

论著·临床研究

长链非编码 RNA TUG1 在肝细胞癌中的生物信息学分析*

朱玉翠^{1,2}, 张晓彤², 周亚男², 胡成进², 曹 源^{2△}

(1. 潍坊医学院医学检验学系, 山东潍坊 261053; 2. 济南军区总医院实验诊断科, 山东济南 250031)

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)牛磺酸上调基因 1(TUG1)在肝细胞癌(HCC)中的意义, 并对 TUG1 进行靶基因预测, 为 TUG1 在 HCC 中的进一步研究提供借鉴。方法 利用 UALCAN 数据库分析 TUG1 在 HCC 中的差异表达, 并对 TUG1 进行生存分析。利用 RegRNA 2.0 生物学软件、HMDD、targets can、microT-CDS 进行 TUG1 的靶基因预测, 构建 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 调控网络。并运用 FunRich 平台对预测的靶基因进行 Gene Ontology(GO)分析和 KEGG 信号转导通路富集分析。结果 TUG1 在 HCC 中表达明显增高, 随着肿瘤分级增高 TUG1 的表达呈上升趋势。lncRNA TUG1 低表达患者的总生存期较高表达患者明显延长。TUG1 上存在 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p 这 4 个与 HCC 相关 microRNAs 的可能结合位点, 从而调节下游 245 个靶基因, 形成了 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 调控网络。在生物学过程中, microRNAs 靶基因高度富集到碱基、核苷、核苷酸和核酸代谢调节等过程。KEGG pathway 分析中, microRNAs 靶基因高度富集到 Syndecan、TRAIL 等介导的信号通路。结论 TUG1 在 HCC 中表达水平增高, 并与不良预后有关。利用生物信息学方法, 可以从分子水平探究肿瘤发生机制, 可为后续实验及临床诊疗提供有价值的信息。

关键词:肝细胞癌; 牛磺酸上调基因 1; 靶基因; 生物信息学

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.10.001

中图法分类号:R735.7

文章编号:1673-4130(2018)10-1153-06

文献标识码:A

Bioinformatics Analysis of long non-coding RNA TUG1 in hepatocellular carcinoma*

ZHU Yucui^{1,2}, ZHANG Xiaotong², ZHOU Yanan², HU Chengjin², CAO Yuan^{2△}

(1. Department of Medical Laboratory, Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261053, China; 2. Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Ji'nan Command, Ji'nan, Shandong 250031, China)

Abstract: Objective To explore the significance of long non-coding RNA (lncRNA) taurine up-regulated gene 1 (TUG1) in hepatocellular carcinoma (HCC), to predict the target gene of TUG1, and to provide a reference for further study of TUG1 in HCC. **Methods** The differential expression of TUG1 in HCC was analyzed by using the UALCAN database and the survival analysis of TUG1 was performed. The target gene of TUG1 was predicted by RegRNA 2.0 biology software, HMDD, targets can and microT-CDS, and the regulatory network of lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs was constructed. The predicted target gene was analyzed by Gene Ontology (GO) and KEGG signal transduction pathway enrichment by using FunRich platform. **Results** TUG1 expression in HCC was significantly increased, and the expression level of TUG1 increased generally with the increase of tumor grade. The overall survival of patients with low expression of lncRNA TUG1 was significantly longer than that of lncRNA TUG1 high expression patients. There were four possible binding sites of HCC related microRNAs (hsa-mir-122-5p, hsa-mir-200a-3p, hsa-mir-34c-3p, hsa-mir-629-3p) on TUG1, which regulated 245 downstream target genes and formed the regulatory network of lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs. In the biological process, microRNA target genes were highly enriched in the processes such as the regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism. In KEGG pathway analysis, microRNA target genes were highly enriched to the signal pathways mediated by Syndecan and TRAIL. **Conclusion** TUG1 expression level in HCC increased. Increased expression of TUG1 is associat-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81472497, 81572620); 山东省自然科学基金资助项目(ZR2015HM003)。

作者简介: 朱玉翠, 女, 在读硕士研究生, 主要从事非编码 RNA 的研究。△ 通信作者, E-mail: cao.yuan@outlook.com。

本文引用格式: 朱玉翠, 张晓彤, 周亚男, 等. 长链非编码 RNA TUG1 在肝细胞癌中的生物信息学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(10): 1153-1157.

ed with poor prognosis in HCC. Bioinformatics methods can be used to explore the mechanism of tumorigenesis from the molecular level, which can provide valuable information for subsequent experiments and clinical diagnosis and treatment.

Key words: hepatocellular carcinoma; taurine up-regulated gene 1; target gene; bioinformatics

肝癌是中国最常见的 4 种癌症(肺癌、胃癌、肝癌和食管癌)之一,病死率位居第三^[1]。由于肝癌早期诊断困难,疾病进展快,靶向治疗药物匮乏,所以肝癌患者的生存率极低^[2]。目前,手术切除、放疗、化疗及肝移植是肝癌患者的主要治疗方式,但这些治疗方法有其自身局限性和癌症复发风险,如何科学有效地治疗肝癌仍然是我国医学界面临的巨大挑战。为降低肝癌的发病率和病死率,延长患者生存期,发现肝癌诊断及伴随诊断相关生物学标志物,并探索其发病机制是关键。随着精准医疗时代的到来,人们逐渐认识到许多非编码基因与肿瘤的发生、发展密切相关,长链非编码 RNA(lncRNA)更是成为研究热点。lncRNA 是一类大于 200 nt 的非编码 RNA 分子,其在调节染色质动力学、基因表达、生长、分化和发育中起关键作用,大量 lncRNA 被发现及其在各类肿瘤中的广泛表达模式、肿瘤特异性及其在循环体液中的稳定性为开发诊断和治疗奠定了基础^[3]。研究表明 lncRNA 可作为肝细胞癌(HCC)诊断的潜在生物学标志物、治疗靶点及预后生物标志物^[4-7]。牛磺酸上调基因 1(TUG1)位于 22q12.2 上,长 7.1 kb,属于 lncRNA^[8]。TUG1 在不同类型的癌症(包括 B 细胞恶性肿瘤、食管鳞状细胞癌、膀胱癌、HCC 和骨肉瘤)中表达异常增高^[9],与肿瘤的发生、发展密切相关,可作为诊断、治疗及预后的生物学标志物^[10-14],在肿瘤的诊断、治疗中有着重要的潜在应用前景。然而 TUG1 在 HCC 中的表达如何,其在 HCC 中是否发挥功能,相关作用机制仍知之甚少。因此,本研究采用生物信息学方法结合公共数据集探索 TUG1 在 HCC 的表达及潜在功能,为相关基础实验和临床转化研究提供借鉴。

1 资料与方法

1.1 运用公共数据库分析 TUG1 在 HCC 中的表达并对 TUG1 进行生存分析 通过 UALCAN 数据库^[15]分析 TUG1 在 HCC 中的表达水平及其与肿瘤分级、性别、种族的关系,并对 TUG1 进行生存分析。生存曲线采用 Kaplan-Meier 分析,采用 log-rank test 进行统计检验。

1.2 与 lncRNA TUG1 相互作用的 microRNA 预测

运用 RegRNA 2.0 生物学软件^[16]预测 lncRNA TUG1 序列上可能存在的 microRNA 结合位点。在预测 lncRNA TUG1 与 microRNA 结合位点时,选取最小折叠自由能(MFE)小于或者等于 -20,并且根据 lncRNA 与其 microRNA 配对时的得分,选取 score 大于或等于 150,得分越高,表示 lncRNA-microRNA

的结合能力越强。同时,以人类 microRNAs 疾病数据库(HMDD)^[17]检索分析与 HCC 有关的 microRNAs,取其交集分析在 HCC 中可能与 lncRNA TUG1 相互作用的 microRNAs。并利用 OncomiR^[18]平台检测 microRNA 在各种癌症中的表达水平。

1.3 microRNA 靶基因的预测 运用 Targetscan 网络在线平台与 microT-CDS^[19]预测 microRNA 的靶基因。为了避免过多的假阳性结果,取两个软件预测结果交集,进一步分析其调控网络。

1.4 构建 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 相互作用网络 选取了 lncRNA TUG1 潜在调控的 microRNAs,分别预测每个 microRNA 调控的靶基因,并利用 Cytoscape 整合 lncRNA TUG1-microRNAs 和 microRNAs-mRNAs 网络,构建成 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 网络调控关系。

1.5 microRNA 靶基因的功能分析 利用 FunRich 平台分析靶基因的生物学功能。选择 Gene Ontology 中的细胞组分(cell component)、分子功能(molecular function)与生物过程(biological process, BP)条目和 Pathways 中的 KEGG 通路条目,进行分析。

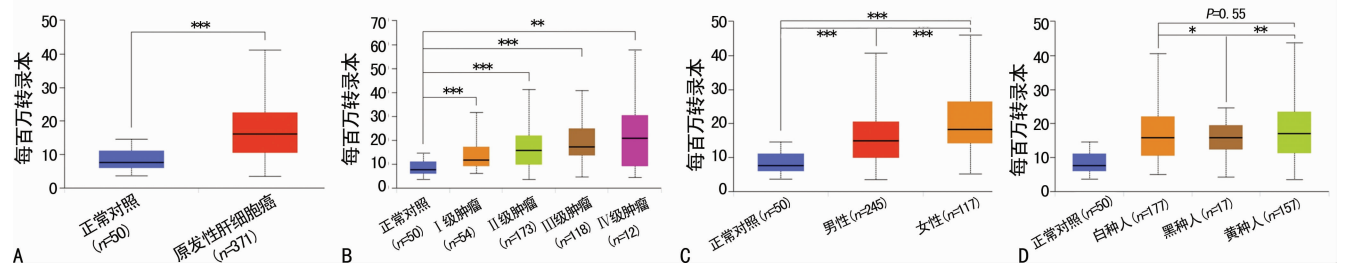
2 结果

2.1 TUG1 在 HCC 中的表达水平及与患者生存时间的关系 通过 UALCAN 数据库分析 TUG1 在 HCC 中的表达水平,表明 TUG1 在 HCC 中表达明显增高(如图 1A, $P < 1 \times 10^{-12}$),随着分级增高 TUG1 的表达大致呈上升趋势(如图 1B),TUG1 在男女性别之间差异有统计学意义,TUG1 在女性中的表达更高(图 1C, $P = 8.16 \times 10^{-4}$)。在 HCC 患者中,TUG1 在白种人、黄种人中的表达水平平均比在黑种人中增高(图 1D, $P = 2.83 \times 10^{-2}$; $P = 8.68 \times 10^{-3}$),TUG1 在白种人与黄种人中的表达差异无统计学意义(图 1D, $P = 0.55$)。lncRNA TUG1 低/中等表达患者的总生存期(Overall survival, OS)较高表达者明显延长($P = 0.0074$)。TUG1 高表达患者随着肿瘤分级增高 OS 明显延长,TUG1 低/中等表达患者随着肿瘤分级增高 OS 明显缩短($P < 0.0001$)。TUG1 低/中等表达男性患者 OS 最长($P = 0.0032$)。TUG1 低/中等表达白种人患者 OS 最长($P = 0.03$)。

2.2 与 lncRNA TUG1 相互作用的 microRNAs 运用 RegRNA 2.0 生物学软件预测能够与 lncRNA TUG1 结合的 microRNAs 共 343 个。通过 HMDD 数据库检索,结果显示与 HCC 有关的有 19 个 microRNAs(hsa-let-7b, hsa-let-7i, hsa-mir-10b, hsa-mir-122, hsa-mir-133b, hsa-mir-148b, hsa-mir-200a, hsa-

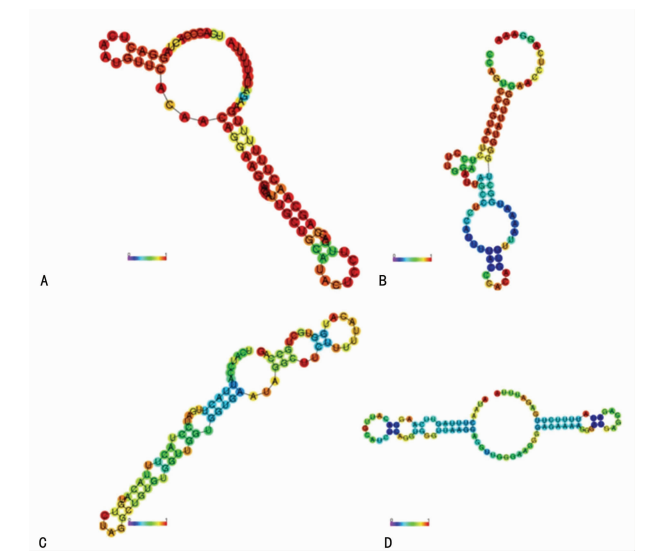
mir-21, hsa-mir-210, hsa-mir-223, hsa-mir-24-1, hsa-mir-24-2, hsa-mir-29a, hsa-mir-30a, hsa-mir-34c, hsa-mir-372, hsa-mir-375, hsa-mir-486, hsa-mir-629)。在这 19 个 microRNAs 中, lncRNA TUG1 与 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p 结合的可能性非常大。分别预测 lncRNA TUG1 与 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-

34c-3p、hsa-mir-629-3p 可能形成的配对结构, 见图 3。从图中可见 4 个配对结构均由多个发夹结构组成, 说明能够形成稳定的结构。图 4 表明 4 种 microRNAs 在 HCC 中异常表达, hsa-mir-122-5p 在 HCC 中的表达水平增高, hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p 在 HCC 中表达水平均降低。整体而言, 4 种 microRNAs 在 HCC 中的异常表达比在其他癌症中显著。



注: A 为 TUG1 在 HCC 及正常对照中的表达水平; B 为 TUG1 在各种肿瘤分级中的表达水平; C 为 TUG1 在不同性别患者中的表达水平; D 为 TUG1 在不同种族患者中的表达水平; * 代表 $P<0.05$; ** 代表 $P<0.01$; *** 代表 $P<0.001$

图 1 TUG1 在 HCC 中的表达水平



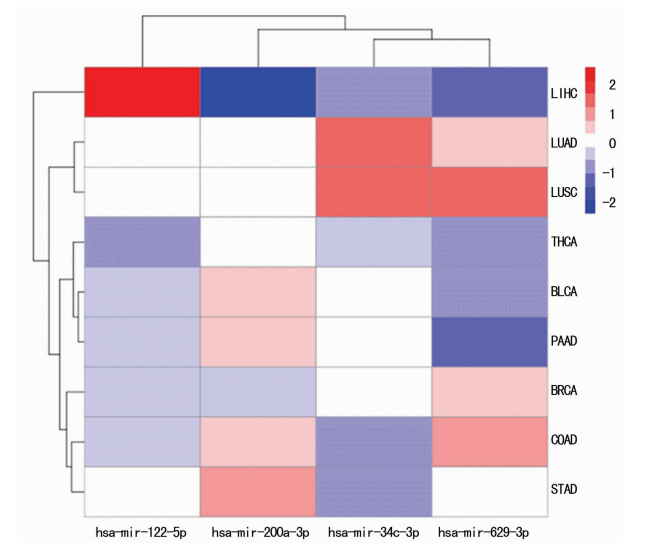
注: A 为 hsa-mir-122-5p; B 为 hsa-mir-200a-3p; C 为 hsa-mir-34c-3p; D 为 hsa-mir-629-3p

图 2 lncRNA TUG1 与 4 种 microRNAs 可能形成的配对结构

2.3 microRNAs 的靶基因 运用 targetscan, microT-CDS 平台共同预测这 4 个 microRNAs 的靶基因, 预测有 250 个靶基因可能受这 4 个 microRNAs 调控。其中发现 hsa-mir-122-5p 的靶基因有 85 个, hsa-mir-200a-3p 的靶基因有 59 个, hsa-mir-34c-3p 的靶基因有 91 个, hsa-mir-629-3p 的靶基因有 15 个。其中 hsa-mir-122-5p 与 hsa-mir-34c-3p 的靶基因较多, 说明 hsa-mir-122-5p 与 hsa-mir-34c-3p 参与更为复杂的调控通路。见图 4。

2.4 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 调控网络 建立 lncRNA TUG1-microRNAs 调控网络之后, 增加 microRNAs-mRNAs 网络, 最终建立 lncRNA TUG1 在 HCC 中的 lncRNA TUG1-microRNAs-

mRNAs 调控网络。网络共由 250 个节点和 254 条边组成, 250 个节点代表 1 个 lncRNA TUG1, 4 个 microRNAs 和 245 个 mRNAs, 254 条边表示它们之间存在 254 种相互作用关系。lncRNA TUG1 在该网络的中心, 调节与之结合的 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-629-3p, 进而调控下游 245 个靶基因。其中 hsa-mir-34c-3p 与 hsa-mir-200a-3p 共同调节 KIF3A、MMP24、FAM160B1, hsa-mir-122-5p 与 hsa-mir-200a-3p 共同调节 STX16, hsa-mir-122-5p 与 hsa-mir-629-3p 共同调节 CUX1。所有相关基因构成一个复杂的网络调控, 相互协调, 表明 lncRNA TUG1 可能从各种层面上参与 HCC 的发生。



注: 肝细胞癌(LIHC); 甲状腺癌(THCA); 肺腺癌(LUAD); 肺鳞状细胞癌(LUSC); 乳腺浸润性癌(BRCA); 结肠腺癌(COAD); 胃腺癌(STAD); 膀胱尿路上皮癌(BLCA); 胰腺癌(PAAD)

图 3 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p 在各种癌症中的表达

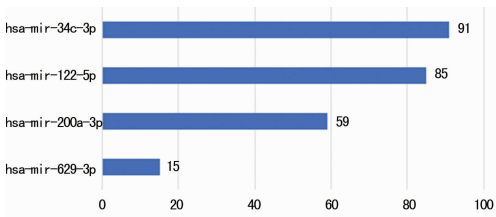
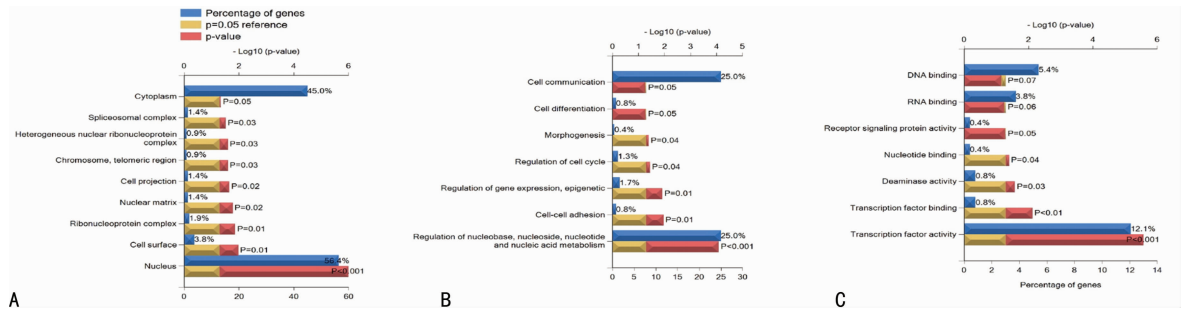


图 4 microRNAs 调控靶基因统计图

2.5 microRNA 靶基因的功能分析 利用 FunRich 平台分析靶基因的生物学功能。将参与 lncRNA



注:A 为细胞成分;B 为分子功能;C 为生物过程

图 5 microRNA 靶基因的 GO 聚类分析

3 讨 论

lncRNA 作为非编码 RNA 的重要组成部分,在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用。根据 lncRNA 所在的基因组位置,可大致将其分为 5 类:正义(sense)、反义(antisense)、基因内(intronic)、基因间(intergenic)及双向(bidirectional)lncRNA。lncRNA 的核苷酸链相对较长,其分子内部具有特定复杂的空间二级结构,能提供多个结合位点,可与 DNA 序列、RNA 序列、蛋白质^[20]及脂质^[21]相互作用,形成 lncRNA 参与的复杂而又微妙的基因表达调控网络。越来越多的研究发现 lncRNA 与 microRNA 的作用关系十分密切。如 lncRNA H19、NEAT1、MALAT1、UCA1、lncRNA-ROR 均可与 microRNA 相互作用,参与乳腺癌的发生发展^[22];lncRNA CASC2 通过调节 miR-362-5p/Nf- κ B 轴参与 HCC 的发生^[23];HOTAIR 作为一种竞争性内源性 RNA 与 miR-126-5p 相互作用促进神经胶质瘤的发展^[24];在肺癌中 lncRNA PVT1-5 通过调控 miR-126/SLC7A5 信号轴促进细胞增殖^[25]。

lncRNA TUG1 又称为 LINC00080,它作为牛磺酸在小鼠视网膜细胞发育中上调的基因被首次报道^[26]。本研究以 lncRNA TUG1 为目标分子,首先利用 UALCAN 数据库分析 TUG1 在 HCC 中的差异表达,并对 TUG1 进行生存分析。结果表明 TUG1 在 HCC 中表达水平明显增高,并且 TUG1 的表达水平与性别、种族、肿瘤分级均有关。这为 TUG1 可以成为 HCC 的肿瘤标志物奠定了基础。lncRNA TUG1

低表达患者的总生存期较高表达患者明显延长。TUG1 的预后与性别、种族、肿瘤分级均有关。TUG1 或许可以成为评估 HCC 预后情况的生物学标志物。关于 TUG1 在 HCC 中的作用机制,LI 等^[27]曾报道 TUG1 作为竞争性内源 RNA (ceRNA),通过靶向 miR-132 在 HCC 中调节 Hedgehog 信号通路;HUANG 等^[28]发现核转录因子 SP1 诱导 TUG1 表达水平增高,TUG1 可以通过与多梳抑制复合物 2 (PRC2)结合并将其募集到 KLF2 启动子区域,在表观遗传学上抑制 HCC 细胞中 Kruppel 样因子 2 (KLF2)的转录。

然而 TUG1 在 HCC 的异常表达是否涉及其他作用机制,这促使研究人员采用生物信息学方法探索 TUG1 的调节信号轴。本研究首先运用 RegRNA 2.0 生物学软件、HMDD 数据库发现 TUG1 上存在 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p 这 4 种与 HCC 相关 microRNAs 的可能结合位点,并且这 4 种 microRNAs 在 HCC 中的异常表达比在其他癌症中显著,更加验证了其在 HCC 中可能与高表达 TUG1 有相互作用关系。在为 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 调控网络中,TUG1 在该网络的中心,调节与之结合的 hsa-mir-122-5p、hsa-mir-200a-3p、hsa-mir-34c-3p、hsa-mir-629-3p,进而调控下游 245 个靶基因,所有相关基因构成一个复杂的网络调控,相互调节,相互作用。为 TUG1 在 HCC 中的作用机制提供了理论和实验基础。在 microRNA 的靶基因 GO 分析结果显示:在生物学过程中,mi-

croRNA 靶基因高度富集到碱基、核苷、核苷酸和核酸代谢调节等过程,表明 microRNA 靶基因在生物学过程中发挥重要作用。在 microRNA 的靶基因 KEGG pathway 分析中,microRNA 靶基因高度富集到 Syndecan、TRAIL 等介导的信号通路。Syndecan、TRAIL 介导的信号通路均与肿瘤相关。ZENG 等^[29]报道鞘氨醇-1-磷酸(S1P)通过调节 MMP-7/syndecan-1/TGF- β 自分泌环诱导 HCC 中的上皮间充质转化(EMT)。肿瘤坏死因子(TNF)相关凋亡诱导配体(TRAIL)被认为是一种有前景的抗癌药物,它选择性诱导癌细胞凋亡,而不损伤正常组织细胞^[30]。而这或许能为癌症治疗提供新的方案。

本研究也存在一定局限性。首先,由于本文采用 RegRNA 2.0、HMDD、targetscan、microT-CDS 等预测软件对 lncRNA 的靶标进行预测,预测结果可能存在假阳性,需要进一步实验验证和分析。第二,由于缺乏血清(血浆)中 TUG1 的表达数据,本文不能比较 TUG1 在组织和血清中表达的一致性,也无法探索血清中 TUG1 的含量与 HCC 诊断和预后的关系。

综上所述,本研究采用生物信息学方法构建 lncRNA TUG1-microRNAs-mRNAs 调控网络,阐明了 TUG1 具有作为 HCC 诊断标志物和治疗靶点的潜力,该工作不仅为实验研究提供了方向,也为其他 lncRNA 在 HCC 中的研究提供借鉴。

参考文献

- [1] CHEN W Q,ZHENG R S,BAADE P D,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2): 115-132.
- [2] FU J,WANG H Y. Precision diagnosis and treatment of liver cancer in China[J]. Cancer Lett,2018,412:283-288.
- [3] BHAN A,SOLEIMANI M,MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. Cancer Res, 2017,77(15):3965-3981.
- [4] KLINGENBERG M,MATSUDA A,DIEDERICH S,et al. Non-coding RNA in hepatocellular carcinoma: Mechanisms,biomarkers and therapeutic targets[J]. J Hepatol, 2017,67(3):603-618.
- [5] QIU L P,TANG Q,LI G H,et al. Long non-coding RNAs as biomarkers and therapeutic targets:Recent insights into hepatocellular carcinoma[J]. Life Sci,2017, 191:273-282.
- [6] XU Y F,WANG B F,ZHANG F B,et al. Long non-coding RNA CCAT2 is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma and promotes tumor metastasis by regulating Snail2-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. Onco Targets Ther,2017,10:1191-1198.
- [7] KAMEL M M,MATBOLI M,SALLAM M,et al. Investigation of long noncoding RNAs expression profile as po-

tential serum biomarkers in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Transl Res,2016,168:134-145.

- [8] KATSUSHIMA K,NATSUME A,OHKA F,et al. Targeting the notch-regulated non-coding RNA TUG1 for glioma treatment[J]. Nat Commun,2016,7:13616.
- [9] LI Z,SHEN J X,CHAN M T,et al. TUG1: a pivotal oncogenic long non-coding RNA of human cancers[J]. Cell Prolif,2016,49(4):471-475.
- [10] LI N,SHI K E,KANG X M,et al. Prognostic value of long non-coding RNA TUG1 in various tumors[J]. Oncotarget,2017,8(39):65659-65667.
- [11] MA P J,GUAN Q K,MENG L,et al. Long non-coding RNA TUG1 as a potential prognostic biomarker in human cancers: a meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8 (37): 62454-62462.
- [12] BARATIEH Z,KHALAJ Z,HONARDOOST M A,et al. Aberrant expression of PlncRNA-1 and TUG1: potential biomarkers for gastric cancer diagnosis and clinically monitoring cancer progression[J]. Biomark Med,2017,11 (12):1077-1090.
- [13] XIE D L,ZHANG H,HU X H,et al. Knockdown of long non-coding RNA Taurine Up-Regulated 1 inhibited doxorubicin resistance of bladder urothelial carcinoma via Wnt/ β -catenin pathway [J]. Oncotarget, 2017, 8 (51): 88689-88696.
- [14] DAI M Y,CHEN S Y,WEI X M,et al. Diagnosis, prognosis and bioinformatics analysis of lncRNAs in hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2017, 8 (56): 95799-95809.
- [15] CHANDRASHEKAR D S,BASHEL B,BALASUBRAMANYA S A H,et al. UALCAN: A portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses [J]. Neoplasia,2017,19(8):649-658.
- [16] CHANG T H,HUANG H Y,HSU J B,et al. An enhanced computational platform for investigating the roles of regulatory RNA and for identifying functional RNA motifs[J]. BMC Bioinformatics,2013,14(Suppl 2):S4.
- [17] LI Y,QIU C X,TU J A,et al. HMDD v2.0: a database for experimentally supported human microRNA and disease associations[J]. Nucleic Acids Res,2014,42 (Database issue): D1070-D1074.
- [18] WONG N W,CHEN Y H,CHEN S A,et al. OncomiR: an online resource for exploring pan-cancer microRNA dysregulation[J]. Bioinformatics,2018,34(4):713-715.
- [19] PARASKEVOPOULOU M D,GEORGAKILAS G,KO-STOULAS N,et al. DIANA-microT web server v5.0: service integration into miRNA functional analysis workflows[J]. Nucleic Acids Res,2013,41 (Web Server issue): W169-W173.
- [20] SCHMITT A M,CHANG H Y. Long noncoding RNAs in cancer pathways [J]. Cancer Cell,2016,29(4):452-463.

- [3] LEVINE J J, STMISON C K, BERTINO P M. Effects of methylation on expression of TMS1/ASC in human breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2003, 22(22): 3475.
- [4] LIU X F, ZHU S G, ZHANG H, et al. The methylation status of the TM S1/ASC gene in cholangio carcinoma and its clinical significance[J]. *Hepato biliary Pancreat Dis Int*, 2006, 5(3): 449.
- [5] MARTINEZ R, SCHACKERT G, ESTELLER M. Hypermethylation of the proapoptotic gene TMS1/ASC: prognostic importance in glioma stomach multi for me[J]. *J Neurooncol*, 2007, 82(2): 133-139.
- [6] EMIETA M, MALCOLM V, CRAIG M, et al. Hypermethylation of TMS1/ASC is as put umarker for late-stage lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12): 6210-6218.
- [7] 张志学, 张林. 非小细胞肺癌中 ASC 基因启动子甲基化的意义[J]. *中国肿瘤临床*, 2006, 33(12): 674-677.
- [8] MIZUNO S, CHIJIWA T, OKAMURA T, et al. Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia[J]. *Blood*, 2001, 97(5): 1172-1179.
- [9] XU H, WANG Z, LIU D, et al. High expression of DNMT1 was correlated with beta-catenin accumulation and malignant phynotype of lung squamous cell carcinoma and adenocarcinoma[J]. *Zhong guo Fei Ai Za Zhi*, 2010, 13(9): 856-860.
- [10] ZHU Y M, HUANG Q, LIN J, et al. Expression of human DNA methyltransferase 1 in colorectal cancer tissues and their corresponding distant normal tissues[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2007, 22(6): 661-666.
- [11] BILLARD L M, MAGDINIER F, LENOIR G M, et al. MeCP2 and MBD2 expression during normal and pathological growth of the human mammary gland[J]. *Oncogene*, 2002, 21(17): 2704-2712.
- [12] RADVANYI L, SINGH-SANDHU D, GALLICHAN S, et al, Tartaglia J, Berinstein NL; The gene associated with trichorhinophalangeal syndrome in humans is overexpressed in breast cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(31): 11005-11010.
- [13] SIMIC P, VUKICEVIC S. Bone morphogenetic proteins in development and homeostasis of kidney[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16(3): 299-308.
- [14] GAI Z, ZHOU G, ITOH S, et al. Trps1 functions downstream of Bmp7 in kidney development[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(11): 2403-2411.
- [15] CERVONI N, BHATTACHARYA S, SZYF M. DNA demethylase is a processive enzyme[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(13): 8363-8366.

(收稿日期: 2017-11-24 修回日期: 2018-01-04)

(上接第 1157 页)

- [21] LIN A F, HU Q S, LI C L, et al. The LINK-A lncRNA interacts with PtdIns(3,4,5)P3 to hyperactivate AKT and confer resistance to AKT inhibitors[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(3): 238-251.
- [22] 朱玉翠, 张晓彤, 胡成进, 等. 长链非编码 RNA 在乳腺癌中的研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2017, 35(8): 628-631.
- [23] ZHAO L, ZHANG Y J, ZHANG Y B. Long noncoding RNA CASC2 regulates hepatocellular carcinoma cell oncogenesis through miR-362-5p/Nf- κ B axis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 10: 26446.
- [24] LIU L, CUI S T, WAN T, et al. Long non-coding RNA HOTAIR acts as a competing endogenous RNA to promote glioma progression by sponging miR-126-5p[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 10: 26432.
- [25] LI H L, CHEN S X, LIU J, et al. Long non-coding RNA PVT1-5 promotes cell proliferation by regulating miR-126/SLC7A5 axis in lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(3): 2350-2355.
- [26] YOUNG T L, MATSUDA T, CEPKO C L. The noncoding RNA taurine upregulated gene 1 is required for differentiation of the murine retina[J]. *Curr Biol*, 2005, 15(6): 501-512.
- [27] LI J J, ZHANG Q H, FAN X M, et al. The long noncoding RNA TUG1 acts as a competing endogenous RNA to regulate the Hedgehog pathway by targeting miR-132 in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65932-65945.
- [28] HUANG M D, CHEN W M, QI F Z, et al. Long non-coding RNA TUG1 is up-regulated in hepatocellular carcinoma and promotes cell growth and apoptosis by epigenetically silencing of KLF2[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1): 165.
- [29] ZENG Y, YAO X H, CHEN L, et al. Sphingosine-1-phosphate induced epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma via an MMP-7/ syndecan-1/TGF- β autocrine loop[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(39): 63324-63337.
- [30] FENG X N, JIANG J J, SHI S H, et al. Knockdown of miR-25 increases the sensitivity of liver cancer stem cells to TRAIL-induced apoptosis via PTEN/PI3K/Akt/Bad signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6): 2600-2610.

(收稿日期: 2017-11-26 修回日期: 2018-01-06)