DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.13.005
文章编号：1005-8982（2024）13-0028-13

实验研究·论著

LncRNA ZEB2-AS1联合亲本基因ZEB2在卵巢癌SKOV3细胞中的作用及其机制研究*

董辉[1]，王晶[2]，杨丹[3]，丁永慧[4]
（宁夏医科大学总医院 1.医学科学研究院，2.病理科，宁夏 银川 750004；3.宁夏医科大学第一临床医学院，宁夏 银川 750004；4.宁夏医科大学总医院妇科，宁夏 银川 750004）

摘要：目的 探索LncRNA ZEB2-AS1联合亲本基因ZEB2在卵巢癌SKOV3细胞中的功能及可能的机制。**方法** 原位杂交和免疫组织化学分别检测ZEB2-AS1和ZEB2在卵巢癌组织中的表达；建立ZEB2-AS1的过表达和沉默SKOV3细胞模型；CCK-8法检测细胞增殖能力；流式细胞术检测细胞凋亡和周期；细胞免疫荧光和Western blotting检测上皮-间充质相互作用（EMT）相关蛋白的表达；双萤光素酶基因报告实验检测ZEB2-AS1与ZEB2、microRNA-145（miR-145）的结合关系。**结果** ZEB2-AS1和ZEB2均表达于卵巢癌组织中的细胞质和细胞核；相比SKOV3细胞，ZEB2-AS1过表达的SKOV3细胞增殖能力增强（$P<0.05$），凋亡能力减弱（$P<0.05$），侵袭和迁移能力增强（$P<0.05$），S期细胞数增加（$P<0.05$），G_1期细胞数减少（$P<0.05$）；EMT相关蛋白E-cadherin相对表达量降低（$P<0.05$），N-cadherin和Vimentin相对表达量升高（$P<0.05$）；而ZEB2-AS1沉默的SKOV3细胞则相反。双萤光素酶报告实验结果证实，ZEB2-AS1和miR-145具有结合关系，ZEB2-AS1与ZEB2 mRNA具有结合关系。**结论** LncRNA ZEB2-AS1联合亲本基因ZEB2在卵巢癌SKOV3细胞中发挥促EMT的功能作用。

关键词： 卵巢癌；LncRNA ZEB2-AS1；ZEB2；上皮-间充质相互作用
中图分类号： R737.31　　**文献标识码：** A

Functional study of LncRNA ZEB2-AS1 and parental gene ZEB2 in promoting epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer SKOV3 cells*

Dong Hui[1], Wang Jing[2], Yang Dan[3], Ding Yong-hui[4]
(1. Institute of Medical Sciences, 2.Department of Pathology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. First Clinical Medical College, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 4. Department of Gynecology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

Abstract: Objective To explore the function and potential mechanism of LncRNA ZEB2-AS1 combined with its parental gene ZEB2 in ovarian cancer SKOV3 cells. **Methods** In situ hybridization and immunohistochemistry were used to detect the expression of ZEB2-AS1 and ZEB2 in ovarian cancer tissues. SKOV3 cell models with ZEB2-AS1 overexpression and silencing were established. Cell proliferation was measured using the CCK-8 assay. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis and cycle. Epithelial-mesenchymal

收稿日期：2024-01-27
* 基金项目：宁夏自然科学基金（NO：2023AAC03601）；宁夏回族自治区重点研发计划（NO：2019BEH03005）
[通信作者] 丁永慧，E-mail：13995105311@163.com

transition (EMT)-related protein expression was assessed through immunofluorescence and Western blotting. Dual-luciferase gene reporter assays were performed to confirm the binding relationship between ZEB2-AS1, ZEB2, and microRNA-145 (miR-145). **Results** ZEB2-AS1 and ZEB2 were expressed in the cytoplasm and nucleus of ovarian cancer tissues. Compared with SKOV3 cells, ZEB2-AS1 overexpressing SKOV3 cells showed increased proliferation ($P < 0.05$), reduced apoptosis ($P < 0.05$), enhanced invasion and migration ($P < 0.05$), increased S-phase cells ($P < 0.05$), and decreased G_1 phase cells ($P < 0.05$). EMT-related protein expression showed a decrease in E-cadherin ($P < 0.05$) and an increase in N-cadherin and Vimentin ($P < 0.05$). Conversely, ZEB2-AS1 silenced SKOV3 cells exhibited opposite trends. Dual-luciferase reporter assay confirmed the binding relationship between ZEB2-AS1 and miR-145, as well as between ZEB2-AS1 and ZEB2 mRNA. **Conclusions** LncRNA ZEB2-AS1 combined with its parental gene ZEB2 promotes EMT in ovarian cancer SKOV3 cells.

Keywords: ovarian cancer; LncRNA ZEB2-AS1; ZEB2; epithelial-mesenchymal transition

卵巢癌是严重威胁女性健康的恶性肿瘤，5 年生存率<45%[1]。卵巢癌根据组织来源不同，分为上皮性卵巢癌、生殖细胞肿瘤、性索间质-支持细胞肿瘤、转移性肿瘤。上皮性卵巢癌占卵巢恶性肿瘤的 90% 以上[2]。由于卵巢组织体积小，且位于盆腔深部，患病后往往症状隐匿，缺乏早期筛查和诊断的方法，且卵巢表面无腹膜覆盖，早期容易发生转移，即使采取非常积极的治疗手段，卵巢癌的复发转移率仍然很高，预后极差。上皮性卵巢癌发生及转移的分子机制一直是肿瘤生物学家研究的热点和难点。近年来研究表明，长链非编码 RNA（longnon codingRNA, lncRNA）以 RNA 的形式在多种层面上调控基因的表达水平，参与卵巢癌细胞生物学功能和耐药等方面[3]。

ZEB2-AS1 失调可导致肿瘤发生和癌症进展，可以作为人类癌症的诊断标志物或治疗靶标[4]。已有研究证实，ZEB2-AS1 在多个肿瘤中过表达，且与预后等临床特征密切相关，包括头颈部鳞状细胞癌[5]、肝癌[6]、前列癌[7]、胰腺癌[8]及结直肠癌[9]。但是其在上皮性卵巢癌中的功能作用尚未见报道。ZEB2-AS1 基因位于 2 号染色体，全长 430 bp，与其亲本基因 ZEB2 部分序列互补配对。基于癌症基因组图谱数据库中的正常和肿瘤组织数据发现，ZEB2 可能是卵巢癌一个潜在的诊断和治疗靶点[10]。有研究报道，ZEB2-AS1 的直接靶基因有 ZEB2[11]。因此，本文通过对上皮性卵巢癌组织样本进行 ZEB2-AS1 和 ZEB2 的表达分析，并验证 ZEB2-AS1 在卵巢癌细胞中的功能，以及与亲本基因 ZEB2 的相互关系。

1　材料与方法

1.1　材料

SKOV3 细胞购自中国科学院（上海）细胞库，DMEM 培养基购自北京索莱宝科技有限公司，流式细胞仪购自美国 Agilent 公司，倒置相差显微镜购自日本 Olympus 公司，细胞凋亡检测试剂盒购自沈阳万类生物科技有限公司，丝裂霉素 C 购自美国 Sigma-Aldrich 公司，E-cadherin、Vimentin、N-cadherin 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司，ZEB2 抗体购自美国 Abcam 公司，甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）抗体购自美国 ProteinTech 公司。

1.2　方法

1.2.1　细胞培养与分组　SKOV3 细胞用含血清的培养基于 37 ℃，5% 二氧化碳培养箱内培养。构建用于慢病毒稳定过表达或者沉默 ZEB2-AS1 的细胞株，以 SKOV3 细胞的 MOI 值为 10 加入慢病毒载体，摇动培养板，轻轻混匀，37 ℃、5% 二氧化碳条件下培养 24 h。弃含病毒液的培养基上清，更换为完全培养基，37 ℃、5% 二氧化碳条件下继续培养。以嘌呤霉素（6 μg/mL）完成筛选，建立稳转细胞系用于后续实验。实验分为空白对照组（Control 组），沉默阴性对照组（Len-NC 组），lncRNA ZEB2-AS1 沉默组（Len-shZEB2-AS1 组），过表达空病毒对照组（Len-Vector 组），lncRNA ZEB2-AS1 过表达组（Len-ZEB2-AS1 组）。ZEB2-AS1 过表达载体在载体中重组 ZEB2-AS1 序列（NR_040248.2），沉默表达则在载体中加入 ShRNA 序列，正向：5'-TGGCATCTTAGGGCATGTGTATTTTCAAGAGAAATACACATGCCCTAAGATCTTTTTTC-3'，反向：5'-TCGAGAAAAAATACAGTACTGTGATAACTGAATCTCTTGAAAATACACATGCCCTAAG

ATGCCA-3'，所有载体均由上海汉恒生物有限公司构建。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应（quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR） 采用TRIpure试剂盒提取总RNA，以Super M-MLV逆转录酶完成cDNA制备。lncRNA的逆转录以oligo（dT）15和random引物完成，β-actin为内参基因。miRNA以颈环RT Primer完成。qRT-PCR体系为：cDNA模板1 μL，正反向引物（10 μmol/L）各0.5 μL，SYBR GREEN mastermix 10 μL，用ddH_2O补足至20 μL。扩增参数为：95 ℃预变性2 min，95 ℃变性15 s，55 ℃扩增15 s，72 ℃延伸15 s，共40个循环；65～94 ℃分析熔解曲线，每个孔设3次重复，取平均值，基因差异表达分析采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$相对表达定量方法。将ZEB2-AS1与ZEB2的过表达载体共转染到293T细胞中48 h后，从细胞中提取RNA，37 °C孵育1 h后再用RNase Ase酶处理30 min。用RNase Ase酶消化单链RNA，使用RNeasy Kit提取剩余的双链RNA，特异性引物用于测量非重叠或重叠（NR_040248.2：62-213 bp）RNA区域，并通过qRT-PCR分析表达情况（见表1）。

表1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
ZEB2-AS1	正向：5'-CTGGGCTGGATAGCAAAGGA-3' 反向：5'-CGACACTCTTGGCGAGGTTT-3'	167
β-actin	正向：5'-CACTGTGCCCATCTACGAGG-3' 反向：5'-TAATGTCACGCACGATTTCC-3'	155
非重叠区（ZEB2-AS1）	正向：5'-CACCTATCTTTGTGGGGAGGG-3' 反向：5'-CACACACCCTAATACCATGCC-3'	109
非重叠区（ZEB2）	正向：5'-CTGAAACACGCGCCACCTAT-3' 反向：5'-CACACCCTAATACACATGCCC-3'	120
重叠区	正向：5'-CATGAAGAAGCCGCGAAGTG-3' 反向：5'-GAATAACGGTCCTGCCTCCC-3'	112

1.2.3 CCK-8法和流式细胞术检测细胞增殖能力与凋亡 收集细胞并将密度调整为3×10^4个/mL，按实验分组将细胞接种于96孔板中，每孔细胞量3×10^3个，体积为100 μL，每组设置5个复孔。待细胞贴壁后分别于24、48、72和96 h用CCK-8细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒检测。每孔更换为100 μL培养基和10 μL CCK-8试剂，在37 ℃，5%二氧化碳培养箱内培养2 h，用酶标仪测定其450 nm波长处光密度（optical density, OD）值，并进行数据分析。每个组重复5孔，实验重复3次。按照Annexin V-Light 650/PI细胞凋亡检测试剂盒说明书，每组收集细胞数为1×10^6个/mL。1 000 r/min离心5 min，弃去培养液，用PBS洗涤1次，500 μL Binding buffer重悬细胞，加入5 μL Annexin V-Light 650混匀后，加入10 μL Propidium Iodide混匀，室温避光反应15 min，上流式细胞仪分析。细胞凋亡率=Annexin V+PI-和Annexin V+PI+2个象限的细胞/总细胞数×100%。每个组重复5次独立样本检测，实验重复3次。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期 按照细胞周期检测试剂盒说明书进行操作，离心收集细胞，用PBS洗涤细胞，加入预冷70 %乙醇，4 ℃固定过夜。将固定后的细胞2 000 r/min，离心3 min，弃上清液，PBS清洗2次。加入100 μL RNase A，37 ℃水浴30 min。加入500 μL的Propidium Iodide染色液，4 ℃避光30 min。采用流式细胞仪分析。每个组重复5次独立样本检测，实验重复3次。

1.2.5 细胞迁移与侵袭实验 各组细胞用200 μL枪头造成细胞划痕，清洗细胞并去除细胞碎片，按0和48 h观察并拍照，记下照片中细胞的位置。记录细胞迁移率=（0 h边缘距离-48 h边缘距离）/0 h边缘距离×100%。每个样本选取5个视野计算迁移距离，取均数，实验重复3次。培养所需实验组细胞并制成细胞悬液。将Transwell小室包被好置入24孔板中，下室加入含10% FBS的培养液800 μL，上室加入不同组别的细胞，均为2×10^4个/孔的细胞悬液，体积为200 μL，置于细胞培养箱。24 h后，取出并将Transwell小室进行清洗，固定后染色5 min，蒸馏水冲洗。每个样本取5个视野计数，取均数，实验重复3次。

1.2.6 Western blotting与免疫组织化学检测 稀释蛋白样品并制备为上样液。据蛋白分子量大小，以分离胶完成电泳并湿转至PVDF膜，封闭2 h，以不同的一抗条件进行4 ℃过夜孵育，比例为ZEB2 antibody（1∶1 000），E-cadherin antibody（1∶1 000），Vimentin antibody（1∶1 000），N-cadherin antibody（1∶1 500），GAPDH antibody（1∶10 000）。清洗后进行二抗的孵育，羊抗兔IgG-HRP（1∶5 000），再次清洗后

进行 New-SUPER ECL 检测试剂盒成像。条带以 Image J 软件进行灰度分析进行数据统计。卵巢癌生存期 HOvaC154Su01 组织芯片完成 ZEB2 的免疫组织化学分析。组织芯片以 3% H_2O_2 室温孵育 5 min。蒸馏水冲洗，PBS 浸泡 5 min，5% 山羊血清封闭，室温孵育 10 min，倾去血清，滴加 ZEB2 一抗工作液（1∶500），37 ℃孵育 2 h，PBS 冲洗 5 min，重复 3 次。滴加 100 μL 生物素标记二抗工作液，37 ℃孵育 30 min。PBS 冲洗 5 min，重复 3 次。滴加 100 μL HRP 标记的链霉素工作液，37 ℃孵育 30 min。PBS 冲洗 5 min，重复 3 次。DAB 显色剂显色 10 min，自来水充分冲洗，复染，脱水，透明，封片。数字化 IHC 微阵列是用奥林巴斯载玻片扫描仪获得。原始实验数据的判读方式以双人工读取，判读抗体的胞浆染色的染色强度[（-）、（+）、（++）、（+++）]和染色阳性率（0% ~ 100%）。“染色强度”计分：“0”计 0 分，“0 ~ 1”计 0.5 分，“1”计 1.0 分；“1 ~ 2”计 1.5 分，“2”计 2.0 分，“2 ~ 9”计 2.5 分，“3”计 3.0 分；染色阳性率则为染色阳性细胞占总细胞的比例，以染色强度计分和染色阳性率计分的乘积为总分。

1.2.7　探针杂交　卵巢癌生存期 HOvaC154Su01 组织芯片完成 ZEB2-AS1 的杂交分析。探针参照 NR_040248.2 序列，设计并合成地高辛标记的探针。实验过程：将组织芯片放入烘箱中，温度调至 63 ℃，烘蜡 1 h，以二甲苯，70% ~ 100% 梯度酒精脱蜡，PBS 溶液清洗后 5 μg/mL 蛋白酶 K37 ℃消化玻片 2 min，PBS 洗片 2 次。再次以 70% ~ 100% 梯度酒精脱水，每张玻片上滴加 20 μL 杂交液（200 nm 稀释度），盖上盖玻片，胶水封片，50 ℃杂交 1 h。用镊子小心地把撕掉封片胶，玻片用 0.2 ~ 5.0 倍的 SSC 溶液洗片，甩干后滴加 1 × Block Buffer 进行封闭；除去 1 × Block Buffer，滴加 1∶800 稀释的 anti-DIG-AP Fab fragments，4 ℃过夜。冰箱取出玻片，室温复温 45 min，PBST 缓冲液清洗。按 BCIP/NBT Sub-strate kit 说明书要求配置显色工作液，30 ℃、避光反应显色；显色结束后 PBST 清洗玻片，室温晾干玻片，中性树脂封片。

1.2.8　细胞免疫荧光染色　各组细胞制作细胞玻片后并进行固定，清洗后滴加 0.1% Triton X-100 至完全覆盖细胞室温孵育，清洗后继续滴加血清。一抗 ZEB2，E-cadherin，Vimentin，N-cadherin 用 PBS 按 1∶50 稀释，4 ℃过夜。取出玻片盒，恢复室温，滴加荧光二抗，稀释比例为 1∶200，滴加至完全覆盖细胞，室温孵育。浸泡于 PBS 清洗后滴加 DAPI，进一步去除 DAPI 后滴加抗荧光淬灭剂于载玻片上，并进行封片。于正置荧光显微镜下拍照。采用 Image J 软件完成平均荧光强度分析，对特异性蛋白表达进行半定量分析。

1.2.9　双萤光素酶基因报告实验　合成 ZEB2-AS1-wt 连接至 pSI-Check2 载体，针对 miR-145-5p 的结合位点进行突变，合成及 ZEB2-AS1-mu 序列连接至 pSI-Check2 载体。合成 ZEB2-3'-UTR-wt 连接至 pSI-Check2 载体，针对 miR-145-5p 的结合位点进行突变，合成及 ZEB2-3'-UTR -mu 序列连接至 pSI-Check2 载体。293T 细胞接种至 96 孔板，密度达 50% ~ 70% 为宜。配制溶液 A 及溶液 B 并将其混匀，室温放置 20 min。细胞换液之后加入转染试剂。37 ℃，5% 二氧化碳条件下培养 6 h 后去除原培养基并加入培养基，48 h 后收集细胞检测。实验重复 3 次。将 ZEB2 的 8-163bp 序列克隆在 pMiR Report 载体的 Luciferase 的下游，然后与 ZEB2-AS1 共转染到 293T 细胞中，采用萤光素酶报告基因检测试剂盒测定荧光素酶活性，报告基因验证。

1.3　统计学方法

数据分析采用 GraphPad Prism 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，比较用 t 检验或单因素方差分析或重复测量设计的方差分析，两两比较用 LSD-t 检验；计数资料以构成比或率（%）表示，比较用 χ^2 检验。P <0.05 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　ZEB2-AS1 及其 ZEB2 在卵巢癌组织中的表达

去掉卵黄囊瘤、无性细胞瘤、脱片或部分脱片及未取癌组织的免疫组织化学芯片位点，实际纳入统计的卵巢癌组织 135 例。ZEB2-AS1 在卵巢癌组织中广泛表达，在细胞质和细胞核中均有分布（见图 1）。ZEB2 蛋白在几种上皮性卵巢癌组织中广泛表达，在细胞质和细胞核中均有分布（见图 2）。ZEB2 蛋白无论在细胞质还是细胞核中的表达，其高表达的无病生存期和总生存期较短（P <0.05），低表达的无病生存期和总生存期较长（P <0.05）（见图 3 和

表 2）。不同肿瘤大小，临床分期患者的 ZEB2 蛋白在细胞核中的表达有差异（P <0.05）（见表 3、4）。

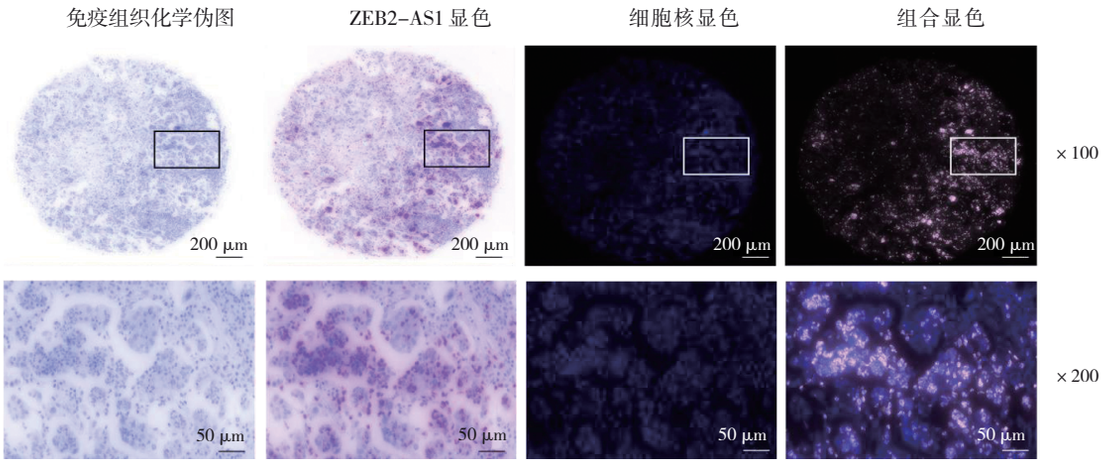


图 1　杂交法检测 ZEB2-AS1 在卵巢癌组织中的表达

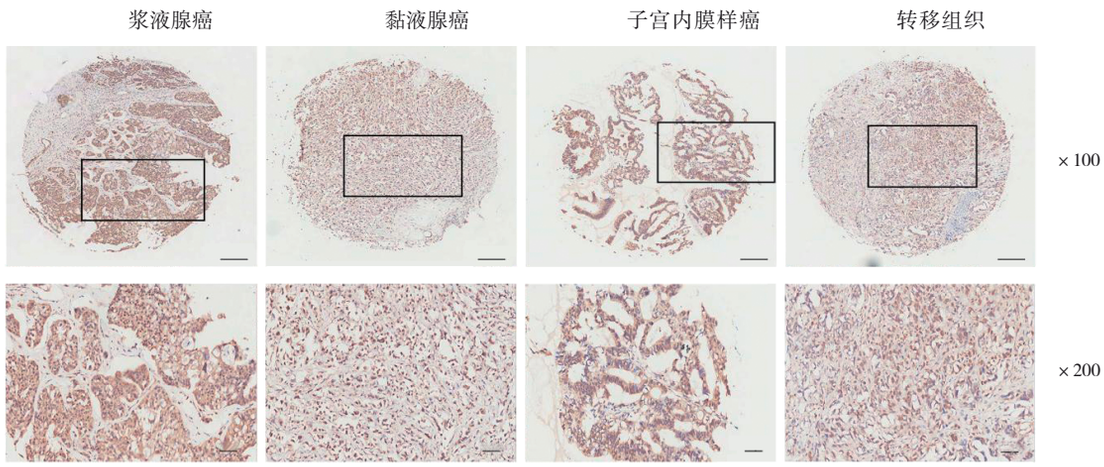


图 2　免疫组织化学检测 ZEB2 蛋白在卵巢癌组织中的表达

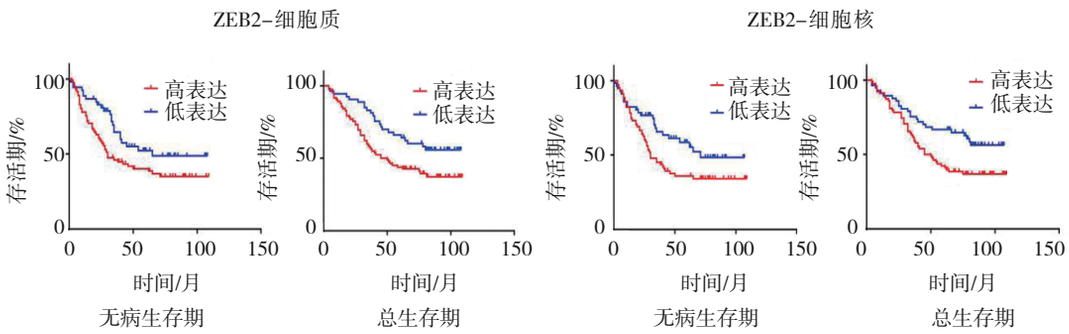


图 3　ZEB2 蛋白在细胞质和细胞核中表达的生存分析

2.2　ZEB2-AS1 对卵巢癌细胞增殖、凋亡、周期、侵袭及迁移的影响

针对 SKOV3 细胞做 ZEB2-AS1 的过表达和干预模型，结果显示：各组 ZEB2-AS1 相对表达量比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（F = 169.000，P =0.000）。Len-shZEB2-AS1 组 ZEB2-AS1 相对表达量（0.307 ± 0.061）低于 Control 组（1.043 ± 0.041）（P <0.05）；Len-ZEB2-AS1 组 ZEB2-AS1 相对表达量（6.133 ± 0.695）高于 Control 组（P <0.05）。提示模型构建成功。

各组细胞 48、72、96 h 的 OD 值比较，经重复测量设计的方差分析，结果：①不同时间点 OD 值比

表 2　细胞质和细胞核中 ZEB2 蛋白与生存期关系

ZEB2 表达	生存期类型	组别	*n*	死亡数	生存期中位数/月	95% CI	Log rank	*P* 值
细胞质	无病生存期	高表达	82	50	30	24，65	4.428	0.035
		低表达	53	23	65	40，NA		
	总生存期	高表达	82	50	47.5	35，NA	5.986	0.014
		低表达	53	23	NA	99，NA		
细胞核	无病生存期	高表达	78	49	30	2，50	4.454	0.035
		低表达	57	24	71	45，NA		
	总生存期	高表达	78	49	47.5	37，75	6.044	0.014
		低表达	57	24	NA	78，NA		

注：NA 表示不适用。

表 3　不同临床特征患者 ZEB2 蛋白在细胞质中的表达　例

临床特征	低表达	高表达	χ^2 值	*P* 值
分级†				
Ⅰ、Ⅱ	8	14	0.001	0.979
Ⅲ	33	57		
临床分期（第 7 版）				
2	15	23	0.104	0.747
3	30	38		
4	8	21		
肿瘤大小				
≤ 5 cm	8	9	0.496	0.481
> 5 cm	45	73		
是否复发				
是	43	68	0.071	0.790
否	10	14		

注：†记录Ⅰ～Ⅲ级分级的标本仅有 112 份。

表 4　不同临床特征患者 ZEB2 蛋白在细胞核中的表达　例

临床特征	低表达	高表达	χ^2 值	*P* 值
分级†				
Ⅰ、Ⅱ	12	10	2.673	0.102
Ⅲ	32	58		
临床分期（第 7 版）				
2	18	20	4.001	0.045
3	32	36		
4	7	21		
肿瘤大小				
≤ 5 cm	11	6	4.030	0.045
> 5 cm	46	72		
是否复发				
是	45	66	0.724	0.395
否	12	12		

注：†记录Ⅰ～Ⅲ级分级的标本仅有 112 份。

较，差异有统计学意义（F =4.772，P =0.000）；②各组 OD 值比较，差异有统计学意义（F =125.400，P = 0.000），Len-shZEB2-AS1 组 OD 值降低，Len-ZEB2-AS1 组 OD 值升高；③各组 OD 值变化趋势比较，差异有统计学意义（F =4.382，P =0.000）。见表 5。

表 5　各组细胞不同时间点 OD 值比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	48 h	72 h	96 h
Control 组	0.630 ± 0.076	0.908 ± 0.142	0.979 ± 0.105
Len-NC 组	0.622 ± 0.054	0.926 ± 0.076	1.030 ± 0.112
Len-shZEB2-AS1 组	0.425 ± 0.071	0.603 ± 0.108	0.645 ± 0.094
Len-Vector 组	0.637 ± 0.065	0.850 ± 0.055	0.995 ± 0.085
Len-ZEB2-AS1 组	0.845 ± 0.062	1.326 ± 0.095	1.376 ± 0.180
F 值	15.260	20.531	13.990
P 值	0.000	0.000	0.000

细胞凋亡结果显示：各组的细胞凋亡率比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（F = 2 143.000，P =0.000）。Len-shZEB2-AS1 组细胞凋亡率（22.780 ± 0.389）%高于 Control 组（3.775 ± 0.570）%（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组细胞凋亡率（1.323 ± 0.140）%低于 Control 组（P <0.05）（见图 4）。

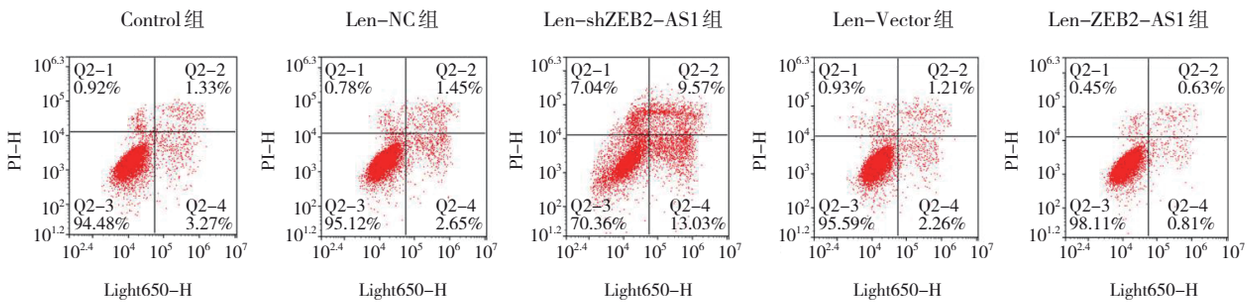


图 4　各组流式细胞图

细胞周期结果显示：各组的细胞 G_1 期和 S 期细胞比例比较，经单因素方差分析，差异均有统计学意义（P <0.05）。Len-shZEB2-AS1 组 G_1 期细胞数量大于 Control 组（P <0.05），S 期细胞比例小于 Control 组（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组 G_1 期细胞数量小于 Control 组（P <0.05），S 期细胞数量大于 Control 组（P <0.05）（见表 6 和图 5）。

细胞侵袭结果显示：各组的侵袭细胞个数比较，经单因素方差分析，差异有统计意义（F = 56.360，P =0.000）。Len-shZEB2-AS1 组侵袭细胞数（27.000 ± 2.646）个/HP 小于 Control 组（51.000 ± 7.000）个/HP（P <0.05）；Len-ZEB2-AS1 组侵袭细胞数（90.670 ± 7.042）个/HP 大于 Control 组（P <0.05）（见图 6）。

表 6　不同分组的细胞周期比例的比较　（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	G_1 期	S 期
Control 组	50.092 ± 3.693	24.982 ± 1.818
Len-NC 组	50.931 ± 3.394	23.170 ± 1.740
Len-shZEB2-AS1 组	67.404 ± 1.866	12.155 ± 0.558
Len-Vector 组	52.373 ± 1.064	21.373 ± 2.241
Len-ZEB2-AS1 组	36.093 ± 1.951	37.912 ± 1.440
F 值	55.100	93.400
P 值	0.000	0.000

细胞划痕结果显示：各组的细胞迁移率比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（F =39.750，P =0.000）。Len-shZEB2-AS1 组细胞迁移率

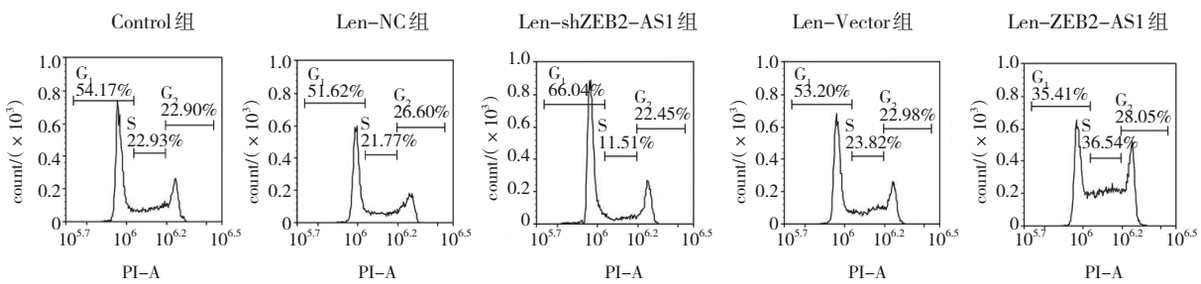


图 5　各组细胞周期

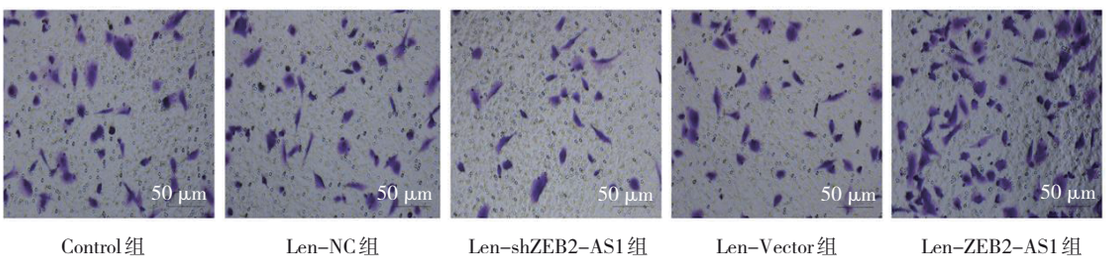


图 6　各组细胞侵袭情况　（×200）

（20.874 ± 4.130）% 低于 Control 组（45.812 ± 2.361）%（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组细胞迁移率（67.022 ± 3.717）%高于 Control 组（P <0.05）（见图 7）。

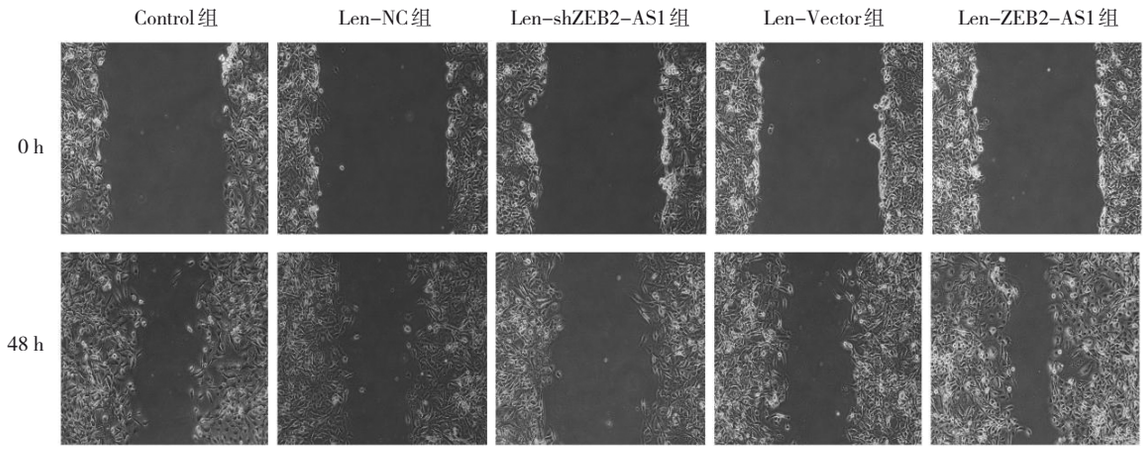


图 7　各组细胞迁移情况　（× 100）

2.3　ZEB2-AS1 与亲本基因 ZEB2 的表达关系

细胞免疫荧光实验结果显示：各组的 ZEB2 蛋白荧光强度比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（P <0.05），Len-shZEB2-AS1 组 ZEB2 蛋白荧光强度低于 Control 组（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组蛋白荧光强度高于 Control 组（P <0.05）（见图 8 和表 7）。

Western blotting 检测结果：各组 ZEB2 蛋白相对表达量比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（P <0.05）。Len-shZEB2-AS1 组 ZEB2 蛋白相对表达量低于 Control 组（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组蛋白相对表达量高于 Control 组（P <0.05）（见表 7 和图 9）。

双萤光素酶报告实验结果显示，ZEB2-AS1 与 miR-145-5p 之间：各组荧光强度比值比较，经单因素方差分析，差异有统计学意义（F =61.88，P =0.000）。miR-145-5p + ZEB2-wt 相比于 NC mimics + ZEB2-wt 组荧光强度比值下调（P <0.05。ZEB2 和 miR-145-5p 之间：各组荧光强度比值比较，差异有统计学意义（F =88.30，P =0.000）；miR-145-5p + ZEB2-AS1-wt 相比于 NC mimics + ZEB2-AS1-wt 组荧光强度比值下调（P <0.05）（见表 8）。ZEB2 mRNA 序列第 8-163bp 与

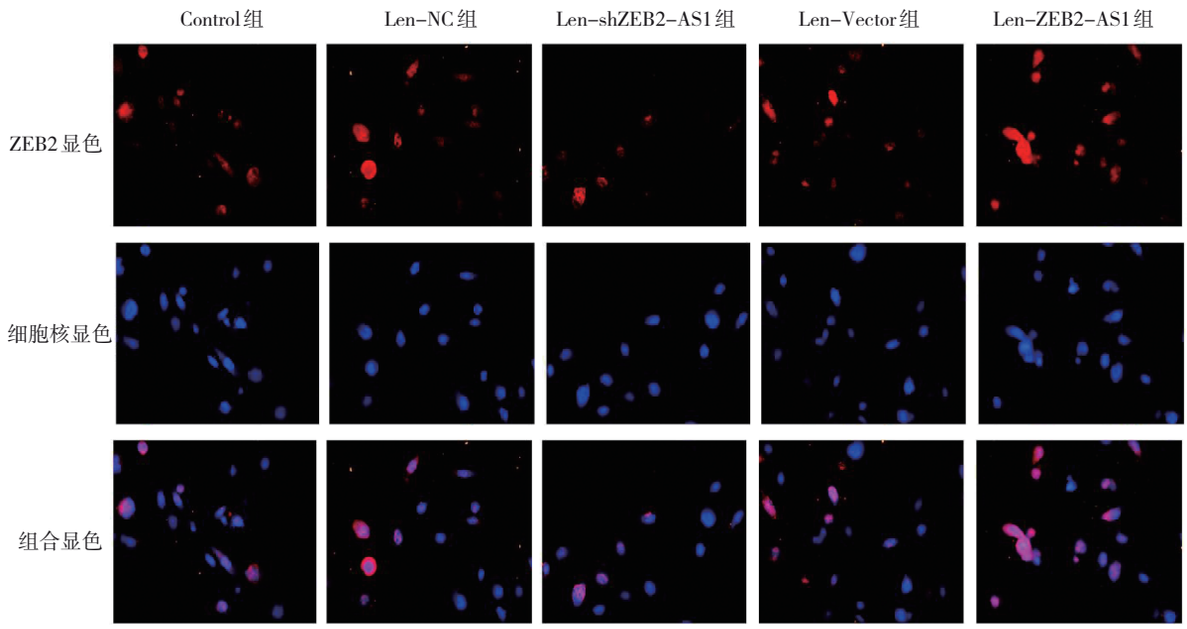
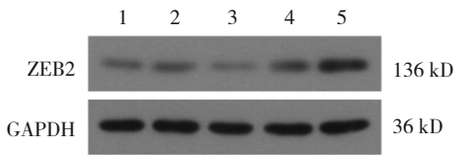


图 8　细胞免疫荧光检测 ZEB2 蛋白在细胞中的表达情况　（× 400）

表 7 各组的ZEB2蛋白荧光强度和蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ZEB2蛋白荧光强度/AU	ZEB2蛋白相对表达量
Control组	17 023.0 ± 389.5	0.180 ± 0.020
Len-NC组	18 044.0 ± 444.4	0.177 ± 0.025
Len-shZEB2-AS1组	7 159.0 ± 346.5	0.073 ± 0.025
Len-Vector组	16 533.0 ± 916.0	0.223 ± 0.021
Len-ZEB2-AS1组	33 477.0 ± 549.0	0.560 ± 0.044
*t*值	836.700	129.400
*P*值	0.000	0.000



1：Control 组；2：Len-NC 组；3：Len-shZEB2-AS1 组；4：Len-Vector组；5：Len-ZEB2-AS1组。

图 9 ZEB2蛋白表达

表 8 双萤光素酶报告实验检测的相对活性值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	相对活性
NC mimics + ZEB2-AS1-wt	1.067 ± 0.061
miR-145-5p + ZEB2-AS1-wt	0.273 ± 0.040
NC mimics + ZEB2-AS1-mu	1.103 ± 0.100
miR-145-5p+ ZEB2-AS1-mu	1.097 ± 0.085
NC mimics + ZEB2-wt	1.120 ± 0.108
miR-145-5p+ ZEB2-wt	0.323 ± 0.025
NC mimics + ZEB2-mu	1.083 ± 0.055
miR-145-5p+ ZEB2-mu	1.117 ± 0.120

ZEB2-AS1 序列第 59-214bp 之间存在互相配对关系。RNase Ase 酶消化后 ZEB2-AS1 与 ZEB2 的重叠区序列表达检测结果显示：重叠区与非重叠区 ZEB2-AS1 和 ZEB2 mRNA 相对表达量比较，经 *t* 检验，差异均有统计学意义（P <0.05），重叠区 ZEB2-AS1 和 ZEB2 mRNA 相对表达量高于非重叠区（见表 9）。

双萤光素酶报告实验结果：ZEB2-AS1 + pMiR Report 和 ZEB2-AS1 + pMiR Report ZEB2 的荧光强度比值分别为（1.093 ± 0.023）和（0.260 ± 0.046），经 *t* 检验，差异有统计学意义（t =28.130，P =0.000），ZEB2-AS1 + pMiR Report ZEB2荧光强度比值较ZEB2-AS1 + pMiR Report组显著下调。

表 9 重叠区与非重叠区 ZEB2-AS1 与 ZEB2 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

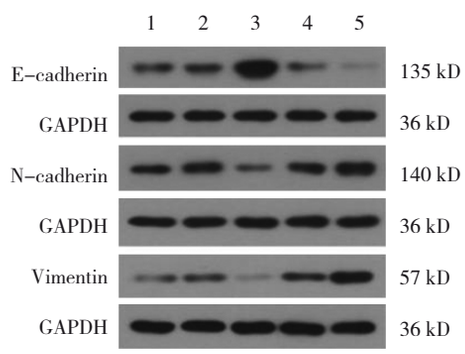
组别	ZEB2-AS1 mRNA	ZEB2 mRNA
重叠区	1.867 ± 0.201	1.902 ± 0.184
非重叠区	0.041 ± 0.001	0.012 ± 0.003
*t*值	32.134	31.350
*P*值	0.000	0.000

2.4 各组 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量的比较

Western blotting 检测结果显示，各组 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义（P <0.05）。Len-shZEB2-AS1 组 E-cadherin 蛋白相对表达量高于 Control 组（P <0.05），N-cadherin 和 Vimentin 蛋白相对表达量均低于 Control 组（P <0.05），Len-ZEB2-AS1 组 E-cadherin 蛋白相对表达量低于 Control 组（P < 0.05），N-cadherin 和 Vimentin 相对表达量高于 Control 组（P <0.05）（见表 10 和图 10）。

表 10 各组 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
Control组	1.001 ± 0.020	1.013 ± 0.041	0.883 ± 0.040
Len-NC组	1.091 ± 0.066	1.043 ± 0.051	0.907 ± 0.067
Len-shZEB2-AS1组	2.107 ± 0.085	0.447 ± 0.040	0.377 ± 0.031
Len-Vector组	1.077 ± 0.083	1.040 ± 0.056	0.993 ± 0.031
Len-ZEB2-AS1组	0.593 ± 0.047	1.893 ± 0.056	1.623 ± 0.081
*F*值	233.000	175.500	48.650
*P*值	0.000	0.000	0.000



1：Control 组；2：Len-NC 组；3：Len-shZEB2-AS1 组；4：Len-Vector组；5：Len-ZEB2-AS1组。

图 10 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白表达

2.5　ZEB2-AS1 对卵巢癌细胞 EMT 相关蛋白表达的影响

细胞免疫荧光实验结果显示，各组 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白荧光强度比较，经单因素方差分析，差异均有统计学意义（P <0.05）。Len-shZEB2-AS1 组 E-cadherin 蛋白荧光强度高于 Control 组（P <0.05），N-cadherin 和 Vimentin 低于 Control 组（P <0.05）；Len-ZEB2-AS1 组 E-cadherin 蛋白荧光强度低于 Control 组（P <0.05），N-cadherin 和 Vimentin 高于 Control 组（P <0.05）（见表 11 和图 11）。

表 11　各组 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白荧光强度的比较　（AU，$\bar{x} \pm s$）

组别	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
Control 组	6 425.000 ± 288.400	7 375.000 ± 333.300	12 196.000 ± 753.700
Len-NC 组	7 372.000 ± 250.400	7 554.000 ± 515.100	12 133.000 ± 806.500
Len-shZEB2-AS1 组	15 751.000 ± 419.900	2 989.000 ± 155.200	7 323.000 ± 428.200
Len-Vector 组	8 066.000 ± 252.400	7 594.000 ± 325.400	12 193.000 ± 1 256.000
Len-ZEB2-AS1 组	3 329.000 ± 274.600	18 383.000 ± 829.300	28 293.000 ± 1 493.000
F 值	932.500	450.100	185.600
P 值	0.000	0.000	0.000

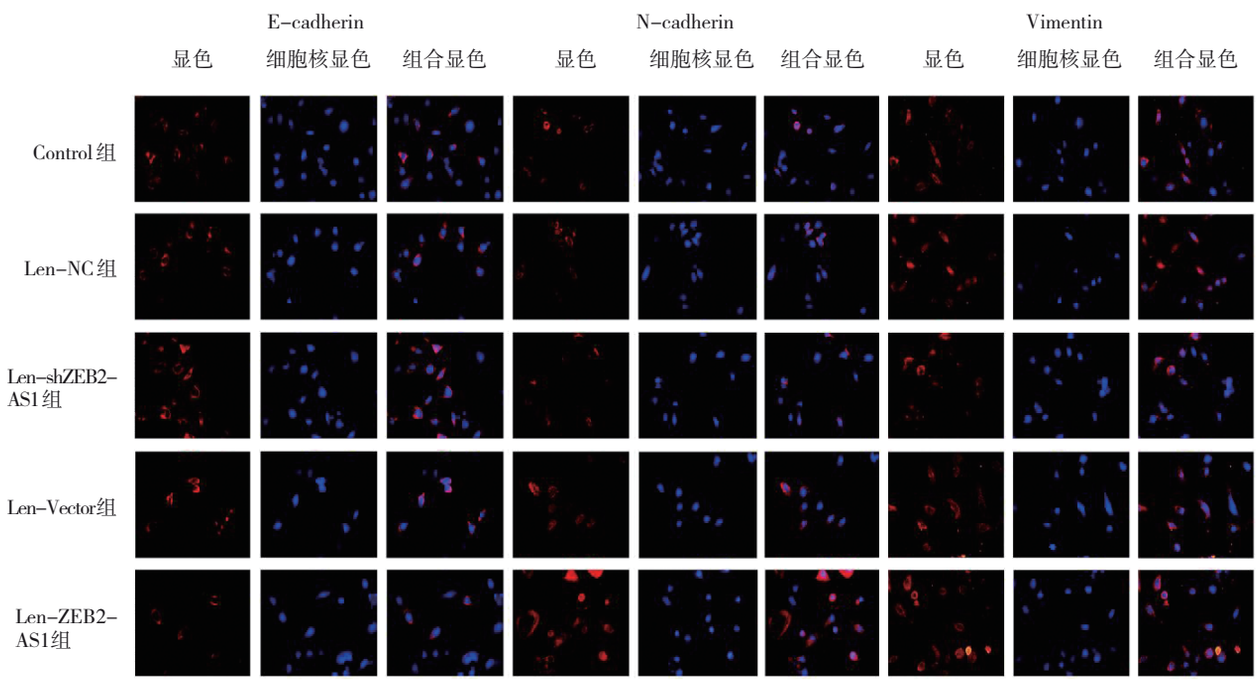


图 11　细胞免疫荧光检测 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白的表达　（×400）

3　讨论

LncRNA ZEB2-AS1 在多个肿瘤中发挥致癌功能。人肺癌中 ZEB2-AS1 的转录水平显著上调，ZEB2-AS1 通过促进肿瘤细胞增殖和抑制凋亡影响肺癌进展[12]。ZEB2-AS1 在非小细胞肺癌组织和细胞系中上调，促进非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭[13]。喉鳞状细胞癌组织中 ZEB2-AS1 呈高表达，ZEB2-AS1 促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭[14]。ZEB2-AS1 在骨肉瘤中高表达，且 ZEB2-AS1 基因敲低可抑制 OS 细胞的迁移、侵袭和上皮-间充质转化（epithelial-to-mesenchymal transition, EMT）[15]。本文证实 ZEB2-AS1 表达于卵巢癌细胞质和细胞核，并在人卵巢癌细胞中 ZEB2-AS1 发挥致癌作用，包括促进增殖，抑制凋亡，提升侵袭和迁移能力，加快细胞周期等。

Zinc finger E-box binding homeobox 2（ZEB2）是一种DNA结合转录因子，其能够通过提高癌基因上游转录启动子的激活程度，促进肿瘤细胞持续性自我增殖，主要参与EMT[16]。EMT是一种转化过程，可以让上皮样状态的细胞转化为间充质状态，从而具有侵袭性和转移性等癌症细胞特征[17]。ZEB2在EMT诱导的发育、分化和恶性机制中起着关键作用[18]。本研究证实，ZEB2在卵巢癌细胞质和细胞核中的表达与预后、肿瘤大小、临床分期有关。

LncRNA可以通过ceRNA机制调节基因表达，在肿瘤细胞内发挥调控作用。报道表明ZEB2-AS1作为癌基因通过调节miR-143/Bcl-2轴发挥促作用[19]。ZEB2-AS1过表达对胃癌细胞增殖、生长和侵袭的影响是通过miR-143-5p/HIF-1α介导的[20]。胰腺癌中ZEB2-AS1负调控miR-204的表达，靶向HMGB1基因介导促癌作用[21]。ZEB2-AS1海绵吸附miR-27b介导了膀胱癌细胞的增殖和侵袭作用[22]。ZEB2-AS1通过调节miR-1205和CRKL的表达来加速结直肠癌细胞EMT[23]。ZEB2-AS1在肝癌组织和细胞中高表达，其通过海绵miR-582-5p上调FOXC1的表达促进HCC进展[24]。LncRNA ZEB2-AS1通过miR-574-3p/HMGA2轴促进食管鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭[25]。ZEB2-AS1通过miR-188/TAB3调控的糖酵解过程促进结肠癌细胞的增殖、迁移和凋亡[26]。ZEB2-AS1可作为miR-107的海绵阻断OS细胞中spalt样转录因子4（SALL4）的抑制作用，从而发挥致癌作用[27]。ZEB2-AS1与miR-6840-3p结合并靶向调控PLXNB1促进喉鳞状细胞癌的细胞增殖、迁移和侵袭[14]。miRcode预测发现ZEB2-AS1具有13个miRNA结合位点，包括miR-145、23、211、204、107、375、146和107等。与ZEB2具有共同作用位点的miR-145进入笔者视野，萤光素酶实验证实，miR-145能与ZEB2-AS1与ZEB2结合发挥调控作用。事实上，研究证实ZEB2-AS1通过调控miR-145促进骨肉瘤癌细胞增殖，抑制凋亡，促进迁移[28]。而在非小细胞肺癌细胞中miR-145通过靶向ZEB2调节EMT和侵袭[29]。因此，ZEB2-AS1/miR-145/ZEB2轴的ceRNA网络可能是致癌的调控途径。

lncRNA可通过影响染色体结构和转录因子占位，在序列和结构特异性结合生物大分子等方面发挥作用。研究表明ZEB2-AS1与EZH2结合可增强骨肉瘤细胞的增殖和侵袭能力，并抑制细胞凋亡，从而促进骨肉瘤的进展[30] ZEB2-AS1和STAT1之间具有相互结合作用，ZEB2-AS1可以逆转STAT1对A549细胞迁移能力的调节作用[31]。LncRNA ZEB2-AS1在结直肠癌细胞中通过与EZH2和LSD1的相互作用加速CRC细胞的增殖，从而促进CRC的进展[32]。LncRNA ZEB2-AS1属于Antisense LncRNAs，来源于ZEB2基因的反义序列，ZEB2-AS1的序列与ZEB2部分完全互补配对，因此本研究探索了ZEB2-AS1与ZEB2的关系。研究发现5'-UTR Zeb2内含子具有内部核糖体进入位点（Inter-nal ribosomal entry site，IRES），这种位点的维持依赖于与内含子中5'-剪接位点重叠的天然反义转录物的表达，这种NAT在上皮细胞中的异位过表达阻止了Zeb25'-UTR的剪接，增加了Zeb2蛋白表达[33]。有意思的是，这种重叠的天然反义转录物正是ZEB2-AS1。最新证据表明，敲低lncRNA-ZEB2-AS1导致ZEB2表达下调，随后通过PI3K/Akt/GSK3β/Zeb2信号传导途径可抑制三阴性乳腺癌的EMT过程[34]。这与本研究结果研究一致，ZEB2-AS1与ZEB2蛋白表达呈正相关，ZEB2-AS1与ZEB2 mRNA可以相互结合，以维持其稳定性。

在卵巢癌中，ZEB2会促进EMT的转换，并获得侵袭性的表型[35]。通过抑制ZEB2的表达，可以维持OC细胞上皮表型特征[36]。本文通过ZEB2-AS1细胞模型，发现ZEB2-AS1表达也会促进卵巢癌细胞EMT的转化，抑制则相反。进一步证实ZEB2-AS1与ZEB2的靶向调控关系。总之，本研究证实了ZEB2-AS1作为促癌基因，在卵巢癌细胞中通过亲本基因ZEB2发挥促进EMT功能，这为ZEB2-AS1在卵巢癌中的机制研究提供了理论支持。

参 考 文 献：

[1] WEBB P M, JORDAN S J. Epidemiology of epithelial ovarian cancer[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 41: 3-14.

[2] RAMALINGAM P. Morphologic, immunophenotypic, and molecular features of epithelial ovarian cancer[J]. Oncology (Williston Park), 2016, 30(2): 166-176.

[3] WANG J Y, LU A Q, CHEN L J. LncRNAs in ovarian cancer[J]. Clin Chim Acta, 2019, 490: 17-27.

[4] MAHBOOBEH Z, PEGAH M, FATEMEH S, et al. lncRNA ZEB2-AS1: a promising biomarker in human cancers[J]. IUBMB Life, 2020, 72(9): 1891-1899.

[5] DIAO P F, GE H, SONG Y, et al. Overexpression of ZEB2-AS1 promotes epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis by stabilizing ZEB2 mRNA in head neck squamous cell carcinoma [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(6): 4269-4280.

[6] LAN T, CHANG L, WU L, et al. Downregulation of ZEB2-AS1 decreased tumor growth and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(5): 4606-4612.

[7] AHANI M, GHADERIAN S M H, MEHR AZMA M, et al. Differential gene expression of BCL-2, ZEB2-AS1 and BALR-2 in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia[J]. Andrologia, 2022, 54(3): e14344.

[8] MA Y, HE X M, DI Y, et al. Identification of prognostic immune-related lncRNAs in pancreatic cancer[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1005695.

[9] GUO X, JING Y M, LOU H Z, et al. Effect and mechanism of long non-coding RNA ZEB2-AS1 in the occurrence and development of colon cancer[J]. Math Biosci Eng, 2019, 16(6): 8109-8120.

[10] KIM H R, SEO C W, HAN S J, et al. Zinc finger E-box binding homeobox 2 as a prognostic biomarker in various cancers and its correlation with infiltrating immune cells in ovarian cancer[J]. Curr Issues Mol Biol, 2022, 44(3): 1203-1214.

[11] RAFIEI A, KHODABAKHSH F, COHAN R A, et al. The correlation of long non-coding RNAs IFNG-AS1 and ZEB2-AS1 with IFN-γ and ZEB-2 expression in PBMCs and clinical features of patients with coronary artery disease[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(5): 3389-3399.

[12] GUO Y, HU Y, HU M M, et al. Long non-coding RNA ZEB2-AS1 promotes proliferation and inhibits apoptosis in human lung cancer cells[J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 5220-5226.

[13] XU H, YU B T, SHEN W Y, et al. Over-expression of long non-coding RNA ZEB2-AS1 may predict poor prognosis and promote the migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of tumor cells in non-small cell lung cancer[J]. Int J Biol Markers, 2020, 35(3): 29-35.

[14] XU Q S, LIU H Y, YU B, et al. Long noncoding RNA ZEB2-AS1 facilitates laryngeal squamous cell carcinoma progression by miR-6840-3p/PLXNB1 axis[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 7337-7345.

[15] YANG J X, ZOU Y G, WU J, et al. The long noncoding RNA ZEB2-AS1 contributes to proliferation and epithelial-to-mesenchymal transition of osteosarcoma[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2023, 38(9): 596-603.

[16] FARDI M, ALIVAND M, BARADARAN B, et al. The crucial role of ZEB2: from development to epithelial-to-mesenchymal transition and cancer complexity[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(9): 14783-14799.

[17] PASTUSHENKO I, BLANPAIN C. EMT transition states during tumor progression and metastasis[J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(3): 212-226.

[18] BRABLETZ S, SCHUHWERK H, BRABLETZ T, et al. Dynamic EMT: a multi-tool for tumor progression[J]. EMBO J, 2021, 40(18): e108647.

[19] LIU A H, LIU L H. Long non-coding RNA ZEB2-AS1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of colon cancer cells via miR-143/bcl-2 axis[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(8): 5240-5248.

[20] WU F X, GAO H Y, LIU K G, et al. The lncRNA ZEB2-AS1 is upregulated in gastric cancer and affects cell proliferation and invasion via miR-143-5p/HIF-1α axis[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 657-667.

[21] GAO H, GONG N N, MA Z B, et al. LncRNA ZEB2-AS1 promotes pancreatic cancer cell growth and invasion through regulating the miR-204/HMGB1 axis[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 116: 545-551.

[22] WU X Q, YAN T Z, WANG Z W, et al. LncRNA ZEB2-AS1 promotes bladder cancer cell proliferation and inhibits apoptosis by regulating miR-27b[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 96: 299-304.

[23] JIANG Y H, LIU G M, YE W, et al. ZEB2-AS1 accelerates epithelial/mesenchymal transition through miR-1205/CRKL pathway in colorectal cancer[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2020, 35(2): 153-162.

[24] WU S M, CHEN J, LIANG Y, et al. Long non-coding RNA ZEB2-AS1 promotes hepatocellular carcinoma progression by regulating the *miR-582-5p/FOXC1* Axis[J]. Cell J, 2022, 24(6): 285-293.

[25] XU J H, CHEN R Z, LIU L Y, et al. LncRNA ZEB2-AS1 promotes the proliferation, migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cell through miR-574-3p/HMGA2 axis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2021, 25(9): 3397.

[26] LI Y L, ZHANG X X, YAO J N, et al. ZEB2-AS1 regulates the expression of TAB3 and promotes the development of colon cancer by adsorbing microRNA-188[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(8): 4180-4189.

[27] WANG Y, LIU N, LI M Y, et al. Long non-coding RNA ZEB2-AS1 regulates osteosarcoma progression by acting as a molecular sponge of miR-107 to modulate SALL4 expression[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(3): 1140-1154.

[28] ZHOU Y C, FENG D H, GU X F, et al. The role and clinical significance of long noncoding RNA zinc finger E-box-binding homeobox two antisense RNA 1 in promoting osteosarcoma cancer cell proliferation, inhibiting apoptosis and increasing migration by regulating miR-145[J]. Anticancer Drugs, 2021, 32(2): 168-177.

[29] LIU Q, CHEN J H, WANG B L, et al. Retracted: miR-145

modulates epithelial-mesenchymal transition and invasion by targeting ZEB2 in non－small cell lung cancer cell lines[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(5): 8409-8418.

[30] ZHANG B, FAN D B, LIU L, et al. Knockdown of ZEB2-AS1 inhibits cell proliferation, invasion and induces apoptosis in osteosarcoma by combining with EZH2[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(12): 6533-6539.

[31] CHEN T, LI J, ZHOU M H, et al. IL-6 stimulates lncRNA ZEB2-AS1 to aggravate the progression of non-small cell lung cancer through activating *STAT1*[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(7): 3734-3740.

[32] WU X J, ZHU H Y, XIE Y, et al. Knockdown of ZEB2-AS1 inhibits cell invasion and induces apoptosis in colorectal cancer[J]. J BUON, 2020, 25(1): 194-201.

[33] BELTRAN M, PUIG I, PEÑA C, et al. A natural antisense transcript regulates Zeb2/Sip1 gene expression during Snail1-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Genes Dev, 2008, 22(6): 756-769.

[34] ZHANG G X, LI H L, SUN R M, et al. Long non-coding RNA ZEB2-AS1 promotes the proliferation, metastasis and epithelial mesenchymal transition in triple-negative breast cancer by epigenetically activating ZEB2[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(5): 3271-3279.

[35] PRISLEI S, MARTINELLI E, ZANNONI G F, et al. Role and prognostic significance of the epithelial-mesenchymal transition factor ZEB2 in ovarian cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(22): 18966-18979.

[36] CARDENAS H, ZHAO J, VIETH E, et al. EZH2 inhibition promotes epithelial-to-mesenchymal transition in ovarian cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(51): 84453-84467.

（张西倩 编辑）

本文引用格式：董辉, 王晶, 杨丹, 等. LncRNA ZEB2-AS1联合亲本基因ZEB2在卵巢癌SKOV3细胞中的作用及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(13): 28-40.

Cite this article as: DONG H, WANG J, YANG D, et al. Functional study of LncRNA ZEB2-AS1 and parental gene ZEB2 in promoting epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer SKOV3 cells[J]. China Journal of Modern Medicine, 2024, 34(13): 28-40.