

论 著

(基础研究)

基于生物信息学分析的 hsa-miR-206 靶基因预测

康治理, 武振方, 刘晓伟, 许 斌

【摘要】 目的 应用生物信息学方法分析 hsa-miR-206 序列, 并进行靶基因功能富集分析、信号通路富集分析, 靶基因编码蛋白相互作用分析, 为后续研究其功能提供理论基础。 **方法** 通过 miRbase、TargetScan、DIANA-microT、MiRDB 数据库、VENN 在线工具、DAVID 在线数据库、STRING 数据库及 Cytoscape 软件等在线工具分析 hsa-miR-206 序列及保守性, 预测其靶基因, 对预测的靶基因进行功能富集分析(GO 分析)、KEGG 通路富集分析, 并筛选出关键基因。 **结果** hsa-miR-206 序列在各物种间高度保守, GO 分析发现 hsa-miR-206 靶基因功能主要富集在生物合成调节、有机物代谢过程调节、转录调节等生物学过程, KEGG 分析表明主要参与 Wnt 信号通路、T 细胞受体信号通路、癌症通路等。蛋白互作显示编码蛋白间存在复杂的相互作用, 与 hsa-miR-206 关系最密切的蛋白有 27 个, 如天冬氨酸-谷氨酸-丙氨酸-天冬氨酸盒解螺旋酶 5(DDX5)、人远端上游原件结合蛋白(FUBP1)、天冬氨酸-谷氨酸-丙氨酸-组氨酸盒解螺旋酶 15(DHX15)等。 **结论** hsa-miR-206 可能参与肿瘤发生发展中重要的生物学过程及调控机制, 为进一步实验验证提供了线索。

【关键词】 hsa-miR-206; 生物信息学; 靶基因; 信号通路

【中图分类号】 R363; Q522

【文献标志码】 A

【文章编号】 1008-8199(2020)02-0118-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.02.002

Prediction of hsa-miR-206 target gene based on bioinformatics analysis

KANG Zhi-li¹, WU Zhen-fang², LIU Xiao-wei², XU Bin²

(1. School of Graduate, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, Anhui, China; 2. Department of Orthopaedics, General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective The bioinformatics method was used to analyze the sequence of hsa-miR-206, the functional enrichment analysis and signal pathway enrichment analysis of the target genes, and the protein-protein interaction network was used to provide theoretical basis for the subsequent study of its function. **Methods** Analysis of hsa-miR-206 sequence and conservation, predict target genes by online tools such as miRbase, TargetScan, DIANA-microT, MiRDB database, VENN online tool, DAVID online database, STRING database and Cytoscape software, GO enrichment analysis, KEGG pathway enrichment analysis and target gene encoding protein analysis were performed, and key genes were screened. **Results** The hsa-miR-206 sequence was highly conserved among different species. GO analysis revealed that hsa-miR-206 target gene function was mainly enriched in biological processes such as biosynthesis regulation, regulation of metabolism, and transcriptional regulation. KEGG analysis indicated that it mainly participated in Wnt Signal pathway, T cell receptor signaling pathway, cancer pathway, etc. Protein interactions show complex interactions between the encoded proteins, There are 27 proteins most closely related to hsa-miR-206, such as DDX5, FUBP1, DHX15, etc. **Conclusion** hsa-miR-206 may be involved in important biological processes and regulatory mechanisms in tumorigenesis and development, providing clues for further experimental validation.

【Key words】 hsa-miR-206; bioinformatics; target gene; signaling pathway

基金项目: 南京军区医药卫生科研基金课题(15DX019)

作者单位: 233030 蚌埠, 蚌埠医学院研究生院(康治理); 210002

南京, 东部战区总医院(原南京军区南京总医院)骨科

(武振方、刘晓伟、许 斌)

通信作者: 许 斌, E-mail: xubinzz@163.com

0 引 言

MicroRNAs (miRNAs) 是一种长度约为 19~24 个碱基的单链小分子的非编码 RNA 家族, 它是由一段具有发卡结构的 70~80 个碱基大小的单链 RNA

前体经过 Dicer 酶的作用剪切生成,通过并入到 RNA 诱导的沉默复合物(RISC)与靶 mRNA 的 5' 及 3' UTR 端(3' untranslated regions, 3'-UTR)特异性碱基配对,在转录水平抑制靶 mRNA 翻译或者诱导靶 mRNA 降解,从而调控靶基因的表达^[1]。其靶向 mRNA 的主要方式包括翻译抑制、mRNA 切割和 mRNA 稳定性改变。早期研究发现,miRNA 对生物学过程的调控至关重要,如发育时间、细胞死亡、细胞增殖、免疫、神经系统模式等^[2-3]。越来越多的数据表明,miRNA 是许多重要的生命过程的主要调节者,这些生命过程包括细胞增殖、细胞凋亡、病毒感染和细胞癌变等^[4-5]。

miR-206 是目前最具研究潜力及特性的 microRNAs 之一,最初在骨骼肌中发现并被认为是骨骼肌特异性 miRNA^[6]。参与了包括肿瘤在内的诸多疾病的发病机制,目前研究表明 miR-206 在肿瘤等多种疾病中异常表达并在增殖、分化、凋亡、侵袭和转移中发挥重要作用^[7]。miR-206 定位在人类第 6 号染色体上,是骨骼肌特异性表达的“肌特异性 miRNA(myomiR)”家族成员之一^[8]。miR-206 通过与其靶 mRNA 的 3' 端非翻译区碱基不完全互补配对,抑制 mRNA 翻译或直接使其降解而发挥生物学特性,调控细胞的增殖、分化、转移等生物学行为^[9]。靶基因与 miR-206 结合位点越多则受其调控程度越大,由此形成一个巨大分子调控网络,在个体成长发育、生理过程及疾病发展过程中发挥重要作用。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-206 的生物信息学研究也较少。本研究拟通过生物信息学的方法探索对 hsa-miR-206 进行定位和序列保守性研究、靶基因预测、功能富集分析(GO 分析)、信号通路分析(KEGG)、蛋白互作分析(protein protein interaction, PPI)等分析,为今后进一步探索 hsa-miR-206 在肿瘤发生、发展及分子机制等方面提供线索和理论依据。

1 材料与方法

1.1 miR-206 的序列保守性分析 应用 miRbase (<http://www.mirbase.org/>) 在线查找各物种已被明确的成熟碱基序列,并对比分析 miR-206 序列在各物种之间的保守性,用美国国家医学图书馆国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)开发的生物大分子序列比对搜索工具(Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进一步分

析其物种保守性。

1.2 miR-206 的靶基因预测 运用在线靶基因预测软件, miRDB (<http://www.mirdb.org/>), TargetScan V7.2 (<http://www.targetscan.org/>) 和 DIANA-microT (<http://diana.imis.athenainnovation.gr>) 等 3 个数据库对 has-miR-206 可能存在的靶基因进行预测,为得到更加准确的结果,用 Venn Diagrams 在线作图工具画韦恩图得到 3 个数据库预测结果的交集来降低假阳性率。

1.3 miR-206 靶基因的 GO 功能注释及 KEGG 通路富集分析 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 $P < 0.05$ 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。

1.4 关键靶基因筛选 利用在线工具 STRING (<https://string-db.org/>)^[10] 联合 Cytoscape 软件^[11] 构建 miR-206 靶基因蛋白互作网络(PPI),并运用 Mcode 插件^[12] 筛选出关键基因(hub gene)。

2 结 果

2.1 miR-206 的染色体定位及序列保守性分析

检索在线数据库 miRBase,发现人 has-miR-206 基因序列号为 MIMAT0000462,其成熟体碱基序列为“53-UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG-74”。通过 NCBI BLAST 对小鼠(mmu)、大鼠(rno)、野猪(ssc)等 10 个物种的 miR-206 序列对比分析,发现 miR-206 的成熟序列在各物种间高度保守,见表 1。

2.2 hsa-miR-206 的靶基因预测结果 使用 TargetScan、miRDB、DIANA-microT 3 个在线预测软件分别得到 hsa-miR-206 的靶基因分别为 897 个、944 个、1148 个,再进行交集得到预测靶基因 420 个,见图 1。

2.3 hsa-miR-206 靶基因 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析 将 3 个经典数据库预测到的靶基因取最终交集 420 个作 GO 分析,发现 miR-206 的靶基因主要富集在高尔基体、内膜、囊泡等细胞组件($P < 0.05$),参与 DNA 结合、蛋白结合、转录调节活性等分子功能($P < 0.05$),富集于生物合成调节、有机物代谢过程调节、转录调节等生物学过程($P < 0.05$)。见表 2。KEGG 信号通路分析显示主要富集在 Wnt 信号通路、T 细胞受体信号通路、癌症通路、调节肌动蛋白细胞骨架等($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 部分物种成熟的 miR-206 保守序列

序列号 (miRBase)	物种	名称	序列 (5'→3')
MIMAT0000462	人	hsa-miR-206	53-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGG-74
MIMAT0000239	小鼠	mmu-miR-206-3p	46-ACAUGCUUCUUUAUUAUCCUCAUA-67
MIMAT0017004	小鼠	mmu-miR-206-5p	8-ACAUGCUUCUUUAUUAUCCUCAUA-30
MIMAT0017154	褐家鼠	rno-miR-206-5p	13-ACAUGCUUCUUUAUUAUCCUCAU-34
MIMAT0000879	褐家鼠	rno-miR-206-3p	51-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGG-72
MIMAT0006606	家犬	cfa-miR-206	39-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGG-60
MIMAT0036052	山羊	chi-miR-206	53-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGGU-75
MIMAT0023846	黑线仓鼠	epr-miR-206	50-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGG-71
MIMAT0002318	猩猩	ppy-miR-206	53-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGG-74
MIMAT0013864	野猪	ssc-miR-206	50-UGGAAUGUAAAGGAAGUGUGUGA-71

表 2 miR-206 靶基因的 GO 功能分析

GO 号	GO 分子功能注释	P 值	基因数量	基因名称
生物过程 (部分)				
GO:0006357	RNA 聚合酶 II 启动子转录的调控	3.33E-08	45	ELF1, THRB, PAX6, CASK 等
GO:0045944	RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控	4.47E-08	30	ELF1, THRB, PAX6, CASK 等
GO:0045941	转录的正调控	5.27E-07	36	ELF1, THRB, GLIS2, PAX6 等
GO:0051173	氮化合物代谢过程的正调控	5.98E-07	39	ELF1, THRB, PDGFA, GLIS2 等
GO:0045935	核碱基、核苷、核苷酸和核酸代谢过程的正调控	7.58E-07	38	ELF1, THRB, PDGFA, GLIS2 等
GO:0010557	高分子生物合成过程的正调控	8.70E-07	39	ELF1, THRB, PDGFA, GLIS2 等
GO:0045893	转录的正调控, DNA 依赖	9.37E-07	32	ELF1, THRB, PAX6, CASK 等
GO:0031328	细胞生物合成过程的正调控	1.03E-06	40	ELF1, THRB, PDGFA, GLIS2 等
GO:0010628	基因表达的正调控	1.07E-06	36	ELF1, THRB, GLIS2, PAX6 等
GO:0051254	RNA 代谢过程的正调控	1.13E-06	32	ELF1, THRB, PAX6, CASK 等
细胞组成 (部分)				
GO:0012505	内膜系统	4.15E-06	38	SYT1, CLCN3, MAL2, XPO6 等
GO:0031252	细胞前沿	7.91E-06	14	MTSS1, WASF2, ABI2, CDK6 等
GO:0031982	囊泡	9.76E-05	31	SRI, MTSS1, SYT1, CLCN3 等
GO:0031410	细胞质囊泡	1.13E-04	30	MTSS1, SYT1, CLCN3, YWHAZ 等
GO:0005856	细胞骨架	1.24E-04	51	CTTNBP2NL, MTSS1, UTRN 等
GO:0005794	高尔基体	2.24E-04	36	CLCN3, OSBP, AP1G1, UNC50 等
GO:0042995	细胞投射	4.44E-04	30	MTSS1, SYT1, NRP1, CNN3 等
GO:0031988	膜结合囊泡	5.02E-04	26	MTSS1, SYT1, CLCN3, YWHAZ 等
GO:0001726	胞膜褶皱	5.47E-04	8	MTSS1, NME2, NME1-NME2 等
GO:0015629	肌动蛋白细胞骨架	6.76E-04	16	CTTNBP2NL, MTSS1, TWF1, UTRN 等
分子功能 (部分)				
GO:0003700	转录调节活性	2.15E-07	51	ELF1, BACH2, THRB, E2F5 等
GO:0030528	DNA 结合	3.51E-07	68	HMG1, ELF1, BACH2, THR 等
GO:0003677	转录阻遏物活性	1.29E-05	87	HMG1, ELF1, BACH2, E2F5 等
GO:0016564	序列特异性 DNA 结合	7.45E-05	21	ZNF281, ELF1, CTBP2, THRB 等
GO:0043565	细胞骨架蛋白结合	1.39E-04	31	ELF1, BACH2, THRB, PAX6 等
GO:0008092	肌动蛋白结合	1.99E-04	27	MTSS1, CNN3, UTRN, WASF2 等
GO:0003779	转录调节活性	3.26E-04	20	MTSS1, TWF1, CNN3, MAP1A 等
GO:0016566	特异性转录阻遏物活性	1.57E-03	6	HDAC4, TGIF1, PAX3, TCF7L2 等
GO:0016563	转录激活子活性	2.10E-03	21	ZNF281, ELF1, GLIS2, MAML2 等
GO:0003702	RNA 聚合酶 II 转录因子活性	5.97E-03	14	ZNF281, HMG1, LEF1, PAX3 等

表 3 miR-206 靶基因 KEGG 通路富集分析结果

ID	KEGG 通路名称	基因数量	P 值	参与基因
hsa04360	轴突导向	13	1.11E-04	NRP1, MET, EFNB2, MAPK1, KRAS, SEMA6D 等
hsa04520	黏附连接	10	1.47E-04	ACTB, MAPK1, MET, WASF2, LEF1, WASL 等
hsa04320	背腹轴形成	5	3.59E-03	NOTCH3, MAPK1, KRAS, ETS1, CPEB1
hsa04310	Wnt 信号通路	11	5.55E-03	CTBP2, SFRP1, CCND2, PPP2R5A, NFAT5 等
hsa05216	甲状腺癌	5	6.23E-03	MAPK1, KRAS, LEF1, TCF7L2, TPM3
hsa05211	肾细胞癌	7	9.19E-03	MAPK1, KRAS, ETS1, PAK3, MET, VEGFA 等
hsa04810	肌动蛋白细胞骨架调节	13	9.50E-03	GIT1, ACTB, MAPK1, PFN2, KRAS, ARPC3 等
hsa05130	致病性大肠杆菌感染	6	1.55E-02	ACTB, YWHAZ, ARPC3, YWHAQ, WASL, NCL
hsa04660	T 细胞受体	8	2.15E-02	MAPK1, KRAS, PAK3, CBL, NFAT5, NFATC2 等
hsa05200	癌症通路	16	2.20E-02	CTBP2, PDGFA, CBL, MET, IGF1, LEF1 等

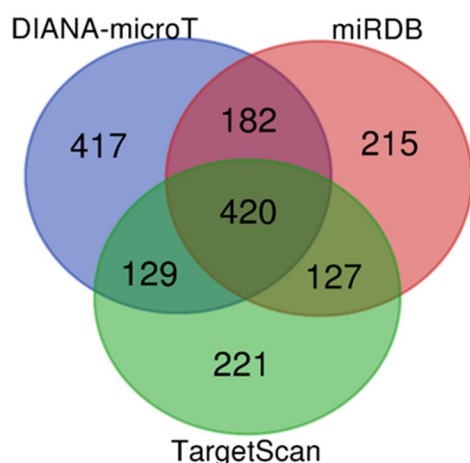


图 1 数据库预测 hsa-miR-206 的靶基因个数

2.4 miR-206 预测靶基因所编码蛋白质间的相互作用分析 通过 STRING 在线工具筛选出靶基因蛋白相互作用网络,导入 Cytoscape,利用 Mcode 插件筛选出关键基因(Hub 基因)共 27 个,见图 2。

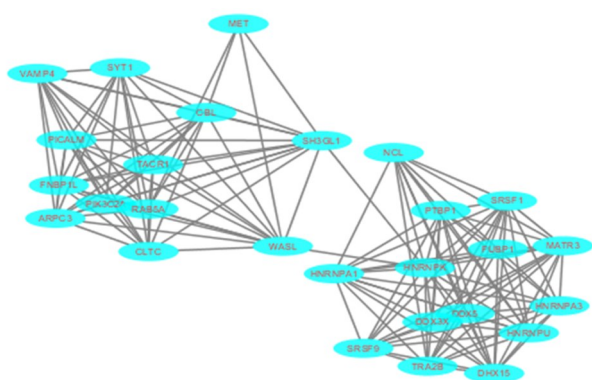


图 2 miR-206 预测靶基因所编码蛋白质间的相互作用分析

3 讨论

miRNA 是一类小分子非编码内源性调节 RNA,特能结合到靶 mRNA 的 3' 非翻译区(Untranslated region, UTR)从而抑制翻译或者直接降解靶 mRNA,具有转录后水平的多基因调节功能。miRNA 通过碱基互补配对原则特异性结合其靶基因,形成一个巨大的分子调控网络,广泛参与到人类生命活动和疾病的各个方面中去^[13]。目前已经在自然界中发现了超过三万种 miRNA,参与到细胞的增殖、分化、凋亡及机体的免疫调节和发育等过程,近年来的研究发现 miRNA 在多种疾病中的表达紊乱^[14]。深入研究 miRNA 与疾病的相关性将有望为疾病的临床诊断及治疗提供新思路和新策略。

随着技术的进步,更多的技术被用来量化临床标本的 miRNA,如 Northern blotting、基因芯片分析、高通量测序、实时定量 PCR 等^[15-16]。然而,由于通过实验途径一一验证 miRNA 的靶基因较为困难且繁琐,故而筛选 miRNA 靶基因,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。

考虑到靶基因预测过程中 miRNA 与 mRNA 双链特异结合的热稳定性、miRNA 与靶基因结合位点的序列匹配、序列的保守性等因素,本研究选用 3 种经典的 miRNA 靶基因预测工具 Targetscan、miRDB 和 DIANA-microT,用不同的计算方法预测靶基因,取交集作为靶基因集合。miRbase 是由曼彻斯特大学的研究人员开发的一个在线的 miRNA 数据库,该数据库中收录了来自 200 多个物种,接近 4 万个 miRNA 序列和注释的最全面的 miRNA 数据库,通过浏览和搜索等方式进行检索,每个条目中包含了该 miRNA 前体茎环结构的序列,其经过切割后获得的成熟 miRNA 的序列,以及它在其他物种间的分布情况等的基本信息。本文通过查找各个物种的 miR-206 与人类 miR-206 通过 NCBI BLAST 比对分析发现 miR-206 的成熟序列在各物种之间高度保守,提示其可能具有重要的生物学功能。利用 DAVID 在线分析工具进行 GO 分析和 KEGG 分析,GO 分析从细胞定位、分子功能,生物学途径分析靶基因负富集于那些生物学过程,KEGG 分析结果表明靶基因参与哪些细胞代谢通路。通过 GO 分析我们得知 miR-206 主要参与生物合成调节、有机物代谢过程调节、转录调节等生物学过程,KEGG 分析表明 miR-206 主要参与 Wnt 信号通路、T 细胞受体信号通路、癌症通路等。这与已有的研究及文献报道的 hsa-miR-206 在多种疾病中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-206 的进一步研究提供指导方向。随后通过 String11.0 在线数据库和 Cytoscapev3.6.1 软件对 420 个差异靶基因进行互作预测分析发现,各靶标蛋白质之间存在复杂的相互作用,共筛选出 27 个关键基因,如 DDX5、FUBP1、DHX15 等,因此我们推测这些基因可能在 miR-206 调控的生物学效应中发挥重要作用。DDX5 是在各种恶性肿瘤中过表达的 ATP 依赖性 RNA 解旋酶,越来越多的证据表明,DDX5 通过促进细胞增殖和转移而参与癌变和癌症进展,研究显示,DDX5 通过激活 mTOR/S6K1 诱导胃癌细胞的生长。特异的 mTOR 抑制剂依维莫司的治疗显着减弱了 DDX5 介导的细胞增殖^[17]。体外实验表明,FUBP1 通过增强糖酵解和 ATP 产生来

促进神经母细胞瘤的细胞增殖并抑制细胞凋亡^[18]。DHX15 是 DEAH-box RNA 解旋酶家族的杰出成员,有研究表明^[19],DHX15 在肝细胞肝癌中显著上调,其高表达与不良预后相关,提示其在肝细胞肝癌进程中的关键作用。

最近的一系列研究证实 miR-206 在多种人类疾病中具有重要的生物学功能,尤其集中于肿瘤相关疾病,许多研究者发现 has-miR-206 可在多种肿瘤组织与正常组织间有差异性表达。Zhou 等^[20]研究发现,与邻近的正常组织相比,miR-206 在乳腺癌细胞系和乳腺癌组织中的表达上调,而全长 Neurokinin-1 的表达与肿瘤淋巴结转移(TNM)阶段和淋巴结转移呈负相关,miR-206 结合全长神经激肽-1 信使 RNA 的 3'-非翻译区,调节蛋白质表达。与正常邻近组织相比,宫颈癌样品中的 miR-206 表达明显下调。多变量 Cox 回归分析显示,miR-206 表达降低是整体生存的独立不利预后因素。此外,miR-206 模拟物在 HeLa 细胞中的转染能够减少细胞增殖,促进细胞凋亡并抑制细胞入侵和迁移^[21]。Chang 等^[22]研究指出 FOXD2-AS1 通过充当 miR-206 海绵来上调 miR-206 靶基因膜联蛋白 A2(ANXA2)的表达。总之,结论是 FOXD2-AS1 在 HCC 中起癌基因的作用,并通过“刺激”miR-206 部分上调 ANXA2 的表达。miR206 可以通过调节 REST/HDAC4/Sp1/Sp4/BDNF 轴来调节 MeHg 诱导的神经细胞死亡^[23]。在宫颈癌中,观察到 lncRNA HOTAIR 抑制后的迁移和侵袭的表型效应,至少部分是通过抑制 Hela 细胞 miR206 表达来调节 MKL1^[24]。在肺鳞状细胞癌中,miR206 通过下调 MET 和 EGFR 的 mRNA 和蛋白水平来抑制 EBC-1 细胞增殖、迁移和侵袭,另外,ERK1/2 和 AKT 信号转导的磷酸化被癌细胞中的 miR-206 恢复所抑制^[25]。

在动物实验方面,关于 miR-206 的研究主要集中于 miR-206 经由 TGF- β 1/Smad3 信号通路影响卫星细胞的增殖和分化来抵抗骨骼肌萎缩^[26],miR-206 通过靶向 Notch3 基因来调节骨骼肌细胞的增殖和细胞周期停滞^[27],miR-206 靶向的 AAV 有效地下调了 miR-206 的表达并增加了成熟小鼠肌肉中的内源性治疗基因的表达,且治疗显著改善了小鼠的运动功能和营养不良^[28]。而关于 miR-206 在肿瘤方面的动物模型目前仍较少,这一点可以为将来的研究方向作以参考。

尽管已经有了一些认识,但是我们对 miR-206 靶基因功能的认识还只是冰山一角,因为 miRNAs 在不同条件下调控不同细胞的不同靶点发挥不同的

作用,这可能是因为同一 miRNA 能够调控多个靶基因,信号转导通路不同,还可能是因为生物功能的异质性、某种疾病的位置或阶段不同等,从而导致了这种功能上的巨大差异^[29-30]。本研究联合采用 TargetScan、miRDB、DIANA-microCT3 个靶基因预测数据库得到可信度较高的靶基因集合,并对靶基因进行 GO 功能注释和 KEGG 信号转导通路富集分析,并进行关键基因筛选,将有助于对 miR-206 所参与的生物学过程有一个基本的认识,为进一步深入研究其功能奠定了基础。但由于预测靶基因过程中不可避免的存在假阳性率,所以对预测得到的靶基因及其发挥的生物学功能需要进行进一步的实验验证。

【参考文献】

- [1] Zamore PD, Haley B. Ribo-gnome. The Big World of Small RNAs [J]. *Science*, 2005, 309(5740):1519-1524.
- [2] Mo YY. MicroRNA regulatory networks and human disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(21):3529.
- [3] 许德兵,吴凌云,宋 勇. miRNA 与肺癌关系的研究进展 [J]. *东南国防医药*, 2014, 16(1):73-75, 80.
- [4] Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2011, 61(2):69-90.
- [5] Sasako M, Inoue M, Lin JT, *et al.* Gastric Cancer Working Group Report [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2010, 40(Supplement 1):i28-i37.
- [6] Ma G, Wang Y, Li Y, *et al.* MiR-206, a key modulator of skeletal muscle development and disease [J]. *Int J of Bio Sci*, 2015, 11(3):345-352.
- [7] Pan JY, Sun CC, Bi ZY, *et al.* miR-206/133b Cluster: A Weapon against Lung Cancer? [J] *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 8(9):442-449.
- [8] van Rooij E, Quiat D, Johnson BA, *et al.* A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance [J]. *Dev Cell*, 2009, 17(5):662-673.
- [9] Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, *et al.* Non-Small Cell Lung Cancer, Version 5.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(4):504-535.
- [10] Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, *et al.* The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue):D561-D568.
- [11] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11):2498-2504.
- [12] Leung SW, Wilson JR, Shanbhag SM, *et al.* MultiContrast Delayed Enhancement (MCODE) improves detection of subendocardial myocardial infarction by late gadolinium enhancement cardiovascular magnetic resonance: A clinical validation study [J]. *J Cardiovasc Magn Reson*, 2012, 14:83.
- [13] Dong H, Lei J, Ding L, *et al.* MicroRNA: function, detection, and

- bioanalysis[J]. *Chem Rev*, 2013, 113(8) :6207-6233.
- [14] Wu HH, Lin WC, Tsai KW. Advances in molecular biomarkers for gastric cancer; miRNAs as emerging novel cancer markers[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2014, 16; el.
- [15] Beezhold KJ, Castranova V, Chen F. Microprocessor of microRNAs; regulation and potential for therapeutic intervention[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:134.
- [16] 张银玲, 薛 赓, 孙树汉, 等. 应用 RNA-Seq 技术筛选不同浓度叶酸培养的 QSG-7701 细胞中的差异表达基因[J]. *东南国防医药*, 2016, 18(1) :1-5, 16.
- [17] Du C, Li DQ, Li N, *et al.* DDX5 promotes gastric cancer cell proliferation in vitro and in vivo through mTOR signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:42876. doi: 10.1038/srep42876.
- [18] Jiang P, Huang M, Qi W, *et al.* FUBP1 promotes neuroblastoma proliferation via enhancing glycolysis-a new possible marker of malignancy for neuroblastoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1) :400.
- [19] Xie C, Liao H, Zhang C, *et al.* Overexpression and clinical relevance of the RNA helicase DHX15 in hepatocellular carcinoma [J]. *Hum pathol*, 2019, 84:213-220.
- [20] Zhou Y, Wang M, Tong Y, *et al.* miR-206 Promotes Cancer Progression by Targeting Full-Length Neurokinin-1 Receptor in Breast Cancer[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18. doi: 10.1177/1533033819875168.
- [21] Ling S, Ruiqin M, Guohong Z, *et al.* Decreased microRNA-206 and its function in cervical cancer[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2015, 36(6) :716-721.
- [22] Chang Y, Zhang J, Zhou C, *et al.* Long non-coding RNA FOXD2-AS1 plays an oncogenic role in hepatocellular carcinoma by targeting miR206[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(6) :3625-3634.
- [23] Guida N, Valsecchi V, Laudati G, *et al.* The miR206-JunD circuit mediates the neurotoxic effect of methylmercury in cortical neurons[J]. *Toxicol Sci*, 2018, 163(2) :569-578.
- [24] Zheng P, Yin Z, Wu Y, *et al.* LncRNA HOTAIR promotes cell migration and invasion by regulating MKL1 via inhibition miR206 expression in HeLa cells[J]. *Cell Commun and Signal*, 2018, 16(1) :5.
- [25] Mataka H, Seki N, Chiyomaru T, *et al.* Tumor-suppressive microRNA-206 as a dual inhibitor of MET and EGFR oncogenic signaling in lung squamous cell carcinoma[J]. *Int J Oncol*, 2014, 46(3) :1039-1050.
- [26] Huang QK, Qiao HY, Fu MH, *et al.* MiR-206 Attenuates Denervation-Induced Skeletal Muscle Atrophy in Rats Through Regulation of Satellite Cell Differentiation via TGF-beta1, Smad3, and HDAC4 Signaling[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22:1161-1170.
- [27] Zhang Z, Chen Y, Li B, *et al.* Identification of a novel miR-206-Notch3 pathway regulating mouse myoblasts proliferation [J]. *Gene*, 2019, 695:57-64.
- [28] Bulaklak K, Xiao B, Qiao C, *et al.* MicroRNA-206 Downregulation Improves Therapeutic Gene Expression and Motor Function in mdx Mice[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12:283-293.
- [29] 杜 军, 印洪林, 周晓军. microRNAs 在胸腺上皮性肿瘤中的差异表达[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(6) :619-622.
- [30] 聂伟伟, 唐 林, 韦 凤, 等. miR 144/451 基因簇调控网络的生物信息学分析[J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(3) :229-233.
- (收稿日期:2019-08-14; 修回日期:2019-09-27)
(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:吕铨烽)