

综述

肝癌基因调控网络研究进展

刘湘琼^{1,3}, 连保峰^{2,3}, 林勇¹

1 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093

2 上海交通大学 附属第一人民医院, 上海 200240

3 上海生物信息技术中心, 上海 201203

刘湘琼, 连保峰, 林勇. 肝癌基因调控网络研究进展. 生物工程学报, 2016, 32(10): 1322–1331.

Liu XQ, Lian BF, Lin Y. Gene regulatory network of hepatocellular carcinoma: a review. Chin J Biotech, 2016, 32(10): 1322–1331.

摘要: 肝癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国常见的恶性肿瘤之一。肝癌基因调控网络 (HCC regulatory network, HCC GRN) 是研究肝癌分子机制的重要途径之一, 其节点包括肝癌相关的分子, 如 miRNA、TF 等, 网络的边由节点间相互作用关系构成。基于不同类型的数据构建的肝癌基因调控网络其类型及特征各有不同。综合近年来肝癌基因调控网络研究发现, 由 TF 与 miRNA 构建的肝癌转录调控网络更能揭露肝癌关键基因, 反映关键基因在调控网络中的扰动情况。整合基因变异信息与调控网络成为研究肝癌基因调控网络的趋势, 但相应的研究几乎是空白的。本文从 HCC GRN 的数据来源、分类及特征, 及各类型调控网络的近年研究情况等方面进行综述, 并结合相关研究工作对肝癌基因调控网络研究现状进行分析与讨论, 对前景进行展望, 为这一领域研究工作提供参考。

关键词: 肝癌, 基因调控网络, 转录调控网络, 基因变异

Gene regulatory network of hepatocellular carcinoma: a review

Xiangqiong Liu^{1,3}, Baofeng Lian^{2,3}, and Yong Lin¹

1 School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

2 Affiliated First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China

3 Shanghai Center for Bioinformatics Technology, Shanghai 201203, China

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the common malignant tumors. HCC gene regulatory network (HCC

Received: January 19, 2016; **Accepted:** March 3, 2016

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 81402581, 31301092).

Corresponding author: Yong Lin. Tel: +86-21-55271081; E-mail: yong_lynn@163.com

国家自然科学基金 (Nos. 81402581, 31301092) 资助。

GRN), whose nodes consist of genes, miRNAs or TFs and whose edges consist of interaction relationships of nodes, is one of the important ways to study molecular mechanism of HCC. Based on various experimental data, types of HCC GRNs could be conducted such as TF-miRNA regulatory network. Integrating the studies of HCC GRN, TF-miRNA transcriptional regulatory network performs better in identifying core genes which play important roles in network disturbances. It is a trend that gene variations and transcriptional regulatory networks should be combined, however the corresponding research is almost blank. This review summarizes the source of HCC data sources, the classification, character, and research program of HCC GRN. Finally, according to present analysis and discussion of progress and research status of HCC GRN, we provide a useful reference for researchers.

Keywords: hepatocellular carcinoma, gene regulatory network, transcriptional regulatory network, gene variation

原发性肝癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 简称肝癌, 是我国常见恶性肿瘤之一, 在全球频繁发生癌症的死亡率中排第 3 位, 其发病原因通常与特定风险因素相关, 包括乙肝或丙肝感染, 高酒精摄入量, 或肥胖引起的脂肪肝等^[1], 且在肿瘤发生发展过程中, 与其相关的关键基因在癌症不同阶段中表达具有差异性。由此看出肝癌发生发展不仅受到差异基因作用, 还受到多种因素造成的基因改变积累及基因相互作用影响, 是一种多基因复杂疾病。因此, 在研究肝癌相关基因的基础上, 进一步研究其基因间相互作用关系十分必要。生物学研究也表明, 基因及其产物并非单独起作用, 而是参与在复杂的、相互联系的通路、网络和分子系统中, 它们之间相互作用、相互影响^[2]。在肝癌研究中, 肝癌基因调控网络 (HCC gene regulatory network, HCC GRN) 形象地描述了肝癌基因间相互关系, 可以帮助寻找与肝癌密切相关的关键基因, 为了解肝癌致病机理提供新线索^[3]。

1 HCC GRN 数据来源

构建肝癌基因调控网络的数据主要为: 染

色质免疫沉淀 (Chromatin immunoprecipitation assay, ChIP) 实验数据, 基因表达谱, 二代测序数据。如今二代测序技术蓬勃发展, 基因组及转录组数据随之剧增, 为研究肝癌基因调控网络提供了更多信息。因此研究者们都倾向使用二代测序数据构建及研究肝癌基因调控网络^[4]。同时, 相应的数据库也很多, 常见的数据库有: TCGA (The Cancer Genome Atlas), ICGC (International Cancer Genome Consortium), GEO (Gene Expression Omnibus)。癌症基因组图谱数据库 TCGA 是由国家癌症研究所和国家人类基因组研究所及美国国立卫生研究院等共同完成, 旨在为研究者们提供一个数据下载、分析的平台。国际癌症基因组协会数据库 ICGC 收录了 50 种不同癌症类型或亚型的基因组、转录组等信息, 提供给研究者们查询癌症相关信息的平台。基因表达集数据库 GEO 是一个公开的功能基因组数据库, 供研究者查询及下载芯片数据等信息。这些数据库收集了肝癌相关的多种类型数据信息, 如基因甲基化、mRNA 表达谱、microRNA (miRNA) 表达谱、拷贝数变异、突变等大规模数据。本文将以上 3 种常见数据库收录的肝癌相关数据信息进行汇总 (表 1), 为研究者们提供参考。

2 HCC GRN 分类与特征比较

肝癌基因调控网络基于不同数据类型构建,使最终得到的网络类型也不同。肝癌基因网络中,一般以共表达基因 (Co-expression gene)、转录因子 (Transcription factor, TF)、miRNA、基因 (Gene) 或这些调控子的集合作为网络节点;基因间相互作用的关系则作为网络的边,从而构成基因网络^[5]。根据网络中调控子间相互作用的关系^[6-10],可以将肝癌调控网络分为3类:miRNA-gene 调控网络、TF-gene 调控网络、TF-miRNA 调控网络。此外,由共表达基因构成的共表达网络,对肝癌基因网络研究也具有十分重要的意义^[11]。因此本文将肝癌常

见的3种调控网络及共表达网络汇总(表2),并根据其不同的网络特征分类综述。

2.1 Co-expression 基因网络特征

Co-expression gene 网络即基因共表达网络。共表达基因具有相似生物功能,其产物也具有相似功能,但在亚细胞定位中,它们并不存在相同位置上^[12]。在共表达调控网络中,每个节点代表一个基因,若两节点上的基因在适当地选择组织样本上有显著的共表达现象,则这两个节点相连^[11]。通过分析基因共表达网络中具有相似功能的基因,可以寻找未知基因的功能,为发现新基因提供线索。因此基因共表达网络也越来越多地运用于系统生物水平上基因功能的研究。

表1 各数据库收录肝癌相关数据信息

Table 1 Various data of HCC in three databases

Database	Data type						Date last update (mm/dd/yy)	URL
TCGA	Exome	SNP	METH	mRNA	miRNA	Clinical	11/04/2015	http://cancergenome.nih.gov
	375	375	377	371	372	377		
ICGC	SSM	CNSM	METH	GE	miRNA		11/27/2015	https://icgc.org
	996	473	243	294	313			
GEO	GE	SNP	METH	NcRNA	GV			http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo
	662	13	45	110	60			

In TCGA database, 375 means 375 cases. In ICGC database, 996 means 996 donors. In GEO database, the number means the counts of DataSets and Series, for example 662 means the counts of 28 DataSets and 634 Series. There are some shorthand: SNP (Single nucleotide polymorphism), METH (Methylation), SSM (Simple somatic mutation), CNSM (Copy number somatic mutation), GE (Gene expression), NcRNA (Non-coding RNA), GV (Gene variation).

表2 肝癌基因网络分类

Table 2 The Classification of HCC gene network

Node	Relationship	Network type
Co-expression gene	Co-expression gene	Co-expression gene network
miRNA	miRNA-gene	miRNA-gene regulatory network
TF	TF-gene	TF-gene regulatory network
	TF-miRNA	TF-miRNA regulatory network

2.2 miRNA-gene 调控网络特征

miRNA 是一类具有调控功能的非编码 RNA, 长度为 18–25 个核苷酸。它们在肝癌细胞中常常是差异表达, 通过调控基因转录后表达来影响细胞进化、细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡等生物过程^[13]。miRNA 与其靶基因间调控关系为多对多, 如 1 个 miRNA 可能调控上千个 mRNA, 而 1 个 mRNA 可能调控多个 miRNA^[14]。miRNA-gene 调控网络基于这个理论建立, 意味 miRNA 不管在生理还是病理过程中的干扰或调控机制十分复杂。由于目前实验方法的局限性, 从 miRNA 与靶基因间的多层次调控关系中研究和发现 miRNA 的调控机制及其生物功能^[15]十分困难。而 miRNA-gene 调控网络在系统生物学的角度上提供了系统的、综合的观点, miRNA-gene 调控网络能够清晰地反映 miRNA 在网络中发挥的功能, 由此可以揭露其对肝癌基因的关键调控机制。

2.3 TF-gene 调控网络特征

TF-gene 调控网络描述的转录因子及其靶基因间调控关系, 是控制基因表达的中心环节, 也是基因表达的主要控制水平。根据生物中心

法则, DNA 转录为 RNA 后翻译为蛋白质, 该过程中的转录水平为基因变异常发阶段, 也是癌症高发期。因此 TF-gene 调控网络描述的转录因子与靶基因间的调控关系^[16], 能够帮助了解肝癌等癌症的发生机制或其关键基因对肝癌疾病的影响, 为临床诊断提供更多线索。

2.4 TF-miRNA 调控网络特征

TF-miRNA 调控网络主要描述转录因子与 miRNA 间调控关系。TF 是基因表达主要调控因子^[17], 可充当激活剂或抑制剂^[18]; miRNA 一般会抑制 mRNA 的表达^[13], 但 miRNA 仍在调控系统中处于关键位置^[19], 两者具有良好的调控靶基因表达的能力^[20-21], 是全局基因调控网络的主要调控因子。在 TF-miRNA 调控网络中, TF 与 miRNA 可以同时调控同一基因, TF 又可以在转录结合位点上游区域与顺式调控模式相互作用, 激活或抑制 miRNA 的表达, 从而间接调控靶基因的表达 (图 1)^[22]。在 TF-miRNA 调控网络中普遍认为 TF 起主要调控作用, miRNA 为辅助调控作用。研究发现 TF 与 miRNA 的协同作用普遍存在活细胞中, 通过 TF-miRNA 调控网络研究肝癌具有重要意义。

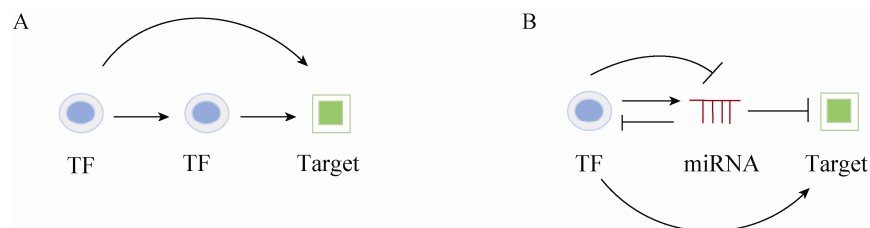


图 1 TF、miRNA、target gene 间的调控关系^[22]

Fig. 1 The relationship among TF, miRNA and target gene^[22]. (A) TF directly or indirectly regulate target gene. (B) TF inhibits or activates miRNA to regulate target gene. Meanwhile, miRNA inhibits TF to regulate target gene.

3 HCC GRN 研究进展

文中收集近年来肝癌基因调控网络的研究,不同类型的肝癌基因调控网络研究都取得了不同程度的进展。

3.1 Co-expression 基因网络研究

2009年Wong等研究发现TOP2A的高表达与病毒血管入侵有关^[23]。2008年Lin等研究含有247个肝癌样本分析案例中,ASPM在66%的样本中处于高表达状态,该现象也与病毒血管入侵有关^[24]。2011年Minguez等证实CDKN3为肝癌病毒血管入侵信号的一部分^[25]。这些研究阐释具有相似功能的基因都倾向于共同表达。2012年Drozdov等利用基因共表达网络研究肝癌。文中利用网络比较分析264个人类芯片数据,监控并记录肝脏分别在健康状态、肝硬化状态及肝癌状态下的变化,并用共表达基因构建肝癌基因相关性网络。通过网络分析得到几个在网络中连接程度较好的共表达基因,分别为ASPM、CDKN3、NEK2、RACGAP1、TOP2A,并发现NEK2与RACGAP1、ASPM与TOP2A、CDKN3与TOP2A分别具有较高的皮尔森相关系数值,其中TOP2A在肝癌中处于高表达状态^[12]。因此基因共表达网络可以通过一些未知基因的共表达功能性质来识别它们的生物特征角色,这对研究肝癌或其他癌症具有重要意义。

3.2 miRNA-gene 调控网络研究

2010年Burchard等通过构建96对肝癌肿瘤组织与非肿瘤组织的miRNA-gene调控网络,发现miR-122在肝癌中低表达,其参与调控的通路发生功能紊乱,并且miR-122可作为肝癌

的预后标记^[26]。miR-122调节线粒体的代谢,其下调可能损害肝脏关键功能,导致肝脏病人发病率及死亡率的提升。2012年Huang等通过构建miRNA-gene调控网络发现3个与细胞增殖相关的miRNA:miR-101、miR-199a-3p和miR-139-5p,这些miRNA显著富集于转录调控功能簇中,其中miR-101调控着多个肝癌细胞周期相关的基因^[27]。2014年Han等筛选表达显著上调的miRNA-224和表达下调的miRNA-214,分别构建它们与其靶基因间的调控网络,发现miR-224与miR-214与肝癌细胞内信号级联及信号传导通路相关,其中miR-214通过抑制肿瘤生长因子来抑制肿瘤的发生发展^[28]。2015年Zhang等通过miRNA-gene调控网络发现miR-19a直接靶向调控Cyclin D1,而miR-19a/Cyclin D1在肝癌靶向治疗和预后中起关键性作用^[29]。Ding等通过通路富集分析和miRNA-gene调控网络研究肝癌干细胞,发现与其相关的肿瘤入侵、转移通路以及MAPK信号转导^[30]。通过这些研究发现,miRNA-gene调控网络相比传统的实验方法,更容易揭露miRNA在生物过程中的调控机制,为研究肝癌疾病提供有利线索。

3.3 TF-gene 调控网络研究

2006年Zindy等^[31]建立TF-gene调控网络发现两个重要主节点P53和Jun,这2个因子在肝癌中为重要转录调控因子^[32-33],此外还发现连接在两者之间的关键调控因子MEN1,该因子直接调控肿瘤中相关蛋白质^[34]如JunD,并推断其在基因调控网络中主要影响肝硬化和肝癌演化过程。2009年Tomaru等^[35]利用Matrix RNAi(Matrix RNA interference)方法建立TF-gene调控网络发现肝癌细胞核内因子

(Hepatocyte nuclear factors, HNFs) 与其他转录因子间的交叉反应, 这些转录因子在肝脏及肝细胞中具有关键调控作用, 同时发现干扰转录因子的分层调控流线: (FOXA1, RXRA)→TCF1→(HNF4A, ONECUT1)→(RORC, CEBPA)。2012年 Zhu 等基于样本转录数据及动态级联方法构建肝癌动态基因调控网络, 观察肝癌不同阶段的网络连通性, 如当置信域为 0.5 时, 正常肝脏、肝硬化、肝脏异常、肝癌早期、肝癌中期的网络连通性分别为 143、86、76、64、79, 以此推断肝脏在健康状态时基因调控处于较稳定状态, 类似的, 肝癌早期的低网络连通性说明肝癌基因进化速度要高于肝癌的其他阶段^[36]。2014年 Li 等在 TF-gene 调控网络中整合肝内胆管癌 (ICC) 的拷贝数变异 (CNV) 数据, 发现 33 个富集在 ICC 相关信号通路中的模块, 并证实 CNV 通过定位节点基因的位点或调控因子来干扰信号通路^[37]。通过 TF-gene 调控网络可以发现关键转录因子及其在疾病中的关键调控机制, 为研究肝癌提供新线索, 且 Li 等的研究突破了仅基于基因表达数据信息构建调控网络的方法, 将拷贝数变异信息融入 TF-gene 调控网络, 为研究肝癌等疾病提供新思路。

3.4 TF-miRNA 调控网络研究

2012年 Zeng 等构建由 TF 与 miRNA 组成的肝癌转移网络和肝癌非转移网络, 识别出 miR-16、miR-30a、Let-7e 以及 miR-204 为导致肝癌转移的关键 miRNA 调控因子^[38]。2015年 Lin 等通过 TF-miRNA 调控网络发现与癌症高度相关的调控反馈回路, 其中 STAT1 与 miR-155-5p 调控反馈回路中与调控肿瘤生物过程相关的功

能在 7 种癌症中都处于激活状态, 这种反馈回路的失衡对致癌有重要影响^[39]。因此, 通过 TF-miRNA 调控网络可以了解生物过程中主要调控因子, 即 TF 与 miRNA 的调控作用及其对肝癌等癌症的关键影响作用, 促进对肝癌进一步了解。

4 HCC GRN 研究现状分析与思考

纵观基于基因表达谱的肝癌疾病研究, 其发展经过几个阶段的演化: 首先是单基因谱, 它简单明了, 不管是针对肝癌诊断样本, 预测结果还是预后, 多数基因列表已被报道, 然而要解释单基因的功能范畴还是十分艰难; 其次是网络构建和功能注释, 网络分析使得基因结构化分组, 且挖掘功能模块有助于发现下一步肝癌研究重点, 相比较单基因谱是一个很大的进步; 接着是网络中心节点的扰动影响, 肝癌转录调控网络是肝癌网络研究的热点, 但由于网络中的功能模块可能仍然是分散的, 彼此不相连的, 试图寻找网络中的因果干扰仍是很多计算生物学的主要目标。而 TF-miRNA 调控网络中 TF 与 miRNA 都是基因表达调控中主要的调控子, 该网络中反映的调控机制更容易发现肝癌关键基因及其扰动情况, 这对肝癌调控网络的研究具有重大的促进作用。

然而从肝癌转录调控网络中去识别可能的因果干扰关系的研究, 虽然对肝癌研究有重要意义, 但将肝癌变异信息与调控网络整合的研究几乎空白。随着高通量技术不断发展, 二代测序技术广泛运用, 基因组和转录组^[40-41]等多组学数据大量涌现, 尤其是单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 芯片的发展和拷贝数变异 (Copy number variation,

CNV) 数据的增加, 针对肝癌基因调控网络的研究不再仅仅基于一般性的基因表达数据, 结合基因组及转录组分析将会变得越来越普遍。2013 年 Sia 等将第二常见的肝癌——肝内胆管癌 (Intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 样本基因表达信息与 CNV 整合分析, 并将样本分成两组: 增殖组和炎症组^[42]。本课题组在此基础上构建了 CNV-ICC-TRN, 并识别出包含 CNV 信息的关键转录模块, 此外通过整合分析

调控模块与 KEGG 信号通路, 发现基因变异扰动会发生在通路组件上 (图 2)^[37]。该研究不仅关注信号通路中的基因变异信息, 还扩展到通路以外的基因变异信息。本课题组将计划进一步把 SNP 信息整合入转录调控网络, 由于 SNP 更特定的影响基因, 通过定位肝癌相关 SNP 位点, 能够进一步了解肝癌发生机制。因此, 整合肝癌基因变异信息与其调控网络的研究将成为趋势。

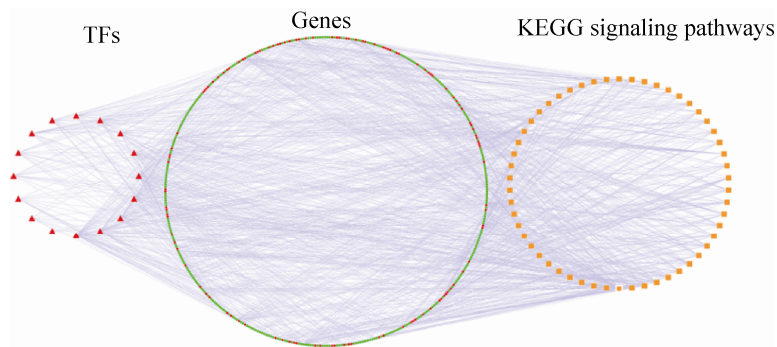


图 2 CNV-ICC-TRN 与 KEGG 信号通路综合分析^[37]

Fig. 2 Integrative analysis of CNV-ICC-TRN and KEGG signaling pathways^[37]. Integrated network of CNV-ICC-TRN and KEGG signaling pathways. Triangle represents TF, circle represents gene and rectangle represents signaling pathway; red color means gene inside CNV region, green color means gene outside CNV region.

5 展望

随着技术的发展, 越来越多的基因变异信息如 SNP、染色体转置、CNV 等等, 利用多中心多组学数据构建肝癌基因转录调控网络, 结合已有数据库整理出与肝癌相关的变异信息, 构建变异信息与肝癌基因间的调控关系网络, 并深入分析由这些变异导致网络关系的变化, 将会促使我们更深层次地了解肝癌致病机理。随着药物靶标数据库的增加, 新药物发展战略的提升, 整合基因变异信息与转录调控网络的

生物信息分析方法也将使实验数据更接近可能的临床干预, 为肝癌靶向治疗提供更有力的理论支持。

REFERENCES

- [1] Zhang YN, Qiu ZP, Wei L, et al. Integrated analysis of mutation data from various sources identifies key genes and signaling pathways in hepatocellular carcinoma. PLoS ONE, 2014, 9(7): e100854.
- [2] Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, et al. A vision for the future of genomics research. Nature,

- 2003, 422(6934): 835–847.
- [3] Tan WF, Luo XJ, Qiu ZQ, et al. Genes differentially expressed analysis in samples of hepatocellular carcinoma and bile duct tumor thrombi//China Association of Biliary Tract Tumor Professional Committee Meeting and the First National Conference on Biliary Tract Tumor Academic. Tianjin: Chinese Anticancer Association, 2009 (in Chinese).
谭蔚锋, 罗祥基, 邱智泉, 等. 肝癌原发灶及胆管癌栓样本基因差异表达谱的分析//中国抗癌协会胆道肿瘤专业委员会成立大会暨第一届全国胆道肿瘤学术会议论文集. 天津: 中国抗癌协会, 2009.
- [4] Wu C. Characteristics gene of hepatocellular carcinoma mining and construction of gene regulatory network [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2010 (in Chinese).
吴骋. 原发性肝癌特征基因挖掘及基因调控网络的构建 [D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [5] Li X, Li YX. Study Guides and exercises sets for bioinformatics. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 98–101 (in Chinese).
李霞, 李亦学. 生物信息学学习指导与习题集. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 98–101.
- [6] Liang S, Fuhrman S, Somogyi R. Reveal, a general reverse engineering algorithm for inference of genetic network architectures. Pac Symp Biocomput, 1998: 18–29.
- [7] Yu HT, Wu C, Liu WW, et al. Modeling of gene regulatory networks. Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(7): 737–740 (in Chinese).
虞慧婷, 吴骋, 柳伟伟, 等. 基因调控网络模型构建方法. 第二军医大学学报, 2006, 27(7): 737–740.
- [8] Chen T, He HL, Church GM. Modeling gene expression with differential equations. Pac Symp Biocomput, 1999: 29–40.
- [9] Li QW, Quan JL, Liu X. Progress in the study of gene regulatory network. J Liaoning Normal Univ: Nat Sci Ed, 2013, 36(1): 92–97 (in Chinese).
李庆伟, 全俊龙, 刘欣. 基因调控网络研究进展. 辽宁师范大学学报: 自然科学版, 2013, 36(1): 92–97.
- [10] Qiang B. Research on construction of gene regulatory networks [D]. Changsha: National University of Defense Technology, 2010 (in Chinese).
强波. 基因调控网络构建方法研究 [D]. 长沙: 国防科学技术大学, 2010.
- [11] Zhang B, Horvath S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis. Stat Appl Genet Mol Biol, 2005, 4(1): 1–45.
- [12] Drozdov I, Bornschein J, Wex T, et al. Functional and topological properties in hepatocellular carcinoma transcriptome. PLoS ONE, 2012, 7(4): e35510.
- [13] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell, 2004, 116(2): 281–297.
- [14] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. Cell, 2005, 120(1): 15–20.
- [15] John B, Enright AJ, Aravin A, et al. Human MicroRNA targets. PLoS Biol, 2004, 2(11): e363.
- [16] Neph S, Stergachis AB, Reynolds A, et al. Circuitry and dynamics of human transcription factor regulatory networks. Cell, 2012, 150(6): 1274–1286.
- [17] Shen-Orr SS, Milo R, Mangan S, et al. Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*. Nat Genet, 2002, 31(1): 64–68.
- [18] Lee TI, Young RA. Transcription of eukaryotic protein-coding genes. Annu Rev Genet, 2000, 34: 77–137.
- [19] Yang X. A new miRNA story about tumor metastasis. Chin J Biotech, 2012, 28(2): 131–133 (in Chinese).

- 杨晓. 肿瘤转移的新 miRNA 故事. 生物工程学报, 2012, 28(2): 131–133.
- [20] Garzon R, Calin GA, Croce CM. microRNAs in cancer. *Annu Rev Med*, 2009, 60: 167–179.
- [21] Harfe BD. MicroRNAs in vertebrate development. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15(4): 410–415.
- [22] Arora S, Rana R, Chhabra A, et al. miRNA-transcription factor interactions: a combinatorial regulation of gene expression. *Mol Genet Genomics*, 2013, 288(3/4): 77–87.
- [23] Wong N, Yeo W, Wong WL, et al. TOP2A overexpression in hepatocellular carcinoma correlates with early age onset, shorter patients survival and chemoresistance. *Int J Cancer*, 2009, 124(3): 644–652.
- [24] Lin SY, Pan HW, Liu SH, et al. ASPM is a novel marker for vascular invasion, early recurrence, and poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4814–4820.
- [25] Minguez B, Hoshida Y, Villanueva A, et al. Gene-expression signature of vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2011, 55(6): 1325–1331.
- [26] Burchard J, Zhang CS, Liu AM, et al. MicroRNA-122 as a regulator of mitochondrial metabolic gene network in hepatocellular carcinoma. *Mol Sys Biol*, 2010, 6: 402.
- [27] Huang Y, Chen HC, Chiang CW, et al. Identification of a two-layer regulatory network of proliferation-related microRNAs in hepatoma cells. *Nucl Acids Res*, 2012, 40(20): 10478–10493.
- [28] Han KQ, Li J, Zhao HZ, et al. Identification of the typical miRNAs and target genes in hepatocellular carcinoma. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1): 229–235.
- [29] Zhang YQ, Guo XD, Li ZW, et al. A systematic investigation based on microRNA-mediated gene regulatory network reveals that dysregulation of microRNA-19a/cyclin D1 axis confers an oncogenic potential and a worse prognosis in human hepatocellular carcinoma. *RNA Biol*, 2015, 12(6): 643–657.
- [30] Ding M, Li J, Yu Y, et al. Integrated analysis of miRNA, gene, and pathway regulatory networks in hepatic cancer stem cells. *J TranslMed*, 2015, 13: 259.
- [31] Zindy PJ, L'Helgoualc'h A, Bonnier D, et al. UP regulation of the tumor suppressor gene menin in hepatocellular carcinomas and its significance in fibrogenesis. *Hepatology*, 2006, 44(5): 1296–1307.
- [32] Liu P, Kimmoun E, Legrand A, et al. Activation of NF-kappa B, AP-1 and STAT transcription factors is a frequent and early event in human hepatocellular carcinomas. *J Hepatol*, 2002, 37(1): 63–71.
- [33] Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, et al. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat*, 2003, 21(3): 201–216.
- [34] Agarwal SK, Guru SC, Heppner C, et al. Menin interacts with the API transcription factor JunD and represses JunD-activated transcription. *Cell*, 1999, 96(1): 143–152.
- [35] Tomaru Y, Nakanishi M, Miura H, et al. Identification of an inter-transcription factor regulatory network in human hepatoma cells by Matrix RNAi. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(4): 1049–1060.
- [36] Zhu HL, Rao RSP, Zeng T, et al. Reconstructing dynamic gene regulatory networks from sample-based transcriptional data. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(21): 10657–10667.
- [37] Li L, Lian BF, Li C, et al. Integrative analysis of transcriptional regulatory network and copy number variation in intrahepatic cholangiocarcinoma. *PLoS ONE*, 2014, 9(6): e98653.
- [38] Zeng LY, Yu J, Huang T, et al. Differential combinatorial regulatory network analysis related

- to venous metastasis of hepatocellular carcinoma. *BMC Genomics*, 2012, 13(Suppl 8): S14.
- [39] Lin CC, Jiang W, Mitra R, et al. Regulation rewiring analysis reveals mutual regulation between STAT1 and miR-155-5p in tumor immunosurveillance in seven major cancers. *Sci Rep*, 2015, 5: 12063.
- [40] Gu ZG. Research on the method of system biology analysis of gene chip data [D]. Nanjing: Nanjing University, 2012 (in Chinese).
顾祖光. 基因芯片数据的系统生物学分析方法研究 [D]. 南京: 南京大学, 2012.
- [41] Shi SB, Cheng T, Zhao XM. Transcriptome platforms and applications to metabolic engineering. *Chin J Biotech*, 2010, 26(9): 1187-1198 (in Chinese).
史硕博, 陈涛, 赵学明. 转录组平台技术及其在代谢工程中的应用. *生物工程学报*, 2010, 26(9): 1187-1198.
- [42] Sia D, Hoshida Y, Villanueva A, et al. Integrative molecular analysis of intrahepatic cholangiocarcinoma reveals 2 classes that have different outcomes. *Gastroenterology*, 2013, 144(4): 829-840.

(本文责编 陈宏宇)