



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.09.010  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2017.09.010  
Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(9):1141-1147.

· 基础研究 ·

## miR-567 在胰腺癌细胞中的表达及其作用机制

张婷, 赵顺玉, 孔双喜

(华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院 肿瘤科, 湖北 武汉 430014)

### 摘要

**目的:** 探讨 miR-567 在胰腺癌细胞中的表达及其作用。

**方法:** 采用 qRT-PCR 检测正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 及胰腺癌细胞系 Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3 中 miR-567 表达。Panc-1 细胞转染 miR-567 过表达慢病毒载体后, 分别用 CCK-8 法、流式细胞术、划痕愈合实验、qRT-PCR、Western blot 法检测细胞增殖、凋亡及迁移能力, 以及 KPNA4 mRNA 与蛋白的表达、凋亡相关蛋白表达的变化。

**结果:** miR-567 在胰腺癌细胞系 Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3 中的表达水平均明显低于正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 (均  $P < 0.05$ ) ; miR-567 慢病毒转染 Panc-1 细胞后, 增殖能力明显减弱, 凋亡率明显增加, 划痕愈合率明显降低、KPNA4 mRNA 与蛋白表达明显下调、而 caspase-3 及 Bax 蛋白表达明显上调 (均  $P < 0.05$ ) 。

**结论:** miR-567 在胰腺癌细胞中表达降低, 升高其表达可抑制胰腺癌细胞的生长与迁移能力, 其机制可能与下调 KPNA4 并上调凋亡相关蛋白表达有关。

### 关键词

胰腺肿瘤; 微 RNAs; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞运动

中图分类号: R735.9

## MiR-567 expression in pancreatic carcinoma cells and its action mechanism

ZHANG Ting, ZHAO Shunyu, KONG Shuangxi

(Department of Oncology, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, China)

### Abstract

**Objective:** To investigate the miR-567 expression in pancreatic cancer cells and its function.

**Methods:** The miR-567 expressions in normal pancreatic duct epithelial cell line HPDE6-C7 and pancreatic carcinoma cell line Panc-1, AsPC-1, HPAC and BxPC-3 were determined by qRT-PCR. The miR-567 overexpression lentivirus vectors were transfected into the Panc-1 cells, and then, the changes in proliferation, apoptosis and migration ability as well as expressions of KPNA4 mRNA and protein and apoptosis-associated proteins were analyzed by CCK-8 assay, flow cytometry, scratch wound healing assay, qRT-PCR and Western blot, respectively.

**Results:** The miR-567 expressions in all the pancreatic cancer cell lines were significantly lower than that in normal pancreatic duct epithelial HPDE6-C7 cells (all  $P < 0.05$ ). In Panc-1 cells after transfection with miR-567 overexpression lentivirus vectors, the proliferation was decreased, apoptosis rate was increased, scratch healing

收稿日期: 2017-07-18; 修订日期: 2017-08-11。

作者简介: 张婷, 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院主治医师, 主要从事胰腺癌方面的研究。

通信作者: 孔双喜, Email: beidouxing0402@163.com

rate was reduced, and both KPNA4 mRNA and protein expressions were down-regulated, while the caspase-3 and Bax protein expressions were up-regulated significantly (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** MiR-567 expression is decreased in pancreatic cancer cells, and up-regulating its expression can inhibit the growth and migration ability of pancreatic cancer cells, and the mechanism may possibly be associated with its decreasing KPNA4 expression and increasing the expressions of apoptosis-associated proteins.

**Key words** Pancreatic Neoplasms; MicroRNAs; Cell Proliferation; Apoptosis; Cell Movement

**CLC number:** R735.9

胰腺癌是种高度恶性的肿瘤，在肿瘤致死疾病中高居第4位<sup>[1]</sup>。近年来，胰腺癌的发病率呈不断上升趋势，多数患者在诊断时已处于晚期，预后较差。据统计，我国胰腺癌患者5年生存率仅1%~3%<sup>[2]</sup>。因此，对胰腺癌发生分子机制的探索，将为寻求新的诊断和预后标志物、开发新的治疗策略提供新的思路和依据。microRNA (miRNA) 是一类内源性的长约22个核苷酸的高度保守性非编码RNA分子<sup>[2]</sup>。在调控基因表达方面具有重要作用，往往通过碱基配对绑定到靶基因3'UTR非翻译区，导致靶基因降解或翻译抑制<sup>[3]</sup>。miRNA能调控约60%的蛋白编码基因<sup>[4]</sup>，广泛参与细胞分化、生长、发育等多种生物学过程<sup>[5]</sup>。miRNA在多种人类疾病中呈异常表达，尤其是肿瘤，其异常表达与肿瘤发生发展紧密相关<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7]</sup>表明，miR-567失调促进乳腺癌的发生，影响肿瘤细胞增殖和迁移。但是miR-567在胰腺癌中的生物学作用尚不清楚。

本研究旨在对miR-567在胰腺癌细胞系中的表达水平进行鉴定，同时采用慢病毒转染诱导过表达分析miR-567对胰腺癌细胞增殖、凋亡及迁移能力的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

正常胰腺导管上皮细胞系HPDE6-C7及胰腺癌细胞系Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3均购自北京协和医学院细胞库，Cell Counting Kit-8购自碧云天生物科技有限公司，Annexin V/PI凋亡检测试剂盒购自天津三箭生物技术有限公司，胎牛血清及RPMI-1640培养基均购自美国Roswell公司，TRIzol购自美国Invitrogen公司，TaqMan Real-Time PCR Master Mixes购自美国Thermo Fisher Scientific公司，2×SYBR Green qPCR试剂盒购自

北京索莱宝科技有限公司，All-in-One microRNA试剂盒购自美国BD公司，实验所需的KPNA4、Caspase 3、Bax及GAPDH一抗均购自美国BD公司，二抗均购自武汉博士德生物科技有限公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 慢病毒包装与纯化** miR-567慢病毒载体构建，以人的基因组为模板，用下述引物扩增前体hsa-mir-567 MI0003573。miR-567\_F (Xho I): 5'-CCG CTC GAG GGA TTC TTA TAG GAC AGT AT-3'; miR-567\_R: 5 (BamHI) '- AGC GGA TCC AGC AAT AAC TTT TTT TTT TAG T-3'，得到前体hsa-mir-567片段后，以Xho I/BamHI克隆到pGMLV-PE1 miR过表达慢病毒载体，测序正确后即得到hsa-miR-567的慢病毒过表达载体。然后进行慢病毒包装和感染细胞。空载体慢病毒感染组为NC组。慢病毒包装使用第二代体系，12 μg pGMLV-PE1 hsa-miR-567与CON载体、9 μg pSPAX2、3 μg PMD2G载体转入293t细胞后，收集48 h上清，即得到病毒上清，病毒上清使用PEG纯化，将病毒上清与PEG体积比4:1混合后，4度沉淀过夜，3 000 r/min离心30 min，去上清，沉淀使用无血清1640培养基重悬。

**1.2.2 细胞培养、转染及分组** 将正常胰腺导管上皮细胞系HPDE6-C7及胰腺癌细胞系Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3种植于RPMI-1640培养基(含10%胎牛血清)，于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。并将Panc-1细胞系分成3组，miR-567转染组、空载体转染组及空白对照组，分别用含pGMLV-PE1 miR过表达慢病毒载体的慢病毒、空载体慢病毒感染miR-567转染组及空载体转染组细胞，作为空白对照，空白对照组不转染，加PBS做对照。病毒感染复数为10 MOI(病毒:细胞=10:1)，培养48 h后行后续实验。

**1.2.3 RNA提取及qRT-PCR** (1) miR-567相对表达量检测: 用All-in-One microRNA抽提试

试剂盒和 All-in-One miRNA qRT-PCR 检测试剂盒提取和分离正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 及胰腺癌细胞系 miRNA 后,使用 TaqMan Real-Time PCR Master Mixes 检测 Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3 中 miRNA-567 的表达,检测系统为 ABI 7500 fast, miRNA QPCR 引物购自 Exiqon 公司 (Euroclone, Italy) (Accession No. MI0003573), 以 U6 小核 RNA 作为内参,使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法定量,量化 miR-567 相对表达量。

(2) KPNA4 mRNA 检测: 使用 Trizol 提取细胞总 RNA 后,使用 qRT-PCR 检测 miR-567 转染组及空载体转染组细胞中 KPNA4 mRNA 的相对表达水平, KPNA4 正向引物: 5'-CAG GAG ATT CTT CCA GCC CTT TGT GT-3'; 反向引物: 5'-ATT ACC ATC TGT ATT TGT TCA TTG CCA GCA TG-3', GAPDH 正向序列: 5'-TAT GCT CTC CTC ATG CAT TG-3'; 反向序列 5'-GGG ACG ACC TTC GAT CTA CC-3', 按 TAKARA SYBR Premix Ex Taq 反应体系进行 PCR 扩增反应。以 GAPDH 基因为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 KPNA4 mRNA 的相对表达量,实验重复 3 次,取平均值。

**1.2.4 细胞增殖检测** 采用 CCK-8 法,将 miR-567 转染组、空载体转染组及空白对照组 3 组细胞消化成单细胞悬液后,按每孔  $2 \times 10^3$  个细胞接种于 96 孔板上,培养基体积为 200  $\mu$ L。培养 24 h 后加入 5 mg/mL CCK-8 溶液 40  $\mu$ L,孵育 4h 后每孔加入 200  $\mu$ L DMSO,摇床上充分震荡。在转染 1、2、3、4 d 后于 450 nm 波长测定吸光度值。重复 3 次,取平均值,作细胞增殖曲线。

**1.2.5 细胞凋亡检测** 采用 Annexin V/PI 染色检测,将 miR-567 转染组、空载体转染组及空白对照组 3 组细胞消化成单细胞悬液后,PBS 清洗 2 次,并使用 Binding Buffer 重悬,加入相应比例的 Annexin V 抗体,避光染色 10 min 后加入适量 PBS 溶液以及 PI 染料,流式细胞仪检测 Annexin V 阳性细胞比例来确定细胞凋亡的变化。

**1.2.6 细胞划痕实验** 将 miR-567 转染组、空载体转染组两组细胞接种于 6 孔板,培养 24 h,胰蛋白酶消化细胞,待细胞长至融合后,用 200  $\mu$ L Tips 枪头沿培养孔划直线,计算划痕后 0、48 h 划痕面积,并计算划痕愈合率,实验在标准状态下重复 3 次,取均值。划痕愈合率 = (划痕后即刻的划痕面积 - 划痕后 48 h 的划痕面积) / 划痕后即刻的划痕面积  $\times 100\%$ 。迁移能力越强,划痕愈合率越高。

**1.2.7 Western blot** 将 miR-567 转染组、空载体转染组两组细胞使用 RIPA 细胞裂解液冰上裂解 30 min 后,加入相应比例蛋白上样缓冲液,煮沸 10 min,按 30  $\mu$ g 的量上样,加入 Western blot 预制胶,50 V 恒压待样本溴酚蓝跑至浓缩胶与分离胶分界线时,切换至 120 V 恒压,溴酚蓝跑至胶板底部时,400 mA 恒流将蛋白样本转至 PVDF 膜上,加 KPNA4 (1:200)、caspase-3 (1:200)、Bax (1:200) 及 GAPDH (1:200) 一抗,37  $^{\circ}$ C 孵育 4 h,二抗 (1:500) 孵育过夜,ECL 液显影,Quantity One 1-D 分析软件对蛋白质印迹条带进行定量。目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白测定值 / GAPDH,实验重复 3 次,取平均值。

### 1.3 统计学处理

数据处理用 SPSS 17.0 统计软件和 Graph 软件,计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,比较采用 *t* 检验或方差分析,两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-567 在胰腺癌细胞系中低表达

设 miR-567 在正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 中相对表达量为 1.0,在胰腺癌细胞系 Panc-1、AsPC-1、HPAC、BxPC-3 的相对表达量分别为  $0.27 \pm 0.06$ 、 $0.34 \pm 0.041$ 、 $0.44 \pm 0.033$ 、 $0.53 \pm 0.08$ ,miR-567 在胰腺癌细胞系中的表达均明显低于正常胰腺导管上皮细胞系 HPDE6-C7 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

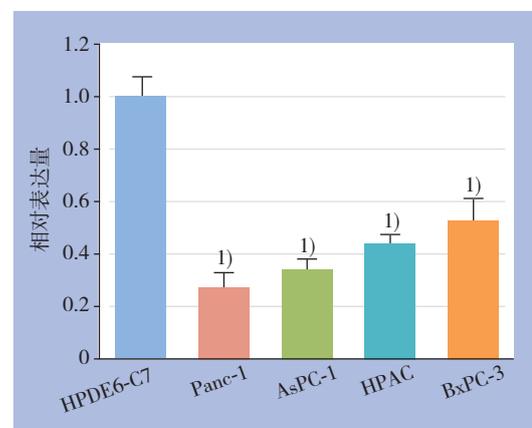


图 1 miR-567 在胰腺癌细胞及正常胰腺导管上皮细胞中的表达 注: 1) 与 HPDE6-C7 比较,  $P < 0.05$

Figure 1 miR-567 in pancreatic carcinoma and normal pancreatic cell line Note: 1)  $P < 0.05$  vs. HPDE6-C7

### 2.2 miR-567 过表达抑制 Panc-1 细胞增殖并促进凋亡

qRT-PCR检测显示，miR-567转染组miR-567的相对表达量为 $14.53 \pm 0.81$ ，明显高于空白对照组 ( $P < 0.001$ )，空载体转染组与空白对照组miR-567相对表达量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (图2A)。CCK8实验结果显示，miR-567转染组在铺板48 h之后的时间点，OD<sub>450</sub>值明显小于空

白对照组 (均 $P < 0.05$ )，空载体转染组与空白对照组各时间点OD<sub>450</sub>值差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$ ) (图2B)。流式细胞凋亡检测结果显示，miR-567转染组凋亡率为26.7%，空白对照组为7.1%，空载体转染组为5.7%，miR-567转染组凋亡率显著高于空载体转染组 ( $P < 0.001$ )，空白对照组和空载体转染组凋亡率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (图2C)。

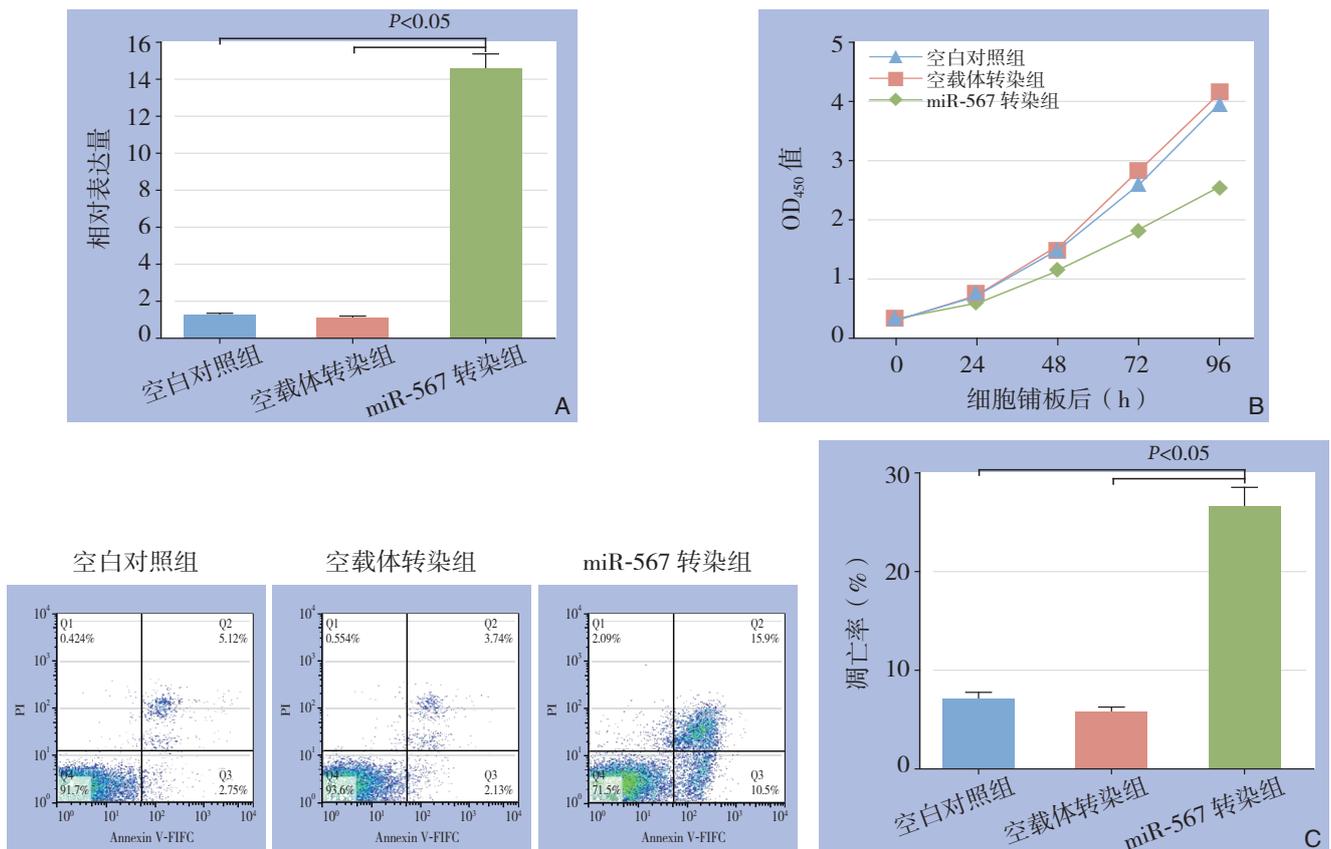


图 2 miR-567 慢病毒转染对 Panc-1 细胞 miR-567 表达及、增殖、凋亡的影响 A: miR-567 相对表达量; B: 细胞增殖曲线; C: 细胞凋亡检测

Figure 2 Influence of miR-567 lentivirus vector transfection on miR-567 expression, proliferation and apoptosis in Panc-1 cells A: Relative expression level of miR-567; B: Cell growth curves; C: Cell apoptosis analysis

### 2.3 miR-567 过表达抑制 Panc-1 细胞迁移

细胞划痕实验结果显示，miR-567转染组划痕愈合率为 ( $42.7 \pm 2.9$ )%，空载体转染组为 ( $73.50 \pm 5.3$ )%，差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ) (图3)。

### 2.4 miR-567 过表达对 KPNA4 及凋亡相关蛋白表达的影响

以空载体转染组为对照，设其各指标的

表达量为1，qRT-PCR检测KPNA4 mRNA显示，miR-567转染组KPNA4 mRNA相对表达量为 $0.35 \pm 0.045$ ；Western blot显示，miR-567转染组KPNA4蛋白相对表达量为 $0.43 \pm 0.079$ 、caspase-3蛋白相对表达量为 $3.70 \pm 0.29$ 、Bax蛋白相对表达量为 $3.35 \pm 0.21$ ，差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$ ) (图4)。

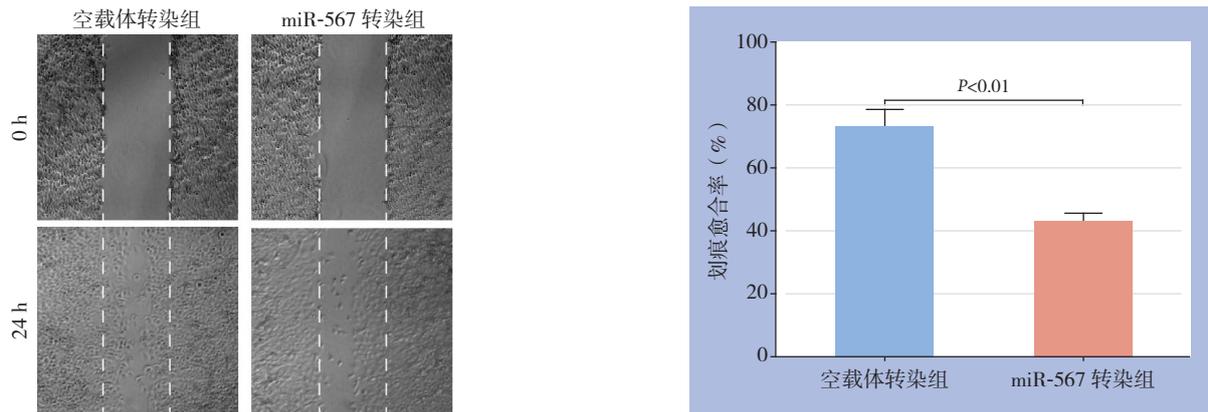


图3 细胞划痕实验检测 miR-567 过表达对 Panc-1 细胞迁移的影响

Figure 3 Determination of influence of miR-567 overexpression on migration of Panc-1 cells by scratch wound healing assay

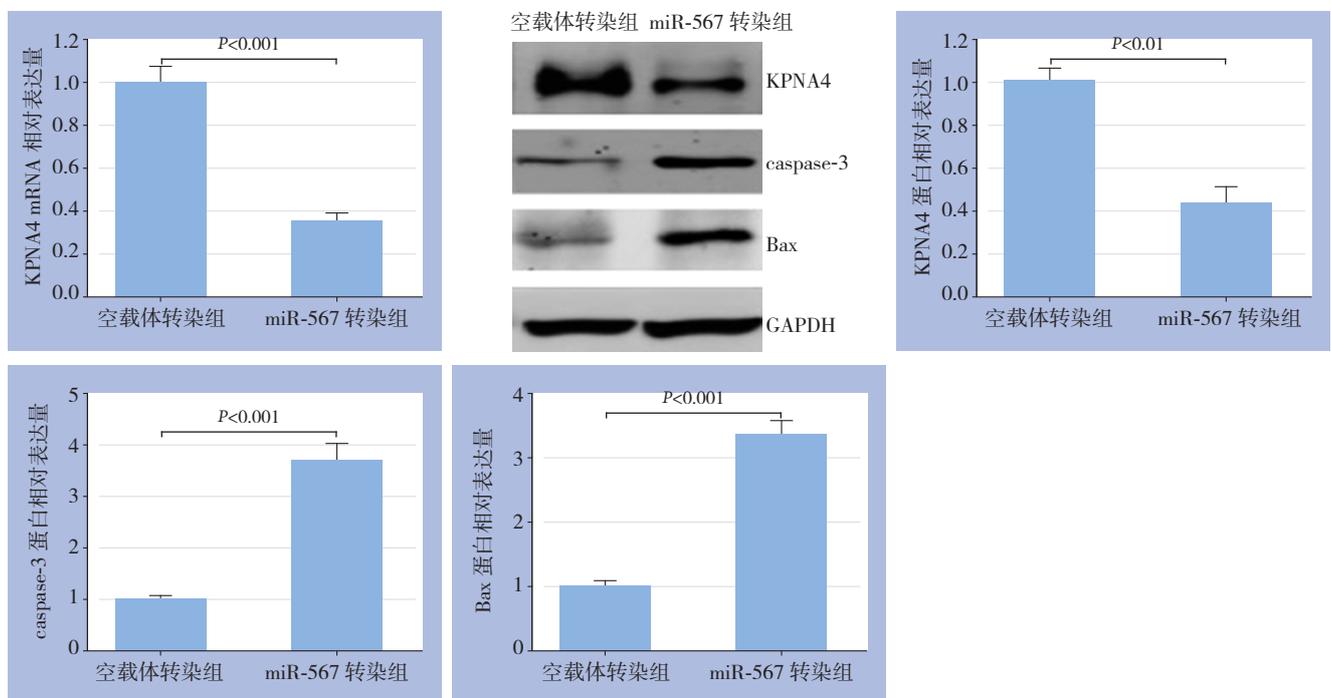


图4 KPNA4、caspase-3 及 Bax 表达检测

Figure 4 Detection of expressions of KPNA4 and apoptosis-associated proteins

### 3 讨论

胰腺癌是一种高度侵袭性恶性肿瘤,患者常无明显症状,诊断时多处于晚期且常伴有淋巴结、远处转移、血管侵犯等<sup>[8]</sup>。miRNA表达失调普遍存在于在肿瘤中,包括胰腺癌<sup>[8]</sup>。比如,miR-200基因簇过表达阻碍卵巢癌细胞迁移,且可作为卵巢癌预后的标志物<sup>[9]</sup>。miR-128通过调控干细胞再生因子Bmi-1,抑制胶质瘤增殖和自我更新<sup>[10]</sup>。miR-17-5p通过抑制AIB1 mRNA的翻译,进而调控乳腺癌细胞增殖<sup>[11]</sup>。多顺反子miRNA簇miR-17-92

在肺癌中过表达,能促进细胞增殖<sup>[12]</sup>。因此,探索失调miRNA的功能对于了解胰腺癌分子发生机制非常关键。研究发现,miR-567在G3级乳腺癌患者中表达低于G1级,在预后差的患者中表达低于预后较好的患者,且过表达后能显著抑制肿瘤生长、增殖和迁移<sup>[7]</sup>。本研究发现miR-567在胰腺癌细胞系中的表达显著低于正常胰腺细胞系,意味着miR-567可能作为抑癌基因参与胰腺癌发生发展过程。通过对慢病毒介导的miR-567过表达的生物学行为分析,发现Panc-1细胞的增殖和迁移能力受到显著抑制,并可促进细胞凋亡,由此证实

miR-567在胰腺癌和乳腺癌中发挥类似的抑癌作用。

Bertoli等<sup>[7]</sup>还发现miR-567是核转运受体蛋白KPNA4的负调控因子,通过调控KPNA4基因的表达控制乳腺癌细胞增殖和转移。为探讨KPNA4与miR-567在胰腺癌中的关联,本研究采用qRT-PCR及Western blot检测了KPNA4的mRNA和蛋白表达水平,结果显示KPNA4基因转录和翻译水平受miR-567过表达的影响而下调。这表明,在胰腺癌中,miR-567也是KPNA4的负调控因子,推测miR-567过表达对胰腺癌细胞增殖和迁移的抑制作用也是通过降低KPNA4的表达实现的。研究<sup>[13]</sup>报道,前列腺癌KPNA4敲除后,显著降低前列腺癌细胞迁移能力,同时前列腺癌小鼠模型的瘤体侵袭和远端转移能力也受到明显抑制。这更进一步表明,KPNA4是作为促癌基因参与多种肿瘤发生发展过程,包括乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌。

KPNA4能介导细胞核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)从细胞质转运到细胞核,激活NF- $\kappa$ B响应基因<sup>[14]</sup>。NF- $\kappa$ B转录因子广泛参与多种生物学响应,在调节免疫反应和炎症方面起重要作用<sup>[15]</sup>。但越来越多的研究发现,NF- $\kappa$ B在多种人类恶性肿瘤中异常表达或活化,参与调控细胞增殖、转移、凋亡等多种生物过程相关的基因表达<sup>[16]</sup>。NF- $\kappa$ B信号途径受抑制将导致一系列抗凋亡蛋白的表达受损,如Bcl-1、细胞凋亡抑制蛋白2及Bcl-xL<sup>[17]</sup>。研究<sup>[18]</sup>发现,NF- $\kappa$ B在前列腺癌细胞中失活与血管生成、侵袭、转移受抑有密切关系。NF- $\kappa$ B活性与裸鼠人黑色素瘤肿瘤模型的生长、血管生成、转移相关<sup>[19]</sup>。另外,在血管内皮细胞中,miR-181b通过靶向KPNA4成为下游NF- $\kappa$ B信号通路的调节因子<sup>[20]</sup>。在本研究中,miR-567可能也像miR-181b那样通过调控KPNA影响NF- $\kappa$ B信号通路的转导,笔者推测NF- $\kappa$ B的核转位过程因KPNA4低表达而受到阻碍,扰乱一系列增殖、转移及抗凋亡基因的表达,从而有助于抑制胰腺癌细胞增殖和转移。

之前的研究还发现,KPNA4通过调控肿瘤微环境中肿瘤坏死因子TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 介导的细胞因子的相互作用,从而促进前列腺癌的转移<sup>[13]</sup>。笔者猜测,miR-567在胰腺癌中过表达后,由于KPNA4表达水平的降低,降低了TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ 的分泌,影响了它们介导的细胞因子调控网络,改变肿瘤微环境,因而有助于抑制胰腺癌细胞增

殖和转移。

细胞凋亡途径包括两条,即由肿瘤坏死因子受体1及TRAIL-R1等死亡受体介导的外源性途径<sup>[21]</sup>,及由各种刺激所导致的线粒体外膜通透性改变的内源性途径<sup>[22]</sup>。而caspase-3、caspase-8为两条途径的共同执行者,当细胞发生凋亡时,DNA修复终止,核酸内切酶得以活化,DNA发生裂解,细胞骨架蛋白破坏,细胞形态失去正常。BAX亚家族起促凋亡的作用,主要包括BAK和BAX<sup>[23]</sup>。caspase-3和BAX作为细胞凋亡的标志物,在凋亡过程中上调表达,本研究发现,miR-567过表达后,caspase-3和BAX上调表达,其凋亡的机制可能是通过上调caspase-3和BAX而实现的。

本研究也存在着一些不足之处,比如miR-567-KPNA4介导的下游肿瘤相关信号通路如何,miR-567与胰腺癌患者无瘤生存率、总生存率及预后的关系如何,在基因敲除鼠中的动物实验结果如何,都值得进一步研究。

综上,miR-567在胰腺癌细胞系中低表达,miR-567高表达可抑制胰腺癌细胞增殖和迁移,并诱导凋亡,其机制可能与下调KPNA4及上调caspase-3和BAX表达有关,这可能为将来开发新的诊断和预后标志物、研发新的肿瘤靶向药物提供一定的思路。

## 参考文献

- [1] Ouyang H, Gore J, Deitz S, et al. microRNA-10b enhances pancreatic cancer cell invasion by suppressing TIP30 expression and promoting EGF and TGF- $\beta$  actions[J]. *Oncogene*, 2014, 33(38):4664-4674. doi: 10.1038/ncr.2013.405.
- [2] Chen CZ, Li L, Lodish HF, et al. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation[J]. *Science*, 2004, 303(5654):83-86.
- [3] Williams AE, Perry MM, Moschos SA, et al. Role of miRNA-146a in the regulation of the innate immune response and cancer[J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 6):1211-1215. doi: 10.1042/BST0361211.
- [4] Zhang LY, Liu M, Li X, et al. miR-490-3p modulates cell growth and epithelial to mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells by targeting endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 3 (ERGIC3)[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(6):4035-4047. doi: 10.1074/jbc.M112.410506.
- [5] Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 431(7006):350-355.

- [6] Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(9):2999-3004.
- [7] Bertoli G, Cava C, Diceglie C, et al. MicroRNA-567 dysregulation contributes to carcinogenesis of breast cancer, targeting tumor cell proliferation, and migration[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 161(3):605-616. doi: 10.1007/s10549-016-4079-2.
- [8] Yonemori K, Kurahara H, Maemura K, et al. MicroRNA in pancreatic cancer[J]. *J Hum Genet*, 2017, 62(1):33-40. doi: 10.1038/jhg.2016.59.
- [9] Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(3):457-464. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.05.022.
- [10] Godlewski J, Nowicki MO, Bronisz A, et al. Targeting of the Bmi-1 oncogene/stem cell renewal factor by microRNA-128 inhibits glioma proliferation and self-renewal[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22):9125-9130. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2629.
- [11] Hossain A, Kuo MT, Saunders GF. Mir-17-5p regulates breast cancer cell proliferation by inhibiting translation of AIB1 mRNA[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(21):8191-8201.
- [12] Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(21):9628-9632.
- [13] Yang J, Lu C, Wei J, et al. Inhibition of KPNA4 attenuates prostate cancer metastasis[J]. *Oncogene*, 2017, 36(20):2868-2878. doi: 10.1038/onc.2016.440.
- [14] Zannini L, Lecis D, Lisanti S, et al. Karyopherin-alpha2 protein interacts with Chk2 and contributes to its nuclear import [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(43):42346-42351.
- [15] Geymayer S, Doppler W. Activation of NF-kappaB p50/p65 is regulated in the developing mammary gland and inhibits STAT5-mediated beta-casein gene expression[J]. *FASEB J*, 2000, 14(9):1159-1170.
- [16] Dolcet X, Llobet D, Pallares J, et al. NF-kB in development and progression of human cancer[J]. *Virchows Arch*, 2005, 446(5):475-482.
- [17] Hinz M, Löser P, Mathas S, et al. Constitutive NF-kappaB maintains high expression of a characteristic gene network, including CD40, CD86, and a set of antiapoptotic genes in Hodgkin/Reed-Sternberg cells[J]. *Blood*, 2001, 97(9):2798-2807.
- [18] Huang S, Pettaway CA, Uehara H, et al. Blockade of NF-kappaB activity in human prostate cancer cells is associated with suppression of angiogenesis, invasion, and metastasis[J]. *Oncogene*, 2001, 20(31):4188-4197.
- [19] Huang S, DeGuzman A, Bucana CD, et al. Nuclear factor-kappaB activity correlates with growth, angiogenesis, and metastasis of human melanoma cells in nude mice[J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(6):2573-2581.
- [20] Wang H, Tao T, Yan W, et al. Upregulation of miR-181s reverses mesenchymal transition by targeting KPNA4 in glioblastoma[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:13072. doi: 10.1038/srep13072.
- [21] 钟明, 魏玲玲, 杨显富. 外源性及内源性细胞凋亡机制研究进展[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(2):170-174.  
Zhong M, Wei LL, Yang XF. Research progress in intrinsic and extrinsic mechanism of cell apoptosis[J]. *Practical Journal of Clinical Medicine*, 2014, 11(2):170-174.
- [22] Tait SW, Green DR. Mitochondrial regulation of cell death[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(9). pii: a008706. doi: 10.1101/cshperspect.a008706.
- [23] Czabotar P E, Westphal D, Dewson G, et al. Bax crystal structures reveal how BH3 domains activate Bax and nucleate its oligomerization to induce apoptosis[J]. *Cell*, 2013, 152(3):519-531. doi: 10.1016/j.cell.2012.12.031.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 张婷, 赵顺玉, 孔双喜, 等. miR-567在胰腺癌细胞中的表达及其作用机制[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(9):1141-1147. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.09.010

Cite this article as: Zhang T, Zhao SY, KONG SX, et al. MiR-567 expression in pancreatic carcinoma cells and its action mechanism[J]. *Chin J Gen Surg*, 2017, 26(9):1141-1147. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.09.010