

• 基础研究 •

环状 RNA hsa-circ-0006361 对卵巢癌 SKOV3 细胞小鼠移植瘤生长的影响*

张颖, 严艺伟, 邓明新, 黄金智, 李宁, 张庆余[△]

524001 广东 湛江, 广东医科大学附属第一医院 妇产科(张颖、严艺伟、邓明新、黄金智、张庆余), 血液研究室(李宁)

[摘要] **目的:** 基于前期 RNA-seq 测序发现 hsa-circ-0006361 在卵巢癌中高表达, 为研究 hsa-circ-0006361 在上皮性卵巢癌发生发展中的作用, 我们研究了 hsa-circ-0006361 对人上皮性卵巢癌裸鼠移植瘤生长、裸鼠生存时间的影响。**方法:** 分离细胞核与细胞质后分别提取 RNA 进行 RT-qPCR 及琼脂糖凝胶电泳分析, 验证 hsa-circ-0006361 为环状 RNA 并确定其亚细胞定位。构建 hsa-circ-0006361 表达载体, 转染 SKOV3 卵巢癌细胞后通过 G418 筛选得到 hsa-circ-0006361 稳定表达及空载体 circ-vector298 卵巢癌细胞株。通过小鼠皮下注射上述卵巢癌细胞建立卵巢癌裸鼠移植瘤模型, 评价 hsa-circ-0006361 表达对卵巢癌细胞移植瘤生长及裸鼠存活时间的影响。**结果:** hsa-circ-0006361 是主要分布在细胞质的环状 RNA。hsa-circ-0006361 过表达细胞株组裸鼠皮下移植瘤生长与 circ-vector298 组相比, 从接种后第 12 天开始生长速度明显加快 ($P < 0.05$), 而 hsa-circ-0006361 实验组小鼠体重相比 circ-vector298 对照组, 第 9 天起体重明显更轻 ($P < 0.05$), 并且实验组小鼠存活时间明显缩短 ($P < 0.05$)。**结论:** hsa-circ-0006361 是主要分布在细胞浆的环状 RNA, 其在卵巢癌中高表达并促进卵巢癌小鼠移植瘤的生长与腹腔转移, 缩短荷瘤小鼠生存时间。

[关键词] hsa-circ-0006361; 人上皮性卵巢癌; SKOV3 细胞; 小鼠移植瘤模型

[中图分类号] R73-37; R737.31 **[文献标志码]** A **doi:** 10.3969/j.issn.1674-0904.2021.08.001

引文格式: Zhang Y, Yan YW, Deng MX, et al. Effect of hsa-circ-0006361 on SKOV3 xenograft mice model[J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(8): 689-695. [张颖, 严艺伟, 邓明新, 等. 环状 RNA hsa-circ-0006361 对卵巢癌 SKOV3 细胞小鼠移植瘤生长的影响[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(8): 689-695.]

Effect of Hsa-circ-0006361 on SKOV3 Xenograft Mice Model

Zhang Ying, Yan Yiwei, Deng Mingxin, Huang Jinzhi, Li Ning, Zhang Qingyu

Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, Guangdong, China (Zhang Ying, Yan Yiwei, Deng Mingxin, Huang Jinzhi, Zhang Qingyu); Department of Hematology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, Guangdong, China (Li Ning)

Corresponding author: Zhang Qingyu, E-mail: zqy0401@163.com

This study was supported by grants from Department of Science and Technology of Guangdong Province (No. 2017A030313559) and Zhanjiang Science and Technology Bureau (No. 2020A100302).

[Abstract] **Objective:** To study the role of hsa-circ-0006361 in the progress of epithelial ovarian cancer, we have studied the influence of hsa-circ-0006361 on the growth and survival of human epithelial ovarian cancer-transplanted naked rats based on the high expression of hsa-circ-0006361 in ovarian cancer. **Methods:** Nuclear/cytoplasmic fractionation and RT-qPCR were used to verify that hsa-circ-0006361 is a circular RNA and characterize its subcellular location. Hsa-circ-0006361 stably

expressed ovarian cancer cells and circ-vector298 ovarian cancer cells were obtained through selection with G418 after subcutaneous inoculation of SKOV3 in nude mice, and subsequently ovarian cancer xenograft model was established to evaluate the functions of hsa-circ-0006361 on the growth and

[收稿日期] 2021-03-29 **[修回日期]** 2021-06-15

[基金项目] * 广东省科技厅面上项目(编号:2017A030313559), 广东省湛江市科技局竞争性项目(编号:2020A100302)

[通讯作者] [△]张庆余, E-mail: zqy0401@163.com

metastasis of ovarian cancer. **Results:** Hsa-circ-0006361 was a circular RNA that is mainly distributed in the cytoplasm. The tumor volume in the hsa-circ-0006361 group since the 12th day of subcutaneous transplantation became bigger than that in the hsa-circ-vector298 group ($P < 0.05$); mice in the hsa-circ-0006361 group became significantly lighter than those in the circ-vector298 group since the 9th day of subcutaneous transplantation ($P < 0.05$); and the survival of mice in the former was significantly lower than that in the latter ($P < 0.05$). **Conclusion:** Hsa-circ-0006361 is a circular RNA mainly distributed in the cytoplasm, and can promote the growth of ovarian cancer in vivo and reduce the survival of nude mice.

[Key words] Hsa-circ-0006361; Human epithelial ovarian carcinoma; SKOV3 cell line; Xenograft mice model

卵巢癌在女性生殖系统肿瘤中发病率仅次于宫颈癌,致死率居妇科肿瘤首位^[1]。寻找新的生物标志物或治疗靶点有助于诊断并治疗卵巢癌患者,提高患者生存率。环状 RNA 是新发现的一类非编码 RNA,通过参与基因表达调控进而影响癌症进展^[2],然而环状 RNA 的生物学功能,尤其是其在肿瘤中的作用及机理,目前仍不清楚。

环状 RNA 是一类特殊的非编码环状 RNA 分子,与线性 RNA 相比环状 RNA 不易受 RNA 外切酶影响,表达更稳定^[3]。研究表明环状 RNA 的产生与 pre-mRNA 的选择性剪接有关,pre-mRNA 的上游剪接受体与下游剪接供体通过外显子跳读和内含子互补的方式缩小空间距离,以“反向剪接”的方式连接。环状 RNA 在多种肿瘤中异常表达,如肺癌过表达 circ-0013958^[4]、胃癌过表达 circ-001569^[5]、膀胱癌过表达 circ-0068871^[6]和 circ-BCRC4^[7]、甲状腺癌过表达 circ-NUP214^[8]、卵巢癌过表达 circ-001567^[9]等。环状 RNA 可以充当 miRNA 的海绵调控基因表达,参与调控 NF- κ B^[10]、PI3K/AKT^[11]、TGF- β ^[12]、JAK-STAT^[13]等信号通路,从而影响肿瘤的发生发展。研究表明卵巢癌中 circ-61140 通过吸附 miR-370 从而抑制 miR-370 负向调控其下游基因^[14];卵巢癌表达的 circ-ITCH 同样可以通过海绵效应抑制 miR-145 参与卵巢癌进展^[15]。因此,环状 RNA 与卵巢癌关系密切,有必要深入研究环状 RNA 在卵巢癌发生发展中的作用。

本课题组前期采用 RNA-seq 筛选发现上皮性卵巢癌组织中和正常对照卵巢组织中差异表达环状 RNA 分子,发现一个新环状 RNA hsa-circ-0006361 在卵巢癌组相比于对照组表达明显升高。为确证 hsa-circ-0006361 在上皮性卵巢癌发生发展中的作用,本研究利用小鼠移植瘤实验观察 hsa-circ-0006361 对上皮性卵巢癌移植瘤生长的影响,揭示环状 RNA 在卵巢癌中进展中的作用,为基于环状 RNA 卵巢癌的诊断与治疗提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人上皮性卵巢癌细胞株 SKOV3 从中国科学院上海生命科学院研究院申请获得,由广东医科大学附属第一医院中心实验室冻存。细胞培养于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱,培养液使用含有 10% 胎牛血清的 MEN ALPHA 1 × 培养基培养。

1.1.2 质粒 环状 RNA hsa-circ-0006361 过表达质粒、circ-vector298 过表达质粒对照购自于上海吉凯基因科技有限公司。

1.1.3 实验动物 本实验使用 SPF 级 BALB/cJG-pt-Foxn1nu/Gpt 4 周龄雌性裸鼠,共 26 只,由江苏集萃药康生物科技有限公司提供。动物实验方案已经通过广东医科大学实验动物伦理审批,动物饲养于广东医科大学 SPF 级动物房内,裸鼠饲料、水均经高压灭菌处理由动物自由取食。

1.2 方法

1.2.1 RT-qPCR Trizol 法提取 RNA 样本后加入 20 ~ 50 μ L DEPC 水溶解,用反转录试剂盒 (Takara PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser) 将总 RNA 反转录为 cDNA。Real-time PCR 方法检测 hsa-circ-0006361 的表达水平。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值相对定量方法进行数据分析,计算公式:对照组 $\Delta Ct =$ 对照组目标基因 Ct-对照组内参 Ct;实验组 $\Delta Ct =$ 实验组目标基因 Ct-实验组内参 Ct; $\Delta\Delta Ct =$ 实验组 ΔCt -对照组 ΔCt 。内参 GAPDH 和 hsa-circ-0006361 引物序列分别为 GAPDH F: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTG-3', R: 5'-AGGGCCATCCACAGTCTTC-3'; hsa-circ-0006361 F: 5'-GATGATGTCTGGAAGCAGAGGA-3', R: 5'-GAAAAACCAGC TCTGACCATGTAA-3'。

1.2.2 亚细胞组分分离 使用细胞质和细胞核 RNA 提取试剂盒 2100 购自武汉艾美捷科技有限公司,具体步骤如下:1) 细胞组分的制备:吸出培养基磷酸盐缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤细胞一次,吸出 PBS 加入 200 μ L 冰冷的 Lysis Buffer,同时将细胞培养板置于冰上裂解细胞。收集裂解物 15 000 rpm 离心 10 分钟将包含细胞质 RNA 的上清液转移至一个新离心管,保留含有细胞核

RNA 的沉淀。分别向细胞质 RNA, 细胞核 RNA 加入 200 μ L Buffer SK。涡旋混合 10 s, 向混合物中加入 200 μ L 96% ~ 100% 乙醇涡旋混合 10 s。将混合物加入结合柱上, 6 000 rpm 离心 1 分钟。丢弃流通液。重新组装结合柱及其收集管。将 400 μ L Wash Solution A 加入结合柱并且离心 1 分钟, 丢弃流通液。重复上一个步骤两次后离心 2 min, 彻底干燥树脂。将离心柱放入试剂盒中提供的新的 1.7 mL 的洗脱管中加 50 μ L Elution Buffer E 到离心柱中, 2 000 rpm 离心 2 分钟后以 14 000 rpm 离心 1 min, 得到 RNA 洗脱液。RNA 反转录后进行定量 PCR, 以 GAPDH 作为细胞质内参, 以 U6 RNA 作为细胞核内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量方法进行数据分析目的基因细胞质与细胞核中的相对丰度。

1.2.3 稳定转染细胞株的建立与鉴定 在预铺 SKOV3 细胞的 24 孔板中, 每孔分别转染 750 ng hsa-circ-0006361 或 circ-vector298。转染 24 小时后 G418 (800 μ g/mL) 筛选 2 周, 通过荧光显微镜观察荧光的方法来判断转染及筛选效果。用 0.25% 胰酶消化细胞制备细胞悬液, 进行细胞计数, 并配成 10 个细胞/mL 的细胞悬液。用上述悬液, 以每孔 100 μ L 铺板至 96 孔板。荧光显微镜观察荧光判断该单克隆细胞质粒表达情况。

1.2.4 裸鼠体内成瘤实验 将 SKOV3/hsa-circ-0006361 稳定表达细胞株与 SKOV3/circ-vector298 对照细胞株分别接种于裸鼠右侧腋窝皮下, 共使用 26 只裸鼠, 其中 13 只为 hsa-circ-0006361 实验组, 另外 13 只为 circ-vector298 对照组, 作为无靶点环状 RNA 表达载体对照观察移植瘤生长情况。每日观察裸鼠的瘤体大小, 以及活动、精神状况、摄食量及睡眠状况等情况。待皮下肿瘤长出, 每 3 日测量肿瘤大小, 用游标卡尺测量肿瘤最长径 a、最短径 b 和高 c, 按照公式 $V(\text{mm}^3) = \pi abc/6$ 计算瘤体积, 并绘制生长曲线。种植后的第 30 天, 处死裸鼠分离移植瘤并测量移植瘤的体积 (mm^3) 与质量 (g), 计算促瘤率 (%) = (基因过表达组平均瘤重 - 空白对照组平均瘤重) / 空白对照组平均瘤重 $\times 100\%$; 计算肿瘤体积促进率 (%) = (基因过表达组平均瘤体体积 - 空白对照组平均瘤体体积) / 空白对照组平均瘤体体积 $\times 100\%$ 。

1.3 统计学方法

用 GraphPad Prism 5 进行统计分析作图, 计数资料数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组均数比较采用 Student-t 检测, 多组间均数比较先比较各组间方差

是否齐, 方差齐则采用单因素方差分析最小显著性差异法进行检验, 方差不齐则采用非参数检验进行分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hsa-circ-0006361 是主要定位于胞浆的环状 RNA

为确定 hsa-circ-0006361 的亚细胞定位, 首先在上皮性卵巢癌 SKOV3 细胞株瞬转 hsa-circ-0006361 后, RT-qPCR 检测该环状 RNA 的表达量, 结果表明 hsa-circ-0006361 组表达量明显高于对照组 (图 1A, $P < 0.01$), 说明目的片段成功表达。分离上皮性卵巢癌 SKOV3 细胞中的胞核和胞浆 RNA, 进行 RT-qPCR 分析, 结果显示 73.48% 的 GAPDH 位于细胞质, 62.39% 的 U6 位于细胞核, 符合 RNA 分离要求。而 hsa-circ-0006361 在细胞核和细胞质中均有表达, 32.90% 的 hsa-circ-0006361 位于细胞核, 67.10% 的 hsa-circ-0006361 位于细胞质接近 GAPDH 的分布, 提示 hsa-circ-0006361 主要位于细胞质中, 在细胞质中发挥作用, 可能参与转录后调控等过程 (图 1B)。为验证 hsa-circ-0006361 是否为环状 RNA, 提取 hsa-circ-0006361 组 RNA 后, 取 RNA 设置两组, 一组用 RNase-R 处理, 一组不用 RNase-R 处理, 以 GAPDH 及 hsa-circ-0006361 亲本基因 March7 为参照, 各组 PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳分析 (图 1C)。结果表明只有经过 RNase-R 处理的样本 hsa-circ-0006361 条带依然存在, 说明 hsa-circ-0006361 是环状 RNA。

2.2 筛选 hsa-circ-0006361 SKOV3 稳定表达细胞株

为构建稳定表达 hsa-circ-0006361 的卵巢癌细胞株, 用 SKOV3 细胞分别转染 circ-vector298 与 hsa-circ-0006361, 转染成功后 G418 筛选获得单克隆稳转细胞 (图 2A)。RT-qPCR 实验检测单克隆 D1 号 (SKOV3/hsa-circ-0006361 细胞株)、单克隆 H1 号 (SKOV3/circ-vector298 对照细胞株) hsa-circ-0006361 表达情况结果, 结果提示单克隆群 D1 号比单克隆群 H1 号 hsa-circ-0006361 表达高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2B)。表明成功构建 hsa-circ-0006361 稳定表达细胞株及对照细胞株。

2.3 Hsa-circ-0006361 促进卵巢癌在裸鼠体内发展

为建立裸鼠卵巢癌移植瘤模型, 将单克隆群 D1 号与单克隆群 H1 号细胞分别接种于裸鼠皮下。注射后第 12 天时所有裸鼠皮下长出肿瘤, 肉眼可见,

成瘤率 100%，裸鼠活动、精神状态、摄食量及睡眠状况等情况无明显变化，但是体质量开始下降。随着移植瘤的增大，注射后第 21 天时，部分裸鼠因瘤体过大而活动受限，明显消瘦，精神状态、摄食量及睡眠状况等情况变差，体质量逐渐减轻，以 hsa-circ-0006361 组裸鼠尤为明显。hsa-circ-0006361 组裸鼠体质量在第 9 天起与 circ-vector298 组裸鼠相比均

明显减轻 ($P < 0.05$ ，其中第 12、15 d 的 $P < 0.01$)；hsa-circ-0006361 组裸鼠移植瘤在 12、15、18、21、24、27、30 d 肿瘤体积与 circ-vector298 组裸鼠相比均明显增加 ($P < 0.05$)。第 30 天测量裸鼠体重，处死裸鼠分离肿瘤结节并测量移植瘤的体积与质量，计算促瘤率 (%) 和肿瘤体积促进率 (表 1、图 3)。

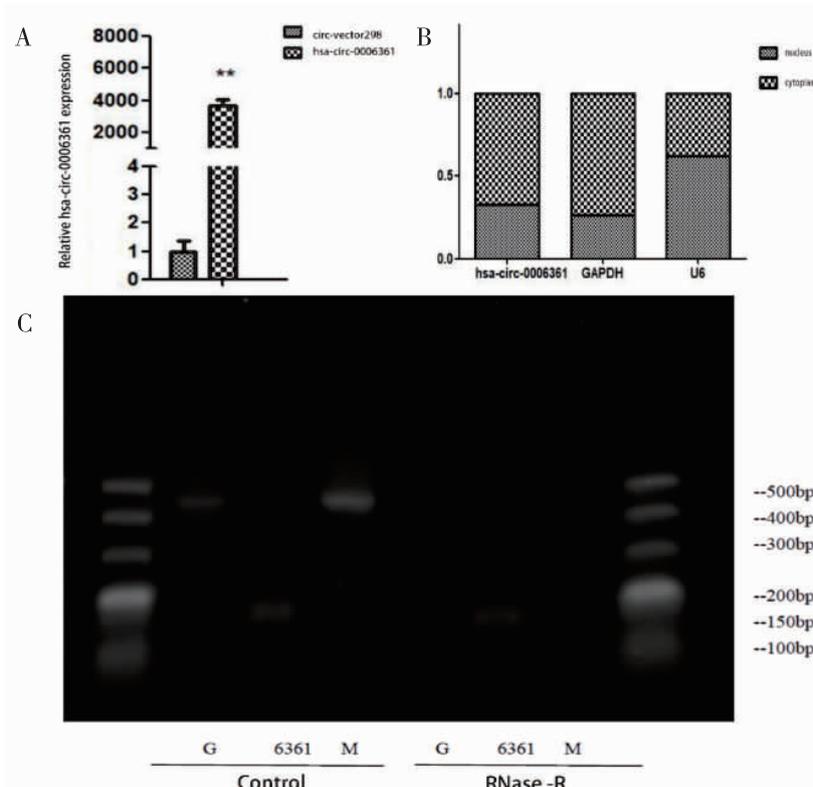


图 1 Hsa-circ-0006361 是主要定位于胞浆的环状 RNA

Figure 1. Hsa-circ-0006361 : a CircRNA Mainly Located in Cytoplasm

A. Ovarian cancer SKOV3 cells were transfected with circ-vector298 and hsa-circ-0006361, and the expression of hsa-circ-0006361 was analyzed by RT-qPCR; B. Subcellular localization of hsa-circ-0006361 in SKOV3 cells was analyzed by RT-qPCR; C. Electrophoretogram indicating RT-PCR products of hsa-circ-0006361 and MARCH7 in SKOV3 cells. G: GAPDH; M: March7.

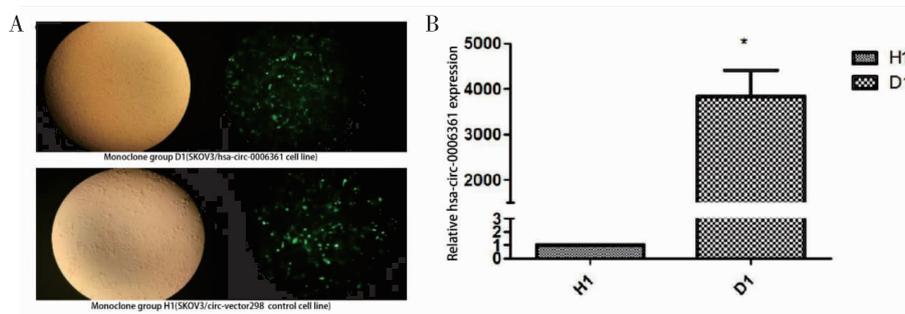


图 2 筛选单克隆稳定转染 SKOV3/Hsa-circ-0006361 细胞株

Figure 2. Screening of Stably Transfected SKOV3/Hsa-circ-0006361 Cell Line

A. Images in the left and right columns were from ordinary and fluorescence microscopes (×100), respectively; B. The expressions of hsa-circ-0006361 in D1 and H1 were detected by RT-qPCR.

表 1 裸鼠各项肿瘤相关指标的比较

Table 1. Tumor-Related Indexes in Nude Mice

Variable	Circ-vector298	Hsa-circ-0006361	t/χ^2	<i>P</i>
Body weight (g)	17.76 ± 1.51	16.58 ± 1.07	3.505	0.002 **
Weight loss rate	11.91% ± 4.19%	16.83% ± 4.93%	2.819	0.011 *
Tumor volume (mm ³)	1143.48 ± 662.68	1656.26 ± 561.77	2.078	0.043 *
Tumor weight (g)	5.59 ± 3.72	8.03 ± 2.07	2.075	0.049 *
Tumor weight gain rate [#]	-	43.75%	-	-
Tumor volume gain rate [#]	-	44.85%	-	-

* *P* < 0.05; ** *P* < 0.01.

[#]Formulas as indicated in 1.2.4.

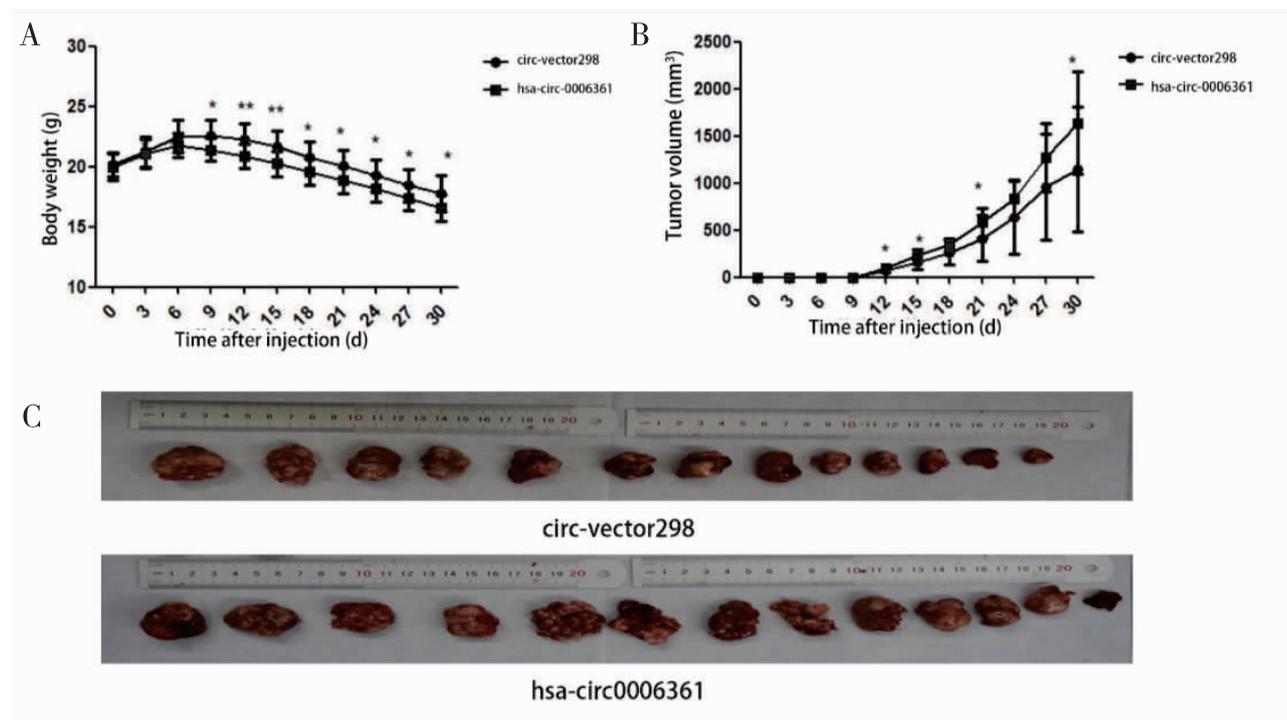


图 3 Hsa-circ-0006361 促进卵巢癌在裸鼠体内发展

Figure 3. Hsa-circ-0006361 Promotes the Development of Ovarian Cancer in Nude Mice

A. Body weight of nude mice; B. Changes in tumor volume in nude mice; C. Subcutaneous transplanted tumors in two groups.

* *P* < 0.05; ** *P* < 0.01.

2.4 Hsa-circ-0006361 缩短荷瘤裸鼠生存时间

为观察 Hsa-circ-0006361 对荷瘤裸鼠生存时间的影响,将两组细胞分别接种于裸鼠腹腔,在第 12 天两组裸鼠腹腔内有均出现腹水。Hsa-circ-0006361 组裸鼠在第 14 天开始腹腔体积增长比 circ-Vector298 组裸鼠明显,活跃度低于 circ-vector 298 组裸鼠,生存时间明显短于 circ-vector298 组裸鼠,差异有统计学意义(*P* < 0.05) (图 4)。裸鼠死

后解剖观察腹腔情况,发现两组裸鼠均出现肿瘤腹腔内种植并有大量腹水形成。

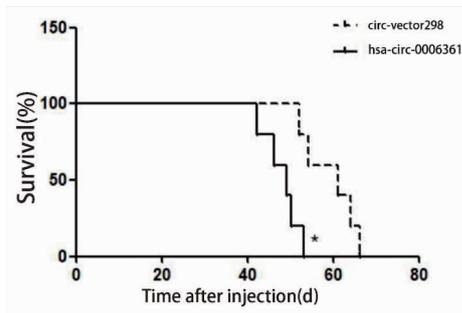


图4 荷瘤裸鼠生存曲线

Figure 4. Survival of Tumor-Bearing Mice

3 讨论

卵巢癌是妇科常见的恶性肿瘤之一,早期诊断困难、预后较差严重威胁女性的生命健康^[16]。环状 RNA 广泛存在,由于其内富含 miRNA 结合位点,通过内源性竞争结合 miRNA,调控 mRNA 剪切或转录及亲本基因的表达,影响其生物学特征。环状 RNA 与 miRNA 相互作用在多种疾病的发生发展过程中发挥重要的作用。环状 RNA 与肿瘤发生发展关系密切,差异表达环状 RNA 通过调控癌基因和抑癌基因的翻译从而参与多种肿瘤发生过程,并且与肿瘤的分类、化疗耐药及预后相关^[17]。

通过非编码 RNA 测序对比卵巢癌组织与正常卵巢组织中环状 RNA 发现 hsa-circ-0006361 在上皮性卵巢癌组织中高表达。RNA 测序通量高但往往不能保证准确性,为确证测序数据的准确性,首先应实验证实 hsa-circ-0006361 是环状 RNA 并且在卵巢癌细胞中表达。用 RNase-R 处理细胞线性 RNA 并对剩余的 RNA 进行反转录 PCR 分析,结果表明尽管用 RNase-R 处理之后针对 hsa-circ-0006361 引物仍然能扩增出目的片段,表明 hsa-circ-0006361 是对 RNase-R 不敏感的环状 RNA。环状 RNA 与线性 RNA 相比存在环化过程,因此载体选择有别,证明 hsa-circ-0006361 是环状 RNA 是选择载体类型过表达 hsa-circ-0006361 的依据,此外环状 RNA 是比普通线性 RNA 更稳定的分子,且在组织、细胞、体液中广泛存在,因此环状 RNA 作为疾病诊断与预后标志物具有先天优势^[18-19]。近来研究表明环状 RNA 普遍参与基因转录及转录后调控,不同细胞区域分布的环状 RNA 发挥功能不尽相同,比如分布于细胞核的环状 RNA 可以编码蛋白也可能参与基因转录调控,而细胞质分布的环状 RNA 往往作为 miRNA 的海绵起到吸附 miRNA 调控其靶基因的作用^[20-21]。实验发现 hsa-circ-0006361 主要分布在细胞质,提示

该环状 RNA 可能是在胞质通过调控 mRNA 稳定性及蛋白表达而发挥作用,后续实验可以重点探讨其转录后调控的具体对象与分子机制。小鼠移植瘤实验表明它可以促进裸鼠上皮性卵巢癌移植瘤的生长,并缩短裸鼠的生存时间。提示 hsa-circ-0006361 促卵巢癌进展影响卵巢癌的结局,可能是调控卵巢癌进展的重要环状 RNA 之一,阐明其作用机理对于卵巢癌的发生发展及预后判断具有重要意义。后续实验,我们将对 hsa-circ-0006361 的作用靶点进行研究,并在分子、细胞、卵巢癌组织和动物水平研究 hsa-circ-0006361 在上皮性卵巢癌发生发展中的作用及分子机制。一方面探究 hsa-circ-0006361 的海绵吸附作用,特别与一些重要的癌症相关 miRNA 例如 miR-214、let-7a、miR-30c、miR-150、miR-509、miR-510 等 microRNA 与 hsa-circ-0006361 的联系,以及这些 microRNA 的下游作用靶点,例如探究 hsa-circ-0006361-miR-214-PTEN 轴的关系。Hsa-circ-0006361 位于 2 号染色体,来自亲本基因膜相关环指蛋白 7 (membrane-associated ring-CH-type finger 7, MARCH7) 的第 3、4 个外显子区。MARCH7 属于膜结合 E3 泛素化连接酶,参与膜转运和蛋白质降解,调节 T 细胞增殖和神经元发育。MARCH7 也在肿瘤的发生发展中扮演重要角色,尤其是妇科肿瘤,如卵巢癌^[22]、子宫内膜癌^[23]及宫颈癌^[24]。Zhang 等^[25]发现 MARCH7 在上皮性卵巢癌组织中高表达且与淋巴转移有关,并证明 MARCH7 表达能够增强 SKOV3 卵巢癌细胞的增殖和侵袭能力。因此可以进一步研究 hsa-circ-0006361 与亲本基因 MARCH7 的表达量之间的关系及参与其中的 miRNA。通过上述研究阐明 hsa-circ-0006361 促进上皮性卵巢癌的作用机制,将为理解上皮性卵巢癌的发生发展提供新的角度。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论

文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Bao L, Zhong J, Pang L. Upregulation of circular RNA VPS13C-hsa-circ-001567 promotes ovarian cancer cell proliferation and invasion[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2019,34(2):110-118.
- [2] Fang J, Hong H, Xue X, *et al.* A novel circular RNA, circFAT1 (e2), inhibits gastric cancer progression by targeting miR-548g in the cytoplasm and interacting with YBX1 in the nucleus [J]. *Cancer Lett*, 2019,442:222-232.
- [3] Chen Q, Zhang J, He Y, *et al.* hsa_circ_0061140 knockdown reverses FOXM1-mediated cell growth and metastasis in ovarian cancer through miR-370 sponge activity [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018,13:55-63.
- [4] Hu J, Wang L, Chen J, *et al.* The circular RNA circ-ITCH suppresses ovarian carcinoma progression through targeting miR-145/RASA1 signaling[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,505(1):222-228.
- [5] Zhang Q, Zhang S. miR-214 promotes radioresistance in human ovarian cancer cells by targeting PETN[J]. *Biosci Rep*, 2017,37(4).
- [6] Liu J, Chen W, Zhang H, *et al.* miR-214 targets the PTEN-mediated PI3K/Akt signaling pathway and regulates cell proliferation and apoptosis in ovarian cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017,14(5):5711-5718.
- [7] Lu L, Katsaros D, Canuto EM, *et al.* LIN-28B/let-7a/IGF-II axis molecular subtypes are associated with epithelial ovarian cancer prognosis[J]. *Gynecol Oncol*, 2016,141(1):121-127.
- [8] Kobayashi M, Salomon C, Tapia J, *et al.* Ovarian cancer cell invasiveness is associated with discordant exosomal sequestration of Let-7 miRNA and miR-200[J]. *J Transl Med*, 2014,12:4.
- [9] Han X, Zhen S, Ye Z, *et al.* A feedback loop between miR-30a/c-5p and DNMT1 mediates cisplatin resistance in ovarian cancer cells[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017,41(3):973-986.
- [10] Jia W, Eneh JO, Ratnaparkhe S, *et al.* MicroRNA-30c-2 * expressed in ovarian cancer cells suppresses growth factor-induced cellular proliferation and downregulates the oncogene BCL9 [J]. *Mol Cancer Res*, 2011,9(12):1732-1745.
- [11] Wang X, Qiu LW, Peng C, *et al.* MicroRNA-30c inhibits metastasis of ovarian cancer by targeting metastasis-associated gene 1 [J]. *J Cancer Res Ther*, 2017,13(4):676-682.
- [12] Ye Z, Zhao L, Li J, *et al.* miR-30d blocked transforming growth factor β 1-induced epithelial-mesenchymal transition by targeting snail in ovarian cancer cells[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2015,25(9):1574-1581.
- [13] Jin M, Yang Z, Ye W, *et al.* MicroRNA-150 predicts a favorable prognosis in patients with epithelial ovarian cancer, and inhibits cell invasion and metastasis by suppressing transcriptional repressor ZEB1 [J]. *PLoS One*, 2014,9(8):e103965.
- [14] Xia B, Hou Y, Chen H, *et al.* Long non-coding RNA ZFAS1 interacts with miR-150-5p to regulate Sp1 expression and ovarian cancer cell malignancy [J]. *Oncotarget*, 2017,8(12):19534-19546.
- [15] Kim TH, Jeong JY, Park JY, *et al.* miR-150 enhances apoptotic and anti-tumor effects of paclitaxel in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells by targeting Notch3 [J]. *Oncotarget*, 2017,8(42):72788-72800.
- [16] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021,71(3):209-249.
- [17] Su M, Xiao Y, Ma J, *et al.* Circular RNAs in Cancer: Emerging functions in hallmarks, stemness, resistance and roles as potential biomarkers [J]. *Mol Cancer*, 2019,18(1):90.
- [18] Zheng Y, Hu J, Li Y, *et al.* Clinicopathological and prognostic significance of circRNAs in lung cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2021,100(14):e25415.
- [19] Misir S, Hepokur C, Aliyazicioglu Y, *et al.* Biomarker potentials of miRNA-associated circRNAs in breast cancer (MCF-7) cells: an in vitro and in silico study [J]. *Mol Biol Rep*, 2021,48(3):2463-2471.
- [20] Hu D, Zhang P, Chen M. Database resources for functional circular RNAs [J]. *Methods Mol Biol*, 2021,2284:457-466.
- [21] Zheng S, Zhang X, Odame E, *et al.* CircRNA-protein interactions in muscle development and diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(6):3262.
- [22] Hu J, Meng Y, Yu T, *et al.* Ubiquitin E3 ligase MARCH7 promotes ovarian tumor growth [J]. *Oncotarget*, 2015,6(14):12174-12187.
- [23] Liu L, Hu J, Yu T, *et al.* miR-27b-3p/MARCH7 regulates invasion and metastasis of endometrial cancer cells through Snail-mediated pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2019,51(5):492-500.
- [24] Hu J, Meng Y, Zeng J, *et al.* Ubiquitin E3 Ligase MARCH7 promotes proliferation and invasion of cervical cancer cells through VAV2-RAC1-CDC42 pathway [J]. *Oncol Lett*, 2018,16(2):2312-2318.
- [25] Zhang L, Wang H, Tian L, *et al.* Expression of USP7 and MARCH7 is correlated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2016,239(3):165-175.