

circ_0000467通过靶向miR-508-3p对卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响

齐丽宁¹ 王琪¹ 朱继红¹ 耿艳红¹ 葛新苗² 魏旭静^{3*} 刘彩辉¹

(¹保定市第一中心医院妇产科, 保定 071000; ²保定市第二中心医院产科, 保定 072750;

³河北医科大学第一医院盆底整复中心, 石家庄 054000)

摘要 该文旨在探讨 circ_0000467 调控卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、迁移及侵袭的分子机制。收集 2021 年 3 月至 2022 年 6 月保定市第一中心医院收治的 37 例患者的卵巢癌组织及其癌旁组织, 体外培养 IOSE80 人正常卵巢上皮细胞株及人卵巢癌细胞 A2780、OVCAR3、SKOV3, 采用 qRT-PCR 法检测 circ_0000467、miR-508-3p 的表达量, 并分析 circ_0000467、miR-508-3p 表达与卵巢癌患者临床病理特征的相关性; 将 si-circ_0000467、si-NC、miR-NC、miR-508-3p 分别转染至 SKOV3 细胞, 并用 si-circ_0000467 与 anti-miR-NC 和 anti-miR-508-3p 分别共转染 SKOV3 细胞; 通过 CCK-8、平板克隆形成实验测定细胞增殖情况; 划痕实验测定细胞迁移情况; Transwell 实验测定细胞侵袭情况; 通过双荧光素酶实验检测 miR-508-3p 过表达对野生型与突变型载体 (WT-circ_0000467、MUT-circ_0000467) 荧光素酶活性的影响。与癌旁组织相比, circ_0000467 在卵巢癌组织中上调表达 ($P<0.05$), miR-508-3p 下调表达 ($P<0.05$)。与 IOSE80 细胞相比, A2780、OVCAR3、SKOV3 细胞中 circ_0000467 表达水平升高 ($P<0.05$), miR-508-3p 表达水平下降 ($P<0.05$)。circ_0000467 和 miR-508-3p 表达与卵巢癌患者 FIGO 分期和淋巴结转移相关 ($P<0.05$)。敲低 circ_0000467 可降低细胞活力、划痕愈合率、细胞克隆形成数及侵袭细胞数 ($P<0.05$); miR-508-3p 过表达可降低 WT-circ_0000467 的荧光素酶活性 ($P<0.05$); 转染 miR-508-3p 可降低细胞活力、划痕愈合率、细胞克隆形成数和侵袭细胞数 ($P<0.05$); 转染 anti-miR-508-3p 可逆转转染 si-circ_0000467 对细胞增殖、迁移、侵袭的影响 ($P<0.05$)。干扰 circ_0000467 表达可通过增加 miR-508-3p 的表达水平抑制卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭。

关键词 卵巢癌; circ_0000467; miR-508-3p; 增殖; 迁移; 侵袭

Effects of circ_0000467 on Proliferation, Migration and Invasion of Ovarian Cancer Cells by Targeting miR-508-3p

QI Lining¹, WANG Qi¹, ZHU Jihong¹, GENG Yanhong¹, GE Xinmiao², WEI Xujing^{3*}, LIU Caihui¹

(¹Department of Obstetrics and Gynecology, Baoding No.1 Central Hospital, Baoding 071000, China;

²Department of Obstetrics, the Second Central Hospital of Baoding City, Baoding 072750, China;

³Pelvic Floor Reconstruction Center, First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 054000, China)

Abstract This study aims to explore the molecular mechanism of circ_0000467 regulating the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer SKOV3 cells. The ovarian cancer tissues and their adjacent tissues of 37 patients from the Baoding No.1 Central Hospital from March 2021 to June 2022 were collected. IOSE80 human

收稿日期: 2024-09-29 接受日期: 2024-11-21

河北省保定市计划(批准号: 2241ZF194)资助的课题

*通信作者。Tel: 15632170838, E-mail: 3025300877@qq.com

Received: September 29, 2024 Accepted: November 21, 2024

This work was supported by the Plan in Baoding City, Hebei Province (Grant No.2241ZF194)

*Corresponding author. Tel: +86-15632170838, E-mail: 3025300877@qq.com

normal ovarian epithelial cell lines and human ovarian cancer cells A2780, OVCAR3 and SKOV3 were cultured *in vitro*. The expression levels of circ_0000467 and miR-508-3p were detected by qRT-PCR, and the correlation between the expression levels of circ_0000467 and miR-508-3p and clinicopathological characteristics of ovarian cancer patients was analyzed. si-circ_0000467, si-NC, miR-NC, miR-508-3p were transfected into SKOV3 cells, and si-circ_0000467 was co-transfected with anti-miR-NC and anti-miR-508-3p into SKOV3 cells, respectively. Proliferation was measured by CCK-8 and plate clone formation assay. The cell migration was measured by scratch test. The cell invasion was measured by Transwell assay. The effects of miR-508-3p overexpression on the luciferase activity of wild-type vector WT-circ_0000467 and mutant vector MUT-circ_0000467 were detected by dual luciferase assay. Compared with adjacent tissues, circ_0000467 was up-regulated in ovarian cancer tissues ($P<0.05$) and miR-508-3p was down-regulated ($P<0.05$). Compared with IOSE80 cells, the expression level of circ_0000467 in A2780, OVCAR3 and SKOV3 cells was increased ($P<0.05$), while the expression level of miR-508-3p was decreased ($P<0.05$). circ_0000467 and miR-508-3p expression were correlated with FIGO stage and lymph node metastasis in ovarian cancer patients ($P<0.05$). Knocking down circ_0000467 could reduce the cell viability, scratch healing rate, the number of cell clones and the number of invasive cells ($P<0.05$). Overexpression of miR-508-3p could reduce the luciferase activity of WT-circ_0000467 ($P<0.05$). Transfection with miR-508-3p decreased the cell viability, scratch healing rate, the number of cell clone formation and the number of invasive cells ($P<0.05$). Transfection with anti-miR-508-3p reversed the effects of transfection with si-circ_0000467 on cell proliferation, migration and invasion ($P<0.05$). Interference with the expression of circ_0000467 could inhibit the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells by increasing the expression of miR-508-3p.

Keywords ovarian cancer; circ_0000467; miR-508-3p; proliferation; migration; invasion

卵巢癌是临床常见的一种妇科肿瘤, 卵巢癌诊断与治疗技术均明显改善, 但卵巢癌患者5年生存率没有得到提升^[1]。已知环状RNA(circular RNA, circRNA)在卵巢癌组织或细胞系中异常表达, 可能是卵巢癌诊断的早期生物学标志物, circRNA在卵巢癌中可发挥癌基因或抑癌基因作用^[2]。在胃癌组织和细胞中 circ_0000467表达水平升高, 下调 circ_0000467可有效抑制胃癌细胞的增殖和侵袭^[3]。然而, circ_0000467在卵巢癌进展中的功能还未明确。Circular RNA Interactome预测发现 miR-508-3p 是 circ_0000467的可能靶点。据报道, 卵巢癌细胞中 miR-508-3p表达水平下降^[4]。但 miR-508-3p在卵巢癌细胞中的作用机制尚不明确。本研究主要探究 circ_0000467通过靶向 miR-508-3p对卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收集于2021年3月—2022年6月在保定市第一中心医院经病理学诊断的37例卵巢癌患者的癌组织和癌旁组织, 并将其于 -80°C 冻存。患者年龄在48至

67岁之间, 平均年龄为 (55.36 ± 4.12) 岁。本研究经保定市第一中心医院伦理委员会批准(批准号: 2103-108), 且所有纳入的患者均签署了知情同意书。收集卵巢癌患者的年龄、肿瘤直径等临床资料。IOSE80人正常卵巢上皮细胞株及人卵巢癌细胞A2780、OVCAR3、SKOV3购自上海慧颖生物科技有限公司; Lipofectamine2000购自美国Invitrogen公司; HRP标记的山羊抗兔IgG二抗购自美国CST公司; si-NC、si-circ_0000467、miR-508-3p mimics、miR-NC、anti-miR-508-3p、pcDNA-circ_0000467、pcDNA、anti-miR-NC购自上海吉玛制药技术有限公司; 兔抗人N-cadherin、GAPDH、E-cadherin抗购自美国Santa Cruz公司; CCK-8试剂购自北京索莱宝科技有限公司; Trizol试剂、反转录与荧光定量PCR试剂盒购自美国ThermoFisher Scientific公司; 荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司。

1.2 细胞转染及分组

取对数期SKOV3细胞, 接种于6孔板(1×10^5 个/孔)中, 当细胞融合度达70%时开始转染。用250 μL 无血清培养基分别稀释Lipofectamine2000或待转染RNA(si-circ_0000467、si-NC、miR-NC、miR-508-3p mimics、

anti-miR-NC、anti-miR-508-3p), 上述2种稀释液充分混匀后, 室温孵育20 min, 每孔加入200 μ L混合液, 于37 $^{\circ}$ C恒温饱和湿度培养箱内培养6 h, 弃培养基, 加入含有胎牛血清与双抗的新鲜培养基, 继续培养48 h。实验分组: 采用上述转染方法分别转染si-NC(si-NC组)、si-circ_0000467(si-circ_0000467组)、miR-NC(miR-NC组)、miR-508-3p mimics(miR-508-3p组)至SKOV3细胞, 并将si-circ_0000467和anti-miR-NC(si-circ_0000467+anti-miR-NC组)或anti-miR-508-3p(si-circ_0000467+anti-miR-508-3p组)分别共转染至SKOV3细胞。

1.3 qRT-PCR

使用Trizol从组织和细胞中提取总RNA。反转录体系为2 μ L RNA, 0.4 μ L dNTP, 2 μ L 10 $\times$ RT缓冲液, 1 μ L反转录酶, 2 μ L 10 $\times$ 随机引物, 无核酸酶污染的ddH₂O补足体系至10 μ L。以cDNA为模板进行qRT-PCR反应, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C预变性2 min; 95 $^{\circ}$ C变性15 s, 60 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸5 min, 40个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对miR-508-3p、circ_0000467表达水平进行计算。使用的引物序列如下: miR-508-3p(正向引物5'-CAA GCA TGA TTG TAG CCT TTT G-3', 反向引物为5'-TAT CGT TGT ACT CCA GAC CAA GAC-3'), U6(正向引物5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', 反向引物5'-AAC GAT TCA CGA ATT TGC GT-3'), circ_0000467(正向引物5'-ACA CAA TGG GAC TTA AAA ATG CGA-3', 反向引物5'-ACA GAT CAT CTT TCA CAT CAG TCT-3')和GAPDH(正向引物5'-GGG AAA TCG TGC GTG ACA TTA AG-3', 反向引物5'-TGT GTT GGC GTA CAG GTC TTT G-3')。

1.4 CCK-8

将SKOV3细胞接种于96孔板(1.5 $\times$ 10³个/孔), 37 $^{\circ}$ C下培养24 h后, 每孔加10 μ L CCK-8溶液, 在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中孵育2 h, 用酶标仪测定波长为450 nm处的吸光度(D)值。

1.5 平板克隆形成实验

细胞经胰酶于37 $^{\circ}$ C消化3 min后, 重悬成单细胞悬液, 接种于6孔板(500个/孔)中。细胞在含有10%胎牛血清的培养基中培养2周, 菌落在37 $^{\circ}$ C下用4%多聚甲醛固定4 h, 在37 $^{\circ}$ C下用0.1%结晶紫染色15 min, 然后进行计数。

1.6 划痕实验

收集各组SKOV3细胞接种于6孔板(1 $\times$ 10⁵个/孔), 培养至细胞长满, 用20 μ L枪头垂直于孔板背面的横

线画出道痕, PBS洗涤后洗去划痕产生的细胞碎片, 以此时间点为起始时刻并应用倒置相差显微镜观察, 于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱内培养24 h后再次用显微镜观察, 并计算细胞划痕愈合率。划痕愈合率=[(24 h时划痕宽度-0 h时划痕宽度)/0 h时划痕宽度] $\times$ 100%。

1.7 Transwell实验

收集各组SKOV3细胞接种于覆盖Matrigel的上室(1 $\times$ 10⁵个/孔), 下室添加600 μ L含血清培养液。37 $^{\circ}$ C孵育48 h后, 用4%多聚甲醛室温固定上室细胞20 min, 再用结晶紫室温染色10 min, 用显微镜拍照, 然后用ImageJ软件计算细胞数量。

1.8 双荧光素酶报告实验

从人cDNA文库中扩增出野生型circ_0000467序列, 使用快速突变试剂盒通过位点定向诱变将突变引入miR-148a-3p结合位点。该PCR片段被克隆到萤火虫荧光素酶编码区下游的psiCHECK-2载体上, 形成WT-circ_0000467、MUT-circ_0000467。内控采用psiCHECK-2对照。参照“1.2”中的转染方法将psiCHECK-2报告质粒分别与miR-508-3p mimics或miR-NC共转染SKOV3细胞, 24 h后测定荧光素酶活性。将pcDNA、pcDNA-circ_0000467、si-NC、si-circ_0000467用Lipofectamine 2000分别转染至SKOV3细胞, 48 h后通过qRT-PCR测定miR-508-3p表达水平。

1.9 Western blot

使用RIPA裂解液提取SKOV3细胞总蛋白, 并用BCA法进行检测。蛋白上清液经SDS-PAGE反应(40 μ g蛋白样品)后将蛋白质转移至PVDF膜上, 条件: 400 mA恒流转移120 min, 用5%牛血清白蛋白4 $^{\circ}$ C封闭PVDF膜1 h, 4 $^{\circ}$ C各添加E-cadherin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、GAPDH一抗(1:2 000), 24 h后添加二抗(1:3 000)室温孵育2 h, 用ImageJ软件对蛋白进行定量分析。

1.10 统计学分析

采用SPSS 21.0软件对数据进行统计分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较用独立样本 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

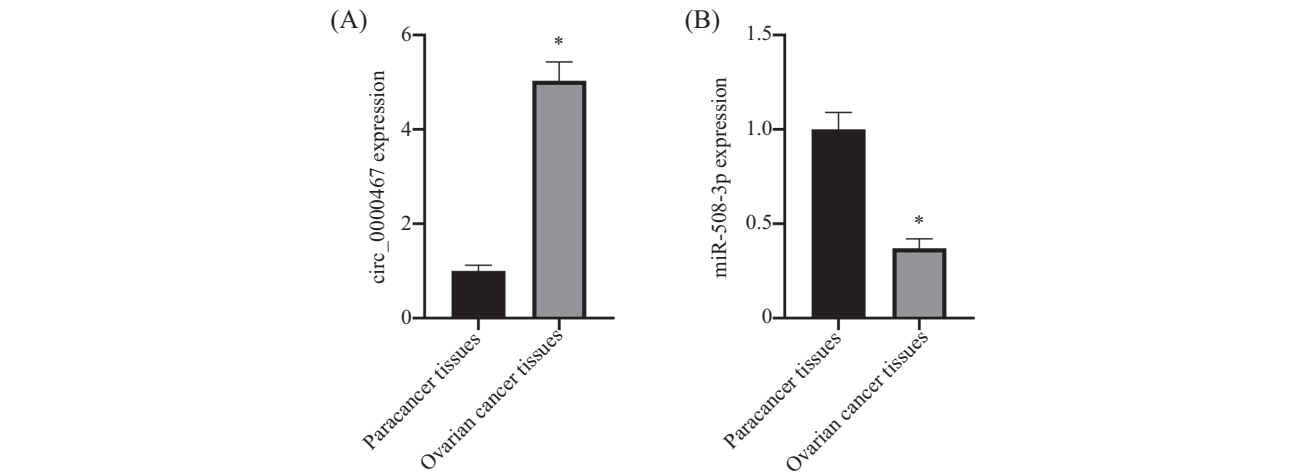
2.1 miR-508-3p和circ_0000467在卵巢癌组织和细胞系中的表达情况

与癌旁组织相比较, circ_0000467表达量在卵

巢癌组织中增加($P<0.05$), miR-508-3p表达量降低($P<0.05$, 图1)。将37例卵巢癌患者根据circ_0000467和miR-508-3p表达水平的均值分为低表达和高表达。通过分析 circ_0000467和miR-508-3p表达与卵巢癌患者临床病理特征之间的相关性发现, circ_0000467和miR-508-3p表达与卵巢癌患者FIGO分期和淋巴结转移相关($P<0.05$, 表1)。与IOSE80细胞比较, A2780、OVCAR3、SKOV3细胞中

circ_0000467表达水平升高($P<0.05$), miR-508-3p表达水平下降($P<0.05$), 且与A2780、OVCAR3细胞相比, SKOV3细胞中circ_0000467表达水平最高, miR-508-3p表达水平最低, 故选择SKOV3细胞进行功能验证实验(表2)。

2.2 干扰circ_0000467对SKOV3细胞增殖的影响
si-circ_0000467组与si-NC组比较, circ_0000467表达水平、*D*值、细胞克隆形成数均下降($P<0.05$,



A: circ_0000467在卵巢癌组织中的表达情况; B: miR-508-3p在卵巢癌组织中的表达情况; * $P<0.05$, 与癌旁组织相比。
A: expression of circ_0000467 in ovarian cancer tissues; B: expression of miR-508-3p in ovarian cancer tissues; * $P<0.05$ compared with paracancer tissues.

图1 circ_0000467和miR-508-3p在卵巢癌组织中的表达情况
Fig.1 Expression of circ_0000467 and miR-508-3p in ovarian cancer tissues

表1 circ_0000467与miR-508-3p表达与卵巢癌患者临床病理特征的相关性
Table 1 Correlation between circ_0000467 and miR-508-3p expression and clinicopathological features in ovarian cancer patients

特征 Characteristics	n=37	circ_0000467表达 circ_0000467 expression				miR-508-3p表达 miR-508-3p expression			
		High (n=17)	Low (n=20)	χ^2	P	High (n=18)	Low (n=19)	χ^2	P
Age /years									
<55	15	9	6	1.167	0.280	9	6	0.069	0.792
≥55	22	8	14			11	11		
Tumor diameter /cm									
>5	25	13	12	0.510	0.475	12	13	0.056	0.812
≤5	12	4	8			6	6		
Histological type									
I	11	13	12	0.510	0.475	6	5	0.011	0.915
II-III	26	4	8			12	14		
FIGO stage									
I-II	17	3	14	8.143	0.004	4	13	6.192	0.013
III	20	14	6			14	6		
Lymph node metastasis									
No	20	5	15	5.964	0.015	3	17	12.222	<0.001
Yes	17	12	5			15	5		
CA125 /U·mL ⁻¹									
>200	26	15	11	3.398	0.065	13	13	0.011	0.915
≤200	11	2	9			5	6		

图2)。这表明干扰 circ_0000467可抑制 SKOV3 细胞增殖。

2.3 沉默 circ_0000467 对 SKOV3 细胞侵袭、迁移的影响

si-circ_0000467 组与 si-NC 组比较, E-cadherin 表

达水平增加 ($P < 0.05$), 划痕愈合率、N-cadherin 表达水平、侵袭细胞数下降 ($P < 0.05$, 图 2)。这表明干扰 circ_0000467 可抑制 SKOV3 细胞侵袭和迁移。

2.4 circ_0000467 靶向 miR-508-3p

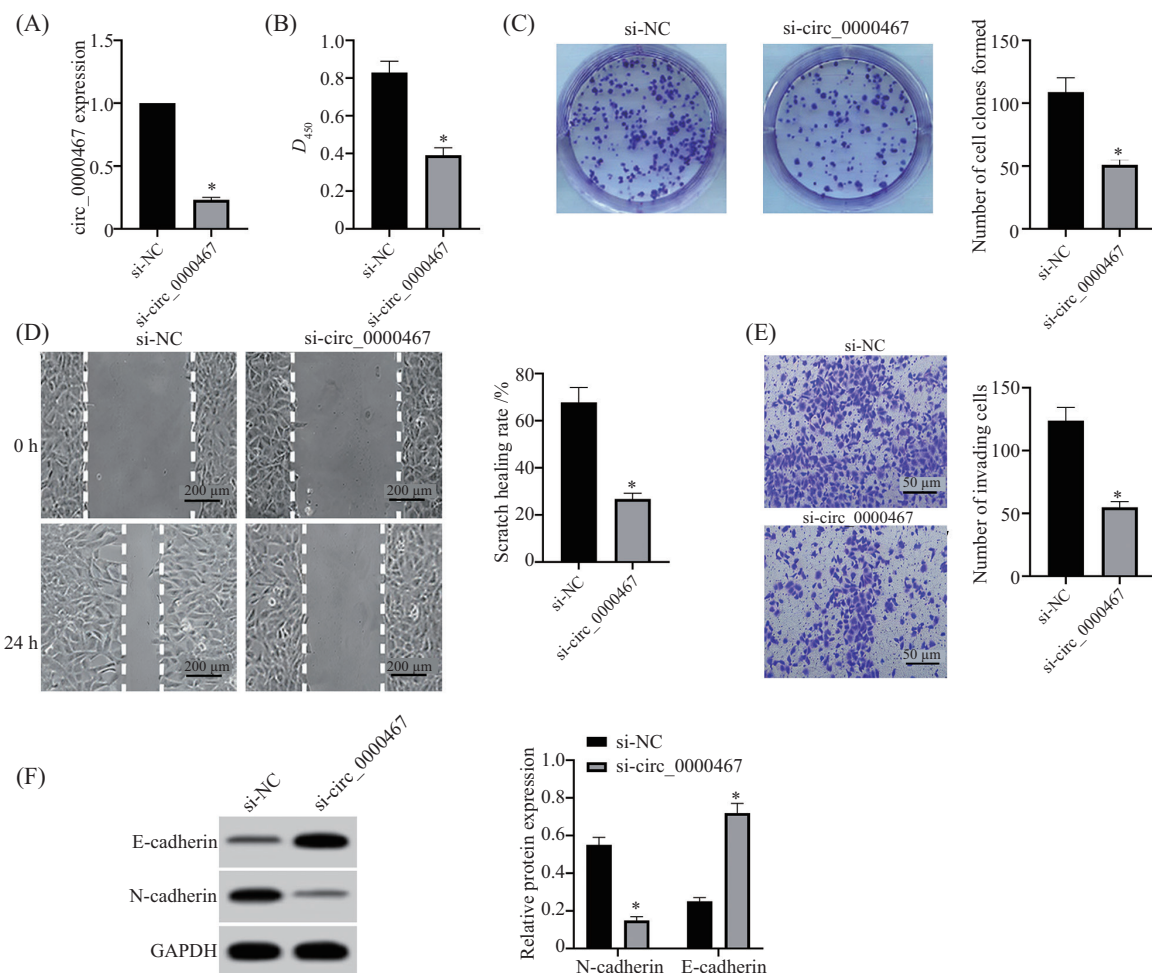
circ_0000467 与 miR-508-3p 的作用位点见图

表2 circ_0000467 和 miR-508-3p 在卵巢癌细胞系中的表达情况
Table 2 Expression of circ_0000467 and miR-508-3p in ovarian cancer cells

细胞系 Cells	circ_0000467	miR-508-3p
IOSE80	1.00±0.13	1.00±0.08
A2780	2.14±0.26*	0.60±0.06*
OVCAR3	2.67±0.35*	0.43±0.04*
SKOV3	3.25±0.47*	0.21±0.03*

* $P < 0.05$, 与 IOSE80 细胞相比。

* $P < 0.05$ compared with IOSE80 cells.

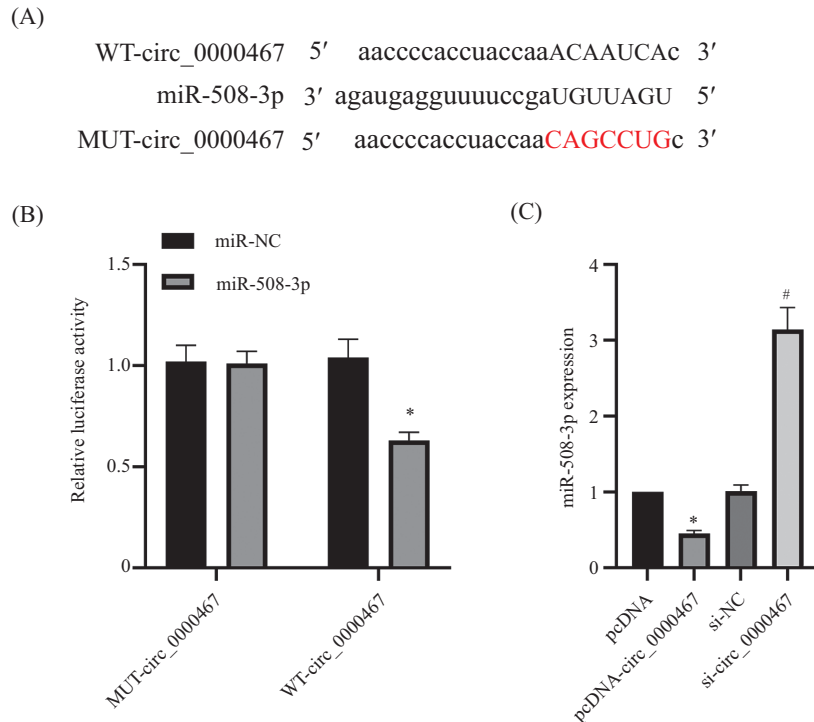


A: circ_0000467 在 SKOV3 细胞中的表达; B: SKOV3 细胞 D_{480} 值; C: SKOV3 细胞克隆形成数; D: SKOV3 细胞划痕愈合率; E: 侵袭 SKOV3 细胞数; F: E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达情况; * $P < 0.05$, 与 si-NC 组相比。

A: expression of circ_0000467 in SKOV3 cells; B: D value in SKOV3 cells; C: number of SKOV3 cell clones formed; D: SKOV3 cell scratch healing rate; E: number of invading SKOV3 cells; F: expression of E-cadherin and N-cadherin proteins; * $P < 0.05$ compared with si-NC group.

图2 干扰 circ_0000467 表达对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、迁移、侵袭的影响

Fig.2 Effects of interference with circ_0000467 expression on proliferation, migration, invasion of SKOV3 cells in ovarian cancer



A: miR-508-3p和circ_0000467互补的核苷酸序列, 红色为突变碱基; B: 双荧光素酶报告实验检测各组细胞相对荧光素酶活性; C: 过表达或抑制circ_0000467后miR-508-3p表达变化; * $P<0.05$, 与miR-NC组或pcDNA组相比; # $P<0.05$, 与si-NC组相比。

A: complementary nucleotide sequence of miR-508-3p and circ_0000467, red is the mutant bases; B: double luciferase reporting assay was used to detect the relative luciferase activity of cells in each group. C: expression changes of miR-508-3p after overexpression or inhibition of circ_0000467; * $P<0.05$ compared with miR-NC group; # $P<0.05$ compared with si-NC group.

图3 circ_0000467靶向miR-508-3p
Fig.3 circ_0000467 targets miR-508-3p

3A。miR-508-3p组与miR-NC组比较, 转染WT-circ_0000467的SKOV3细胞的荧光素酶活性下降($P<0.05$, 图3B)。circ_0000467过表达可抑制miR-508-3p表达($P<0.05$), 而抑制circ_0000467表达可促进miR-508-3p的表达($P<0.05$, 图3C)。这表明circ_0000467在SKOV3细胞中直接靶向下调miR-508-3p。

2.5 miR-508-3p过表达对SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移的影响

图4显示, miR-508-3p组与miR-NC组比较, D 值、划痕愈合率、N-cadherin表达水平、细胞克隆形成数、侵袭细胞数下降($P<0.05$), miR-508-3p、E-cadherin表达水平增高($P<0.05$)。这表明miR-508-3p过表达抑制SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移。

2.6 低表达miR-508-3p部分恢复了敲低circ_0000467对SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移的抑制作用

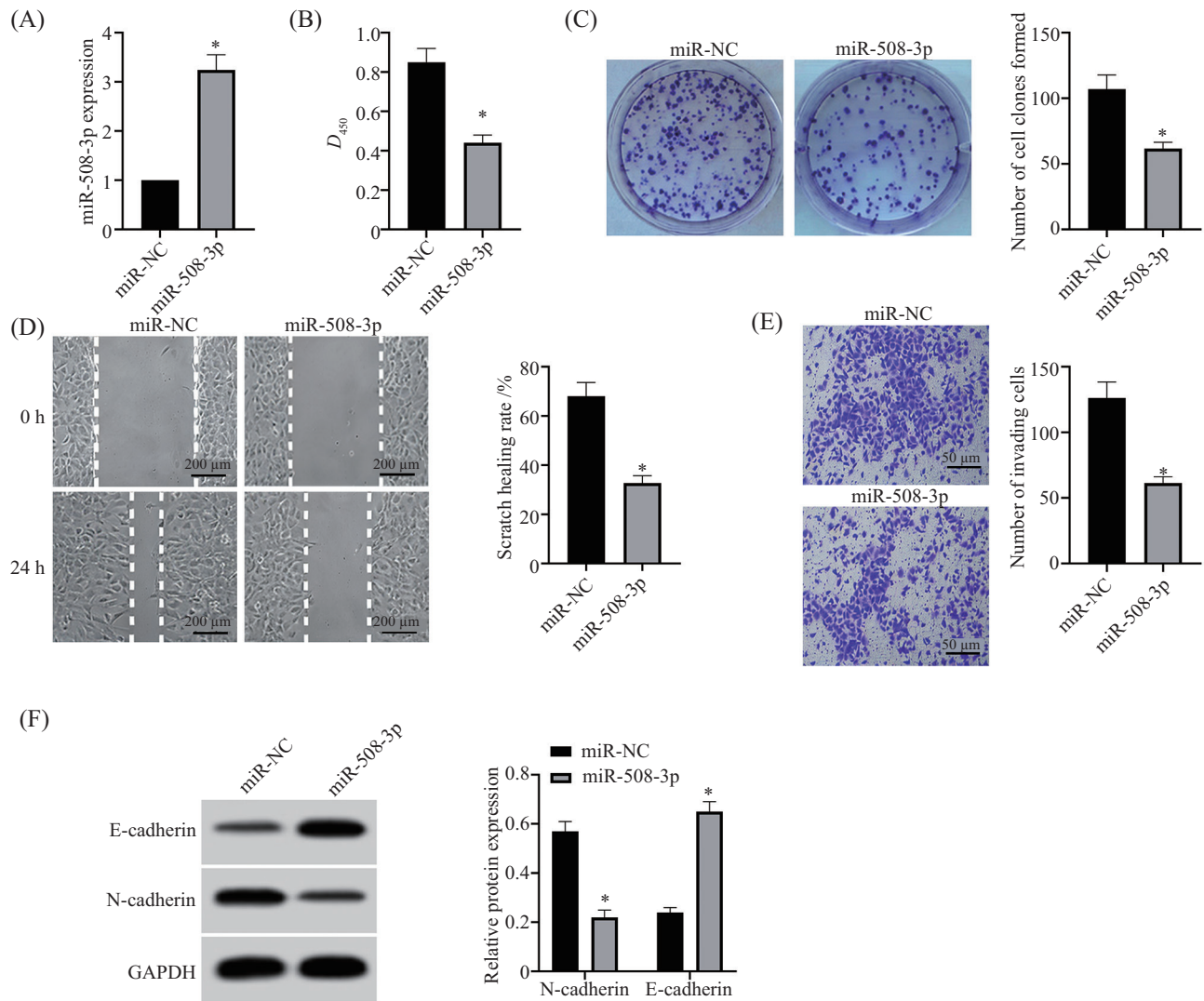
图5显示, si-circ_0000467+anti-miR-508-3p组与si-circ_0000467+anti-miR-NC组比较, D 值、划痕愈合率、细胞克隆形成数、侵袭细胞数、N-cadherin表达水平

升高($P<0.05$), miR-508-3p表达水平、E-cadherin表达水平下降($P<0.05$)。这表明敲低circ_0000467通过靶向miR-508-3p抑制SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移。

3 讨论

circRNA主要由外显子环化形成, 部分由内含子环化形成, circRNA主要位于细胞质内, 其可通过海绵miRNA调控下游基因表达, 进而影响卵巢癌的疾病进展^[5]。circRNA在卵巢癌中异常表达, 可通过miRNA/mRNA轴调节卵巢癌细胞的恶性生物学行为^[6]。

结直肠癌组织和细胞中circ_0000467表达水平升高, 其表达沉默后, 结直肠癌细胞凋亡被促进, 增殖和转移被抑制^[7-8]。胃癌组织和细胞中circ_0000467呈高表达^[9]。而circ_0000467在卵巢癌中的表达及其对卵巢癌细胞生物学行为的影响尚未可知。本研究结果显示, 在卵巢癌组织中circ_0000467表达量增加, 干扰circ_0000467可降低卵巢癌细胞活力和细胞克隆形成数, 表明干扰circ_0000467表达能够降低卵巢癌细胞



A: miR-508-3p在SKOV3细胞中的表达情况; B: SKOV3细胞 D_{450} 值; C: SKOV3细胞形成的克隆数; D: SKOV3细胞划痕愈合率; E: 侵袭SKOV3细胞数; F: E-cadherin、N-cadherin蛋白表达; * $P < 0.05$, 与miR-NC组比较。

A: expression of miR-508-3p in SKOV3 cells; B: D_{450} value of SKOV3 cells; C: number of clones formed by SKOV3 cells; D: scratch healing rate of SKOV3 cells; E: the number of invading SKOV3 cells; F: expression of E-cadherin and N-cadherin proteins; * $P < 0.05$ compared with miR-NC group.

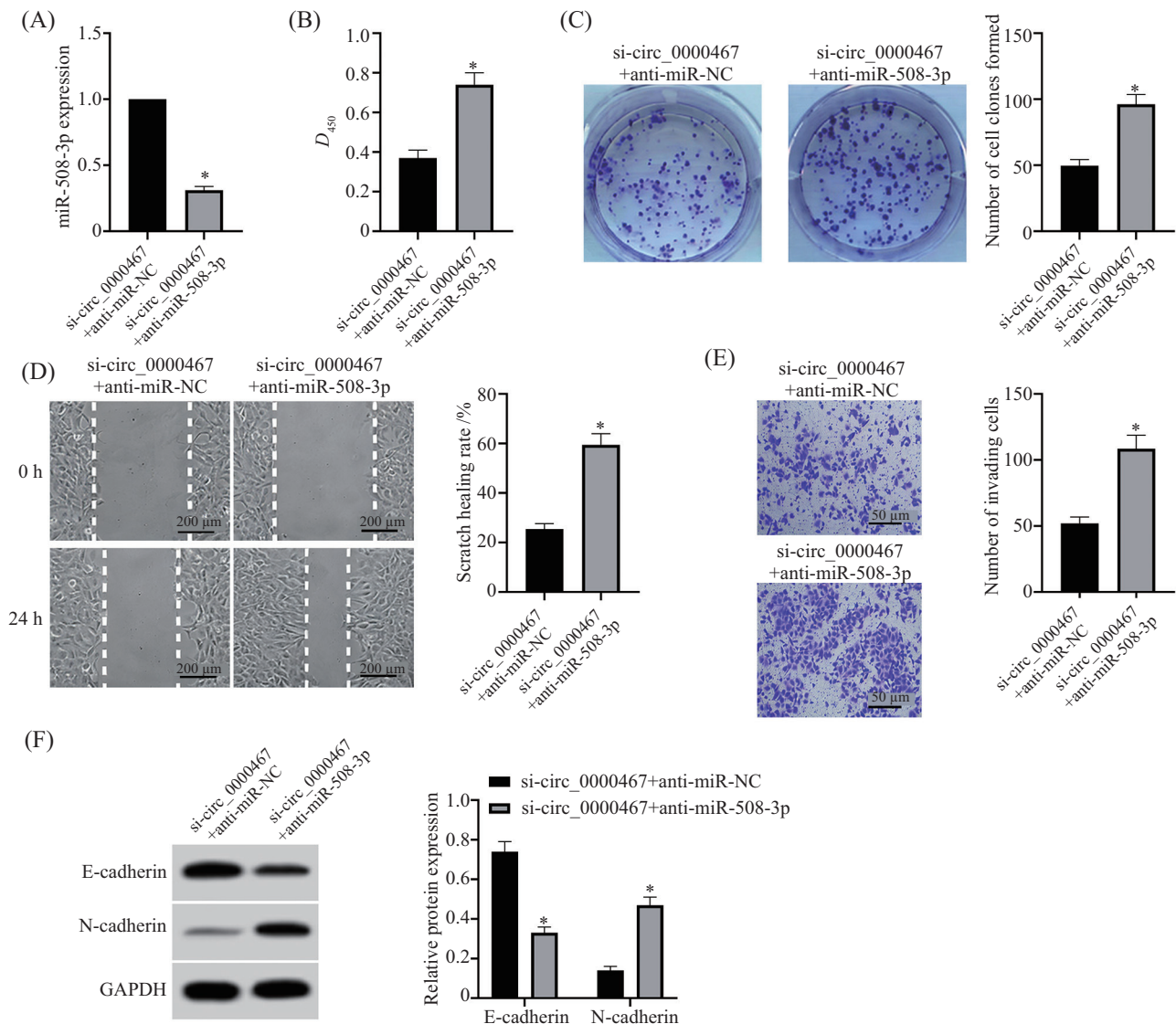
图4 miR-508-3p上调对SKOV3细胞增殖、侵袭、迁移的影响

Fig.4 Effects of up-regulation of miR-508-3p on proliferation, invasion and migration of SKOV3 cells

的增殖和克隆形成能力。上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与细胞迁移侵袭能力相关, N-cadherin是间充质细胞标志物之一, E-cadherin是上皮细胞标志物之一, 二者表达失调与EMT转化密切相关^[10]。本实验发现, 干扰circ_0000467后卵巢癌侵袭细胞数、划痕愈合率、N-cadherin表达水平下降, E-cadherin表达水平增加, 表明干扰circ_0000467可降低卵巢癌细胞的迁移、侵袭能力。

miR-508-3p在三阴性乳腺癌组织和细胞中表达水平降低^[11]。miR-508-3p在头颈部鳞状细胞癌、肺癌细胞中低表达, 其过表达可阻滞细胞增殖和

转移^[12-13]。近期研究显示, miR-508-3p与卵巢癌细胞紫杉醇耐药性相关, 其过表达降低紫杉醇耐药卵巢癌细胞的增殖活力^[14]。这表明miR-508-3p在肿瘤发生及发展过程中可能发挥抑癌基因作用。本实验中, miR-508-3p在卵巢癌组织中下调表达, 其过表达可抑制SKOV3细胞增殖、侵袭和迁移, 且在SKOV3细胞中circ_0000467直接靶向并负调控miR-508-3p, 提示circ_0000467可能通过靶向结合miR-508-3p而在卵巢癌发生及发展过程中发挥促癌基因作用。同时, 本研究结果显示下调miR-508-3p可挽救circ_0000467干扰对卵巢癌细胞迁



A: miR-508-3p在SKOV3细胞中的表达情况; B: SKOV3细胞 D_{450} 值; C: SKOV3细胞形成的克隆数; D: SKOV3细胞划痕愈合率; E: 侵袭SKOV3细胞数; F: E-cadherin、N-cadherin蛋白表达; * $P < 0.05$, 与si-circ_0000467+anti-miR-NC组相比。

A: expression of miR-508-3p in SKOV3 cells; B: D value of SKOV3 cells; C: number of clones formed by SKOV3 cells; D: scratch healing rate of SKOV3 cells; E: the number of invading SKOV3 cells; F: expression of E-cadherin and N-cadherin proteins; * $P < 0.05$ compared with si-circ_0000467+anti-miR-NC group.

图5 下调miR-508-3p可部分恢复干扰circ_0000467表达对卵巢癌SKOV3细胞增殖、迁移、侵袭的影响

Fig.5 Down-regulation of miR-508-3p can partially restore the effects of interfering circ_0000467 expression on the proliferation, migration and invasion of ovarian cancer SKOV3 cells

移、侵袭及增殖的影响。这提示 circ_0000467 可通过上调 miR-508-3p 表达加速卵巢癌细胞的生长及转移。

综上, circ_0000467 在卵巢癌组织中高表达, 干扰 circ_0000467 可阻滞卵巢癌细胞迁移、侵袭、增殖, 其可能是通过上调 miR-508-3p 实现的, 为卵巢癌的分子靶向治疗提供了实验基础。但 circ_0000467 对卵巢癌细胞进展的影响是否与其他 miRNA 有关还需继续探究。

参考文献 (References)

- [1] ZONG Z H, DU Y P, GUAN X, et al. CircWHSC1 promotes ovarian cancer progression by regulating MUC1 and hTERT through sponging miR-145 and miR-1182 [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 437-47.
- [2] LYU M, LI X, SHEN Y, et al. CircATRNL1 and circZNF608 inhibit ovarian cancer by sequestering miR-152-5p and encoding protein [J]. Front Genet, 2022, 13: 784089-99.
- [3] MO W L, JIANG J T, ZHANG L, et al. Circular RNA hsa_circ_0000467 promotes the development of gastric cancer by competitively binding to microRNA miR-326-3p [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020(1): 1-12.

- [4] GUO F, ZHANG K, LI M, et al. miR-508-3p suppresses the development of ovarian carcinoma by targeting CCNA2 and MMP7 [J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(1): 264-76.
- [5] SUN Y, CHEN X, SHI Y, et al. hsa_circ_0020093 suppresses ovarian cancer progression by modulating LRPPRC activity and miR-107/LATS2 signaling [J]. *Biol Direct*, 2024, 19(1): 69.
- [6] ZHANG M, SUN Y, XU H, et al. Circular RNA hsa_circ_0007444 inhibits ovarian cancer progression through miR-23a-3p/DICER1 axis [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2023, 55(4): 574-86.
- [7] JIANG X, PENG M, LIU Q, et al. Circular RNA hsa_circ_0000467 promotes colorectal cancer progression by promoting eIF4A3-mediated c-Myc translation [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 151.
- [8] XIE L, PAN Z. Circular RNA circ_0000467 regulates colorectal cancer development via miR-382-5p/EN2 axis [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 886-97.
- [9] TAN S, HU L, LEI R, et al. Circ_0000467 regulates proliferation, migration, invasion, and apoptosis in gastric cancer by targeting the miR-622/ROCK2 axis [J]. *Histol Histopathol*, 2023, 38(2): 185-97.
- [10] 刘光涛, 张玉琳, 赵海娇. 缬草酸对口腔癌KB细胞恶性生物学行为的影响及其机制研究[J]. *解剖科学进展*(LIU G T, ZHANG Y L, ZHAO H J. The effect and mechanism of valeric acid on the malignant biological behavior of oral cancer KB cells [J]. *Prog Anat Sci*), 2023, 29(6): 647-50.
- [11] LIU Y, LIU Y, LUO J, et al. Hsa_circ_0002082 up-regulates Centromere Protein F via abolishing miR-508-3p to promote breast cancer progression [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(11): e24697.
- [12] CUI D, LI Z, WEI C, et al. Long non-coding RNA LINC00491 accelerates head and neck squamous cell carcinoma progression through regulating miR-508-3p/SATB1 axis and activating Wnt signaling pathway [J]. *Cytokine*, 2024, 175: 156444.
- [13] CHEN X, FENG C, ZHA J, et al. MicroRNA-508-3p regulates the proliferation of human lung cancer cells by targeting G1 to S phase transition 1 (GSPT1) protein [J]. *Acta Biochim Pol*, 2023, 70(4): 835-41.
- [14] HUANG C, QIN L, CHEN S, et al. CircSETDB1 contributes to paclitaxel resistance of ovarian cancer cells by sponging miR-508-3p and regulating ABCC1 expression [J]. *Anticancer Drugs*, 2023, 34(3): 395-404.