

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.06.014

· 临床研究 ·

## 通过竞争性内源 RNA 调控网络筛查肝细胞癌预后相关分子

王拓, 吴文娟, 杜明丽, 赵磊, 李桂香(兰州大学 第二医院 肿瘤中心, 甘肃 兰州 730030)

**【摘要】目的:**通过构建肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的竞争性内源 RNA(competing endogenous RNAs, ceRNA)调控网络,寻找与 HCC 发生发展及预后相关的分子。**方法:**从 TCGA 数据库下载 HCC 转录组数据,通过“Perl”语言处理转化得到 mRNA、lncRNA 和 miRNA 的表达谱矩阵。通过“Edge R”包提取 3 种 RNA 的差异表达基因(differential expression genes, DGEs),其阈值为  $|\log FC| > 2.0$  且  $P < 0.01$ 。通过数据库比对得到差异 lncRNA-差异 miRNA、差异 miRNA-差异 mRNA 关系对,导入至 Cytoscape 软件构建 ceRNA 调控网络图。整理 3 种 DGEs 相关的生存数据,通过“Survival”包及 Kaplan-Meier Plotter 分析软件进行生存分析,绘制 DGEs 的生存曲线,分析获取预后相关基因。**结果:**成功构建 HCC 的 lncRNA 相关 ceRNA 调控网络,通过该网络分析 DGEs 间的相互作用和调控关系,获取 3 条 lncRNA-miRNA-mRNA 调控关系对,其中 1 条调控通路(CCDC26-hsa-mir-141-EPHA2)符合 ceRNA 理论。预后分析显示,14 个 mRNA 高表达组患者生存率低于低表达组,可作为 HCC 不良预后的生物标志物;1 个 lncRNA(TSPEAR-AS1)和 2 个 mRNA(CPEB3 和 PROK2)低表达组患者生存率低于高表达组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),可能是 HCC 的保护性基因。**结论:**通过 HCC lncRNA 相关的 ceRNA 调控网络筛查到高表达的 14 个 mRNA 可能为 HCC 不良预后相关分子,低表达的 1 个 lncRNA 和 2 个 mRNA 可能为 HCC 良好预后相关分子,研究结果为 HCC 治疗和预后测评提供了参考依据。

**【关键词】** 肝细胞癌;TCGA;竞争性内源 RNA;lncRNA;miRNA;mRNA;预后

**【中图分类号】** R735.7;R730.54 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-385X(2020)06-0678-07

## Screening prognosis-related molecules in hepatocellular carcinoma by competing endogenous RNAs regulatory network

WANG Tuo, WU Wenjuan, DU Mingli, ZHAO Lei, LI Guixiang (Department of Cancer Center, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, Gansu, China)

**【Abstract】 Objective:** To identify the molecules related to the occurrence, development and prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) by constructing ceRNA regulatory network of HCC. **Methods:** Data of HCC transcription group were downloaded from TCGA database. We processed the original data into expression matrix of mRNA, lncRNA and miRNA via Perl language. DGEs of RNA and microRNA were extracted and analyzed from the “Edge” package of R language with the threshold of ( $|\log FC| > 2.0$  and  $P < 0.01$ ). Through the database comparison, the relationship pairs of different lncRNAs-different miRNAs, different miRNAs-different mRNAs were obtained, and then imported them into the Cytoscape software to construct the ceRNA regulatory network diagram. The survival data of three DGEs were collected and analyzed by “survival” package and Kaplan Meier plotter analysis software. The survival curves were drawn and the genes were obtained by survival analysis. **Results:** The lncRNA related ceRNA regulatory network of HCC was successfully constructed. Three regulatory pairs of lncRNA-miRNA-mRNA were obtained by analyzing the interaction and regulatory relationship between DGEs via ceRNA network. Among them, one regulatory pathway (CCDC26-hsa-mir-141-EPHA2) was in accordance with ceRNA theory. The prognostic analyses showed that the survival rate of patients with high expression of 14 mRNAs was lower than those with low expression, which could be used as biomarkers of adverse prognosis of HCC. The survival rate of patients with low expression of 1 lncRNA (TSPEAR-AS1) and 2 mRNA (CPEB3 and PROK2) was lower than those with high expression, which may be the protective gene of HCC. **Conclusions:** Through screening of HCC lncRNA related ceRNA regulatory network, 14 mRNAs with high expression may be the relevant molecules related to poor prognosis of HCC, while 1 lncRNA and 2 mRNAs with low expression may be the molecules related to good prognosis of HCC, providing reference for HCC treatment and prognosis

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目(No.81670594)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81670594)

**【作者简介】** 王拓(1992-),女,硕士生,主要从事肿瘤分子生物学的基础研究,E-mail:843812196@qq.com

**【通信作者】** 李桂香(LI Guixiang, corresponding author),女,副教授,硕士生导师,主要从事实体肿瘤分子靶向治疗研究,E-mail:lgx.doctor.007@163.com

evaluation.

**[Key words]** hepatocellular carcinoma (HCC); TCGA; competing endogenous RNA (ceRNA); lncRNA; miRNA; mRNA; prognosis  
[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(6): 678-684. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.03.014]

HCC是原发于肝细胞的恶性肿瘤,占所有肝癌类型的80%以上,是我国以及亚洲最常见的恶性肿瘤之一,在世界范围内位于全部恶性肿瘤死因的第3位<sup>[1]</sup>。肝癌进展快速和致死率高的原因之一是对肝癌发生发展的分子机制还了解甚少,寻找新的分子靶点以及开发新的治疗药物对肝癌的早期诊断和治疗乃至延长患者的生存期意义重大。竞争性内源RNA(competing endogenous RNAs, ceRNA)通过竞争性结合 miRNA 在基因转录后水平上参与调控靶基因,是2011年 PANDOLFI 等<sup>[2]</sup>人提出的一种假说。miRNA 通过靶向结合 mRNA 抑制 mRNA 的翻译或诱导 mRNA 降解<sup>[3]</sup>,某些 lncRNA 可以与 miRNA 的靶基因竞争性结合 miRNA,作为 miRNA 的“海绵”减弱其介导的靶向抑制作用<sup>[2,4]</sup>。lncRNA-miRNA-mRNA 调控模式与肿瘤的发生发展密切相关,然而,lncRNA 相关的 ceRNA 调控机制在 HCC 中作用的研究进展缓慢。本研究通过 TCGA 数据构建肝细胞癌 lncRNA 的 ceRNA 网络,并通过生存分析,筛查与 HCC 不良预后相关的生物标志物,以期为 HCC 的早期诊断和靶向治疗提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据来源及处理

通过 TCGA 数据库下载包括 HCC 转录组的 Manifest 数据、Metadata 数据的424个文件,利用 TCGA 数据库的 GDC-client 下载工具,在 DOS 环境下输入下载命令下载原始数据 Cart 文件,将每个样本的 Counts 文件从 Gene Expression Quantification 原始数据文件夹中解压后提取,通过运行 Perl 脚本得到原始数据的矩阵文件。通过 Ensembl 网站下载“Homo\_sapiens.GRCh38.84.chr.gtf.gz”文件,利用 Perl 语言脚本将已获得的基因表达谱中的基因名 Ensembl ID 转换为 gene symbol,得到 mRNA 基因表达谱矩阵,再利用“Perl”脚本从 mRNA 的表达矩阵中提取得到 lncRNA 的表达矩阵。采用类似的方法下载 miRNA 的原始数据并整理为 miRNA 的表达矩阵。

### 1.2 研究方法

利用 R 语言的“Edge R”包提取 mRNA 和 miRNA 的差异表达基因(differential expression genes, DGEs)进行差异分析,设置阈值为 $|\log FC| > 2.0$ 且 $P < 0.01$ 。根据 ceRNA 理论即 lncRNA 与内源性 mRNA 竞争性结合 miRNA 及 miRNA 靶基因的预测来确定候选 lncRNA-miRNA 竞争对<sup>[5]</sup>。分别将差异 lncRNA 与 miRcode 数据库作比对,通过 miRTarBase、TargetScan

和 miRDB 3 个数据库进行 miRNA 靶基因的比对后得到 miRNA 的靶基因,将差异 mRNA 与差异 miRNA 取交集,由此获得差异 lncRNA-差异 miRNA 与差异 miRNA-差异 mRNA 的关系对。将关系对数据导入至 Cytoscape 软件,构建共表达基因网络图。整理 3 种 RNA DGEs 相关患者的生存数据,通过 R 语言的“Survival 包”进行 DGEs 的生存预后分析,绘制生存曲线。

### 1.3 统计学处理

采用 R 软件(3.5.1 版本)及相关 R 软件包(“Edge R”包、“Survival 包”)、“Perl”脚本对数据进行分析处理。对于连续变量采用 *t* 检验比较两独立样本组间的表达差异,对于分类变量的差异统计采用卡方检验或 Fisher 确切概率法。检验水准以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ (双尾)表示有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 HCC 组织中 mRNA、miRNA 和 lncRNA 差异表达状况

本研究共纳入来自 TCGA 数据库共 409 个样本的 mRNA 转录组数据(正常肝组织样本 50 个,HCC 样本 359 个)、425 个样本的 miRNA 数据(正常肝组织样本 50 个,HCC 样本 375 个)表达谱及临床数据相关的 HCC 患者。应用 *t* 检验和 Fisher 确切概率法等差异基因筛选方法得到 HCC 组织与正常肝组织间 mRNA 差异基因 1 987 个(其中上调 1 781 个,下调 206 个),miRNA 差异基因共 126 个(其中上调 123 个,下调 3 个),lncRNA 差异基因 1 070 个(其中上调 1 013 个,下调 57 个),详见图 1、2。图 1 为 3 种 RNA 差异基因在 HCC 组和正常肝组织组表达的聚类热图,横坐标为不同的样本,纵坐标代表不同的基因,红色代表表达高于平均水平的基因,绿色代表低于平均水平的基因,黑色代表平均表达水平的基因。图 2 为 3 种 RNA 差异基因分别在 HCC 组和正常肝组织组表达分布的火山图,纵坐标 logFC 的正与负代表基因的上调或下调,横坐标 $-\log_{10}(\text{FDR})$ 值越大,代表基因表达的差异越显著。

### 2.2 相互间交集的差异表达 lncRNA、miRNA 和 mRNA

通过 miRcode 数据库与差异 lncRNA 作比对筛选出与差异 miRNA 有关的 lncRNA 75 个、差异 miRNA 16 个,通过 miRTarBase、TargetScan 和 miRDB 数据库进行 miRNA 靶基因比对得到 miRNA 的靶基因,将差

异 mRNA 与差异 miRNA 的靶基因取交集得到 36 个 mRNA, 将 3 种差异基因作用对总结置于表 1, 用以

ceRNA 调控网络构建。图 3 为差异 mRNA 和 miRNA 的靶基因交集后的韦恩图。

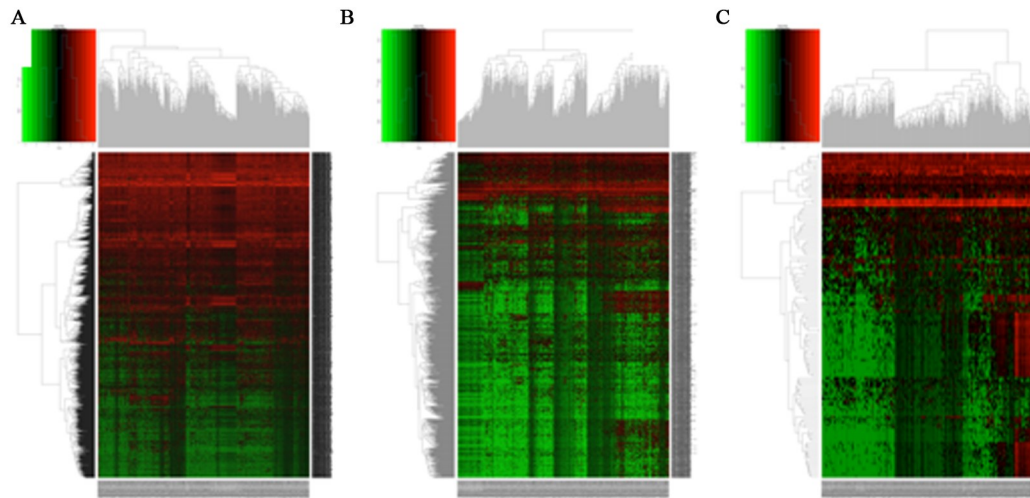


图 1 3 种差异 RNAs 的表达热图(从 A 到 C 依次为 mRNA、lncRNA、miRNA)

Fig.1 Heat map of DEGs of three different RNAs (from A to C in turn: mRNA, lncRNA, miRNA)

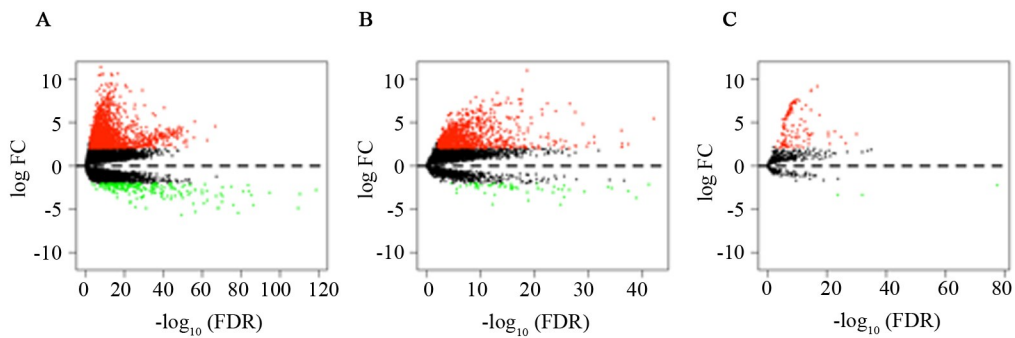


图 2 HCC 组和正常肝组织组的 3 种差异 RNAs 表达的火山图(从左到右依次为 mRNA、lncRNA、miRNA)

Fig.2 Volcanic maps of DGEs of three RNAs in HCC group and normal tissue group (from A to C in turn: mRNA, lncRNA, miRNA)

表 1 3 种差异表达基因比对列表

Tab.1 Comparison list of DGEs of three RNAs

RNA type	Intersection and comparison of the DGEs
mRNA	CPEB3 CCNB1 EPHA2 E2F1 RRM2 KIF23 SHCBP1 CEP55 E2F7 PROK2 CBX2 SERPINE1 CCNE1 CLSPN HOXA10 CCNE2 CDC25A NETO2 HOXA3 RET ITGA2 ACSL4 SOX11 FOXF2 NPTX1 MDGA1 ELAVL2 IL11 GLUL HOXA9 HOXC13 AXIN2 HOXC8 SALL3 SLC22A6 SERTM1
lncRNA	LINC00392 HOTAIR CCDC26 ERVMER61-1 LINC00160 MIR137HG BPESC1 DSCR10 LINC00462 LINC00494 SRGAP3-AS4 TSPEAR-AS1 SACS-AS1 GPC6-AS1 LINC00316 LINC00322 AL589947.1 AC009121.1 CLRN1-AS1 DLX6-AS1 MYLK-AS1 AC114489.1 AC012640.1 AC073352.1 HOTTIP AC011453.1 AP000553.1 CRNDE GDNF-AS1 ERVH48-1 PVT1 LINC00491 GRM5-AS1 RMST AC040173.1 NOVA1-AS1 LINC00485 LINC00519 LINC00200
miRNA	hsa-mir-141 hsa-mir-424 hsa-mir-205 hsa-mir-508 hsa-mir-373 hsa-mir-519d hsa-mir-183 hsa- mir-216a hsa-mir-182 hsa-mir-217 hsa-mir-506 hsa-mir-184 hsa-mir-96 hsa-mir-216b hsa-mir- 137 hsa-mir-372

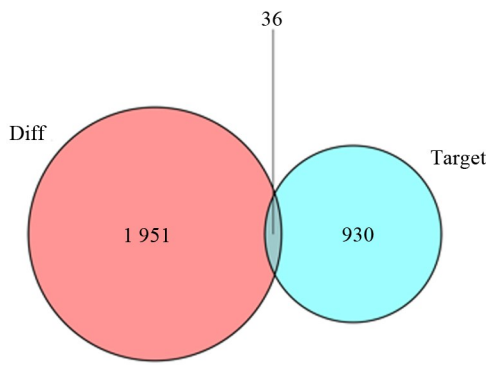


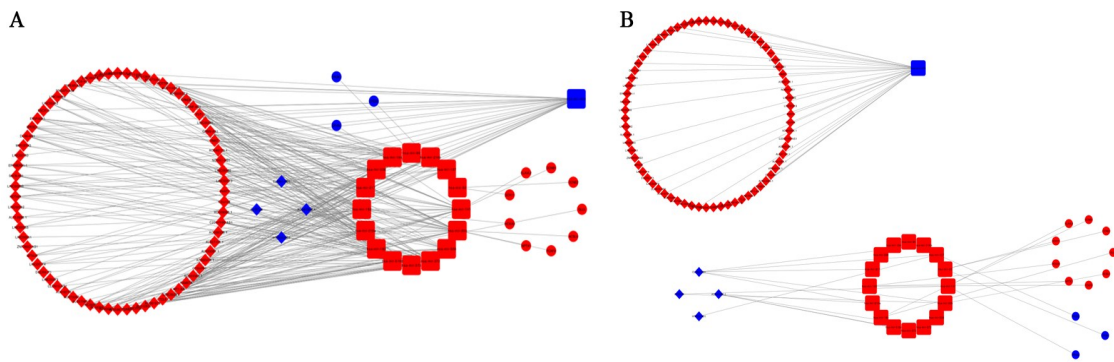
图3 差异 mRNA 和 miRNA 的靶基因的韦恩图

Fig.3 Wynn diagram of differentially expressed mRNA and target genes of miRNAs

2.3 反映3个DGEs相互作用和调控关系的LceNET的构建

LncRNA介导的ceRNA网络基于汇集共表达的竞争性lncRNA-mRNA对构建而成,并使用Cytoscape

软件进行可视化展示<sup>[6]</sup>,计算包括“度”在内的lncRNA相关的ceRNA网络(lncRNA-associated ceRNA network, LCeNET)的拓扑特征,其中“度”被定义为一个节点和其他节点之间联系的程度。本研究中,度排列在前10%的节点即被确定为中心。lncRNA表达下调,从而减少了对miRNA的吸附作用,使miRNA表达上调,继而加强了对靶基因的降解(图4A)。图4B是在图4A原始网络图基础上调整后的LCeNET,更加直观地反映了网络拓扑特征及相互调控关系。由图4B可以看出,lncRNA的下调减少了对miRNA的吸附作用,使miRNA表达上调。图5为lncRNA、miRNA、mRNA的程度分布及相互作用图,进一步展示了基因间具体的相互作用关系。表2显示了LCeNET子网络中lncRNA、miRNA、mRNA间的调控关系,构建成3个lncRNA-miRNA-mRNA关系对: CLRN1-AS1-hsa-mir-205-ACSL4, CCDC26-hsa-mir-205-ACSL4, CCDC26-hsa-mir-141-EPHA2。



A: Original ceRNA network; B: The ceRNA network after adjustment according to the regulation relationship of lncRNA-microRNA-RNA. Round node: mRNA; Diamond node: lncRNA; Square node: miRNA; Red: Up-regulated; Blue: Down-regulated

图4 lncRNA相关的ceRNA网络(LCeNET)

Fig.4 lncRNA-related ceRNA network(LCeNET)

2.4 DGEs和HCC患者预后的关系

通过R语言的“Survival”包进行差异基因和相应患者的生存分析(图6),发现以下基因的高表达组和低表达组患者的生存曲线差异有统计学意义: CBX2、CCNB1、CCNE1、CCNE2、CDC25A、CEP55、CLSPN、E2F1、E2F7、RRM2、SHCBP1、HOXC8、KIF23和SOX11等14个mRNA的表达水平与HCC的不良生存预后呈正相关,2个mRNA(CPEB3和PROK2)及1个lncRNA(TSPEAR-AS1)的表达水平与HCC的不良生存预后呈负相关。

3 讨论

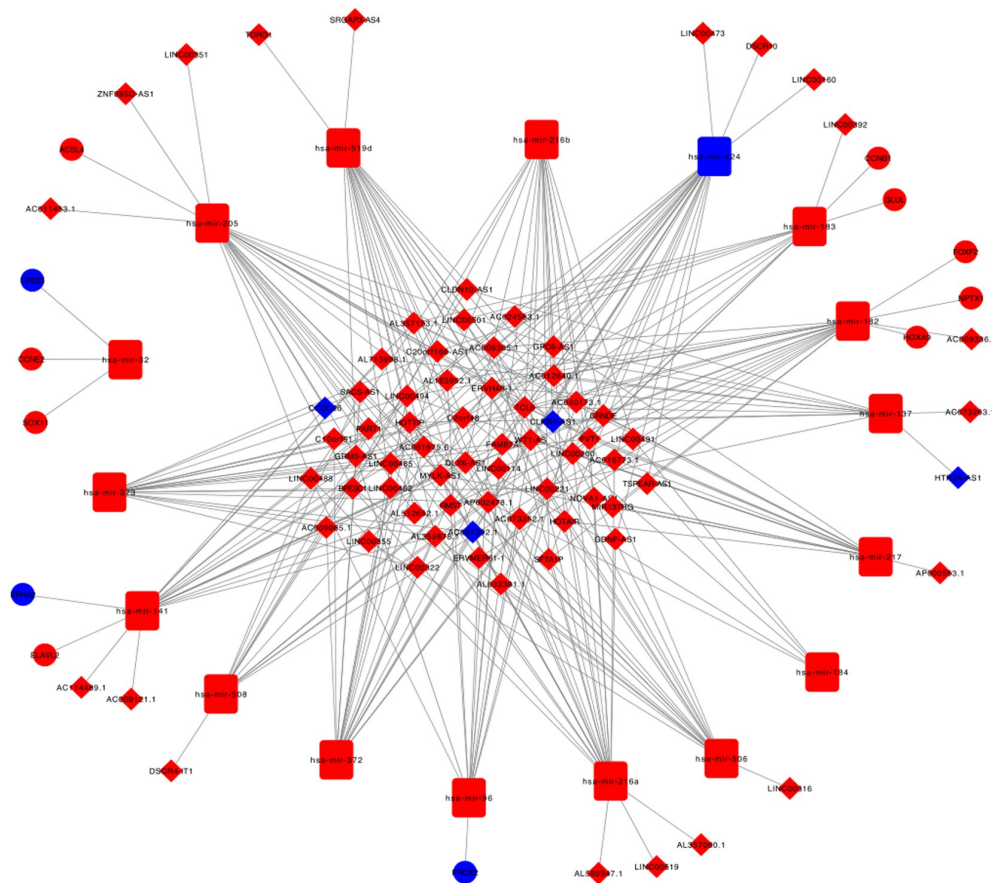
随着ceRNA串扰机制的发现,miRNA及其ceRNA靶点形成了复杂的ceRNA调控网络<sup>[7]</sup>。lncRNA作为

一种潜在的ceRNA,与miRNA及mRNA之间复杂的串扰关系存在于HCC增殖、浸润、转移等发生发展进程中的每一个步骤中<sup>[8-10]</sup>。本研究基于TCGA数据库,利用TCGA RNA测序数据分析了HCC组织中lncRNA的表达谱,发现数千个与癌旁正常肝组织存在表达差异的lncRNA,通过HCC患者的lncRNA和mRNA表达谱,结合miRNA靶向作用生成ceRNA调控网络,发现“CCDC26-hsa-mir-141-EPHA2”调控通路符合ceRNA调控机制,即CCDC26在HCC中表达下调减少了对hsa-mir-141的吸附作用,使hsa-mir-141的表达上调,加强了对靶基因EPHA2的降解作用。为确定HCC的潜在预后标志物,对差异lncRNA、miRNA及mRNA相关的HCC患者分别进行生存分析,共发现有14个mRNA、1个lncRNA和2个mRNA

与HCC患者生存预后密切相关。

lncRNA作为miRNA的“海绵”能抑制miRNA的活性, lncRNA表达失调能发挥致癌基因或抑癌基因作用。CCDC26是本研究发现的“CCDC26-hsa-mir-141-EPHA2”ceRNA调控通路中的lncRNA, 作为hsa-mir-141的ceRNA通过调节靶基因EPHA2参与了HCC的发病。CCDC26是位于染色体8q24上的lncRNA, 为视黄酸依赖性调节剂, HIRANO等<sup>[11]</sup>报道过表达的CCDC26通过调节KIT基因的表达能促进髓系白血病细胞生长。在实体肿瘤中, PENG等<sup>[12]</sup>认为CCDC26可能是胰腺癌的致癌基因, 单因素和多因素分析结果提示CCDC26表达上调还与胰腺癌的不良预后相关。在胶质瘤中, WANG等<sup>[13]</sup>发现CCDC26的表达水平在组织和细胞系中均明显上调, 与促进胶质瘤的生长和转移相关, 其促癌作用

主要通过靶向miR-203实现。尽管CCDC26作为一种致癌基因促进肿瘤的发展已在多种恶性肿瘤中证实, 然而CCDC26在HCC中的作用机制仍不明确。本研究通过生物信息分析方法发现了CCDC26的调控靶点之一miR-141, 为了解其作用机制提供了有效的研究思路, 值得进一步实验加以验证。TSPEAR-AS1是本研究中发现的HCC高表达组和低表达组生存预后间存在显著性差异的lncRNA。ZHANG等<sup>[14]</sup>构建了舌鳞状细胞癌lncRNA相关的ceRNA网络, 最终鉴定了包括TSPEAR-AS1在内的10个lncRNA作为舌鳞状细胞癌潜在的预后生物标志物。本研究的生存曲线提示TSPEAR-AS1可能是HCC的保护性基因, 目前尚未有TSPEAR-AS1在HCC中的相关研究报道, 对其作用机制的研究有望为HCC的诊断及治疗提供指导作用。



Round node: mRNA; Diamond node: lncRNA; Square node: microRNA. Red: Up-regulated; Blue: Down-regulated

图5 ceRNA网络图中lncRNA、miRNA、mRNA的相互连接程度及相互作用

Fig.5 Connectivity and interaction among lncRNA, miRNA and mRNA in ceRNA network

表2 lncRNA、miRNA、mRNA间调控关系表

Tab.2 Regulatory relationships among lncRNA, miRNA and mRNA

LncRNA down-regulated	miRNA up-regulated	mRNA down-regulated
CCDC26	hsa-mi-141	EPHA2
CLRN1-AS1	hsa-miR-205	ACSL4
CCDC26	hsa-miR-205	ACSL4

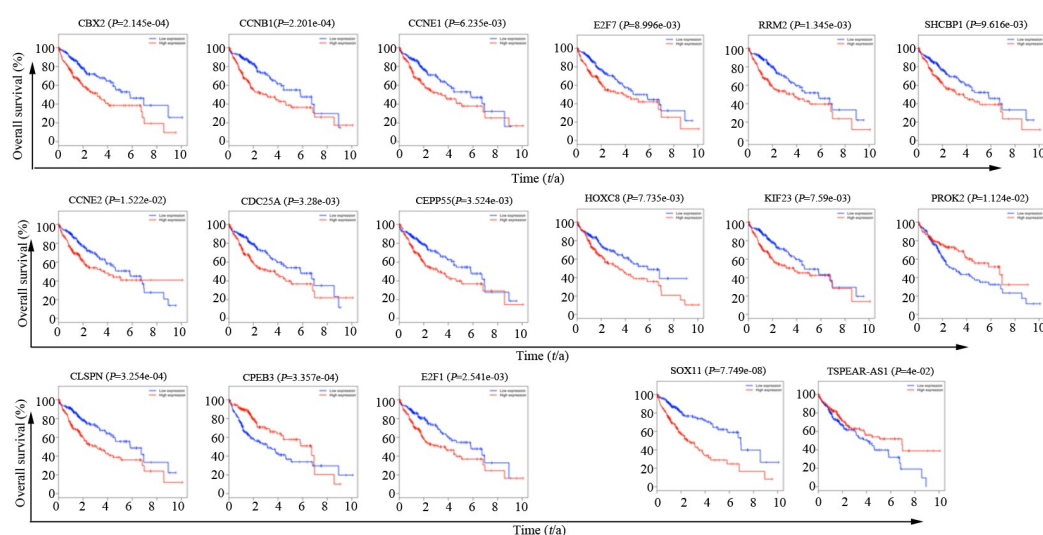


图6 差异mRNA和差异lncRNA相关HCC患者的生存曲线

Fig.6 Survival curve of HCC patients with differentially expressed mRNA and lncRNA

本研究鉴定的与HCC生存预后有关的mRNA部分参与了细胞周期的调控。CCNB1通过调控细胞周期促进细胞增殖、肿瘤生长和肿瘤复发,CBX2在乳腺癌、前列腺癌及卵巢癌中表达水平的上调与肿瘤转移、进展和生存率降低显著相关<sup>[15-17]</sup>。CCNE2主要作用为调控细胞周期G1/S间的转换,有学者观察到在分子水平上敲除CCNE2后能阻止肝癌细胞HepG2的增殖和转移<sup>[18]</sup>,但具体机制尚不明确。CCNE1是细胞周期调节蛋白之一,SONNTAGE等<sup>[19]</sup>建立了小鼠模型并发现CCNE1是HCC的重要始动因素。我国学者发现HCC细胞中miR-675的过表达将上调CDC25A,促进HCC细胞的增殖<sup>[20]</sup>。ZHU等<sup>[21]</sup>人的研究发现,CDC25A是let-7c的直接作用靶点,let-7c能抑制CDC25A蛋白的表达,阻滞细胞从G1期进入S期,进而抑制细胞增殖和肿瘤进展。CEP55是影响细胞分裂的基因,在乳腺癌、肺癌、结肠癌、前列腺癌中,CEP55的过表达与肿瘤的分期、侵袭性、转移和不良预后显著相关,是以上肿瘤发生的生物标志物和驱动基因<sup>[22]</sup>。E2F7作为肿瘤血管生成中的关键基因,被认为是HCC的致癌因子<sup>[23]</sup>,但对其具体的作用尚未有更深入的研究。研究表明SHCBP1在HCC组织中的表达上调,细胞实验证实SHCBP1的过表达能明显促进HCC细胞增殖,机制研究发现SHCBP1主要通过调控细胞外信号调节激酶ERK1/2和细胞周期蛋白D1的表达发挥促进HCC细胞增殖的作用<sup>[24]</sup>。XU等<sup>[25]</sup>通过对86例HCC患者进行生存分析发现,HOXC8的表达上调与HCC患者的不良预后相关,可作为影响HCC患者总生存率的重要预测因子,这与本研究结果基本一致。SOX11在多数恶性肿瘤中被认为是一个抑癌基因,TENG等<sup>[26]</sup>发现,血清

SOX11启动子甲基化可能作为诊断HCC的生物标志物。MONNIER等<sup>[27]</sup>发现,随着正常肝脏组织向HCC的逐渐演化,PROK2表达水平逐渐下调。一项肝癌的体外实验<sup>[28]</sup>中,利多卡因作为CPEB3的介质上调CPEB3的表达,进而降低肝癌HepG2细胞的活性。另一项研究<sup>[29]</sup>显示CPEB3是mir-452-3p的直接作用靶点,mir-452-3p过表达负向调控CPEB3/EGFR信号通路,沉默下游CPEB3蛋白的表达,最终促进HCC的细胞增殖。结合本研究的生存分析,HCC中PROK2和CPEB3高表达组的生存率高于低表达组,由此推测PROK2和CPEB3可能是HCC的抑癌基因。

综上,ceRNA调控机制为探索HCC的发生发展机制提供了新的思路。本研究借助公共数据库及采用生物信息学方法,通过构建的HCC ceRNA网络筛选出表达失调的mRNA、lncRNA,可作为HCC患者预后测评的关键靶基因。然而,对于ceRNA这一复杂的调控机制的研究尚处于理论阶段,还需要大量的实验及临床研究加以证实,才可为HCC靶向治疗提供理论依据。

#### [参考文献]

- [1] FORNERA, RIG M, BRUIX J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2018,391(10127): 1301-1314. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30010-2.
- [2] SALMENA L, POLISENO L, TAY Y, et al. A cerna hypothesis: the rosetta stone of a hidden RNA language? [J]. Cell, 2011, 146(3): 353-358. DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.014.
- [3] BARTEL D P. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions [J/OL]. Cell, 2009, 136(2): 215-233. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
- [4] AKANO N, YOSHIOKA K, AYA N, et al. Immunoelectron microscopic localization of membrane attack complex and hepatitis B e antigen in membranous nephropathy[J]. Virchows Arch A Pathol Anat Histo-

- pathol, 1989, 414(4): 325-330. DOI: 10.1007/bf00734087.
- [5] QI X L, ZHANG D H, WU N, et al. Cerna in cancer: possible functions and clinical implications[J]. *J Med Genet*, 2015, 52(10): 710-718. DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103334.
- [6] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J/OL]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504. DOI: 10.1101/gr.1239303.
- [7] TAY Y, RINN J, PANDOLFI P P. The multilayered complexity of cerna crosstalk and competition[J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 344-352. DOI:10.1038/nature12986.
- [8] LIU D, ZHU Y, PANG J K, et al. Knockdown of long non-coding RNA MALAT1 inhibits growth and motility of human hepatoma cells via modulation of miR-195[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(2): 1368-1380. DOI: 10.1002/jcb.26297.
- [9] WANG H, HUO X S, YANG X R, et al. STAT3-mediated upregulation of lncRNA HOXD-AS1 as a Cerna facilitates liver cancer metastasis by regulating SOX4[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 136. DOI: 10.1186/s12943-017-0680-1.
- [10] WANG Y W, HU Y, WU G, et al. Long noncoding RNA PCAT-14 induces proliferation and invasion by hepatocellular carcinoma cells by inducing methylation of miR-372[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(21): 34429-34441. DOI: 10.18632/oncotarget.16260.
- [11] HIRANO T, YOSHIKAWA R, HARADA H, et al. Long noncoding RNA, CCDC26, controls myeloid leukemia cell growth through regulation of KIT expression[J]. *Mol. Cancer*, 2015, 14: 90. DOI: 10.1186/s12943-015-0364-7.
- [12] PENG W, JIANG A R. Long noncoding RNA CCDC26 as a potential predictor biomarker contributes to tumorigenesis in pancreatic cancer[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2016, 83: 712-717. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.06.059.
- [13] WANG S L, HUI Y Z, LI X M, et al. Silencing of lncRNA CCDC26 restrains the growth and migration of glioma cells in vitro and in vivo via targeting miR-203[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(8): 1143-1154. DOI: 10.3727/096504017X14965095236521.
- [14] ZHANG S S, CAO R Y, LI Q L, et al. Comprehensive analysis of lncRNA-associated competing endogenous RNA network in tongue squamous cell carcinoma[J/OL]. *Peer J*, 2019, 7: e6397[2019-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6368841/>. DOI: 10.7717/peerj.6397.
- [15] CLERMONT P L, CREA F, CHIANG Y T, et al. Identification of the epigenetic reader CBX2 as a potential drug target in advanced prostate cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2016, 8(16): 1-14. DOI: 10.1186/s13148-016-0182-9.
- [16] CLEEMONT P L, SUN L, CREA F, et al. Genotranscriptomic meta-analysis of the Polycomb gene CBX2 in human cancers: initial evidence of an oncogenic role[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(8): 1663-1672. DOI: 10.1038/bjc.2014.474.
- [17] WHEELER L J, WATSON Z L, QAMAR L, et al. CBX2 identified as driver of anoikis escape and dissemination in high grade serous ovarian cancer[J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(11): 92-105. DOI: 10.1038/s41389-018-0103-1.
- [18] NEVZOROVA Y A, TSCHAHARGANEH D, GASSLER N, et al. Aberrant cell cycle progression and endoreplication in regenerating livers of mice that lack a single E-type cyclin[J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 691-703, 703.e1-6. DOI :10.1053/j.gastro.2009.05.003.
- [19] SONNTAG R, GIEBELER N, NEVZOROVA Y A, et al. Cyclin E1 and cyclin-dependent kinase 2 are critical for initiation, but not for progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(37): 9282-9287. DOI: 10.1073/pnas.1807155115.
- [20] YU Y Q, WENG J, LI S Q, et al. MiR-675 promotes the growth of hepatocellular carcinoma cells through the Cdc25A pathway [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2016, 17(8): 3881-3885.
- [21] ZHU X, WU L, YAO J, et al. MicroRNA let-7c inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest by targeting CDC25A in human hepatocellular carcinoma[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124266 [2019-12-010]. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4409336/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4409336/). DOI: 10.1371/journal.pone.0124266.
- [22] JEFFERY J, SINHA D, SRIHARI S, et al. Beyond cytokinesis: the emerging roles of CEP55 in tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2016, 35(6): 683-690. DOI: 10.1038/ncr.2015.128.
- [23] ZHAN L, HUANG C, MENG X M, et al. Promising roles of mammalian E2Fs in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(5): 1075-1081. DOI: 10.1016/j.cellsig.2014.01.008.
- [24] TAO H C, WANG H X, DAI M, et al. Targeting SHCBP 1 inhibits cell proliferation in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(10): 5645-5650. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.10.5645.
- [25] XU P, ZHANG X B, NI W K, et al. Upregulated HOXC8 expression is associated with poor prognosis and oxaliplatin resistance in hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60(11): 3351-3363. DOI: 10.1007/s10620-015-3774-x.
- [26] TENG Y, FAN Y C, MU N N, et al. Serum SOX11 promoter methylation is a novel biomarker for the diagnosis of hepatitis b virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(3): 419-426. DOI: 10.4149/311\_151029N552.
- [27] MONNIER J, PIQUET-PELLORCE C, FEIGE J J, et al. Prokineticin 2/Bv8 is expressed in Kupffer cells in liver and is down regulated in human hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(8): 1182-1191. DOI: 10.3748/wjg.14.1182.
- [28] LIU H J, WANG Y R, CHEN B, et al. Effects of lidocaine-mediated CPEB3 upregulation in human hepatocellular carcinoma cell proliferation in vitro[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 8403157. DOI: 10.1155/2018/8403157.
- [29] TANG H, ZHANG J, YU Z, et al. Mir-452-3p: A potential tumor promoter that targets the cpeb3/egfr axis in human hepatocellular carcinoma[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2017, 16(6): 1136-1149. DOI: 10.1177/1533034617735931.

[收稿日期] 2020-01-08

[修回日期] 2020-04-12

[本文编辑] 韩丹