



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240592
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240592
China Journal of General Surgery, 2025, 34(2):390-396.

· 简要论著 ·

miR-510在胰腺导管腺癌中的表达及意义

王涛¹, 叶林¹, 罗纪光², 刘俊宏³, 张雄汉¹, 周应杰¹, 李仁健¹, 岳婉蓉⁴, 喻亚群¹

(1. 桂林医学院附属医院 肝胆外科, 广西 桂林 541001; 2. 广西壮族自治区博白县人民医院 肝胆胃肠外科, 广西 博白 537600; 3. 中国人民解放军联勤保障部队第九二四医院 器官移植科, 广西 桂林 541000; 4. 广西壮族自治区桂林市人民医院 病理科, 广西 桂林 541001)

摘要

背景与目的: 近年来, microRNA (miRNA) 在肿瘤发生发展中的作用不断被发掘, 有望成为新的生物标志物和治疗反应预测因子。本研究探讨 miR-510 在胰腺导管腺癌 (PDAC) 中的表达及功能, 以期为胰腺癌的早期发现和精准治疗提供新的思路。

方法: 采用 qRT-PCR 方法检测 10 对 PDAC 患者的癌组织和配对癌旁正常组织, 以及人正常胰腺导管上皮细胞系 (hTERT-HPNE) 和 4 种 PDAC 细胞系 (PANC-1、MIA PaCa-2、BxPC-3 和 ASPC-1) 中 miR-510 的表达。用 PDAC 细胞系构建 miR-510 过表达及敲低模型, 通过 CCK8 实验、克隆形成实验、划痕试验以及 Transwell 实验观察 PDAC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的变化。

结果: miR-510 在 PDAC 患者癌组织中的表达水平明显高于配对的癌旁组织, 在 PDAC 细胞系中的表达水平明显高于人正常胰腺导管上皮细胞系 (均 $P < 0.05$); 功能实验结果显示, miR-510 过表达的 PDAC 细胞的增殖能力、迁移与侵袭能力明显增强, 而敲低 miR-510 的 PDAC 细胞上述功能则呈反向变化 (均 $P < 0.05$)。

结论: miR-510 在 PDAC 中呈高表达, 并促进 PDAC 细胞的增殖、迁移、侵袭能力。

关键词

胰腺肿瘤; 细胞增殖; 肿瘤浸润; 微 RNAs

中图分类号: R735.9

胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 是一种起源于胰腺导管上皮细胞的恶性肿瘤, 其早期诊断困难、易耐药、预后极差^[1-3], 在中国恶性肿瘤病死率中位列第六^[4], 在美国位列第三^[5]。近年研究表明, 多种 microRNA (miRNA) 在肿瘤中差异性表达, 与肿瘤恶性程度、患者预后和治疗响应密切相关^[6]。miR-510 作为众多 miRNA 的一员被发现在结肠癌^[7], 非小细胞肺癌^[8]等多种恶性肿瘤中差异性表达并调控肿瘤生

物学特性的作用。然而 miR-510 在 PDAC 中的作用尚未广泛报道。笔者前期通过 Kaplan-Meier Plotter 数据平台分析发现, miR-510 与 PDAC 患者的整体生存期负性相关。因此, 本研究以 miR-510 作为研究对象, 并通过实验探讨 miR-510 的在 PDAC 中的表达情况及其生物学功能。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本 本研究纳入 10 例 PDAC 患者的肿瘤组织和配对正常组织样本。所有样本来源于 2022 年 8 月—2023 年 8 月在桂林医学院附属医院肝胆外科接受手术治疗的患者。纳入标准: 所有入组患者均经病理组织学确诊为 PDAC, 年龄性别不限, 排除标准: 既往接受过任何化疗、放疗; 在正式纳入研究前, 所有患者均有签署知情同意书,

基金项目: 广西自然科学基金资助项目 (2022GXNS - FAA035509); 广西医疗卫生重点学科建设项目; 广西自然基金资助项目 (2018GXNSFDA281003; 2017GXNSFAA198039)。

收稿日期: 2024-11-14; **修订日期:** 2025-02-10。

作者简介: 王涛, 桂林医学院附属医院住院医师, 主要从事胰腺癌免疫逃逸方面的研究。

通信作者: 喻亚群, Email: yyq0129@glmc.edu.cn

表示同意参与本研究并允许发表研究结果。本研究方案已通过桂林医学院伦理委员会的审查和批准(审批号:220YJSL-04)。

1.1.2 主要试剂及耗材 人PDAC细胞及人正常胰腺导管细胞均购自武汉普诺赛生命科技有限公司(中国),DMEM培养基(HyClone,美国),血清(Gibco,美国),双抗(新赛美生物科技,中国);逆转录试剂盒(诺唯赞生物科技,中国),miR-510模拟物(miR-510 mimics)及其阴性对照(mimics NC),以及miR-510抑制物(miR-510 inhibitor)及其阴性对照(inhibitor NC)(吉凯基因医学科技,中国),U6及miR-510引物(北京擎科生物技术,中国);Cell Counting Kit-8(SIGMA,德国),Transwell小室(CORNING,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 hTERT-HPNE细胞在含有75%DMEM和25% M3培养基中生长,加入5%的胎牛血清(FBS)以及10 ng/mL的人重组表皮生长因子(EGF)。PANC-1和MIA PaCa-2细胞在添加10% FBS高糖DMEM培养基中进行培养。BxPC-3和ASPC-1细胞所用培养基为含10% FBS的RPMI-1640。

1.2.2 RNA提取及qRT-PCR 组织样本经剪碎研磨后,按每30~50 mg组织1 mL Trizol比例提取RNA;细胞样本则将对数生长期细胞接种于6孔板,每孔加入500 μ L Trizol提取RNA。随后取1 μ g总RNA逆转录成cDNA,使用实时定量PCR试剂进行扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量,以U6为内参基因。

1.2.3 miR-510敲低及过表达细胞模型的构建 细胞分别转染miR-510 mimics、mimics NC以及miR-510 inhibitor、inhibitor NC。使用Lipofectamine 3000作为转染试剂,转染6~8 h后更换为新鲜完全培养基。细胞在转染48 h后被收集,用于后续实验以评估转染效果

1.2.4 CCK8实验 收集指数生长期的细胞,用0.25%胰酶消化后以完全培养液重悬。将细胞悬液以 2×10^4 个/mL的密度接种于96孔板中。在预设时间点,每孔加入10 μ L按说明书稀释的CCK8试剂,替换原培养基。轻轻混匀后孵育2 h,随后使用酶标仪在450 nm波长处测量OD值并记录结果。

1.2.5 克隆形成实验 将指数生长期的细胞以1 000个/孔的密度接种,置于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养

箱中培养2周,期间定期更换培养液。当肉眼可见细胞团块时,用PBS洗涤3次,随后用多聚甲醇固定30~60 min。加入1%结晶紫染色10 min,再用PBS反复清洗至干净。最后拍照并使用Image J软件进行克隆数量统计分析。

1.2.6 划痕试验 在六孔板背面预先画线,随后接种指数生长期的细胞。待细胞在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下培养24 h达90%密度后,用无血清培养基饥饿处理24 h。使用10 μ L移液器吸头沿预划线做划痕,继续培养并定期更换培养基。每24 h用倒置显微镜拍摄划痕区域,利用Image J软件选取6~8个随机区域测量细胞间距离,计算平均值以评估伤口愈合情况。

1.2.7 Transwell实验 取24孔板,在下室中加入600 μ L含FBS的培养基,在上室铺上一层基质胶,将Transwell小室放入孔板中选取呈指数增长期的细胞接种于上室,放入37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中继续培养24~48 h。培养完成后,从培养箱中取出培养板,用移液吸取小室中的培养基,加入4%的多聚甲醛固定细胞15~20 min。然后用结晶紫染色10~15 min。显微镜下观察上室底外层的细胞量,并进行拍照、计数。

1.3 统计学处理

采用Graph Prism 9、Image J以及SPSS等统计软件进行数据分析。数据采用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式来表示,比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-510在PDAC组织和细胞中的表达情况

qRT-PCR法检测结果显示,miR-510在PDAC组织中的表达明显高于配对癌旁正常组织($P < 0.001$)(图1A);不同的PDAC细胞系中miR-510的表达均明显高于人正常胰腺导管上皮细胞(均 $P < 0.05$)(图1B)。

2.2 体外过表达及敲低miR-510对PDAC的生物学功能的影响

选取miR-510表达量最高的PANC-1细胞和最低的MIA PaCa-2细胞构建miR-510过表达及敲低模型,通过qRT-PCR法验证转染效率,结果显示:与对照组相比,miR-510 mimics能够明显提高

PANC-1 细胞及 MIA PaCa-2 细胞的 miR-510 表达水平，miR-510 inhibitor 则明显降低 PANC-1 细胞及

MIA PaCa-2 细胞的 miR-510 表达水平（均 $P<0.05$ ）（图 2）。

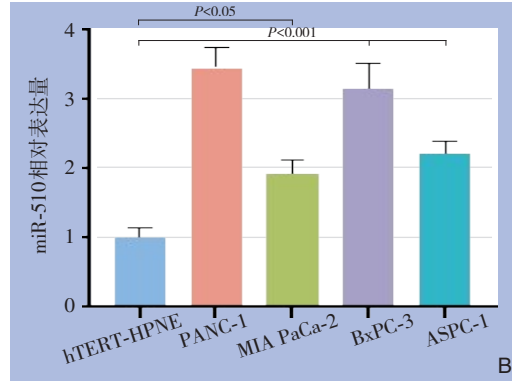
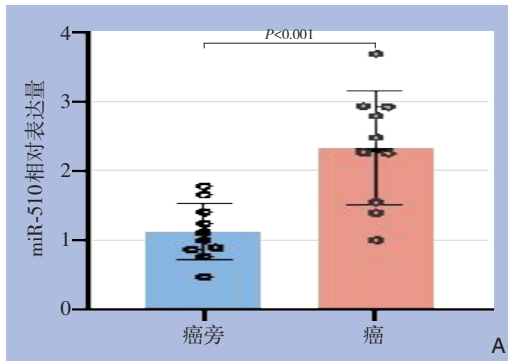


图1 qRT-PCR检测 A: PDAC组织与癌旁正常组织中miR-510的表达; B: 不同的PDAC细胞系人正常胰腺导管上皮细胞中miR-510的表达

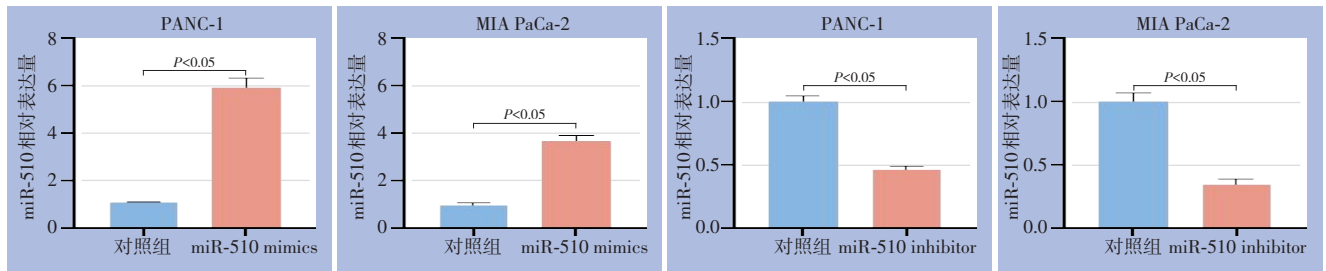


图2 细胞转染效率验证

2.3 过表达及敲低 miR-510 对 PDAC 增殖能力的影响

CCK8 实验结果显示，与对照组比较，转染 miR-510 mimics 后，PANC-1 细胞及 MIA PaCa-2 细胞的增殖能力较各自对照组细胞明显增强，而转染 miR-510 inhibitor 后，两种 PDAC 细胞的增殖能力明显减弱（均 $P<0.05$ ）（图 3）。克隆形成实验检测结果显示，与对照组细胞比较，转染 miR-510 mimics 的 MIA PaCa-2 细胞及 PANC-1 细胞集落形成数明显

上升，而转染 miR-510 inhibitor 的两种细胞集落形成数明显下降（均 $P<0.05$ ）（图 4）。

2.4 过表达及敲低 miR-510 对 PDAC 迁移能力的影响

划痕试验检验结果显示，在转染 48 h 后，转染 miR-510 mimics 的 PANC-1 和 MIA PaCa-2 细胞较各自对照细胞的迁移能力明显增强，而转染 miR-510 inhibitor 的两种细胞迁移能力明显降低（均 $P<0.05$ ）（图 5）。

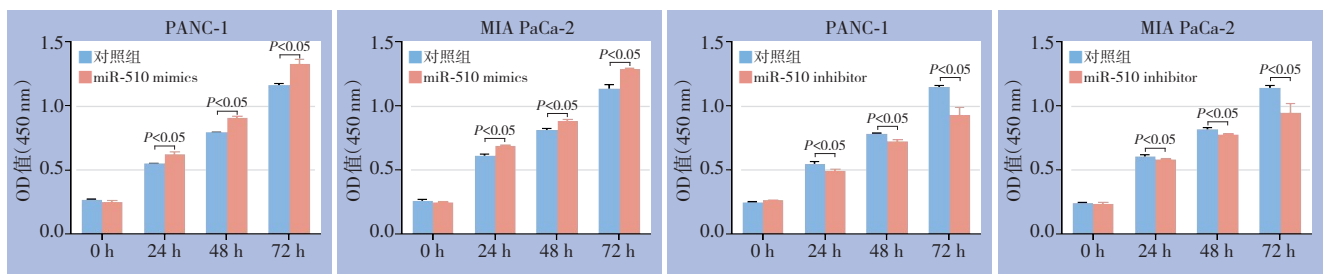


图3 CCK8实验结果

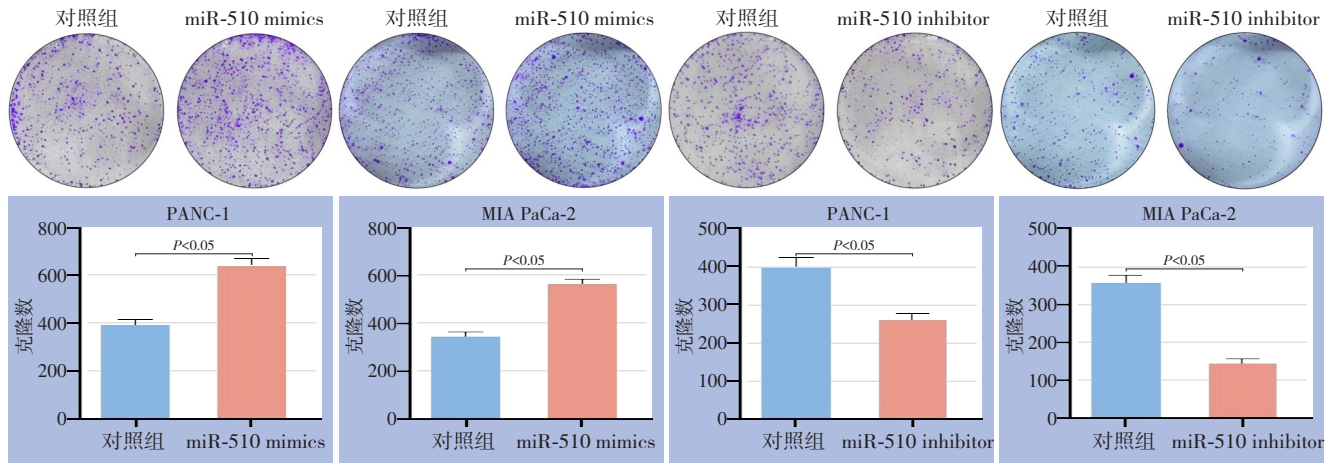


图 4 克隆形成实验结果

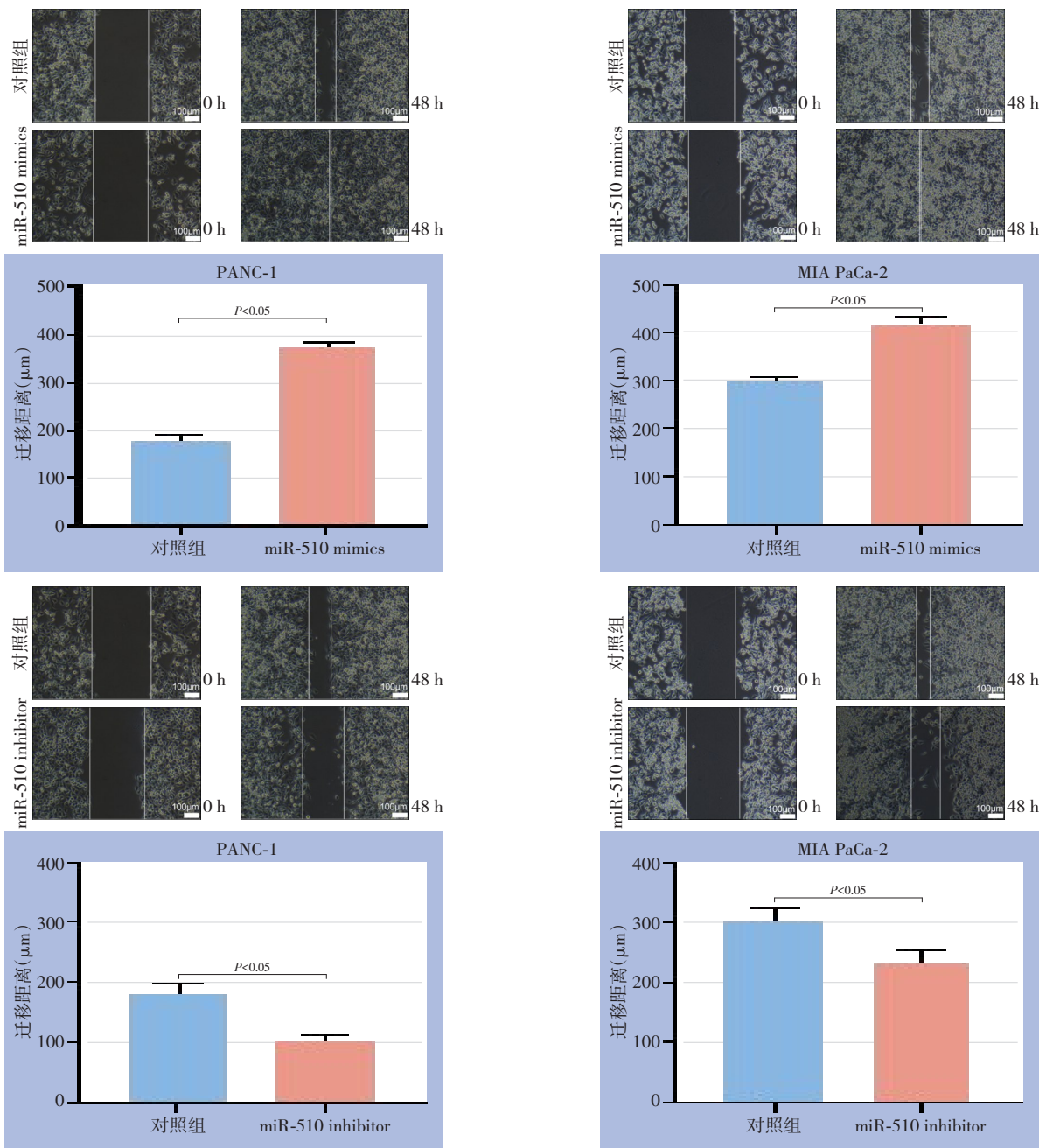


图 5 划痕试验结果

2.5 过表达及敲低 miR-510 对 PDAC 侵袭能力的影响

Transwell 实验结果显示, 过表达 miR-510 后,

穿过凝胶和滤膜的细胞数量明显增多 ($P<0.001$), 而转染 miR-510 inhibitor 的两种细胞穿过凝胶和滤膜的细胞数量明显减少 (均 $P<0.05$) (图6)。

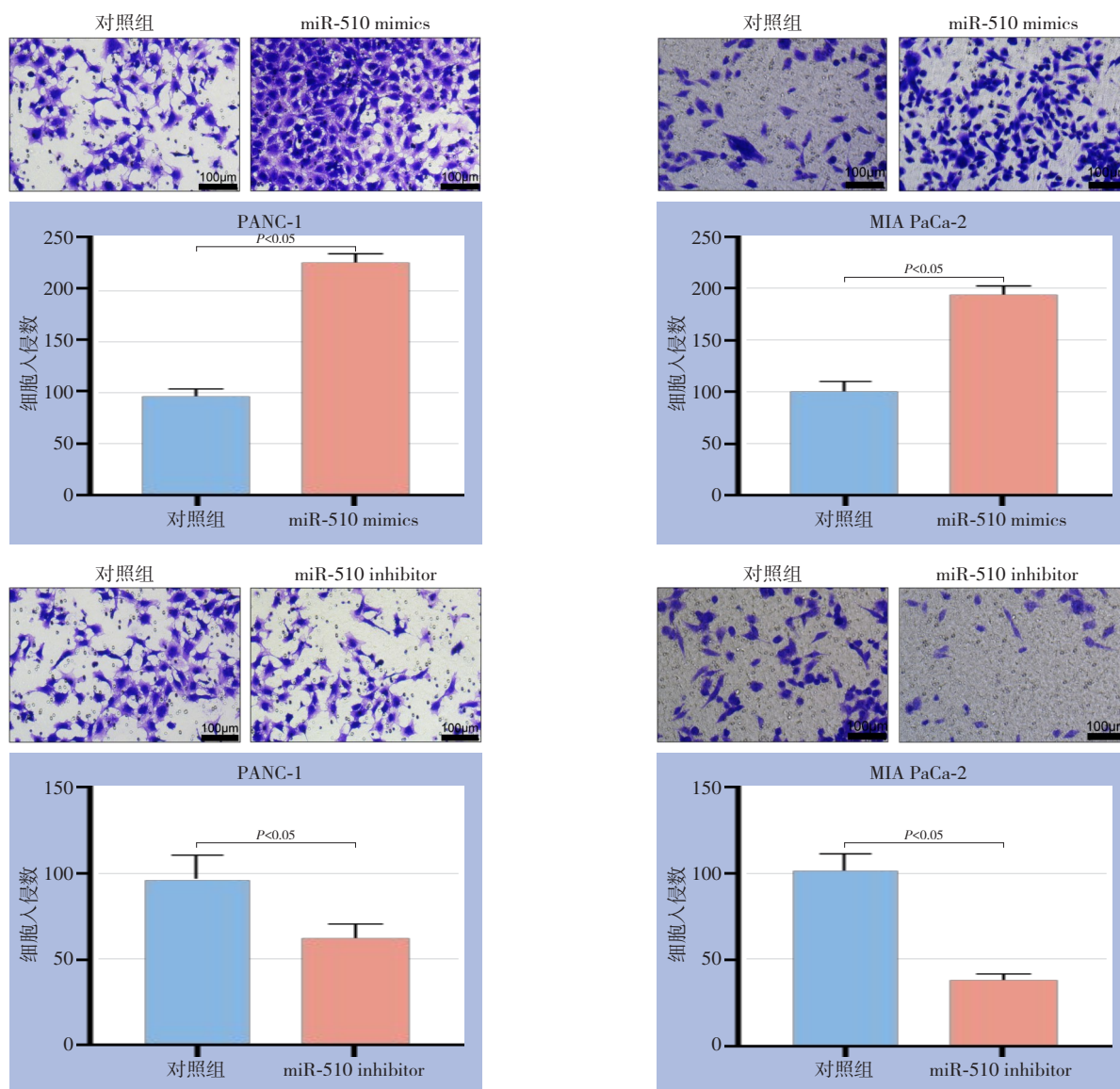


图6 Transwell 侵袭实验结果

3 讨论

PDAC 是最为常见的胰腺癌病理类型, 占据胰腺癌病理总数的 90%。高度的转移倾向, 缺乏特异性的症状^[9], 诊断和治疗的延迟性^[1], 以及对传统治疗的耐药性^[10]造成了 PDAC 患者预后差, 生存率低^[9,11-13]。因此, 深入理解 PDAC 的发生发展机制, 寻找潜在的治疗靶点是当务之急。

随着分子生物学领域的进步, 大量研究证明了 miRNA 在肿瘤发生发展中的作用^[14-16], 揭示了

miRNA 在胰腺癌发生和进展中扮演重要角色^[17-19], 有望成为新的生物标志物和治疗反应预测因子^[20-22]。miR-510 作为众多 miRNA 的一员, 被报道在多种肿瘤中差异性表达并参与调控肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡过程。研究发现, miR-510 在结肠癌^[7]、皮肤黑色素瘤^[23]、卵巢癌^[24]及乳腺癌^[25]等肿瘤中表达上调, 在肾癌^[26]和原发性胃癌^[27]中表达下调。然而, miR-510 在 PDAC 中是否具有调控作用还未见报道, 笔者通过数据库分析发现, miR-510 的表达水平与 PDAC 患者的总体生存率呈负相关,

miR-510是PDAC的危险因素,通过qRT-PCR检测方法验证了miR-510在PDAC组织和细胞中高表达,因此miR-510可能具有调控PDAC发生发展的作用。

PDAC极易转移,大多数患者确诊时已经发生转移^[28-29]。本研究分别在两种PDAC细胞系中构建了miR-510敲低和过表达细胞模型,通过CCK8实验、克隆形成实验、划痕试验和Transwell实验检测了miR-510对PDAC细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。实验结果发现,过表达miR-510可促进PDAC细胞系的增殖、迁移和侵袭能力,而低表达miR-510则具有相反的作用,这些结果印证了预期的猜想,miR-510能够通过调控PDAC的增殖、迁移和侵袭能力来促进PDAC的生物学进展。

综上,本研究揭示了miR-510在PDAC中的异常表达,探讨了其在PDAC中的生物学功能作用,为进一步探索miR-510在PDAC发生发展中的分子调控网络奠定了基础。

作者贡献声明:喻亚群负责选题构思、实验指导;王涛、叶林负责实验操作、统计分析及文章撰写;罗纪光、刘俊宏负责实验方法及文章校正;张雄汉、周应杰、李仁健、岳婉蓉负责临床样本资料收集。所有作者都对文章做出了贡献,并批准提交的版本。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Brozos-Vázquez E, Toledano-Fonseca M, Costa-Fraga N, et al. Pancreatic cancer biomarkers: a pathway to advance in personalized treatment selection[J]. *Cancer Treat Rev*, 2024, 125: 102719. doi:10.1016/j.ctrv.2024.102719.
- [2] Praticò F, Garajová I. Focus on pancreatic cancer microenvironment[J]. *Curr Oncol*, 2024, 31(8): 4241-4260. doi: 10.3390/curroncol31080316.
- [3] 柯牧京,纪连栋,李宜雄.局部进展期胰腺癌新辅助治疗的现状与进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2023, 32(3):317-326. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.03.001.
Ke MJ, Ji LD, Li YX. Current status and progress of neoadjuvant therapy for locally advanced pancreatic cancer[J]. *China Journal of General Surgery*, 2023, 32(3): 317-326. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.03.001.
- [4] Yin L, Wei J, Lu Z, et al. Prevalence of germline sequence variations among patients with pancreatic cancer in China[J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(2): e2148721. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.48721.
- [5] Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(1):12-49. doi:10.3322/caac.21820.
- [6] Abue M, Yokoyama M, Shibuya R, et al. Circulating miR-483-3p and miR-21 is highly expressed in plasma of pancreatic cancer[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(2):539-547. doi:10.3892/ijo.2014.2743.
- [7] Hang J, Wei F, Yan Z, et al. The value of miR-510 in the prognosis and development of colon cancer[J]. *Open Med (Wars)*, 2021, 16(1):795-804. doi:10.1515/med-2021-0251.
- [8] Wu W, He LY, Huang Y, et al. microRNA-510 plays oncogenic roles in non-small cell lung cancer by directly targeting SRC kinase signaling inhibitor 1[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(8): 879-887. doi: 10.3727/096504018X15451308507747.
- [9] Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, et al. Pancreatic cancer: pathogenesis, screening, diagnosis, and treatment[J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(2): 386-402. doi: 10.1053/j.gastro.2022.03.056.
- [10] Farhangnia P, Khorramdelazad H, Nickho H, et al. Current and future immunotherapeutic approaches in pancreatic cancer treatment[J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 40. doi: 10.1186/s13045-024-01561-6.
- [11] Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, et al. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(10): 1218-1249. doi:10.1101/gad.1415606.
- [12] Seufferlein T, Mayerle J. Pancreatic cancer in 2015: precision medicine in pancreatic cancer: fact or fiction? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(2): 74-75. doi: 10.1038/nrgastro.2015.215.
- [13] Hu ZI, O'Reilly EM. Therapeutic developments in pancreatic cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2024, 21(1):7-24. doi: 10.1038/s41575-023-00840-w.
- [14] Mustafov D, Ahmad MS, Serrano A, et al. microRNA: Siglec crosstalk in cancer progression[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2024, 81: 102502. doi:10.1016/j.cbpa.2024.102502.
- [15] Zare M, Bastami M, Solali S, et al. Aberrant miRNA promoter methylation and EMT-involving miRNAs in breast cancer metastasis: Diagnosis and therapeutic implications[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5):3729-3744. doi:10.1002/jcp.26116.
- [16] Pan G, Liu Y, Shang L, et al. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(3):199-217. doi:10.1002/cac2.12138.
- [17] 洪乐,肖卫东. microRNA调控胰腺癌干细胞的作用研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(9): 1137-1142. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.016.
Hong L, Xiao WD. Research progress of the role of microRNAs in regulating pancreatic cancer stem cells[J]. *China Journal of General*

- Surgery, 2019, 28(9): 1137–1142. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2019.09.016.
- [18] 赵银峰, 梁云, 魏天天, 等. 长链非编码RNA PCAT19对胰腺癌细胞增殖与侵袭的影响及其作用机制[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(9): 1333–1340. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.006.
- Zhao YF, Liang Y, Wei TT, et al. Effect of long non-coding RNA PCAT19 on proliferation and invasion in pancreatic cancer cells and its action mechanism[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(9): 1333–1340. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.09.006.
- [19] 杨昊长, 许永宁, 廖嘉华, 等. 高糖环境下肝细胞外泌体对胰腺癌细胞迁移与侵袭能力的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2024, 33(3): 376–385. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.03.008.
- Yang HC, Xu YN, Liao JH, et al. Influence of hepatocyte-derived exosomes under high-glucose condition on the migration and invasion abilities of pancreatic cancer cells[J]. China Journal of General Surgery, 2024, 33(3): 376–385. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2024.03.008.
- [20] Greither T, Grochola LF, Udelnow A, et al. Elevated expression of microRNAs 155, 203, 210 and 222 in pancreatic tumors is associated with poorer survival[J]. Int J Cancer, 2010, 126(1): 73–80. doi:10.1002/ijc.24687.
- [21] Berindan-Neagoe I, Monroig Pdel C, Pasculli B, et al. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(5): 311–336. doi: 10.3322/caac.21244.
- [22] Boeri M, Verri C, Conte D, et al. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(9): 3713–3718. doi:10.1073/pnas.1100048108.
- [23] Lu T, Chen S, Qu L, et al. Identification of a five-miRNA signature predicting survival in cutaneous melanoma cancer patients[J]. PeerJ, 2019, 7:e7831. doi:10.7717/peerj.7831.
- [24] Zhang X, Guo G, Wang G, et al. Profile of differentially expressed miRNAs in high-grade serous carcinoma and clear cell ovarian carcinoma, and the expression of miR-510 in ovarian carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6): 8021–8031. doi: 10.3892/mmr.2015.4485.
- [25] Zhang Y, Li Y, Wang Q, et al. Identification of an lncRNA-miRNA-mRNA interaction mechanism in breast cancer based on bioinformatic analysis[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(4): 5113–5120. doi:10.3892/mmr.2017.7304.
- [26] Chen D, Li Y, Yu Z, et al. Downregulated microRNA-510-5p acts as a tumor suppressor in renal cell carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(2): 3061–3066. doi:10.3892/mmr.2015.3704.
- [27] Chen W, Tang Z, Sun Y, et al. miRNA expression profile in primary gastric cancers and paired lymph node metastases indicates that miR-10a plays a role in metastasis from primary gastric cancer to lymph nodes[J]. Exp Ther Med, 2012, 3(2): 351–356. doi: 10.3892/etm.2011.411.
- [28] Mutlu M, Raza U, Saatci Ö, et al. miR-200c: a versatile watchdog in cancer progression, EMT, and drug resistance[J]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(6): 629–644. doi:10.1007/s00109-016-1420-5.
- [29] Domagala-Haduch M, Gorzelak-Magiera A, Michalecki Ł, et al. Radiochemotherapy in pancreatic cancer[J]. Curr Oncol, 2024, 31(6): 3291–3300. doi:10.3390/curroncol31060250.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:王涛, 叶林, 罗纪光, 等. miR-510在胰腺导管腺癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2025, 34(2): 390–396. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.240592

Cite this article as: Wang T, Ye L, Luo JG, et al. Expression and significance of miR-510 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Chin J Gen Surg, 2025, 34(2): 390–396. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.240592