

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.02.026

肝内胆管细胞癌与肝细胞癌 miRNA 相关级联调控网络及通路研究*

郭鹏展 刘 畅 刘世杰 孙晓媚 石雁梅[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院群力院区肝病科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的: 分析肝内胆管细胞癌 (ICC) 与肝细胞癌 (HCC) 患者肝组织小非编码 RNA (MicroRNAs, miRNA)、转录因子 (Transcription factor, TF) 和信使 RNA (messenger, mRNA) 的级联调控网络, 探讨关键 miRNA 和 TF 相关的级联调控网络以及调控通路的作用。**方法:** 下载 GEO (GSE57555) miRNA/mRNA 表达谱芯片数据, 通过生物信息数据分析方法获得肝细胞癌患者和癌旁组织显著差异的 miRNA、mRNA 表达谱, 并依据现已知的实验证实的 miRNA、TF 和靶基因间的调控关系构建级联调控背景网络。通过 ICC 和 HCC 各自差异表达的 miRNA 和 mRNA 挖掘出疾病特异的级联调控网络。继而分析级联调控网络中的 mRNA 参与的 GO、KEGG 以及挖掘网络中重要的级联调控通路识别通路内的关键调控元件。**结果:** 构建的 ICC 级联调控网络内的度最大的节点主要为 miRNA (has-miR-200b-3p, hsa-miR-155-5p), 而 HCC 级联调控网络内度最大的节点为 TF, 而且网络中包含关键的已知疾病相关基因 TP53、CTNNB1, 无论是 miRNA 还是 TF 都是和相应疾病密切相关的。ICC 和 HCC 级联调控网络中的 mRNA 主要参与的 GO 功能有 RNA 聚合酶 II 的调控、表达调控、凋亡过程调控等; KEGG 信号通路主要有癌症相关 miRNA 通路、乙型肝炎通路、癌症通路等。共挖掘出 12 条疾病特异的级联调控通路, 识别出 ICC 相关通路内关键的调控因子为 MYC、hsa-miR-320b, HCC 相关通路内的关键调控因子为 hsa-miR-124-3p、HMGA1。**结论:** TP53、MYC、HMGA1、has-miR-200b-3p、hsa-miR-155-5p 和 hsa-miR-124-3p 为 ICC 和 HCC 级联调控网络内的核心调控元件, 在 ICC 和 HCC 相关的肝细胞癌发生、发展中具有关键作用, 有望为未来的 ICC 和 HCC 相关研究提供新思路和新方向。

关键词: 肝内胆管细胞癌; 肝细胞癌; 乙型肝炎; 级联调控网络; 级联调控通路

中图分类号: R735.7; R-058 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273 (2018) 02-309-07

MiRNA Associated Regulatory Network and Pathway Analysis in Intrahepatic Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma*

GUO Peng-zhan, LIU Chang, LIU Shi-jie, SUN Xiao-mei, SHI Yan-mei[△]

(Department of Hepatopathy Diseases, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the roles of cascade regulatory networks and cascade regulatory pathways associated with key miRNAs and TFs, we analyzed the cascade regulatory network of small non-coding RNA (miRNA), transcription factor (TF) and messenger RNA (mRNA) in the intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) and hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods:** The miRNA / mRNA microarray data were downloaded from GEO (GSE57555), including surgically resected hepatocellular carcinoma (HCC) samples and surrounded non-tumor samples, and cholangiocarcinoma (CCC) samples and surrounded non-tumor samples. Then using the experiments confirmed regulation relationships between miRNAs, TF and target genes to construct the background cascade regulatory network. Differentially expressed miRNAs and mRNAs were identified in ICC and HCC to discover disease-specific cascade regulatory networks, respectively. Then we performed GO and KEGG enrichment analyses for mRNAs involved in the cascade regulation network. Moreover, we explored the crucial cascade regulatory pathways in the cascade network and identified the key regulators in the cascade regulatory pathways. **Results:** The node with highest degree in the ICC cascade network was one ICC-related miRNA (hsa-miR-155-5p), and the hub nodes in the HCC cascade network also included one HCC-related TF (TP53). The mRNAs in the ICC and HCC cascade regulation networks were mainly enriched in the biological processes of RNA polymerase II, regulation of expression, regulation of apoptosis process and cancer-related miRNA pathway, hepatitis B pathway and cancer pathway. Finally, 12 disease-specific cascade regulatory pathways were identified. The key regulators of ICC-related pathways were MYC and hsa-miR-320b. The key regulators of HCC-related pathways were hsa-miR-124-3p and HMGA1. **Conclusion:** TP53, MYC, HMGA1, has-miR-200b-3p, hsa-miR-155-5p and hsa-miR-124-3p were key regulators in the ICC and HCC cascade regulatory networks. They played an important role in the development of hepatocellular carcinoma. This study is expected to provide new ideas and new directions for the future therapeutic strategy of ICC and HCC.

* 基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究面上项目 (11541214)

作者简介: 郭鹏展 (1984-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 肝脏疾病, E-mail: gguopengzhan@126.com

[△] 通讯作者: 石雁梅, 博士研究生, 主任医师, 主要研究方向: 肝脏疾病, E-mail: symhrb@126.com

(收稿日期: 2017-11-21 接受日期: 2017-12-13)

Key words: Intrahepatic cholangiocarcinoma; Hepatocellular carcinoma; Hepatitis B virus; Cascade regulatory network;

Cascade regulatory pathway

Chinese Library Classification(CLC): R735.7; R-058 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2018)02-309-07

前言

肝内胆管细胞癌(ICC)是最为常见的肝脏癌症之一,占全部肝脏恶性肿瘤的 10-25%^[1,2],影响 ICC 发生和发展的因素众多,肝硬化、乙型肝炎和丙型肝炎等均为风险因素。由于 ICC 的发病迅速治愈难度高导致全球范围内患者增速迅猛。手术切除和肝移植是目前最佳的 ICC 的治疗手段,但是对于已经发生癌症转移的患者不适合手术治疗。肝细胞癌(HCC)是目前世界上第二大的致死性癌症^[3],三分之一的肝细胞癌患者处于癌症晚期,平均生存时间仅为 6-12 个月^[4]。索拉非尼目前被用于治疗晚期肝癌,但据相关文献报道其治疗效果并不显著,患者的生存时间的平均中位数仅为 3 个月,而且很多治疗肝癌的药物的副作用巨大也是患者无法忍受的,患者不得不放弃药物治疗^[5]。无论是 ICC 还是肝细胞癌都给患者和其家庭带来了极大的痛苦,但目前它们的发病机制并不是很清晰。

MicroRNAs(miRNA)是一类小的非编码的 RNA,目前研究认为 miRNA 是通过和编码蛋白的 mRNA 的 3' 非翻译区(3'UTRs)相互作用,从而抑制或者降解 mRNA,致使 mRNA 的表达下降,起到调控 mRNA 表达的作用。最近很多研究表明 miRNA 和 mRNA 的相互作用,以及其表达的异常与肝癌的发生发展密切相关^[6,7],但是对于转录因子(transcription factor, TF)、miRNA 和靶基因的级联调控对肝癌的影响的研究还处于初级阶段。本文通过对 GEO(GSE57555)^[8]数据库中的 ICC 和 HCC 表达数据进行分析、挖掘,构建了两种癌症相关的级联调控网络,并且挖掘了网络内重要的级联调控通路,识别了与两种疾病密切相关 miRNA 和 mRNA。

1 材料和方法

1.1 miRNA 和 mRNA 芯片表达谱数据选择

通过美国的生物信息中心的基因表达平台 GEO(Gene Expression Omnibus)数据库,下载了数据集 GSE57555,数据包含 10 个 ICC 的患者和 6 个 HCC 的患者,并且每个患者都取了癌旁的组织做为对照样本,一共检测了 32 个疾病和正常样本的 miRNA 表达以及 mRNA 表达。这些数据分别进行差异表达分析,提取疾病特异的调控网络。

1.2 miRNA 和 mRNA 级联调控背景网络构建

构建级联调控背景网络就要获取 miRNA 对靶基因的调控关系、TF 对靶基因的调控关系以及 TF 对 miRNA 的调控关系,我们分别从 Transmir(version 1.2)^[9]、TRANSFAC^[10]以及 miRTarBase(version 7.0)^[11]三个数据获得了以上实验证实的调控信息。其中 TRANSFAC 数据库包含 5826 条调控关系,TRANS-MIR 数据库包含 746 条调控关系,miRTarBase 包含了 13866 条调控关系。

由于各个数据库对 miRNA 和 mRNA 的命名有所差异,我们使用 miRBase^[12,13]数据库内的成熟 miRNA 对成熟 miRNA

和前体 miRNA 进行统一命名。然后去除三个数据库内的数据重复项,得到了 miRNA 和 mRNA 级联调控背景网络构建。

1.3 筛选差异表达 miRNA 和 mRNA

首先对从 GEO 数据库下载的表达谱数据进行预处理。通过 miRNA 芯片的平台数据信息(GPL18044)以及 mRNA 的平台数据信息(GPL16699)对现有表达谱进行处理,将探针对应到相应的 miRNA 和 mRNA 上。当多个探针对应到一个 miRNA 或 mRNA 时,取多个探针的均值作为 miRNA 或者 mRNA 的表达值。最终得到了 ICC 的 miRNA 和 mRNA 表达谱以及 HCC 的 miRNA 和 mRNA 表达谱。

对四个表达谱进行差异表达分析,使用的是 R 语言中的 limma 和 samr 包,然后选取 P 值小于 0.001 的 miRNA 或 mRNA 作为差异表达的 miRNA 或 mRNA。

1.4 ICC 与 HCC 特异的调控网络构建

选取 ICC 与 HCC 内差异表达的 miRNA 和 mRNA,提取级联调控背景网络中与差异表达 miRNA、mRNA 直接相连的基因,这些差异表达基因以及直接相连的基因间形成的网络我们称之为疾病特异的调控网络。

1.5 GO、KEGG 富集分析

使用的富集工具 DAVID 进行功能富集,我们选取疾病特异的级联调控网络内的 mRNA 进行 GO 的 BP 分支以及 KEGG 生物学通路的富集分析。

1.6 级联调控通路挖掘

从疾病特异的调控网络中挖掘出每条调控通路,每条级联调控通路都是从网络的根节(入度为 0)点开始到网络的叶子节点(出度为 0)结束,并且删除小于三个点相连的级联调控通路。例如网络调控关系为 1→2;1→3;2→3;3→4;2→5。那么我们会挖掘出 1→2→3→4;1→2→5;1→3→4 三条级联调控通路,该算法基于深度优先思想优化后实现^[14]。

1.7 疾病相关级联调控通路挖掘

从 mir2disease^[15]、HMDD^[16]和 DiGenet^[17,18]数据库获取两种疾病相关的 miRNA 和 mRNA,对于两种疾病的每一条级联调控通路内的基因与目前疾病数据库内的 miRNA 和 mRNA 进行超几何检验,计算每条通路内的基因是否显著的富集了疾病相关基因,进一步挖掘出疾病相关的级联调控通路。超几何检验方法 P 值计算公式如下,Y 为通路内已知致病 miRNA 或 mRNA 数量,K 为疾病特异级联调控网络内节点数量,M、N 分别为通路长度和已知疾病相关 miRNA 和 mRNA 数量:

$$P = 1 - \sum_{t=0}^Y \frac{\binom{M}{t} \binom{K-M}{N-t}}{\binom{K}{N}}$$

2 结果

2.1 miRNA-mRNA-TF 级联调控背景网络分析

整合 miRTarBase、TANRSFAC 和 TransmiR 三个数据库中的调控信息,并且对数据进行标化后得到一个包含 5311 个节点,15386 条调控关系的网络,其中 miRNA 有 1064 个、靶基因有 3432 个、转录因子有 815 个。级联调控背景网络平均通路长度为 4.576,平均邻居节点数量为 5.994。

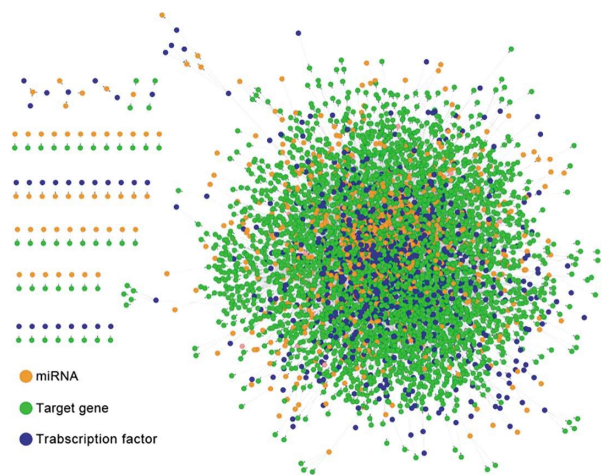


图 1 miRNA-mRNA 级联调控背景网络

Fig. 1 miRNA-mRNA background regulatory network

注:橙色的点代表 miRNA,绿色的点代表靶基因,蓝色的点代表 TF,箭头表示两点之间的调控方向。

Note: The orange points denote miRNA, the green point denotes target gene, the blue point denotes TF, and the arrow indicates the direction of regulation.

2.2 疾病特异级联调控网络

通过差异表达分析我们发现 ICC 中有共有 268 个差异表达的 miRNA 和 mRNA, HCC 中有共有 59 个差异表达的 miRNA 和 mRNA, 用差异表达的 miRNA 和 mRNA 构建 ICC 和 HCC 特异的调控网络。其中 ICC 网络包含 869 个节点, 1109 条调控关系的网络, 其中 miRNA 有 51 个、靶基因有 741 个、转录因子有 25 个。级联调控背景网络平均通路长度为 4.827, 平均邻居节点数量为 2.505。ICC 特异的疾病调控网络中 has-miR-200b-3p、hsa-miR-155-5p、has-miR-21-5p 是网络最大的 hub 节点, 其中 has-miR-21-5p 和 has-miR-200b-3p 是目前已经报道的 ICC 致病的 miRNA^[19-21]。

HCC 疾病特异级联调控网络包含 829 个节点, 1055 条调控关系, 其中 miRNA 有 257 个、靶基因有 407 个、转录因子有 165 个。级联调控背景网络平均通路长度为 2.327, 平均邻居节点数量为 2.534。ICC 特异的疾病调控网络中 TP53、CTNNB1、MET 和 PIK3CA 等基因都是目前已经报道的 HCC 的致病基因^[22, 23]。

2.3 疾病特异级联调控网络中 mRNA GO 功能、KEGG 通路分析

ICC 特异级联调控网络的 mRNA 主要富集在启动子区域的 RNA 聚合酶 II 正向调控转录(positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、调控基因表达(positive regulation of gene expression)、凋亡过程的负向调节(negative regulation of apoptotic process)等生物学过程。同时这些 mRNA 富集在了癌症相关 miRNA (MicroRNAs in cancer)、乙型肝炎炎

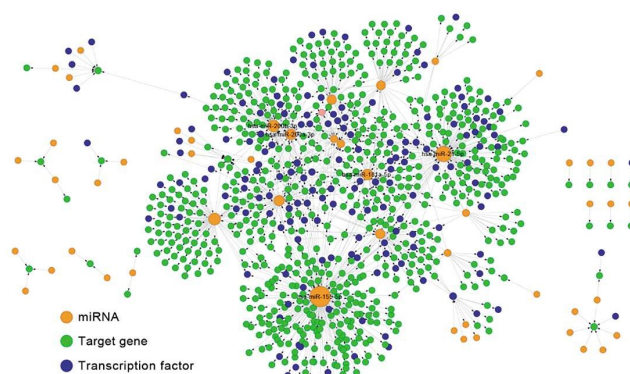


图 2 ICC 特异的 miRNA-mRNA 级联调控网络

Fig. 2 ICC-specific miRNA-mRNA regulatory network

注:橙色的点代表 miRNA,绿色的点代表靶基因,蓝色的点代表 TF,箭头表示两点之间的调控方向。圆形点越大代表其调控或者被调控的节点越多。

Note: The orange points denote miRNA, the green point denotes target gene, the blue point denotes TF, and the arrow indicates the direction of regulation. The larger the point is, the more the nodes are regulated or regulated.

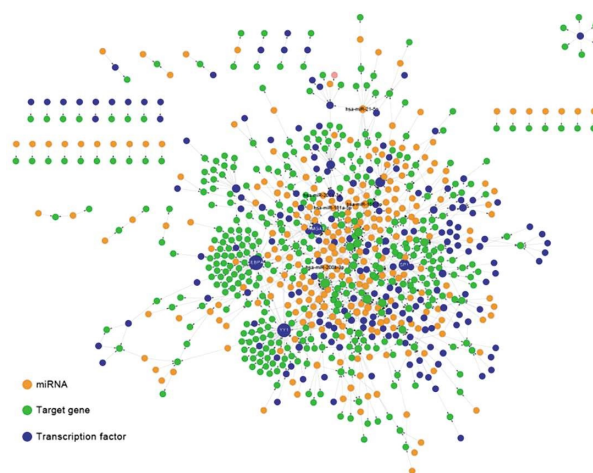


图 3 HCC 特异的 miRNA-mRNA 级联调控网络

Fig. 3 HCC-specific miRNA-mRNA regulatory network

注:橙色的点代表 miRNA,绿色的点代表靶基因,蓝色的点代表 TF,箭头表示两点之间的调控方向。圆形点越大代表其调控或者被调控的节点越多。

Note: The orange points denote miRNA, the green point denotes target gene, the blue point denotes TF, and the arrow indicates the direction of regulation. The larger the point is, the more the nodes are regulated or regulated.

(Hepatitis B)、癌症通路(Pathways in cancer)和 HTLV-I 感染(HTLV-I infection)等 KEGG 通路上。

GO 功能分析发现 HCC 特异的级联调控网络中的 mRNA 主要参与启动子区域的 RNA 聚合酶 II 正向调控转录(positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter)、药物应答(response to drug)、凋亡过程的负向调节(negative regulation of apoptotic process)以及血液凝固(blood coagulation)等多项生物学过程。在 KEGG 通路富集方面我们发现, HCC 特异

的网络内的 mRNA 主要富集在癌症相关 miRNA (MicroRNAs in cancer)、乙型肝炎 (Hepatitis B) 和肺结核 (Tuberculosis) 等

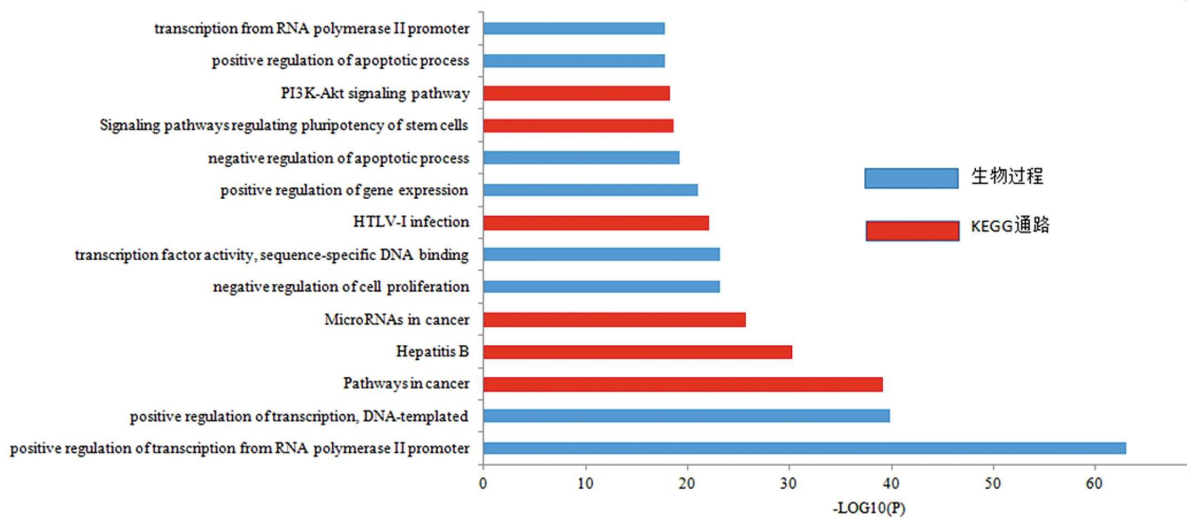


图 4 ICC 特异的 miRNA-mRNA 级联调控网络功能富集

Fig. 4 Function enrichment of ICC-specific miRNA-mRNA cascade regulatory network

注: 蓝色柱代表富集的 GO 生物过程, 红色柱代表富集的 KEGG 通路。横坐标为 FDR 校正后的 P 值。

Note: The blue bands denote enriched GO biological process, and the red bands denote enriched KEGG pathways. The X axis values are adjusted p value of FDR.

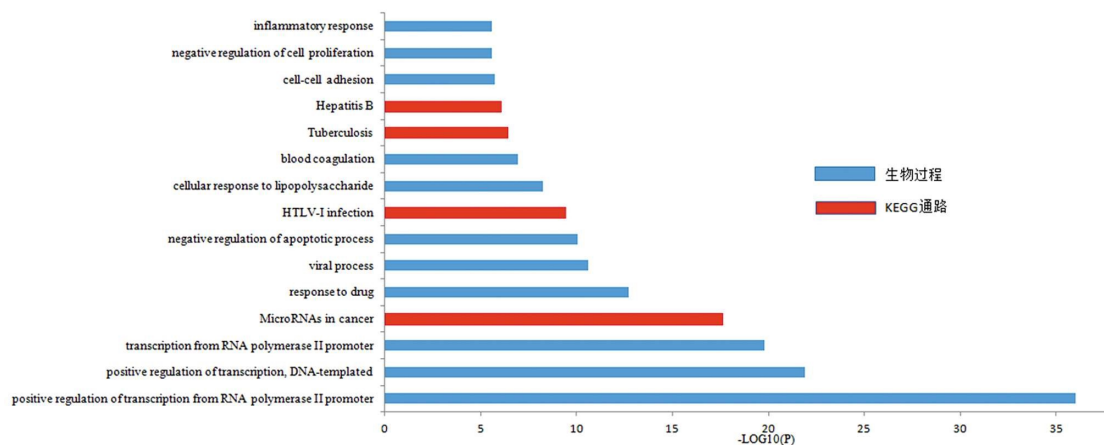


图 5 HCC 特异的 miRNA-mRNA 级联调控网络功能富集

Fig. 5 Function enrichment of HCC-specific miRNA-mRNA regulatory network

注: 蓝色柱代表富集的 GO 生物过程, 红色柱代表富集的 KEGG 通路。横坐标为 FDR 校正后的 P 值。

Note: The blue bands denote enriched GO biological process, and the red bands denote enriched KEGG pathways. The X axis values are adjusted p value of FDR.

两个疾病特异的富集结果显示, 相关的 GO 功能以及 KEGG 通路富集结果说明疾病特异的 ICC 和 HCC 网络的 mRNA 参与调控肝癌的发生与发展等过程, 同时也富集到疾病相关的并发症上, 并且识别出了 miRNA 在疾病特异网络内的关键作用。两个网络的富集结果共享大量的 GO 功能以及 KEGG 通路, 我们认为两种疾病共享的信息决定了肝癌的发生发展。

2.4 疾病相关级联调控通路

通过深度优先算法获得了每个疾病内的所有级联调控通路, 去除两点直接相连的通路后, ICC 网络内挖掘出 27 条级联

调控通路, HCC 网络内挖掘出 1280 条级联调控通路, 我们使用超几何检验的方法对已知调控通路进行检验, 筛选出通路内显著富集疾病相关 miRNA 或者 mRNA 的通路。最终我们分别得到了 3 条和 9 条显著和疾病相关的级联调控通路 (见表 1)。

ICC 疾病特异的调控通路中, MYC 扮演着重要的角色, 很多研究中已经发现肝组织 MYC 的异常与胆汁阻塞关系密切, 从而导致肝癌的发生发展^[24, 25]。MYC 作为转录因子, 调控众多基因的表达, 从而达到了对肝脏的调控作用^[26]。我们的研究发现在 ICC 中 MYC 主要是由 hsa-miR-320b 调控的, 我们也推测 MYC 是通过调控其他 miRNA 的表达实现调控 ICC 发生发展

表 1 疾病相关的级联调控通路
Table 1 Disease related regulatory pathways

	通路信息	P 值(<0.05)
ICC	hsa-miR-320b→MYC→hsa-let-7e-5p	0.0399
ICC	hsa-miR-320b→MYC→hsa-let-7i-5p	0.0399
ICC	hsa-miR-320b→MYC→hsa-miR-23a-3p	0.0399
HCC	hsa-miR-124-3p→HMGA1→hsa-miR-29a-3p	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→HMGA1→PTGS2	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→HMGA1→hsa-miR-29a-5p	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→CEBPA→hsa-miR-29b	0.0030
HCC	hsa-miR-370-3p→CTNNB1→hsa-miR-373-3p	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→CEBPA→PTGS2	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→CEBPA→hsa-miR-29a-3p	0.0030
HCC	hsa-miR-370-3p→CTNNB1→hsa-miR-373-5p	0.0030
HCC	hsa-miR-124-3p→CEBPA→hsa-miR-29a-5p	0.0030

的功能,这些潜在的发挥功能的 miRNA 可能是 hsa-let-7e-5p、hsa-let-7i-5p、hsa-miR-23a-3p。在 HCC 中,我们发现 hsa-miR-124-3p、CTNNB1 等通路上游和中游的 mRNA 或 miRNA 均为已知的 HCC 相关基因,在 HCC 发生发展中起到至关重要的作用^[27, 28],我们认为正是由于这些基因的失调调控了下游通路内基因表达的异常,才导致了疾病的发生。这些目前还是未知的,需要将来生物学家进行进一步的研究加以验证。

3 讨论

肝癌已经成为世界上第二大致死类的癌症,目前大量的关于肝癌的研究已经帮助了很多早期肝癌的患者,但是对已经发展到晚期的肝癌患者目前还很难治愈。所以对于肝癌的致病机制的研究还需要不断的进行下去,同时也应当加大对癌症药靶位点的发掘,使肝癌患者早日脱离病痛的折磨^[29, 30]。

现如今国内外对肝细胞癌的研究取得了很多重要的成果,对帮助理解肝细胞癌的发病机制做出了巨大贡献,尤其是近年来关于非编码 RNA 对肝细胞癌影响的研究,目前国内外的非编码 RNA 的研究多为对单一的 miRNA 或是 lncRNA 进行研究^[31-34],发现关键的基因在肝细胞癌中的作用。关键的非编码 RNA 调控疾病相关通路达到致病的作用,关键的 miRNA 的敲除来判断 miRNA 的致病机制^[35, 36]。我们的研究是以已知的疾病特异的网络作为背景,在网络里挖掘疾病相关的最为关键的调控通路和关键的基因信息,不仅仅发现关键的调控因子,而且能发掘该基因的改变是由哪些基因引起的,它可以调控哪些基因从而而系统的行使调控疾病发生发展的功能。

本研究发现了很多目前国内外其他研究已经发现的肝细胞癌相关的基因,比如 MYC 和 hsa-miR-124-3p 对肝细胞癌的研究^[27, 28],我们发现这两个基因表达的异常是由上游的基因和 miRNA 调控导致的,这些上下游的基因的差异表达程度可能不及目前已经发现的这些疾病已知基因,但我们认为是这一系

列上下游基因的变化虽小,但是产生的累积效应才是最终导致疾病发生的原因。我们目前的研究只涉及了小的非编码 RNA (miRNA),并没有包含长非编码 RNA,现在很多研究发现 lncRNA 可以作为 miRNA 海绵和编码基因产生竞争关系^[37],从而调控编码基因的表达,这样就把 lncRNA 和 miRNA 进行了进一步的关联,更深入的研究多种非编码 RNA 对肿瘤的作用。我们未来的研究要把 lncRNA 整合进来,从更多的维度来解释疾病的致病机制。目前整理的疾病相关的调控背景网络是从各个已知的实验证实的数据库内整理而来,并没有预测算法得到的调控关系,我们未来可以把这些调控信息整理进来,开发模块挖掘方法从更复杂的关系网络挖掘出网络的核心模块,找出更多的更准确的疾病致病通路以及模块。MiRNA 作为关键肝癌发生发展中调控因子已经研究众多,如 miR-146a 的表达影响 ICC 患者的生存时间,miR-16 通过调控其他基因表达抑制肝癌细胞发展以及转移^[38-40]。在我们的研究中也发现了 HCC 级联调控通路内最为重要的 miRNA,hsa-miR-124-3p 在最终挖掘出的 9 条疾病相关通路内,7 条为以其最为初始调控节点的通路,而且 hsa-miR-124-3p 也是其他研究已经发现的 HCC 相关的重要 miRNA。在 ICC 中 has-miR-21-5p 为网络中度最大的节点之一,在网络内起到了至关重要的作用,并且该 miRNA 也已经被证实是 ICC 生物过程中的重要调控子。MiRNA 和靶基因间的调控关系是复杂的,多个 miRNA 可以调控同一个靶基因,一个 miRNA 也可以调控多个靶基因,在级联调控网络内,每一个节点都是整个调控通路中的重要一环,都是不可或缺的。要研究清楚每一步的作用机制,仍需要进一步的仔细研究。

很多研究已经发现肝癌的发生发展过程都和丙型肝炎感染和乙型肝炎感染密切相关^[41],我们的研究中也发现了 ICC 和 HCC 疾病特异的网络内的 mRNA 也富集到了乙型肝炎相关的致病通路上,由于目前数据限制,后续的工作要加入乙型肝炎的患者肝部 miRNA 和 mRNA 的表达谱,从级联调控通路层面分析肝炎到肝癌的关系。收集整理带有患者预后信息的表达数

据,使用研究发现的基因或通路对患者分类,然后进行患者的生存分析,获得生存结果后我们还可以结合药物调控基因表达的信息,探索哪些药物对疾病的治疗更有效。未来进行这些更进一步更深入的研究,帮助患者找到影响预后的关键因素,有针对性的发掘更适合患者使用的抗肿瘤药物,为患者及其家庭减轻痛苦。

参考文献(References)

- [1] Blechacz BR, Gores GJ. Cholangiocarcinoma [J]. Clinics in liver disease, 2008, 12(1): 131-150
- [2] Sharif AW, Williams HR, Lampejo T, et al. Metabolic profiling of bile in cholangiocarcinoma using in vitro magnetic resonance spectroscopy [J]. The official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association, 2010, 12(6): 396-402
- [3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2015, 65(2): 87-108
- [4] Giannini EG, Farinati F, Ciccarese F, et al. Prognosis of untreated hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2015, 61(1): 184-190
- [5] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma [J]. The New England journal of medicine, 2008, 359(4): 378-390
- [6] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. The MicroRNA let-7a modulates interleukin-6-dependent STAT-3 survival signaling in malignant human cholangiocytes [J]. The Journal of biological chemistry, 2007, 282(11): 8256-8264
- [7] Liu X, Lian B, Lin Y. Gene regulatory network of hepatocellular carcinoma: a review [J]. Chinese journal of biotechnology, 2016, 32(10): 1322-1331
- [8] Murakami Y, Kubo S, Tamori A, et al. Comprehensive analysis of transcriptome and metabolome analysis in Intrahepatic Cholangiocarcinoma and Hepatocellular Carcinoma [J]. Scientific reports, 2015, 5: 16294
- [9] Wang J, Lu M, Qiu C, Cui Q. TransmiR: a transcription factor-microRNA regulation database[J]. Nucleic acids research, 2010, 38(Database issue): D119-122
- [10] Matys V, Fricke E, Geffers R, et al. TRANSFAC: transcriptional regulation, from patterns to profiles [J]. Nucleic acids research, 2003, 31(1): 374-378
- [11] Chou CH, Chang NW, Shrestha S, et al. miRTarBase 2016: updates to the experimentally validated miRNA-target interactions database [J]. Nucleic acids research, 2016, 44(D1): D239-247
- [12] Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data[J]. Nucleic acids research, 2011, 39(Database issue): D152-157
- [13] Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data [J]. Nucleic acids research, 2014, 42(Database issue): D68-73
- [14] Zhang Y, Liu D, Wang L, Wang S, et al. Integrated systems approach identifies risk regulatory pathways and key regulators in coronary artery disease [J]. Journal of molecular medicine, 2015, 93(12): 1381-1390
- [15] Jiang Q, Wang Y, Hao Y, et al. miR2Disease: a manually curated database for microRNA deregulation in human disease [J]. Nucleic acids research, 2009, 37(Database issue): D98-104
- [16] Li Y, Qiu C, Tu J, et al. HMDD v2.0: a database for experimentally supported human microRNA and disease associations [J]. Nucleic acids research, 2014, 42(Database issue): D1070-1074
- [17] Pinero J, Queralt-Rosinach N, Bravo A, et al. DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes [J]. The journal of biological databases and curation, 2015, 2015: bav028
- [18] Pinero J, Bravo A, Queralt-Rosinach N, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants [J]. Nucleic acids research, 2017, 45(D1): D833-D839
- [19] Cahill S, Smyth P, Denning K, et al. Effect of BRAFV600E mutation on transcription and post-transcriptional regulation in a papillary thyroid carcinoma model[J]. Molecular cancer, 2007, 6: 21
- [20] Wiemer EA. The role of microRNAs in cancer: no small matter[J]. European journal of cancer, 2007, 43(10): 1529-1544
- [21] Selaru FM, Olaru AV, Kan T, et al. MicroRNA-21 is overexpressed in human cholangiocarcinoma and regulates programmed cell death 4 and tissue inhibitor of metalloproteinase 3 [J]. Hepatology, 2009, 49(5): 1595-1601
- [22] Wang G, Dong F, Xu Z, et al. MicroRNA profile in HBV-induced infection and hepatocellular carcinoma[J]. BMC cancer, 2017, 17(1): 805
- [23] Liu K, Lee J, Kim JY, et al. Mitophagy Controls the Activities of Tumor Suppressor p53 to Regulate Hepatic Cancer Stem Cells[J]. Molecular cell, 2017, 68(2): 281-292 e285
- [24] Berasain C, Fernandez-Barrena MG, Avila MA. New molecular interactions of c-Myc in cholangiocarcinoma may open new therapeutic opportunities[J]. Hepatology, 2016, 64(2): 336-339
- [25] Yang H, Li TW, Ko KS, et al. Switch from Mnt-Max to Myc-Max induces p53 and cyclin D1 expression and apoptosis during cholestasis in mouse and human hepatocytes[J]. Hepatology, 2009, 49(3): 860-870
- [26] Luscher B, Vervoorts J. Regulation of gene transcription by the oncoprotein MYC[J]. Gene, 2012, 494(2): 145-160
- [27] Wang W, Xu L, Liu P, et al. Blocking Wnt Secretion Reduces Growth of Hepatocellular Carcinoma Cell Lines Mostly Independent of beta-Catenin Signaling[J]. Neoplasia, 2016, 18(12): 711-723
- [28] Anwar SL, Albat C, Krech T, et al. Concordant hypermethylation of intergenic microRNA genes in human hepatocellular carcinoma as new diagnostic and prognostic marker [J]. International journal of cancer, 2013, 133(3): 660-670
- [29] Sulpice L, Rayar M, Boucher E, et al. Treatment of recurrent intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. The British journal of surgery, 2012, 99(12): 1711-1717
- [30] Sekiya S, Suzuki A. Intrahepatic cholangiocarcinoma can arise from Notch-mediated conversion of hepatocytes[J]. The Journal of clinical investigation, 2012, 122(11): 3914-3918
- [31] Zeng T, Wang D, Chen J, et al. AF119895 regulates NXF3 expression to promote migration and invasion of hepatocellular carcinoma through an interaction with miR-6508-3p [J]. Experimental cell research, 2017
- [32] Chen Q, Tian GD, Wang CC. Expression of lncRNA

- TCONS_00027978 in hepatocellular carcinoma and its influence on prognosis and survival [J]. European review for medical and pharmacological sciences, 2017, 21(24): 5655-5660
- [33] Yu Z, Lin X, Tian M, et al. microRNA196b promotes cell migration and invasion by targeting FOXP2 in hepatocellular carcinoma [J]. Oncology reports, 2018, 39(2): 731-738
- [34] Wu N, Zhang X, Li J, Gan Y. Targeting exosomal miRNA with pH-sensitive liposome coated chitosan-siRNA nanoparticles for inhibition of hepatocellular carcinoma metastasis [J]. Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society, 2015, 213: e82
- [35] Caviglia JM, Yan J, Jang MK, et al. MicroRNA-21 and Dicer are Dispensable for Hepatic Stellate Cell Activation and the Development of Liver Fibrosis[J]. Hepatology, 2017
- [36] Yang Y, Lin X, Lu X, et al. Interferon-microRNA signalling drives liver precancerous lesion formation and hepatocarcinogenesis[J]. Gut, 2016, 65(7): 1186-1201
- [37] Kong Q, Zhang S, Liang C, et al. LncRNA XIST functions as a molecular sponge of miR-194-5p to regulate MAPK1 expression in hepatocellular carcinoma cell [J]. Journal of cellular biochemistry, 2017
- [38] Han S, Wang D, Tang G, et al. Suppression of miR-16 promotes tumor growth and metastasis through reversely regulating YAP1 in human cholangiocarcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 56635-56650
- [39] Zhang RX, Zheng Z, Li K, et al. Both plasma and tumor tissue miR-146a high expression correlates with prolonged overall survival of surgical patients with intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Medicine, 2017, 96(44): e8267
- [40] Kwon H, Song K, Han C, et al. Epigenetic Silencing of miRNA-34a in Human Cholangiocarcinoma via EZH2 and DNA Methylation: Impact on Regulation of Notch Pathway [J]. The American journal of pathology, 2017, 187(10): 2288-2299
- [41] Lao X, Ren S, Lu Y, Yang D, et al. Genetic polymorphisms of C-reactive protein increase susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Guangxi male population [J]. International journal of clinical and experimental pathology, 2015, 8(12): 16055-16063

(上接第 391 页)

- [15] A Batarseh, V Papadopoulos. Regulation of translocator protein 18kDa (TSPO) expression in health and disease states[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2010, 1(2): 1-12
- [16] Lukas J Motloch, Jun Hu, Fadi G, et al. The mitochondrial translocator protein and arrhythmogenesis in ischemic heart disease [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2015: 234104
- [17] Yang L, Xu J, Minobe E, et al. Mechanisms underlying the modulation of L-type Ca^{2+} channel by hydrogen peroxide in guinea pig ventricular myocytes[J]. J Physiol Sci, 2013, 63(6): 419-426
- [18] Song YH, Cho H, Ryu SY, et al. L-type Ca^{2+} channel acilitation mediated by H_2O_2 -induced activation of CaMKII in rat ventricular myocytes[J]. Mol Cell Cardiol, 2010, 48(32): 773-780
- [19] Toischer K, Hartmann N, Wagner Set, et al. Role of late sodium current as a potential arrhythmogenic mechanism in the progression of pressure-induced heart disease [J]. Mol Cell Cardiol, 2013, 61(8): 111-122
- [20] Wu H, Shabala L, Zhou M, et al. Chloroplast-generated ROS dominate NaCl (-) induced K^{+} efflux in wheat leaf mesophyll[J]. Plant Signal Behav, 2015, 10(5): 1013793
- [21] Brennan JP, Bardswell SC, Burgoyne JR, et al. Oxidant- induced activation of type I protein kinase A is mediated by RI subunit interprotein disulfide bond formation[J]. Biol Chem, 2006, 281(112): 21827-21836
- [22] Wagner S, Ruff HM, Weber SL, et al. Reactive oxygen species-activated Ca/calmodulin kinase IIdelta is required for late I (Na) augmentation leading to cellular Na and Ca overload [J]. Circ Res, 2011, 108: 555-565
- [23] Johnston AS, Lehnart SE, Burgoyne JR, et al. Ca^{2+} signaling in the myocardium by (redox) regulation of PKA/CaMKII [J]. Front Pharmacol, 2015, 10(6): 166-174
- [24] Sossalla S, Maurer U, Schotola H, et al. Diastolic dysfunction and arrhythmias caused by overexpression of CaMKIIdelta (C) can be reversed by inhibition of late Na^{+} current [J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(2): 263-272