

网络出版时间:2021/12/22 16:47 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20211221.1001.025.html

lncRNA PITPNA-AS1 靶向 miR-92a-3p/TCF21 对卵巢癌 OVCAR-3 细胞增殖和侵袭的影响

曾洁,曾友玲,张清,陈说,杨玉,马元学

摘要 目的 探讨长链非编码 RNA PITPNA-AS1 在卵巢癌中的作用及其可能的分子机制。方法 采用荧光实时定量聚合酶链式反应 (qPCR) 技术检测卵巢癌组织和对应的癌旁组织、卵巢癌细胞系和正常卵巢上皮细胞系中 PITPNA-AS1 的表达水平。将 PITPNA-AS1 表达最少的细胞系分为对照组和实验组,分别转染阴性对照质粒或 PITPNA-AS1 质粒。细胞计数实验 (CCK-8) 法和 Transwell 法检测细胞的增殖活性和侵袭能力。生物信息学方法预测和双荧光素酶活性报告基因实验验证 PITPNA-AS1 作用的分子机制。qPCR 和 Western blot 检测 PITPNA-AS1 相互作用的基因表达。结果

PITPNA-AS1 在卵巢癌组织中表达低于癌旁组织 ($P < 0.01$)。PITPNA-AS1 在卵巢癌细胞系中的表达水平均低于正常卵巢上皮细胞 ($P < 0.05$), OVCAR-3 细胞表达最少 ($P < 0.01$)。与对照组比较,过表达 PITPNA-AS1 能抑制 OVCAR-3 细胞的增殖活力 ($P < 0.05$) 和侵袭能力 ($P < 0.01$)。PITPNA-AS1 与 miR-92a-3p 存在靶向关系 ($P < 0.01$), miR-92a-3p 与转录因子 21 (TCF21) 存在靶向关系 ($P < 0.01$)。过表达 PITPNA-AS1 导致 OVCAR-3 细胞中 miR-92a-3p 的表达下降 ($P < 0.01$), TCF21 基因的表达增加 ($P < 0.01$)。结论 PITPNA-AS1 在卵巢癌组织和细胞系中低表达, PITPNA-AS1 可靶向调控 miR-92a-3p/TCF21 抑制卵巢癌

OVCAR-3 细胞的增殖和侵袭。

关键词 PITPNA-AS1; 卵巢癌; miR-92a-3p; 转录因子 21

中图分类号 R 737.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0125-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.024

卵巢癌是一种常见的妇科恶性肿瘤,病死率居妇科肿瘤首位,其发病率近年来呈现上升趋势^[1]。卵巢癌的治疗方式主要包括外科手术治疗和化疗,医疗技术的进步尽管改善了卵巢癌患者的预后,但其五年生存率依然很低,严重威胁女性生命健康^[2]。因此,寻找新的卵巢癌早期诊断标志物和分子治疗靶标对改善患者的预后具有重要意义。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一种转录本长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA^[3]。lncRNA 可在转录水平或者转录后水平影响基因的表达,调控细胞分化、凋亡、衰老等各种生物学行为^[4]。越来越多的研究^[5]表明, lncRNA 在多种肿瘤如卵巢癌、鼻咽癌、甲状腺癌、肝癌等中表达异常,在肿瘤的发生、发展过程中扮演重要角色。研究^[6-7]显示, lncRNA PITPNA-AS1 定位于细胞质,可影响肝癌、肺癌、宫颈癌细胞的增殖、细胞周期、转移、凋亡等。卵巢癌中关于 PITPNA-AS1 的报道很少。该研究通过检测卵巢癌组织和细胞系中 PITPNA-AS1 的表达水平,观察过表达 PITPNA-AS1 后卵巢癌细胞增殖活力和侵袭能力,并进一步预测和验证 PITPNA-AS1 作用的分子机制。

2021-11-01 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81602266)

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:曾洁,女,硕士,主治医师;

曾友玲,女,硕士,副主任医师,责任作者, E-mail: zylwhetyy@126.com

The number of leukocytes in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was counted and the secretion of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in BALF was detected by ELISA. **Results** HE and Sirius red staining showed that the inflammatory cells and the collagen were accumulated in the lung tissue of mice in silicosis model group. After treatment with glycyrrhizin, the accumulation of inflammatory cells and the collagen was ameliorated. Compared with the control group, pause (PAU) and enhanced pause (Penh) increased in the model group ($P < 0.05$). Glycyrrhizin treatment improved the respiratory function in mice. Furthermore, glycyrrhizin also effectively reduced the increase in the content of hydroxyproline, the expression of MCP-1, FN and α -SMA mRNA, the number of leukocytes and the secretion of TGF- β 1 induced by silica treatment in mice ($P < 0.05$). **Conclusion** Glycyrrhizin can improve the pulmonary function and alleviate the fibrosis in mice with silicosis.

Key words silicosis; glycyrrhizin; fibrosis; transforming growth factor- β 1

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本 收集2018年6月—2020年8月在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)妇科接受手术治疗的42例卵巢癌患者的癌组织和癌旁组织。患者年龄38~74(56.42 ± 9.13)岁。组织于液氮罐中保存,所有组织均由该院病理科医师确认,癌组织类型均为浆液性囊腺癌,高分化19例,中低分化23例。国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)分期为I期+II期28例、III期+IV期14例。该研究经华中科技大学同济医学院附属武汉儿童医院医学伦理委员会审核通过,患者均签署知情同意书。

1.1.2 细胞与试剂 人卵巢癌细胞系(HO-8910、A2780、SKOV-3、OVCAR-3、OC3)和正常卵巢上皮细胞系IOSE80均购自中国科学院上海细胞库。miR-92a-3p mimics、miR-NC、PITPNA-AS1过表达质粒、阴性对照质粒、PITPNA-AS1-WildType-Reporter(WT)载体、PITPNA-AS1-Mut-Reporter(Mut)载体、TCF21-WildType-Reporter(WT)载体、TCF21-Mut-Reporter(Mut)载体购自上海吉玛公司。DMEM/F12培养基、胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基购自美国Hyclone公司。Transwell小室购自美国康宁公司。TRIzol试剂盒、Lipofectamine 3000转染试剂盒、Matrigel基质胶购自美国Invitrogen公司。细胞计数实验(cell count kit-8, CCK-8)试剂盒购自大连美仑生物技术有限公司。qPCR试剂盒、RNA逆转录试剂盒购自美国Roche公司。双荧光素酶报告基因试剂盒和一抗(TCF21、CDK6、 β -Tubulin、Cyclin D2、Zeb2、Snail)均购自美国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 常规复苏OVCAR-3、OC3细胞后培养于含10% FBS的RPMI 1640培养基,常规复苏HO-8910、A2780、SKOV-3、IOSE80细胞后培养于含10% FBS的DMEM/F12培养基,在37℃、5%体积分数CO₂的培养箱中培养。将对数生长期的OVCAR-3细胞接种于6孔板,细胞汇合度为50%时,采用脂质体转染技术将PITPNA-AS1或阴性对照质粒转染进OVCAR-3细胞,记为实验组和对照组,转染方法依据Lipofectamine 3000说明书严格操作。收集转染48 h后的细胞用于后续实验。

1.2.2 荧光实时定量聚合酶链反应(qPCR) 采用

TRIzol法提取组织或细胞中总RNA,超微量分光光度计检测RNA的纯度及浓度,采用逆转录试剂盒逆转录RNA为cDNA。建立qPCR扩增体系,qPCR引物序列:PITPNA-AS1上游引物为5'-GCAGGCTG-GATAAAGAGGA-3',下游引物为5'-CCTACTGA-CAGGATGTCCT-3';GAPDH上游引物为5'-AGAAG-GCTGGGGCTCATTTG-3',下游引物为5'-AGGGGC-CATCCACAGTCTTC-3';TCF21上游引物为5'-TC-CTGGCTAACGACAAATACGA-3',下游引物为5'-TTTCCCGGCCACCATAAAGG-3';U6上游引物为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物为5'-ACGCT-TCACGAATTTGCGT-3';miR-92a-3p上游引物为5'-UUAUUGCACUGUCCCGGCCUGU-3',下游引物为5'-CAGTGCGTGTCTGGAGT-3'。采用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法处理数据,以GAPDH为内参分析PITPNA-AS1和TCF21 mRNA的表达水平,以U6为内参分析miR-92a-3p的表达水平。

1.2.3 CCK-8检测OVCAR-3细胞的增殖活性 将转染后的各组OVCAR-3细胞接种于96孔板(3 000个/孔),200 μ l/孔培养基,分别培养1、2、3、4、5 d,在每个时间点分别进行CCK-8法检测时,每孔中加入20 μ l CCK-8试剂,在暗箱中继续培养2 h,在酶标仪上测定450 nm波长处每孔的吸光度(A)值,以A值代表细胞的增殖活性。

1.2.4 Transwell实验检测OVCAR-3细胞的侵袭能力 预铺Matrigel基质胶至Transwell小室上层,在培养箱中凝固。胰酶消化收集转染后的OVCAR-3细胞,无血清培养基制备单细胞悬液,接种于Transwell小室上层(2×10^4 个/孔),每孔200 μ l培养基。在Transwell小室下层加600 μ l含血清培养基。在培养箱中培养24 h,取出Transwell小室,4%多聚甲醛固定20 min,0.1%结晶紫溶液染色20 min。流水冲洗后,采用棉签擦去未穿膜的OVCAR-3细胞。室温下风干后,在光学显微镜下对侵袭细胞数计数。

1.2.5 生物信息学方法预测PITPNA-AS1作用的分子机制 使用starBase v2.0网站预测PITPNA-AS1可相互作用的微小RNA(miRNA)。使用DIANA-microT网站预测miRNA的靶基因。

1.2.6 双荧光素酶报告基因实验 将PITPNA-AS1-WT、PITPNA-AS1-Mut质粒分别与miR-NC、miR-92a-3p共转染至OVCAR-3细胞中,根据双荧光素酶报告基因试剂盒说明书操作,48 h后用化学发光技术测定每组细胞的相对荧光素酶活性,验证miR-92a-3p靶向结合并受PITPNA-AS1调控。将

TCF21-WT、TCF21-Mut 质粒分别与 miR-92a-3p、miR-NC 共转染至 OVCAR-3 细胞中,根据双荧光素酶报告基因试剂盒说明书操作,48 h 后用化学发光技术测定每组细胞的萤火虫荧光素酶活性和海肾荧光素酶活性,相对荧光素酶活性 = 萤火虫荧光素酶活性/海肾荧光素酶活性,验证 miR-92a-3p 靶向结合并可调控 TCF21。

1.2.7 Western blot 检测 在各组细胞中加入 1 ml RIPA 裂解液,冰上裂解 30 min,收集上清液并采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。每孔道加等量蛋白,进行十二烷基聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜后用 5% 脱脂牛奶封闭 3 h,加入均以 1:1 000 比例稀释的一抗,在冰箱内孵育过夜。加入以 1:10 000 比例稀释的二抗孵育 3 h,滴加 ECL 溶液,在化学发光成像系统内显影、拍照,以 β -tubulin 为内参蛋白。采用 Image-Pro Plus 4.0 软件比较蛋白的相对表达水平。

1.3 统计学处理 所有实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PITPNA-AS1 在卵巢癌组织和细胞系中低表达 该研究结果显示,PITPNA-AS1 在卵巢癌组织相对表达低于癌旁组织相对表达,差异有统计学意义 ($t = 14.81, P < 0.01$),见图 1。与正常卵巢上皮 IOSE80 细胞相比,PITPNA-AS1 在人卵巢癌细胞系 (HO-8910、A2780、SKOV-3、OVCAR-3、OC3) 中低表达 ($P < 0.05$),见图 2,以 OVCAR-3 细胞中 PITPNA-AS1 的表达最低 ($P < 0.01$),所以后续实验选该细胞系。

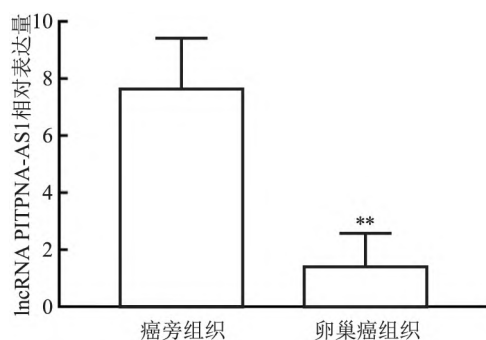


图1 PITPNA-AS1 在卵巢癌组织和癌旁组织中的表达
与癌旁组织比较:** $P < 0.01$

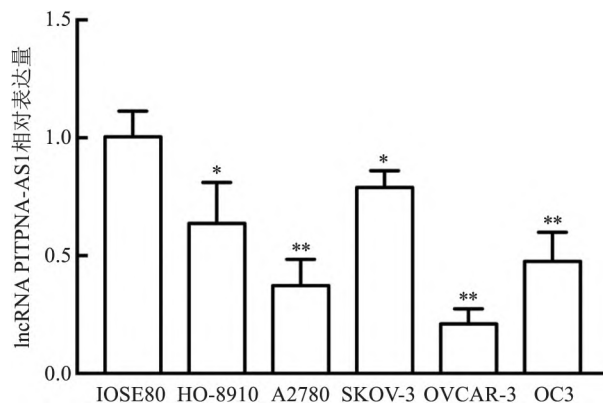


图2 PITPNA-AS1 在正常卵巢上皮细胞和卵巢癌细胞系中的表达
与 IOSE80 细胞比较:* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 转染 PITPNA-AS1 过表达质粒对 OVCAR-3 细胞中 PITPNA-AS1 的表达的影响 该研究显示,PITPNA-AS1 在对照组和实验组 OVCAR-3 细胞中相对表达分别为 (1.01 ± 0.07) 和 (12.12 ± 2.54) ,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),提示 PITPNA-AS1 质粒可有效提高 OVCAR-3 细胞中 PITPNA-AS1 的表达,表明转染成功。

2.3 过表达 PITPNA-AS1 对 OVCAR-3 细胞增殖活性的影响 CCK-8 法检测显示(图 3),接种 2 d 后,对照组 OVCAR-3 细胞吸光度高于实验组 OVCAR-3 细胞 ($P < 0.05$),表明过表达 PITPNA-AS1 能抑制 OVCAR-3 细胞增殖活性。

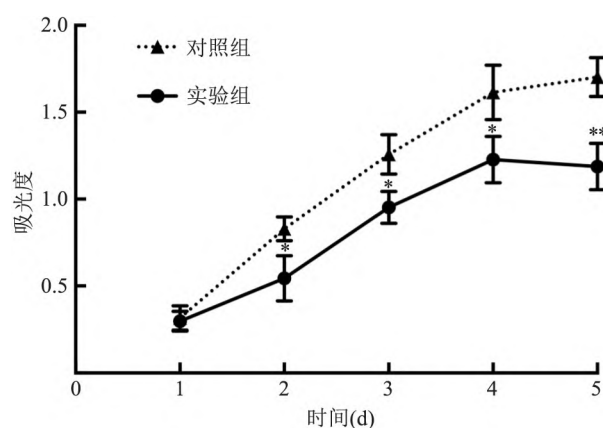


图3 过表达 PITPNA-AS1 对 OVCAR-3 细胞增殖活性的影响
与对照组比较:* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 过表达 PITPNA-AS1 对 OVCAR-3 细胞的侵袭能力影响 Transwell 实验显示(图 4),对照组穿膜细胞数/视野多于实验组穿膜细胞数,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),表明过表达 PITPNA-AS1 能抑制 OVCAR-3 细胞的侵袭能力。

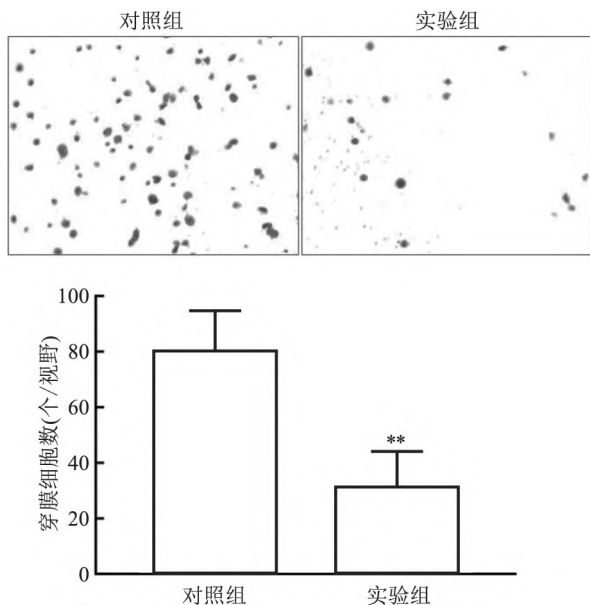


图4 过表达 PITPNA-AS1 表达对 OVCAR-3 细胞侵袭能力的影响 结晶紫染色 $\times 100$
与对照组比较: ** $P < 0.01$

2.5 生物信息学方法预测 PITPNA-AS1 作用的分子机制 如图5,使用 starBase v2.0 网站预测显示,miR-92a-3p 可以与 PITPNA-AS1 的互补序列结合。使用 DIANA-microT 网站预测显示,TCF21 mRNA 可以与 miR-92a-3p 中互补序列结合。

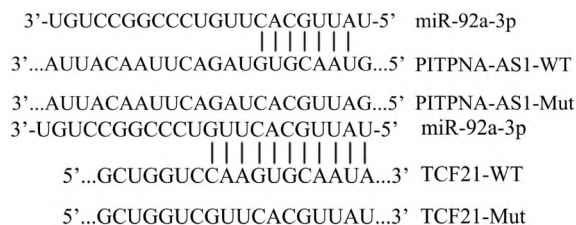


图5 PITPNA-AS1 互补结合 miR-92a-3p 的序列区域及
miR-92a-3p 互补结合 TCF21 mRNA 的序列区域

2.6 双荧光素酶报告基因实验 如图6,共转染 PITPNA-AS1-WT 与 miR-92a-3p 后相对荧光素酶强度较 PITPNA-AS1-WT 与 miR-NC 降低 ($P < 0.01$),定点突变后,共转染 PITPNA-AS1-Mut 与 miR-92a-3p 较 PITPNA-AS1-Mut 与 miR-NC 相对荧光素酶活性差异无统计学意义,表明 PITPNA-AS1 能够靶向结合 miR-92a-3p。如图6,共转染 TCF21-WT 与 miR-92a-3p 后相对荧光素酶强度较 TCF21-WT 与 miR-NC 降低 ($P < 0.01$),定点突变后,共转染 TCF21-Mut 与 miR-92a-3p 较 TCF21-Mut 与 miR-NC

相对荧光素酶活性差异无统计学意义,表明 TCF21 能够靶向结合 miR-92a-3p。

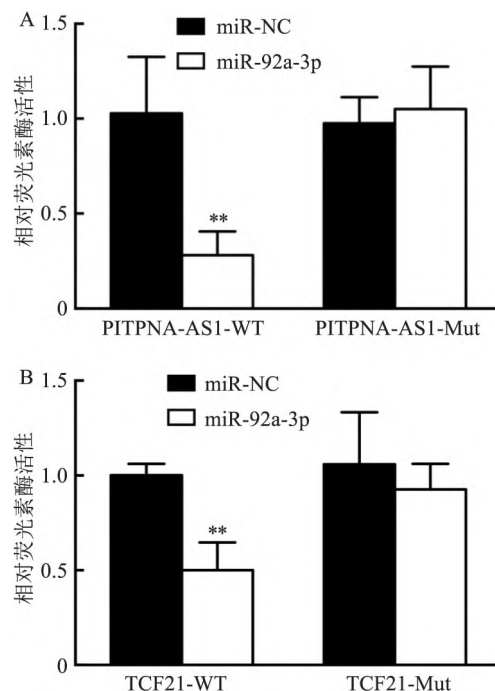


图6 双荧光素酶报告基因实验验证 PITPNA-AS1 作用的分子机制

A: PITPNA-AS1 与 miR-92a-3p 的靶向关系验证; B: miR-92a-3p 与 TCF21 的靶向关系验证; 与 miR-NC 比较: ** $P < 0.01$

2.7 过表达 PITPNA-AS1 的 OVCAR-3 细胞中 miR-92a-3p 和 TCF21 mRNA 的表达情况 本研究显示,对照组 OVCAR-3 细胞中 miR-92a-3p 相对表达 (1.02 ± 0.10) 高于实验组相对表达 (0.35 ± 0.09),差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 对照组 OVCAR-3 细胞中 TCF21 mRNA 相对表达 (1.09 ± 0.24) 低于实验组相对表达 (6.79 ± 1.31),差异有统计学意义 ($P < 0.01$),表明过表达 PITPNA-AS1 能下调 miR-92a-3p 的表达,增加 TCF21 mRNA 的表达。

2.8 过表达 PITPNA-AS1 的 OVCAR-3 细胞中 TCF21 蛋白的表达 该研究采用 Western blot 检测结果显示(图7),过表达 PITPNA-AS1 后,TCF21 蛋白表达增加,细胞增殖相关蛋白 CDK6、Cyclin D2 表达降低,细胞侵袭相关 Zeb2、Snail 表达降低,间接表明卵巢癌细胞的增殖和侵袭被抑制。

3 讨论

lncRNA 在细胞中广泛存在,参与调控各种信号

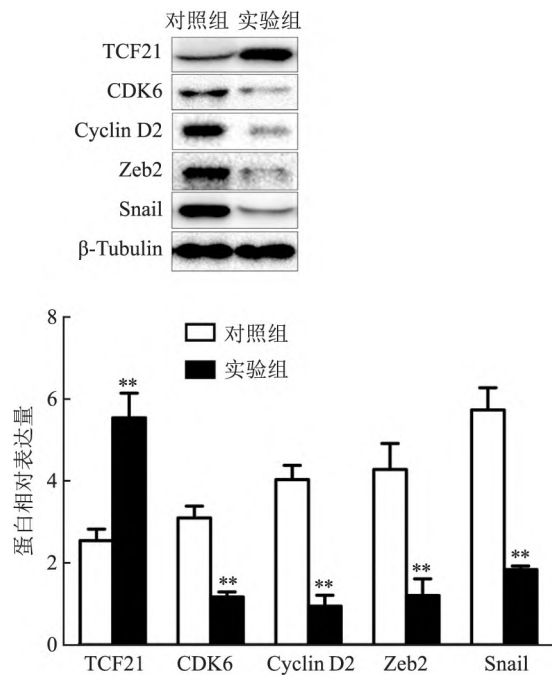


图7 过表达 PITPNA-AS1 对 OVCAR-3 细胞 TCF21 蛋白表达的影响
与对照组比较: ** $P < 0.01$

通路, lncRNA 的异常表达与心血管疾病、自身免疫系统、肿瘤等多种疾病的发生有关^[8]。TPT1-AS1^[3]、FAM83H-AS1^[5]、KCNQ1OT1^[8]等 lncRNA 已被研究证实可影响卵巢癌细胞的增殖、迁移、凋亡、侵袭等生物学行为,在卵巢癌的发生、发展中起到重要作用。Ren et al^[7]研究发现, PITPNA-AS1 在非小细胞肺癌组织和细胞系中高表达,沉默 PITPNA-AS1 可抑制非小细胞肺癌细胞的增殖和转移能力,并促进细胞凋亡。同一个 lncRNA 在不同的肿瘤中可发挥不同的作用,既可表现为癌基因作用,也可表现为抑癌基因作用^[9]。PITPNA-AS1 在卵巢癌中的表达和功能尚不明确。该研究结果表明,与癌旁组织和正常卵巢上皮细胞系比较, PITPNA-AS1 在卵巢癌组织和细胞系中的表达降低,提示 PITPNA-AS1 可能参与卵巢癌的发生和发展。该研究通过 CCK-8、Transwell 实验证实, PITPNA-AS1 对卵巢癌 OVCAR-3 细胞增殖和侵袭具有抑制作用,提示 PITPNA-AS1 在卵巢癌中表现为抑癌基因作用。

微小 RNA (miRNA) 是一类长度约为 18 ~ 24 个核苷酸的小分子单链 RNA,可在转录后水平特异性结合靶基因信使 RNA (mRNA) 的 3' 非翻译区,诱导靶基因 mRNA 降解或者直接抑制其翻译^[10]。lncRNA 可通过竞争性结合 miRNA 促进靶基因 mRNA

的表达, lncRNA-miRNA-靶基因 mRNA 是 lncRNA 发挥功能的重要机制^[9]。该研究采用 starBase v2.0 网站预测显示, PITPNA-AS1 可能互补结合 miR-92a-3p。miR-92a-3p 是 miRNA 家族一员。Li et al^[11]研究发现, miR-92a-3p 在食管鳞状细胞癌组织和细胞系中高表达, miR-92a-3p 可促进食管鳞状细胞癌细胞的增殖、迁移和侵袭,抑制其凋亡, miR-92a-3p 表现为癌基因作用。与正常组织相比, miR-92a-3p 在卵巢癌组织中的表达较高^[12]。双荧光素酶报告基因实验显示 PITPNA-AS1 可互补结合 miR-92a-3p。过表达 PITPNA-AS1 后, miR-92a-3p 表达降低,提示 PITPNA-AS1 可能在卵巢癌细胞中竞争性结合 miR-92a-3p。

该研究采用 DIANA-microT 网站预测显示, miR-92a-3p 可能互补结合 TCF21 mRNA。TCF21 基因定位于染色体 6q23-q24, 是一种新近发现的抑癌基因^[13]。TCF21 蛋白属于基本螺旋环螺旋转录因子家族,研究表明 TCF21 在卵巢癌、胃癌、肺癌、乳腺癌等肿瘤中低表达,过表达 TCF21 可抑制肿瘤细胞的增殖和转移^[14-15]。该研究双荧光素酶报告基因实验显示 miR-92a-3p 可互补结合 TCF21 mRNA。miR-92a-3p 表达下调后, TCF21 基因的表达增加,提示 miR-92a-3p 在卵巢癌细胞中的靶基因是 TCF21。TCF21 蛋白表达增加后,细胞增殖相关蛋白 CDK6、Cyclin D2 表达降低,细胞侵袭相关 Zeb2、Snail 表达降低,间接提示卵巢癌细胞的增殖和侵袭被抑制。

综上所述, PITPNA-AS1 在卵巢癌组织及细胞系中低表达,上调 PITPNA-AS1 通过竞争性结合 miR-92a-3p,增加 TCF21 基因的表达,从而抑制卵巢癌 OVCAR-3 细胞的增殖活性和侵袭能力, PITPNA-AS1 可能是卵巢癌潜在的诊疗靶标。

参考文献

- [1] Chen Y, Bi F, An Y, et al. Identification of pathological grade and prognosis-associated lncRNA for ovarian cancer [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(9): 14444 - 54.
- [2] Xu L, Wu Y, Che X, et al. Cox-LASSO analysis reveals a ten-lncRNA signature to predict outcomes in patients with high-grade serous ovarian cancer [J]. DNA Cell Biol, 2019, 38(12): 1519 - 28.
- [3] Wu W, Gao H, Li X, et al. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression [J]. Cancer Sci, 2019, 110(5): 1587 - 98.
- [4] 赵玉红, 高阳, 赵洪卫, 等. lncRNA FEZF1-AS1 在胶质瘤中的表达水平及其生物学功能 [J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(5): 767 - 71.

- [5] Gong Y B, Zou Y F. Clinical significance of lncRNA FAM83H-AS1 in ovarian cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(11): 4656–62.
- [6] Sun J, Zhang Y, Li B, et al. PITPNA-AS1 abrogates the inhibition of miR-876-5p on WNT5A to facilitate hepatocellular carcinoma progression[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 844.
- [7] Ren P, Xing L, Hong X, et al. LncRNA PITPNA-AS1 boosts the proliferation and migration of lung squamous cell carcinoma cells by recruiting TAF15 to stabilize HMGB3 mRNA[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(20): 7706–16.
- [8] Luo Z P, Jin H. Effects of lncRNA KCNQ10T1 on proliferation and migration of ovarian cancer cells by Wnt/ β -catenin[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(20): 8788–94.
- [9] Li J, Zhang S, Wu L, et al. Interaction between lncRNA-ROR and miR-145 contributes to epithelial-mesenchymal transition of ovarian cancer cells[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2019, 38(6): 461–71.
- [10] 王礼贤, 胡月阳. 血浆外泌体源性 miRNA-188-5p 与 miRNA-4741 在子宫内膜异位症中诊断价值[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(7): 1126–9.
- [11] Li X, Guo S, Min L, et al. miR-92a-3p promotes the proliferation, migration and invasion of esophageal squamous cell cancer by regulating PTEN[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 973–81.
- [12] Bignotti E, Calza S, Tassi R A, et al. Identification of stably expressed reference small non-coding RNAs for microRNA quantification in high-grade serous ovarian carcinoma tissues[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(12): 2341–8.
- [13] Zhao Y, Dong X, Hou R. lncRNA PICART1 alleviates progression of cervical cancer by upregulating TCF21[J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(6): 3719–24.
- [14] Mokkalapati S, Porten S P, Narayan V M, et al. TCF21 promotes luminal-like differentiation and suppresses metastasis in bladder cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(6): 811–21.
- [15] Ao X, Ding W, Zhang Y, et al. TCF21: a critical transcription factor in health and cancer[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2020, 98(8): 1055–68.

Effect of lncRNA PITPNA-AS1 targeting miR-92a-3p/TCF21 on the proliferation and invasion of ovarian cancer OVCAR-3 cells

Zeng Jie, Zeng Youling, Zhang Qing, Chen Shuo, Yang Yu, Ma Yuanxue

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

Abstract Objective To explore the role of long non-coding RNA PITPNA-AS1 in ovarian cancer and its possible molecular mechanism. **Methods** Fluorescence real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) technology was used to detect the expression level of PITPNA-AS1 in ovarian cancer tissues and corresponding adjacent tissues, ovarian cancer cell lines and normal ovarian epithelial cell lines. The cell lines with the least expression of PITPNA-AS1 were divided into control group and experimental group, and transfected with negative control plasmid or PITPNA-AS1 plasmid respectively. Cell counting (CCK-8) method and Transwell method were used to detect cell proliferation activity and invasion ability. Bioinformatics methods and dual luciferase activity reporter gene experiments predicted and verified the molecular mechanism of PITPNA-AS1. qPCR and Western blot were used to detect the gene expression of PITPNA-AS1 interaction. **Results** The expression of PITPNA-AS1 in ovarian cancer tissues was lower than that in adjacent tissues ($P < 0.01$). The expression level of PITPNA-AS1 in ovarian cancer cell lines was lower than that in normal ovarian epithelial cells ($P < 0.05$), and the expression in OVCAR-3 cells was the least ($P < 0.01$). Compared with the control group, overexpression of PITPNA-AS1 could inhibit the proliferation activity ($P < 0.05$) and invasion ability ($P < 0.01$) of OVCAR-3 cells. PITPNA-AS1 had a targeting relationship with miR-92a-3p ($P < 0.01$), and miR-92a-3p had a targeting relationship with transcription factor 21 (TCF21) ($P < 0.01$). Overexpression of PITPNA-AS1 caused a decrease in the expression of miR-92a-3p in OVCAR-3 cells ($P < 0.01$), and an increase in the expression of TCF21 gene ($P < 0.01$). **Conclusion** PITPNA-AS1 is lowly expressed in ovarian cancer tissues and cell lines. PITPNA-AS1 can inhibit the proliferation and invasion of ovarian cancer OVCAR-3 cells through targeted regulation of miR-92a-3p/TCF21.

Key words PITPNA-AS1; ovarian cancer; miR-92a-3p; transcription factor 21