。若蛋白浓度相差过大，需将样品的蛋白浓度调至一致。将调整后的样品加入上样缓冲液，混匀后煮沸 10 min，恢复至室温后离心，配置 8% 分离胶，在分离胶上面距顶端 3 cm 处加入浓缩胶，加入蛋白样品后，80 V 浓缩，120 V 分离，电泳结束后转硝酸纤维素膜 2 h，脱脂奶粉室温封闭 2 h，PBST 洗膜，加入稀释一抗（1 ∶ 1 000），4 ℃孵育过夜，PBST 洗膜 3 次后加入稀释二抗（1 ∶ 2 000），室温孵育 2 h，PBST 漂洗 3 次，用化学发光法显色，凝胶成像仪拍照，Image-J 软件分析各组蛋白相对表达。

1.3 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件分析实验结果，所有实验数据均符合正态分布，用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，多组间比较采用单因素 ANOVA 分析，组间两两比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 验证转染后各组细胞中 lncRNA *DLEU1* 表达水平

转染抑制剂培养 48 h 后，经 qRT-PCR 验证发现，与对照组相比，DLEU1-siR 组 lncRNA *DLEU1* 表达水平显著下降，DLEU1(+) 组 lncRNA *DLEU1* 表达水平显著上升，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），说明转染成功，见图 1。

2.2 调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇耐药性的影响

MTS 结果表明，与对照组和 NC 组相比，

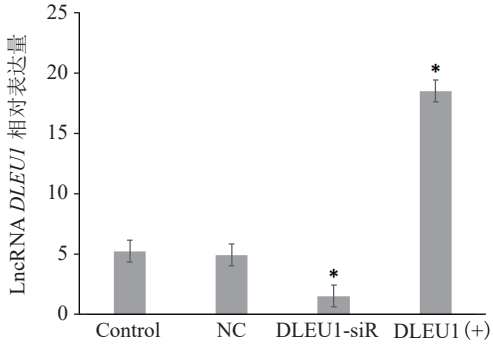
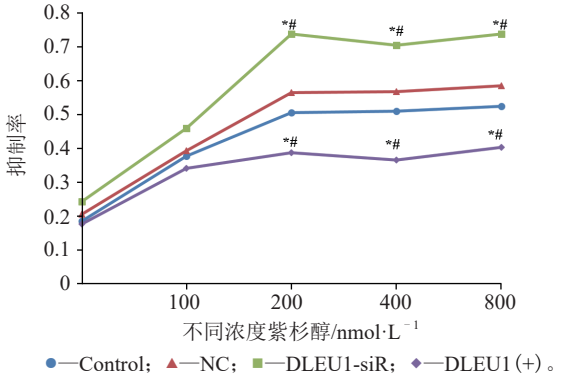


图 1 转染后各组细胞中 lncRNA *DLEU1* 的表达水平

Figure 1 The expression level of lncRNA *DLEU1* in each group of cells after transfection

DLEU1-siR 组 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇抑制率显著上升，而 DLEU1(+) 组抑制率显著下降，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），说明沉默 lncRNA *DLEU1* 表达增强了 SKOV3/TAX 细胞对紫杉醇的敏感性，上调 lncRNA *DLEU1* 表达则结果相反，见图 2。



注：与对照组相比，*$P < 0.05$；与 NC 组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the NC group, #$P < 0.05$.

图 2 调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 SKOV3/TAX 细胞紫杉醇耐药性的影响

Figure 2 Effect of regulating the expression of lncRNA *DLEU1* on paclitaxel resistance in SKOV3/TAX cells

2.3 调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 SKOV3/TAX 细胞凋亡的影响

流式细胞检测结果表明，DLEU1-siR 组细胞凋亡率为 16.8%，较对照组（5.9%）和 NC 组（6.9%）明显上升；DLEU1(+) 组细胞凋亡率为 3.4%，较

对照组和NC组明显下降，差异均具有统计学意义（$P<0.05$），说明沉默lncRNA *DLEU1*表达促进SKOV3/TAX细胞凋亡，上调lncRNA *DLEU1*表达则抑制其凋亡，见图3。

2.4 调控lncRNA DLEU1表达对SKOV3/TAX细胞侵袭的影响

Transwell细胞侵袭结果表明，DLEU1-siR组细胞穿膜数为（85±8）个，明显少于对照组［（135±16）个］和NC组［（129±12）个］；DLEU1(+)组细胞穿膜数为（189±15）个，明显多于对照组和NC组，差异均具有统计学意义（$P<0.05$），说明沉默lncRNA *DLEU1*表达抑制细胞侵袭，上调lncRNA *DLEU1*表达则结果相反，见图4。

2.5 lncRNA *DLEU1*与*miR-149*的靶向调控关系

Target Scan软件预测显示，lncRNA *DLEU1*序列中含有与*miR-149*互补的核苷酸序列（图5）。双荧光素酶报告基因显示，*miR-149*可降低WT-DLEU1的荧光素酶活性，而对MUT-DLEU1的荧光素酶活性无显著影响，说明lncRNA *DLEU1*与*miR-149*之间存在靶向结合位点，且两者呈负向调控，见表1。

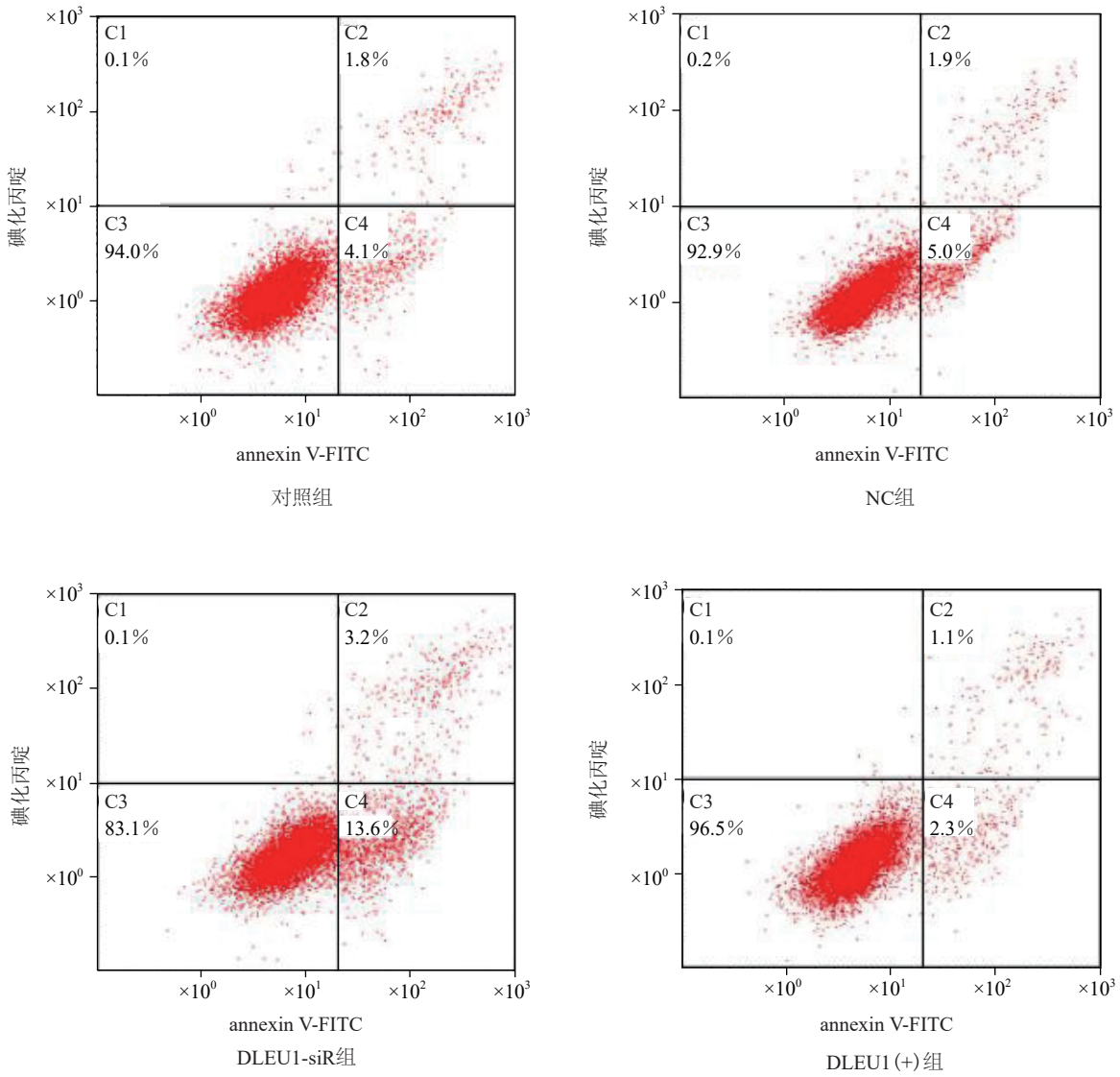


图3 调控lncRNA *DLEU1*表达对SKOV3/TAX细胞凋亡的影响

Figure 3 Effect of regulating expression of lncRNA *DLEU1* on the apoptosis of SKOV3/TAX cells

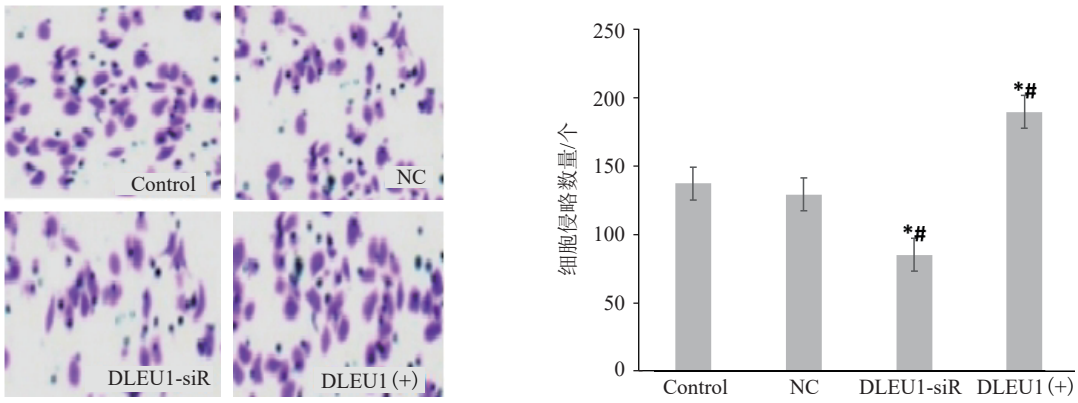


图 4　调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 SKOV3/TAX 细胞侵袭的影响

Figure 4　Effect of regulating expression of lncRNA *DLEU1* on the invasion of SKOV3/TAX cells

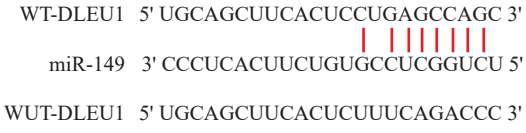


图 5　lncRNA *DLEU1* 的序列中与 *miR-149* 互补的核苷酸序列

Figure 5　Nucleotide sequence complementary to *miR-149* in the sequence of lncRNA *DLEU1*

表 1　双荧光素酶报告结果

Table 1　Dual luciferase report results

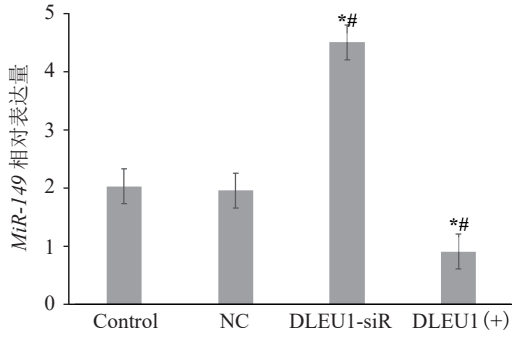
分组	WT-DLEU1	MUT-DLEU1
NC组	1.00±0.12	1.00±0.15
miR-149组	0.41±0.05	1.03±0.08
*t*值	17.432	0.508
*P*值	＜0.001	0.612

2.6　调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 *miR-149* 基因表达的影响

qRT-PCR 结果表明，与对照组和 NC 组相比，DLEU1-siR 组 *miR-149* 相对表达量显著升高，而 DLEU1(+) 组则显著下降，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），进一步证实了 lncRNA *DLEU1* 表达与 *miR-149* 呈负向调控，见图 6。

2.7　调控 lncRNA DLEU1 表达对 PI3K/AKT 蛋白表达的影响

WB 结果表明，与对照组和 NC 组相比，



注：与对照组相比，*$P < 0.05$；与 NC 组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the NC group, #$P < 0.05$.

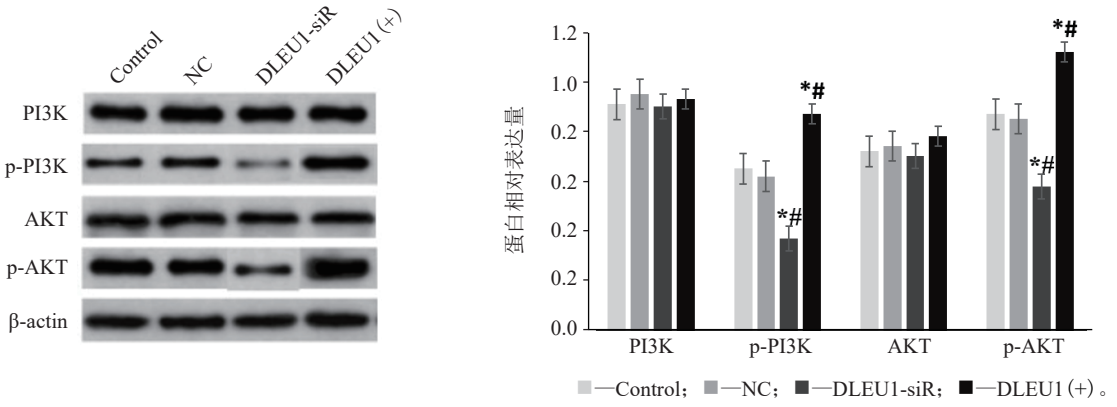
图 6　调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 *miR-149* 基因表达的影响

Figure 6　Effect of regulating the expression of lncRNA *DLEU1* on the expression of *miR-149* gene

DLEU1-siR 组 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达量显著下降，而 DLEU1(+) 组两蛋白表达量显著上升，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$）；调控 lncRNA DLEU1 表达对 PI3K 和 AKT 蛋白无显著影响（$P > 0.05$），提示 lncRNA DLEU1 可抑制 PI3K/AKT 磷酸化，见图 7。

3　讨论

卵巢癌早期缺乏明显症状，诊断时往往已发展成中晚期，容易错失最佳治疗时间，且卵巢因位置深入盆腔，在行根治手术时不易彻底清除，长期化疗易产生耐药性，导致后期复发率高，严重威胁女性健康[9]。因此，探究介导卵巢癌紫杉醇耐药性



注：与对照组相比，*$P < 0.05$；与 NC 组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the NC group, #$P < 0.05$.

图 7 调控 lncRNA *DLEU1* 表达对 PI3K/AKT 蛋白表达的影响

Figure 7 Effect of regulating expression of lncRNA *DLEU1* on the expression of PI3K/AKT protein

的信号通路，阐明其调控机制，对于降低卵巢癌紫杉醇耐药具有重要临床意义。研究发现，lncRNA *DLEU1* 具有强大的基因调节功能，尤其在各种肿瘤的进展和多种药物的耐药中起着重要作用，可能是肿瘤生物治疗的希望靶点[10]。Qiao 等[11]探讨了 lncRNA *DLEU1* 在胶质瘤中的生物学功能和对替莫唑胺化疗敏感性的影响，结果显示，与正常脑组织相比，lncRNA *DLEU1* 在神经胶质瘤中高表达，敲低 lncRNA *DLEU1* 可诱导细胞周期停滞在 G1 期，并通过下调 CyclinD1 和 p-AKT 蛋白来抑制增殖、迁移和侵袭；此外，沉默 lncRNA *DLEU1* 可通过触发细胞凋亡来提高胶质瘤细胞对替莫唑胺的敏感性。lncRNA *DLEU1* 有潜力成为神经胶质瘤对替莫唑胺敏感性治疗和预后的潜在生物标志物。Li 等[12]探讨了 lncRNA *DLEU1* 在调节膀胱癌细胞增殖、侵袭和化疗耐药性中的作用，结果发现，lncRNA *DLEU1* 在膀胱癌组织中表达上调，其高表达患者生存时间较短，敲低 lncRNA *DLEU1* 表达则能抑制膀胱癌细胞增殖、侵袭和顺铂耐药性，其作用机制可能为 lncRNA *DLEU1* 通过调节 miR-99b/HS3ST3B1 轴在膀胱癌顺铂耐药性方面发挥作用。此外，有研究[13]报道，lncRNA *DLEU1* 会通过调节 Akt 通路在肾细胞癌的发生和发展中发挥促癌作用，敲除 lncRNA *DLEU1* 可抑制肾癌细胞系的生长能力、迁移和侵袭，刺激细胞凋亡的线粒体途径，可能是肾细胞癌潜在的治疗靶点。目前关于 lncRNA *DLEU1* 在卵巢癌耐药细胞中的活性研究报道较少，其在卵巢癌细胞中起调控作用的信号通路仍不明确，还需进一步验证。

近年来研究[14-15]发现，基于 lncRNA 和 miRNA 的位置分布和序列相关性，它们之间存在较为复杂的调控关系，lncRNA 可能作为竞争性内源 RNA（competitive endogenous RNA，ceRNA）来调节 miRNA 的表达和生物学功能。Hao 等[16]探讨了 lncRNA 和 miRNA 在胃癌进展中的作用，结果显示，在转录水平上，lncRNA 能通过改变染色质修饰和稳定来调节 miRNA 的表达，从而诱导胃癌进展；而在转录后水平中，lncRNA 通过与 miRNA 完全结合产生 ceRNA 或促进蛋白质稳定来调节胃癌进展。为了探究卵巢癌中 lncRNA *DLEU1* 是否与某种 miRNA 存在一定的靶向关系，本研究利用生物信息学软件预测和双荧光素酶报告基因检测发现，lncRNA *DLEU1* 的序列中含有与 *miR-149* 互补的核苷酸序列，说明 lncRNA *DLEU1* 与 *miR-149* 之间存在靶向结合位点，经 qRT-PCR 验证，沉默 lncRNA *DLEU1* 表达则 *miR-149* 表

达上调，lncRNA *DLEU1* 过表达则 *miR-149* 下调，说明两者在卵巢癌紫杉醇耐药细胞中呈负向调控，因此，lncRNA *DLEU1* 可以靶向结合 *miR-149* 来调控卵巢癌紫杉醇耐药细胞的活性，但其具体作用机制尚不清晰。

PI3K/AKT 通路是调节肿瘤细胞增殖、侵袭和凋亡的经典信号通路，在影响肿瘤生物学过程中发挥重要作用[17-18]。Xu 等[19]探究了 *miR-149* 参与骨肉瘤生长和转移的分子机制，结果表明 *miR-149* 通过抑制 TWEAK/Fn14/PI3K/AKT 轴在骨肉瘤中发挥抑癌作用，并作为骨肉瘤患者的潜在治疗靶点。Nie 等[20]探讨了 *miR-149* 是否对视网膜神经节细胞数量和超微结构变化有影响，以及其作用于患有慢性青光眼小鼠模型的潜在机制，结果证实，*miR-149* 的下调伴随着视网膜神经节细胞数量的增加和超微结构改变的减少，其作用机制可能是通过上调青光眼小鼠的 β 细胞球蛋白激活 PI3K/Akt 信号通路，从而起到保护视网膜的作用。Ghods 等[21]在系统性红斑狼疮中构建了一个转录后基因表达调控的实质层，通过分析预测具有差异表达的 miRNA，结果发现 *hsa-miR-149-5p* 能通过下调系统性红斑狼疮患者的 ERbB3 而抑制 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路，可能成为狼疮活动的候选生物标记物。本研究经 WB 检测发现，lncRNA *DLEU1* 靶向结合 *miR-149* 后可抑制 PI3K/AKT 通路，从分子水平调控卵巢癌紫杉醇耐药细胞的活性。

4 结论

沉默 lncRNA *DLEU1* 表达能降低卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药性，抑制卵巢癌细胞增殖和侵袭，诱导凋亡，上调 lncRNA *DLEU1* 表达则结果相反，其作用机制可能为 lncRNA *DLEU1* 靶向结合 *miR-149* 抑制 PI3K/AKT 通路有关。

参考文献：

[1] Cao W, Chen HD, Yu YW, *et al*. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. Chin Med J(Engl), 2021, 134(7): 783-791.

[2] Chandra A, Pius C, Nabeel M, *et al.* Ovarian cancer: current status and strategies for improving therapeutic outcomes[J]. Cancer Med, 2019, 8(16): 7018-7031.

[3] 钱瑜华, 高燕, 张艳. 卵巢癌化疗耐药机制及治疗药物的研究进展[J]. 医学综述, 2022, 28(5): 929-933.

[4] 张杰, 刘索, 甘毅, 等. 非小细胞肺癌中lncRNA DLEU1的表达对肿瘤细胞转移的影响[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(23): 7-12.

[5] Zhang S, Y Guan, Liu X, *et al*. Long non-coding RNA DLEU1 exerts an oncogenic function in non-small cell lung cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109(5): 985-990.

[6] Wang C, Xie XX, Li WJ, *et al*. LncRNA DLEU1/microRNA-300/RAB22A axis regulates migration and invasion of breast cancer cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(23): 10410-10421.

[7] Zhao L, Liu L, Dong Z, *et al*. MiR-149 suppresses human non-small cell lung cancer growth and metastasis by inhibiting the FOXM1/cyclinD1/MMP2 axis[J]. Oncol Rep, 2017, 38(6): 1-10.

[8] Shan S, Lu Y, Zhang X, *et al*. Inhibitory effect of bound polyphenol from foxtail millet bran on miR-149 methylation increases the chemosensitivity of human colorectal cancer HCT-8/Fu cells[J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(2): 513-523.

[9] Zhang J, Xu M, Gao H, *et al*. Two protein-coding genes act as a novel clinical signature to predict prognosis in patients with ovarian serous cystadenocarcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 15(3): 3669-3675.

[10] Song C, Zhang J, Zhao Z, *et al*. DLEU1: a functional long noncoding RNA in tumorigenesis[J]. Curr Pharm Des, 2020, 26(15): 1-8.

[11] Qiao LL, Wang LC, Li DC, *et al*. Knockdown lncRNA DLEU1 inhibits gliomas progression and promotes temozolomide chemosensitivity by regulating autophagy[J]. Front Pharmacol, 2020, 11(1): 560543.

[12] Li Y, Shi B, Dong F, *et al*. Long non-coding RNA DLEU1 promotes cell proliferation, invasion, and confers cisplatin resistance in bladder cancer by regulating the miR-99b/HS3ST3B1 axis[J]. Front Genet, 2019, 10(6): 280-287.

[13] Yue G, Chen C, Bai L, *et al*. Knockdown of long noncoding RNA DLEU1 suppresses the progression of renal cell

carcinoma by downregulating the Akt pathway[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(5): 4551-4557.

[14] Yao Y, Ji B, Shi S, *et al*. IMDAILM: inferring miRNA-disease association by integrating lncRNA and miRNA data[J]. IEEE Access, 2020, 8: 16517-16527.

[15] Haryana SM. Long non-coding RNA(lncRNA) and microRNA(miRNA) in cancer management[J]. J Med Sci, 2017, 48(4): 35.

[16] Hao NB, He YF, Li XQ, *et al*. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(46): 81572-81582.

[17] Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, *et al*. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer[J]. Gene, 2019, 698(20): 120-128.

[18] Liu HY, Zhang YY, Zhu BL, *et al*. MiR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(10): 4149-4155.

[19] Xu RD, Feng F, Yu XS, *et al*. MiR-149-5p inhibits cell growth by regulating TWEAK/Fn14/PI3K/AKT pathway and predicts favorable survival in human osteosarcoma[J]. Int J Immunopathol Pharmacol , 2018, 32(1): 1-12.

[20] Nie XG, Fan DS, Huang YX, *et al*. Downregulation of microRNA-149 in retinal ganglion cells suppresses apoptosis through activation of the PI3K/Akt signaling pathway in mouse with glaucoma[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 315(6): 839-849.

[21] Ghods FJ, Sarikaya AT, Arda N, *et al*. *Hsa-miR-149-5p* diminish MAPK and PI3K/Akt signalling pathways through down-regulation of ERbB3 in SLE patients[J]. Mol Biol, 2018, 7(4): 1-8.

（编辑：刘玲玲）

本刊“医药专论”专题预告

早产儿固有免疫系统、体液免疫系统和细胞免疫系统均不成熟，且缺乏来自母体的抗体，抵抗力弱，感染风险较高，故早产儿抗感染药物合理应用十分关键。由首都医科大学附属北京儿童医院**王晓玲**教授组织撰稿的**临床药师参与早产儿抗感染药物治疗的研究**一文结合长沙市妇幼保健院会诊病例，总结分析了临床药师参与早产儿抗感染药物治疗的相关文献；**早产儿感染风险与防控**一文针对可能的危险因素，从家庭、医院两方面的防控措施，分析降低早产儿感染风险，改善临床结局，提高生活质量的过程；**早产儿败血症的临床诊治研究进展**一文对早产儿败血症的诊断、实验室检查、病原菌分布及药物治疗进行探讨，为早产儿败血症的诊治提供参考依据；**早产儿巨细胞病毒感染治疗研究进展**一文对近年早产儿巨细胞病毒感染的流行病学、感染筛查、高风险患者早期识别、治疗指征评估、给药方案和疗程等进行综合分析，以期为临床实践提供参考。

敬请关注本刊近期发表的由首都医科大学附属北京儿童医院**王晓玲**教授组织撰稿的**早产儿抗感染药物治疗研究进展**专题。