

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.002

· 基础研究 ·

lncRNA TOB1-AS1 在上皮性卵巢癌组织中的表达及其临床意义

吕微¹, 王佳丽¹, 贾云泷¹, 刘天旭¹, 段玉青¹, 刘丽华^{1,2,3} (1. 河北医科大学第四医院 肿瘤免疫治疗科, 河北 石家庄 050035; 2. 河北省肿瘤研究所 河北 石家庄 050011; 3. 河北医科大学 国际合作研究干细胞实验室, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨 ERBB2.1 转导蛋白反义 RNA1 (transducer of ERBB2.1 antisense RNA 1, TOB1-AS1) 在上皮性卵巢癌 (epithelial ovarian cancer, EOC) 组织中的表达情况及其临床意义, 初步探讨 TOB1-AS1 对 EOC 细胞体外增殖、迁移和侵袭的影响。**方法:** 使用 TCGA 数据库对 EOC 组织中 TOB1-AS1 表达情况进行分析; 收集 2017 年 7 月至 2018 年 1 月在河北医科大学第四医院妇科行肿瘤切除并经病理检查证实为 EOC 的 67 例患者的肿瘤组织, 收集同期因其他妇科疾病接受手术的 30 例患者的非肿瘤卵巢组织作为对照。采用 qPCR 法检测 EOC 组织和非肿瘤卵巢组织中 TOB1-AS1 的表达水平, χ^2 检验分析 TOB1-AS1 的表达与不同临床病理特征之间的相关性, Kaplan-Meier 和 Cox 比例风险回归模型分析患者生存及预后的潜在影响因素。CCK-8 实验、划痕实验和 Transwell 实验分别检测敲低 TOB1-AS1 表达对 EOC 细胞 SKOV3 和 A2780 增殖、迁移和侵袭的影响。**结果:** TCGA 数据库中资料和 qPCR 检测结果均显示, 在 EOC 组织中 TOB1-AS1 的表达水平显著高于非肿瘤卵巢组织 (均 $P < 0.01$)。TOB1-AS1 的高表达与 EOC 患者较晚的 FIGO 分期、较差的组织分级、淋巴结转移及腹膜转移有关 (均 $P < 0.05$)。Kaplan-Meier 生存分析结果显示, TOB1-AS1 高表达组患者术后 DFS 和 OS 均短于 TOB1-AS1 低表达组 (均 $P < 0.05$)。Cox 比例风险回归模型分析结果显示, FIGO 分期、淋巴结转移、腹膜转移及 TOB1-AS1 表达是 EOC 患者预后的独立影响因素 (均 $P < 0.05$)。TOB1-AS1 在 EOC 细胞系 SKOV3、A2780 中的表达水平也显著高于正常卵巢上皮细胞系 IOSE80 (均 $P < 0.01$)。细胞功能实验结果显示, 敲低 TOB1-AS1 可抑制 SKOV3 和 A2780 细胞的增殖、迁移和侵袭 (均 $P < 0.05$)。**结论:** TOB1-AS1 在 EOC 组织中高表达, 与患者的不良预后显著相关。TOB1-AS1 可能通过促进 EOC 细胞 SKOV3、A2780 的增殖、迁移和侵袭来影响 EOC 的恶性进展。

[关键词] 上皮性卵巢癌; 长链非编码 RNA; ERBB2.1 转导蛋白反义 RNA1; SKOV3 细胞; A2780 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)11-1061-07

Expression of lncRNA TOB1-AS1 in epithelial ovarian cancer tissues and its clinical significance

LYU Wei¹, WANG Jiali¹, JIA Yunlong¹, LIU Tianxu¹, DUAN Yuqing¹, LIU Lihua^{1,2,3} (1. Department of Tumor Immunotherapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China; 2. Hebei Cancer Institute, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 3. International Cooperation Laboratory of Stem Cell Research, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and clinical significance of transducer of ERBB2.1 antisense RNA1 (TOB1-AS1) in epithelial ovarian cancer (EOC) tissues, and to preliminarily explore its effect on the proliferation, migration, and invasion of EOC cells *in vitro*. **Methods:** TOB1-AS1 expression in EOC tissues was analyzed using the TCGA database. The tumor tissues from 67 patients who underwent tumor resection and were pathologically confirmed as EOC in the Department of Gynecology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University from July 2017 to January 2018 were collected for this study. In addition, 30 non-tumor ovarian tissues of patients with other gynecological diseases were collected as the control in the same period. qPCR was used to detect the expression of TOB1-AS1 in EOC tissues and non-tumor ovarian tissues. χ^2 test was used to analyze the correlation between the expression of TOB1-AS1 and different clinicopathological factors of EOC patients. Kaplan-Meier method and Cox proportional hazard regression model were used to analyze the survival and potential influencing factors for prognosis in EOC patients. The effects of TOB1-AS1 knockdown on the proliferation, migration, and invasion of EOC SKOV3 and A2780 cells were detected by CCK-8 test,

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81871894)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81871894)

[作者简介] 吕微 (1986—), 女, 博士生, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤的临床治疗和肿瘤分子生物学研究, E-mail: lvwei0326@foxmail.com

[通信作者] 刘丽华 (LIU Lihua, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学、肿瘤分子生物学、肿瘤表观遗传学和肿瘤综合治疗研究, E-mail: cdlihua@aliyun.com

Wound-healing assay, and Transwell test, respectively. **Results:** TCGA database analysis and qPCR results showed the expression level of TOB1-AS1 in EOC tissues was significantly higher than that in non-tumor ovarian tissues (all $P < 0.01$). The high expression of TOB1-AS1 was conspicuously correlated with advanced FIGO stage, poor tissue grade, lymph node metastasis, and peritoneal metastasis in patients with EOC (all $P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that post-operative disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in the patients with high TOB1-AS1 expression were shorter than those with low TOB1-AS1 expression (all $P < 0.05$). Cox proportional hazard regression model analysis showed that FIGO stage, lymph node metastasis, peritoneal metastasis, and TOB1-AS1 expression were independent prognostic factors in EOC patients (all $P < 0.05$). Similarly, the expression level of TOB1-AS1 in SKOV3 and A2780 cells were significantly higher than that in normal epithelial ovarian IOSE80 cells (all $P < 0.01$). Cell function experiments showed that TOB1-AS1 knockdown inhibited the proliferation, migration, and invasion of SKOV3 and A2780 cells (all $P < 0.05$). **Conclusion:** TOB1-AS1 is highly expressed in EOC tissues, and it is significantly related to the poor prognosis of EOC patients. TOB1-AS1 may affect the malignant progression of EOC by promoting the cell proliferation, migration, and invasion of SKOV3 and A2780 cells.

[Key words] epithelial ovarian cancer (EOC); long non-coding RNA (lncRNA); transducer of ERBB2.1 antisense RNA1 (TOB1-AS1); SKOV3 cell; A2780 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(11): 1061-1067. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.11.002]

卵巢癌是恶性程度最高的女性生殖系统肿瘤, 具有高度异质性, 最常见的病理类型是上皮性卵巢癌 (epithelial ovarian cancer, EOC), 占有病例的 90%^[1-2]。卵巢癌起病隐匿, 早期诊断困难, 80% 的患者确诊时已为 III/IV 期, 整体治疗效果较差, EOC 的标准治疗方法是经肿瘤减灭术后序贯给予含铂双药化疗, 但即使经过标准治疗, 仍有 70% 的患者会在 2 年内复发, 5 年生存率仅约 30%, 严重威胁女性身心健康^[3-4]。因此, 深入探究影响 EOC 恶性生物学行为的相关分子机制及其临床意义, 对于改善 EOC 患者的预后具有重要意义。lncRNA 在表观遗传学修饰、基因转录后调节、细胞周期进程及肿瘤免疫微环境中充当重要角色, 在恶性肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[5-8]。人 ERBB2.1 转导蛋白反义 RNA 1 (transducer of ERBB2.1 antisense RNA 1, TOB1-AS1) 是一种近年新发现的 lncRNA, 其可抑制宫颈癌^[9]、胃癌^[10]等肿瘤的恶性生物学行为, 但其在卵巢癌中的作用尚鲜有研究。本研究旨在探讨 TOB1-AS1 在 EOC 组织中的表达水平及其对 EOC 细胞 A2780、SKOV3 恶性生物学行为的影响, 为进一步探索相关 EOC 分子调控机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析

正常组织的基因表达谱数据来自 GTEx 数据库 (<https://commonfund.nih.gov/GTEX/>), EOC 组织的数据来自 TCGA 的 OV 数据集 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>), 均使用 FPKM 数据, 两部分数据合并在一起后, 用 R 包 preprocessCore 对数据进行分位数标准化后, 对基因表达数据使用 R 包 beeswarm 进行蜂巢图绘制, 采用秩和检验进行统计分析并计算 P 值。

1.2 临床资料

选取 2017 年 7 月至 2018 年 1 月在河北医科大学第四医院妇科行手术切除并经病理证实为 EOC 的 67 例患者的肿瘤组织。全组患者年龄 22~70 岁。按国际妇产科联盟 (FIGO) 手术病理分期标准分为 I+II 期 20 例、III+IV 期 47 例; 组织学分级为中、高分化 25 例, 低分化 42 例; 术后证实无淋巴结转移者 24 例, 有淋巴结转移者 43 例; 无腹膜转移者 40 例, 有腹膜转移者 27 例。同期收集 30 例因其他妇科疾病而行手术切除的非肿瘤卵巢组织。所有组织离体后迅速置于液氮中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。本研究经医院伦理委员会审查批准, 所有患者签署知情同意书。

1.3 细胞与生物制剂

正常卵巢癌上皮细胞系 IOSE80 和 EOC 细胞系 A2780、SKOV3 均购自中国科学院细胞库。DMEM 培养基、胰蛋白酶均购自美国 Gibco 公司, 胎牛血清购自美国 Gemini 公司, RNA 提取试剂、反转录试剂和 SYBR Green 法 qPCR 试剂均购自美国 Thermo 公司, 转染试剂 LipofectamineTM2000 购自美国 Invitrogen 公司, CCK-8 法检测试剂盒购自北京索莱宝公司, Transwell 小室购自美国康宁公司。干扰序列 TOB1-AS1-siRNA 由苏州吉玛基因股份有限公司合成, 引物由上海生物工程有限公司合成。

1.4 qPCR 检测 EOC 组织和细胞中 TOB1-AS1 的表达

用 TRIzol 试剂提取组织和细胞的总 RNA。将其稀释至 500 ng/ml, 用反转录试剂盒进行反转录, 以获得的 cDNA 作为模板扩增 TOB1-AS1 及内参 mRNA, 引物序列: GAPDH 上游为 5'-GTCACCTTCACCGTTCCAGTTTT-3', 下游为 5'-CTTAGTTGCGTTACACCC TTTCT-3'; TOB1-AS1 上游为 5'-GCCAGGCCTA GAAGCTTTTG-3', 下游为 5'-TCTTCCCACCCCT TCTCCTA-3'。反应条件: 95 °C 5 min 后, 95 °C 15 s、59 °C 30 s、72 °C 30 s, 共进行 38 个循环。根据每孔

荧光信号达到阈值时经历的循环数作为Ct值,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算TOB1-AS1的相对表达量。

1.5 细胞培养及转染

SKOV3、A2780和IOSE80细胞培养在含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM完全培养基中,所有细胞置于37℃、5% CO₂培养箱中培养。

取状况良好的对数生长期细胞按照转染试剂Lipofectamine™2000说明书的步骤,将si-NC和si-TOB1-AS1转染至SKOV3和A2780细胞,6~8 h后更换成完全培养基继续培养24~48 h后进行后续实验。

1.6 CCK-8法检测TOB1-AS1表达对EOC细胞增殖能力的影响

将各组细胞消化后按照每孔 1×10^3 个细胞的密度接种于96孔板中,待细胞贴壁后,分别在24、48、72和96 h后于每孔添加10 μl CCK-8试剂,继续培养2 h后用酶标仪检测每孔在450 nm波长处的光密度(D)值,以D值代表细胞增殖水平,绘制增殖曲线。

1.7 划痕愈合实验检测TOB1-AS1的表达对EOC细胞迁移能力的影响

将各组细胞接种于6孔板,在6孔板背面画5条平行线作为参照,24 h后用200 μl移液器吸头在细胞层上刮出2条垂直于背面平行线的直线,用PBS洗3次后加入2 ml无血清的DMEM培养基继续培养,于0和24 h时在倒置显微镜下观察细胞向划痕区域的迁移并拍照,利用ImageJ软件计算细胞迁移距离,迁移距离=0 h时划痕宽度平均值-24 h时划痕宽度平均值,划痕宽度平均值=划痕空隙面积/长度。

1.8 Transwell实验检测TOB1-AS1的表达对EOC细胞侵袭能力的影响

将保存于-20℃的matrigel基质胶取出,置2℃~8℃冰箱内过夜融化,取100 μl加入预冷的300 μl无血清培养基中,充分混匀后取25 μl加入Transwell小室的上室,覆盖整个聚碳酸酯膜,37℃放置30 min使matrigel聚合成胶。将各组细胞按照每孔 2×10^5 个细胞转移至Transwell小室的上室,下室加入含10% FBS的DMEM培养基700 μl。常规培养24 h后取出小室,PBS冲洗后,用棉签轻轻将上室中未侵袭的细胞擦去,4%多聚甲醛固定20 min,PBS清洗3遍后用结晶紫染色15 min,PBS冲洗3遍后空气中风干,在高倍显微镜下拍照并随机选取10个视野计数,取均值。

1.9 统计学处理

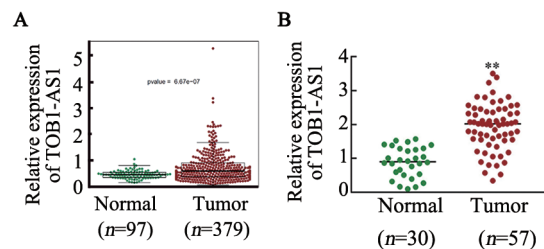
qPCR、CCK-8、划痕愈合及Transwell实验均独立重复3次。采用SPSS 22.0软件分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采取两独立样本t检验。通过 χ^2 检验分析TOB1-AS1的表达水平及其与临床病理特征的关系,采用Kaplan-Meier和

Cox比例风险回归模型对患者生存和预后影响因素进行分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TOB1-AS1在EOC组织中的表达

通过分析TCGA数据库中EOC的全基因组表达谱数据发现,TOB1-AS1在人EOC组织中的表达显著高于非肿瘤卵巢组织($P < 0.01$,图1A)。为进一步明确TOB1-AS1在EOC中的表达情况,本研究通过qPCR检测EOC组织和非肿瘤卵巢组织中TOB1-AS1水平,结果显示,EOC组织中TOB1-AS1的表达水平显著高于非肿瘤卵巢组织,差异具有统计学意义($P < 0.01$,图1B),与TCGA数据库分析结果相一致。



A: The expression of TOB1-AS1 in human EOC tissue was significantly higher than that in non-tumor ovarian tissues (data taken from TCGA database); B: The expression of TOB1-AS1 in human EOC tissue was significantly higher than that in non-tumor ovarian tissues detected by qPCR

图1 TOB1-AS1在EOC组织中呈高表达

Fig.1 TOB1-AS1 was highly expressed in EOC tissues

2.2 TOB1-AS1表达与EOC患者临床病理特征的关系

为进一步明确TOB1-AS1在EOC中的临床意义,用 χ^2 检验分析了肿瘤组织中TOB1-AS1表达水平与EOC患者临床病理特征的关系,结果(表1)表明,TOB1-AS1的高表达与EOC患者较晚的FIGO分期、较差的组织分级、淋巴结转移和腹膜转移有关联($P < 0.001$, $P = 0.001$, $P = 0.015$, $P = 0.036$),而与患者年龄无关联($P = 0.303$)。

2.3 TOB1-AS1表达与EOC患者预后的关系

本研究对患者的随访时间为36个月。截至2021年1月31日,获访62例,失访5例(失访病例未计入分析),获访率为92.54%。在随访期间,获访患者中有26例死亡,3年总生存率为61.19%。采用Kaplan-Meier方法对TOB1-AS1表达与EOC患者预后的关系进行分析,结果(图2)显示,相对于TOB1-AS1低表达组,TOB1-AS1高表达组患者的DFS和OS显著缩

短(Log rank test: $P=0.0012$, $P=0.0252$)。多元Cox比例风险回归模型分析结果(图3)显示, FIGO分期、淋巴结转移、腹膜转移和TOB1-AS1的表达水平是影响

EOC患者预后的独立因素($P=0.003$, $P=0.014$, $P=0.019$, $P<0.001$)。

表1 TOB1-AS1表达与EOC患者临床病理特征的相关性
Tab.1 Correlation between TOB1-AS1 and clinicopathological features of EOC patients

Feature	N	Expression of TOB1-AS1 (n)		χ^2	P
		High	Low		
Age/a				0.582	0.303
≤60	43	28	15		
>60	24	14	10		
FIGO stage				17.312	<0.001
I + II	20	5	15		
III+IV	47	37	10		
Differentiation				5.954	0.015
Well+Moderate	25	11	14		
Poor	42	31	11		
Lymph node metastasis				10.142	0.001
Positive	43	33	10		
Negative	24	9	15		
Peritoneal metastasis				4.403	0.036
Positive	27	21	6		
Negative	40	21	19		

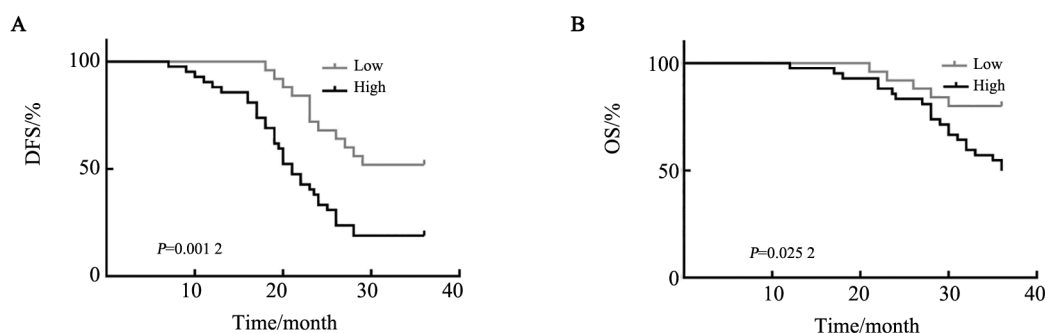


图2 Kaplan-Meier法分析TOB1-AS1表达对EOC患者术后DFS(A)和OS(B)的影响

Fig.2 Effect of TOB1-AS1 expression on DFS (A) and OS (B) of EOC patients analyzed by Kaplan-Meier curves

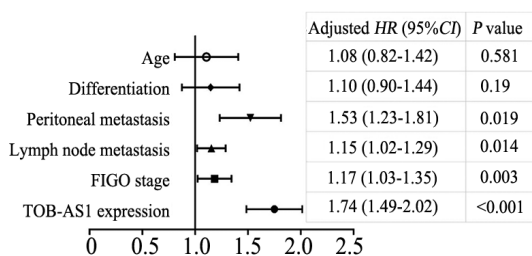


图3 EOC患者预后影响因素的多元Cox比例风险回归模型分析森林图

Fig.3 The prognostic factors for EOC patients analyzed by multivariate Cox proportional hazard regression model

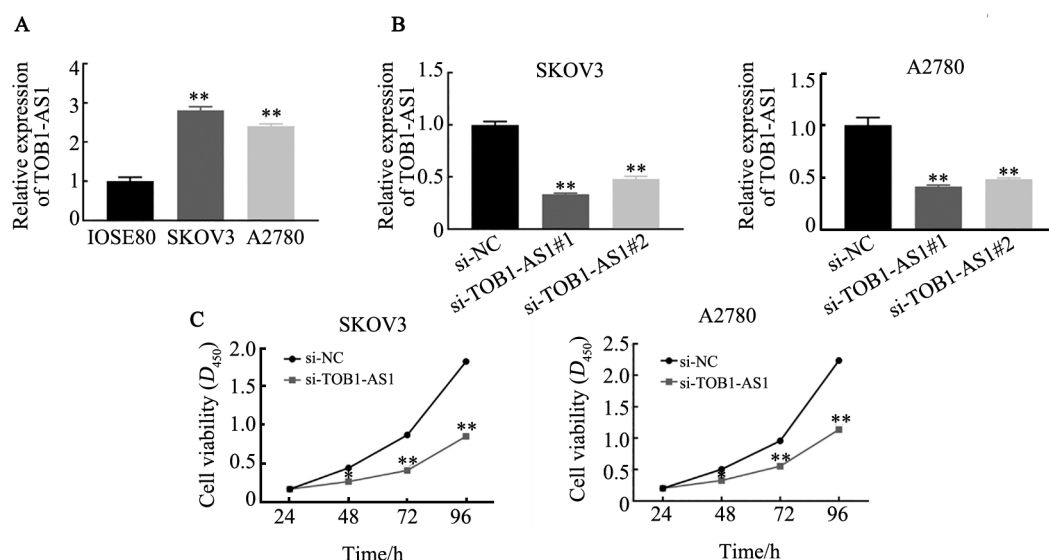
2.4 TOB1-AS1在EOC细胞中呈高表达且敲低TOB1-AS1抑制EOC细胞增殖、迁移和侵袭

qPCR检测结果(图4A)显示, SKOV3和A2780细胞中TOB1-AS1的表达水平显著高于IOSE80细胞(均 $P<0.01$),说明TOB1-AS1在EOC细胞中高表达。进一步,在SKOV3和A2780细胞中转染si-TOB1-AS1以构建TOB1-AS1低表达细胞, qPCR检测结果(图4B)显示,与si-NC组相比, si-TOB1-AS1#1和si-TOB1-AS1#2组TOB1-AS1的表达水平均显著下降(均 $P<0.01$),说明成功构建TOB1-AS1低表达细胞。si-TOB1-AS1#1的敲低效率更高,因此选择si-TOB1-AS1#1用于后续实验。

为探讨TOB1-AS1对EOC细胞恶性生物学行为的影响,通过CCK-8、划痕愈合及Transwell实验观察了转染si-TOB1-AS1对EOC细胞增殖、迁移和侵袭

能力的影响。CCK-8 实验结果(图 4C)显示, 敲低 TOB1-AS1 后 SKOV3 和 A2780 细胞在 24、48、72 和 96 h 时的增殖水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。划痕愈合实验结果(图 5)显示, 敲低 TOB1-AS1 显著抑

制 SKOV3 和 A2780 细胞的迁移(均 $P < 0.01$)。Transwell 实验结果(图 6)显示, 敲低 TOB1-AS1 显著抑制 SKOV3 和 A2780 细胞的侵袭(均 $P < 0.01$)。



A: TOB1-AS1 was highly expressed in EOC cells determined by qPCR; B: The interference efficiency of si-TOB1-AS1 was determined by qPCR; C: Knockdown of TOB1-AS1 inhibited the proliferation of SKOV3 and A2780 cells detected by CCK-8 test

图4 敲低 TOB1-AS1 抑制 EOC 细胞的增殖

Fig.4 TOB1-AS1 knockdown inhibited the proliferation of EOC cells

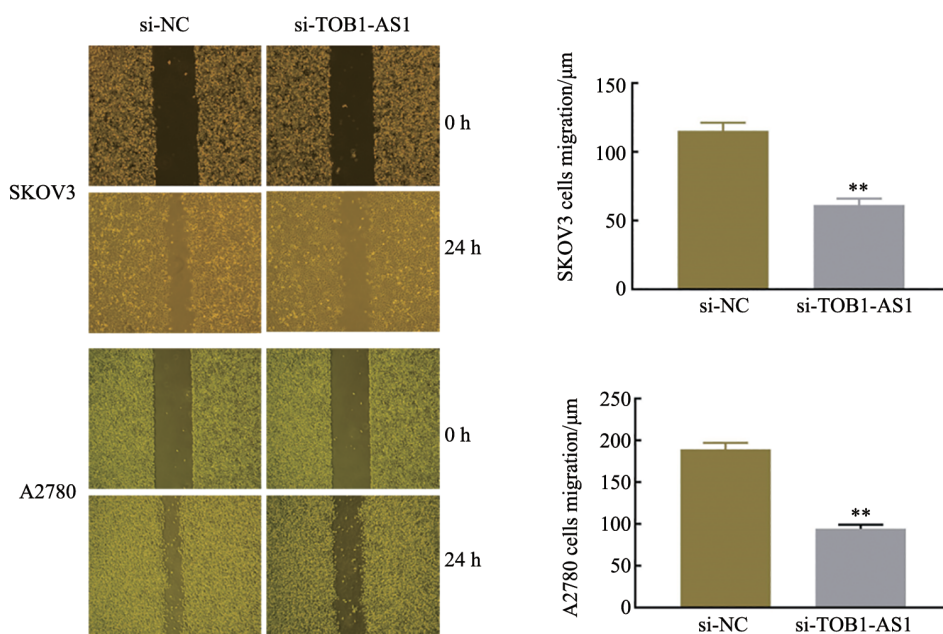


图5 敲低 TOB1-AS1 抑制 EOC 细胞的迁移($\times 40$)

Fig.5 TOB1-AS1 knockdown inhibited the migration of EOC cells ($\times 40$)

3 讨论

EOC 是中国发病率较高的妇科肿瘤之一, 高度侵袭性使其易发生远处播散和复发转移, 这是造成

EOC 预后不佳的主要原因。基因的异常表达会影响 EOC 的增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为^[1], 因此探寻 EOC 发生发展过程中的分子机制, 可能会为 EOC 的治疗提供新的靶点。

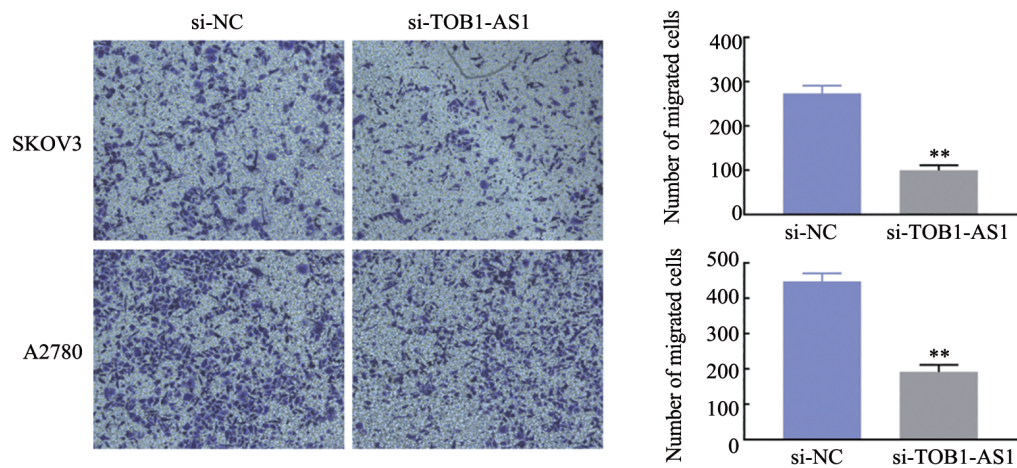


图6 敲低 TOB1-AS1 抑制 EOC 细胞的侵袭(结晶紫染色, ×200)

Fig.6 TOB1-AS1 knockdown inhibited the invasion of EOC cells (crystal violet staining, ×200)

越来越多的证据^[12-14]表明, lncRNA 与多种细胞功能、多种疾病的病理过程密切相关, 已成为信号通路作用网络中的重要调节因子。lncRNA 的异常表达在调控多种肿瘤的发生、发展中发挥关键作用^[15-16]。近年来, 许多 lncRNA 被发现在 EOC 中处于失调状态。例如, lncRNA PTAR 通过竞争性结合 miR-101-3p 上调 ZEB1 的表达而促进 EOC 的 EMT 和侵袭转移^[17]; lncRNA DN3OS 通过靶向 miR-214 调控 EMT 相关蛋白而促进卵巢癌的 EMT 过程^[18]; lncRNA ABHD11-AS 通过靶向调控 RhoC 及其下游分子 p70S6K、MMP2 和 Bcl-x1 等促进卵巢癌细胞的增殖、侵袭和转移^[19]。人 ERBB2.1 转导蛋白(transducer of ERBB2.1, TOB1)是一种具有 TOB/BTG 结构域的抗增殖蛋白, 作为一种肿瘤抑制因子可以通过多种信号通路抑制癌细胞的迁移、增殖和凋亡^[20-21]。TOB1-AS1 是由位于染色体 17q21.33 上的 TOB1 基因簇反义转录而来的一种新型 lncRNA, 目前对于 TOB1-AS1 的研究相对较少, 它到底是作为抑癌还是致癌的 lncRNA 在肿瘤发生发展中发挥作用还不是非常明确。已有的研究表明, 在宫颈癌中 TOB1-AS1 通过海绵融合 miR-27b 发挥抑癌作用^[10], 在胃癌中通过靶向 miR-23a 上调 NEU1 而抑制了胃癌细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭^[11]。目前 TOB1-AS1 在 EOC 中的表达及其生物学功能尚未见报道。

首先, 为明确 TOB1-AS1 在 EOC 组织和非肿瘤卵巢组织中的表达是否存在差异, 本研究通过对 TCGA 数据库中 EOC 数据进行分析发现, TOB1-AS1 在 EOC 组织中的表达显著高于正常卵巢组织。为进一步验证 TCGA 数据库的分析结果, 通过 qPCR 对 EOC 组织和非肿瘤卵巢组织中 TOB1-AS1 表达水平进行检测, 结果发现 EOC 组织中 TOB1-AS1 的表达水平显著高于非肿瘤卵巢组织($P < 0.01$), 与 TCGA

数据库分析结果一致, 提示 TOB1-AS1 可能在 EOC 发生发展过程中发挥促癌作用。对 TOB1-AS1 的表达与 EOC 的临床病理特征的关系进行分析发现, TOB1-AS1 表达与较晚的 FIGO 分期、较差的组织学分级、淋巴结转移及腹膜转移情况显著关联(均 $P < 0.05$), 而与患者年龄无关($P = 0.303$), 这表明 TOB1-AS1 在 EOC 的恶性进展中可能发挥了重要作用, 尤其与侵袭转移关系密切。Kaplan-Meier 生存分析表明, TOB1-AS1 高表达的 EOC 患者的术后 DFS 和 OS 显著短于 TOB1-AS1 低表达患者(均 $P < 0.05$), 提示 TOB1-AS1 可能与 EOC 的不良预后相关。多元 Cox 比例风险回归模型分析结果显示, FIGO 分期、淋巴结转移、腹膜转移和 TOB1-AS1 表达均是 EOC 患者预后的独立影响因素, 表明 TOB1-AS1 可能是独立提示 EOC 患者预后的生物标志物。EOC 的异常增殖和转移能力是影响患者预后的重要因素, 本研究通过体外细胞功能实验探讨 TOB1-AS1 对 EOC 细胞 SKOV3 和 A2780 增殖、迁移和侵袭的影响, 结果发现, 敲低 TOB1-AS1 后 EOC 细胞增殖、迁移和侵袭显著降低($P < 0.05$), 在细胞学上证明 TOB1-AS1 与 EOC 恶性生物学行为有密切关系。但 TOB1-AS1 是通过何种具体的分子机制来发挥促癌作用有待进一步阐明, 未来本课题组将对 TOB1-AS1 表达的具体机制进行更深入的研究。

综上所述, TOB1-AS1 在 EOC 组织和细胞中高表达, 且与 EOC 患者的多个临床病理特征显著关联, 是患者预后的独立影响因素。敲低 TOB1-AS1 表达抑制了 EOC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 说明 TOB1-AS1 在 EOC 的恶性进展过程中发挥了促癌作用。本研究的发现为探寻 EOC 的潜在预后标志物及可能的治疗靶点提供了理论依据, 并为后续的机制研究奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21654.
- [2] TORRE L A, TRABERT B, DESANTIS C E, et al. Ovarian cancer statistics, 2018[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(4): 284-296. DOI: 10.3322/caac.21456.
- [3] KUROIKI L, GUNTUPALLI S R. Treatment of epithelial ovarian cancer[J/OL]. *BMJ*, 2020, 371: m3773[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33168565/>. DOI:10.1136/bmj.m3773.
- [4] 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.
- [5] STATELLO L, GUO C J, CHEN L L, et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(2): 96-118. DOI:10.1038/s41580-020-00315-9.
- [6] WU P, MO Y, PENG M, et al. Emerging role of tumor-related functional peptides encoded by lncRNA and circRNA[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 22[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32019587/>. DOI:10.1186/s12943-020-1147-3.
- [7] MCCABE E M, RASMUSSEN T P. lncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions[J/OL]. *Semin Cancer Biol*, 2020, online ahead of print[2021-04-14]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X20302728?via%3Dihub>. DOI:10.1016/j.semcancer.2020.12.012.
- [8] HU Q, EGRANOV S D, LIN C, et al. Long noncoding RNA loss in immune suppression in cancer[J/OL]. *Pharmacol Ther*, 2020, 213: 107591[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32473960/>. DOI:10.1016/j.pharmthera.2020.107591.
- [9] YAO J, LI Z, YANG Z, et al. Long noncoding RNA TOB1-AS1, an epigenetically silenced gene, functioned as a novel tumor suppressor by sponging miR-27b in cervical cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(8): 1483-1498.
- [10] JIANG K, ZHI X H, MA Y Y, et al. Long non-coding RNA TOB1-AS1 modulates cell proliferation, apoptosis, migration and invasion through miR-23a/NEU1 axis via Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 9890-9899. DOI:10.26355/eurrev_201911_19554.
- [11] 陈慧雁. ERCC1 基因在卵巢癌中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(4): 453-456. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.020.
- [12] ULITSKY I, BARTEL D P. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms[J]. *Cell*, 2013, 154(1): 26-46. DOI: 10.1016/j.cell.2013.06.020.
- [13] BATISTA P J, CHANG H Y. Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease[J]. *Cell*, 2013, 152(6): 1298-1307. DOI:10.1016/j.cell.2013.02.012.
- [14] USZCZYNSKA-RATAJCZAK B, LAGARDE J, FRANKISH A, et al. Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome[J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(9): 535-548. DOI:10.1038/s41576-018-0017-y.
- [15] HUARTE M. The emerging role of lncRNAs in cancer[J]. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1253-1261. DOI:10.1038/nm.3981.
- [16] SCHMITT A M, CHANG H Y. Long noncoding RNAs in cancer pathways[J]. *Cancer Cell*, 2016, 29(4): 452-463. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.03.010.
- [17] LIANG H, YU T, HAN Y, et al. LncRNA PTAR promotes EMT and invasion-metastasis in serous ovarian cancer by competitively binding miR-101-3p to regulate ZEB1 expression[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 119 [2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30098599/>. DOI:10.1186/s12943-018-0870-5.
- [18] MITRA R, CHEN X, GREENAWALT E J, et al. Decoding critical long non-coding RNA in ovarian cancer epithelial-to-mesenchymal transition[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1604[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29150601/>. DOI: 10.1038/s41467-017-01781-0.
- [19] WU D D, CHEN X, SUN K X, et al. Role of the lncRNA ABHD11-AS1 in the tumorigenesis and progression of epithelial ovarian cancer through targeted regulation of RhoC[J/OL]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 138[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28818073/>. DOI:10.1186/s12943-017-0709-5.
- [20] GUO H, JI F, ZHAO X, et al. MicroRNA-371a-3p promotes progression of gastric cancer by targeting TOB1[J/OL]. *Cancer Lett*, 2019, 443: 179-188[2021-04-14]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30529155/>. DOI:10.1016/j.canlet.2018.11.021.
- [21] ZHANG Y W, NASTO R E, VARGHESE R, et al. Acquisition of estrogen independence induces TOB1-related mechanisms supporting breast cancer cell proliferation[J]. *Oncogene*, 2016, 35(13): 1643-1656. DOI:10.1038/onc.2015.226.

[收稿日期] 2021-07-08

[修回日期] 2021-10-06

[本文编辑] 黄静怡