

# 基质硬化相关 lncRNA SNHG8 调控卵巢癌化疗敏感性



程子娜<sup>1</sup>, 马晓璐<sup>1,2</sup>, 张全有<sup>1</sup>, 陈维毅<sup>1</sup>

1. 太原理工大学 生物医学工程学院 (太原 030024)

2. 中国科学院大学 动物研究所 (北京 100101)

**【摘要】** 细胞外基质 (ECM) 对癌症进展和化疗敏感性至关重要。卵巢癌死亡率高、预后差, 严重威胁着女性生命健康。但目前 ECM 硬度对卵巢癌长链非编码 RNA (lncRNAs) 表达谱和化疗抗性的调控作用尚不清楚。因此, 本研究通过分析不同基质硬度卵巢癌细胞转录组数据, 发现基质硬化导致大量 lncRNAs 表达上调, 但 SNHG8 表达显著下调, 并利用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 水凝胶培养的卵巢癌细胞进行验证。研究发现敲低 SNHG8 降低了同源重组修复效率以及卵巢癌细胞对依托泊苷和顺铂的敏感性。GEPIA 数据分析显示, SNHG8 在卵巢癌组织中显著下调, 其表达水平与卵巢癌患者预后呈负相关。本研究显示基质硬化相关 lncRNA SNHG8 与卵巢癌化疗敏感性和预后密切相关, 可望作为指导卵巢癌化疗用药和预测预后的分子标志物。

**【关键词】** 基质硬度; 长链非编码 RNA; SNHG8; 卵巢癌; 化疗敏感性

## Matrix stiffening related lncRNA SNHG8 regulates chemosensitivity of ovarian cancer

CHENG Zina<sup>1</sup>, MA Xiaolu<sup>1,2</sup>, ZHANG Quanyou<sup>1</sup>, CHEN Weiyi<sup>1</sup>

1. College of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, P. R. China

2. Institute of Zoology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, P. R. China

Corresponding author: MA Xiaolu, Email: maxiaolu@tyut.edu.cn

**【Abstract】** Extracellular matrix (ECM) has been implicated in tumor progress and chemosensitivity. Ovarian cancer brings a great threat to the health of women with a significant feature of high mortality and poor prognosis. However, the potential significance of matrix stiffness in the pattern of long non-coding RNAs (lncRNAs) expression and ovarian cancer drug sensitivity is still largely unknown. Here, based on RNA-seq data of ovarian cancer cell cultured on substrates with different stiffness, we found that a great amount of lncRNAs were upregulated in stiff group, whereas SNHG8 was significantly downregulated, which was further verified in ovarian cancer cells cultured on polydimethylsiloxane (PDMS) hydrogel. Knockdown of SNHG8 led to an impaired efficiency of homologous repair, and decreased cellular sensitivity to both etoposide and cisplatin. Meanwhile, the results of the GEPIA analysis indicated that the expression of SNHG8 was significantly decreased in ovarian cancer tissues, which was negatively correlated with the overall survival of patients with ovarian cancer. In conclusion, matrix stiffening related lncRNA SNHG8 is closely related to chemosensitivity and prognosis of ovarian cancer, which might be a novel molecular marker for chemotherapy drug instruction and prognosis prediction.

**【Key words】** Matrix stiffness; Long non-coding RNA; SNHG8; Ovarian cancer; Chemosensitivity

## 0 引言

卵巢癌 (ovarian cancer, OC) 是最常见且死亡率最高的妇科恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。由于缺乏可靠灵敏的早期诊断方法, 超过 75% 的患者确诊时已经处于晚

期<sup>[2]</sup>。尽管手术切除、放化疗和分子靶向药物等治疗在一定程度上能够缓解患者病情, 卵巢癌的 5 年生存率仍然较差<sup>[3]</sup>。以往对卵巢癌的研究和治疗方案主要靶向癌细胞<sup>[4]</sup>, 很大程度上忽略了卵巢微环境的影响。研究表明, 人类卵巢排卵和伤口愈合的

DOI: 10.7507/1001-5515.202205038

基金项目: 国家自然科学基金项目 (11632103, 31800684, 11872263); 中国博士后科学基金 (2021M703206)

通信作者: 马晓璐, Email: maxiaolu@tyut.edu.cn

反复炎症过程中细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 胶原蛋白会发生过度沉积及构象变化, 引起 ECM 硬度增加, 导致卵巢纤维化<sup>[5]</sup>。纤维化不仅是诱发卵巢癌的关键因素, 还严重影响着卵巢癌的化疗耐药和预后<sup>[6]</sup>, 但临床上尚没有用于缓解或者逆转卵巢纤维化的治疗方法, ECM 硬度调控卵巢癌发生发展的功能及其内在机制仍知之甚少。

ECM 不仅能够支撑细胞结构, 还可以响应多种机械信号如张力、压力和剪切力的改变, 从而调控基因表达<sup>[7]</sup>。研究表明, ECM 硬度的增加会促进上皮-间充质转化过程 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 导致癌细胞的浸润和转移<sup>[6]</sup>。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是指长度大于 200 个核苷酸、不具有蛋白编码能力的 RNA<sup>[8]</sup>, 它在调控基因表达、细胞分化、细胞周期等多种生命过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。越来越多的研究发现, lncRNA 表达失调会影响 EMT, 进而调控肿瘤的发生发展<sup>[6]</sup>。例如, HOTAIR、MALAT1、lncROR 和 H19 等多个 lncRNA 被报道在肿瘤中表达上调并促进 EMT, 与肿瘤预后呈负相关<sup>[9]</sup>。因此, 聚焦 ECM 硬度, 寻找卵巢癌细胞 lncRNA 标志物, 对防治卵巢癌和保护女性生殖健康具有重要意义。

本研究基于不同基质硬度卵巢癌细胞系 SKOV3 的转录组数据, 揭示基质硬化相关的卵巢癌 lncRNA 表达谱, 并对差异 lncRNAs 共表达的 mRNA 进行 GO 功能富集分析, 利用 RT-PCR、shRNA 敲低、CCK8 等实验及 GEPIA 数据库进行验证, 探究基质硬化相关 lncRNA 在化疗敏感性及预后方面的价值, 从而为指导卵巢癌的化疗用药和预测预后提供新的分子标志物。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验试剂

卵巢癌细胞系 SKOV3、HO-8910 和 A2780 以及人胚肾细胞 HEK293T (来源于 ATCC 细胞库), 置于含有 10% 胎牛血清 (Biowest, 乌拉圭) 的 RPMI-1640 或者 DMEM 培养基 (BI), 37 °C 培养箱中培养 (5% CO<sub>2</sub>)。

### 1.2 数据来源

从 Gene Expression Omnibus (GEO) 数据库中下载 GSE178888 数据集原始数据。该数据集基于 Illumina NovaSeq 6000 平台测序, 包括在不同基质硬度 (0.5、25、106 kPa) 生长的卵巢癌细胞系 SKOV3 的转录组测序结果。

### 1.3 数据筛选

对于差异表达基因 (differentially expressed genes, DEG) 的分析, 使用 R 语言中的 limma 包, 以差异倍数 2 倍 ( $|\log_2FC| > 1$ ,  $P < 0.05$ ) 为标准, 获取差异表达基因并利用 R 包 ggplot2 作图。对于 GO (gene ontology) 富集分析, 以  $P < 0.05$  为标准, 用 clusterProfiler R packages 分析所有差异表达基因, 获得显著差异的信号通路。对于共表达分析, 选取在 0.5 kPa 组、106 kPa 组的所有差异 lncRNA 和 mRNA, 纳入共表达分析网络, 根据皮尔森相关系数选取  $|PCC| > 0.95$  和校正后  $P < 0.05$  的 lncRNA 和 mRNA 对。

### 1.4 不同硬度基质的制备

按照文章报道的方法<sup>[6]</sup>, 我们使用聚二甲基硅氧烷 (polydimethylsiloxane, PDMS) (SYLGARD184, 道康宁) 制备两种不同硬度基质: 按质量比 40 : 1 (Stiff) 和 60 : 1 (Moderate) 在 PDMS 前驱物 A 剂中加入 B 剂 (固化剂), 充分混匀, 排除气泡。将制备的 PDMS 混合液导入 60 mm 培养皿中, 静置 1 h 后 70 °C 烘烤 4~6 h。然后在皿内加入 0.2 mg/mL 的 I 型胶原溶液 (C8062, 索莱宝), 4 °C 孵育过夜, 紫外线照射 2 h 后用 PBS 清洗 3 次用于接种细胞。

### 1.5 实时荧光定量 PCR (RT-PCR)

将细胞接种于不同硬度 PDMS 基底培养皿 72 h 后, 提取总 RNA (TRizol 法, 全式金), 并反转录成 cDNA (AU341, 全式金), -20 °C 保存。按照实时荧光定量试剂盒 (AQ601, 全式金) 说明操作, 验证候选 lncRNAs 的表达情况。设计 RT-PCR 引物序列如下: NEAT1-F: AGTGATGTGGAGTTAA GCGCG; NEAT1-R: CGGGCTTACCAGATGAC CAG; LINC00894-F: GGGGCTACTTTGTAAA CCAC; LINC00894-R: AAATGAAAACCTCAGAG AACAGAC; LINC02535-F: AAGGAGCTCTGTT CTCCAGG; LINC02535-R: GCCTCTATGTAGG GCGCTTT; SNHG8-F: ATCCAAGTGGTAA TGGGCGAAG; SNHG8-R: AATAGGTGTCCTG ATA ACTTCC; GAPDH-F: TGTGGGCATCAAT GGATTTGG; GAPDH-R: ACACCATGTATTCC GGGTCAAT。

### 1.6 同源重组修复效率分析

DR-U2OS 细胞是一种含有 GFP 报告基因的同源重组 (homologous recombination, HR) 修复报告系统<sup>[10]</sup>。I-SceI 酶切导致 SceGFP 内部产生 DNA 双链断裂, 若利用 iGFP 进行 HR 修复, 则细胞表达

GFP 绿色荧光。针对候选 lncRNA, 分别设计一对 shRNA 寡核苷酸(上海捷瑞生物工程有限公司, 中国), 然后退火克隆到 pLKO.1 空载体上, 构建 shRNA-NEAT1、shRNA-LINC00894、shRNA-LINC02535、shRNA-SNHG8 和 shRNA-NC 病毒载体。利用 HEK293T 细胞包装上述 shRNA 病毒, 并感染 DR-U2OS 细胞。24 h 后, 用 I-SceI 限制性内切酶的病毒感染敲低候选 lncRNA 的 DR-U2OS 细胞, 48 h 后用流式细胞术分析表达 GFP 的阳性细胞比例。shRNA 引物序列如下:

shNEAT1-F: TAGAGAAAAGTCCAAAAGGA  
GCTCGAGCTCCTTTTGGACTTTTCTCTA;  
shNEAT1-R: TAGAGAAAAGTCCAAAAGGA  
GCTCGAGCTCCTTTTGGACTTTTCTCTA;  
shLINC00894-F: GAAGTGTGTGTGGCTGGAA  
GCTCGAGCTTCCAGCCACACACTTCC;  
shLINC00894-R: GAAGTGTGTGTGGCTGGAA  
GCTCGAGCTTCCAGCCACACACTTTC;  
shLINC02535-F: GCCGATTGTCACAAAGAT  
CTCGAGATCTTTGTGACAATCGGC;  
shLINC02535-R: GCCGATTGTCACAAAGAT  
CTCGAGATCTTTGTGACAATCGGC;  
shSNHG8-F: AGGTGGTCCGTGATAATTAAGCTCG  
AGTTTAATTATCACGGACCACCT;  
shSNHG8-R: AGGTGGTCCGTGATAATTAAGCTCG  
AGTTTAATTATCACGGACCACCT。

### 1.7 药物敏感性

用 shRNA 病毒感染细胞, 敲低候选 lncRNA 24 h 后将细胞种到 96 孔板(5 000 个/孔)。敲低 48 h 后, 用化疗药物依托泊苷(etoposide, ETO)或者顺铂(cisplatin, CDDP)处理细胞 24 h, 然后加入 CCK8 试剂, 2~4 h 后用酶标仪检测吸光值(OD450)。

### 1.8 统计学分析

采用 PRISM 软件(Graphpad Software Inc.)进行双尾 *t* 检验。*P* 值保留小数点后 4 位, 检验水准为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 基质硬度调控卵巢癌细胞 lncRNAs 表达

为了探究不同基质硬度卵巢癌细胞中的 lncRNA 表达情况及其相关功能, 首先对不同基质硬度(Soft 组: 0.5 kPa; Moderate 组: 25 kPa; Stiff 组: 106 kPa)卵巢癌细胞系 SKOV3 转录组数据(RNA-Seq)进行基因表达主成分分析(principal

component analysis, PCA)。结果显示, 三种不同基质硬度培养的 SKOV3 细胞有较好的区分度, 重复性较好(见图 1a)。利用 R 软件的 limma 包筛选不同基质硬度 SKOV3 细胞的差异表达 lncRNAs 发现, 基质变软或者变硬均会导致细胞内 lncRNAs 表达发生明显变化。Soft 组与 Moderate 组的 lncRNAs 表达更为相似, 而 Stiff 组 lncRNA 的表达谱与 Soft 组和 Moderate 组显著不同(见图 1b)。以 Moderate 组为对照, Soft 组有 35 个差异表达 lncRNAs(包括 28 个上调 lncRNAs, 7 个下调 lncRNAs)(见图 1c), Stiff 组有 174 个差异表达 lncRNAs(包括 165 个上调 lncRNAs, 9 个下调 lncRNAs)(见图 1d)。进一步地, 我们对 Soft 和 Stiff 组的所有差异表达 lncRNAs 进行差异表达基因的共表达分析和 GO 功能注释。结果显示, 基质硬度变化显著影响了卵巢癌细胞的二价无机阳离子平衡、内质网、胶原合成与代谢、平滑肌细胞增殖、内质网细胞分化、质膜黏附分子介导的亲水性细胞黏附、细胞外结构重塑和 ECM 重塑等生命过程(见图 1e)。以上结果表明, 基质硬化导致大量 lncRNAs 的表达上调, 基质硬度的确参与了调控卵巢癌细胞 lncRNAs 的表达并影响卵巢癌细胞的多种生物学过程。

### 2.2 基质硬化相关 lncRNAs 验证

如图 2a 所示, 与 Moderate 组相比, Stiff 组差异表达 lncRNA(174 个)的数量明显高于 Soft 组(35 个), 而两组共有差异表达 lncRNA 仅有 8 个。已知肿瘤的发生发展常常伴随着 ECM 硬化, 为了筛选可能参与应答卵巢癌 ECM 硬度增加的 lncRNAs, 我们首先比较了 Stiff 组 174 个差异表达 lncRNAs 的 reads 数目, 从中筛选出 28 个表达量较高(raw count>100)的 lncRNAs(包括 26 个上调 lncRNAs, 2 个下调 lncRNAs)。通过分析 26 个上调 lncRNAs 的差异表达倍数(|log<sub>2</sub>FC|), 从 Top 10 表达上调 lncRNAs 中挑选出了 2 个上调 lncRNAs(NEAT1 和 LINC00894), 与上述 2 个下调 lncRNAs(LINC02535 和 SNHG8)作为 4 个候选 lncRNAs 用于后续研究(见图 2b)。我们利用 PDMS 制备 Moderate(60:1)和 Stiff(40:1)两种不同硬度的水凝胶, 培养卵巢癌细胞 SKOV3 72 h 后, 收集总 RNA 并采用 RT-PCR 技术进一步验证基质硬化对候选 lncRNAs(NEAT1、LINC00894、LINC02535 和 SNHG8)表达的调控作用。如图 2c 所示, SKOV3 细胞在两种硬度 PDMS 基底上形态良好、增殖正常。与 Moderate 组相比, Stiff 组

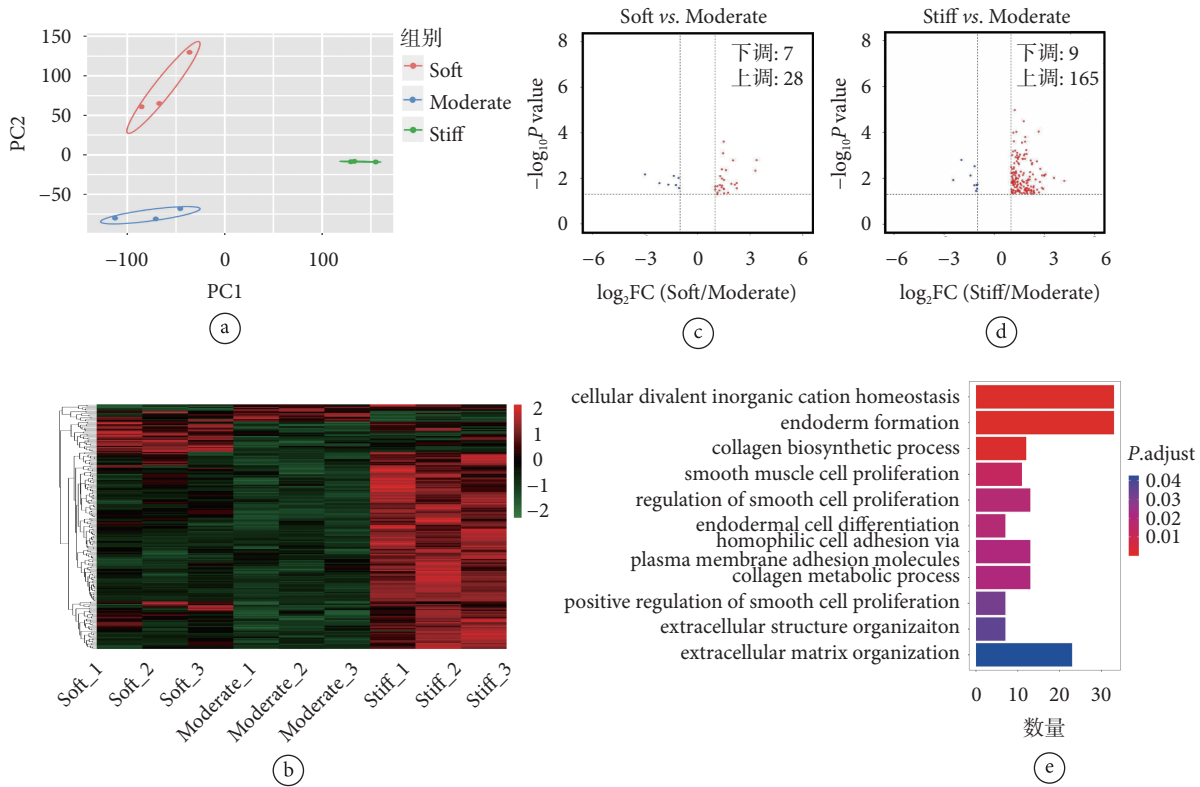


图 1 基质硬度对卵巢癌 lncRNA 表达的调控 a. PCA 分析; b. 差异 lncRNA 热图; c. Soft 组 (c) 和 Stiff 组 (d) 差异表达 lncRNAs 火山图; e. 差异表达 lncRNAs 共表达的 DEG GO 功能富集

Fig.1 Regulation of matrix stiffness on lncRNA expression in ovarian cancer a. PCA analysis; b. heat map of differentially expressed lncRNAs; volcanic plots of differentially expressed lncRNAs in Soft group (c) and Stiff group (d) respectively; e. GO enrichment analysis of the DEGs correlated with differentially expressed lncRNAs

中 NEAT1 和 LINC00984 显著上调, LINC02535 和 SNHG8 明显下调 (见图 2d), 该结果与 RNA-Seq 结果一致, 验证了 RNA-Seq 测序和分析的重复性和准确性。此外, 我们将卵巢癌细胞 A2780 和 HO8910 在上述两种硬度的 PDMS 基底培养 72 h 后, 发现 4 个候选 lncRNAs 的表达变化与 SKOV3 细胞的结果一致 (见图 2e~f)。

### 2.3 lncRNA SNHG8 调控卵巢癌化疗敏感性

目前治疗癌症的化疗药物多为 DNA 损伤试剂, 可以损伤肿瘤细胞 DNA, 例如造成 DNA 双链断裂 (double-strand break, DSB), 进而诱发癌细胞凋亡。已知 HR 修复是细胞内修复 DSB 损伤的主要通路, 我们首先构建了候选 lncRNAs 的 shRNA 病毒载体, 利用 shRNA 在 HR 报告系统中分别敲低候选 lncRNAs (见图 3a~b)。结果显示, 敲低 LINC00894、LINC02535 和 SNHG8 均导致细胞内 GFP 阳性细胞比例显著降低, 而敲低 NEAT1 则没有明显变化 (见图 3c~d), 暗示 LINC00894、LINC02535 和 SNHG8 促进 HR 通路, 很有可能调控 DSB 修复进程进而影响化疗药物的治疗效果。

依托泊苷作为临床上治疗卵巢癌的有效药物, 它主要通过 DNA 拓扑异构酶 II 结合, 导致细胞内产生 DSB 达到抗肿瘤的效果。为了进一步探究基质硬化相关 lncRNAs 是否影响卵巢癌化疗敏感性, 我们在 SKOV3 细胞中分别敲低候选 lncRNAs, 48 h 后用 ETO 处理, 发现敲低 SNHG8 显著降低了 SKOV3 对 ETO 药物的敏感性, 而 NEAT1、LINC00894 和 LINC02535 敲低的 SKOV3 细胞对 ETO 敏感性没有明显改变 (见图 4a)。此外, 我们还发现 SNHG8 下调导致 SKOV3 细胞对顺铂的敏感性也显著降低 (见图 4b)。与 SKOV3 细胞结果一致, 在卵巢癌细胞系 A2780 和 HO-8910 中敲低 SNHG8 同样导致细胞对 ETO 和 CDDP 的敏感性显著降低 (见图 4c~d)。以上结果说明, 基质硬化相关 lncRNA SNHG8 表达下调严重降低了化疗药物 ETO 和 CDDP 对卵巢癌的抗肿瘤效果, 暗示 lncRNA SNHG8 可能与卵巢癌化疗耐药的产生相关。

### 2.4 lncRNA SNHG8 与卵巢癌预后呈负相关

通过 GEPIA 数据库分析, 我们发现相比于正常组织, SNHG8 在卵巢癌中的表达确实显著下降 (见图 5a), 与基质硬度的增加导致 SNHG8 表达下

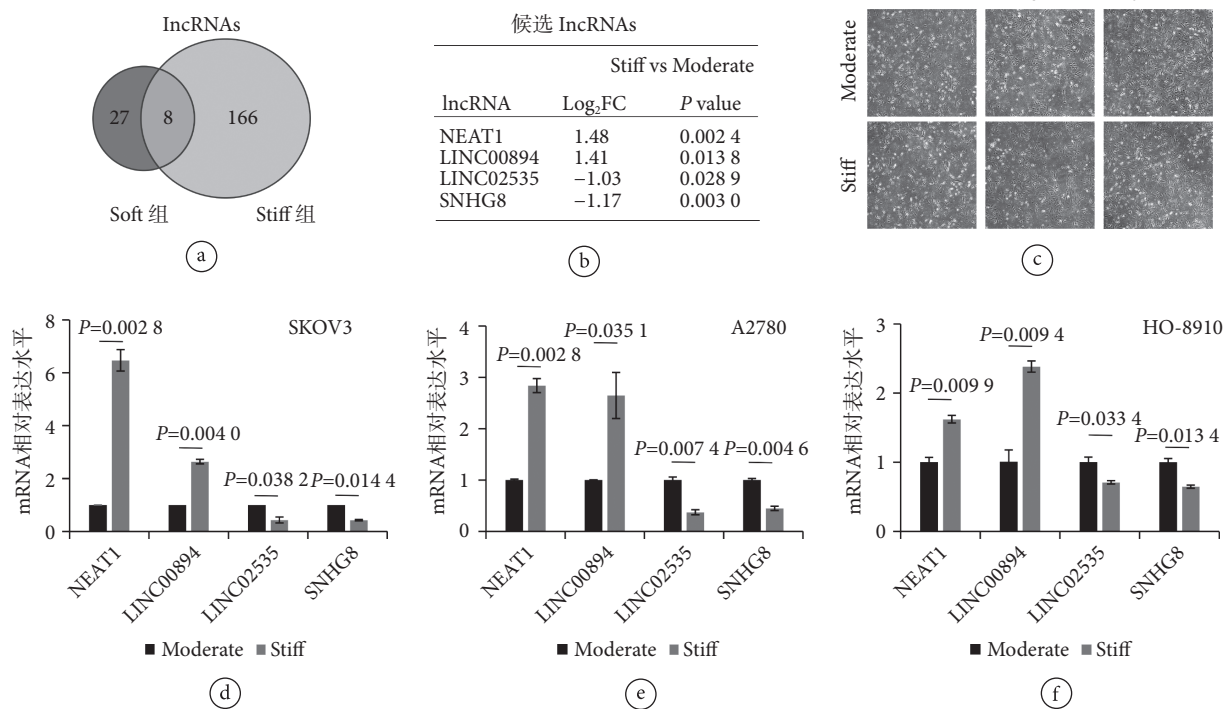


图2 基质硬化相关 lncRNAs 的验证 a. Stiff组和Soft组差异表达 lncRNAs 韦恩图; b. 基质硬化相关的候选 lncRNAs; c. 不同硬度PDMS基底培养的SKOV3细胞; 候选 lncRNAs 在不同硬度PDMS基底培养的SKOV3 (d)、A2780 (e)和HO-8910 (f)中的表达水平

Fig.2 Validation of matrix stiffness related lncRNAs a. Venn diagrams of differentially expressed lncRNAs in Stiff and Soft groups; b. candidate lncRNAs related to matrix stiffness; c. SKOV3 cells cultured in PDMS substrates with different stiffness; gene expression levels of candidate lncRNAs in SKOV3 (d), A2780 (e) and HO8910 (f) cells cultured in PDMS substrates with different stiffness

调一致 (见图 2d~f)。此外, 如图 5b 所示, 与 SNHG8 低表达卵巢癌患者相比, SNHG8 高表达卵巢癌患者的生存期明显缩短 ( $P=0.011$ ), 暗示基质硬化相关 lncRNA SNHG8 很有可能作为一个新的卵巢癌预后分子标志物。

### 3 讨论

卵巢纤维化是诱发卵巢癌的关键因素<sup>[11]</sup>, 其特点是 ECM 硬化<sup>[12]</sup>。ECM 硬化引起的 EMT 还会导致肿瘤细胞化疗耐药性的产生<sup>[13]</sup>。研究报道, ECM 硬度可以通过 Hippo 通路不依赖的方式调控 YAP 蛋白入核进而促进癌细胞增殖<sup>[14-15]</sup>。基质变软会引起铂类化疗药物耐药相关基因 ERBB2、BCL-2、MAP3K5、PIK3R1 和 BIRC3 的表达显著升高, 导致卵巢癌细胞 SKOV3 对顺铂的敏感性降低<sup>[16]</sup>。另外, 越来越多 lncRNAs 被报道调控肿瘤增殖和转移等过程<sup>[17-19]</sup>。例如, MALAT1 是目前研究最清楚的肿瘤相关 lncRNA<sup>[20]</sup>, 它通过激活 Wnt/ $\beta$ -catenin、EMT、PI3K/AKT 和 ERK/MAPK 多种通路同时促进肿瘤的发生发展<sup>[21]</sup>。虽然 ECM 硬度已经成为直接影响卵巢癌进展和化疗敏感性的重要因素<sup>[22]</sup>, 但是目前 ECM 硬度对卵巢癌 lncRNA 表达谱的影响尚

不清楚, 基质硬化相关 lncRNAs 对卵巢癌化疗抗性的具体影响也仍未可知。

以 Moderate (25 kPa) 组为对照, 基质变软对整体 lncRNA 的表达影响不大, 仅有少量 lncRNAs 表达发生变化。而基质硬度的增加则引起了大量 lncRNAs 表达上调和少量 lncRNAs 下调, 这与肿瘤发生过程中常常伴随着基质硬度的增加和大量基因的表达上调相一致<sup>[13]</sup>。同时, 基质硬度调控的差异表达 lncRNA 主要参与胶原合成代谢、平滑肌细胞增殖、ECM 重塑等生物过程。

lncRNA SNHG8 是一种小的核仁 RNA<sup>[23]</sup>, 不仅参与转录、翻译、RNA 剪切等多种生物学过程<sup>[24]</sup>, 还与多种恶性肿瘤的发生密切相关, 包括非小细胞肺癌<sup>[25]</sup>、胃癌<sup>[26]</sup>、胰腺癌<sup>[27]</sup>、乳腺癌<sup>[28]</sup>等。最近, SNHG8 被报道能够激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路<sup>[29]</sup>促进卵巢癌进展, 沉默 SNHG8 能显著抑制卵巢癌细胞增殖、迁移和 EMT 等过程<sup>[30]</sup>。我们发现 SNHG8 参与应答卵巢癌基质硬度的变化, 基质硬化导致其表达显著下调, 说明 SNHG8 与卵巢纤维化和卵巢癌的发生密切相关, 有可能作为卵巢癌早期诊断的分子标志物, 对防治卵巢癌和保护女性生殖健康具有重要意义。敲低 SNHG8 不仅降低了卵

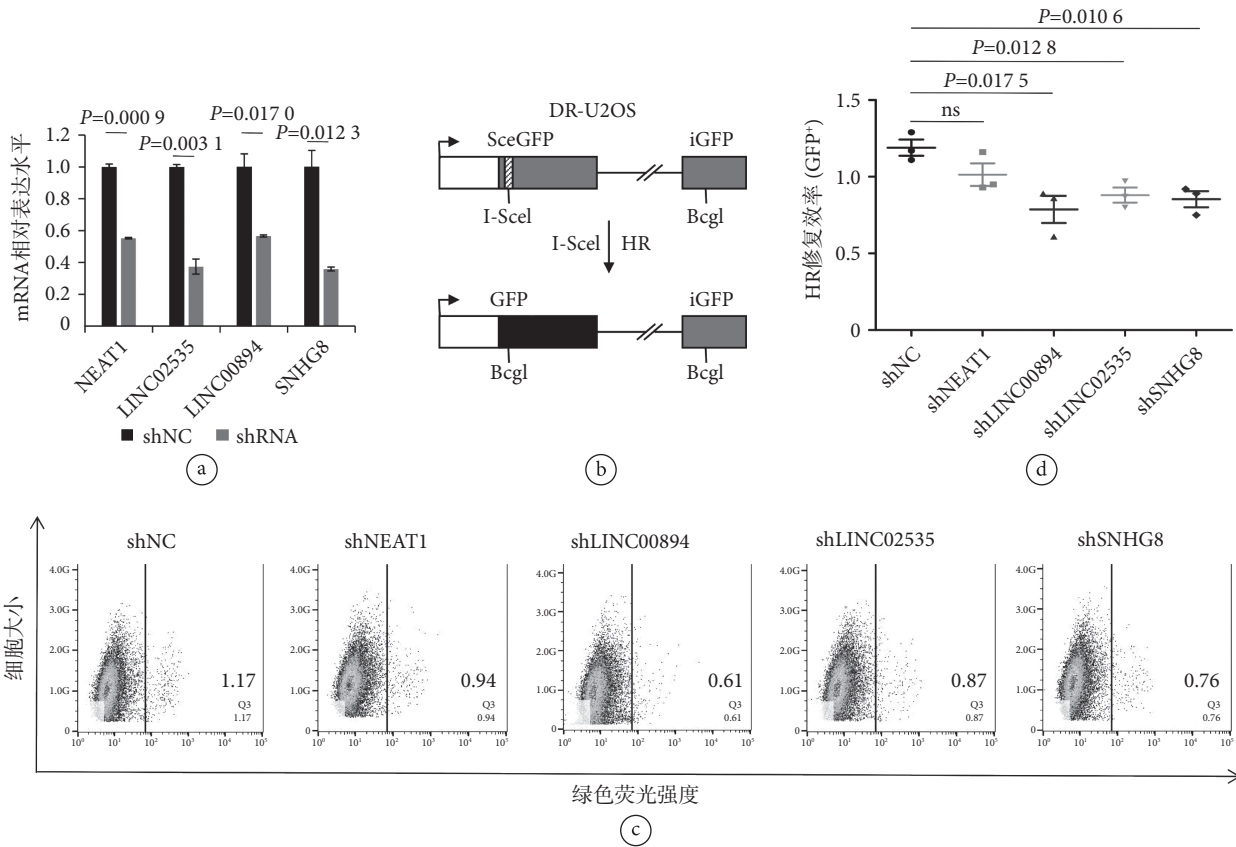


图3 LINC00894、LINC02535 和 SNHG8 参与 HR 修复 a. 候选 lncRNAs 的 shRNA 敲低效果; b. HR 报告系统示意图; c. GFP 阳性细胞的流式细胞术代表图; d. HR 修复效率

Fig.3 LINC00894, LINC02535 and SNHG8 participate in HR repair a. gene expression levels of candidate lncRNAs after shRNA transfection; b. schematic diagram of HR reporter; c. representative images of GFP-positive cells analyzed by flow cytometry; d. LINC00894, LINC02535 and SNHG8 knockdown impairs HR repair

卵巢癌细胞 HR 的修复效率, 还导致卵巢癌细胞对化疗药物 ETO 和 CDDP 的敏感性明显降低, 暗示 SNHG8 参与 HR 修复, 并与卵巢癌化疗耐药呈负相关, 但其在 DSB 损伤修复中的具体功能和分子机制值得进一步深入研究。

#### 4 结论

本研究成功分析出基质硬化相关的卵巢癌 lncRNAs 表达谱, 筛选出基质硬化相关的关键 lncRNA SNHG8。SNHG8 在基质硬化过程和卵巢癌组织中的表达均显著下降。SNHG8 敲低显著降低了细胞 HR 修复效率以及对化疗药物 ETO 和 CDDP 的敏感性。同时, SNHG8 的表达水平与卵巢癌患者的生存期呈负相关。

#### 重要声明

利益冲突说明: 本文全体作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 程子娜是本研究的实验设计者及实验研究的执行人, 负责数据收集、数据分析、论文写作; 马晓璐参与本研究的实验设计, 数据分析, 论文写作; 张全有参与

本研究的实验设计; 陈维毅是本研究的构思者及负责人, 指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。

#### 参考文献

- 1 Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2017. CA Cancer J. Clin, 2015, 60(1): 277-300.
- 2 Zhang Q, Ding J, Wang Y, et al. Tumor microenvironment manipulates chemoresistance in ovarian cancer. Oncol Rep, 2022, 47(5): 1-7.
- 3 Gogineni V, Morand S, Staats H, et al. Current ovarian cancer maintenance strategies and promising new developments. J CANCER, 2021, 12(1): 38-53.
- 4 马丁. 卵巢癌研究进展与规范化治疗. 中国实用妇科与产科杂志, 2021, 37(6): 601-604.
- 5 Kinoshita T, Goto T. Molecular mechanisms of pulmonary fibrogenesis and its progression to lung cancer: A review. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 1461.
- 6 Schrader J, Gordon-Walker T T, Aucott R L, et al. Matrix stiffness modulates proliferation, chemotherapeutic response, and dormancy in hepatocellular carcinoma cells. Hepatology, 2011, 53(4): 1192-1205.
- 7 于淑婷, 张怡, 朱佳润, 等. CECMAtlas 1.0: 人类肿瘤相关的细胞外基质基因数据库. 中国生物化学与分子生物学报, 2021, 37(2): 207-213.

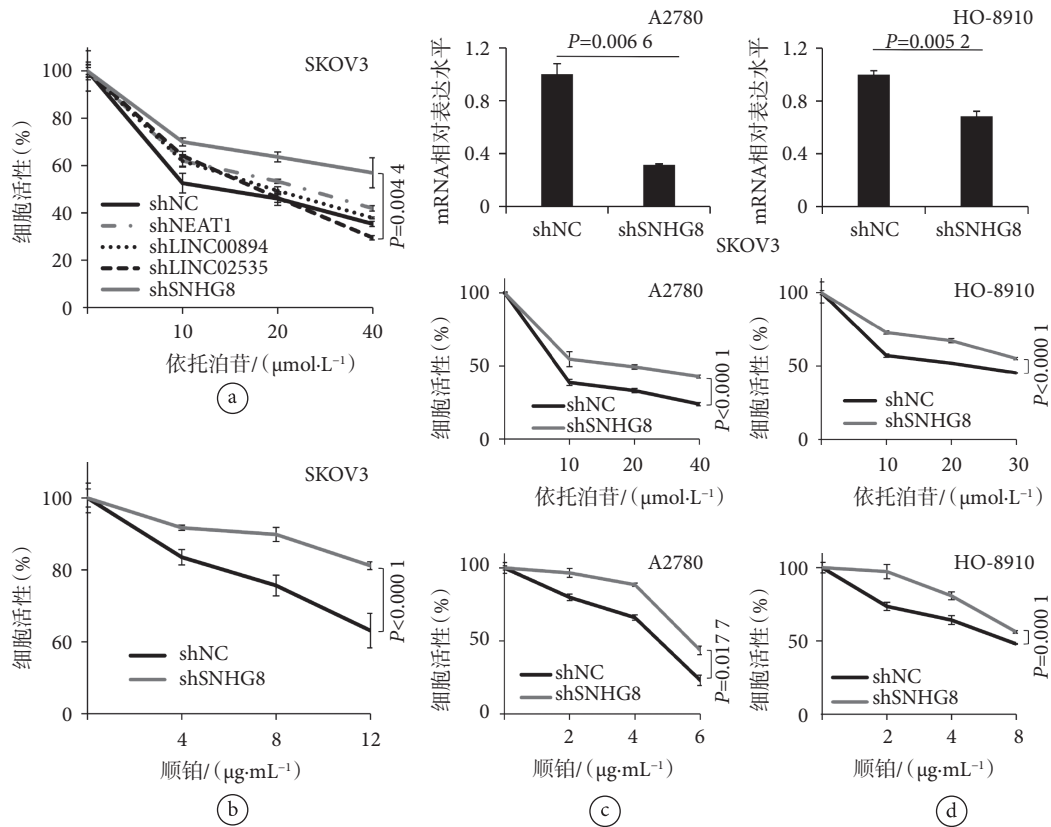


图4 SNHG8 调控卵巢癌对依托泊苷 (ETO) 和顺铂 (CDDP) 的化疗敏感性 敲低 SNHG8 降低 SKOV3 细胞对 ETO (a) 和 CDDP (b) 的敏感性; c. 敲低 SNHG8 降低 A2780 细胞对 ETO 和 CDDP 的药物敏感性; d. 敲低 SNHG8 降低 HO-8910 细胞对 ETO 和 CDDP 的药物敏感性

Fig.4 SNHG8 regulates chemotherapy sensitivity of ovarian cancer to etoposide (ETO) and cisplatin (CDDP) SNHG8 knockdown impairs the cellular sensitivity of SKOV3 to ETO (a) and CDDP (b); c. SNHG8 knockdown impairs the cellular sensitivity of A2780 to ETO and CDDP; d. SNHG8 knockdown impairs the cellular sensitivity of HO-8910 to ETO and CDDP

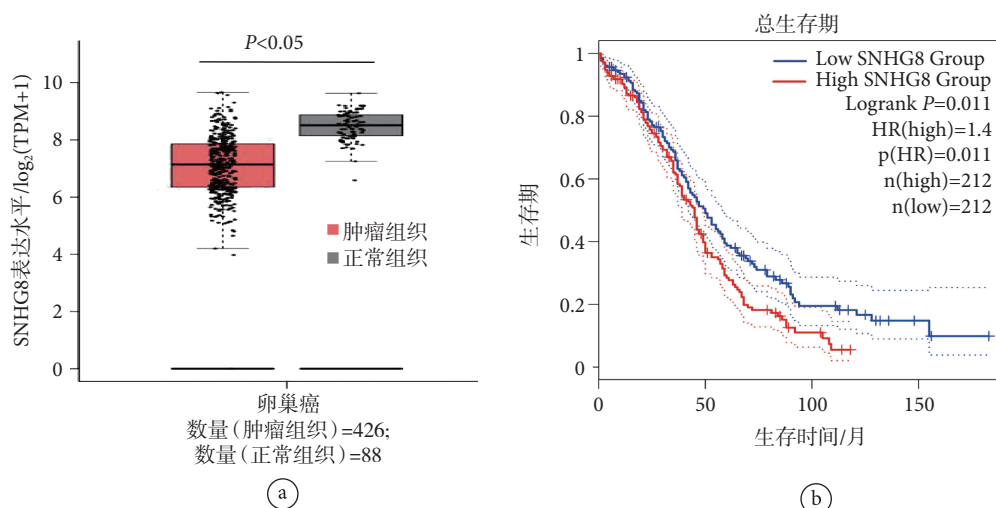


图5 GEPIA 分析 a. 正常组织和肿瘤组织中的 SNHG8 表达水平; b. SNHG8 与卵巢癌生存期呈负相关

Fig.5 GEPIA analysis a. expression levels of SNHG8 in normal and tumor tissues; b. SNHG8 is negatively correlated with the overall survival of ovarian cancer

8 McCabe EM, Rasmussen TP. LncRNA involvement in cancer stem cell function and epithelial-mesenchymal transitions. *Semin Cancer*, 2021, 75: 38-48.  
 9 原佳沛, 张浩文, 鲁志. 新型长链非编码RNA(lncRNA)的生物信

息学研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2013, 40(7): 634-640.  
 10 Bing X, Sheng Q, Nakanishi K, *et al.* Control of BRCA2 cellular and clinical functions by a nuclear partner, PALB2. *Mol Cell*, 2006, 22(6): 719-729.

- 11 Landry D A, Vaishnav H T, Vanderhyden BC. The significance of ovarian fibrosis. *Oncotarget*, 2020, 11(47): 4366-4370.
- 12 Ames J J, Caron J M, Contois L, *et al.* Abstract 1480: Regulation of ovarian tumor growth and stromal cell infiltration by the HU177 biomechanical ECM switch. *Cancer Res*, 2012, 72(8 Supplement): 1480-1480.
- 13 Rice A J, Cortes E, Lachowski D, *et al.* Matrix stiffness induces epithelial–mesenchymal transition and promotes chemoresistance in pancreatic cancer cells. *Oncogenesis*, 2017, 6(7): e352.
- 14 Dupont S, Morsut L, Aragona M, *et al.* Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, 474(7350): 179-183.
- 15 Aragona M, Panciera T, Manfrin A, *et al.* A mechanical checkpoint controls multicellular growth through YAP/TAZ regulation by actin-processing factors. *Cell*, 2013, 154(5): 1047-1059.
- 16 Fan Y, Sun Q, Li X, *et al.* Substrate stiffness modulates the growth, phenotype, and chemoresistance of ovarian cancer cells. *Front Cell Dev Biol*, 2021: 2263.
- 17 Wu X , Cao X B , F Chen. LncRNA-HOTAIR activates tumor cell proliferation and migration by suppressing MiR-326 in cervical cancer. *Oncol Res*, 2017.
- 18 Bian Z, Zhang J, Min L, *et al.* 1 LncRNA—FEZF1-AS1 promotes tumor proliferation and metastasis in 2 colorectal cancer by regulating PKM2 signaling. *Clin Cancer Res*, 2018: clincanres.2967.2017-.
- 19 Ou L, Wang D, Zhang H, *et al.* Decreased expression of MiR-138-5p by lncRNA H19 in cervical cancer promotes tumor proliferation. . *Oncol Res*, 2017, 26(3): 401.
- 20 Dong Y, Liang G, Yuan B, *et al.* MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by activating the PI3K/Akt pathway. *Tumor Biol*, 2015, 36(3): 1477.
- 21 Liu J, Peng W X, Mo Y Y, *et al.* MALAT1-mediated tumorigenesis. *Front Biosci*, 2017, 22: 66-80.
- 22 Oien D B, Chien J, Cheng N. Regulation of chemo-sensitivity in ovarian cancer via a stroma dependent glutathione pathway. *Transl Cancer Res*, 2016, 5(S3): S514-S519.
- 23 Xuan L, Sun Z, Wang J, *et al.* lncRNA SNHG8 promotes ovarian cancer progression through serving as sponge for miR70 to regulate S100A11 expression. *J Gene Med*, 2021.
- 24 Huang T, Ji Y, Hu D, *et al.* SNHG8 is identified as a key regulator of epstein-barr virus(EBV)-associated gastric cancer by an integrative analysis of lncRNA and mRNA expression. *Oncotarget*, 2016, 7(49).
- 25 Chen C, Zhang Z, Li J, *et al.* SNHG8 is identified as a key regulator in non-small-cell lung cancer progression sponging to miR-542-3p by targeting CCND1/CDK6 [Erratum].*Oncotargets Ther*, 2018, Volume 11: 8013-8014.
- 26 Lin Y, Hu D, Zhou Q, *et al.* The fasting blood glucose and long non-coding RNA SNHG8 predict poor prognosis in patients with gastric carcinoma after radical gastrectomy. *Aging*, 2018, 10(10): 2646-2656.
- 27 Song Y, Zou L, Li J, *et al.* LncRNA SNHG8 promotes the development and chemo-resistance of pancreatic adenocarcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2018, 22(23): 8161-8168.
- 28 Xu Xianyun, Xie Qiongjun, Xie Mingfeng, *et al.* LncRNA SNHG8 serves as an oncogene in breast cancer through miR-634/ZBTB20 Axis. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 3017-3028.
- 29 Clevers H, Nusse R. Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling and disease. *Cell*, 2012, 149(6): 1192-1205.
- 30 Miao W, Lu T, Liu X, *et al.* LncRNA SNHG8 induces ovarian carcinoma cells cellular process and stemness through Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Cancer Biomark*, 2020, 28(4): 1-13.

收稿日期: 2022-05-13 修回日期: 2022-12-25

本文编辑: 李蓓兰