

# miR-26b-3p 靶向 CREB1 调控神经胶质瘤细胞的增殖、迁移及侵袭

黄秋虎, 周建, 王子珍, 杨堃, 陈政纲

海南医学院第一附属医院神经外科, 海南海口 570102

**摘要:**目的 探讨 miR-26b-3p 靶向调控环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 1 (CREB1) 表达水平影响胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的分子机制。方法 运用 RT-qPCR 和 Western blotting 检测不同级别胶质瘤中 miR-26b-3p 和 CREB1 的表达情况; 生物信息学方法分析 miR-26b-3p 与 CREB1 结合的靶向序列。采用双荧光素酶报告基因检测 miR-26b-3p 对 CREB1 的靶向调控机制; 将胶质瘤 U251 细胞分为对照组、miR-26b-3p mimic 组及 miR-26b-3p inhibitor 组, 采用 Western blotting 检测 CREB1 的表达变化, 采用 CCK-8 法检测各组细胞增殖能力的影响, 采用划痕实验检测各组细胞迁移能力的影响, 采用 Transwell 检测各组细胞侵袭能力的影响, 采用流式细胞术检测各组细胞凋亡的影响。结果 miR-26b-3p 的表达随着胶质瘤级别的增加而降低 ( $P < 0.05$ ), 而 CREB1 的表达则逐渐增加, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 双荧光素酶报告基因结果显示 miR-26b-3p 可显著影响 CREB1 3'UTR 表达载体的荧光素酶活性, CREB1 是 miR-26b-3p 下游靶基因。抑制 miR-26b-3p 表达可上调 CREB1 的表达, 进而抑制细胞凋亡, 促进胶质瘤细胞的增殖和侵袭。过表达 miR-26b-3p 可下调 CREB1 的表达, 促进细胞凋亡, 抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭 ( $P < 0.05$ )。结论 miR-26b-3p 可靶向调控 CREB1 的表达调节胶质瘤细胞的凋亡、增殖、迁移和侵袭, 进而参与胶质瘤的发生发展。

**关键词:** CREB1; miR-26b-3p; 胶质瘤; 增殖; 迁移; 侵袭

## MiR-26-3p regulates proliferation, migration, invasion and apoptosis of glioma cells by targeting CREB1

HUANG Qiuhu, ZHOU Jian, WANG Zizhen, YANG Kun, CHEN Zhenggang

Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, China

**Abstract: Objective** To investigate the regulatory role of miR-26b-3p in proliferation, migration and invasion of glioma. **Methods** The expressions of miR-26b-3p and cAMP-responsive element binding protein 1 (CREB1) in gliomas of different pathological grades were detected with RT-qPCR and Western blotting. Bioinformatic methods were used to analyze the target sequence of miRNA-26b-3p binding to CREB1, and dual luciferase gene reporter experiment was performed to explore the mechanism for targeted regulation of CREB1 by miR-26b-3p. Glioma U251 cells were treated with miR-26b-3p mimic or inhibitor, and the changes in CREB1 expression and cell proliferation, migration, invasion and apoptosis were determined with Western blotting, CCK-8 assay, wound healing assay, Transwell assay, and flow cytometry. **Results** The expression of miR-26b-3p decreased while CREB1 expression increased significantly as the pathological grade of gliomas increased ( $P < 0.05$ ). Dual luciferase gene reporter experiment confirmed that CREB1 was a downstream target of miR-26b-3p. Inhibition of miR-26b-3p significantly upregulated the expression of CREB1, suppressed apoptosis and promoted proliferation and invasion of glioma cells, and overexpression of miR-26b-3p produced the opposite effects ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** MiR-26b-3p regulates CREB1 expression to modulate apoptosis, proliferation, migration and invasion of glioma cells, thereby participating in tumorigenesis and progression of glioma.

**Keywords:** cAMP-responsive element binding protein 1; miR-26b-3p; glioma; proliferation; invasion; migration

胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,一般由于其具有高度侵袭性和手术难以全切,因此预后极其不佳,多数患者中位生存期仅 12~15 月<sup>[1]</sup>。近年来,胶质瘤的基础与临床研究虽然取得了重大突破,新的治疗手段层出不穷,但有效的干预措施依然很少,严重影响胶质瘤患者的预后<sup>[2,3]</sup>。从其发生发展的分子机制入手,寻找可干预的致病基因以及药物治疗靶点,具有重要临床价值和社会意义。研究表明,微小 RNA (miRNAs) 与胶质瘤

的恶性发生、发展密切相关<sup>[4,5]</sup>。miRNA 前体产生的两条 miRNA 单链 (3p 和 5p 链) 都具有生物学功能<sup>[6-8]</sup>。从 miR-26b 前体的 3'端臂加工而来的 miR-26b-3p 可通过多种机制调节细胞侵袭和增殖<sup>[9,10]</sup>。我们前期研究表明,miR-26b 表达随着胶质瘤级别的增加逐渐降低<sup>[11]</sup>。然而,miR-26b-3p 在胶质瘤中的作用以及靶点目前仍不完全清楚,需要进一步探索。环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 1 (CREB1) 是调节基因转录、细胞发育与生存的核转录因子,主要通过 cAMP 依赖的细胞信号转导途径调控基因的表达<sup>[12]</sup>。研究表明,CREB1 在细胞生长、增殖、凋亡等的过程中发挥重要作用<sup>[13,14]</sup>。有研究表明 CREB1 的表达随着胶质瘤级别增加而增加<sup>[15]</sup>,但其在

收稿日期:2023-03-21

基金项目:海南省自然科学基金(20168298)

作者简介:黄秋虎,副主任医师,E-mail: huangqiuhu2022@163.com

通信作者:陈政纲,主任医师,教授,E-mail: zhenggangchen@126.com

胶质瘤中的作用机制尚不明确。我们利用生物信息学软件预测发现,miR-26b-3p在CREB1 mRNA的3'UTR区有多个潜在的靶点,预示miR-26b-3p可能调控CREB1蛋白表达水平,参与胶质瘤的生物学进展,但相关研究未见报道。本研究旨在阐明miR-26b-3p靶向调控CREB1在胶质瘤中的作用机制,以及miR-26b-3p对胶质瘤增殖、迁移和侵袭能力的影响,现报道如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 临床标本采集及处理

收集2016年6月~2021年6月在我院收治的75例星形细胞瘤患者的病理标本,其中男40例,女35例,年龄为41~73(49.23±3.67)岁。所有患者术前均未行放疗、化疗,其中,星形细胞瘤I级5例、II级25例、III级25例、IV级20例。肿瘤组织离体后分为2块,一块迅速置入RNA长效保存液中,另一块使用焦碳酸二乙酯处理过的冷磷酸缓冲液冲洗,并去除血渍,迅速投入液氮中保存。所有临床样本收集均取得海南医学院第一附属医院伦理委员会批准(2022-L-146)及患者知情同意。

### 1.2 细胞株及主要试剂

人脑胶质瘤细胞U251(上海生命科学研究院),Lipofectamine<sup>®</sup>2000转染试剂盒(Invitrogen),二甲基亚砜(DMSO, Sigma),胎牛血清,DMEM培养基(Life Technologies),miR-26b-3p PCR引物、抑制序列、阴性对照(NC)序列均由Invitrogen公司合成,BCA蛋白检测试剂盒(碧云天),CREB1抗体(CST),Trizol试剂盒(Life Technologies),SYBR Premix Ex Taq<sup>™</sup>(Takara),PCR仪(Thermo),蛋白凝胶成像仪(Bio-Rad),流式细胞仪(Beckman)。

### 1.3 方法

1.3.1 细胞分组 从液氮中取出人脑胶质瘤细胞系U251接种于培养基培养内,然后进行传代培养,当细胞培养至第3代时用于后续实验。通过转染试剂盒将NC、miR-26b-3p mimic及miR-26b-3p inhibitor片段,参照Lipofectamine<sup>®</sup>2000说明书转染胶质瘤细胞U251,转染24 h后在荧光显微镜下观察荧光结果确认转染效率。

1.3.2 CCK-8实验 在离心管中配置好已经稳定转染的适量细胞悬液,然后将细胞悬液均匀滴加到96孔板中,每组设置3个复孔,然后将96孔板放于37℃细胞孵育箱中培养。24 h后取出96孔板,置于倒置显微镜中观察细胞贴壁及生长情况。在避光条件下于每孔中加入10 μL的CCK-8溶液,然后置入细胞孵育箱中,分别于12、24、48、72 h重复上述的步骤,加入CCK-8溶液后用酶标仪检测细胞在450 nm处的吸光度。

1.3.3 伤口愈合实验 用无血清培养基将U251细胞接种至6孔板中,各组细胞以50 nmol/L的浓度转染细

胞。24 h后用在标记线处进行划痕,并在划痕0、24、48、72 h后观察划痕中细胞的覆盖情况,即细胞的迁移能力,并用Image J软件测定两处的直线距离,重复测量3次,取其均数。

1.3.4 Transwell实验 各组细胞以50 nmol/L的浓度转染U251细胞24 h,然后将U251细胞使用无血清培养基重悬,并在铺有基底膜基质胶的Transwell上室中接种。在下室中加入含10%FBS的胎牛血清培养液,培养24 h后,保留室内下层细胞,并用棉签清理未迁移的细胞,加入4%的多聚甲醛固定10 min,结晶紫染液染色15 min,在倒置显微镜下随机挑选5个视野进行计数,实验重复3次,取其均数作为这个小室的侵袭细胞数。

1.3.5 双荧光素酶报告基因检测 利用TargetScan、JASPAR等网站对miR-26b-3p调控CREB1的靶位点进行预测。在萤光素酶报告载体中构建了一个包含野生型(WT)或突变型(MUT)CREB1 3'UTR假定结合位点的3'UTR序列,然后构建相应的质粒。取对数生长期的U251细胞接种于96孔板中,按照Lipofectamine<sup>®</sup>2000的操作指南与设计的载体和miR-26b-3p mimic/NC mimic片段进行共转染,然后继续培养48 h后,检测海参萤光素酶的发光强度与萤火虫萤光素酶发光强度。

1.3.6 细胞凋亡检测 转染后的各组细胞继续培养48 h,制备单细胞悬浮液,调整细胞密度为5×10<sup>4</sup>/mL接种;加入预冷PBS漂洗,然后离心,保留下层细胞,用70%乙醇固定30 min;PBS漂洗,然后加入AnnexinV-FITC、PI(1:2)进行重悬,避光孵育60 min(4℃),采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.3.7 RT-qPCR检测 各组细胞培养后加入细胞裂解液进行裂解,按照RNA提取试剂盒说明书提取细胞总RNA,采用反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA,miR-26b-3p引物为:F:5'-GGCCTGTTCTCCATTACTTG G3',R:5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。U6引物:F:5'-ATGCACAGTCTATAGATTT-3',R:5'-GCT ATACGAACGTGCATCC-3';CREB1 mRNA引物为:F:5-TGCCACATTAGCCCAGGTATC-3',R:5-GGACTT GAAGTGTCTGCCCA-3';GAPDH引物为:F:5'-GTG AAGGTCGGAGTCAACGG-3',R:5'-CCCGTTCTCA GCCATGTAGT-3';反应体系为20 μL:SYBR Premix 10 μL,H<sub>2</sub>O 8 μL,cDNA 1 μL,上下游引物0.5 μL。反应程序:95℃预变性5 min,95℃变性15 s,60℃退火20 s,72℃3 min,共40个循环,72℃延伸10 min。以GADPH作为内参基因,根据2<sup>-ΔΔCT</sup>算法进行计算CREB1 mRNA表达量;以U6作为内参基因计算miR-26b-3p mRNA表达量。

1.3.8 Western blotting 转染后各组细胞培养48 h,加入蛋白裂解液反应30 min,离心后收集上清液,按照细胞总蛋白提取试剂盒说明书提取细胞总蛋白,采用BCA

法测定所提取蛋白的浓度。然后配制分离胶及浓缩胶,上样、电泳,加入CREB1,4℃孵育过夜,TBST漂洗后加入二抗,于室温下孵育2h;TBST漂洗后ECL显色,置于凝胶成像仪中显像。

#### 1.4 统计学分析

采用SPSS29.0建立数据库进行统计分析。符合正态分布且方差齐的计量资料以均数±标准差表示,两组均数的比较采用Student's *t*检验,以 $P<0.05$ 为差异有统

计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同级别胶质瘤中miR-26b-3p和CREB1的表达

RT-qPCR结果显示,miR-26b-3p mRNA表达水平随着胶质瘤级别的增加而逐渐下降( $P<0.05$ ,图1C);CREB1的mRNA及蛋白表达水平随着胶质瘤级别的增加而逐渐增加( $P<0.05$ ,图1A、B、D)。

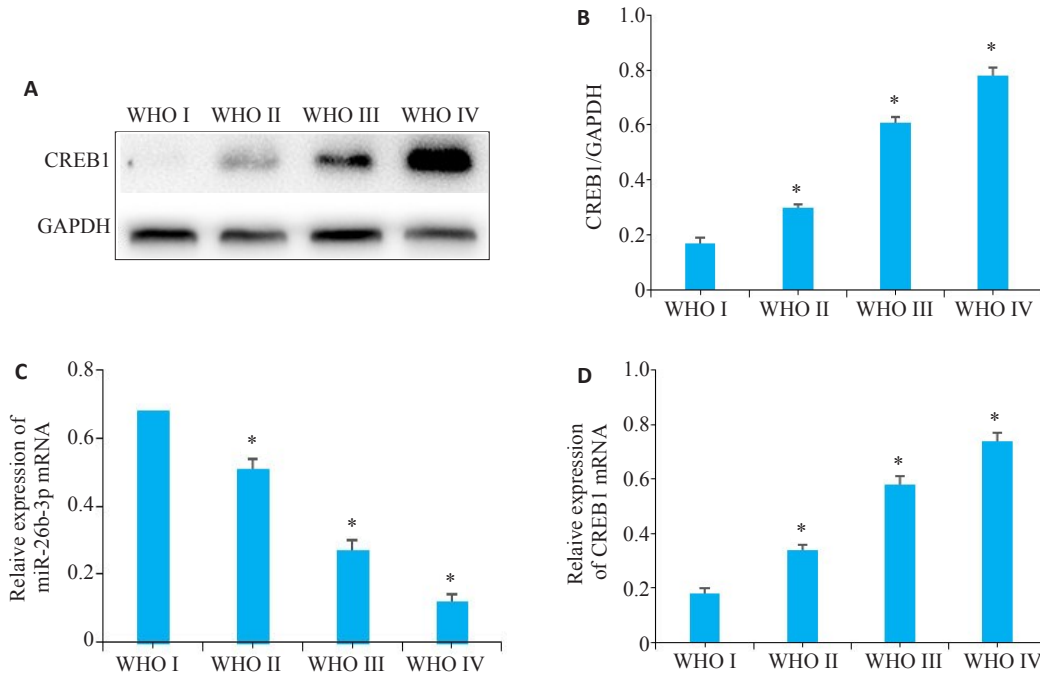


图1 不同级别胶质瘤中miR-26b-3p及CREB1的表达情况

Fig.1 Expression of miR-26b-3p and CREB1 in gliomas of different pathological grades. A, B: Western blotting of expression of CREB1 in different stages of glioma. C, D: RT-qPCR of miR-26b-3p in different stages of glioma. \* $P<0.05$  vs WHO I group.

### 2.2 miR-26b-3p mimic 转染后 miR-26b-3p 和 CREB1 mRNA 的表达

miR-26b-3p mimic 转染人胶质瘤细胞 U251 48 h 后,miR-26b-3p mimic 组 miR-26b-3p mRNA 的表达水平提高( $P<0.001$ ,图2A);miR-26b-3p mimic 组 CREB1 mRNA 的表达水平降低( $P<0.001$ ,图2B)。

### 2.3 miR-26b-3p 靶向调控 CREB1

利用TargetScan、JASPAR等网站进行生物信息学预测显示 CREB1 的3' UTR 区域上存在与 miR-26b-3p 匹配的核苷酸序列(图3A)。双荧光素酶报告基因检测结果表明,过表达 miR-26b-3p mimic 可显著抑制 CREB1 WT 的相对荧光素酶活性( $P<0.01$ ),而 CREB1 MUT 的相对荧光素酶活性无明显变化( $P>0.05$ ,图3B)。RT-qPCR 和 Western blotting 检测结果显示,过表达 miR-26b-3p 的 U251 细胞中 CREB1 mRNA 及蛋白表达

水平均比 NC 组细胞降低( $P<0.01$ ,图3C~E)。

### 2.4 miR-26b-3p 靶向调控 CREB1 对胶质瘤细胞增殖的影响

在 U251 细胞中转染了 miR-26b-3p mimic、miR-26b-3p inhibitor 及 NC 片段。CCK-8 结果显示,过表达 miR-26b-3p mimic 可抑制 U251 细胞的增殖作用,miR-26b-3p inhibitor 可促进 U251 细胞的增殖( $P<0.05$ ,图4A);Western blotting 结果显示 miR-26b-3p mimic 可抑制 CREB1 的表达,miR-26b-3p inhibitor 可促进 CREB1 的表达( $P<0.05$ ,图4B、C)。

### 2.5 miR-26b-3p 靶向调控 CREB1 对胶质瘤细胞凋亡的影响

流式细胞术的研究结果显示,转染 miR-26b-3p mimic 的 U251 细胞凋亡率增加,转染 miR-26b-3p inhibitor 的 U251 细胞凋亡率下降( $P<0.05$ ,图5)



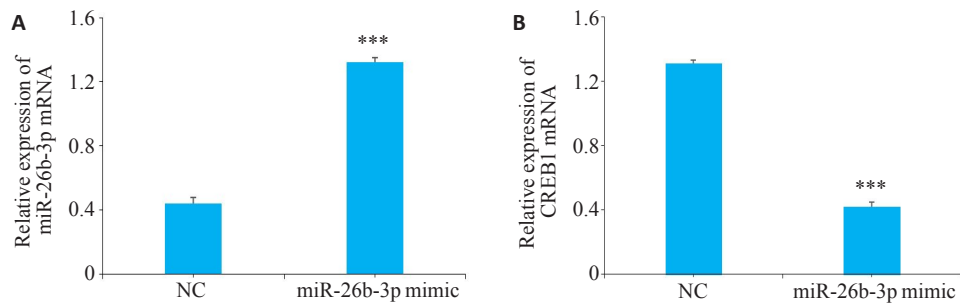


图2 转染miR-26b-3p mimic后miR-26b-3p和CREB1 mRNA的表达情况  
Fig.2 mRNA expression of miR-26b-3p (A) and CREB1 (B) detected by RT-qPCR in U251 cells transfected with miR-26b-3p mimic. \*\*\* $P < 0.001$  vs NC group.

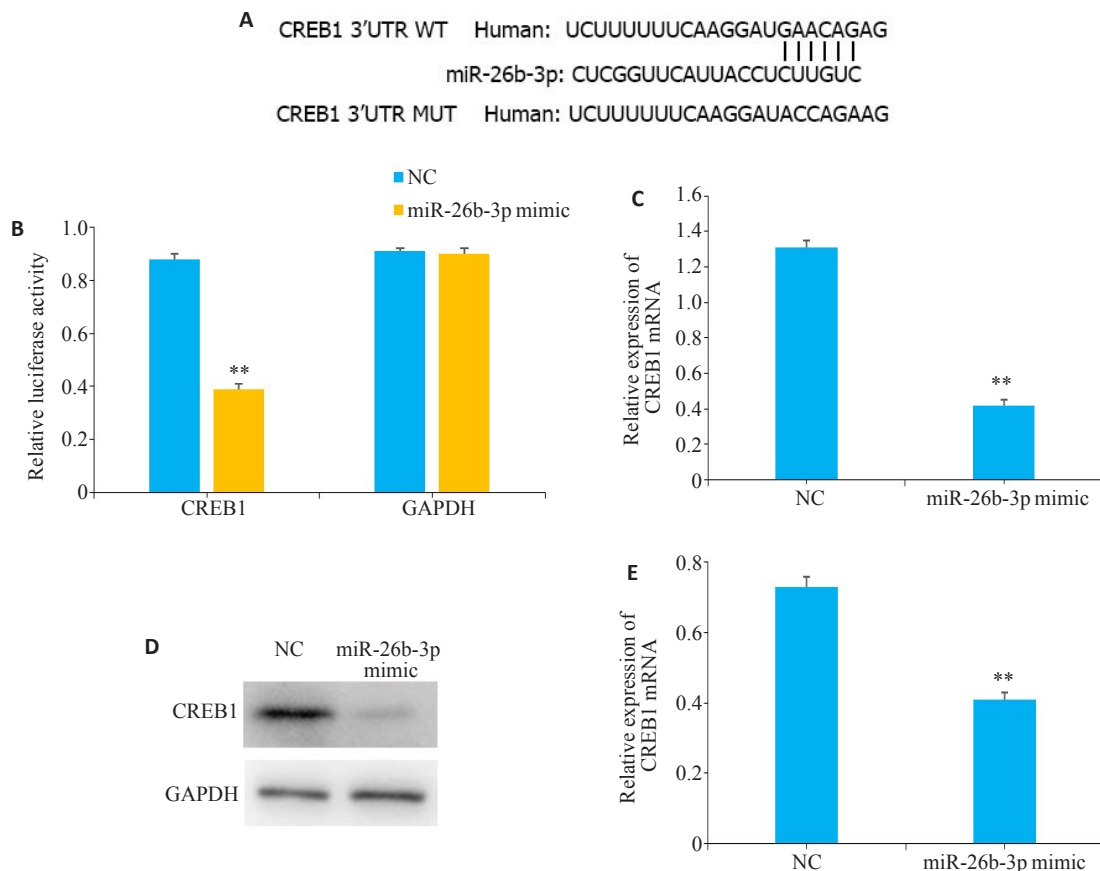


图3 双荧光素酶报告基因验证CREB1作为miR-26b-3p的靶基因  
Fig.3 Dual luciferase reporter gene experiment confirms that CREB1 is the target gene of miR-26b-3p. A: Bioinformatics prediction of the binding site in CREB1 for miR-26b-3p. B: Luciferase reporter assay confirms that miR-26b-3p is capable of binding to CREB1-WT but not to CREB1-MUT in U251 cells. C: RT-qPCR of CREB1 mRNA in U251 cells transfected with miR-26b-3p mimic. D: Western blotting of CREB1 expression in U251 cells transfected with miR-26b-3p mimic; E: Quantification of Western blotting results. \*\* $P < 0.01$  vs NC group.

### 2.6 miR-26b-3p靶向调控CREB1对胶质瘤细胞迁移及侵袭的影响

划痕愈合实验结果显示,与NC组相比,转染miR-26b-3p mimic的U251细胞在24、48、72 h时,胶质瘤细胞迁移率均降低,转染miR-26b-3p inhibitor的U251细胞在24、48、72 h时,胶质瘤细胞迁移率均增加( $P < 0.05$ ,

图6A,B)。

Transwell实验结果显示,与NC组相比,转染miR-26b-3p mimic后通过基质胶的胶质瘤细胞减少,转染miR-26b-3p inhibitor后通过基质胶的胶质瘤细胞增多,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图6C)。

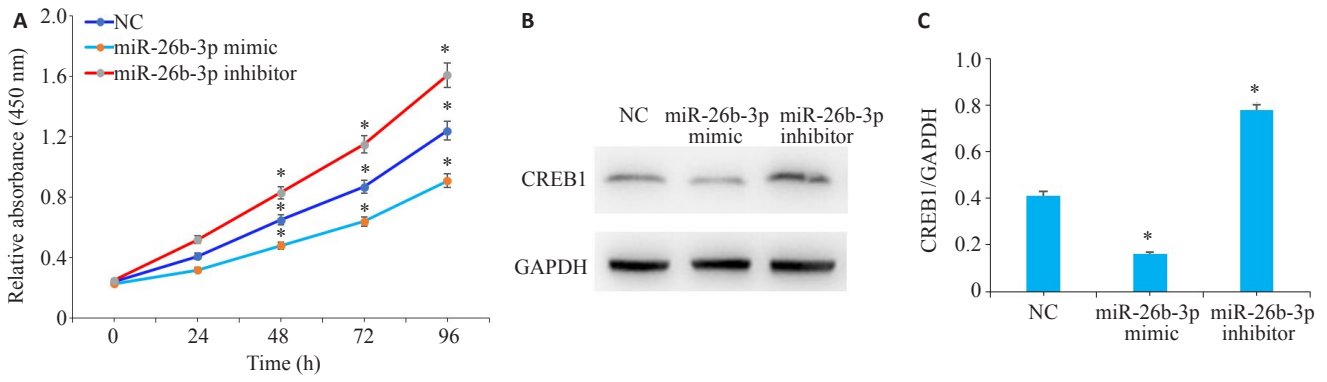


图4 miR-26b-3p靶向调控CREB1对胶质瘤细胞增殖能力的影响

Fig.4 MiR-26b-3p targets CREB1 to regulate U251 cell proliferation. A: Viability of cells measured by MTT assay. B, C: Western blotting of CREB1 expression in U251 cells transfected with NC, miR-26b-3p mimic and miR-26b-3p inhibitor. \*P<0.05 vs NC group.

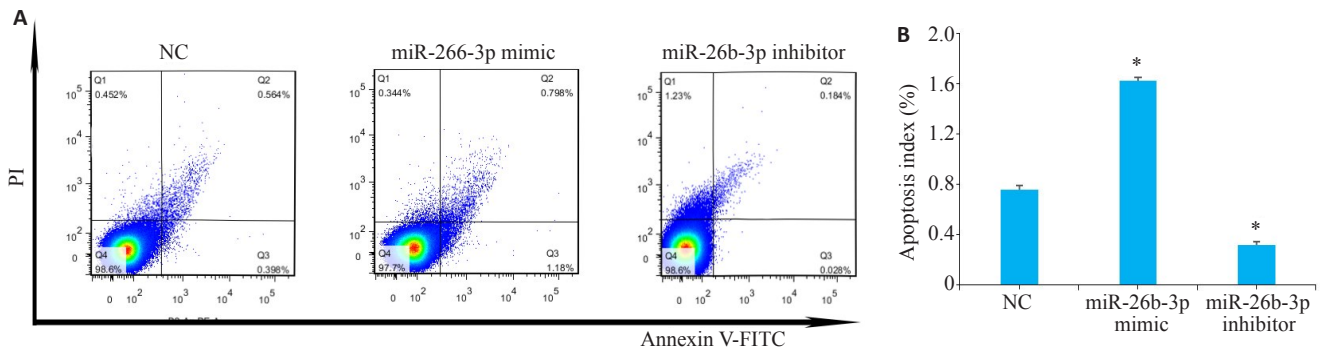


图5 流式细胞术检测各组胶质瘤细胞凋亡率

Fig.5 MiR-26b-3p targets CREB1 to regulate apoptosis of U251 cells. A: U251 cells stained with FITC-Annexin V-PI and analyzed by flow cytometry. B: Quantitative analysis of apoptosis in U251 cells transduced with miR-26b-3p. \*P<0.05 vs NC group.

### 3 讨论

胶质瘤是中枢神经系统中最常见的恶性肿瘤之一，由于其呈浸润性生长，手术难以全切，且对放、化疗敏感性差，术后复发率高，多数患者中位数生存率低，这与胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为密切相关<sup>[16]</sup>。miRNAs是一类由约20个核苷酸组成的小型非编码RNA分子，参与高等真核细胞内多种生物作用的调控。研究表明，miRNAs与肿瘤的发病机制密切相关，包括细胞增殖、迁移和侵袭等。miRNAs的异常表达是由多种癌症类型的基因改变所致，并通过靶基因表达的失调在肿瘤的发生和发展中发挥作用。我们前期研究表明 miR-26b 在胶质瘤中低表达，可通过下调 COX-2 表达抑制神经胶质瘤的增殖、侵袭和迁移<sup>[11]</sup>，表明 miR-26b 在恶性胶质瘤的发生和发展中发挥抑癌作用。miR-26b-3p 作为抑癌基因或致癌基因，在胆管癌、食管癌、乳腺癌、结肠癌、喉癌等多种恶性肿瘤中均有表达<sup>[17-20]</sup>，并且对肿瘤恶性进展发挥重要作用。研究表明，miR-26b-3p 在神经胶质瘤中表达明显上调，可通过靶

向调控 TRA2B、ANTXR1 调节胶质瘤增殖、迁移<sup>[10,21]</sup>。然而，其关键作用靶点及具体作用机制尚不完全清楚，仍需进一步研究。

为进一步验证 miR-26b-3p 在胶质瘤的表达水平，本研究检测了不同级别胶质瘤中 miR-26b-3p 的表达水平，其结果显示 miR-26b-3p 在胶质瘤中低表达，并且随着胶质瘤级别的增加其表达水平逐渐下降，表明 miR-26b-3p 在恶性胶质瘤中发挥抑癌基因的作用，可阻止胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力，这与既往研究<sup>[14,21]</sup>结果相似。

CREB1 是肿瘤细胞增殖和迁移过程的一个关键核转录因子<sup>[12,22]</sup>。研究表明，CREB1 在乳腺癌、肝细胞癌、前列腺癌、肾癌等多种肿瘤的发生发展中发挥重要作用，促进肿瘤细胞的增殖和迁移<sup>[14,23-25]</sup>。有学者发现抑制 CREB1 的表达可有效减少胰腺癌细胞的迁移和增殖<sup>[26]</sup>。也有研究表明，CREB1 在高级别胶质瘤组织中的表达上调，而下调 CREB1 表达可以抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力<sup>[15]</sup>，但 CREB1 在神经胶质瘤进展中

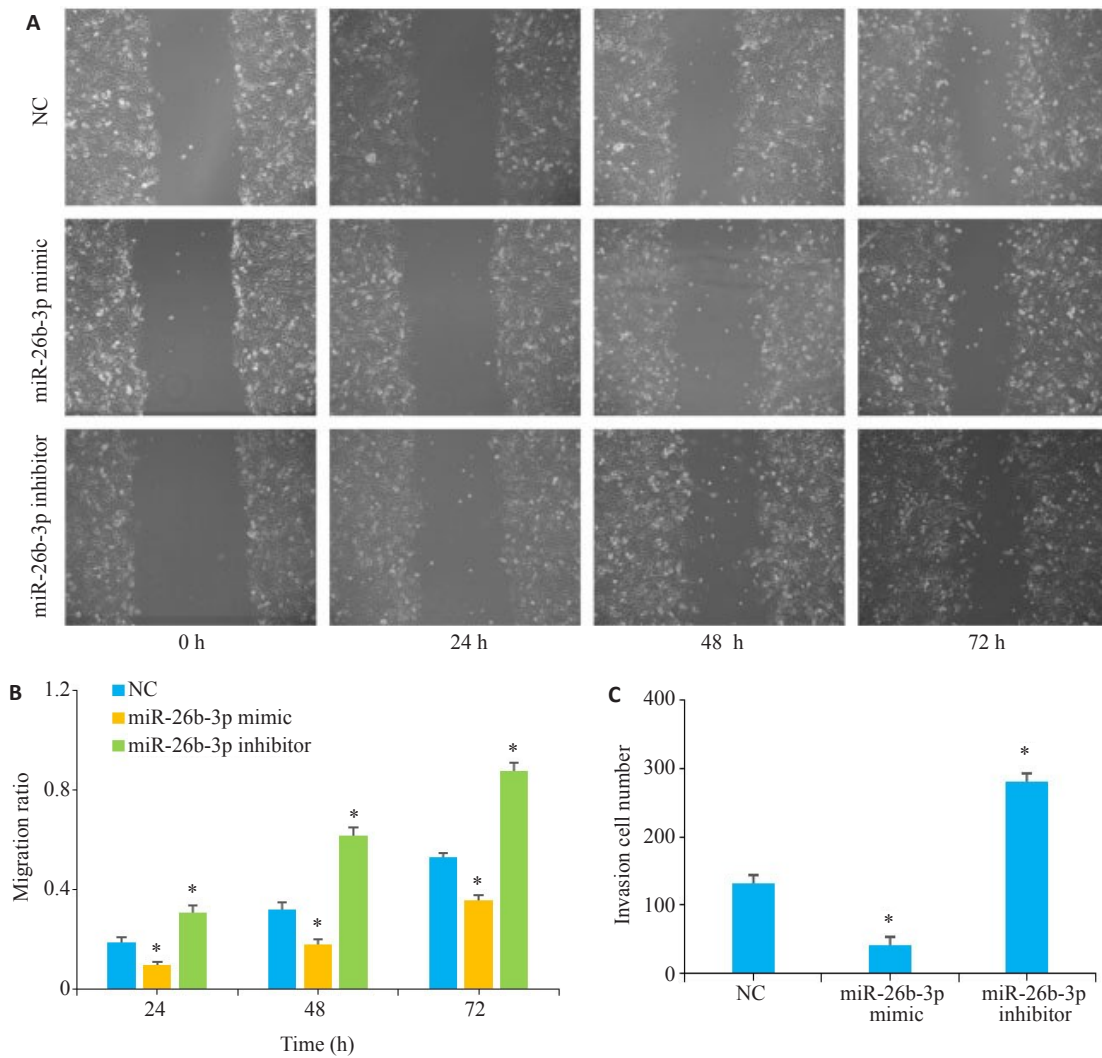


图6 miR-26b-3p对U251细胞迁移和侵袭能力的影响

Fig.6 Effect of miR-26b-3p expression level on migration and invasion of U251 cells. A: Scratch wound healing assay of U251 cells in different groups. B: Quantitation of wound migration ratio at different time points. C: Quantitation of the number of invading cells. \* $P < 0.05$  vs NC group.

的作用仍不清楚。基于此,本研究进一步探索 CREB1 在胶质瘤中的作用,临床数据和体外实验结果表明, CREB1 的表达随着胶质瘤级别增高而增加,且 CREB1 的表达与胶质瘤病理分级密切相关,表明 CREB1 在恶性胶质瘤进展中充当致癌基因,并且可能与神经胶质瘤恶性肿瘤的严重程度相关。miRNAs 可通过靶向 CREB1 基因的表达而在多种肿瘤中发挥抑癌基因的作用<sup>[27]</sup>, miR-27b-3p 的表达水平与乳腺癌组织中 CREB1 水平负相关<sup>[28]</sup>。miR-200b 靶向调控 CREB1 抑制胶质瘤的生长<sup>[29]</sup>。miR-138 通过靶向 CREB1 抑制 AKT/mTOR 信号通路,调节神经胶质瘤细胞的增殖、凋亡和侵袭<sup>[30]</sup>。基于此,本研究通过 TargetScan、Jaspar 等数据库分析了 miR-26b-3p 潜在的下游转录调控因子,发现 CREB1 可能是 miR-26b-3p 的潜在靶基因。为探索胶质瘤细胞中 miR-26b-3p 和 CREB1 之间的作用及相关机制,利用双荧光素酶报告基因检测方法,我们证实了

CREB1 是 miR-26b-3p 的新靶基因。运用 RNA 干扰技术,过表达 miR-26b-3p 可显著抑制 CREB1 的表达,表明胶质瘤中 CREB1 蛋白的表达受 miR-26b-3p 的负调控。进一步通过流式细胞仪对胶质瘤细胞的凋亡情况进行检测发现,下调胶质瘤细胞中 miR-26b-3p 表达,胶质瘤细胞的凋亡率显著提高,而且其迁移及侵袭能力明显下降,表明 miR-26b-3p 可通过调节 CREB1 作为神经胶质瘤抑制因子,影响胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为。

但本研究尚存在一定的局限:在恶性胶质瘤中, miR-26b-3p 及 CREB1 的上下游可能存在其他的调控机制尚需进一步研究;能否找到其他的作用靶点、能否在恶性胶质瘤的诊治中发生重要作用,还需进一步探索。

综上所述,本研究首次在恶性胶质瘤细胞中研究 miR-26b-3p 和 CREB1 的相互作用及相关机制,发现 miR-26b-3p 可靶向负调控 CREB1 表达抑制胶质瘤细

胞的增殖、侵袭、迁移能力,促进胶质瘤细胞的凋亡,从而参与胶质瘤的发生、发展。因此,miR-26b-3p/CREB1可作为胶质瘤诊断或治疗的新靶点。

#### 参考文献:

- [1] Poonan P, Agoni C, Ibrahim MAA, et al. Glioma-targeted therapeutics: computer-aided drug design prospective[J]. Protein J, 2021, 40(5): 601-55.
- [2] Nicholson JG, Fine HA. Diffuse glioma heterogeneity and its therapeutic implications[J]. Cancer Discov, 2021, 11(3): 575-90.
- [3] Wei XH, Xiao BL, Wang LY, et al. Potential new targets and drugs related to histone modifications in glioma treatment [J]. Bioorg Chem, 2021, 112: 104942.
- [4] Zheng YQ, Graeber MB. Microglia and brain macrophages as drivers of glioma progression[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24): 15612.
- [5] Wang SW, Yin YT, Liu S. Roles of microRNAs during glioma tumorigenesis and progression[J]. Histol Histopathol, 2019, 34(3): 213-22.
- [6] Ito Y, Matsuzaki T, Ayabe F, et al. Both microRNA-455-5p and-3p repress hypoxia- inducible factor-2 $\alpha$  expression and coordinately regulate cartilage homeostasis[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 4148.
- [7] Slezak-Prochazka I, Durmus S, Kroesen BJ, et al. MicroRNAs, macrocontrol: regulation of miRNA processing[J]. RNA, 2010, 16(6): 1087-95.
- [8] Matak H, Seki N, Mizuno K, et al. Dual-strand tumor-suppressor microRNA-145 (miR-145-5p and miR-145-3p) coordinately targeted MTDH in lung squamous cell carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(44): 72084-98.
- [9] 田连芳,李丽玮,张小冲,等. MiR-26b-3p对乳腺癌细胞生物学行为的影响及作用机制研究[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(9): 667-73.
- [10] Geng F, Lu GF, Ji MH, et al. MicroRNA-26b-3p/ANTXR1 signaling modulates proliferation, migration, and apoptosis of glioma[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(12): 7568-78.
- [11] Chen ZG, Zheng CY, Cai WQ, et al. MiR-26b mimic inhibits glioma proliferation *in vitro* and *in vivo* suppressing COX-2 expression[J]. Oncol Res, 2019, 27(2): 147-55.
- [12] Zhang HY, Kong QB, Wang J, et al. Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer[J]. Exp Hematol Oncol, 2020, 9(1): 32.
- [13] 吕晓民,朱战鹏,孙立超. CREB转录因子磷酸化信号通路与癫痫的研究进展[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(8): 1462-5.
- [14] Kim IK, McCutcheon JN, Rao GH, et al. Acquired SETD2 mutation and impaired CREB1 activation confer cisplatin resistance in metastatic non-small cell lung cancer [J]. Oncogene, 2019, 38(2): 180-93.
- [15] 钱进,徐英纳,陶振玉,等. CREB1在胶质瘤中的表达及其对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(1): 7-10, 39.
- [16] 吴荣强,孙颖昕,张平,等. siRNA沉默NOK基因抑制脑胶质瘤U251细胞增殖与侵袭[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(14): 1665-8, 1675.
- [17] Gao QK, Lei FM, Zeng QM, et al. Functional passenger-strand miRNAs in exosomes derived from human colon cancer cells and their heterogeneous paracrine effects[J]. Int J Biol Sci, 2020, 16(6): 1044-58.
- [18] Meng CD, Liu Y, Shen YN, et al. MicroRNA-26b suppresses autophagy in breast cancer cells by targeting DRAM1 mRNA, and is downregulated by irradiation[J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 1435-40.
- [19] Fan DJ, Lin XT, Zhang F, et al. MicroRNA 26b promotes colorectal cancer metastasis by downregulating phosphatase and tensin homolog and wingless-type MMTV integration site family member 5A[J]. Cancer Sci, 2018, 109(2): 354-62.
- [20] Tian LL, Zhang JR, Ren XX, et al. Overexpression of miR-26b decreases the cisplatin-resistance in laryngeal cancer by targeting ATF2[J]. Oncotarget, 2017, 8(45): 79023-33.
- [21] 隋锐,张焯,姚冰,等. MiR-26b-3p靶向调控TRA2B表达抑制神经胶质瘤细胞的增殖和转移[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3): 309-13.
- [22] Zheng KB, Xie J, Li YT, et al. Knockdown of CERB expression inhibits proliferation and migration of glioma cells line U251 [J]. Bratisl Lek Listy, 2019, 120(4): 309-15.
- [23] Friedrich M, Heimer N, Stoehr C, et al. CREB1 is affected by the microRNAs miR-22-3p, miR-26a-5p, miR-27a-3p, and miR-221-3p and correlates with adverse clinicopathological features in renal cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6499.
- [24] Li Y, Wang YS. Bioinformatics analysis of gene expression data for the identification of critical genes in breast invasive carcinoma [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6): 8657-64.
- [25] Chhabra A, Fernando H, Watkins G, et al. Expression of transcription factor CREB1 in human breast cancer and its correlation with prognosis[J]. Oncol Rep, 2007, 18(4): 953-8.
- [26] Kim MP, Li XQ, Deng J, et al. Oncogenic KRAS recruits an expansive transcriptional network through mutant p53 to drive pancreatic cancer metastasis[J]. Cancer Discov, 2021, 11(8): 2094-111.
- [27] Wang YW, Chen X, Ma R, et al. Understanding the CREB1-miRNA feedback loop in human malignancies[J]. Tumour Biol, 2016, 37(7): 8487-502.
- [28] Zhu J, Zou ZZ, Nie PP, et al. Downregulation of microRNA-27b-3p enhances tamoxifen resistance in breast cancer by increasing NR5A2 and CREB1 expression [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(11): e2454.
- [29] Zhao C, Ma ZG, Mou SL, et al. Targeting effect of microRNA on CD133 and its impact analysis on proliferation and invasion of glioma cells [J]. Genet Mol Res, 2017, 16(1). doi: 10.4238/gmr16019281.
- [30] Zhang C, Wang Q, Zhou XW, et al. MicroRNA-138 modulates glioma cell growth, apoptosis and invasion through the suppression of the AKT/mTOR signalling pathway by targeting CREB1 [J]. Oncol Rep, 2020, 44(6): 2559-68.

(编辑:郎朗)