

miRNA-126* 靶基因预测及其相关信号通路的生物信息学分析

杨洋¹ 阚清¹ 张盼² 张晓群² 周晓光¹ 周晓玉¹

(1. 南京医科大学附属南京儿童医院新生儿科; 2. 南京医科大学儿科研究所, 江苏 南京 210029)

[摘要] **目的** 通过对 miRNA-126* 进行靶基因预测及信号通路生物信息学分析, 以期对 miRNA-126* 靶基因相关实验及其调控肺发育机制的深入研究奠定基础。**方法** 首先利用 microRNA(miRNA) 芯片技术分别检测胎龄 16 d、19 d 和 21 d 胎鼠肺组织中 miRNA-126* 的表达水平, 进而应用 miRGen2.0 数据库通过生物信息学方法预测其可能的靶基因, 然后对其靶基因集合应用 Cytoscape 及其插件 BiNGO 进行功能富集分析(GO-analysis), 最后应用 DAVID 数据库进行靶基因信号转导通路富集分析(KEGG Pathway analysis)。**结果** miRNA-126* 表达量在胎龄 16 d、19 d 和 21 d 3 组胎鼠肺组织间逐渐上升。miRNA-126* 预测靶基因共有 422 个, 其靶基因集合功能富集于葡萄糖醛酸转移酶、糖代谢等分子功能, 多细胞器官发育、发育进程等生物学过程及细胞分隔、细胞器界膜等细胞组分上。信号转导通路则显著富集于 RNA 降解信号通路, 以及朊蛋白疾病信号通路中。**结论** 本研究结果提示 miRNA-126* 参与了大鼠胎肺发育过程, 为今后研究肺发育提供理论基础。

[中国当代儿科杂志, 2013, 15(3): 227-232]

[关键词] miRNA-126*; 生物信息学; 肺发育; 大鼠

Bioinformatic analysis of target gene P rediction and related signaling pathways of miRNA-126*

YANG Yang, KAN Qing, ZHANG Pan, ZHANG Xiao-Qun, ZHOU Xiao-Guang, ZHOU Xiao-Yu. Department of Neonatology, Nanjing Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China (Zhou X-Y, Email: xyzhou161@163.com)

Abstract: Objective To bioinformatically predict and analyze target genes of miRNA-126*, with the aim of providing certain basis for related research about target genes and regulatory mechanism in the future. **Methods** The miRNA chip technology was applied to measure expression levels of miRNA-126* in 3 time points (embryo 16, 19 and 21 days) of fetal lung development. Then the target genes of miRNA-126* were screened through miRGen2.0 database. Subsequent bioinformatic analysis of these target genes was performed by Gene Ontology analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway analysis (KEGG Pathway analysis). **Results** miRNA-126* manifested continuously upregulated expression with the lung development (from embryo 16 to 21 days). There were 422 predicted target genes in total, and the gene set mainly located in glucuronosyltransferase activity, transferase activity (GO molecular function), multicellular organismal development, developmental process (GO biology process) and intracellular part (GO cellular component). The KEGG Pathway analysis demonstrated that the gene set mostly located in RNA degradation (signal transduction pathway) and prion diseases (disease pathway). **Conclusions** The results suggest that miRNA-126* plays a certain role in fetal lung development and provide a basis for lung development research in the future.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(3): 227-232]

Key words: miRNA-126*; Bioinformatics; Lung development; Rats

miRNA 是近年来发现的一类重要的调控分子, 引起了广泛关注。miRNA 可与特定的靶向 mRNA 结合, 形成紧密或不甚紧密的互补结构, 导致 mRNA 的降解以及蛋白翻译表达的阻滞^[1], 在转录后水平

发挥着举足轻重的调控作用。研究表明 miRNA 广泛参与包括细胞增殖、分化、凋亡等在内的多种生理过程^[2-3]。

既往对 miRNA 的研究主要集中在癌症机制领

[收稿日期]2012-10-06; [修回日期]2012-10-27

[基金项目]江苏省卫生厅面上项目(H200642)。

[作者简介]杨洋,男,硕士,住院医师。

[通信作者]周晓玉,教授。

域,在胚胎分化尤其是胎肺发育方面涉及较少。而现有研究表明 miRNA 确可参与组织器官发育的调控过程^[4],如 miRNA-17-92 簇、Let-7 家族等一些 miRNA 明确参与了胎肺发育的调控^[5-6]。然而,目前对 miRNA 的具体作用机制认识仍较为局限,如很多 miRNA 的靶基因尚未确定,且对其进行预测与鉴定难度也较大,因此准确预测 miRNA 的靶基因并对其候选靶基因进行系统的生物信息学分析是研究 miRNA 后续作用机制的一个关键所在。

miRNA-126* 作为一种来源于表皮生长因子样结构域 7 (epidermal growth factor-like domain 7, Efgl7) 内含子区域的内生性 miRNA^[7],在小鼠胚胎干细胞演化而来的上皮细胞内及血管相关的组织细胞增殖中均呈高水平表达,然而其在胎肺发育领域研究较少。研究表明 miRNA-126* 在肺脏里含量十分丰富^[7-8],因此我们猜测 miRNA-126* 可能在胚胎肺发育中起着一定的作用。

本研究就胎鼠肺发育 3 个关键时间段:假腺管期(胎龄 13~18 d)、小管期(胎龄 18~20 d)和囊泡期(胎龄 20~21 d),各从中选取一个时间点,即胎龄 16 d、19 d 和 21 d 进行 miRNA 芯片筛选,以期反映 miRNA-126* 在 3 个时期间的相对表达情况,并通过靶基因数据整合和系统生物信息学方法进行深入分析归纳,以期将来 miRNA-126* 靶基因的实验鉴定及其生物学功能的研究提供一定前期基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

24 只健康成年 Sprague-Dawley 大鼠,按雌雄比 1:1 合笼饲养在南京医科大学动物中心 SPF 环境中。将 12 只孕鼠随机分为 3 组,分别是胎龄 16 d 组、胎龄 19 d 组和胎龄 21 d 组,每组 4 只。3 组分别在相应胎龄应用水合氯醛处死妊娠母鼠,立即取出所有胎肺组织,并尽可能去除多余杂质组织。随后,应用 PBS 漂洗胎肺组织,以 TRIzol (Invitrogen) 和 miRNeasy mini kit (Qiagen) 抽提总 RNA。其中, RNA 质量采用分光光度计 (ND-1000, Nanodrop Technologies) 进行检测。

1.2 miRNA 芯片

胎肺 RNA 提取后,采用 miRCURYTM Hy3TM/Hy5TM 标记 (Exiqon, Vedbaek, Denmark) 以进行探针筛查。随后在杂交体系中 (Nimblegen Systems, Inc., Madison, WI, USA) 置于 56℃ 下 16~20 h,进而促使激活反应,并且保持恒定的孵育温度以提升

杂交的一致性和信号的灵敏度。最后在离心机上采用 400 rpm 离心 5 min。随后将这些切片通过芯片扫描系统 (Axon Instruments, Foster City, CA) 进行扫描观察。扫描图随后输入 GenePix Pro 6.0 软件进行数据分析。

1.3 靶基因预测

利用 miRNA 靶标基因数据库 miRGen2.0^[9] (<http://diana.cslab.ece.ntua.gr/mirgen/>) 进行靶基因预测,得到有关 miRNA-126* 的靶基因总数。此靶基因数据库集成了 PicTar, miRanda, DIANA-microT 和 TargetScanS 4 个传统常用的 miRNA 靶标预测工具。

1.4 Gene Ontology 分析

Gene Ontology (GO) 分析采用 Cytoscape 及其插件 BiNGO (<http://www.cytoscape.org/>) 对靶基因进行功能富集分析, Cytoscape 作为一个开源的生物信息学处理软件,可用于生物分子、基因等的信息整合,而 BiNGO 可实现 Gene Ontology 数据库中很大一部分功能,如基因的 GO 注释层次分类及富集分析等。根据 GO 注释中的分子功能 (molecular function, MF)、生物学过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 等应用选项,用 BiNGO 进行相应 GO 注释显著性分析 ($P < 0.05$),最后通过 Cytoscape 图形界面实现靶基因集合的 GO 生物学过程、分子功能和细胞组分分类层次网络的图形化显示 (略)。

1.5 KEGG 通路分析

利用 DAVID 数据库 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 进行 KEGG 信号转导通路富集分析,针对预测出的相关靶基因,通过软件附带的 Fisher Exact Test 计算 P 值, $P < 0.05$ 代表具有统计学意义的信号转导通路。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 13.0 软件包对数据进行统计分析, GO 分析及 KEGG 通路分析中数据间差异比较采用 ANOVA 检验,其中 KEGG 中的数据 P 值采用 Fisher Exact Test 计算, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA 芯片结果

miRNA-126* 在大鼠胎龄 16 d、19 d 和 21 d 3 组芯片间表现出差异表达,且随着胎肺发育时间其相对表达量逐渐上升。见图 1。

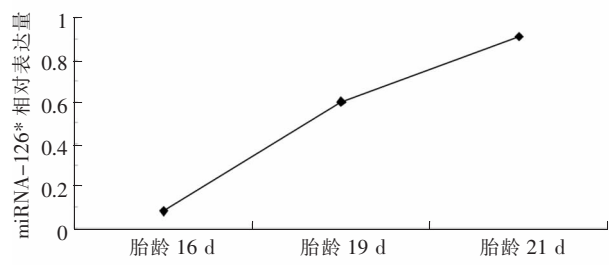


图1 3组胎肺中miRNA-126*芯片表达结果

2.2 靶基因预测结果

采用miRNA靶标基因数据库miRGen 2.0,对miRNA-126*的靶基因进行预测,结果发现预测靶基因共有422个。见表1。

2.3 GO分析结果

针对以上422个靶基因,进行GO注释描述、富集分析及层次网络的图形化显示。通过GO注释描述共得到320个基因的GO分子功能注释信息、288个基因的GO生物学过程注释信息及307个基因的GO细胞组分注释信息。随后将这些基因分别投射至GO的三大应用功能上(即分子功能、生物学过程、细胞组分),结果显示miRNA-126*预测靶基因集合分别富集在葡萄糖醛酸转移酶、糖代谢等分子功

表1 miRNA-126*经由miRGen 2.0预测所得的部分靶基因

Gene ID	Gene symbol	Gene ID	Gene symbol
500239	FIGLA	81683	MIF
113906	HSPB8	246769	HINT3
365183	FCAR	315745	FEM1B
24694	PTH	300520	VSIG2
94273	MGAT2	366854	FBXO7
498849	PCDHGA10	313451	RHOX4G
363269	SP100	361255	TBCE
500235	EMX1	304988	IFI204
497936	TMEM88	317241	RLIM
245957	DDX46	360709	TFG

能,多细胞器官发育、发育进程等生物学过程及细胞分隔、细胞器界膜等细胞组分上($P<0.05$)。分别见表2~4。

2.4 KEGG通路分析结果

在GO注释分类的基础上,利用已有生物通路数据,对基因集合中的422个基因进行生物通路富集分析。结果显示,在经典通路数据库KEGG中miRNA-126*显著富集于RNA降解信号通路,以及朊蛋白疾病信号通路中($P<0.05$)。见表5。

表2 miRNA-126*预测靶基因GO分子功能分类

GO ID	GO 分子功能注释	P 值	基因数量(%)	涉及基因
15020	glucuronosyltransferase activity	1.93E-10	9(2.8)	UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A7C, UGT1A2, UGT1A5, UGT1A1, UGT2B7
16757	transferase activity, transferring glycosyl groups	2.79E-8	20(6.3)	PRTFDC1, FUT7, ALG5, CAD, GYG1, HPRT1, UGT1A1, ART1, UGT1A6, MGAT2 等
8194	UDP-glycosyltransferase activity	1.06E-7	12(3.8)	UGT1A6, MGAT2, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A3, UGT1A7C, UGT1A2, UGT1A5, GYG1, UGT1A1 等
16758	transferase activity, transferring hexosyl groups	7.56E-6	13(4.1)	FUT7, GYG1, UGT1A1, MGAT2, UGT1A6, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C, UGT1A3, UGT1A2 等
5488	Binding	2.62E-5	257(80.3)	LDHB, LSM8, TUBB2A, PDLIM5, TRMT2A, FGFR1, RFXAP, LPHN3, CUL5, G2E3 等
5515	protein binding	3.00E-5	178(55.6)	BAT5, CEP72, LDHB, CHES1, AP4E1, LSM8, TUBB2A, PDLIM5, FGFR1, IL13 等
4842	ubiquitin-protein ligase activity	1.61E-4	10(3.1)	CUL5, UBE2M, RNF167, BIRC3, TRIM23, FEM1B, RLIM, BIRC2, CNOT4, BARD1
4422	hypoxanthine phosphoribosyltransferase activity	3.62E-4	2(0.6)	PRTFDC1, HPRT1
30060	L-malate dehydrogenase activity	3.62E-4	2(0.6)	MDH2, MDH1
16740	transferase activity	4.39E-4	52(16.3)	PHKB, TRMT2A, FGFR1, DTYMK, ALG5, CAD, GPAT2, ART1, UGT1A7C, ST3GAL6 等
16874	ligase activity	7.14E-4	16(5)	EPRS, CAD, LIG4, BIRC3, RLIM, FEM1B, TRIM23, BIRC2, CNOT4, ACSM2 等
3824	catalytic activity	8.10E-4	126(39.4)	LDHB, NIT1, TUBB2A, PGC, TRMT2A, DTYMK, FGFR1, GPAT2, CNOT4, PECR 等
3872	6-phosphofructokinase activity	1.07E-3	2(0.6)	PFKP, PFKM

表 3 miRNA-126 * 预测靶基因 GO 生物学过程分类

GO ID	GO 生物学过程注释	P 值	基因数量(%)	涉及基因
7275	multicellular organismal development	3.36E-6	75(26.0)	FGF7, CYP4A1, PREX1, PDLIM5, FGFRL1, ALC5, CAD, PAX3, SPRY4, CXCL10 等
32502	developmental process	5.88E-6	80(27.8)	FGF7, CYP4A1, PREX1, PDLIM5, FGFRL1, ALC5, CAD, PAX3, SPRY4, CXCL10 等
19439	aromatic compound catabolic process	6.32E-6	6(2.1)	AADAT, UGT1A9, KYNU, UGT1A8, UGT1A7C, IDO1
42219	cellular amino acid derivative catabolic process	1.04E-5	6(2.1)	AADAT, UGT1A9, KYNU, UGT1A8, UGT1A7C, IDO1
46271	phenylpropanoid catabolic process	3.20E-5	3(1.0)	UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C
46226	coumarin catabolic process	3.20E-5	3(1.0)	UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C
6725	cellular aromatic compound metabolic process	3.48E-5	12(4.2)	AADAT, UGT1A6, UGT1A9, KYNU, UGT1A8, UGT1A7C, UOX, SULT1B1, CAD, IDO1 等
48731	system development	1.45E-4	61(21.2)	FGF7, CYP4A1, PREX1, PDLIM5, FGFRL1, CAD, PAX3, CXCL10, EDNRA, LPHN3 等
6569	tryptophan catabolic process	1.55E-4	3(1.0)	AADAT, KYNU, IDO1
46218	indolalkylamine catabolic process	1.55E-4	3(1.0)	AADAT, KYNU, IDO1
42436	indole derivative catabolic process	1.55E-4	3(1.0)	AADAT, KYNU, IDO1
19441	tryptophan catabolic process to kynurenine	1.55E-4	3(1.0)	AADAT, KYNU, IDO1
9987	cellular process	1.72E-4	197(68.4)	LDHB, TUBB2A, PDLIM5, TRMT2A, MOG, CUL5, G2E3, ABRA, MTERFD3, EIF2B3 等
71466	cellular response to xenobiotic stimulus	2.16E-4	5(1.7)	UGT1A6, UGT1A9, KYNU, GSTA5, UGT1A1
6805	xenobiotic metabolic process	2.16E-4	5(1.7)	UGT1A6, UGT1A9, KYNU, GSTA5, UGT1A1
10975	regulation of neuron projection development	2.49E-4	10(3.5)	RYK, PTPRG, KATNA1, PDLIM5, PREX1, NEFL, NEFM, KALRN, MIF, FEZ1
9804	coumarin metabolic process	2.67E-4	3(1.0)	UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C
9698	phenylpropanoid metabolic process	2.67E-4	3(1.0)	UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C
31344	regulation of cell projection organization	2.74E-4	11(3.8)	RYK, PTPRG, KATNA1, PDLIM5, PREX1, KBTBD10, NEFL, NEFM, KALRN, MIF 等
16053	organic acid biosynthetic process	2.90E-4	11(3.8)	CYP4A10, ADH1, PECR, KYNU, CYP4A1, AMACR, THNSL2, ALOX5, IDO1, HPGDS 等
46394	carboxylic acid biosynthetic process	2.90E-4	11(3.8)	CYP4A10, ADH1, PECR, KYNU, CYP4A1, AMACR, THNSL2, ALOX5, IDO1, HPGDS 等
48856	anatomical structure development	3.09E-4	64(22.2)	FGF7, CYP4A1, PREX1, PDLIM5, FGFRL1, CAD, PAX3, CXCL10, EDNRA, LPHN3 等
46700	heterocycle catabolic process	3.65E-4	8(2.8)	AADAT, UGT1A9, KYNU, UGT1A8, UGT1A7C, UOX, IDO1, UGT1A1
18411	protein amino acid glucuronidation	4.05E-4	2(0.7)	UGT1A9, UGT1A8
9410	response to xenobiotic stimulus	4.15E-4	5(1.7)	UGT1A6, UGT1A9, KYNU, GSTA5, UGT1A1
43094	cellular metabolic compound salvage	4.21E-4	3(1.0)	ADH1, PRTFDC1, HPRT1
2446	neutrophil mediated immunity	4.21E-4	3(1.0)	STXBP3, CTSG, ANXA3
46456	icosanoid biosynthetic process	4.81E-4	5(1.7)	CYP4A10, CYP4A1, ALOX5, HPGDS, MIF
6636	unsaturated fatty acid biosynthetic process	5.54E-4	5(1.7)	CYP4A10, CYP4A1, ALOX5, HPGDS, MIF
71361	cellular response to ethanol	6.23E-4	3(1.0)	UGT1A6, UGT1A5, UGT1A1
6568	tryptophan metabolic process	6.23E-4	3(1.0)	AADAT, KYNU, IDO1
42537	benzene and derivative metabolic process	6.23E-4	3(1.0)	UGT1A6, KYNU, UGT1A1
226	microtubule cytoskeleton organization	6.38E-4	9(3.1)	CEP72, SASS6, CCDC99, KATNA1, MAP2, TBCE, TEK2, NEFL, NEFM

表 4 miRNA-126* 预测靶基因 GO 细胞组分类

GO ID	GO 细胞组分注释	P 值	基因数量(%)	涉及基因
44424	intracellular part	8.66E-6	217(70.7)	LDHB, TUBB2A, PDLIM5, FGFR1, STOML2, RFXAP, CUL5, G2E3, KIFAP3, ABRA 等
43231	intracellular membrane-bounded organelle	4.38E-5	162(52.8)	LDHB, CHES1, NIT1, FGFR1, STOML2, RFXAP, CNOT4, PECR, ASPA, CUL5 等
43227	membrane-bounded organelle	4.80E-5	162(52.8)	LDHB, CHES1, NIT1, FGFR1, STOML2, RFXAP, CNOT4, PECR, ASPA, CUL5 等
5622	intracellular	6.76E-5	229(74.6)	LDHB, TUBB2A, PDLIM5, FGFR1, STOML2, RFXAP, CUL5, G2E3, KIFAP3, ABRA 等
267	cell fraction	8.06E-5	39(12.7)	LDHB, KYNU, CYP4A1, PDLIM5, CAD, HPRT1, EDNRA, UGT1A6, UGT1A9, CUL5 等
5792	microsome	8.12E-5	17(5.5)	CYP4A1, UGT1A1, SCAP, CYP4A10, CD38, UGT1A6, UGT1A9, HYDIN, UGT1A8, UGT1A7C 等
42598	vesicular fraction	1.09E-4	17(5.5)	CYP4A1, UGT1A1, SCAP, CYP4A10, CD38, UGT1A6, UGT1A9, HYDIN, UGT1A8, UGT1A7C 等
5737	cytoplasm	1.53E-4	163(53.1)	CEP72, LDHB, NIT1, AP4E1, PDLIM5, DTYMK, FGFR1, STOML2, CNOT4, PECR 等
43229	intracellular organelle	5.07E-4	181(59.0)	CEP72, LDHB, CHES1, NIT1, TUBB2A, PDLIM5, FGFR1, STOML2, RFXAP, CNOT4 等
43226	organelle	6.13E-4	181(59.0)	CEP72, LDHB, CHES1, NIT1, TUBB2A, PDLIM5, FGFR1, STOML2, RFXAP, CNOT4 等
5945	6-phosphofructokinase complex	1.23E-3	2(0.7)	PFKP, PFKM
5624	membrane fraction	1.30E-3	28(9.1)	CYP4A1, PDLIM5, EDNRA, UGT1A6, CUL5, UGT1A9, UGT1A8, UGT1A7C, UGT1A3, UGT1A2 等
44444	cytoplasmic part	1.34E-3	123(40.1)	RRK2, MDH2, MDH1, KALRN, CEP97, CCDC99, MGC94335, KATNA1, RPS21, SPAM1 等

表 5 miRNA-126* 预测靶基因的 KEGG 通路数据库富集分析

KEGG 通路	基因数量(%)	P 值	涉及基因
rno03018; RNA degradation	5(1.2)	0.022	LSM8 homolog, U6 small nuclear RNA associated (S. cerevisiae), Exosome component 9, Zinc finger, CCHC domain containing 7, 5'-3' exonuclease 2, CCR4-NOT transcription complex, subunit 4
rno05020; Prion diseases	4(0.9)	0.028	Complement component 6, Caspase 12, Interleukin 1 alpha, Neural cell adhesion molecule 2

3 讨论

目前随着 miRNA 研究的日益深入,种类繁多且数目巨大的 miRNA 调控系统也渐渐显现,对于如此错综复杂的 miRNA 数据内容(如很多 miRNA 之间还可形成网络化交互作用),GO 分析及 KEGG 分析等生物信息学分析方法的出现对 miRNA 相关机制的研究起到了很大的帮助。GO 分析可以对某一 miRNA 靶基因分子功能、生物学过程及细胞组分等信息进行富集分析归类,其结果可供不同需要的研究者对所得集合进行自由筛选和提取。同样,通过 KEGG 分析可对特定 miRNA 靶基因所涉及的信号通路进行整合归类,研究者也可据其自身研究需要对结果进行提取。因此对 miRNA 分析其生物信息学方面的涵义对于 miRNA 表达谱之后的相关研究

(如靶基因的验证、miRNA 的具体调控机制等)有重要的应用价值。

内含子区域在以往的观念中多认为是几乎无功能的,而本研究所要阐述的 miRNA-126* 正来源于 Egfl7 的内含子部分。同时,过去经典的观点还认为在 miRNA 起源机制中,RNA 的一条链(即 miRNA)优先同沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)结合,而另一条链(即 miRNA*)常被认为未成熟而被降解^[10]。但是,近些年来,随着大规模 RNA 测序的研究增多,miRNA* 的发现也越来越多。正如 miRNA-126* 及其互补的 miRNA-126 一样,Saito等^[11]曾报道二者在同一组织中均有高表达表现,因而我们推测内含子区以及 miRNA-126* 等“未成熟”的 miRNAs 实际可能都具有其特定的功能。

根据数据分析,我们发现 miRNA-126* 的 GO 分析生物学过程结果主要集中在器官发育过程方面,

而在本实验第一部分,miRNA-126*芯片结果也提示其相对表达量可随着肺发育过程逐渐上调,提示miRNA-126* 确实在肺组织发育中扮演着一定的角色。然而正如之前所述,迄今对 miRNA-126* 的研究仍较为少见,其作用也主要是同 miRNA-126(同样来源于 Egfl7 基因内含子区)一道在癌症血管生成及调控方面发挥着协同效应,如这二者可共同阻滞癌细胞的增殖、转移、侵蚀而发挥肿瘤抑制剂的作用^[12]。除去在肿瘤中的报道外,Fish 等^[8]还发现在小鼠胚胎干细胞演化而来的上皮细胞内 miRNA-126 和 miRNA-126* 均有高表达表现,这体现了 miRNA-126* 在胚胎发育中也可能起着一定的作用,如调控血管的生成及维持血管的完整性方面等。

在本研究 GO 分析中葡萄糖醛酸转移酶、糖代谢等分子功能,多细胞器官发育、发育进程等生物学过程,细胞分隔、细胞器界膜等细胞组分及 KEGG 分析中 RNA 降解信号通路等所得出的结果则提示 miRNA-126* 在组织器官发育中所可能发挥的作用,如调节新生血管形成等功能亦可能牵涉到了这些方面的机制,并借此发挥效应。但本实验尚未在离体细胞水平进行相应验证,故应慎重看待。

总之,本研究应用 miRNA 芯片技术及 miRGen 2.0 进行靶基因的预测并采用生物信息学方法对 GO 分析和 KEGG 信号通路分析等数据库进行有关 miRNA-126* 的系统描述,结果显示其在胎肺发育过程中的确发挥着一定作用,且有可能是通过调控血管生成及维持血管完整性等方面来实现的。目前临床上肺发育疾病的发生率越来越高^[13],因而对肺发育机制的研究显得越发迫切,本课题组已构建 miRNA-126* 载体,并在大鼠胎肺细胞中尝试过表达,以探索其在肺发育中的作用,因而本实验的推论或为今后有关 miRNA-126* 的后续研究提供一定的数据支持和理论指导。

[参 考 文 献]

[1] Grimson A, Farh KK, Johnston WK, Garrett-Engle P, Lim LP, Bartel DP. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing[J]. *Mol Cell*, 2007, 27(1): 91-105.

[2] Croce CM, Calin GA. miRNAs, cancer, and stem cell division [J]. *Cell*, 2005, 122(1): 6-7.

[3] Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34): 5848-5856.

[4] Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(3): 219-230.

[5] Lu Y, Thomson JM, Wong HY, Hammond SM, Hogan BL. 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.

[6] Johnson CD, Esquela-Kerscher A, Stefani G, Byrom M, Kelnar K, Ovcharenko D, et al. The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(16): 7713-7722.

[7] Parker LH, Schmidt M, Jin SW, Gray AM, Beis D, Pham T, et al. The endothelial-cell-derived secreted factor Egfl7 regulates vascular tube formation[J]. *Nature*, 2004, 428(6984): 754-758.

[8] Fish JE, Santoro MM, Morton SU, Yu S, Yeh RF, Wythe JD, et al. miR-126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity [J]. *Dev Cell*, 2008, 15(2): 272-284.

[9] Alexiou P, Vergoulis T, Gleditsch M, Prekas G, Dalamagas T, Megraw M, et al. miRGen 2.0: a database of microRNA genomic information and regulation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(Database issue): D137-D141.

[10] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.

[11] Saito Y, Friedman JM, Chihara Y, Egger G, Chuang JC, Liang G. Epigenetic therapy upregulates the tumor suppressor microRNA-126 and its host gene EGFL7 in human cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(3): 726-731.

[12] Meister J, Schmidt MH. miR-126 and miR-126*: new players in cancer[J]. *Sci World J*, 2010, 10: 2090-2100.

[13] 陈幽, 韩玉昆, 叶贞治, 卢光进. 呼吸窘迫综合征并发支气管肺发育不良危险因素分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2007, 9(1): 15-18.

(本文编辑:周勇)