

· 基础研究 ·

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.12.005

## 基于 miRNA-mRNA 网络筛查并验证胃癌诊断和预后评估相关的标志物及其潜在分子机制

李昶莹, 郭志云(西南交通大学 生命科学与工程学院, 四川 成都 610031)

**[摘要]** **目的:** 通过生物信息学方法探索并实验验证胃癌相关标志物 miR-1-3p 对胃癌细胞增殖的作用及其分子机制。 **方法:** 收集 TCGA 数据库中胃癌 ( $n=375$ ) 及癌旁组织 ( $n=45$ ) 的转录组数据, 构建胃癌特异性 mRNA-miRNA 网络, 筛选潜在的 miRNA 类标志物, 利用 TargetScan 预测标志物的下游靶基因且分析它们的功能。选取人正常胃上皮细胞 GES-1 及胃癌细胞 AGS、MKN45、NCI-N87, 用 qPCR 法检测细胞中 miR-1-3p 和心肌蛋白(MYOCD)的表达, 用 lipofectamine 2000 将 miR-1-3p 模拟物转染至胃癌细胞中, CCK-8 法测定转染后细胞的增殖能力, WB 法测定 MYOCD 的表达量, 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-1-3p 与 MYOCD 之间的靶向结合关系。 **结果:** 通过数据库数据分析得到差异表达的 259 个 miRNA 和 7 545 个 mRNA, 构建胃癌特异性 mRNA-miRNA 调节网络, 分析网络中脆弱结构后确定 miR-1-3p 为潜在的胃癌标志物, ROC 曲线和 Kaplan-Meier 分析显示其对胃癌的诊断和预后评估有重要意义。细胞实验显示 miR-1-3p 在胃癌细胞中呈低表达 ( $P<0.05$ ), 过表达 miR-1-3p 可抑制胃癌细胞 AGS 和 MKN-45 的增殖能力 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 且可抑制 MYOCD 的表达 ( $P<0.01$ )。TargetScan 数据库预测到 MYOCD 的 3'UTR 区域中有两个与 miR-1-3p 结合的位点, 双荧光素酶报告基因实验证实 miR-1-3p 与 MYOCD 靶向结合且负调控 MYOCD 的表达 ( $P<0.01$ )。 **结论:** miR-1-3p 可能是胃癌诊断和预后相关潜在的标志物, 且 miR-1-3p 可能是通过靶向 MYOCD 来影响胃癌细胞的增殖。

**[关键词]** 胃癌; miR-1-3p; 心肌蛋白; 诊断; 预后; 生物标志物

**[中图分类号]** R735.2; R730.4; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)12-1094-07

## Screening and validation of markers related to diagnosis and prognosis assessment of gastric cancer based on miRNA-mRNA network and their potential molecular mechanisms

LI Changying, GUO Zhiyun (School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610000, Sichuan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the role of miR-1-3p, a gastric cancer-related biomarker, on gastric cancer cell proliferation and its mechanism by bioinformatics approach. **Methods:** Transcriptomic data from gastric cancer ( $n=375$ ) and paraneoplastic tissues ( $n=45$ ) in the TCGA database were collected to construct a gastric cancer-specific mRNA-miRNA network, screen potential miRNA-like markers, predict the downstream target genes of the markers and analyze their functions using TargetScan. Human normal gastric epithelial cell and gastric cancer cell lines have been selected, and their miR-1-3p and myocardin (MYOCD) expression was detected by qPCR. The miR-1-3p mimics were transfected into GES-1, AGS, and MKN45 cells using lipofectamine 2000. The proliferation ability of the cells was determined by CCK-8 assay, the expression of MYOCD was measured by WB assay, and the targeting relationship between miR-1-3p and MYOCD was verified by dual luciferase reporter assay. **Results:** Differentially expressed 259 miRNAs and 7 545 mRNAs were obtained by database data analysis to construct a regulatory network of gastric cancer-specific mRNA-miRNAs. Analysis of vulnerability structure in the network identified miR-1-3p as a potential gastric cancer marker, and in-depth analysis revealed its significance for the diagnosis and prognostic assessment of gastric cancer, while predicting MYOCD as its downstream target. Cellular assays showed that miR-1-3p was lowly expressed in gastric cancer cells ( $P<0.05$ ); overexpression of miR-1-3p inhibited the proliferation ability of AGS and MKN-45 in gastric cancer cells ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); and inhibited the expression of MYOCD ( $P<0.01$ ); miR-1-3p was predicted to be associated with two binding sites in the 3'UTR region by the TargetScan database, and dual luciferase reporter assays showed that high expression of miR-1-3p at one of the wild-type predicted sites significantly inhibited MYOCD expression ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** miR-1-3p may be a potential diagnostic and prognostic-related marker for gastric cancer, and miR-1-3p may affect gastric cancer by targeting MYOCD.

**[Key words]** gastric cancer; myocardin (MYOCD); miR-1-3p; diagnosis; prognosis; biomarker

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(12): 1094-1110. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.12.005]

**[基金项目]** 四川省科技厅自然科学基金资助项目(No. 2022NSFSC0779); 中央高校基本科研业务费基础培育项目(No. 2682021ZTPY016)

**[作者简介]** 李昶莹(1995—), 女, 硕士生, 主要从事 miRNA 与癌症生物标志物的研究工作, E-mail: changyingli@my.swjtu.edu.cn

**[通信作者]** 郭志云, E-mail: zhiyunguo@swjtu.edu.cn

胃癌仍然是世界癌症热点问题之一,全世界每年都有超过100万的新病例,早期胃癌患者不易被确诊,而晚期胃癌患者接受手术治疗后的5年生存率仅为18%~50%<sup>[1]</sup>。胃镜活检是目前最主要的临床检验方法,但是并不能有效地进行早期筛查,而现有的生物标志物的敏感性和特异性较差,因此寻找胃癌相关的生物标志物和新兴靶标是目前面临的挑战<sup>[2]</sup>。miRNA在调控基因表达、调节细胞周期等不同的生理和病理过程中起着重要作用<sup>[3]</sup>。miR-1是近年来受到关注较多的与肿瘤细胞活动密切相关的miRNA<sup>[4-5]</sup>。在原发性人类肝细胞癌(hepatocellular carcinogenesis, HCC)中,miR-1异常表达可抑制肿瘤细胞增殖并降低克隆形成能力<sup>[6]</sup>。在前列腺癌中,miR-1过表达不仅抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭活性,还抑制嘌呤核苷磷酸化酶(purine nucleoside phosphorylase, PNP)的表达,同时导致生长抑制和部分基因下调,而这些基因刚好调控细胞周期进程、有丝分裂、DNA复制/修复和肌动蛋白动力学<sup>[7-8]</sup>。以上研究结果提示,miR-1可能是恶性肿瘤诊断、治疗及预后预测的潜在生物标志物。但目前少见关于miR-1在胃癌中的表达情况及其影响作用和机制的研究。miRNA具有独立调控基因表达的能力,且某些作为生物标志物的miRNA还能够独立地调控多个基因<sup>[9]</sup>。基于此,有研究人员<sup>[10]</sup>提出了独立调控理论,认为在miRNA生物标志物的筛选识别过程中,miRNA-mRNA网络中存在单线调控的脆弱结构,即存在某个靶基因只受某一个miRNA单独调控的情况。根据该理论,这些结构一旦被破坏,极易对生物系统的稳定性造成影响。本课题组基于独立调控理论构建了胃癌特异性mRNA-miRNA网络,检测胃癌细胞中miR-1-3p的表达情况,揭示其对胃癌细胞增殖的影响,以探索miR-1-3p能否作为胃癌诊治和预后评价的新靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据收集及分析

胃癌转录组数据中的miRNA表达数据(446个胃癌组织和45个癌旁组织)和mRNA表达数据(375个胃癌组织和32个癌旁组织)来源于TCGA数据库(<https://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>),利用R软件DEseq2包针对胃癌miRNA与mRNA转录组数据进行差异性分析。通过miRNA-BD软件对差异的miRNA与mRNA进行配对并利用Cytoscape软件构建胃癌mRNA-miRNA网络图。使用R软件ClusterProfiler包对miR-1-3p的靶基因进行GO、KEGG富集分析。使用miRTarBase、TargetScan [version 7.2]、TarBase [version 8]、StarBase

[version 3.0]和miRPathDB [version 2.0]进行靶基因预测。

### 1.2 细胞培养及转染

人正常胃上皮细胞GES-1和人胃腺癌细胞AGS、MKN45、NCI-N87均购自ATCC。GES-1细胞在含有10%胎牛血清(FBS)的DMEM-HG培养基中培养,AGS细胞在含有10% FBS的F-12K培养基中培养,MKN45和NCI-N87细胞在含有10% FBS的RPMI 1640培养基中培养,所有细胞均在37℃、5% CO<sub>2</sub>的恒温培养箱中培养。所有的培养基、FBS和PBS均购于Gibco公司。用Lipofectamine 2000(购自Invitrogen公司)将miR-1-3p的模拟物转染至GES-1、AGS和MKN45细胞中。miR-1-3p模拟物购自RiboPharm公司(中国广州)。

### 1.3 CCK-8法检测miR-1-3p过表达对胃癌细胞增殖的影响

将转染后的MKN45细胞(2×10<sup>3</sup>个/孔)和AGS细胞(1×10<sup>3</sup>个/孔)接种到96孔板中。分别于24、48、72和96 h后向每个孔中加入10 μL CCK-8液(购自Vazyme公司),然后在37℃、5%CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养4 h。最后,使用酶标仪测量562 nm处的光密度(D)值。

### 1.4 qPCR检测转染后胃癌细胞中miR-1-3p的表达

使用TRIzol试剂(购自Invitrogen公司)裂解细胞并提取总RNA,使用cDNA逆转录试剂盒合成cDNA,根据Power UP STBR Green Master Mix试剂盒(购自Thermo Fisher Scientific公司)说明书操作,使用QuantStudio 3 Real进行PCR扩增。循环条件为95℃ 2 min、95℃ 1.5 min、60℃ 2 min,共45个循环。以U6作为内参,以2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算miR-3p表达量。

### 1.5 WB法检测转染后胃癌细胞中心肌蛋白(myocardin, MYOCD)表达

收集转染后细胞,并利用RIPA裂解缓冲液(购自美仑生物技术有限公司)裂解细胞,收集总蛋白。根据BCA蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度,以12%SDS-PAGE分离蛋白质,将蛋白质条带转移至PVDF膜上后,用5%的脱脂奶粉封闭90 min,加入一抗ERK(1:1 000)、p-ERK(1:2 000)、MYOCD抗体(1:10 000),37℃下恒温放置2 h,加入二抗羊抗兔(1:10 000)、羊抗鼠单抗(1:10 000),37℃下处理2 h后加入ECL发光液显影,以化学发光仪检测各条带的灰色值,最终计算分离蛋白的相对表达量。

### 1.6 双荧光素酶报告基因实验验证miR-1-3p和MYOCD之间的靶向关系

利用pGL3(RiboPharm)质粒载体构建野生型和突变型MYOCD的双荧光素酶报告质粒,分别建立重组质粒:MYOCD-1-WT(野生型)、MYOCD-1-MUT(突变型)、MYOCD-2-WT(野生型)和MYOCD-2-MUT(突变型),

然后转染细胞。转染 48 h 后裂解细胞, 利用双荧光素酶检测系统测量荧光素酶的相对活性。

### 1.7 统计学处理

双荧光素酶报告基因实验数据采用 IBM SPSS 22.0 软件进行统计分析、GraphPad Prism 8.0 软件作图, 其他数据均用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 样本间均数比较采用方差分析或 *t* 检验, 行双侧检验。以  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$  或  $P < 0.001$  表示差异具有统计学意义。

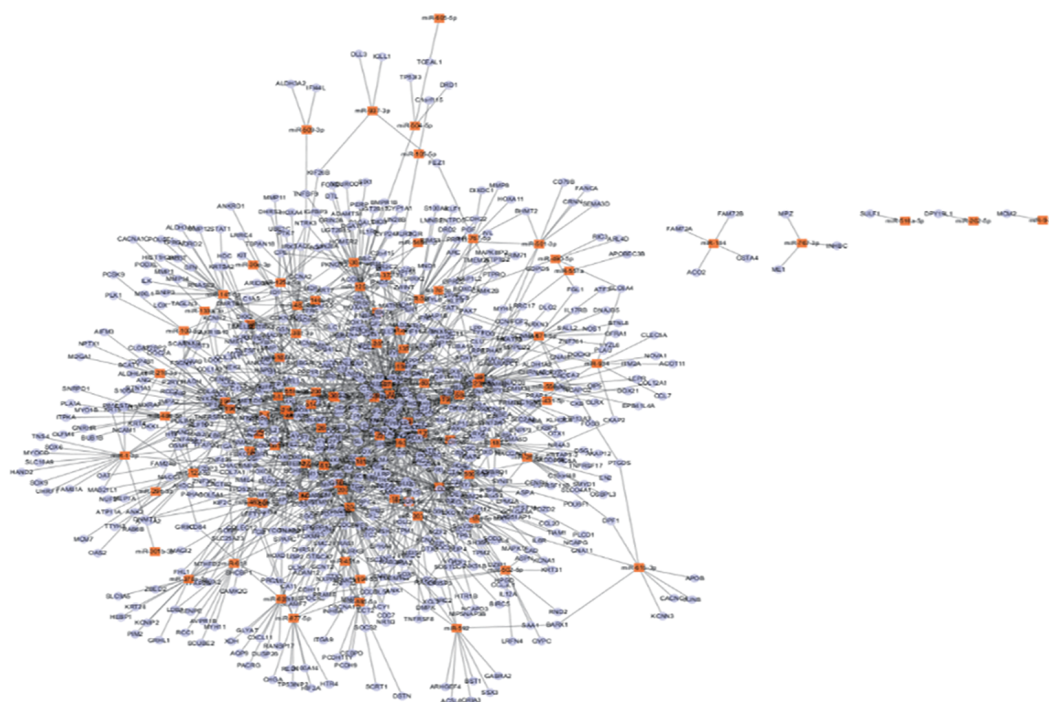
## 2 结果

### 2.1 数据库筛查获 3 种新的胃癌相关标志物

对 TCGA 中胃癌 miRNA 和 mRNA 表达数据进行

差异分析, 得到 259 个差异表达 (differentially expressed, DE)-miRNA 和 7 545 个 DE-mRNA。接着利用 miRNA-BD 分析软件对 DE-miRNA 和 DE-mRNA 进行配对, 构建胃癌特异性的 mRNA-miRNA 调节网络, 如图 1。该网络中包含了 100 个 miRNA、778 个 mRNA 和 1 494 个 miRNA-mRNA 调节对。

基于前期研究结果, 通过 miRNA-BD 模型筛选到 15 种潜在的 miRNAs 标志物, 这 15 个 miRNAs 的单独调控基因数量 (number of single line regulation, NSR) ( $P < 0.05$ ) 和靶向 TF 基因百分比 (TF-gene percentage, TFP) 值 ( $P < 0.05$ ) 较高, 见表 1。



紫色圆点: 靶基因 DE-mRNA; 紫色方点: DE-miRNA

图 1 胃癌特异性 miRNA-mRNA 网络

通过文献检索, 共发现有 12 种 miRNA 为胃癌中发挥功能的潜在标志物, 而 miR-381-3p、miR-1-3p 和 miR-708-5p 等 3 种尚未见相关报道。因此, 接下来对这 3 种 miRNAs 作为胃癌标志物的可行性进行进一步分析。

### 2.2 miR-1-3p 对胃癌诊断和预后测评具有良好价值

为了确定最有意义和价值的 miRNA 作为后续的研究对象, 对上述 3 种 miRNA 进行生存分析和 ROC 曲线分析。结果 (图 2) 表明, 建立的 miR-381-3p、miR-1-3p 和 miR-708-5p 三条 ROC 曲线中, 以 miR-1-3p 的 AUC 最大 ( $AUC > 0.8$ ), 意味着它有良好的诊断价值。利用 Oncology 在线生存分析工具, 对它们进行了 Kaplan-Meier 生存曲线分析, 结果 (图 3) 表明,

miRNA-708-5p 和 miR-1-3p 对胃癌患者生存有显著影响 ( $P < 0.01$ ), 而以 miR-1-3p 对患者预后预测意义更为明显。根据 ROC 曲线以及生存分析结果, 最终选择 miR-1-3p 作为胃癌候选标志物并进行后续研究。

随后, 利用 GO 和 KEGG 富集分析对胃癌中差异表达的 miR-1-3p 靶基因进行分析, 结果显示, miR-1-3p 靶基因显著富集在细胞增殖、细胞结构、发育和分化等生物进程以及各种与细胞结构、细胞周期、Hippo 和 MAPK 通路等有关的调控通路中。上述结果说明, miR-1-3p 的靶基因在肿瘤的发展过程中起着重要的调控作用。

### 2.3 MYOCD 为 miR-1-3p 的下游靶基因

在胃癌特异性 mRNA-miRNA 网络中发现了 19 个 miR-1-3p 的下游靶基因, 其中 11 个靶基因是由 miR-1-3p 与其他 miRNA 共同调控。由于本研究是使用单线调控理论来发现网络中的脆弱结构, 因此仅研究了由 miR-1-3p 单独调控的 8 个靶基因, 即 FAM81A、HAND2、MYOCD、SLC16A9、SOX6、SOX9、TNS4 和 UHRF1。通过文献检索发现, 除 MYOCD 基因外, 其他 7 个基因均已经由相关实验验证, 因此选择 MYOCD 作为 miR-1-3p 靶基因进行后续研究。

### 2.4 miR-1-3p 在胃癌细胞中呈低表达

细胞实验中采用 qPCR 检测 miR-1-3p 在胃癌及人正常胃上皮细胞中的表达水平, 结果(图 4)证实, 与正常胃上皮 GES-1 细胞相比, miR-1-3p 在胃癌细胞 MKN45、NCI-N87、AGS 中均呈显著低表达 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 2.5 过表达 miR-1-3p 可抑制胃癌细胞增殖能力

为验证 miR-1-3p 在胃癌中的作用, 通过 CCK-8 实验检测了过表达 miR-1-3p 对细胞增殖影响, 结果(图 5A、B)显示, 在同一培养周期内, MKN45 和 AGS

细胞转染实验组 (TC) 的增殖水平较阴性对照 (NC) 组均显著减弱 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ )。

表 1 预测胃癌相关 miRNA 生物标志物

miRNA	NSR		TFP	
	数值	P	数值	P
miR-615-3p	4	0.04	0.38	$1.59 \times 10^{-12}$
miR-29c-3p	8	$1.38 \times 10^{-11}$	0.24	0.00
miR-23b-3p	20	$7.89 \times 10^{-30}$	0.26	$6.59 \times 10^{-5}$
miR-490-3p	5	$3.09 \times 10^{-5}$	0.36	$1.57 \times 10^{-11}$
miR-204-5p	21	$3.16 \times 10^{-30}$	0.28	$4.64 \times 10^{-7}$
miR-381-3p	4	0.04	0.28	$1.94 \times 10^{-6}$
miR-1-3p	8	$1.38 \times 10^{-11}$	0.32	$2.84 \times 10^{-9}$
miR-27b-3p	17	$1.94 \times 10^{-28}$	0.29	$2.78 \times 10^{-7}$
miR-326	12	$4.70 \times 10^{-22}$	0.27	$8.25 \times 10^{-6}$
miR-28-5p	4	0.04	0.37	$7.50 \times 10^{-12}$
miR-149-5p	5	$3.09 \times 10^{-5}$	0.27	$2.38 \times 10^{-5}$
miR-125b-5p	16	$6.03 \times 10^{-28}$	0.22	0.05
miR-363-3p	4	0.04	0.45	$2.27 \times 10^{-13}$
miR-30a-5p	5	$3.09 \times 10^{-5}$	0.29	$2.29 \times 10^{-7}$
miR-708-5p	5	$3.09 \times 10^{-5}$	0.26	$2.38 \times 10^{-5}$

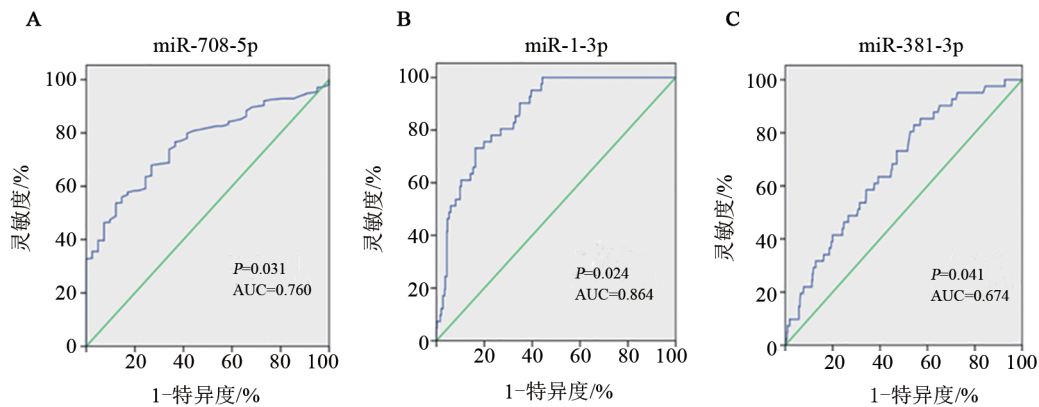


图 2 分析 miR-708-5p(A)、miR-1-3p(B) 和 miR-381-3p(C) 对肺癌诊断价值的 ROC 曲线

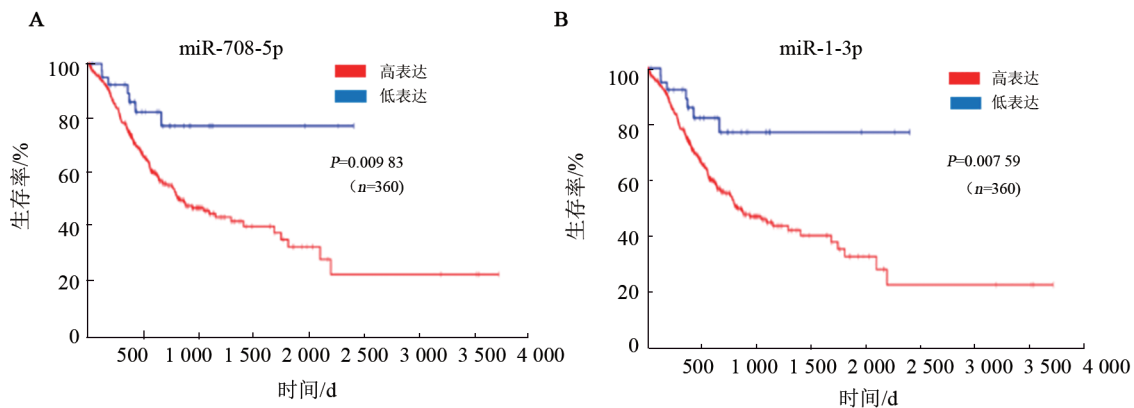
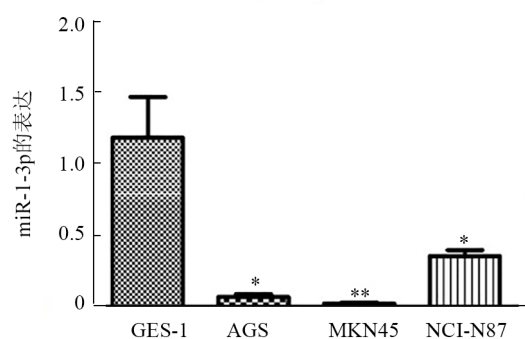


图 3 miR-708-5p(A) 和 miR-1-3p(B) 表达水平与胃癌患者生存率的关系

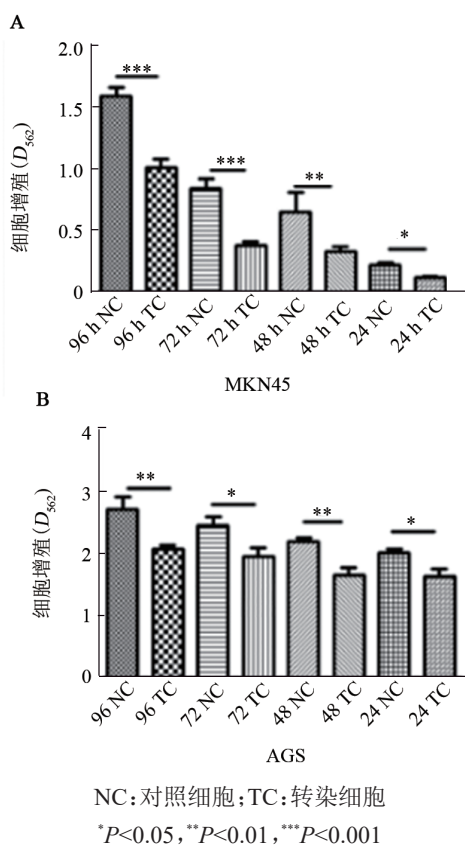


与GES-1细胞相比,\* $P < 0.05$ 、\*\* $P < 0.01$

图4 miR-1-3p在胃癌细胞MKN45、NCI-N87、AGS中呈低表达

### 2.6 过表达miR-1-3p可抑制胃癌细胞中MYOCD的表达水平

为证实MYOCD是否确为miR-1-3p下游靶基因,将miR-1-3p模拟物转染至GES-1、AGS以及MKN45细胞后检测MYOCD表达情况,结果(图6)显示,与未转染组比较,转染各组胃癌细胞MYOCD的表达均显著降低,实验结果表明过表达miR-1-3p可抑制MYOCD的表达。



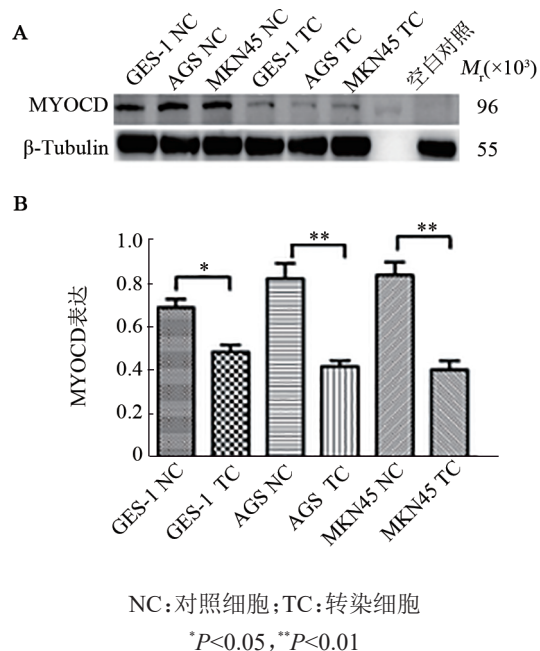
NC:对照细胞;TC:转染细胞

\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$

图5 miR-1-3p过表达对MKN45(A)和AGS(B)细胞增殖的抑制作用

### 2.7 胃癌细胞中miR-1-3靶向结合且负调控MYOCD通过TargetScan数据库进行结合位点识别预

测,发现MYOCD有两个位点与miR-1-3p相结合(图7A)。双荧光素酶报告基因实验结果显示,对于MYOCD 1号结合位点,WT型质粒与miR-1-3p mimic共转染组细胞MYOCD表达水平明显低于NC组( $P < 0.01$ ),MUT型质粒共转染组细胞MYOCD表达水平与NC组无差异,而且在3种胃癌细胞中均出现相同的结果。结果说明,胃癌细胞中miR-1-3p在1号位点和MYOCD靶向结合且负向调控后者的表达。对于2号结合位点,首先将位点敲除,然后进行与上述相同的操作,结果显示,在三种细胞中,无论WT型还是MUT型质粒,共转染组和NC组细胞中MYOCD的表达均无明显差异,结果反向证实了结合位点在两者靶向结合的关键作用。



NC:对照细胞;TC:转染细胞

\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

图6 过表达miR-1-3p抑制胃上皮细胞和胃癌细胞中MYOCD的表达水平

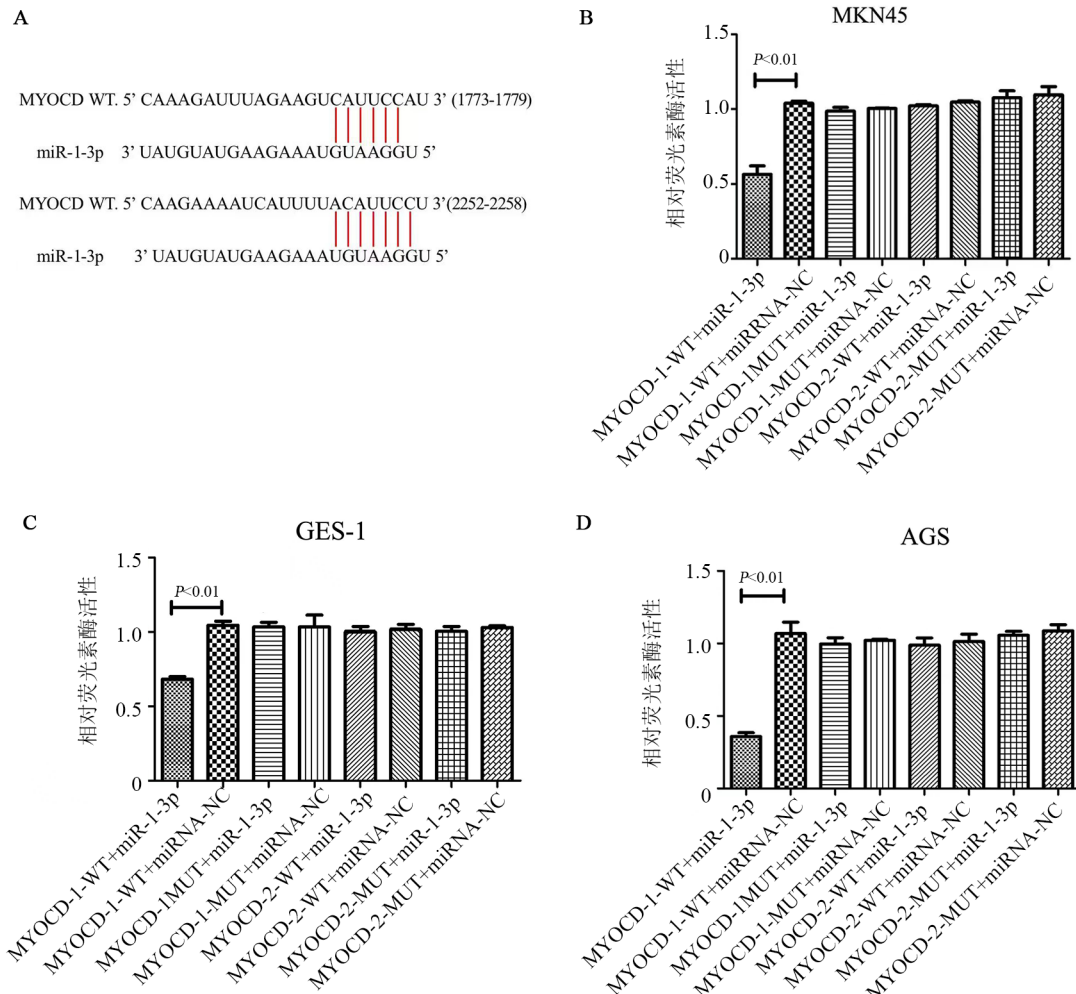
## 3 讨论

胃癌一直是世界癌症热点问题之一,主要病因是幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染、吸烟、食用硝酸盐和亚硝酸盐含量高的饮食。早期胃癌手术治愈率可达60%~80%,但早期胃癌患者不易被确诊。目前随着生物分子学和生物信息学的快速发展,分子靶向治疗为胃癌患者提供了新的治疗方向<sup>[11-13]</sup>。

到目前为止,越来越多的研究集中于癌症中miR-1-3p的表达水平<sup>[14-15]</sup>。例如,miR-1-3p表达水平的抑制可诱导非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[16]</sup>。miR-1-3p通过调节SRY-box9抑制肝癌细胞的增殖<sup>[17]</sup>。在胃癌中,miR-1-3p负调节STC2的表达,从而抑制细胞增殖和侵袭<sup>[18]</sup>。MYOCD在癌症中的表

现是多样的。有的研究<sup>[19]</sup>表明,MYOCD在某些肿瘤发生发展过程中,表现出明显的抑制特性和负向调控机制,可能是抑癌基因。然而有研究<sup>[20]</sup>表明,在腹膜后平滑肌肉瘤(一种侵袭性很强的高分化肿瘤)的

组织当中,MYOCD基因高度扩增和过度表达。这些肿瘤与MYOCD表达之间是具有关键性联系,但仍需要进一步的研究来证实。



A: 数据库预测 miR-1-3p 与 MYOCD 的结合位点; B-D: 双荧光素酶报告基因实验验证 MKN45、GES-1 和 AGS 细胞中 miR-1-3p 与 MYOCD 的靶向结合

MYOCD-1-WT 和 MYOCD-1-MUT 表示一号位点的野生型和突变型;

MYOCD-2-WT 和 MYOCD-2-MUT 表示二号位点的野生型和突变型

图7 双荧光素酶报告基因检测 MYOCD 与 miR-1-3p 的关系

本研究中通过生物信息学分析技术对胃癌转录组数据库进行分析,构建了胃癌 mRNA-miRNA 特异性网络。利用文献分析,对具有潜在可能的 miRNA 进行筛选,确定了有潜在生物标志物可能的 miR-1-3p 为研究对象,并通过 ROC 曲线和生存预后分析判断其功能意义。为了证明 miR-1-3p 及 MYOCD 在胃癌发生发展中的作用和确定 MYOCD 是否确实为 miR-1-3p 的下游靶基因,进一步进行了实验验证。在胃癌患者中,miR-1-3p 的表达量显著降低,且 miR-1-3p 过表达会抑制胃上皮及胃癌细胞的增殖能力,同时 MYOCD 表达量则显著下降。为进一步证实

miR-1-3p 的表达量下调与 MYOCD 表达量上调之间的关系,根据 Targetscan 软件筛查到可以与 miR-1-3p 结合的 MYOCD 3'UTR 区域的 2 个结合位点。双荧光素酶报告基因实验发现,MYOCD-1-WT 组中,miR-1-3p 过表达细胞中荧光值显著降低,而 MYOCD-1-MUT 组荧光值无明显变化,验证了 miR-1-3p 能够靶向结合胃上皮(GES-1)及胃癌细胞(MKN-45、AGS)中 MYOCD 基因。

综上所述,本研究从独立调控 miRNA 方面分析胃癌的潜在生物标志物。并且有针对性地进行实验分析,为探索新的生物标志物提供了新的思路。生

物标志物的选择必须有一定的特异性,并且具有足够的灵敏度,才能用于疾病的早期诊断及防治。因此要识别真正的生物标志物还需要在其他类型肿瘤中进行实验及临床验证。尽管通过 miRNA-BD 模型利用网络中的脆弱结构能够寻找生物标志物,然而人类的生物系统是复杂多变的,不同的基因在不同的生物学进程中发挥的功能并不相同,重要性也有所区别。同时模型中建立的 mRNA-miRNA 网络中仅包含了部分 miRNA,并不能保证覆盖了所有可能的 miRNA。因此在接下来的研究中,会致力于挖掘 miRNA 与 MYOCD 在胃癌中的具体作用机制,以及收集更多的胃癌相关 miRNA 数据,以深入探索 miR-1-3p 作为胃癌诊断和预后相关标志物的更详尽的分子机制。

### [参考文献]

- [1] EOM S S, CHOI W, EOM B W, *et al.* A comprehensive and comparative review of global gastric cancer treatment guidelines[J]. *J Gastric Cancer*, 2022, 22(1): 3-23. DOI:10.5230/jgc.2022.22.e10.
- [2] SEXTON R E, AL HALLAK M N, DIAB M, *et al.* Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2020, 39(4): 1179-1203. DOI:10.1007/s10555-020-09925-3.
- [3] ROJAS-PIRELA M, ANDRADE-ALVIÁREZ D, MEDINA L, *et al.* microRNAs: master regulators in host-parasitic protist interactions [J/OL]. *Open Biol*, 2022, 12(6): 210395 [2022-06-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35702995/>. DOI:10.1098/rsob.210395.
- [4] DATTA J, KUTAY H, NASSER M W, *et al.* Methylation mediated silencing of microRNA-1 gene and its role in hepatocellular carcinogenesis[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5049-5058. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6655.
- [5] KOJIMA S, CHIYOMARU T, KAWAKAMI K, *et al.* Tumour suppressors miR-1 and miR-133a target the oncogenic function of purine nucleoside phosphorylase (PNP) in prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(2): 405-413. DOI:10.1038/bjc.2011.462.
- [6] DATTA J, KUTAY H, NASSER M W, *et al.* Methylation mediated silencing of microRNA-1 gene and its role in hepatocellular carcinogenesis[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(13): 5049-5058. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6655.
- [7] KOJIMA S, CHIYOMARU T, KAWAKAMI K, *et al.* Tumour suppressors miR-1 and miR-133a target the oncogenic function of purine nucleoside phosphorylase (PNP) in prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(2): 405-413. DOI:10.1038/bjc.2011.462.
- [8] HUDSON R S, YI M, ESPOSITO D, *et al.* microRNA-1 is a candidate tumor suppressor and prognostic marker in human prostate cancer[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(8): 3689-3703. DOI:10.1093/nar/gkr1222.
- [9] LIN Y X, WU W T, SUN Z D, *et al.* MiRNA-BD: an evidence-based bioinformatics model and software tool for microRNA biomarker discovery[J]. *RNA Biol*, 2018, 15(8): 1093-1105. DOI: 10.1080/15476286.2018.1502590.
- [10] ZHANG W Y, ZANG J, JING X H, *et al.* Identification of candidate miRNA biomarkers from miRNA regulatory network with application to prostate cancer[J/OL]. *J Transl Med*, 2014, 12: 66 [2022-06-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24618011/>. DOI: 10.1186/1479-5876-12-66.
- [11] LUAN X Y, NIU P H, WANG W Q, *et al.* Sex disparity in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. *J Oncol*, 2022, 2022: 1269435 [2022-06-26]. <http://dx.doi.org/10.1155/2022/1269435>. DOI:10.1155/2022/1269435.
- [12] LORDICK F, CARNEIRO F, CASCINU S, *et al.* Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Ann Oncol*. 2022, 33(10): 1005-1020. DOI:10.1016/j.annonc.2022.07.004
- [13] DENG Y L, DING X W, SONG Q Y, *et al.* Alterations in mucosa-associated microbiota in the stomach of patients with gastric cancer [J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2021, 44(3): 701-714. DOI: 10.1007/s13402-021-00596-y.
- [14] LEHMUSVAARA S, HAIKARAINEN T, SAARIKETTU J, *et al.* Inhibition of RNA binding in SND1 increases the levels of miR-1-3p and sensitizes cancer cells to navitoclax[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(13): 3100 [2022-06-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35804872/>. DOI:10.3390/cancers14133100.
- [15] FU Y J, LIU H Q, LONG M S, *et al.* Icarin attenuates the tumor growth by targeting miR-1-3p/TNKS2/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling axis in ovarian cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 940926[2022-06-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36185280/>. DOI: 10.3389/fonc.2022.940926.
- [16] WANG Y, LUO X G, LIU Y, *et al.* Long noncoding RNA RMRP promotes proliferation and invasion via targeting miR-1-3p in non-small-cell lung cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15170-15181. DOI:10.1002/jcb.28779.
- [17] ZHANG H, ZHANG Z Y, GAO L L, *et al.* miR-1-3p suppresses proliferation of hepatocellular carcinoma through targeting SOX9 [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 2149-2157. DOI: 10.2147/OTT.S197326.
- [18] KE J, ZHANG B H, LI Y Y, *et al.* miR-1-3p suppresses cell proliferation and invasion and targets STC2 in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(20): 8870-8877. DOI:10.26355/eurev\_201910\_19282.
- [19] SHATS I, MILYAVSKY M, CHOLOSTOY A, *et al.* Myocardin in tumor suppression and myofibroblast differentiation[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(10): 1141-1146. DOI:10.4161/cc.6.10.4251.
- [20] AGARAM N P, ZHANG L, LEOARER F, *et al.* Targeted exome sequencing profiles genetic alterations in leiomyosarcoma[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2016, 55(2): 124-130. DOI: 10.1002/gcc.22318.

[收稿日期] 2022-06-26

[修回日期] 2022-12-15

[本文编辑] 黄静怡,沈志超