

# miR-451a 对人胰腺癌 BxPc3 细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制研究



刘少朋, 刘海潮, 白明辉

郑州大学附属洛阳中心医院肝胆胰脾及疝外科二病区(河南洛阳 471000)

**【摘要】** 目的 分析 miR-451a 对人胰腺癌 BxPc3 细胞增殖及凋亡的影响并探究其分子机制。方法 以 BxPc3 细胞为研究对象, 建立脂质体转染 miR-451a 模拟物并分别设不同浓度 (25、50、100 和 200  $\mu\text{mol/L}$ ) miR-451a 组及空白对照组。实时荧光定量 PCR 法检测各组细胞内 miR-451a mRNA 表达情况; 然后用 MTT 法、平板克隆实验、流式细胞术及 Western blot 法分别检测不同浓度 miR-451a 转染对 BxPc3 细胞的增殖能力、细胞克隆数、细胞周期及凋亡变化的影响以及 BxPc3 细胞中巨噬细胞移动抑制因子 (MIF)、钙结合蛋白 39 (CAB39)、磷酸化磷脂酰肌醇-3 激酶 (p-PI3K) 和磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT) 蛋白的表达情况。**结果** 各浓度转染组 BxPc3 细胞中 miR-451a mRNA 表达量高于空白对照组 ( $P<0.050$ ); 转染 miR-451a 可显著抑制 BxPc3 细胞增殖且呈时间及浓度依赖性 ( $P<0.050$ ); 200  $\mu\text{mol/L}$  miR-451a 转染组细胞克隆数明显少于空白对照组 ( $P<0.050$ ); miR-451a 转染后可使 BxPc3 细胞分化停滞于 G0/G1 期并可诱导细胞凋亡且具有浓度依赖性 ( $P<0.050$ ); miR-451a 转染后 BxPc3 细胞内 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达较空白对照组下调并呈现浓度依赖性 ( $P<0.050$ )。**结论** 从本研究实验结果看, miR-451a 可抑制 BxPc3 细胞增殖、诱导细胞凋亡并呈现浓度依赖性, 其机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。

**【关键词】** 胰腺癌; BxPc3 细胞; miR-451a; 磷脂酰肌醇-3 激酶/磷酸化蛋白激酶 B 信号通路; 增殖; 凋亡

## Effects of miR-451a on proliferation and apoptosis of human pancreatic cancer BxPc3 cells and its molecular mechanisms

LIU Shaopeng, LIU Haichao, BAI Minghui

The Second Department of Hepatobiliary, Pancreatic, Splenic and Hernia Surgery, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang, Henan 471000, P. R. China

Corresponding author: LIU Shaopeng, Email: 1281733563@qq.com

**【Abstract】 Objective** To analyze the effects of miR-451a on the proliferation and apoptosis of human pancreatic cancer BxPc3 cells, and to explore its molecular mechanisms. **Methods** The liposome transfection mimics of miR-451a were established in the BxPc3 cells, which were used as the research objects, and different concentrations (25, 50, 100 and 200  $\mu\text{mol/L}$ ) of miR-451a and blank control group were set up respectively. The expression of miR-451a mRNA in the BxPc3 cells after the transfection was detected by the qRT-PCR method. The effects of miR-451a at different concentrations on the proliferation, cell clone number, cell cycle and apoptosis, and the expressions of the macrophage migration inhibitory factor (MIF), calcium binding protein 39 (CAB39), phosphorylated phosphatidylinositol-3-kinase (p-PI3K) and phosphorylated protein kinase B (p-AKT) proteins in the BxPc3 cells were detected by the MTT assay, plate cloning assay, flow cytometry, and Western blot, respectively. **Results** The expressions of miR-451a mRNA in the transfected BxPc3 cells were significantly higher than in the blank control BxPc3 cells ( $P<0.050$ ). The miR-451a could inhibit the proliferation of BxPc3 cells in a time- and concentration-dependent manner significantly ( $P<0.050$ ), block the differentiation of BxPc3 cells in the G0/G1 phase, and induce the apoptosis with a concentration-dependent manner ( $P<0.050$ ). The expressions of MIF, CAB39, p-PI3K, and p-AKT proteins in the BxPc3 cells were down-regulated with a concentration-dependent manner ( $P<0.050$ ). **Conclusion** From results of this study, miR-451a could inhibit proliferation and induce apoptosis of BxPc3 cells in a concentration-dependent manner, and its mechanisms might be

DOI: 10.7507/1007-9424.202002037

基金项目: 2018 年市级科技医疗卫生项目 (编号: 1820003A)

通信作者: 刘少朋, Email: 1281733563@qq.com

related to inhibition of PI3K/AKT signaling pathway.

**【Keywords】** pancreatic cancer; BxPc3 cells; miR-451a; PI3K/AKT signaling pathway; proliferation; apoptosis

胰腺癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 发病率高, 进展快, 预后差, 5 年生存率不足 10%<sup>[1]</sup>。外科手术是胰腺癌唯一能达到根治的方法。但据统计, 仅有 10%~15% 的患者具备手术治疗时机<sup>[2]</sup>。对于不可手术切除的胰腺癌, 药物化疗是其首选方法, 但目前胰腺癌常用的化疗药物如吉西他滨、5-氟尿嘧啶等因其耐药性原因导致整体治疗效果欠佳<sup>[3-5]</sup>, 因而致力于肿瘤发生分子机制的研究从未停歇。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类短链非编码 RNA, 广泛参与并调控着诸多肿瘤的发生及发展进程<sup>[6]</sup>。miR-451a 是目前研究较多的 miRNA 之一, 有研究者<sup>[7-10]</sup>报道其在多种肿瘤中作为一种抑癌 miRNA, 但其在胰腺癌中的作用机制报道较少。基于以上因素, 本研究以人胰腺癌 BxPc3 细胞 (简称“BxPc3 细胞”) 为研究对象, 进一步探讨 miR-451a 对 BxPc3 细胞增殖及凋亡的影响, 以期为后续更多研究及寻找胰腺癌潜在的新靶点提供一定参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料及来源

BxPc3 细胞, 上海美轩生物科技有限公司; 胎牛血清、磷酸化磷脂酰肌醇-3 激酶 (p-PI3K) 和磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT), 武汉赛维尔生物科技有限公司; Trizol RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒 (M-MLV)、实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 试剂 TB Green Premix, 日本 TaKaRa 公司; qRT-PCR 引物, 上海生物工程股份有限公司; Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000, Invitrogen 公司; RPMI-1640 培养基及胰蛋白酶, 上海格敏生物科技有限公司; RIPA 裂解液、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒、BCA 蛋白检测试剂盒及 ECL 试剂盒, 碧云天生物技术研究所; miR-451a 及 MTT 显色剂, 美国 Sigma 公司; 兔抗人巨噬细胞移动抑制因子 (MIF) 单克隆抗体、兔抗人钙结合蛋白 39 (CAB39) 多克隆抗体及 GAPDH 抗体, 美国 Santa Cruz 公司; 辣根过氧化物酶耦联羊抗兔 IgG 二抗, 艾美捷科技有限公司; DMEM 培养基, 南京森贝伽生物有限公司; 紫外线分光光度计、RNAiso Plus (Total RNA 提取试剂), 赛默飞世尔科技公司; Bio-Rad CFX96 PCR 仪, 上海甄明科学仪器有限公司。

### 1.2 细胞培养、传代及 miR-451a 转染

**1.2.1 细胞培养及传代** 将 BxPc3 细胞置入含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基并放入相对湿度

95%、体温 37 °C 的恒温培养箱中进行培养, 常规更换培养液, 进行细胞传代。

**1.2.2 细胞转染** 将传代 3 代的 BxPc3 细胞接种于 6 板孔上, 设转染密度 50%~70%。将稀释成不同浓度 (25、50、100 和 200 μmol/L) 的 miR-451a 模拟物及脂质体 Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000 加入相应剂量的 DMEM 培养基中, 充分混合均匀, 室温静置 15 min, 逐滴加入 24 板孔中孵育 6 h 后换用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 继续恒温培养箱中培养 48 h 用于后续实验。实验重复检测 5 次。

### 1.3 qRT-PCR 法检测转染 miR-451a 后 BxPc3 细胞中 miR-451a mRNA 表达情况

依据 RNAiso Plus 说明书提取不同浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞总 RNA, 琼脂凝胶电泳检测 RNA 完整性; 紫外线分光光度计测定 RNA 总浓度及光密度 (OD) 260 和 OD280 值。取 1 μg 总 RNA 经反转录合成 cDNA。设 U6 为 miRNA 内参, 使用 Bio-Rad CFX96 PCR 仪测定 miR-451a 及 U6 的 mRNA 表达情况。miR-451a 上游引物为 5'-TCCGATTGAGTTCATTACCAT-3', 下游引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3', 扩增片段长度为 300 bp; U6 上游引物为 5'-TCCGATCGTGAAGCGTTC-3', 下游引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3', 扩增片段长度为 300 bp。用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 miR-451a mRNA 相对表达量, 其中  $\Delta\Delta CT = (CT_{\text{实验组目的}} - CT_{\text{实验组内参}}) - (CT_{\text{对照组目的}} - CT_{\text{对照组内参}})$ 。

### 1.4 MTT 法检测转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞增殖的影响

将 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞及空白对照组细胞分别接种于 24 孔板上 (细胞浓度为  $5 \times 10^4$  个/mL, 200 μL/孔)。弃去上清液, 加入无血清的 RPMI-1640 培养液 (200 μL/孔) 及浓度为 5 mg/mL 的 MTT 液 (20 μL/孔) 继续培养 4 h 后再次弃去上清, 每孔加入 200 μL DMSO 后充分振荡 10~20 min, 待溶解结晶后分别于 24、48 及 72 h 用酶标仪测定每孔波长 570 nm 的吸光度 ( $A_{570}$ ) 值, 计算细胞抑制率, 其公式为: 细胞抑制率 (%) =  $(1 - \text{实验组 } A_{570} \text{ 值} / \text{空白对照组 } A_{570} \text{ 值}) \times 100\%$ 。

### 1.5 平板克隆实验检测转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞克隆形成的影响

将 200 μmol/L 浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞及空白对照组细胞分别接种于 6 孔板上, 在恒温 (37 °C) 培养箱中培养 14 d 后取出并用 PBS 液清

洗, 甲醛固定 15 min, 0.1% 结晶紫染液染色 20 min, 冲洗染色并风干, 在倒置显微镜下随机选取 5 个视野计数, 取平均值并用 Image J 软件统计克隆个数。

### 1.6 流式细胞仪观察转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞周期及细胞凋亡的影响

取不同浓度 miR-451a 转染的 BxPc3 细胞(细胞浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL)及空白对照组细胞连续培养 48 h 后分别接种于 24 孔板上。用不含 EDTA 的胰酶溶液消化收集细胞, 70% 乙醇固定后过夜(4 °C), 弃去上清后分别加入 50 μg/mL 的 RNase A 溶液重悬, 室温放置 1 h。4 °C 避光条件下加入 PI 染液 10 μL, 室温孵育 25 min, 流式细胞仪观察细胞周期。依据 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒进行染色后上机检测细胞凋亡。

### 1.7 Western blot 法检测 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达

将不同浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞制成单细胞悬液(浓度为  $5 \times 10^4$  个/mL)并接种于 24 孔板中(200 μL/孔), 室温培养 48 h。用 RIPA 裂解液参照说明书提取总蛋白, 用 BCA 法测定蛋白浓度并调整样品蛋白浓度使其相同后取样品, 每孔加入 4 μg 上样缓冲液, 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转印至 PVDF 膜上, 随后以 5% 脱脂奶粉封闭 2 h(37 °C)。PBS 液冲洗膜后分别加入兔抗人 MIF 单克隆抗体(1 : 200)、兔抗人 CAB39 抗体一抗(1 : 500)及 GAPDH 内参抗体(1 : 4 000), 4 °C 孵育过夜后用 PBS 液洗涤。再加入辣根过氧化物酶结合的羊抗兔二抗 IgG(1 : 2 000), 室温(37 °C)孵育 2 h 后用 ECL 显影。于暗室中分别在容器中倒入显影液及定影液, 在红光下对 X 光片曝光后迅速放入显影液中, 待出现明显条带后终止显影, 再立即放入定影液中 10 min 直至胶片透明, 清水冲洗弃去残留定影液, 室温晾干并拍照。用 Bandscan 5.0 软件进行灰度分析, 以目的蛋白条带和 GAPDH 蛋白条带的灰度值之比表示目的蛋白的相对表达水平。

### 1.8 统计学方法

使用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析。先对计量数据进行方差齐性检验和正态分布检验, 符合者以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用两因素重复测量方差分析及单因素方差分析进行统计分析, 组内比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 转染后 BxPc3 细胞中 miR-451a mRNA 表达情况

空白对照组、25、50、100、200 μmol/L 浓度组

BxPc3 细胞内 miR-451a 荧光表达的定性结果见图 1a, 半定量结果见图 1b, 结果显示, 不同浓度 miR-451a 转染后 BxPc3 细胞内 miR-451a mRNA 表达水平均较空白对照组增加( $P<0.050$ ), 细胞内荧光点明显增多, 且随着转染浓度增加, miR-451a mRNA 表达水平亦依次增高( $P<0.050$ )。

### 2.2 转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞增殖的影响

与空白对照组相比, 转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞增殖抑制率均显著增高( $P<0.050$ ); 相同作用时间下, BxPc3 细胞增殖抑制率随着转染 miR-451a 浓度的增加而增高( $P<0.050$ ); 相同作用浓度下, BxPc3 细胞增殖抑制率随着 miR-451a 转染时间的延长而增高( $P<0.001$ ), 见表 1。

### 2.3 miR-451a 对 BxPc3 细胞克隆形成的影响

BxPc3 细胞克隆数空白对照组为(299.78±13.39)个, 200 μmol/L 浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞为(144.77±32.05)个, 后者明显少于前者( $t=9.831, P<0.001$ )。

### 2.4 转染 miR-451a 后对 BxPc3 细胞周期分化及细胞凋亡的影响

**2.4.1 细胞周期分化** 连续培养 48 h 后, 在不同浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞中  $G_0/G_1$  期细胞所占百分比明显高于空白对照组( $P<0.050$ ), 而 S 期和  $G_2/M$  期细胞在不同浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞中所占百分比明显低于空白对照组( $P<0.050$ ); 随着 miR-451a 浓度的增加,  $G_0/G_1$  期、S 期和  $G_2/M$  期细胞在不同浓度之间总体比较差异有统计学意义( $F_{G_0/G_1期}=138.29, P<0.001$ ;  $F_{S期}=342.11, P<0.001$ ;  $F_{G_2/M}=97.32, P<0.001$ )。见图 1c、1d。

**2.4.2 细胞凋亡** 不同浓度的 miR-451a 转染 BxPc3 细胞 48 h 后, 各组 BxPc3 细胞凋亡率显著高于空白对照组( $P<0.050$ ); 随着 miR-451a 浓度的增加, 在不同浓度之间细胞凋亡率总体比较差异有统计学意义( $F=271.16, P<0.001$ )。见图 1e、1f。

表 1 不同浓度 miR-451a 转染不同时间后对 BxPc3 细胞增殖抑制率的影响 ( $\bar{x} \pm s, \%, n=5$ )

组别	24 h	48 h	72 h	F 值	P 值
空白对照组	0.34±0.11	0.35±0.09	0.36±0.10	39.549	1.873
25 μmol/L 组	4.61±0.12	8.53±0.36	11.74±1.14	327.300	<0.001
50 μmol/L 组	8.09±0.33	16.11±1.34	25.18±1.03	399.455	<0.001
100 μmol/L 组	17.95±1.05	32.19±1.99	38.88±3.37	185.319	<0.001
200 μmol/L 组	31.66±2.58	43.22±3.06	55.35±3.51	275.717	<0.001
F 值	152.014	653.280	367.233		
P 值	0.001	<0.001	<0.001		

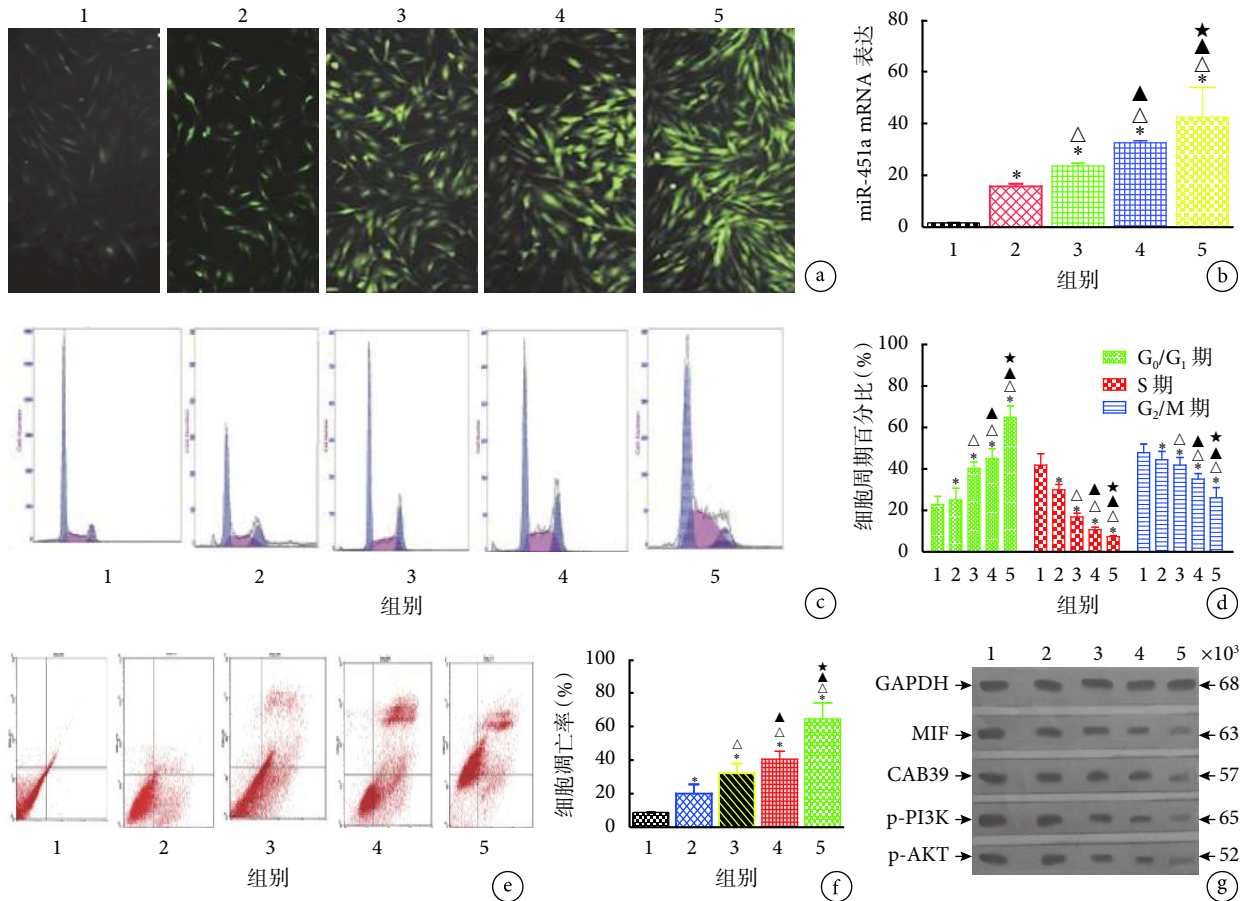


图1 示空白对照组及不同浓度 miR-451a 作用后对 BxPc3 细胞增殖、分化及凋亡的影响

a, b: 分别为 miR-451a mRNA 表达的定性结果(直接免疫荧光染色法 ×200)和半定量结果; c, d: 分别为细胞周期分化的定性及半定量结果; e, f: 分别为细胞凋亡的定性及半定量结果; g: BxPc3 细胞中 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达。1: 空白对照组; 2-5: 分别为 25、50、100 及 200 μmol/L 浓度 miR-451a 转染组。与空白对照组比较, \*P<0.050; 与 25 μmol/L 组比较, ΔP<0.050; 与 50 μmol/L 组比较, ▲P<0.050; 与 100 μmol/L 组比较, ★P<0.050

### 2.5 不同浓度 miR-451a 转染后 BxPc3 细胞中 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达的影响

不同浓度 miR-451a 转染后的 BxPc3 细胞中 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达水平均明显低于空白对照组 (P<0.050), 且随着 miR-451a 浓度的增加而逐渐下降 (P<0.050)。见图 1g 及表 2。

表 2 miR-451a 作用 48 h 时对 BxPc3 细胞中 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达的影响 (x̄±s, n=5)

组别	MIF 蛋白	CAB39 蛋白	p-PI3K 蛋白	p-AKT 蛋白
空白对照组	0.767±0.133	0.553±0.012	0.777±0.009	0.609±0.021
25 μmol/L 组	0.553±0.344	0.478±0.033	0.523±0.050	0.530±0.012
50 μmol/L 组	0.466±0.111	0.346±0.022	0.313±0.030	0.388±0.024
100 μmol/L 组	0.209±0.008	0.261±0.003	0.174±0.014	0.199±0.033
200 μmol/L 组	0.117±0.028	0.124±0.071	0.034±0.011	0.051±0.004
F 值	77.905	63.009	89.440	80.231
P 值	0.001	0.001	<0.001	<0.001

### 3 讨论

胰腺癌素有“癌中之王”之称<sup>[11]</sup>, 其起病隐匿, 多数患者确诊时已是局部进展期或已发生远处转移, 丧失了手术治疗时机<sup>[12-14]</sup>。药物化疗仍是胰腺癌综合治疗不可或缺的重要手段, 但严重的耐药问题至今仍亟待解决<sup>[15-16]</sup>, 因此, 寻求新的药物治疗靶点尤为重要。

miRNA 广泛参与了多种肿瘤的发展进程<sup>[17]</sup>, 其被证实是一种抑癌基因, 可显著抑制结肠癌<sup>[18]</sup>、胃癌<sup>[19]</sup>、食管癌<sup>[20]</sup>、肺癌<sup>[21]</sup>、乳腺癌<sup>[22]</sup>等肿瘤细胞增殖及侵袭。但目前国内关于 miR-451a 与胰腺癌的相关性研究报道较少, 仅有常振宇等<sup>[23]</sup>的研究发现 miR-451a 可增强胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性, 但其具体作用机制尚不清楚。

本研究通过脂质体转染法构建过表达 miR-451a 的 BxPc3 细胞, qRT-PCR 法检测结果发现转染后的 BxPc3 细胞内荧光点及 miR-451a mRNA 表达量均

高于空白对照组,且转染浓度越高,miR-451a mRNA 表达量也越高,结果提示,BxPc3 细胞均得到有效转染,为后续实验打下较好的基础。MTT 法及平板克隆实验发现,miR-451a 不仅可显著抑制 BxPc3 细胞增殖、减少细胞克隆数,且随着其浓度增加及作用时间延长,细胞增殖抑制效果更明显,表现出明显的时间及浓度依赖性。细胞周期分析结果发现,miR-451a 作用后的 BxPc3 细胞多数停滞在 G0/G1 期,细胞凋亡率高于空白对照组且呈现浓度依赖性。本研究实验结果提示,miR-451a 可抑制 BxPc3 细胞增殖、诱导细胞凋亡并呈浓度依赖性。

有研究<sup>[24-25]</sup>发现,MIF 广泛参与了肿瘤发生及发展进程,可促进肿瘤细胞增殖、分化,抑制细胞凋亡。CAB39 参与了肿瘤发生的重要信号通路之一的 PI3K/AKT 信号通路,可诱导下游蛋白 PI3K 及 AKT 磷酸化,进而促进细胞分化、抑制细胞凋亡。本实验进一步通过 Western blot 法检测发现,miR-451a 转染组 BxPc3 细胞内 MIF、CAB39、p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达水平均明显低于空白对照组且呈浓度依赖性。结合既有研究<sup>[26]</sup>推测 miR-451a 可能是通过靶向抑制 MIF、CAB39 及其下游蛋白表达,阻断 PI3K/AKT 信号通路,进而抑制 PI3K 及 AKT 磷酸化,导致 BxPc3 细胞周期分化停滞,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,这与 Goto 等<sup>[27]</sup>的研究结论基本一致。

本研究结果提示,miR-451a 在胰腺癌 BxPc3 细胞中发挥着抑癌基因的作用,为寻求胰腺癌治疗新的潜在分子靶点提供了一定参考。本课题研究小组后续将结合临床研究进一步探讨 miR-451a 在胰腺癌诊断及治疗中的潜在应用价值。

#### 重要声明

利益冲突声明:本文全体作者阅读并理解了《中国普外基础与临床杂志》的政策声明,我们没有相互竞争的利益。

作者贡献声明:刘少朋负责本课题的实验设计、操作、数据统计等并负责文章校对及修改;刘海潮和白明辉协助完成相关实验及数据收集和整理。

志谢:感谢苏宝威及王小亮在实验设计、数据收集等方面予以的大力协助。

#### 参考文献

- 刘梦奇,吉顺荣,徐晓涛,等. 2019 年胰腺癌研究及诊疗新进展. 中国癌症杂志, 2020, 30(1): 1-10.
- 王琛,樊勇,夏博伟. 微创时代下胰腺癌诊疗进展. 中华腔镜外科杂志(电子版), 2019, 12(5): 311-316.
- Furuse J, Shibahara J, Sugiyama M. Development of chemotherapy and significance of conversion surgery after chemotherapy in unresectable pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2018, 25(5): 261-268.
- Bacalbasa N, Balescu I, Vilcu M, et al. Pancreatoduodenectomy after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced pancreatic

- cancer in the presence of an aberrant right hepatic artery. *In Vivo*, 2020, 34(1): 401-406.
- Tsujimoto A, Sudo K, Nakamura K, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel for locally advanced or borderline resectable pancreatic cancer. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 16187.
- 孟庆榆,刘淑杰,代春梅,等. MicroRNA-18a 对乳腺癌细胞 MCF-7/PTX 紫杉醇耐药性的影响. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(2): 225-230.
- Streleckiene G, Inciuraite R, Juzenas S, et al. miR-20b and miR-451a are involved in gastric carcinogenesis through the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway: Data from gastric cancer patients, cell lines and Ins-Gas mouse model. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): pii: E877.
- Xu K, Han B, Bai Y, et al. MiR-451a suppressing BAP31 can inhibit proliferation and increase apoptosis through inducing ER stress in colorectal cancer. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 152.
- Wei GY, Hu M, Zhao L, et al. MiR-451a suppresses cell proliferation, metastasis and EMT via targeting YWHAZ in hepatocellular carcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12): 5158-5167.
- Nothnick WB, Swan K, Flyckt R, et al. Human endometriotic lesion expression of the miR-144-3p/miR-451a cluster, its correlation with markers of cell survival and origin of lesion content. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 8823.
- 叶辰,原春辉. 胰腺癌免疫微环境及免疫治疗的前景与展望. 中华外科杂志, 2019, 57(1): 10-15.
- 戴红梅,洪夏飞,庞海玉,等. 主动脉旁淋巴结转移对胰腺癌可切除性影响的研究进展. 中华外科杂志, 2019, 57(1): 68-71.
- Passardi A, Scarpi E, Neri E, et al. Chemoradiotherapy (gemox plus helical tomotherapy) for unresectable locally advanced pancreatic cancer: A phase II Study. *Cancers*, 2019, 11(5): 663.
- Caruso R, Quijano Y, Ferri V, et al. Venous resection for locally advanced pancreatic cancer: time trend and outcome analysis of 65 consecutive resections at a high-volume center. *Surg Technol Int*, 2019, 35: 92-99.
- 欧政林,李宜雄,纪连栋,等. 胰腺癌新辅助治疗的共识及争议. 中华外科杂志, 2020, 58(2): 99-104.
- Grasso C, Jansen G, Giovannetti E. Drug resistance in pancreatic cancer: Impact of altered energy metabolism. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 114: 139-152.
- 杜亚琼,姜波健,俞继卫. miRNA 在胃癌发生发展中的作用. 中国普外基础与临床杂志, 2016, 23(4): 499-502.
- Li Y, Wang J, Dai X, et al. miR-451 regulates FoxO3 nuclear accumulation through Ywhaz in human colorectal cancer. *Am J Transl Res*, 2015, 7(12): 2775-2785.
- Su Z, Zhao J, Rong Z, et al. MiR-451, a potential prognostic biomarker and tumor suppressor for gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8): 9154-9160.
- Zang WQ, Yang X, Wang T, et al. MiR-451 inhibits proliferation of esophageal carcinoma cell line EC9706 by targeting CDKN2D and MAP3K1. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(19): 5867-5876.
- Yin P, Peng R, Peng H, et al. MiR-451 suppresses cell proliferation and metastasis in A549 lung cancer cells. *Mol Biotechnol*, 2015, 57(1): 1-11.
- Gu X, Li JY, Guo J, et al. Influence of MiR-451 on drug resistances of paclitaxel-resistant breast cancer cell line. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3291-3297.
- 常振宇,张亚楠,刘婕,等. miR-451a 促进胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性. 生物技术通讯, 2019, 30(3): 308-314.
- O'Reilly C, Doroudian M, Mawhinney L, et al. Targeting MIF in cancer: therapeutic strategies, current developments, and future opportunities. *Med Res Rev*, 2016, 36(3): 440-460.
- Tian Y, Nan Y, Han L, et al. MicroRNA miR-451 downregulates the PI3K/AKT pathway through CAB39 in human glioma. *Int J Oncol*, 2012, 40(4): 1105-1112.
- 罗燕,陈志涛,徐崇明,等. VSL#3 通过 PI3K/Akt 信号通路调节溃疡性结肠炎大鼠调节性 T 细胞表达. 华中科技大学学报(医学版), 2019, 48(4): 411-416.
- Goto T, Fujiya M, Konishi H, et al. An elevated expression of serum exosomal microRNA-191, -21, -451a of pancreatic neoplasm is considered to be efficient diagnostic marker. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 116.

收稿日期: 2020-02-12 修回日期: 2020-04-29

本文编辑: 李纓来/蒲素清