

网络出版时间: 2019-12-2 13:42 网络出版地址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20191126.1716.017.html

kshv-mir-k12-1-5p 靶向调控 CDKN1A 影响卡波西肉瘤的细胞周期

张静¹ 彭靖淇² 吴秀娟³ 普雄明³

摘要 目的 研究 kshv-mir-k12-1-5p 通过靶向调控细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1A(CDKN1A) 影响卡波西肉瘤(KS)的细胞周期。方法 生物信息学软件预测 kshv-mir-k12-1-5p 是否有 CDKN1A 的结合位点;双荧光素酶实验检测 kshv-mir-k12-1-5p 是否靶向结合 CDKN1A;将 kshv-mir-k12-1-5p 模拟物(mimics)/抑制物(inhibitor)分别转染到卡波西肉瘤细胞株(SLK)中,Western blot 和 qRT-PCR 方法检测 kshv-mir-k12-1-5p 对 CDKN1A 的调控作用;PI 法检测 kshv-mir-k12-1-5p 对 KS 细胞周期的影响。结果 Mirbase 靶基因预测软件分析显示:kshv-mir-k12-1-5p 与 CDKN1A 的 3'非翻译区(3'UTR)有结合位点;荧光素酶活性结果分析证实 kshv-mir-k12-1-5p 可特异性的作用于结合位点($P < 0.01$);Western blot 和 qRT-PCR 结果显示:在蛋白水平和 mRNA 水平上 kshv-mir-k12-1-5p 可显著降低 CDKN1A 的表达水平($P < 0.01$);PI 实验结果显示:与其余各组比较,kshv-mir-k12-1-5p mimics 组 PI 值($51.43 \pm 0.75\%$)最高($P < 0.01$),能加速 KS 细胞周期进程;与其余各组比较,kshv-mir-k12-1-5p inhibitor 组 PI 值($32.74 \pm 1.28\%$)最低($P < 0.01$),能减慢 KS 细胞周期进程。结论 CDKN1A 是 kshv-mir-k12-1-5p 的靶基因,kshv-mir-k12-1-5p 可能通过靶向抑制 CDKN1A 的表达影响卡波西肉瘤的细胞周期。

关键词 卡波西肉瘤相关病毒编码的微小核糖核酸-k12-1-5p;细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1A;卡波西肉瘤;细胞周期

中图分类号 R 739.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)12-1923-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.12.017

卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma,KS)是内皮细胞起源的恶性肿瘤^[1]。卡波西肉瘤相关病毒(KSHV)属于 $\gamma 2$ 疱疹病毒^[2],是 KS 最重要的病原体。KSHV 主要通过编码 miRNAs 在 KS 中发挥作用^[3]。

2019-06-03 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81660454);新疆医科大学附属中医医院院级课题(编号:ZYY201702)

作者单位:新疆医科大学附属中医医院¹ 病理科、² 外一科 3 组,乌鲁木齐 830000³ 新疆维吾尔自治区人民医院皮肤科,乌鲁木齐 830001

作者简介:张静,女,副主任医师,责任作者,E-mail:565992809@qq.com

miRNAs 是非编码小分子 RNA^[4]。miRNAs 通过结合靶基因 3'UTR 区下调或沉默靶基因的表达^[5]。miRNAs 调控超过 1/3 的人类基因^[6],通过复杂的机制在各种细胞过程中发挥重要作用,广泛参与肿瘤的形成和发展^[7-8]。Wu et al^[9] 研究显示:13 个 KSHV miRNAs 在 KS 中表达全部上调,其中 kshv-mir-k12-1-5p 上调最高,KSHV miRNAs 主要通过调控或改变细胞周期导致 KS 的发生^[10],故推测 kshv-mir-k12-1-5p 可能与细胞周期的调控密切相关。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1A(CDKN1A)是功能强大的细胞周期负调控因子。miRNAs 通过抑制靶基因的翻译而发挥其生物学功能^[11]。现研究 kshv-mir-k12-1-5p 对靶基因(CDKN1A)的抑制作用及对 KS 细胞周期的影响,为 KS 的靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要试剂 卡波西肉瘤细胞株(KS cell line,SLK)(美国 NIH AIDS Research and Reagent Program 提供);293T cells(美国 Open Biosystems 公司);双荧光素酶报告系统试剂盒(美国 Promega 公司);Lipofectamine 2000、TRIzol 试剂盒(美国 Invitrogen 公司);kshv-mir-k12-1-5p 模拟物(mimics)、kshv-mir-k12-1-5p 抑制物(inhibitor)、mimics 阴性对照(NC)、inhibitor NC(上海吉玛技术有限公司);RIPA 裂解液、细胞周期分析试剂盒(上海碧云天生物技术公司);CDKN1A、GAPDH、HRP(美国 Abcam 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 使用对数生长期细胞密度为 80% 的 SLK 细胞(KS 细胞)。将 SLK 细胞按每孔 2×10^5 细胞接种于 96 孔板中,培养 24 h。Western blot、qRT-PCR 及细胞周期 PI 实验均分 5 组进行:mimics 组、inhibitor 组、mimics NC 组、inhibitor NC 组、正常细胞组(normal cell group)。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂将实验 5 组分别转染到 SLK 中,转染时间为 48 h。

1.2.2 双荧光素酶实验 将野生型(WT)和突变型(MUT) CDKN1A 3'UTR 扩增并构建为 pYr-mir-Target 重组质粒。然后用 Lipofectamine 2000 转染试剂将重组质粒(1 μg)和 kshv-mir-k12-1-5p mimics、mimics NC (50 nmol/L) 共转染 293T 细胞(5 × 10⁴)。转染 24 h 后,使用双荧光素酶测定系统检测荧光素酶相对活性。

1.2.3 Western blot(WB) 检测 使用 400 μl RIPA 裂解液(50 mmol/L Tris/pH7.4、150 mmol/L NaCl、1% NP-40、0.5% sodium deoxycholate、0.1% SDS、sodium orthovanadate、sodium fluoride、EDTA、leupeptin) 提取细胞总蛋白。根据蛋白质含量,绘制标准曲线。制备层叠凝胶(5%)和分离凝胶(12%)。然后进行电泳(1.5 h、100 V)。当溴酚蓝到达凝胶板底部时,电泳结束。将蛋白转移到膜上,整个过程持续 70 min,用脱脂奶粉(5%)阻断膜 2 h。一抗 CDKN1A 稀释(1:1 000)、GAPDH 稀释(1:1 000)在 4 °C 下孵育过夜。HRP 二抗稀释(1:10 000)在 37 °C 下孵育 2 h、使用增强化学发光成像。利用 Band-Scan 进行灰度值分析。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR) 检测 使用 1 ml TRIzol 提取细胞总 RNA。用 miScript SYBR Green PCR Kit 试剂盒检测 mRNA 和 miRNA 的表达水平。大约 3 μg 的总 RNA 用于互补 DNA(cDNA)的合成。使用 2 μl 的 cDNA 进行 PCR 扩增。反应条件为:95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 32 s, 40 个循环; 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s, 60 °C 15 s, 运用 2^{-ΔΔCt} 相对定量法进行数据分析。CDKN1A 引物(F: 5'-CCCGTGAGCCGATGGAACCTT-3'; R: 5'-CGAGGCACAAGGCTACAAGAC-3'); 以 GAPDH 作为对照(F: 5'-TCAAGAAGGTGGTGAAG-CAGG-3'; R: 5'-TCAAAGGTGGAGGAGTGGGT-3'); kshv-mir-k12-1-5p 引物(F: 5'-TGCGCATTACAGGAAACTGGGTG-3'; R: 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3'; 茎-环结构引物(stem-loop): 5'-GTCC TATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATA CGACGCTTACAC-3')。以 U6 作为对照(F: 5'-CGCTTCGGCAGCACATATAC-3'; R: 5'-AAATATGGAACGCTTCACGA-3')。

1.2.5 细胞周期(PI 法) 测定 将 kshv-mir-k12-1-5p mimics、inhibitor 等(50 nmol/L) 分别转染到 SLK 细胞中。48 h 后获得 2 × 10⁵ 个细胞。用 200 μl 的细胞液离心 5 min,用 PBS 洗涤细胞 2 次。随后,细胞在 -20 °C 下用 75% 乙醇固定 1 h,在 4 °C 下预冷。

用冷 PBS 再次清洗细胞。细胞周期分析试剂盒的使用方法参照生产厂家提供的说明书,将 Rnase A 溶液(20 μl)加入细胞,37 °C 下置于水浴中 30 min,然后将 PI 染料溶液(400 μl)加入混合物中,4 °C 下在黑暗中孵育。采用流式细胞术检测,检测波长 488 nm。(PI 值 = S + G2/G1 + S + G2,其中 PI 为增殖活性指数。PI 值越大,细胞周期进程越快,细胞周期时间越短,细胞增殖越快。)

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析。进行方差齐性检验,正态性检验。计量资料实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。单变量两组资料之间的比较采用 *t* 检验;多组资料之间的比较采用单因素方差分析;方差不齐采用非参数检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 kshv-mir-k12-1-5p 的转染水平 将 kshv-mir-k12-1-5p mimics、inhibitor 等分别转染到 SLK 细胞中,qRT-PCR 结果显示,mimics 组 kshv-mir-k12-1-5p 转染水平最高(4.43 ± 0.07),inhibitor 组 kshv-mir-k12-1-5p 转染水平最低(0.72 ± 0.02)。各组转染水平的差异有统计学意义(*F* = 2 971.42,*P* < 0.01),见图 1。

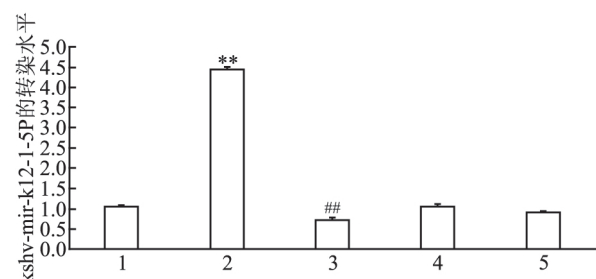


图1 qRT-PCR 检测 kshv-mir-k12-1-5p 的转染水平

1: normal cell group; 2: mimics 组; 3: inhibitor 组; 4: mimics NC 组; 5: inhibitor NC 组; 与 mimics NC 组比较: ***P* < 0.01; 与 inhibitor NC 组比较: ##*P* < 0.01

2.2 CDKN1A 3'UTR 与 kshv-mir-K12-1-5p 的结合位点预测 通过 Mirbase (<http://www.mirbase.org/>) 靶基因预测软件分析,从数百个靶基因中选择 CDKN1A 作为 kshv-mir-K12-1-5p 的靶基因验证,因为 CDKN1A 与细胞周期调控密切相关,是功能强大的细胞周期负性调控因子。图 2 显示了 CDKN1A 3'UTR 与 kshv-mir-K12-1-5p 的种子区序列(Seed sequence)的结合位点。

2.3 kshv-mir-k12-1-5p 特异靶向 CDKN1A

293T 细胞分别转染 kshv-mir-k12-1-5p mimics + CDKN1A-WT、mimics NC + CDKN1A-WT、kshv-mir-k12-1-5p mimics + CDKN1A-MUT 和 mimics NC + CDKN1A-MUT。24 h 后测定荧光素酶的相对活性。kshv-mir-k12-1-5p mimics 和 CDKN1A-WT 共转染后相对荧光素酶活性降低 (4.56 ± 0.18)；kshv-mir-k12-1-5p mimics 和 CDKN1A-MUT 共转染后相对荧光素酶活性无明显变化 (7.11 ± 0.17)。mimics NC 和 CDKN1A-WT/CDKN1A-MUT 转染后相对荧光素酶活性无明显影响 [(6.29 ± 0.19) vs (7.04 ± 0.21)]。各组荧光素酶的相对活性差异有统计学意义 ($F = 28.31, P < 0.01$)。因此,CDKN1A 是 kshv-mir-k12-1-5p 直接作用的靶基因。见图 3。

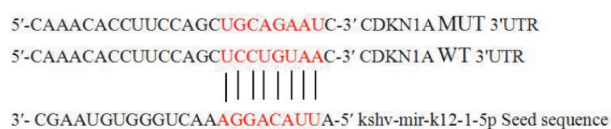


图2 CDKN1A 3'UTR 与 kshv-mir-k12-1-5p 的结合位点

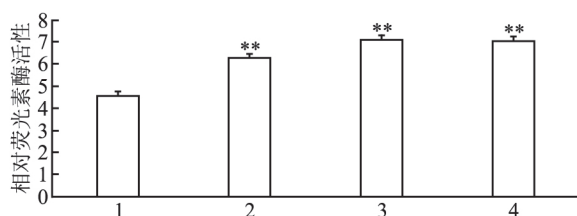


图3 各组相对荧光素酶活性

1: mimics + CDKN1A-WT 组; 2: mimics NC + CDKN1A-WT 组; 3: mimics + CDKN1A-MUT 组; 4: mimics NC + CDKN1A-MUT 组; 与 mimics + CDKN1A-WT 组比较: ** $P < 0.01$

2.4 kshv-mir-k12-1-5p 负性调控靶基因 CDKN1A 的表达

转染 kshv-mir-k12-1-5p mimics 后,SLK 细胞中 CDKN1A 的蛋白表达水平显著低于其余 4 组;转染 kshv-mir-k12-1-5p inhibitor 后,SLK 细胞中 CDKN1A 的蛋白表达水平显著高于其余 4 组;转染 kshv-mir-k12-1-5p mimics 后,SLK 细胞中 CDKN1A mRNA 的表达水平显著低于其余 4 组;转染 kshv-mir-k12-1-5p inhibitor 后,SLK 细胞中 CDKN1A mRNA 的表达水平显著高于其余 4 组。各组 CDKN1A 的蛋白水平 ($F = 76.10, P < 0.01$) 和 mRNA 表达水平 ($F = 83.31, P < 0.01$) 差异有统计学意义。因此, kshv-mir-k12-1-5p 可以负调控靶基因 CDKN1A 的表达。见图 4。

2.5 kshv-mir-k12-1-5P 对 SLK 细胞周期的影响

转染 SLK 细胞 48 h 后,用流式细胞术检测细胞周期分布情况。结果显示:与其余 4 组比较, kshv-mir-k12-1-5p mimics 组 PI 值最高,G1 期细胞数量最少,S + G2 期细胞数量最多;与其余 4 组比较, kshv-mir-k12-1-5p inhibitor 组 PI 值最低,G1 期细胞数量最多,S + G2 期细胞数量最少。各组 PI 值差异有统计学意义 ($F = 220.01, P < 0.01$)。因此, kshv-mir-k12-1-5P 可加速细胞周期进程,缩短细胞周期时间,促进细胞增殖,促进 G1/S 期转换。见图 5。

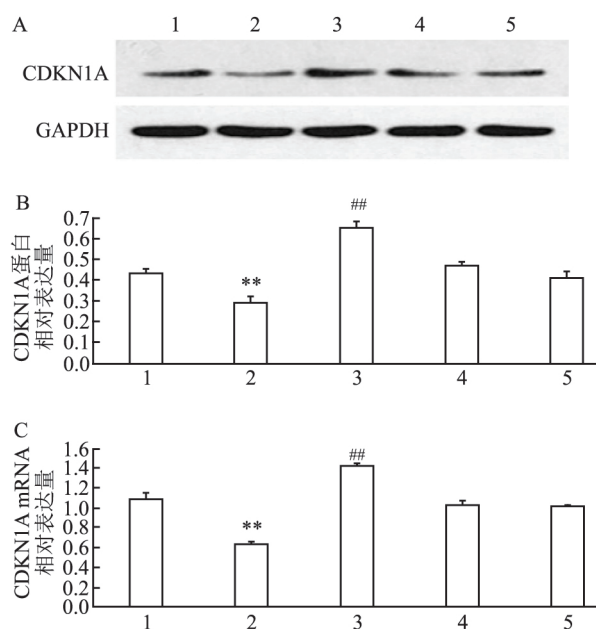


图4 kshv-mir-k12-1-5p 负性调控靶基因 CDKN1A 的表达

A: Western blot 法检测结果图; B: CDKN1A 蛋白相对表达量; C: CDKN1A mRNA 相对表达量; 1: normal cell group; 2: mimics 组; 3: inhibitor 组; 4: mimics NC 组; 5: inhibitor NC 组; 与 mimics NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 inhibitor NC 组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

卡波西肉瘤是间叶源性高度播散的血管肉瘤^[1]。其在中国新疆高发,主要见于维吾尔族和哈萨克族。KS 与获得性免疫缺陷综合征 (AIDS)、KSHV、血管生成细胞分化和遗传易感性有关。KSHV 是导致人类恶性肿瘤的七种病毒之一,可引起人类宿主终身感染,是 KS 的重要致病因子。KSHV 主要通过编码的 miRNAs 发挥作用,KSHV miRNAs 对宿主细胞的周期及自身周期均有重要的调控作用,最终可以诱导肿瘤的发生^[10]。

Catrina Ene et al^[12]通过基因芯片分析了 17 例 KS 样本与 3 例正常皮肤样本中 miRNAs 的表达差异,结果显示: kshv-mir-k12-4-3p、kshv-mir-k12-1 在

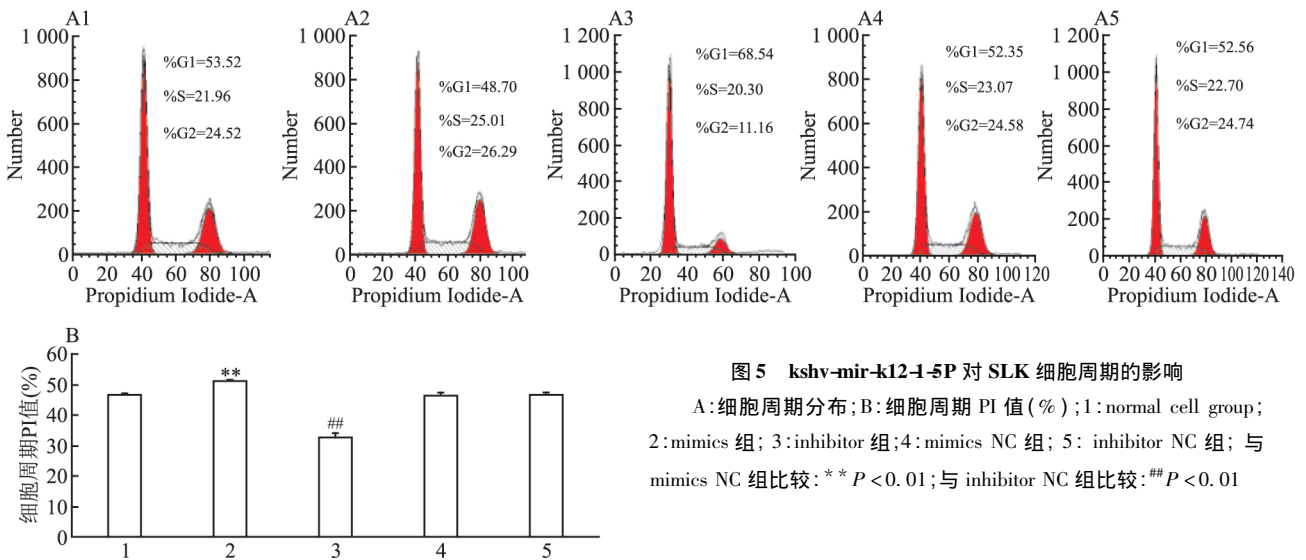


图5 kshv-mir-k12-1-5P对SLK细胞周期的影响

A:细胞周期分布;B:细胞周期PI值(%);1:normal cell group; 2:mimics组; 3:inhibitor组;4:mimics NC组; 5: inhibitor NC组;与 mimics NC组比较:**P<0.01;与 inhibitor NC组比较:##P<0.01

KS中表达明显上调,Wu et al^[9]通过KS及瘤旁组织中miRNAs表达差异谱分析得出:69个miRNAs在KS中表达明显上调,101个miRNAs表达明显下调。其中kshv-mir-k12-1-5p表达上调最为明显。因此高表达的kshv-mir-k12-1-5p可能与KS的细胞调控密切相关,但需要进一步验证。miRNAs的功能研究关键在于其靶基因的确定。因为miRNAs通过抑制靶基因的功能来发挥生物学作用^[11]。如KSHV感染的淋巴瘤细胞中KSHV miRNA调控的潜在靶基因在该病的发病机制中起关键作用^[13]。

CDKN1A是细胞周期相关基因,位于6号染色体上。作为一种抑癌基因,在肿瘤中广泛低表达。细胞周期有两个重要的检查点:G1/S期和G2/M期。从细胞周期进程来看,G1/S期的检查点调控比G2/M期更为重要。CDKN1A主要作用于G1/S期检查点^[14]抑制G1期向S期进展。与P53间接作用细胞周期不同,CDKN1A直接与Cyclin/CDK复合蛋白或CDK蛋白激酶结合,负性调控细胞周期。当受到化学或物理刺激时,CDKN1A可以修复损伤的DNA,如果CDKN1A受到抑制,细胞没有完全修复直接进入细胞周期,复制错误遗传信息,将导致肿瘤的发生^[15]。

本研究通过检测荧光素酶表达活性确定了kshv-mir-k12-1-5p可特异性地作用于CDKN1A-3'UTR的结合位点,CDKN1A是kshv-mir-k12-1-5p作用的靶基因。通过体外细胞实验发现:kshv-mir-k12-1-5p表达上调时,SLK细胞中CDKN1A的蛋白和mRNA表达水平均明显下降;kshv-mir-k12-1-5p表达下调时,CDKN1A的蛋白及mRNA表达水平明显升高,可见kshv-mir-k12-1-5p能负性调控CD-

KN1A的表达。此外,本研究应用细胞周期PI法分析kshv-mir-k12-1-5p对KS细胞周期的影响,结果表明:kshv-mir-k12-1-5p过表达后KS细胞的G1期细胞数量明显减少,S期和G2期细胞数量明显增加;抑制kshv-mir-k12-1-5p表达后,KS细胞发生G1期细胞阻滞,S期和G2期细胞数量明显减少。因此kshv-mir-k12-1-5p可以促进KS细胞G1/S期转换,加速细胞周期的进程。下一步本课题组将进行体内动物实验,明确kshv-mir-k12-1-5p和靶基因共同参与KS发生、发展的机制,为KS的治疗提供理论依据和技术支持。

综上,kshv-mir-k12-1-5p可能通过下调或沉默靶基因CDKN1A的表达发挥细胞周期调控作用。它具有促癌基因的功能,正性调控KS的细胞周期,缩短细胞周期时间,促进G1/S期转换。导致细胞周期调控紊乱,诱导KS的发生。而抑制kshv-mir-k12-1-5p的表达有可能成为KS的一个新的治疗靶点。

参考文献

[1] Gay L A , Sethuraman S , Thomas M , et al. Modified cross-linking , ligation , and sequencing of hybrids (qCLASH) identifies Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus microRNA targets in endothelial cells[J]. J Virol , 2018 , 92(8) : e02138 - 17.

[2] Hellert J , Weidner-Glunde M , Krausz J , et al. The 3D structure of Kaposi sarcoma herpesvirus LANA C-terminal domain bound to DNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA , 2015 , 112(21) : 6694 - 9.

[3] Qin J , Li W , Gao S J , et al. KSHV microRNAs: tricks of the devil [J]. Trends Microbiol , 2017 , 25(8) : 648 - 61.

[4] 林 珏 , 沈 洲 , 牛三强 , 等. 膀胱癌中miR-203的表达及其对吉西他滨化疗敏感性的影响[J]. 安徽医科大学学报 , 2018 , 53(1) : 71 - 5.

- [5] Loffreda A ,Rigamonti A ,Barabino S M ,et al. RNA-binding proteins in the regulation of miRNA activity: a focus on neuronal functions[J]. *Biomolecules* ,2015 5(4):2363 –87.
- [6] 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.
- [7] Zhang W ,Han S ,Sun K. Combined analysis of gene expression , miRNA expression and DNA methylation profiles of osteosarcoma [J]. *Oncol Rep* 2017 37(2) :1175 –81.
- [8] Wang Y ,Zhang M ,Wang Q ,et al. MicroRNA-142-3p inhibits hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis and fibrosis of cardiomyocytes by targeting high mobility group box 1 [J]. *Int J Mol Med* , 2016 38(5) :1377 –86.
- [9] Wu X J , Pu X M , Zhao Z F , et al. The expression profiles of microRNAs in Kaposi's sarcoma [J]. *Tumour Biol* , 2015 36(1) : 437 –46.
- [10] Wei F ,Gan J ,Wang C ,et al. Cell cycle regulatory functions of the KSHV oncoprotein LANA [J]. *Front Microbiol* 2016 7:334.
- [11] Kim H S ,Shen Q ,Nam S W. Histone deacetylases and their regulatory microRNAs in hepatocarcinogenesis [J]. *J Korean Med Sci* , 2015 30(10) :1375 –80.
- [12] Catrina Ene A M ,Borze I ,Guled M , et al. MicroRNA expression profiles in Kaposi's sarcoma [J]. *Pathol Oncol Res* , 2014 20(1) :153 –9.
- [13] Quan L ,Qiu T ,Liang J ,et al. Identification of target genes regulated by KSHV miRNAs in KSHV-infected lymphoma cells [J]. *Pathol Oncol Res* 2015 21(4) : 875 –80.
- [14] Chhabria S V , Akbarsha M A ,Li A P , et al. In situ allucin generation using targeted alliinase delivery for inhibition of MIA PaCa-2 cells via epigenetic changes ,oxidative stress and cyclin-dependent kinase-inhibitor (CDKI) expression [J]. *Apoptosis* , 2015 , 20(10) :1388 –409.
- [15] Dutto I ,Tillhon M ,Cazzalini O ,et al. Biology of the cell cycle inhibitor p21 (CDKN1A) : molecular mechanisms and relevance in chemical toxicology [J]. *Arch Toxicol* 2015 89(2) :155 –78.

kshv-mir-k12-1-5p affects cell cycle of Kaposi's sarcoma by targeting regulation of CDKN1A

Zhang Jing¹ ,Peng Jingqi² ,Wu Xiujian³ ,et al

(¹Dept of Pathology ,²The Third Group ,The First Department of Surgery ,Affiliated
Traditional Chinese Medicine Hospital ,Xinjiang Medical University ,Urumqi 830000 ;

³Dept of Dermatology ,Pepole's Hospital of Xinjiang ,Uygur Autonomous Region ,Urumqi 830000)

Abstract Objective To investigate the impact of kshv-mir-k12-1-5p on Kaposi's sarcoma (KS) cell cycle by targeting CDKN1A. **Methods** The bioinformatics was used to predict whether the kshv-mir-k12-1-5p existed binding sites with CDKN1A. Dual luciferase assay was used to detect whether kshv-mir-k12-1-5p can target CDKN1A. kshv-mir-k12-1-5p mimics/inhibitor was transfected into Kaposi's sarcoma cell line (SLK) respectively. Western blot and qRT-PCR were used to detect the regulatory effect of kshv-mir-k12-1-5p on CDKN1A. PI method was used to detect the effect of kshv-mir-k12-1-5p on KS cell cycle. **Results** Mirbase target gene prediction software analysis showed that kshv-mir-k12-1-5p had binding sites with 3'UTR of CDKN1A; Luciferase activity results confirmed that kshv-mir-k12-1-5p can specifically act on binding sites ($P < 0.01$); Western blot and qRT-PCR results showed that kshv-mir-k12-1-5p could significantly reduce the expression CDKN1A at protein and mRNA levels ($P < 0.01$); PI assay results showed that the mimics group had the highest PI value (51.43 ± 0.75)% compared with other groups ($P < 0.01$), which could accelerate the process of KS cell cycle. The inhibitor group had the lowest PI value (32.74 ± 1.28)% compared with other groups ($P < 0.01$), which could slow down the process of KS cell cycle. **Conclusion** CDKN1A is a target gene of kshv-mir-k12-1-5p, and kshv-mir-k12-1-5p may affect KS cell cycle by targeting and inhibiting CDKN1A expression.

Key words kshv-mir-k12-1-5p; CDKN1A; Kaposi's sarcoma; cell cycle