

论著 • Article

MiR-429 上调表达促进前列腺癌增殖和侵袭的研究

欧阳晨思¹ 李旭² 龚小安³ 史二娟⁴ 易小容⁴ 林鹏修¹

(1 宜春市人民医院 泌尿外科; 2 宜春市第三人民医院 泌尿外科 江西 宜春 336000; 3 丰城市人民医院 泌尿外科 江西 宜春 331104; 4 宜春市第二人民医院 肿瘤科 江西 宜春 336000)

摘要 目的: 基于基因组高通量测序筛选前列腺癌患者血液中异常表达的 miRNAs, 并验证其结果。材料与方法: 选取在宜春市人民医院泌尿外科的前列腺癌患者、前列腺增生患者及健康人群的血液标本, 采用 RNA 测序 (RNA sequencing, RNA-seq) 进行测序分析, 并运用荧光定量聚合酶链反应 (RT-PCR) 验证外周血标本中超过 10 倍以上差异表达基因。通过 RT-PCR 验证前列腺癌细胞中 miR-429 被敲低后的表达水平; 分别运用细胞计数试剂盒 (CCK-8) 实验和 EdU 细胞染色实验检测细胞的增殖功能。**结果:** 根据测序结果, 挑选出在前列腺癌患者外周血中明显高表达的 4 种 miRNAs: miRNA-429、miR-23a、miR-193a 和 miR-216a-5p, 构建相对应的引物, 并通过 RT-PCR 在前列腺癌在患者进行验证发现仅 miRNAs-429 表达差异较为明显。构建的 miRNAs-429 质粒可显著上调的前列腺癌细胞增殖能力, 并降低细胞凋亡。**结论:** miRNAs-429 的异常表达对前列腺癌细胞增殖和细胞凋亡均有影响, 这些结果表明 miRNAs-429 在前列腺癌的发生、发展中可能发挥重要的作用。

关键词 前列腺癌; miRNA; miR-429; 细胞增殖; 测序。

文章编号 034-2024-0124

Up-Regulated Mir-429 Promotes Proliferation and Invasion of Prostate Cancer

Ouyang Chensi¹, Li Xu², Gong Xiaohan³, Shi Erjuan⁴, Yi Xiaorong⁴, Lin Pengxiu¹

(Department of Urology, 1. Yichun People's Hospital; 2. The Third People's Hospital of Yichun, Yichun 336000; 3. Department of Urology, Fengcheng People's Hospital, Yichun 331104; 4. Department of Oncology, The Second People's Hospital of Yichun, Yichun 336000, China)

Abstract Objective: To screen the abnormal expression of miRNAs in the blood of prostate cancer patients based on high-throughput sequencing, and to verify the results. **Materials and Methods:** The blood samples of prostate cancer patients, benign prostatic hyperplasia patients and healthy people in the Department of Urology of Yichun People's Hospital

收稿日期: 2023-03-15 录用日期: 2023-06-09

通讯作者: 欧阳晨思, 单位: 宜春市人民医院 泌尿外科

基金项目: 江西省卫生健康委员会科技计划, 编号: 202140863

引用格式: 欧阳晨思, 李旭, 龚小安 等. MiR-429上调表达促进前列腺癌增殖和侵袭的研究[J]. 环球医学进展, 2023,2(1): 16-22.

were selected. RNA sequencing (Rna-Seq) was used for sequencing analysis. The differentially expressed genes more than 10-fold in peripheral blood samples were verified by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). RT-PCR was used to verify the expression level of miR-429 in human prostate cancer cells after knockdown. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay and EdU cell staining were used to detect the proliferation function of cells. **Results:** According to the sequencing results, four miRNAs were significantly up-regulated in the peripheral blood of prostate cancer patients: The corresponding primers for miRNA-429, miR-23a, miR-193a and miR-216a-5p were constructed and verified by RT-PCR in prostate cancer patients. Only miRNA-429 showed significant difference in expression. The constructed miRNA-429 plasmid could significantly up-regulate the proliferation ability of prostate cancer cells and reduce cell apoptosis. **Conclusions:** The abnormal expression of miRNA-429 has an effect on the proliferation and apoptosis of prostate cancer cells, suggesting that miRNA-429 may play an important role in the occurrence and development of prostate cancer.

Keywords Prostate cancer; miRNA; miR-429; Cell proliferation; Sequencing

1 前言

2 前列腺癌是中国最常见的恶性肿瘤之一,起源于上皮细胞,与复杂的细胞生化、生理和分子过程有关^[1-2]。局限性早期前列腺癌的主要治疗方法包括手术治疗和放射疗法,但仍有部分患者仍出现术后生化复发及疾病转移进展。一旦肿瘤出现局部或远处转移,内分泌治疗是前列腺癌的主要治疗方法,而该疗程经历过 12-18 个月后会进一步发展成去势抵抗性前列腺癌 (CRPC)。目前已开发了阿比特龙 (CYP-17A 抑制剂) 和恩杂鲁胺 (第二代抗雄激素) 来治疗 CRPC,然而,这些新疗法的作用是有限的,患者迅速发展为无法治愈的前列腺癌,总生存期仅增加了 3-4 个月^[3]。

因此,寻找具有 CRPC 新的治疗靶点对改善疾病预后具有重要的临床意义^[4-5]。MiRNA 是一类内源性非编码 RNA 分子,通常长 22-25 个核苷酸^[6]。它们通过 RNA 聚合酶 II 从基因内或基因间区域转录为 pri-miRNA (长度介于 1 到 3 kb 之间)^[7],并由 RNase III 核糖核酸 Droscha 和 DiGeorge 综合征关键区域基因 8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8, DGCR8) 进一步加工在细胞核中插入发夹中间的 pre-miRNA (由约 70 个核苷酸的茎环结构组成)^[8]。然后,pre-miRNA 通过输出蛋白 5

从细胞核转运到细胞质^[9]。链分离后,将成熟的双链 miRNA (也称为引导链) 掺入 RNA 诱导的沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中,通常将整个 miRNA 过客链降解。RISC 是 miRNA 途径的效应复合物,包含 miRNA、Argonaute 蛋白 (Argonaute 1 至 Argonaute 4) 和其他蛋白。成熟链对于靶标识别以及将特定靶标 mRNA 整合入 RISC 至关重要^[8-9]。每个 miRNA 都可能靶向许多基因 (平均约 500 个),并且大约 60% 的 mRNA 具有至少 1 个进化保守的序列,被认为是 miRNA 靶向的序列^[10-11]。

在本研究中,我们比对前列腺癌患者、前列腺增生患者、正常人群的 miRNA 转录子异同,筛选出形成前列腺癌的相关的候选 miRNAs 并在另一样本群进行验证。

2 研究方法

2.1 研究方法 收集 2018 年 1 月至 2022 年 6 月我院确诊转移性前列腺癌的患者、同时期诊断前列腺增生患者及健康体检的人群共 10 例。患者的年龄及体重指数无显著差异 ($P > 0.05$)。所有患者均签署了知情同意书,获取的血液标本信息和用途已得到我院伦理委员会批准并通过执行。人前列腺癌细胞购自于 cell

applications 公司, 细胞纯度 > 99%。

2.2 主要试剂和耗材 胎牛血清购自上海康朗生物科技有限公司, RPMI-1640 培养基购自上海语纯生物科技有限公司, 质粒设计与合成由南京凯基生物科技发展有限公司完成, 胰蛋白酶购自美国 Sigma-Aldrich 公司, 转染试剂 Lipo2000 购自 Invitrogen 公司, 实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-PCR) 引物由南京凯基生物科技发展有限公司设计和完成; EdU 细胞增殖检测试剂盒 (货号: C10310) 购自于广州市锐博生物科技有限公司; 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 检测试剂盒购自于上海经科化学科技有限公司。

2.3 方法

2.3.1 血液样本处理及保存 研究患者抽取空腹静脉血 10-15 ml 放置在抗凝管中, 在室温条件下静置 30 min 后, 随后在 4°C、3000×g 离心 10 min, 吸取上清液于另一离心管内。如 48h 内不适用, 则在冰上分装为每份 500 μL 于 1.5 mL 无酶 EP 管内, 冻存于 -70°C 环境下, 并在 3 个月内使用。

2.3.2 血清外泌体提取 本研究参考既往方法 (PMID: 26106858) 进行血清外泌体提取。具体操作方法如下所述: 取 1 mL 上清液稀释在 10mL PBS 中, 置入超速离心管内, 在 4°C、150000×g 过夜离心, 离心结束后弃上清。随后用 1mL PBS 溶解沉淀, 再加入 10 mL PBS 混匀, 4°C、150000×g 离心 2 h。离心结束后, 小心去除上清, 避免触动底部沉淀, 用 100 μL PBS 重悬溶解外泌体沉淀, -70°C 保存备用或直接用于下游实验。

2.3.3 MiRNA 测序 筛选入组对象, 在我院经过前列腺穿刺活检为前列腺癌组织为实验组, 以同期单纯前列腺增生患者为阳性对照组, 以同期健康体检的正常人群为阴性对照组。经患

者对象知晓并同意后执行, 准确录入患者基本信息 (年龄、职业、吸烟史、身高、慢性病史等) 等, 建立样本资料数据库。同时收集研究对象外周血标本, EDTA 抗凝管 3ml, 提取外泌体, 4°C 冰箱保存。将提取的外泌体送广州达安基因检测中心进行检测, 并提供测序结果。用功能分析软件 Expander 对差异表达基因 ($|\text{Diffscore}| > 5$) 进行功能注释 (Gene Ontology, GO)。设定显著性水平 P 阈值为 0.05。

2.3.4 RT-PCR 检测 采用 TRIzol 法提取外周血的总 RNA, DEPC 水溶解 RNA 沉淀, 并混匀, 酶标仪检测提取 RNA 浓度与纯度。将提取的总 RNA 按照试剂盒说明书反转录成 cDNA, 并进行 PCR 定量扩增, 扩增体系如下所述: iQ SYBR Green Supermix 2X 10 μL, Primer 1 (10 μM) 和 Primer 2 (10 μM) 各 0.2 μL, Sterile water 8.6 μL, DNA template (1:10 cDNA dilution) 1 μL。反应条件如下: 95 °C 3 min, 96.3 °C 10 s, 58 °C 40 s, 循环 40 次, 95 °C 1 min, 50 °C 1 min, 50 °C 1 min 10 s。检测外周血中相对应 miRNA 的表达水平。每个样品设置 3 个复孔, 运用 2- $\Delta\Delta$ Ct 法计算 miRNA 在血液中的表达量。研究所设计的 miRNA 引物在 interactome 网站主页完成, 并由广州达安基因合成, 检测所用的上、下游引物序列如下:

2.3.5 质粒转染 待人 PC-3 细胞在低倍镜下观察密度达到 70% 左右时, 改用无血清培养基饥饿细胞 2 h, 使用 Lipofectamine™2000 分别将 miRNA 转染至人前列腺癌细胞中, 待 24 h 后收获细胞。

2.3.6 细胞增殖实验 质粒转染 24 h 后开始对 PC-3 细胞增殖能力进行检测。将制备的细胞密度为 1×10^3 个 /mL 细胞悬液加入 96 孔板, 并每孔加入 100 μL, 并设置 3 个复孔。每个孔中统一时间分别加入 10 μL CCK-8 溶液, 并在

72 h 内使用酶标仪定期测定 450 nm 光吸收值。

2.3.7 Edu 细胞染色实验 质粒转染 24 h 后开始对 PC-3 细胞进行 EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine, 5-乙炔基-2' 脱氧尿嘧啶核苷) 染色, 将 PC-3 细胞从 6 孔板接种到带有爬片的 24 孔板上, 在 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.5% TritonX-100 溶液通透 10 min 的条件下, 根据 Edu 体外试剂盒说明书对细胞核进行染色, 在荧光显微镜下随机挑选 3 个视野进行取像和计数。

2.3.8 统计学分析 实验所涉及的数据处理采用美国 Prism 7.0 软件进行作图及数据分析, 组间计量数据采用独立 *t* 检验。实验结果认定当 $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 血液中 miRNA 在前列腺癌患者表达差异 通过高通量测序 10 例前列腺癌患者、10 例前列腺增生患者及 5 例正常人群的血液, 并进行 miRNAs 的差异比对分析发现超过 10 个的候选 miRNAs 在前列腺癌患者中差异表达基因。考虑到测序上述的筛选的部分候选 miRNAs 表达水平非常低, 而筛选出来的候选 miRNAs 在人群中表达变异较大, 因此我们仅关注差异显著大于 5 倍以上的候选 miRNAs ($|\text{Diffscore}| > 10, P < 0.01$), 结果如表 1 所示。

3.2 候选差异表达 miRNAs 的验证 为了验证这 4 种候选 miRNAs 的 RNA-seq 结果, 我们

再次选择 10 例前列腺癌患者和 10 例健康人群, 收集其血液并通过 RT-PCR 的进行了检测验证, 结果如图 1 所示。RT-PCR 的结果发现 miRNAs-429 在前列腺癌患者的外周血中表达量显著降低, 较健康人群比较有统计学差异 ($P < 0.05$); 而 miRNAs-429、miR-23a、miR-193a 和 miR-216a-5p 在两组人群血液表达中差异并不明显, 比较无统计学差异 (均 > 0.05)。

3.3 miRNAs-429 干扰质粒的对人前列腺癌细胞生长指数的影响 将 NC-miRNA 和 miRNAs-429 质粒转染进 PC-3 细胞, 通过 CCK-8 实验检测细胞增殖能力 (图 2a)。过 CCK-8 实验结果显示, 转染 miRNA-429 质粒的 PC-3 细胞增殖能力显著高于转染 NC-miRNA 质粒的细胞 (图 2b)。

4 讨论

寻找具有 CRPC 新的治疗靶点对改善疾病预后具有重要的临床意义^[4-5]。MiRNA 是一类内源性非编码 RNA 分子, 通常长 22-25 个核苷酸^[6]。它们通过 RNA 聚合酶 II 从基因内或基因间区域转录为 pri-miRNA (长度介于 1 到 3 kb 之间)^[7], 并由 RNase III 核糖核酸 Drosha 和 DiGeorge 综合征关键区域基因 8 (DiGeorge syndrome critical region gene 8, DGCR8) 进一步加工在细胞核中插入发夹中间的 pre-miRNA (由约 70 个核苷酸的茎环结构组成)^[8]。然后,

表 1 显著上调或下调的前 4 位 miRNAs
Table 1 Top 4 miRNAs significantly up-regulated or down-regulated

miRNA ID	Fold changes	P Value
miRNA-429	28.453854	< 0.01
miR-23a	16.435643	< 0.01
miR-193a	14.241289	< 0.01
miR-216a-5p	8.2187321	< 0.01

pre-miRNA 通过输出蛋白 5 从细胞核转运到细胞质^[9]。链分离后, 将成熟的双链 miRNA (也称为引导链) 掺入 RNA 诱导的沉默复合

物 (RNA-Induced Silencing Complex, RISC) 中, 通常将整个 miRNA 过客链降解。RISC 是 miRNA 途径的效应复合物, 包含 miRNA、

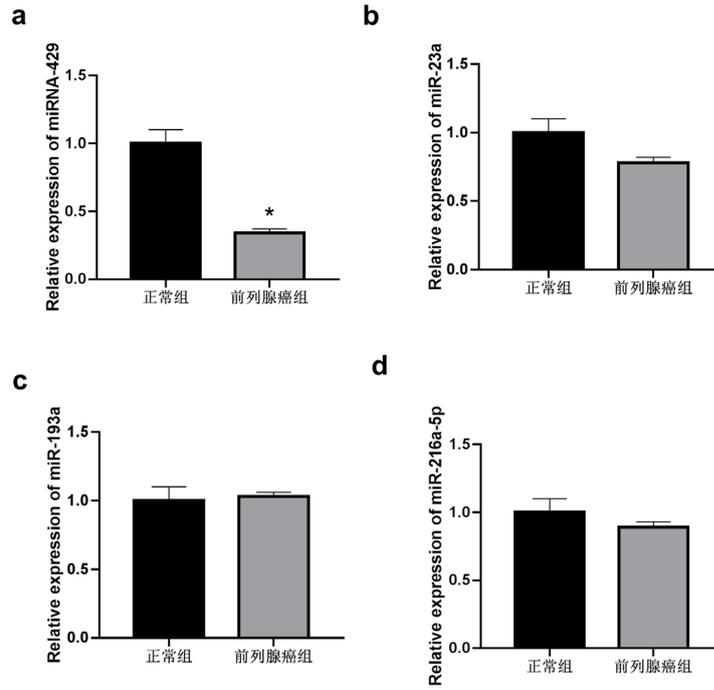


图 1 RT-PCR 分析显示前列腺癌患者和健康人群血液中部分差异表达 miRNAs 的验证。注释: * $P < 0.05$ 。
Figure 1 RT-PCR analysis confirmed the differential expression of miRNAs in the blood of prostate cancer patients and healthy individuals. Annotation: * $P < 0.05$ 。

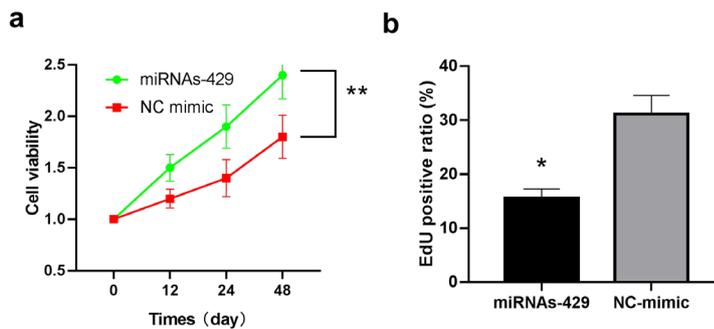


图 2 上调 miRNA-429 对 PC-3 细胞增殖能力的影响。a. CCK-8 法检测 PC-3 细胞增殖能力; b. EdU 染色法测 PC-3 细胞凋亡水平的定量分析。
Figure 2 The effect of upregulating miRNA-429 on the proliferation ability of PC-3 cells. a. CCK-8 method was used to detect the proliferation ability of PC-3 cells; b. Quantitative analysis of apoptosis levels in PC-3 cells using EdU staining method.

Argonaute 蛋白 (Argonaute 1 至 Argonaute 4) 和其他蛋白。成熟链对于靶标识别以及将特定靶标 mRNA 整合入 RISC 至关重要^[8-9]。每个 miRNA 都可能靶向许多基因 (平均约 500 个), 并且大约 60% 的 mRNA 具有至少 1 个进化保守的序列, 被认为是 miRNA 靶向的序列^[10-11]。

通常, miRNA 靶向其靶基因的 3 个主要非翻译区 (3'UTR), 最常引起 mRNA 的腺苷酸化和降解, 并随后引起翻译抑制^[12]。但是, 有研究已经报道了其他 miRNA 介导的调节 mRNA 表达的机制。一些 miRNA 与其靶基因的开放阅读框或 5'UTR 结合; 在某些情况下, miRNA 已显示可激活基因表达而不是抑制基因表达^[13]。例如, Nam HS 等报道发现 miR-122 可以结合 5'UTR, 抑制其靶基因的翻译^[14]。2008 年, 据报道另一种 miRNA miR-10a 通过在保守 5'TOP 基序下游的 5'UTR (已知调节翻译) 处与核糖体蛋白 mRNA 结合来增强翻译^[15]。在 2016 年, Wang S 等证明了 miR-24 可以与 COPS5 的 3'UTR 和 5'UTR 结合 (也称为 JAB1 和 COP9 信号小体亚基 5), 从而导致 COPS5 mRNA 降解和翻译抑制^[16]。此外, miRNA 还可以通过直接与 DNA 结合而在转录水平上调基因表达^[17-18]。此外, 蛋白质也可以被 miRNA 靶向^[19]。

癌症中 miRNA 表达的变化也可能由异常的转录因子活性引起, 这导致 miRNA 基因的转录增加或减少。MiR-34 miRNA 家族 (包含 miR-34a, miR-34b 和 miR-34c) 直接由肿瘤抑制因子 p53 诱导。在具有高水平 p53 的细胞中, miR-34 的表达升高。此外, 染色质免疫沉淀试验表明 p53 可以结合 miR-34 的启动子^[20]。MYC 癌蛋白下调肿瘤抑制 miRNA (如 let-7 和 miR-29 家族成员) 的转录。MYC 可以结合它抑制的 miRNA 启动子的保守序列, 并且发现

MYC 对 miRNA 的抑制有助于淋巴瘤的形成^[21]。

miRNA 的功能在很大程度上受到其主要靶标表达的影响。一些 miRNA 在某些细胞类型中促进肿瘤发生, 而在其他细胞中则抑制肿瘤发生。因此, 将 miRNA 分类为癌基因或抑癌基因需要了解其作用的细胞类型。通常, miRNA 不会针对单一靶标而导致特定表型。相反, miRNA 同时靶向多个 mRNA, 并与控制转录组的机制进行复杂的相互作用。在癌症中, miRNA 经常失调, 共同发挥作用以标记分化状态, 或者单独发挥致癌基因或抑癌作用。在前列腺癌中, 据报道, miRNA 异常表达并通过改变其特异性 mRNA 靶标的表达发挥关键作用^[22]。

综上所述, 为了阐述前列腺癌中 miRNA 表达信息和作用, 在这项研究中, 我们通过 miRNA-seq 和生物信息学工具鉴定了前列腺癌中差异表达的 miRNA。随后, 我们通过整合来自 GEO 数据库的 mRNA 表达数据集进行了 miRNA-mRNA 的整合分析。确定了几种可能驱动前列腺癌发病机制的中枢 miRNA。此外, 我们专注于 miR-429, 进一步的研究表明 miR-429 可以通过靶向 p27Kip1 来促进前列腺癌细胞的增殖和侵袭, 这为前列腺癌的治疗提供了新的见解。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

参考文献:

- [1] Liu X, Yu C, Bi Y, et al. Trends and age-period-cohort effect on incidence and mortality of prostate cancer from 1990 to 2017 in China[J]. *Public Health*, 2019, 172:70-80. DOI:10.1016/j.puhe.2019.04.016.
- [2] Zhou J, Yang X, Song P, et al. HOXC6 in the prognosis of prostate cancer[J]. *Artificial Cells*, 2019, 47(1):2715-2720. DOI:10.1080/21691401.2019.1635136.

- [3] Grozescu T, Popa F. Prostate cancer between prognosis and adequate/proper therapy[J]. *Journal of Medicine & Life*, 2017, 10(1):5.
- [4] Fujita K, Nonomura N. Role of Androgen Receptor in Prostate Cancer: A Review[J]. *The World Journal of Men's Health*, 2019, 37(3). DOI:10.5534/wjmh.180040.
- [5] Arai T, Okato A, Yamada Y, et al. Regulation of NCAPG by miR - 99a - 3p (passenger strand) inhibits cancer cell aggressiveness and is involved in CRPC[J]. *Cancer medicine*, 2018, 7(5): 1988-2002. DOI:10.1002/cam4.1455.
- [6] Groot M, Lee H. Sorting Mechanisms for MicroRNAs into Extracellular Vesicles and Their Associated Diseases[J]. *Cells*, 2020, 9(4):1044. DOI:10.3390/cells9041044.
- [7] Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. *The EMBO journal*, 2004, 23(20): 4051-4060. DOI:10.1038/sj.emboj.7600385.
- [8] Landthaler M, Yalcin A, Tuschl T. The human Di-George syndrome critical region gene 8 and Its D. melanogaster homolog are required for miRNA biogenesis.[J]. *Current Biology*, 2004, 14(23):2162-2167. DOI:10.1016/j.cub.2004.11.001.
- [9] Clancy J W, Zhang Y, Sheehan C, et al. An ARF6-Exportin-5 axis delivers pre-miRNA cargo to tumour microvesicles[J]. *Nature cell biology*, 2019, 21(7): 856-866. DOI:10.1038/s41556-019-0345-y.
- [10] Michlewski G, Cáceres J F. Post-transcriptional control of miRNA biogenesis[J]. *Rna*, 2019, 25(1): 1-16. DOI:10.1261/rna.068692.118.
- [11] McGeary S E, Lin K S, Shi C Y, et al. The biochemical basis of microRNA targeting efficacy[J]. *Science*, 2019, 366(6472): eaav1741. DOI:10.1101/414763.
- [12] Bartel D P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. *cell*, 2009, 136(2): 215-233.
- [13] Dai M, Li L, Qin X. Clinical value of miRNA-122 in the diagnosis and prognosis of various types of cancer[J]. *Oncology Letters*, 2019, 17(4): 3919-3929. DOI:10.3892/ol.2019.10024.
- [14] Hyun-Sik N, Kyu-Seok H, Yun-Mi J, et al. Expression of miRNA-122 Induced by Liver Toxicants in Zebrafish[J]. *BioMed Research International*, 2016, (2016-8-3), 2016, 2016:1473578. DOI:10.1155/2016/1473578.
- [15] Rom U A, Nielsen F C, Lund A H. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation.[J].*Molecular Cell*, 2008, 30(4):460-471. DOI:10.1016/j.molcel.2008.05.001.
- [16] Wang S, Pan Y, Zhang R, et al. Hsa-miR-24-3p Increases Nasopharyngeal Carcinoma Radiosensitivity by Targeting Both the 3'UTR and 5'UTR of Jab1/CSN5[J]. *Oncogene*, 2016, 35(47):6096-6108. DOI:10.1038/onc.2016.147.
- [17] Olejniczak M, Kotowska-Zimmer A, Krzyzosiak W. Stress-induced changes in miRNA biogenesis and functioning[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2018, 75(20): 177-191. DOI:10.1007/s00018-017-2591-0.
- [18] Li S L, Ye Y, Wang S Y. Construction and analysis of mRNA, miRNA, lncRNA, and TF regulatory networks reveal the key genes associated with prostate cancer[J].*PLoS ONE*, 2018, 13(8):e0198055-. DOI:10.1101/323543.
- [19] Yu Q, Zhang Z, He B, et al. MiR-543 functions as tumor suppressor in ovarian cancer by targeting TWIST1[J].*Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 2020, 34(1):101-110. DOI:10.23812/19-567-A.
- [20] Beard J A, Tenga A, Hills J, et al. The orphan nuclear receptor NR4A2 is part of a p53-microRNA-34 network[J].*Rep*, 2016, 6(1):25108.DOI:10.1038/srep25108.
- [21] Malpeli G, Barbi S, Tosadori G, et al. MYC-related microRNAs signatures in non-Hodgkin B-cell lymphomas and their relationships with core cellular pathways[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(51): 29753. DOI:10.18632/oncotarget.25707.
- [22] Kanwal R, Plaga A R, Liu X, et al. MicroRNAs in prostate cancer: Functional role as biomarkers[J]. *Cancer Letters*, 2017, 407: 9-20.DOI:10.1016/j.canlet.2017.08.011.