



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.010
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.010
Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(9):1095-1102.

• 基础研究 •

miR-526b 在胰腺癌中的表达及作用

杨洋¹, 鲍媛¹, 吴新华², 朱岭², 刘杨安¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院 网络医疗部, 湖北 武汉 430014; 2. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院后湖院区 肝胆胰外科, 湖北 武汉 430021)

摘要

目的: 探讨 miR-526b 在胰腺癌中的表达与作用。

方法: 用 qRT-PCR 法检测 miR-526b 在 52 例胰腺癌和癌旁组织, 以及在 4 种胰腺癌细胞系 (BxPC-3、SW1990、PANC-1 和 AsPC-1) 和正常胰腺导管上皮细胞系 (HPDE6-C7) 中的表达。将胰腺癌细胞系分别转染 miR-526b 模拟物、miR-526b 抑制物及阴性对照序列后, 采用 CCK-8、Transwell 实验和流式细胞术分别测定细胞增殖、侵袭与凋亡情况。生物软件和双荧光素酶报告基因法分析 miR-526b 潜在靶基因, 并用 Western blot 和 qRT-PCR 法及相关性分析验证。

结果: miR-526b 在胰腺癌组织中表达量明显低于癌旁组织, 在 4 种胰腺癌细胞系中的表达量均明显低于人正常胰腺导管上皮细胞 (均 $P < 0.05$)。胰腺癌细胞转染 miR-526b 模拟物后, 增殖能力明显降低、细胞凋亡率明显升高、侵袭能力明显减弱, 而转染 miR-526b 抑制物后则呈反向变化 (均 $P < 0.05$)。分析结果显示 XRCC5 是 miR-526b 靶基因; 胰腺癌细胞转染 miR-526b 模拟物后, XRCC5 的 mRNA 和蛋白表达均明显下调, miR-526b 抑制物后则均明显上调 (均 $P < 0.05$); 胰腺癌组织中 miR-526b 和 XRCC5 mRNA 表达水平呈显著负相关 ($r = -0.456$, $P < 0.05$)。

结论: miR-526b 在胰腺癌中下调表达, miR-526b 低表达可促进胰腺癌细胞增殖、侵袭并抑制凋亡, 机制可能与上调其靶基因 XRCC5 的表达有关。

关键词

胰腺肿瘤; 微 RNAs; 肿瘤浸润; 计算生物学

中图分类号: R735.9

Expression of miR-526b in pancreatic cancer and its function

YANG Yang¹, BAO Yuan¹, WU Xinhua², ZHU Ling², LIU Yangan¹

(1. The Department of Internet Medicine, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, China; 2. Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Houhu area of the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430021, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression of miR-526b in pancreatic cancer and its effects.

Methods: The expressions of miR-526b in 52 specimens of pancreatic cancer and adjacent tissue as well as in different pancreatic cancer cell lines (BxPC-3, SW1990, PANC-1 and AsPC-1) and normal pancreatic ductal epithelial cells (HPDE6-C7) were determined by qRT-PCR. In pancreatic cancer cells after transfection with miR-526b mimics, miR-526b inhibitors and negative control sequences, the proliferation, invasion and apoptosis

基金项目: 湖北省武汉市卫计委基金资助项目 (WX16D37)。

收稿日期: 2019-06-21; **修订日期:** 2019-08-17。

作者简介: 杨洋, 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院主治医师, 主要从事全科医学及肿瘤方面的研究。

通信作者: 刘杨安, Email: yangan009@163.com

ability were examined by CCK-8, Transwell assay and flow cytometry, respectively. The potential target gene of miR-526b was analyzed by using biosoftware and dual-luciferase reporter assay, and then was verified by Western blot and qRT-PCR as well as correlation analysis.

Results: The expression levels of miR-526b in pancreatic cancer tissue was significantly lower than that in adjacent tissue, and in each pancreatic cell line was significantly lower than that in normal pancreatic ductal epithelial cell line (all $P < 0.05$). The proliferative ability was significantly decreased, the apoptotic rate was significantly increased and the invasion ability was significantly weakened in pancreatic cells transfected with miR-526b-mimics (all $P < 0.05$), while the opposite changes occurred in those transfected with miR-526b inhibitors (all $P < 0.05$). The results of analysis showed that XRCC5 was a potential target gene for miR-526b; in pancreatic cells, both mRNA and protein expressions of XRCC5 were down-regulated after transfection with miR-526b mimics, and were upregulated after transfection with miR-526b inhibitors (all $P < 0.05$); there was a negative correlation between miR-526b XRCC5 mRNA in pancreatic cancer tissue ($r = -0.456, P < 0.05$).

Conclusion: The expression of miR-526b is down-regulated in pancreatic cancer, and the low expression of miR-526b can promote the proliferation and invasion and inhibit the apoptosis of pancreatic cancer cells. The mechanism may be related to the up-regulation of the expression of its target gene XRCC5.

Key words

Pancreatic Neoplasms; MicroRNAs; Neoplasm Invasiveness; Computational Biology

CLC number: R735.9

胰腺癌是致死率极高的恶性肿瘤，病死率预计将在2030年位居西方国家所有恶性肿瘤的第二位^[1-2]。中国男性胰腺癌年发病率从2000年的约6/10万上升到2011年的约7/10万，相应的病死率从约7/10万上升到约8/10万^[3]。胰腺癌确诊时大多已属晚期，手术切除率仅10%~20%，预后较差^[4]。早期诊断困难、易转移和多药耐药性是导致预后不良的重要原因^[5-6]。微小RNA (microRNA, miRNA) 是一类长约22个核苷酸的非编码RNA^[7]。miRNA异常表达与肿瘤进展密切相关^[8-9]。miRNA可与信使RNA的3'非翻译区 (3'-UTR) 结合而抑制基因转录后表达^[10]。miR-526b是最新鉴定的miRNA，在神经胶质瘤^[11]和乳腺癌^[12]中下调表达，发挥肿瘤抑制作用。尽管如此，胰腺癌中miR-526b表达水平及功能尚未见报道。本研究探讨miR-526b在胰腺癌中的表达，并探讨其作用。

1 材料与方法

1.1 组织样本收集

收集2013年1月—2015年1月间在华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院肝胆胰外科收治的52例胰腺癌患者临床病理标本。纳入标准：(1) 经病理诊断为胰腺癌且行手术治疗的患者；(2) 患者具有

完整的临床及随访资料。排除标准：临床或病理资料不全者。患者术后立即将胰腺癌和癌旁组织冻存于-80℃冰箱。医院伦理委员会同意并批准该研究实施。

1.2 细胞及主要试剂和仪器

人胰腺癌细胞系 (BxPC-3、SW1990、PANC-1和AsPC-1) 和胰腺导管上皮细胞系 (HPDE6-C7) 购自美国ATCC细胞库。One Step Prime script miRNA cDNA合成试剂盒、细胞计数试剂盒-8 (CCK8)、微孔板分光光度计、膜联蛋白V-荧光素异硫氰酸酯 (FITC)/碘化丙啶 (PI) 检测试剂盒购于北京生物试剂有限公司。基质胶Matrigel及Transwell小室购于美国Invitrogen公司、miR-526b过表达序列miR-526b模拟物及下调表达序列miR-526b抑制物和阴性对照序列购自北京生物试剂有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养、转染和分组 将4种胰腺癌细胞系和正常胰腺导管上皮细胞系置于有10%胎牛血清的RPMI-1640培养基，并在37℃和5%CO₂下培养，取对数生长期且生长良好的细胞用于后续实验和转染。用lipofectamine™2000按说明书方案转染：其中包括上调miR-526b表达的miR-526b模拟物、下调miR-526b表达的miR-526b抑制物

和阴性对照序列分别转染 AsPC-1 细胞,并分为 miR-526b 模拟物组、miR-526b 抑制物组和空白对照组,通过 qRT-PCR 检测转染效率。

1.3.2 qRT-PCR 按 RNA 提取说明书步骤提取组织总 RNA 后,测定总 RNA 浓度,再依据逆转录试剂盒说明书行逆转录反应,生成 cDNA, XRCC5 和 miR-526b 引物序列由上海生工生物工程股份有限公司合成。XRCC5 上游引物: ACA TCG GCA TGA TGG CAG AA; 下游引物: TCA CAA AAG GCG GGA CCA C; miR-526b 上游引物: ACATCGGCATGATGGCAGAA; 下游引物: TCA CAA AAG GCG GGA CCAC, GAPDH 上游引物: GTA ACC CGT TGA ACC CCA TT; 下游引物为: CCA TCC AAT CGG TAG TAG CG, 其中 GAPDH 为内参,结果分析采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法定量。

1.3.3 细胞侵袭试验 将 $1 \times 10^5/100 \mu\text{L}$ 细胞悬液接种到上室,按 1:8 比例对 50 mg/L 的 Matrigel 稀释后,将 Transwell 小室底部膜包被。DMEM 培养液 500 μL 加于小室的下室,48 h 后取出小室,采用 4% 多聚甲醛固定细胞,时间 15 min,采用结晶紫染色,染色时长 10 min, PBS 漂洗后 200 倍视野下镜检并计数侵袭细胞数目。

1.3.4 细胞增殖和凋亡实验 用细胞计数试剂盒 -8 (CCK-8) 测定细胞增殖。将 96 孔板用转染的细胞 (5×10^3 细胞/孔) 接种 96 h, 每 24 h, 每孔接受 10 μL CCK-8 溶液孵育 4 h。然后用微孔板分光光度计在每个时间点测量 450 nm 处的吸光度。流式细胞术使用膜联蛋白 V- 荧光素异硫氰酸酯 (FITC) / 碘化丙啶 (PI) 检测试剂盒评估凋亡程度。将总共约 5×10^4 AsPC-1 细胞接种到 6 孔板中用于细胞凋亡测定,使用膜联蛋白 V-FITC 凋亡检测试剂盒,按说明书进行染色程序,使用 Cell-Quest 软件分析细胞凋亡率。

1.3.5 荧光素酶报告基因测定 将含有预测 miR-526b 结合位点的 X- 射线修复交叉互补蛋白 5 (X-ray repair cross-complementing protein 5, XRCC5) 突变型 3'UTR 和 XRCC5 野生型 3'UTR 插入 pmiRGLO 载体 (Promega, 美国) 中。将 AsPC-1 细胞接种于 96 孔板中,用 XRCC5 野生型 3'UTR 或 XRCC5 突变体 3'UTR 荧光素酶报告基因和阴

性对照序列或 miR-526b 模拟物与 Lipofectamine 2000 共转染。在转染 48 h 后,采用双荧光素酶报告系统检测荧光素酶活性并以海肾活性标准化。

1.3.6 Western blot 分析 使用 RIPA 缓冲液提取转染细胞的总蛋白质。用 10%-12% SDS-PAGE 凝胶分离蛋白质并转移到硝酸纤维素膜上。随后,用 5% 无脂牛奶封闭 2 h, 并与包括 XRCC5 (Santa Cruz, 美国) 和 GAPDH (Santa Cruz, 美国) 一抗孵育。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下过夜。根据制造商的说明,用 ECL 试剂盒 (Beyotime, 南京) 检测蛋白印迹。

1.4 统计学处理

用 SPSS 19.0 统计学软件对数据行统计分析。计量数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。胰腺癌组织中 miR-526b 表达水平与患者临床病理参数采用卡方检验; Kaplan-Meier 生存分析和对数秩检验比较 miR-526b 高低表达患者生存率差异; 胰腺癌组织中 miR-526b 和 XRCC5 mRNA 表达间关系采用 Pearson 相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-526b 在胰腺癌中表达水平下调

胰腺癌组织中 miR-526b 表达量明显低于癌旁组织 [(3.2 ± 1.3) vs. (8.5 ± 2.6) , $P < 0.001$] (图 1A); 4 种胰腺癌细胞系 (BxPC-3、SW1990、PANC-1 和 AsPC-1) 中 miR-526b 表达水平明显低于人正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 (均 $P < 0.001$) (图 1B)。

2.2 转染效果检测

与对阴性对照组比较, AsPC-1 细胞转染 miR-526b 模拟物后, miR-526b 表达水平明显升高 ($P < 0.01$), 而转染 miR-526b 抑制物后, miR-526b 表达水平明显降低 ($P < 0.01$) (图 2)。

2.3 miR-526b 对胰腺癌细胞增殖的影响

CCK8 结果显示, miR-526b 模拟物组增殖能力明显低于阴性对照组 ($P < 0.01$); miR-526b 抑制物组增殖能力明显高于阴性对照组 ($P < 0.01$) (图 3)。

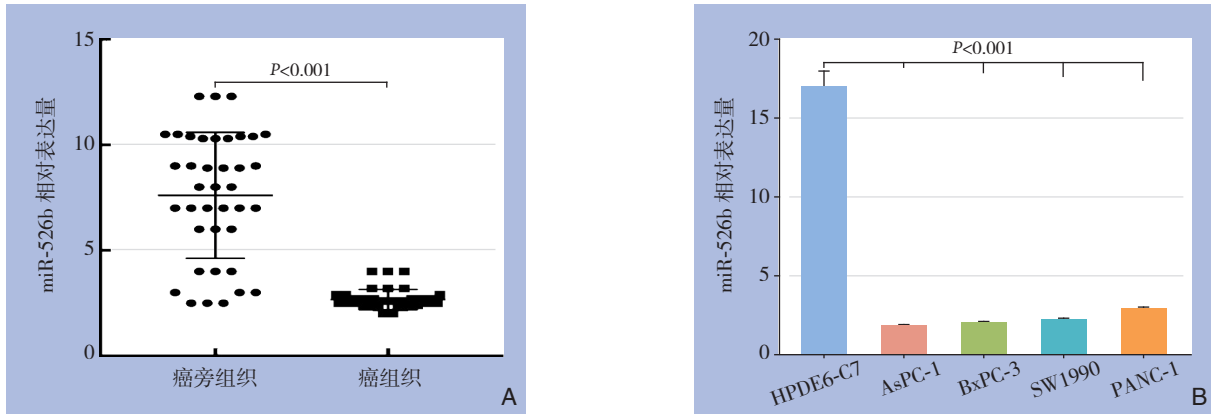


图 1 qRT-PCR 检测 miR-526b 表达 A: 胰腺癌组织与癌旁组织; B: 胰腺癌细胞系与正常胰腺导管上皮细胞

Figure 1 Expressions of miR-526b detected by qRT-PCR A: Pancreatic cancer and tumor adjacent tissues; B: Pancreatic cancer cell lines and normal pancreatic ductal epithelial cells

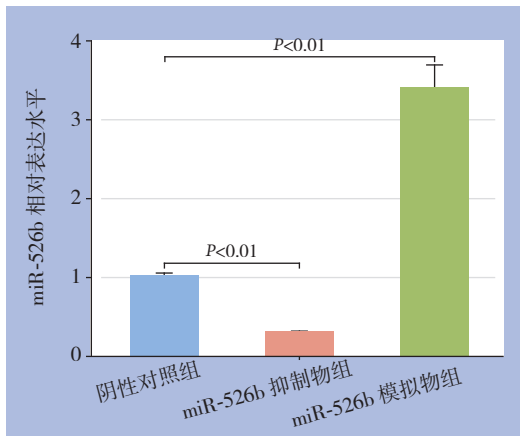


图 2 miR-526b 转染效率测定

Figure 2 Determination of the transfection efficiency of miR-526b

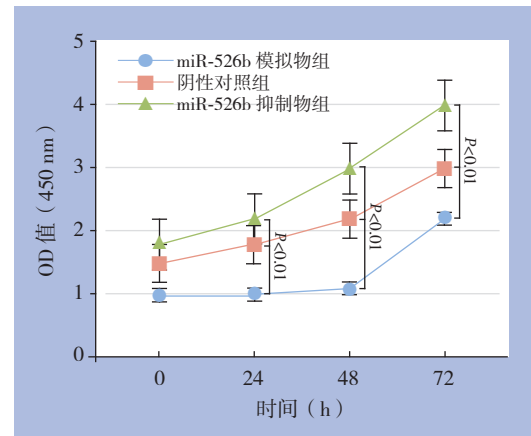


图 3 miR-526b 表达对胰腺癌增殖的影响

Figure 3 Influence of miR-526b on proliferation of pancreatic cancer cells

2.4 miR-526b 对胰腺癌细胞凋亡的影响

流式细胞检测结果显示, miR-526b模拟物组凋亡率明显高于阴性对照组[(15.1 ± 2.4) % vs. (8.2 ±

0.7) % , P < 0.05]; miR-526b抑制物组细胞凋亡率明显低于阴性对照组[(4.6 ± 0.4) % vs. (8.2 ± 0.7) % , P < 0.05] (图 4)。

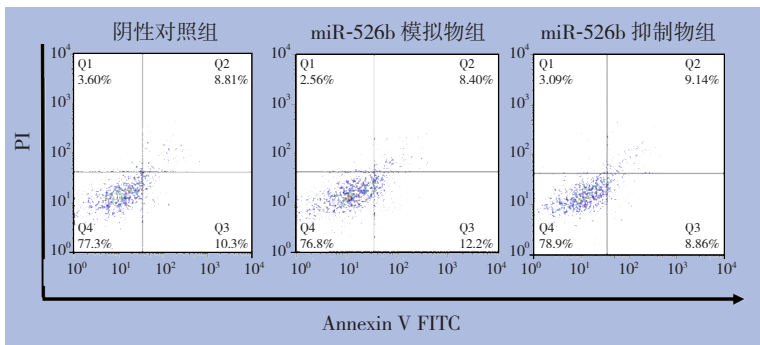
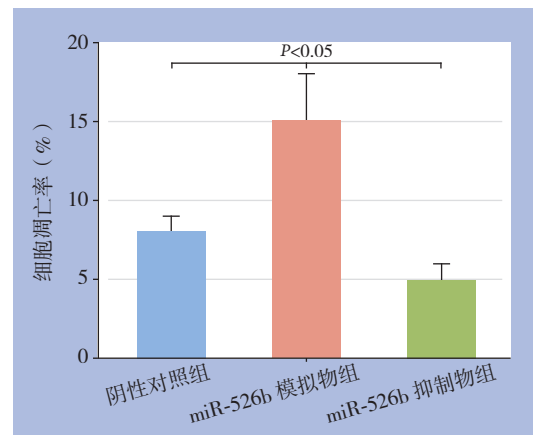


图 4 miR-526b 表达对胰腺癌细胞凋亡的影响

Figure 4 Influence of miR-526b expression on apoptosis of pancreatic cancer cells



2.5 miR-526b 对胰腺癌细胞侵袭的影响

Transwell结果显示(200倍视野下), miR-526b模拟物组侵袭细胞数明显少于阴性对照组

[(40 ± 5)个 vs. (70 ± 12)个, $P < 0.01$]; miR-526b inhibitor组侵袭细胞数明显多于阴性对照组 [(215 ± 26)个 vs. (70 ± 12)个, $P < 0.01$] (图5)。

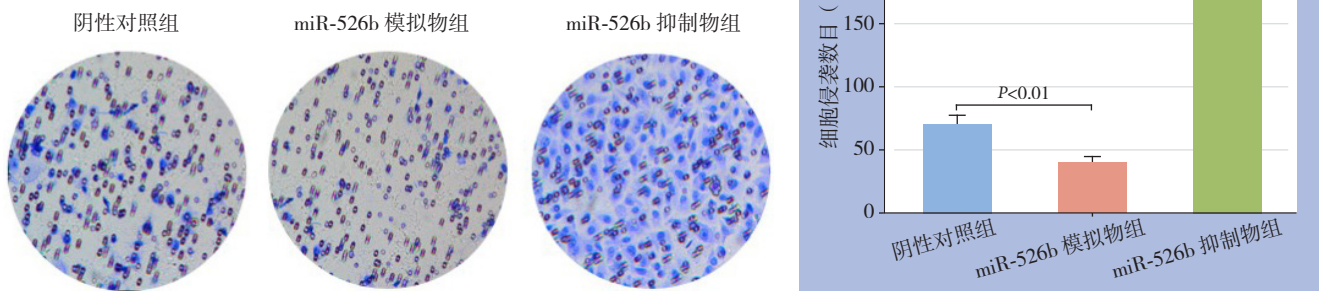


图5 miR-526b 表达对胰腺癌细胞侵袭的影响

Figure 5 Influence of miR-526b expression on invasion of pancreatic cancer cells

2.6 miR-526b 上调抑制 XRCC5 的表达

检索miRanda数据库(www.miroRNA.org)发现XRCC5是miR-526b潜在靶基因。miR-526b模拟物和XRCC5野生型3'UTR(XRCC5-WT-3'UTR)共转染,荧光素酶报告基因活性显著性降低,miR-526b模拟物和突变型XRCC5的3'UTR(XRCC5-MUT的3'UTR)共转染后,荧光素酶报告基因活性无改变。进一步研究显示,当AsPC-1细胞转染miR-526b模拟物后,细胞系中XRCC5的mRNA和蛋白质表达均较空白对照组(转染阴性对

照组序列)明显下调(均 $P < 0.05$),当AsPC-1细胞转染miR-526b抑制物后,XRCC5的mRNA和蛋白质表达均较空白对照组明显上调(均 $P < 0.05$) (图6)。

2.7 胰腺癌组织中 miR-526b 和 XRCC5 mRNA 表达的相关性

Pearson相关显示:胰腺癌组织中miR-526b和XRCC5 mRNA表达水平呈显著负相关($r = -0.456, P < 0.001$) (图7)。

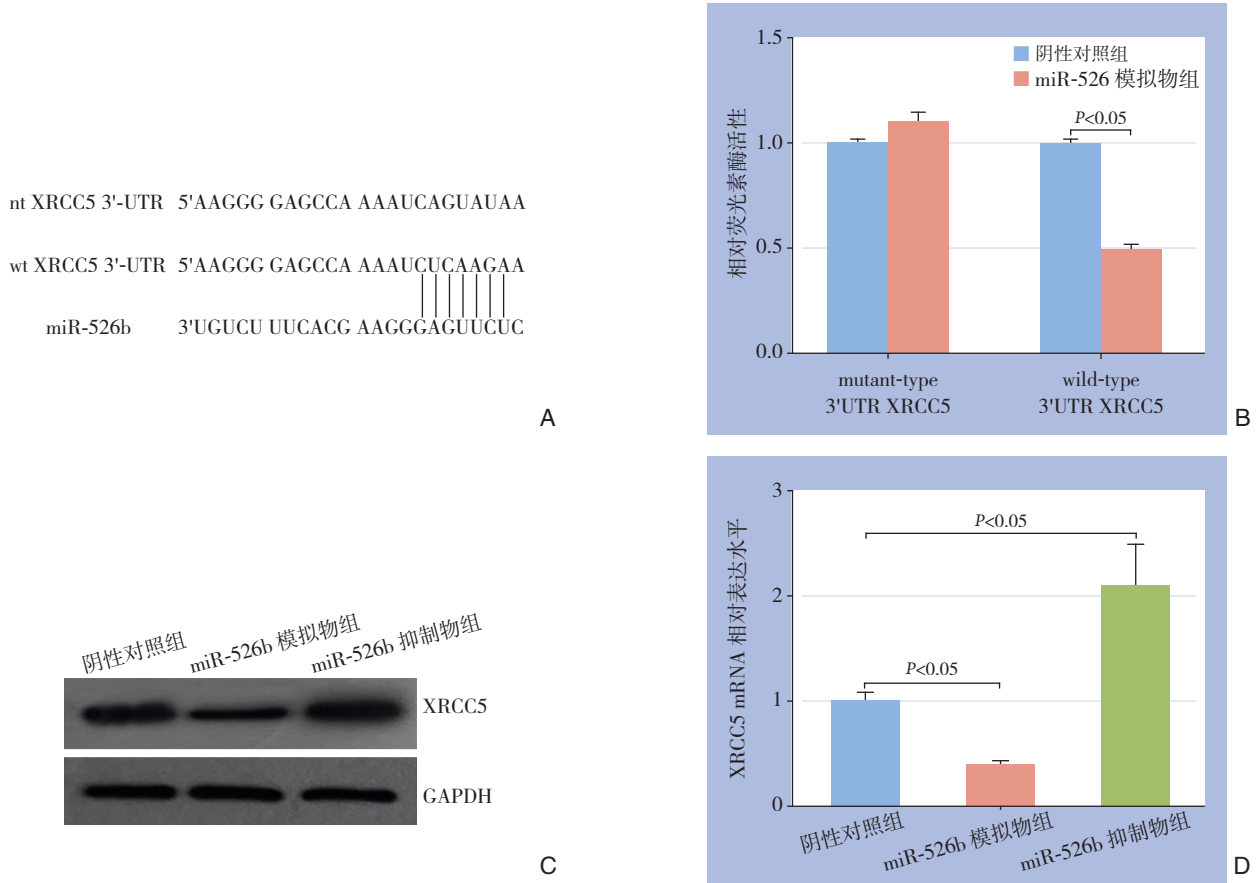


图 6 miR-526b 靶基因分析 A: 生物信息软件预测 XRCC5 mRNA 的 3'UTR 中的序列与 miR-526b 结合; B: 荧光素酶报告基因实验显示 XRCC5 为 miR-526b 的靶基因; C: 不同 miR-526b 表达水平对 XRCC5 蛋白表达的影响; D: 不同 miR-526b 表达水平对 XRCC5 mRNA 表达的影响

Figure 6 Analysis of the target gene for miR-526b A: Bioinformatics software predicting that the sequence of 3'UTR of XRCC5 gene binds to miR-526b; B: Luciferase reporter gene assay showing that XRCC5 is the target gene of miR-526b; C: Influence of different miR-526b expression levels on XRCC5 protein expression; D: Influence of different miR-526b expression levels on XRCC5 protein expression

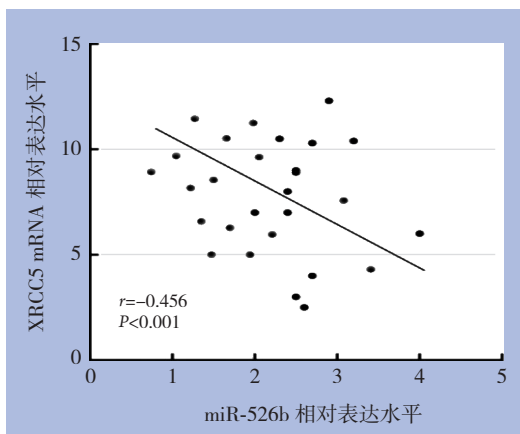


图 7 胰腺癌组织中 miR-526b 和 XRCC5 mRNA 表达的相关性

Figure 7 Correlation between the expression of miR-526b and XRCC5 mRNA in pancreatic cancer tissue

3 讨论

胰腺癌是常见的高致死性肿瘤^[13]。胰腺癌诊断时常处于晚期，即胰腺癌切除术后5年生存率仍低于20%^[14-15]。研究胰腺癌的发病机制对改善胰腺癌预后尤为重要^[16]。

本研究发现胰腺癌患者病理标本中，癌组织中miR-526b表达显著低于癌旁组织；4种胰腺癌细胞系中miR-526b表达均较胰腺正常导管上皮细胞系下调，显示miR-526b在胰腺癌组织和细胞系中表达下调，此结果与目前文献报道存在一致性：文献^[17]报道在非小细胞肺癌患者中，无论病理类型是鳞状细胞癌还是腺癌，手术切除病理标本中均可发现癌组织miR-526b表达水平显著低于癌旁组织，同时在神经胶质瘤^[11]、乳腺癌^[12]和结肠癌^[18]

患者中,癌组织中miR-526b表达水平也低于癌旁组织,综合上述结果提示在多种不同类型的癌症中均可发现癌组织中miR-526b表达水平受到抑制。

miR-526b在其他肿瘤中的表达及与预后的关系已有相关报道。在肝细胞癌中,癌组织中miR-526b低表达与低分化、TNM分期、转移和门静脉癌栓相关,且是影响预后的独立危险因素^[19];在宫颈癌体外细胞实验中,miR-526b低表达可促进宫颈癌细胞的上皮间质转化过程而发挥促癌作用^[20]。在体外胰腺癌细胞系AsPC-1中,通过上调miR-526b表达后,发现AsPC-1细胞增殖和侵袭能力受到明显抑制,细胞凋亡比率显著增加;而下调miR-526b表达后发现AsPC-1细胞增殖和侵袭能力显著增强,细胞凋亡比率显著下降,提示miR-526b表达可影响胰腺癌细胞增殖、侵袭和凋亡。

XRCC5是参与DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)修复的主要基因,可编码Ku80蛋白^[21]。在细胞生命活动中,错误修复的DSB是主要的DNA损伤,可导致染色体畸变、突变或癌变,是各种癌症发生的重要机制之一^[22]。临床研究已经证实XRCC5是重要的癌基因之一, XRCC5高表达导致Ku80蛋白过表达, Ku80蛋白高表达与膀胱癌^[23]、宫颈癌^[24]和结肠癌肝转移^[25]进展呈正相关, XRCC5高表达是上述癌症发生和进展的重要因素。在结直肠癌肝转移的患者中,癌组织中XRCC5高表达与淋巴结和肝转移显著相关^[25];在乳腺癌中研究者也发现XRCC5高表达是预测患者接受放射治疗后不良预后的独立危险因素^[26]。通过生物信息检索和双荧光素酶报告基因结果显示XRCC5是miR-526b潜在靶基因,同时文献^[17]报道在非小细胞肺癌中也证实miR-526b靶基因为XRCC5,且miR-526b低表达直接靶向调节XRCC5基因高表达而促进NSCLC进展。

本研究结果显示,在胰腺癌细胞系(AsPC-1)中,miR-526b表达可调节XRCC5基因表达;且在胰腺癌患者病理标本中发现胰腺癌组织中miR-526b表达与XRCC5 mRNA表达呈负相关。在非小细胞肺癌细胞系A5490中,miR-526b上调可导致XRCC5基因表达水平降低、p53基因表达水平增加且促进A549细胞凋亡^[17];同时在肺腺癌中miR-526b可能调节XRCC5基因表达而影响肺腺癌患者化疗敏感性^[27];结合本研究结果,提示miR-526b

可能通过调节XRCC5基因表达而影响胰腺癌细胞增殖、侵袭和凋亡。

本研究存在如下不足:本研究并未在动物实验中探讨miR-526b和XRCC5表达变化对肿瘤进展的影响,值得进一步探究。

总之,胰腺癌患者miR-526b表达下调,miR-526b下调表达促进癌细胞增殖、侵袭并抑制凋亡,机制可能与上调XRCC5表达有关。

参考文献

- [1] Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, et al. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(11):2913–2921. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0155.
- [2] Kuroczycki-Saniutycz S, Grzeszczuk A, Zwierz ZW, et al. Prevention of pancreatic cancer[J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2017, 21(1):30–34. doi: 10.5114/wo.2016.63043.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115–132. doi: 10.3322/caac.21338.
- [4] Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, et al. Pancreatic cancer[J]. *Lancet*, 2016, 388(10039):73–85. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00141-0.
- [5] 隋宇航, 孙备. 胰腺癌临床研究的热点问题[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(3):255–259. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.03.001.
Sui YH, Sun B. Hot issues in clinical research of pancreatic cancer [J]. *Chinese Journal of General Surgery* 2019, 28(3):255–259. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.03.001.
- [6] Collisson EA, Bailey P, Chang DK, et al. Molecular subtypes of pancreatic cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(4):207–220. doi: 10.1038/s41575-019-0109-y.
- [7] Reddy KB. MicroRNA (miRNA) in cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15:38. doi: 10.1186/s12935-015-0185-1.
- [8] Zhou X, Lu Z, Wang T, et al. Plasma miRNAs in diagnosis and prognosis of pancreatic cancer: A miRNA expression analysis[J]. *Gene*, 2018, 673:181–193. doi: 10.1016/j.gene.2018.06.037.
- [9] Naidu S, Magee P, Garofalo M. MiRNA-based therapeutic intervention of cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:68. doi: 10.1186/s13045-015-0162-0.
- [10] Moore MJ, Scheel TK, Luna JM, et al. miRNA-target chimeras reveal miRNA 3'-end pairing as a major determinant of Argonaute target specificity[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:8864. doi: 10.1038/ncomms9864.
- [11] Wu M, Li X, Liu Q, et al. miR-526b-3p serves as a prognostic

- factor and regulates the proliferation, invasion, and migration of glioma through targeting WEE1[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11:3099–3110. doi: 10.2147/CMAR.S192361.
- [12] Majumder M, Landman E, Liu L, et al. COX-2 elevates oncogenic miR-526b in breast cancer by EP4 activation[J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(6):1022–1033. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0543.
- [13] Ilic M, Ilic I. Epidemiology of pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(44):9694–9705. doi: 10.3748/wjg.v22.i44.9694.
- [14] Strobel O, Hank T, Hinz U, et al. Pancreatic Cancer Surgery: The New R-status Counts[J]. *Ann Surg*, 2017, 265(3):565–573. doi: 10.1097/SLA.0000000000001731.
- [15] 杨永超, 李宜雄. 胰腺癌外科治疗的历史和现状[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(3):269–283. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.002.
Yang YC, Li YX. The surgical treatment of pancreatic cancer: history and present state[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(3):269–283. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.03.002.
- [16] Balachandran VP, Łuksza M, Zhao JN, et al. Identification of unique neoantigen qualities in long-term survivors of pancreatic cancer[J]. *Nature*, 2017, 551(7681):512–516. doi: 10.1038/nature24462.
- [17] Zhang ZY, Fu SL, Xu SQ, et al. By downregulating Ku80, hsa-miR-526b suppresses non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(3):1462–1477. doi: 10.18632/oncotarget.2808.
- [18] Zhang R, Zhao J, Xu J, et al. miR-526b-3p functions as a tumor suppressor in colon cancer by regulating HIF-1 α [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(6):2783–2789.
- [19] Liu X, Yang L, Tu J, et al. microRNA-526b serves as a prognostic factor and exhibits tumor suppressive property by targeting Sirtuin 7 in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(50):87737–87749. doi: 10.18632/oncotarget.21209.
- [20] Li H, Wang J, Xu F, et al. By downregulating PBX3, miR-526b suppresses the epithelial–mesenchymal transition process in cervical cancer cells[J]. *Future Oncol*, 2019, 15(14):1577–1591. doi: 10.2217/fon-2018-0575.
- [21] Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2017, 58(5):235–263. doi: 10.1002/em.22087.
- [22] Xiao Y, Wang J, Qin Y, et al. Ku80 cooperates with CBP to promote COX-2 expression and tumor growth[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10):8046–8061. doi: 10.18632/oncotarget.3508.
- [23] Groselj B, Kerr M, Kiltie AE. Radiosensitisation of bladder cancer cells by panobinostat is modulated by Ku80 expression[J]. *Radiother Oncol*, 2013, 108(3):429–433. doi: 10.1016/j.radonc.2013.06.021.
- [24] Zhuang L, Liu F, Peng P, et al. Effect of Ku80 on the radiosensitization of cisplatin in the cervical carcinoma cell line HeLa[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(1):147–154. doi: 10.3892/ol.2017.7304.
- [25] Leguisamo N, Laporte G, Glória H, et al. Association of DNA repair modulation and aggressiveness in colorectal cancer liver metastasis[J]. *HPB*, 2018, 20: S362–363.
- [26] Lees-Miller SP, Beattie TL, Tainer JA. Noncoding RNA joins Ku and DNA-PKcs for DNA-break resistance in breast cancer[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23(6):509–510. doi: 10.1038/nsmb.3240.
- [27] Shang B, Jia Y, Chen G, et al. Ku80 correlates with neoadjuvant chemotherapy resistance in human lung adenocarcinoma, but reduces cisplatin/pemetrexed-induced apoptosis in A549 cells[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1):56. doi: 10.1186/s12931-017-0545-6.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 杨洋, 鲍媛, 吴新华, 等. miR-526b在胰腺癌中的表达及作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(9):1095–1102. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.010

Cite this article as: Yang Y, Bao Y, Wu XH, et al. Expression of miR-526b in pancreatic cancer and its function[J]. *Chin J Gen Surg*, 2019, 28(9):1095–1102. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.010