

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.06.004
文章编号: 1005-8982 (2026) 06-0020-09

实验研究·论著

lncRNA LOC101928477 在食管鳞状 细胞癌中的作用研究*

孔德森, 杨林, 毛启坤, 韩连奎

(贵州省人民医院 胸外科, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 探讨lncRNA LOC101928477对人食管鳞状细胞癌(ESCC) ECA109细胞增殖、迁移、凋亡及自噬的生物学作用,并探索其相关分子调控关联。**方法** 将ECA109细胞分为5组: A组(空白对照,仅培养ECA109细胞)、B组(空载病毒对照, ECA109+oe-NC)、C组(LOC101928477过表达, ECA109+oe-LOC101928477)、D组(miR-139-5p抑制剂, ECA109+miR-139-5p抑制剂)、E组(联合干预, ECA109+miR-139-5p抑制剂+oe-LOC101928477)。CCK-8法检测细胞活性,流式细胞术分析细胞凋亡,划痕试验评估细胞迁移能力,实时荧光定量聚合酶链反应检测LOC101928477和miR-139-5p的mRNA表达,Western blotting检测自噬相关蛋白(Beclin1、LC3-II/LC3-I、P62)的表达,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)水平。**结果** A组与B组ECA109细胞活力、细胞凋亡率、细胞迁移能力、LOC101928477 mRNA及Beclin1、LC3-II/LC3-I、P62蛋白表达,以及TNF- α 、IL-6水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与B组相比,C组ECA109细胞活力、细胞迁移能力降低,细胞凋亡率升高,Beclin1蛋白表达及LC3-II/LC3-I显著上调,P62蛋白表达下调,TNF- α 和IL-6水平升高($P<0.05$);与C组相比,D组上述LOC101928477诱导的表型效应及自噬激活均逆转($P<0.05$);与D组相比,E组细胞活力、细胞迁移能力进一步降低,凋亡率及自噬活性进一步升高,TNF- α 和IL-6水平也进一步升高($P<0.05$)。**结论** lncRNA LOC101928477可激活ECA109细胞自噬,抑制ECA109的增殖与迁移,促进细胞凋亡,并上调炎症因子TNF- α 和IL-6水平;其发挥上述抑癌作用的分子机制与调控miR-139-5p的表达相关,可为ESCC的靶向治疗提供新的理论依据。

关键词: 食管鳞状细胞癌; lncRNA LOC101928477; microRNA-139-5p; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞迁移; 自噬

中图分类号: R735.1

文献标识码: A

Role of lncRNA LOC101928477 in esophageal squamous cell carcinoma*

Kong De-miao, Yang Lin, Mao Qi-kun, Han Lian-kui

(Department of Thoracic Surgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China)

Abstract: **Objective** To investigate the biological effects of long non-coding RNA (lncRNA) LOC101928477 on proliferation, migration, apoptosis and autophagy of human esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) ECA109 cells, and to explore the associated molecular regulatory mechanisms. **Methods** ECA109 cells were divided into five groups: Group A (blank control, ECA109 cells untreated), Group B (empty vector control, ECA109 cells treated with oe-NC), Group C (LOC101928477 overexpression, ECA109 cells treated with oe-LOC101928477), Group D (miR-139-5p inhibition, ECA109 cells treated with miR-139-5p inhibitor), and Group E

收稿日期: 2026-01-12

* 基金项目: 贵州省科技计划项目 (No: 黔科合基础-ZK [2022] 一般251)。

(combined intervention, ECA109 cells treated with both miR-139-5p inhibitor and oe-LOC101928477). Cell viability was detected by the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay. Cell apoptosis was analyzed by flow cytometry. Cell migration ability was assessed by the scratch assay. The mRNA expressions of LOC101928477 and miR-139-5p were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The expressions of autophagy-related proteins (Beclin1, LC3-II/LC3-I, P62) were detected by Western Blotting. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with Group A, there were no significant differences in all detected indicators in Group B ($P > 0.05$). Compared with Group B, the cell viability and migration ability of ECA109 cells in Group C were significantly decreased, the apoptosis rate was significantly elevated, the expression of Beclin1 and the ratio of LC3-II/LC3-I were remarkably upregulated, the protein expression of P62 was prominently downregulated, and the levels of TNF- α and IL-6 were significantly increased (all $P < 0.05$). Compared with Group C, LOC101928477-induced phenotypic effects and autophagy activation as mentioned above were significantly reversed in Group D (all $P < 0.05$). Compared with Group D, the cell viability and migration ability in Group E were further decreased, accompanied by further increases in the apoptosis rate, autophagic activity, and levels of TNF- α and IL-6 (all $P < 0.05$). **Conclusion** The long non-coding RNA LOC101928477 activates autophagy in human esophageal squamous cell carcinoma ECA109 cells, inhibits cell proliferation and migration, promotes apoptosis, and upregulates the levels of inflammatory cytokines TNF- α and IL-6. The tumor-suppressive effects of LOC101928477 may be mediated through regulation of miR-139-5p expression. These findings provide a novel theoretical basis for targeted therapy in esophageal squamous cell carcinoma.

Keywords: esophageal squamous cell carcinoma; lncRNA LOC101928477; microRNA-139-5p; cell proliferation; cell apoptosis; cell migration; autophagy

食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 是一种全球范围内致死率很高的恶性肿瘤^[1], 由于缺乏特异性早期症状, 患者常在晚期才被确诊, 预后较差。在中国和许多发展中国家, ESCC发病率和病死率仍处于较高水平^[2]。因此, ESCC的临床管理面临巨大挑战, 为降低其发病率和病死率, 亟需开发新的防治策略, 并深入探索其新的发病机制、治疗靶点与生物标志物。自噬作为经典且保守的细胞降解过程, 在肿瘤中扮演着“双刃剑”角色: 其既能抑制肿瘤的发生, 也能在肿瘤形成后, 支持癌细胞的存活与侵袭转移, 进而促进其进展并抵抗治疗^[3]。在ESCC中, 自噬异常激活与肿瘤进展、化疗耐药和不良预后密切相关^[4-5], 阐明其调控机制对靶向治疗至关重要。

近年来研究发现, 非编码RNA, 特别是lncRNA和microRNA(miRNA), 是基因表达的关键调控者^[6-8]。lncRNA常作为“分子海绵”吸附miRNA, 解除其对靶基因的抑制^[9-11]。LOC101928477是课题组前期经数据库挖掘及实验验证发现的定位于11号染色体的lncRNA, 前期研究已证实其可抑制ESCC细胞增殖^[12], 但其在ESCC中与自噬的关系未知。miR-139-5p在多种肿瘤中

具有抑癌作用, 但其在ESCC中的功能尚不清楚。

因此, 本研究聚焦LOC101928477与miR-139-5p在ESCC细胞行为调控中的作用, 分别使用LOC101928477过表达载体和miR-139-5p抑制剂干预ESCC细胞, 系统评估二者对细胞自噬活性、增殖、凋亡、迁移及相关因子表达的作用, 旨在阐明LOC101928477和miR-139-5p通过调控自噬通路影响ESCC进展的分子机制, 为ESCC靶向治疗提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 ECA109细胞购自中国武汉普诺赛生命科技有限公司(产品批号: CL-0077)。

1.1.2 试剂 RPMI-1640基础培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司, PM150110), 胎牛血清(北京索莱宝科技有限公司, S9020), 细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)(北京索莱宝科技有限公司, CA1210), Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, CA1020), 组织细胞裂解液(北京索莱宝科技有限公司, R0010), 二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, PC0020),

SweScript All-in-One RT SuperMix for qPCR (武汉赛维尔生物科技有限公司, G3337), 2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix (武汉赛维尔生物科技有限公司, G3326), 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记山羊抗兔二抗 (上海碧云天生物技术有限公司, A0208), TBST (上海碧云天生物技术有限公司, ST673), 人肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (中国江苏科艾博生物科技有限公司, CB11762-Hu), 人白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒 (江苏科艾博生物科技有限公司, CB10373-Hu), 兔抗人 Beclin1 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 11306-1-AP), 兔抗人 LC3-II/LC3-I 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 14600-1-AP), 兔抗人 P62 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 18420-1-AP), 兔抗人 β -actin 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司, bs-0061R), RNA 抽提试剂 (北京优逸兰迪生物技术有限公司, U7431), RNA EX Buffer (深圳默鸿生物技术有限公司, B9025), miR-139-5p 抑制剂和 oe-LOC101928477 (江苏通用生物技术有限公司, 根据 LOC101928477 已知序列合成)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组与干预 将 ECA109 细胞置于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基中常规培养。实验分为以下 5 组。A 组 (空白对照, 仅培养 ECA109 细胞): 常规培养细胞; B 组 (空载病毒对照, ECA109+oe-NC): 感染空载慢病毒 (滴度 1×10^8 TU/mL); C 组 (LOC101928477 过表达, ECA109+oe-LOC101928477): 感染 LOC101928477 过表达慢病毒 (滴度 1×10^8 TU/mL); D 组 (miR-139-5p 抑制, ECA109+miR-139-5p 抑制剂): 转染 miR-139-5p 抑制剂 (终浓度 10 nmol/L); E 组 (联合干预, ECA109+miR-139-5p 抑制剂 +oe-LOC101928477): 共转染 miR-139-5p 抑制剂 (10 nmol/L) 并感染 LOC101928477 过表达慢病毒。病毒感染 24 h 后更换新鲜完全培养液, 并加入嘌呤霉素 (2 μ g/mL) 进行筛选。所有干预处理时间为 24 h。

1.2.2 细胞培养与传代 细胞融合度达 80% ~ 90%

时进行传代, 吸除原有培养基, 加 2 mL 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 润洗, 去掉漂浮的死细胞, 加 2 mL 胰蛋白酶, 放进培养箱消化 2 min。显微镜下观察细胞形态变圆、间隙变大后, 加入等体积的完全培养液终止消化。轻柔吹打制成单细胞悬液, 1 000 r/min 离心 3 min, 弃上清液, 加入 4 mL 新鲜完全培养液重悬后, 接种到 2 个 T25 培养瓶, 放入 37 $^{\circ}$ C、5% 二氧化碳培养箱中培养。

1.2.3 细胞转染与病毒感染 将对数生长期的 ECA109 细胞接种于 6 孔板, 培养过夜至次日细胞融合率达 50% ~ 70%。取 -80 $^{\circ}$ C 冻存的病毒于冰上融化, 吸除旧培养基, 每孔加入 2 mL 新鲜无双抗培养液。根据预实验确定的感染复数计算结果, 每孔吸取 100 μ L 病毒液加入细胞培养孔中进行感染, 轻柔混匀, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% 二氧化碳培养箱中孵育。感染 24 h 后, 弃去含病毒的培养基, 更换为新鲜完全培养液 (含 100 μ g/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素) 继续培养。感染 48 ~ 72 h 后, 更换为含适宜浓度抗生素的完全培养液进行筛选。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞活力 收集对数生长期的 ECA109 细胞, 制备单细胞悬液并计数, 按 5×10^3 个细胞/孔接种于 96 孔板 (100 μ L/孔), 培养过夜使细胞贴壁。按实验分组更换为含处理药物 (或病毒) 的培养基, 空白对照孔加入无血清培养基。分别处理 24、48、72 h 后, 避光条件下每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂, 继续于培养箱中孵育 2 h。使用酶标仪测定 450 nm 波长处的光密度 (optical density, OD)。

1.2.5 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡 收集对数生长期的 ECA109 细胞, 消化离心后重悬。按 5×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔板, 培养过夜使细胞贴壁。按分组更换为含处理药物 (或病毒) 的培养基, A 组加入无血清培养基, 处理 48 h。处理结束后, 收集各组细胞 (含培养上清液), 1 000 r/min 离心 5 min。弃上清液, 细胞沉淀用预冷的 PBS 轻柔洗涤 3 次。每管细胞沉淀用 600 μ L Annexin V-FITC 结合缓冲液重悬。取 100 μ L 细胞悬液至流式管中, 加入 5 μ L Annexin V-FITC, 轻轻混匀, 室温避光孵育 15 min。再加入 5 μ L 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染液和 400 μ L Annexin V-FITC 结合缓冲液, 轻柔混匀后, 立即上机进行流

式细胞术检测。

1.2.6 细胞划痕试验 在6孔板底面,用马克笔沿直尺画3条平行直线作为标记线。消化收集对数生长期ECA109细胞,计数后按 5×10^5 个细胞/孔接种于标记好的6孔板中,培养过夜至细胞形成单层并基本长满(接近100%融合)。用200 μ L移液器吸头(垂直于孔板和标记线),施加适当压力沿直尺划出2条贯穿孔板的直线划痕,使划痕与标记线相交形成固定检测点。弃旧培养液,用PBS轻柔润洗孔板2~3次以去除滑落的细胞碎片,按分组加入含处理试剂的培养液或无血清培养液。在划痕完成后即刻(0 h)于显微镜下对固定检测点进行拍照记录,将培养板放回37 $^{\circ}$ C、5%二氧化碳培养箱中培养,分别于24、48 h取出培养板,在显微镜下观察并拍摄相同位置的划痕宽度。

1.2.7 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 LOC101928477、miR-139-5p 基因表达 使用 TRIzol

法提取细胞总RNA,采用SweScript All-in-One RT SuperMix for qPCR试剂盒进行逆转录。反应体系为20 μ L: 5 \times RT Buffer 4 μ L、RT Enzyme Mix 1 μ L、Oligo (dT) 18 Primer (10 μ mol/L) 1 μ L、Random Hexamer Primer (10 μ mol/L) 1 μ L、RNA模板2 μ g、RNase-Free H₂O补足至20 μ L。反应条件:25 $^{\circ}$ C孵育10 min,42 $^{\circ}$ C逆转录60 min,70 $^{\circ}$ C灭活15 min,产物cDNA置于-20 $^{\circ}$ C保存备用。以cDNA为模板,在qRT-PCR仪上进行检测。qRT-PCR扩增体系(总体积20 μ L): TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 10 μ L,正向引物和反向引物各0.8 μ L,cDNA模板2 μ L,ROX Reference Dye II (50 \times) 0.4 μ L,H₂O 6 μ L。qRT-PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性30 s;95 $^{\circ}$ C变性5 s;60 $^{\circ}$ C退火30 s;共40个循环。以GAPDH为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算LOC101928477、miR-139-5p相对表达量。引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
LOC101928477	正向引物:CAGCAAAGGAAAAGTGGCA	198
	反向引物:TTCATCCTTGGGCTCTCCCA	
miR-139-5p	正向引物:CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGACTGGAGA	52
	反向引物:ACACTCCAGCTGGGTGTACAGTGCACGTCTC	
GAPDH	正向引物:GGAAGCTTGTCCACAATGGAAATC	168
	反向引物:TGATGACCCTTTGCTCCC	

1.2.8 Western blotting 实验检测细胞中 Beclin 1、LC3- II/LC3- I、P62及 β -actin 蛋白表达 用RIPA裂解液提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度。取30 μ g蛋白样品经SDS-PAGE电泳分离后,转至PVDF膜。用5%脱脂牛奶室温封闭1 h。加入一抗(Beclin1、LC3- II/LC3- I、P62、 β -actin,稀释比例均为1:2 000),4 $^{\circ}$ C孵育过夜。TBST洗膜后,加入HRP标记的二抗(1:5 000)室温孵育1 h。ECL化学发光显影,用Image Lab软件分析条带灰度值,以目的蛋白与 β -actin的灰度值比值表示各蛋白相对表达量。

1.2.9 ELISA 检测 TNF- α 和 IL-6 水平 收集细胞培养上清液,于2~8 $^{\circ}$ C条件下3 000 r/min离心20 min,仔细吸取上清液,分装后于-20 $^{\circ}$ C保存

待测。按照TNF- α 和IL-6的ELISA试剂盒说明书步骤进行操作:在预先包被抗体的微孔板中依次加入标准品、待测样品、HRP标记的检测抗体,温育并彻底洗涤后,加入底物TMB显色。TMB在HRP催化下转化为蓝色产物,加入终止液后转为黄色。使用酶标仪在450 nm波长处测定OD值,根据标准曲线计算样品中TNF- α 和IL-6水平。

1.3 统计学方法

数据分析采用GraphPad Prism 9.3统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析或重复测量设计的方差分析,两两比较用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LOC101928477对ECA109细胞活力的影响

各组ECA109细胞在24、48、72 h的细胞活力比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点细胞活力比较,差异有统计学意义($F=4011.700, P=0.000$);②各组细胞活力比较,差异有统计学意义($F=145.400, P=0.000$),其中A组与B组之间差异无统计学意义($P>0.05$),C、D、E组细胞活力均低于B组($P<0.05$);③各组细胞活力变化趋势比较,差异有统计学意义($F=7.120, P=0.000$)。见表2。

2.2 LOC101928477对ECA109细胞凋亡的影响

A、B、C、D、E组ECA109细胞凋亡率分别为 $(3.80 \pm 0.85)\%$ 、 $(6.33 \pm 1.16)\%$ 、 $(43.20 \pm 1.20)\%$ 、

表2 各组ECA109细胞不同时间点细胞活力的比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
A组	0.64 ± 0.10	1.12 ± 0.04	2.15 ± 0.60
B组	0.64 ± 0.10	1.12 ± 0.50	2.14 ± 0.40
C组	0.56 ± 0.20	0.90 ± 0.90	1.80 ± 0.30
D组	0.52 ± 0.20	0.90 ± 0.90	1.72 ± 0.10
E组	0.50 ± 0.10	0.90 ± 0.10	1.60 ± 0.10

$(30.13 \pm 2.20)\%$ 、 $(17.97 \pm 0.40)\%$,经方差分析,差异有统计学意义($F=477.207, P=0.000$);A组与B组ECA109细胞凋亡率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),C、D、E组ECA109细胞凋亡率均高于B组($P<0.05$),C组ECA109细胞凋亡率均高于D、E组($P<0.05$),D组ECA109细胞凋亡率高于E组($P<0.05$)。见图1。

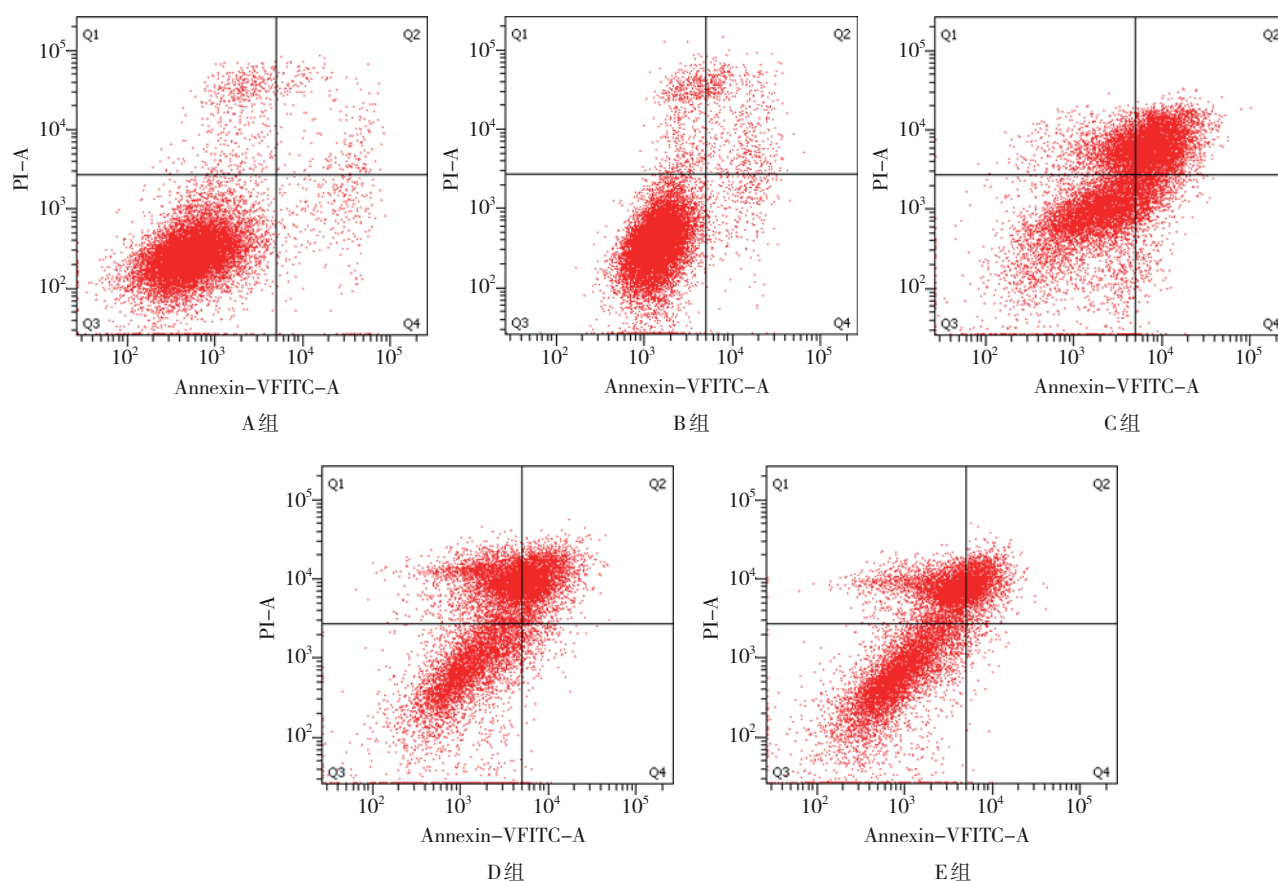


图1 各组ECA109细胞的流式细胞图

2.3 LOC101928477对ECA109细胞迁移的影响

A、B、C、D、E组ECA109细胞迁移率分别为 $(36.8 \pm 2.9)\%$ 、 $(35.2 \pm 2.8)\%$ 、 $(5.9 \pm 5.5)\%$ 、 $(22.9 \pm 4.3)\%$ 、 $(9.8 \pm 1.4)\%$,经方差分析,差异有统计学意义

($F=48.996, P=0.000$);A组与B组ECA109细胞迁移率比较,差异无统计学意义($P>0.05$);B组ECA109细胞迁移率高于C、D、E组($P<0.05$);C组ECA109细胞迁移率低于D、E组($P<0.05$)。见图2。

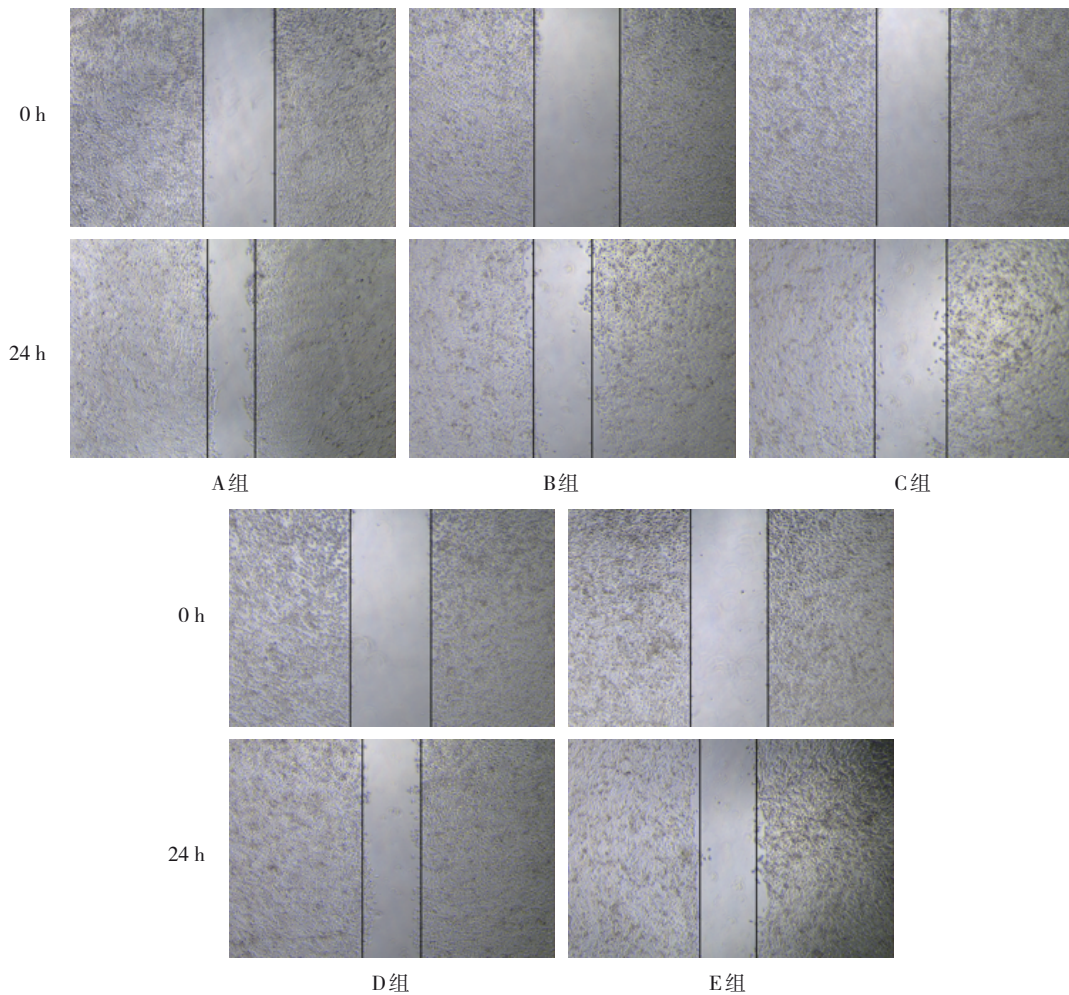


图2 各组ECA109细胞迁移能力的划痕试验

2.4 LOC101928477 对 ECA109 细胞中 LOC101928477和miR-139-5p mRNA表达的影响

各组ECA109细胞中LOC101928477相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); A组与B组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B组低于C组 ($P < 0.05$); C组高于D、E组 ($P < 0.05$); D组低于E组 ($P < 0.05$)。各组ECA109细胞miR-139-5p相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 18.7, P = 0.000$); 两组比较结果显示: A组与B组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B组低于C组 ($P < 0.05$); C组高于D、E组 ($P < 0.05$); D组与E组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表3。

2.5 LOC101928477 对 ECA109 细胞自噬相关蛋白表达的影响

各组ECA109细胞中Beclin1蛋白表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 28.150,$

表3 各组ECA109细胞中LOC101928477、miR-139-5p 相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	LOC101928477	miR-139-5p
A组	1.00 ± 0.28	1.00 ± 0.14
B组	1.15 ± 0.22	0.84 ± 0.08
C组	6.75 ± 0.91	2.05 ± 0.19
D组	3.82 ± 0.57	0.95 ± 0.14
E组	5.07 ± 0.85	1.51 ± 0.15
F值	34.260	18.730
P值	0.000	0.000

$P = 0.000$); A组与B组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B组低于C组 ($P < 0.05$); C组高于D组 ($P < 0.05$); D组低于E组 ($P < 0.05$)。见表4。

各组ECA109细胞中LC3-II/LC3-I蛋白表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 42.370, P = 0.000$); A组与B组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B组低于C组 ($P < 0.05$); C组

高于 D、E 组 ($P < 0.05$); D 组低于 E 组 ($P > 0.05$)。见表 4。

各组 ECA109 细胞中 P62 蛋白表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 12.580$, $P = 0.000$); A 组与 B 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B 组高于 C、E 组 ($P < 0.05$); C 组与 D 组、E 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); D 组高于 E 组 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 3。

表 4 各组自噬相关蛋白相对表达量的比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	Beclin1	LC3- II/LC3- I	P62
A 组	0.69 ± 0.07	0.47 ± 0.10	1.14 ± 0.09
B 组	0.71 ± 0.01	0.54 ± 0.13	1.13 ± 0.11
C 组	1.06 ± 0.05	1.33 ± 0.06	0.63 ± 0.10
D 组	0.73 ± 0.07	0.61 ± 0.09	0.88 ± 0.10
E 组	0.94 ± 0.1	0.81 ± 0.08	0.56 ± 0.09
F 值	28.150	42.370	12.580
P 值	0.000	0.000	0.000

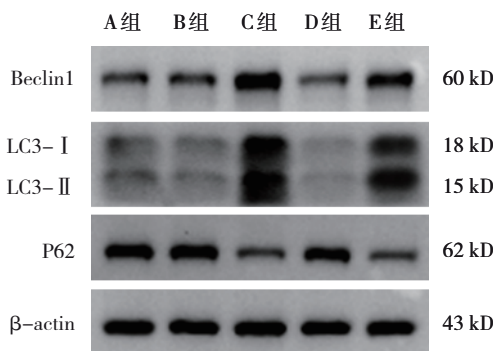


图 3 各组 EC109 细胞自噬相关蛋白表达

2.6 LOC101928477 对 ECA109 细胞 TNF- α 和 IL-6 分泌的影响

各组 ECA109 细胞中 TNF- α 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 138.153$, $P = 0.000$); A 组与 B 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B 组低于 C、D、E 组 ($P < 0.05$); C 组低于 D、E 组 ($P < 0.05$); D 组低于 E 组 ($P < 0.05$)。各组 ECA109 细胞中 IL-6 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 141.278$, $P = 0.000$); A 组与 B 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); B 组低于 C、D、E 组 ($P < 0.05$); C 组与 D 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); D 组低于 E 组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 各组 ECA109 细胞中 TNF- α 、IL-6 水平的比较
(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-6
A 组	40.63 ± 1.35	78.55 ± 3.89
B 组	42.32 ± 1.63	80.63 ± 9.01
C 组	52.20 ± 4.32	122.12 ± 8.65
D 组	61.87 ± 5.3	128.24 ± 11.12
E 组	82.45 ± 2.89	178.17 ± 7.78
F 值	138.153	141.278
P 值	0.000	0.000

3 讨论

本研究系统探讨了 lncRNA LOC101928477 对人 ESCC 细胞行为的调控作用, 并探究其通过调控 miR-139-5p 介导自噬通路参与 ESCC 进展的分子机制, 为 ESCC 的靶向治疗提供了新的理论依据和潜在靶点。

本研究核心发现证实, 过表达 LOC101928477 能显著诱导 ESCC 细胞自噬激活, 具体表现为: 自噬关键效应分子 Beclin 1 表达上调; 自噬体形成标志物 LC3- II/LC3- I 升高; 自噬底物 P62 蛋白降解加速。尤为重要的是, 这一促自噬效应被证明高度依赖于 miR-139-5p 的活性调控: 当使用 miR-139-5p 抑制剂阻断该 miRNA 功能时, LOC101928477 过表达诱导的自噬增强被显著逆转 (Beclin 1 下调, LC3- II/LC3- I 下调, P62 上调)。这提示 LOC101928477 可能通过正向调控 miR-139-5p 表达发挥促自噬作用, 符合经典的“lncRNA 作为 miRNA 海绵”调控模型^[4]。该发现拓展了 ESCC 自噬调控网络, 为了解 lncRNA 通过靶向调控 miRNA 在肿瘤代谢重编程中的作用提供了直接证据。

值得关注的是, LOC101928477 通过调控 miR-139-5p 所诱导的自噬激活, 并未促进 ESCC 细胞存活, 反而显著抑制细胞增殖、迁移并促进凋亡。这与传统认知中“自噬保护肿瘤细胞”的观点似乎矛盾^[13-14], 但与近年来关于“过度自噬诱导自噬性细胞死亡”的研究趋势一致^[15]。可能的机制包括: 持续性自噬过度消耗关键细胞器和大分子, 导致代谢崩溃^[16]; 自噬激活可能通过降解促生存蛋白 (如 MCL-1) 间接促进凋亡进程^[17]; miR-139-5p

本身已被报道靶向抑制多个促癌基因(如ROCK1^[18]、FOXM1^[19]),经LOC101928477调控后的miR-139-5p上调,可能协同增强自噬通路的抑癌效应^[20-21]。本研究的表型数据充分支持这一解释:LOC101928477过表达介导的自噬激活(C组,LOC101928477过表达组),伴随细胞活力下降、迁移能力抑制和凋亡率增加,而阻断miR-139-5p表达(D组,miR-139-5p抑制剂组)则显著逆转上述生物学效应。这一结果证实,LOC101928477可作为内源性调控因子,通过正向调控miR-139-5p的表达在ESCC中发挥抑癌作用。

本研究报道LOC101928477通过调控miR-139-5p可显著激活ESCC细胞TNF- α 和炎症因子IL-6的分泌。这一发现具有重要的研究价值。已有研究证实,细胞自噬可通过激活炎症小体或损伤相关分子模式介导NLRP3等炎症通路^[22-23],而促炎因子的分泌增多又可能反馈调控相关信号通路,参与肿瘤细胞的生物学行为调控^[24];肿瘤微环境中持续炎症反应是驱动癌细胞侵袭和免疫逃逸的关键因素^[25]。因此,LOC101928477可通过“诱导自噬 \rightarrow 调节炎症因子分泌 \rightarrow 抑制细胞迁移”的级联反应参与ESCC的恶性进展调控,这一通路也可能成为阻断ESCC恶性进展的新靶标。

综上所述,本研究证实lncRNA LOC101928477在食管鳞癌ECA109细胞中发挥抑癌作用,其机制与调控miR-139-5p表达相关。具体表现为:lncRNA LOC101928477可激活细胞自噬,抑制细胞增殖与迁移,促进细胞凋亡,并上调炎症因子TNF- α 与IL-6的分泌。上述发现提示lncRNA LOC101928477在ESCC中具有潜在抑癌功能,或可为其靶向治疗提供新理论依据。然而,本研究目前仅限于细胞水平验证,缺乏体内实验数据支持,此为主要的局限性。未来研究将通过构建动物模型,进一步证实lncRNA LOC101928477通过miR-139-5p调控自噬通路在体内的抑癌效应,并评估其作为ESCC治疗靶点的潜力。

参 考 文 献 :

[1] YANG H, WANG F, HALLEMEIER C L, et al. Oesophageal cancer[J]. Lancet, 2024, 404(10466): 1991-2005.
[2] ZHAO Y X, ZHAO H P, ZHAO M Y, et al. Latest insights into the global epidemiological features, screening, early diagnosis and

prognosis prediction of esophageal squamous cell carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2024, 30(20): 2638-2656.

- [3] LI M Y, SHEN H H, CAO X Y, et al. Targeting a mTOR/autophagy axis: a double-edged sword of rapamycin in spontaneous miscarriage[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 177: 116976.
[4] ZHU H C, CHEN H, CHEN G Z, et al. CBX4 contributes to radioresistance by regulating autophagic activity in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Transl Med, 2022, 10(18): 959.
[5] CHEN Y H, LIN C Y, CHEN Y T, et al. Unusual metastases of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Nucl Med, 2022, 47(4): 354-356.
[6] 宗煜煜,陈琳徽,罗鹏飞,等.长链非编码RNA在食管鳞状细胞癌中调控转录、翻译及翻译后修饰的相关机制研究进展[J].消化肿瘤杂志(电子版),2024,16(2):238-243.
[7] HUANG H Y, YANG C Y, ZHANG Q C, et al. Long non-coding RNA FAM83A antisense RNA 1 (lncRNA FAM83A-AS1) targets microRNA-141-3p to regulate lung adenocarcinoma cell proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition progression[J]. Bioengineered, 2022, 13(3): 4964-4977.
[8] CHANG J Z, ZHANG Y X, YE X, et al. Long non-coding RNA (lncRNA) CASC9/microRNA(miR) -590-3p/sine oculis homeobox 1 (SIX1)/NF- κ B axis promotes proliferation and migration in breast cancer[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 8709-8723.
[9] 周常慧. Linc00657"分子海绵吸附"miR-30a-5p调控SKP2表达促进宫颈癌恶性进展的机制研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2024.
[10] YU X T, LIU D J, WANG L, et al. LncRNA LOC285758 induced non-small cell lung cancer development through up-regulating CDK6 by sponge adsorption of miRNA-204[J]. Iran J Public Health, 2022, 51(9): 2117-2127.
[11] HU Y J, DONG H J, HUANG J J, et al. Long non-coding RNA (lncRNA) nuclear enriched abundant transcript 1 (NEAT1) promotes the inflammation and apoptosis of otitis media with effusion through targeting microRNA (miR)-495 and activation of p38 MAPK signaling pathway[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 8080-8088.
[12] KONG D M, LONG D L, LIU B, et al. Downregulation of long non-coding RNA LOC101928477 correlates with tumor progression by regulating the epithelial-mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Thorac Cancer, 2021, 12(9): 1303-1311.
[13] 徐芷茵,潘东升,赵龙山,等.自噬在肿瘤免疫中的双重角色及其治疗潜力[J/OL].中国药事.(2025-12-08)[2025-12-23].
<https://link.cnki.net/urlid/11.2858.R.20251207.1206.002>.
[14] DEBNATH J, GAMMOH N, RYAN K M. Autophagy and autophagy-related pathways in cancer[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(8): 560-575.
[15] LIU S Z, YAO S J, YANG H, et al. Autophagy: regulator of cell death[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(10): 648.

- [16] BYRNES K, BLESSINGER S, BAILEY N T, et al. Therapeutic regulation of autophagy in hepatic metabolism[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 33-49.
- [17] MOYZIS A G, LALLY N S, LIANG W J, et al. Mcl-1 differentially regulates autophagy in response to changes in energy status and mitochondrial damage[J]. *Cells*, 2022, 11(9): 1469.
- [18] ZHAO X M, WANG M M, SUN Z R, et al. MicroRNA-139-5p improves sepsis-induced lung injury by targeting Rho-kinase1[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(4): 1059.
- [19] CAVA C, BERTOLI G, RIPAMONTI M, et al. Integration of mRNA expression profile, copy number alterations, and microRNA expression levels in breast cancer to improve grade definition[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97681.
- [20] RAHDAN F, SABERI A, SARAYGORD-AFSHARI N, et al. Deciphering the multifaceted role of microRNAs in hepatocellular carcinoma: integrating literature review and bioinformatics analysis for therapeutic insights[J]. *Heliyon*, 2024, 10(20): e39489.
- [21] SHANG Y, LI X L, DU Q Q, et al. CircIQCH contributes to the progression of breast cancer by elevating NFIB through decoying miR-139-5p[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(11): 4832-4843.
- [22] 高小凤, 王宝娟, 才贺, 等. 骨炎消方通过PI3K/Akt/mTOR信号通路对骨关节炎细胞自噬的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(7): 1-7.
- [23] 李捷, 郑雅峰, 徐云生. PINK1/Parkin线粒体自噬-NLRP3炎症小体信号途径与糖尿病肾病足细胞功能的关系及中医药研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(13): 3297-3301.
- [24] WANG L R, CHEN X Q, XU T Y, et al. Liyan Kaiyin Formula relieves reflux pharyngitis by regulating M1 macrophage polarization via the NF- κ B/NLRP3 pathway[J]. *Immunobiology*, 2025, 230(4): 153095.
- [25] NIHIRA N T, KUDO R, OHTA T. Inflammation and tumor immune escape in response to DNA damage[J]. *Semin Cancer Biol*, 2025, 110: 36-45.

(张西倩 编辑)

本文引用格式：孔德森, 杨林, 毛启坤, 等. lncRNA LOC101928477 在食管鳞状细胞癌中的作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2026, 36(6): 20-28.

Cite this article as: KONG D M, YANG L, MAO Q K, et al. Role of lncRNA LOC101928477 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2026, 36(6): 20-28.