

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.23.039

· 生物信息学 ·

hsa-miR-126 的靶基因预测及其生物信息学分析 *

陈妍珂¹ 张 徐¹ 吴近珠² 王婷婷² 崔玉宝^{2Δ}

(1 江苏大学医学院 江苏 镇江 212000; 2 南京医科大学附属无锡人民医院 江苏 无锡 214000)

摘要 目的:采用生物信息学的方法预测 hsa-miR-126 的靶基因及相关功能,为后续研究提供理论基础。**方法:**采用 PubMed 搜索 hsa-miR-126 相关文章,总结目前研究进展,使用 miRBase 获得 hsa-miR-126 的基本信息,并用 NCBI BLAST 分析其序列保守性,以 Targetscan、miRanda 及 PicTar 预测结果的两两交集为预测靶基因,并结合 miRTarBase 上已证实的靶基因作为基因集合做 GO 分析和 Pathway 分析。**结果:**搜索 PubMed 获得相关文献 24 篇,多数研究集中于 hsa-miR-126 与肿瘤的关系,hsa-miR-126 在多种物种间具有高度保守性,其 5 个预测靶基因和 46 个已证实靶基因于白细胞迁移、对糖皮质激素反应、促进内皮细胞增殖、蛋白信号转导等有功能富集($P < 0.01$),于多种肿瘤如肾细胞癌、前列腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌有信号通路富集($P < 0.01$)。**结论:**hsa-miR-126 可能参与多种肿瘤的发生发展过程。

关键词: hsa-miR-126; microRNA; 靶基因; 生物信息学; 肿瘤

中图分类号: Q-33; Q75; Q78; R318.04 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)23-4564-07

Prediction of Target Genes and Bioinformatics Analysis of Hsa-miR-126*

CHEN Yan-ke¹, ZHANG Xu¹, WU Jin-zhu², WANG Ting-ting², CUI Yu-bao^{2Δ}

(1 Department of medical laboratory science, Medical college, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu, 212000, China;

2 Department of Clinical Laboratory, Affiliated Wuxi people's hospital, Wuxi, Jiangsu, 214000, China)

ABSTRACT Objective: To predict the target genes and their functions of hsa-miR-126 via bioinformatics analysis, and provide theoretical basis for follow-up studies. **Methods:** Current studies of hsa-miR-126 were reviewed by PubMed. Basic information like sequence and gene characteristic were gathered from miRBase and confirmed by NCBI BLAST. The target genes of hsa-miR-126 were predicted through Targetscan, miRanda and PicTar. Combining with the confirmed target genes of hsa-miR-126 from miRTarBase, the functions of this set of target genes were analyzed via Gene Ontology analysis and pathway analysis. **Results:** Among the 24 pertinent literatures, most studies focused on the relationships between hsa-miR-126 and multiple tumors. Hsa-miR-126 is highly conserved in different species. GO analysis showed that the 5 predicted & 46 confirmed target genes were enriched in biological processes like leukocyte migration, response to glucocorticoid, positive regulation of endothelial cell proliferation and ras protein signal transduction ($P < 0.01$), while pathway analysis indicated that the set of target genes were involved in renal cell carcinoma, prostate cancer, non-small cell lung cancer, pancreatic cancer and other pathways($P < 0.01$). **Conclusions:** Hsa-miR-126 may be involved in the pathogenesis of a variety of tumors.

Key words: Hsa-miR-126; MicroRNA; Target gene; Bioinformatics; Tumor

Chinese Library Classification(CLC): Q-33; Q75; Q78; R318.04 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)23-4564-07

前言

microRNA(miRNA)是一类长度约 22nt 的内源性非编码小分子 RNA,通过切割靶基因或阻遏其翻译在动物和植物中起到重要的调节作用^[1]。miRNA 参与了包括分化、增殖、凋亡和代谢等在内的诸多细胞调控的生理过程,但在不同的肿瘤中作用结果可能完全相反^[8,16]。近年来,通过生物信息学的方法预测 miRNA 靶基因,并结合 GO 分析和 Pathway 分析预测靶基因富集的生物学过程与信号通路,显著减少了用实验途径研究

miRNA 的工作量并提升了预测阳性率^[3-6]。

hsa-miR-126 是一种于非小细胞肺癌、卵巢癌、食管癌等多种恶性肿瘤中有差异性表达的 miRNA^[11,15,16],然而其通过作用于哪些靶基因,发挥何种生物学效应在许多实验研究中都尚未阐释清楚,有关 hsa-miR-126 的生物信息学研究也寥寥无几^[2]。本文拟对已有的 hsa-miR-126 文献进行总结,使用多种在线预测软件预测其靶基因,并结合已证实的靶基因进行 GO 分析和 Pathway 分析,以期后续研究提供思路。

1 材料和方法

* 基金项目:国家自然科学基金项目(NSFC31572319)

作者简介:陈妍珂(1996-),硕士研究生,主要研究方向:临床检验诊断学,E-mail:411268835@qq.com

Δ 通讯作者:崔玉宝(1975-),博士,研究员,主要研究方向:尘螨、储藏类螨类与变态反应性疾病,E-mail:6801609@163.com

(收稿日期:2018-04-07 接受日期:2018-04-30)

1.1 hsa-miR-126 的文献检索分析

使用 PubMed 对 hsa-miR-126 的已有文献进行检索并逐一分析。

1.2 hsa-miR-126 的基本信息

使用 miRNA 数据库 miRbase (<http://www.mirbase.org/>)获得 hsa-miR-126 的染色体定位、碱基序列、物种保守性等基本信息,用 NCBI BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进一步分析其物种保守性。

1.3 hsa-miR-126 的靶基因预测

运用 Targetscan7.1 (<http://www.targetscan.org/>),miRanda (<http://www.microrna.org/>),PicTar(<http://www.pictar.org/>)三个在线预测软件预测 hsa-miR-126 的靶基因,并取其结果的两两交集。再结合 miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/php/index.php>)收集的已证实的靶基因作为进一步分析的基因集合,并用 Cytoscape 作网络调控图。

1.4 hsa-miR-126 的 Gene Ontology 和 Pathway 分析

运用 DAVID6.8 (database for annotation, visualization and integrated discovery)(<http://David.abcc.ncifcrf.gov/>)对靶基因集合进行 GO 分析以及基于 KEGG 数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)(<http://www.genome.jp/>)的 Pathway 分析,选择人类全基因组作为背景基因,用 "Functional Annotation Chart" 分析工具计算 P 值,以 $P < 0.01$ 为显著性阈值,分别得到基因集合相对于背景具有统计学意义的 GO 分析与 Pathway 分析结果。

2 结果

2.1 hsa-miR-126 的研究进展

通过 PubMed 检索到相关文献 24 篇,分析得到其在多种肿瘤中有异常表达,如在急性 B 淋巴细胞性白血病、食管鳞癌、EB 病毒阳性的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、溴隐亭耐药的泌乳素腺瘤、肝细胞癌、肺转移瘤中呈现高表达^[7,8,12,13,17,19],在食管癌、非小细胞性肺癌血清中呈现低表达^[15,16,20]。在非小细胞性肺癌中,

hsa-miR-126 通过调控 CRK 基因抑制了肿瘤细胞的粘附、增殖和转移,但其在还有其他多种肿瘤中的调控机制尚未得到阐明。此外,hsa-miR-126 还在多种疾病如慢性疲劳综合征(CFS)的 NK 细胞、非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、1 型、2 型及妊娠性糖尿病中有差异性表达^[9,10,14]。基于这些差异性表达可以建立起以 hsa-miR-126 为生物标志物的检测方法^[9,16,17]。另外,hsa-miR-126 还为某些肿瘤的鉴别和精确分型提供了可靠依据^[17-19]。

2.2 hsa-miR-126 的定位及保守性

查阅 miRBase 得知 hsa-miR-126 位于人类染色体的 9q34.3,其成熟体 hsa-miR-126-3p 碱基序列为 "52-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-73",通过 NCBI BLAST 分析得到其在 30 个物种间具有保守性,其成熟体 hsa-miR-126-5p 碱基序列为 "15-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-35",在 20 个物种间具有保守性,见表 1。

2.3 hsa-miR-126 的靶基因预测结果

使用 TargetScan、miRanda、PicTar 三个在线预测软件分别得到 hsa-miR-126 的靶基因 5671、815、21 个,取三者结果交集得 CARF、FBXO33、HIST1H2BN、LARP6、PTPN9 共 5 个预测靶基因,其中 FBXO33 在三个软件中都得到较好的预测值,其很有可能是 hsa-miR-126 的真实靶基因。结合 miRTarBase 上已验证的靶基因共 46 个作为后续分析的基因集合,并用 Cytoscape 绘制简洁明了的网络调控图。详见表 2(图 1)。

2.4 hsa-miR-126 的靶基因 GO 分析结果

GO 分析结果显示 hsa-miR-126 的靶基因功能显著富集于白细胞迁移、对糖皮质激素反应、促进内皮细胞增殖、蛋白信号转导、对缺氧反应、磷脂酰肌醇 3 激酶信号转导等 10 个生物学过程,见表 3、图 2。

2.5 hsa-miR-126 的靶基因 Pathway 分析结果

Pathway 分析结果显示 hsa-miR-126 的靶基因显著富集于神经营养因子信号转导通路、肾细胞癌、趋化因子信号转导通路、慢性粒细胞白血病、前列腺癌、非小细胞肺癌、胰腺癌等 33 个信号通路,见表 4、图 3。

表 1 部分物种的 miR-126 保守序列

Table 1 Conserved sequence of miR-126 of some species

Accession(miRBase)	Species	ID	Conserved Sequence(5'→3')
MIMAT0000444	Homo sapiens	hsa-miR-126-5p	15-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-35
MIMAT0000137	Mus musculus	mmu-miR-126a-5p	9-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-29
MIMAT0000831	Rattus norvegicus	rno-miR-126a-5p	9-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-29
MIMAT0003723	Gallus gallus	gga-miR-126-5p	14-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-34
MIMAT0013176	Equus caballus	eca-miR-126-5p	9-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-29
MIMAT0006730	Canis familiaris	cfa-miR-126	1-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-21
MIMAT0035927	Capra hircus	chi-miR-126-5p	14-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-35
MIMAT0018377	Sus scrofa	ssc-miR-126-5p	9-CAUUAUUACUUUUGGUACGCG-29
MIMAT0000445	Homo sapiens	hsa-miR-126-3p	52-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-73
MIMAT0000138	Mus musculus	mmu-miR-126a-3p	46-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-67
MIMAT0000832	Rattus norvegicus	rno-miR-126a-3p	46-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-67
MIMAT0023745	Cricetulus griseus	cgr-miR-126-3p	49-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-70
MIMAT0007985	Pan troglodytes	ptr-miR-126	51-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-72
MIMAT0015750	Pongo pygmaeus	ppy-miR-126	52-UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG-73

表 2 hsa-miR-126 的预测靶基因和已证实靶基因

Table 2 Predicted and conserved target genes of hsa-miR-126

Gene ID	Gene	Source Database	Gene ID	Gene Source	Database
79800	CARF	PicTar, TargetScan	26207	PITPNC1	miRTarBase
254170	FBXO33	PicTar, TargetScan, miRanda	10769	PLK2	miRTarBase
8341	HIST1H2BN	miRanda, TargetScan	5778	PTPN7	miRTarBase
55323	LARP6	miRanda, TargetScan	27316	RBMX	miRTarBase
5780	PTPN9	miRanda, PicTar	5998	RGS3	miRTarBase
8754	ADAM9	miRTarBase	85414	SLC45A3	miRTarBase
596	BCL2	miRTarBase	8140	SLC7A5	miRTarBase
9134	CCNE2	miRTarBase	6657	SOX2	miRTarBase
1398	CRK	miRTarBase	161742	SPRED1	miRTarBase
1399	CRKL	miRTarBase	7010	TEK	miRTarBase
6387	CXCL12	miRTarBase	10043	TOM1	miRTarBase
7852	CXCR4	miRTarBase	5756	TWF1	miRTarBase
1786	DNMT1	miRTarBase	11344	TWF2	miRTarBase
1869	E2F1	miRTarBase	7412	VCAM1	miRTarBase
51162	EGFL7	miRTarBase	7422	VEGFA	miRTarBase
2309	FOXO3	miRTarBase	27125	AFF4	miRTarBase
3205	HOXA9	miRTarBase	55790	CSGALNACT1	miRTarBase
3485	IGFBP2	miRTarBase	1829	DSG2	miRTarBase
3667	IRS1	miRTarBase	3224	HOXC8	miRTarBase
3845	KRAS	miRTarBase	3396	MRPL58	miRTarBase
10461	MERTK	miRTarBase	8774	NAPG	miRTarBase
4316	MMP7	miRTarBase	57532	NUFIP2	miRTarBase
5241	PGR	miRTarBase	9522	SCAMP1	miRTarBase
5294	PIK3CG	miRTarBase	55209	SETD5	miRTarBase
5296	PIK3R2	miRTarBase	57606	SLAIN2	miRTarBase
29887	SNX10	miRTarBase			

3 讨论

miRNA 是一种具有调控功能的小分子非编码 RNA,其对靶基因的作用机制主要有两种,当与靶基因的 mRNA3'-UTR 区完全互补结合时直接切割靶基因的 mRNA,当与其不完全互补结合时只阻遏它的翻译。目前,研究 miRNA 靶基因和功能的途径主要有生物学实验方法和生物信息学方法。然而,由于通过实验途径——验证 miRNA 的靶基因较为困难且繁琐,绝大多数 miRNA 的靶基因尚未得到实验证实,其如何通过调控靶基因来发挥生物学功能便更难以得知。运用生物信息学的方法对 miRNA 靶基因进行筛选,预测其潜在生物学功能,对指导 miRNA 的实验研究具有重要意义。

目前已发表的诸多文献对 hsa-miR-126 的研究多集中于肿瘤相关疾病,研究者们发现 hsa-miR-126 可在多种肿瘤组织与正常组织间有差异性表达,但其中将 hsa-miR-126 参与肿瘤发生发展机制进行详细解释的研究并不多。Cai^[8]等研究发现 hsa-miR-126 在食管鳞癌中表达上调,可能通过调节靶基因 Spred-1 和 PIK3R2/p85-b,提高内皮细胞对 VEGF、bFGF 等血管生长因子的敏感性,来促进肿瘤血管的生成,促进肿瘤细胞的生长转移。Luo^[11]等向卵巢癌 SKOV3 细胞内转染了

LV3-hsa-miR-126,结果该细胞内的 PAK4 表达水平显著降低,而转染了 LV3-hsa-miR-126 抑制物的细胞则完全相反,PAK4 在肿瘤细胞转移、侵袭中起重要作用,于卵巢癌和乳腺癌中表达显著上调,该研究认为 hsa-miR-126 与 PAK4 间存在某种联系,miR-126 可以抑制卵巢癌细胞的侵袭。Lin^[16]等研究发现 hsa-miR-126 在不同阶段的非小细胞肺癌患者外周血中表达水平亦不相同,StageIV 与 StageI/II 相比 hsa-miR-126 表达明显下调,与对照组相比明显下调,而 StageI/II 与对照组相比无明显统计学差异,其机制可能是通过调控 CRK 基因,抑制肿瘤细胞的粘附、增殖和转移。Zhong^[20]等人还发现 miR-126 等 miRNA 可以抑制非小细胞肺癌细胞的生长,以及增强吉非替尼对肿瘤细胞的细胞毒性,hsa-miR-126 有望成为治疗非小细胞肺癌的新方法。由此可见,hsa-miR-126 在肿瘤发生发展的过程中起到的作用不尽相同,有时甚至完全相反。根据 hsa-miR-126 通过调控靶基因参与肿瘤发生发展机制的特性,针对其来治疗某些肿瘤成为一个新的研究方向。

由于 microRNA 可在患者外周血中稳定存在并能够被检出,部分差异表达 microRNA 还具有较高的特异性,许多文献都提出可以根据 hsa-miR-126 的差异性表达构筑新的生物学标志物检测方法。例如 Petty^[9]等在慢性疲劳综合征(CFS)/肌痛性

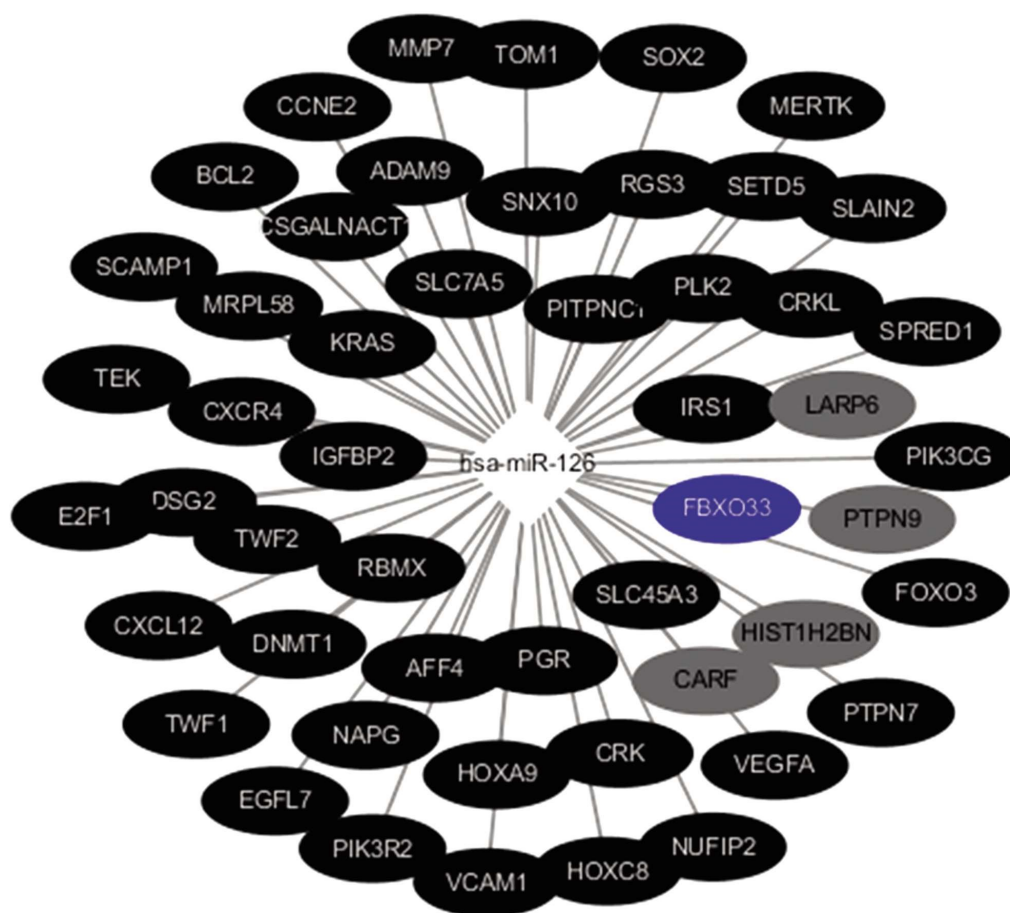


图 1 hsa-miR-126 与已证实靶基因和预测靶基因组成的网络调控图(Cytoscape)

Fig.1 Network of hsa-miR-126 and confirmed&predicted target genes.(Cytoscape)

注:黑色图标为 hsa-miR-126 已证实的靶基因(miRTarTase)。深灰色图标为预测的靶基因,其中 LARP6 与 HIST1H2BN 为 TargetScan 与 miRanda 交集,CARF 为 PicTar 与 TargetScan 交集,PTPN9 为 miRanda 与 PicTar 交集。蓝色 FBXO33 为三者预测结果交集。

Note: The black ones are confirmed target genes of hsa-miR-126(from miRTarBase). The grey ones are predicted target genes, among which LARP6 & HIST1H2BN are from Targetscan & miRanda, CARF is from PicTar & TargetScan and PTPN9 is from miRanda & PicTar. The blue FBXO33 is the intersection of the three databases.

表 3 hsa-miR-126 的 GO 分析结果($P < 0.01$)Table 3 GO analysis of target genes of hsa-miR-126($P < 0.01$)

GO ID	Gene Ontology Biological Process	Count	Genes	Pvalue
0050900	leukocyte migration	5	KRAS, TEK, MERTK, SLC7A5, PIK3R2	4.03E-04
0051384	Response to glucocorticoid	4	KRAS, BCL2, IGFBP2, ADAM9	8.45E-04
0001938	positive regulation of endothelial cell proliferation	4	EGFL7, VEGFA, TEK, CXCL12	0.0010061
0007265	Ras protein signal transduction	4	KRAS, CRKL, PLK2, DNMT1	0.001049
0001666	response to hypoxia	5	VCAM1, CXCR4, VEGFA, TEK, CXCL12	0.0014558
0071456	cellular response to hypoxia	4	E2F1, BCL2, VEGFA, FOXO3	0.0025996
0014065	phosphatidylinositol 3-kinase signaling	3	PIK3CG, IRS1, PIK3R2	0.0026833
0043434	response to peptide hormone	3	TEK, CXCL12, IRS1	0.0070118
0000186	activation of MAPKK activity	3	CRKL, CRK, ADAM9	0.0076437
0036092	phosphatidylinositol-3-phosphate biosynthetic process	3	PIK3CG, IRS1, PIK3R2	0.008638

脑脊髓炎(ME)患者的外周血单核细胞中发现 hsa-miR-126 的表达显著上调,Andrade^[12]等发现在 EB 病毒阳性的老年人弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中 hsa-miR-126 上调,以及前文叙述的 hsa-miR-126 在四级非小细胞肺癌中显著下调^[6],作者们都提到了以 microRNA 为分子标志物的诊断新思路。有学者还将 hsa-miR-126 用于一些肿瘤的鉴定与分型,例如 Barshack^[19]等

在研究肝细胞癌与肝转移癌的差异表达 microRNA 时, hsa-miR-126 在肝细胞癌中相对于肝转移癌表达增加,准确鉴别肝癌细胞来源对治疗方案的制定有重要意义。另一针对原发性肺癌与肺转移癌类似研究^[19]则得到 hsa-miR-126 在肺转移癌中上调。

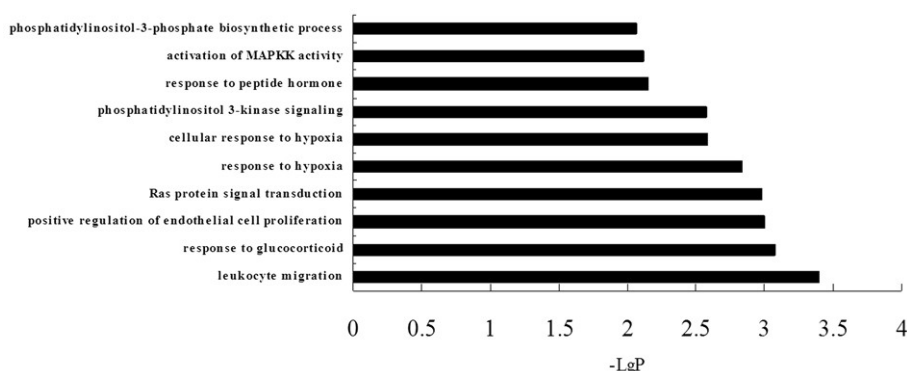
本研究有关 hsa-miR-126 的基本信息来源于 miRBase,

表 4 hsa-miR-126 基于 KEGG 数据库的 Pathway 分析结果($P < 0.01$)Table 4 KEGG pathway analysis of target genes of hsa-miR-126($P < 0.01$)

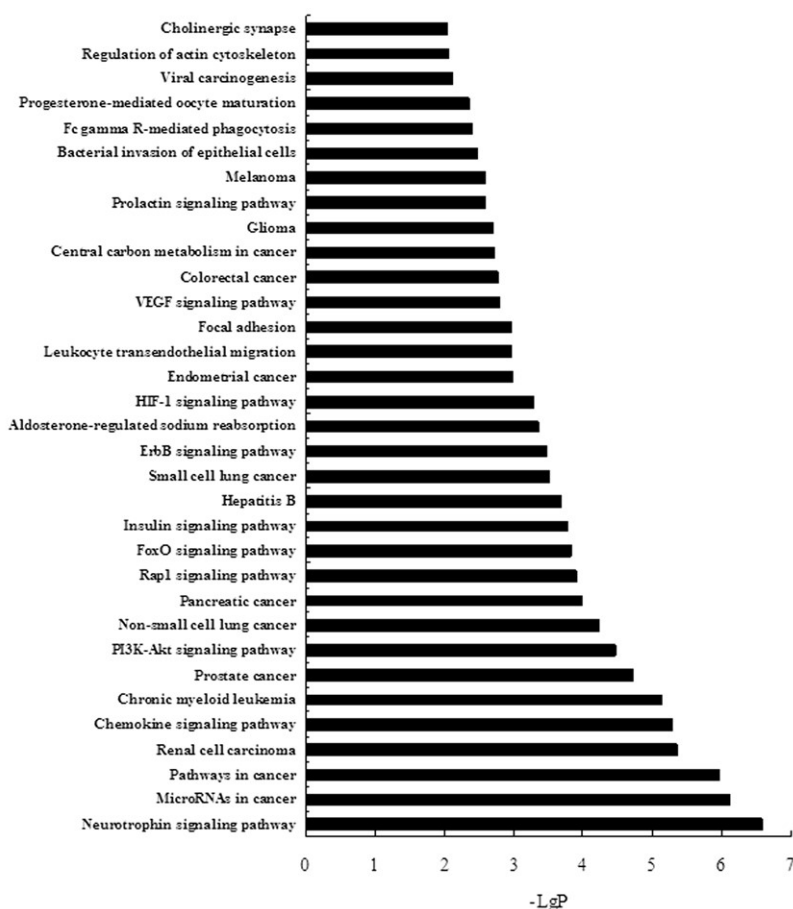
KEGG entry	KEGG pathway	Count	Genes	Pvalue
hsa04722	Neurotrophin signaling pathway	8	PIK3CG, KRAS, CRKL, BCL2, FOXO3, CRK, IRS1, PIK3R2	2.66E-07
hsa05206	MicroRNAs in cancer	10	E2F1, SLC45A3, CCNE2, KRAS, CRKL, BCL2, VEGFA, DNMT1, CRK, IRS1	7.41E-07
hsa05200	Pathways in cancer	11	PIK3CG, E2F1, CCNE2, KRAS, CRKL, CXCR4, BCL2, VEGFA, CXCL12, CRK, PIK3R2	1.11E-06
hsa05211	Renal cell carcinoma	6	PIK3CG, KRAS, CRKL, VEGFA, CRK, PIK3R2	4.34E-06
hsa04062	Chemokine signaling pathway	8	PIK3CG, KRAS, CRKL, CXCR4, FOXO3, CXCL12, CRK, PIK3R2	5.15E-06
hsa05220	Chronic myeloid leukemia	6	PIK3CG, E2F1, KRAS, CRKL, CRK, PIK3R2	7.21E-06
hsa05215	Prostate cancer	6	PIK3CG, E2F1, CCNE2, KRAS, 1.93E-05 BCL2, PIK3R2	
hsa04151	PI3K-Akt signaling pathway	9	PIK3CG, CCNE2, KRAS, BCL2, VEGFA, TEK, FOXO3, IRS1, PIK3R2	3.43E-05
hsa05223	Non-small cell lung cancer	5	PIK3CG, E2F1, KRAS, FOXO3, PIK3R2	5.91E-05
hsa05212	Pancreatic cancer	5	PIK3CG, E2F1, KRAS, VEGFA, PIK3R2	1.06E-04
hsa04015	Rap1 signaling pathway	7	PIK3CG, KRAS, CRKL, VEGFA, TEK, CRK, PIK3R2	1.27E-04
hsa04068	FoxO signaling pathway	6	PIK3CG, KRAS, PLK2, FOXO3, IRS1, PIK3R2	1.46E-04
hsa04910	Insulin signaling pathway	6	PIK3CG, KRAS, CRKL, CRK, IRS1, PIK3R2	1.67E-04
hsa05161	Hepatitis B	6	PIK3CG, E2F1, CCNE2, KRAS, BCL2, PIK3R2	2.11E-04
hsa05222	Small cell lung cancer	5	PIK3CG, E2F1, CCNE2, BCL2, PIK3R2	3.02E-04
hsa04012	ErbB signaling pathway	5	PIK3CG, KRAS, CRKL, CRK, PIK3R2	3.30E-04
hsa04960	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	4	PIK3CG, KRAS, IRS1, PIK3R2	4.43E-04
hsa04066	HIF-1 signaling pathway	5	PIK3CG, BCL2, VEGFA, TEK, PIK3R2	5.20E-04
hsa05213	Endometrial cancer	4	PIK3CG, KRAS, FOXO3, PIK3R2	0.001035
hsa04670	Leukocyte transendothelial migration	5	PIK3CG, VCAM1, CXCR4, CXCL12, PIK3R2	0.001047
hsa04510	Focal adhesion	6	PIK3CG, CRKL, BCL2, VEGFA, CRK, PIK3R2	0.00106
hsa04370	VEGF signaling pathway	4	PIK3CG, KRAS, VEGFA, PIK3R2	0.001647
hsa05210	Colorectal cancer	4	PIK3CG, KRAS, BCL2, PIK3R2	0.001726
hsa05230	Central carbon metabolism in cancer	4	PIK3CG, KRAS, SLC7A5, PIK3R2	0.001891
hsa05214	Glioma	4	PIK3CG, E2F1, KRAS, PIK3R2	0.001978
hsa04917	Prolactin signaling pathway	4	PIK3CG, KRAS, FOXO3, PIK3R2	0.002548
hsa05218	Melanoma	4	PIK3CG, E2F1, KRAS, PIK3R2	0.002548
hsa05100	Bacterial invasion of epithelial cells	4	PIK3CG, CRKL, CRK, PIK3R2	0.00333
hsa04666	Fc gamma R-mediated phagocytosis	4	PIK3CG, CRKL, CRK, PIK3R2	0.004107
hsa04914	Progesterone-mediated oocyte maturation	4	PIK3CG, PGR, KRAS, PIK3R2	0.004533
hsa05203	Viral carcinogenesis	5	PIK3CG, CCNE2, HIST1H2BN, KRAS, PIK3R2	0.007727
hsa04810	Regulation of actin cytoskeleton	5	PIK3CG, KRAS, CRKL, CRK, PIK3R2	0.008542
hsa04725	Cholinergic synapse	4	PIK3CG, KRAS, BCL2, PIK3R2	0.008914

miRBase 是一个收集已发表的 microRNA 序列和注释的主流数据库,研究者可通过浏览和搜索等方式进行检索,每个条目皆包含了该 microRNA 前体茎环结构的序列,其经过切割后获得的两条成熟 microRNA 的序列,以及它在其他物种间的分布情况等的基本信息。本文将各个物种的 miR-126 与人类 miR-126 通过 NCBI BLASTN 进行了逐一比对后,发现 miR-126 序列在多种物种间呈现高度保守,这说明 miR-126 可

能发挥着重要的生物学功能。另外,miRBase 还提供了各在线软件的预测结果的超链接。主流预测软件 TargetScan 基于靶基因转录的 mRNA 3'-UTR 区与 microRNA 种子序列(2-7nt)之间的精确互补配对来寻找靶基因,该法的优点是预测的假阳性率较低。Pictar 与 TargetScan 的预测原理则较为相似,而 miRanda 则不同,它综合了序列匹配、microRNA 与 mRNA 的 3'-UTR 间的自由能、进化保守性三个方面进行预测。本研究参考各相关

图2 hsa-miR-126 预测靶基因集合的功能富集分析结果($P < 0.01$)Fig.2 GO analysis of target genes of hsa-miR-126($P < 0.01$)

Note: -LgP is the negative logarithm of Pvalue, A higher value indicates that the target genes are more enriched in this Pathway.

图3 hsa-miR-126 预测靶基因的 Pathway 分析结果($P < 0.01$)Fig.3 KEGG pathway analysis of target genes of hsa-miR-126($P < 0.01$)

Note: -LgP is the negative logarithm of Pvalue, A higher value indicates that the target genes are more enriched in this Pathway.

文献后采用 TargetScan、miRanda、PicTar 对 hsa-miR-126 进行预测并取其结果的两两交集,目的是降低预测结果的假阳性率,之所以不取多数文献所采用的取三者之交集的方法,是由于该法在本研究中可得的靶基因数仅有 8 个,且其中 ADAM9、CRK、SPRED1 已经被证实是该 miRNA 的靶基因,这也从侧面证明了各在线预测软件的结果较为可靠。本研究还将最终获得的 5 个预测结果结合 miRTarBase 收集的 41 个已证实靶基因用 Cytoscape 绘制了简洁明了的网络调控图,其中 FBXO33 在三个预测软件中皆得到良好的预测值,FBXO33 很有可能是 hsa-miR-126 的靶基因。随后我们向 DAVID 数据库,

一个 Web 在线分析软件提交了靶基因集合进行 GO 分析和 Pathway 分析,GO 分析从分子功能、生物途径和细胞定位三个方面分析靶基因富集于哪些生物学过程,Pathway 分析结果表明靶基因富集于哪些细胞代谢通路,通过 GO 分析我们得知 hsa-miR-126 的靶基因主要参与细胞迁移、促进内皮细胞增殖、磷脂酰肌醇 3 激酶信号转导等生物学过程,这些生物学过程与肿瘤的发生发展有诸多联系,通过 Pathway 分析我们得知 has-miR-126 富集于各种肿瘤如非小细胞性肺癌、肾癌、胰腺癌等信号通路上,这与文献报道的 hsa-miR-126 在多种肿瘤中具有差异性表达以及已揭示的一些作用机制相一致,证明各生物

信息学软件的预测结果具有一定可靠性,能够为对 hsa-miR-126 的进一步研究提供指导方向。

综上所述,hsa-miR-126 通过调控靶基因在多种肿瘤和其他疾病的发生发展中发挥生物学功能,可能可以作为新的分子标志物和新的治疗靶点,对于一些肿瘤的分型具有指导作用。使用各种生物信息学软件对 hsa-miR-126 靶基因进行预测和功能分析能够为对 hsa-miR-126 的进一步研究提供指导方向。

参考文献(References)

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis mechanism and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281-297
- [2] Chen B, Zhe MW, Liao ZR, et al. Prediction of hsa-miR-126 Target Genes and Its Function Analysis[J]. Journal of Kunming Medical University, 2014, 35(11): 4-9
- [3] Fu Hailong, Xu Guangfeng, Shi Chunmei, et al. Bioinformatics analysis of hsa-miR-100[J]. Int J Lab Med, 2012, 33(18): 2177-2180
- [4] Song Jia-xi, Wu Jia, Yuan Yun-long, et al. Bioinformatics prediction for target genes of hsa-miR-186 and analysis on its function[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2014, 32(10): 765-770
- [5] Xu Guangfeng, Fu Hailong, Shi Chunmei, et al. Targets and function of hsa-miR26b predicted by bioinformatics [J]. Int J Lab Med, 2012, 30(7): 527-530
- [6] Feng Xu, Zhou Bao-sen. Prediction of hsa-miR-487b target genes and its bioinformatics analysis [J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2015, 19(1): 93-95
- [7] Zeng MN, Ma WL, Zheng WL. Bioinformatics analysis of microRNA comprehensive regulatory network in B- cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi, 2016, 37(7): 585-590
- [8] Cai H, Wang JS, Zhang MX, et al. Differential expression of hsa-miR-126 and hsa-miR-518b in esophageal squamous carcinoma [J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2011, 31(1): 23-27
- [9] Petty RD, McCarthy NE, Le Dieu R, et al. MicroRNAs hsa-miR-99b, hsa-miR-330, hsa-miR-126 and hsa-miR-30c: Potential Diagnostic Biomarkers in Natural Killer (NK) Cells of Patients with Chronic Fatigue Syndrome (CFS)/ Myalgic Encephalomyelitis (ME)[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150904
- [10] Wang R, Wang X, Zhuang L. Gene expression profiling reveals key genes and pathways related to the development of non-alcoholic fatty liver disease[J]. Ann Hepatol, 2016, 15(2): 190-199
- [11] Luo P, Fei J, Zhou J, et al. microRNA-126 suppresses PAK4 expression in ovarian cancer SKOV3 cells [J]. Oncol Lett, 2015, 9(5): 2225-2229
- [12] Andrade TA, Evangelista AF, Campos AH, et al. A microRNA signature profile in EBV+ diffuse large B-cell lymphoma of the elderly[J]. Oncotarget, 2014, 5(23): 11813-11826
- [13] Wu ZB, Li WQ, Lin SJ, et al. MicroRNA expression profile of bromocriptine-resistant prolactinomas[J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 395(1-2): 10-18
- [14] Collares CV, Evangelista AF, Xavier DJ, et al. Identifying common and specific microRNAs expressed in peripheral blood mononuclear cell of type 1, type 2, and gestational diabetes mellitus patients[J]. BMC Res Notes, 2013, 6: 491
- [15] Liu SG, Qin XG, Zhao BS, et al. Differential expression of miRNAs in esophageal cancer tissue[J]. Oncol Lett, 2013, 5(5): 1639-1642
- [16] Lin Q, Mao W, Shu Y, et al. A cluster of specified microRNAs in peripheral blood as biomarkers for metastatic non-small-cell lung cancer by stem-loop RT-PCR [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138(1): 85-93
- [17] Barshack I, Meiri E, Rosenwald S, et al. Differential diagnosis of hepatocellular carcinoma from metastatic tumors in the liver using microRNA expression [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010, 42(8): 1355-1362
- [18] Fridman E, Dotan Z, Barshack I, et al. Accurate Molecular Classification of Renal Tumors Using MicroRNA Expression [J]. J Mol Diagn. 2010, 12(5): 687-696
- [19] Barshack I, Lithwick-Yanai G, Afek A, et al. MicroRNA expression differentiates between primary lung tumors and metastases to the lung [J]. Pathol Res Pract, 2010, 206(8): 578-584
- [20] Zhong M, Ma X, Sun C, et al. MicroRNAs reduce tumor growth and contribute to enhance cytotoxicity induced by gefitinib in non-small cell lung cancer[J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(3): 431-433
- [21] [J]. China Tropical Medicine, 2016, 16(1): 80-83
- [22] Lipscombe L. In high-risk pregnant women, an individualized lifestyle intervention reduced gestational diabetes mellitus[J]. Ann Intern Med, 2015, 163(12): JC7
- [23] 竺月芬,汪期明.早期个体化营养干预对妊娠期糖尿病孕妇血糖及并发症控制的影响[J].中国妇幼保健, 2017, 32(8): 1611-1613
- [24] Zhu Yue-fen, Wang Qi-ming. Effect of early individual nutrition intervention on blood glucose and control of complications in pregnant women with gestational diabetes mellitus[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2017, 32(8): 1611-1613
- [25] Luo XD, Dong X, Zhou J. Effects of nutritional management intervention on gestational weight gain and perinatal outcome [J]. Saudi Med J, 2014, 35(10): 1267-1270
- [26] Donazar-Ezcurra M, López-Del Burgo C, Bes-Rastrollo M. Primary prevention of gestational diabetes mellitus through nutritional factors: a systematic review[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2017, 17(1): 30
- [27] Xu Q, Gao ZY, Li LM, et al. The Association of Maternal Body Composition and Dietary Intake with the Risk of Gestational Diabetes Mellitus during the Second Trimester in a Cohort of Chinese Pregnant Women[J]. Biomed Environ Sci, 2016, 29(1): 1-11
- [28] Ehrlich SF, Hedderson MM, Brown SD, et al. Moderate intensity sports and exercise is associated with glycaemic control in women with gestational diabetes[J]. Diabetes Metab, 2017, 43(5): 416-423
- [29] Afandi BO, Hassanein MM, Majd LM, et al. Impact of Ramadan fasting on glucose levels in women with gestational diabetes mellitus treated with diet alone or diet plus metformin: a continuous glucose monitoring study[J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2017, 5(1): e000470
- [30] 李文蕾,王云霞.妊娠期糖尿病患者孕晚期血脂检测的临床意义[J].中国热带医学, 2016, 16(1): 80-83
- [31] Li Wen-lei, Wang Yun-xia. Clinical significance of serum lipids measurement in patients with gestational diabetes mellitus at late phase

(上接第 4513 页)