·论著·

lncRNA ADIRF-AS1通过miR-185-5p/SIX4轴调控人子宫内膜上皮细胞上皮–间质转化促进宫腔粘连

孙凯旋,张凌雪,于洋,陆晓黎,于鑫桐,于珊珊,高雪琪,周静,于月新
(中国人民解放军北部战区总医院生殖医学科,沈阳 110003)

摘要 目的 探讨长链非编码RNA(lncRNA)ADIRF-AS1对人子宫内膜上皮细胞增殖的影响及其对宫腔粘连的作用机制。**方法** 收集2022年1月至2024年6月间于我院生殖医学科就诊的20例中重度宫腔粘连患者和20例正常子宫内膜患者(对照组)子宫内膜组织及外周血。实时定量PCR检测ADIRF-AS1在子宫内膜组织、外周血以及经转化生长因子β1(TGF-β1)处理的人子宫内膜上皮细胞中的表达水平。利用生物信息学网站以及双萤光素酶报告基因实验验证ADIRF-AS1与miR-185-5p的关系。实时定量PCR和Western blotting检测转染miR-185-5p及SIX4的人子宫内膜上皮细胞中上皮–间质转化相关蛋白的表达。**结果** 与对照组相比,中重度宫腔粘连患者子宫内膜组织、外周血以及经TGF-β1处理的人子宫内膜细胞中ADIRF-AS1的表达显著上调($P < 0.05$),高表达的ADIRF-AS1促进人子宫内膜上皮细胞增殖、侵袭及迁移($P < 0.05$)。ADIRF-AS1能够海绵吸附miR-185-5p。低表达miR-185-5p可以促进人子宫内膜上皮细胞增殖、侵袭及迁移,并且通过结合SIX4介导上皮–间质转化促进人子宫内膜上皮细胞增殖,从而促进宫腔粘连的发生、发展。**结论** lncRNA ADIRF-AS1通过miR-185-5p/SIX4轴调控上皮–间质转化促进人子宫内膜上皮细胞增殖,从而促进宫腔粘连的发生。

关键词 长链非编码RNA; ADIRF-AS1; miR-185-5p/SIX4轴; 人子宫内膜上皮细胞; 上皮–间质转化; 宫腔粘连
中图分类号 R715.2 **文献标志码** A **文章编号** 0258–4646(2026)05–0403–08
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20260515.1536.008
DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2026.05.004

lncRNA ADIRF-AS1 promotes intrauterine adhesions by regulating epithelial-mesenchymal transition in human endometrial epithelial cells through the miR-185-5p/SIX4 axis

SUN Kaixuan, ZHANG Lingxue, YU Yang, LU Xiaoli, YU Xintong, YU Shanshan, GAO Xueqi, ZHOU Jing, YU Yuexin
(Department of Reproductive Medicine, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110003, China)

Abstract Objective To investigate the effect of the long non-coding RNA (lncRNA) ADIRF-AS1 on the proliferation of human endometrial epithelial cells (HEECs) and its underlying mechanism in intrauterine adhesions (IUA). **Methods** Endometrial tissues and peripheral blood samples were collected from 20 patients with moderate-to-severe IUA and 20 healthy individuals with normal endometrium (control group) who visited the Department of Reproductive Medicine in our hospital between January 2022 and June 2024. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was performed to determine ADIRF-AS1 expression levels in endometrial tissues, peripheral blood, and HEECs treated with transforming growth factor-β1 (TGF-β1). Bioinformatics analysis and dual-luciferase reporter assays were used to verify the relationship between the ADIRF-AS1 and miR-185-5p. qRT-PCR and Western blotting were performed to measure the expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related proteins in HEECs transfected with miR-185-5p or SIX4. **Results** Compared with the control group, ADIRF-AS1 expression was significantly upregulated in endometrial tissues and peripheral blood of patients with moderate-to-severe IUA and TGF-β1-stimulated human endometrial cells ($P < 0.05$). High ADIRF-AS1 expression promoted the proliferation, invasion, and migration of HEECs ($P < 0.05$). Notably, the ADIRF-AS1 sponged miR-185-5p. Downregulation of miR-185-5p promoted the proliferation, invasion, and migration of HEECs by targeting SIX4 to mediate EMT, thereby facilitating the occurrence and progression of IUA. **Conclusion** The lncRNA ADIRF-AS1 promoted the proliferation of HEECs by regulating EMT through the miR-185-5p/SIX4 axis, thus contributing to the development of IUA.

Keywords long non-coding RNA; ADIRF-AS1; miR-185-5p/SIX4 axis; human endometrial epithelial cell; epithelial-mesenchymal transition; intrauterine adhesion

基金项目:辽宁省科技计划联合计划(2024JH2/102600271);军队护理创新与培育专项计划(2023HL070);沈阳市公共卫生研发科技专项–联合项目(24–241–3–103)
作者简介:孙凯旋(1990–),女,主治医师,硕士.
通信作者:于月新,E-mail:yuyuexin2022@163.com
收稿日期:2025–09–25
网络出版时间:2026–05–18 15:53:09

宫腔粘连（intrauterine adhesions，IUA）是子宫内膜纤维化的表现，是女性最常见的生殖系统疾病之一，临床表现包括月经紊乱、不孕等[1]。已有研究[2]显示，子宫内膜上皮细胞（endometrial epithelial cells，EECs）能够由上皮–间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）拥有间充质细胞的特性，从而加剧纤维化。然而目前尚未明确IUA初始阶段与进展阶段的潜在分子特征。研究[3]显示，多种疾病都存在长链非编码RNA（long non-coding RNA，lncRNA）异常表达现象，同时显著影响疾病的进展。已有研究[4]针对IUA患者以及正常人的子宫内膜，借助转录组测序技术完成了RNA-Seq测序，获得实验组和对照组lncRNA差异表达谱，表明lncRNA ADIRF-AS1表达有显著差异。然而还未充分明确IUA与lncRNA ADIRF-AS1之间的联系。本研究探讨lncRNA ADIRF-AS1对人EECs增殖的影响及其对宫腔粘连的作用机制，旨在为明确IUA的发病机制提供参考和依据。

1　材料与方法

1.1　组织、细胞来源和主要试剂

收集2022年1月至2024年6月我院生殖医学科确诊的20例中重度IUA患者以及20例正常子宫内膜患者的子宫内膜组织和外周血。本研究获得北部战区总医院医学伦理委员会批准（202H2023KPJ018），所有研究对象签署知情同意书。

EECs、293T细胞均购自中国科学院上海细胞库。

lipofectamine 3000转染试剂购自美国Invitrogen公司；ADIRF-AS1过表达质粒（oe-ADIRF-AS1）、阴性对照质粒（oe-NC），miR-185-5p模拟物（mimics）、si-miR-185-5p、对应的阴性对照（mimics NC、inhibitor NC）及SIX同源盒蛋白4（SIX homeobox 4，SIX4）过表达质粒（p-SIX4）、空载体质粒均由苏州吉玛基因股份有限公司合成；E–钙黏蛋白（E-cadherin，E-CA）、角蛋白18（cytokeratin-18，CK-18）、成纤维细胞特异蛋白1（fibroblast specific protein 1，FSP-1）、α–平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）、ZEB1、SIX4及GAPDH一抗均购自英国abcam公司；HRP标记的二抗购自上海碧云天生物技术有限公司；TRIzol试剂、实时定量PCR试剂盒、反转录试剂盒均购自日本TaKaRa公司；双萤光素酶报告基因测定试剂盒购自上海和元生物科技有限公司；细胞凋亡试剂盒、CCK-8试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、ECL发光试剂盒均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；4%多聚甲醛、0.5%结晶紫染液购自北京索莱宝科技有限公司；EdU（5-ethynyl-2'-deoxyuridine）染色试剂盒购自广州锐博生物科技有限公司；RIPA蛋白裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2　实验方法

1.2.1　细胞培养、转染：EECs、293T细胞均采用含10%胎牛血清（FBS，美国Gibco 公司）与1%青霉素–链霉素双抗的DMEM高糖培养基（美国HyClone公司），置于37 ℃、5% CO_2的恒温培养箱中培养，待细胞融合度达70%~80%时进行传代或转染。转染操作严格按照lipofectamine 3000试剂说明书进行。将细胞以5×10^5/孔接种于6孔板，培养24 h后更换无血清无抗培养基；将脂质体与相应质粒/微RNA（microRNA，miRNA）按照1 ∶ 2混匀，室温孵育20 min 后加入细胞孔中，继续培养6 h后更换为完全培养基，培养48 h后收集细胞进行后续实验。另取对数生长期的EECs用于构建纤维化细胞模型，待细胞贴壁融合度达50%~60%时，实验组加入终浓度10 ng/mL的转化生长因子β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1；美国Peprotech公司）无血清培养基，对照组加入等体积无血清培养基，37 ℃、5% CO_2培养24 h后收集细胞，用于后续检测。

1.2.2　实时定量PCR：利用TRIzol提取组织和细胞RNA，反转录成cDNA，使用实时定量PCR试剂盒进行检测。反应条件：95 ℃ 30 s，95 ℃ 5 s，60 ℃ 10 s，72 ℃ 15 s，35~40个循环。内参采用*GAPDH*与*U6*。引物序列如下：ADIRF-AS1，正向5'-GCCAGTGGTTGTTGGTGATT-3'，反向5'-CCAGCAGCAAGATGATGAGG-3'；miR-185-5p，正向5'-GCCGGTGAGTTCTCCAGGTG-3'，反向5'-CAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'；*SIX4*，正向5'-GCATTGAACCCACCAAAAATGT-3'，反向5'-GGAAGTAGACCCCAGTATGTCA-3'；*E-CA*，正向5'-CGAGAGCTACACGTTCACGG-3'，反向5'-GGGTGTCGAGGGAAAAATAGG-3'；*CK-18*，正向5'-GGAAGATGCTGAAGATGCTG-3'，反向5'-GCTGTTGTTGTTGCTGTTGG-3'；*FSP-1*，正向5'-ATGGCAGAT

GATGATGATGG-3’，反向5’-TCAGTTGTTGTTGCTGTTGG-3’；*α-SMA*，正向5’-GAGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3’，反向5’-CATCTCCAGAGTCCAGCACA-3’；*GAPDH*，正向5’- GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3’，反向5’-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3’；*U6*，正向5’- CTCGCTTCGGCAGCACA-3’，反向5’-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3’。按照$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量。

1.2.3　生物信息学分析：采用starBase 3.0在线数据库（https://starbase.sysu.edu.cn/）预测ADIRF-AS1与miR-185-5p靶向结合位点。

1.2.4　双萤光素酶报告基因实验：根据生物信息学预测的结合位点，构建ADIRF-AS1 野生型萤光素酶报告载体（ADIRF-AS1-WT）、突变型报告载体（ADIRF-AS1-MUT），以及SIX4 3’UTR野生型报告载体（SIX4-WT）、突变型报告载体（SIX4-MUT），所有载体均由苏州吉玛基因股份有限公司合成。将293T细胞以2×10^4/孔接种于96孔板，培养24 h后，将报告载体与miR-185-5p mimics/mimics NC按照1∶1共转染至293T细胞，每组设3个复孔。转染48 h后，按照双萤光素酶报告基因测定试剂盒说明书操作，利用多功能酶标仪（美国ThermoFisher Scientific公司）检测萤光素酶的活性。

1.2.5　CCK-8检测：将对数生长期的各组EECs以3×10^3/孔接种于96孔板，每组设5个复孔，置于培养箱中常规培养。分别在培养0、24、48、72 h时，每孔加入10 μL CCK-8 试剂，继续培养2 h后采用多功能酶标仪检测450 nm波长处的吸光度（optical density，OD）。

1.2.6　EdU染色：将细胞接种于培养板，待其贴壁加入适量EdU继续培养，细胞固定与透化后加入反应液，染色、封片。荧光显微镜下查看并拍照，统计EdU阳性细胞。其中，红色荧光反应为EdU阳性细胞，蓝色荧光反应为DAPI阳性细胞。使用ImageJ软件计数EdU阳性细胞和DAPI阳性细胞，计算细胞增殖率。细胞增殖率（%）= EdU阳性细胞数/DAPI阳性细胞总数×100。

1.2.7　Transwell实验：在Transwell下室中加入含10%胎牛血清的培养基作为化学引诱剂，在上室中添加不含胎牛血清的细胞悬浮液并且基质胶包被上室。孵育24 h后从上室中取出未能迁移或侵入的细胞，迁移或侵入的细胞用4%多聚甲醛固定10 min后，使用0.5%结晶紫染色。在倒置显微镜下随机视野中计数细胞。

1.2.8　细胞划痕实验：将各组EECs以1×10^6/mL的浓度接种6孔板，每孔加入2 mL细胞悬液，培养至细胞融合率90%~100%。用无菌10 μL移液器枪头在细胞层上沿直尺划痕，用PBS漂洗3次，洗去划落的细胞，加入无血清培养基继续培养。分别在划痕后 0、48 h 时，在倒置显微镜（日本OLYMPUS公司）下观察并拍照，采用ImageJ软件测量划痕宽度。划痕愈合率（%）=（0 h划痕宽度−48 h划痕宽度）/0 h划痕宽度×100。

1.2.9　Western blotting：收集各组EECs，加入预冷的RIPA蛋白裂解液（含1%蛋白酶抑制剂），冰上裂解30 min，12 000 r/min、4 ℃离心10 min，取上清液。提取的蛋白采用BCA法定量分析，总蛋白使用10% SDS-PAGE电泳分离，随后将蛋白转印至PVDF膜（美国Millipore公司）。转膜完成后用5%脱脂牛奶封闭液在室温下封闭1~2 h；然后用TBST漂洗膜3次，每次10 min，加入一抗（E-CA 1∶1 000、CK-18 1∶1 000、FSP-1 1∶1 000、α-SMA 1∶2 000、ZEB1 1∶1 000、SIX4 1∶1 000、GAPDH 1∶10 000），4 ℃孵育过夜，TBST漂洗3次后，加入HRP标记的二抗（1∶10 000），室温孵育2 h。最后用ECL发光试剂盒显影并拍照，用 ImageJ软件分析各蛋白条带的灰度值，以GAPDH为内参，计算各蛋白的相对表达量，实验独立重复3次。

1.3　统计学分析

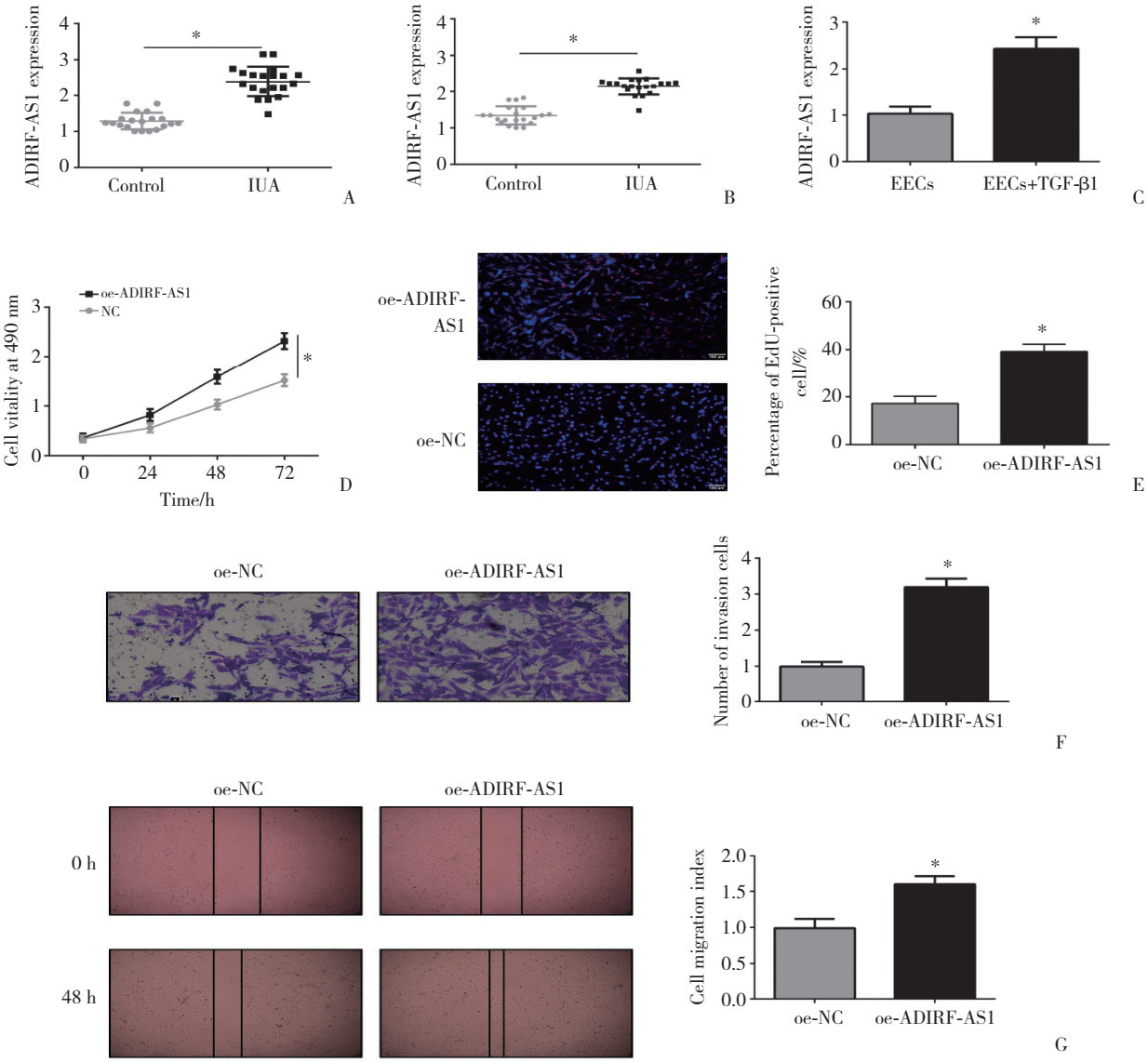
使用SPSS 22.0软件进行统计分析。计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用SNK-q检验。采用Spearman相关进行相关分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　ADIRF-AS1在IUA患者子宫内膜组织、外周血以及TGF-β1处理的EECs中的表达水平及对EECs增殖、侵袭及迁移的影响

结果显示，与对照组比较，IUA患者子宫内膜组织及外周血中ADIRF-AS1表达明显升高（$P<0.05$），见图1A、1B。通过TGF-β1处理EECs，构建纤维化细胞模型，实时定量PCR检测ADIRF-AS1表达情况。结果发现，与未处理EECs相比，TGF-β1处理的EECs中

ADIRF-AS1表达显著升高（$P < 0.05$），见图1C。EECs转染oe-ADIRF-AS1及oe-NC质粒结果显示，ADIRF-AS1上调能够显著促进EECs增殖、侵袭及迁移能力（$P < 0.05$），见图1D~1G。



A，ADIRF-AS1 expression in endometrium tissues；B，ADIRF-AS1 expression in peripheral blood；C，ADIRF-AS1 expression in EECs；D，the proliferation ability of EECs transfected with oe-NC and oe-ADIRF-AS1 plasmids by CCK-8；E，the proliferation ability of EECs after transfection with oe-NC and oe-ADIRF-AS1 plasmid by EdU (Scale bar = 100 μm)；F，the invasion ability of EECs after transfection with oe-NC and oe-ADIRF-AS1 plasmid by transwell (× 100)；G，the migration ability of EECs transfected with oe-NC and oe-ADIRF-AS1 plasmids by scratch healing assay (× 40). * $P < 0.05$ vs. EECs or oe-NC group.

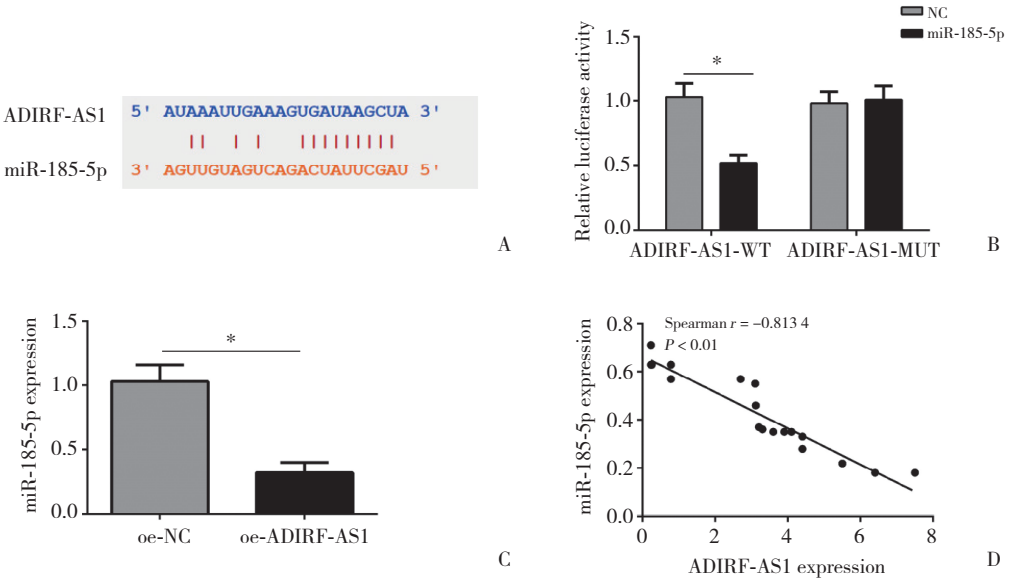
图1　ADIRF-AS1在IUA患者子宫内膜组织、外周血以及TGF-β1处理的EECs中的表达水平及对EECs增殖、侵袭及迁移的影响

Fig.1　ADIRF-AS1 expression level in endometrium tissues，peripheral blood of IUA patients and EECs treated with TGF-β1 and its effect on the proliferation，invasion and migration ability of EECs

2.2　ADIRF-AS1靶向调控miR-185-5p

已有研究[3]发现，lncRNA对于miRNA具有吸附能力，并有效调控其表达。starBase在线数据库的预测结果表明，ADIRF-AS1可能与miR-185-5p结合，见图2A。双萤光素酶报告基因检测结果显示，ADIRF-AS1与miR-185-5p结合，见图2B。miR-185-5p检测结果表明，ADIRF-AS1过表达能够显著下调EECs中miR-185-5p的表达（$P < 0.05$），且二者的表达显著负相关（$P < 0.01$），见图2 C、2D。

2.3　miR-185-5p在IUA患者子宫内膜组织、外周血



A, the binding sites between ADIRF-AS1 and miR-185-5p by bioinformatics analysis; B, luciferase activity in treated 293T cells; C, the expression level of miR-185-5p in EECs transfected with oe-ADIRF-AS1 and its oe-NC plasmid; D, the correlation between ADIRF-AS1 expression and miR-185-5p expression. * $P < 0.05$.

图2　lncRNA ADIRF-AS1靶向调控miR-185-5p

Fig.2　lncRNA ADIRF-AS1 targeted the regulation of miR-185-5p

以及TGF-β1处理的EECs中的表达及其对EECs增殖、侵袭及迁移的影响

结果显示，与对照组比较，miR-185-5p在IUA患者子宫内膜组织及外周血中表达明显降低（$P < 0.05$），见图3A、3B。TGF-β1处理后EECs的miR-185-5p表达结果显示，与未处理EECs相比，TGF-β1处理的EECs中miR-185-5p表达显著减少（$P < 0.05$），见图3C。si-miR-185-5p与si-NC质粒转染EECs，结果显示，miR-185-5p下调能够显著促进EECs增殖活力、侵袭及迁移能力，见图3D~3G。

2.4　TGF-β1处理以及转染si-miR-185-5p的EECs中EMT相关基因的表达

实时定量PCR检测结果显示，与正常EECs相比，TGF-β1刺激后的EECs中上皮细胞标志物*E-CA*和*CK-18* mRNA表达显著降低（$P < 0.05$）；间质细胞标志物*FSP-1*和*α-SMA* mRNA表达显著升高（$P < 0.05$）。转染si-miR-185-5p及si-NC质粒后EECs的EMT标志物的mRNA表达结果显示，与转染si-NC的EECs相比，转染si-miR-185-5p后EECs的*E-CA*和*CK-18* mRNA表达降低（$P < 0.05$），*FSP-1*和*α-SMA* mRNA表达增加（$P < 0.05$），见图4。

2.5　miR-185-5p靶向调控*SIX4*表达促进EMT

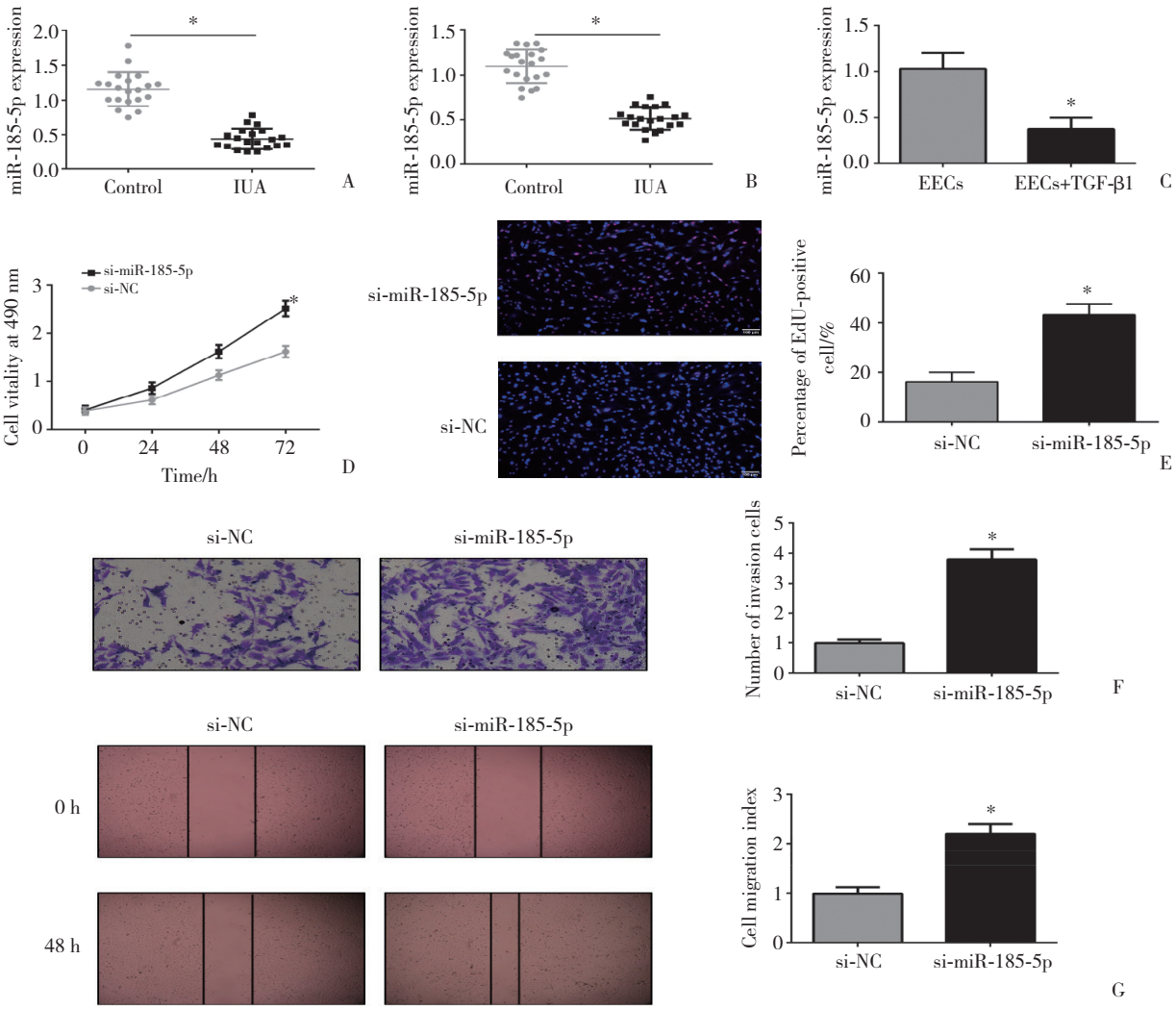
结果显示，与对照组比较，IUA患者子宫内膜组织及外周血中*SIX4*表达明显升高（$P < 0.05$），见图5A、5B。与未处理的EECs相比，TGF-β1处理的EECs中*SIX4*表达显著增加（$P < 0.05$），见图5C。

双萤光素酶报告基因检测证实miR-185-5p能够与*SIX4*结合，见图5D。实时定量PCR检测*SIX4*的表达结果显示，与转染mimics NC组比较，转染miR-185-5p mimics组EECs的*SIX4*表达显著降低（$P < 0.05$）；与转染inhibitor NC组相比，转染si-miR-185-5p组EECs的*SIX4*表达显著上升（$P < 0.05$），见图5E。表明miR-185-5p下调*SIX4*的表达。

Western blotting检测EMT相关蛋白（ZEB1、E-CA、CK-18、FSP-1和α-SMA）表达，结果显示，与转染空质粒组相比，转染p-SIX4组EECs的E-CA（1.00 ± 0.05 vs. 0.32 ± 0.04）和CK-18（1.00 ± 0.06 vs. 0.28 ± 0.03）蛋白表达下降（$P < 0.05$），ZEB1（1.00 ± 0.04 vs. 1.85 ± 0.12）、FSP-1（1.00 ± 0.05 vs. 2.51 ± 0.15）和α-SMA（1.00 ± 0.03 vs. 2.56 ± 0.18）蛋白表达升高（$P < 0.05$），见图5F。证实过表达*SIX4*可诱导EECs发生EMT。

3　讨论

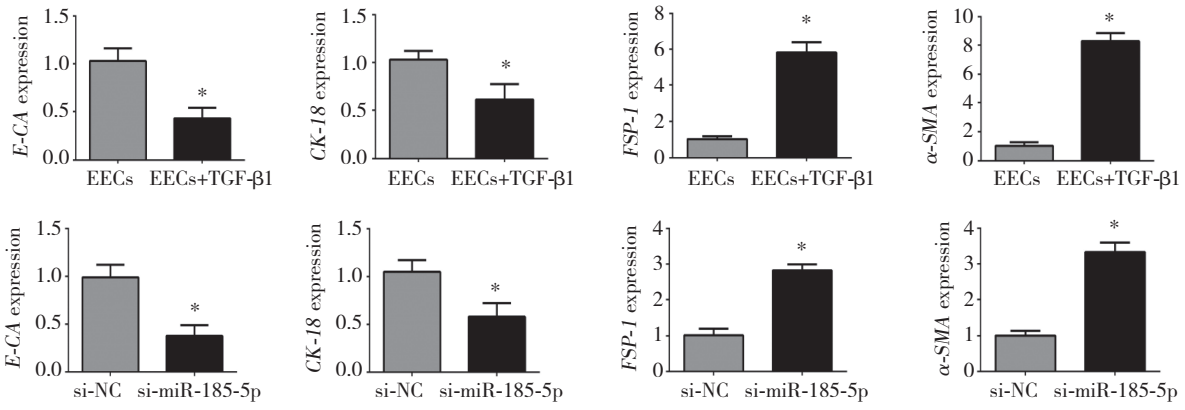
IUA危害育龄女性的生殖健康，尤其是中重度IUA是子宫性闭经和不孕最主要的病因[5]。因此，明确IUA的发病机制具有重要的意义。



A, in endometrium tissues; B, in peripheral blood; C, in EECs; D, the proliferation ability of EECs transfected with si-NC and si-miR-185-5p plasmids by CCK-8; E, the proliferation ability of EECs after transfection with si-NC and si-miR-185-5p plasmid by EdU (Scale bar = 100 μm); F, the invasive ability of EECs after transfection with si-NC and si-miR-185-5p plasmid by transwell (× 100); G, the migration ability of EECs transfected with si-NC and si-miR-185-5p plasmids by scratch healing assay (× 40). * $P < 0.05$ vs. control or EECs or si-NC group.

图3　miR-185-5p在IUA患者子宫内膜组织、外周血以及TGF-β1处理的EECs中的表达及其对EECs增殖、侵袭及迁移的影响

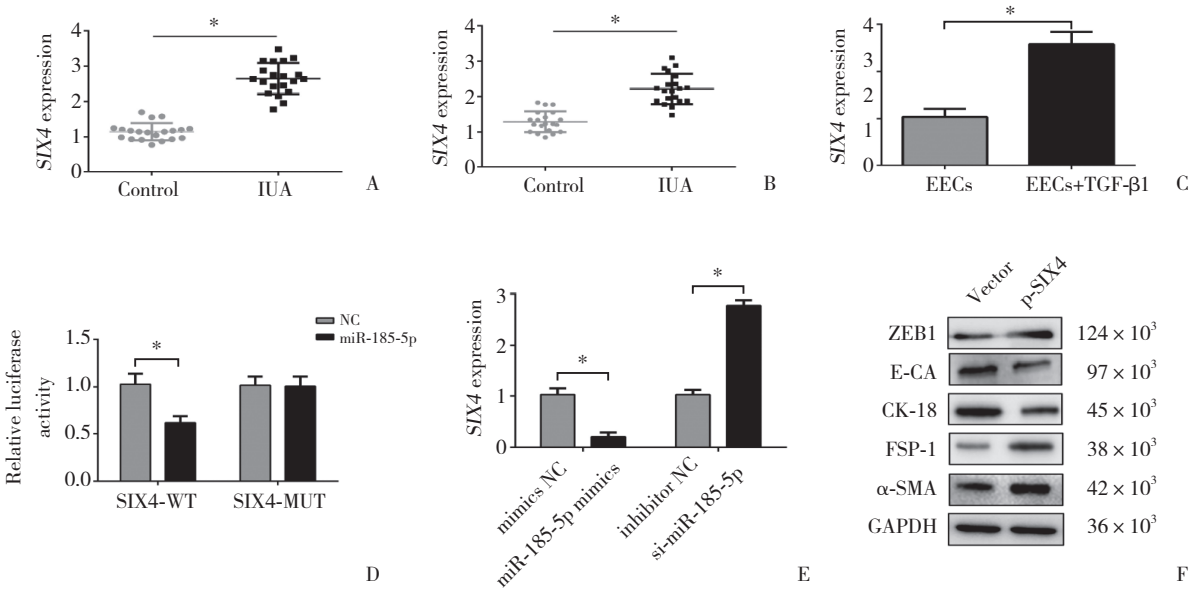
Fig.3　The expression of miR-185-5p in endometrium tissues, peripheral blood of IUA patients and EECs treated with TGF-β1, and its effect on the proliferation, invasion and migration ability of EECs



* $P < 0.05$ vs. EECs or si-NC group.

图4　经TGF-β1处理以及转染si-miR-185-5p后EECs中EMT相关基因的表达

Fig.4　mRNA expressions of EMT-related genes in EECs stimulated by TGF-β1 and transfected with si-miR-185-5p



A, in endometrium tissues; B, in peripheral blood; C, in EECs; D, luciferase activity in treated 293T cells; E, the expression of *SIX4* mRNA in EECs transfected with miR-185-5p mimics and si-miR-185-5p; F, the expression of EMT related protein. * $P < 0.05$.

图5　miR-185-5p靶向调控*SIX4*表达促进EMT

Fig.5　miR-185-5p promotes EMT by targeting *SIX4* expression

lncRNA的长度>200个核苷酸，其表达量较miRNA少，但具有较强的时空与组织特异性，且可在循环中保持稳定，具备良好的临床应用潜能[6]。lncRNA可作为竞争性内源性RNA通过“海绵”吸附机制结合miRNA，进而调控基因表达[7]。已有研究证实，lncRNA和一些重要器官的纤维化活动有关。一项针对子宫腺肌病的研究[8]发现，EECs细胞核中lncRNA TUG1可结合转录因子E2F4，抑制下游基因转录，提升EECs增殖活性，并促进血管生成，诱导EECs侵袭与迁移，加剧EMT。WU等[9]研究发现，lncRNA HOTAIR在IUA组织中，以及经TGF-β1/Smad通路激活促纤维化蛋白基因转录的EECs中表达水平均显著升高，lncRNA HOTAIR可诱导人EECs分化为肌纤维细胞，进而促进子宫内膜纤维化的发生发展。BROOKS等[10]研究结果表明，lncRNA ADIRF-AS1通过PBAF作为调节的特定基因促进肾透明细胞癌进展。ZHONG等[11]研究发现lncRNA ADIRF-AS1结合miR-214-3p可以通过靶向SERPINA1来减轻椎间盘退变。本研究结果显示，lncRNA ADIRF-AS1在IUA子宫内膜组织、外周血以及经TGF-β1处理的EECs中表达水平显著升高。推测IUA的形成与发展可能与ADIRF-AS1上调有关。实验验证EECs的EMT响应与原代细胞一致，研究结果表明，ADIRF-AS1升高促进了EECs增殖活力、侵袭及迁移能力。

miRNA可在转录后水平调控靶基因表达，与多种疾病的发生和发展密切相关[12]，而且lncRNA可通过结合miRNA的种子序列抑制其活性[13-14]。starBase数据库预测结果显示，miR-185-5p可能是ADIRF-AS1的靶基因；萤光素酶报告基因实验结果显示，ADIRF-AS1与miR-185-5p存在结合的靶向序列。LIU等[15]发现，miR-543能够下调纤维化相关基因的表达，而高表达miR-543可能与α-SMA表达下调有关，由此调控子宫内膜纤维化活动，并影响胶原蛋白含量；miR-543还能抑制N–钙黏蛋白的表达，通过外泌体从人脐带间充质干细胞转移到受损的EECs中，从而缓解子宫内膜的纤维化[16]。李奇炯等[17]证实通过调节YWHAZ，miR-185-5p可抑制非小细胞肺癌细胞的侵袭、增殖，促进细胞凋亡。EECs发生EMT，会丢失E-CA等上皮特征并获得间质细胞特性，进而增强迁移侵袭能力。本研究结果表明，IUA患者子宫内膜组织、外周血以及TGF-β1处理的EECs中miR-185-5p的表达明显降低，而miR-185-5p低表达可以促进EECs增殖、侵袭及迁移能力。

子宫内膜纤维化的特征表现为宫腔、子宫颈纤维粘连，纤维组织区域未分布活性子宫内膜组织，是子宫内膜纤维化的基本病理特征，但目前尚未完

全阐明其确切的发病机制[18]。EMT是EECs失去原有上皮特征、获得间质细胞特性的生物学过程，其典型特征为上皮标志物表达减少、间质标志物表达增加[2]。本研究发现TGF-β1诱导的EECs中出现了EMT，这进一步证实了EMT在IUA发生发展中发挥了重要的作用。SIX4是同源盒基因SIX家族中的一员，它的异常高表达能促进细胞的异常增殖，促进新血管的形成，加速浸润以及迁移，由此显著影响诸多疾病的形成与进展[19]。SIX4在IUA发生与发展中的作用尚未明确。在子宫内膜样腺癌组织中*SIX4*呈高表达，靶向抑制*SIX4*可通过EMT通路降低癌细胞侵袭与迁移能力，提示*SIX4*可促进肿瘤侵袭转移，进而加速疾病进展[20]。研究[21]发现SIX4对肺癌等细胞EMT、迁移与侵袭具有促进作用。研究[22]显示，SIX4表达下调后，E-CA表达上调，Vimentin与N-钙黏蛋白表达下调，使肝癌细胞侵袭与增殖活性减弱，可能会对肝癌产生抑制效果。本研究双萤光素酶报告基因实验证实*SIX4*是miR-185-5p的靶基因。本研究发现*SIX4*在IUA患者体内及TGF-β1处理的EECs中高表达。过表达*SIX4*可显著诱导EECs发生EMT，证实*SIX4*是介导EECs EMT的关键分子，其在IUA中的促纤维化作用与在肝癌、肺癌中的调控作用一致。

综上所述，lncRNA ADIRF-AS1在IUA患者子宫内膜组织、外周血以及TGF-β1处理的EECs中表达显著上调，ADIRF-AS1通过miR-185-5p/SIX4轴促进EMT，从而促进宫腔粘连的发生。ADIRF-AS1调控miR-185-5p/SIX4轴可能成为治疗IUA的新靶点。IUA的病理还涉及炎症、缺氧等多种因素的协同作用，本研究仅采用TGF-β1处理细胞是为了明确TGF-β1的核心因果关系，TGF-β1在真实微环境中的效应可能受到其他因子（如IL-6、HIF-1α）的调节。因此，未来需要构建包含炎症和缺氧等因素的复合模型，深入探讨TGF-β1信号通路与其他关键通路之间的交叉对话，从而更全面地阐明IUA的发病机制，为开发多靶点治疗策略提供依据。

参考文献：

[1] XU CC，BAO M，FAN XR，et al. End MT：new findings on the origin of myofibroblasts in endometrial fibrosis of intrauterine adhesions [J]. Reprod Biol Endocrinol，2022，20（1）：9. DOI：10.1186/s12958-022-00887-5.

[2] 刘敏.miR-466/NUS1介导上皮间质转化在宫腔粘连中的作用及机制[D]. 济南：山东大学，2021. DOI：10.27272/d.cnki.gshdu.2021.000487.

[3] YAO RW，WANG Y，CHEN LL. Cellular functions of long noncoding RNAs[J]. Nat Cell Biol，2019，21（5）：542-551. DOI：10.1038/s41556-019-0311-8.

[4] 张菁霓.宫腔粘连中长链非编码RNA相关的ceRNA网络构建和分析[D]. 重庆：重庆医科大学，2022. DOI：10.27674/d.cnki.gcyku.2022.000707.

[5] CAPMAS P，MIHALACHE A，DUMINIL L，et al. Intrauterine adhesions：what is the pregnancy rate after hysteroscopic management [J]. J Gynecol Obstet Hum Reprod，2020，49（7）：101797. DOI：10.1016/j.jogoh.2020.101797.

[6] CHEN LL，KIM VN. Small and long non-coding RNAs：past，present，and future [J]. Cell，2024，187（23）：6451-6485. DOI：10.1016/j.cell.2024.10.024.

[7] HENDERSON NC，RIEDER F，WYNN TA. Fibrosis：from mechanisms to medicines [J]. Nature，2020，587（7835）：555-566. DOI：10.1038/s41586-020-2938-9.

[8] YUAN B，WANG WL，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/endocr/bqac033.

[9] WU JH，JIN LG，ZHANG YD，et al. LncRNA HOTAIR promotes endometrial fibrosis by activating TGF-β1/Smad pathway [J]. Acta Biochim Biophys Sin，2020，52（12）：1337-1347. DOI：10.1093/abbs/gmaa120.

[10] BROOKS R，MONZY J，AARON B，et al. Circadian lncRNA ADIRF-AS1 binds PBAF and regulates renal clear cell tumorigenesis [J]. Cell Rep，2022，41（3）：111514. DOI：10.1016/j.celrep.2022.111514.

[11] ZHONG H，ZHOU ZH，GUO LB，et al. SERPINA1 is a hub gene associated with intervertebral disc degeneration grade and affects the nucleus pulposus cell phenotype through the ADIRF-AS1/miR-214-3p axis [J]. Transl Res，2022，245：99-116. DOI：10.1016/j.trsl.2022.02.006.

[12] 王激雯，陈醒，戴辉华.非编码RNA在宫腔粘连中的研究进展[J]. 中华全科医学，2024，22（5）：855-858，891. DOI：10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.003519.

[13] LU TX，ROTHENBERG ME. microRNA [J]. J Allergy Clin Immunol，2018，141（4）：1202-1207. DOI：10.1016/j.jaci.2017.08.034.

[14] NING J，ZHANG HT，YANG HW. microRNA-326 inhibits endometrial fibrosis by regulating TGF-β1/Smad3 pathway in intrauterine adhesions [J]. Mol Med Rep，2018，18（2）：2286-2292. DOI：10.3892/mmr.2018.9187.

[15] LIU X，XU Q，CHEN C，et al. miR-543 inhibits the occurrence and development of intrauterine adhesion by inhibiting the proliferation，migration，and invasion of endometrial cells [J]. BioMed Res Int，2021，2021：5559102. DOI：10.1155/2021/5559102.

[16] YUAN DL，GUO T，QIAN H，et al. Exosomal miR-543 derived from umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorates endometrial fibrosis in intrauterine adhesion via downregulating N-cadherin [J]. Placenta，2023，131：75-81. DOI：10.1016/j.placenta.2022.11.013.

[17] 李奇炯，颜伏归. miR-185-5p通过靶向YWHAZ对人非小细胞肺癌细胞A549恶性生物学行为的影响[J]. 重庆医学，2022，51（15）：2525-2531. DOI：10.3969/j.issn.1671-8348.2022.15.002

[18] XIAO L，SONG Y，HUANG W，et al. Expression of SOX2，NANOG

（下转第415页）

综上所述，ANGPTL4、内脂素在AHF患者中表达异常，与患者预后关系密切；两者联合检测对AHF患者预后的预测价值更高。

参考文献：

[1] GUPTA AK，TOMASONI D，SIDHU K，et al. Evidence-based management of acute heart failure [J]. Can J Cardiol，2021，37 (4)：621-631. DOI：10.1016/j.cjca.2021.01.002.

[2] CHO DI，AHN MJ，CHO HH，et al. ANGPTL4 stabilizes atherosclerotic plaques and modulates the phenotypic transition of vascular smooth muscle cells through KLF4 downregulation [J]. Exp Mol Med，2023，55 (2)：426-442. DOI：10.1038/s12276-023-00937-x.

[3] ERTEN M. Visfatin as a promising marker of cardiometabolic risk [J]. Acta Cardiol Sin，2021，37 (5)：464-472. DOI：10.6515/ACS.202109_37 (5).20210323B.

[4] MCDONAGH TA，METRA M，ADAMO M，et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure [J]. Eur Heart J，2021，42 (36)：3599-3726. DOI：10.1093/eurheartj/ehab368.

[5] ÇAVUŞOĞLU Y，ALTAY H，NALBANTGIL S，et al. Pre-discharge and post-discharge management and treatment optimization in acute heart failure [J]. Turk Kardiyol Dern Ars，2022，50 (5)：378-394. DOI：10.5543/tkda.2022.22329.

[6] 者春阳，李阳杰，何明. 急性心肌梗死后心力衰竭相关生物标志物研究进展 [J]. 心肺血管病杂志，2023，42 (6)：623-627. DOI：10.3969/j.issn.1007-5062.2023.06.020.

[7] GREENE SJ，BAUERSACHS J，BRUGTS JJ，et al. Worsening heart failure：nomenclature，epidemiology，and future directions：jacc review topic of the week [J]. J Am Coll Cardiol，2023，81 (4)：413-424. DOI：10.1016/j.jacc.2022.11.023.

[8] SUN T，ZHAN WL，WEI LJ，et al. Circulating ANGPTL3 and ANGPTL4 levels predict coronary artery atherosclerosis severity [J]. Lipids Health Dis，2021，20 (1)：154. DOI：10.1186/s12944-021-01580-z.

[9] YANG JM，LI X，XU DY. Research progress on the involvement of ANGPTL4 and loss-of-function variants in lipid metabolism and coronary heart disease：is the "prime time" of ANGPTL4-targeted therapy for coronary heart disease approaching? [J]. Cardiovasc Drugs Ther，2021，35 (3)：467-477. DOI：10.1007/s10557-020-07001-0.

[10] CHEN JH，LI JJ，WANG YY，et al. Serum ANGPTL4 and SIRT1 factor levels and the Carotid Atherosclerotic plaque stability relationship analysis [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)，2023，69 (9)：62-66. DOI：10.14715/cmb/2023.69.9.9.

[11] KÄRBERG K，FORBES A，LEMBER M. Visfatin and subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes：impact of cardiovascular drugs [J]. Medicina (Kaunas)，2023，59 (7)：1324. DOI：10.3390/medicina59071324.

[12] ZHENG MF，LU N，REN MX，et al. Visfatin associated with major adverse cardiovascular events in patients with acute myocardial infarction [J]. BMC Cardiovasc Disord，2020，20 (1)：271. DOI：10.1186/s12872-020-01549-3.

[13] 谷君，任卫东，李会贤，等. circHIPK2调节miR-7-5p/TCF4轴对血管紧张素Ⅱ诱导的血管内皮细胞凋亡的影响 [J]. 中国医科大学学报，2025，54 (3)：257-261，267. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.03.013.

[14] 杨启岭，段卡丹，邱梅红，等. 血清微小RNA-1297在急性心力衰竭患者中的表达及其与预后的关系 [J]. 河南医学研究，2023，32 (10)：1796-1800. DOI：10.3969/j.issn.1004-437X.2023.10.018.

[15] ABBATE A，TOLDO S，MARCHETTI C，et al. Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease [J]. Circ Res，2020，126 (9)：1260-1280. DOI：10.1161/CIRCRESAHA.120.315937.

[16] MA WS，LIU WZ，MU JY. Influencing mechanism of large-dose of atorvastatin in serum visfatin，MMP-9，and blood fat levels of patients with acute coronary syndromes [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)，2023，69 (3)：118-123. DOI：10.14715/cmb/2023.69.3.16.

（编辑　于　溪）

（上接第410页）

and OCT4 in a mouse model of lipopolysaccharide-induced acute uterine injury and intrauterine adhesions [J]. Reprod Biol Endocrinol，2017，15：14. DOI：10.1186/s12958-017-0234-9.

[19] XU F，XIONG N，YUAN YH，et al. Prognostic value of UBE2T and its correlation with immune infiltrates in lung adenocarcinoma [J]. J Oncol，2022，2022：5244820. DOI：10.1155/2022/5244820.

[20] 陆思楚，周新，闫洪超. SIX4在子宫内膜癌中的表达与临床意义及其对Ishikawa细胞侵袭和迁移的影响 [J]. 医学研究杂志，2023，52 (11)：159-163，153. DOI：10.11969/j.issn.1673-548X.2023.11.031.

[21] TANG J，LI Y，ZHANG L，et al. SIX4 acts as an oncogenic driver in non-small cell lung cancer by regulating epithelial-mesenchymal transition [J]. J Cell Physiol，2023，238 (8)：1652-1664. DOI：10.1002/jcp.31456.

[22] 周艳彩，周兵，魏晓霞. Six同源盒蛋白4蛋白在肝癌组织的表达及其对肝癌细胞恶性细胞生物学行为的影响 [J]. 中华实验外科杂志，2021，38 (2)：234-237. DOI：10.3760/cma.j.cn421213-20200518-00405.

（编辑　武玉欣）