

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.07.007

· 基础研究 ·

## miR-1180-5p 通过激活 *CDKN1A* 基因表达抑制前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭

王勇<sup>a</sup>, 郭永连<sup>a</sup>, 陈琳<sup>a</sup>, 李国灏<sup>a</sup>, 应诚诚<sup>a</sup>, 程薇<sup>b</sup> (华中科技大学 同济医学院 a: 附属武汉中心医院 泌尿外科, 湖北武汉 430014; b: 附属梨园医院 耳鼻喉科, 湖北武汉 430077)

**[摘要]** **目的:** 研究微小RNA-1180-5p(miR-1180-5p)对前列腺癌细胞株VCAP和LNCaP恶性生物行为的影响及可能的作用机制。**方法:** 合成dsControl(dsControl组)和miR-1180-5p(miR-1180-5p组), 分别转染至两个前列腺癌细胞株VCAP和LNCaP。采用qPCR和Western blotting分析转染后各组细胞*CDKN1A*、*Cyclin D1*和*CDK6* mRNA及蛋白的表达变化, 采用流式细胞术、MTT法、平板克隆实验和Transwell实验分别检测细胞周期分布、增殖活力、克隆形成能力、细胞迁移和侵袭能力。**结果:** qPCR结果显示, 相比dsControl, 转染miR-1180-5p后VCAP和LNCaP细胞中*CDKN1A* mRNA表达明显上调( $P<0.01$ ); *Cyclin D1*和*CDK6* mRNA表达明显下调( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。Western blotting与qPCR结果相符。转染miR-1180-5p后VCAP和LNCaP位于G0/G1期的细胞比例增加( $P<0.01$ ), 而位于S期和G2/M期的细胞比例减少( $P<0.05$ ), 细胞周期被阻滞在G0/G1期。转染miR-1180-5p后, 两种前列腺癌细胞增殖活力较dsControl组明显降低( $P<0.05$ ), miR-1180-5p组两种细胞的克隆数量明显较少( $P<0.01$ ), 同时miR-1180-5p组两组细胞迁移和侵袭能力均下降( $P<0.01$ )。**结论:** miR-1180-5p能显著激活前列腺癌细胞中*CDKN1A*基因的表达, 从而抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭等恶性生物行为。

**[关键词]** miR-1180-5p; *CDKN1A* 基因; 前列腺癌; 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R737.25; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)07-0698-06

## miR-1180-5p inhibits proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells by activating *CDKN1A* gene expression

WANG Yong<sup>a</sup>, GUO Yonglian<sup>a</sup>, CHEN Lin<sup>a</sup>, LI Guohao<sup>a</sup>, Ying Chengcheng<sup>a</sup>, CHENG Wei<sup>b</sup> (a. Department of Urology, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, Hubei, China; b. Department of Otolaryngology, Liyuan Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430077, Hubei, China)

**[Abstract] Objective:** To study the effects of microRNA-1180-5p (miR-1180-5p) on malignant biological behaviors of prostate cancer VCAP and LNCaP cells and the possible mechanisms. **Methods:** dsControl (dsControl group) and miR-1180-5p (miR-1180-5p group) were constructed and then transfected into two prostate cancer cell lines VCAP and LNCaP. qPCR and Western blotting were used to analyze the changes in mRNA and protein expressions of *CDKN1A*, *Cyclin D1* and *CDK6* after transfection. Cell cycle distribution, proliferation activity, clone formation capacity, cell migration and invasion ability were detected by flow cytometry, MTT assay, colony culture assay and Transwell assay, respectively. **Results:** qPCR results showed that compared with dsControl, *CDKN1A* mRNA levels in VCAP and LNCaP cells transfected with miR-1180-5p were up-regulated significantly, while the mRNA expressions of *Cyclin D1* and *CDK6* were significantly down-regulated (all  $P<0.01$ ). Western blotting result was consistent with that of qPCR. The percentage of cells in G0/G1 phase was increased after transfection of miR-1180-5p ( $P<0.05$ ), but the proportion of cells in S phase and G2/M phase was decreased and the cell cycle was arrested at G0/G1 phase ( $P<0.05$ ). The proliferation activity of the two prostate cancer cells was significantly lower than that of the dsControl group after miR-1180-5p transfection ( $P<0.05$ ), and the number of colonies in the miR-1180-5p group was significantly lower than that in the dsControl group ( $P<0.01$ ). In the meanwhile, the cell migration and invasion ability in miR-1180-5p group was decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** miR-1180-5p can significantly activate *CDKN1A* gene expression in prostate

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金资助项目(No.2017CFB176)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province (No.2017CFB176)

**[作者简介]** 王勇(1980-),男,硕士,主治医师,主要从事泌尿系肿瘤的临床与基础研究,E-mail: 55805236@qq.com

**[通信作者]** 郭永连(GUO Yonglian, corresponding author),博士,主任医师,主要从事泌尿系统肿瘤的临床和基础研究,E-mail: yuezhao-haixi@sina.com

cancer cells and further inhibit the proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells.

**[Key words]** miR-1180-5p; *CDKN1A* gene; prostate cancer; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(7): 698-703. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.07.007]

前列腺癌是男性最常见的恶性肿瘤之一,2015年美国癌症协会调查显示,前列腺癌新发220 800例,死亡27 540例<sup>[1]</sup>。前列腺癌的分子靶向治疗日益受到人们的关注。*CDKN1A*蛋白具有细胞周期依赖性激酶抑制活性,对细胞周期的调控与肿瘤发生发展有密切关系<sup>[2]</sup>。通过激活*CDKN1A*蛋白的表达可能成为前列腺癌分子治疗的一种新方向。与以往的RNA干扰不同,RNA激活作用是近年来研究的重点,miR-1180-5p是新发现的具有激活*CDKN1A*蛋白表达的小分子非编码RNA<sup>[3-5]</sup>。本课题重点研究miR-1180-5p能否激活前列腺癌细胞中*CDKN1A*基因的表达,并观察其对前列腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人前列腺癌细胞株VCAP和LNCaP购于中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。RPMI 1640培养基、胎牛血清和Opti-MEM购于美国Gibco公司,免疫印迹显色试剂、Lipofectamine 3000购于美国Invitrogen公司,化学合成的dsControl(一组已知的缺少人类基因重要同源性的dsRNA,反义链:5'-UCUACU-GUCACUCAGUAGU-3')<sup>[6]</sup>和miR-1180-5p mimics(5'-GGACCCACCCGGCCGGGAAUA-3')购于广州RiboBi公司。StepOnePlus实时荧光定量qPCR仪购于美国ABI公司,逆转录试剂盒、qPCR试剂盒购于日本TaKaRa公司,由上海生工生物工程有限公司合成PCR引物,BCA蛋白浓度测定试剂盒购于北京博奥森生物技术有限公司,一抗*CDKN1A*、*Cyclin D1*、*CDK6*和 $\beta$ -Tubulin购于美国Cell Signaling Technology公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗羊抗兔/鼠购于美国Affinity公司,MTT试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司,Transwell小室购自美国Millipore公司,Matrigel胶购自美国BD公司。

### 1.2 细胞培养和转染

使用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养人前列腺癌细胞株VCAP和LNCaP,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>孵育箱中培养。转染前12~24 h,将对数生长期的前列腺癌细胞消化离心,重新接种于6孔细胞培养板,待前列腺癌细胞汇合度约为50%进行转染。以Lipofectamine 3000作为转染试剂,用Opti-MEM分别稀释miR-1180-5p和转染试剂,然后将两者混合,室温静置15~30 min,转染复合物的制备完成,将其滴加至

6孔板中,补足培养基,使miR-1180-5p的终浓度为50 nm/L。24 h后观察细胞状态并更换新鲜培养基。

### 1.3 总RNA的提取及qPCR检测

收集细胞并提取总RNA。使用逆转录试剂盒逆转录RNA为cDNA。以U6为内参检测miR-1180-5p表达量,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参检测*p21*、*CDK6*和*Cyclin D1* mRNA表达量。使用qPCR试剂盒及特异性引物通过PCR仪将合成的cDNA进行扩增检测,结果数据采用2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 方法分析。*CDKN1A*引物:上游5'-GCCCAGTGGACAGCGAG-CAG-3';下游5'-GCCGGCGTTTGGAGTGGTAGA-3'。*Cyclin D1*引物:上游5'-CAATGACCCCGCAG-GATTTC-3';下游5'-CATGGAGGGCGGATTGGAA-3'。*CDK6*引物:上游5'-TCTTCATTACACCCGAG-TAGTGC-3';下游5'-TGAGGTTAGAGCCATCTG-GAAA-3'。*GAPDH*引物序列:上游5'-TCCCATCAC-CATCTTCCA-3',下游5'-CATCACGCCACAGT-TTCC-3'。

### 1.4 提取总蛋白和Western blotting检测

转染72~96 h后收集前列腺癌细胞用于蛋白表达的分析。用PBS溶液洗3次,每孔加入约100  $\mu$ l细胞裂解液,冰上裂解约30~40 min,高速离心15 min收集上清。使用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。每个样本加30  $\mu$ g所提取的蛋白至SDS-PAGE胶进行电泳,使用PVDF膜转膜约120 min,然后用含5%脱脂奶粉的TBST溶液室温封闭约1~2 h后,在4℃条件下分别与一抗 $\beta$ -Tubulin、*CDKN1A*、*Cyclin D1*和*CDK6*孵育过夜。次日室温下将PVDF膜与二抗孵育1 h,滴加免疫印迹显色试剂曝光显影。

### 1.5 流式细胞术检测前列腺癌细胞周期分布

转染约72 h后,使用胰酶消化、低速离心收集细胞;使用PBS溶液洗3次;于4℃条件下,使用70%乙醇溶液孵育过夜;使用PBS溶液洗2次,弃上清,加入约100  $\mu$ l RNase重悬细胞,37℃水浴锅内孵育约30 min;混入100  $\mu$ l PI,于4℃下避光孵育约30 min;使用流式细胞仪检测激发波长在488 nm处红色荧光,存储数据以分析。

### 1.6 MTT法检测前列腺癌细胞增殖活力

转染后24 h,消化并离心收集细胞,按每孔1 $\times$ 10<sup>3</sup>个细胞接种到96孔板,每组5个复孔。96孔板周边每孔加入约200  $\mu$ l PBS溶液以避免蒸发,于转染后1、2、3、4、5 d分别采用MTT试剂盒分析细胞活力。在每个时间点,取出待检测分析的96孔培养板,弃去培

培养基;避光下每孔加入约 20  $\mu$ l 5 mg/ml 的 MTT 溶液,放入细胞孵育箱内继续孵育 4 h 后,弃去 MTT 溶液,每孔加入 100  $\mu$ l DMSO,摇床低速震荡约 10 min 至结晶完全溶解,清除每孔内的气泡,采用酶标仪检测 490 nm 波长处的光密度(D 值)。检测完毕后,将 96 孔板放回培养箱待下一时间点分析检测。

1.7 平板克隆实验检测细胞克隆形成能力

转染后 24 h,消化并离心收集细胞,按  $1 \times 10^3$  个/孔接种于新的 6 孔细胞培养板,连续培养 10 d;去培养液,PBS 溶液洗 3 次;采用 1 ml 甲醇固定 15~20 min;去甲醇,采用 0.1% 结晶紫溶液固定 20~30 min;流水缓慢洗去残存结晶紫染液,晾干、拍照、计数、分析。

1.8 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力

Transwell 迁移实验具体操作如下:消化、离心、计数转染 72 h 后的细胞,用无血清培养基稀释成细胞密度为  $1.5 \times 10^5$  个/ml。以 200  $\mu$ l/孔将细胞悬液加入 Transwell 上室,在 Transwell 下室加入完全培养基 600  $\mu$ l,培养箱内培养 24 h,甲醛固定 15 min,结晶紫染色 15 min,用棉签轻轻擦拭内膜上的细胞。计数 4 个高倍视野( $\times 100$ )下穿过滤膜的细胞数。

Transwell 侵袭实验操作如下:Transwell 小室内膜均匀涂抹 Matrigel 胶 50  $\mu$ l (0.2  $\mu$ g/ $\mu$ l),37  $^{\circ}$ C 孵育

15 min,使 Matrigel 胶凝固,消化、离心、计数细胞后的处理同 Transwell 迁移实验。实验重复 4 次。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。所有实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用 *t* 检验分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 前列腺癌细胞株中 miR-1180-5p 的表达

miR-1180-5p 作用于 CDKN1A 基因启动子序列见图 1。qPCR 检测结果(表 1)显示,相比 dsControl 组,转染 miR-1180-5p 后前列腺癌细胞株 VCAP 和 LNCaP 细胞中 miR-1180-5p 的表达明显上调( $P < 0.01$ ),CDKN1A mRNA 的表达亦明显上调( $P < 0.01$ ),Cyclin D1 和 CDK6 mRNA 表达明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

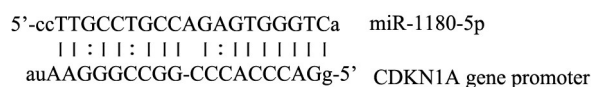


图 1 miR-1180-5p 结合的碱基序列位于 CDKN1A 基因启动子区域

Fig. 1 The miR-1180-5p binding base sequence is located in the gene promoter region of CDKN1A

表 1 两组前列腺癌细胞中 miR-1180-5p 及相关基因 mRNA 的表达[( $\bar{x} \pm s$ )%]

Tab. 1 Expression of miR-1180-5p and its relative genes mRNA in two groups of prostate cancer cells[( $\bar{x} \pm s$ )%]

Cell	Group	miR-1180-5p	CDKN1A	Cyclin D1	CDK6
VCAP	dsControl	1.01 $\pm$ 0.21	1.06 $\pm$ 0.37	1.05 $\pm$ 0.38	1.02 $\pm$ 0.24
	miR-1180-5p	2 211.37 $\pm$ 722.34**	2.76 $\pm$ 0.52**	0.51 $\pm$ 0.16*	0.61 $\pm$ 0.06*
LNCaP	dsControl	1.06 $\pm$ 0.35	1.01 $\pm$ 0.18	1.07 $\pm$ 0.47	1.02 $\pm$ 0.20
	miR-1180-5p	3 639.54 $\pm$ 731.52**	2.76 $\pm$ 0.27**	0.37 $\pm$ 0.13*	0.38 $\pm$ 0.16**

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs dsControl

2.2 前列腺癌细胞中 CDKN1A 蛋白及其相关蛋白的表达

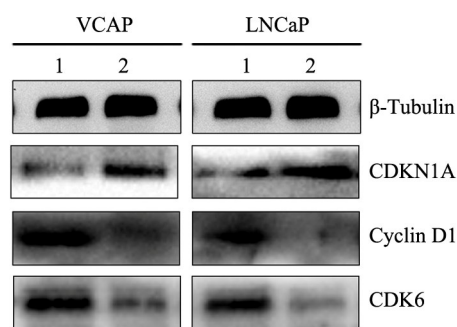
两组前列腺癌细胞中 CDKN1A 蛋白及其相关蛋白表达的 Western blotting 结果(图 2)显示,相比 dsControl,miR-1180-5p 组前列腺癌细胞株可见 CDKN1A 蛋白表达明显升高;Cyclin D1 和 CDK6 蛋白表达明显降低。

2.3 转染后前列腺癌细胞的周期分布

相比 dsControl,转染 miR-1180-5p 后前列腺癌细胞 G0/G1 期细胞比例显著上升,而 S 期和 G2/M 期细胞比例明显下降,细胞周期被阻滞在 G0/G1 期(表 2)。

2.4 miR-1180-5p 明显抑制前列腺癌细胞增殖活力

相比 dsControl 组,转染 miR-1180-5p 后前列腺癌细胞增殖活力由第 2 天开始明显下降( $P < 0.05$ )(图 3)。



1: dsControl; 2: miR-1180-5p

图 2 Western blotting 检测相关蛋白的相对表达量  
Fig. 2 Western blotting was used to detect relative proteins expression

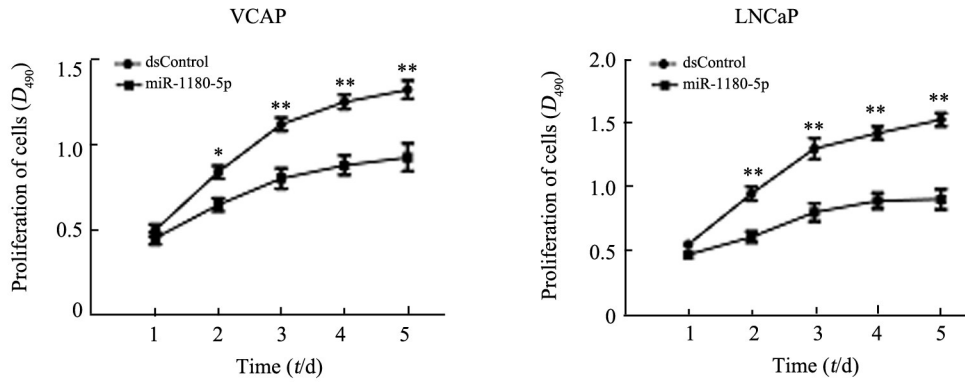


表2 miR-1180-5p对前列腺癌细胞周期的影响[( $\bar{x}\pm s$ )%]

Tab. 2 Effect of miR-1180-5p on prostate cancer cell cycle[( $\bar{x}\pm s$ )%]

Cell	Group	G0/G1	S	G2/M
VCAP	dsControl	43.53±5.20	34.33±5.21	22.15±2.79
	miR-1180-5p	59.05±6.45**	24.99±3.09*	15.97±3.66*
LNCaP	dsControl	43.26±5.61	32.19±4.18	24.55±4.78
	miR-1180-5p	61.10±6.30**	24.41±2.61*	14.48±5.11*

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs dsControl



\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs dsControl

图3 MTT实验检测转染后前列腺癌细胞增殖活力

Fig. 3 Detection of prostate cancer cell proliferation viability by MTT assay

2.5 miR-1180-5p抑制前列腺癌细胞的克隆形成能力

如图4所示,miR-1180-5p组VCAP细胞的集落形成数显著低于dsControl组细胞[(104.84±31.60) vs (214.06±34.62)个,  $P<0.01$ ], miR-1180-5p组VCAP细胞的集落形成数显著低于dsControl组细胞[(111.34±31.72) vs (225.91±45.23)个,  $P<0.01$ ],表明miR-1180-5p可导致前列腺癌细胞克隆形成能力明显降低。

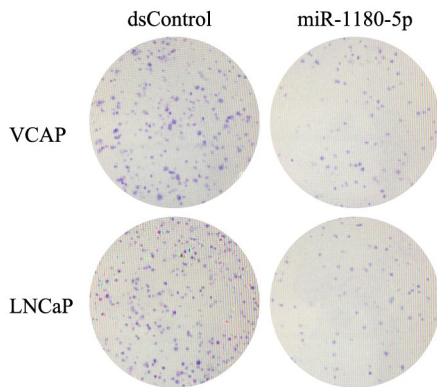


图4 平板克隆实验检测转染后前列腺癌细胞克隆形成能力  
Fig.4 The colony formation ability of prostate cancer cells after transfection were detected by plate colony assay

2.6 miR-1180-5p抑制细胞的迁移和侵袭能力

如图5所示,miR-1180-5p组VCAP细胞迁移数显著低于dsControl组[(132.01±23.63) vs (300.78±53.03)个,  $P<0.01$ ],miR-1180-5p组VCAP细胞迁移数显著低于dsControl组 [(108.62±29) vs (310.59±59.68)个,  $P<0.01$ ]。如图6所示,miR-1180-5p组VCAP细胞侵袭数显著低于dsControl组 [(97.68±17.43) vs (209.22±42.31)个,  $P<0.01$ ],miR-1180-5p组VCAP细胞侵袭数显著低于dsControl组 [(105.18±22.50) vs (214.07±33.48)个,  $P<0.01$ ]。结果说明,转染miR-1180-5p后前列腺癌细胞迁移数和侵袭能力明显下降。

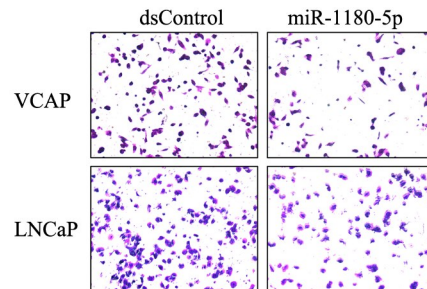


图5 Transwell实验检测转染后前列腺癌细胞迁移能力(×100)  
Fig.5 Cell migration ability of prostate cancer cells after transfection were detected by Transwell assay(×100)

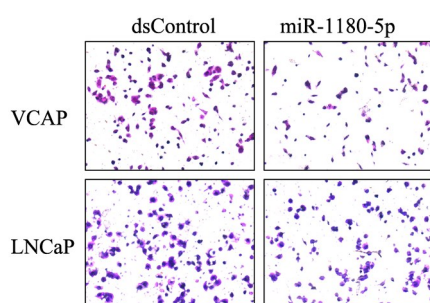


图6 Transwell实验检测转染后前列腺癌细胞侵袭能力( $\times 100$ )  
Fig.6 Cell invasion ability of prostate cancer cells after transfection was detected by Transwell assay( $\times 100$ )

### 3 讨论

RNA激活是指内源性miRNA或外源性小分子RNA将某些低表达或沉默的基因激活的现象<sup>[7]</sup>。RNA干扰作用发生在转录后水平,即具有干扰作用的小分子RNA通过特异性结合靶基因mRNA,抑制靶基因的翻译表达。RNA激活则发生在转录水平,即小分子RNA通过特异性的结合于靶基因的启动子。RNA干扰主要发生在细胞质内,RNA激活则发生在细胞核内。RNA激活具有明显的起效延迟性和作用持久性,RNA干扰通常在转染后数小时起效,而RNA激活效应发生时间则在24~48 h;通常RNA干扰的效应可维持近1周左右,而RNA激活效应则能延续至2周<sup>[8-11]</sup>。此外,较RNA干扰,RNA激活需要更高浓度的小分子RNA<sup>[12]</sup>。

miR-1180-5p是一种新近发现具有明显CDKN1A蛋白激活效应的小分子非编码单链RNA,但在前列腺癌细胞中的激活效应未得到验证。CDKN1A基因又称P21基因,具有最广泛细胞周期依赖性激酶抑制活性,蛋白几乎可与所有的Cyclin-CDK复合物结合,广泛抑制各种Cyclin-CDK复合物,通过调控细胞周期的进展,广泛参与细胞增殖、分化、衰老等多种细胞功能的调节,可明显抑制肿瘤细胞的生长<sup>[13-14]</sup>。CyclinD1在G1晚期表达,可与CDK6形成复合物,促使细胞周期由G1期向S期转变,加速细胞周期的进展。CDKN1A可抑制CyclinE-CDK复合物的形成,阻滞细胞周期的进展<sup>[15-16]</sup>。在前列腺癌组织标本中,CDKN1A蛋白的表达呈现低水平,且CDKN1A蛋白的表达水平与前列腺癌患者的预后密切相关<sup>[17]</sup>。因而,通过激活前列腺癌细胞中CDKN1A蛋白的表达,可能会成为前列腺癌防治研究的新方法。本实验中,miR-1180-5p可明显上调前列腺癌细胞中CDKN1A mRNA和蛋白的表达,CDKN1A的下游蛋白CyclinE和CDK6的表达均明显下调;转染miR-1180-5p后前列腺癌细胞周期被阻滞在G0/G1

期,前列腺癌细胞增殖和克隆形成能力均明显降低;同时,转染miR-1180-5p后前列腺癌细胞迁移和侵袭能力被明显抑制,表明miR-1180-5p可显著抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。RNA的激活作用与相应的小分子RNA浓度密切相关<sup>[12]</sup>,miR-1180-5p转染浓度大小与激活效应强弱并未得到验证,这是本实验的不足之处。课题组下一步将设置miR-1180-5p转染浓度梯度,观察激活效应与浓度之间的关系,并利用动物实验观察miR-1180-5p在体内对前列腺癌细胞生长和转移的作用。

综上所述,miR-1180-5p通过激活前列腺癌细胞中CDKN1A蛋白的表达显著抑制其增殖、迁移和侵袭,为前列腺癌的治疗提供了一个全新的思路。

### [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29. DOI: 10.3322/caac.21254.
- [2] KARIMIAN A, AHMADI Y, YOUSEFI B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage[J]. DNA Repair (Amst), 2016, 42: 63-71. DOI: 10.1016/j.dnarep.2016.04.008.
- [3] WANG C, CHEN Z, GE Q, et al. Up-regulation of p21(WAF1/CIP1) by miRNAs and its implications in bladder cancer cells[J]. FEBS Lett, 2014, 588(24): 4654-4664. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.10.037.
- [4] GE Q, WANG C, CHEN Z, et al. The suppressive effects of miR-1180-5p on the proliferation and tumorigenicity of bladder cancer cells[J]. Histol Histopathol, 2017, 32(1): 77-86. DOI: 10.14670/HH-11-772.
- [5] WANG C, GE Q, CHEN Z, et al. A new double stranded RNA suppresses bladder cancer development by upregulating p21 (Waf1 / CIP1) expression[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 304753. DOI: 10.1155/2015/304753.
- [6] PLACE R F, LI L C, POOKOT D, et al. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(5): 1608-1613. DOI: 10.1073/pnas.0707594105.
- [7] LI L C, OKINO S T, ZHAO H, et al. Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(46): 17337-17342. DOI: 10.1073/pnas.0607015103.
- [8] BARATA P, SOOD A K, HONG D S. RNA-targeted therapeutics in cancer clinical trials: Current status and future directions[J]. Cancer Treat Rev, 2016, 50: 35-47. DOI: 10.1016/j.ctrv.2016.08.004.
- [9] ZHU L, JIANG H, SHEONG F K, et al. Understanding the core of RNA interference: The dynamic aspects of Argonaute-mediated processes[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2016. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2016.09.008.
- [10] GUO D, BARRY L, LIN S S, et al. RNAa in action: from the exception to the norm[J]. RNA Biol, 2014, 11(10): 1221-1225. DOI: 10.4161/15476286.2014.972853.
- [11] ZHENG L, WANG L, GAN J, et al. RNA activation: promise as a new weapon against cancer[J]. Cancer Lett, 2014, 355(1): 18-24. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.09.004.

- [12] WANG X, WANG J, HUANG V, et al. Induction of NANOG expression by targeting promoter sequence with small activating RNA antagonizes retinoic acid-induced differentiation[J]. *Biochem J*, 2012,443(3):821-828. DOI: 10.1042/BJ20111491.
- [13] KREIS N N, LOUWEN F, YUAN J. Less understood issues: p21 (Cip1) in mitosis and its therapeutic potential[J]. *Oncogene*,2015,34(14):1758-1767. DOI: 10.1038/onc.2014.133.
- [14] YEO D, HE H, BALDWIN G S, et al. The role of p21-activated kinases in pancreatic cancer[J]. *Pancreas*, 2015, 44(3): 363-369. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000276.
- [15] WILCZYNSKA A, GIT A, ARGASINSKA J, et al. CPEB and miR-15/16 Co-Regulate Translation of Cyclin E1 mRNA during Xenopus Oocyte Maturation[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e146792. DOI: 10.1371/journal.pone.0146792.
- [16] SUN L, HUANG Y, WEI Q, et al. Cyclin E-CDK2 protein phosphorylates plant homeodomain finger protein 8 (PHF8) and regulates its function in the cell cycle[J]. *J Biol Chem*,2015,290(7):4075-4085. DOI: 10.1074/jbc.M114.602532.
- [17] SANCHEZ-GONZALEZ C, CIUDAD C J, IZQUIERDO-PULIDO M, et al. Urolithin A causes p21 up-regulation in prostate cancer cells[J]. *Eur J Nutr*, 2016, 55(3): 1099-1112. DOI: 10.1007/s00394-015-0924-z.

[收稿日期] 2018-03-04

[修回日期] 2018-05-09

[本文编辑] 韩丹,阮芳铭