·论 著·

miR-143-5p 靶向 TIMP1 对卵巢癌细胞及其移植瘤生长的抑制作用及其机制分析

樊增科，胡雪媚，傅慧婷，李统怀，叶夏斌，卢洁芳

【摘要】目的 探讨 miR-143-5p 靶向基质金属蛋白酶抑制剂 1（TIMP1）对卵巢癌细胞及其移植瘤生长的抑制作用及作用机制。**方法** 构建 miR-143-5p mimics、miR-143-5p 激动剂、siTIMP1、shTIMP1 及阴性对照载体，双荧光素酶实验验证 miR-143-5p 对 TIMP1 的靶向关系。免疫印迹检测各组中性粒细胞中 TIMP1、NETs 相关蛋白[瓜氨酸化组蛋白（citH3）、淋巴细胞抗原 6G（Ly6G）及组蛋白 2A（Histone2A）]表达，荧光检测中性粒细胞 TIMP1 定位和 NETs 数量。获取上述各组培养基并分别与人卵巢癌细胞 SKOV3 共培养，检测 SKOV3 细胞活力、凋亡、侵袭和迁移能力。建立卵巢癌移植瘤小鼠模型，2 周时瘤体体积测量、质量称重，4 周时统计小鼠生存状态，观察瘤体病理改变、组织凋亡，ELISA、免疫荧光检测检测瘤体组织髓过氧化物酶（MPO）水平和 citH3 细胞数量。**结果** 细胞实验：与 NC-miRNA 组/si-Control 组相比，miR-143-5p mimics 组/siTIMP1 组中性粒细胞的 TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达均降低（均 $P < 0.05$），TIMP1 平均光密度、NETs 数量均减少（均 $P < 0.05$），SKOV3 细胞活力、侵袭细胞数划痕愈合率均降低（均 $P < 0.05$），SKOV3 细胞凋亡率均升高（均 $P < 0.05$）。体内移植瘤实验：与 miRNA-NC 组/sh-Control 组相比，miR-143-5p 激动剂组/shTIMP1 组瘤体体积、质量均降低，4 周时小鼠生存率升高（均 $P < 0.05$），移植瘤组织坏死区域增加、浸润性生长减少、细胞异型性减轻，肿瘤凋亡细胞数增加（均 $P < 0.05$），瘤体组织 TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达和 MPO 水平、citH3 细胞数量均降低（均 $P < 0.05$）。**结论** miR-143-5p 靶向抑制 TIMP1 介导的 NETs 形成抑制卵巢癌细胞恶性生物学行为、移植瘤生长。

【关键词】 卵巢癌；miR-143-5p；TIMP1；中性粒细胞胞外陷阱；移植瘤生长
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.08.004
【中图分类号】 R96 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)08-0785-05

The inhibitory effect and mechanism of miR-143-5p on ovarian cancer cells and growth of transplanted tumors by targeting TIMP1

FAN Zengke, HU Xuemei, FU Huiting, LI Tonghuai, YE Xiabin, LU Jiefang (Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China)

【Abstract】Objective To investigate the inhibitory effect and mechanism of miR-143-5p on ovarian cancer cells and growth of transplanted tumors by targeting tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1). **Methods** The miR-143-5p mimics, miR-143-5p agonist, siTIMP1, shTIMP1 and negative control vector were constructed, the targeting relationship between miR-143-5p and TIMP1 were validated by dual luciferase assay. The expressions of TIMP1 and NETs-related proteins [citrulline histone3 (citH3), lymphocyte antigen 6G (Ly6G), histone2A (Histone2A)] in neutrophils were detected by western blot; the location of TIMP1 and number of NETs in neutrophils were detected by fluorescence method. The culture mediums of the above groups were collected for co-culture of human ovarian cancer cells SKOV3. The activity, apoptosis, invasion and migration of SKOV3 were detected by cell count kit-8 (CCK-8), annexin V/PI staining, transwell assay and scratch healing assay, respectively. A mouse model of ovarian cancer transplanted tumor was established by injecting SKOV3 cells through the tail vein; two weeks after intervention, tumor volume and weight were measured. Four weeks after intervention, survival status of mice was statistically analyzed. The pathological changes of tumors and tissues apoptosis were observed by HE and TUNEL staining. The expressions of TIMP1 and NETs-related proteins in tumor tissues were detected by western blot. The level of myeloperoxidase (MPO) and number of citH3 cells were detected by immunofluorescence assay. **Results** Cell experiment showed the expressions of TIMP1, citH3, Ly6G and Histone2A in neutrophils were increased than those

基金项目： 丽水市科技计划项目（2023SJZC012）
作者单位： 310053 杭州，浙江中医药大学研究生院（樊增科）；丽水市人民医院（樊增科、胡雪媚、傅慧婷、李统怀、叶夏斌、卢洁芳）
通信作者： 卢洁芳，Email：13235493@qq.com

in induction group (all $P < 0.05$); the mean optical density of TIMP1 and number of NETs were increased (all $P < 0.05$); the SKOV3 activity, number of invasion cells and scratch healing rate were increased, and apoptosis rate of SKOV3 was decreased (all $P < 0.05$). Compared with NC-miRNA group/si-Control group, the expressions of TIMP1, citH3, Ly6G and Histone2A in neutrophils were decreased in miR-143-5p mimics group/siTIMP1 group ($P < 0.05$); the mean optical density of TIMP1 and number of NETs were decreased ($P < 0.05$); the SKOV3 activity, number of invasion cells and scratch healing rate were decreased, and apoptosis rate of SKOV3 was increased (all $P < 0.05$). Transplanted tumor experiment showed the tumor volume and weight in miR-143-5p agonist group/shTIMP1 group were lower than those of miRNA-NC group/sh-Control group, survival rate was higher at four weeks after intervention ($P < 0.05$); the necrosis area of transplanted tumor tissues was increased, invasive growth was decreased, cell atypia was relieved, number of apoptosis cells was increased (all $P < 0.05$); the expressions of TIMP1, citH3, Ly6G, Histone2A, MPO and number of citH3 cells in tumor tissues were decreased (all $P < 0.05$). **Conclusions**　MiR-143-5p can inhibit malignant biological behaviors of ovarian cancer cells and growth of transplanted tumors by inhibiting TIMP1-mediated NETs formation.

【Key words】 Ovarian carcinoma; MiR-143-5p; Tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Neutrophil extracellular trap; Growth of transplanted tumor

[Modern Practical Medicine, 2025, 37(8): 785-789]

中性粒细胞可通过吞噬、脱颗粒作用发挥防御作用，还可以通过中性粒细胞外陷阱（neutrophil extracellular traps，NETs）形成调控肿瘤免疫微环境[1]，参与癌症转移。基质金属蛋白酶抑制剂-1（tissue inhibitor of metalloproteinases 1，TIMP1）能通过抑制基质金属蛋白酶蛋白水解活性调节降解过程中基质重塑的平衡[2]。有报道认为其可以触发胰腺癌 NETs 形成[3]。研究表明[4]，TIMP1 可以改变上皮性卵巢癌细胞的迁移和增殖，且其高表达患者总生存率低。miRNAs 的生物信息学分析发现，miR-143-5p 可以作为癌症转移的生物标志物，抑制 miR-143-5p 表达，上调缺氧诱导因子-1α（hypoxia-inducible factor-1α，HIF-1α）表达以促进胰腺癌的淋巴管形成和淋巴转移[5]。本研究通过 Tragetscan 分析靶向 TIMP1 的 miRNAs，发现 miR-143-5p 与 TIMP1mRNA 3’UTR 存在结合序列，基于此本研究从体外细胞、移植瘤实验角度探讨 miR-143-5p/TIMP1 对卵巢癌的作用机制，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　细胞和动物　人卵巢腺癌细胞系 SKOV3（美国 ATCC 生物生物标准品资源中心，货号：CM-H143），置于含 10%胎牛血清的培养基中培养，培养环境为 5% CO_2、37 ℃培养箱。SPF 级健康雌性 BALB/c 裸鼠，5 ～ 6 周龄，体质量 14 ～ 16 g，来源于温州医科大学[实验动物许可证号：SCXK（浙）2020-0001]，于 SPF 级饲养环境下饲养。本研究获得温州医科大学实验动物伦理委员会批准（批准号：wydw 2025-0490）。

1.2　主要试剂和仪器　miR-143-5p mimics、miR-143-5p 激动剂、siTIMP1、shTIMP1 及阴性对照载体（上海吉玛制药技术有限公司），佛波酯（PMA）（北京伊塔生物科技有限公司，型号：YT1702），兔抗鼠瓜氨酸化组蛋白（citH3）、淋巴细胞抗原 6G（Ly6G）、组蛋白 2A（Histone2A）抗体（英国 Abcam，货号：ab302920、ab121272 及 ab229914），过氧化物酶（MPO）试剂盒（上海酶研生物科技有限公司，型号：EK-M28011）。流式细胞仪、实时定量 PCR 仪（美国 Thermo fisher scientific，型号：Attune™ NxT、QuantStudio 5），EVOS 成像系统（美国 Invitrogen，型号：M7000）。

1.3　细胞实验

1.3.1　miR-143-5p 与 TIMP1 靶向关系验证　经 Target Scan 数据库预测 miR-143-5p 与 TIMP1 的结合序列位点，构建 TIMP1 野生型 3’UTR 载体（pGL3-TIMP1-3’-UTR-WT）和突变型 3’UTR 荧光素酶报告载体（pGL3-TIMP1-3’UTR-MUT）。将 SKOV3 细胞接种至 6 孔板，将上述两种质粒在 Lipofectamine® 2000 转染试剂作用下分别与 miR-143-5p mimics 或其阴性对照组共转染 SKOV3 细胞，48 h 后检测荧光素酶活性。

1.3.2　细胞转染　将中性粒细胞接种至 24 孔板，待融合至 50%时，将 miR-143-5p mimics 或 NC-miRNA、siTIMP1 或 si-Control 分别转染中性粒细胞，孵育 6 h 后更换含血清培养基培养，48 h 收集细胞。

1.3.3　qRT-PCR 检测 miR-143-5p、TIMP1 mRNA 表达　Trizol 法提取细胞总 RNA，第一链 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA 作为 RT-PCR 扩增模板，95℃ 10 min，95 ℃ 20 s；55 ℃ 20 s，72 ℃ 20 s，38 个循环。miR-143-5p、TIMP1 的内参基因分别为 U6、GAPDH，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 miR-143-5p 及 TIMP1 mRNA 表达。

1.3.4　细胞分组及处理　（1）将转染 miR-143-5p mimics、NC-miRNA、siTIMP1、si-Control 成功的中性粒细胞分为记为 miR-143-5p mimics 组、NC-miRNA 组、siTIMP1 组、si-Control 组，同时将为转染的中性粒细胞分为对照组、诱导组，除对照组外，余下各组细胞培养基中均加入 PMA 致其最终浓度为 25 nmol/L，孵育 4 h，收集细胞用于观察 NETs 形成情况。

1.3.5　免疫印迹检测 TIMP1 及 NETs 相关蛋白表达　提取中性粒细胞总蛋白，取 70 μg 蛋白量，行 SDS-PAGE 电泳、PVDF 膜转膜、5%脱脂奶粉封闭 2 h，加入稀释好的兔抗鼠 TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 及 GAPDH 一抗，4 ℃孵育过夜，漂洗后加入过氧化物酶偶联山羊抗兔二抗，室温孵育 2 h，ECL 化学显影，凝胶成像系统采集图像，Image J 软件统计分析蛋白条带的灰度值。

1.3.6　免疫荧光检测中性粒细胞 TIMP1 表达及 NETs 数量　收集给各组中性粒细胞，使用 4%多聚甲醛固定 15 min，磷酸缓冲液冲洗后，加入 0.1% Triton X-100 作用 15 min，山羊血清封闭 30 min，分别加入 TIMP1、citH3 抗体，4 ℃孵育过夜，加入 FITC 标记的山羊抗兔二抗 37 ℃避光作用 1 h，加入 DAPI 37 ℃避光作用 15 min，最后加抗荧光淬灭剂封片，于 EVOS 成像系统下随机选取 3 各部重叠视野进行观察，使用 TIMP1 平均光密度表示 TIMP1 表达，单个视野下 citH3 阳性细胞数量表示 NETs 数量。

1.3.7　CCK-8 法检测 SKOV3 细胞活力　将 SKOV3 细胞接种至 96 孔板，分别将各组中性粒细胞的培养基与 SKOV3 细胞共培养 48 h，加入 CCK-8 溶液避光孵育 1 h，酶标仪 450 nm 波长处检测吸光度，计算细胞的相对活性。

1.3.8　Annexin V/PI 染色检测 SKOV3 细胞凋亡　收集 SKOV3 细胞后 1 000 r/min 离心 5 min，收集细胞沉淀，300 μl 1×Binding Buffer 重悬细胞，加入 5 μl Annexin V/FITC 和 10 μl PI 混合均匀，室温避光孵育 15 min，上样流式细胞仪，检测细胞凋亡率。

1.3.9　Transwell 实验检测 SKOV3 细胞侵袭能力　收集各组 SKOV3 细胞用无血清培养基稀释，接种于预先铺有 Matrigel 胶的小室（1×10^5 个），下室加入含有血清培养基，细胞培养箱培养 24 h，取出小室并去除多余的培养基，4%多聚甲醛固定后使用 0.1%结晶紫染色，显微镜下观察单个视野下细胞数目。

1.3.10　划痕愈合实验检测 SKOV3 细胞迁移能力　将测 SKOV3 细胞接种至 12 孔板（3×10^5 个/孔），待生长至对数期时，干预情况同 1.3.7，使用无菌移液枪头在细胞培养板底划一直线，洗涤 3 次，继续培养 24 h，显微镜下记录 0 h、24 h 时划痕面积变化，Image J 软件计算划痕愈合率。

1.4　移植瘤实验　（1）卵巢癌移植瘤小鼠模型构建和分组干预。向 75 只雌性 BALB/c 裸鼠尾静脉注射 SKOV3 细胞（1×10^5 个），于注射当日使用 IVIS 活体成像系统检测裸鼠体内肿瘤细胞情况，当肿瘤体积达到 100 mm^3 时，表示移植瘤小鼠模型构建成功。将移植瘤小鼠随机均分为移植瘤组、miRNA-NC 组、miR-143-5p 激动剂组、sh-Control 组和 shTIMP1 组，每组 15 只，分别于小鼠皮下注射 miRNA-NC、miR-143-5p 激动剂、sh-Control、shTIMP1，3 次/周，连续 2 周。2 周时，每组随机选取 6 只小鼠，使用游标卡尺测量瘤体体积，电子天平称重瘤体质量，使用 qRT-PCR 检测移植瘤 miR-143-5p 表达；剩余小鼠继续饲养，4 周时统计小鼠的生存率。（2）移植瘤病理变化。干预结束后，麻醉处死裸鼠，分离移植瘤，10%中性甲醛溶液，固定完成后进行常规脱水、透明、石蜡包埋及切片（5 μm），常规处理显微镜下观察移植瘤病理变化。（3）TUNEL 染色观察移植瘤细胞凋亡。取移植瘤切片，脱蜡水化，蛋白酶 K 修复，3% H_2O_2 室温封闭，TdT 酶反应液，氧化物酶标记的链酶卵白素工作液，DAB 显色，苏木素复染，脱水，透明，封片，在 400 倍视野下 3 个不重叠视野进行观察凋亡阳性细胞情况。阳性判定标准：细胞核呈现出棕黄色或棕褐色颗粒为阳性细胞，凋亡率=（阳性细胞个数/有核细胞总数）×100%。（4）免疫印迹检测瘤体组织 TIMP1、NETs 相关蛋白表达，操作方法同 1.3.5。（5）ELISA 检测检测瘤体组织 MPO 水平，按照试剂盒说明书检测。（6）免疫荧光检测检测瘤体组织 citH3 细胞数量，操作方法同 1.3.6。

1.5　统计方法　数据采用 SPSS 25.0 软件分析，计量资料以均数±标准差表示，多组间比较采用 F 检验，多重比较采用 LSD-t 检验。生存率比较采用 χ^2 检验。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　miR-143-5p 与 TIMP1 靶向关系验证　TIMP1-

WT/miR-143-5p mimics SKOV3 细胞的相对荧光素酶活性（0.31±0.07），低于 TIMP1-WT/miR-NC SKOV3（1.02±0.05）（t=20.21，P < 0.05）；TIMP1-MUT/miR-143-5p mimics SKOV3 细胞的相对荧光素酶活性为（1.01±0.06），与 TIMP1-MUT/ miR-NC SKOV3 细胞的（1.00±0.07）比较，差异无统计学意义（t=0.26，P > 0.05）。

2.2 miR-143-5p、TIMP1 对中性粒细胞 NETs 形成的影响 与对照组相比，诱导组中性粒细胞的 miR-143-5p 表达降低（P < 0.05），TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达升高（均P < 0.05），TIMP1 平均光密度、NETs 数量增加（均 P < 0.05）；与 NC-miRNA 组/si-Control 组相比，miR-143-5p mimics 组/siTIMP1 组中性粒细胞的 TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达均降低（均 P < 0.05），TIMP1 平均光密度、NETs 数量均减少（均P < 0.05），见表 1 ～ 2。

2.3 miR-143-5p、TIMP1 对 SKOV3 细胞活力、侵袭、迁移能力的影响 与对照组相比，诱导组 SKOV3 细胞活力、侵袭细胞数、划痕愈合率升高，SKOV3 细胞凋亡率降低（均P < 0.05）；与 NC-miRNA 组及 si-Control 组相比，miR-143-5p mimics 组及 siTIMP1 组 SKOV3 细胞活力、侵袭细胞数划痕愈合率均降低（均P < 0.05），SKOV3 细胞凋亡率均升高（均 P < 0.05），见表 3。

表 1 6 组中性粒细胞 TIMP1 平均光密度和 NETs 数量比较

组别	TIMP1 平均光密度	NETs 数量（个/视野）
对照组	0.38±0.09	58.62±4.88
诱导组	0.76±0.05	218.31±7.19
NC-miRNA 组	0.74±0.06	215.48±8.69
miR-143-5p mimics 组	0.48±0.05	141.92±7.22
si-Control 组	0.73±0.07	216.82±8.37
siTIMP1 组	0.33±0.04	127.21±7.36
F 值	59.71	469.11
P 值	< 0.05	< 0.05

注：TIMP1 为基质金属蛋白酶抑制剂-1，NETs 为中性粒细胞外陷阱

2.4 miR-143-5p、TIMP1 对卵巢癌移植瘤生长和 NETs 形成的影响 移植瘤组、miRNA-NC 组及 sh-Control 组移植瘤组织均无坏死、呈浸润性生长、细胞异型性，miR-143-5p 激动剂组、shTIMP1 组的移植瘤组织坏死区域增加、浸润性生长减少及细胞异型性减轻，见表 4 ～ 5。

3 讨论

本研究结果显示，在 PMA 诱导 NETs 形成时，NETs 标志物蛋白 citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达均升高且 NETs 数量增加，同时还发现 miR-143-5p 的表达降低，TIMP1 表达升高，经双色荧光酶素活性实验证实 miR-143-5p 可靶向抑制 TIMP 表达，由此结果说明 miR-143-5p/TIMP1 参与 NETs 形成过程。中性粒细胞在正常生理状态下通过变形游走、吞噬作用和与其他免疫细胞相互作用发挥免疫调节作用，同时还可以调节肿瘤免疫微环境促进肿瘤转移，这与 NETs 形成密切相关 [6]。肿瘤细胞衍生因子如白介素-8 等可诱导中性粒细胞形成 NETs，NETs 能够刺激大网膜中表达白介素-10 的先天样 $CD43^{+}B$ 细胞扩增，增加 Treg 数量，从而使这一生态位变得有利于癌症的转移 [7]。本研究通过构建过表达 miR-143-5p、沉默 TIMP1 表达中性粒细胞发现，即使处于 PMA 诱导下状态下，这两类细胞系的 NETs 标志物蛋白表达和 TIMP1 平均光密度、NETs 数量均降低，由此结果证实 miR-143-5p/TIMP1 可以抑制 NETs 形成。

本研究结果显示，PMA 诱导中性粒细胞的培养基共培养 SKOV3 细胞活力、侵袭细胞数、划痕愈合率升高，细胞凋亡率降低，而过表达 miR-143-5p、沉默 TIMP1 表达情况下的 SKOV3 细胞活力、侵袭细胞数、划痕愈合率以及凋亡率与单纯黄 PMA 诱导时呈

表 2 6 组中性粒细胞 miR-143-5p、TIMP1 及 NETs 相关蛋白表达

组别	miR-143-5p 表达	TIMP1 mRNA	NETs 相关蛋白			
			TIMP1	citH3	Ly6G	Histone2A
对照组	1.03±0.05	1.02±0.06	0.36±0.06	0.28±0.04	0.31±0.04	0.22±0.05
诱导组	0.46±0.06	3.51±0.11	1.12±0.06	0.94±0.06	0.88±0.05	0.91±0.06
NC-miRNA 组	0.44±0.07	3.49±0.18	1.11±0.08	0.96±0.05	0.89±0.06	0.93±0.04
miR-143-5p mimics 组	4.32±0.18	0.76±0.08	0.82±0.04	0.52±0.04	0.63±0.05	0.59±0.05
si-Control 组	0.45±0.05	3.47±0.20	1.13±0.06	0.94±0.05	0.88±0.07	0.90±0.08
siTIMP1 组	0.47±0.08	0.27±0.03	0.17±0.02	0.41±0.05	0.46±0.07	0.37±0.05
F 值	1 649.71	913.73	336.35	237.62	112.23	179.18
P 值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

注：TIMP1 为基质金属蛋白酶抑制剂-1，NETs 为中性粒细胞外陷阱

表 3　6 组 SKOV3 细胞活力、侵袭及迁移能力比较

组别	细胞相对活力（%）	凋亡率（%）	侵袭细胞数（个/视野）	划痕愈合率（%）
对照组	100	12.99±1.33	52.36±4.31	32.95±3.56
诱导组	186.41±8.11	5.61±1.12	79.35±4.19	52.46±4.34
NC-miRNA 组	184.82±7.99	6.01±1.07	78.11±5.39	53.95±5.01
miR-143-5p mimics 组	151.88±6.92	41.85±6.24	41.68±5.01	26.84±3.07
si-Control 组	183.98±10.44	5.83±1.11	80.37±4.82	51.99±5.24
siTIMP1 组	130.42±7.26	35.12±5.04	36.01±4.03	21.33±3.22
F 值	134.68	137.55	115.22	73.83
P 值	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05

表 4　5 组移植瘤 miR-143-5p 表达、移植瘤生长情况和 MPO 水平比较（*n*=6）

组别	miR-143-5p 表达	2 周时移植瘤体积（mm^3）	2 周时移植瘤体质量（g）	4 周时生存率（%）	MPO（U/L）
移植瘤组	1.02±0.05	426.55±12.66	1.32±0.11	1（11.11）	26.82±2.81
miRNA-NC 组	1.01±0.07	418.84±14.48	1.28±0.14	1（11.11）	25.98±3.01
miR-143-5p 激动剂组	3.99±0.18[a]	326.77±10.63[b]	0.88±0.09[b]	7（77.78）[a]	14.69±2.15[a]
sh-Control 组	1.02±0.06	420.93±14.03	1.30±0.14	1（11.11）	26.34±2.94
shTIMP1 组	1.03±0.05	297.95±12.36[b]	0.73±0.05[b]	8（88.89）[b]	12.29±2.33[b]
F 值	1 153.09	134.22	37.08	—	42.62
P 值	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05

注：a 为与 miRNA-NC 组比较，b 为与 sh-Control 组比较，均 $P < 0.05$。MPO 为过氧化物酶

表 5　5 组移植瘤凋亡率、TIMP1 和 NETs 相关蛋白表达（*n*=6）

组别	凋亡率（%）	TIMP1 蛋白表达	citH3 蛋白表达	Ly6G 蛋白表达	Histone2A 蛋白表达	citH3 细胞数量（个/视野）
移植瘤组	14.88±3.36	0.79±0.08	0.86±0.07	0.79±0.05	0.93±0.04	51.36±4.84
miRNA-NC 组	12.67±3.28	0.81±0.06	0.84±0.08	0.80±0.06	0.91±0.05	50.49±5.06
miR-143-5p 激动剂组	34.88±5.08[a]	0.52±0.05[a]	0.43±0.05[a]	0.37±0.04[a]	0.48±0.06[a]	38.66±4.31[a]
sh-Control 组	13.42±4.07	0.78±0.07	0.83±0.08	0.77±0.09	0.90±0.06	52.08±5.12
shTIMP1 组	48.34±4.88[b]	0.21±0.06[b]	0.31±0.05[b]	0.29±0.06[b]	0.33±0.05[b]	31.34±4.66[b]
F 值	87.61	95.95	91.36	98.16	174.89	22.54
P 值	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05	＜ 0.05

注：a 为与 miRNA-NC 组比较，b 为与 sh-Control 组比较，均 $P < 0.05$。TIMP1 为基质金属蛋白酶抑制剂-1，NETs 为中性粒细胞外陷阱

相反趋势。这说明 NETs 对 SKOV3 细胞活力、侵袭和迁移能力增强有促进作用，同时还能减少 SKOV3 细胞凋亡，此外 miR-143-5p/TIMP1 可以通过抑制 NETs 发挥对 SKOV3 细胞活力和转移作用。卵巢癌生长不受控制生长是引起其恶性行为、复发的重要原因，本研究通过体内移植瘤实验发现过表达 miR-143-5p、沉默 TIMP1 表达对移植瘤进行干预时，均可降低移植瘤的体积、体质量，并且还能提高小鼠的生存率和移植瘤的凋亡率，进一步分析发现移植瘤组织的 TIMP1、citH3、Ly6G、Histone2A 蛋白表达和 MPO 水平、citH3 细胞数量均降低，说明 miR-143-5p/TIMP1 可以通过抑制 NETs 形成抑制卵巢癌移植瘤生长。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明　樊增科、傅慧婷：实验操作、论文撰写；胡雪媚、叶夏斌：数据整理、统计学分析；卢洁芳、李统怀：研究指导、论文修改、经费支持

参　考　文　献

[1] ADROVER J M, MCDOWELL S A C, HE X Y, et al. NETworking with cancer: The bidirectional interplay between cancer and neutrophil extracellular traps[J]. Cancer Cell, 2023, 41(3): 505-526.

[2] BUTLER A E, NANDAKUMAR M, SATHYAPALAN T, et al. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and their ratios in women with polycystic ovary syndrome and healthy controls[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(1): 321.

[3] SCHOEPS B, ECKFELD C, PROKOPCHUK O, et al. TIMP1 triggers neutrophil extracellular trap formation in pancreatic cancer[J]. Cancer Res, 2021, 81(13): 3568-3579.

[4] SONEGO M, POLETTO E, PIVETTA E, et al. TIMP-1 is overexpressed and secreted by platinum resistant epithelial ovarian cancer cells[J]. Cells, 2019, 9(1): 6.

[5] HAO S L, JI Y, PAN W X, et al. Long non-coding RNA BANCR promotes pancreatic cancer lymphangiogenesis and lymphatic metastasis by regulating the HIF-1α/VEGF-C/VEGFR-3 pathway via miR-143-5p[J]. Genes Dis, 2024, 11(4): 101015.

[6] HIDALGO A, LIBBY P, SOEHNLEIN O, et al. Neutrophil extracellular traps: From physiology to pathology[J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(13): 2737-2753.

[7] HERRE M, CEDERVALL J, MACKMAN N, et al. Neutrophil extracellular traps in the pathology of cancer and other inflammatory diseases[J]. Physiol Rev, 2023, 103(1): 277-312.

收稿日期：2025-03-28

（本文编辑：钟美春）