

网络出版时间:2026-02-11 10:19:11 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260408.1018.018

LncRNA SNHG16靶向miR-141-3p/HMGB1轴对子宫腺肌病异位子宫内膜间质细胞血管生成的影响

刘婷,王明阳,邹晓锋

(遵义医科大学附属医院妇科,遵义 563000)

摘要 目的 探讨干扰长链非编码RNA(LncRNA)核仁小分子RNA宿主基因16(SNHG16)通过靶向上调微小RNA(miR)-141-3p抑制高迁移率族蛋白B1(HMGB1),改善子宫腺肌病(AM)异位子宫内膜间质细胞(ESCs)血管生成。方法 定量逆转录聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测52例AM患者子宫内膜组织(AM组)及因宫颈癌、卵巢癌需切除子宫的52例患者的子宫内膜组织(对照组)中SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达水平;将Y14细胞分为小发夹RNA(shRNA)NC组、shRNA SNHG16组、shRNA SNHG16+miR-141-3p抑制剂(inhibitor)组、shRNA SNHG16+inhibitor NC组、blank组,验证miR-141-3p与SNHG16、HMGB1的靶向关系;qRT-PCR检测Y14细胞中SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达水平;CCK-8、Transwell实验检测细胞增殖、侵袭和迁移;免疫荧光测定微血管密度(MVD);Western blot检测缺氧诱导因子 α (HIF-1 α)、环氧化酶-2(Cox-2)及血管内皮生长因子(VEGF)、HMGB1蛋白表达。结果 AM组SNHG16、HMGB1 mRNA表达高于对照组,但miR-141-3p表达低于对照组($P<0.05$);shRNA SNHG16组SNHG16、HMGB1 mRNA表达、细胞增殖率、迁移、侵袭数、MVD、VEGF、HIF-1 α 、Cox-2及HMGB1蛋白表达低于blank组、shRNA NC组,miR-141-3p表达高于blank组、shRNA NC组($P<0.05$);抑制miR-141-3p逆转了干扰SNHG16对ESCs血管生成的改善作用。结论 干扰LncRNA SNHG16通过靶向上调miR-141-3p抑制HMGB1,改善ESCs血管生成,抑制ESCs增殖、迁移和侵袭。

关键词 子宫腺肌病;异位子宫内膜间质细胞;LncRNA SNHG16;miR-141-3p;HMGB1;血管生成

中图分类号 R 713.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0533-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.020

子宫腺肌病(adenomyosis, AM)是一种良性妇科疾病,以子宫内膜细胞异常侵入子宫肌层深处为特征,临床表现通常包括月经过多、痛经、慢性盆腔疼痛等^[1-2]。异位子宫内膜间质细胞(ectopic endometrial stromal cells, ESCs)的持续增殖以及迁移,可能导致异位病变侵袭增强,同时研究^[3-4]表明,异位子宫内膜的植入需要血液供应维持其生长和存活。长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)可

参与肿瘤发生、心血管疾病等多种疾病的发展^[5]。核仁小分子RNA宿主基因16(small nucleolar RNA host gene16, SNHG16)是一种LncRNA,主要与各种恶性肿瘤的发生和发展有关^[6]。但研究^[7]表明LncRNA主要功能是通过微小RNA(microRNA, miRNA)的竞争性结合影响下游靶基因,且miR-141-3p参与调节AM中子宫肌界面平滑肌细胞的增殖和凋亡,为AM治疗提供潜在靶点,高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)高表达促进了子宫内膜炎发展^[8]。基于此,本课题组拟进一步探究LncRNA SNHG16是否参与AM的发生,以及其调控AM发生的分子机制是否与miR-

2025-12-31 接收

基金项目:贵州省科技计划项目(编号:黔科合成果-LC[2023]033)

作者简介:刘婷,女,硕士研究生,副主任医师,通信作者,E-mail:l_2865@163.com

highly expressed in tissues and cells in OSCC, and reveals the important role of the YB1/PI3K/AKT axis in the process of EMT of OSCC, which is expected to become a new tumor marker for early diagnosis and treatment and prognosis evaluation of OSCC.

Key words Y-box binding protein-1; oral squamous cell carcinoma; proliferation; migration; invasion; PI3K/AKT signaling pathway

Fund program Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH050644)

Corresponding author Chen Xin, E-mail: chenxin2672@ahmu.edu.cn

141-3p/HMGB1轴相关。

1 材料与方法

1.1 组织及细胞来源 收集2023年8月—2024年8月于本院接受全子宫切除术的52例AM患者的异位子宫内膜组织,AM组年龄25~47岁,中位年龄38岁;所有患者均未接受术前化疗、放疗或激素治疗,并排除有冠心病、高血压等慢性病史以及恶性肿瘤患者。另于同一时期选取因宫颈癌、卵巢癌需切除子宫的52例患者的子宫内膜组织,患者月经规律,无心血管疾病史,作为对照组,年龄24~48岁,中位年龄39岁;排除妊娠或者是哺乳期患者,所有组织立即在 -80°C 液氮中快速冷冻以备下一步使用,该研究已获得当地伦理委员会的批准(编号:KLL-2023-478),并取得所有参与者的知情同意。

中国科学院(上海)细胞库提供ESCs-Y14细胞,并置于培养箱(37°C 、5% CO_2)中培养,其中DMEM培养基加入12.5% FBS、1%双抗生素。

1.2 主要材料及仪器 上海碧云天生物技术有限公司提供细胞计数实验(cell counting assay, CCK-8)试剂(C0038);上海吉凯基因科技有限公司提供SNHG16小发夹RNA(shRNA SNHG16)(20240517)、miR-141-3p抑制剂及模拟物(miR-141-3p inhibitor, miR-141-3p mimic)(20240701、20240606)及阴性对照(shRNA NC、inhibitor NC、mimic NC)(20240614、20240627、20240720);美国Thermo Fisher Scientific公司提供增强化学发光溶液(32106)、cDNA逆转录试剂盒(1622)、放射免疫沉淀测定缓冲液(20241108)、microRNA逆转录试剂盒(4366596)、二喹啉甲酸试剂盒(23225);英国Abcam公司提供缺氧诱导因子 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)(ab179483)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, Cox-2)(ab15191)及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)(ab46154)、HMGB1(ab18256)抗体。日本奥林巴斯公司提供IX73荧光显微镜;苏州睿捷生物科技公司提供BioTek酶标仪;美国Thermo Fisher Scientific公司提供ABI7500实时荧光定量PCR系统。

1.3 细胞分组及处理 Y14细胞常规培养后,取对数生长期的细胞采用Lipofectamine 2000分别进行转染或共转染,即将shRNA NC、shRNA SNHG16转染至Y14细胞,组别记为shRNA NC组、shRNA SNHG16组,shRNA SNHG16分别与inhibitor NC、

miR-141-3p inhibitor共转染至Y14细胞,组别记为shRNA SNHG16+inhibitor NC组、shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组,并将未转染的Y14细胞作为blank组,各组细胞转染48 h后进行指标分析。

1.4 qRT-PCR检测组织样本及Y14细胞中SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达水平

提取组织和细胞中的总RNA,使用cDNA逆转录试剂盒或microRNA逆转录试剂盒逆转录成cDNA。使用SYBR PremixEx Taq II试剂盒在ABI 7500 RT-PCR系统进行qRT-PCR,以GAPDH或U6基因为标准,PCR热循环条件为:在 95°C 下初始变性10 min,随后进行40个循环, 95°C 15 s和 64°C 30 s。引物序列如下:SNHG16正向5'-GATCCCATCTGGC ATCGCT-3'和反向5'-CCTCTAGTAGCCACGGTGTG-3';U6正向5'-CCTGCTTCGGCAGCAC-3'和反向5'-TGGAACGCTTCACGAA-3';miR-141-3p正向5'-GCCGAGTAACACTGTCTGGT-3'和反向5'-CTCAACTGCTGTCGTGGACT-3';GAPDH正向5'-GGGAGCCAAAAGGGTCATCA-3'和反向5'-TGATGGCATGGACTGTGGTC-3';HMGB1正向5'-AGATGGC AAAAGCGGACA-3'和反向5'-GGGCCATACTCAGAGCAGAAG-3',通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达。

1.5 验证miR-141-3p与SNHG16、HMGB1的靶向关系 下拉实验:常规培养细胞,随后进行细胞悬浮,加入细胞裂解液、SNHG16探针孵育,2 h后加入磁珠孵育,随后提取RNA,检测miR-141-3p表达。

双荧光素酶实验:StarBase、TargetScanHuman预测了miR-141-3p与SNHG16、HMGB1的相应结合位点,将含有miR-141-3p结合位点的HMGB1 3'-UTR和SNHG16片段插入报告质粒中,构建野生型报告基因质粒(HMGB1 3'-UTR-WT、SNHG16 WT)。使用定点突变试剂盒生成突变的SNHG16、HMGB1质粒构建突变型报告基因质粒(HMGB1 3'-UTR-MUT、SNHG16 MUT),转染相关的寡核苷酸(miR-141-3p mimic、mimic NC)和荧光素酶报告基因质粒,采用荧光素酶报告测定系统检测荧光素酶的活性。

1.6 CCK-8法检测细胞增殖 将Y14细胞以 5×10^3 的密度接种到96孔板中,终体积100 μL ,CCK-8试剂以1:10的比例加入细胞中,然后在 37°C 下进行细胞孵育2 h,使用酶标仪检测波长为450 nm的数值,分析细胞增殖变化。

1.7 Transwell实验检测细胞侵袭、迁移 将24孔Transwell板(孔径为8 μm)采用基质胶包被上腔室,在37 °C培养箱中孵育30 min形成凝胶进行细胞侵袭测定,将各组细胞接种到上腔室中,并与200 μL无血清DMEM一起培养,而下腔室含有600 μL培养基,其中12.5%胎牛血清作为趋化剂。将整个Transwell腔室在37 °C下孵育24 h,然后去除上腔室中的非侵袭细胞,分别用4%多聚甲醛、0.1%结晶紫固定、细胞染色10 min,在5个随机选择的视野中统计侵入下表面的细胞,迁移实验除不包被基质胶外,其余步骤相同。

1.8 免疫荧光测定微血管密度(microvascular density, MVD) 取对数生长期的细胞,重悬细胞后,加入多聚甲醛固定,滴加3%BSA固定,随后向孔板中加入CD31抗体及二抗抗体孵育,滴加4',6-联脒-2-苯基吡啶二盐酸盐染液、抗荧光淬灭封片剂进行复染细胞核及封片处理,荧光显微镜观察图像,ImageJ测定CD31表达量,计算细胞中MVD的表达。

1.9 Western blot检测相关蛋白表达水平 用放射免疫沉淀测定缓冲液及蛋白酶抑制剂提取蛋白质,离心后获得总蛋白,二喹啉甲酸定量分析,将适量上样缓冲液通过加热煮沸10 min保存待用,取20 μg的提取蛋白质通过SDS-PAGE上样和分离,然后转移到PVDF膜并封闭2 h,4 °C下与VEGF、HIF-1α、Cox-2及HMGB1(1:1 000稀释)孵育过夜,洗涤后加入山羊抗兔二抗(1:2 000稀释)室温下静置1 h,并用增强化学发光溶液反应30 s,以GAPDH为内部参比蛋白,评估目标蛋白相对表达。

1.10 统计学处理 以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示数据,SPSS 26.0软件分析结果,当 $P<0.05$ 时,差异有统计学意义,多组间比较采用单因素方差分析,进一步行SNK- q 检验;两组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA在临床组织中的表达 AM组SNHG16(1.68±0.17)、HMGB1 mRNA(1.87±0.19)表达高于对照组,但miR-141-3p表达(0.44±0.05)低于对照组(1.06±0.11、0.97±0.10、0.98±0.10)($t=22.080$ 、 29.891 、 34.184 ; $P<0.05$)。

2.2 SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA在各组Y14细胞中的表达 shRNA SNHG16组SNHG16、HMGB1 mRNA表达低于blank组、shRNA NC组,

miR-141-3p表达高于blank组、shRNA NC组,shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组HMGB1 mRNA表达高于shRNA SNHG16+inhibitor NC组,但miR-141-3p表达低于shRNA SNHG16+inhibitor NC组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.3 SNHG16、HMGB1与miR-141-3p的靶向关系 SNHG16、HMGB1与miR-141-3p的预测位点,见图1、2,SNHG16 WT与miR-141-3p mimic共转染荧光素酶活性(0.58±0.07)低于SNHG16 WT与mimic NC(1.07±0.11)($t=9.205$, $P<0.05$),SNHG16 MUT与miR-141-3p mimic(1.04±0.12)、mimic NC(0.98±0.11)共转染的荧光素酶活性无差异($t=0.903$, $P>0.05$)。

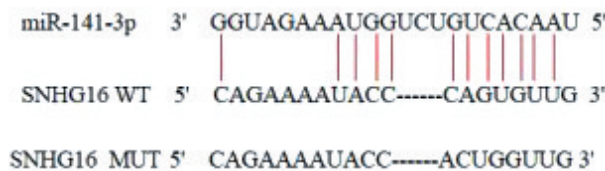


图1 SNHG16与miR-141-3p预测位点

Fig. 1 Predicted site of SNHG16 and miR-141-3p

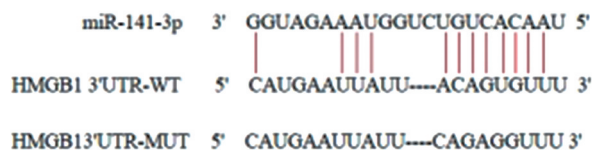


图2 HMGB1与miR-141-3p预测位点

Fig. 2 Prediction site of HMGB1 and miR-141-3p

下拉实验结果表明,下拉SNHG16后,miR-141-3p表达(3.42±0.36)明显较NC组(1.04±0.11)上调($t=15.487$, $P<0.05$)。

HMGB1-WT与miR-141-3p mimic共转染(1.02±0.10)荧光素酶活性低于HMGB1-WT与mimic NC(0.62±0.08)($t=7.651$, $P<0.05$),HMGB1-MUT与miR-141-3p mimic(1.07±0.10)、mimic NC(1.08±0.11)共转染荧光素酶活性无差异($t=0.165$, $P>0.05$)。

2.4 干扰SNHG16对各组Y14细胞增殖率的影响 shRNA SNHG16组细胞增殖率(45.75±4.68)低于blank组(90.03±9.06)、shRNA NC组(90.75±9.02),shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组细胞增殖率(82.51±8.31)高于shRNA SNHG16+inhibitor NC组(45.62±4.63),差异有统计学意义($F=58.903$, $P<0.05$)。

表1 SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA 在细胞中表达 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 1 Expression of SNHG16, miR-141-3p, and HMGB1 mRNA in cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Group	SNHG16	miR-141-3p	HMGB1
blank	1.01±0.10	1.04±0.11	0.97±0.10
shRNA NC	0.98±0.11	0.97±0.10	1.06±0.11
shRNA SNHG16	0.43±0.05 ^{*#}	1.83±0.19 ^{*#}	0.37±0.04 ^{*#}
shRNA SNHG16+inhibitor NC	0.46±0.06	1.86±0.19	0.41±0.05
shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor	0.41±0.05	1.15±0.13 [△]	0.87±0.09 [△]
F value	92.902	51.866	91.382
P value	<0.001	<0.001	<0.001

*P<0.05 vs blank group; #P<0.05 vs shRNA NC group; △P<0.05 vs shRNA SNHG16+inhibitor NC group.

2.5 干扰SNHG16对各组Y14细胞迁移、侵袭的影响

shRNA SNHG16组迁移、侵袭数低于blank组、shRNA NC组, shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组迁移、侵袭数高于shRNA SNHG16+inhibitor NC组, 差异有统计学意义($F_{\text{迁移数,侵袭数}}=44.067, 52.279, P<0.05$)。见图3和表2。

2.6 干扰SNHG16对各组Y14细胞MVD的影响

shRNA SNHG16组MVD低于blank组、shRNA NC组, shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组MVD高于shRNA SNHG16+inhibitor NC组, 差异有统计学意义($F_{\text{MVD}}=42.548, P<0.05$)，见图4。

2.7 干扰SNHG16对各组Y14细胞VEGF、HIF-1α、Cox-2及HMGB1蛋白表达的影响

shRNA SNHG16组VEGF、HIF-1α、Cox-2及HMGB1蛋白表达低于blank组、shRNA NC组, shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor组VEGF、HIF-1α、Cox-2及HMGB1蛋白表达高于shRNA SNHG16+inhibitor NC组, 差异有统计学意义($F_{\text{VEGF, HIF-1}\alpha, \text{Cox-2, HMGB1}}=27.494, 34.315, 25.516, 90.218, P<0.05$)，见图5和表3。

表2 各组Y14细胞迁移、侵袭变化 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 2 Changes in migration and invasion of Y14 cells in each group ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Group	Number of migrations	Number of invasions
blank	435.21±43.91	385.24±39.06
shRNA NC	440.28±44.12	389.42±39.11
shRNA SNHG16	243.06±24.57 ^{*#}	201.20±20.64 ^{*#}
shRNA SNHG16+inhibitor NC	246.18±24.79	210.34±21.17
shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor	358.67±36.05 [△]	365.24±36.72 [△]
F value	44.067	52.279
P value	<0.001	<0.001

*P<0.05 vs blank group; #P<0.05 vs shRNA NC group; △P<0.05 vs shRNA SNHG16+inhibitor NC group.

3 讨论

AM是子宫内膜腺体和基质侵入子宫肌层, 可能存在恶性转化的风险, 不及时治疗可能导致子宫内膜腺癌以及子痫前期等, 严重威胁患者健康, 因

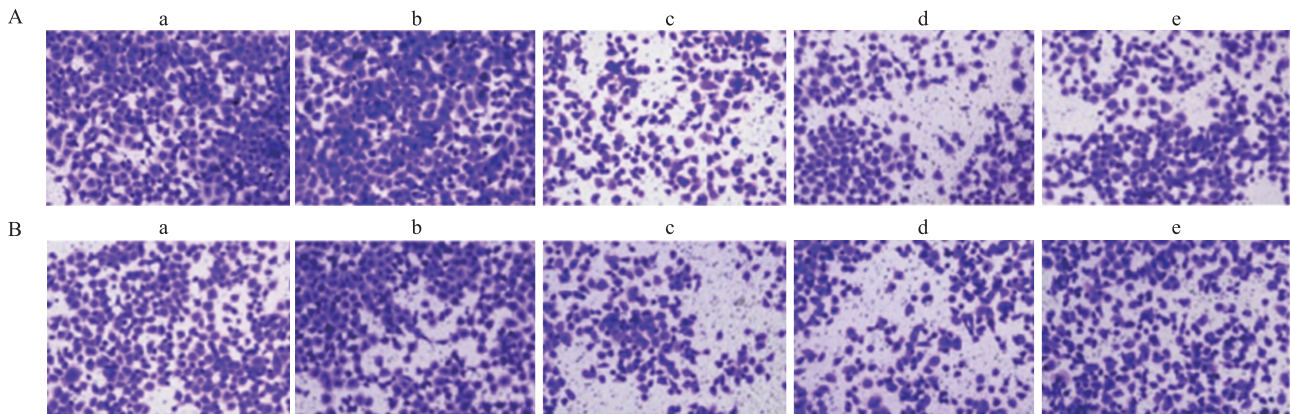


图3 观察细胞侵袭(A)、迁移(B)变化 ×200

Fig. 3 Observation of cell invasion (A) and migration (B) changes ×200

a: blank group; b: shRNA NC group; c: shRNA SNHG16 group; d: shRNA SNHG16+inhibitor NC group; e: shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor group.

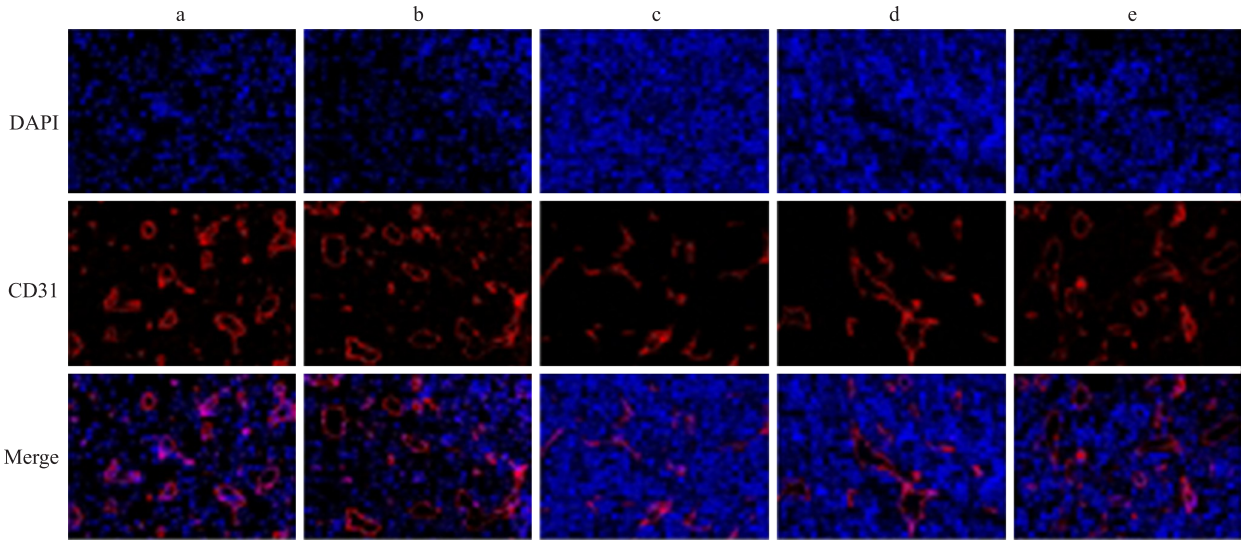


图4 观察细胞MVD变化 ×400

Fig. 4 Observation of MVD changes in cells ×400

a: blank group; b: shRNA NC group; c: shRNA SNHG16 group; d: shRNA SNHG16+inhibitor NC group; e: shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor group.

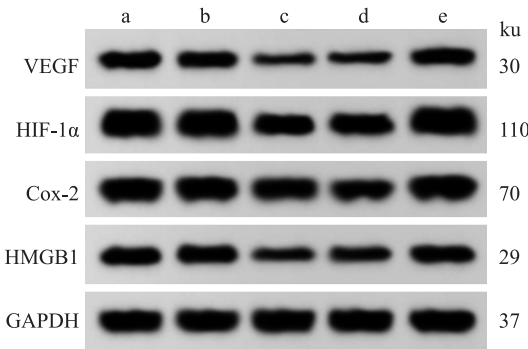


图5 细胞中 VEGF、HIF-1α、Cox-2 及 HMGB1 蛋白表达

Fig. 5 Expression of VEGF, HIF-1 α, Cox-2, and HMGB1 proteins in cells

a: blank group; b: shRNA NC group; c: shRNA SNHG16 group; d: shRNA SNHG16+inhibitor NC group; e: shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor group.

此,早期诊断和及时治疗是抑制 AM 进展和恶性转化的关键^[9]。

LncRNA 在 AM 进展中的调节作用已被广泛报道^[10]。SNHG16 是新发现的 LncRNA 家族成员,位于染色体 17q25.1 上,已被证实与多种癌症的进展有关,并有研究^[11]表明其可能参与驱动子宫肌层转化。本研究表明 SNHG16 在 AM 患者组织中表达上调,推测 SNHG16 可能与 AM 发生相关。ESCs 与 AM 的发病机制密切相关,抑制其增殖、迁移与侵袭被认为是治疗 AM 有效的保守方法^[12]。本研究结果显示,干扰 SNHG16 后,可显著抑制 Y14 细胞的增殖率、迁移、侵袭数以及 MVD,而血管生成在 AM 病理过程中也常发生,异位血管生成往往与血管生成因子动态平衡被打破有关,VEGF、HIF-1α、Cox-2 作为血管生成的关键因子,参与子宫内膜血管形成^[4,13]。Western blot 结果显示,干扰 SNHG16 可抑制 VEGF、HIF-1α、Cox-2 表达,进一步证实上述结果,表明干扰 SNHG16 可有效抑制 Y14 细胞血管生成、细胞增殖

表3 各组细胞中 VEGF、HIF-1α、Cox-2 及 HMGB1 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab. 3 Comparison of VEGF, HIF-1α, Cox-2, and HMGB1 expression in cells in different groups ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Group	VEGF/GAPDH	HIF-1α/GAPDH	Cox-2/GAPDH	HMGB1/GAPDH
blank	0.75±0.09	1.28±0.13	1.57±0.16	0.57±0.06
shRNA NC	0.72±0.08	1.23±0.13	1.54±0.16	0.53±0.06
shRNA SNHG16	0.41±0.05 ^{*#}	0.77±0.09 ^{*#}	1.03±0.11 ^{*#}	0.19±0.02 ^{*#}
shRNA SNHG16+inhibitor NC	0.48±0.06	0.71±0.08	0.98±0.11	0.21±0.03
shRNA SNHG16+miR-141-3p inhibitor	0.68±0.07 [△]	1.15±0.12 [△]	1.47±0.15 [△]	0.48±0.05 [△]
F value	27.494	34.315	25.516	90.218
P value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*P<0.05 vs blank group; #P<0.05 vs shRNA NC group; △P<0.05 vs shRNA SNHG16+inhibitor NC group.

及迁移与侵袭,有望成为治疗AM的新靶点。

为进一步研究SNHG16在AM中的机制,使用在线生物信息学分析,预测了SNHG16、HMGB1和miR-141-3p之间的靶向结合位点。研究表明敲低circ-LRP6通过调节miR-141-3p/HMGB1轴抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[14]。双荧光素酶报告基因测定和下拉实验进一步证实了SNHG16可以调节miR-141-3p以及miR-141-3p调节HMGB1的推测。本研究结果显示,miR-141-3p在AM患者子宫内膜组织中低表达,干扰SNHG16上调miR-141-3p表达抑制ESCs增殖及迁移、侵袭,改善ESCs血管生成,与先前研究^[7]一致,miR-141-3p已被报道有望成为AM治疗靶点,提示SNHG16在AM中的作用可能通过负调节miR-141-3p实现。LncRNA主要通过作为竞争性内源性RNA发挥作用,即通过海绵吸附到miRNA调节靶基因表达并影响细胞功能,该文证实miR-141-3p靶向调节HMGB1,而HMGB1在AM异位子宫内膜过表达,其机制可能与其介导的免疫炎症系统有关。本研究结果显示,HMGB1 mRNA在AM患者子宫内膜组织中高表达,干扰SNHG16上调miR-141-3p表达,抑制HMGB1表达,抑制ESCs增殖及迁移、侵袭,改善ESCs血管生成,推测干扰SNHG16抑制ESCs增殖及迁移、侵袭,改善ESCs血管生成,可能与调节miR-141-3p/HMGB1轴有关。最后通过回补实验证明干扰SNHG16有望成为AM治疗靶点,其机制与miR-141-3p/HMGB1轴有关。

综上所述,干扰LncRNA SNHG16通过靶向上调miR-141-3p表达、抑制HMGB1表达改善ESCs血管生成,抑制ESCs增殖及迁移、侵袭,为AM治疗提供潜在靶点,为制备临床治疗的特异性探针提供理论依据,但研究细胞单一且涉及靶点较多,后续机制仍在完善中。

参考文献

- [1] 杨超逸,谭爱丽. 临床特征在术前诊断子宫腺肌病合并子宫内膜癌中的作用[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(5): 885-9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.05.022.
- [1] Yang C Y, Tan A L. Role of clinical characteristics in preoperative diagnosis of adenomyosis with endometrial cancer [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(5): 885-9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.05.022.
- [2] 荣敏,李青梅,杨树星. Toll样受体4促进子宫腺肌病子宫内膜间质细胞增殖、迁移和侵袭的机制研究[J]. 中国计划生育和妇产科, 2024, 16(4): 52-8. doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2004.04.11.
- [2] Rong M, Li Q M, Yang S X. The mechanisms of toll-like receptor 4 in promoting the proliferation, migration and invasion of endometrial stromal cells in adenomyosis [J]. *Chin J Fam Plan Gynecotokology*, 2024, 16(4): 52-8. doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2004.04.11.
- [3] 陈慧,郎茂竹,王婧,等. 下调环状RNA Hsa-circ-PVT1对子宫腺肌病异位子宫内膜间质细胞增殖、侵袭及血管生成作用机制的影响[J]. 现代妇产科进展, 2023, 32(3): 182-7. doi:10.13283/j.cnki.xdfckjz.2023.03.031.
- [3] Chen H, Lang M Z, Wang J, et al. The effect of Hsa-circ-PVT1 on cell proliferation, invasion and angiogenesis of ectopic endometrial stromal cells of adenomyosis [J]. *Prog Obstet Gynecol*, 2023, 32(3): 182-7. doi:10.13283/j.cnki.xdfckjz.2023.03.031.
- [4] Shan J, Chang L Y, Li D J, et al. Rab27b promotes endometriosis by enhancing invasiveness of ESCs and promoting angiogenesis [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2023, 90(3): e13762. doi:10.1111/aji.13762.
- [5] Geng T, Xu Z, Xing J, et al. Knockdown of lncRNA SNHG16 attenuates myocardial ischemia-reoxygenation injury via targeting miR-183/FOXO1 axis [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 25(3): 106. doi:10.3892/etm.2023.11805.
- [6] Huang L, Xiong S, Liu H, et al. Silencing lncRNA SNHG16 suppresses the diabetic inflammatory response by targeting the miR-212-3p/NF- κ B signaling pathway [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2023, 15(1): 119. doi:10.1186/s13098-023-01070-5.
- [7] Wang S, Duan H, Wang S, et al. miR-141-3p regulates the proliferation and apoptosis of endometrial-myometrial interface smooth muscle cells in adenomyosis via JAK2/STAT3 pathway [J]. *Biochem Genet*, 2024, 62(3): 2049-65. doi:10.1007/s10528-023-10508-4.
- [8] Liu X N, Cheng Z P. Expression of high-mobility group box-1 in eutopic/ectopic endometrium and correlations with inflammation-related factors in adenomyosis [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2023, 39(1): 2269265. doi:10.1080/09513590.2023.2269265.
- [9] Xu X, Cai B, Liu Y, et al. MIR503HG silencing promotes endometrial stromal cell progression and metastasis and suppresses apoptosis in adenomyosis by activating the Wnt/ β -catenin pathway via targeting miR-191 [J]. *Exp Ther Med*, 2023, 25(3): 117. doi:10.3892/etm.2023.11816.
- [10] Yuan B, Wang W, Zhao H, et al. Role of lncRNA TUG1 in adenomyosis and its regulatory mechanism in endometrial epithelial cell functions [J]. *Endocrinology*, 2022, 163(5): bqac033. doi:10.1210/endoqr/bqac033.
- [11] Zhao L, Kan Y, Wang L, et al. Roles of long non-coding RNA SNHG16 in human digestive system cancer (Review) [J]. *Oncol Rep*, 2024, 52(2): 106. doi:10.3892/or.2024.8765.
- [12] Zhang Z, Wang Y, Zeng L, et al. miR-218-5p in endometrial microenvironment prevents the migration of ectopic endometrial stromal cells by inhibiting LASP1 [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1): 64. doi:10.1186/s12958-022-00928-z.
- [13] 杨涛,杜秀芳,杨宏洁,等. CacyBP/SIP对子宫内膜异位症

间质细胞侵袭、迁移及血管生成的影响[J]. 中国医疗设备, 2024, 39(8): 139-45. doi:10.3969/j.issn.1674-1633.2024.08.022.

- [13] Yang T, Du X F, Yang H J, et al. Effects of CacyBP/SIP on invasion, migration and angiogenesis of stromal cells in endometriosis[J]. *China Med Devices*, 2024, 39(8): 139-45.

doi:10.3969/j.issn.1674-1633.2024.08.022.

- [14] Yu Y, Dong G, Li Z, et al. Circ-LRP6 contributes to osteosarcoma progression by regulating the miR-141-3p/HMGB1/HMGB1 axis[J]. *Int J Oncol*, 2022, 60(4): 38. doi:10.3892/ijo.2022.5328.

Effect of LncRNA SNHG16 targeting miR-141-3p/HMGB1 axis on angiogenesis of endometrial stromal cells in ectopic adenomyosis

Liu Ting, Wang Mingyang, Zou Xiaofeng

(Gynecology Department of Zunyi Medical University Affiliated Hospital, Zunyi 563000)

Abstract Objective To investigate the effect of interfering with long noncoding RNA (LncRNA) small nucleolar RNA host gene16 (*SNHG16*) on improving angiogenesis of ectopic endometrial stromal cells (ESCs) in adenomyosis (AM) by targeting upregulation of miRNA (miR)-141-3p and inhibition of high mobility group box-1 protein (HMGB1). **Methods** The expression levels of *SNHG16*, miR-141-3p and HMGB1 mRNA in endometrial tissues of 52 patients with adenomyosis (AM group) and 52 patients who needed hysterectomy due to cervical cancer or ovarian cancer (control group) were detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). Y14 cells were divided into small hairpin RNA (shRNA) NC group, shRNA *SNHG16* group, shRNA *SNHG16*+miR-141-3p inhibitor (inhibitor) group, shRNA *SNHG16*+inhibitor NC group and blank group. The targeting relationship between miR-141-3p and *SNHG16* as well as HMGB1 was verified. The expression levels of *SNHG16*, *miR-141-3p* and *HMGB1* mRNA in Y14 cells were detected by qRT-PCR. CCK-8 and Transwell assay were used to detect cell proliferation, invasion and migration. Microvascular density (MVD) was determined by immunofluorescence. The expressions of hypoxia-inducing factor α (HIF-1 α), cyclooxygenase-2 (Cox-2), vascular endothelial growth factor (VEGF) and HMGB1 were detected by Western blot. **Results** The expression of *SNHG16* and *HMGB1* mRNA in AM group was higher than that in control group, but the expression of *miR-141-3p* was lower than that in control group ($P<0.05$). The expression of *SNHG16*, *HMGB1* mRNA, proliferation rate, migration, invasion number, MVD, expression of VEGF, HIF-1 α , Cox-2, and HMGB1 proteins in the shRNA *SNHG16* group were lower than those in the blank group and shRNA NC group, while the expression of miR-141-3p was higher than that in the blank group and shRNA NC group ($P<0.05$). Inhibition of miR-141-3p reversed the improvement of ESCs angiogenesis by interfering with *SNHG16*. **Conclusion** Interference with LncRNA *SNHG16* improves ESCs angiogenesis and inhibits proliferation, migration, and invasion of ESCs by targeting upregulation of miR-141-3p and inhibition of HMGB1.

Key words adenomyosis; ectopic endometrial stromal cells; LncRNA *SNHG16*; miR-141-3p; HMGB1; angiogenesis

Fund program Scientific and Technological Project of Guizhou Province (No. Qiankehe Achievement-LC [2023]033)

Corresponding author Liu Ting, E-mail:l_2865@163.com