

引用本文:张静,彭靖淇.微小RNA-K1-5p调控G1/S期相关基因的表达影响内皮细胞周期[J].安徽医药,2023,27(1):108-112.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.01.024.

◇临床医学◇



微小RNA-K1-5p调控G1/S期相关基因的表达 影响内皮细胞周期

张静^a,彭靖淇^b

作者单位:新疆医科大学附属中医医院,^a病理科,^b外科,新疆维吾尔自治区 乌鲁木齐 830000

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2019D01C173)

摘要: **目的** 探讨卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma, KS)相关疱疹病毒(KSHV)编码的微小RNAs(miR),如miR-K1-5p,对KS细胞周期的调控作用及其机制。**方法** 该研究进行于2020年1—12月,人脐静脉内皮细胞购自美国ScienCell。生物信息学软件预测miR-K1-5p的靶基因。双萤光素酶试验验证miR-K1-5p的靶基因[细胞周期素依赖性激酶抑制剂4(CDKN4)]。将miR-K1-5p模拟物转染后,行蛋白质印迹法(Western blotting)和q-PCR检测,分析G1/S期相关基因CDKN4、细胞周期蛋白A/细胞周期素依赖性激酶2(Cyclin A/CDK2)、细胞周期蛋白D2/细胞周期素依赖性激酶4(Cyclin D2/CDK4)的表达。碘化丙啶(PI)染色检测miR-K1-5p对内皮细胞(HUVECs)周期的影响。**结果** miR-K1-5p靶向CDKN4(miR-K1-5p mimics+CDKN4-WT组、mimics NC+CDKN4-WT组、miR-K1-5p mimics+CDKN4-MUT组、mimics NC+CDKN4-MUT组萤光素酶活性分别为 0.42 ± 0.05 、 0.81 ± 0.04 、 0.82 ± 0.03 、 0.80 ± 0.05),负性调控CDKN4的表达($P<0.001$),正性调控Cyclin A/CDK2和CyclinD2/CDK4的表达($P<0.05$)。此外,miR-K1-5p可以加速细胞周期进程,促进G1/S期转换[S+G2期/G1+S+G2期:mimics组(23.37 ± 0.29)%比mimics NC组(15.00 ± 0.75)%,G1期:mimics组(76.63 ± 0.28)%比mimics NC组(85.00 ± 0.76)%,S期:mimics组(15.34 ± 0.36)%比mimics NC(8.45 ± 0.20)%,G2期:mimics组(8.02 ± 0.17)%比mimics NC组(6.55 ± 0.80)%]。**结论** miR-K1-5p调控G1/S期相关基因的表达影响内皮细胞周期。

关键词: 内皮细胞; 微小核糖核酸-K1-5p; 细胞周期素依赖性激酶抑制剂4; 细胞周期蛋白A/细胞周期素依赖性激酶2; 细胞周期蛋白D2/细胞周期素依赖性激酶4; 细胞周期; 卡波西肉瘤

Effect of miR-K1-5p on the cycle of endothelial cells by regulating G1/S phase related gene expressions

ZHANG Jing^a, PENG Jingqi^b

Author Affiliation:^aDepartment of Pathology, ^bDepartment of Surgery,, The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830000, China

Abstract: **Objective** To explore the regulatory effect of Kaposi sarcoma-associated herpes virus (KSHV)-encoded micro-RNAs (miRNAs, miR) such as miR-K1-5p on KSHV cell cycle and the mechanism. **Methods** The experiment was conducted from January 2020 to December 2020. HUVECs cells were purchased from ScienCell in the United States. Bioinformatics software was used to predict the target gene of miR-K1-5p. Dual luciferase assay was used to verify the target gene [Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor (CDKN4)] of miR-K1-5p. After miR-K1-5p mimics were transfected, Western blotting and q-PCR were used to analyze the expressions of G1/S phase related genes CDKN4, cell cycle protein A/Cyclin dependent kinase 2 (Cyclin A/CDK2) and cell cycle protein D2/Cyclin dependent kinase 4 (Cyclin D2/CDK4). Propidium Iodide (PI) staining was used to detect the effect of miR-K1-5p on HUVECs cell cycle. **Results** It proved that miR-K1-5p could target CDKN4 negatively regulate CDKN4 expression [The luciferase activities of miR-K1-5p mimics+CDKN4-WT group, mimics NC+CDKN4-WT group, miR-K1-5p mimics +CDKN4-MUT group and mimics NC+CDKN4-MUT group were (0.42 ± 0.05), (0.81 ± 0.04), (0.82 ± 0.03), and (0.80 ± 0.05), respectively] ($P<0.001$), and positively regulate Cyclin A/CDK2 and Cyclin D2/CDK4 expressions ($P<0.05$). In addition, it could accelerate cell cycle process and promote G1/S phase transition [S+G2 phase/G1+S+G2 phase: (23.37 ± 0.29) % in mimics group vs. (15.00 ± 0.75) % in mimics NC group; G1 phase: (76.63 ± 0.28) % in mimics group vs. (85.00 ± 0.76) % in mimics NC group; S phase: (15.34 ± 0.36) % in mimics group vs. (8.45 ± 0.20) % in mimics NC group; G2 phase: (8.02 ± 0.17) % in mimics group vs. (6.55 ± 0.80) % in mimics NC group]. **Conclusion** miR-K1-5p affects the cycle of endothelial cells by regulating G1/S phase related genes.

Key words: Endothelial cells; miR-K1-5p; CDKN4; Cyclin A/CDK2; Cyclin D2/CDK4; Cell cycle; Kaposi's sarcoma

卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma, KS)是由KS相 关疱疹病毒(KSHV)感染内皮细胞发生的梭形细胞

肿瘤^[1]。多见于人类免疫缺陷病毒相关的免疫缺陷综合征(HIV-AIDS)或免疫缺陷病人^[2-4]。近年来, miRNA 在医学领域引起关注^[5-8], 通过与 mRNA 的 3'-非翻译区(3'UTR)结合, 降解或沉默靶基因的表达^[9-12], 并通过复杂机制在各种细胞过程中发挥重要作用^[13-17]。之前的研究显示 KSHV 编码的 13 个 miRNA, 在 KS 中都显著上调, 其中与细胞周期密切相关的 miR-K1-5p 上调最为明显^[18-19]。G1/S 关卡是细胞周期最重要的检查点, 细胞周期素依赖性激酶抑制剂 4(CDKN4)、细胞周期蛋白 A/细胞周期素依赖性激酶 2(Cyclin A/CDK2)、细胞周期蛋白 D2/细胞周期素依赖性激酶 4(Cyclin D2/CDK4)均是 G1/S 期调控的主要基因。自从 KS 细胞株(SLK)被证实为肾癌细胞来源后, 便缺乏了可信赖的细胞株^[20], 但是对于 KSHV 致癌作用的研究, 目前公认的模型是将 KSHV 的基因组或 miRNA 转染人脐静脉内皮细胞(HUVECs)后进行基因表型检测^[21-24]。本研究将 miR-K1-5p 转染 HUVECs, 探讨 miR-K1-5p 对 CDKN4、Cyclin A/CDK2 和 Cyclin D2/CDK4 的调控作用及其对内皮细胞周期的影响。本研究进行于 2020 年 1—12 月。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要试剂 人脐静脉内皮细胞(HUVECs, 美国 ScienCell 生物公司); RIPA 裂解液(上海碧云天生物技术有限公司); 293T 细胞(上海玉博生物科技有限公司); Lipofectamine 2000 (美国 Invitrogen 公司); miR-K1-5p 模拟物(mimics)、mimics 阴性对照/NC(武汉艾斯莱德生物科技有限公司); 双萤光素酶报告系统(上海碧云天生物技术有限公司); Trizol(美国 Ambion 公司); miScriptSYBR Green PCR Kit 试剂盒(美国 VAZYME 公司); 细胞周期分析试剂盒(南京凯基生物科技有限公司); CDKN4、Cyclin A/CDK2 和 Cyclin D2/CDK4 (美国 BOSTER 公司); GAPDH(杭州贤至生物有限公司)。

1.2 细胞培养与转染 使用密度为 80%, 对数生长期的 HUVECs (此细胞株广泛用于 KS 的研究^[21-24]), 以每孔 1×10^5 个细胞接种于 6 孔培养板中, 培养 24 h。设立两组: miR-K1-5p mimics 组和 mimics NC 组, 使用 Lipofectamine 2000 将它们分别转染到 HUVECs 中, 转染时间为 48 h。

1.3 miR-K1-5p 靶基因预测 使用 TargetScanHuman Custom 5.2 和 miRDB 的生物信息学软件预测 miR-K1-5p 的靶基因及靶基因 3'UTR 中的结合位点。

1.4 双萤光素酶试验 将野生型(WT)和突变型(MUT)CDKN4 3'UTR 构建到双萤光素酶报告载体

(pYr-miRTarget)质粒上, 将质粒(1 μ g)和 miR-K1-5p mimics、mimics NC(50 nmol/L)共转染到 293T 细胞 5×10^4 , Lipofectamine 2000 转染 24 h 后, 使用双萤光素酶报告系统分析。

1.5 蛋白质印迹法检测 转染 48 h 后, 使用 RIPA 裂解液从细胞中提取总蛋白。根据蛋白质含量绘制标准曲线。制备 5% 层浓缩胶和 12% 分离凝胶。进行电泳, 结束后将蛋白质转移到膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭膜 2 h, 一抗 CDKN4、Cyclin D2、CDK2、CDK4 均稀释(1:1 000)、Cyclin A 稀释(1:500)、GAPDH 稀释(1:1 000)在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜, HRP 二抗稀释(1:10 000)在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 2 h; 而后增强化学发光成像; 灰度值分析。

1.6 q-PCR 检测 转染 48 h 后, 从细胞中提取总 RNA (需 1 mL Trizol)。使用 miScriptSYBR Green PCR Kit 试剂盒定量 mRNA 和 miRNA 表达水平。PCR 反应条件为: 在 95 $^{\circ}$ C 下预变性 10 min, 在 95 $^{\circ}$ C 下 15 s, 在 60 $^{\circ}$ C 下 60 s 进行 40 个周期。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量法进行数据分析。其中 U6 为 miRNA 内参引物; GAPDH 为 mRNA 内参引物, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物	序列(5'-3')
U6	正向	CGCTTCGGCAGCACATATAC
	反向	AAATATGGAACGCTTCACGA
miR-K1-5p	正向	TGCGCATTACAGGAAACTGGGTG
	反向	CCAGTGCAGGCTCCGAGGTATT
Homo GAPDH	正向	TCAAGAAGGTGGTGAAGCAGG
	反向	TCAAAGGTGGAGGAGTGGGT
Homo CDKN4	正向	TAGAGGGCAAGTACGAGTGG
	反向	CAGGTCGCTTCCTTATTCC
Homo cyclinD2	正向	TGAGGAACAGAACTGCCAAGAAGAG
	反向	GCTTGATGGAGTTGTGCGGTGTAAT
Homo Cyclin A	正向	CACTCTACACAGTCACGGGA
	反向	AGTGTCTCTGTTGGGTTGAG
Homo CDK4	正向	TTCGTGAGGTGGCTTTACTG
	反向	GATATGTCTTAGTCTCGGTCT
Homo CDK2	正向	GACCAGCTCTTCCGGATCTT
	反向	TCCGTCCATCTTCATCCAGG

注: U6 为微小 RNA 内参引物, miR-K1-5p 为微小 RNA-K1-5p, Homo GAPDH 为人属甘油醛-3-磷酸脱氢酶, Homo CDKN4 为人属细胞周期素依赖性激酶抑制剂 4, Homo cyclinD2 为人属细胞周期蛋白 D2, Homo Cyclin A 为人属细胞周期蛋白 A, Homo CDK4 为人属细胞周期素依赖性激酶 4, Homo CDK2 为人属细胞周期素依赖性激酶 2。

1.7 细胞周期分析 miR-K1-5p mimics、mimics NC 分别转染 HUVECs 细胞中, 48 h 后收获 1×10^5 细胞, 用 200 μ L 细胞液离心 5 min, 用 PBS 洗涤细胞 2 次, 使用细胞周期分析试剂盒检测: 向细胞中添加 RNase A 溶液(20 μ L), 使用 PI 染料溶液(400 μ L),

最后使用流式细胞仪进行分析。

1.8 统计学方法 SPSS 20.0 软件用于统计分析,数据经过正态性检验及方差齐性检验。正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 t 检验用于单变量两组资料之间的比较。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-K1-5p 的表达水平 miR-K1-5p mimics 和 mimics NC 转染 HUVECs 细胞。48 h 后, q-PCR 结果显示 miR-K1-5p mimics 组表达水平 0.91 ± 0.08 明显高于 mimics NC 组表达水平 0.00 ± 0.00 ($t = 19.54$, $P < 0.001$), 40 个循环未检测出/低于检测下限。

2.2 miR-K1-5p 靶基因的预测 靶基因的预测结果: TargetScan Human Custom 显示有 637 个靶基因, miRDB 显示有 1 102 个靶基因, 取交集显示有 354 个靶基因。miR-K1-5p 靶基因的功能主要富集在细胞周期、调节转录、表达调控等。其中靶基因 CDKN4 与细胞周期的调控密切相关。图 1 示 CDKN4 3'UTR 与 miR-K1-5p 的结合位点。

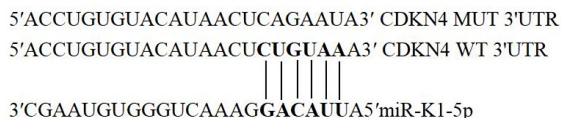


图1 CDKN4 3'UTR 与 miR-K1-5p 的结合位点

2.3 miR-K1-5p 靶向 CDKN4 基因 将 miR-K1-5p mimics+CDKN4-WT、mimics NC+CDKN4-WT、miR-K1-5p mimics+CDKN4-MUT 和 mimics NC+CDKN4-MUT 分别转染 293T 细胞。24 h 后测定各组荧光素酶活性, miR-K1-5p mimics+CDKN4-WT 组明显低于其余组的荧光素酶活性 ($P < 0.01$); 转染 miR-K1-5p mimics 后, CDKN4 蛋白/mRNA 表达水平均低于 mimics NC 组 ($P < 0.01$)。因此, CDKN4 是 miR-K1-5p 直接作用的靶基因。miR-K1-5p 可以负性调控 CDKN4 的表达。见表 2。

2.4 转染后 Cyclin A/CDK2 蛋白及 mRNA 的相对表达量 转染 48 h 后结果显示: 与 mimics NC 组相比, miR-K1-5p 过表达显著增加 Cyclin A/CDK2 蛋白和 mRNA 的表达水平 ($P < 0.01$)。因此, miR-K1-5p 可以正性调控 Cyclin A/CDK2 的表达。见表 3。

2.5 转染后 Cyclin D2/CDK4 蛋白及 mRNA 的相对表达量 转染 48 h 后, 行蛋白质印迹法和 q-PCR 检测 Cyclin D2/CDK4 蛋白和 mRNA 的表达水平。结果显示, 与 mimics NC 相比, miR-K1-5p mimics 显著增加了 Cyclin D2/CDK4 蛋白和 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$)。因此, miR-K1-5p 可以正性调控 Cyclin D2/CDK4 的表达。见表 4。

表2 相对荧光素酶活性、CDKN4 蛋白及 mRNA 相对表达比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	CDKN4-WT	CDKN4-MUT	CDKN4 蛋白	CDKN4 mRNA
mimics NC	3	0.81 ± 0.04	0.80 ± 0.05	0.28 ± 0.02	1.00 ± 0.01
miR-K1-5p mimics	3	0.42 ± 0.05^{①}	0.82 ± 0.03	0.11 ± 0.01^{①}	0.33 ± 0.02^{①}
t 值		17.73	0.93	12.91	47.90
P 值		<0.001	0.364	<0.001	<0.001

注: miR-K1-5p mimics 为 miR-K1-5p 模拟物, mimics NC 为模拟物阴性对照, CDKN4-WT 为细胞周期素依赖性激酶抑制剂 4 野生型荧光素酶载体, CDKN4-MUT 为细胞周期素依赖性激酶抑制剂 4 突变型荧光素酶载体。

①与 mimics NC 组相比, $P < 0.01$ 。

表3 Cyclin A/CDK2 蛋白及 mRNA 相对表达量比较 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Cyclin A 蛋白	CDK2 蛋白	Cyclin A mRNA	CDK2 mRNA
mimics NC	3	0.05 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.99 ± 0.08	1.02 ± 0.09
mimics	3	0.13 ± 0.01^{①}	0.65 ± 0.04^{①}	2.94 ± 0.13^{①}	1.96 ± 0.3^{①}
t 值		10.61	16.50	22.66	5.02
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.007

注: mimics 为模拟物, mimics NC 为模拟物阴性对照, Cyclin A 为细胞周期蛋白 A, CDK2 为细胞周期素依赖性激酶 2。

①与 mimics NC 组, $P < 0.01$ 。

表4 Cyclin D2/CDK4 蛋白及 mRNA 相对表达量比较 $\bar{x} \pm s$

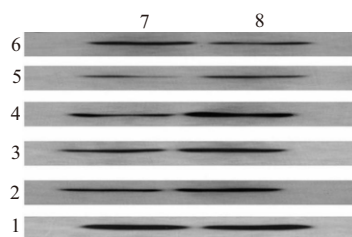
组别	重复次数	Cyclin D2 蛋白	CDK4 蛋白	Cyclin D2 mRNA	CDK4 mRNA
mimics NC	3	0.28 ± 0.03	0.19 ± 0.04	1.03 ± 0.06	1.00 ± 0.07
mimics	3	0.56 ± 0.03^{①}	0.43 ± 0.05^{①}	1.67 ± 0.30^{①}	1.64 ± 0.24^{①}
t 值		10.68	7.03	3.92	4.39
P 值		<0.001	0.002	0.017	0.012

注: mimics 为模拟物, mimics NC 为模拟物阴性对照, Cyclin D2 为细胞周期蛋白 D2, CDK4 为细胞周期素依赖性激酶 4。

①与 mimics NC 组, $P < 0.01$ 。

2.6 CDKN4、Cyclin A、Cyclin D2、CDK、CDK4 的 western blotting 电泳图 蛋白质印迹法检测结果显示: mimics 组 CDKN4 的蛋白表达水平低于 mimics NC 组; mimics 组 Cyclin A、Cyclin D2、CDK、CDK4 的蛋白表达水平高于 mimics NC 组。见图 2。

2.7 miR-K1-5p 对细胞周期的影响 转染后显示 mimics 组的 PI 值 ($PI = S + G2$ 期/ $G1 + S + G2$ 期; PI 为增殖活性指数, PI 值越大, 细胞周期变短、增殖变快) 及 S 期、G2 期比值均高于 mimics NC 组 ($P < 0.05$); mimics 组的 G1 期比值低于 mimics NC 组 ($P < 0.01$), 见表 5; 细胞周期流式图见图 3, 因此, miR-K1-5p 可以使细胞周期进展加速, 促进细胞增殖和 G1/S 期转换。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—细胞周期素依赖性激酶4(CDK4);3—细胞周期蛋白D2(Cyclin D2);4—细胞周期素依赖性激酶2(CDK2);5—细胞周期蛋白A(Cyclin A);6—细胞周期素依赖性激酶抑制剂4(CDKN4);7—模拟物阴性对照(mimics NC)组;8—模拟物(mimics)组。

图2 CDKN4/Cyclin A/CDK2/Cyclin D2/CDK4蛋白质印迹电泳图

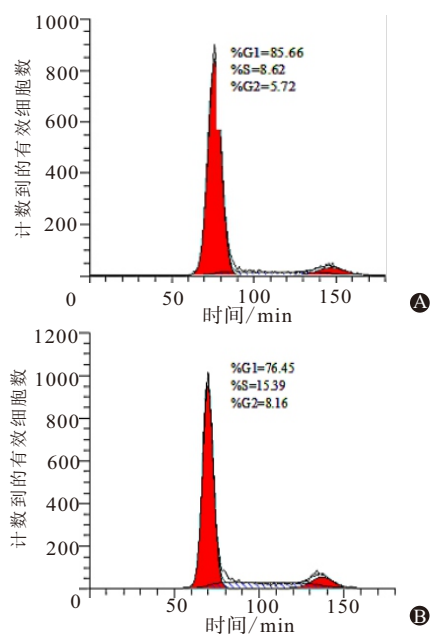


图3 转染后人脐静脉内皮细胞(HUVECs)细胞周期流式图:A为mimics NC组;B为mimics组

表5 转染后对HUVECs细胞周期影响比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	S+G2期/ G1+S+G2期	G1期	S期	G2期
mimics	3	23.37±0.29	76.63±0.28	15.34±0.36	8.02±0.17
mimics NC	3	15.00±0.75	85.00±0.76	8.45±0.20	6.55±0.80
t值		18.03	17.96	28.86	3.11
p值		<0.001	<0.001	<0.001	0.04

注:HUVECs为人脐静脉内皮细胞,mimics为模拟物,mimics NC为模拟物阴性对照。

3 讨论

KS是一种起源于内皮细胞的血管肉瘤^[25]。KSHV是7种可导致人类恶性肿瘤的病毒之一,是KS的重要致病因子^[2-3]。KSHV主要通过编码miRNA对KS产生影响,KSHV miRNAs可以调节宿主细胞的分化,影响其细胞周期,最终诱导癌变发生^[26-28]。研究miRNAs在KS和癌旁组织中的差异表

达,结果显示69个miRNAs的表达上调;101个miRNA表达下调,特别是KSHV编码的miR-K1-5p表达上调最为显著^[18]。因此高表达的miR-K1-5p可能在KS中发挥重要作用。GO和KEGG信号通路分析表明:miR-K1-5p主要参与细胞周期信号通路,通过它的靶基因介导信号通路发挥作用。CDKN4(miR-K1-5p的靶基因)、Cyclin A/CDK2、Cyclin D2/CDK4是该通路中G1/S期的关键基因,G1/S关卡是细胞周期中最主要的调控点,因此研究miR-K1-5p对CDKN4、Cyclin A/CDK2、Cyclin D2/CDK4的调控作用具有重要意义。

细胞周期依赖于精准调控。调控体系中细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子CKI、细胞周期蛋白依赖性激酶CDK、细胞周期蛋白Cyclin均发挥重要作用;CDK结合Cyclin使细胞不断增殖、分裂;而CKI与Cyclin竞争结合CDK或优先结合Cyclin/CDK复合物,发挥抑制作用。它们共同参与细胞周期的正常循环。当CKI丢失、Cyclin/CDK表达异常、检测点发生变化,可能导致细胞周期紊乱,细胞增殖失控,肿瘤形成。CDKN4作为一种CKI因子,抑制G1期进程,负性调控Cyclin/CDK,避免DNA错误复制。其表达减少促进瘤细胞G1/S期转化,使大量瘤细胞进入S期,加速瘤细胞的恶性转化。Cyclin A在G1晚期表达,近年来,在许多人类肿瘤中发现Cyclin A过表达,抑制其表达,可使肿瘤细胞周期运转受阻,引起肿瘤细胞死亡,具有靶向治疗的良好前景。Cyclin D2既往研究较少,它由CCND2基因编码,由5个外显子及4个内含子构成,G1早期表达,能促进细胞增殖,在结肠癌、胃癌、乳腺癌等肿瘤中可见Cyclin D2的异常表达^[29]。CDK自身不与底物反应,形成CDK/Cyclin复合物时才能表现出活性,参与细胞周期的调控,不同细胞周期时相产生不同的Cyclin/CDK复合物,促进时相之间的转换,CDK2和CDK4是G1-S转换的主要限速因子,形成Cyclin A/CDK2和Cyclin D2/CDK4复合物促进G1-S转换。

本研究通过双荧光素酶试验证实CDKN4是miR-K1-5p的靶基因;miR-K1-5p对CDKN4、Cyclin A/CDK2、Cyclin D2/CDK4具有明显的调控作用。miR-K1-5p mimics转染HUVECs细胞后,CDKN4蛋白和mRNA表达水平均显著下调;Cyclin A/CDK2、Cyclin D2/CDK4蛋白及其mRNA表达水平显著上调。推测miR-K1-5p作为一种KSHV miRNA,在转录后通过抑制靶基因CDKN4的表达。发挥其调控细胞周期的功能。CDKN4作为G1/S期重要监控因子,扮演交通红灯的作用,miR-K1-5p减少CDKN4表达,使其原始功能丧失,解除或减弱了对Cyclin A/

CDK2 和 Cyclin D2/CDK4 的抑制,细胞增殖失控,细胞周期信号通路异常激活,从而导致肿瘤的发生。此外,本研究采用 PI 法研究 miR-K1-5p 对 HUVECs 细胞周期的影响。如数据所示,miR-K1-5p 过表达后,G1 期时长减短,S 期和 G2 期细胞数量显著增加。因此,miR-K1-5p 促进了 G1/S 期转变,抑制 HUVECs 细胞凋亡,促进 HUVECs 细胞增殖。

综上,研究证实了上调 miR-K1-5p 的表达,减少了 CDKN4 表达,增加了 Cyclin A 和 Cyclin D2 的表达,提高了 CDK2 和 CDK4 的活性,使肿瘤细胞无限增殖;反之即可抑制肿瘤性的增殖。鉴于 miR-K1-5p 作为促癌基因对细胞周期具有显著的调控作用,它很可能成为 KS 的一个新的治疗靶点。

参考文献

- [1] LEBBE C, GARBE C, STRATIGOS AJ, et al. Diagnosis and treatment of Kaposi's sarcoma; European consensus-based interdisciplinary guideline (EDF/EADO/EORTC) [J]. *Eur J Cancer*, 2019, 114: 117-127.
- [2] DUPIN N. Update on oncogenesis and therapy for Kaposi sarcoma [J]. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32(2): 122-128.
- [3] ETEMAD SA, DEWAN AK. Kaposi sarcoma updates [J]. *Dermatol Clin*, 2019, 37(4): 505-517.
- [4] REQUENA C, ALSINA M, MORGADO-CARRASCO D, et al. Kaposi sarcoma and cutaneous angiosarcoma: guidelines for diagnosis and treatment [J]. *Actas Dermosifiliogr (Engl Ed)*, 2018, 109(10): 878-887.
- [5] CHEN L, HEIKKINEN L, WANG C, et al. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(5): 1836-1852.
- [6] 闫凡,黄彩虹.下调微小RNA-183 表达对肾母细胞瘤 SK-NEP-1 细胞增殖凋亡的影响及机制 [J]. *安徽医药*, 2022, 26(3): 553-557.
- [7] LCORREIA DE SOUSA M, GJORGIEVA M, DOLICKA D, et al. Deciphering miRNAs' Action through miRNA Editing [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6249.
- [8] 张霓,伍文才,李春燕,陈欣.微小RNA-588 靶向调控脾酪氨酸激酶的表达及其对胃癌细胞增殖、凋亡的作用 [J]. *安徽医药*, 2022, 26(2): 378-382.
- [9] YAN H, LIANG FS. miRNA inhibition by proximity-enabled Dicer inactivation [J]. *Methods*, 2019, 167: 117-123.
- [10] LHA J, PARK C, PARK C, et al. Improved prediction of miRNA-disease associations based on matrix completion with network regularization [J]. *Cells*, 2020, 9(4): 881.
- [11] KIM J, YAO F, XIAO Z, et al. MicroRNAs and metastasis: small RNAs play big roles [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(1): 5-15.
- [12] PETRI R, JAKOBSSON J. Identifying miRNA targets using AGO-RIPseq [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1720: 131-140.
- [13] MATSUYAMA H, SUZUKI HI. Systems and synthetic microRNA biology: from biogenesis to disease pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 132.
- [14] AKHTAR MM, MICOLUCCI L, ISLAM MS, et al. A practical guide to miRNA target prediction [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1970: 1-13.
- [15] MENSI A, BONNICI V, CALIGOLA S, et al. Construction and analysis of miRNA regulatory networks [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1970: 121-167.
- [16] FRIDRICHOVA I, ZMETAKOVA I. MicroRNAs Contribute to breast cancer invasiveness [J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1361.
- [17] CHAI L, KANG XJ, SUN ZZ, et al. MiR-497-5p, miR-195-5p and miR-455-3p function as tumor suppressors by targeting hTERT in melanoma A375 cells [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 989-1003.
- [18] WU XJ, PU XM, ZHAO ZF, et al. The expression profiles of microRNAs in Kaposi's sarcoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(1): 437-446.
- [19] QIN J, LI W, GAO SJ, et al. KSHV microRNAs: tricks of the devil [J]. *Trends Microbiol*, 2017, 25(8): 648-661.
- [20] STURZL M, GAUS D, DIRKS WG, et al. Kaposi's sarcoma-derived cell line SLK is not of endothelial origin, but is a contaminant from a known renal carcinoma cell line [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(8): 1954-1958.
- [21] WANG F, GUO Y, LI W, et al. Generation of a KSHV K13 deletion mutant for vFLIP function study [J]. *J Med Virol*, 2018, 90(4): 753-760.
- [22] TSANTARELLI R, ARTENI AMB, GILARDINI MONTANI MS, et al. KSHV dysregulates bulk macroautophagy, mitophagy and UPR to promote endothelial to mesenchymal transition and CCL2 release, key events in viral-driven sarcomagenesis [J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(12): 3500-3510.
- [23] WANG F, GUO Y, LI W, et al. Generation of a KSHV K13 deletion mutant for vFLIP function study [J]. *J Med Virol*, 2018, 90(4): 753-760.
- [24] YANG Z, HONDA T, UEDA K. vFLIP upregulates IKK ϵ , leading to spindle morphology formation through RelA activation [J]. *Virology*, 2018, 522: 106-121.
- [25] LAGAY, SETHURAMAN S, THOMAS M, et al. Modified cross-linking, ligation, and sequencing of hybrids (qCLASH) identifies Kaposi's sarcoma-associated herpes virus microRNA targets in endothelial cells [J/OL]. *J Virol*, 2018, 92(8): e02138-17. DOI: 10.1128/JVI.02138-17.
- [26] DITTMER DP, DAMANIA B. Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (KSHV)-associated disease in the AIDS patient: an update [J]. *Cancer Treat Res*, 2019, 177: 63-80.
- [27] LI D, MOSBRUGER T, VERMA D, et al. Complex Interactions between Cohesin and CTCF in regulation of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus lytic transcription [J/OL]. *J Virol*, 2020, 94(2): e01279-19. DOI: 10.1128/JVI.01279-19.
- [28] BEAUCLAIR G, NAIMO E, DUBICH T, et al. Targeting Kaposi's sarcoma-associated herpes virus ORF21 tyrosine kinase and viral lytic reactivation by tyrosine kinase inhibitors approved for clinical use [J/OL]. *J Virol*, 2020, 94(5): e01791-19. DOI: 10.1128/JVI.01791-19.
- [29] 黄文涛,张惠箴,周晓燕,等.弥漫大B细胞淋巴瘤中 CyclinD2 的表达及其临床意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(1): 27-31.

(收稿日期:2022-03-05,修回日期:2022-03-30)