

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

LncRNA PCAT-1调控STAT3与PTEN表达降低宫颈癌细胞对顺铂的敏感度

毛雪宝, 王秀虹

引用本文:

毛雪宝, 王秀虹. LncRNA PCAT-1调控STAT3与PTEN表达降低宫颈癌细胞对顺铂的敏感度[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(9): 833-838.

MAO Xuebao, WANG Xiuhong. LncRNA PCAT-1 Reduces Sensitivity of Cervical Carcinoma Cells to Cisplatin by Regulating STAT3 and PTEN Expression[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2021, 48(9): 833-838.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2021.21.0148>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

茯苓多糖对人宫颈癌HeLa细胞增殖、迁移、促凋亡的影响及其机制

Effects of Pachymaran on Proliferation, Migration and Pro-apoptosis of Human Cervical Carcinoma HeLa Cells and Its Mechanism
肿瘤防治研究. 2019, 46(08): 707-713 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1960>

靶向CD24分子3E10增强肝癌HuH-7细胞的化疗敏感度

3E10 Targeting CD24 Enhances Chemotherapy Sensitivity of Hepatocellular Carcinoma HuH-7 Cells
肿瘤防治研究. 2018, 45(08): 540-544 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1484>

HPV16-E6上调MIF对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响

HPV16-E6 Influences Growth and Apoptosis of Cervical Cancer Cells Through Upregulation of MIF
肿瘤防治研究. 2018, 45(07): 468-474 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1406>

宫颈癌细胞中 Δ Np63 α 的MicroRNA表达谱及其对hsa-let-7b-3p的调控机制

MicroRNA Expression Profile of Δ Np63 α in Cervical Cancer Cells and Its Regulation Mechanism on hsa-let-7b-3p
肿瘤防治研究. 2018, 45(03): 138-143 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.0542>

松萝抗癌活性部位对人泌尿生殖系统肿瘤的抑制作用

Anticancer Effects of Usnea Diffracta Vain Bioactive Fraction on Human Urogenital Cancers
肿瘤防治研究. 2017, 44(6): 403-408 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.16.0509>



杂志官网



微信公众号

LncRNA PCAT-1调控STAT3与PTEN表达降低宫颈癌细胞对顺铂的敏感度

毛雪宝, 王秀虹

LncRNA PCAT-1 Reduces Sensitivity of Cervical Carcinoma Cells to Cisplatin by Regulating STAT3 and PTEN Expression

MAO Xuebao, WANG Xiuhong

Department of Gynecology, The Center Hospital of Xianning City, The First Affiliated Hospital of Hubei College of Science and Technology, Xianning 437100, China

Abstract: Objective To investigate the role and regulatory mechanism of lncRNAs PCAT-1 in the sensitivity of cervical cancer cells to DDP. **Methods** The expressions of PCAT-1 in human cervical cancer cell lines (HeLa and SiHa) and DDP-resistant cell lines (HeLa/DDP and SiHa/DDP) were analyzed by real-time PCR. After PCAT-1 silencing and overexpression in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells, CCK-8 and flow cytometry were used to detect cell viability ability and cell cycle, respectively. Western blot was used to detect the protein expression of STAT3 and PTEN. **Results** The DDP resistance index of HeLa/DDP cells to HeLa cells was 4.49, while that of SiHa/DDP cells to SiHa cells was 6.87. The expression levels of PCAT-1 in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells were significantly higher than those in HeLa and SiHa cells, respectively ($P < 0.05$). The overexpression of PCAT-1 reduced the sensitivity of HeLa/DDP and SiHa/DDP cells to DDP, enhanced the proportion of S phase in cell cycle, and decreased the proportion of G_0-G_1 and G_2-M phases ($P < 0.05$). The silencing of PCAT-1 increased the sensitivity of HeLa/DDP and SiHa/DDP cells to DDP, decreased the proportion of S phase in the cell cycle, and enhanced the proportion of G_0-G_1 and G_2-M phase ($P < 0.05$). Overexpression of PCAT-1 promoted STAT3 protein expression but inhibited PTEN protein expression in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells ($P < 0.05$). The silencing of PCAT-1 inhibited STAT3 protein expression but promoted PTEN protein expression in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells ($P < 0.05$). **Conclusion** PCAT-1 is upregulated in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells. PCAT-1 reduces the sensitivity of HeLa/DDP and SiHa/DDP cells to DDP by upregulating the expression of STAT3 and downregulating the expression of PTEN.

Key words: lncRNAs; PCAT-1; Cervical cancer cells; DDP; Sensitivity

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 研究lncRNAs PCAT-1在宫颈癌细胞顺铂 (DDP) 耐药中的作用及调控机制。**方法** 荧光定量PCR分析PCAT-1在人宫颈癌细胞株 (HeLa与SiHa) 与DDP耐药细胞株 (HeLa/DDP与SiHa/DDP) 中的表达。在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中干扰与过表达PCAT-1, CCK-8与流式细胞术分别检测细胞生存能力及周期。蛋白质印迹法检测STAT3与PTEN的蛋白表达。**结果** HeLa/DDP细胞对HeLa细胞的DDP耐药指数为4.49, 而SiHa/DDP细胞对SiHa细胞的DDP耐药指数为6.87。PCAT-1在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中的表达水平分别高于HeLa与SiHa细胞 ($P < 0.05$)。过表达PCAT-1可降低HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞对DDP的敏感度, 升高细胞周期中S期比例, 并降低 G_0-G_1 与 G_2-M 期比例 ($P < 0.05$)。干扰PCAT-1可增加HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞对DDP的敏感度, 降低S期比例, 并升高 G_0-G_1 与 G_2-M 期比例 ($P < 0.05$)。过表达PCAT-1促进HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中STAT3蛋白表达而抑制PTEN蛋白表达 ($P < 0.05$)。干扰PCAT-1抑制HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中STAT3蛋白表达而促进PTEN蛋白表达 ($P < 0.05$)。**结论** PCAT-1在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中表达上调, PCAT-1通过上调STAT3与下调PTEN表达降低上述细胞对DDP的敏感度。

关键词: 长链非编码RNA; PCAT-1; 宫颈癌细胞; 顺铂; 敏感度

中图分类号: R711.74; R737.33

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

宫颈癌 (cervical cancer) 是全球最常见的妇科恶性肿瘤之一, 位于女性癌症相关死亡原因第四位^[1]。由于缺乏早期的临床症状, 宫颈癌早期诊断率较低, 患者的五年生存率仅为30%~50%^[2]。

收稿日期: 2021-02-05; 修回日期: 2021-07-12

作者单位: 437100 咸宁, 咸宁市中心医院 (湖北科技学院附属第一医院) 妇科

作者简介: 毛雪宝 (1973-), 女, 本科, 副主任医师, 主要从事妇科肿瘤相关临床与基础研究

宫颈癌临床治疗方法主要包括手术切除、放疗与化疗。化疗已经成为晚期患者的首要治疗方法,但肿瘤细胞对化疗的耐药性极大地降低了临床治疗效果^[3]。因此,研究宫颈癌细胞的化疗耐药形成机制具有重要意义。研究发现,前列腺癌相关转录本1 (prostate cancer-related transcript 1, PCAT-1) 是一种在前列腺癌中高表达的长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA), 具有促进肿瘤发生与进展的功能^[4]。另有研究表明, PCAT-1在头颈部鳞状细胞癌中表达上调, 并促进细胞增殖与抑制细胞凋亡^[5]。此外, Ma等^[6]研究发现干扰PCAT-1表达显著降低宫颈癌细胞的增殖、转移和侵袭能力。目前, 尚无研究报道PCAT-1在宫颈癌细胞顺铂 (DDP) 耐药中的生物学作用及潜在的调控机制。本研究拟在人宫颈癌DDP耐药细胞株 (HeLa/DDP与SiHa/DDP) 中干扰与过表达PCAT-1, 观察细胞生存能力及细胞周期的变化, 并检测信号转导子与转录激活子3 (signal transducer and transcriptional activator 3, STAT3) 与磷酸酶张力蛋白同源物 (phosphatase tensin homolog, PTEN) 蛋白表达水平的变化, 以期阐明宫颈癌细胞DDP耐药机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

人宫颈癌细胞株HeLa与SiHa、HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞株均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。所有细胞采用含10% FBS的RPMI 1640培养基、37℃含5% CO₂的培养箱培养。

1.2 细胞转染

pcDNA3.1载体、pcDNA3.1-PCAT-1载体、PCAT-1小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) (si-PCAT-1-1#与si-PCAT-1-2#) 和对应的阴性对照siRNA (si-control-1#与si-control-2#) 购自中国上海GenePharma公司。细胞干扰实验分为空白对照组、阴性对照siRNA组与PCAT-1 siRNA组。细胞过表达实验分为空白对照组、pcDNA3.1载体组与pcDNA3.1-PCAT-1载体组。当HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞融合度约80%时, 利用Lipofectamine 2000试剂 (Invitrogen, 美国) 转染适量的载体或寡核苷酸片段至HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞。48 h后, 收集细胞并检测PCAT-1表达。

1.3 荧光定量PCR实验

利用TRIzol试剂 (Invitrogen, 美国) 提取细胞中的总RNA。利用PrimeScript™RT试剂盒

(TaKaRa, 日本) 合成cDNA。然后在ABI 7300 HT检测系统 (Biosystems, 美国) 上使用SYBR-Premix Ex Taq™ II试剂盒 (Takara, 日本) 进行荧光定量PCR实验。条件为: 95℃持续20 s, 随后进行40个如下循环: 94℃持续15 s, 58℃持续30 s, 72℃持续30 s。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 为内参基因校正目的基因PCAT-1的表达。实验设计3个复孔, 并重复3次。引物序列如下: PCAT-1正向: 5'-TTGTGGAAGCCCCGCAAGGCC-3', 反向: 5'-TGTGGGGCCTGCACTGGCAC-3'; GAPDH正向: 5'-CATGTTTCGTCATGGGTGTGAAC-3', 反向: 5'-AGTGATGGCATGGACTGTGG-3'。

1.4 CCK-8检测

将转染后的HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞按5 000个/孔的密度接种到96孔板中。培养24 h后, 分别将0、0.03、0.10、0.30、1.00、3.00、10.00、30.00和100.00 μg/ml DDP加入到细胞中, 37℃下孵育48 h, CCK-8测定评估细胞生存能力。随后添加12 μl CCK-8溶液至每孔, 37℃下孵育4 h, 采用ELx800分光光度计 (BioTek Instruments, 美国) 测量各孔在490 nm处的吸光度。DDP半数抑制浓度 (IC₅₀) 定义为抑制50%细胞生存能力所需的DDP浓度。

1.5 流式细胞术检测

HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞转染48 h后, 通过胰蛋白酶消化收集细胞, PBS缓冲液洗涤两次, 4℃下70%乙醇固定过夜。再次PBS洗涤, 室温, 50 μg/ml碘化丙锭染色细胞12 min。荧光激活细胞分选法 (BD Biosciences, 美国) 测量细胞周期, ModFit软件 (Bio-Rad Laboratories, 美国) 分析G₀-G₁、S及G₂-M期细胞比例。

1.6 蛋白质印迹法检测

收集转染48 h细胞并使用RIPA蛋白裂解液 (碧云天生物技术, 中国) 提取总蛋白。12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (碧云天生物技术, 中国) 分离蛋白质, 转移至聚偏二氟乙烯膜 (Millipore, 美国) 上, 常温下5%脱脂牛奶中封闭2 h, 随后将膜与特异性一抗 (STAT3与PTEN) 在4℃下孵育过夜, TBST缓冲液 (碧云天生物技术, 中国) 洗涤3次, 并在室温下与相应的二抗孵育1 h。所有一抗与二抗均购自美国Abcam公司。利用增强的化学发光试剂盒 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 进行显色。以GAPDH为内参蛋白, 并利用Tanon 3500/3500R凝胶成像系统 (Tanon Science and Technology, 美国) 校正STAT3与PTEN蛋白表

达水平。

1.7 统计学方法

所有实验独立重复三次。使用SPSS 23.0软件进行统计学分析。实验结果表示为平均值±标准差。两组间比较使用*t*检验，三组间比较采用单因素方差分析。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HeLa、SiHa、HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中DDP *IC*₅₀值

HeLa/DDP和HeLa细胞中DDP *IC*₅₀分别为(27.46±3.97)和(6.12±1.50) μg/ml, 差异有统计学意义(*P*<0.001), 见图1A。HeLa/DDP对HeLa的DDP耐药指数为4.49。SiHa/DDP和SiHa细胞中DDP的*IC*₅₀分别为(33.05±4.21)和(4.81±1.77) μg/ml, 差异有统计学意义(*P*<0.001), 见图1B。SiHa/DDP对SiHa的DDP耐药指数为6.87。

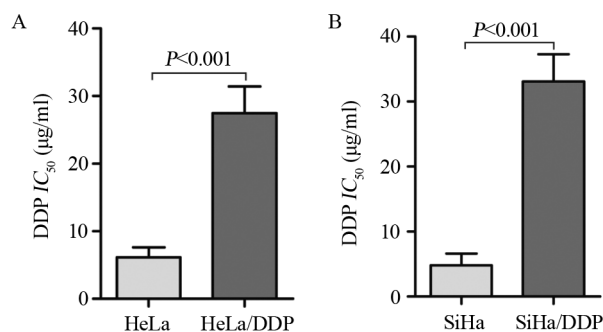


图1 HeLa与HeLa/DDP细胞(A)、SiHa与SiHa/DDP细胞(B)中DDP *IC*₅₀值

Figure 1 DDP *IC*₅₀ in HeLa and HeLa/DDP cells(A), SiHa and SiHa/DDP cells(B)

2.2 PCAT-1在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中表达上调

与HeLa细胞相比, HeLa/DDP细胞中PCAT-1表达水平显著上调(*P*=0.032)。与SiHa细胞相比, SiHa/DDP细胞中PCAT-1表达水平显著上调(*P*=0.009), 见图2。

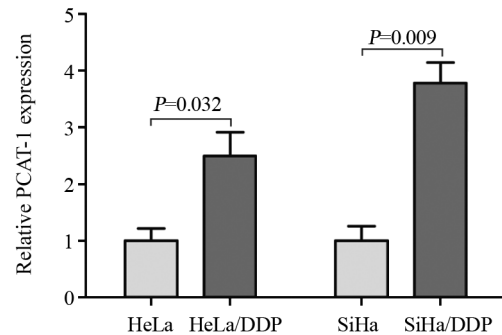


图2 PCAT-1在HeLa与HeLa/DDP细胞、SiHa与SiHa/DDP细胞中的表达

Figure 2 PCAT-1 expression in HeLa and HeLa/DDP cells, SiHa and SiHa/DDP cells

2.3 HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中过表达与干扰PCAT-1

与空白对照组及pcDNA3.1载体组相比, pcDNA3.1-PCAT-1载体组HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中内源性PCAT-1表达水平显著升高(均*P*<0.001), 见图3A。与空白对照组及si-control-1#组相比, si-PCAT-1-1#组HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中内源性PCAT-1表达水平显著降低(*P*=0.014, *P*=0.020), 见图3B。与空白对照组及si-control-2#组相比, si-PCAT-1-2#组HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中内源性PCAT-1表达水平显著降低(*P*=0.046, *P*=0.021), 见图3C。因为si-PCAT-1-1#的干扰效率高于si-PCAT-1-2#, 因此选择si-PCAT-1-1#进行后续细胞功能实验。

2.4 过表达与干扰PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞DDP *IC*₅₀的影响

空白对照组与pcDNA3.1载体组HeLa/DDP细胞DDP *IC*₅₀分别为(27.05±4.69)与(27.23±5.21) μg/ml, 而pcDNA3.1-PCAT-1载体组HeLa/DDP细胞DDP *IC*₅₀为(34.88±6.16) μg/ml, 差异有统计学意义(*P*=0.037), 见图4A。HeLa/DDP细胞中pcDNA3.1-PCAT-1载体组对空白对照组与

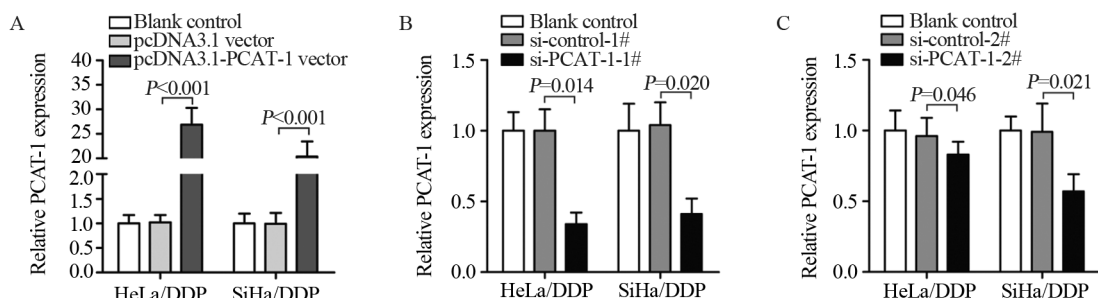


图3 HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中过表达(A)与干扰(B, C)PCAT-1表达

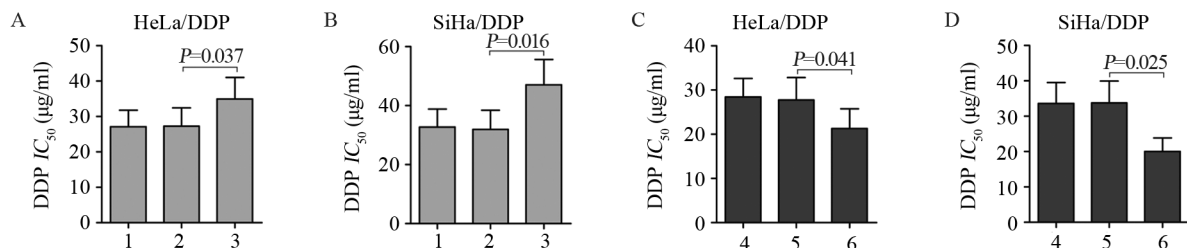
Figure 3 PCAT-1 overexpression(A) and silencing(B, C) in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells

pcDNA3.1载体组的DDP耐药指数分别为1.29与1.28。空白对照组与pcDNA3.1载体组SiHa/DDP细胞DDP IC_{50} 分别为(32.65±6.11)与(31.94±6.48) $\mu\text{g/ml}$, 而pcDNA3.1-PCAT-1载体组SiHa/DDP细胞DDP IC_{50} 为(47.03±8.54) $\mu\text{g/ml}$, 差异有统计学意义($P=0.016$), 见图4B。SiHa/DDP细胞中pcDNA3.1-PCAT-1载体组对空白对照组与pcDNA3.1载体组的DDP耐药指数分别为1.44与1.47。空白对照组与si-control-1#组HeLa/DDP细胞DDP IC_{50} 分别为(28.42±4.20)与(27.75±5.08) $\mu\text{g/ml}$, 而si-PCAT-1-1#组HeLa/DDP细胞DDP IC_{50} 为(21.29±4.47) $\mu\text{g/ml}$, 差异有统计学意义($P=0.041$), 见图4C。HeLa/DDP细胞中si-PCAT-1-1#组对空白对照组与si-control-1#组的DDP耐药指数分别为0.75

与0.77。空白对照组与si-control-1#组SiHa/DDP细胞DDP IC_{50} 分别为(33.60±5.86)与(33.79±6.11) $\mu\text{g/ml}$, 而si-PCAT-1-1#组SiHa/DDP细胞DDP IC_{50} 为(20.03±3.78) $\mu\text{g/ml}$, 差异有统计学意义($P=0.025$), 见图4D。SiHa/DDP细胞中si-PCAT-1-1#组对空白对照组与si-control-1#组的DDP耐药指数分别为0.60与0.59。

2.5 过表达与干扰PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞周期的影响

与空白对照组及pcDNA3.1载体组相比, pcDNA3.1-PCAT-1载体组HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞周期中S期比例升高, 而 G_0 - G_1 与 G_2 -M期比例降低($P=0.035$, $P=0.040$), 见图5A。与空白对照组及si-control-1#组相比, si-PCAT-1-1#组HeLa/DDP



1: Blank control; 2: pcDNA3.1 vector; 3: pcDNA3.1-PCAT-1 vector; 4: Blank control; 5: si-control-1#; 6: si-PCAT-1-1#.

图4 过表达(A, B)与干扰(C, D)PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞DDP IC_{50} 的影响

Figure 4 Effect of PCAT-1 overexpression(A, B) and silencing(C, D) on DDP IC_{50} of HeLa/DDP and SiHa/DDP cells

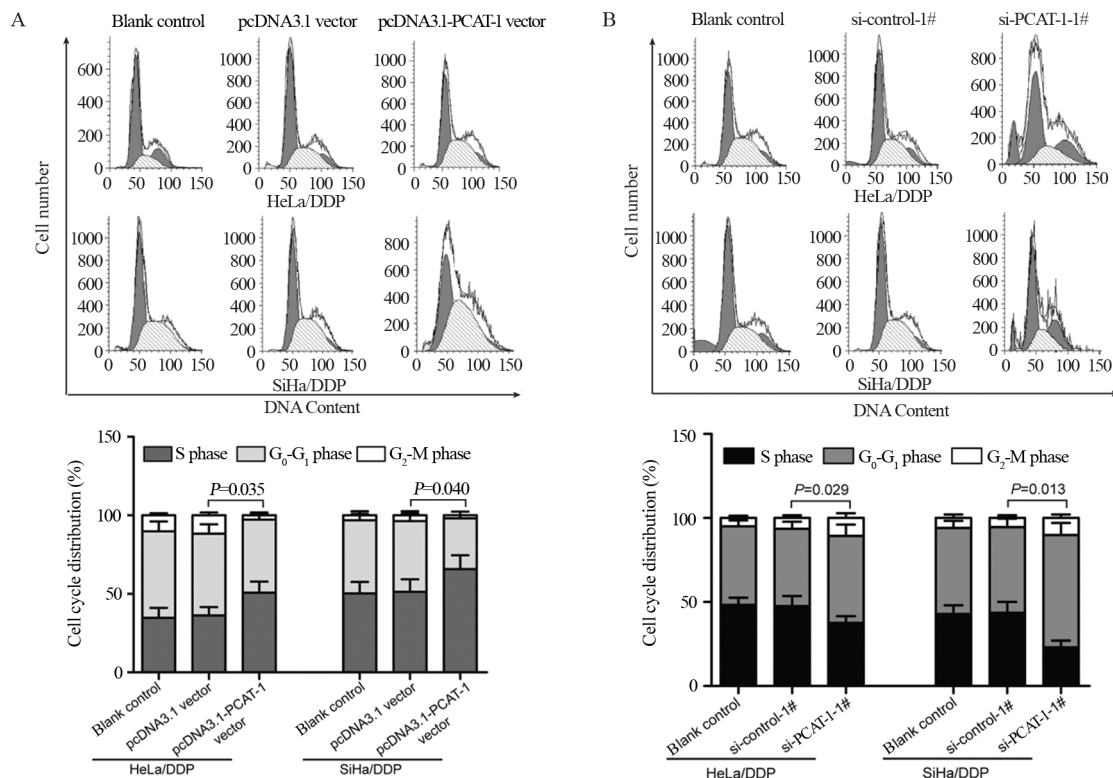


图5 过表达(A)与干扰(B)PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞周期的影响

Figure 5 Effect of PCAT-1 overexpression(A) and silencing (B) on cell cycle of HeLa/DDP and SiHa/DDP cells

与SiHa/DDP细胞周期中S期比例降低, 而G₀-G₁与G₂-M期比例升高 ($P=0.029$, $P=0.013$), 见图5B。

2.6 过表达与干扰PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中STAT3与PTEN蛋白表达的影响

与空白对照组及pcDNA3.1载体组相比, pcDNA3.1-PCAT-1载体组HeLa/DDP细胞中STAT3蛋白表达显著升高 ($P<0.001$), 而SiHa/DDP细胞中PTEN蛋白表达显著降低 ($P<0.001$), 见图6A。与空白对照组及si-control-1#组相比, si-PCAT-1-1#组HeLa/DDP细胞中STAT3蛋白表达显著降低 ($P<0.001$), 而SiHa/DDP细胞中PTEN蛋白表达显著升高 ($P<0.001$), 见图6B。

3 讨论

LncRNAs是一类长度大于200个核苷酸、无蛋白质编码潜能, 但在人类各种疾病中具有多种调控作用的RNA分子^[7]。研究发现, lncRNAs参与多种病理生理过程, 包括细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡和耐药等^[8-9]。当前, 肿瘤细胞对化疗药物的耐药性严重降低宫颈癌患者的临床疗效。因此, 探索宫颈癌细胞的耐药形成机制十分必要。目前已有报道阐明了一些lncRNAs在包括宫颈癌在内的多种肿瘤对DDP耐药中具有重要的调控作用。沉默HOX转录本反义RNA (HOX transcript anti-sense RNA, HOTAIR) 通过降低DNA甲基转移酶1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 和DNA甲基转移酶-3 β (DNA methyltransferase 3 β , DNMT3 β) 表达诱导同源蛋白A1甲基化失活, 从而增加非小细胞肺癌细胞对DDP的敏感度^[10]。生长停滞特异性转录本5 (growth arrest specific 5, GAS5) 通过调控E2F4-PARP1-MAPK信号通路增加上皮卵巢癌细胞对DDP的敏感度^[11]。小核仁RNA宿主基因5 (small nucleolar RNA host gene 5, SNHG5) 通过

调节细胞凋亡相关基因和药物耐药相关基因降低胃癌细胞对DDP的敏感度^[12]。Wen等^[13]研究报道GAS5通过调节丝氨酸苏氨酸蛋白激酶Akt的磷酸化来影响宫颈癌对DDP的敏感度。此外, 癌易感性候选基因2 (cancer susceptibility 2, CASC2) 通过吸附miR-21上调PTEN在宫颈癌对DDP的敏感度调控中亦起重要作用^[14]。因此, 深入研究lncRNAs在宫颈癌DDP耐药中的作用机制将为该病的治疗提供新的思路与靶点。

PCAT-1定位于人染色体8q24.21区域, 由两个外显子组成, 转录本 (NR_045262.2) 全长为1992个核苷酸。据报道, PCAT-1在多种肿瘤组织异常表达, 并与细胞生长、转移及耐药密切相关^[5-6]。然而, PCAT-1在宫颈癌细胞DDP耐药中的作用机制仍不清楚。本研究发现PCAT-1在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中表达上调, 过表达PCAT-1可降低HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞对DDP的敏感度, 升高细胞周期中S期比例, 并降低G₀-G₁与G₂-M期比例; 而干扰PCAT-1可致相反结果。食管癌细胞中, 干扰PCAT-1表达提高细胞对DDP的敏感度, 并抑制体内肿瘤生长^[15]。结肠癌中, 沉默PCAT-1通过下调癌基因c-Myc表达抑制细胞迁移和侵袭, 诱导细胞凋亡, 并增强细胞对5-氟尿嘧啶的敏感度^[16]。此外, 骨髓瘤中, 干扰PCAT-1通过调控p38和JNK/MAPK信号通路抑制细胞生长并增加细胞对硼替佐米的敏感度^[17]。上述结果表明, 高表达PCAT-1促进宫颈癌细胞对DDP的耐药性, 而靶向沉默PCAT-1逆转细胞对DDP的耐药性将有助于改善宫颈癌的临床疗效。

研究发现, STAT3是一个特异性转录因子, 已被证实通过调控B淋巴细胞瘤-2基因 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 和Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2-associated X, Bax) 表达来调节细胞增殖与凋

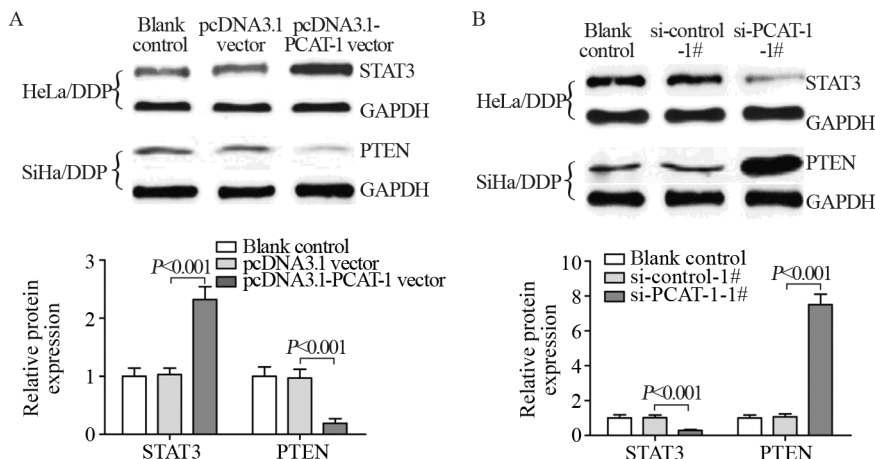


图6 过表达(A)与干扰(B)PCAT-1对HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中STAT3与PTEN蛋白表达的影响
Figure 6 Effect of PCAT-1 overexpression(A) and silencing(B) on protein expression of STAT3 and PTEN in HeLa/DDP and SiHa/DDP cells

亡, 从而影响肿瘤发生和耐药性^[18]。另一项研究发现, 在宫颈癌细胞中采用siRNA抑制STAT3表达导致细胞凋亡升高并提高细胞对DDP敏感度^[19]。PTEN是一种关键的肿瘤抑制因子, 在细胞增殖、迁移和自我更新中起关键作用^[20]。PTEN异常表达与多种肿瘤细胞的耐药性密切相关^[21]。最近, Du等^[22]研究报告miR-21抑制剂通过调节PTEN抑制宫颈癌细胞增殖和集落形成, 并提高细胞对紫杉醇的敏感度。本研究验证了STAT3与PTEN在宫颈癌细胞DDP耐药中的关键作用, 更反映了PCAT-1通过上调STAT3与下调PTEN表达降低HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞对DDP的敏感度。

综上所述, 本研究发现PCAT-1在HeLa/DDP与SiHa/DDP细胞中表达上调并降低细胞对DDP的敏感度, 其机制可能与调控STAT3与PTEN表达有关。下一步工作计划将在小鼠模型中验证该结论。

参考文献:

- [1] Brisson M, Drolet M. Global elimination of cervical cancer as a public health problem[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(3): 319-321.
- [2] Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, *et al.* Cervical cancer[J]. *Lancet*, 2019, 393(10167): 169-182.
- [3] Zhu H, Luo H, Zhang W, *et al.* Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 1885-1895.
- [4] Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, *et al.* Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(8): 742-749.
- [5] Sur S, Nakanishi H, Steele R, *et al.* Depletion of PCAT-1 in head and neck cancer cells inhibits tumor growth and induces apoptosis by modulating c-Myc-AKT1-p38 MAPK signalling pathways[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 354.
- [6] Ma TT, Zhou LQ, Xia JH, *et al.* LncRNA PCAT-1 regulates the proliferation, metastasis and invasion of cervical cancer cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7): 1907-1913.
- [7] Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 3965-3981.
- [8] Li L, Gu M, You B, *et al.* Long non-coding RNA ROR promotes proliferation, migration and chemoresistance of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(9): 1215-1222.
- [9] Bester AC, Lee JD, Chavez A, *et al.* An integrated genome-wide CRISPRa approach to functionalize lncRNAs in drug resistance[J]. *Cell*, 2018, 173(3): 649-664. e20.
- [10] Fang S, Gao H, Tong Y, *et al.* Long noncoding RNA-HOTAIR affects chemoresistance by regulating HOXA1 methylation in small cell lung cancer cells[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(1): 60-68.
- [11] Long X, Song K, Hu H, *et al.* Long non-coding RNA GAS5 inhibits DDP-resistance and tumor progression of epithelial ovarian cancer via GAS5-E2F4-PARP1-MAPK axis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 345.
- [12] Li M, Zhang YY, Shang J, *et al.* LncRNA SNHG5 promotes cisplatin resistance in gastric cancer via inhibiting cell apoptosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(10): 4185-4191.
- [13] Wen Q, Liu Y, Lyu H, *et al.* Long noncoding RNA GAS5, which acts as a tumor suppressor via microRNA 21, regulates cisplatin resistance expression in cervical cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(6): 1096-1108.
- [14] Feng Y, Zou W, Hu C, *et al.* Modulation of CASC2/miR-21/PTEN pathway sensitizes cervical cancer to cisplatin[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 623-624: 20-30.
- [15] Zhen Q, Gao LN, Wang RF, *et al.* LncRNA PCAT-1 promotes tumour growth and chemoresistance of oesophageal cancer to cisplatin[J]. *Cell Biochem Funct*, 2018, 36(1): 27-33.
- [16] Qiao L, Liu X, Tang Y, *et al.* Knockdown of long non-coding RNA prostate cancer-associated ncRNA transcript 1 inhibits multidrug resistance and c-Myc-dependent aggressiveness in colorectal cancer Caco-2 and HT-29 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 441(1-2): 99-108.
- [17] Shen X, Shen P, Yang Q, *et al.* Knockdown of long non-coding RNA PCAT-1 inhibits myeloma cell growth and drug resistance via p38 and JNK MAPK pathways[J]. *J Cancer*, 2019, 10(26): 6502-6510.
- [18] Liu K, Ren T, Huang Y, *et al.* Apatinib promotes autophagy and apoptosis through VEGFR2/STAT3/BCL-2 signaling in osteosarcoma[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e3015.
- [19] Huang LL, Rao W. SiRNA interfering STAT3 enhances DDP sensitivity in cervical cancer cells[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(13): 4098-4106.
- [20] Salmena L. PTEN: History of a tumor suppressor[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1388: 3-11.
- [21] Zuo Q, Liu J, Huang L, *et al.* AXL/AKT axis mediated-resistance to BRAF inhibitor depends on PTEN status in melanoma[J]. *Oncogene*, 2018, 37(24): 3275-3289.
- [22] Du G, Cao D, Meng L. MiR-21 inhibitor suppresses cell proliferation and colony formation through regulating the PTEN/AKT pathway and improves paclitaxel sensitivity in cervical cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5): 2713-2719.

[编辑: 尤婷婷; 校对: 黄国玲]

作者贡献:

毛雪宝: 实验设计及操作、数据分析及论文撰写

王秀虹: 数据分析、论文修改及审核