

• 论 著 •

肺腺癌 EMT 相关基因筛选及其 ceRNA 网络构建*

马楚涵¹,孙家琰²,赵雨馨³,赵幼敏³,刘奕墨⁴,赵子涵¹,王子剑¹,尹智华^{3△}
中国医科大学:1. 第一临床学院;2. 第四临床学院;3. 公共卫生学院;
4. 健康管理学院,辽宁沈阳 110122

摘要:**目的** 筛选肺腺癌上皮间质转化(EMT)相关基因,并对其进行功能富集分析及蛋白互作网络(PPI)构建,根据竞争性内源 RNA(ceRNA)假说及基因表达对患者预后的影响构建 ceRNA 网络。**方法** 利用基因表达图谱及肿瘤基因组图谱数据库筛选肺腺癌组织与正常组织的差异表达基因,将其导入 GenClip3,得到 EMT 相关基因;应用 Metascape 对其进行基因本体论及京都基因和基因组百科全书富集分析,并且通过 STRING 数据库构建 PPI 并获得 EMT 关键基因;利用 Kaplan-Meier 分析关键基因与患者预后的关系;使用 miRTarbase、miRNet database、ENCORI 等分析工具构建 ceRNA 网络。**结果** 本研究获得了 156 个肺腺癌 EMT 相关基因及其关键基因钙黏蛋白 1、白细胞介素-6、基质金属蛋白酶 9、血小板内皮细胞黏附分子、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A、 α 1-Ⅰ 型胶原基因、分泌型磷酸蛋白 1、TIMP 基质金属蛋白酶抑制因子 1、小窝蛋白 1、zeste 基因增强子同源物 2(EZH2),并预测了关键基因的 PPI 及共同靶向这些关键基因的治疗性中药丹参、人参芦、人参、人参叶、人参花;构建了 EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC 预后相关 ceRNA 调控网络。**结论** 本研究利用生物信息学方法系统描述了 EMT 过程中的基因相互作用,根据肺腺癌患者临床数据构建了 EMT 过程的预后相关 ceRNA 网络,为肺腺癌的治疗和预后判断提供了新思路。

关键词: 上皮间质转化; 关键基因; 竞争性内源 RNA
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.24.003 **中图法分类号:**R734.2
文章编号:1673-4130(2023)24-2954-09 **文献标志码:**A

Screening of EMT-related genes in lung adenocarcinoma and construction of ceRNA network*

MA Chuhan¹,SUN Jiayan²,ZHAO Yuxin³,ZHAO Youmin³,
LIU Yimo⁴,ZHAO Zihan¹,WANG Zijian¹,YIN Zhihua^{3△}

1. First Clinical College;2. Fourth Clinical College;3. School of Public Health;
4. School of Health Management,China Medical University,Shenyang,Liaoning 110122,China

Abstract: Objective To screen the epithelial mesenchymal transformation (EMT)-related genes in lung adenocarcinoma,perform functional enrichment analysis and construct protein interaction network (PPI). According to the competitive endogenous RNA (ceRNA) hypothesis and the effect of gene expression on the prognosis of patients,the ceRNA network was constructed. **Methods** The differentially expressed genes between lung adenocarcinoma tissues and normal tissues were screened by gene expression map and tumor genome map database,and the genes were imported into GenClip3 to obtain EMT-related genes. Metascape was used to perform gene ontology and Kyoto encyclopedia of gene and genome enrichment analysis,and STRING database was used to construct PPI and obtain EMT key genes. The relationship between key genes and prognosis was analyzed by Kaplan-Meier analysis. Analysis tools such as miRTarbase,miRNet database,and ENCORI were used to construct ceRNA networks. **Results** In this study,156 lung adenocarcinoma EMT-related genes and their key genes cadherin 1,interleukin-6,matrix metalloproteinase-9,platelet endothelial cell adhesion molecule,cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, α 1-Ⅰ collagen gene,secreted phosphoprotein 1,TIMP inhibitor of matrix metalloproteinase-1,caveolin-1 and Zeste homologue enhance core 2 (EZH2)-1 were identified. The PPI of key genes was predicted,and the therapeutic drugs targeting these key genes including salvia miltiorrhiza,ginseng lu,ginseng leaf and ginseng flower were also predicted. The prognostic ceRNA regulatory

* 基金项目:国家级大学生创新创业计划训练项目(202210159003)。
作者简介:马楚涵,男,本科在读,主要从事肿瘤微环境与肿瘤免疫及肿瘤流行病学研究。 △ 通信作者,E-mail:zhyin@cmu.edu.cn。
网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20231212.1700.004.html>(2023-12-13)

network of EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC was constructed. **Conclusion** This study describes using bioinformatics methods system in the process of EMT gene interactions, according to the lung adenocarcinoma patients clinical data to construct the prognosis of the EMT process related ceRNA network, for the treatment and prognosis of lung adenocarcinoma judgment provides a new way of thinking.

Key words: epithelial mesenchymal transformation; key genes; competitive endogenous RNA

肺癌是我国发病率与死亡率最高的恶性肿瘤^[1]。腺癌是肺癌最常见的病理类型^[2]。中晚期腺癌患者 5 年生存率较低,其原因主要是肿瘤细胞的淋巴及血道转移导致术后复发。因此,对于肺腺癌侵袭、转移的研究具有重要的临床意义。上皮间质转化(EMT)是指上皮来源的细胞向间充质细胞转化的过程,上皮细胞通过 EMT 失去极性 & 细胞连接,获得富有运动能力的间充质表型,从而突破基膜进一步侵袭转移。因此 EMT 与肿瘤转移密切相关^[3]。本研究利用基因表达图谱(GEO)及肿瘤基因组图谱(TCGA)数据库,筛选肺腺癌 EMT 相关基因,并对其进行了生物信息学分析及关键基因竞争性内源 RNA(ceRNA)网络构建,从基因组层面系统描述了 EMT 过程,为相关研究提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 标本来源 在 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载 GSE10072 数据集进行分析,该数据集包含 58 例肺腺癌标本及 49 例正常组织标本,采用 Affymetrix Human Genome U133A Array 芯片检测全基因组基因。在 TCGA 数据库中下载肺腺癌项目数据,包括 516 例肺腺癌标本、56 例正常组织标本的基因表达数据,使用 R 语言进行后续分析。本研究所选标本均来源于 44 岁以上患者,从经组织病理学证实的肺腺癌 I ~ IV 期患者术中切除所得,未区分性别与是否吸烟。

1.2 方法

1.2.1 差异表达分析 本研究使用 GEO2R 筛选 GEO 数据库中的差异表达基因;构建 TCGA 数据库基因表达矩阵,采用 R 语言中的 limma 包进行差异分析($P < 0.05$ 且 $|\log FC| > 1$),取两次分析结果的交集作为最终的差异表达基因。

1.2.2 筛选肺腺癌 EMT 相关基因 将差异表达基因的 Gene Symbol 导入 GenClip3 (<http://cismu.net/genclip3/analysis.php>)。软件将从 Pubmed 中检索相关文献,并基于关键词对于导入的基因进行聚类分析^[4]。

1.2.3 基因本体论(GO)及京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析 采用 Metascape(<http://metascape.org/>)对 EMT 相关基因进行功能注释及 GO 与 KEGG 富集分析^[5]。

1.2.4 构建蛋白互作网络(PPI)及筛选关键基因 采用 STRING 在线工具(<https://cn.string-db.org/>)

分析 EMT 相关基因编码的蛋白质之间的相互作用^[6],得到 PPI,将其中结合分数值 > 0.4 的蛋白相互作用对导入 Cytoscape 软件中,去除离散蛋白,通过 cytoNCA 分析蛋白之间的相关程度。根据 degree 排序,选择 top 10 的基因作为关键基因,并针对其绘制 PPI 网络图。

1.2.5 预测 EMT 关键基因潜在治疗中药 将关键基因与肺腺癌、EMT 共同导入 Coremine medical 数据库(<http://www.coremine.com/>),以 $P < 0.05$ 为标准筛选治疗性中药。将针对 10 个关键基因的中药取交集,并绘制中药与关键基因相关性的气泡图。

1.2.6 Kaplan-Meier 分析 通过 Kaplan-Meier (www.kmplot.com)对 GEO、欧洲基因组表型档案(EGA)及 TCGA 中的患者数据进行分析,以 50 个月的生存率评估患者预后^[7]。最后,选取 Log-rank $P < 0.05$ 的基因作进一步研究。

1.2.7 根据 ceRNA 假说预测关键基因上游微小 RNA(miRNA)及 miRNA 上游的长链非编码 RNA(lncRNA) 根据 ceRNA 假说,lncRNA 能够竞争性抑制 miRNA 对靶基因的调控作用,因此,靶基因的表达水平与 miRNA 呈负相关而与 lncRNA 呈正相关。使用 miRTarbase (<https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/>)预测关键基因上游 miRNA,为提高研究结果可信度,只选择研究报道经蛋白质印迹法、实时荧光定量 PCR 证实的 miRNA 纳入研究^[8]。使用 ENCORI(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)计算 logFC,评估 miRNA 及关键基因在正常组织与肿瘤组织中的差异表达情况,并绘制生存曲线,以 Log-rank $P < 0.05$ 判定基因表达与患者预后的关系。选择与患者预后相关并与靶基因在肿瘤组织与正常组织间差异表达趋势相反的 miRNA 进行下一步研究。使用 miRNet database (<https://www.mirnet.ca/>)预测 miRNA 上游 lncRNA^[9],通过 ENCORI 选取与患者预后相关并与靶基因在肿瘤组织与正常组织间差异表达趋势相同的 lncRNA 作进一步研究。

1.2.8 构建 ceRNA 网络 根据上一步预测的 miRNA 及 lncRNA,使用 ENCORI 绘制散点图,通过 Pearson 相关性检验判断基因表达的相关性,并绘制关键基因的 ceRNA 调控网络图^[10]。

1.3 统计学处理 本研究采用 R 软件(4.1.0 版)和 Microsoft Excel 2019 对 TCGA 数据进行整理。应用 R 软件(4.1.2 版)对 RNA 表达数据进行差异分析

($P < 0.05$ 且 $|\log FC| > 1$), 并将其与 GEO2R 所得差异表达基因取交集获得最终结果。然后, 使用 GenClip3 软件进行聚类分析, 并采用 Metascape 对目标基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。同时, 采用 STRING 在线工具预测蛋白质之间的相互作用, 通过 Cytoscape 软件选择连接度最高的 10 个基因作为关键基因。在此基础上使用 Coremine medical 数据库筛选治疗性中药($P < 0.05$), 并且结合生存数据进行 Kaplan-Meier(Log-rank $P < 0.05$)分析。最后, 使用在线预测网站构建 ceRNA, 通过 Pearson 相关性检验判断基因表达的相关性。

2 结 果

2.1 差异表达分析 使用 GEO2R 在线分析工具分析, 得到差异表达基因 662 个; 在 TCGA 数据库中使用 limma 包进行差异表达分析, 得到差异表达基因 8 295 个。取交集得到差异表达基因 565 个, 见图 1。

2.2 EMT 相关基因筛选 将 565 个差异表达基因导入 GenClip3 中, 结果显示所有差异表达基因均可

在文献中检索到, 使用 GenClip3 对差异表达基因进行聚类分析, 得到 156 个 EMT 相关基因。

2.3 GO、KEGG 富集分析 GO 分析发现, 这些基因主要与血管发育、激素应答、生长因子刺激的细胞应答、细胞迁移的正向调节、细胞外基质等生物过程、细胞组件、分子功能相关, 见图 2。KEGG 通路分析发现, 这些基因主要与癌通路、糖尿病并发症中的高级糖基化终末产物-受体(AGE-RAGE)通路、缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路、肿瘤中的 miRNA 通路、细胞黏附分子通路等相关, 见图 3。

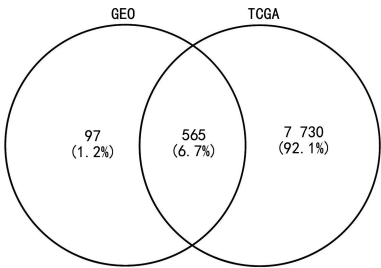


图 1 GEO 和 TCGA 数据库差异表达基因的韦恩图

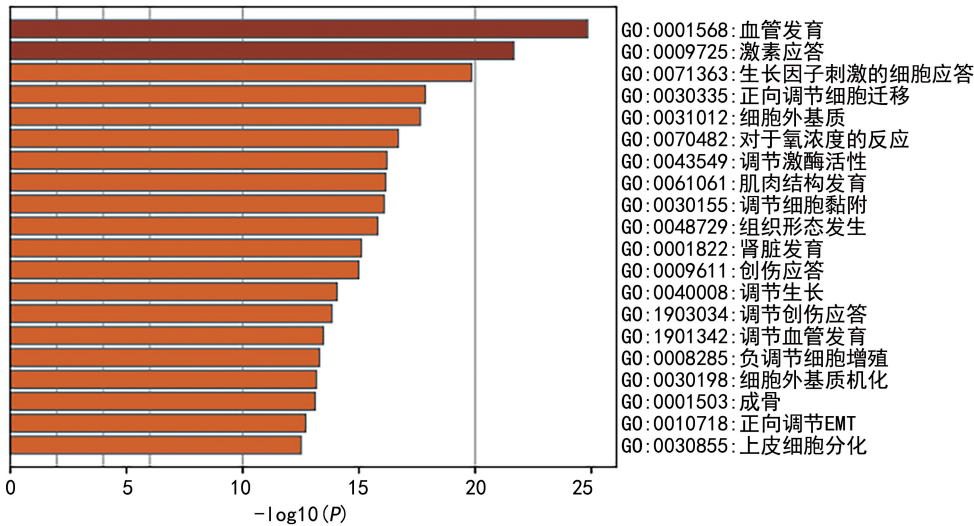


图 2 EMT 相关基因的 GO 富集图

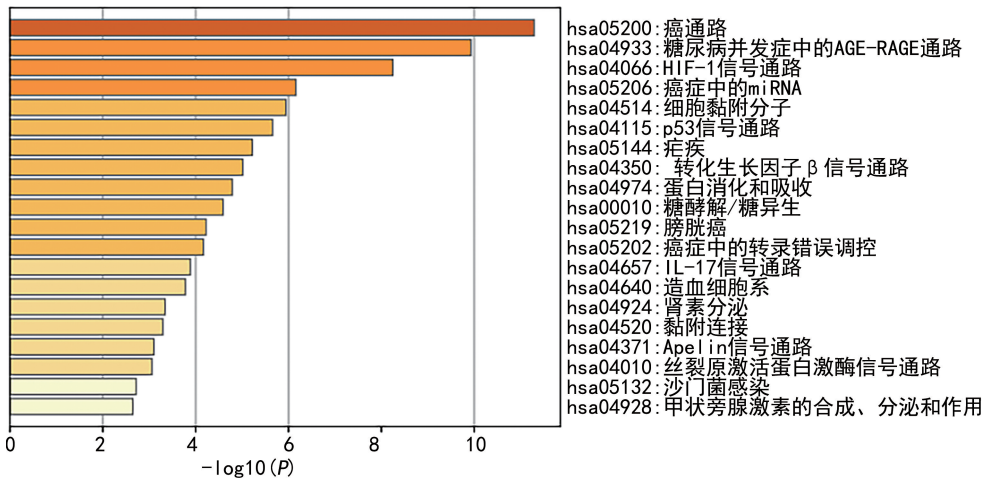


图 3 EMT 相关基因的 KEGG 富集图

2.4 PPI 构建 根据 degree 排序, 得到的 10 个关键基因, 分别为钙黏蛋白 1(CDH1)、白细胞介素-6(IL-

6)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)、血小板内皮细胞黏附分子(PECAM1)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A(CDKN2A)、 α 1- I 型胶原基因(COL1A1)、分泌型磷酸蛋白 1(SPP1)、TIMP 基质金属蛋白酶抑制因子 1(TIM P1)、小窝蛋白 1(CAV1)、zeste 基因增强子同源物(EZH2),见表 1。从 PPI 网络图中可以看出,关键基因编码的蛋白之间相互作用明显,见图 4。

表 1 关键基因及 degree

关键基因	degree	关键基因	degree
CDH1	63	COL1A1	34
IL-6	58	SPP1	34
MMP9	49	TIMP1	31
PECAM1	35	CAV1	31
CDKN2A	35	EZH2	30

2.5 关键基因潜在治疗性中药 10 个关键基因预测到紫草、温莪术、片姜黄等多味中药,见表 2。将 10 个关键基因的潜在治疗性中药取交集,得到丹参、人参芦、人参、人参叶、人参花共五味中药,以 P 值为参考,使用 R 软件的 ggpubr 包绘制关键基因与中药相关性的气泡图,见图 5。

2.6 关键基因潜在治疗性中药的 Kaplan-Meier 分

析 结果显示,10 个关键基因均与患者预后相关(Log-rank $P<0.05$),其中高表达 CDH1、PECAM1、CAV1 的生存曲线与对照的风险比(HR) <1 ,表明这些基因的表达可以降低患者死亡风险;高表达 IL-6、MMP9、CDKN2A、COL1A1、SPP1、TIMP1 的生存曲线与对照的 $HR>1$,表明这些基因的表达增加患者的死亡风险。见图 6。

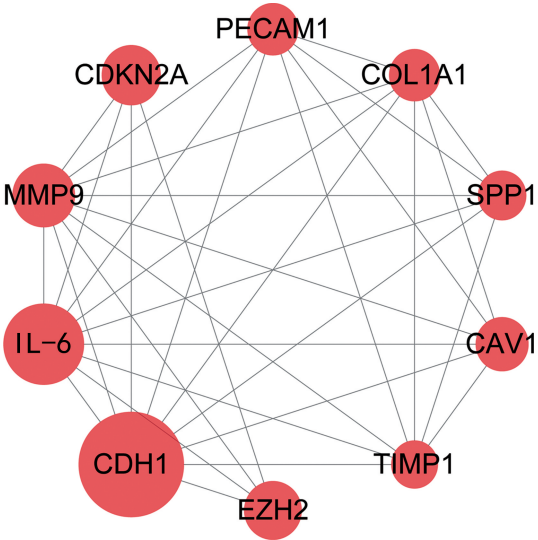


图 4 关键基因的 PPI

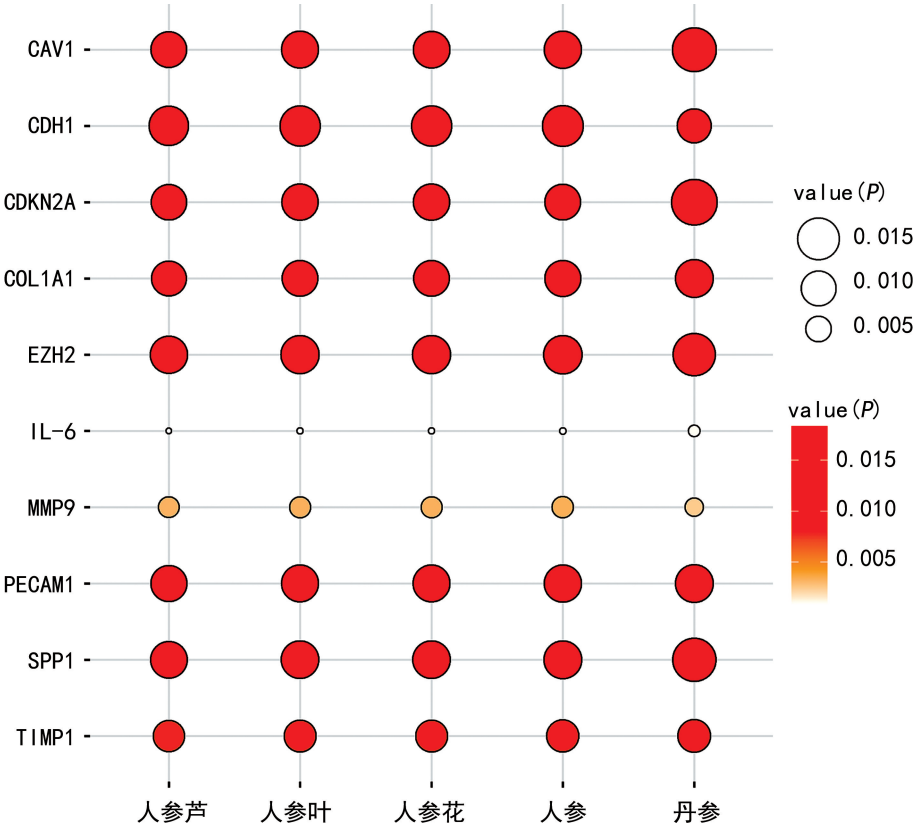


图 5 中药与关键基因的相关性气泡图

2.7 根据 ceRNA 假说预测关键基因上游 miRNA 及 miRNA 上游 lncRNA 差异分析结果显示,IL-6

(logFC = -2.64)在肿瘤组织中呈低表达,而 MMP9 (logFC = 2.14)、COL1A1 (logFC = 3.05)、SPP1

(logFC=4.95)、EZH2(logFC=2.70)在肿瘤组织中呈高表达,同理可知 IL-6 的上游 miRNA hsa-miR-9-5p,MMP9 的上游 miRNA hsa-miR-211-5p,COL1A1 的上游 miRNA hsa-miR-133a-3p,SSP1 的上游 miRNA hsa-miR-299-5p,EZH2 的上游 miRNA hsa-miR-101-3p,hsa-miR-30d-5p 与其靶基因的差异表达趋势相反,符合 ceRNA 假说;并且上述 miRNA 的 Log-rank $P<0.05$,与患者预后相关,因此将其纳入下一步研究。由 logFC 可以看出,hsa-miR-9-5p 的上游 lncRNA CCDC13-AS1、LINC00996、SH3BP5-AS1、

LINC00921, hsa-miR-211-5p 的上游 lncRNA EBLN3P、DHRS4-AS1、FAM30A、ZNF674-AS1,hsa-miR-133a-3p 的上游 lncRNA LINC00847、LINC02535、MIR4697HG, hsa-miR-299-5p 的上游 lncRNA GUSBP11,hsa-miR-101-3p 的上游 lncRNA LINC01579、EBLN3P、GSEC, hsa-miR-30d-5p 的上游 lncRNA HCG18、LINC02535 与靶基因的差异表达趋势相同,而与上游 miRNA 差异表达趋势相反,符合 ceRNA 假说;并且上述 lncRNA 的 Log-rank $P<0.05$,与患者预后相关,因此纳入下一步研究。见图 7~9。

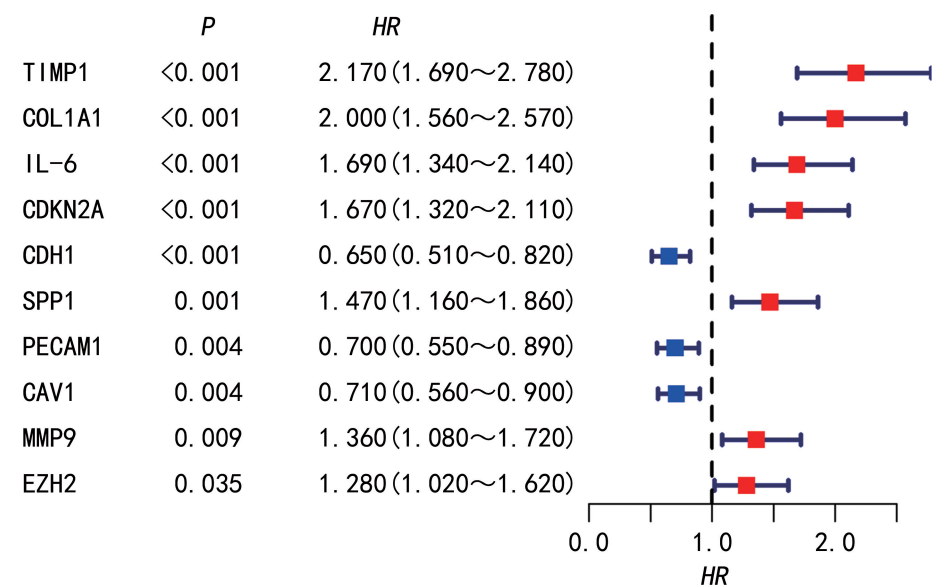


图 6 关键基因的 Kaplan-Meier 分析结果森林图

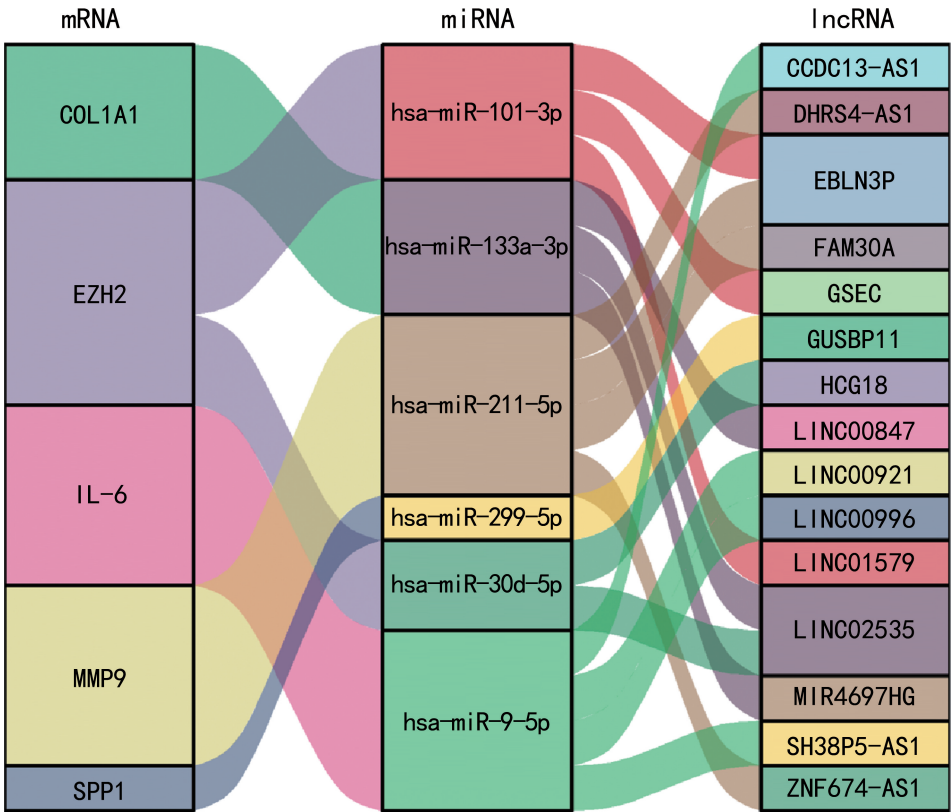


图 7 mRNA-miRNA-lncRNA 相互作用的桑基图

表 2 针对关键基因的部分治疗性中药

基因名称	示例(<i>P</i> 值最小的前 10 位)	<i>n</i>
CDH1	紫草、温莪术、片姜黄、郁金、半枝莲、丹参、人参芦、人参花、人参叶、人参	33
IL-6	人参芦、人参花、人参叶、人参、黄芩、丹参、膜荚黄芪、姜黄、黄丝郁金、五味子	79
MMP9	丹参、黄丝郁金、姜黄、人参芦、人参花、人参叶、人参、黄芩、茶树根、厚朴花	60
PECAM1	紫草、人参芦、人参花、人参叶、人参、丹参、半枝莲、黄丝郁金、姜黄、补骨脂	18
CDKN2A	紫草、温莪术、片姜黄、郁金、人参芦、人参、人参花、人参叶、膜荚黄芪、大黄	23
COL1A1	牛蒡子、人参芦、半枝莲、人参花、人参叶、人参、牛蒡根、丹参、补骨脂、膜荚黄芪	17
SPP1	人参芦、人参花、人参叶、半枝莲、人参、牛蒡子、补骨脂、丹参、牛蒡根、白花蛇舌草	13
TIMP1	人参芦、人参花、人参叶、人参、丹参、半枝莲、黄丝郁金、姜黄、冬虫夏草、膜荚黄芪	10
CAV1	白花蛇舌草、人参芦、半枝莲、人参花、人参叶、人参、牛蒡子、膜荚黄芪、丹参、牛蒡根	14
EZH2	温莪术、片姜黄、郁金、人参芦、人参花、人参叶、人参、丹参、黄丝郁金、姜黄	26

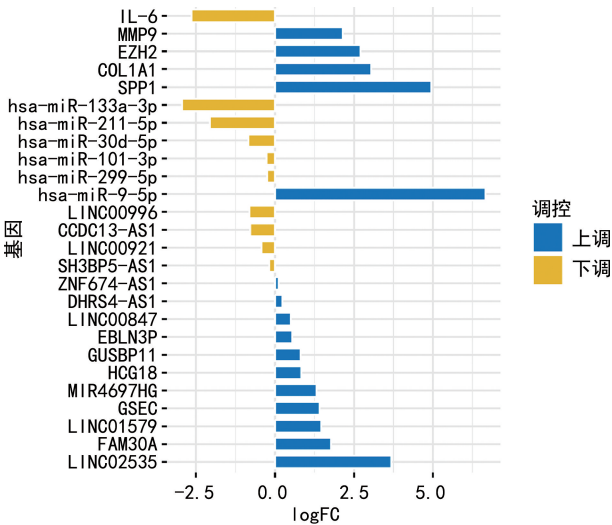


图 8 基因差异表达分析的偏差图

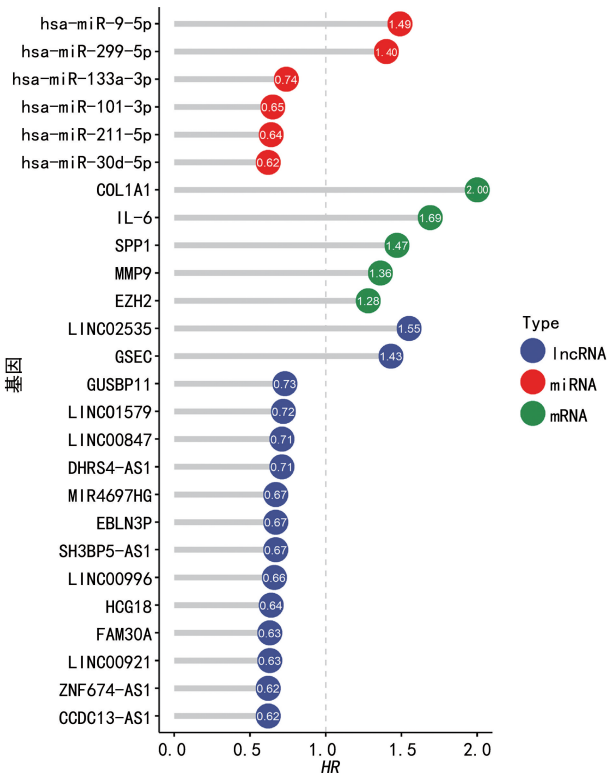


图 9 基因 HR 的棒棒糖图

2.8 构建 ceRNA 网络 在预测的 miRNA 及 lncRNA 中,同时满足 mRNA 的表达水平与 miRNA 呈负相关而与 lncRNA 呈正相关,lncRNA 的表达水平与 miRNA 呈负相关的基因被纳入 ceRNA 网络。结果表明, EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC 符合 ceRNA 假说,见图 10~16。

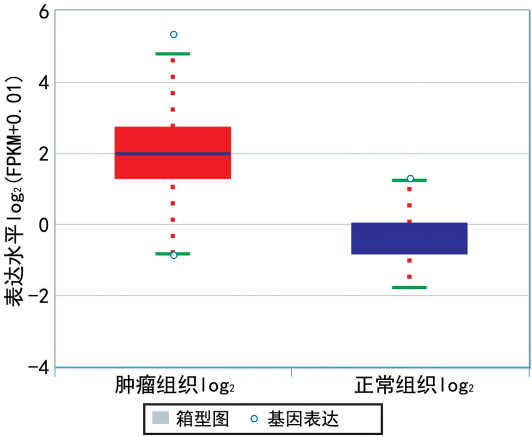


图 10 EZH2 在肿瘤组织和正常组织中表达水平差异的箱线图

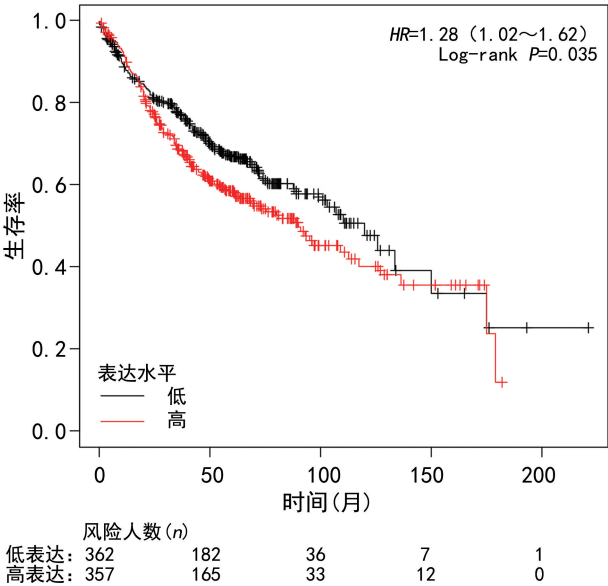


图 11 EZH2 的 Kaplan-Meier 分析曲线

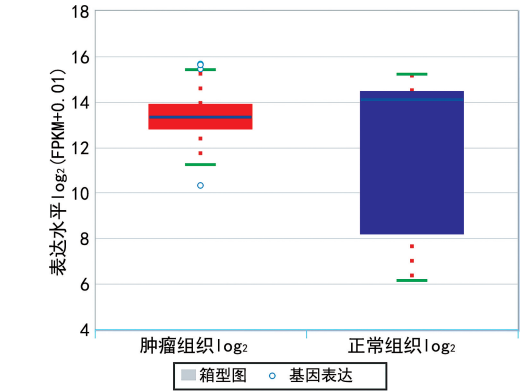


图 12 hsa-miR-101-3p 在肿瘤组织和正常组织中表达水平差异的箱线图

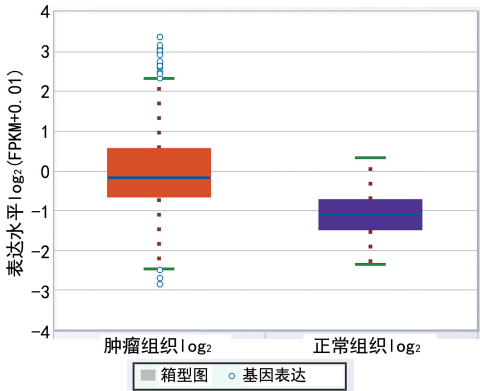


图 14 GSEC 在肿瘤组织和正常组织中表达水平差异的箱线图

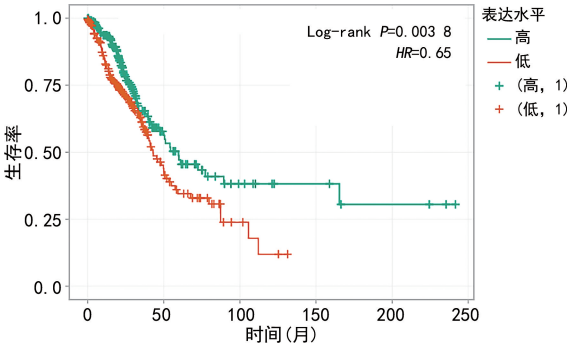


图 13 hsa-miR-101-3p 的生存曲线

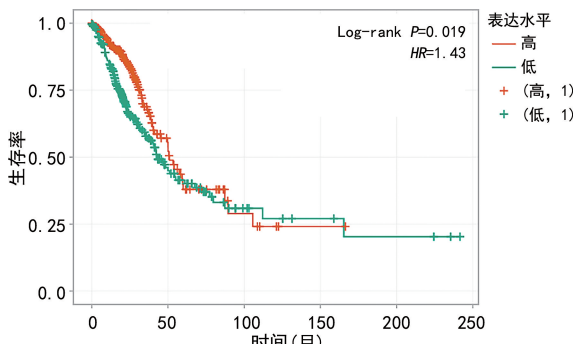


图 15 GSEC 的生存曲线

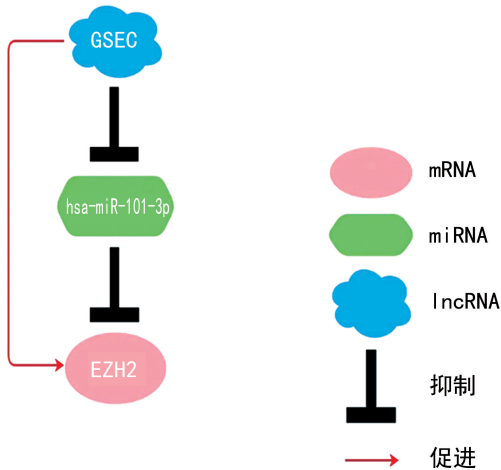
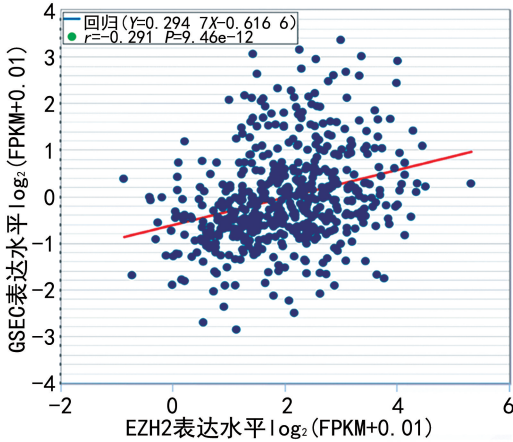
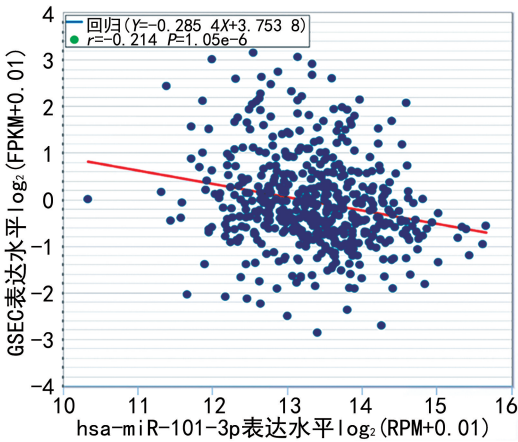
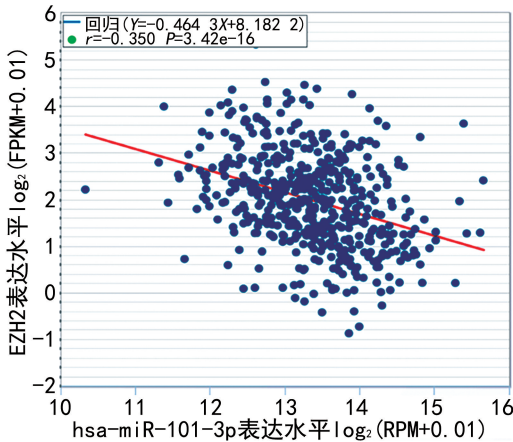


图 16 ceRNA 网络及各组分之间表达水平的相关性

3 讨 论

本研究获得了 565 个肺腺癌差异表达基因及 156 个 EMT 相关基因,并对其进行了功能富集分析。随后绘制了 EMT 相关基因的 PPI 网络图,并根据 degree 获得 10 个 EMT 关键基因。其中,CDH1 编码 E-钙黏蛋白(E-cadherin),E-cadherin 下调被广泛报道为 EMT 的标志,其表达下降与肿瘤患者的不良预后密切相关,在正常细胞中,E-cadherin 可以阻止 β -catenin,与参与 wnt 信号通路的淋巴样增强因子/T 细胞因子结合发挥肿瘤抑制作用^[11]。IL-6 可以通过 Janus 激酶/信号转导子和转录激活子信号通路诱导 EMT^[12],但也有研究显示 IL-6 可以动员免疫反应抑制肿瘤生长。MMP9 通过参与细胞外基质分解促进肿瘤侵袭转移,有研究显示 STAT3 过表达时促进了 EMT 过程,同时 MMP9 的表达水平也有所升高,提示 MMP9 在 EMT 中发挥一定的作用^[13]。PECAM1 又名 CD31,其编码的蛋白质存在于单核细胞、血小板、中性粒细胞和某些类型的 T 细胞表面,并构成细胞连接,CD31 可以促进 EMT 从而促进结肠癌腹膜转移^[14],也有研究将 CD31 作为血管生成的标志物^[15],说明 CD31 也可能参与肿瘤血道转移。CDKN2A 是一种抑癌基因,但在结肠癌中 CDKN2A 的表达增加促进 EMT 及肿瘤转移^[16],并且可以与趋化素样因子超家族 8、整合素连接激酶等通过转化生长因子 β 通路、Notch 通路等形成免疫抑制微环境,从而影响患者的预后^[17]。COL1A1 是 I 型胶原蛋白的主要成分,通过结合 integrin 的 $\beta 1$ 亚基激活局部黏着斑激酶(FAK)。磷酸化的 FAK 促进 E-cadherin/catenin 复合物的分解,从而激活 EMT^[18]。SPP1 上调在前列腺癌、结直肠癌中都有激活 EMT,促进肿瘤转移的作用,可能与 SPP1 激活细胞外信号相关激酶 1/2 信号通路有关^[19-20]。TIMP1 为 MMP1 的抑制剂,但其激活 EMT 的作用是通过与 CD63 结合诱导 TWIST1 的表达,与 MMP 抑制功能无关。CAV1 可以通过 Wnt/ β -catenin 通路诱导 EMT 过程,促进肿瘤转移。EZH2 促进绝大多数肿瘤的侵袭转移,但有时也发挥抗肿瘤作用,这种矛盾现象与 EMT 密切相关^[21]。对 10 个关键基因的 Kaplan-Meier 分析显示,IL-6、MMP9、CDKN2A、COL1A1、SPP1、TIMP1 的表达与患者预后不良有关,而上述研究显示这些基因对于 EMT 均起促进作用,可能是其影响患者生存期的原因之一。并使用 Coremine medical 数据库预测了 10 个关键基因的治疗性中药,人参、人参叶、人参花、人参芦、丹参这五味中药对于所有关键基因均有一定效果,本研究还根据 *P* 值绘制了这五味中药与关键基因的相关性气泡图。从气泡图中分析,人参、人参叶、人参花、人参芦与 EMT 的关系较丹参更为密切,而人参、人参叶、人参花、人参芦来源于同一种植

物,因此人参中某种成分可能有效抑制 EMT 从而延缓肿瘤进展。有研究表明,人参皂苷可以抑制 EMT 从而抑制肿瘤生长与转移^[22],可能为其潜在机制之一。一项针对随机对照临床试验的 Meta 分析表明,人参的主要成分人参皂苷和多糖作为化疗辅助用药能够提高非小细胞肺癌患者的客观缓解率和疾病控制率,降低患者不良反应发生率^[23]。根据 ceRNA 假说,本研究构建了 EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC 调控网络。研究表明 hsa-miR-101-3p 可以通过调控 EZH2 的表达抑制肿瘤进展,在肺鳞癌中 hsa-miR-101-3p 可以通过下调 EZH2 抑制肿瘤活性,促进肿瘤细胞凋亡^[24];在肾癌中,hsa-miR-101-3p 可以通过调控 EZH2 抑制肿瘤的侵袭转移^[25];hsa-miR-101-3p 还可以与 Syn-cal14.1a 协同作用抑制 EZH 诱导的乳腺癌进展^[26]。GSEC/hsa-miR-101-3p 与肺腺癌细胞的铁死亡相关,上调 GSEC 或下调 hsa-miR-101-3p 的表达可以抑制肺腺癌细胞的增殖与迁移能力^[27]。然而 EZH2 与 GSEC 之间的相互作用及 EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC 在调控 EMT 中的作用仍需进一步研究。

综上所述,本研究利用 GEO、TCGA 数据库及 GenClip3 文献挖掘平台等分析工具,筛选肺腺癌 EMT 过程的相关基因并对其进行了功能富集分析,以及 PPI 的构建,从基因组层面对 EMT 过程进行了系统描述,加深了对于 EMT 过程的认识。同时,筛选出了 EMT 过程中的关键基因并预测了人参等针对关键基因的治疗性中药,从患者预后角度构建了 EZH2/hsa-miR-101-3p/GSEC 调控网络,为肺腺癌侵袭、转移的治疗提供了新思路,为肺腺癌预后标志物的研究提供了参考。

参考文献

- [1] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
- [2] HUTCHINSON B D, SHROFF G S, TRUONG M T, et al. Spectrum of lung adenocarcinoma[J]. Semin Ultrasound CT MR, 2019, 40(3): 255-264.
- [3] LU W, KANG Y B. Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis[J]. Dev Cell, 2019, 49(3): 361-374.
- [4] WANG J H, ZHAO L F, WANG H F, et al. GenCLiP 3: mining human genes' functions and regulatory networks from PubMed based on co-occurrences and natural language processing[J]. Bioinformatics, 2019: btz807.
- [5] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1523.
- [6] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased

coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (D1): D607-D613.

[7] LANCZKY A, GYORFFY B. Web-based survival analysis tool tailored for medical research (KMplot): development and implementation [J]. *J Med Internet Res*, 2021, 23(7): e27633.

[8] HUANG H Y, LIN Y C, LI J, et al. miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA-target interaction database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48 (D1): D148-D154.

[9] CHANG L, ZHOU G Y, SOUFAN O, et al. miRNet 2.0: network-based visual analytics for miRNA functional analysis and systems biology [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W244-W251.

[10] LEI Y, YAN W, LIN Z Y, et al. Comprehensive analysis of partial epithelial mesenchymal transition-related genes in hepatocellular carcinoma [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25 (1): 448-462.

[11] WONG S H M, FANG C M, CHUAH L H, et al. E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 121: 11-22.

[12] LIU Y P, HU M, FAN G Z, et al. Effect of baricitinib on the epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells induced by IL-6 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 110: 109044.

[13] PEARANPAN L, NORDIN F J, SIEW E L, et al. A cell-based systematic review on the role of annexin A1 in triple-negative breast cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (15): 8256.

[14] ZHU X, ZHOU G, NI P, et al. CD31 and D2-40 contribute to peritoneal metastasis of colorectal cancer by promoting epithelial-mesenchymal transition [J]. *Gut Liver*, 2021, 15(2): 273-283.

[15] FIGUEIREDO C C, PEREIRA N B, PEREIRA L X, et al. Double immunofluorescence labeling for CD31 and CD105 as a marker for polyether polyurethane-induced angiogenesis in mice [J]. *Histol Histopathol*, 2019, 34 (3): 257-264.

[16] SHI W K, LI Y H, BAI X S, et al. The cell cycle-associated protein CDKN2A may promotes colorectal cancer cell metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 834235.

[17] KANG N, XIE X, ZHOU X, et al. Identification and validation of EMT-immune-related prognostic biomarkers CDKN2A, CMTM8 and ILK in colon cancer [J]. *BMC Gastroenterol*, 2022, 22(1): 190.

[18] LI X, SUN X, KAN C, et al. COL1A1: a novel oncogenic gene and therapeutic target in malignancies [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 236: 154013.

[19] PANG X, ZHANG J, HE X, et al. SPP1 promotes enzalutamide resistance and epithelial-mesenchymal-transition activation in castration-resistant prostate cancer via PI3K/AKT and ERK1/2 Pathways [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5806602.

[20] XU C, SUN L, JIANG C, et al. SPP1, analyzed by bioinformatics methods, promotes the metastasis in colorectal cancer by activating EMT pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 1167-1177.

[21] LACHAT C, BOYER-GUITTAUT M, PEIXOTO P, et al. Epigenetic regulation of EMT (epithelial to mesenchymal transition) and tumor aggressiveness: a view on paradoxical roles of KDM6B and EZH2 [J]. *Epigenomes*, 2018, 3(1): 1.

[22] DAI C X, YUSUF A, SUN H, et al. A characterized saponin extract of *Panax japonicus* suppresses hepatocyte EMT and HSC activation in vitro and CCl4-provoked liver fibrosis in mice: Roles of its modulatory effects on the Akt/GSK3 β /Nrf2 cascade [J]. *Phytomedicine*, 2021, 93: 153746.

[23] ZHU H, LIU H, ZHU J H, et al. Efficacy of ginseng and its ingredients as adjuvants to chemotherapy in non-small cell lung cancer [J]. *Food Funct*, 2021, 12(5): 2225-2241.

[24] HOU Y, LI L, JU Y H, et al. MiR-101-3p regulates the viability of lung squamous carcinoma cells via targeting EZH2 [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(10): 3142-3149.

[25] DONG Y Z, GAO Y C, XIE T C, et al. miR-101-3p serves as a tumor suppressor for renal cell carcinoma and inhibits its invasion and metastasis by targeting EZH2 [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 9950749.

[26] JIANG H B, LI L, ZHANG J J, et al. MiR-101-3p and Syn-Call4. 1a synergy in suppressing EZH2-induced progression of breast cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 9599-9609.

[27] JIANG X, YUAN Y, TANG L, et al. Systematic analysis and validation of the prognosis, immunological role and biology function of the ferroptosis-related lncRNA GSEC/miRNA-101-3p/CISD1 axis in lung adenocarcinoma [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 8: 793732.

(收稿日期: 2023-06-12 修回日期: 2023-10-26)