

范慧, 吴悠, 肖波, 等. lncRNA CUFF. 253988. 1 在 T-2 毒素诱导猪卵巢颗粒细胞损伤中的作用 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (6): 31-37.
FAN H, WU Y, XIAO B, et al. Effect of lncRNA CUFF. 253988. 1 on T-2 toxin-induced ovarian granulosa cell injury in porcine [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (6): 31-37.

lncRNA CUFF. 253988. 1 在 T-2 毒素诱导猪卵巢颗粒细胞损伤中的作用

范慧^{1,2#}, 吴悠^{1#}, 肖波¹, 杨成林¹, 刘水平^{1*}, 邬静^{1,3*}

(1. 湖南农业大学动物医学院/畜禽保健湖南省工程研究中心, 湖南长沙 410128;

2. 邵阳职业技术学院, 湖南邵阳 422004;

3. 云南循环农业产业研究院, 云南普洱 665000)

摘要: 旨在探究 lncRNA CUFF. 253988. 1 在 T-2 毒素诱导猪卵巢颗粒细胞损伤中的作用。本试验分离培养了猪原代卵巢颗粒细胞, 通过荧光标记的卵泡刺激素受体 (FSHR) 抗体对细胞进行鉴定; 采用实时荧光定量 PCR 技术, 检测 T-2 毒素对卵巢颗粒细胞及其线粒体 lncRNA CUFF. 253988. 1 转录水平的影响; 通过 RNA 荧光原位杂交技术检测 T-2 毒素对 lncRNA CUFF. 253988. 1 细胞定位的影响; 利用流式细胞术检测 T-2 毒素对卵巢颗粒细胞活性氧 (ROS)、线粒体膜电位和细胞凋亡的影响; 通过透射电镜观察 T-2 毒素对细胞超微结构的影响; 使用反义寡核苷酸 (ASO) 特异性敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后观察相关指标的变化。结果: T-2 毒素显著上调 lncRNA CUFF. 253988. 1 在细胞和线粒体中的表达水平 ($P < 0.01$), 增加了 lncRNA CUFF. 253988. 1 在线粒体的聚集; 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后, 缓解了 T-2 毒素诱导的线粒体结构损伤, 显著降低了细胞中 ROS 的产生 ($P < 0.01$), 恢复线粒体膜电位 ($P < 0.01$) 并抑制细胞凋亡 ($P < 0.01$)。本研究表明, lncRNA CUFF. 253988. 1 在 T-2 毒素诱导的卵巢颗粒细胞损伤中具有重要调控作用。

关键词: lncRNA CUFF. 253988. 1; 猪卵巢颗粒细胞; 线粒体损伤; 氧化应激; 细胞凋亡

中图分类号: S857. 2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)06-0031-07

Effect of lncRNA CUFF. 253988. 1 on T-2 toxin-induced ovarian granulosa cell injury in porcine

FAN Hui^{1,2#}, WU You^{1#}, XIAO Bo¹, YANG Chenglin¹, LIU Shuiping^{1*}, WU Jing^{1,3*}

(1. College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University/Hunan Engineering Research Center of Livestock and Poultry Health Care, Changsha 410128, China;

2. Shaoyang Polytechnic, Shaoyang 422004, China;

3. Yunnan Institute of Circular Agricultural Industry, Pu'er 665000, China)

Abstract: This study aimed to explore the effect of lncRNA CUFF. 253988. 1 on T-2 toxin-induced ovarian granulosa cell injury in porcine. Here, primary porcine ovarian granulosa cells were isolated and cultured, and were then identified by fluorescence-labeled FSHR antibody. The RT-qPCR was employed to assess the impact of T-2 toxin on ovarian granulosa cells and their mitochondrial lncRNA CUFF. 253988. 1 transcription levels. Additionally, the RNA fluorescence in situ hybridization technology was utilized to examine the effect of T-2 toxin on the cellular localization of lncRNA CUFF. 253988. 1. Flow cytometry was employed to analyze the effects of T-2 toxin on reactive oxygen species (ROS), mitochondrial membrane potential, and apoptosis of the ovarian granulosa cells. Furthermore, transmission electron microscopy was used to observe the impact of T-2 toxin on cell ultrastructure. Antisense oligonucleotide (ASO) was specifically employed to silence lncRNA CUFF. 253988. 1, and subsequent changes in relevant indicators were monitored. The results showed that T-2 toxin notably boosted the levels of lncRNA CUFF. 253988. 1 in both cells and mitochondria ($P < 0.01$), leading to enhanced concentration of lncRNA CUFF. 253988. 1 within the mitochondria. Upon silencing lncRNA CUFF. 253988. 1, the T-2 toxin-induced structural damage to

收稿日期: 2024-06-06; 修回日期: 2025-04-20

基金项目: 云南省重大科技专项计划项目 (202202AE090032)

第一作者: 范慧, 女, 硕士; 吴悠, 女, 博士研究生。*共同第一作者

*通信作者: 邬静, 教授, 研究方向为动物非传染性群发病, E-mail: wujing@hunau.edu.cn; 刘水平, 博士, 研究方向为动物营养代谢病与中毒病, E-mail: liushuiping@hunau.edu.cn。

the mitochondria was mitigated, resulting in a marked reduction in cellular ROS generation ($P < 0.01$), restoration of mitochondrial membrane potential ($P < 0.01$), and inhibition of cellular apoptosis ($P < 0.01$). These results indicated that lncRNA CUFF. 253988. 1 played an important regulatory role in T-2 toxin-induced porcine ovarian granulosa cell injury.

Keywords: lncRNA CUFF. 253988. 1; porcine ovarian granulosa cells; mitochondrial injury; oxidative stress; cell apoptosis

卵巢是雌性哺乳动物中卵泡发育和类固醇激素分泌的重要生殖器官, 主要包含了不同发育期的卵泡和黄体。卵巢颗粒细胞 (granulosa cells, GCs) 是卵泡中数量最多的功能细胞, 其增殖和凋亡对于性激素分泌、卵泡发育和闭锁具有决定作用。卵巢颗粒细胞过度凋亡, 能够直接影响雌性动物的排卵、激素分泌和生殖器官发育等^[1]。因此, 对卵巢颗粒细胞的研究, 一直是探讨雌性动物生殖健康所关注的重点。

霉菌是自然界中广泛存在的真菌, 能够产生大量有毒代谢产物, 污染农作物、粮食、饲料和食品等, 对人和动物的健康造成极大危害。T-2 毒素是一种由镰刀菌属产生、毒性最强的 A 型单端孢霉烯族化合物, 已被证实具有神经、消化、免疫和生殖等多系统毒性^[2]。研究表明, T-2 毒素通过调控下丘脑中的促性腺激素释放激素 (GnRH) 与垂体中 GnRH 受体 (GnRHR) mRNA 的表达, 延迟雌性大鼠的发情周期, 此外 T-2 毒素导致血清中促黄体生成素、促卵泡激素和雌二醇水平的下降^[3]。T-2 毒素能够引起母猪繁殖性能下降, 降低产仔率^[4], 延长牛羊的卵泡成熟和排卵时间, 增加不育的风险^[5]。

长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 是长度超过 200 nt 但不编码蛋白质的一类 RNA 分子的统称。一项对猪 lncRNA 全基因组的鉴定结果显示, 表达量最高的 lncRNA CUFF. 253988. 1 与人和小鼠核基因组编码的长链非编码 RNA 肺癌转移相关转录本 1 (lncRNA MALAT1) 同源, 且进化保守, 在多种组织中广泛表达^[6]。保守序列通常具有重要的生物学功能, 从不同物种间 lncRNA 的保守性来推测其功能是常用的研究思路之一^[7]。团队前期研究表明, lncRNA MALAT1^{-/-} C57 小鼠肝细胞的线粒体功能更加活跃, 能够拮抗由高糖或炎症因子造成的氧化损伤^[8], 推测与 lncRNA MALAT1 同源且进化保守的 lncRNA CUFF. 253988. 1 在猪体内可能具有重要的生物学调控作用。

本研究以体外分离培养的猪卵巢颗粒细胞为模型, 探究 lncRNA CUFF. 253988. 1 在细胞中的定位与表达变化情况, 通过特异性敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1, 探讨其在 T-2 毒素诱导猪卵巢颗粒细胞损伤中的作用, 为进一步研究 lncRNA CUFF. 253988. 1 在猪卵巢颗粒细胞发育中的作用机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试验材料

从湖南省长沙市某畜牧定点屠宰场采集成年商品母猪 (180 日龄左右) 完整的新鲜卵巢, 用 37 °C 生理盐水冲洗并暂时保存, 在 2 h 内运送至实验室进行分离培养。

DMEM/F12 培养基购于 Biological industries 公司, 胎牛血清购于浙江天杭生物科技有限公司, 青链霉素混合液、胰酶消化液购于 Solarbio 公司, 磷酸盐缓冲液购于 HyClone 公司, 卵泡刺激素受体 (FSHR) 抗体、异硫氰酸荧光素酯 (FITC) 标记的二抗购于 Proteintech 公司, RNAex Pro RNA 提取试剂、Evo M-MLV 反转录试剂盒、SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒购于 Accurate Biology 公司, 4, 6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 染色液、Mito-Tracker Green、活性氧 (ROS) 检测试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒、JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒、线粒体分离试剂盒均购于 Beyotime 公司, ASO-lncRNA CUFF. 253988. 1、riboFECT™ CP 转染试剂购于 RiboBio 公司。

1.2 细胞分离培养

用无菌生理盐水和 75% 无水乙醇清洗新鲜卵巢 2~3 次。用 5 mL 无菌注射器吸取卵巢表面卵泡 (直径 3~5 mm) 的卵泡液。将细胞 1 000 r/min 离心 3~5 min 后, 弃去上清液。经过无菌 PBS 溶液清洗 1~2 次后, 再次离心并收集细胞, 加入 DMEM/F12 培养基, 在 37 °C, 5% CO₂ 的培养箱中培养, 为后续试验做准备。

1.3 卵巢颗粒细胞鉴定

在 12 孔板中放置合适大小的细胞爬片, 接种细胞后, 等待 24 h。将培养液移除, 加入 4% 的多聚甲醛, 固定 30 min 后用免疫染色通透液孵育 5~10 min。室温下, 使用 10% 正常山羊血清孵育 20 min。随后孵育一抗, 并置于 4 °C 冰箱过夜。荧光二抗避光孵育 1 h。最后, 使用 DAPI 避光染色 3~5 min, 并滴加抗荧光淬灭封片剂, 置于荧光显微镜下观察。试验分为阴性对照组和抗体免疫组, 以 PBS 作为阴性对照替代 FSHR 一抗。

1.4 引物设计与合成

用于荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测的 lncRNA

CUFF.253988.1引物序列参照参考文献[6],甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)基因序列从GenBank数据库中获取,通过Primer Premier 5软件设计引物

(表1),并委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表1 RT-qPCR引物序列

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
lncRNA CUFF.253988.1	F: TCAACTTTAATTTGTGGTGGTGC	129
	R: CTCGCTCTGAATTTATCGTCC	
GAPDH	F: AGGGCATCCTGGGCTACACT	166
	R: TCCACCACCCTGTTGCTGTA	

1.5 RT-qPCR检测细胞和线粒体中基因表达

分组为:0 nmol/L T-2毒素组(培养基孵育24 h)、1 nmol/L T-2毒素组(含1 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)、10 nmol/L T-2毒素组(含10 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)、100 nmol/L T-2毒素组(含100 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)。RNAex Pro试剂提取各组细胞总RNA,并使用线粒体分离试剂盒提取细胞线粒体,再提取线粒体RNA。将所提取RNA反转录成cDNA,然后利用RT-qPCR技术检测lncRNA CUFF.253988.1的表达。反应体系:2×SYBR® Green Pro Taq HS Premix 10 μL, DNA模板(50 ng/μL) 2 μL, Primer F(10 μmol/L) 0.4 μL, Primer R(10 μmol/L) 0.4 μL, ROX Reference Dye(20 μmol/L) 0.4 μL, RNase free water补足至20 μL。反应程序为95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火30 s,40个循环。

1.6 反义寡核苷酸(ASO)-lncRNA转染

将生长状态良好的卵巢颗粒细胞接种于12孔板中,待细胞融合率达到30%~50%时进行转染。按riboFECT™ CP转染试剂说明书配制ASO-lnc CUFF转染复合物,随后将配制好的转染复合物滴加到已含有无双抗完全培养基的细胞中轻轻混匀,确保复合物均匀分布于培养基中,培养24 h。随后使用相应浓度的T-2毒素孵育卵巢颗粒细胞24 h,再进行后续检测。不同处理组为:control组(培养基孵育48 h),T-2组(培养基孵育24 h后,再用含100 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)组,T-2+ASO-NC组(含ASO-NC转染复合物的培养基孵育24 h后,再用含100 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h),T-2+ASO-lnc CUFF组(含ASO-lncRNA CUFF.253988.1转染复合物的培养基孵育24 h后,再用含100 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)。

1.7 荧光原位杂交(RNA-FISH)检测lncRNA CUFF.253988.1定位

制作细胞爬片,通过Mito-Tracker Green试剂盒

对线粒体进行染色,用4%多聚甲醛固定10 min,再用免疫染色通透液孵育5~10 min,将爬片依次置于80%、95%、100%的无水乙醇中脱水,风干。将制备好的特异性核酸探针与细胞爬片孵育过夜。在42℃、50%甲酰胺/2×SSC溶液中冲洗3次,滴加Anti-digoxigenin-fluorescein孵育4 h,进行DAPI复染。最后,使用激光共聚焦荧光显微镜观察,并采集图像信息。分组:control组(培养基孵育24 h)、T-2组(含100 nmol/L T-2毒素的培养基孵育24 h)。

1.8 细胞超微结构检测

取各组细胞,经4%戊二醛、1%锇酸固定后,使用乙醇进行梯度脱水,并用丙酮和包埋液渗透,随后进行包埋、切片(60~80 nm),用2%醋酸铀和柠檬酸铅染色,使用透射电镜观察。

1.9 ROS检测

收集细胞,并用2,7-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)溶液(10 μmol/L)重悬,37℃孵育30 min后,用无血清培养基洗涤残留的DCFH-DA,利用流式细胞仪进行检测。

1.10 线粒体膜电位检测

收集细胞,并用500 μL培养基重悬,随后加入等体积JC-1染色工作液孵育20 min,2 000 r/min、4℃离心3 min后,弃去上清液。用缓冲液洗涤细胞2次,去除剩余的染料,加入缓冲液重悬细胞,用流式细胞仪检测。

1.11 细胞凋亡检测

收集细胞,并用PBS重悬后计数,取 1×10^5 个细胞,3 000 r/min离心5 min,弃去上清液,用195 μL Annexin V-FITC溶液重悬细胞,随后加入5 μL Annexin V-FITC混匀。再加入10 μL碘化丙啶(PI)染液,混匀,室温避光孵育15 min,用流式细胞仪检测。

1.12 数据统计与分析

利用SPSS 26.0软件分析数据,通过单因素方差分析(ANOVA)进行比较,结果以“平均值±标准

差”表示, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 猪卵巢颗粒细胞的鉴定

对卵巢颗粒细胞膜表面的特异性受体 FSHR 进行

免疫荧光分析, 图 1 所示, 抗体免疫组的细胞绿色荧光强度明显增强, 并且主要分布在细胞质中, 表明分离得到的细胞为卵巢颗粒细胞。

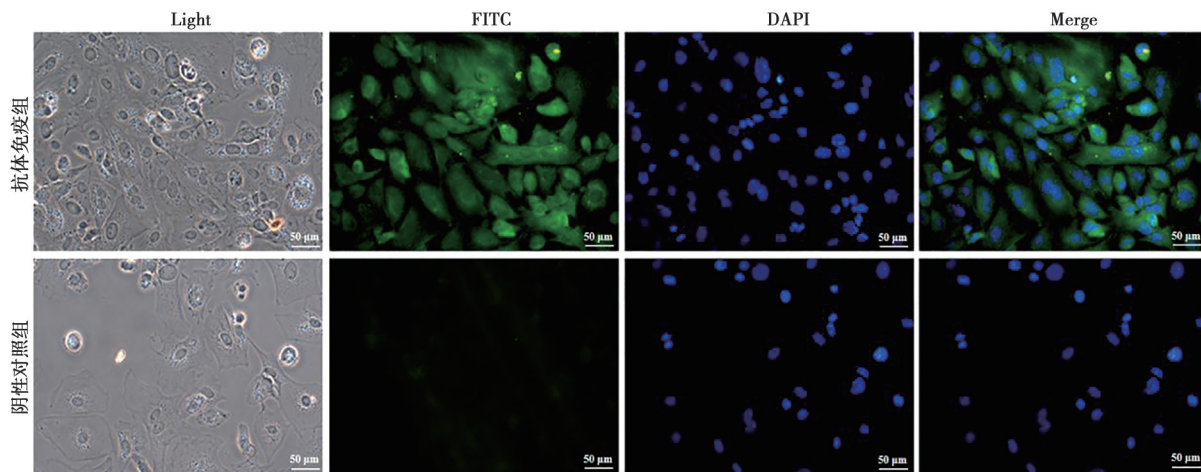
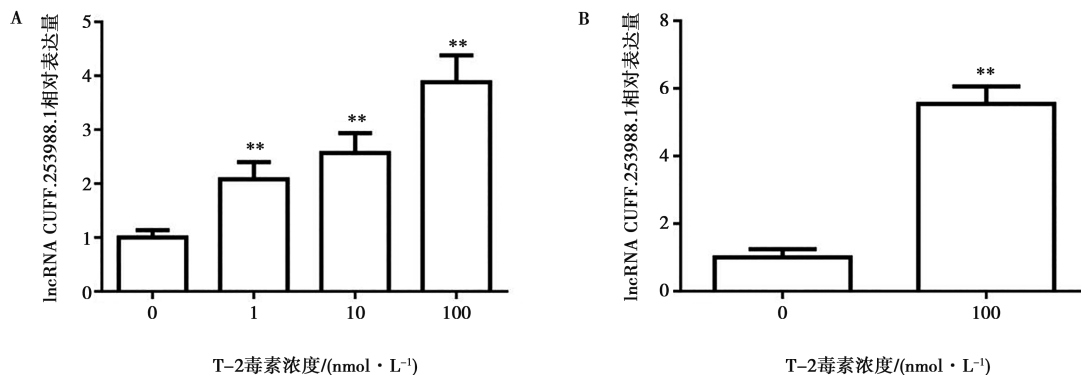


图 1 猪卵巢颗粒细胞的鉴定

2.2 T-2 毒素对卵巢颗粒细胞和线粒体中 lncRNA CUFF. 253988. 1 表达量的影响

通过 RT-qPCR 方法对不同剂量 T-2 毒素处理细胞 24 h 后, 细胞和线粒体中 lncRNA CUUF.

253988. 1 的表达情况进行分析, 图 2 所示, 与对照组相比, T-2 毒素呈剂量依赖性极显著 ($P < 0.01$) 升高了细胞和线粒体中 lncRNA CUFF. 253988. 1 的表达水平。



与 T-2 毒素 (0 nmol/L) 组比较, * * 表示 $P < 0.01$ 。

图 2 T-2 毒素对卵巢颗粒细胞 (A) 和线粒体 (B) 中 lncRNA CUFF. 253988. 1 表达的影响

2.3 T-2 毒素对卵巢颗粒细胞中 lncRNA CUFF. 253988. 1 定位的影响

采用 RNA-FISH 技术, 检测 lncRNA CUFF. 253988. 1 在猪卵巢颗粒细胞中的定位及分布情况。图 3 显示, 与 control 组相比, T-2 毒素增强了 lncRNA CUFF. 253988. 1 的红色荧光强度, 以及与线粒体 (Mito-Tracker) 和细胞核 (DAPI) 的重合, 提示 lncRNA CUFF. 253988. 1 在细胞核和线粒体中的表达

增强。

2.4 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞线粒体结构损伤的影响

靶向敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后, 利用透射电镜观察卵巢颗粒细胞中线粒体结构的变化。图 4 显示, 与 control 组相比, T-2 组细胞线粒体出现明显的肿胀、嵴断裂等结构损伤, 而 T-2+ASO-lnc CUFF 组, 线粒体肿胀和嵴断裂等结构损伤现象得到改善。

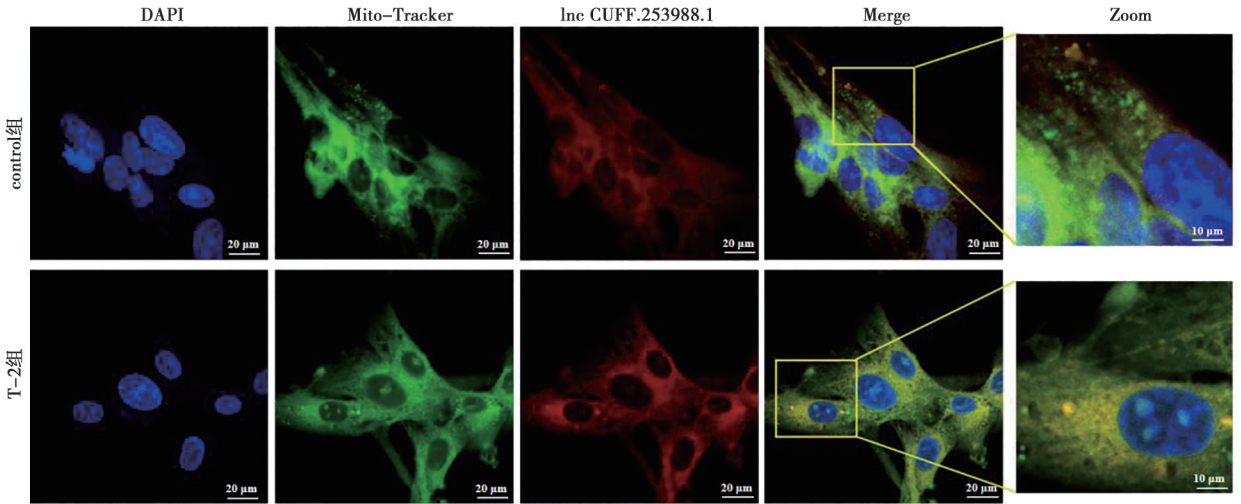


图3 T-2毒素对卵巢颗粒细胞中 lncRNA CUFF. 253988. 1 定位的影响

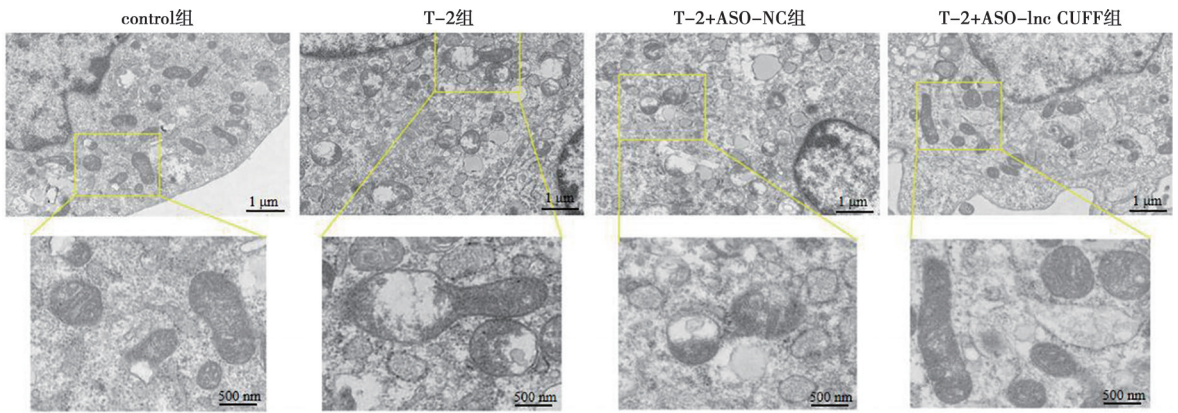


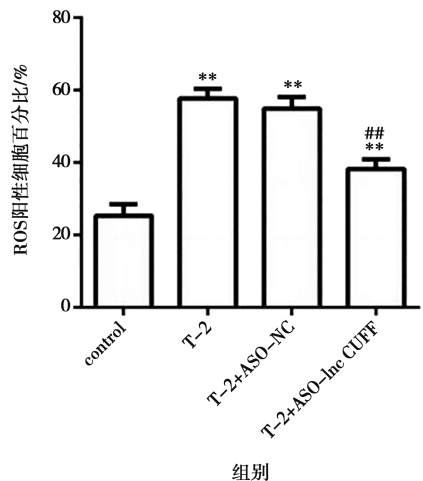
图4 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞线粒体结构损伤的影响

2.5 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞 ROS 产生的影响

靶向敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后, 检测细胞中的 ROS。图 5 显示, 与 control 组相比, T-2 组极显著增加了 ROS 阳性细胞百分比 ($P < 0.01$); 与 T-2 组相比, T-2+ASO-lnc CUFF 组 ROS 阳性细胞百分比极显著降低 ($P < 0.01$), 提示敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 能够抑制 T-2 毒素作用下卵巢颗粒细胞 ROS 的产生。

2.6 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素作用下卵巢颗粒细胞线粒体膜电位的影响

靶向敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后, 通过流式细胞仪检测细胞中膜电位的变化情况。图 6 显示, 与 control 组相比, T-2 组极显著降低了卵巢颗粒细胞的线粒体膜电位 ($P < 0.01$); 与 T-2 组相比, T-2+ASO-lnc CUFF 组极显著升高了线粒体膜电位 ($P < 0.01$), 表明敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 能够抑制 T-2 毒素作用下卵巢颗粒细胞线粒体膜电位的降低。



**表示与 control 组比较差异极显著 ($P < 0.01$); ##表示与 T-2 组比较差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

图5 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞 ROS 产生的影响

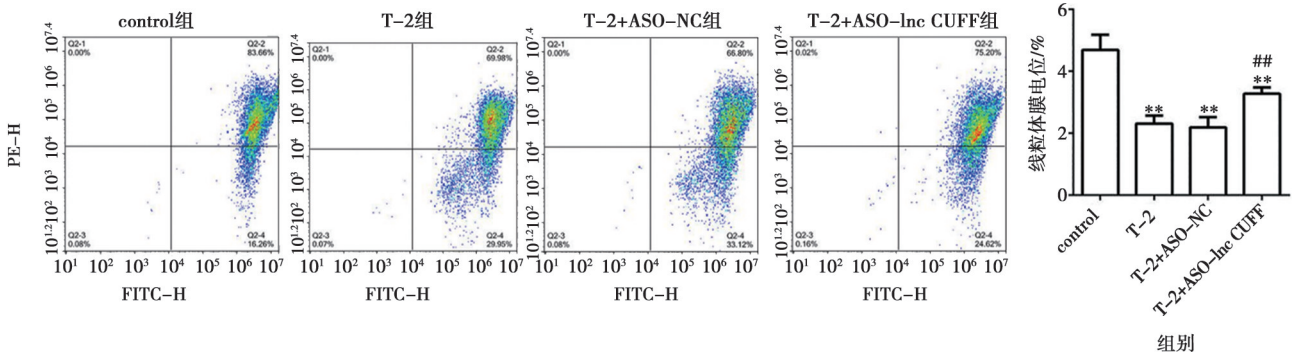


图 6 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞线粒体膜电位变化的影响

2.7 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞凋亡的影响

靶向敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 后, 检测细胞凋亡水平。图 7 显示, 与 control 组相比, T-2 组极显著升高了卵巢颗粒细胞凋亡率 ($P < 0.01$); 与 T-2

组相比, T-2+ASO-lncRNA CUFF 组极显著降低了细胞凋亡率 ($P < 0.01$), 表明敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 能够抑制 T-2 毒素诱导的卵巢颗粒细胞凋亡。

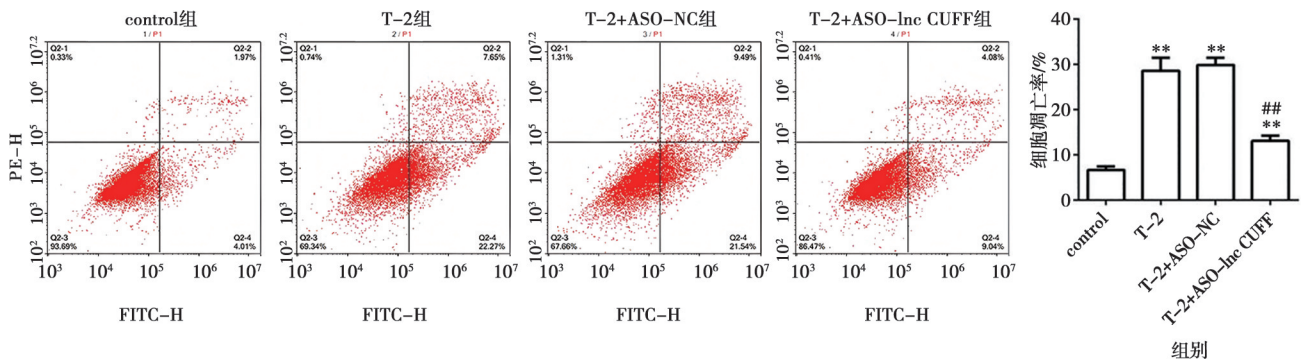


图 7 敲低 lncRNA CUFF. 253988. 1 对 T-2 毒素诱导卵巢颗粒细胞凋亡的变化

3 讨论

T-2 毒素在饲料中的污染十分普遍, 一项为期 10 年的调查统计显示, 有 19% 的样本被污染^[9]; 而在国内的一项调查中表现出更严重的结果, 有 79.5% 的样本被污染, 含量高达 735 ng/g^[10], 给我 国养殖业, 尤其是养猪业带来了巨大威胁。T-2 毒素的生殖毒性十分显著, 通过破坏生殖细胞的结构及功能, 从而降低动物繁殖性能。在本研究中, T-2 毒素引起猪卵巢颗粒细胞线粒体损伤, 线粒体膜电位降低, ROS 产生增多和细胞凋亡率升高, 这些结果与 T-2 毒素在大鼠卵巢颗粒细胞中的研究结果类似。前期研究表明, 在体外培养的大鼠卵巢颗粒细胞中, T-2 毒素显著降低细胞活力, 加重 ROS 介导的线粒体损伤, 降低线粒体膜电位, 调节线粒体凋亡途径相关蛋白的表达, 最终加速细胞凋亡^[11]。

近年来研究揭示, lncRNA 能够通过表观遗传、转录调控等生物学进程, 参与调控细胞增殖、细胞凋亡等^[12]。lncRNA 在猪体内多个组织中广泛表达, 并表现出重要的调节作用。一项与猪生长相关的研究显示, 敲低 lncRNA TCONS_00791383 能够降低猪骨骼肌卫星细胞增殖和分化相关基因的表达^[13]; 敲低 lncRNA PAANCR 后, 能够上调猪体内多组织与脂质生成相关基因的表达^[14]。此外, 对猪繁殖性能的影响是 lncRNA 研究的重点之一, 通过 RNA 测序已证实了 lncRNA 在猪卵巢中富集^[15], 且在不同品种猪的卵泡发育^[16], 以及同品种不同发育阶段的卵泡中表现差异^[17], 这提示 lncRNA 与猪卵泡发育和卵巢功能之间可能具有潜在关联。研究表明, lncRNA NORFA 通过海绵化 miR-126 基因, 阻止其与靶标 TGFBR2 结合, 进而激活 TGF- β 信号通路, 抑制卵巢颗粒细胞凋亡和卵泡闭锁^[18]。与之类似, 本研究发现通过转染特异性 ASO, 敲低 lncRNA CUFF253988. 1, 能够显著抑制 T-2 毒素引起的猪卵巢颗粒细胞凋亡。

线粒体是细胞内最重要的细胞器之一，是细胞的“能量工厂”，通过呼吸链产生了细胞中超过 90% 的 ROS，引起氧化应激。在卵泡发育过程中，线粒体提供卵巢颗粒细胞增殖所必需的 ATP，但如果产生过量的 ROS 会对线粒体产生诸多负面影响，如呼吸功能受损、ATP 合成障碍、膜电位改变等，进而导致细胞凋亡，最终减少健康的排卵前后卵泡和卵母细胞数量^[19]。有研究表明，lncRNA 能够通过影响线粒体来调节细胞凋亡。在肝癌细胞中，lncRNA MALAT1 通过 RNA 转运蛋白 HuR 转至线粒体，与线粒体 DNA (mtDNA) 相互作用影响 mtDNA 甲基化及转录，敲除 MALAT1 会引起线粒体功能障碍，以及促进线粒体凋亡通路相关蛋白表达，诱导 HepG2 细胞凋亡^[20]。因此，本研究重点关注了 lncRNA CUFF.253988.1 对卵巢颗粒细胞凋亡的调控作用，及其与线粒体之间的潜在关联。结果显示，T-2 毒素分别提高了 lncRNA CUFF.253988.1 在卵巢颗粒细胞和线粒体中的表达水平，促进了 lncRNA CUFF.253988.1 在卵巢颗粒细胞线粒体的聚集。在 T-2 毒素作用下，特异性敲低 lncRNA CUFF.253988.1，能够显著减轻线粒体结构损伤，抑制 ROS 的产生，恢复线粒体膜电位，以及抑制卵巢颗粒细胞凋亡。可见，lncRNA CUFF.253988.1 在 T-2 毒素诱导的卵巢颗粒细胞损伤中发挥重要的调控作用。同时也表明，在不同的细胞中，lncRNA、线粒体和细胞凋亡之间存在着复杂的相关性。

综上，敲低 lncRNA CUFF.253988.1 能够缓解 T-2 毒素诱导的猪卵巢颗粒细胞线粒体结构损伤和功能障碍，抑制细胞凋亡。本研究为揭示 lncRNA 在霉菌毒素诱导的生殖障碍中的作用提供了重要依据。

参考文献：

- [1] 刘晰梦, 王晓雪, 方振宇, 等. 颗粒细胞凋亡中凋亡配体和受体系统的研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60 (2): 118-123.
- [2] 曹凯慧, 李国银, 张福金, 等. 饲料用玉米中霉菌毒素的污染及防控研究进展 [J]. 饲料研究, 2023, 46 (19): 119-125.
- [3] 郭静. 大鼠卵巢颗粒细胞体外生殖毒性评价替代模型的建立与应用 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011.
- [4] CORTINOVIS C, PIZZO F, SPICER L J, et al. Fusarium mycotoxins: effects on reproductive function in domestic animals; a review [J]. Theriogenology, 2013, 80 (6): 557-564.
- [5] HUSZENICZA G, FEKETE S, SZIGETI G, et al. Ovarian consequences of low dose peroral fusarium (T-2) toxin in a ewe and heifer model [J]. Theriogenology, 2000, 53 (8): 1631-1639.
- [6] YANG Y, ZHOU R, ZHU S, et al. Systematic identification and molecular characteristics of long noncoding RNAs in pig tissues [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 6152582.
- [7] 姜贵先, 罗溪, 刘文文, 等. LncRNA 的筛选及其保守性 [J]. 医学综述, 2017, 23 (20): 3968-3972.
- [8] CHEN J, KE S, ZHONG L, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates generation of reactive oxygen species and the insulin responses in male mice [J]. Biochem Pharmacol, 2018, 152: 94-103.
- [9] CHRISTIANE G D, TIMOTHY J, GERD S. Global mycotoxin occurrence in feed: a ten-year survey [J]. Toxins, 2019, 11 (7): 375.
- [10] WANG Y, LIU S L, ZHENG H, et al. T-2 toxin, zearalenone and fumonisin B₁ in feedstuffs from China [J]. Food Addit Contam Part B Surveill, 2013, 6 (2): 116-122.
- [11] 肖娟, 董晓蓉, 陈瑾, 等. T-2 毒素对大鼠离体培养卵巢颗粒细胞凋亡的影响 [J]. 中国兽医学报, 2013, 33 (7): 1047-1050.
- [12] 牛春阳, 薛琳琳, 计红, 等. lncRNA 生物学功能研究进展 [J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 32 (2): 228-232.
- [13] 李倩倩, 李龙, 黄子莹, 等. 猪 lncRNA TCONS_00791383 对骨骼肌卫星细胞增殖分化的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2020, 51 (6): 1177-1186.
- [14] 王璟, 李庆东, 滑留帅, 等. 猪 PAANCR 组织表达谱分析及其对脂质生成的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46 (10): 2834-2842.
- [15] TANG Z L, WU Y, YANG Y L, et al. Comprehensive analysis of long non-coding RNAs highlights their spatio-temporal expression patterns and evolutionary conservation in *Sus scrofa* [J]. Sci Rep, 2017, 7 (1): 43166.
- [16] LI M X, LIU Y, XIE S, et al. Transcriptome analysis reveals that long noncoding RNAs contribute to developmental differences between medium-sized ovarian follicles of Meishan and Duroc sows [J]. Sci Rep, 2021, 11 (1): 22510.
- [17] LIU Y, LI M X, BO X W, et al. Systematic analysis of long non-coding RNAs and mRNAs in the ovaries of duroc pigs during different follicular stages using RNA sequencing [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19 (6): 1722.
- [18] DU X, LIU L, LI Q Q, et al. NORFA, long intergenic noncoding RNA, maintains sow fertility by inhibiting granulosa cell death [J]. Commun Biol, 2020, 3 (1): 131.
- [19] HOQUE S A M, UMEHARA T, KAWAI T, et al. Adverse effect of superoxide-induced mitochondrial damage in granulosa cells on follicular development in mouse ovaries [J]. Free Radic Biol Med, 2021, 163: 344-355.
- [20] ZHAO Y, ZHOU L, LI H, et al. Nuclear-encoded lncRNA MALAT1 epigenetically controls metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma cells through the mitophagy pathway [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 23: 264-276.