

论著·实验研究

microRNA-296-5p 靶基因的预测及在肺发育中的应用

张颖慧 杨洋 张存 孙祎璠 朱雯 马程玲 周晓玉

(南京医科大学附属儿童医院新生儿科, 江苏南京 210008)

[摘要] **目的** 对 rno-microRNA-296-5p (miR-296) 靶基因预测并进行相关生物信息学分析, 为深入研究 miR-296 与胎肺发育相关的生物学功能提供理论依据。**方法** 应用 PubMed、Google 等信息搜索工具检索 miR-296 的现有研究, 并通过 miRBase 获取其序列特征以及进化的保守性; 利用 TargetScan 数据库进行 miR-296 的靶基因预测; 并利用 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 数据库对靶基因进行功能富集分析; 利用 KEGG 数据库对靶基因进行信号转导通路分析。**结果** 已有的文献表明 miR-296 在许多生物学过程中发挥重要作用, 序列在多物种间高度保守。miR-296 调控的靶基因参与分子功能、细胞组分和生物学过程等方面, 靶基因集合的信号转导通路显著富集于 MAPK 信号通路、Wnt 信号通路、TGF- β 信号通路等 (均 $P < 0.05$)。**结论** 通过对 miR-296 靶基因的生物信息学分析, 为研究 miR-296 在肺发育中的作用提供了功能与机制的线索。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(12): 1302-1307]

[关键词] microRNA-296; 靶基因; 生物信息学; 肺发育

Prediction of microRNA-296-5p target genes and its application in lung development

ZHANG Ying-Hui, YANG Yang, ZHANG Cun, SUN Yi-Fan, ZHU Wen, MA Cheng-Ling, ZHOU Xiao-Yu. Department of Neonatology, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China (Zhou X-Y, Email: xyzhou161@163.com)

Abstract: Objective To predict the target genes of rno-microRNA-296-5p (miR-296) using bioinformatics software and databases, and to provide a theoretical basis for further studies of biological effects of miR-296 in fetal lung development. **Methods** PubMed and Google were used to search for all reported literature on miR-296. The miRBase database was used to determine the sequence and evolutionary conservatism of miR-296. The TargetScans database was used to predict the target genes of miR-296. The DAVID Bioinformatics Resources 6.8 database was used for the functional enrichment analysis of the target genes. The KEGG database was used to analyze the signaling pathways of target genes. **Results** miR-296 was reported to play important roles in many biological processes and have a high degree of sequence conservation among species. The target genes of miR-296 were involved in biological processes, cell components, and molecular function. Those target genes were significantly enriched in the mitogen-activated protein kinase signaling pathway, Wnt signaling pathway, and transforming growth factor- β signaling pathway ($P < 0.05$). **Conclusions** The bioinformatics analysis of the target genes of miR-296 provides a basis for studying biological effects and mechanism of action of miR-296 in lung development. [Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(12): 1302-1307]

Key words: microRNA-296; Target gene; Bioinformatics; Lung development

随着围产医学及新生儿重症监护技术的发展, 早产儿、低出生体重儿的存活率明显增高, 导致支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia,

BPD)、肺动静脉畸形、新生儿呼吸窘迫综合征 (neonatal respiratory distress syndrome, NRDS) 等肺发育相关疾病的发病率显著增高。然而, 肺发育

[收稿日期] 2016-07-26; [接受日期] 2016-09-26

[基金项目] 国家自然科学基金 (81270725)。

[作者简介] 张颖慧, 女, 硕士。

[通信作者] 周晓玉, 女, 主任医师, 教授。

在胚胎发育中是一个高度复杂的过程，起源于原始前肠腹侧内胚层，涉及细胞周期、黏附、迁移和血管发生。肺发育除了受多种物理及化学因素影响外，转录因子、生长因子和其他信号分子可以通过旁分泌和自分泌调节机制调节上皮和间充质细胞的分化^[1]。而 microRNAs (miRNAs) 作为一类基因转录后调控其水平表达的非编码 RNA，可以通过直接降解靶基因或者抑制其翻译来沉默靶基因^[2]，发挥其生物学作用。尽管越来越多的研究表明 miRNAs 广泛地参与了包括器官发育在内的多种生物学过程，但是随着对肺发育机制理解的加深，更多与肺发育相关且有意义的 miRNAs 尚待发现和研究，如 rno-microRNA-296-5p (miR-296)。在本研究中，我们首先引用前期研究结果，即采用 miRCURY™ LNA 核酸锁芯片 (v.16.0) 技术，筛选出差异表达最明显的 miR-296 并已经通过 Real-Time PCR 验证^[3]。然后，阐述已有文献报道的 miR-296 参与的生物学过程及功能。通过生物信息学分析 miR-296 序列的保守性，并预测 miR-296 的靶基因，对其靶基因进行功能富集分析、信号转导通路富集分析，为深入研究 miR-296 在肺发育中的生物学功能及调控机制提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 miR-296 的基本生物学信息

选择 PubMed、Google 等信息搜索工具综述 miR-296 已有文献报道的功能研究；选择 miRBase (<http://www.mirbase.org/>) 查找 miRNA 序列，分析 miR-296 的序列保守性。

1.2 miR-296 的靶基因预测及靶基因的 Gene Ontology 分析

应用 TargetScan6.2 (<http://www.targetscan.org/>)、PicTar (<http://www.pictar.org/>) 及 miRanda (<http://www.microrna.org/>) 三大靶基因预测软件，对 miR-296 进行靶基因预测，用于后续的基因注释和通路富集分析。预测的靶基因应用 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov/>) 中的 Gene Ontology 数据库，对 miR-

296 的靶基因集合进行功能富集分析，此数据库包含靶基因的生物学过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞组分 (cellular component, CC) 分析以及显著性分析，以 $P < 0.05$ 为显著性阈值，分别得到具有统计学意义的高频率注释。

1.3 靶基因的信号转导通路分析

利用 KEGG 数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/>) 中 Pathway 子数据库对 miR-296 的靶基因进行信号转导通路富集分析，通过 Fisher Exact Test 计算 P 值，以 $P < 0.05$ 代表靶基因集合相对于背景具有统计学意义的信号转导及疾病通路。

2 结果

2.1 已有文献证实的 miR-296 参与的生物学过程

截至 2016 年 6 月 1 日，以 miR-296 为检索关键词，在 PubMed、Google 等检索工具上进行搜索，发现有 100 篇文献，涉及具体功能报道约 25 篇。miR-296 主要参与肿瘤、感染免疫调节、细胞分化、血管发生等生物学过程。miR-296 参与多种类型肿瘤的调节，如肺癌、生殖道肿瘤、神经胶质瘤等。文献表明，miR-296 通过直接靶向 PLK1 抑制非小细胞肺癌细胞的生存力^[4]；通过下调 miR-296/S100A4 轴诱导人卵巢癌上皮-间质转化增加肿瘤的侵袭力^[5]；miR-296 和 CYR61/CCN1 通过 YAP 的依赖性表达 NF2 控制胶质母细胞瘤的侵袭力^[6]；在抗感染免疫调节方面，miR-296 通过靶向病毒基因组抑制肠道病毒 71 的复制^[7]；在细胞分化方面，miR-296 通过靶向 PUMA 调控脂肪细胞分化凋亡^[8]；在血管发生方面，miR-296 通过上调 VEGF 和下调 Notch1 促进血管的发生^[9]。由此可见，miR-296 具有重要的生物学作用，参与多种生物学过程。

2.2 miR-296 保守性分析

经 miRBase 分别检索人、小鼠、大鼠、猕猴、猩猩等成熟 microRNA 序列，可见 miR-296 的序列“agggeccccccucaauccugu”具有高度的保守性，提示其在生物体内可能具有重要的生物学功能。见表 1。

表 1 miR-296 保守性分析

序列号	物种	名称	序列
MIMAT0000690	人	hsa-miR-296	14-aggggccccccucaauccugu-34
MIMAT0000374	小鼠	mmu-miR-296	13-aggggccccccucaauccugu-33
MIMAT0000898	大鼠	rno-miR-296	13-aggggccccccucaauccugu-33
MIMAT0006251	猕猴	mml-miR-296	14-aggggccccccucaauccugu-34
MIMAT0015809	猩猩	ppy-miR-296	14-aggggccccccucaauccugu-34

2.3 miR-296 的靶基因预测

用 miRNA 靶标基因数据库进行靶基因预测, 靶基因有 1018 个, 取 PicTar (129 个) 和 TargetScan (196 个) 的交集, 只发现靶基因 24 个, 并且通过实验验证靶标的集合数更少, 不能用于数据的统计分析。因此, 我们选取种属特异性更高的 TargetScan 数据库的靶基因集合, 预测的结果显示 miR-296 调控的部分靶基因如表 2 所示。在分子功能方面, 主要包括转录因子活性、蛋白结合、DNA 结合等方面; 在细胞组分方面, 靶基因主要分布在细胞核、细胞与细胞的连接等细胞组分上; 在生物学过程方面, miR-296 调控的靶基因生物学功能主要包括多个细胞器官发育、中胚层的形成、转录调控过程、BMP 信号传导途径的正调节等生物学过程。见表 3~5。

表 2 miR-296 的部分靶标基因

基因 ID	基因名称	基因 ID	基因名称
287989	EPHB3	360779	LRCH4
313173	CNTFR	116689	PTPN6
313633	EPHB2	59086	TGFβ1
304530	TAOK3	315713	PML
84046	SOX11	81507	BMPR1A
307376	ONECUT2	310399	NAA15
399489	E2F1	316519	SLC11A1
309179	PPP2R5B	116490	SNAI1
501099	SRF	83466	CELSR3
689988	SOX12	315196	WNT7B

表 3 miR-296 调控的靶基因分子功能

GO 号	分子功能	P 值	基因数及百分数 [n(%)]	所含基因
0001077	转录激活活性, RNA 聚合酶 II 近核心启动子区的特异性结合序列	<0.001	10(1.8)	Meis3, Sox11, Sox12, Foxl2, Nfic, Onecut2, Pax5, Preb, Srf, Zbtb7b
0005515	蛋白结合	0.0025	61(10.8)	Bel2l2, Ctdsp1, E2f1, Efh2, Ephb2, Git2, Gatad2b, Gifyf1, Lime1, Naa15, 等
0003700	转录因子活性, 序列特异性 DNA 结合	0.0085	17(3.0)	E2f1, Gatad2b, Sox11, Atf6b, Cdx1, Chfa2t3, Foxl2, Hoxa6, Hoxb6, Nfic, Onecut2, Pax5, Preb, Srf, Zbtb7b, Zfp219, Zfp516
0003677	DNA 结合	0.0088	28(5.0)	Chtf8, E2f1, Meis3, Sox11, Sox12, Atf6b, Cdx1, Cenpb, Emx1, Foxl2, 等
0000978	RNA 聚合酶 II 近核心启动子区的特异性 DNA 结合序列	0.021	9(1.6)	Gatad2b, Foxl2, Nfic, Nacc2, Onecut2, Pax5, Srf, Zbtb7b, Zfp219
0043565	特异性 DNA 结合序列	0.033	12(2.1)	E2f1, Gatad2b, Meis3, Atf6b, Cdx1, Emx1, Foxl2, Hoxa6, Hoxb6, Srf, Snai1, Zfp219
0031625	结合泛素连接酶	0.038	7(1.2)	Traf4, Arrb1, Dlg3, H13, Kdm4a, Pml, Prkaca
0042803	同源二聚体蛋白活性	0.040	14(2.5)	Bel2l2, Adarb1, Bmpr1a, Cadm3, Cdsn, Eng, H13, Nacc2, Pml, Stk25, Srf, Slc11a1, Tgfβ1, Zbtb7b
0046975	组蛋白甲基转移酶活性 (H3-K36 特异性的)	0.048	2(0.4)	Setd2, Nsd1
0043531	ADP 结合	0.049	3(0.5)	Cyb5r3, Myo18a, Ppp5c

表 4 miR-296 调控的靶基因细胞组分

GO 号	细胞组分	P 值	基因数及百分数 [n(%)]	所含基因
0005634	细胞核	0.017	69(12.3)	Ctdsp1, Chtf8, Dennd4b, Dnajb1, E2f1, Gatad2b, 等
0005911	细胞间连接	0.029	6(1.1)	Wasf2, Cadm3, Dlg3, Fscn1, Ptpn6, Pcdh1

表 5 miR-296 调控的靶基因生物学过程

GO 号	生物学过程	P 值	基因数及百分数 [n(%)]	所含基因
0007275	多细胞生物的发育	<0.001	23(4.1)	Ephb2, Ephb3, Naa15, Sox11, Traf4, Celsr1, Celsr3, Cdx1, 等
0006355	DNA 为模板, 转录调控	<0.001	36(6.4)	E2f1, Gatad2b, Naa15, Setd2, Sox11, Sox12, Atf6b, Arrb1, 等
0045892	DNA 为模板, 转录负调控	<0.001	13(2.3)	E2f1, Bahd1, Cbfa2t3, Foxl2, Lrch4, Kdm4a, Nfic, Nacc2, Pml, Rsf1, Snai1, Tgfb1, Zfp219
0006351	DNA 为模板, 转录	0.003	31(5.5)	E2f1, Gatad2b, Naa15, Setd2, Sox11, Sox12, Atf6b, Arrb1, 等
0001707	中胚层形成	0.004	4(0.7)	Bmpr1a, Prkaca, Srf, Snai1
0030513	BMP 信号传导途径的正调节	0.005	4(0.7)	Fkbp8, Sox11, Eng, Rnf165
0009952	身体前部 / 后部发育谱式的决定	0.005	6(1.1)	Bmpr1a, Celsr1, Cdx1, Hoxa6, Hoxb6, Hipk1
0045893	DNA 为模板, 转录正调控	0.009	13(2.3)	E2f1, Naa15, Sox11, Atxn7l3, Bmpr1a, Dyrk1b, Nsd1, Pax5, Rsf1, Srf, Snai1, Tgfb1, Zfp516
0000122	RNA 聚合酶 II 启动子的转录负调控	0.010	15(2.7)	E2f1, Gatad2b, Sox11, Cbx6, Cbfa2t3, Eng, Foxl2, Hipk1, Nfic, Nsd1, Pax5, Snai1, Tgfb1, Zbtb42, Zfp219
0007413	轴突树的形成	0.010	3(0.5)	Ephb2, Ephb3, Celsr3
0016477	细胞迁移	0.012	7(1.2)	Ephb3, Eng, Fscn1, Myo18a, Snai1, Specc1l, Tgfb1
0045944	RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控	0.014	18(3.2)	E2f1, Sox11, Sox12, Arrb1, Bmpr1a, 等
0035855	巨核细胞发育	0.015	3(0.5)	Wasf2, Ptpn6, Srf
0050768	神经发育的负调控	0.015	3(0.5)	Ctdsp1, Bmpr1a, Wnt7b
0008630	DNA 损伤的内源凋亡信号通路	0.016	4(0.7)	Bcl2l2, E2f1, Pgap2, Pml
0001932	蛋白磷酸化的调节	0.018	4(0.7)	Celsr3, Pml, Ppp2r5b, Sesn2
0001525	血管生成	0.022	7(1.2)	Ephb2, Ephb3, Naa15, Setd2, Wasf2, Eng, Wnt7b
0010628	基因表达的正调控	0.022	9(1.6)	E2f1, Sox11, Cyp26b1, Eng, Kdm4a, Slc11a1, Tgfb1, Wnt7b, Zbtb7b
0060425	肺形成	0.023	3(0.5)	Sox11, Srf, Wnt7b
0071158	细胞周期阻滞的正调控	0.023	3(0.5)	Prkaca, Ppp2r5b, Tgfb1
0048146	成纤维细胞增殖的正调控	0.025	4(0.7)	E2f1, Fbrs, Pml, Tgfb1
0051491	丝状伪足组装的正调控	0.027	3(0.5)	Arap1, Fscn1, Srf
0042060	伤口愈合	0.027	4(0.7)	Celsr1, Eng, Slc11a1, Tgfb1
0006468	蛋白磷酸化	0.029	12(2.1)	Aak1, Ephb2, Ephb3, Speg, Taok3, Bmpr1a, Dyrk1b, Hipk1, Ksr1, Prkaca, Stk25, Tgfb1
0060538	骨骼肌发育	0.029	2(0.4)	Cntfr, Large
0006366	RNA 聚合酶 II 启动子的转录	0.031	7(1.2)	Arrb1, Cdx1, Onecut2, Preb, Srf, Zfp219, Zfp516
0045165	细胞命运决定	0.034	4(0.7)	Sox12, Onecut2, Pml, Wnt7b
0042771	p53 参与的 DNA 损伤的内源凋亡信号通路	0.035	3(0.5)	Hipk1, Pgap2, Pml
0010452	组蛋白 H3-K36 甲基化	0.039	2(0.4)	Setd2, Nsd1
0022009	中枢神经系统血管的形成	0.039	2(0.4)	Eng, Wnt7b
0048568	胚胎器官发育	0.039	3(0.5)	Setd2, Bmpr1a, Wnt7b
0030900	前脑发育	0.040	4(0.7)	E2f1, Setd2, Numbl, Srf
0060021	腭发育	0.045	4(0.7)	Ephb2, Ephb3, Bmpr1a, Snai1
0001933	蛋白质磷酸化的负调控	0.048	4(0.7)	Ctdsp1, Arrb1, Ppp5c, Tgfb1

2.4 信号转导通路富集分析

信号转导通路富集分析结果显示：miR-296 靶基因集合的信号转导通路显著富集于 MAPK 信号通路，在 HTLV-I 感染中涉及复杂的信号通路网络，

包含 Wnt 信号通路、TGF- β 信号通路、P53 信号通路、T 细胞受体信号通路等，扩张型心肌病相关信号通路中也包含 TGF- β 、Ca²⁺ 等信号通路。见表 6。

表 6 miR-296 调控的靶基因信号通路富集分析

KEGG 信号通路	基因数及百分数 [n(%)]	P 值	所含基因
MAPK 信号通路	7(1.2)	0.019	Taok3, Arrb1, Dusp3, Prkaca, Ppp5c, Srf, Tgf β 1
HTLV-I 感染相关信号通路	7(1.2)	0.029	E2f1, Prkaca, Srf, Tln1, Tgf β 1, Tnfrsf13c, Wnt7b
扩张型心肌病相关信号通路	4(0.7)	0.033	Des, Itga10, Prkaca, Tgf β 1

3 讨论

近年来，miRNA 研究热度居高不下，主要是由于 miRNA 调控至少 30% 的人类基因组^[10]，并通过靶基因的转录后调控，改变靶蛋白的表达水平，最终影响多种生理和病理过程，与生物体发育、细胞增殖、分化和凋亡、肿瘤发生发展、病原体感染以及炎症反应等生物学过程密切相关^[11]。而在肺发育研究领域，对 miRNA 的研究热度也从未消减，如 miRNA 参与调节鼠肺发育晚期的信号通路^[12]；过表达 miR-17-92 可以促进肺上皮祖细胞的增殖并抑制其分化^[13]；miR-127 参与调节胎肺发育^[14]等。而本研究主要研究 miR-296 在胎肺发育中的应用、靶基因预测以及生物信息学分析，为之后深入研究 miR-296 的基本功能，尤其是影响肺发育过程的调节机制及作用提供研究基础。

在本研究中，首先，我们利用课题组前期研究，挑选反映正常大鼠胚胎肺发育后期阶段的 3 个时间点，即胎龄 16 d、胎龄 19 d、胎龄 21 d 的大鼠胎肺组织，使用第 6 代 miRCURY™ LNA 核酸锁芯片 (v.16.0) 技术，包含超过 1891 个捕获探针，涵盖注释在 miRBase 数据库中的所有人类、小鼠和大鼠的 miRNA，以及这些种属中的所有病毒。前期研究发现，在这些差异表达 miRNA 中，S2/S3 (差异倍数 >2.0) 有 40 个下调，37 个上调；S1/S2 (差异倍数 >2.0) 有 42 个下调，30 个上调；S1/S3 (差异倍数 >2.0) 有 50 个下调，48 个上调。前期研究中设立了特定的筛选标准，miRNA 的差异倍数必须满足 S2/S3>2.0 和 S1/S2>2.0 和 S1/S3>4.0，经过筛选，发现 3 个持续下调 (miR-125b-5p, miR-296, miR-93)，2 个持续上调 (miR-

146b, miR-3560) 的 miRNA 符合要求^[3]，并根据 S1/S3 持续表达变化，筛选得到表达差异最明显的 miR-296。

其次，本研究通过检索分析，发现 miR-296 在多个物种中呈序列高度保守性，提示其在生物体内可能具有重要的生物学功能。通过查阅 miR-296 现有的相关文献报导，发现 miR-296 多集中在肺癌方面的研究，对肺发育领域几乎从未提及。但是，miR-296 在人类胚胎干细胞演化而来的上皮细胞内表达显著上调^[15]，并且其通过上调 VEGF 和下调 Notch1 促进血管的发生^[9]。这些均提示 miR-296 可能与胎肺发育的过程密切相关。接下来，本研究利用相关生物信息学软件，进行 miR-296 靶基因预测和生物信息学的研究，发现 miR-296 具有多方面的生物学功能，参与调节多个细胞组织器官的发育、中胚层的形成、转录调控过程、BMP 信号转导途径的正调节等生物学过程，而 BMP 在大多数器官 (如肺、心、脑等) 中表达，对多种细胞 (如间充质细胞、内皮细胞) 的增殖、分化、凋亡具有调控作用^[16]。肺脏起源于胚胎中胚层，在脊椎动物中胚层的发育诱导中，BMP 是重要的背-腹化发育促进因子，胚胎肺发育的关键步骤几乎都受到 BMP 的调控^[17]。因此，以上证据表明 miR-296 可能在调控胎肺血管生成及发育方面起着重要作用。

目前，已有大量的实验证据表明信号转导通路与肺发育密切相关。本文通过对 miR-296 的靶基因进行功能富集分析和信号转导通路富集分析，发现 miR-296 的靶基因主要富集于 MAPK 信号通路，在 HTLV-I 感染中涉及复杂的信号通路网络，包含 Wnt 信号通路、TGF- β 信号通路、P53 信号通路、

T 细胞受体信号通路等, 扩张型心肌病相关信号通路中也包含 TGF- β 、Ca²⁺ 等信号通路。MAPK 信号通路主要调控细胞周期和血管内皮细胞增殖, 参与肺癌等其他癌症的发生, 并且参与新生血管的发生。Wnt 信号通路是调控细胞生长、发育和分化的关键通路之一, Wnt 信号通路在肺发育中发挥重要作用, 如 Wnt 信号通路成分 β -catenin^[18]。研究发现基因敲除 β -catenin 阻断 Wnt 信号通路可阻断肺远端分支形成和终末呼吸道上皮细胞的分化^[19]。但是, miR-296 如何通过作用于 Wnt 信号通路从而影响肺发育的过程仍有待进一步研究。生物信息学分析发现, miR-296 参与的多种生物学过程中, 潜在的靶基因 TGF- β 1 常有涉及, 并且 TGF- β 1 作为 TGF- β 信号通路中的重要成分之一, 可以通过 TGF- β 受体蛋白结合发挥作用^[20], 已有研究表明, TGF- β 1 也可促进细胞外基质成分胶原和纤维连接蛋白的合成从而影响肺发育^[1]。因此, 这些研究与分析结果表明, miR-296 可能通过靶标 TGF- β 1 影响和参与肺发育的过程, 并为后期深入探索 miR-296 的生物功能提供研究方向和线索。

本研究通过对 miR-296 靶基因预测并进行相关生物信息学分析, 发现 miR-296 与肺发育密切相关, 虽然研究数据尚存有不足, 如 miRNA 靶基因数据库的选择, 靶基因存在一定的假阳性率等, 但是为以后 miR-296 与胎肺发育相关的生物学功能及调控机制的研究提供理论依据及实验基础。

[参 考 文 献]

- [1] Cardoso WV, Lü J. Regulation of early lung morphogenesis: questions, facts and controversies[J]. *Development*, 2006, 133(9): 1611-1624.
- [2] Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(11): 4034-4039.
- [3] Yang Y, Kai G, Pu XD, et al. Expression profile of microRNAs in fetal lung development of Sprague-Dawley rats[J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(3): 393-402.
- [4] Xu C, Li S, Chen T, et al. miR-296-5p suppresses cell viability by directly targeting PLK1 in non-small cell lung cancer[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 497-503.
- [5] Yan W, Chen J, Chen Z, et al. Deregulated miR-296/S100A4 axis promotes tumor invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition in human ovarian cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(2): 260-269.
- [6] Lee H, Hwang SJ, Kim HR, et al. Neurofibromatosis 2 (NF2) controls the invasiveness of glioblastoma through YAP-dependent expression of CYR61/CCN1 and miR-296-3p[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1859(4): 599-611.
- [7] Zheng Z, Ke X, Wang M, et al. Human microRNA hsa-miR-296-5p suppresses enterovirus 71 replication by targeting the viral genome[J]. *J Virol*, 2013, 87(10): 5645-5656.
- [8] Cazanave SC, Mott JL, Elmi NA, et al. A role for miR-296 in the regulation of lipopoptosis by targeting PUMA[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(8): 1517-1525.
- [9] Feng J, Huang T, Huang Q, et al. Pro-angiogenic microRNA-296 upregulates vascular endothelial growth factor and downregulates Notch1 following cerebral ischemic injury[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(6): 8141-8147.
- [10] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120(1): 15-20.
- [11] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [12] Mujahid S, Logvinenko T, Volpe MV, et al. miRNA regulated pathways in late stage murine lung development[J]. *BMC Dev Biol*, 2013, 13: 13.
- [13] Lu Y, Thomson JM, Wong HY, et al. Transgenic over-expression of the microRNA miR-17-92 cluster promotes proliferation and inhibits differentiation of lung epithelial progenitor cells[J]. *Dev Biol*, 2007, 310(2): 442-453.
- [14] Bhaskaran M, Wang Y, Zhang H, et al. MicroRNA-127 modulates fetal lung development[J]. *Physiol Genomics*, 2009, 37(3): 268-278.
- [15] Wang L, Su W, Du W, et al. Gene and MicroRNA profiling of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells[J]. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(2): 219-227.
- [16] Ehrlich M, Horbelt D, Marom B, et al. Homomeric and heteromeric complexes among TGF- β and BMP receptors and their roles in signaling[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(9): 1424-1432.
- [17] Warburton D, Bellusci S, De Langhe S, et al. Molecular mechanisms of early lung specification and branching morphogenesis[J]. *Pediatr Res*, 2005, 57(5 Pt 2): 26R-37R.
- [18] Xu B, Chen C, Chen H, et al. Smad1 and its target gene Wif1 coordinate BMP and Wnt signaling activities to regulate fetal lung development[J]. *Development*, 2011, 138(5): 925-935.
- [19] Weng T, Liu L. The role of pleiotrophin and beta-catenin in fetal lung development[J]. *Respir Res*, 2010, 11: 80.
- [20] Halwani R, Al-Muhsen S, Al-Jahdali H, et al. Role of transforming growth factor- β in airway remodeling in asthma[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(2): 127-133.

(本文编辑: 万静)