

论著·基础研究

基于生物信息学分析的卵巢癌微小 RNA 调控网络的初步构建^{*}李丹丹¹, 丁世家², 陈维贤^{1△}(1. 重庆医科大学第二附属医院检验科, 重庆 400010; 2. 重庆医科大学临床检验
诊断学教育部重点实验室, 重庆 400016)

摘要:目的 在生物信息学分析基础上初步构建卵巢癌微小 RNA(miRNA) 及长链非编码 RNA(lncRNA) 调控网络, 探讨 miRNA 在卵巢癌细胞中的分子调控机制。方法 通过 miRwalk 2.0 及 HMDD v2.0 精准查询与卵巢癌相关且功能明确的 miRNA, 根据 miRwalk 2.0 软件出现频次进行筛选, 明确其对应靶基因表达情况。在 lncRNA 疾病数据库中查询与卵巢癌相关的 lncRNA, 运用 starBase v2.0 对所得到的 miRNA 和 lncRNA 进行综合分析, 筛选出与上述 miRNA 相互作用的且与卵巢癌相关的 lncRNA。通过 Cytoscape 软件绘制 miRNA 在卵巢癌中的分子调控网络。结果 hsa-let-7a、hsa-mir-21、hsa-miR-16、hsa-mir-17、hsa-mir-19b、hsa-mir-29a、hsa-mir-92a 是介导卵巢癌调控的高频 miRNA, 成功获取了有关 miRNA 在卵巢癌中的分子调控网络; 初步明确了高频 miRNA。lncRNA 与 miRNA 匹配分析发现, lncRNA X(染色体)失活特异性转录物(XIST)作为核心调控因子与高频 miRNA 相互作用介导卵巢癌基因调控。结论 利用生物信息学分析技术成功描绘了一张与卵巢癌相关的 miRNA 分子调控网络, miRwalk、HMDD、starBase 等数据库可有效地用于 miRNA 与疾病关系的研究。

关键词:微小 RNA; 卵巢癌; 长链非编码 RNA; 数据库

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.002

中图法分类号:R737.31

文章编号:1673-4130(2019)02-0132-04

文献标识码:A

Construction of microRNA-mediated gene regulatory networks of ovarian cancer based on bioinformatic analysis^{*}LI Dandan¹, DING Shijia², CHEN Weixian^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China; 2. Key Laboratory of Diagnostic Medicine Designated by the Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To construct microRNA (miRNA)-mediated gene regulation of ovarian cancer by establishing regulatory networks of miRNA and long non-coding RNA (lncRNA) database based on bioinformatic analysis. **Methods** Ovarian cancer-related regulatory miRNAs were obtained via miRwalk 2.0 and HMDD v2.0. According to the frequency of miRwalk 2.0 software, we screened and identified the corresponding target gene expression. Upon a matching analysis, ovarian cancer matched lncRNAs searched from the lncRNA database were performed to determine miRNAs interacted with lncRNA, and starBase v2.0 was used to comprehensively analyze the obtained miRNA and lncRNA. Finally, miRNA-mediated gene regulatory networks of ovarian cancer were mapped by the Cytoscape software. **Results** MiRNA-mediated gene regulation of ovarian cancer was successfully established regulatory networks of miRNA and lncRNA databases. Hsa-let-7a, hsa-mir-21, hsa-miR-16, hsa-mir-17, hsa-mir-19b, hsa-mir-29a and hsa-mir-92a were high frequency miRNA of ovarian cancer. According to matching analysis, lncRNA gene symbol X inactive-specific transcript (XIST) played the central role in lncRNA-miRNA interaction in regulation of ovarian cancer. **Conclusion** The miRNA-mediated gene regulating network of ovarian cancer was successfully established according to bioinformatic analysis. Databases like miRwalk, HMDD, starBase could be used as effective tools to analyze relationship

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81702083)。

作者简介:李丹丹,女,博士研究生,主要从事分子诊断和靶向治疗方向研究。△ 通信作者,E-mail:chenweixian75@163.com。

本文引用格式:李丹丹,丁世家,陈维贤.基于生物信息学分析的卵巢癌微小 RNA 调控网络的初步构建[J].国际检验医学杂志,2019,40(2):132-135.

between miRNA and disease.

Key words: mircoRNA; ovarian cancer; long non-coding RNA; database

卵巢癌是妇科最常见肿瘤之一,病死率极高、预后差,是女性健康的严重威胁之一^[1]。由于卵巢癌没有特殊的预防措施,同时多数患者早期表现隐匿,不易引起重视,诊断明确往往已属晚期,失去治疗及手术最佳时期,临床提倡早发现、早治疗,因此,疾病发病机制的研究对早期诊断及防控具有重要的临床意义^[2]。大量研究显示,卵巢癌的发生、发展受到多种基因的调控,微小 RNA(miRNA)及长链非编码 RNA(lncRNA)是两类重要的 RNA,参与细胞生长的一系列重要进程,包括细胞增殖、分化、凋亡及死亡等过程,其在基因转录及翻译过程中调控具有极为重要的作用,在卵巢癌发生发展过程中,miRNA 表达失调将导致细胞的过度增殖、过度分化,从而导致肿瘤的发生发展。由于 miRNA 介导的基因调控在卵巢癌中发病机制复杂,目前尚未完全阐明。鉴于将循证生物学信息分析和实验论证相结合,有利于从循证研究角度为 miRNA、lncRNA 及靶基因关联的进一步研究提供研究证据。本研究采用现代分析软件,在生物信息学分析基础上初步构建卵巢癌 miRNA 及匹配 lncRNA 调控网络,探讨 miRNA 在卵巢癌细胞中的分子调控机制,为卵巢癌的早期诊断、早期治疗提供有力的参考依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 基因分析中常用的 miRNA 及 lncRNA 分析数据库:miRwalk 2.0 数据库(网址:ht-tp://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/index.html)^[3];HMDD v2.0 数据库(网址:http://

www.cuilab.cn/hmdd)^[4];starBase v2.0(网址:http://starbase.sysu.edu.cn/)^[5];lncRNA 疾病数据库(网址:http://www.cuilab.cn/lncrnadisease)^[6]。

1.2 研究方法 以“ovarian cancer”为关键词,通过 miRwalk 2.0 软件及 HMDD v2.0 查询已证实与卵巢癌相关的 miRNA,根据相应 miRNA 在 miRwalk 2.0 软件文献链接出现频次进行筛选,明确出现研究频次大于 7 的相对高频 miRNA 7 个,通过 miRwalk 2.0 明确其对应靶基因表达情况。在 lncRNA 疾病数据库查询与卵巢癌相关的 lncRNA,并运用 starBase v2.0 对所得到的 miRNA 和 lncRNA 进行综合分析,得到与上述 miRNA 相互作用的且与卵巢癌相关的 lncRNA,最终绘制 miRNA 在卵巢癌中的分子调控网络。

1.3 分析方法 将卵巢癌相关 miRNA、lncRNA 及靶基因均录入 Excel 2007,并进行统计描述分析,miRNA 在卵巢癌中的分子调控网络采用 Cytoscape 软件制图^[7]。

2 结 果

2.1 卵巢癌相关 miRNA 及靶基因 通过对 miR-walk 2.0 数据库及 HMDD v2.0 数据库同时查询并进行整理后,初步发现卵巢癌相关的 miRNA 共 172 个,其中有 8 篇以上文献报道的 miRNA 有 hsa-let-7a、hsa-mir-21、hsa-miR-16、hsa-mir-17、hsa-mir-19b、hsa-mir-29a、hsa-mir-92a。运用 miRwalk 2.0 分析上述 7 个 miRNA 的靶基因,基因查找及靶基因筛选结果见表 1。

表 1 HMDD v2.0 及 miRwalk 2.0 数据库中 与卵巢癌相关的 miRNA

miRNA	miRwalk 2.0 文献频次(n)	靶基因数 (n)	高频次靶基因分布情况
hsa-let-7a	10	688	WEE1、KLHL15、MBNL1、ZNF460、AGO1、MYC、DICER1、TNFRSF10B、CCND2、CCND1、BCL2
hsa-mir-21	10	634	WEE1、KLHL15、MBNL1、ZNF460、AGO1、MYC、DICER1、TNFRSF10B、CCND2、CCND1、BCL2、PTEN、BTG2、NUFIP2、WNK3
hsa-miR-16	9	1 515	WEE1、KLHL15、MBNL1、ZNF460、AGO1、MYC、DICER1、CCND1、BCL2、BTG2、NUFIP2、WNK3
hsa-mir-17	8	1 249	WEE1、KLHL15、MBNL1、MYC、TNFRSF10B、CCND2、CCND1、BCL2、PTEN、BTG2、NUFIP2、WNK3
hsa-mir-19b	8	695	WEE1、MBNL1、DICER1、TNFRSF10B、CCND2、PTEN、NUFIP2、WNK3
hsa-mir-29a	8	301	WEE1、ZNF460、AGO1、DICER1、CCND2、CCND1、BCL2、PTEN、BTG2、WNK3
hsa-mir-92a	8	1 329	WEE1、KLHL15、MBNL1、ZNF460、AGO1、MYC、TNFRSF10B、CCND2、CCND1、PTEN、BTG2、NUFIP2

2.2 与卵巢癌密切相关的 miRNA 的 lncRNA 通过 lncRNA 数据库查阅卵巢癌相关 lncRNA 条目,共查询到 38 条结果,将 lncRNA 通过 miRwalk 2.0 软件,通过 lncRNA Gene Symbol 及 miRNA 进行关联,明确 lncRNA Gene 与 7 个高频基因,见表 2。

表 2 miRwalk 2.0 数据库卵巢癌相关的 miRNA 对应 lncRNA

miRNA	频次较高靶基因分布情况
hsa-let-7a	XIST,HOXA11-AS
hsa-mir-21	XIST,TUG1
hsa-miR-16	XIST,PVT1
hsa-mir-17	XIST,H19,HOTAIR,PVT1,MALAT1
hsa-mir-19b	XIST,H19,HOTAIR
hsa-mir-29a	XIST,H19,GAS5,TUG1
hsa-mir-92a	XIST

2.3 经 Cytoscape 软件绘制 miRNA 在卵巢癌中的分子调控网络 通过对卵巢癌相关高频 miRNA 及卵巢癌相关性文献检索发现相应基因在卵巢癌调控中具有重要作用,如 hsa-let-7a 高表达对卵巢癌具有一定保护作用,高表达患者具有相对更低的死亡风险^[8]。hsa-mir-21 在卵巢癌患者中具有高表达的趋势^[9],hsa-miR-16 通过介导多种基因的表达从而对卵巢癌治疗预后产生影响,has-mir-17 通过对 ITGA5 和 ITGB1 等靶基因作用于卵巢癌细胞的转移产生作用。各目标 miRNA 与 miRwalk 2.0 数据库中查阅到高频作用基因的调控网络见图 1。通过 lncRNA 疾病数据库查询与卵巢癌相关 lncRNA 有 17 个,运用 starBase v2.0 对所得到的 miRNA 和 lncRNA 进行综合分析发现,lncRNA X(染色体)失活特异性转录物(XIST)、H19、HOXA11-AS、PVT1、TUG、GAS5、HOTAIR、MALAT1 的表达均有一定作用,其中以 XIST 在卵巢癌发生、发展过程中起到较为中心的作用,上述所有 miRNA 均对 XIST 的表达及调控具有一定作用,具体调控网络见图 2。

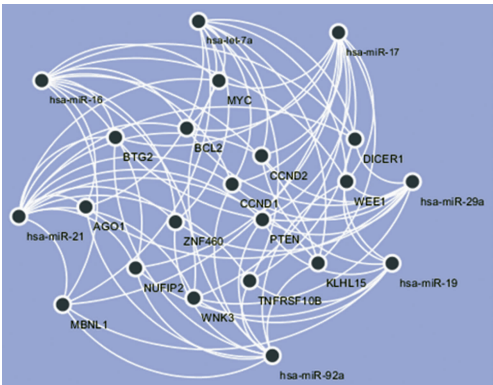


图 1 miRNA 及相关基因在卵巢癌中的分子调控网络

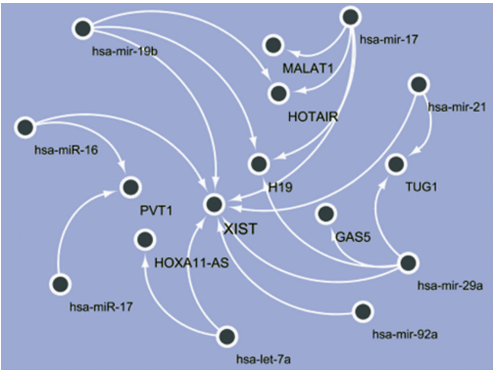


图 2 miRNA 及相关 lncRNA 在卵巢癌中的分子调控网络

3 讨 论

研究分析 miRNA 与疾病的关系对疾病的诊断及治疗具有重要意义^[10-11]。研究显示,人类约 1/3 的基因转录及翻译受 miRNA 调控。作为长度仅为 20~24 个核苷酸的小分子 RNA,miRNA 不仅维持正常细胞的结构、功能,而且其表达异常对肿瘤的发生、发展亦具有重要作用。因此,通过 miRNA 介导的基因表达调控是肿瘤防治的重要方向。本研究通过对 miRwalk 2.0 等 miRNA 及基因数据库的数据挖掘,利用其大数据分析功能对卵巢癌相关 miRNA 及数据库中靶基因进行整合及聚类分析,从而实现卵巢癌 miRNA 调控网络的初步构建。复杂的调节网络中,单个 miRNA 可同时对多个靶基因进行调控,同一基因也可能受到多个 miRNA 的调控,本研究发现 hsa-let-7a、hsa-mir-21、hsa-miR-16、hsa-mir-17、hsa-mir-19b、hsa-mir-29a、hsa-mir-92a 等 7 个基因均参与了多种基因表达的调控,如图 1 所示,hsa-let-7a 同时参与了 WEE1、KLHL15、MBNL1、ZNF460、AGO1、MYC、DICER1、TNFRSF10B、CCND2、CCND1、BCL2 等多基因调控。而基因 WEE1 则同时受到 hsa-mir-21、hsa-miR-16、hsa-mir-17、hsa-mir-19、hsa-mir-29a、hsa-mir-92a 等多种 miRNA 调控,如此多种 miRNA 与基因的调控构成一个调控网络,对卵巢癌的生长及分化等多过程进行调节。

lncRNA 是一类 200 nt 的 RNA,大量研究显示其在癌基因表达调控中具有转录激活、修饰、调节等多种生物学功能。本研究通过数据库检索卵巢癌相关 lncRNA 条目,共查询到 38 条结果,将 lncRNA 通过 miRwalk 2.0 软件,通过 lncRNA Gene Symbol 对 miRNA 进行关联,明确了 lncRNA 基因与 7 个高频基因,这与已报道的卵巢癌相关 lncRNA 基因具有一致性^[12]。如图 2 所示,lncRNA XIST 作为核心调控因子与高频 miRNA 相互作用介导卵巢癌基因调控,lncRNA H19 也具有重要作用,这与国外相应研究结论基本一致^[3]。lncRNA 也可以作为一种竞争性内源

性 RNA (ceRNA) 与 miRNA 相互作用, lncRNA 与 miRNA 之间具有相互调控关系, 并通过调控靶基因的表达, 在卵巢癌发生、发展中发挥重要作用。

4 结 论

卵巢癌侵袭转移是多因素作用的结果, miRNA 及 lncRNA 均在上皮性卵巢癌中的侵袭、转移方面有着重要意义。miRwalk、HMDD、starBase 等是常用的生物信息学分析数据库, 可有效地用于 miRNA 与疾病关系研究^[13]。本研究利用生物信息学分析技术成功描绘了一张与卵巢癌相关的 miRNA 分子调控网络, 为卵巢癌相关分子机制研究、早期诊断、早期治疗提供了有力的技术支撑。

参考文献

[1] REID B M, PERMUTH J B, SELLERS T A. Epidemiology of ovarian cancer; a review[J]. Cancer Biol Med, 2017, 14(1): 9-32.

[2] LA VECCHIA C. Ovarian cancer; epidemiology and risk factors[J]. Eur J Cancer Prev, 2017, 26(1): 55-62.

[3] NIKPAYAM E, TASHARROFI B, SARRAFZADEH S, et al. The role of long non-coding RNAs in ovarian cancer [J]. Iran Biomed J, 2017, 21(1): 3-15.

[4] LI Y, QIU C, TU J, et al. HMDD v2. 0: a database for experimentally supported human microRNA and disease associations[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42 (Database issue): D1070-1074.

[5] LI J H, LIU S, ZHOU H, et al. starBase v2. 0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA inter-

action networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Database issue): D92-97.

[6] WANG J, MA R, MA W, et al. LncDisease: a sequence based bioinformatics tool for predicting lncRNA-disease associations[J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(9): e90.

[7] CARLIN D E, DEMCHAK B, PRATT D, et al. Network propagation in the cytoscape cyberinfrastructure[J]. PLoS Comput Biol, 2017, 13(10): e1005598.

[8] IORIO M V, CROCE C M. Commentary on microRNA fingerprint in human epithelial ovarian cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(21): 8699-8707.

[9] ZHAO H Y, XU H, XUE L C. Regulatory network involving miRNAs and genes in serous ovarian carcinoma[J]. Oncol Lett, 2017, 14(5): 6259-6268.

[10] MIHANFAR A, FATTAHI A, NEJABATI H R. MicroRNA-mediated drug resistance in ovarian cancer [J/OL]. J Cell Physiol, 2017-06-19 [2017-09-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28628227>.

[11] ZHANG S, NG M K. Gene-microRNA network module analysis for ovarian cancer[J]. BMC Syst Biol, 2016, 10 (Suppl 4): S117.

[12] YANG K, HOU Y, LI A, et al. Identification of a six-lncRNA signature associated with recurrence of ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 752.

[13] 周嘉彬, 吕钰冰, 韩泽平, 等. 生物信息学分析 mircoRNA 在乳腺癌中的调控网络[J]. 中国医药生物技术, 2016, 11 (6): 559-562.

(收稿日期: 2018-07-20 修回日期: 2018-10-21)

(上接第 131 页)

et al. Platelet-rich plasma extract prevents pulmonary edema through angiopoietin-Tie2 signaling[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52(1): 56-64.

[12] STEFANINI L, RODEN R C, BERGMEIER W. CalDAG-GEFI is at the nexus of calcium-dependent platelet activation[J]. Blood, 2009, 114(12): 2506-2514.

[13] HOSHI R, MURATA S, MATSUO R, et al. Freeze-dried platelets promote hepatocyte proliferation in mice [J]. Cryobiology, 2007, 55(3): 255-260.

[14] DOLE V S, BERGMEIER W, MITCHELL H A, et al. Activated platelets induce Weibel-Palade-body secretion and leukocyte rolling in vivo; role of P-selectin[J]. Blood, 2005, 106(7): 2334-2339.

[15] ZHANG J, YUAN T, ZHENG N, et al. The combined use of kartogenin and platelet-rich plasma promotes fibrocartilage formation in the wounded rat Achilles tendon entheses[J]. Bone Joint Res, 2017, 6(4): 231-244.

[16] DHURAT R, SUKESH M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma; a review and author's perspective[J]. J Cutan Aesthet Surg, 2014, 7(4): 189-197.

[17] ARGÜELLES D, CARMONA JU, PASTOR J, et al. Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets[J]. Res Vet Sci, 2006, 81(2): 237-245.

[18] XIA S, CHEN G, WANG B, et al. Addition of sodium pyruvate to stored red blood cells attenuates liver injury in a murine transfusion model [J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 3549207.

[19] TAO Z Y, XIA H, CAO J, et al. Development and evaluation of a prototype non-woven fabric filter for purification of malaria-infected blood[J]. Malar J, 2011, 10: 251.

(收稿日期: 2018-06-26 修回日期: 2018-09-25)