

# 长链非编码 RNA PCAT-1 对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响及作用机制研究

王继军<sup>1,2</sup>, 吴凡<sup>1,2</sup>, 李瑶瑶<sup>3</sup>, 孔桂美<sup>1,2</sup>, 郝多男<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 研究长链非编码 RNA 前列腺癌相关转录本 1 (lncRNA PCAT-1) 对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响,并初步探讨其作用机制。方法 qRT-PCR 检测 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌细胞系 Capan-1、Capan-2、PANC-1、SW1990 和正常胰腺细胞 hTERT-HPNE 中的表达水平。lncRNA PCAT-1 表达最高的胰腺癌细胞系分为 sh-NC 组和 sh-PCAT-1 组,进行 NC 干扰慢病毒(shRNA)和 PCAT-1 shRNA 感染,qRT-PCR 检测各组细胞中 lncRNA PCAT-1 的表达水平。3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓(MTS)实验检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对细胞增殖能力的影响;流式细胞仪检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对细胞周期和凋亡的影响;皮下移植瘤实验检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对胰腺癌细胞体内生长能力的影响;Western blot 检测 lncRNA PCAT-1 对细胞周期相关蛋白、凋亡相关蛋白和 PI3K/AKT 信号通路关键蛋白的表达影响。结果 qRT-PCR 检测结果显示 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌细胞系的表达水平高于在正常胰腺细胞 hTERT-HPNE 中的表达( $P < 0.05$ ),与 Capan-1、Capan-2 和 SW1990 细胞相比,PANC-1 细胞中 lncRNA PCAT-1 的表达最高。PANC-1 细胞感染 PCAT-1 shRNA,qRT-PCR 结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组细胞中 lncRNA PCAT-1 的表达降低( $P < 0.05$ );沉默 lncRNA PCAT-1 的表达后,PANC-1 细胞的增殖能力降低,细胞周期阻滞在 G0/G1 期,细胞凋亡增加,细胞体内裸鼠成瘤能力降低,细胞周期蛋白 cyclinD1 和 CDK6 蛋白的表达减少,抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白减少,促凋亡蛋白 Bax 蛋白表达增加,PI3K/AKT 信号通路关键蛋白 pPI3K 和 pPAKT 蛋白表达减少。结论 沉默 lncRNA PCAT-1 的表达可能通过调控 PI3K/AKT 信号通路抑制胰腺癌细胞增殖和促进细胞凋亡。lncRNA PCAT-1 可能是治疗胰腺癌的新型靶标。关键词 胰腺癌;长链非编码 RNA 前列腺癌相关转录本 1;

增殖;凋亡;PI3K/AKT

中图分类号 R 735.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)03-0428-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.03.018

胰腺癌是全球癌症相关死亡率的第三大原因,且胰腺癌的发病率和病死率仍在逐年增加<sup>[1]</sup>。虽然胰腺癌的治疗手段随着医疗技术的进步取得了较大的进展,但是胰腺癌患者的预后仍然较差,其中位总生存期少于 7 个月,5 年生存率仅为 6% 左右<sup>[2]</sup>。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一种长度超过 200 核苷酸的非编码 RNA,研究<sup>[3-4]</sup>表明 lncRNA 在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。lncRNA 前列腺癌相关转录本 1(prostate cancer-associated transcript 1, PCAT-1)最初在前列腺癌中被鉴定,lncRNA PCAT-1 的异常表达在越来越多的恶性肿瘤中被报道,其过表达与细胞增殖、侵袭、转移、存活、细胞周期、肿瘤耐药和同源重组等有关<sup>[5-6]</sup>。Wang et al<sup>[7]</sup>报道 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌组织中表达上调,并促进胰腺癌细胞迁移和侵袭能力,但是 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌中其它的生物学功能未知。该文研究了 lncRNA PCAT-1 对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响及作用机制,旨在获得 lncRNA PCAT-1 作为胰腺癌治疗潜在分子靶点的实验室依据。

## 1 材料与方法

**1.1 主要实验试剂与材料** 胰腺癌细胞系 Capan-1、Capan-2、PANC-1、SW1990 和正常胰腺细胞 hTERT-HPNE(美国 ATCC 细胞库)。细胞培养基、胎牛血清、双抗和胰酶(美国 Gibco 公司);Bestar 1<sup>st</sup> Strand cDNA 合成试剂盒(上海 DBI® Bioscience 公司);TRIzol 试剂和 SYBR Premix Ex Taq™ qRT-PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);PCAT-1 shRNA(上海吉凯基因化学技术有限公司);3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-car-

2020-10-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81870096)

作者单位:<sup>1</sup>扬州大学医学院,江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室,扬州 225009

<sup>2</sup>江苏省中西医结合老年病防治重点实验室,扬州 225009

<sup>3</sup>扬州大学附属医院消化内科,扬州 225001

作者简介:王继军,男,主治医师,博士研究生;

郝多男,男,博士,教授,博士生导师,E-mail: yzuyu@ sina.com

boxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, MTS]试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司);细胞周期检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);细胞凋亡试剂盒(南京凯基生物技术有限公司);蛋白裂解液(北京索莱宝生物技术有限公司);BCA蛋白浓度检测试剂盒(美国Thermo公司);PVDF(美国Bio-Rad)。细胞周期蛋白D1(cyclinD1)、周期素依赖性激酶6(cyclin-dependent kinase 6, CDK6)、B细胞白血病/淋巴瘤2(B-cell leukemia/lymphoma 2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 Associated X Protein, Bax)、磷酸化磷酸肌醇3-激酶(Phosphorylation phosphoinositide 3-kinases, pPI3K)和蛋白激酶B(protein kinase B, pAKT)抗体(美国Proteintech公司)。

**1.2 细胞培养和感染** 细胞系Capan-1、Capan-2、PANC-1、SW1990和hTERT-HPNE快速复苏后重悬于含10%胎牛血清的细胞培养基中,放置在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中。按照下述qRT-PCR方法检测出高表达lncRNA PCAT-1的胰腺癌细胞,以1.0×10<sup>5</sup>个/孔接种至6孔板中,分为对照组(sh-NC组)和实验组(sh-PCAT-1组),NC shRNA和PCAT-1 shRNA经病毒感染增强液感染至各组细胞中,放至培养箱中培养,病毒感染12 h后换液。sh-NC: 5'-CCG-CAGGTATGCACGCGT-3'; sh-PCAT-1: 5'-AUA-CAUAAGACCAUGGAAAU-3'。

**1.3 qRT-PCR检测lncRNA PCAT-1的表达** 胰酶消化离心收集细胞,加入TRIzol试剂裂解细胞,提取细胞中总RNA。按照Bestar 1<sup>st</sup> Strand cDNA试剂盒将RNA反转录为cDNA,并以cDNA为模板,按照SYBR Premix Ex Taq™ qRT-PCR试剂盒的说明书配制qRT-PCR反应体系,按照反应条件:95℃预变性5 s;95℃变性5 s、60℃退火30 s,共40个循环。每个样品设置3个复孔,检测各样品的循环阈值(threshold cycle, Ct)按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算PCAT-1相对表达量。lncRNA PCAT-1引物:(F) 5'-AATG-GCATGAACCTGGGAGGCG-3', (R) 5'-GGCTTTGG-GAAGTGCTTTGGAG-3'。内参GAPDH引物:(F) 5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3', (R) 5'-TG-TAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'。

**1.4 MTS** PCAT-1细胞以每孔2 000个细胞铺至96孔板中,分为对照组(sh-NC组)和实验组(sh-PCAT-1组),每组设置5个复孔,按上述1.2项中的感染方法进行shRNA感染,分别在感染0、24、48、72、96 h时,每孔加入100 μl培养基、20 μl MTS试

剂,并在培养箱中孵育2 h,酶标仪检测各样品在490 nm处的吸光度(optical density, OD)值,做生长曲线。

**1.5 细胞周期实验** 胰酶消化收集6孔板中感染shRNA 72 h的各组细胞,加入1 ml预冷的无水乙醇4℃固定细胞2 h以上,PBS洗2次离心后按照周期试剂盒说明书加入染色缓冲液及染色液,37℃避光孵育30 min进行细胞染色,流式细胞仪上机检测各个细胞周期比例。

**1.6 细胞凋亡实验** 收集细胞培养液,采用无EDTA的胰酶消化收集6孔板中感染shRNA 72 h的各组细胞,PBS洗2次离心后按照细胞凋亡试剂盒说明书加入染色缓冲液及染色液,室温避光孵育15 min进行细胞染色,流式细胞仪上机检测各组细胞凋亡。

**1.7 皮下移植瘤实验** 将扬州大学动物实验室购买的16 g左右的BALB/c雌性裸鼠随机分为两组,即sh-NC和sh-PCAT-1组,每组5只裸鼠,细胞用PBS洗2次后重悬至PBS中,浓度为1.5×10<sup>7</sup>个/ml,以每只100 μl sh-NC和sh-PCAT-1细胞注射至各组裸鼠右侧腋窝皮下,并且每周采用游标卡尺测量瘤子长径(a)和短径(b),瘤子成长体积为( $a \times b^2/2$ ),7周左右时处死裸鼠,称重瘤子重量。所有的操作均符合动物伦理学。

**1.8 Western blot实验** 收集6孔板中感染shRNA 72 h的各组细胞,采用蛋白裂解液将细胞裂解后,高速离心获得细胞总蛋白。检测蛋白浓度后,以每个样品50 μg的质量上样进行凝胶电泳分离蛋白,湿转8% BSA室温封闭1 h,一抗(1:500)4℃孵育过夜,二抗(1:8 000)室温孵育2 h,ECL超敏化学发光曝光,Image J软件进行蛋白灰度值分析。

**1.9 统计学处理** 用SPSS17.0软件进行统计学分析。数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,检验分析两组间的差异,方差分析检测3组及以上的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 lncRNA PCAT-1在胰腺癌细胞系中的表达水平** qRT-PCR检测结果显示lncRNA PCAT-1在胰腺癌细胞Capan-1、Capan-2、PANC-1、SW1990中的表达高于在正常胰腺细胞hTERT-HPNE中的表达,在PANC-1细胞中的表达最高( $F = 145.36$ ,  $P = 0.000$ ),见图1。

**2.2 PCAT-1 shRNA感染效果** 采用qRT-PCR验证PCAT-1 shRNA感染PANC-1细胞效果,sh-NC组

细胞中 lncRNA PCAT-1 相对表达量为  $(1.00 \pm 0.00)$ , sh-PCAT-1 组细胞中 lncRNA PCAT-1 相对表达量为  $(0.31 \pm 0.05)$ 。sh-PCAT-1 组中 lncRNA PCAT-1 相对表达量低于 sh-NC 组 ( $t = 13.24, P = 0.003$ )。PCAT-1 shRNA 可以干扰 PANC-1 细胞中 PCAT-1 的表达,见图 2。

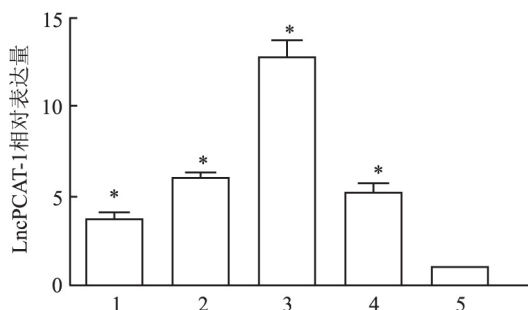


图1 qRT-PCR 检测 lncRNA PCAT-1

在胰腺癌细胞系中的表达情况

1: Capan-1; 2: Capan-2; 3: PANC-1; 4: SW1990; 5: hTERT-HPNE; 与 hTERT-HPNE 比较: \*  $P < 0.05$

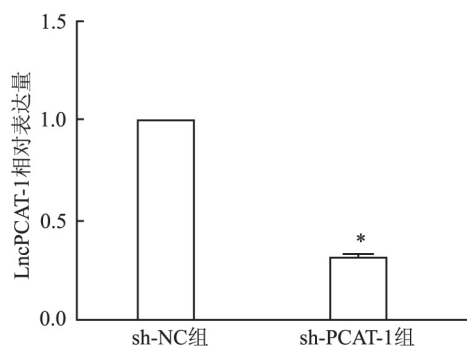


图2 qRT-PCR 验证 PCAT-1 shRNA 感染效果

与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

**2.3 MTS 检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对胰腺癌细胞增殖能力的影响** PCAT-1 shRNA 感染胰腺癌细胞 PANC-1 48 h 后,MTS 实验检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组 PCAT-1 细胞增殖能力降低(48 h:  $t = 2.39, P = 0.038$ ; 72 h:  $t = 4.19, P =$

$= 0.012$ ; 96 h:  $t = 10.84, P = 0.000$ ) ,见图 3。

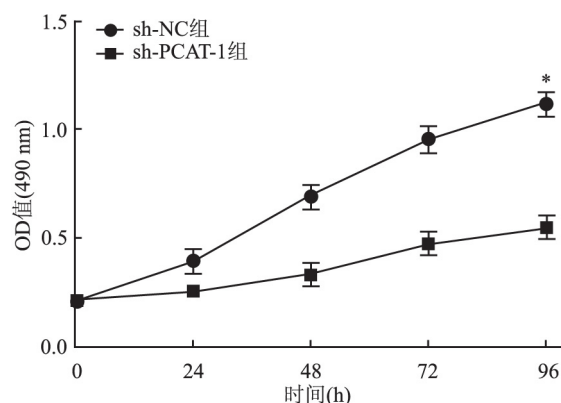


图3 MTS 检测干扰 lncRNA PCAT-1 的

表达对 PANC-1 细胞增殖的影响

与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

**2.4 流式细胞仪检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对胰腺癌细胞周期的影响** PCAT-1 shRNA 感染胰腺癌细胞 PANC-1 72 h 后,细胞周期检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组 PANC-1 细胞阻滞在 G0/G1 期( $t = 3.98, P = 0.030$ ) ,见图 4。

**2.5 流式细胞仪检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对胰腺癌细胞凋亡的影响** PCAT-1 shRNA 感染胰腺癌细胞 PANC-1 72 h 后,细胞凋亡检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组 PANC-1 细胞凋亡增加( $t = 6.59, P = 0.027$ ) ,见图 5。

**2.6 皮下移植瘤实验检测沉默 lncRNA PCAT-1 的表达对胰腺癌细胞体内生长能力的影响** PCAT-1 shRNA 感染胰腺癌细胞 PCAT-1 72 h 后,皮下移植瘤实验检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组 PANC-1 细胞裸鼠体内成瘤能力降低(6 周:  $t = 4.19, P = 0.012$ ; 7 周:  $t = 11.35, P = 0.000$ ) ,见图 6。

**2.7 lncRNA PCAT-1 对细胞周期蛋白及凋亡相关蛋白的影响** 收集感染 72 h 的各组蛋白,Western

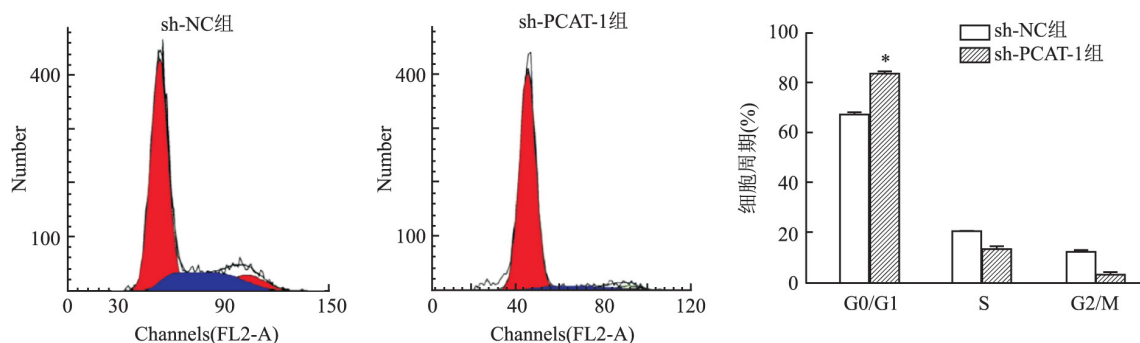


图4 流式细胞仪检测干扰 lncRNA PCAT-1 的表达对 PANC-1 细胞周期的影响

与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

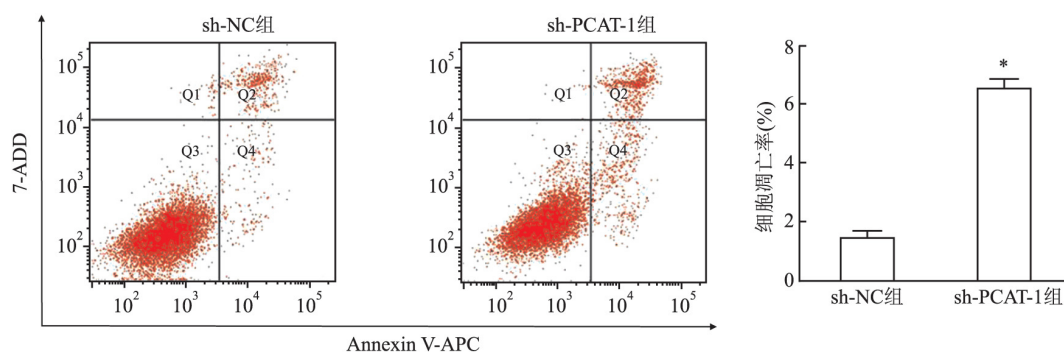


图5 流式细胞仪检测干扰 lncRNA PCAT-1 的表达对 PANC-1 细胞凋亡的影响  
与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

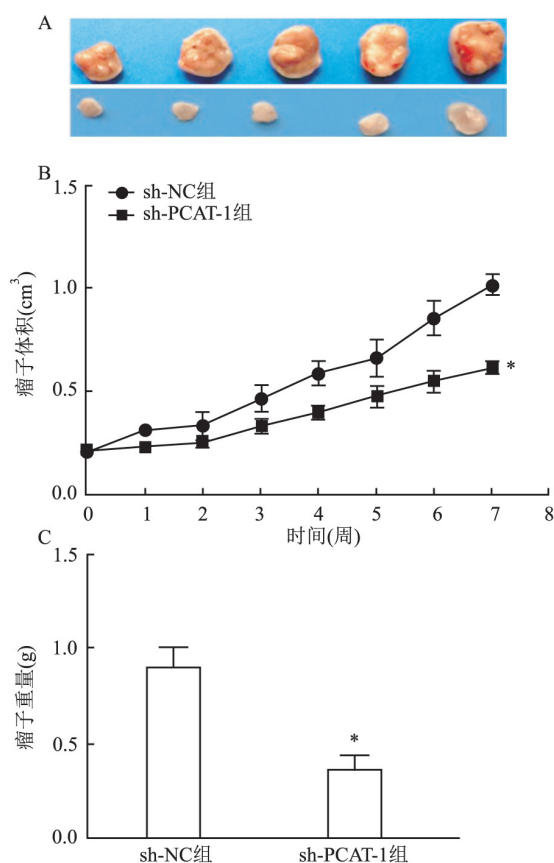


图6 皮下移植瘤实验检测干扰 lncRNA PCAT-1 的表达对 PANC-1 细胞增殖的影响

A: 裸鼠成瘤大体图; B: 裸鼠成瘤体积图; C: 裸鼠成瘤瘤重; 与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

blot 结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组细胞中细胞周期蛋白 cyclinD1 和 CDK6 蛋白的表达减少,抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白减少,促凋亡蛋白 Bax 蛋白表达增加,见图 7。

**2.8 lncRNA PCAT-1 对细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响** 收集转染 72 h 的各组蛋白,Western blot 实验显示,与 sh-NC 组相比,sh-PCAT-1 组细胞中 PI3K/AKT 信号通路关键蛋白 pPI3K 和 pAKT 蛋白的表达降低,见图 8。

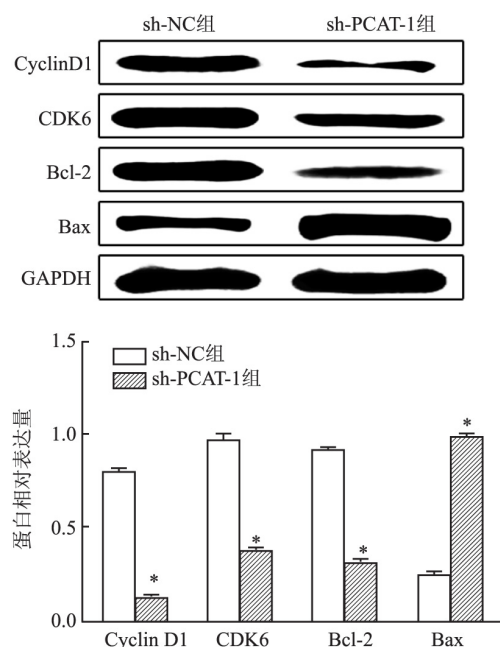


图7 Western blot 实验检测干扰 lncRNA PCAT-1 的表达对 PANC-1 细胞中周期蛋白的影响  
与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

lncRNA 是目前研究较多的非编码 RNA 之一,其可作为癌基因或抑癌基因参与包括细胞增殖、细胞代谢、迁移、侵袭、细胞周期停滞、凋亡和自噬等各种生物学过程,可作为抗肿瘤治疗的药物靶点<sup>[3-4]</sup>。肿瘤相关 lncRNA 之一 PCAT-1 位于染色体 8q24 上,存在于 Myc 癌基因上游大约 725 bp 的位置处,该区域在肿瘤中处于扩增状态<sup>[5]</sup>。研究<sup>[7]</sup>报道 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌组织中表达上调,干扰 lncRNA PCAT-1 的表达抑制胰腺癌细胞的迁移和侵袭能力。同时文献<sup>[5]</sup>报道 lncRNA PCAT-1 在结肠癌组织和细胞中表达上调,敲低 lncRNA PCAT-1 的表达抑制胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭能力,促进细胞的凋亡。在卵巢癌组织中 lncRNA PCAT-1 表

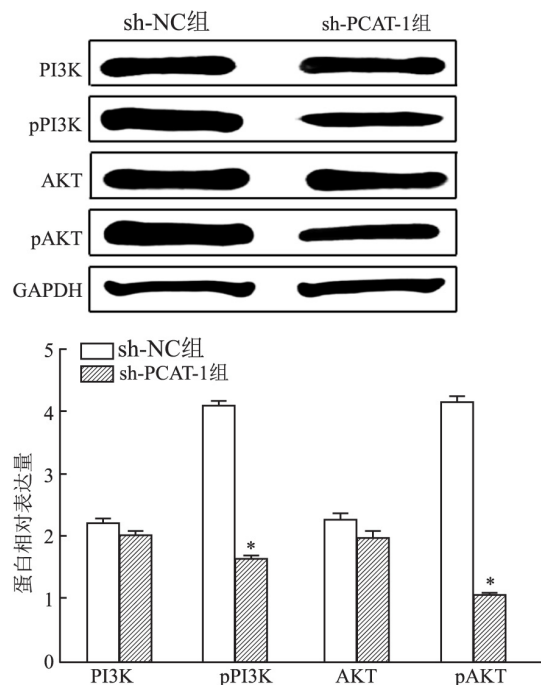


图8 Western blot 实验检测干扰 lncRNA PCAT-1 的表达对 PCAT-1 细胞 PI3K/AKT 的影响  
与 sh-NC 组比较: \*  $P < 0.05$

达增加,敲低 lncRNA PCAT-1 后细胞增殖、迁移和侵袭能力受到抑制<sup>[6]</sup>。表明 lncRNA PCAT-1 与肿瘤的增殖、迁移、侵袭和凋亡等功能相关,Wang et al<sup>[7]</sup>已经证实干扰 lncRNA PCAT-1 的表达抑制胰腺癌细胞的迁移和侵袭能力,但是 lncRNA PCAT-1 对胰腺癌增殖和凋亡的影响机制未见有报道,因此本文对此进行了研究。首先采用 qRT-PCR 检测 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌细胞系中的表达水平,结果显示 lncRNA PCAT-1 在 4 株胰腺癌细胞中的表达均高于在正常胰腺细胞 hTERT-HPNE 中的表达,与 lncRNA PCAT-1 在胰腺癌组织中表达水平的报道具有一致性。并采用慢病毒感染胰腺癌细胞抑制 lncRNA PCAT-1 的表达后发现,干扰 lncRNA PCAT-1 的表达在体外抑制胰腺癌细胞的增殖能力,促使细胞发生凋亡和细胞周期阻滞,在体内抑制细胞生长。

lncRNA PCAT-1 通过抑制 RNA 结合基序 5 (RBM5) 促进胰腺癌细胞迁移和侵袭能力<sup>[7]</sup>。增殖和凋亡是肿瘤发生中的两大重要的作用机制<sup>[8]</sup>,其中细胞周期失控是肿瘤细胞恶性增殖的重要原因,细胞周期是依赖于细胞周期蛋白(cyclins)和细胞周期蛋白依赖激酶(CDKs)而受到严密的调控,可以通过作用于这些蛋白阻滞细胞周期的进程,进而抑制肿瘤的增殖<sup>[9]</sup>。本文研究显示沉默 lncRNA PCAT-1 可使胰腺癌细胞阻滞在 G0/G1 期,结直肠癌报道中

干扰 lncRNA PCAT-1 的表达同样阻滞细胞在 G0/G1 期,cyclinD1 可与 CDK4 或者 CDK6 结合促进细胞周期的进展,cyclinD1 过表达导致 G0/G1 期过短,进入 S 期进行 DNA 复制<sup>[10]</sup>,本研究显示抑制 lncRNA PCAT-1 的表达后,细胞中 cyclinD1、CDK4 和 CDK6 蛋白的表达减少,表明 lncRNA PCAT-1 通过作用周期蛋白调控胰腺癌细胞的增殖。此外,课题组检测了 lncRNA PCAT-1 对抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 表达的影响,结果显示抑制 lncRNA PCAT-1 的表达后,Bcl-2 蛋白的表达减少,Bax 蛋白的表达增加,在结肠癌中也有相似的报道<sup>[5]</sup>,结果显示 lncRNA PCAT-1 通过作用于凋亡蛋白影响细胞的凋亡。PI3K/AKT 信号通路是调控细胞增殖和凋亡的重要通路之一<sup>[11]</sup>,在肿瘤发生发展中发挥重要作用,其下游信号分子包括 cyclinD1<sup>[12]</sup>及 Bcl-2 蛋白<sup>[13]</sup>,且在胰腺癌中高表达<sup>[14]</sup>,因此课题组检测了沉默 lncRNA PCAT-1 细胞中 PI3K/AKT 信号通路中关键蛋白的变化,结果显示 pPI3k 和 pAKT 蛋白表达减少,表明 lncRNA PCAT-1 可能通过调控 PI3K/AKT 信号通路作用于细胞周期和凋亡蛋白促进胰腺癌细胞的发生发展。

综上,lncRNA PCAT-1 在胰腺癌细胞中高表达,沉默 lncRNA PCAT-1 的表达后细胞增殖能力降低和细胞凋亡增多,可能通过调控 PI3K/AKT 信号通路发挥作用。lncRNA PCAT-1 可能是胰腺癌治疗的新型分子靶点。

## 参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D. Cancer Statistics 2017 [J]. CA Cancer J Clin 2017 67(1): 7-30.
- [2] Siegel R L, Miller K D. Cancer statistics 2016 [J]. CA Cancer J Clin 2016 66(1): 7-30.
- [3] 李思维, 庞达. 长链非编码 RNA(lncRNA) 在癌症中的作用 [J]. 实用肿瘤学杂志 2019 33(5): 471-5.
- [4] Zhao W, Shan B, He D, et al. Recent progress in characterizing long noncoding RNAs in cancer drug resistance [J]. J Cancer, 2019 10(26): 6693-702.
- [5] Wang A H, Fan W J, Fu L. LncRNA PCAT-1 regulated cell proliferation, invasion, migration and apoptosis in colorectal cancer through targeting miR-149-5p [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019 23(19): 8310-20.
- [6] Liu H P, Lü D, Wang J Y, et al. Long noncoding RNA PCAT-1 promoted ovarian cancer cell proliferation and invasion by suppressing KLF6 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2019 23(11): 4650-5.
- [7] Wang Y, Jiang X M, Feng Z X, et al. Long noncoding RNA PCAT-1 accelerates the metastasis of pancreatic cancer by repressing

- RBM5[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019 23(17): 7350–5.
- [8] Heptinstall A B, Adiyasa I, Cano C. Recent advances in CDK inhibitors for cancer therapy[J]. *Future Med Chem* 2018 10(11): 1369–88.
- [9] 付彬, 莫春梅, 覃艳春, 等. CDK4/6 抑制剂治疗恶性肿瘤研究进展[J]. *海南医学院学报* 2019 25(21): 1676–80.
- [10] Suvana V, Singh V. Current overview on the clinical update of Bcl-2 anti-apoptotic inhibitors for cancer therapy[J]. *Eur J Pharmacol* 2019 862(1): 172655–63.
- [11] Soleimani A, Rahmani F, Ferns G A, et al. Role of regulatory oncogenic or tumor suppressor miRNAs of PI3K/AKT signaling axis in the pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Curr Pharm Des* 2018, 24(39): 4605–10.
- [12] 郭超, 丁涛, 党文呈, 等. 黄芪注射液对小鼠 4T1 乳腺癌细胞移植瘤 CyclinD1、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. *中药药理与临床* 2020 36(1): 104–8.
- [13] Ni H S, Hu S Q, Chen X, et al. Tra2 $\beta$  silencing suppresses cell proliferation in laryngeal squamous cell carcinoma via inhibiting PI3K/AKT signaling[J]. *Laryngoscope* 2019 129(9): E318–28.
- [14] Zhang D, Zhang P, Li L, et al. Irisin functions to inhibit malignant growth of human pancreatic cancer cells via downregulation of the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Onco Targets Ther* 2019 12(1): 7243–9.

## Effect and mechanism of long non-coding RNA PCAT-1 on proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells

Wang Jijun<sup>1,2</sup>, Wu Fan<sup>1,2</sup>, Li Yaoyao<sup>3</sup>, et al

(<sup>1</sup>Noncoding RNA Center, Yangzhou University Medical College, Yangzhou 225009; <sup>2</sup>Jiangsu Provincial Key Laboratory of Geriatric Disease Prevention and Treatment With Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Yangzhou 225009; <sup>3</sup>Gastroenterology, Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225001)

**Abstract Objective** To study the effect of long non-coding RNA prostate cancer-associated transcript 1 (lncRNA PCAT-1) on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer cells, and to explore its mechanism. **Methods** The expression level of lncRNA PCAT-1 in pancreatic cancer cell lines Capan-1, Capan-2, PANC-1, SW1990 and normal pancreatic cell hTERT-HPNE was detected by qRT-PCR. The highest lncRNA PCAT-1 expressing pancreatic cancer cell line was divided into sh-NC group and sh-PCAT-1 group. NC interfering with lentivirus (shRNA) and PCAT-1 shRNA infection were performed, qRT-PCR was used to detect the expression level of lncRNA PCAT-1 in each group of cells. [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, MTS] test was used to detect the effect of silenced lncRNA PCAT-1 expression on cell proliferation, flow cytometry was used to detect the effect of silenced lncRNA PCAT-1 on cell cycle and apoptosis, subcutaneous transplantation tumor test was used to detect the effects of silenced lncRNA PCAT-1 expression on pancreatic cell growth *in vivo*. Western blot was used to detect the effects of lncRNA PCAT-1 on the expression of cell cycle-related proteins, apoptosis-related proteins and key proteins of the PI3K/AKT signaling pathway. **Results** qRT-PCR results showed that the expression level of lncRNA PCAT-1 in pancreatic cancer cell lines was higher than that in normal pancreatic cells hTERT-HPNE ( $P < 0.05$ ). Compared with Capan-1, Capan-2 and SW1990 cells, the expression of lncRNA PCAT-1 was the highest in PANC-1 cells, and the highest expression of lncRNA PCAT-1 was in PANC-1 cells. PANC-1 cells were infected with PCAT-1 shRNA, and qRT-PCR results showed that compared with the sh-NC group, the expression of lncRNA PCAT-1 in the cells of the sh-PCAT-1 group reduced ( $P < 0.05$ ); after silenced the lncRNA PCAT-1 expression in PANC-1 cells, cell proliferation ability reduced, cell cycle was arrested at G0/G1 phase, the apoptosis increased, tumorigenicity reduced in nude mice, cyclinD1 and CDK6 proteins expression decreased, and anti-apoptotic protein Bcl-2 expression decreased, the pro-apoptotic protein Bax expression increased, and the key proteins of PI3K/AKT signaling pathway pPI3K and pPAKT expression decreased. **Conclusion** Silencing the expression of lncRNA PCAT-1 may inhibit the proliferation and promote apoptosis of pancreatic cancer cells by regulating the PI3K/AKT signaling pathway. lncRNA PCAT-1 may be a new target for the treatment of pancreatic cancer.

**Key words** pancreatic cancer; long-chain non-coding RNA prostate cancer-related transcript 1; proliferation; apoptosis; PI3K/AKT