

DOI:10.12113/201912003

通过 miRNA 基因表达谱的基因共表达网络构建对星形细胞瘤的基因靶标进行预测

邵嘉敏

(石门县人民医院 神经外科,湖南,常德 415000)

摘要:星形细胞瘤为浸润性生长肿瘤,生长缓慢,多为隐性症状,难以早期发现。多数肿瘤切除后有复发可能,且复发后肿瘤可演变成间变性星形细胞瘤或多形性胶质母细胞瘤。因此寻找其生物标志物早期诊断,并研究新的治疗方法就十分重要。方法:通过选用 GEO 数据库的星形细胞瘤 miRNA 表达谱数据,进行差异分析以及靶基因预测,通过 2 者共表达网络的构建对筛选出的 miRNA 的研究价值进行探讨。结果:得出 hsa-miR-29b-2-5p; hsa-miR-339-5p 与 hsa-miR-362-3p 3 个较为关键的 miRNA 及与 3 者关系密切的 8 个 mRNA。结论:通过对 8 个 mRNA 在癌症中的作用的讨论,肯定了这 3 个关键 miRNA 作为潜在靶点的研究价值。

关键词:星形细胞瘤; GEO 数据库; miRNA; 靶点预测; 基因共表达网络

中图分类号:R739.41.A **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2020)04-263-07

Prediction of astrocytoma gene markers and potential therapeutic targets based on miRNA gene expression profiles

SHAO Jiamin

(Department of Neurosurgery, The People's Hospital of Shimen County, Changde 415000, Hunan, China)

Abstract: Astrocytomas are invasive growth tumors with slow growth and mostly invisible symptoms, making it difficult to make an early diagnosis. Most tumors have recurrence after resection, and tumors can evolve into anaplastic astrocytoma or glioblastoma multiforme after recurrence. Therefore, it is critical to find early biomarkers for diagnosis and study new treatment methods. The astrocytoma miRNA expression profile data in the GEO database was selected for differential analysis and target gene prediction, and the research value of the selected miRNAs was explored through the construction of the co-expression network of the two. Results show that hsa-miR-29b-2-5p, hsa-miR-339-5p, and hsa-miR-362-3p are three key miRNAs, and eight mRNAs were discussed, which are closely related to them. The discussion of the role of the eight mRNAs in cancer confirmed the research value of hsa-miR-29b-2-5p, hsa-miR-339-5p, and hsa-miR-362-3p as potential targets.

Keywords: Astrocytoma; GEO database; miRNA; Target prediction; Gene co-expression network

星形细胞瘤是指以星形胶质细胞所形成的肿瘤,占颅内肿瘤的 13%~26%,占胶质瘤 21.2%~51.6%,男性多于女性。星形细胞肿瘤可发生在中枢神经系统的任何部位,一般成年多见于大脑半球和丘脑底节区,儿童多见于幕下。星形细胞瘤为浸润性生长肿瘤,多数肿瘤切除后有复发可能,且复发后肿瘤可演变成间变性星形细胞瘤或多形性胶质母细胞瘤^[1]。由于其生长缓慢,出现症状通常是隐性

的,例如颅内压升高而引起的神经系统变化和不适的能力。小脑肿瘤的常见症状包括共济失调,颅神经缺损和颅内压升高的迹象(如头痛,恶心和呕吐)。当存在于视觉通路中时,肿瘤可能会导致视力丧失或视野缺损,并且当定位于下丘脑时,可能导致内分泌综合征,例如尿崩症,性早熟或电解质失衡。因此寻找其生物标志物早期诊断,并研究新的治疗方法就十分重要。

收稿日期:2019-12-11;修回日期:2020-03-23.

* 通信作者:邵嘉敏,男,主治医师,研究方向:脑肿瘤与颅脑外科.E-mail: 1573749321@qq.com.

miRNA 在多种癌症中存在差异性表达,相对于正常组织的对应调节物,大多数 miRNA 在癌症中被抑制^[2-4]。通过敲低 miRNA 加工机制来分解 miRNA 可以刺激体内细胞转化和肿瘤发生^[5]。这意味着 miRNA 表达的改变甚至可能是肿瘤发生后导致的,而且仍然还积极地促进了癌症的发展。尽管 miRNA 在癌症中普遍减少,但还有一些 miRNA 上调,其中某些可以发挥致癌作用。有研究认为白细胞中的总体 miRNA 水平也可能影响甲基化失调的相关癌症发展过程^[6-7]。鉴于 miRNA 通过调节靶 mRNA 发挥其功能,因此预测 miRNA 靶标非常重要。miRNA-mRNA 相互作用的特异性主要是由 miRNA 的前八个核苷酸(称为种子序列)赋予的^[8]。当前,有几种计算算法可用于预测目标 mRNA^[9],但它们远非完美。新靶标的识别随着已验证的 miRNA 靶标的数据积累变得更容易,但是也需要不断灵活运用已有的数据库与工具。本次研究期望通过星形细胞瘤 miRNA 表达谱筛选出的差异 miRNA,在数据库预测其靶基因 mRNA,并通过已有的研究资料来对筛选出的 miRNA 的潜在靶标价值进行讨论与说明,并希望对该思路与方法的效果进行探讨。

1 方法

1.1 数据检索与获取

由于星形细胞瘤的强浸润性与复发性,常规治疗手法局限性较大,本次研究期望能够对星形细胞瘤的生物标志物与潜在治疗靶点进行探索,于是选用 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>)的非编码 RNA 基因表达谱数据作为研究数据。最终通过检索与筛选得到 Chen-Xue Mao 等上传到 GPL18402 平台的 GSE138764 数据集,数据集的芯片数据来自普通人和星形细胞瘤患者脑组织中提取的 miRNA。

1.2 芯片数据的差异分析

数据集中主要包括 33 个星形细胞瘤患者和 9 个健康普通人的脑组织样本的芯片数据,由于 miRNA 数据的特殊性,在去除 Q-Value 不齐项后,得到其中 10 个数据,选用其中 5 个星形细胞瘤患者数据(GSM4118879; GSM4118889; GSM4118891; GSM4118893; GSM4118896)做实验组,5 个健康普通人数据(GSM4118869; GSM4118870; GSM4118871; GSM4118876; GSM4118877)做对照组。通过 GEO 数据库自带的在线工具 GEO2R,对芯片数据进行例行匹配和分析,然后根据获得的后续结果对芯片数

据进行聚类,消除非标项。为了得到有价值的 miRNA,去除 P 值大于 0.05 的所有项后,得出差异均大于对照组 0.6 以上高表达与低表达的各 5 个的 miRNA,并且对其 LogFC 值及 Padj 值计算。为了显示两组样本变化后的基因的大小差异,创建了 1 个热图以指示蛋白质的变化模式。颜色越接近黄色,表达水平越高,而颜色越接近蓝色,表达水平越低。通过 MeV Heat Map 软件处理原始数据,以获得可视化表达遗传差异的热图。

1.3 基因共表达网络构建与关键基因的筛选

将筛选出的差异 miRNA 的 Gene ID 输出到 miRDB(<http://mirdb.org/>)并通过 starBASE v 2.0(<http://starbase.sysu.edu.cn/starbase2/index.php>)验证取交集,得出 miRNA 的靶基因(mRNA)。将得到的靶基因输入 String(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)数据库,筛选有实验验证的、综合得分为 0.4 以上(满分为 1)的基因构建相互作用网络。然后由从 String 得到的 mRNA 共表达网络数据以及 miRNA 与 mRNA 的靶点预测关系通过生物信息学软件 Cytoscape 3. 7. 1 作图。使用 Cytoscape 3. 7. 1 的 APP 库中的 cytohubba 软件模块对 miRNA-mRNA 的基因共表达网络中的处于关键节点的基因使用 MCC method 进行筛选,得出关键基因,及其评分数据^[10]。

1.4 统计分析

使用 SPSS 23. 0 统计软件进行统计分析。测量数据表示均值($\pm S$),其中 t 检验用于基因表达量的组间比较。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

GSE138764 数据集最终筛选出的高表达与低表达的各 5 个的 miRNA 如图 1 共 10 个: hsa-miR-29b-2-5p; hsa-miR-377-5p; hsa-miR-431-3p; hsa-miR-770-5p; hsa-miR-485-5p; hsa-miR-505-3p; hsa-miR-339-5p; hsa-miR-339-5p; hsa-miR-362-3p; hsa-miR-181a-2-3p。其 P 值与表达变化情况如表 1。

通过 miRBD 与 Starbase v2.0 预测与验证的差异 miRNA 各自的 Top10 的靶基因如表 2,靶基因与差异 miRNA 的基因共表达网络如图 2,网络中 Top20 的关键节点基因有 miRNA 和 mRNA 各 10 个。10 个差异 miRNA 关键性评分均并列前 10,其余 10 个 mRNA: TNRC6B; AGO1; DHX15; KMT2A; FGF2; KLHL2; CCND2; SMNDC1; SRSF4; POU2F2, 分列 11 到 20,具体情况如表 3 所示。

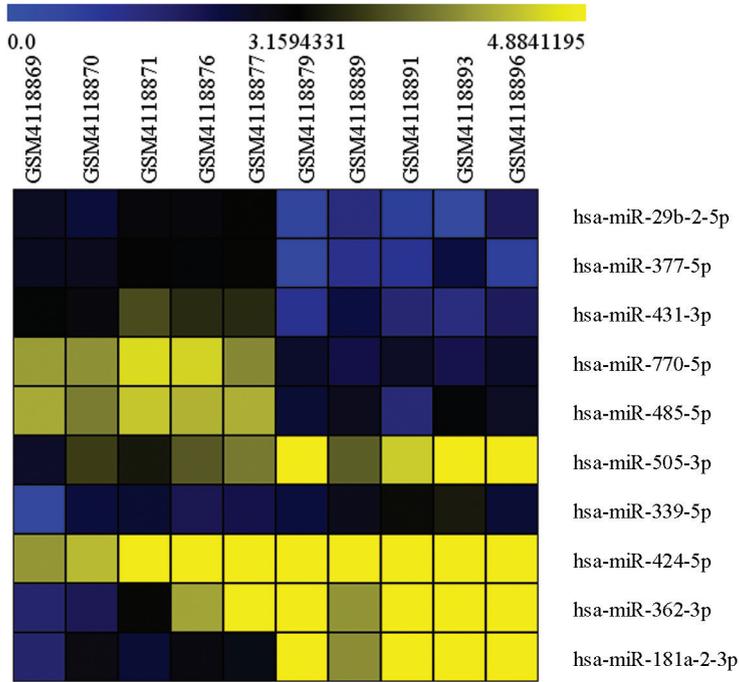


图 1 GSE138764 数据集中筛选后的各 5 个上调和下调的差异 miRNA 热图

Fig.1 Heat map of differential up-regulated and down-regulated miRNAs in GSE138764 dataset

表 1 GSE138764 数据集中筛选后的上调和下调的差异 miRNA 的具体数据

Table 1 Specific data on differential up-regulated and down-regulated miRNAs screened in GSE138764 dataset

miRNAID	p-Value	Log2FC	padj	regulation
hsa-miR-29b-2-5p	0.004 155 809	-0.687 39	0.010 39	down
hsa-miR-377-5p	0.003 465 685	-0.742 27	0.011 552	down
hsa-miR-431-3p	0.003 376 852	-1.010 45	0.016 884	down
hsa-miR-770-5p	0.000 294 074	-1.195 18	0.002 941	down
hsa-miR-485-5p	0.004 716 389	-1.266 59	0.009 433	down
hsa-miR-505-3p	0.022 686 533	1.801 709	0.028 358	up
hsa-miR-339-5p	0.033 360 785	1.793 218	0.037 068	up
hsa-miR-424-5p	0.008 400 91	1.726 806	0.012 001	up
hsa-miR-362-3p	0.036 699 878	1.464 064	0.036 7	up
hsa-miR-181a-2-3p	0.005 939 996	0.931 202	0.009 9	up

miRDB (<http://mirdb.org/>) 基于支持向量机 (SVM) 和高通量训练数据集开发了 1 个新的 miRNA 目标预测程序。通过系统地分析高通量实验数据, 我们确定了对 miRNA 靶标结合和表达下调很重要的新功能, 所有预测目标的目标预测分数在 50 ~ 100。分数越高, 该靶点预测的可能性就越大。预测得分 > 80 的预测目标最有可能是真实的, 而小于 60 的结果可能性较小, 本文保守筛选分数在 70 以上的靶点结果, 故不特地标明具体分数。

3 讨论

通过对图 2 及表 3 中 miRNA-mRNA 的基因共表达网络中 mRNA 在癌症中的作用进行文献资料研究, 最终进行反证, 得出 hsa-miR-29b-2-5p; hsa-miR-424-5p 与 hsa-miR-362-3p 3 个 miRNA 可能作为星形细胞瘤的治疗新靶点。我们围绕这 3 个 miRNA 进行论述。

表2 通过 miRBD 与 Starbase v2.0 预测与验证的差异 miRNA 的靶基因

Table 2 Target genes of differential miRNAs predicted and verified by miRBD and Starbase v2.0

miRNAID	Target gene	miRNAID	Target gene
hsa-miR-29b-2-5p	<i>POU2F2</i>	hsa-miR-505-3p	<i>HMGB1</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>WNK1</i>	hsa-miR-505-3p	<i>DHX15</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>LRRTM2</i>	hsa-miR-505-3p	<i>VGLL3</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>TTC17</i>	hsa-miR-505-3p	<i>GLYR1</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>ZFHX3</i>	hsa-miR-505-3p	<i>RBMS3</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>GUCY1A2</i>	hsa-miR-505-3p	<i>SCLT1</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>EIF5B</i>	hsa-miR-505-3p	<i>LRRCC1</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>SGIP1</i>	hsa-miR-505-3p	<i>SNX30</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>FAM160B1</i>	hsa-miR-505-3p	<i>CREBRF</i>
hsa-miR-29b-2-5p	<i>MAK16</i>	hsa-miR-505-3p	<i>PTBP2</i>
hsa-miR-377-5p	<i>TMEM30B</i>	hsa-miR-339-5p	<i>MAPRE1</i>
hsa-miR-377-5p	<i>AGO1</i>	hsa-miR-339-5p	<i>BACE1</i>
hsa-miR-377-5p	<i>ZFP82</i>	hsa-miR-339-5p	<i>FAM219B</i>
hsa-miR-377-5p	<i>TFPI</i>	hsa-miR-339-5p	<i>WDR81</i>
hsa-miR-377-5p	<i>DDA1</i>	hsa-miR-339-5p	<i>NXPH1</i>
hsa-miR-377-5p	<i>EIF5A2</i>	hsa-miR-339-5p	<i>SLC15A2</i>
hsa-miR-377-5p	<i>BATF2</i>	hsa-miR-339-5p	<i>KMT2A</i>
hsa-miR-377-5p	<i>PRRC1</i>	hsa-miR-339-5p	<i>SORT1</i>
hsa-miR-377-5p	<i>MSL2</i>	hsa-miR-339-5p	<i>DIPK2A</i>
hsa-miR-377-5p	<i>TRIO</i>	hsa-miR-339-5p	<i>C2orf83</i>
hsa-miR-431-3p	<i>WDR48</i>	hsa-miR-424-5p	<i>PAPPA</i>
hsa-miR-431-3p	<i>P2RY13</i>	hsa-miR-424-5p	<i>FASN</i>
hsa-miR-431-3p	<i>ITGA11</i>	hsa-miR-424-5p	<i>UNC80</i>
hsa-miR-431-3p	<i>JAZF1</i>	hsa-miR-424-5p	<i>FGF2</i>
hsa-miR-431-3p	<i>C15orf62</i>	hsa-miR-424-5p	<i>TNRC6B</i>
hsa-miR-431-3p	<i>PDE7A</i>	hsa-miR-424-5p	<i>PTPN4</i>
hsa-miR-431-3p	<i>COPS9</i>	hsa-miR-424-5p	<i>PHF19</i>
hsa-miR-431-3p	<i>RBPMS</i>	hsa-miR-424-5p	<i>UBE2Q1</i>
hsa-miR-431-3p	<i>DRAXIN</i>	hsa-miR-424-5p	<i>LSM11</i>
hsa-miR-431-3p	<i>MTRNR2L3</i>	hsa-miR-424-5p	<i>ANKUB1</i>
hsa-miR-770-5p	<i>GMFB</i>	hsa-miR-362-3p	<i>PPP2R2D</i>
hsa-miR-770-5p	<i>MAP3K1</i>	hsa-miR-362-3p	<i>PTBP2</i>
hsa-miR-770-5p	<i>SLC17A6</i>	hsa-miR-362-3p	<i>BLCAP</i>
hsa-miR-770-5p	<i>CCND2</i>	hsa-miR-362-3p	<i>TNRC6B</i>
hsa-miR-770-5p	<i>MARK1</i>	hsa-miR-362-3p	<i>TENT4B</i>
hsa-miR-770-5p	<i>DSE</i>	hsa-miR-362-3p	<i>DLGAP4</i>
hsa-miR-770-5p	<i>ARHGAP12</i>	hsa-miR-362-3p	<i>SMNDC1</i>
hsa-miR-770-5p	<i>UBR3</i>	hsa-miR-362-3p	<i>SRSF4</i>
hsa-miR-770-5p	<i>PPP3CA</i>	hsa-miR-362-3p	<i>SHB</i>
hsa-miR-770-5p	<i>TDP1</i>	hsa-miR-362-3p	<i>KLHL2</i>
hsa-miR-485-5p	<i>KCNB1</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>FLI1</i>
hsa-miR-485-5p	<i>PLXNA4</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>SORBS1</i>
hsa-miR-485-5p	<i>PHTF2</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>BLOC1S5</i>
hsa-miR-485-5p	<i>GPN3</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>PELI2</i>
hsa-miR-485-5p	<i>SLC36A3</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>ARID4A</i>
hsa-miR-485-5p	<i>MSI2</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>DAZL</i>
hsa-miR-485-5p	<i>OGT</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>ACVR2B</i>
hsa-miR-485-5p	<i>ADAMTSL5</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>SOX6</i>
hsa-miR-485-5p	<i>ZBTB39</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>NETO2</i>
hsa-miR-485-5p	<i>CKS1B</i>	hsa-miR-181a-2-3p	<i>RNF135</i>

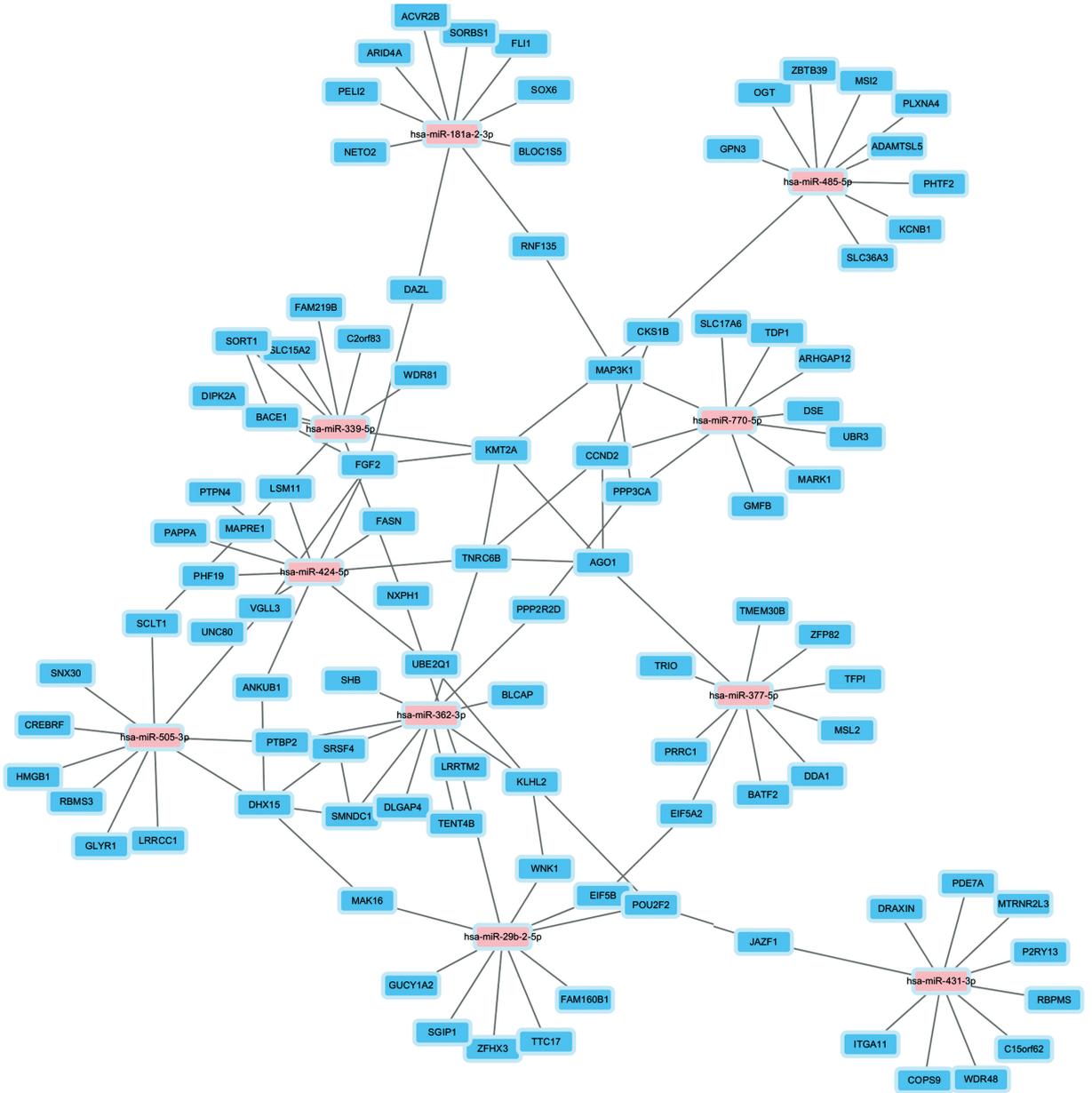


图 2 筛选出的差异 miRNA 与对应的靶基因 (mRNA) 的基因共表达网络图

Fig.2 Gene co-expression network diagram of selected differential miRNAs and corresponding target genes (mRNAs)

与 hsa-miR-29b-2-5p 关系密切的关键 mRNA 为 POU2F2 与 CCND2。在转移性 GC 细胞系和患者样品中检测到 POU2F2 表达增加。POU2F2 是由核因子(NF)- κ B 的激活诱导的,进而调节 ROBO1 转录,因此在功能上有助于 GC 转移。研究表明,NF- κ B 和以 POU2F2 为中心的 SLIT2 / ROBO1 相互作用网络可能对肿瘤转移起关键作用,miR-218 为已知的能够调控 POU2F2 的 miRNA,前体阻断面向 POU2F2 的转移网络的激活^[11]。细胞周期蛋白 D2(CCND2)是 D 型细胞周期蛋白的成员,在细胞周期调节,分化和恶性转化中起着关键作用。有研究表明 CCND2 表达的降低与启动子异常甲基化密切相关^[12]。

在本次研究中 hsa-miR-424-5p 与 TNRC6B, FGF2 和 KMT2A 关系密切。研究表明 TNRC6B 的两种 CpGs:cg06751583 和 cg21034183 的甲基化与癌症发展的时间有正相关,关键的 miRNA 加工基因 TNRC6B 可能在早期癌变中起作用,可能作为有用的癌症早期检测生物标志物^[13]。关于 FGF2,有关机理研究证实,FGF2 是 miR-203 的直接靶标,而 miR-203 的上调可能会降低 FGF2 的表达。FGF2 的异位表达部分逆转了 miR-203 的表达对肾癌细胞恶性表型的抑制作用^[14]。而 KMT2A 被证实是促进人黑色素瘤细胞生长的潜在靶标,通过激活 hTERT 信号传导促进黑色素瘤^[15]。

表 3 通过 Cytoscape 的 MCC 算法计算出的基因共表达网络中 Top20 的关键基因及其具体数据

Table 3 Top 20 key genes and their specific data in the gene co-expression network calculated by Cytoscape's MCC algorithm

Rank	Type	Name	Score
1	miRNA	hsa-miR-181a-2-3p	10
1	miRNA	hsa-miR-29b-2-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-377-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-431-3p	10
1	miRNA	hsa-miR-770-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-485-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-505-3p	10
1	miRNA	hsa-miR-339-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-424-5p	10
1	miRNA	hsa-miR-362-3p	10
11	mRNA	TNRC6B	6
12	mRNA	AGO1	5
12	mRNA	DHX15	5
12	mRNA	KMT2A	5
12	mRNA	FGF2	5
16	mRNA	KLHL2	4
16	mRNA	CCND2	4
16	mRNA	SMNDC1	4
16	mRNA	SRSF4	4
20	mRNA	POU2F2	3

最后,与 hsa-miR-362-3p 关系较为紧密的是 KLHL2, SMNDC1 以及 SRSF4。据报道,与 KLHL3 同源的 kelch-like 2 (KLHL2) 也可以靶向 WNK 激酶进行泛素化和降解,并可能在全身脉管系统中发挥特殊作用。KLHL2 可能在 FHHt 的发病机理中起作用,并加重了由 CUL3 和 WNK4 突变引起的表型^[16]。纳米颗粒 (NPs) 的生物分布可以报告肿瘤发生过程中蛋白质分布的变化,AuNP 表面富集了许多癌症特异性蛋白质。通过对 PPA1, SMNDC1 和 PI15 进行功能性研究,发现 3 者都显著抑制卵巢癌细胞的增殖^[17]。既往研究中 siRNA 介导的剪接调节子 SRSF4 的耗竭,而不是 SRSF6 的耗竭,消除了许多剪接改变以及顺铂诱导的细胞死亡。顺铂诱导的许多剪接改变都是由 SRSF4 引起的,并且它们在 1 个过程中有助于凋亡 PI3K^[18]。

除此之外 AGO1, DHX15 也在不同癌症发展过程起到作用^[19-20]。可以确定的是 hsa-miR-29b-2-5p; hsa-miR-424-5p 与 hsa-miR-362-3p 3 个 miRNA 作为潜在靶点确实有研究价值,而更有意思的是本文所采用的生物标志物的预测筛选方法,结果充分说明了这种灵活的思维可以节约很多时间和资源。在对现有文献资料进行研究后,发现 hsa-miR-29b-2-

5p; hsa-miR-424-5p 与 hsa-miR-362-3p 未曾被作为星形细胞瘤甚至癌症的靶点研究过。

4 结 论

星形细胞瘤是指以星形胶质细胞所形成的肿瘤,星形细胞肿瘤可发生在中枢神经系统的任何部位,为浸润性生长肿瘤,多数肿瘤切除后有复发可能,因此对基因标志物的探索及靶点的筛选尤为重要。本文通过对 GEO 数据库的星形细胞瘤 miRNA 表达谱数据进行差异分析及 mRNA 靶点探索,最后通过对二者基因共表达网络进行 MCC 算法计算利用 mRNA 为依据探索差异 miRNA 作为基因标志物或靶点的研究价值。最终得到 hsa-miR-29b-2-5p; hsa-miR-339-5p 与 hsa-miR-362-3p 三个具有潜在研究价值的 miRNA 靶标。

参考文献 (References)

- [1] BARAN O, KASIMCAN O, SAV A, et al. Holocord Pilocytic astrocytoma in an adult: A rare case report and review of the literature[J]. World Neurosurgery, 2019, 126: 369-375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.03.103.

- [2] TSIALIKAS J, JENNIFER M A, ABBOTT A, et al. Stage-specific timing of the microRNA regulation of lin-28 by the heterochronic gene lin-14 in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Genetics: A Periodical Record of Investigations Bearing on Heredity and Variation*, 2017, 205(1): 251–262. DOI: 10.1534/genetics.116.195040.
- [3] LI J, GREENWALD I. LIN-14 inhibition of LIN-12 contributes to precision and timing of *C. elegans* vulval fate patterning [J]. *Current Biology*, 2010, 20(20): 1875–1879. DOI: 10.1016/j.cub.2010.09.055.
- [4] FROMM B, BILLIPP T, PECK L E, et al. A uniform system for the annotation of vertebrate microRNA genes and the evolution of the human microRNAome [J]. *Annual Review of Genetics*, 2015, 49(1): 213–242. DOI: 10.1146/annurev-genet-120213-092023.
- [5] KUMAR M S, LU J, MERCER K L, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(5): 673–677. DOI: 10.1038/ng2003.
- [6] RUI Yi, BRIAN P D, YI Qin, et al. Overexpression of exportin 5 enhances RNA interference mediated by short hairpin RNAs and microRNAs [J]. *RNA*, 2005, 11(2): 220–226. DOI: 10.1261/rna.7233305.
- [7] MBONYE U R, SONG I. Posttranscriptional and posttranslational determinants of cyclooxygenase expression [J]. *BMB Reports*, 2009, 42(9): 552–560. DOI: 10.5483/bmbrep.2009.42.9.552.
- [8] VISIONE R, PALLANTE P, VECCHIONE A, et al. Specific microRNAs are downregulated in human thyroid anaplastic carcinomas [J]. *Oncogene*, 2007, 26(54): 7590–7595. DOI: 10.1038/onc.2016.139.
- [9] MAZIÈRE P, ENRIGHT A J. Prediction of microRNA targets [J]. *Drug Discovery Today*, 2007, 12(11/12): 452–458. DOI: 10.1016/j.drudis.2007.04.002.
- [10] HUANG L J, LAW J N, MURALI T M. Automating the pathLinker app for cytoscape [J]. *F1000 Research*, 2018, 7: 727. DOI: 10.12688/f1000research.14616.1.
- [11] WANG Simeng, TIE Jun, WANG Wenlan, et al. POU2F2-oriented network promotes human gastric cancer metastasis [J]. *Gut*, 2015, 65(9): 1427–1438. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308932.
- [12] LU W, YUN C, LIAN Z, et al. The silencing of CCND2 by promoter aberrant methylation in renal cell cancer and analysis of the correlation between CCND2 methylation status and clinical features [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161859. DOI: 10.1371/journal.pone.0161859.
- [13] JOYCE B T, ZHENG Y, ZHANG Z, et al. MicroRNA processing gene methylation and cancer risk [J]. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2018, 27(5): 550–557. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-17-0849.
- [14] XU Mingxi, GU Meng, ZHANG Ke, et al. miR-203 inhibition of renal cancer cell proliferation, migration and invasion by targeting of FGF2 [J]. *Diagnostic Pathology*, 2015, 10(1): 1–9. DOI: 10.1186/s13000-015-0255-7.
- [15] ZHANG Changlin, SONG Chen, LIU Tianze, et al. KMT2A promotes melanoma cell growth by targeting hTERT signaling pathway [J]. *Cell Death & Disease*, 2017, 8(7): e2940. DOI: 10.1038/cddis.2017.285.
- [16] ZHANG C, MEERMEIER N P, TERKER A S, et al. Degradation by cullin 3 and effect on WNK kinases suggest a role of KLHL2 in the pathogenesis of familial hyperkalemic hypertension [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2015, 469(1): 44–48. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.11.067.
- [17] GIRI K, SHAMEER K, ZIMMERMANN M T, et al. understanding protein-nanoparticle interaction: A new gateway to disease therapeutics [J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(6): 1078–1090. DOI: 10.1021/bc500084f.
- [18] GABRIEL M, DELFORGE Y, DEWARD A, et al. Role of the splicing factor SRSF4 in cisplatin-induced modifications of pre-mRNA splicing and apoptosis [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 227. DOI: 10.1186/s12885-015-1259-0.
- [19] WANG M, ZHANG L, LIU Z, et al. AGO1 may influence the prognosis of hepatocellular carcinoma through TGF- β pathway [J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(3): 324. DOI: 10.1038/s41419-018-0338-y.
- [20] ITO S, KOSO H, SAKAMOTO K, et al. RNA helicase DHX15 acts as a tumour suppressor in glioma [J]. *British Journal of Cancer*, 2017, 117(9): 1349–1359. DOI: 10.1038/bjc.2017.273.

[责任编辑:吴永英]