

miR-148a过表达抑制胰腺祖细胞增殖及其机制研究

翟文君 聂玉哲 滕春波*

(东北林业大学生命科学学院发育生物学实验室, 哈尔滨 150040)

摘要 胰腺祖细胞在糖尿病治疗中有着巨大的潜能, 其增殖分化受到microRNAs等多种机制调控。该文探究了miR-148a水平升高对胰腺祖细胞增殖的影响及可能的机制。结果显示, miR-148a在胰腺祖细胞分化过程中升高, 表明其可能参与胰腺的发育进程。光镜观察和免疫染色检测表明, 过表达miR-148a可以显著抑制胰腺祖细胞的增殖; 流式检测结果显示, miR-148a使细胞停滞在S期; Western blot结果显示, miR-148a不是通过诱导凋亡来抑制细胞增殖, 而很可能是通过抑制AKT信号通路来抑制胰腺祖细胞的增殖; qRT-PCR结果表明, 过表达miR-148a可以上调PTEN的mRNA表达水平。以上研究表明, 过表达miR-148a可能通过上调PTEN来抑制AKT通路, 从而实现胰腺祖细胞增殖的抑制。此研究为今后利用microRNAs抑制剂治疗胰腺疾病提供理论基础, 也为利用microRNAs治疗胰腺疾病提供线索。

关键词 miR-148a; 胰腺祖细胞; 增殖

Study of miR-148a Overexpression Inhibiting the Proliferation of Pancreatic Progenitor Cells and Its Mechanism

Zhai Wenjun, Nie Yuzhe, Teng Chunbo*

(Developmental Biology Laboratory, College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract Pancreatic progenitor cells have valuable potential in the treatment of diabetes and their proliferation can be regulated by multiple mechanisms including microRNAs. This study investigated the effect of miR-148a on pancreatic progenitor cells and its possible mechanisms. The results suggested that miR-148a was upregulated during the differentiation of pancreatic progenitor cells, thus it probably took part in the progression of pancreatic development. The microscope observation and Ki67 immunofluorescence tests showed that miR-148a overexpression could significantly inhibit the proliferation of pancreatic progenitor cells. Moreover, flow cytometry detection indicated that miR-148a arrested the cell cycle at S phase. Western blot illustrated that miR-148a overexpression suppressed the proliferation of pancreatic progenitor cells not through apoptosis, but might through inhibiting AKT signaling pathway. qRT-PCR results showed miR-148a overexpression increased the mRNA expression level of *PTEN*. All above results indicated that miR-148a might inhibit the activity of AKT signaling pathway by upregulating *PTEN* and then suppress the proliferation of pancreatic progenitor cells, which can provide a theoretical basis for the application of microRNAs on the treatment of pancreatic diseases.

Keywords miR-148a; pancreatic progenitor cells; proliferation

收稿日期: 2018-03-10

接受日期: 2018-03-25

国家自然科学基金(批准号: 31472159)和黑龙江省自然科学基金重点项目(批准号: ZD2017001)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0451-82191784, E-mail: chunboteng@nefu.edu.cn

Received: March 10, 2018

Accepted: March 25, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31472159) and the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (Grant No.ZD2017001).

*Corresponding author. Tel: +86-451-82191784, E-mail: chunboteng@nefu.edu.cn

网络出版时间: 2018-05-31 16:33:16

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180531.1632.008.html>

糖尿病是一种慢性内分泌代谢疾病,目前约有10%的世界人口患有糖尿病,且其发病率逐年升高,严重危害着人类的健康^[1]。糖尿病的病因是胰岛β细胞损伤或者胰岛素抵抗引发的高血糖症,因此增加胰腺胰岛β细胞的来源成为了研究的重中之重。胰腺祖细胞具有良好的增殖和分化潜能,是离体扩增或活体激活产生β细胞的重要来源之一^[2]。研究胰腺祖细胞增殖分化的分子机制可以为糖尿病治疗提供新的思路和途径^[3]。

microRNAs(miRNAs)是一种由内源基因编码的非编码单链小分子RNA,其主要功能是通过结合到与其种子序列互补配对的靶基因上降解靶mRNA或抑制其翻译,在转录后水平广泛调控真核基因表达^[4]。目前研究发现,有多个miRNAs参与调节胰腺的发育,如miR-375既可以调节β细胞分化和分泌,又可以抑制胰腺祖细胞的增殖;miR-18a和miR-19b在胰腺祖细胞的增殖和分化中都具有重要的调控作用^[5-7]。

MicroRNA-148a位于人染色体7p15.2,是microRNA-148/152家族的成员之一,对细胞增殖、细胞分化以及癌症发生等生物过程有重要的调控作用。已有研究表明,miR-148a在机体发育过程中起重要的作用,例如参与调节心肌细胞分化以及肝脏的发育^[8-9],但是目前还没有研究揭示miR-148a在胰腺发育中的作用。本研究以小鼠胰腺祖细胞为研究对象,探究了miR-148a对胰腺祖细胞增殖的影响及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

实验用胰腺祖细胞由本实验室自主分离获得,具体方法参考Zhang等^[7]的研究。

1.2 主要试剂

DMEM/F12细胞培养基、青霉素链霉素、双抗和0.25%的胰蛋白酶均购自Hyclone公司;B27、Glutamine和胎牛血清均购自Gibco公司;细胞培养用Insulin、EGF等均购自BD公司;β-巯基乙醇(β-ME)购自Sigma公司;提取RNA所用Trizol以及miRNA转染用试剂Lipofectamine RNiMAX均购自Invitrogen公司;dNTPs、RNase抑制物(RRI)、DNaseI和DNA marker均购自TaKaRa公司;qRT-PCR SYBR Green购自Roche公司;反转录试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司;E. coli Poly(A)聚合酶、ATP均购自New England Biolabs公司;mmu-miR-148a mimics

由吉玛基因股份有限公司合成;β-actin抗体购自全式金生物技术有限公司;Phospho-AKT(Ser473)、Phospho-AKT(Thr308)和AKT抗体均购自Cell Signaling Technology公司;Bcl-2和Bax抗体购自万类生物公司;Bim抗体购自生工生物工程(上海)股份有限公司;PTEN抗体购自碧云天生物技术有限公司。

1.3 细胞培养

胰腺祖细胞用10%贴壁培养液(1%青链霉素、1%谷氨酰胺和10% FBS的DMEM/F12培养液)培养12 h,细胞贴壁后更换2%扩增培养液(1%青链霉素、1%谷氨酰胺、2% B27、50 μmol/L β-巯基乙醇、10 μg/mL Insulin、20 ng/mL EGF和2% FBS的DMEM/F12)继续培养,每3天换液1次,在37 °C、5% CO₂培养箱中培养。

1.4 细胞转染

将对数生长期胰腺祖细胞消化后铺板,细胞40%~50%汇合后按照Lipofectamine RNAiMAX说明书程序转染细胞,每孔转染60 nmol/L miR-148a或空白对照模拟物(control mimics)。

1.5 胚胎胰腺剥离

选用7~8周龄健康发情雌鼠与雄鼠合笼,次日早8:00检查阴道栓,见栓记为妊娠0.5天(E0.5)。妊娠13.5天(E13.5)时,按照小鼠胚胎实验操作手册方法取出胚胎,参考Petzold等^[10]的报道方法剥离胚胎背胰,整个过程在显微镜下操作。

1.6 Ki67免疫染色

胰腺祖细胞转染48 h后,利用4%多聚甲醛固定,0.3%的Triton X-100打孔,10%马血清封闭1 h后,用Ki67一抗(兔来源,1:200稀释)于4 °C孵育过夜。避光加羊抗兔荧光二抗孵育1 h,用DAPI复染细胞核,用荧光显微镜采集图像,Image J-pro plus软件计数定量。

1.7 细胞流式检测

胰腺祖细胞转染48 h后在70%冷乙醇中固定;加入30 μg/mL的Rnase A孵育30 min去除RNA,然后加入终浓度50 μg/mL的PI避光孵育,PBS重悬细胞。采用Accuri C6流式细胞仪检测,随后用Modifit 4.1流式数据分析软件进行数据分析。

1.8 荧光定量PCR方法

胰腺祖细胞转染48 h后利用TRizol充分裂解细胞,提取实验组和对照组的细胞总mRNA,利用随机引物反转录为cDNA;miR-148a转染表达情况采

表1 q-PCR引物序列
Table 1 Primers of q-PCR

引物名称	引物序列(5'→3')
Primer name	Sequence of primer (5'→3')
PTEN	F: TGT AAA GCT GGA AAG GGA CG R: CCT CTG ACT GGG AAT TGT GAC
β -actin	F: CCA ACC GTG AAA AGA TGA CC R: TAC GAC CAG AGG CAT ACA GG
U6	F: CGC TTC GGC AGC ACA TAT AC R: TT CAC GAA TTT GCG TGT CAT
Ambion	F: GCG AGC ACA GAA TTA ATA CGC
miR-148a-3p	R: TCA GTG CAC TAC AGA ACT TTG T

用加尾法。所得数据通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法来计算,引物序列见表1。小鼠U6和 β -actin作为内参基因分别检测miRNA和目的基因的相对表达,每个基因检测设置3个重复。

1.9 Western blot

胰腺祖细胞转染72 h后,加RIPA蛋白裂解液充分裂解细胞,然后进行SDS-PAGE凝胶电泳,利用湿转仪将蛋白转移到NC膜上进行Western杂交。一抗Phospho-AKT(Ser473) 1:1 000、Phospho-AKT(Thr308) 1:1 000、AKT 1:1 000、 β -actin 1:1 000、Bcl-2 1:500、Bax 1:500、Bim 1:500、PTEN 1:1 000于4 °C孵育过夜,用TBST洗膜3次,二抗结合后ECL发光液孵育,使用Tanon 5200发光成像系统进行曝光,随后用配套软件检测蛋白条带灰度值。

1.10 统计学方法

本实验统计学分析采用SPSS 17.0进行,组间样本比较采用非配对 t 检验,数据均以 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计性意义。

2 结果

2.1 过表达miR-148a抑制胰腺祖细胞的增殖

小鼠胰腺祖细胞增殖和分化转换发生于E15.5左右。我们对小鼠E12.5、E15.5和E17.5胰腺的miR-148a进行qRT-PCR分析时发现,miR-148a在E12.5的表达量较低,而在E15.5和E17.5表达量逐渐升高(图1A)。这种表达差异表明,miR-148a很有可能参与胰腺祖细胞增殖分化的转换过程。

为检测miR-148a过表达对胰腺祖细胞增殖的影响,我们用高效转染试剂脂质体RNAiMax将阴性对照NC和miR-148a转染至我们实验室已经建立

的F10代胰腺祖细胞,转染后48 h通过qRT-PCR确定miR-148a的过表达(图1B)。通过光镜观察(图1C)和Ki67细胞免疫荧光染色方法检测细胞增殖的变化,统计Ki67阳性的细胞和总细胞数(DAPI阳性),然后计算Ki67阳性的比例。结果如图2所示,相对于NC组,过表达miR-148a后Ki67阳性细胞的比例显著降低,即miR-148a显著抑制了胰腺祖细胞的增殖。

2.2 过表达miR-148a调控胰腺祖细胞的细胞周期

为进一步检测miR-148a对胰腺祖细胞增殖的影响,我们用60 nmol/L的NC和miR-148a转染胰腺祖细胞48 h后,通过流式细胞术检测细胞周期进程。结果显示,与NC组相比,miR-148a使细胞周期阻滞在S期(图3)。

2.3 过表达miR-148a对胰腺祖细胞凋亡的影响

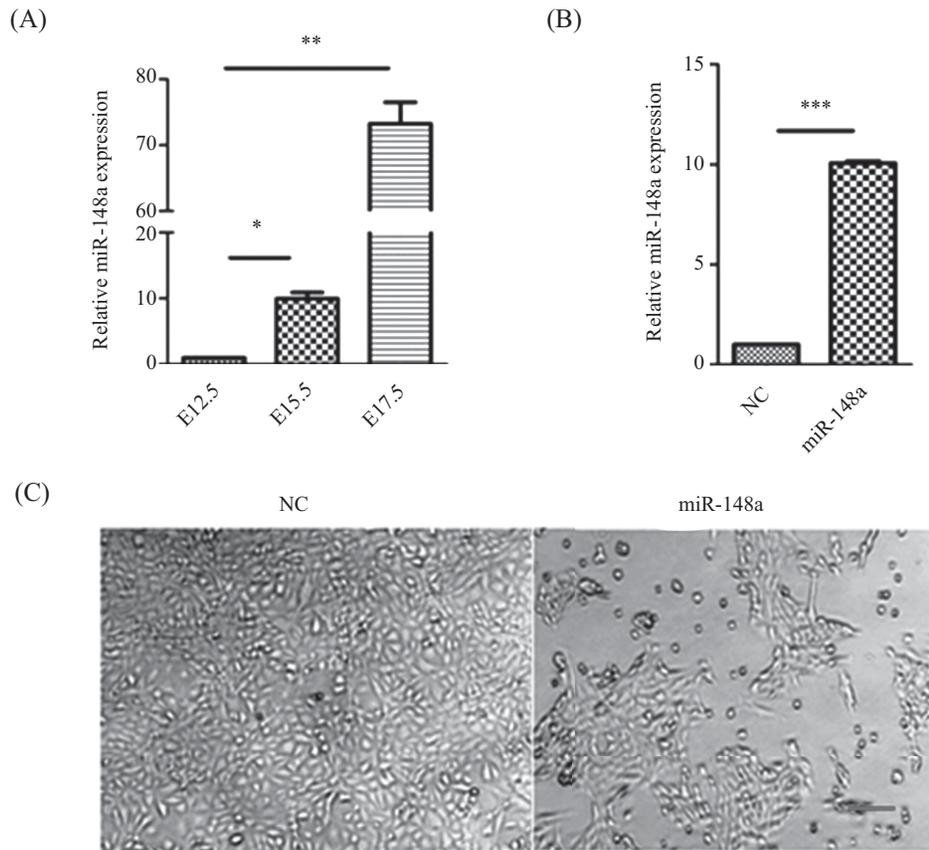
为了确认miR-148a对胰腺祖细胞增殖的抑制是否由凋亡引起,我们用Western blot检测过表达miR-148a后胰腺祖细胞中凋亡相关基因的表达水平。如图4所示,抑制凋亡的Bcl-2蛋白水平下调,而促进凋亡的Bax和Bim的蛋白水平也出现了显著的下调,这并不能显示出凋亡的发生,因而过表达miR-148a可能不是通过诱导胰腺祖细胞的凋亡来抑制其增殖。

2.4 过表达miR-148a对胰腺祖细胞增殖相关通路的作用

为分析miR-148a抑制胰腺祖细胞增殖的机制,我们用Western blot检测过表达miR-148a 72 h后细胞增殖相关AKT信号通路的活性变化。结果显示,与对照组相比,胰腺祖细胞过表达miR-148a后,AKT的308位苏氨酸(T308)和473位丝氨酸(S473)磷酸化水平均显著降低(图5)。这表明,miR-148a可能通过阻断PI3K/AKT信号通路的激活而抑制胰腺祖细胞的增殖。

2.5 过表达miR-148a对PTEN基因表达量的调控

已有研究表明,miR-148a可以直接靶向作用于增殖相关基因——PTEN基因^[1]。而PTEN是促使AKT308位苏氨酸(T308)磷酸化的上游基因,为了检测miR-148a对AKT通路的抑制作用是否与PTEN有关,我们用qRT-PCR和Western blot检测过表达miR-148a后胰腺祖细胞中PTEN的mRNA和蛋白表达水平。结果发现,与对照组相比,PTEN的mRNA水平显著上调(图6),而其蛋白水平却显著下降(图7)。这表明,miR-148a虽然可以调控PTEN基因的表达,却并未由此引发对AKT信号通路的抑制,那么miR-

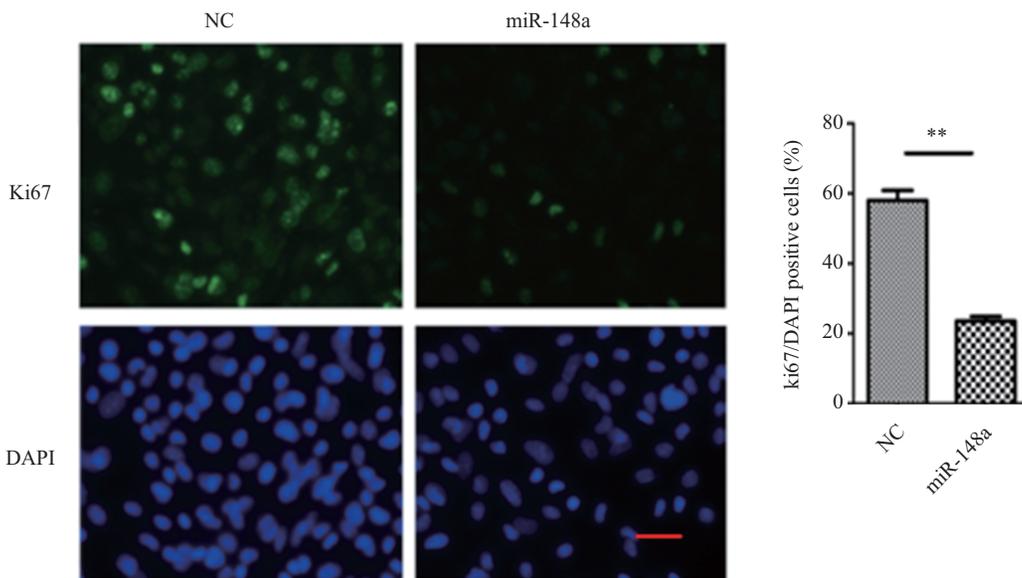


A: miR-148a在小鼠胚胎胰腺E12.5、E15.5和E17.5时期的表达水平; B: miR-148a在胰腺祖细胞中的过表达; C: miR-148a转染胰腺祖细胞48 h后光镜图。标尺=20 μm, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

A: expression of miR-148a in E12.5, E15.5 and E17.5 mouse pancreata; B: overexpression of miR-148a in pancreatic progenitor cells; C: 48 h after transfection, the pancreatic progenitor cells were photographed by a microscope with a CCD camera. Bar=20 μm, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图1 过表达miR-148a对胰腺祖细胞增殖的影响

Fig.1 Effect of miR-148a on the proliferation of pancreatic progenitor cells



标尺=20 μm, ** $P < 0.01$ 。

Bar=20 μm, ** $P < 0.01$ 。

图2 Ki67免疫染色检测过表达miR-148a后胰腺祖细胞增殖

Fig.2 Ki67 immunofluorescence detection of the proliferation of pancreatic progenitor cells after miR-148a overexpression

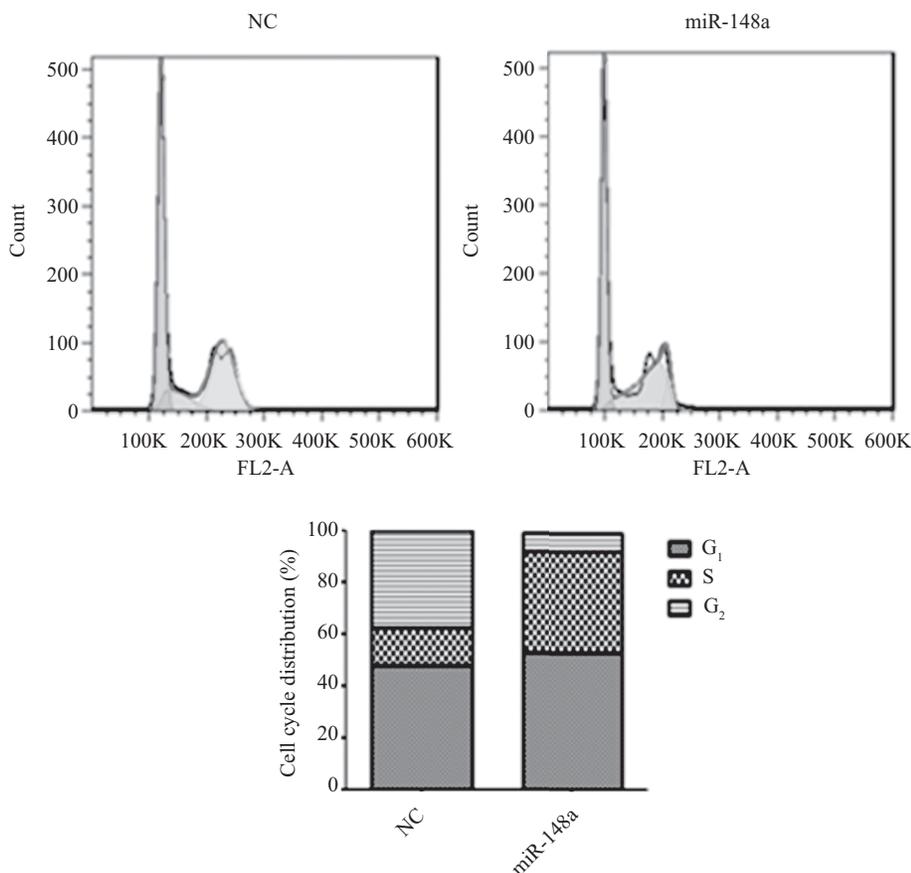


图3 miR-148a对胰腺祖细胞细胞周期进程的影响

Fig.3 The effect of miR-148a on the cell cycle progression of pancreatic progenitor cells

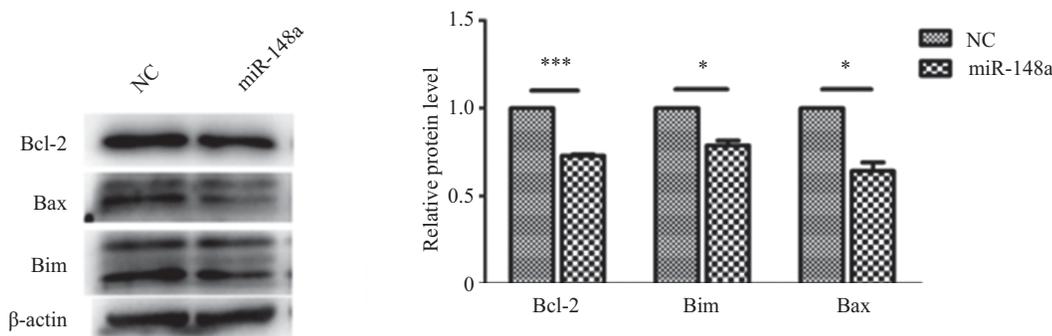


图4 Western blot检测miR-148a对胰腺祖细胞中凋亡相关基因蛋白水平的影响

Fig.4 The effect of miR-148a on the protein expression levels of apoptosis-related genes in pancreatic progenitor cells was detected by Western blot

148a可能是通过其他方式调控AKT通路来抑制胰腺祖细胞增殖。

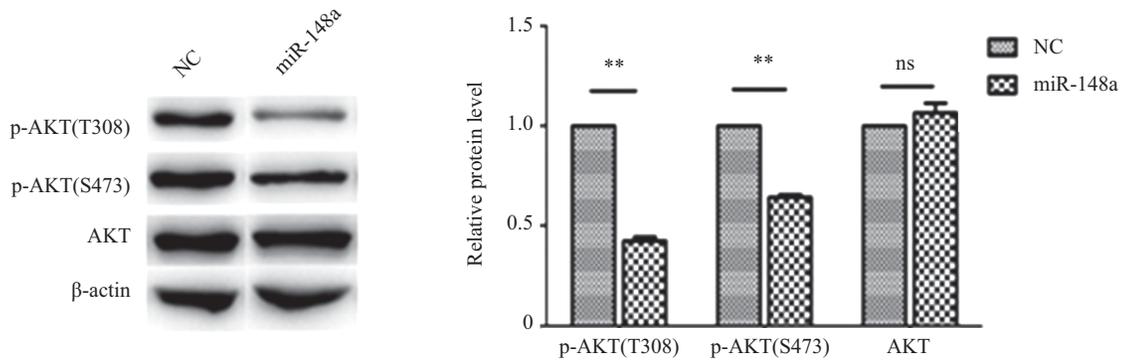
3 讨论

本研究首次发现并证明了miR-148a对胰腺祖细胞增殖的抑制作用。通过Ki67免疫染色和细胞流式检测证明miR-148a对胰腺祖细胞增殖的抑制作

用,但miR-148a并未引发胰腺祖细胞的凋亡。miR-148a可以抑制胰腺祖细胞内的PI3K/AKT信号通路,qRT-PCR检测证明了miR-148a对其靶基因PTEN的上调,表明miR-148a可能通过上调PTEN抑制PI3K/AKT通路,从而抑制胰腺祖细胞的增殖。

近来一些研究表明,miR-148a在发育过程中起重要作用。赖卓莉等^[8]的研究发现,miR-148a可

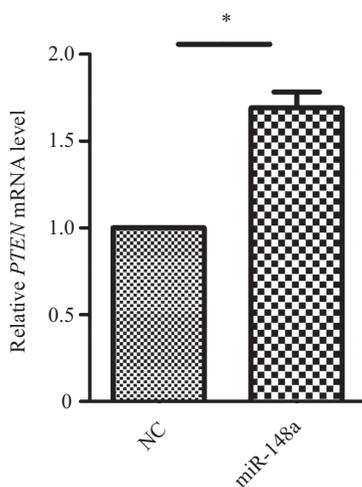
*P<0.05, ***P<0.001.



** $P < 0.01$.

图5 miR-148a对胰腺祖细胞AKT信号通路活性的影响

Fig.5 The effects of miR-148a on the phosphorylation of AKT on threonine 308 (p-T308) and serine 473 (p-S473)



* $P < 0.05$.

图6 miR-148a对胰腺祖细胞PTEN mRNA表达水平的影响

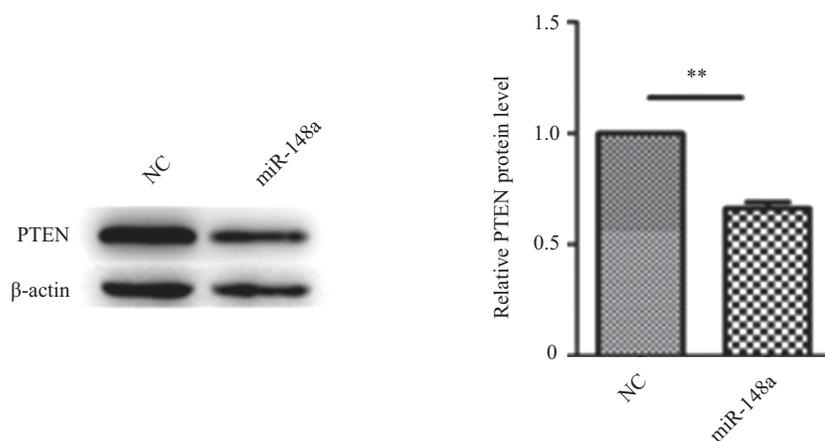
Fig.6 The effect of miR-148a on the mRNA expression level of PTEN in pancreatic progenitor cells

以通过靶向DNMT1促进骨髓间充质干细胞(MSCs)向心肌分化; 另一项研究表明, 过表达miR-148a通过靶向赖氨酸特异性去甲基化酶6b(lysine-specific demethylase 6b, Kdm6b)抑制成骨细胞的分化^[12]。miR-148a还可以通过靶向抑制ROCK1促进成肌细胞分化^[13]。另外, miR-148a通过抑制CCAAT增强子结合蛋白 α 基因(CCAAT-enhancer binding protein- α , Cebpa)的表达参与猪的肝脏分化^[9]。研究发现, miR-148a也可以通过抑制Wnt信号通路促进人脂肪源性间充质干细胞的成脂分化^[14]。此外, 研究较多的是miR-148a对癌症的作用。miR-148a在多种癌症中低表达, 因而过表达miR-148a具有抑癌的作用, 例如miR-148a可以通过靶向CDK8抑制乳头状甲状腺癌增殖和侵袭^[15]; 在胰腺癌中, miR-148a通过靶

向Wnt10b抑制癌细胞的EMT和侵袭^[16]。然而, miR-148a对胰腺祖细胞增殖的调控作用为我们首次报道。

miR-148a通过对众多基因的靶向作用实现对机体复杂生命活动的调控。研究显示, miR-148a通过多个靶基因调控机体发育, 例如上文提及的DNMT1、ROCK1和Cebpa^[8-9,13]。在癌症进程中miR-148a则有着更多的靶基因, 除了CDK8和Wnt10b外, miR-148a还可以通过靶向CDC25B抑制胰腺癌细胞生存^[17]。在非小细胞肺癌中, miR-148a可以靶向STAT3来抑制癌细胞增殖和侵袭^[18]。另外, miR-148a通过靶向Rab14增强肾癌细胞对顺铂的敏感性^[19]。对于PTEN, Zhang等^[11]在人细胞中已发现并验证了miR-148a对PTEN的直接靶向作用。PTEN是AKT信号通路中重要的调控因子, 在细胞增殖过程中起着重要作用, 在胰腺祖细胞中也是调控增殖的关键因子, 但在本研究中miR-148a过表达虽然引发了PTEN mRNA水平的上调, 但却显著下调其蛋白水平, 说明miR-148a这可能间接调控PTEN基因, 且很可能通过其他方式作用于AKT通路, 从而实现对胰腺祖细胞增殖的抑制。

关于miR-148a在胰腺疾病治疗中的研究目前主要集中在胰腺癌。研究表明, 与正常细胞相比miR-148a在胰腺癌细胞中表达量下调, 且可以通过靶向ErbB3抑制胰腺癌细胞的增殖和迁移^[20]。另一研究显示, 过表达miR-148a可以抑制模型小鼠体内胰腺肿瘤的发生^[21]。此外, Assmann等^[22]发现, 与健康人体组织相比, 1型糖尿病患者体内胰腺组织的miR-148a发生显著下调, 且与细胞增殖和胰岛素合



** $P < 0.01$.

图7 miR-148a对胰腺祖细胞PTEN蛋白表达水平的影响

Fig.7 The effect of miR-148a on the protein expression level of PTEN in pancreatic progenitor cells

成分泌相关,因而可以作为潜在的生物标志应用于治疗中。但是,miR-148a进一步的应用以及在胰腺祖细胞中的应用还没有相关报道。

由于胰腺祖细胞长期处于静息状态,本文又发现了miR-148a对胰腺祖细胞显著的增殖抑制作用,那么在该细胞中抑制miR-148a的表达水平就很可能促进细胞增殖,这有助于探明小鼠胰腺祖细胞增殖的分子调控机制,为糖尿病等胰腺疾病的治疗奠定新的理论基础。在未来的研究中,我们可以利用CRISPR/Cas9载体将miR-148a的抑制剂导入胰腺祖细胞内,探究其对细胞增殖的促进作用,进一步应用于模型小鼠,从而为临床糖尿病的治疗提供新的参考。

综上所述,本研究以胰腺祖细胞为研究对象,探索miR-148a对其增殖的影响以及分子机制,进而揭示microRNA调控胰腺发育的分子机制,这可以为胰腺器官的离体培养和糖尿病等胰腺疾病的治疗提供一定的理论依据。

参考文献 (References)

- Kim HS, Lee MK. β cell regeneration through the transdifferentiation of pancreatic cells: Pancreatic progenitor cells in the pancreas. *J Diabetes Invest* 2016; 7(3): 286-96.
- Reid LM. Stem/progenitor cells and reprogramming (plasticity) mechanisms in liver, biliary tree, and pancreas. *Hepatology* 2016; 64(1): 4-7.
- Bretzel RG, Eckhard M, Brendel MD. Pancreatic islet and stem cell transplantation: new strategies in cell therapy of diabetes mellitus. *Panminerva Med* 2004; 46: 25-42.
- Shukla GC, Singh J, Barik S. MicroRNAs: processing, maturation, target recognition and regulatory functions. *Mol Cell Pharmacol* 2011; 3: 83-92.
- Zhang ZW, Men T, Feng RC, Li YC, Zhou D, Teng CB. MiR-375 inhibits proliferation of mouse pancreatic progenitor cells by targeting YAP1. *Cell Physiol Biochem* 2013; 32(6): 1808-17.
- Li XY, Zhang ZW, Li YC, Zhao YC, Zhai WJ, Yang L, *et al.* MiR-18a counteracts AKT and ERK pathway activation to inhibit the proliferation of pancreatic progenitor cells. *Sci Rep* 2017; 7: 45002.
- Zhang ZW, Zhang LQ, Ding L, Wang F, Sun YJ, An Y, *et al.* MicroRNA-19b downregulates insulin 1 through targeting transcription factor NeuroD1. *Febs Lett* 2011; 585(16): 2592-8.
- 赖卓莉, 蒋昌科. miR-148a通过DNMT1调控MSCs向心肌分化的内在作用机制研究. *中国免疫学杂志*(Lai Zhuoli, Jiang Changke. Study on miR-148a regulation function of cardiac differentiation on MSCs by targeting DNMT1. *Chinese Journal of Immunology*) 2017; 33(4): 520-6.
- 李艳华, 赵俊生, 周辉云, 徐宁迎. 猪MiR-148a对肝脏发育调控的初步研究. *农业生物技术学报*(Li Yanhua, Zhao Junsheng, Zhou Huiyun, Xu Ningying. Preliminary research of miR-148a regulating porcine liver development. *Journal of Agricultural Biotechnology*) 2015; 23(4): 513-20.
- Petzold KM, Spagnoli FM. A System for *ex vivo* culturing of embryonic pancreas. *J Vis Exp* 2012; 66: e3979.
- Zhang H, Wang Y, Xu TM, Li C, Wu J, He QY. Increased expression of microRNA-148a in osteosarcoma promotes cancer cell growth by targeting PTEN. *Oncol Lett* 2016; 12(5): 3208-14.
- Tian L, Zheng F, Li Z, Wang H, Yuan H, Zhang X, *et al.* miR-148a-3p regulates adipocyte and osteoblast differentiation by targeting lysine-specific demethylase 6b. *Gene* 2017; 627(5): 32-9.
- 张晶. 骨骼肌发育中miR-148a功能与qPCR内参基因的研究. *华中农业大学(学位论文)*(Zhang Jing. Study of miR-148a function and reference genes of qPCR in skeletal muscle development. Huazhong Agricultural University), 2012.
- 史春梅. miR-148a影响人脂肪源性间充质干细胞成脂分化的分子机制研究. *南京医科大学(学位论文)*[Shi Chunmei. Study on the molecular mechanism and effect of miR-148a on adipogenesis of human adipose-derived mesenchymal stem cells

- (HMSC-Ad). Nanjing Medical University], 2014.
- 15 Han C, Zheng W, Ge M, Wang K, Xiang Y, Wang P. Downregulation of cyclin-dependent kinase 8 by microRNA-148a suppresses proliferation and invasiveness of papillary thyroid carcinomas. *Am J Cancer Res* 2017; 7(10): 2081-90.
 - 16 Peng L, Liu Z, Xiao J, Tu Y, Wan Z, Xiong H. MicroRNA-148a suppresses epithelial-mesenchymal transition and invasion of pancreatic cancer cells by targeting Wnt10b and inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Oncol Rep* 2017, 38(1): 301-8.
 - 17 Liffers ST, Munding JB, Vogt M, Kuhlmann JD, Verdoodt B, Nambiar S. MicroRNA-148a is down-regulated in human pancreatic ductal adenocarcinomas and regulates cell survival by targeting CDC25B. *Lab Invest* 2011; 91(10): 1472-9.
 - 18 He M, Xue Y. MicroRNA-148a suppresses proliferation and invasion potential of non-small cell lung carcinomas via regulation of STAT3. *Onco Targets Ther* 2017; 10: 1353-61.
 - 19 Kim EA, Kim TG, Sung EG, Song IH, Kim JY, Doh KO. MiR-148a increases the sensitivity to cisplatin by targeting Rab14 in renal cancer cells. *Int J Oncol* 2017; 50(3): 984-92.
 - 20 Feng H, Wang Y, Su J, Liang H, Zhang CY, Chen X, *et al.* MicroRNA-148a suppresses the proliferation and migration of pancreatic cancer cells by down-regulating ErbB3. *Pancreas* 2016; 45(9): 1263-71.
 - 21 Zhan Q, Fang Y, Deng X, Chen H, Jin J, Lu X, *et al.* The interplay between miR-148a and DNMT1 might be exploited for pancreatic cancer therapy. *Cancer Invest* 2015; 33(7): 267-75.
 - 22 Assmann TS, Mariana RM, De Souza BM, Crispim D. MicroRNA expression profiles and type 1 diabetes mellitus: systematic review and bioinformatic analysis. *Endocr Connect* 2017; 6(8): 773-90.