DOI:10.16016/j.1000-5404.202106001

长链非编码 RNA DUXAP8 通过调控 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

陈 岑[1],苏 丹[1],李宁蔚[1],江 琴[1],王亚洲[2] 610072 成都,四川省人民医院妇产科[1];611130 成都,成都市第五人民医院外科[2]

[摘要] **目的** 探讨长链非编码 RNA DUXAP8 通过调控 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞的增殖、周期和凋亡的影响。**方法** 通过 RT-qPCR 检测卵巢癌组织和细胞中的 DUXAP8 和 miR-4677-3p 的表达。然后将 SKOV3 细胞分为:si-NC 组、si-DUXAP8 组、miR-NC 组、miR-4677-3p 组、si-DUXAP8+anti-miR-NC 组和 si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p 组;CCK8、克隆形成实验检测各组细胞活力;流式细胞术检测各组细胞周期和凋亡情况;Western blot 检测 Cyclin D1、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达;双荧光素酶报告实验检测 DUXAP8 和 miR-4677-3p 的关系。**结果** 与癌旁组织和正常卵巢上皮细胞比较,DUXAP8 在卵巢癌组织(0.98±0.25)*vs*(4.14±0.72)中表达明显增加,SKOV3、OV90、CaOV3 表达明显增加(1.03±0.08 *vs* 3.26±0.33、2.75±0.29、2.54±0.26),差异具有统计学意义($P<0.05$)。干扰 DUXAP8 或过表达 miR-4677-3p 可以抑制卵巢癌细胞的增殖、降低凋亡率、阻滞细胞周期,差异具有统计学意义($P<0.05$)。DUXAP8 调控 miR-4677-3p 的表达,抑制 miR-4677-3p 可以部分回复干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的作用,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 干扰 DUXAP8 能够抑制卵巢癌细胞增殖、诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期,其作用机制可能与上调 miR-4677-3p 有关。

[关键词] DUXAP8;miR-4677-3p;卵巢癌细胞;增殖;周期;凋亡

[中图法分类号] R394.3;R730.23;R737.31 [文献标志码] A

Effect of long non-coding RNA DUXAP8 on proliferation, cycle and apoptosis of ovarian cancer cells by regulating miR-4677-3p

CHEN Cen[1], SU Dan[1], LI Ningwei[1], JIANG Qin[1], WANG Yazhou[2] [1]Department of Obstetrics and Gynecology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan Province, 610072; [2]Department of Surgery, Chengdu Fifth People's Hospital, Chengdu, Sichuan Province, 611130, China

[**Abstract**] Objective To investigate the effects of long non-coding RNA DUXAP8 on the proliferation, cell cycle and apoptosis of ovarian cancer cells by regulating miR-4677-3p. Methods The expression of DUXAP8 and miR-4677-3p in ovarian cancer tissues and cell lines (SKOV3, OV90 and CaOV3) was detected by RT-qPCR. Then SKOV3 cells were divided into 6 groups, namely, si-NC group, si-DUXAP8 group, miR-NC group, miR-4677-3p group, si-DUXAP8+anti-miR-NC group and si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p group. CCK-8 assay and clone formation assay were adopted to detect cell viability, flow cytometry to observe cell apoptosis and cycle, Western blotting to measure the expression levels of Cyclin D1, Bcl-2 and Bax, and dual luciferase reporter assay system to analyze the relationship of DUXAP8 and miR-4677-3p. Results When compared with adjacent tissues and normal ovarian epithelial cells, the expression

[基金项目] 成都市科技局-技术创新研发项目(2019-YF05-00244-SN)

[通信作者] 王亚洲,E-mail:1115325527@qq.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

level of DUXAP8 was significantly lower in ovarian cancer tissues (0.98 ±0.25 *vs* 4.14 ±0.72) and that of SKOV3, OV90, CaOV3 was obviously higher (1.03±0.08 *vs* 3.26±0.33、2.75±0.29、2.54±0.26, all $P<0.05$). Interference with DUXAP8 or overexpression of miR-4677-3p inhibited the proliferation, reduced the rate of apoptosis, and arrested the cell cycle of ovarian cancer cells ($P<0.05$). DUXAP8 regulated the expression of miR-4677-3p, and inhibiting miR-4677-3p partially restore and interfere with the effects of DUXAP8 on the proliferation, cycle and apoptosis of ovarian cancer cells ($P<0.05$). **Conclusion** Interference with DUXAP8 can inhibit the proliferation of ovarian cancer cells, induce cell apoptosis, and block cell cycle, the mechanism may be related to the up-regulation of miR-4677-3p.

[**Key words**] DUXAP8; miR-4677-3p; ovarian cancer cells; proliferation; cycle; apoptosis

Supported by the Technology Innovation Research and Development Project of Chengdu Science and Technology Bureau (2019-YF05-00244-SN). Corresponding author: WANG Yazhou, E-mail: 1115325527@qq.com

卵巢癌是常见的女性生殖系统恶性肿瘤之一,其病死率在女性癌症中位居第一,晚期卵巢患者的5年总体生存率低于30%[1-2]。早期卵巢癌筛查方法困难,患者的临床症状表现隐匿,多数患者确诊时已经是晚期[3],因此寻找有效诊断和治疗卵巢癌的方法具有重要意义。长链非编码RNA是一种不具备编码蛋白质的一类非编码RNA分子,在多种癌症中异常表达,包括卵巢癌[4]。DUXAP8已被报道与癌症发展密切相关,如DUXAP8在卵巢癌细胞中表达上调,干扰DUXAP8可以抑制卵巢癌细胞的增殖,促进细胞的凋亡,DUXAP8通过调控miR-590-5p/YAP1轴发挥在卵巢癌细胞中的作用[5]。miRNA在卵巢癌中异常表达,其中miR-21、miR-92、miR-126、miR-127等已被证明可以作为卵巢癌的诊断标记物[6-7]。有研究表明,miR-4677-3p在非小细胞肺癌组织和细胞中表达下调,过表达miR-4677-3p能抑制非小细胞肺癌细胞的增殖和侵袭,并抑制细胞的凋亡;但是在卵巢癌的研究机制尚不明确[8]。在线生物信息学软件预测显示DUXAP8和miR-4677-3p存在互补的核苷酸序列,关于DUXAP8调控miR-4677-3p对卵巢癌的研究尚不清楚。因此本研究旨在探讨DUXAP8通过调控miR-4677-3p对卵巢癌细胞的增殖、周期和凋亡的影响,以期为卵巢癌治疗提供新的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

正常卵巢上皮细胞HOSE和卵巢癌细胞SKOV3、OV90、CaOV3购买于美国ATCC典藏中心;胎牛血清、DMEM培养基购买于美国Gibco公司;Lipofectamine 2000转染试剂盒、TRIzol试剂盒、反转录试剂盒购买于美国Invitrogen公司;si-NC、si-DUXAP8、miR-NC、miR-4677-3p、anti-miR-NC和anti-miR-4677-3p购买于上海赛默飞科技公司;SYBR Green PCR Master Mix试剂盒购买于日本TaKaRa公司;细胞周期试剂盒、细胞凋亡试剂盒购买于江苏凯基生物公司;Cyclin D1抗体、Bcl-2抗体、Bax抗体和GAPDH抗体购买于美国Santa Cruze公司;双荧光素酶检测试剂盒购买于北京索莱宝公司;引物购自上海吉玛公司。

1.2 样本收集

收集2019年5月至2020年5月在四川省人民医院妇产科病理确诊的卵巢癌患者22例,年龄(51.27±9.62)岁。排除患有其他恶性肿瘤以及在手术前3个月接受化疗或者其他治疗的患者。将手术切除的癌旁组织和卵巢癌组织立即在超低温冰箱内冷冻保存。所有患者在术前签署了知情同意书,通过了本院伦理会批准(2019-013)。

1.3 细胞转染与分组

正常卵巢上皮细胞HOSE和卵巢癌细胞SKOV3、OV90、CaOV3冷冻复苏在含体积分数10%胎牛血清的DMEM培养基内,置于37 ℃、5% CO_2培养箱内培养。收集生长状态较好的SKOV3细胞,按照Lipofectamine 2000转染试剂盒的说明书,将si-NC、si-DUXAP8、miR-NC、miR-4677-3p、anti-miR-NC和anti-miR-4677-3p转染至细胞内,记为si-NC组、si-DUXAP8组、miR-NC组、miR-4677-3p组、si-DUXAP8 + anti-miR-NC组和si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p组。转染48 h后用于后续实验。

1.4 RT-qPCR检测DUXAP8和miR-4677-3p的表达

按照TRIzol试剂盒说明书提取卵巢癌组织、细胞和转染各组SKOV3细胞总RNA,加入反应混合物后采用反转录试剂盒合成cDNA模板,根据SYBR Green PCR Master Mix试剂盒进行PCR扩增。分别以GAP-

DH 和 U6 作为内参,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 DUXAP8 和 miR-4677-3p 的表达。DUXAP8 上游引物为:5′-AGACGCCATGGAACAT-3′,下游引物为:5′-AAGCGGAGACCTGAGGAG-3′;miR-4677-3p 上游引物为:5′-CTGTGAGACCAAAGAACTACTCGC-3′,下游引物为:5′-CTCTACAGCTATATTGCCAGCCAC-3′。

1.5 CCK-8、克隆形成实验检测细胞增殖

1.5.1 CCK-8 实验 收集各组转染的 SKOV3 细胞,按照 4×10^4/mL 密度接种至 96 孔板中,放置培养箱中培养 24、48、72 h,每孔内加入 10 μL 的 CCK-8 试剂,继续培养 4 h,于酶标仪 450 nm 处检测细胞光密度值 $D(450)$,并计算细胞活力。

1.5.2 克隆形成实验 收集各组转染的 SKOV3 细胞,离心后倒去上清液。制备细胞悬液,按照 1×10^3/孔接种至 6 孔板内,每 2 天换 1 次培养液,待肉眼可见细胞菌落后停止培养。采用甲醇固定 15 min,结晶紫染色 30 min,晾干后,计算细胞的克隆形成数。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡和周期

1.6.1 细胞周期实验 收集各组转染的 SKOV3 细胞并调整密度为 1×10^6/mL 接种至 6 孔板内,PBS 冲洗两次,采用 75%乙醇溶液进行固定过夜培养。次日加入 25 mg/L RNase 和 5 μL 的 PI。避光在室温下反应 15 min,在流式细胞仪上检测细胞周期情况。

1.6.2 细胞凋亡实验 收集各组转染的 SKOV3 细胞,在 4 ℃下加入预冷的 PBS 洗涤,然后采用结合缓冲液重悬细胞,并调整密度为 1×10^6/mL 接种至 6 孔板内。取 100 μL 细胞悬液与 5 μL 的 Annexin V/PITC、PI 混匀培养。避光在室温下反应 15 min,置于流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。

1.7 Western blot 检测 Cyclin D1、Bcl-2、Bax 蛋白表达

收集各组转染的 SKOV3 细胞加入 1 mL 蛋白裂解液用于提取总蛋白,经过沸水变性后,按照 BCA 法检测定量蛋白。取 20 μg 蛋白样品在 SDS-PAGE 凝胶分离,将分离的蛋白样品转膜,封闭培养,在 4 ℃加入 Cyclin D1、Bcl-2、Bax 稀释为 1∶1 000,过夜培养,室温条件下加入二抗(1∶10 000),培养 2 h,加入 ECL 进行曝光。以 GAPDH 为内参,在 Image J 软件分析蛋白表达。

1.8 双荧光素酶报告实验检测 DUXAP8 和 miR-4677-3p 的关系

通过在线生物信息学软件 Starbase 预测显示 miR-4677-3p 和 DUXAP8 的 3′UTR 存在互补的碱基序列,然后将 miR-4677-3p 结合位点的 DUXAP8 3′UTR 的野生型和突变型克隆至 pGL3 载体中,生成质粒 DUXAP8 WT 和 DUXAP8 MUT,按照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明书与 miR-NC 或 miR-4677-3p 共转染至 SKOV3 细胞内。48 h 后按照双荧光素酶检测试剂盒说明书检测细胞的荧光素酶活性。

1.9 统计学分析

实验结果以 SPSS 22.0 统计软件处理分析数据,实验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$。

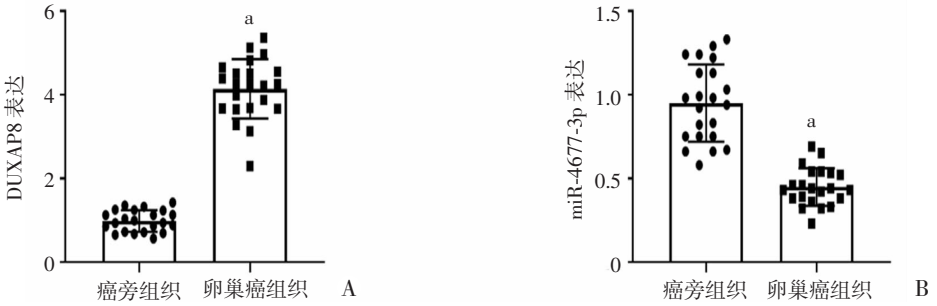
2 结果

2.1 DUXAP8 和 miR-4677-3p 在卵巢癌组织的表达

与癌旁组织相比,卵巢癌组织中 DUXAP8 表达显著升高($P<0.05$),miR-4677-3p 表达显著降低($P<0.05$,图 1)。

2.2 DUXAP8 和 miR-4677-3p 在卵巢癌细胞的表达

与正常卵巢上皮细胞 HOSE 相比,卵巢癌细胞 SKOV3、OV90、CaOV3 中 DUXAP8 表达显著升高($P<0.05$),miR-4677-3p 表达显著降低($P<0.05$)。其中 SKOV3 细胞的差异表达相对较大。见图 2。

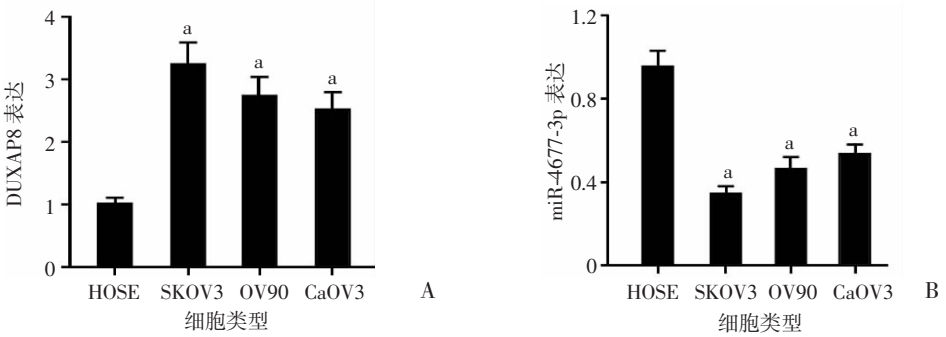


a:$P<0.05$,与癌旁组织比较

图 1 DUXAP8 和 miR-4677-3p 在卵巢癌组织的表达

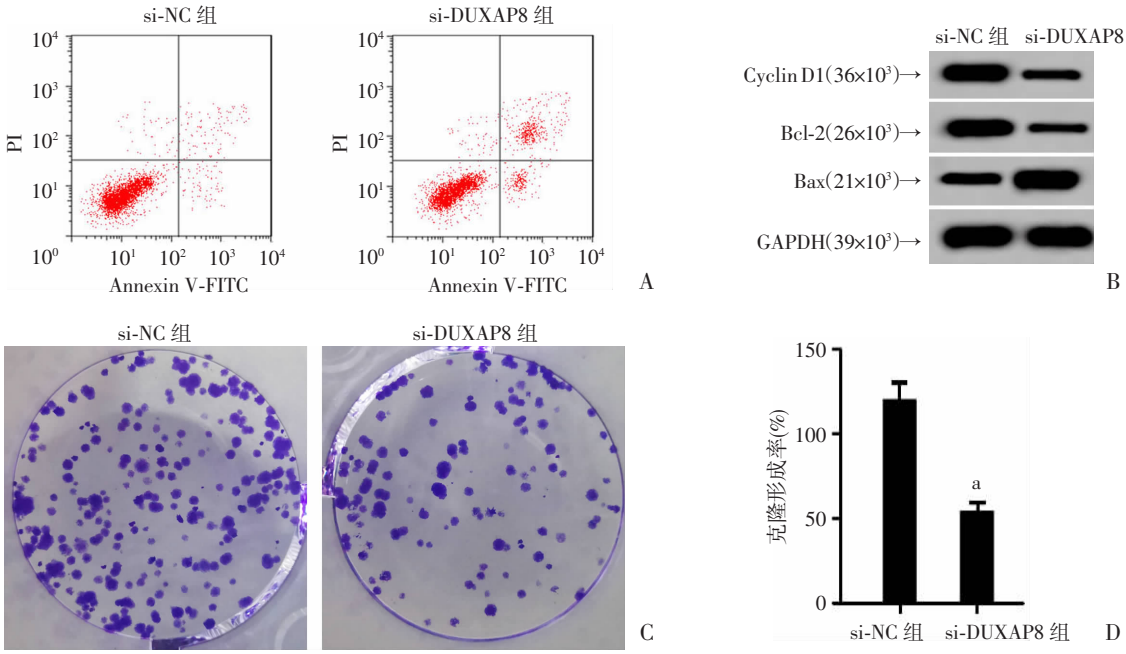
2.3　干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

与 si-NC 组相比,si-DUXAP8 组的 DUXAP8 表达、克隆形成率、S 期细胞比例显著降低($P<0.05$),G_0/G_1 期细胞比例、细胞凋亡率显著升高($P<0.05$),Cyclin D1、Bcl-2 蛋白表达显著降低($P<0.05$),Bax 蛋白表达显著升高($P<0.05$,图 3、4 和表 1)。



a:$P<0.05$,与 HOSE 比较

图 2　DUXAP8 和 miR-4677-3p 在卵巢癌细胞的表达　($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

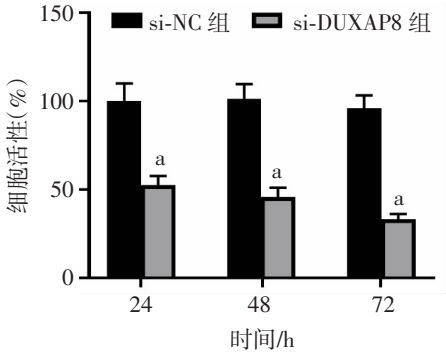


A:流式细胞术检测细胞凋亡率;B:Western blot 检测 Cyclin D1、Bcl-2、Bax 蛋白表达;C:结晶紫染色观察细胞克隆形成;D:统计分析结果($n=6$, $\bar{x}\pm s$)　a:$P<0.05$,与 si-NC 组比较

图 3　干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

表 1　干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响　($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	DUXAP8	G_0/G_1(%)	G_2/M(%)	S(%)	细胞凋亡(%)	Cyclin D1 蛋白	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
si-NC 组	0.99±0.07	46.7±4.1	15.2±1.6	38.1± 3.8	8.5±1.1	1.01±0.07	0.99±0.08	1.02±0.08
si-DUXAP8 组	0.43±0.04	60.3±5.9	14.6±1.5	25.1±2.2	23.1±2.5	0.44±0.04	0.47±0.04	1.83±0.17
t	20.838	5.679	0.821	8.882	16.036	21.210	17.441	12.934
P	0.000	0.000	0.424	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000



a:$P<0.05$,与 si-NC 组比较

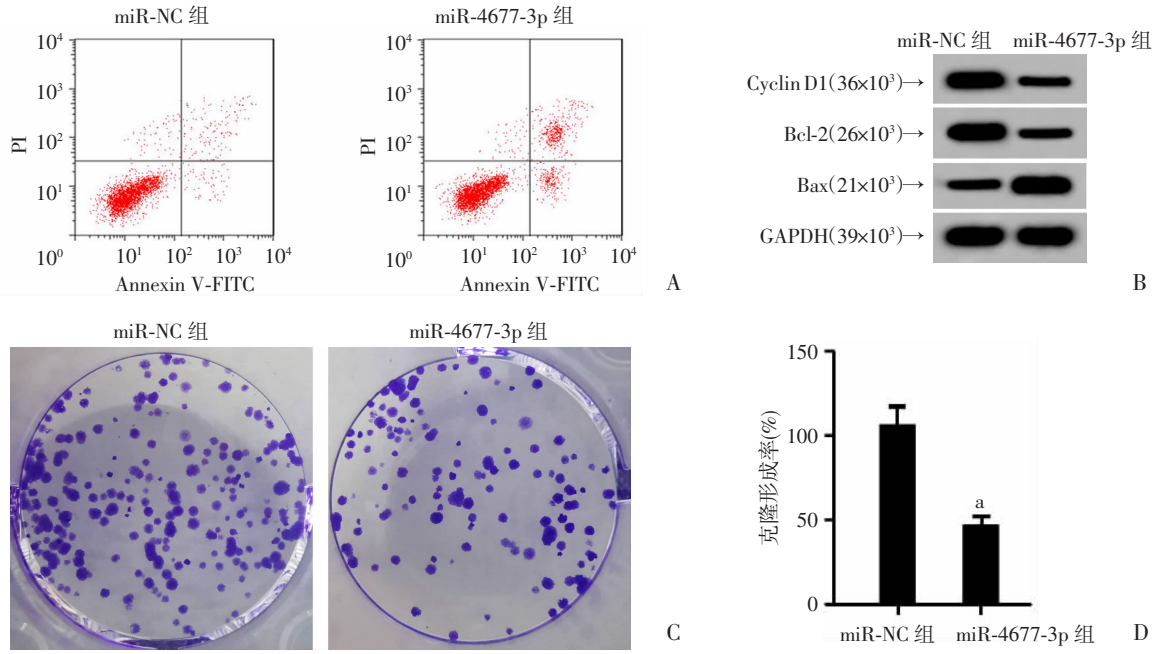
图 4　干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖活性的影响（$n=6$, $\bar{x}\pm s$）

2.4　过表达 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

与 miR-NC 组相比,miR-4677-3p 组的 miR-4677-3p 表达、G_0/G_1 期细胞比例、细胞凋亡率显著升高($P<0.05$),克隆形成率、S 期细胞比例显著降低($P<0.05$),Cyclin D1、Bcl-2 蛋白表达显著降低($P<0.05$),Bax 蛋白表达显著升高($P<0.05$,图 5、6 和表 2)。

2.5　DUXAP8 调控 miR-4677-3p 的表达

DUXAP8 和 miR-4677-3p 互补的核苷酸序列见图 7。通过双荧光素酶报告实验结果显示:与 miR-NC 组相比,miR-4677-3p 组 DUXAP8 WT 荧光素酶活性显著降低($P<0.05$),DUXAP8 MUT 荧光素酶活性无变化(表 3)。表 4 结果显示,与 pcDNA 组相比,DUXAP8 组的 DUXAP8 表达显著升高($P<0.05$),miR-4677-3p 表达显著降低($P<0.05$)。

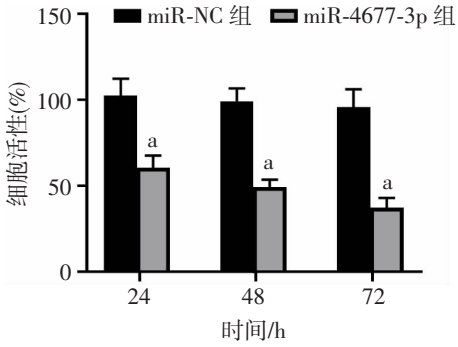


A:流式细胞术检测细胞凋亡率;B:Western blot 检测 Cyclin D1、Bcl-2、Bax 蛋白表达;C:结晶紫染色观察克隆形成;D:统计分析结果($n=6$, $\bar{x}\pm s$)　a:$P<0.05$,与 miR-NC 组比较

图 5　过表达 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

表 2　过表达 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响（$n=6$, $\bar{x}\pm s$）

组别	miR-4677-3p	G_0/G_1(%)	G_2/M(%)	S(%)	细胞凋亡(%)	Cyclin D1 蛋白	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
miR-NC 组	0.95±0.07	48.6±3.7	18.1±1.6	33.3±2.7	9.8±1.2	0.97±0.08	1.01±0.09	0.99±0.07
miR-4677-3p 组	2.15±0.22	62.5±5.4	17.3±1.9	20.2±1.5	24.9±2.6	0.41±0.04	0.44±0.05	1.74±0.16
t	15.593	6.370	0.966	12.724	15.819	18.873	16.609	12.883
P	0.000	0.000	0.035	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000



a:$P<0.05$,与 miR-NC 组比较

图 6　过表达 miR-4677-3p 对卵巢癌细胞增殖活性的影响($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

DUXAP8 WT　5' uggaguaaggaaucCUCACAGg 3'

miR-4677-3p　3' ucaucaagaaaccaGAGUGUCu 5'

DUXAP8 MUT　5' uggaguaaggaaucGAGUGUCg 3'

图 7　DUXAP8 和 miR-4677-3p 互补核苷酸序列

2.6　抑制 miR-4677-3p 部分回复干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

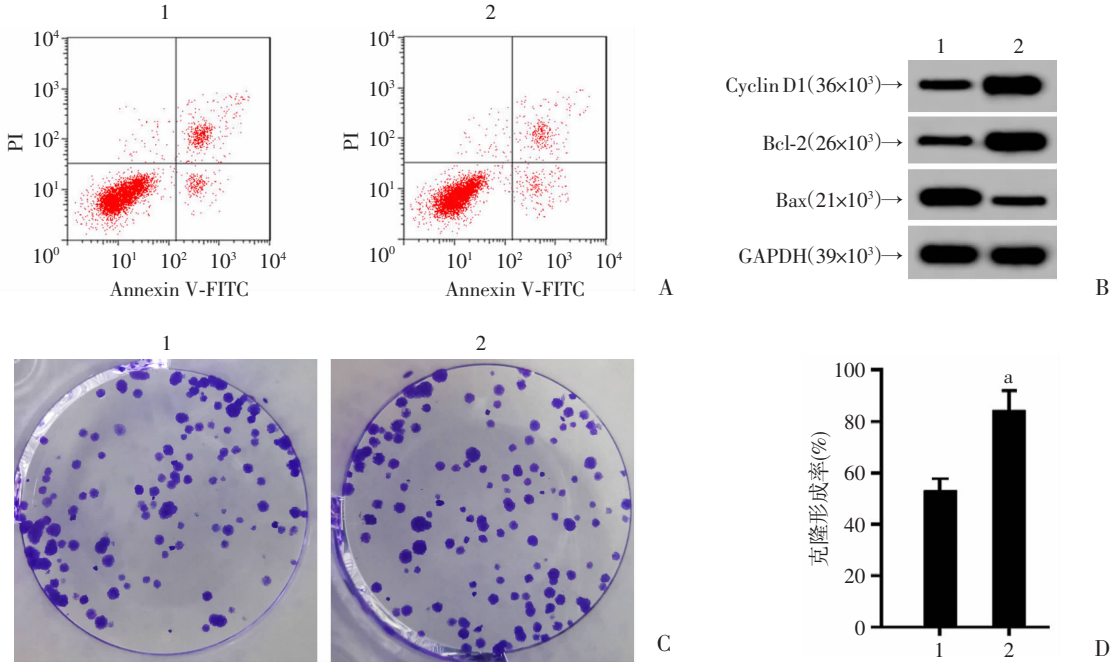
与 si-DUXAP8+anti-miR-NC 组相比,si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p 组的 miR-4677-3p 表达、G_0/G_1 期细胞比例、细胞凋亡率显著降低($P<0.05$),克隆形成率、S 期细胞比例显著升高($P<0.05$),Cyclin D1、Bcl-2 蛋白表达显著升高($P<0.05$),Bax 蛋白表达显著降低($P<0.05$,图 8、9 和表 5)。

表 3　双荧光素酶报告实验($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	DUXAP8 WT	DUXAP8 MUT
miR-NC 组	1.02±0.08	0.95±0.07
miR-4677-3p 组	0.42±0.05	0.99±0.08
t	19.080	1.129
P	0.000	0.276

表 4　DUXAP8 调控 miR-4677-3p 的表达($n=6$, $\bar{x}\pm s$)

组别	DUXAP8	miR-4677-3p
pcDNA 组	0.99±0.07	1.01±0.07
DUXAP8 组	4.56±0.37	0.39±0.04
t	28.441	23.070
P	0.000	0.000



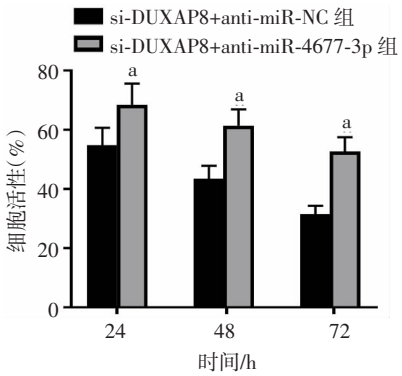
1: si-DUXAP8+anti-miR-NCX 组; 2: si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p 组

A:流式细胞术检测细胞凋亡率;B:Western blot 检测 Cyclin D1、Bcl-2、Bax 蛋白表达;C:结晶紫染色观察克隆形成;D:统计分析结果($n=6$, $\bar{x}\pm s$)　a: $P<0.05$,与 si-DUXAP8+anti-miR-NC 组比较

图 8　抑制 miR-4677-3p 部分回复干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响

表 5 抑制 miR-4677-3p 部分回复干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	miR-4677-3p	G_0/G_1(%)	G_2/M(%)	S(%)	细胞凋亡(%)	Cyclin D1 蛋白	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
si-DUXAP8+anti-miR-NC 组	1.04±0.09	62.7±5.8	14.4±1.7	21.8±1.6	22.5±2.7	1.01±0.06	0.99±0.07	1.01±0.08
si-DUXAP8+anti-miR-4677-3p 组	0.43±0.04	55.2±4.5	15.5±2.1	30.4±2.5	15.9±1.2	1.55±0.13	1.64±0.15	0.42±0.04
t	18.581	3.065	1.221	8.692	6.701	11.315	11.780	19.789
P	0.000	0.007	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000



a：$P<0.05$，与 si-DUXAP8+anti-miR-NC 组比较

图 9 抑制 miR-4677-3p 部分回复干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖活性的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

3 讨论

大多数研究已经证实 lncRNA 可以作为卵巢癌的潜在生物标志物(如 LINC00861、LEMD1-AS1 和 KCNQ1OT1 等),其参与肿瘤细胞的增殖、凋亡和转移等[9-10]。DUXAP8 是假基因来源的一类 lncRNA,在多种癌症中表达上调(如结直肠癌、口腔癌和膀胱癌等),影响肿瘤的发生和发展[11-13]。LIAN 等[14]研究发现,DUXAP8 在胰腺癌组织中高表达,且与胰腺癌组织的大小、病理分期和较短的生存期相关;采用 siRNA 技术发现,沉默 DUXAP8 可以抑制胰腺癌细胞的增殖、诱导细胞的凋亡,并通过调节 CDKN1A 和 KLF2 促进胰腺癌的发展。ZHANG 等[15]研究发现,DUXAP8 在肝癌细胞组织中高表达,且通过调控 miR-490-5p/BUB1 促进肝癌细胞的增殖和周期,并抑制细胞的凋亡。DUXAP8 在胶质瘤组织中表达上调,且与患者总体生存率相关,敲低 DUXAP8 可以抑制胶质瘤细胞的增殖[16]。以上研究说明 DUXAP8 可以作为多种癌症的生物标志物。本研究结果显示,与癌旁组织和正常卵巢上皮细胞比较,DUXAP8 在卵巢癌组织和细胞中高表达,说明 DUXAP8 可以作为卵巢癌的潜在标志物。体外功能实验显示,干扰 DUXAP8 能够抑制卵巢癌细胞的克隆形成率、S 期细胞比例,促进 G_0/G_1 期细胞比例、细胞凋亡率,下调 Cyclin D1、Bcl-2 蛋白表达,上调 Bax 蛋白表达,这说明干扰 DUXAP8 可以抑制卵巢癌细胞的增殖和诱导细胞的凋亡,并阻滞细胞周期。

miRNA 是一类长度约为 18~22 个核苷酸的单链非编码 RNA,能够诱导 mRNA 降解发挥其在肿瘤细胞中的生物学效应。miRNA 在卵巢癌中异常表达[17],如 miR-552 在卵巢癌组织中高表达,干扰 miR-552 可以抑制卵巢癌细胞的增殖和转移,miR-552 能够靶向 PTEN 促进卵巢癌细胞的发展[18]。ZHANG 等[19]研究发现,miR-337-3p 在卵巢癌组织中低表达,过表达 miR-337-3p 能够抑制卵巢癌细胞的增殖、诱导细胞的凋亡、使细胞周期停滞;miR-337-3p 通过抑制 PIK3CA 和 PIK3CB 表达促进卵巢癌细胞的发生。XIA 等[20]研究发现,miR-211 在卵巢癌细胞和组织中低表达,过表达 miR-211 能够抑制卵巢癌细胞的增殖、诱导细胞的凋亡、阻滞细胞周期。miRNA 与卵巢癌发展有关,miR-4677-3p 是一种抑癌基因,有研究表明 miR-4677-3p 在肺癌组织和细胞中低表达,参与了肺癌细胞的增殖和转移,从而发挥抑癌作用[21]。但是,miR-4677-3p 对卵巢癌的相关机制尚不清楚。本研究发现,与癌旁组织和正常卵巢上皮细胞比较,miR-4677-3p 在卵巢癌组织和细胞中低表达,通过体外功能实验显示,过表达 miR-4677-3p 可以抑制卵巢癌细胞的克隆形成率、S 期细胞比例,升高 G_0/G_1 期细胞比例、细胞凋亡率,下调 Cyclin D1、Bcl-2 蛋白表达,上调 Bax 蛋白表达,这说明过表达 miR-4677-3p 可以抑制卵巢癌细胞的增殖、诱导细胞的凋亡并阻滞细胞周期。在线生物系信息软件和双荧光素酶报告实验表明:DUXAP8 调控 miR-4677-3p 的表达,抑制 miR-4677-3p 可以逆转干扰 DUXAP8 对卵巢癌细胞增殖、周期和凋亡的作用,这说明 DUXAP8 通过调控 miR-4677-3p 发挥在卵巢癌细胞中的作用。

参考文献:

[1] LHEUREUX S, GOURLEY C, VERGOTE I, *et al*. Epithelial ovarian cancer[J]. Lancet, 2019, 393(10177): 1240-1253. DOI: 10.1016/s0140-6736(18)32552-2.

[2] HEITZ F, HARTER P, ÅVALL-LUNDQVIST E, *et al*. Early

tumor regrowth is a contributor to impaired survival in patients with completely resected advanced ovarian cancer. An exploratory analysis of the Intergroup trial AGO-OVAR 12[J]. Gynecol Oncol, 2019, 152(2): 235-242. DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.11.008.

[3] 李小琳, 韩艳艳, 杨雪, 等. 卵巢癌的分子靶向治疗进展[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(4): 695-696. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2020.04.048.
LI X L, HAN Y Y, YANG X, *et al*. Progress in molecular targeted therapy of ovarian cancer [J]. Pract J Cancer, 2020, 35(4): 695-696. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2020.04.048.

[4] WANG J Y, LU A Q, CHEN L J. LncRNAs in ovarian cancer [J]. Clin Chim Acta, 2019, 490: 17-27. DOI: 10.1016/j.cca.2018.12.013.

[5] MENG Q, LI Z, PAN J, *et al*. Long noncoding RNA DUXAP8 regulates proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells via targeting miR-590-5p [J]. Hum Cell, 2020, 33(4): 1240-1251. DOI: 10.1007/s13577-020-00398-8.

[6] 苏英杰, 高晨曦, 张颐. MicroRNA 在卵巢癌诊疗中的作用[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 26(1): 4-8. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.01.B002.
SU Y J, GAO C X, ZHANG Y. Research progress on microRNA in diagnosis and treatment of ovarian cancer[J]. J Chin Oncol, 2021, 26(1): 4-8. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2021.01.B002.

[7] RESNICK K E, ALDER H, HAGAN J P, *et al*. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform [J]. Gynecol Oncol, 2009, 112(1): 55-59. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.036.

[8] HAN B. LncRNA LINC02418 regulates proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells by regulating miR-4677-3p/SEC61G[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(23): 10354-10362. DOI: 10.26355/eurrev_201912_19673.

[9] ZHENG M, HU Y, GOU R, *et al*. Identification three LncRNA prognostic signature of ovarian cancer based on genome-wide copy number variation [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124: 109810. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109810.

[10] 杜晓琴. LncRNA KCNQ1OT1 在卵巢癌组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2017, 44(5): 329-333. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2017.05.004.
DU X Q. Expression and clinical significance of LncRNA KCNQ1OT1 in ovarian cancer tissues[J]. Cancer Res Prev Treat, 2017, 44(5): 329-333. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2017.05.004.

[11] CHEN M H, FAN M, YANG J L, *et al*. Identification of potential oncogenic long non-coding RNA set as a biomarker associated with colon cancer prognosis[J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2020, 39(1): 39-49. DOI: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2020032351.

[12] CHEN M, ZHENG Y, XIE J, *et al*. Integrative profiling analysis identifies the oncogenic long noncoding RNA DUXAP8 in oralcancer[J]. Anticancer Drugs, 2020, 31(8): 792-798. DOI: 10.1097/cad.0000000000000936.

[13] JIANG B, HAILONG S, YUAN J, *et al*. Identification of oncogenic long noncoding RNA SNHG12 and DUXAP8 in human bladder cancer through a comprehensive profiling analysis[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 500-507. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.025.

[14] LIAN Y, YANG J, LIAN Y, *et al*. DUXAP8, a pseudogene derived lncRNA, promotes growth of pancreatic carcinoma cells by epigenetically silencing CDKN1A and KLF2[J]. Cancer Commun (Lond), 2018, 38(1): 64. DOI: 10.1186/s40880-018-0333-9.

[15] ZHANG H P, CHU K Q, ZHENG C X, *et al*. Pseudogene DUXAP8 promotes cell proliferation and migration of hepatocellular carcinoma by sponging miR-490-5p to induce BUB1 expression[J]. Front Genet, 2020, 11: 666. DOI: 10.3389/fgene.2020.00666.

[16] ZHAO X, HAO S, WANG M Q, *et al*. Knockdown of pseudogene DUXAP8 expression in glioma suppresses tumor cell proliferation[J]. Oncol Lett, 2019, 17(3): 3511-3516. DOI: 10.3892/ol.2019.9994.

[17] HE L Q, ZHU W, CHEN Q, *et al*. Ovarian cancer cell-secreted exosomal miR-205 promotes metastasis by inducing angiogenesis[J]. Theranostics, 2019, 9(26): 8206-8220. DOI: 10.7150/thno.37455.

[18] ZHAO W, HAN T, LI B, *et al*. MiR-552 promotes ovarian cancer progression by regulating PTEN pathway[J]. J Ovarian Res, 2019, 12(1): 121. DOI: 10.1186/s13048-019-0589-y.

[19] ZHANG Z, ZHANG L, WANG B, *et al*. MiR-337-3p suppresses proliferation of epithelial ovarian cancer by targeting PIK3CA andPIK3CB[J]. Cancer Lett, 2020, 469: 54-67. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.10.021.

[20] XIA B, YANG S, LIU T, *et al*. MiR-211 suppresses epithelial ovarian cancer proliferation and cell-cycle progression by targeting Cyclin D1 and CDK6[J]. Mol Cancer, 2015, 14: 57. DOI: 10.1186/s12943-015-0322-4.

[21] ZHONG Y, WANG J, LV W, *et al*. LncRNA TTN-AS1 drives invasion and migration of lung adenocarcinoma cells via modulation of miR-4677-3p/ZEB1 axis[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(10): 17131-17141. DOI: 10.1002/jcb.28973.

(收稿:2021-06-01;修回:2021-09-26)
(编辑 王 红)