

• 论著 •

miR-5188 在肝癌细胞中的作用及网络调控机制研究

全养雅 黎慧娟 陈仕周 周艳

【摘要】 目的 探究 miR-5188 在肝癌细胞中的作用及网络调控机制。**方法** 过表达或敲低 miR-5188 表达后,检测肝癌细胞 HepG2 的增殖能力。利用 miRNA 靶基因预测数据库 miRDB 获取 miR-5188 潜在的靶基因,使用小干扰 RNA (siRNA) 敲低 HepG2 细胞中的上述靶基因后检测细胞增殖能力。采用实时荧光定量 PCR 法检测正常肝细胞 LO2 和 HepG2 细胞中 miR-5188、pre-miR-5188 和 pri-miR-5188 的表达水平,并分析长链非编码 RNA NEAT1 (下文简称 NEAT1)、NONO/PSF 复合体对 pri-miR-5188 的影响。**结果** 过表达 miR-5188 后, HepG2 细胞的增殖能力增强;敲低 miR-5188 表达后, HepG2 细胞的增殖能力减弱,差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。敲低 DIDO1 表达后, HepG2 细胞的增殖能力增强;过表达 DIDO1 后, HepG2 细胞的增殖能力减弱,差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。过表达 miR-5188 后, HepG2 细胞中 DIDO1 的表达水平降低;敲低 miR-5188 表达后, HepG2 细胞中 DIDO1 的表达水平升高,差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。双荧光素酶报告基因实验检测结果显示, miR-5188 靶向 DIDO1 mRNA 的 3' 非翻译区 (3'-UTR)。与 LO2 细胞相比, HepG2 细胞中 miR-5188 和 pre-miR-5188 的表达水平均显著升高,而 pri-miR-5188 的表达水平显著降低,差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。与 LO2 细胞相比, HepG2 细胞中 NEAT1 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$),而 NONO 和 PSF 的表达水平差异均无统计学意义 (P 均 >0.05)。敲低 NEAT1、NONO 或 PSF 表达后, HepG2 细胞中 pri-miR-5188 的表达水平均显著升高 (P 均 <0.05)。敲除 NEAT1 后, HepG2 细胞中 pri-miR-5188 的表达水平升高, NONO 与 PSF 的相互作用减弱,并且 NONO/PSF 与 pri-miR-5188 的结合减少。**结论** HepG2 细胞中 NEAT1 的表达水平升高,提高了 NONO/PSF 复合体对 pri-miR-5188 的加工水平,增强了 miR-5188/DIDO1 轴对 HepG2 细胞增殖能力的正向作用。

【关键词】 miR-5188; 肝细胞癌; DIDO1; NEAT1; pri-miRNA

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-534X. 2022. 06. 008

Role of miR-5188 in liver cancer cells and its network regulation mechanism QUAN Yangya, LI Huijuan, CHEN Shi, ZHOU Yan. Department of Gastroenterology, Hunan Provincial Brain Hospital, Changsha 410007, China

【Abstract】 Objective This paper is to investigate the role of miR-5188 in liver cancer cells and its network regulation mechanism. **Methods** After overexpression or knockdown of miR-5188, the proliferation ability of HepG2 cell was detected. The potential target genes of miR-5188 were obtained using miRNA target gene prediction database miRDB, and the proliferation ability of HepG2 cells was detected after the above genes were knocked down using small interfering RNA (siRNA). Real-time fluorescence

基金项目: 湖南省卫计委科研计划项目 (B20180176)

作者单位: 410007 湖南长沙, 湖南省脑科医院消化内科

通信作者: 周艳, Email: 52868004@qq.com

quantitative PCR was used to detect the expression of miR-5188, pre-miR-5188, and pri-miR-5188 in LO2 cells and HepG2 cells. The effects of long noncoding RNA NEAT1 (hereinafter referred to as NEAT1) and NONO/PSF complex on pri-miR-5188 were analyzed. **Results** After overexpression of miR-5188, the proliferation ability of HepG2 cells is increased, and after knockdown of miR-5188, the proliferation ability of HepG2 cells is decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). After knockdown of DDO1, the proliferation ability of HepG2 cells is increased, and after overexpression of DDO1, the proliferation ability of HepG2 cells is decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). After overexpression of miR-5188, the expression of DDO1 in HepG2 cells is decreased, and after knockdown of miR-5188, the expression of DDO1 in HepG2 cells is increased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The double luciferase reporter gene test results show that miR-5188 targets the 3' untranslated region (3'-UTR) of *DDO1* mRNA. Compared with LO2 cells, the expression of miR-5188 and pre-miR-5188 in HepG2 cells are increased, while the expression of pri-miR-5188 is decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with LO2 cells, the expression of NEAT1 in HepG2 cells is increased ($P < 0.05$), while the expression of proteins NONO and PSF do not change ($P > 0.05$). After knockdown of NEAT1, NONO or PSF, the expression of pri-miR-5188 in HepG2 cells is significantly increased ($P < 0.05$). After knockout of NEAT1, the expression of pri-miR-5188 in HepG2 cells is increased, and the interaction between NONO and PSF is weakened, while the binding of NONO/PSF and pri-miR-5188 is decreased. **Conclusion** The expression of NEAT1 is increased in HepG2 cells, which increases the processing of pri-miR-5188 by NONO/PSF complex, and enhances the positive effect of miR-5188/DDO1 axis on the proliferation ability of liver cancer cells.

【Key words】 miR-5188; Hepatocellular carcinoma; DDO1; NEAT1; pri-miRNA

在亚洲肝细胞癌 (HCC) 的发病率居恶性肿瘤的第 5 位, 在中国 HCC 也是一种常见的恶性肿瘤^[1]。虽然近年来手术切除、射频消融、肝移植等多种治疗方法不断发展, 但是 HCC 治疗的远期效果仍不理想, 经治愈性切除术后患者的 5 年复发和转移率高达 70%, 并且多在术后 2 年内复发^[2]。因此, 亟需探究 HCC 发生和进展的分子机制, 从而研发新的诊疗方案, 以期改善 HCC 患者的预后并提高总体生存率。miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性的、长度为 20~25 个核苷酸的非编码 RNA, 能通过与靶 mRNA 的互补配对从而在转录后水平调控靶基因表达, 导致 mRNA 的降解或翻译抑制, 进而参与肿瘤的发生和进展过程^[3]。研究报告, miR-5188 在 HCC 组织中表达上调, 乙型肝炎病毒 X 蛋白 (HBx) 可以诱导 miR-5188 表达并刺激 β -连环蛋白 (β -catenin) 核转位, 从而促进 HCC 的肿瘤干性^[4]。由于 HBV 感染并非是 HCC 的充分必要条件, 其他因素也可以导致 HCC 发生 (如丙型肝炎病毒感染等), 因此内源性 miR-5188 在 HCC 发生和进展中的作用仍需进一步探索。本研究探讨了内源性 miR-5188 在肝癌细胞中的作用及网络调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

实验中所用的质粒购自山东维真生物科技有限公司; 小干扰 RNA (siRNA)、miR-5188 mimics 和 miR-5188 inhibitor 均由广州瑞博生物医药科技有限公司设计并合成; 正常肝细胞 LO2 购自北京迈瑞达科技有限公司 (货号 M186652-125 mL \times 4); 肝癌细胞 HepG2 购自深圳市优里生物科技有限公司 (货号 BN-CC338070); DMEM 培养基购自广东环凯微生物科技有限公司 (货号 XB01-08); LipofectamineTM 2000 转染试剂盒购自北京鼎泰博科技有限公司 (货号 11668027); MTT 试剂购自深圳市益百顺科技有限公司 (货号 T818538-5g); 抗 NONO 抗体购自广州市文睿科学仪器有限公司 (货号 DF7254-100); 抗 GAPDH 抗体购自广州德为生物科技有限公司 (货号 AP0066); 抗 PSF 抗体购自北京拜尔迪生物技术有限公司 (货号 bs-19683R); 抗 DDO1 抗体购自广州伟然生物科技有限公司 (货号 DF3612-100); G 蛋白 Dyna 珠子购自深圳拓山生物科技有限公司 (货号 10003D); 潮霉素购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司 (货号 A600230-0250); 荧光素酶检测试剂盒购自上海信裕生物科

技有限公司(货号 11402XY60); RNA 提取试剂盒购自广州基准科技服务有限公司(货号 R4132-03); 反转录试剂盒购自北京泰合通生物科技有限公司(货号 4387406); RIPA 裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司(货号 P0013B)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和处理 LO2 细胞和 HepG2 细胞均培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 并置于 37 °C、5% CO₂ 的环境中培养。转染前, 将指数生长期的细胞接种于培养板或培养皿中, 使用 Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒将质粒、siRNA、miR-5188 mimics 和 miR-5188 inhibitor 分别转染至细胞, 转染后 48~72 h 收集细胞, 用于后续实验。

1.2.2 细胞增殖能力检测 采用 MTT 法检测细胞增殖能力。分别将指数生长期的 LO2 细胞和 HepG2 细胞接种至培养基中的 96 孔板, 孵育过夜。使用 MTT 试剂(5 mg/mL)检测细胞的增殖能力, 按照试剂盒说明书进行操作。

1.2.3 NONO、DIDO1 和 PSF 的表达水平检测 采用蛋白质印迹法检测 NONO、DIDO1 和 PSF 的表达水平。于裂解缓冲液中获得 HepG2 细胞裂解物, 使用 BCA 蛋白测定试剂盒检测蛋白质浓度。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并转膜, 使用相应的抗体(抗 GAPDH、NONO、DIDO1 和 PSF 抗体)对其进行免疫探测。使用 ECL 试剂盒检测蛋白质, 使用 ChemiDoc™ XRS⁺ 分子成像仪获取图像。

1.2.4 PSF 与 NONO 相互作用的检测 采用免疫共沉淀技术和蛋白质印迹法检测 PSF 与 NONO 的相互作用。免疫共沉淀的操作步骤: 取 2 μg 特异性抗体于 4 °C 下在 200 μL 裂解缓冲液中与 G 蛋白 Dyna 珠子偶联 2 h, 用裂解缓冲液洗涤 3 次后, 加入 300 μL 全细胞提取物(用 RIPA 裂解液制备的 HepG2 细胞)。将混合物于 4 °C 下旋转孵育 2 h, 将珠子用裂解缓冲液洗涤 4 次后, 重新悬浮于 1×SDS 上样缓冲液中, 煮沸用于免疫印迹分析。

1.2.5 miR-5188、pre-miR-5188、pri-miR-5188 和长链非编码 RNA NEAT1 的表达水平检测 采用实时荧光定量 PCR 法检测 LO2 细胞和 HepG2 细胞中 miR-5188、pre-miR-5188、pri-miR-5188 和长链非编码 RNA NEAT1(下文简称 NEAT1)的表达水平。使用 RNA 提取试剂盒分离 LO2 细胞和 HepG2 细胞的总 RNA, 按照反转录试剂盒说明书将总 RNA 合成 cDNA, 以 cDNA 作为模板, 使用特异性引物

进行扩增。PCR 的反应条件: 50 °C 2 min, 95 °C 10 min; 然后 95 °C 15 s, 57 °C 60 s, 共计 40 个循环。使用 Bio-Rad T100 型和 Bio-Rad CFX96 型 PCR 仪分别进行 cDNA 合成及 PCR 反应。

1.2.6 NONO/PSF 与 pri-miR-5188 相互作用的检测 采用紫外交联免疫沉淀技术检测 NONO/PSF 与 pri-miR-5188 的相互作用。将 15 cm 培养皿中的贴壁细胞在冰冷的 PBS 中冲洗 2 次, 在 254 nm 波长的紫外灯(120 mJ/cm²)下交联, 在 1 mL Tris-HCl 裂解缓冲液中于冰上刮擦并裂解 10 min, 辅蛋白酶抑制剂和 RNase 抑制剂。将裂解物涡旋, 然后在 4 °C 下以 17 000×g 离心 5 min。上清液与 5 μg 抗 NONO 抗体、抗 PSF 抗体或对照同种型 G 蛋白 Dyna 珠子在 4 °C 下旋转 90 min。用于每个反应的 G 蛋白 Dyna 珠子(80 μL)用 1 mL 裂解缓冲液冲洗 2 次, 并在 4 °C 下用 1 mg/mL 的牛血清白蛋白封闭 2 h。将珠子重新悬浮于 100 μL 裂解缓冲液中, 然后添加至反应管中, 在 4 °C 下旋转孵育 2 h。然后用高盐缓冲液将珠子洗涤 2 次, 并用裂解缓冲液洗涤 3 次。免疫沉淀的样品用脱氧核糖核酸酶 I(DNase I)处理, 然后用蛋白酶 K 消化。使用 RNeasy MinElute 柱试剂盒纯化 RNA。

1.2.7 敲除 NEAT1 的细胞系构建 构建敲除 NEAT1 的 HepG2 细胞, 以探究 NEAT1 在 pri-miR-5188 加工中的作用。使用 CRISPR 基因编辑工具(<http://crispr.mit.edu>)设计小向导 RNA(sgRNA)。将 4 对 sgRNA 序列克隆到 PiggyBac 质粒(PBC2)中, 每对 sgRNA 均应用 U6 启动子。使用 Lipofectamine™ 2000 转染试剂将含有 sgRNA 的 PBC2 质粒和表达 Cas9 的质粒共转染至 HepG2 细胞中。转染后 24 h, 使用潮霉素处理敲除 NEAT1 的细胞 4 d。活细胞培养于含有 10% 胎牛血清且不含抗生素的新鲜 DMEM 培养基中, 以便在分离单个克隆之前恢复 1~2 d。采用直接测序法验证敲除成功与否。

1.2.8 miR-5188 与 DIDO1 靶向关系的检测 利用 miRNA 靶基因预测数据库 miRDB 获取 miR-5188 潜在的靶基因, 包括 DIDO1、PARP8、WDR11、SGCB、CLDN10、WASF2、SBSPON、RUFY3 和 RPS6KA2 基因。采用双荧光素酶报告基因实验检测 miR-5188 与 DIDO1 的靶向关系。扩增 DIDO1 3'非翻译区(3'-UTR)野生型(WT)片段, 用于验证 miR-5188 是否靶向 DIDO1 mRNA 的 3'-UTR。应

用 GeneTailor™ 定点诱变系统进行 miR-5188 结合位点的定点诱变 (MT)。将 3'-UTR-WT 或 3'-UTR-MT 克隆至 psiCHECK™-2 载体中用于荧光素酶检测。将载体与 miR-5188 mimics 或对照序列共转染至 HepG2 细胞中,并在转染后 48 h 应用双荧光素酶报告基因分析系统检测 HepG2 细胞中荧光素酶活性。

1.2.9 pri-miR-5188 的加工水平检测 采用双荧光素酶报告基因实验检测 pri-miR-5188 的加工水平。构建 pri-miR-5188 加工双荧光素酶报告系统,若 pri-miR-5188 被加工,则荧光素酶因缺失 Poly (A) 尾而无法被翻译。将报告载体转染至 HepG2 细胞中,并在转染后 48 h 应用双荧光素酶报告基因分析系统检测经不同处理的 HepG2 细胞中荧光素酶活性。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,2 组间比较采用 Student's *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。采用一般线性模型重复测量方差分析比较 MTT 测定结果的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-5188 靶向 DIDO1 对 HepG2 细胞增殖能力的影响

过表达 miR-5188 后, HepG2 细胞的增殖能力增强;敲低 miR-5188 表达后, HepG2 细胞的增殖能力减弱,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),见图 1。结果显示,敲低 PARP8、WDR11、SGCB、CLDN10、WASF2、SBSPON、RUFY3 或 RPS6KA2 表达后, HepG2 细胞的增殖能力无显著变化;敲低 DIDO1 表达后, HepG2 细胞的增殖能力增强;过表达 DIDO1 后, HepG2 细胞的增殖能力减弱,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),见图 2 和图 3。过表达 miR-5188 后, HepG2 细胞中 DIDO1 的表达水平降低;敲低 miR-5188 表达后, HepG2 细胞中 DIDO1 的表达水平升高,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),见图 4。双荧光素酶报告基因实验检测结果显示, miR-5188 靶向 DIDO1 mRNA 的 3'-UTR ($P < 0.05$),见图 5。同时过表达 miR-5188 和 DIDO1 后, HepG2 细胞的增殖能力无显著变化,见图 6。

2.2 NEAT1 介导 NONO/PSF 复合体形成并促进 pri-miR-5188 的加工

与 LO2 细胞相比, HepG2 细胞中 miR-5188

和 pre-miR-5188 的表达水平均显著升高,而 pri-miR-5188 的表达水平显著降低,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05),见表 1。与 LO2 细胞相比, HepG2 细胞中 NEAT1 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$),而 NONO 和 PSF 的表达水平差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05),见表 1 和图 7。敲低 NEAT1、NONO 或 PSF 表达后, HepG2 细胞中 pri-miR-5188 的表达水平均显著升高 (P 均 < 0.05),荧光素酶活性均显著升高 (P 均 < 0.05),见图 8、9。敲除 NEAT1 后, HepG2 细胞中 pri-miR-5188 的表达水平升高, NONO 与 PSF 的相互作用减弱,并且 NONO/PSF 与 pri-miR-5188 的结合减少,见图 10、11 和 12。

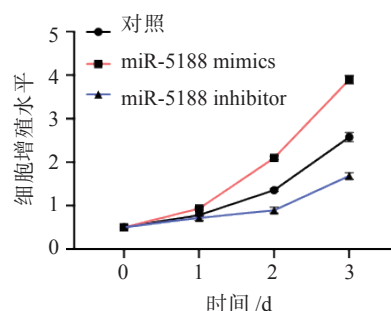


图 1 过表达或敲低 miR-5188 表达对 HepG2 细胞增殖能力的影响

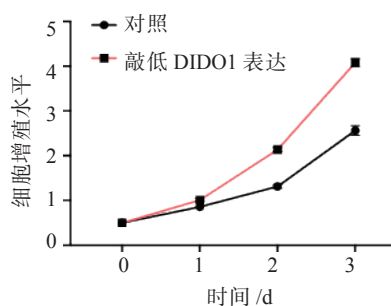


图 2 敲低 DIDO1 表达对 HepG2 细胞增殖能力的影响

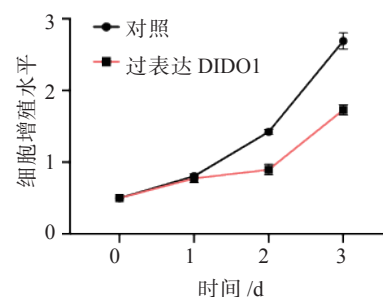


图 3 过表达 DIDO1 对 HepG2 细胞增殖能力的影响

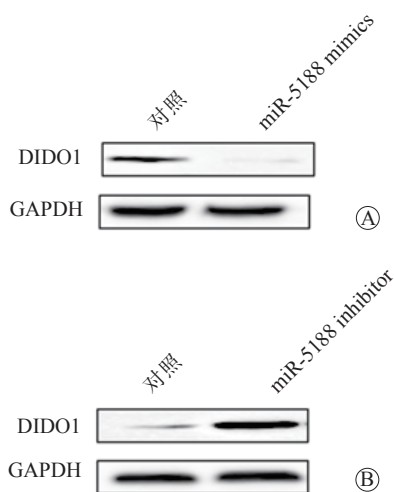


图 4 过表达或敲低 miR-5188 表达对 HepG2 细胞中 DIDO1 表达水平的影响 A 过表达 miR-5188 B 敲低 miR-5188 表达

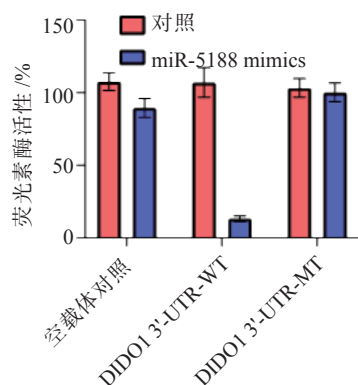


图 5 miR-5188 与 DIDO1 3'-UTR 的靶向关系

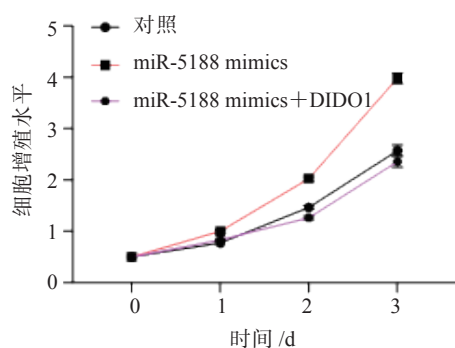


图 6 过表达 miR-5188 或同时过表达 miR-5188 和 DIDO1 对 HepG2 细胞增殖能力的影响

表 1 LO2 和 HepG2 细胞中 miR-5188、pre-miR-5188、pri-miR-5188 和 NEAT1 的表达水平比较

项目	LO2 细胞	HepG2 细胞
miR-5188	0.08 ± 0.01	0.51 ± 0.05 ^a
pre-miR-5188	0.07 ± 0.01	0.47 ± 0.06 ^a
pri-miR-5188	1.54 ± 0.06	0.50 ± 0.05 ^a
NEAT1	0.07 ± 0.02	0.48 ± 0.04 ^a

注：与 LO2 细胞相比，^a $P < 0.05$

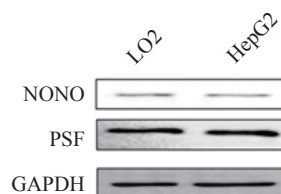
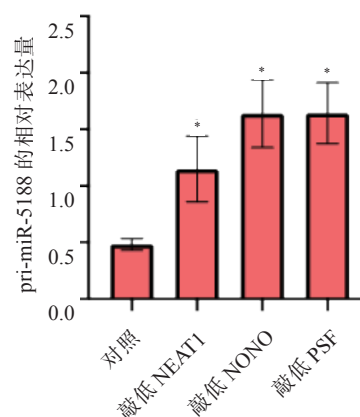


图 7 LO2 细胞和 HepG2 细胞中 NONO 和 PSF 表达的蛋白电泳图

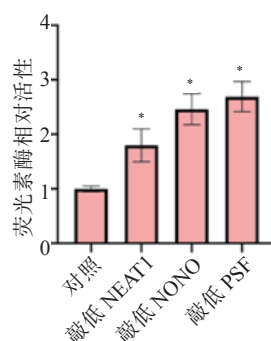
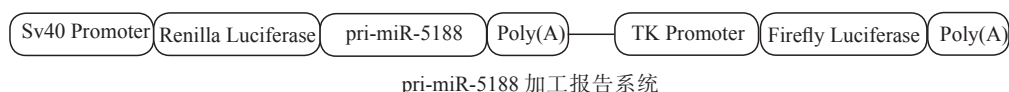


注：与对照细胞相比，^{*} $P < 0.05$

图 8 敲低 NEAT1、NONO 或 PSF 表达后对 HepG2 细胞中 pri-miR-5188 表达的影响

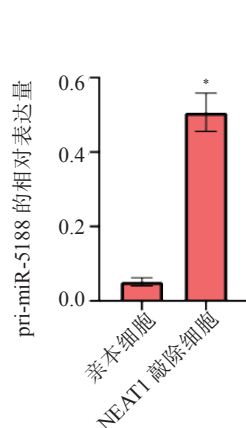
3 讨论

本研究结果显示，过表达 miR-5188 可增强 HepG2 细胞的增殖能力；而敲低 miR-5188 表达后，HepG2 细胞的增殖能力减弱；此外，miR-5188 靶向 *DIDO1* mRNA 的 3'-UTR。*DIDO1* 首次在 WOL-1 细胞中被发现，其氨基酸序列包含 1 个富含谷氨酰胺的区域、2 个锌指基序、1 个来自 N 端核定位信号的酸性序列，以及 1 个位于 C 端的富含赖氨酸的序列^[5-6]。在正常细胞质中，丝氨酸/苏氨酸上的 *DIDO1* 磷酸化水平较低^[7]；若 *DIDO1* 被磷酸化激活后，其会移位至细胞核以触发 WOL-1 细胞凋亡^[8]。由此推测，miR-5188 可能通过下调 *DIDO1* 的表达及降低肝癌细胞的凋亡水平，从而促进肝癌细胞增殖。



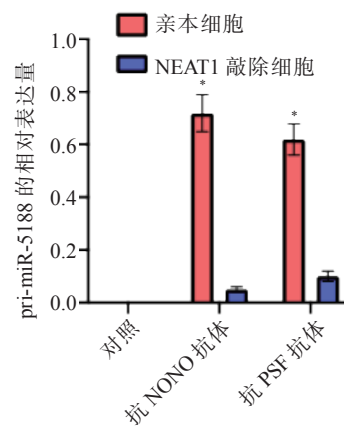
注：与对照细胞相比，* $P < 0.05$

图 9 双荧光素酶报告基因实验检测 NEAT1、NONO 或 PSF 对 pri-miR-5188 的加工水平



注：与亲本细胞相比，* $P < 0.05$

图 10 敲除 NEAT1 后对 HepG2 细胞中 pri-miR-5188 表达水平的影响



注：与对照细胞相比，* $P < 0.05$

图 12 敲除 NEAT1 后对 HepG2 细胞中 NONO/PSF 与 pri-miR-5188 相互作用的影响

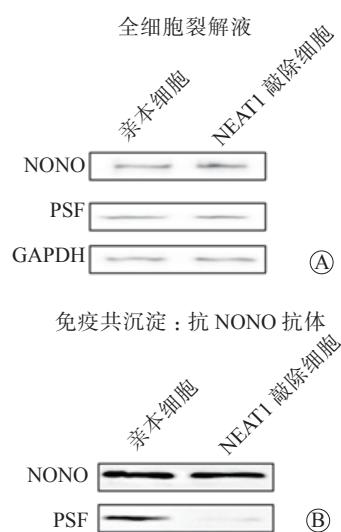


图 11 敲除 NEAT1 后对 HepG2 细胞中 PSF 与 NONO 相互作用的影响 A 蛋白质印迹法检测亲本细胞和 NEAT 敲除细胞中 NONO 和 PSF 的表达水平 B 免疫共沉淀和蛋白质印迹法检测亲本细胞和 NEAT 敲除细胞中 NONO 与 PSF 的相互作用

本研究结果显示，与 LO2 细胞相比，HepG2 细胞中 miR-5188 和 pre-miR-5188 的表达水平均显著升高，而 pri-miR-5188 的表达水平显著降低。研究发现，小部分 miRNA 是由自身基因编码的，约 80% 的 miRNA 来自各种大型编码和非编码转录物^[9]。这些最初的转录本被称为 pri-miRNA，可被细胞核中由 Drosha 和 DGCR8 组成的微处理器复合物加工成 pre-miRNA^[10]。由 Exportin 5 进行核输出后，pre-miRNA 可被 Dicer 酶进一步加工为成熟的 miRNA，然后进入 RNA 诱导的沉默复合物而发挥生物学功能^[11-13]。由此推测，提高肝癌细胞中 pri-miR-5188 的加工水平可升高成熟 miR-5188 的表达水平。本研究结果显示，敲除 NEAT1 后，HepG2 细胞中 pri-miR-5188 的表达水平升高，NONO 与 PSF 的相互作用减弱，并且 NONO/PSF 复合体与 pri-miR-5188 的结合减少。研究表明，在转录过程中和

转录后,大量 RNA 结合蛋白、RNA 解旋酶可在单个加工步骤中调节 miRNA 的生物发生^[14]。另有研究报道,NEAT1 可以促进 NONO/PSF 复合体形成^[15],这与本研究的结论相符。NONO/PSF 复合体可以结合大量表达的 pri-miRNA,并提高 Drosha-DGCR8 微处理器复合物对 pri-miRNA 的处理能力^[14]。因此,NEAT1 可以介导 NONO/PSF 复合体形成并促进 pri-miR-5188 的加工。

综上所述,HepG2 细胞中 NEAT1 的表达水平升高,提高了 NONO/PSF 复合体对 pri-miR-5188 的加工水平,增强了 miR-5188/DIDO1 轴对 HepG2 细胞增殖能力的正向作用。因此,miR-5188 可能可以作为 HCC 的潜在治疗靶点。本研究是一项基于体外细胞水平的实验,未进行临床试验或活体动物实验,下一步将构建敲除 NEAT 的小鼠模型以验证本研究结论。

参 考 文 献

- 1 Liu Y, Liu L. Changes in the epidemiology of hepatocellular carcinoma in Asia[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(18): 4473.
- 2 Deng Q, He M, Fu C, et al. Radiofrequency ablation in the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Hyperthermia*, 2022, 39(1): 1052-1063.
- 3 Sayyed AA, Gondaliya P, Bhat P, et al. Role of miRNAs in cancer diagnostics and therapy: a recent update[J]. *Curr Pharm Des*, 2022, 28(6): 471-487.
- 4 Lin X, Zuo S, Luo R, et al. HBX-induced miR-5188 impairs FOXO1 to stimulate β -catenin nuclear translocation and promotes tumor stemness in hepatocellular carcinoma[J]. *Theranostics*, 2019, 9(25): 7583-7598.
- 5 García-Domingo D, Leonardo E, Grandien A, et al. DIO-1 is a gene involved in onset of apoptosis in vitro, whose misexpression disrupts limb development[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(14): 7992-7997.
- 6 Salehi S, Forghanifard MM. SOX1 and DIDO1 co-under-expression is correlated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Oncol*, 2022, 2(1): 1025.
- 7 Zhang Y, Jiang J, Zhang J, et al. CircDIDO1 inhibits gastric cancer progression by encoding a novel DIDO1-529aa protein and regulating PRDX2 protein stability[J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 101.
- 8 Li J, Wang AS, Wang S, et al. Death-inducer obliterator 1 (DIDO1) silencing suppresses growth of bladder cancer cells through decreasing SAPK/JNK signaling cascades[J]. *Neoplasia*, 2020, 67(5): 1074-1084.
- 9 Leitão AL, Enguita FJ. A structural view of miRNA biogenesis and function[J]. *Noncoding RNA*, 2022, 8(1): 10.
- 10 Cambiagno DA, Giudicatti AJ, Arce AL, et al. HASTY modulates miRNA biogenesis by linking pri-miRNA transcription and processing[J]. *Mol Plant*, 2021, 14(3): 426-439.
- 11 Jung HJ, Choi SW, Boo KH, et al. HYL1-CLEAVAGE SUBTILASE 1 (HCS1) suppresses miRNA biogenesis in response to light-to-dark transition[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(6): e2116757119.
- 12 Park SJ, Choi SW, Kim GM, et al. Light-stabilized FHA2 suppresses miRNA biogenesis through interactions with DCL1 and HYL1[J]. *Mol Plant*, 2021, 14(4): 647-663.
- 13 Li M, Yu H, Liu K, et al. Serrate - Associated Protein 1, a splicing - related protein, promotes miRNA biogenesis in Arabidopsis[J]. *New Phytol*, 2021, 232(5): 1959-1973.
- 14 Michlewski G, Cáceres JF. Post-transcriptional control of miRNA biogenesis[J]. *RNA*, 2019, 25(1): 1-16.
- 15 Jiang L, Shao C, Wu QJ, et al. NEAT1 scaffolds RNA-binding proteins and the Microprocessor to globally enhance pri-miRNA processing[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(10): 816-824.

(收稿日期: 2023-02-27)

(本文编辑: 周骏)