

竞争性结合的 LncRNA 和 miRNA 作为标志物 提高宫颈鳞癌患者的诊断和预后

朱培雯¹, 史学佳², 秦士杰², 廖 敏¹, 马 飞²

(1.安徽农业大学植物保护学院,安徽 合肥 230036)

(2.南京师范大学生命科学学院,江苏 南京 210023)

[摘要] 宫颈鳞状细胞癌(CESC)严重损害了全世界妇女的健康. 因此,寻找新的诊断和预后因子对提高 CESC 的预防和治疗具有重要价值. 为了进一步筛选出有效的生物标志物提高 CESC 患者的诊断和预后,论文系统地研究了来自癌基因组图谱(TCGA)数据库中的 lncRNA、miRNA 和 mRNA 表达情况. 研究鉴定了 25 个 lncRNA、14 个 miRNA 和 371 个 mRNA 与 CESC 患者的生存相关;构建了一个与生存相关的 lncRNA-miRNA-mRNA 竞争性调节网络(ceRNA);发现 2 个 lncRNA (TP73-AS1、CASC15)和 3 个 miRNA (hsa-MiR-142-3p、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-642a-5p)能够作为 CESC 的诊断和预后生物标志物,特别是上调的 TP73-AS1 和 CASC15 可以作为不良预后因子,而上调的 hsa-MiR-142-3p、hsa-MiR-128-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 可作为 CESC 患者生存的良好预后因子. 论文研究表明,联合 TP73-AS1、CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 的预后模型能显著提高 CESC 患者的预后和可信度. 研究不仅为 CESC 患者确定了几种新颖的诊断和预后因子,而且也揭示了改善 CESC 患者生存的潜在机制.

[关键词] 宫颈鳞状细胞癌, lncRNA, miRNA, ceRNA 网络, 预后因子

[中图分类号] R737 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2020)04-0053-09

LncRNAs and miRNAs from a ceRNA Network as a Signature Can Improve the Diagnosis and Prognosis of CESC Patients

Zhu Peiwen¹, Shi Xuejia², Qin Shijie², Liao Min¹, Ma Fei²

(1.School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

(2.School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Cervical squamous cell carcinoma (CESC) seriously harms women's health worldwide. Therefore, it is of great value to find new diagnostic and prognostic factors to improve the prevention and treatment of CESC. To further screen out effectively biomarkers for promoting the diagnosis and prognosis of CESC patients, it was here systematically investigated the expression landscapes of lncRNAs, miRNAs and mRNAs from The Cancer Genome Atlas (TCGA). In this work, it was firstly identified 25 lncRNAs, 14 miRNAs and 371 genes associated with CESC patients' survival. Secondly, it constructed a survival-related lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network. Thirdly, it was discovered that 2 lncRNAs (TP73-AS1 and CASC15), 3 miRNAs (hsa-MiR-142-3p, hsa-MiR-128-3p and hsa-MiR-642a-5p) could be used as promising diagnostic and prognostic biomarkers for CESC, in particular highly expressed TP73-AS1 and CASC15 could act as poor prognostic factors, whereas highly expressed hsa-MiR-142-3p, hsa-MiR-128-3p and hsa-MiR-642a-5p could serve as good prognostic factors for the survival of CESC patients. Finally, our results demonstrated that a signature containing TP73-AS1, CASC15, hsa-MiR-142-3p, hsa-MiR-128-3p and hsa-MiR-642a-5p could significantly facilitate the prognosis and credibility of CESC patients. Taken together, our present study identified several novel diagnostic and prognostic factors for CESC patients, and revealed a potential mechanism of facilitating the survival of CESC patients.

Key words: cervical squamous cell carcinoma (CESC), lncRNA, miRNA, ceRNA network, prognostic factor

收稿日期:2020-06-05.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31970477).

通讯作者:马飞,教授,博士生导师,研究方向:分子免疫与生物信息. E-mail:mafei01@tsinghua.org.cn

宫颈鳞癌(CESC)是严重威胁妇女健康和生命的第二大常见的恶性肿瘤^[1]。目前,宫颈癌的发病率约为20%~30%,患者的预后也很差^[1]。由于缺乏可靠的诊断和预后标记,CESC患者的诊断和预后效果并不令人满意^[2]。因此,获取新的有价值的分子生物标志物对于提高CESC患者的生存率十分必要和紧迫。

MicroRNA(miRNA)是一类长约为22nt内源性小非编码RNA分子,可通过靶向它靶标mRNA的3'UTR从而在转录后水平上抑制翻译来参与许多生物学过程^[3]。长链非编码RNA(lncRNA)是长于200个核苷酸的非编码RNA,它可以通过顺式或反式作用等多种途径控制基因的表达^[4]。有趣的是,竞争性内源RNA(ceRNA)假设具有部分相似的mRNA序列的lncRNA可以作为miRNA内源海绵来影响其靶标mRNA的稳定性,特别是mRNA和lncRNA也可以共享一个或多个miRNA响应元件(MREs)在癌症的发病机理中发挥重要的调节作用^[5-6]。

以前的研究主要集中在差异表达基因或单个lncRNA和miRNA的靶标验证^[7]。迄今为止,CESC发生和发展相关的ceRNA的功能机制仍然非常有限。值得注意的是,下调的lncRNA(MEG3和ADAMTS9-AS2)和上调的miRNA(hsa-MiR-144和hsa-MiR-96)可以形成各种ceRNA参与CESC的发生和发展^[8]。然而,这种ceRNA是否可以作为CESC患者生存的诊断和预后因子,有待进一步研究。

1 材料和方法

1.1 数据资源与处理

从癌症基因组图谱(TCGA)数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)下载了CESC患者miRNA、mRNA和lncRNA的去核糖体全转录组表达数据以及相应的临床信息。除去总生存时间少于30d的样本后,最终获得了总共273例CESC患者样本。

1.2 差异基因和功能分析

使用edgeR包进行差异基因表达分析,差异基因筛选条件为 $|\log FC| > 1$ 且 p 值矫正 $FDR < 0.05$ 。使用clusterProfiler R软件包进行基因本体论(GO)和KEGG信号通路分析。

1.3 预后分析

RNA与总生存期(OS)的关联分别通过Survival R包和Survminer R包计算。使用Log Rank检验的Kaplan-Meier分析和单因素Cox回归分析来鉴定预后相关的lncRNA、mRNA和miRNA, P 值 < 0.05 的RNA被认为是具有意义的。通过使用SurvivalROC R包绘制每个预后因子的受试者工作曲线(ROC)来评估预后性能。

1.4 lncRNA-miRNA-mRNA相互作用的预测

使用DIANA-LncBase、miRcode和starBase2.0数据库来预测lncRNA与miRNA之间的相互作用。miRNA和mRNA之间的miRNA靶标预测源自miRWalk 3.0。miRNA通常起负调控作用,只有当lncRNA和miRNA、miRNA和mRNA负相关表达时才进一步用于构建ceRNA网络,并使用Cytoscape软件对该ceRNA网络进行可视化^[9]。

2 结果与讨论

2.1 鉴定差异表达的lncRNA、miRNA和mRNA

研究确定了在肿瘤组织和正常组织之间显著差异表达的241个lncRNA、179个miRNA和2 969个mRNA,包括129个上调和112个下调的lncRNA、23个上调和156个下调的miRNA、以及1 527个上调的mRNA和1 442个下调的mRNA(图1)。

2.2 CESC中与生存相关的ceRNA网络

为了构建与生存相关的ceRNA网络,通过Kaplan-Meier生存分析确定了14个miRNA(图2A)、25个lncRNA(图2B)和371个mRNA与CESC患者的生存率显著相关($P < 0.05$)。有趣的是,发现在上述与生存相关的RNA中,有2个下调的lncRNA(TP73-AS1和CASC15)可以与3个上调的miRNA(hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p和hsa-MiR-642a-5p)结合,而这3个miRNA可以抑制25个下调的基因。基于以上的lncRNA-miRNA和miRNA-mRNA的调控对,进一步构建了由2个lncRNA、3个miRNA和25个mRNA组成的生存相关的ceRNA网络(图2C)。

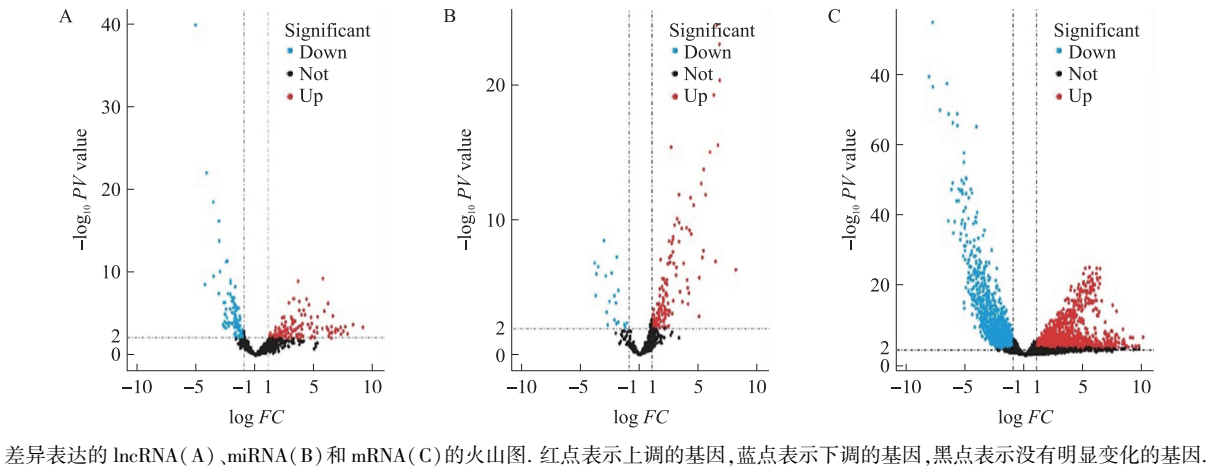
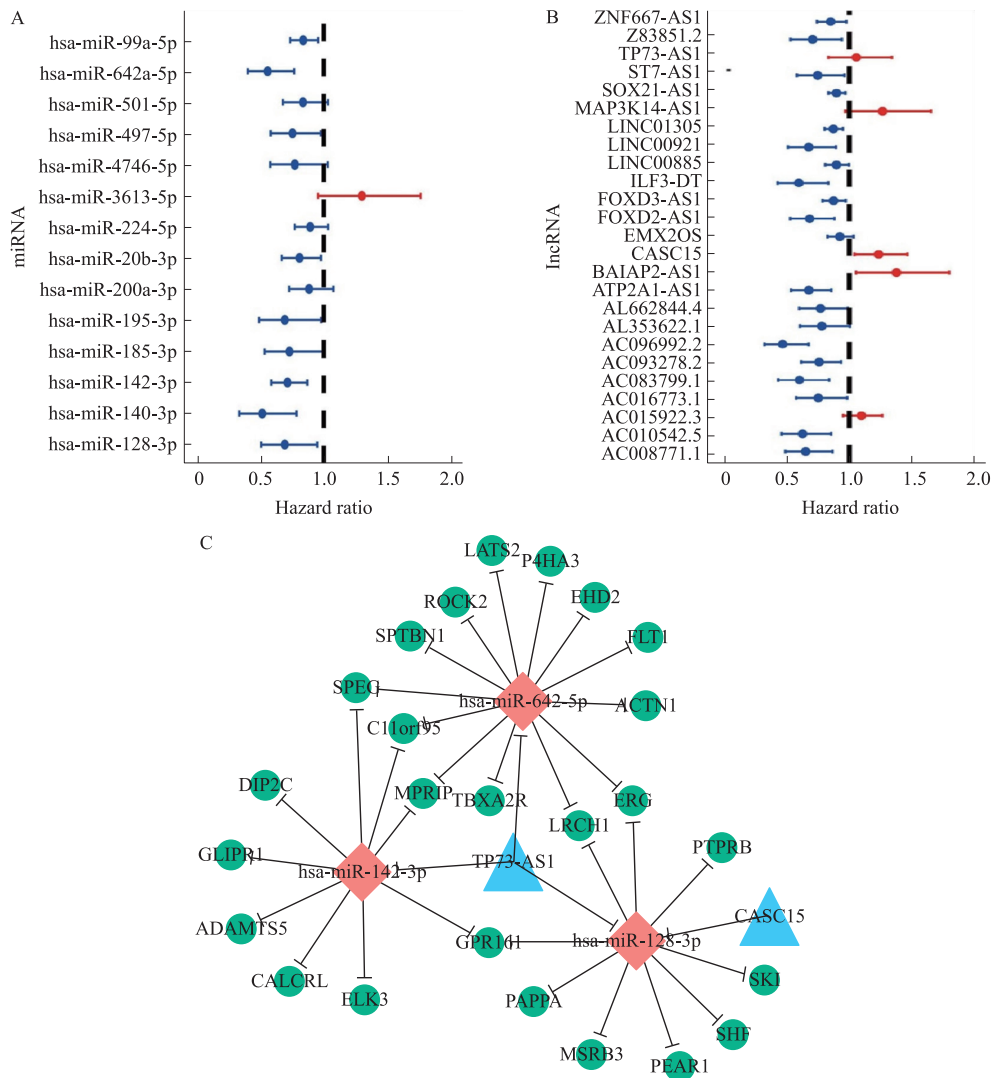


图1 差异表达基因的火山图

Fig. 1 Volcano plot of differentially expressed genes



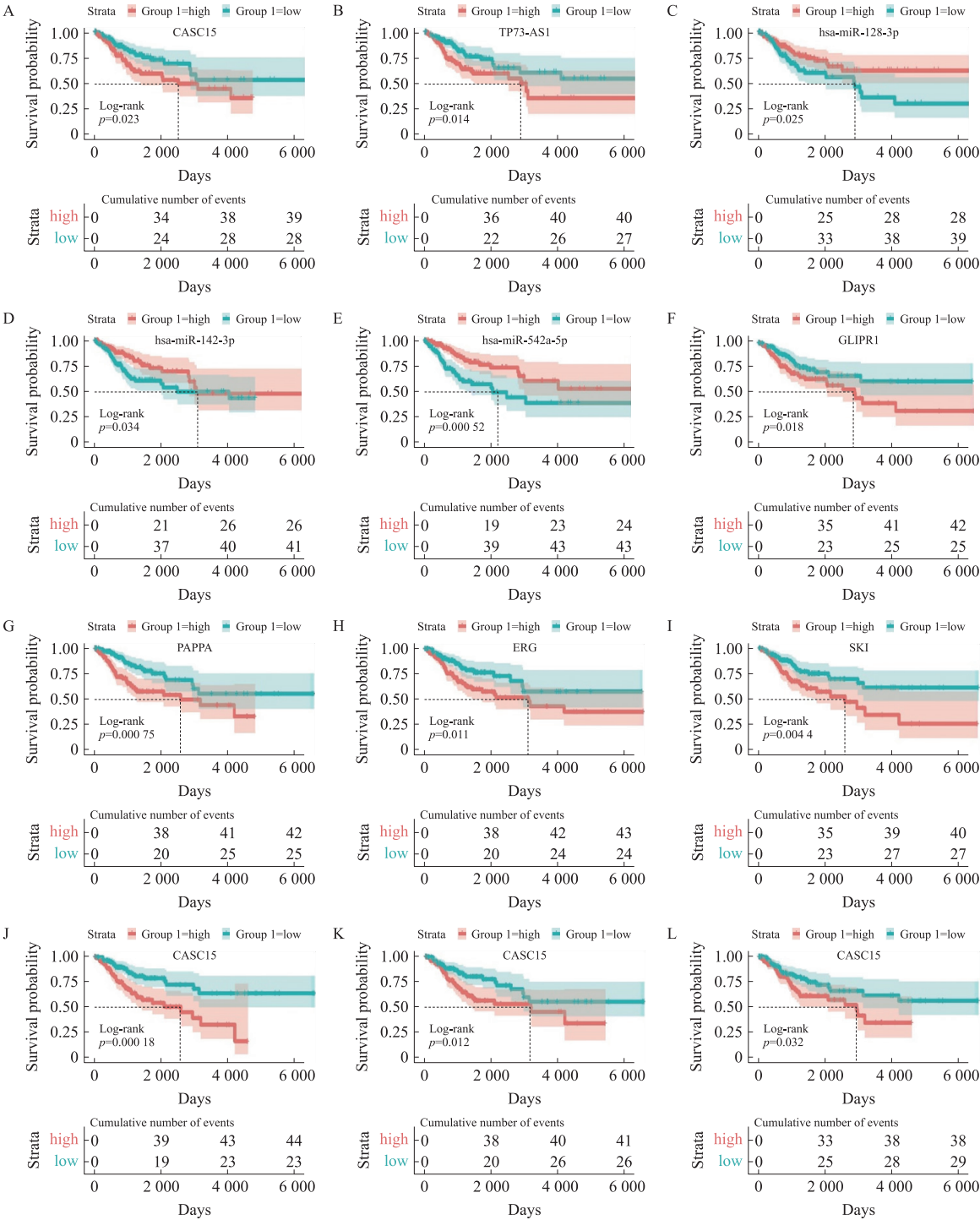
A:CESC 中 miRNA 的 HR 森林图($P<0.05$);B:CESC 中 lncRNA 的 HR 森林图($P<0.05$). 红色代表 $HR>1$,蓝色代表 $HR<1$, 线的长度表示 95%的置信区间. C:生存相关的 ceRNA 网络. 红色代表上调的基因,绿色代表下调的基因,菱形代表 miRNA, 圆圈代表 mRNA,三角形代表 lncRNA.

图2 生存相关的 miRNA 和 ceRNA 网络的危险比(HR)的森林图

Fig. 2 Forest plots of hazard ratios(HR) of survival-related miRNAs and ceRNA networks related to prognosis

2.3 5 个 ncRNA 可以作为 CESC 患者的潜在诊断生物标志物

为了揭示这 5 个 ncRNA(TP73-AS1、CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p)是否可以用作可靠的诊断因子,进行了生存曲线以评估其各自的表达水平与 CESE 患者生存之间的关系. 根据以上 5 个 ncRNA 的各自中位表达水平将 270 名 CESC 患者进一步分为高表达和低表达 ncRNA 组. 结果表明:上调的 lncRNA 组 CESC 患者的生存率比低表达 lncRNA 组的生存率差(图 3A-3B);反之,具有高表达 miRNA 组的 CESC 患者的生存率要高于低表达 miRNA 组(图 3C-3E). 这些结果揭示 5 个 RNA(TP73-AS1、



(A):CASC15;(B):TP73-AS1;(C):hsa-MiR-128-3p;(D):hsa-MiR-142-3p;(E):hsa-MiR-642a-5p;(F):GLIPR1;(G):PAPPA;
(H):ERG;(I):SKI;(J):LATS2;(K):ROCK2;(L):FLT1.

图 3 基于 ncRNA 和 mRNA 表达水平的 Kaplan Meier 生存曲线

Fig. 3 Kaplan Meier survival based on the expression level of ncRNAs and mRNAs

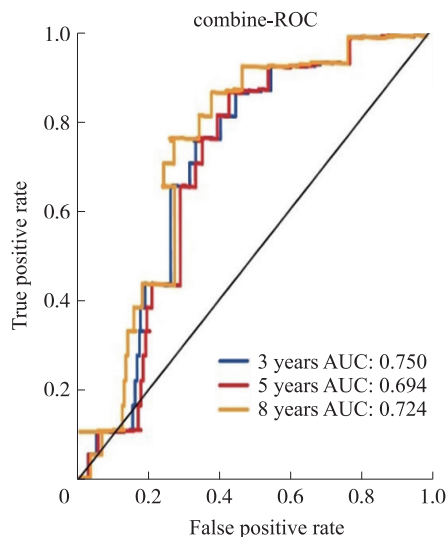
CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p) 可作为有效的诊断生物标志物来区分 CESC 患者的预后. 特别是在 25 个靶基因中, 有 7 个基因 (*GLIPR1*、*PAPPA*、*ERG*、*SKI*、*LATS2*、*ROCK2* 和 *FLT1*) 在 Cancermine 数据库中已被注释为癌基因. 因此, 根据 7 种癌基因的中位表达水平进行生存分析, 结果表明在所有独立的 7 个基因中, 高表达组的 CESC 患者的存活率显著低于低表达组的患者 (所有 P 值均 <0.05 , 图 3F~3L), 表明这 7 个高表达基因与 CESC 患者的预后不良有关.

此外, 还分别检测了 5 个 ncRNA 的表达水平与 CESC 患者分级的相关性. 结果表明: CASC15 的表达与组织学分级 (G) 和肿瘤负荷 (状态) 显著相关, 而 hsa-MiR-142-3p 的表达也与肿瘤负荷 (状态) 显著相关. 特别是 hsa-MiR-642a-5p 的表达不仅与组织学分级 (G) 和肿瘤负荷 (状态) 显著相关, 而且与肿瘤分期 (T) 和病理分期 (Stage) 也有显著的相关性 (图 4). 这表明 CASC15、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 可以作为诊断 CESC 患者的有效危险分层指标. 值得注意的是, 尽管 TP73-AS1 和 hsa-MiR-128-3p 的表达水平与临床诊断因素无显著的相关性, 但它们可能通过 ceRNA 调控网络在 CESC 的肿瘤发生和发展中起重要的调节作用.

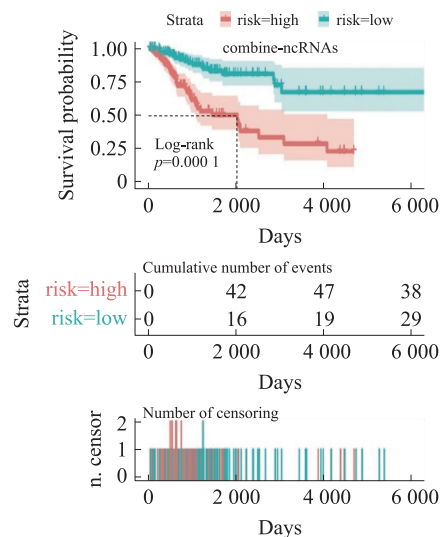
上述研究结果表明: TP73-AS1、CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 不仅可以用作可靠的诊断生物标志物, 而且可以参与 CESC 疾病的发生和发展.

2.4 联合 5 个非编码 RNA 的预后价值

为了确定这 5 个 ncRNA 组合在一起作为模型是否可以改善 CESC 患者的生存, 将 270 名 CESC 患者进一步分为低风险组和高风险组进行生存分析. 研究发现高危组的 CESC 患者的生存率显著低于低危组的患者 ($P=0.0001$, 图 5A). 特别地, 联合模型的 3 年、5 年和 8 年的 AUC 值分别达到了 0.75、0.694 和 0.724 (图 5B). 总体而言, 结果表明, 包含 5 个 ncRNA 标记物的预后效果和可信度均显著高于所有单个 ncRNA, 这表明 ceRNA 网络中的基因互作可以作为有效的预后因子.

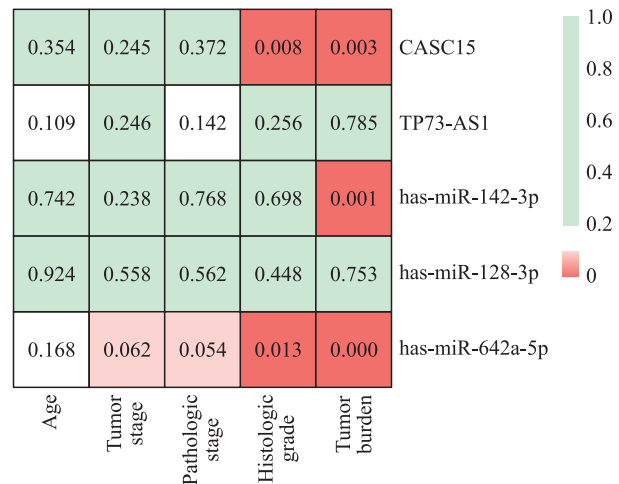


(A) 5个ncRNA联合预后模型的ROC曲线



(B) 基于5个ncRNA模型的高风险和低风险组的生存曲线

图5 基于5个ncRNA联合预后模型的ROC曲线和Kaplan Meier生存曲线
Fig. 5 Receiver operating characteristic (ROC) and Kaplan Meier survival curves
based on the risk score of the five-ncRNA signature



图中每个方格中的数字表示双尾 t 检验的显著性 P 值. 不同年龄和肿瘤分级被分成两组来计算 ncRNA 的差异性.

图4 ncRNA 与临床因素的相关性

Fig. 4 Correlation between prognostic ncRNAs and clinical factors

该研究进一步引入了已知的肿瘤分期、病理分期、肿瘤负荷和组织学等临床因素确定预后模型的性能. 有趣的是,单因素和多因素分析均表明,只有肿瘤负荷和 5 个 ncRNA 的联合模型可以作为 CESC 患者的独立预后指标(表 1). 这些结果都证明了 5 个 ncRNA 的联合模型不仅可以作为 CESC 患者生存的独立预后因子,而且可以作为 CESC 患者疾病进展的有效危险分层指标.

表 1 单因素和多因素 Cox 回归分析的临床因素生存率和组合的 5 个预后性 ncRNA 的风险作为标志物

Table 1 Univariate and multivariate Cox regression analysis of the survival for clinical factors and risk of the combined five prognostic ncRNAs as a signature

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Hazard ratio(95%CI)	P-value	Hazard ratio(95%CI)	P-value
Histologic grade	0.809(0.416~1.575)	0.533	0.709(0.349~1.442)	0.342
Pathologic stage	1.999(0.941~4.246)	0.714	2.360(0.423~7.834)	0.161
Tumor burden	34.500(13.110~90.780)	<0.001	21.554(8.047~57.732)	<0.001
Tumor stage	4.237(1.992~9.015)	<0.001	2.062(0.666~6.380)	0.209
The five-ncRNA signature	7.926(3.402~18.470)	<0.001	4.614(1.731~12.299)	0.002

注:肿瘤分期,病理分期,组织学分级和 5 个 ncRNA 标记作为变量. 将肿瘤负担编码为无肿瘤=0,其中肿瘤=1. 肿瘤阶段被编码为 T₁-T₂=0,T₃-T₄=1. 病理阶段编码为 I-II=0,III-IV=2. 组织学等级编码为 G₁-G₂=0,G₃-G₄=1.

2.5 5 个 ncRNA 模型促进 CESC 患者生存的潜在机制

为了解 5 个 ncRNA 联合促进 CESC 患者生存的可能机制,进一步通过 GO 和 KEGG 分析对其 ceRNA 网络里的 25 个靶基因进行了富集分析. 结果表明,这 25 个靶基因主要参与平滑肌收缩、G 蛋白复合体信号传导、肌动蛋白细胞骨架等生物学过程. 此外,受体复合物和粘合膜等细胞组分以及细胞粘附分子的结合、金属内肽酶活性、整联蛋白结合等分子功能也被明显地富集(图 6). 同时,KEGG 富集分析还表明,这

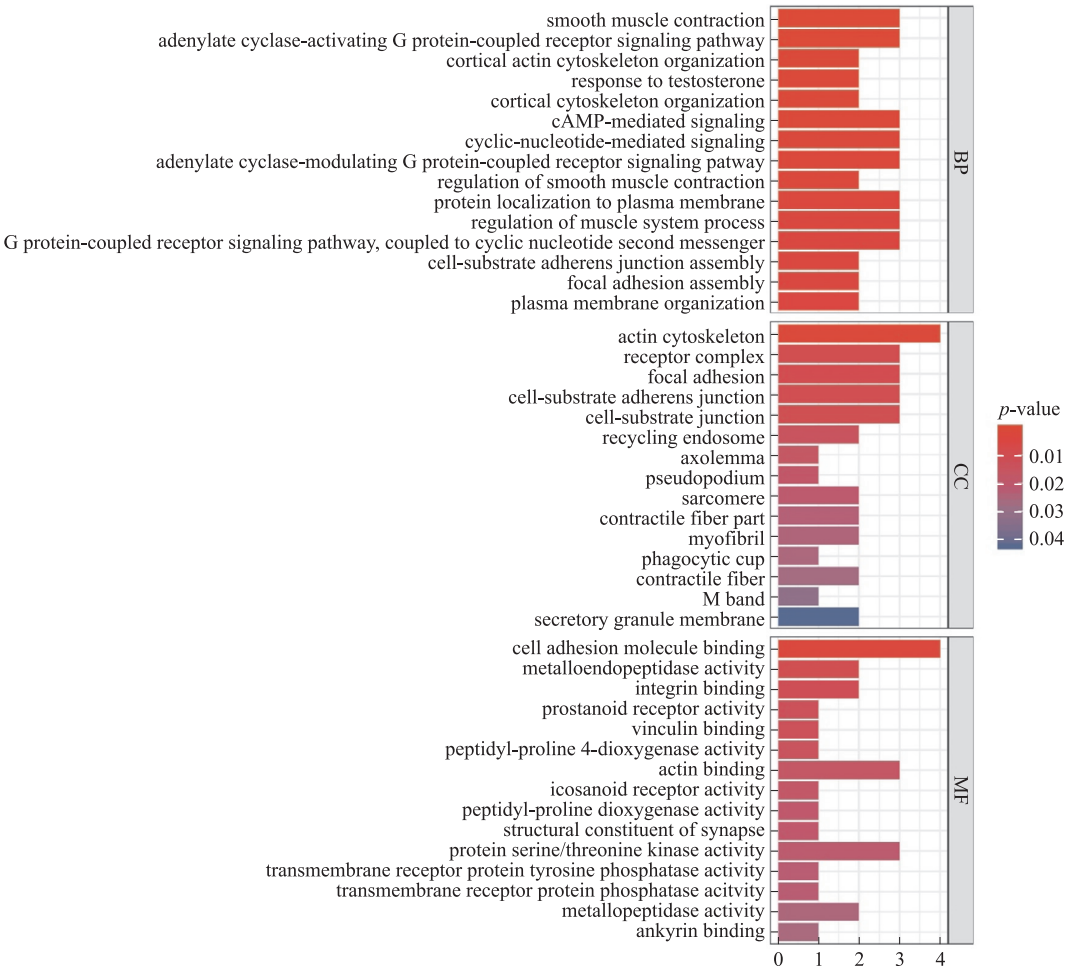


图 6 25 个目标基因的基因本体论 (GO) 富集分析
Fig. 6 Gene Ontology (GO) terms of 25 target genes

25 个靶基因参与了多种与癌症相关的信号通路,例如 PI3K-AKT、RAS、Rap1、Hippo 和 Hedgehog 等信号通路(图 7)。这些结果表明,5 个 ncRNA 可能协同控制多个癌症相关的信号通路中的关键基因,从而参与 CESC 的这一进程。

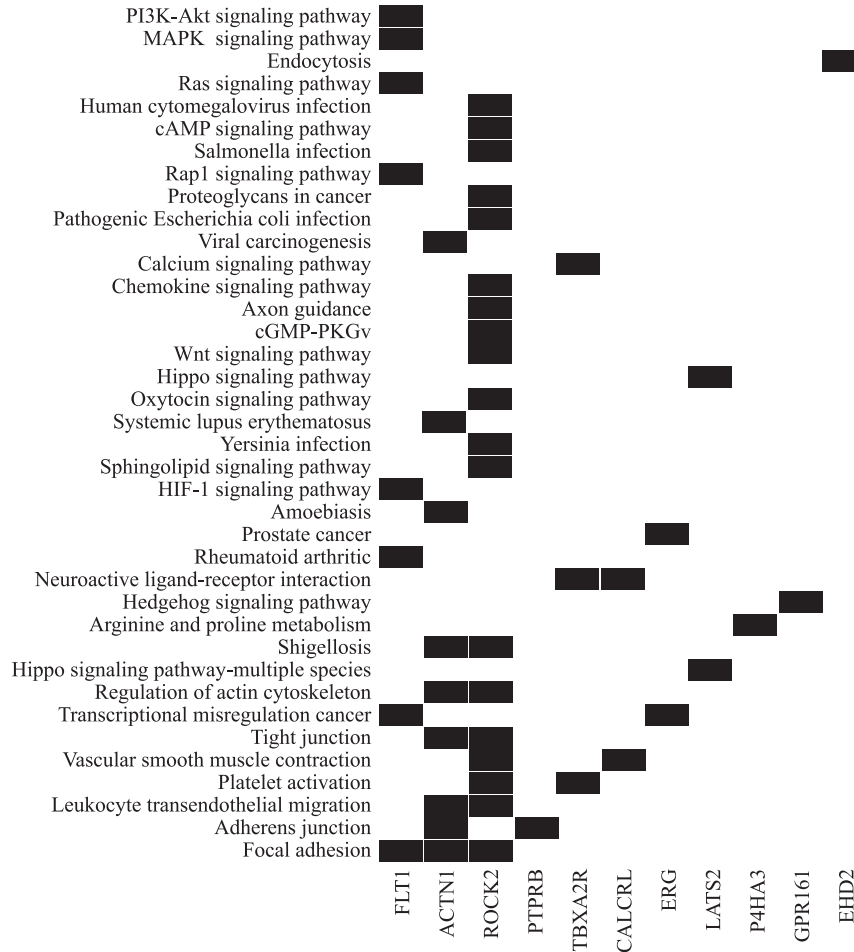


图 7 ceRNA 网络中 11 个基因的 KEGG 注释

Fig. 7 The KEGG annotation of 11 genes from the ceRNA network

目前的研究已经揭示包括癌症在内的诸多复杂疾病可能是由多维水平上多个分子的失调引起的,这很少归因于一种或几种分子的变化。因此,多组学联合分析越来越成为一种揭示疾病发生分子机制的关键技术^[10]。例如,从 TCGA 数据库中进行多组学的数据挖掘已成为寻找癌症发生发展的分子机制的重要手段,同时也是筛选可用于癌症患者的新型诊断和预后生物标志物的有效途径^[11]。值得注意的是,许多研究表明 lncRNA、mRNA 和其他 RNA 可以充当天然 miRNA 海绵来抑制 miRNA 的功能。特别是 lncRNA 可以充当 ceRNA,通过竞争一个或多个共享的 miRNA 反应元件来与 mRNA 通讯^[6]。ceRNA 假设提供了一种新方法,可以全面了解不同类型的 RNA 之间的调节关系在肿瘤的发生和发展、侵袭和转移中的作用。许多研究揭示 ceRNA 和 ceRNA 网络可以在宫颈癌的发生和发展中起关键的作用,但目前仍尚未对 ceRNA 在 CESC 进程中的调控作用以及与 CESC 患者生存相关的 ceRNA 网络进行系统性研究^[12]。

在这项工作中,发现了 410 个异常表达的 RNA,包括 14 个 miRNA、25 个 lncRNA 和 371 个 mRNA,它们与 CESC 患者的生存率显著相关(图 2),表明它们可能与 CESC 的发生和发展有关。尤其是根据 410 个异常表达的 RNA 的调控关系,进一步建立了一个与生存相关的 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 网络,该网络由 2 个 lncRNA、3 个 miRNA 和 25 个 mRNA 组成(图 2),这暗示 lncRNA 和 miRNA 可能形成不同的 ceRNA 以协同控制靶基因表达,从而参与 CESC 的发生和发展。

目前的工作已证明来自上述与生存相关的 ceRNA 网络的 TP73-AS1、CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 可用作诊断和预后生物标记物能显著区分 CESC 患者的生存和病理分层(图 4 和图 5)。其中,3 种高度表达的 miRNA(hsa-MiR-142-3p、hsa-MiR-128-3p 和 hsa-MiR-642a-5p)可以作

为 CESC 患者临床应用的良好预后因子(图 3C-E). 相反,两种高表达的 lncRNA(TP73-AS1 和 CASC15)可以作为 CESC 患者的不良预后因素(图 3A-B). 值得注意的是,以前的一些研究表明,上调的 hsa-MiR-142 可以直接靶向 HMGB1 以抑制子宫癌细胞的增殖和侵袭并增强细胞凋亡^[13],高表达的 hsa-MiR-128 可以靶向 IDO1 抑制子宫癌细胞的免疫逃逸^[14],以及 hsa-MiR-642a 可以作为一种肿瘤抑制因子提高宫颈鳞状细胞癌患者的存活率^[15],这强烈支持本研究的结论,即高表达 hsa-MiR-142-3p、hsa-MiR-128-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 可作为 CESC 患者生存的良好预后因子. 此外,以前的研究还表明,上调的 TP73-AS1 可以促进子宫癌细胞的增殖和迁移^[16],而下调的 CASC15 可通过上调 E-钙黏着蛋白和下调 N-钙黏着蛋白表达水平来抑制细胞侵袭能力和上皮-间质转化(EMT)信号通路^[17]. 这些与研究结果非常吻合,即高表达的 lncRNA TP73-AS1 和 CASC15 可用作 CESC 患者生存的不良预后生物标志物.

ceRNA 已被证明在宫颈癌的发生和发展中起着非常重要的调节作用^[18]. 推测,与所有单个 RNA 分子相比,结合在一起作为标志物的 ceRNA 可以显著促进 CESC 患者的生存. 如预期的那样,结果表明包含 TP73-AS1、CASC15、hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 的预后效果和可信度显著高于所有单个 ncRNA(图 5). 这似乎暗示与单个 RNA 分子相比,组合多个 RNA 更适合用作 CESC 患者的诊断和预后生物标记. 有趣的是,在这个与生存相关的网络中,2 个下调的 lncRNA(TP73-AS1 和 CASC15)释放了 3 个海绵状 miRNA(hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p)以增加其表达. 特别是,3 个 miRNA 作为该 ceRNA 网络的核心成员,它们的上调表达进一步抑制了其 25 个靶基因的表达水平(图 2). 作为蛋白质编码基因,mRNA 是 ceRNA 调控网络的分子功能实现者. 因此,本研究进一步探索了 25 个基因的功能. 值得注意的是在 25 个靶基因中,已有研究报道 ERG、LATS2、HLF、ROCK2、EMX2 和 BCL2 与 CESC 患者较差的存活率显著相关^[19-24],以及 PAPP、SKI、ERG、GLIPR1、LATS2、ROCK2 和 FLT1 被识别为致癌基因. 而且结果表明,这 7 个癌基因的高表达分别导致 CESC 患者的生存率降低(图 3F-3L). 此外,KEGG 富集分析还揭示了 25 个靶基因主要参与 PIK3-AKT、Ras、Rap、Adherens、Hippo 和 Hedgehog 癌症信号通路(图 7).

3 结论

在这个研究中发现了 5 个 ncRNA 联合作为有效的诊断和预后因子并且促进 CESC 患者生存的潜在机制,也即表达下调的 TP73-AS1 和 CASC15 可以恢复或升高 hsa-MiR-128-3p、hsa-MiR-142-3p 和 hsa-MiR-642a-5p 的表达水平进一步抑制一定数量的癌基因和致癌信号通路,以促进 CESC 患者的生存.

[参考文献]

- [1] OJESINA A I, LICHTEINSTEIN L, FREEMAN S S, et al. Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas[J]. *Nature*, 2014, 506(7488): 371-375.
- [2] YOSHIDA K, KAJIYAMA H, UTSUMI F, et al. A post-recurrence survival-predicting indicator for cervical cancer from the analysis of 165 patients who developed recurrence[J]. *Molecular and clinical oncology*, 2018, 8(2): 281-285.
- [3] MATKOVICH S J, VAN BOOVEN D J, ESCHENBACHER W H, et al. RISC RNA sequencing for context-specific identification of *in vivo* microRNA targets[J]. *Circulation research*, 2011, 108(1): 18-26.
- [4] RINN J L, CHANG H Y. Genome regulation by long noncoding RNAs[J]. *Annual review of biochemistry*, 2012, 81: 145-166.
- [5] WANG X, HU K B, ZHANG Y Q, et al. Comprehensive analysis of aberrantly expressed profiles of lncRNAs, miRNAs and mRNAs with associated ceRNA network in cholangiocarcinoma[J]. *Cancer biomarkers; section A of disease markers*, 2018, 23(4): 549-559.
- [6] 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.
- [7] XIE Q, LIN S, ZHENG M, et al. Long noncoding RNA NEAT1 promotes the growth of cervical cancer cells via sponging MiR-9-5p[J]. *Biochemistry and cell biology (Biochimie et biologie cellulaire)*, 2019, 97(2): 100-108.
- [8] LIN P, WEN D Y, LI Q, et al. Genome-wide analysis of prognostic lncRNAs, miRNAs, and mRNAs forming a competing endogenous RNA network in hepatocellular carcinoma[J]. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of*

- experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 2018, 48(5):1953–1967.
- [9] YU G, WANG L G, HAN Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters[J]. Omics: a journal of integrative biology, 2012, 16(5):284–287.
- [10] PLAISIER C L, PAN M, BALIGA N S. A miRNA-regulatory network explains how dysregulated miRNAs perturb oncogenic processes across diverse cancers[J]. Genome research, 2012, 22(11):2302–2314.
- [11] XIN X, ZHANG Y, LING F, et al. Identification of a nine-miRNA signature for the prognosis of Uveal Melanoma[J]. Experimental eye research, 2019, 180:242–249.
- [12] CHEN W, CHEN X, WANG Y, et al. Construction and analysis of lncRNA-mediated ceRNA network in cervical squamous cell carcinoma by weighted gene Co-expression network analysis[J]. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 2019, 25:2609–2622.
- [13] JIANG D, WANG H, LI Z, et al. MiR-142 inhibits the development of cervical cancer by targeting HMGB1[J]. Oncotarget, 2017, 8(3):4001–4007.
- [14] ZHU L, TU H, LIANG Y, et al. MiR-218 produces anti-tumor effects on cervical cancer cells in vitro[J]. World journal of surgical oncology, 2018, 16(1):204.
- [15] MA C, ZHANG W, WU Q, et al. Identification of a microRNA signature associated with survivability in cervical squamous cell carcinoma[J]. PloS one, 2018, 13(3):e0193625.
- [16] XU J, ZHANG J. LncRNA TP73-AS1 is a novel regulator in cervical cancer via MiR-329-3p/ARF1 axis[J]. Journal of cellular biochemistry, 2020, 121(1):344–352.
- [17] SHAN S, LI H F, YANG X Y, et al. Higher lncRNA CASC15 expression predicts poor prognosis and associates with tumor growth in cervical cancer[J]. European review for medical and pharmacological sciences, 2019, 23(2):507–512.
- [18] SONG J, YE A, JIANG E, et al. Reconstruction and analysis of the aberrant lncRNA-miRNA-mRNA network based on competitive endogenous RNA in CESC[J]. Journal of cellular biochemistry, 2018, 119(8):6665–6673.
- [19] YUAN M, CHENG J, LIU Y, et al. Screening and functional analysis of microRNA expression in HPV16-positive squamous carcinoma of the cervix in the Uyghur of southern Xinjiang[J]. Journal of Central South university medical sciences, 2015, 40(7):701–709.
- [20] LI W Y, LI Q W, HAN Z S, et al. Growth suppression effects of recombinant adenovirus expressing human lactoferrin on cervical cancer in vitro and in vivo[J]. Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals, 2011, 26(4):477–483.
- [21] HE M, CHENG Y, LI W, et al. Vascular endothelial growth factor C promotes cervical cancer metastasis via up-regulation and activation of RhoA/ROCK-2/moesin cascade[J]. BMC cancer, 2010, 10:170.
- [22] ZHANG L, JIANG Y, LU X, et al. Genomic characterization of cervical cancer based on human papillomavirus status[J]. Gynecologic oncology, 2019, 152(3):629–637.
- [23] YANG F, GUO L, CAO Y, et al. MicroRNA-7-5p Promotes cisplatin resistance of cervical cancer cells and modulation of cellular energy homeostasis by regulating the expression of the PARP-1 and BCL2 Genes[J]. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 2018, 24:6506–6516.
- [24] WIDSCHWENDTER A, MULLER H M, FIEGL H, et al. DNA methylation in serum and tumors of cervical cancer patients[J]. Clinical cancer research: an official journal of the American association for cancer research, 2004, 10(2):565–571.

[责任编辑:黄 敏]