

LncRNA OIP5-AS1 对卵巢上皮 IOSE80 表型转化的影响

宋琳琳¹, 孟焕然¹, 周丽娜¹, 刘瑞¹, 殷利军^{2*}(1.宁夏医科大学总医院妇科, 银川 750001; 2.宁夏回族自治区人民医院普外科, 银川 750001)

摘要: 目的 探索 lncRNA OIP5-AS1 对卵巢上皮细胞 IOSE80 发生增殖、迁移、凋亡、侵袭和周期的表型的变化及可能的机制。方法 患者临床资料数据收集自 TCGA 数据库及 GEO 数据库, R 包分析后可视化 OIP5-AS1 在卵巢癌组织中表达上调, 生存率与 OIP5-AS1 的相关性采用 Kaplan-Meier 分析。以慢病毒载体构建 OIP5-AS1 过表达和沉默的 IOSE80 细胞模型, 采用 RT-qPCR 验证 OIP5-AS1 的表达, CCK-8 检测细胞增殖, Transwell 检测侵袭, 划痕试验检测细胞迁移, 流式细胞术检测细胞周期和凋亡, Western blotting 检测细胞侵袭相关蛋白 E 钙黏着蛋白 (E-cadherin) 和 N 钙黏着蛋白 (N-cadherin) 的表达及细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 和细胞周期蛋白 G 相关激酶 (cyclin-G-related kinase, GAK) 的表达。结果 RT-qPCR 结果显示成功构建 OIP5-AS1 过表达和沉默的 IOSE80 细胞株。CCK-8 结果显示过表达 OIP5-AS1 促进 IOSE80 细胞的增殖。划痕试验结果显示过表达 OIP5-AS1 促进 IOSE80 细胞迁移。Transwell 结果显示过表达 OIP5-AS1 会引起 IOSE80 细胞的侵袭力增强。流式细胞术结果表明 OIP5-AS1 的过表达使 IOSE80 细胞凋亡减弱并推动了细胞周期的进展。Western blotting 结果显示过表达 OIP5-AS1 会下调 E-cadherin 的表达并上调 N-cadherin 的表达, 同时过表达 OIP5-AS1 可提高 CDK 及 GAK 蛋白的表达。结论 lncRNA OIP5-AS1 通过上调 CDK 及 GAK 的表达进一步干预了 IOSE80 细胞周期的调控, 进而实现对卵巢上皮细胞恶性表型的间接调控作用。

关键词: 卵巢上皮细胞; lncRNA OIP5-AS1; 细胞周期; 表型

中图分类号: R966 文献标志码: A

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20224213

引用本文: 宋琳琳, 孟焕然, 周丽娜, 等. LncRNA OIP5-AS1 对卵巢上皮 IOSE80 表型转化的影响[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(5): 649-656.

Effect of LncRNA OIP5-AS1 on Phenotypic Transformation of IOSE80 in Ovarian Epithelium

SONG Linlin¹, MENG Huanran¹, ZHOU Lina¹, LIU Rui¹, YIN Lijun^{2*}(1.Department of Gynecology, The General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750001, China; 2.Department of General Surgery, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the phenotypic changes and possible mechanisms of lncRNA OIP5-AS1 on the proliferation, migration, apoptosis, invasion and cycle of ovarian epithelial cells IOSE80. **METHODS** The clinical data of patients were collected from TCGA database and GEO database. After R package analysis, the differential expression of OIP5-AS1 was visualized in the volcanic map. The correlation between survival rate and OIP5-AS1 was analyzed by Kaplan-Meier. The IOSE80 cell model of OIP5-AS1 over expression and silencing was constructed with lentivirus vector. The expression of OIP5-AS1 was verified by RT-qPCR. Cell proliferation was detected by CCK-8. Invasion was detected by Transwell. Cell migration was detected by scratch test. Cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. Western blotting was used to detect the expression of E-cadherin and N-cadherin, as well as the expression of cyclin-dependent kinase(CDK) and cyclin-G-related kinase(GAK). **RESULTS** RT-qPCR results showed that IOSE80 cell lines over expressing and silencing OIP5-AS1 were successfully constructed. CCK-8 results showed that overexpressing OIP5-AS1 promoted the proliferation of IOSE80 cells. Scratch test results showed that overexpressing OIP5-AS1 promoted the migration of IOSE80 cells. Transwell results showed that overexpressing OIP5-AS1 would increase the invasiveness of IOSE80 cells. Flow cytometry results showed that overexpression of OIP5-AS1 weakened the apoptosis of IOSE80 cells and promoted the progress of cell cycle. Western blotting results showed that overexpression of OIP5-AS1 downregulated the expression of E-cadherin and upregulated the expression of N-cadherin, while overexpression of OIP5-AS1 increased the expression of CDK and GAK proteins. **CONCLUSION** LncRNA OIP5-AS1 further interferes with the regulation of IOSE80 cell cycle by up regulating the expression of CDK and GAK, and then indirectly regulates the malignant phenotype of ovarian epithelial cells.

KEYWORDS: ovarian epithelial cell; lncRNA OIP5-AS1; cell cycle; phenotype

基金项目: 宁夏自然科学基金项目 (2021AAC03332)

作者简介: 宋琳琳, 女, 博士生, 副主任医师 E-mail: 42976260@qq.com *通信作者: 殷利军, 男, 硕士, 副主任医师 E-mail:

yinlijun0202@163.com

中国现代应用药学

Chin J Mod Appl Pharm

· 649 ·

卵巢癌一直是女性最常见的恶性肿瘤之一^[1],是妇女癌症相关死亡的第 11 个最常见类型和第 5 个主要原因^[2]。其高死亡率往往是由于发病早期缺乏特异性症状,从而导致诊断的延迟^[3]。卵巢癌患者的生存率明显受临床分期的影响,据估计,文献报道>93%的局限在卵巢的早期患者在初诊后可存活>5 年^[4]。因此探讨正常卵巢上皮细胞在促癌因素作用下所发生的表型变化及潜在的分子机制,为寻找早期检测或治疗的靶标提供一定的参考有着重要的意义。

长非编码 RNAs(lncRNAs)包含了人类转录组中缺乏蛋白质编码能力的一组丰富的转录本^[5]。lncRNAs 通过表观遗传修饰、转录和转录后调控调节关键基因的表达^[6]。OPA 相互作用蛋白 5 反义转录物 1(opa-interacting protein 5 antisense RNA 1, OIP5-AS1)是一种长的非编码 RNA,其转录方向与 OIP5 相反,位于人类染色体 15q15.1 上,有 9 个外显子计数^[7]。OIP5-AS1 在许多类型的癌症中发挥促癌作用^[8-9]。OIP5-AS1 已被发现参与子宫颈癌和乳腺癌的发展^[10]。前期已有相关文献报道 OIP5-AS1 在卵巢癌组织中高表达,且作为促癌因子影响卵巢癌的发生进展^[11]。但它在正常卵巢上皮细胞中失衡表达后发挥的作用很少被研究。本研究主要探索 lncRNA OIP5-AS1 作为促癌因子在正常卵巢上皮细胞中失衡表达后,对细胞增殖、侵袭、周期和凋亡等表型的影响及其可能的分子机制,为后续卵巢癌早期诊断及治疗提供新的思路。

1 材料

1.1 细胞

人卵巢上皮细胞 (IOSE80) 购自上海弘顺生物科技有限公司。

1.2 试剂

CCK-8 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒、细胞周期检测试剂盒、羊抗兔 IgG-HRP 抗体、 β -actin 抗体、SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒均购自沈阳万类生物技术有限公司,货号分别为 WLA074b, WLA001, WLA010, WLA023, WL01372, WLA013; RPMI-1640、PBS、胰酶、胎牛血清均购自赛默飞世尔科技有限公司,货号分别为 11875093, 10010023, 25200056, A5669701; Matrigel 胶、Transwell 小室购自美国 Corning 公司,货号分别为 356234, 34221; 全蛋白

提取试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、超敏 ECL 发光试剂盒均购自南京凯基生物技术有限公司,货号分别为 WLA01, WLA004, WLA003; PVDF 膜 (Millipore 公司,货号: IPVH00010); BeyoRT II M-MLV 反转录酶 (碧云天生物有限公司,货号: D7160L); TRIpure 提取试剂、RNase inhibitor 均购自北京百泰克生物技术有限公司,货号分别为 RP1001, RP5602; SYBR Green(北京索莱宝科技有限公司,货号: SY1020); GAK 抗体 (Affinity 公司,货号: AF0317); CDK4 抗体、E 钙黏着蛋白 (E-cadherin) 抗体、N 钙黏着蛋白 (N-cadherin) 抗体均购自 Cell Signaling Technology 公司,货号分别为 #12790S, #3195S, #13116S; 引物由金斯瑞生物科技有限公司合成; OIP5-AS1 过表达、沉默慢病毒载体及其对照均由上海恒恒生物技术有限公司构建。

2 方法

2.1 生信分析

通过 GEOquery 包从 GEO 数据库中下载 GSE54388,通过 limma 包进行 2 组的差异分析,差异分析结果及 OIP5-AS1 用火山图进行可视化。从 TCGA 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov>) 下载并整理 TCGA-OV(卵巢浆液性囊腺瘤)项目 STAR 流程的 RNAseq 数据,并提取 TPM 格式的数据以及临床数据。采用 Kaplan-Meier 分析 OIP5-AS1 与总生存率的相关性。

2.2 细胞培养、感染和分组

IOSE80 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基于 37 °C, 5%CO₂ 的培养箱内培养。慢病毒载体从培养箱中拿出已贴壁的细胞,各孔更换新鲜完全培养基后,向各组细胞中加入计算好的病毒液,IOSE80 细胞的 MOI 值为 100,轻轻混匀,37 °C、5%CO₂ 培养 24 h。弃去含病毒液的培养基上清,更换为完全培养基,37 °C、5%CO₂ 条件下继续培养 24 h,荧光显微镜观察感染情况,并提取总 RNA 定量分析 OIP5-AS1 的表达。后续实验分为未转染组 (Control)、OIP5-AS1 沉默慢病毒对照组 (shRNA-nc)、OIP5-AS1 沉默慢病毒组 (shRNA-OIP5-AS1)、OIP5-AS1 过表达慢病毒对照组 (Over-nc)、OIP5-AS1 过表达慢病毒组 (Over-OIP5-AS1)。

2.3 细胞增殖

收集对数生长期细胞接种于 96 孔板中,每孔

细胞量 3×10^3 个, 感染 12 h 后, 每孔更换为 100 μL 培养基, 加入 10 μL CCK-8 继续培养 2 h, 然后在酶标仪上测定其在 450 nm 处 OD 值, 每组设置 5 个复孔, 重复 3 次。

2.4 细胞凋亡

收集各组细胞, PBS 清洗 2 次, 加入 500 μL 的 Binding Buffer, 重悬细胞, 加入 5 μL Annexin V-FITC 混匀, 再次加入 10 μL Propidium Iodide, 混匀, 室温避光孵育 5~15 min, 上机进行凋亡检测, 每组 3 个复孔, 重复 3 次。

2.5 细胞迁移

各组细胞在实验前更换为无血清培养基并加入 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的丝裂霉素 C 处理 1 h。将各组细胞利用 200 μL Pipette Tip 造成细胞划痕, 用无血清培养基清洗细胞表面 1 次, 除去细胞碎片, 显微镜下拍照, 继续培养至 24 h 和 48 h, 分别拍照。计算各实验组迁移距离。

2.6 细胞侵袭

首先配置好 Transwell 小室, 下层为 10% FBS 的培养液 800 μL , 膜上包被 Matrigel 胶上室终浓度均为 2×10^4 个 \cdot 孔 $^{-1}$ 的细胞悬液 200 μL 。培养 24 h 后取出 Transwell 小室, 4% 多聚甲醛室温固定 25 min, 0.4% 结晶紫染液染色 5 min, 蒸馏水冲洗。镜下拍照并记录细胞数, 每个样本选取 5 个视野计细胞个数, 取均数进行统计计算。

2.7 细胞周期

收集各组细胞, 加入预冷 70% 乙醇, 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 2 h, 再次离心弃去上清液, 加入 100 μL RNase A, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 加入 500 μL 的 Propidium Iodide 染色液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光 30 min, 随即进行流式细胞术检测, 每组 3 个复孔, 重复 3 次。

2.8 RT-qPCR 检测

收集各组细胞, 根据 TRIpure 说明书完成总 RNA 的提取, 按 BeyoRT II M-MLV 反转录酶说明书构建 cDNA, 按 SYBR Green 试剂说明书完成上机检测, 以 β -actin 为内参, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法分析数据, 引物见表 1。

表 1 RT-qPCR 扩增引物序列

Tab. 1 RT-qPCR amplification primer sequence

| 基因 | 引物(5'-3') | 产物长度/bp |
|----------------|------------------------|---------|
| OIP5-AS1 | F: CTCAAACTCCCACCTG | 140 |
| | R: TAGCCTGAGCAACAAGA | |
| β -actin | F: GGCACCCAGCACAAATGAA | 168 |
| | R: TAGAAGCATTTCGGGTGG | |

2.9 Western blotting 检测

以细胞刮刀收集各组细胞, 以全蛋白提取试剂盒说明书完成全蛋白提取, 按 BCA 蛋白测定试剂盒说明书进行蛋白浓度测定。SDS-PAGE 电泳进行蛋白分离, 转移至 PVDF 膜, 一抗 GAK(1:1 000)、CDK4(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、E-cadherin(1:1 000)、 β -actin(1:2 000) 杂交 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 二抗羊抗兔 IgG-HRP(1:5 000), 室温 2 h, ECL 化学发光试剂盒完成显影成像, 凝胶图像处理系统 (Gel-Pro-Analyzer 软件) 分析目标条带的光密度值。

2.10 统计学分析

统计采用 GraphPad Prism 8.0 软件, 单因素方差分析完成 5 个组的差异分析, 2 组间的比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 OIP5-AS1 在上皮性卵巢癌患者中的生物信息学分析

OIP-AS1 在卵巢癌组织中较正常组织表达发生上调 ($P < 0.05$)。OIP5-AS1 表达升高的患者与较低的生存时间相关 ($P < 0.05$)。生信分析结果见图 1。

3.2 OIP5-AS1 过表达和沉默的细胞模型构建及其对细胞增殖的影响

成功构建稳定的 OIP5-AS1 过表达和沉默的 IOSE80 细胞模型。RT-qPCR 结果显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组和 Over-nc 组 OIP5-AS1 表达差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组 OIP5-AS1 组表达显著下调 ($P < 0.05$), Over-OIP5-AS1 组 OIP5-AS1 表达显著上调 ($P < 0.05$)。CCK-8 实验结果显示, 相比于 Control 组, 在 48, 72, 96 h 时, shRNA-nc 组和 Over-nc 组细胞增殖能力差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组细胞增殖能力显著下降 ($P < 0.05$), Over-OIP5-AS1 组细胞增殖能力显著上升 ($P < 0.05$)。结果见图 2。

3.3 OIP5-AS1 对细胞凋亡和周期的影响

凋亡试验显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组和 Over-nc 组细胞凋亡比例差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组细胞凋亡比例显著增加 ($P < 0.05$), Over-OIP5-AS1 组细胞凋亡比例显著降低 ($P < 0.05$)。细胞周期结果显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组和 Over-nc 组细胞周期水平差异无统计学意义; shRNA-OIP5-AS1 组 G_1 期细胞比

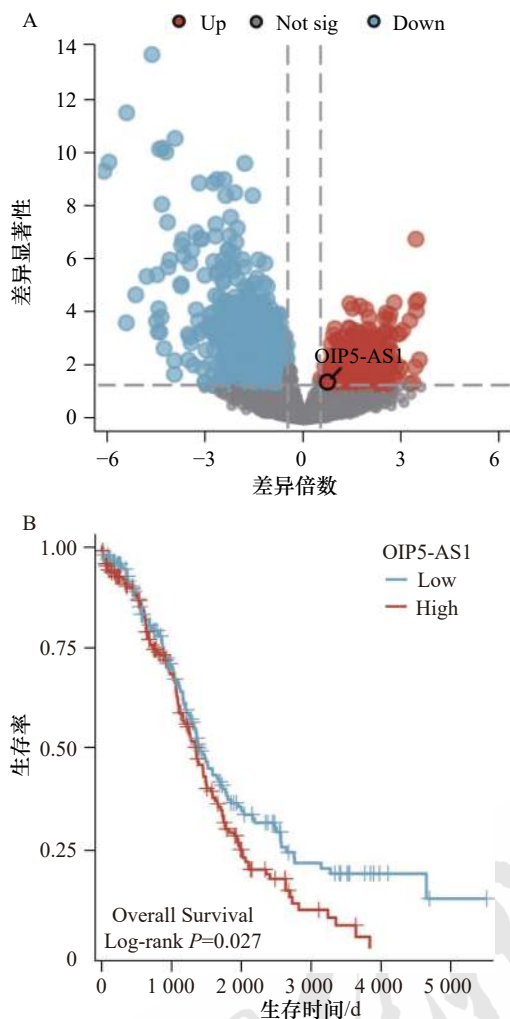


图 1 OIP5-AS1 生物信息学分析
A-可视化表达 OIP5-AS1 差异的火山图；B-比较 OIP5-AS1 高低组之间的预后情况。

Fig. 1 OIP5-AS1 bioinformatics analysis
A-visualize volcano maps that expressed differences in OIP5-AS1; B-compared the prognosis between the high and low OIP5-AS1 groups.

例显著增多 ($P < 0.05$), S 和 G_2 期细胞比例显著降低 ($P < 0.05$); Over-OIP5-AS1 组细胞增殖能力显著上升, G_1 期细胞比例显著降低 ($P < 0.05$), S 和 G_2 期细胞比例显著上升 ($P < 0.05$)。结果见图 3。

3.4 OIP5-AS1 对细胞迁移和侵袭的影响

细胞划痕结果表显示, 相比于 Control 组, 在 24, 48 h 时, shRNA-nc 组和 Over-nc 组细胞迁移率差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组细胞迁移率显著下降 ($P < 0.05$), Over-OIP5-AS1 组细胞迁移率显著上升 ($P < 0.05$)。细胞侵袭结果显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组、Over-nc 组和 shRNA-OIP5-AS1 组细胞未发生侵袭, Over-OIP5-AS1 组细胞发生侵袭, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见图 4。

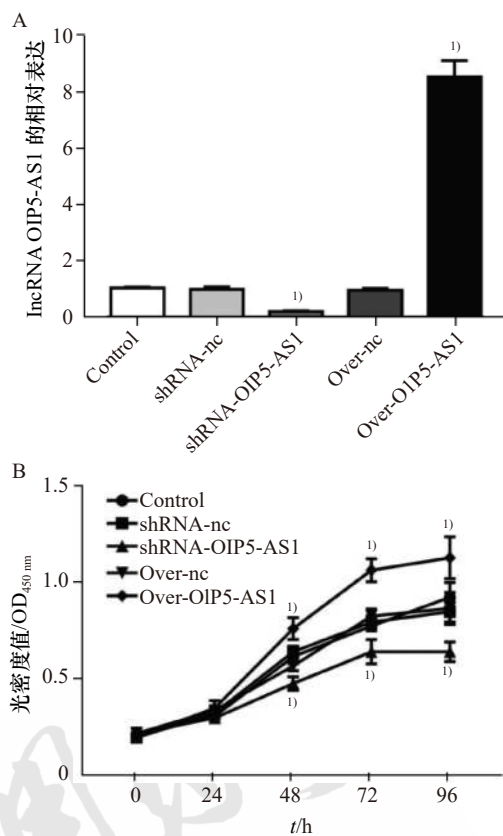


图 2 OIP5-AS1 干预模型表达鉴定 ($\bar{x} \pm s, n=5$)
A-RT-qPCR 检测 OIP5-AS1 结果; B-CCK-8 检测 OIP5-AS1 结果; 与 Control 组比较, $^{1)}P < 0.05$ 。

Fig. 2 Identification of OIP5-AS1 intervention model expression ($\bar{x} \pm s, n=5$)
A-OIP5-AS1 results detected by RT-qPCR; B-CCK-8 detected OIP5-AS1 results; compared with the Control group, $^{1)}P < 0.05$ 。

3.5 OIP5-AS1 对 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组和 Over-nc 组 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达水平差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组 E-cadherin 蛋白表达显著上调 ($P < 0.05$) 且 N-cadherin 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$)。Over-OIP5-AS1 组 E-cadherin 蛋白表达显著下调 ($P < 0.05$), 且 N-cadherin 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$)。结果见图 5。

3.6 OIP5-AS1 对 GAK 和 CDK4 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示, 相比于 Control 组, shRNA-nc 组和 Over-nc 组 GAK 和 CDK4 蛋白表达水平差异无统计学意义, shRNA-OIP5-AS1 组 GAK 和 CDK4 蛋白表达水平显著下调 ($P < 0.05$), Over-OIP5-AS1 组 GAK 和 CDK4 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$)。结果见图 6。

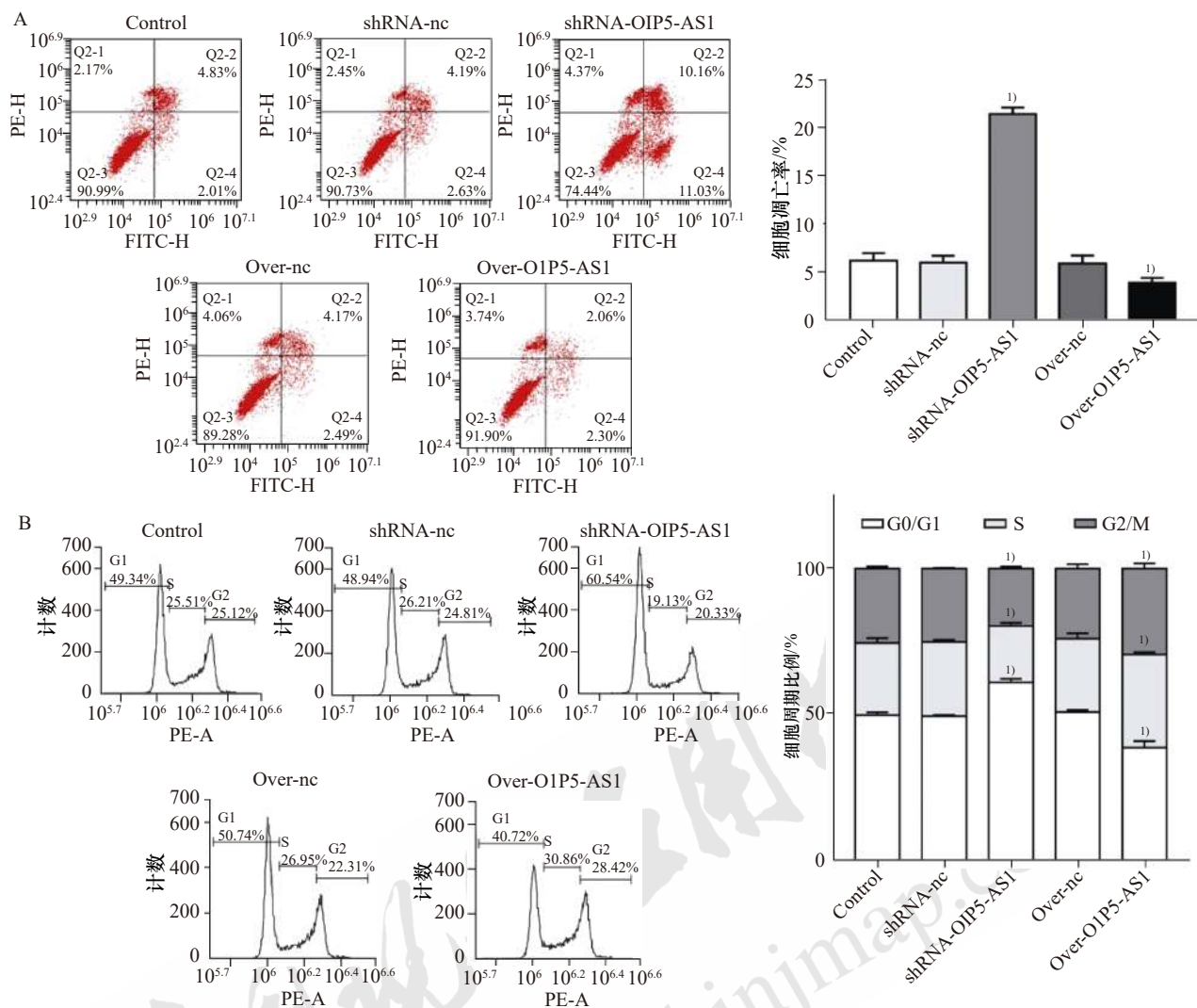


图3 细胞凋亡和细胞周期检测 ($\bar{x} \pm s, n=5$)
A-细胞凋亡检测; B-细胞周期检测; 与Control组比较, $^{1)}P<0.05$ 。

Fig. 3 Cell apoptosis and cell cycle detection ($\bar{x} \pm s, n=5$)
A-cell apoptosis detection; B-cell cycle detection; compared with the Control group, $^{1)}P<0.05$ 。

4 讨论

lncRNA在许多细胞生命活动中起着至关重要的作用,包括细胞周期、分化、代谢和疾病^[12-13]。并且它在多种人类恶性肿瘤中异常表达,这些异常表达的lncRNAs可作为临床早期诊断的生物标志物^[14-16]。除多发性骨髓瘤外,几乎所有肿瘤组织中lncRNA OIP5-AS1的表达均有增高^[12]。目前在临床和体内研究一致认为OIP5-AS1具有致癌作用。前期已有文献报道卵巢癌组织中OIP5-AS1高表达,且发现OIP5-AS1的过表达会增加卵巢癌细胞的侵袭和迁移^[17]。通过生信分析表明卵巢癌组织中OIP5-AS1表达较正常卵巢组织发生上调,且其在卵巢癌患者中表达升高与预后不良有关。但是目前它的这种促癌功能主要是在恶性

情况下评估的,在正常卵巢细胞中改变OIP5-AS1的表达是否能够影响细胞的表型还未见报道。

本研究立足于正常的卵巢上皮IOSE80作为研究对象对OIP5-AS1的功能进行研究。发现在正常卵巢上皮IOSE80细胞中过表达OIP5-AS1后细胞增殖能力增强,且获得了较高的迁移与侵袭抗凋亡等间质表型,而沉默则相反。证明OIP5-AS1可能作为一种致癌因子在卵巢癌发生发展过程中起到一定的关键作用。卵巢癌临床表现的特征之一即其极高的转移和侵袭潜力,首先定植于腹膜并形成腹水^[18],这种转移优势也造成了其在各种上皮组织中具有一定的侵袭性。那么推测卵巢癌的这种腹腔内极易扩散的现象可能与OIP5-AS1过表

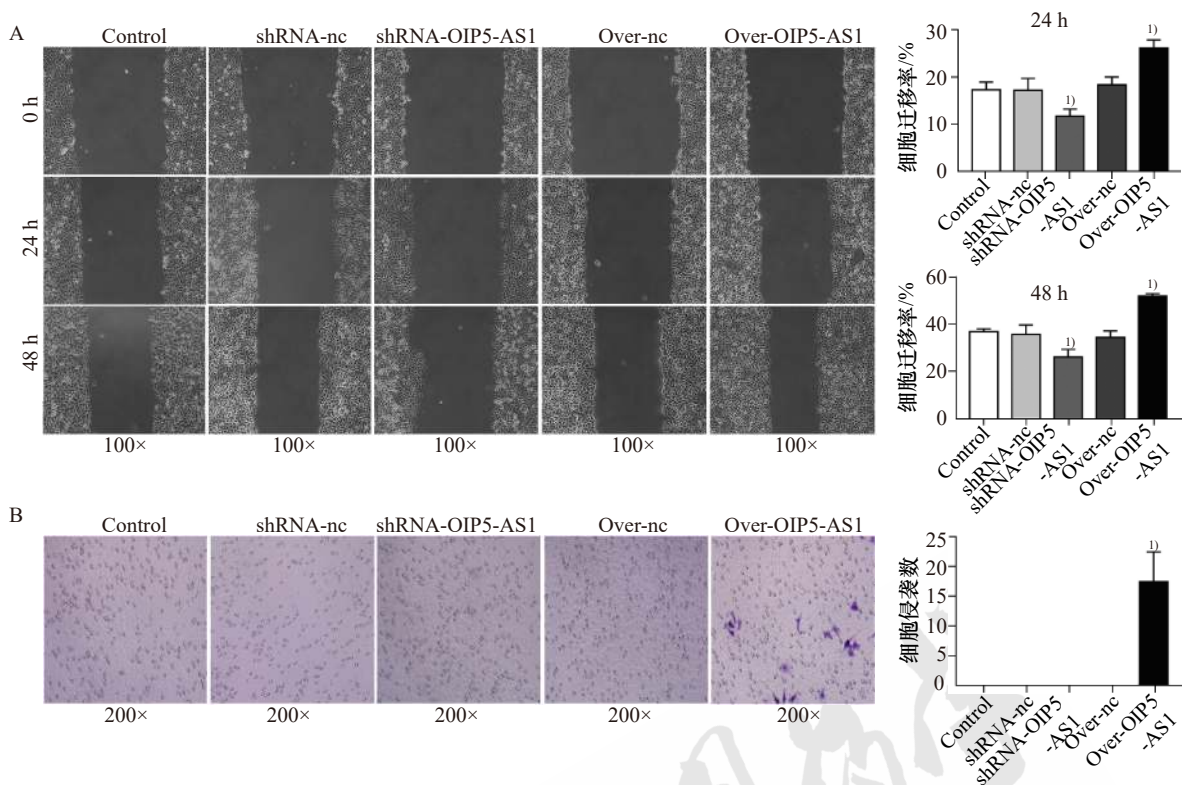


图4 细胞迁移和侵袭检测 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-细胞迁移; B-细胞侵袭; 与 Control 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 4 Cell migration and invasion detection ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-cell migration; B-cell invasion; compared with the Control group, ¹⁾ $P < 0.05$.

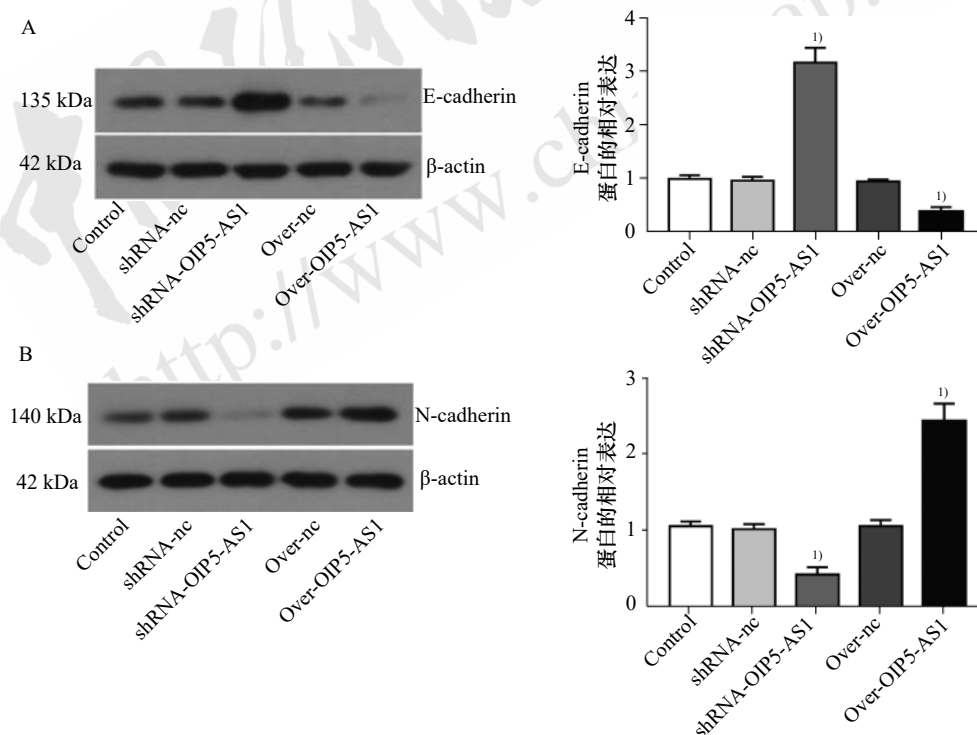


图5 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白检测 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-E-cadherin 蛋白的表达检测; B-N-cadherin 蛋白的表达检测; 与 Control 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 5 E-cadherin and N-cadherin protein detection ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-detection of E-cadherin protein expression; B-N-cadherin protein expression detection; compared with the Control group, ¹⁾ $P < 0.05$.

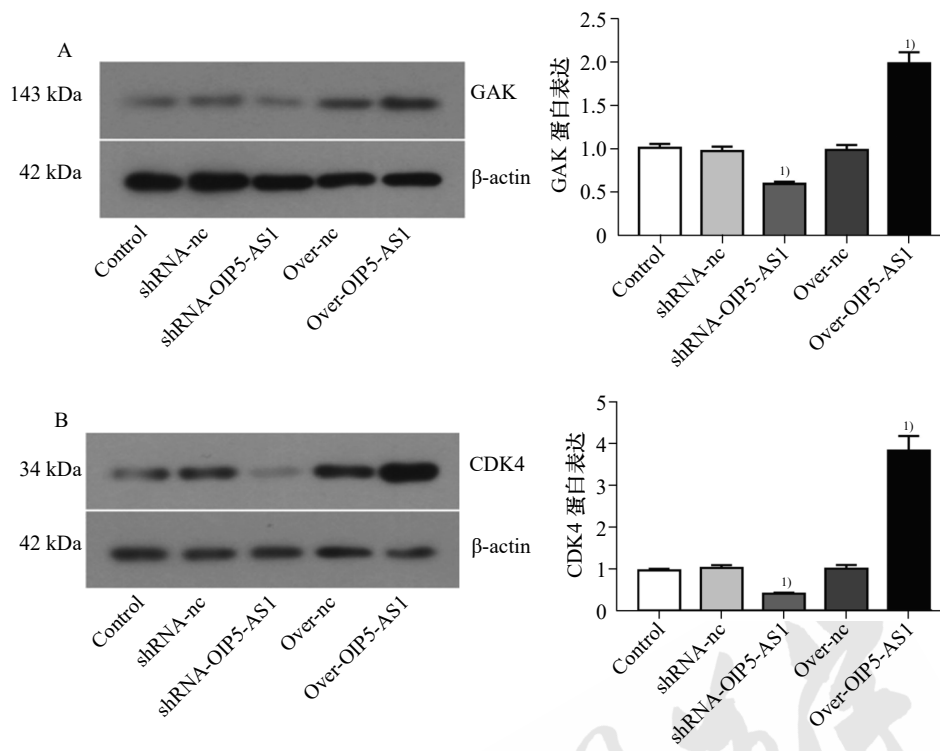


图 6 GAK 和 CDK4 蛋白检测 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-GAK 蛋白的表达检测; B-CDK4 蛋白的表达检测; 与 Control 组比较, ^{b)} $P<0.05$ 。

Fig. 6 GAK and CDK4 protein detection ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)
A-detection of GAK protein expression; B-detection of CDK4 protein expression; compared with the Control group, ^{b)} $P<0.05$.

达所造成卵巢正常上皮细胞发生恶性表型转变相关, 为此本研究检测了细胞侵袭相关标记蛋白 E-cadherin 和 N-cadherin。E-cadherin 是细胞黏附连接的关键成分, 在维持细胞上皮表型中不可或缺, 并且具有防止肿瘤进展和侵袭的作用, 使得 E-cadherin 成为经典的肿瘤抑制因子, 与肿瘤侵袭呈负相关^[19]。而神经 N-cadherin 属于钙依赖的单链跨膜糖蛋白具有介导同型和异型细胞黏附的功能^[20], 其在肿瘤细胞中的表达与肿瘤的发生和转移密切相关, 是肿瘤预后不良的正相关因子^[21]。

在本研究中通过对 IOSE80 中 OIP5-AS1 过表达或沉默及回复验证均证明了 OIP5-AS1 具有促进 IOSE80 细胞中 N-cadherin 表达并抑制 E-cadherin 表达的功能, 进一步说明了 OIP5-AS1 的过表达对正常卵巢上皮细胞向恶性表型发展起着促进作用, 这可能会对卵巢癌极易扩散的分子机制研究及临床新药的研发有一定的帮助。

目前卵巢癌的前期治疗主要依赖于减瘤手术(无残留病灶)和铂类化疗, 对于减瘤效果欠佳和 IV 期疾病的患者, 加用抗血管生成药物^[22]。因其具备恶性肿瘤异质性的特征, 从而导致了疾病本身的复杂性^[23], 这也是其治疗难的原因之一。目前

治疗改进主要集中在靶向药物的治疗, 药物靶点通常是在一些异常调节的通路^[24]。其中靶向 CDK, 特别是与传统的铂类药物联合使用, 可能具有显著疗效^[25-26]。CDK 家族中 CDK4 及 CDK6 抑制剂联合芳香化酶抑制剂对雌激素受体阳性卵巢癌患者可以发挥很好的靶向治疗作用^[27]。另外 GAK 作为维持细胞中心体成熟及有丝分裂进展所必需的细胞周期蛋白激酶, 在宫颈癌 HeLa 细胞株中 OIP5-AS1 可以通过调节 GAK 来控制宫颈癌细胞的有丝分裂^[28]。那么 lncRNA OIP5-AS1 在卵巢癌组织中表达的上调是否会导致 CDK 和 GAK 表达的异常, 从而发挥致病基因作用呢? 与前期假设相符, 本实验过表达或沉默 lncRNA OIP5-AS1 后细胞周期进程也会随之发生停滞或前进, 并且这种改变确实是受调控细胞周期进程的激酶 GAK 和 CDK4 来实现的, 这与之之前报道 OIP5-AS1 可能在 G0/G1 和 G2/M 等几个阶段调节细胞周期进程, 从而影响细胞命运并参与癌变过程相一致^[12]。结合本实验结果, 沉默 OIP5-AS1 后 GAK 表达降低, 反之亦然, 说明 OIP5-AS1 至少部分是通过调节 GAK 来控制有丝分裂, 从而调控卵巢癌的发生发展, 但支持这些结论的详细分子

机制仍不清楚, 需要进一步研究。

综上, 本研究证实 OIP5-AS1 可以使正常卵巢上皮表型向恶性特征转化, 可能的作用是通过周期蛋白激酶 GAK 和 CDK4 的正向调控, 从而改变了正常卵巢上皮 IOSE80 细胞的命运。目前 CDK 靶向治疗卵巢癌的研究还处于早期临床前阶段, 但已有证据表明, 靶向 CDK 并与铂类药物联合使用可能可以显著增强疗效, 基于 OIP5-AS1 对 CDK 及 GAK 的双向调控作用的特点, 有望成为未来卵巢癌诊断或治疗的生物标志物。

REFERENCES

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] SHAFABAKHSH R, ASEMI Z. Quercetin: A natural compound for ovarian cancer treatment[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 55.
- [3] EMMINGS E, MULLANY S, CHANG Z, et al. Targeting mitochondria for treatment of chemoresistant ovarian cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1): 229.
- [4] PERES L C, CUSHING-HAUGEN K L, KÖBEL M, et al. Invasive epithelial ovarian cancer survival by histotype and disease stage[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(1): 60-68.
- [5] SUN W, SHI Y, WANG Z F, et al. Interaction of long-chain non-coding RNAs and important signaling pathways on human cancers (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(6): 2343-2355.
- [6] DEY B K, MUELLER A C, DUTTA A. Long non-coding RNAs as emerging regulators of differentiation, development, and disease[J]. *Transcription*, 2014, 5(4): e944014.
- [7] NAEMURA M, KUROKI M, TSUNODA T, et al. The long noncoding RNA OIP5-AS1 is involved in the regulation of cell proliferation[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(1): 77-81.
- [8] DENG J, DENG H, LIU C F, et al. Long non-coding RNA OIP₅-AS1 functions as an oncogene in lung adenocarcinoma through targeting miR-448/Bcl-2[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018(98): 102-110.
- [9] ZOU Y M, YAO S, CHEN X Q, et al. LncRNA OIP₅-AS1 regulates radioresistance by targeting DYRK1A through miR-369-3p in colorectal cancer cells[J]. *Eur J Cell Biol*, 2018, 97(5): 369-378.
- [10] LI Y W, HAN X, FENG H, et al. Long noncoding RNA OIP₅-AS1 in cancer[J]. *Clin Chim Acta*, 2019(499): 75-80.
- [11] WANG Y J, LI L L, ZHANG X, et al. Long non-coding RNA OIP₅-AS1 suppresses microRNA-92a to augment proliferation and metastasis of ovarian cancer cells through upregulating ITGA6[J]. *J Ovarian Res*, 2022, 15(1): 25.
- [12] YANG M H, HU Z Y, XU C, et al. MALAT1 promotes colorectal cancer cell proliferation/migration/invasion via PRKA kinase anchor protein 9[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(1): 166-174.
- [13] ZHENG C, CHU M, CHEN Q L, et al. The role of lncRNA OIP₅-AS1 in cancer development and progression[J]. *Apoptosis*, 2022, 27(5/6): 311-321.
- [14] LUO W M, WANG M, LIU J, et al. Identification of a six lncRNAs signature as novel diagnostic biomarkers for cervical cancer[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 993-1000.
- [15] LIU Y W, FENG W, LIU W Y, et al. Circulating lncRNA ABHD11-AS1 serves as a biomarker for early pancreatic cancer diagnosis[J]. *J Cancer*, 2019, 10(16): 3746-3756.
- [16] ZHANG Z Q, LI J, HE T S, et al. The competitive endogenous RNA regulatory network reveals potential prognostic biomarkers for overall survival in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(9): 2905-2923.
- [17] JIANG X Z, YE Z X, JIANG Y F, et al. LncRNA OIP₅-AS1 upregulates snail expression by sponging miR-34a to promote ovarian carcinoma cell invasion and migration[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 49.
- [18] VAN BAAL J O A M, VAN NOORDEN C J F, NIEUWLAND R, et al. Development of peritoneal carcinomatosis in epithelial ovarian cancer: A review[J]. *J Histochem Cytochem*, 2018, 66(2): 67-83.
- [19] MENDONSA A M, NA T Y, GUMBINER B M. E-cadherin in contact inhibition and cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(35): 4769-4780.
- [20] CAO Z Q, WANG Z, LENG P. Aberrant N-cadherin expression in cancer[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2019(118): 109320.
- [21] VENHUIZEN J H, JACOBS F J C, SPAN P N, et al. P120 and E-cadherin: Double-edged swords in tumor metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020(60): 107-120.
- [22] LHEUREUX S, BRAUNSTEIN M, OZA A M. Epithelial ovarian cancer: Evolution of management in the era of precision medicine[J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(4): 280-304.
- [23] SCHOUTROP E, MOYANO-GALCERAN L, LHEUREUX S, et al. Molecular, cellular and systemic aspects of epithelial ovarian cancer and its tumor microenvironment[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 3): 207-223.
- [24] SCHMID B C, OEHLER M K. New perspectives in ovarian cancer treatment[J]. *Maturitas*, 2014, 77(2): 128-136.
- [25] DALL'ACQUA A, BARTOLETTI M, MASOUDI-KHORAM N, et al. Inhibition of CDK4/6 as therapeutic approach for ovarian cancer patients: Current evidences and future perspectives[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(12): 3035.
- [26] ZHOU Q. Targeting cyclin-dependent kinases in ovarian cancer[J]. *Cancer Invest*, 2017, 35(6): 367-376.
- [27] COLON-OTERO G, ZANFAGNIN V, HOU X N, et al. Phase II trial of ribociclib and letrozole in patients with relapsed oestrogen receptor-positive ovarian or endometrial cancers[J]. *ESMO Open*, 2020, 5(5): e000926.
- [28] KIM J, NOH J H, LEE S K, et al. LncRNA OIP₅-AS1/cyano suppresses GAK expression to control mitosis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 49409-49420.

收稿日期: 2023-02-20
(本文责编: 沈倩)