

网络出版时间:2022-8-16 14:46 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220816.0832.014.html

下调 lncRNA SPINT1-AS1 通过靶向 miR-211-5p 对卵巢癌细胞生长和侵袭的影响

曾友玲, 张清, 曾洁, 王欢, 侯俐

摘要 目的 探讨长链非编码 RNA (lncRNA) SPINT1-AS1 对卵巢癌细胞生长和侵袭的影响及分子机制。方法 GEPIA 数据库分析卵巢癌组织和正常组织中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达。荧光实时定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 方法测定卵巢癌细胞系 SKOV-3、A2780、OC3、HO-8910 和永生化卵巢上皮细胞系 IOSE80 中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达。将 SKOV-3 细胞分为 si-SPINT1-AS1 组 (转染 lncRNA SPINT1-AS1 siRNA) 和 si-NC 组 (转染 siRNA control)。MTT 法和 Transwell 小室实验测定下调 lncRNA SPINT1-AS1 对 SKOV-3 细胞增殖活性和侵袭的影响。Western blot 检测增殖表型蛋白 (PCNA、CyclinD1) 和转移表型蛋白 (MMP2、MMP9) 的表达。采用双荧光素酶报告系统鉴定 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 的靶向关系。qRT-PCR 检测下调 lncRNA SPINT1-AS1 对 miR-211-5p 表达的影响。结果 与正常组织比较, 卵巢癌组织中 lncRNA SPINT1-AS1 表达水平升高 ($P < 0.01$)。与 IOSE80 细胞比较, 卵巢癌细胞系 SKOV-3、A2780、OC3、HO-8910 中 lncRNA SPINT1-AS1 表达水平升高 ($P < 0.05$), SKOV-3 细胞中 lncRNA SPINT1-AS1 表达水平最高 ($P < 0.01$)。与 si-NC 组比较, si-SPINT1-AS1 组 SKOV-3 细胞吸光度降低 ($P < 0.05$), 侵袭细胞数降低 ($P < 0.05$), 增殖表型蛋白 PCNA、CyclinD1 表达降低 ($P < 0.01$), 转移表型蛋白 MMP2、MMP9 表达降低 ($P < 0.01$)。lncRNA SPINT1-AS1 能够与 miR-211-5p 直接结合 ($P < 0.01$)。与 si-NC 组比较, si-SPINT1-AS1 组 SKOV-3 细胞中 miR-211-5p 表达水平升高 ($P < 0.01$)。结论 卵巢癌组织和细胞系中 lncRNA SPINT1-AS1 表达升高, 下调 lncRNA SPINT1-AS1 通过靶向上调 miR-211-5p 能够抑制卵巢癌 SKOV-3 细胞的增殖和侵袭。

关键词 卵巢癌; SPINT1-AS1; 细胞增殖; 细胞侵袭; miR-211-5p

中图分类号 R 737.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)09-1419-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.09.015

2021-11-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81802595)

作者单位:华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院(武汉市妇幼保健院)妇科, 武汉 433015

作者简介:曾友玲, 女, 副主任医师;

侯俐, 女, 副主任医师, 责任作者, E-mail: hlwhetty2015@163.com

卵巢癌是世界范围内最常见的生殖系统肿瘤之一, 恶性程度较高^[1-2]。卵巢癌的治疗在近十几年中得到较大的发展, 然而多数患者的预后仍不能满足临床需求^[3]。高度的增殖性和侵袭性是卵巢癌预后较差的重要原因之一^[4]。探讨卵巢癌生长和转移的分子发生机制, 是卵巢癌有效分子治疗靶点研究的重要方向。长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 是细胞内具有重要功能的单链 RNA 分子, 其广泛参与众多疾病的进展^[5-6]。近年的研究^[7-9]证实, 卵巢癌组织中存在 lncRNA 的异常表达, 其表达水平与卵巢癌的耐药性、放疗敏感性密切相关。lncRNA 在卵巢癌中的功能引起了研究们的广泛关注。lncRNA SPINT1-AS1 是目前发现的在恶性肿瘤中高表达的 lncRNA, 沉默 lncRNA SPINT1-AS1 的表达具有抑制细胞恶性侵袭和生长的作用^[10-12]。该研究通过 DIANA TOOLS 数据库发现 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 可能互为靶向关系。miR-211-5p 是一个在卵巢癌中表达下调的抑癌基因, 恢复其表达可抑制卵巢癌的生长和进展^[13]。该研究通过检测卵巢癌组织和细胞系中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达, 旨在探究下调 lncRNA SPINT1-AS1 对卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖和侵袭的影响, 验证 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌细胞中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与试剂 永生化卵巢上皮细胞 IOSE80、卵巢癌细胞系 (SKOV-3、A2780、OC3、HO-8910) 均购自中国科学院上海细胞库。Lipofectamine 3000 转染试剂购自美国 Thermo Fisher 公司。胎牛血清和细胞培养基均购自美国 Hyclone 公司。lncRNA SPINT1-AS1 siRNA (CAGGATCGAAGAGGGCGCA)、mimics control、miR-211-5p mimics、siRNA control 均由武汉巴菲尔生物技术服务公司构建。荧光素酶报告载体 SPINT1-AS1 野生型 (WT)、SPINT1-AS1 突变型 (MUT) 载体由上海剑钝生物科

技有限公司构建。MTT 试剂盒和 Transwell 小室购自大连美仑生物技术有限公司。山羊抗兔一抗 β -Tubulin、PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9 均购自美国 Abcam 公司 (ab18207、ab29、ab16663、ab92536、ab76003)。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学方法 通过 GEPIA 数据库分析卵巢癌组织和正常组织中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达差异。通过 DIANA TOOLS 数据库对 lncRNA SPINT1-AS1 的靶基因进行预测。

1.2.2 细胞培养、分组与转染 将 OC3 细胞接种在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,将 SKOV-3、A2780、HO-8910、IOSE80 细胞接种在含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基。将对数生长期的 SKOV-3 细胞接种到 12 孔板,根据 Lipofectamine 3000 说明书将 lncRNA SPINT1-AS1 siRNA 或 siRNA control 分别转染至 SKOV-3 细胞中,命名为 si-SPINT1-AS1 组和 si-NC 组。转染 48 h 后,测定各组 SKOV-3 细胞中 lncRNA SPINT1-AS1 表达变化。

1.2.3 荧光实时定量聚合酶链反应 (fluorescence real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) 测定 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 表达

提取永生化卵巢上皮细胞 IOSE80、卵巢癌细胞系 (SKOV-3、A2780、OC3、HO-8910) 的总 RNA,逆转录反应得到 cDNA。配制 qRT-PCR 反应体系, GAPDH 作为 lncRNA SPINT1-AS1 表达量的参照, U6 作为 miR-211-5p 表达量的参照。引物的序列如下, GAPDH F: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', R: 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGT-3'; lncRNA SPINT1-AS1 F: 5'-GCCCTGGAGGATGAGAG-3', R: 5'-CAGATGCTGTTGGCTAAAGA-3'; U6 F: 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3', R: 5'-ACGCTTCACGAATTTGCCGT-3'; miR-211-5p F: 5'-CTCGAGTAACCGTATTGTTCCGCTCATGCCAGCA-3', R: 5'-GCGGCCGCCAGACCATGTGTC-CCATTTG-3'。利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 的相对表达水平。

1.2.4 MTT 方法检测 SKOV-3 细胞的增殖活性 将 SKOV-3 细胞按照 si-SPINT1-AS1 组 (转染 lncRNA SPINT1-AS1 siRNA) 和 si-NC 组 (转染 siRNA control) 的分组方法接种于 96 孔板,每孔 3 000 个细胞。于第 1、2、3、4、5 天,每孔加 25 μ l 的 MTT 试剂,在培养箱内结合 3 h。每孔加 125 μ l 的二甲基亚砷试剂,震荡 30 min,酶标仪测定每孔 SKOV-3 细胞在 450 nm 波长的吸光度 (A) 值,代表各组 SKOV-3 细

胞的增殖活性。

1.2.5 Transwell 小室实验检测 SKOV-3 细胞的侵袭能力 用无血清的培养基以 1:7 稀释基质胶,包被 Transwell 小室。用无血清的培养基重悬 si-SPINT1-AS1 组和 si-NC 组 SKOV-3 细胞,在 Transwell 底部加含 10% 血清的培养基,培养箱孵育 24 h。棉签擦出滤膜上层的细胞,用多聚甲醛固定 35 min,在结晶紫中染色 40 min。倒置显微镜下 (100 倍视野) 观察细胞,取 5 个视野,统计分析每组侵袭细胞数。

1.2.6 双荧光素酶报告基因实验分析 lncRNA SPINT1-AS1 对 miR-211-5p 的靶向作用 DIANA TOOLS 数据库预测发现 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 之间存在互补结合位点。把荧光素酶报告载体野生型 WT 以及突变型 MUT 分别和 mimics control、miR-211-5p mimics 共转染至 SKOV-3 细胞。常规培养 48 h,参照双荧光素酶测定试剂盒说明书测定各组 SKOV-3 细胞中荧光素酶的活性。

1.2.7 Western blot 检测 PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9 蛋白表达 提取 si-SPINT1-AS1 组和 si-NC 组 SKOV-3 细胞总蛋白,电泳仪电压为 120 V,电泳 100 min。转膜电压为 110 V,转膜 110 min。将硝酸纤维素膜在 6% 的牛血清白蛋白中封闭,保证非特异性结合位点全部封闭。将硝酸纤维素膜在含有 β -Tubulin、PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9 抗体稀释液 (均按 1:1 000 稀释) 的玻璃皿中结合 13 h。将硝酸纤维素膜在含有二抗稀释液的玻璃皿中结合 3 h。滴加化学发光液,显色和拍照,将 β -Tubulin 作为参照蛋白。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件统计实验数据,计量数据按照 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,两组间差异比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌组织中的表达

lncRNA SPINT1-AS1 由 250 个核苷酸组成,其结构示意图见图 1。GEPIA 数据库显示 (图 2), lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌组织中的表达水平高于正常组织 ($P < 0.01$)。

2.2 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌细胞中的表达

qRT-PCR 结果显示 (图 3), 与永生化卵巢上皮 IOSE80 细胞比较,卵巢癌细胞系 (SKOV-3、A2780、OC3、HO-8910) 中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达水平

升高($P < 0.05$), SKOV-3 细胞中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达水平最高($F = 20.46, P < 0.01$)。



图1 lncRNA SPINT1-AS1 的结构示意图

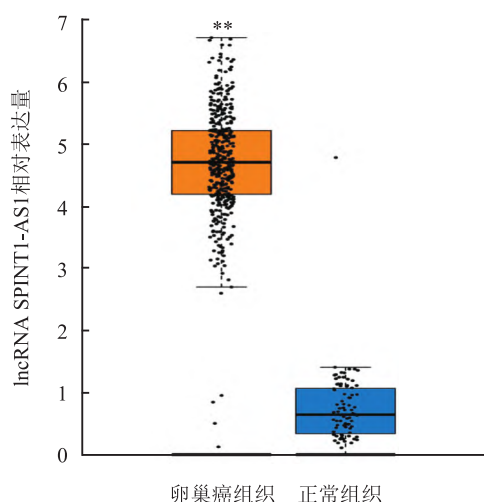


图2 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌组织和正常组织中的表达
与正常组织比较: ** $P < 0.01$

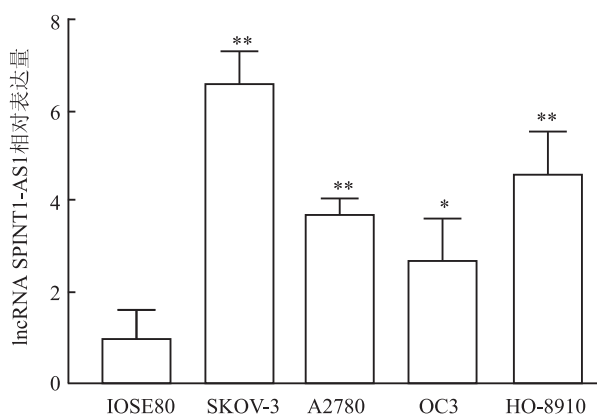


图3 lncRNA SPINT1-AS1 在永生化的卵巢上皮细胞和
卵巢癌细胞系中的表达
与 IOSE80 细胞比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3 两组 SKOV-3 细胞中 lncRNA SPINT1-AS1 的下调效率 qRT-PCR 结果显示, lncRNA SPINT1-AS1 在 si-SPINT1-AS1 组和 si-NC 组的 SKOV-3 细胞

中相对表达量分别为 (1.06 ± 0.36) 和 (6.38 ± 0.77) , si-SPINT1-AS1 可有效下调 SKOV-3 细胞中 lncRNA SPINT1-AS1 的表达($t = 6.24, P < 0.01$)。

2.4 下调 lncRNA SPINT1-AS1 表达对 SKOV-3 细胞增殖活性的影响 MTT 法检测显示(图4), 与 si-NC 组比较, si-SPINT1-AS1 组 SKOV-3 细胞接种 2 d 后, 吸光度降低($P < 0.05$), 下调 lncRNA SPINT1-AS1 抑制了 SKOV-3 细胞的增殖活性。

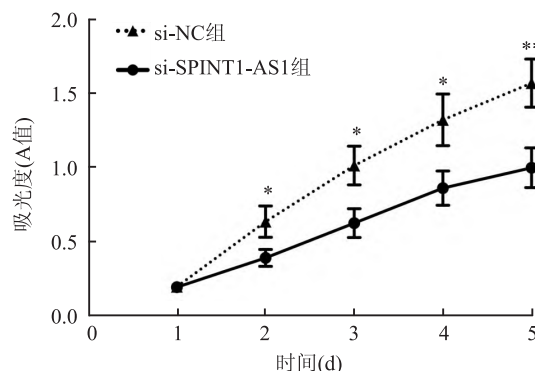


图4 下调 lncRNA SPINT1-AS1 表达对
SKOV-3 细胞增殖活性的影响
与 si-NC 组对应时间点比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 下调 lncRNA SPINT1-AS1 表达对 SKOV-3 细胞侵袭能力的影响 Transwell 小室实验显示(图5), si-NC 组侵袭细胞数 (113.90 ± 11.96) 个/视野明显多于 si-SPINT1-AS1 组侵袭细胞数 (44.27 ± 10.95) 个/视野($t = 4.30, P < 0.01$), 下调 lncRNA SPINT1-AS1 抑制了 SKOV-3 细胞的侵袭能力。

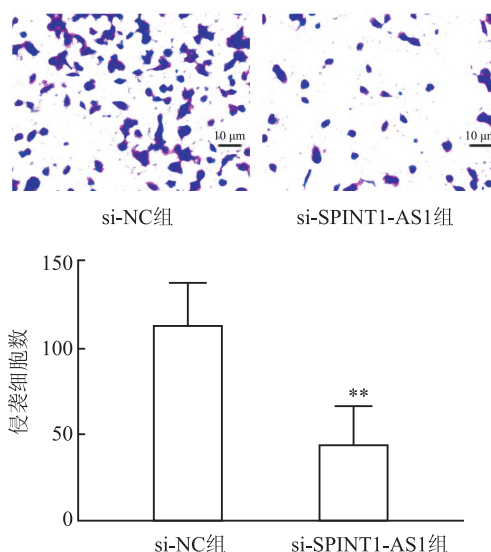


图5 下调 lncRNA SPINT1-AS1 对 SKOV-3 细胞侵袭能力的影响
与 si-NC 组比较: ** $P < 0.01$

2.6 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 互为靶向关系

DIANA TOOLS 数据库预测 lncRNA SPINT1-AS1 的靶向基因结果显示(图6), miR-211-5p 和 lncRNA SPINT1-AS1 存在互补结合位点。双荧光素酶报告系统鉴定显示(图7), 共转染 WT 与 miR-211-5p mimics 后荧光素酶活性较 WT 与 mimics control 明显降低($t = 6.36, P < 0.01$), 定点突变后, 共转染 MUT 与 miR-211-5p mimics 较 MUT 与 mimics control 荧光素酶活性无明显差异($t = 0.40, P = 0.71$), 表明 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 互为靶向关系。

SPINT1-AS1 5'...GAGACUCUAAAGGA~~AAAGGGAA~~...3' WT
 miR-211-5p 3'-UUCCUACUGUUUCCCUU-5'
 SPINT1-AS1 5'...GAGACUCUAAAGGAUUUCCCUU...3' MUT

图6 lncRNA SPINT1-AS1 互补结合 miR-211-5p 的序列区域

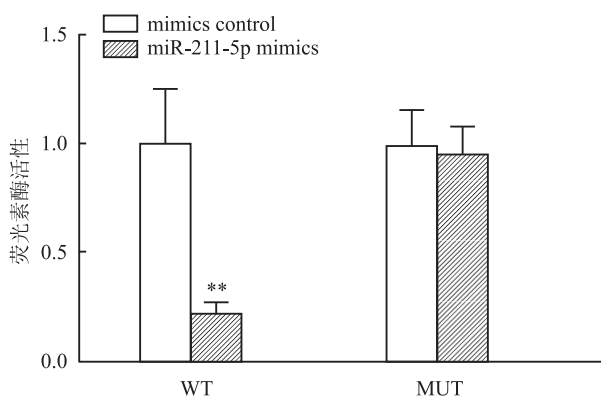


图7 双荧光素酶报告系统鉴定 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 互为靶向关系

与 mimics control 比较: ** $P < 0.01$

2.7 下调 lncRNA SPINT1-AS1 对 SKOV-3 细胞中 miR-211-5p 表达的情况 qRT-PCR 结果显示, si-NC 组 SKOV-3 细胞中 miR-211-5p 相对表达量(1.03 ± 0.43)明显低于 si-SPINT1-AS1 组相对表达量(5.33 ± 0.69), 下调 lncRNA SPINT1-AS1 能够增加 miR-211-5p 的表达($t = 5.27, P < 0.01$)。

2.8 下调 lncRNA SPINT1-AS1 的 SKOV-3 细胞中 PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9 蛋白的表达 Western blot 检测发现(图8), 下调 lncRNA SPINT1-AS1 后, 增殖表型蛋白 PCNA、CyclinD1 表达水平降低, 转移表型蛋白 MMP2、MMP9 表达水平降低。

3 讨论

lncRNA 是一种在人体细胞中发挥广泛调节功

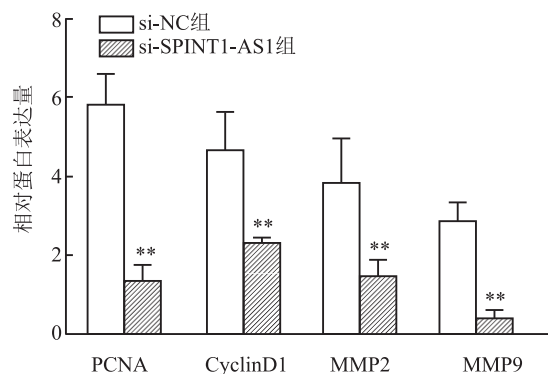
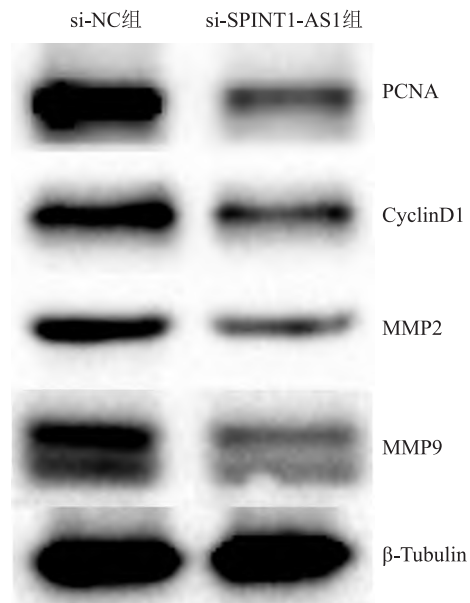


图8 下调 lncRNA SPINT1-AS1 对 SKOV-3 细胞 PCNA、CyclinD1、MMP2、MMP9 蛋白表达的影响
与 si-NC 组比较: ** $P < 0.01$

能的内源性 RNA, 与消化系统疾病、内分泌系统疾病、生殖系统疾病等密切相关^[14-16]。lncRNA 与卵巢癌的发病有关, TTN-AS1^[17] 等 lncRNA 能够有效减少卵巢癌细胞的数量, 阻碍卵巢癌的进展。MCM3AP-AS1^[18]、LINC00176^[19] 等 lncRNA 能够延缓卵巢癌细胞的凋亡, 增强卵巢癌细胞抵御化疗药物的杀伤作用。lncRNA SPINT1-AS1 是近年来新发现的与肿瘤发生相关的 lncRNA。Zhou et al^[10] 研究发现, lncRNA SPINT1-AS1 在乳腺癌患者血清和乳腺癌细胞系中上调, lncRNA SPINT1-AS1 敲低后乳腺癌细胞的增殖和迁移能力降低, 其可能通过结合 let-7 促进乳腺癌进展。Li et al^[12] 研究发现, lncRNA SPINT1-AS1 在结直肠癌组织中高表达, 其与区域淋巴结转移、远处转移和较短的无复发生存时间相关, lncRNA SPINT1-AS1 是结直肠癌患者的独立预后因素, 同时在手术切除后的 lncRNA SPINT1-AS1 患者

血清外泌体中观察到 lncRNA SPINT1-AS1 表达水平降低。lncRNA SPINT1-AS1 是一种肿瘤促进因子。

本研究结果显示, lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌组织中的表达水平高于正常组织, 在卵巢癌细胞系中的表达水平高于正常卵巢上皮细胞, 表明 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌中可能发挥促癌功能, 与上述的研究报道一致。本研究在 SKOV-3 细胞中转染 si-SPINT1-AS1 下调 lncRNA SPINT1-AS1 的表达水平, 发现下调 lncRNA SPINT1-AS1 后 SKOV-3 细胞增殖活性和侵袭能力降低, 同时 SKOV-3 细胞增殖表型蛋白 PCNA、CyclinD1 表达水平降低, SKOV-3 细胞转移表型蛋白 MMP2、MMP9 表达水平降低, 提示下调 lncRNA SPINT1-AS1 具有改善卵巢癌恶性增殖和侵袭的作用。

lncRNA 发挥调节作用的方式是通过与微小 RNA(miRNA) 以碱基互补配对的方式进行结合, 特异性下调 miRNA 的表达, 从而调节细胞的各方面功能^[5]。例如, SDHAP1 通过与 miR-4465 相互作用影响卵巢癌细胞对紫杉醇的抗性^[7]。本研究通过 DIANA TOOLS 数据库预测 lncRNA SPINT1-AS1 和 miR-211-5p 可能互为靶向关系, 具有互补结合区域。miR-211-5p 在乳头状甲状腺癌、膀胱癌、口腔鳞状细胞癌等很多恶性肿瘤中低表达, 是一种肿瘤抑制因子^[20]。miR-211-5p 在卵巢癌中低表达, 上调 miR-211-5p 能够抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖、细胞周期和细胞转移, 促进 SKOV3 细胞凋亡, 同时降低卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药^[13]。本研究结果表明, lncRNA SPINT1-AS1 能够靶向结合 miR-211-5p, 且下调 lncRNA SPINT1-AS1 能够促进 miR-211-5p 的表达, 表明 lncRNA SPINT1-AS1 作用机制与 miR-211-5p 有关。

综上所述, lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌组织和细胞系中高表达, 下调 lncRNA SPINT1-AS1 可抑制卵巢癌 SKOV-3 细胞的增殖活性和侵袭能力, 其机制与靶向促进 miR-211-5p 表达有关。本研究为 lncRNA SPINT1-AS1 在卵巢癌靶向治疗的应用研究提供了参考。

参考文献

[1] Li X, Yu S, Yang R, et al. Identification of lncRNA-associated ceRNA network in high-grade serous ovarian cancer metastasis [J]. *Epigenomics*, 2020, 12(14):1175-91.

[2] Li M, Cai J, Han X, et al. Downregulation of circNRIP1 suppresses the paclitaxel resistance of ovarian cancer via regulating the miR-211-5p/HOXC8 axis [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12:9159-

71.

[3] Zhao H, Ding F, Zheng G. LncRNA TMPO-AS1 promotes LCN2 transcriptional activity and exerts oncogenic functions in ovarian cancer [J]. *Faseb J*, 2020, 34(9):11382-94.

[4] Zhan F L, Chen C F, Yao M Z. LncRNA TUG1 facilitates proliferation, invasion and stemness of ovarian cancer cell via miR-186-5p/ZEB1 axis [J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38(8):1069-78.

[5] Zhou S, Xu A, Song T, et al. LncRNA MIAT regulates cell growth, migration, and invasion through sponging miR-150-5p in ovarian cancer [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2020, 35(9):650-60.

[6] Lin X, Feng D, Li P, et al. LncRNA LINC00857 regulates the progression and glycolysis in ovarian cancer by modulating the Hippo signaling pathway [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(21):8122-32.

[7] Zhao H, Wang A, Zhang Z. LncRNA SDHAP1 confers paclitaxel resistance of ovarian cancer by regulating EIF4G2 expression via miR-4465 [J]. *J Biochem*, 2020, 168(2):171-81.

[8] Miao W, Lu T, Liu X, et al. LncRNA SNHG8 induces ovarian carcinoma cells cellular process and stemness through Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(4):459-71.

[9] Liu J, Hu H B, Liu Y M, et al. LncRNA HOTTIP promotes the proliferation and invasion of ovarian cancer cells by activating the MEK/ERK pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(5):3667-76.

[10] Zhou T, Lin K, Nie J, et al. LncRNA SPINT1-AS1 promotes breast cancer proliferation and metastasis by sponging let-7 a/b/i-5p [J]. *Pathol Res Pract*, 2021, 217:153268.

[11] Song H, Liu Y, Liang H, et al. SPINT1-AS1 drives cervical cancer progression via repressing miR-214 biogenesis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:691140.

[12] Li C, Li W, Zhang Y, et al. Increased expression of antisense lncRNA SPINT1-AS1 predicts a poor prognosis in colorectal cancer and is negatively correlated with its sense transcript [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:3969-78.

[13] 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.

[14] Yuan D, Zhang X, Zhao Y, et al. Role of lncRNA-ATB in ovarian cancer and its mechanisms of action [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(2):965-71.

[15] Xu Q, Lin Y B, Li L, et al. LncRNA TLR8-AS1 promotes metastasis and chemoresistance of ovarian cancer through enhancing TLR8 mRNA stability [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(4):857-64.

[16] Wang Y, Zhang M, Wang Z, et al. MYC-binding lncRNA EPIC1 promotes AKT-mTORC1 signaling and rapamycin resistance in breast and ovarian cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(10):1188-98.

[17] Miao S, Wang J, Xuan L, et al. LncRNA TTN-AS1 acts as sponge for miR-15b-5p to regulate FBXW7 expression in ovarian cancer [J]. *Biofactors*, 2020, 46(4):600-7.

[18] Wen J, Han S, Cui M, et al. Long non-coding RNA MCM3AP-AS1 drives ovarian cancer progression via the microRNA-143-3p/TAK1 axis [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(4):1375-84.

- [19] Dai L, Niu J, Feng Y. Knockdown of long non-coding RNA LINC00176 suppresses ovarian cancer progression by BCL3-mediated down-regulation of ceruloplasmin [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1):202–13.
- [20] Guo Y, Chen Y, Liu H, et al. Alpinetin inhibits oral squamous cell carcinoma proliferation via miR-211-5p upregulation and Notch pathway deactivation [J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72(5):757–67.

The effect of down-regulating lncRNA SPINT1-AS1 on the growth and invasion of ovarian cancer cells by targeting miR-211-5p

Zeng Youling, Zhang Qing, Zeng Jie, Wang Huan, Hou Li

[Dept of Gynecology, Wuhan Children's Hospital (Wuhan Maternal and Child Healthcare Hospital), Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 433015]

Abstract Objective To explore the effect of long-chain non-coding RNA (lncRNA) SPINT1-AS1 on the growth and invasion of ovarian cancer cells and the molecular mechanism. **Methods** The expression of lncRNA SPINT1-AS1 in ovarian cancer tissues and normal tissues was analyzed by GEPIA database. Fluorescence real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) method was used to determine the expression of lncRNA SPINT1-AS1 in ovarian cancer cell lines SKOV-3, A2780, OC3, HO-8910 and immortalized ovarian epithelial cell line IOSE80. The SKOV-3 cells were divided into si-SPINT1-AS1 group (transfected with lncRNA SPINT1-AS1 siRNA) and si-NC group (transfected with siRNA control). The effect of down-regulated lncRNA SPINT1-AS1 on the proliferation and invasion of SKOV-3 cells was determined by MTT method and Transwell chamber experiment. Western blot was used to detect the expression of proliferative phenotypic proteins (PCNA, CyclinD1) and metastatic phenotypic proteins (MMP2, MMP9). The dual luciferase reporter system was used to identify the targeting relationship between lncRNA SPINT1-AS1 and miR-211-5p. The effect of down-regulated lncRNA SPINT1-AS1 on the expression of miR-211-5p was detected by qRT-PCR. **Results** Compared with normal tissues, the expression level of lncRNA SPINT1-AS1 in ovarian cancer tissues was higher ($P < 0.01$). Compared with IOSE80 cells, the expression level of lncRNA SPINT1-AS1 in ovarian cancer cell lines SKOV-3, A2780, OC3, HO-8910 increased ($P < 0.05$), and the expression level of lncRNA SPINT1-AS1 in SKOV-3 cells was the highest ($P < 0.01$). Compared with the si-NC group, the absorbance of SKOV-3 cells in the si-SPINT1-AS1 group was reduced ($P < 0.05$), the number of invasive cells was reduced ($P < 0.05$), and the expression of proliferation phenotype proteins PCNA and CyclinD1 were reduced ($P < 0.01$), the expression of metastatic phenotypic proteins MMP2 and MMP9 was reduced ($P < 0.01$). lncRNA SPINT1-AS1 could directly bind to miR-211-5p ($P < 0.01$). Compared with the si-NC group, the expression level of miR-211-5p in SKOV-3 cells of the si-SPINT1-AS1 group increased ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of lncRNA SPINT1-AS1 in ovarian cancer tissues and cell lines increased. Down-regulation of lncRNA SPINT1-AS1 can inhibit the proliferation and invasion of ovarian cancer SKOV-3 cells by targeting up-regulation of miR-211-5p.

Key words ovarian cancer; SPINT1-AS1; cell proliferation; cell invasion; miR-211-5p