

Исследование ингибирующего действия растительной микроРНК *miR5338* на *Mfn1*, способствующего лечению ДГПЖ при помощи рапсовой пчелиной пыльцы.

Сюань Чен (*Xuan Chen*), Рэнь-чжао Ву (*Ren-zhao Wu*), Юн-цянь Чжу (*Yong-qiang Zhu*), Цзэмин Рэнь (*Ze-ming Ren*), Е-лин Тон (*Ye-ling Tong*), Фэн Ян (*Feng Yang*) и Гуань Хай Дай (*Guan-hai Dai*) *

Аннотация

Предпосылки: В ходе недавних исследований было обнаружено, что микроРНК растений могут регулировать экспрессию генов у людей и других млекопитающих, тем самым оказывая противодействие заболеваниям. Могут ли экзогенные микроРНК проникать через гемато-простатический барьер в предстательную железу и принимать участие в лечении заболеваний простаты?

Методы: используя HiSeq секвенирование и технологию кПЦР-РВ (RT-qPCR), мы определили растительные микроРНК, которые попадали в предстательную железу крыс в трех группах: нормальной группе, модельной группе с ДГПЖ и группе, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу. Для прогнозирования функций этих микроРНК было использовано программное обеспечение psRobot и программное обеспечение TargetFinder для предсказания кандидатов в гены-мишени в геноме крысы. Технология qRT-PCR была использована для валидации экспрессии кандидатов в гены-мишени.

Результаты: Растительная *miR5338* попадала в задние доли предстательной железы у крыс, получавших рапсовую пчелиную пыльцу, что сопровождалось положительным эффектом в отношении ДГПЖ. Среди предсказанных генов-мишеней *miR5338* экспрессия *Mfn1* была значительно ниже в задних долях предстательной железы у крыс в группе, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу, по сравнению с контрольными группами. Дальнейшие эксперименты дали основание предполагать, что *Mfn1* тесно связан с ДГПЖ.

Выводы: Результаты проведенного исследования дают основание предполагать, что растительная *miR5338* может участвовать в лечении ДГПЖ у крыс посредством ингибирования *Mfn1* в предстательной железе. Полученные результаты служат в пользу доказательства кросс-регуляции генов животных растительными микроРНК и обеспечивают предварительную теоретическую и экспериментальную основу для разработки инновационного лекарственного средства или медицинской продукции для лечения ДГПЖ.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы, *miR5338*, *Mfn1*, пчелиная пыльца рапса, кросс-регуляция

Предпосылки

Современные исследования показали, что полученная из растений микроРНК (миРНК) может перекрестно регулировать экспрессию генов у людей и других млекопитающих и влиять на физиологические и патологические процессы млекопитающих [1].

* Для корреспонденции: 88912292@163.com

Институт фундаментальной медицины, Академия традиционной китайской медицины провинции Чжэцзян (Institute of Basic Medicine, Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine) No. 132, Tianmushan Road, Xihu District, Hangzhou, Zhejiang, China

© Автор(ы). Открытый доступ 2018 г. Эта статья распространяется на условиях Международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение материала на любом носителе при условии, что будет предоставлена ссылка на автора (авторов) и источник, а также ссылка на лицензию Creative Commons с указанием изменений, при наличии. Добровольный отказ в соответствии с лицензией передачи в общественное достояние Creative Commons (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) применяется к данному, доступным в этой статье, если не указано иное

МиРНК представляют собой разновидность малых РНК состоящих из приблизительно 22 нуклеотидов. Они участвуют во многих ключевых биологических процессах, регулируя экспрессию генов на пост транскрипционных уровнях [2]. Чжан и соавт. (Zhang et al.) впервые установили, что экзогенная растительная миРНК под названием *miR168a* может подавить трансляцию белка-адаптера 1 рецептора липопротеинов низкой плотности млекопитающих в печени и, следовательно, замедлить вывод липопротеинов низкой плотности из плазмы мышей [1]. После этого несколькими группами исследователей были обнаружены множественные растительные миРНК в крови, молоке, органах и кале человека и других млекопитающих [3–6]. Примечательно, что некоторые растительные миРНК после попадания в клетки млекопитающих могут специфически противостоять вирусам гриппа [7], раку толстой кишки [8], раку молочной железы [9] и другим заболеваниям.

Пыльца — это мужской гаметофит полового размножения цветковых растений. Пыльцу часто собирают пчелы, поэтому ее обычно называют пчелиной пылью. Рапсовая пчелиная пыльца является самой высоко производимой пылью в Китае и служит исходным сырьем для производства препарата под названием «Цянь Ли Кан» (Qian Lie Kang), который используется для лечения заболеваний предстательной железы. Ранее мы сообщали, что миРНК из рапсовой пчелиной пыльцы могут всасываться в кровь мышей [10]. В то время, как случайным образом выбранные миРНК *miR169j* и *miR167b* не были обнаружены в предстательной железе мышей, причина может быть в том, что определенные виды экзогенных миРНК накапливаются в определенных органах и случайным образом выбранные миРНК могли не быть поглощены непосредственно предстательной железой.

Итак, могут ли миРНК, полученные с питанием, преодолевать гемато-простатический барьер [11] и попасть в предстательную железу, а затем участвовать в лечении заболеваний простаты? Результаты исследований по данному вопросу на данный момент опубликовано не было.

В настоящем исследовании мы определили, может ли растительная миРНК поглощаться предстательной железой и может ли она участвовать в лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) у крыс.

Методы

Эксперименты на крысах

Взрослые самцы крыс SD (6 недель) весом около 200 гр. были закуплены в лаборатории Shanghai Sirc Laboratory Animal Co. Ltd. Они были размещены в стандартных условиях. Все эксперименты на животных были одобрены Этическим комитетом по экспериментам на животных Академии традиционной китайской медицины провинции Чжэцзян (№:[2016]040, Чжэцзян, Китай).

Шесть крыс были случайным образом отобраны в нормальную группу, а остальные крысы получали внутривенную инъекцию Тестостерона пропионата (ТП, Shanghai General Pharmaceutical CO., LTD, Китай) в дозировке 2 мг/кг в течение 14 дней. После морфологической детерминации крыс с ДГПЖ случайным образом разделяли на 2 группы: группа, получавшая рапсовую пчелиную пыльцу и контрольная группа (кол-во = 6).

Рапсовая пыльца была преобразована в суспензию (0,639 г/мл). Группе крыс, получавших рапсовую пчелиную пыльцу, через желудочный зонд вводили (10 мл/кг) суспензии (конечное количество пыльцы: 6,39 г/кг), а крысам в нормальной группе вводили через желудочный зонд чистую воду (10 мл/кг). Далее, дозировка ТП была уменьшена вдвое (до 1 мг/кг) и вводилась в течение последующих 3 недель. Крысы в нормальной группе получали оливковое масло в соответствующей дозировке (2 мг/кг в течение первых 2 недель, затем 1 мг/кг в течение последующих 3 недель вес каждой крысы регистрировали два раза в неделю. Через два часа после последней инъекции каждую крысу анестезировали 50 мг пентобарбитала натрия (2%). Затем каждая доля простаты была иссечена и взвешена. Далее у каждой крысы извлекались и замораживались все внутренние органы с целью дальнейшего изучения, поэтому всех крыс умерщвляли на испытательном стенде.

Глубокое секвенирование и биоинформационный анализ

В процедуре секвенирования участвовала тотальная РНК, экстрагированная из задних долей предстательной железы крыс, с использованием реагента Тризол (Trizol)(Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, США) в соответствии с инструкцией производителя. Затем малые РНК (18-30 нт) выделяли и фрагментировали методом ПААГ (PAGE) электрофореза и лигировали с помощью 3'- и 5'-адаптера, затем проводили обратную транскрипцию в кДНК и амплификацию при помощи ПЦР (PCR). Продукты ПЦР в диапазоне 62 ~ 75 нт были выделены и очищены методом ПААГ электрофореза и использованы для построения библиотеки. Для качественного и количественного анализа библиотеки образцов были использованы биоанализатор Agilent 2100 и система ПЦР в режиме реального времени ABI StepOnePlus. Далее библиотека была секвенирована с использованием системы секвенирования HiSeq. Теги HiSeq секвенирования прошли через анализ очистки данных с целью получения достоверных чистых тегов. Далее распределение длин чистых тегов и общих и специфических последовательностей между образцами суммировалось. Затем стандартный анализ аннотировал чистые теги на разные категории и использовал те, которые нельзя было аннотировать ни к одной категории, для предсказания новой миРНК, используя Mireap или Mirdeep. Затем мишени каждой миРНК были предсказаны с использованием программного обеспечения psRobot и TargetFinder.

кПЦР-РВ (RT-qPCR)

Тотальную РНК каждого образца экстрагировали с использованием реагента Trizol® (ambion®, произведенный Lifetechnologies™, США) в соответствии с инструкцией с небольшими модификациями. В место 0,5 мл 100% изопропанола был добавлен 1 мл для более полного осаждения миРНК. Соответственно, для очистки осадок промывали 75% этанолом дважды, вместо одного раза. Реакции обратной транскрипции миРНК (500 нг тотальной РНК) проводили с использованием PrimeScript™ RTMaster Mix (Takara, Япония) и миРНК (500 нг тотальной РНК) с использованием набора для синтеза первой цепи Mir-X miRNA (Takara, Япония) соответственно.

Реакции кПЦР проводили в StepOnePlus (Theremofisher, США) с применением SYBR Premix Ex Taq II (Tli Rnase H Plus) (Takara, Япония). Праймеры были разработаны и синтезированы Shanghai Sangon Biotech (Китай). Прямой праймер для miR5338: ATCTTTGCCGGGT GTCTCTGAC; для miR894: CGTTTACGTCGGGT-CACC; референсным геном для миРНК был *ub* (содержится в наборе miRNA RT). Праймеры для *Mfn1*: Прямой: CACAGAGCTGGACATCTGGA, обратный: AGCCGCT-CATTCACCTTATG; *Armc10*: Прямой: AATCCAGCCAT- GACAGAAGG, обратный: CCTTCCACTCTGAGGCAGTT; *Rhobtb3*: Прямой: GACATACCAAGCCAGGAAGC, обратный: TGGCACAGTTGCTCCTTGTA; *Nme4*: Прямой: GGACCTACAGAGGAAGCCATT, обратный: AGTCCGT GTGTCSTATCATGG; *Efhc1*: Прямой: TGTCTGTCATC- GAGCCTGTC, обратный: AGGTTGATTCCACGGTTCAG; *Lrit2*: Прямой: AGTGACCAACCTTGCTGGAG, обратный: GAGGAGGTCATCCACAGCAT; *Pfkfb1*: Прямой: TAGC- CAACTTCATCCGGTCT, обратный: GGCCTTCCACTGTT- CATAGG; *Htr2c*: Прямой: GGCATACCAATGAACG TGTG, обратный: AATCCTCTCGCTGACCACAT; *Pemt*: Прямой: TGGAATGTGGTAGCAAGGTG, обратный: GAG CGGAGGATGTTCAAG; *Slc7a7*: Прямой: CTTCCA TTGTGGCTGCTTCT, обратный: AGAAGGCACTGGTGT-GAACC; Референсным геном для мРНК был *EF-1a*: Прямой: CGAGCCACCATACAGTCAGA, обратный: CCATT CCAACCAGAAATTGG.

Статистический анализ

Для анализа данных использовалось программное обеспечение SPSS statistics 17.0. Масса тела, индекс долей и уровень экспрессии генов в трех группах были проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа в двух группах используя тест Стьюдента. Различия считаются статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты

Влияние рапсовой пчелиной пыльцы на массу тела и индекс каждой доли предстательной железы у крыс с ДГПЖ.

Влияние рапсовой пчелиной пыльцы на массу тела у крыс с ДГПЖ.

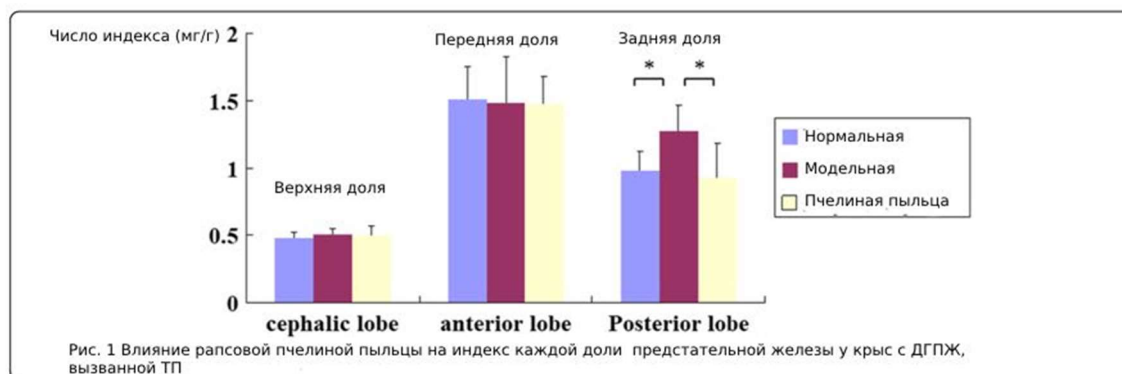
Чтобы оценить, влияет ли рапсовая пчелиная пыльца на массу тела крыс, крысы взвешивались дважды в неделю. По результатам дисперсионного анализа, рапсовая пыльца не оказала значительного влияния на массу тела крыс (таблица 1).

Группы	d1 (среднее значение \pm стандартное отклонение)	d30 (среднее значение \pm стандартное отклонение)
Нормальная группа	234.40 \pm 11.91	328.47 \pm 29.12
Модельная группа	234.46 \pm 7.87	326.53 \pm 28.71
Группа, получавшая пчелиную пыльцу	238.71 \pm 7.18	329.47 \pm 27.46
Дисперсионный анализ	F = 0.000, P = 1.000	F = 0.183, P = 0.834

Таблица 1. Влияние рапсовой пчелиной пыльцы на массу тела у крыс

Влияние рапсовой пыльцы на индекс каждой доли предстательной железы у крыс с ДГПЖ

Дисперсионный анализ использовался, чтобы определить различия между нормальной группой, модельной группой и группой, получавшей пчелиную пыльцу, в индексе верхних долей, передних долей и задних долей предстательной железы. Результаты показали, что между тремя группами не было различий в верхних долях (F = 1,016, P = 0,384) и передних долях (F = 0,019, P = 0,981) (рис. 1.).



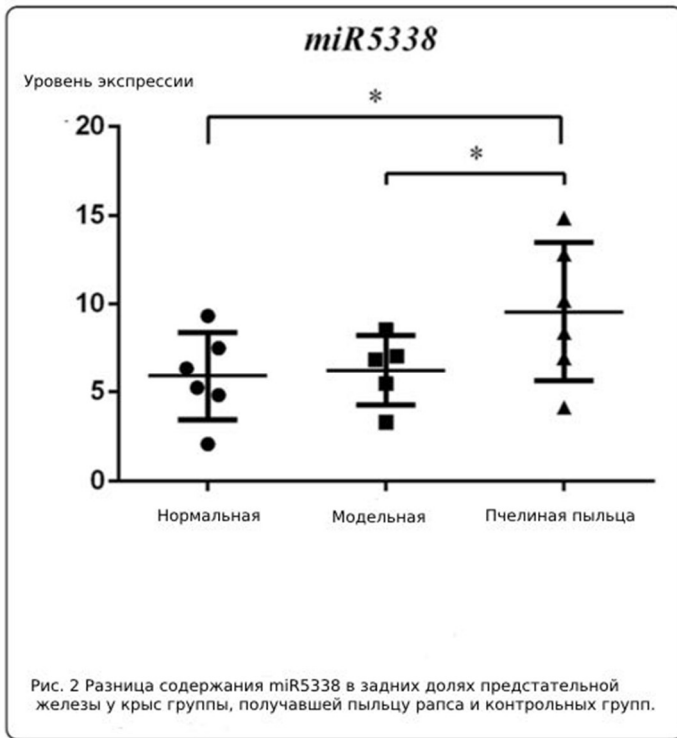
В то время как задние доли были значительно увеличены посредством моделирования ДГПЖ и снизились до нормального размера при лечении рапсовой пчелиной пыльцой (рис. 1.) (F = 4,912, P = 0,022; нормальная группа по сравнению с модельной группой: P = 0,024; модельная группа по сравнению с группой пчелиной пыльцы: P = 0,010; нормальная по сравнению группой пчелиной пыльцы: P = 0,748).

Растительные миРНК попадали в заднюю долю предстательной железы у крыс после внутрижелудочного введения рапсовой пыльцы

Чтобы определить, попадали ли растительные миРНК в задние доли предстательной железы у крыс, которым вводили рапсовую пчелиную пыльцу, мы извлекали тотальные РНК каждой задней доли предстательной железы каждой крысы из модельной группы и группы, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу, затем отдельно объединяли в один образец для РНК-секвенирования.

Результаты показали, что в группе, получавшей пчелиную пыльцу, было увеличено содержание 7 растительных миРНК по сравнению с модельной группой, включая *miR894*, *miR5338*, *miR3440-5p*, *miR2878-5p*, *miR7754-5p*, *miR5015* и *miR7731-3p*.

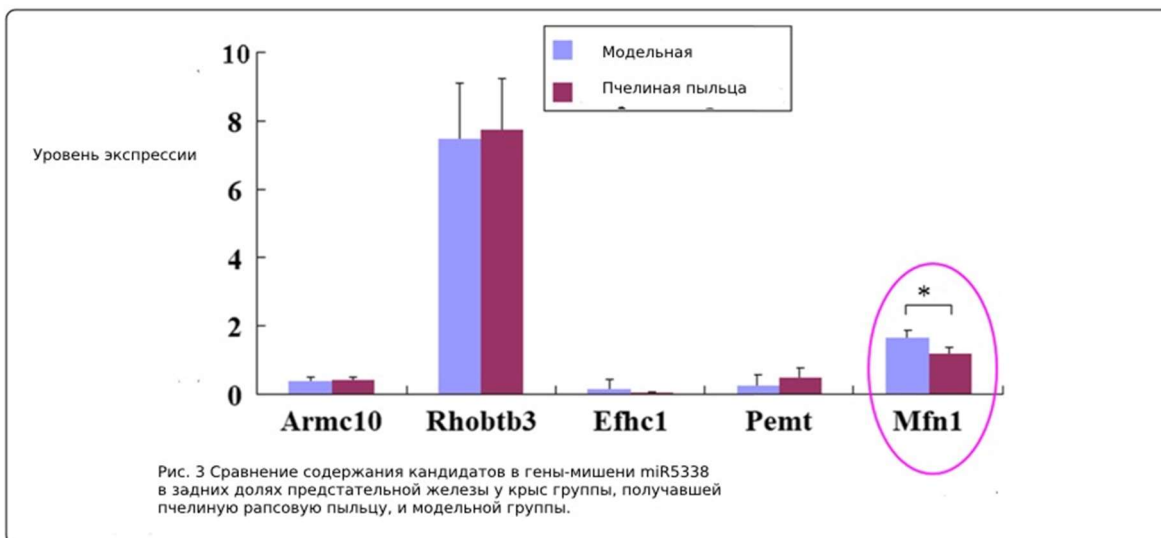
Используя технологию ПЦР-РВ (qRT-PCR), мы сравнили различие в содержании двух самых часто встречающихся микроРНК, *miR894* и *miR5338* среди нормальной группы, модельной группы и группы, получавшей пчелиную рапсовую пыльцу. После дисперсионного анализа результаты показали, что содержание *miR5338* в задней доле предстательной железы в группе, получавшей рапсовую пыльцу, было значительно выше, чем в группах, которых не кормили пчелиной рапсовой пыльцой, которыми являлись модельная группа и нормальная группа (F = 5,396, P = 0,02; группа, получавшая пчелиную пыльцу, в сравнении с модельной группой: P = 0,019; группа, получавшая пчелиную пыльцу, в сравнении с нормальной группой: P = 0,010). Неудивительно, что в нормальной группе и модельной группе различий



в содержании miR5338 не было ($P = 0,826$). Эти результаты позволяют предположить, что после введения рапсовой пчелиной пыльцы, растительная miR5338 может попадать в предстательную железу у крыс (рис. 2).

Однако, miR894 не имеет различий между тремя группами. Чтобы исследовать роль miR5338 в противодействии ДГПЖ, мы использовали программное обеспечение psRobot и TargerFinder для прогнозирования ее генов-мишеней в геноме крысы. В результате мы получили 17 кандидатов генов-мишеней, в том числе *Armcl10*, *Rhobtb3*, *Pappal1*, *Nme4*, *Efhcl1*, *Lrp1*, *Opn3*, *Lrit2*, *Pfkfb1*, *Htr2c*, *Pemt*, *Slc7a7*, *Mfn1*, *mirlet7f1*, *mir3596a*, *mir3596b* и *mir3596c*. В соответствии с функциями генов мы отобрали *Armcl10*, *Rhobtb3*, *Nme4*, *Efhcl1*, *Lrit2*, *Pfkfb1*, *Htr2c*, *Pemt*, *Slc7a7* и *Mfn1* для дальнейшей валидации. Используя технологию кПЦР-РВ мы проверили специфичность праймеров этих

генов. В результате *Nme4*, *Efhcl1*, *Lrit2*, *Pfkfb1*, *Htr2c* и *Slc7a7* были исключены из-за ненадлежащей кривой плавления праймера (Дополнительный файл 1), а *Armcl10*, *Rhobtb3*, *Pemt* и *Mfn1* показали надлежащую кривую плавления (Дополнительный файл 1) и тенденцию к дифференциальной экспрессии в смешанной выборке между модельной группой и группой пчелиной пыльцы (Дополнительный файл 2). Разница в уровне экспрессии *Armcl10*, *Rhobtb3*, *Pemt* и *Mfn1* в задних долях была дополнительно индивидуально исследована у крыс этих двух групп. По результатам t-теста, **только Mfn1** был значительно ниже в задних долях предстательной железы в группе у крыс, получавшей рапсовую пыльцу, чем в модельной группе ($P = 0,006$) (рис. 3), что позволяет предположить, что miR5338 может участвовать в лечении ДГПЖ путем ингибирования *Mfn1*.



Есть ли связь между Mfn1 и ДГПЖ?

Мы обнаружили разницу в экспрессии Mfn1 между крысами нормальной группы, модельной группы и группы, получавшей рапсовую пыльцу, с помощью метода кПЦР-РВ и дисперсионного анализа. Результаты показали, что разница была значительной ($F = 4,568$, $P = 0,031$) (рис. 4).

Mfn1 был значительно повышен в модельной группе по сравнению с нормальной группой ($P = 0,016$), затем значительно снизился в группе, получавшей рапсовую пыльцу по сравнению с модельной группой

($P = 0,027$) демонстрируя тенденцию к нормализации уровня ($P = 0,871$). Эти данные указывают на то, что повышенная экспрессия Mfn1 может быть связана с ДГПЖ, а внедрение miR5338 посредством перорального приема рапсовой пчелиной пыльцы может привести к положительному эффекту на ДГПЖ путем ингибирования Mfn1 в предстательной железе. Чтобы определить, является ли накопление miR5338 и понижение уровня Mfn1 в задних долях предстательной железы у крыс, одновременно индуцированное пчелиной рапсовой пыльцой, связанным с апоптозом клеток ДГПЖ, мы сравнили экспрессию Bcl-2 между модельной группой и группой, получавшей пчелиную рапсовую пыльцу посредством кПЦР-РВ (рис. 5).

По результатам t-теста, Bcl-2 был значительно снижен в группе, получавшей пчелиную рапсовую пыльцу по сравнению с модельной группой ($P = 0,000$), наводя на мысль о том, что Bcl-2 может быть связующим звеном в сигнальном пути лечения ДГПЖ через апоптоз клеток, который может быть индуцирован ингибированием Mfn1 посредством miR5338.

Обсуждение

При скрининге методом глубокого секвенирования мы обнаружили, что растительная miR5338 попадала в заднюю долю простаты у крысы после введения пчелиной рапсовой пыльцы. Является ли miR5338 действующим фактором рапсовой пчелиной пыльцы при лечении заболеваний предстательной железы? Посредством биоинформационного предсказания и экспериментальной верификации наше внимание привлек Mfn1 в качестве кандидата для ген-мишень miR5338.

Митохондрии представляют собой органеллы с двойной мембранной структурой. Помимо обеспечения энергии для клеток, митохондрии участвуют в процессах клеточной дифференцировки, пролиферации, апоптоза, деления и передачи информации [12–14]. Реализация этих функций требует постоянного слияния и деления мембранных структур между различными митохондриями, что является четко отрегулированным процессом, а дисбаланс приводит к заболеваниям [15–17]. Для митохондриального слияния требуются слитные белки (Mfn) в качестве векторов, для слияния внешней мембраны требуется *Mfn1* и *Mfn2*, а для интимного слияния требуется OPA1 [18, 19]. Аномальная экспрессия *Mfn* участвует во многих заболеваниях, включая различные виды рака, такие как рак предстательной железы [13, 16].

ДГПЖ - распространенное и часто встречающееся заболевание у мужчин среднего и пожилого возраста. Основным патогенезом является потеря баланса между пролиферацией и апоптозом клеток простаты при стимуляции андрогена и возрастных изменениях. Митохондрии несут основную роль переключателя в апоптозе клеток, и связанный со слиянием ген *Mfn1* тесно связан с апоптозом и взаимодействует с генами, такими как Bax, Bak, цитохром C и другими генами апоптозного сигнального пути. Сверхэкспрессия *Mfn1* ингибирует апоптоз, а низкая экспрессия способствует апоптозу [20]. Связан ли *Mfn1* с ДГПЖ, не сообщается. Но исследователи обнаружили, что митохондрии в простатических клетках крыс с ДГПЖ по форме отличаются от таковых в нормальной группе [21]. Связано ли это с аномальной экспрессией гена *Mfn1*, который напрямую влияет на морфологию митохондрий? Наши результаты показали, что экспрессия Mfn1 в задней доле предстательной железе у крыс с ДГПЖ была значительно выше, чем в контрольной группе, и снизилась до нормального уровня после лечения пчелиной рапсовой пыльцой. Мы предположили, что сверх экспрессия Mfn1 приводит к морфологическим изменениям митохондрий и участвует в развитии ДГПЖ, а после введения пчелиной рапсовой пыльцы miR5338 попадает в предстательную железу, ингибируя экспрессию Mfn1 и оказывая лечебное воздействие на ДГПЖ. Если предположение было верным, какова была молекулярная подоплека участия Mfn1 в лечении ДГПЖ? Было ли это связано с апоптозом?

В ходе экспериментов мы обнаружили, что рапсовая пчелиная пыльца может значительно снизить уровень экспрессии *Bcl-2* в предстательной железе у крыс с ДГПЖ. Bcl-2 является интегральным белком во внешней митохондриальной мембране, а также геном апоптозного сигнального пути, который экспрессируется на высоком уровне при ДГПЖ [22]. Сверхэкспрессия Bcl-2 может увеличить размер митохондрий и ингибировать апоптоз клеток [23]. Исходя из этого, мы предположили, что повышенная экспрессия *Mfn1* в простате способствует митохондриальному слиянию, измененной морфологии митохондрий, ингибирует апоптоз в процессе возникновения и развития ДГПЖ; После введения рапсовой пчелиной пыльцы растительный miR5338 попадает в простату, объединяясь мРНК с Mfn1, снижая уровень экспрессии Mfn1, ингибировал слияние митохондрий, обращал митохондриальную морфологию, способствовал апоптозу клеток, оказывал положительное влияние на ДГПЖ.

В будущем следует провести эксперименты, чтобы определить, является ли *Mfn1* непосредственной мишенью для *miR5338* с помощью анализа репортерного гена двойной люциферазы; выяснить, связано ли накопление растительных миРНК и уменьшение *Mfn1* в предстательной железе, индуцированное пчелиной рапсовой пыльцой, с изменениями формы митохондрий и уровня экспрессии генов в апоптозном сигнальном пути.



Рис. 4 Сравнение содержания Mfn1 в группе, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу и контрольной группе

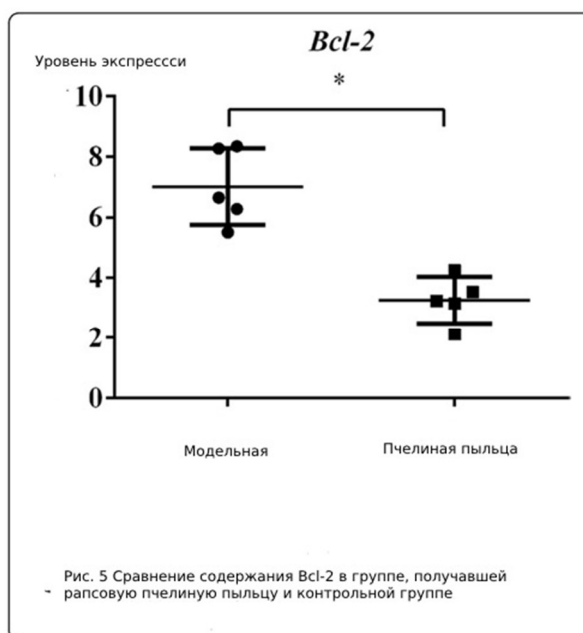


Рис. 5 Сравнение содержания Bcl-2 в группе, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу и контрольной группе

Выводы

Полученные результаты дают основание предполагать, что растительная *miR5338* может участвовать в лечении ДГПЖ у крыс путем ингибирования *Mfn1* в предстательной железе. Эти результаты служат в пользу доказательства кросс-регуляции генов животных растительными миРНК и обеспечивают предварительную теоретическую и экспериментальную основу для разработки инновационного лекарственного средства или медицинской продукции для лечения ДГПЖ.

Дополнительные файлы

Дополнительный файл 1: Кривые плавления для каждого гена. (DOC 933 кб)

Дополнительный файл 2: Сравнение содержания *Armc10*, *Rhobtb3*, *Pemt* и *Mfn1* в задних долях предстательной железы у крыс между смешанным образцом группы, получавшей рапсовую пчелиную пыльцу, и смешанным образцом модельной группы. (JPEG 30 кб)

Сокращения

ДГПЖ: доброкачественная гиперплазия предстательной железы;

Mfn1: митохондриальный белок слияния 1;

миРНК: микроРНК;

ТП: тестостерона пропионат

Ссылки на источники

Не применимо

Финансирование

Эта работа была поддержана провинциальным фондом естественных наук Китая Чжэцзян (LQ13C170002) и фондом департамента науки и техники провинции Чжэцзян (2013F10001).

Доступность данных и материалов

Наборы данных, использованные и/или проанализированные в ходе текущего исследования, можно получить у соответствующего автора по обоснованному запросу.

Вклад авторов

Сюань Чен (XC) разработал и спроектировал исследование, принимал участие в экспериментах на животных и экспериментах кПЦР-РВ, провел анализ данных секвенирования, выполнил статистический анализ и написал статью;

Рэнь-чжао Ву (R-zW) разработал и спроектировал эксперименты;

Фэн Ян (FY) разработал и спроектировал эксперименты;

Юн-цян Чжу (Y-qZ) разработал и спроектировал эксперименты;

Цзэмин Рэнь (Z-mR) участвовал в экспериментах на животных и статистическом анализе;

Е-лин Тон (Y-lT) участвовал в экспериментах на животных;

Гуань Хай Дай (G-hD) разработал и спроектировал эксперименты, руководил и участвовал в экспериментах на животных. Все авторы прочитали и утвердили окончательный вариант рукописи.

Этическое одобрение

Все эксперименты на животных были одобрены Этическим комитетом по экспериментам на животных Академии традиционной китайской медицины провинции Чжэцзян (№: [2016] 040, Чжэцзян, Китай).

Согласие на публикацию

Не применимо

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Примечание издателя

Springer Nature сохраняет нейтралитет в отношении юридических претензий к опубликованному материалу и аффилированным организациям.

Получено: 11 октября 2017 г. Принято: 19 января 2018 г.

Литература:

1. Zhang L, Hou D, Chen X, Li DH, Zhu LY, Zhang YJ, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.* 2012;22:107–26.
2. «Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development.* 2005;132:4653–62.
3. Wang K, Li H, Yuan Y, Etheridge A, Zhou Y, Huang D, et al. The complex exogenous RNA spectra in human plasma: an interface with human gut biota? *PLoS One.* 2012;7:e51009.
4. Lukasiak A, Zielenkiewicz P. In silico identification of plant miRNAs in mammalian breast milk exosomes – a small step forward? *PLoS One.* 2014;9:e99963.
5. Liang GF, Zhu YZ, Sun B, Shao YH, Jing AH, Wang JH, et al. Assessing the survival of exogenous plant microRNA in mice. *Food Sci Nutr.* 2014;2:380–8.
6. Yang J, Farmer LM, Agyekum AA, Elbaz-Younes I, Hirschi KD. Detection of an abundant plant-based small RNA in healthy consumers. *PLoS One.* 2015;10:249–56.
7. Zhou Z, Li X, Liu J, Dong L, Chen Q, Liu JL, et al. Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses. *Cell Res.* 2014;25:39–49.
8. Mlotshwa S, Pruss GJ, Macarthur JL, Endres MW, Davis C, Hofseth LJ, et al. A novel chemopreventive strategy based on therapeutic microRNAs produced in plants. *Cell Res.* 2015;25:521–4.
9. Chin AR, Fong MY, Somlo G, Wu J, Swiderski P, Wu XW, et al. Cross-kingdom inhibition of breast cancer growth by plant miR159. *Cell Res.* 2016;26:217–8.
10. Chen X, Dai GH, Ren ZM, Tong YL, Yang F, Zhu YQ. Identification of dietetically absorbed rapeseed (*Brassica campestris* L.) bee pollen microRNAs in serum of mice. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1–5.
11. Fulmer BR, Turner TT. A blood-prostate barrier restricts cell and molecular movement across the rat ventral prostate epithelium. *J Urol.* 2000;163:1591–4.
12. Cao YL, Meng SX, Chen Y, Feng JX, Gu DD, Yu B, et al. MFN1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion. *Nature.* 2017;542:372–6.
13. Choudhary V, Kaddour-Djebbar I, Alaisami R, Kumar MV, Bollag WB. Mitofusin 1 degradation is induced by a disruptor of mitochondrial calcium homeostasis, CGP37157: a role in apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Oncol.* 2014;44:1767–73.
14. Autret A, Martin SJ. Emerging role for members of the Bcl-2 family in mitochondrial morphogenesis. *Mol Cell.* 2009;36:355–63.
15. Qi YB, Yan LM, Yu CT, Guo XY, Zhou X, Hu X, et al. Structures of human mitofusin 1 provide insight into mitochondrial tethering. *J Cell Bio.* 2016; 215:621–9.
16. Philley JV, Kannan A, Qin W, Sauter ER, Ikebe M, Hertweck KL, et al. Complex-I alteration and enhanced mitochondrial fusion are associated with prostate cancer progression. *J Cell Physiol.* 2016;231: 1364–71.
17. Lou Y, Li R, Liu J, Zhang Y, Zhang X, Jin B, et al. Mitofusin-2 over-expresses and leads to dysregulation of cell cycle and cell invasion in lung adenocarcinoma. *Med Oncol.* 2015;32:132.
18. Cipolat S, Martins de Brito O, Dal Zilio B, Scorrano L. OPA1 requires mitofusin 1 to promote mitochondrial fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:15927–32.
19. Song ZY, Ghochani M, McCaffery JM, Frey TG, Chan DC. Mitofusins and OPA1 mediate sequential steps in mitochondrial membrane fusion. *Mol Biol Cell.* 2009;20:3525–32.
20. Zhang Z, Sun Y, Ji L. The dual roles of mitochondrial fusion proteins in mitochondrial fusion and apoptosis. *Chinese Bul Life Sci.* 2015;27:168–73.
21. Zhang X, He JQ, Liu LF, Xi JY, Chen BY. Effect of Qianlongtong granules on prostatic cell ultrastructure of experimental prostate hyperplasia rats. *Prac Prev Med.* 2010;17:639–43.
22. Saker Z, Tsintsadze O, Jiqia I, Managadze L, Chkhotua A. Importance of apoptosis markers (Mdm2, Bcl-2 and Bax) in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Georgian Med News.* 2015; 249:7–14.
23. Kowaltowski AJ, Cosso RG, Campos CB, Fiskum G. Effect of Bcl-2 overexpression on mitochondrial structure and function. *J Biol Chem.* 2002; 277:42802–7.