

基于 GEO 数据库筛选慢性胰腺炎恶变过程中关键 miRNA 和 ceRNA 网络构建

张立洁^a, 彭泉^b (解放军第901医院 a. 肿瘤中心; b. 普外科, 合肥 230031)

摘要: 目的 筛选慢性胰腺炎 (chronic pancreatitis, CP) 进展到胰腺癌 (pancreatic cancer, PC) 过程中发挥潜在作用的 miRNA 及其调控网络。方法 从 GEO 数据库中下载芯片数据 GSE24279 和 GSE25820, 筛选出在 CP 和 PC 中差异表达的 miRNA (differential expression miRNA, DEM)。预测 DEM 的靶基因和长链非编码 RNA (long non-coding RNA), 随后进行靶基因富集分析, 构建蛋白互作网络 (protein-protein interaction, PPI) 并筛选出枢纽基因和具有特殊生物学功能的模块, 通过综合分析 DEM, 枢纽基因和 LncRNA 的表达和预后, 基于竞争性内源 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA) 的理论, 构建 miRNA 的调控网络。结果 筛选出 16 个 DEM, 其靶基因参与共生过程, 细胞器组织的正调控, 细胞质的核周区域和双链 RNA 结合。从 PPI 网络中, 筛选出 17 个枢纽基因和 3 个模块。综合分析后, 将 hsa-miR-221-3p, hsa-miR-222-3p, hsa-miR-210-3p 及 RNPS1, MGRN1 作为 CP 进展为 PC 中关键节点。41 个 LncRNA 结合关键 DEM, 其中 MIAT, DANT2, TTN-AS1, PAXIP1-AS2 和 LINC00473 具有预后价值。综合以上结果, 构建出包含 3 个 DEM, 2 个基因和 5 个 LncRNA 的 ceRNA 调控网络。结论 研究采用的整合分析方法有助于揭示 CP 恶变的机制, 构建的 LncRNA-miRNA-基因调控网络, 为预测和治疗由 CP 进展为 PC 的患者提供了新的生物学靶点。

关键词: 胰腺癌; 慢性胰腺炎; 微小 RNA; 竞争性内源 RNA

中图分类号: R735.9; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2023) 02-018-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.02.004

Screening of Key miRNAs and Construction of Competing Endogenous RNA Network Involved in the Progression from Chronic Pancreatitis to Pancreatic Cancer Based on GEO Database

ZHANG Li-jie^a, PENG Quan^b (a. Tumor Diagnosis and Treatment Center; b. Department of General Surgery, 901th Hospital of PLA, Hefei 230031, China)

Abstract: Objective To find the key miRNAs and their potential molecular mechanisms in the progression from chronic pancreatitis (CP) to pancreatic cancer (PC). **Methods** Microarray data GSE24279 and GSE25820 were downloaded from Gene Expression Omnibus (GEO) database, and screened out the differentially expressed miRNAs (DEM) in CP and PC. Predicted the target gene and LncRNAs (long non-coding RNA) of DNA, and then carried out the enrichment analysis of target genes, constructed the Protein-protein interaction (PPI) and screened out the hinge genes and modules with special and prognosis of DEM, hinge genes and LncRNA, built the miRNA regulatory network based on the theory of competitive endogenous RNAs (ceRNA). **Results** 16 DEM were found both in GSE24279 and GSE25820, enrichment analyses showed that targets of overlapped DEM were significantly enriched in symbiont process, positive regulation of organelle organization, perinuclear region of cytoplasm and double-stranded RNA binding. From the PPI network, 17 nodes and 3 modules were selected. According to the expression and prognostic, 3 upregulated DEM (hsa-miR-221-3p, hsa-miR-222-3p, hsa-miR-210-3p) and 2 target genes (RNPS1 and MGRN1) were screened, subsequently, 41 LncRNAs were explored to potentiality bind to those 3 key DEM, 5 of them (MIAT, DANT2, TTN-AS1, PAXIP1-AS2 and LINC00473) had the positive prognostic value. Finally, constructed a regulatory network based on competing endogenous RNA (ceRNA) hypothesis. **Conclusion** The methodology in this study contributed to understanding the pathogenesis involved in the progression from CP to PC, the novel LncRNA-miRNA-gene regulatory network can provide new clues to predict the development of PC in CP patients.

Keywords: pancreatic cancer; chronic pancreatitis; microRNAs; ceRNA

基金项目: 中国人民解放军联勤保障部队第901医院院管课题 (NO.2021YGYB06): ADAM8 基因在胰腺癌中的表达及其启动子区甲基化状态相关性研究。

作者简介: 张立洁 (1983-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤的分子诊断及靶向治疗, E-mail: zhanglijie0506@163.com。

通讯作者: 彭泉, 男, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤表观遗传学及生物信息学分析, E-mail: pengquan1983@163.com。

胰腺癌 (pancreatic cancer, PC) 是恶性程度较高的肿瘤, 其诊断后的五年生存率约为 4% ~ 6%, 外科手术仍是目前治疗 PC 的主要方法, 但大多数患者因诊断时已有局部进展或转移而失去手术机会, 早期诊断对 PC 患者尤其关键^[1]。慢性胰腺炎 (chronic pancreatitis, CP) 是 PC 发病的独立因素之一, 患者在 10 年和 20 年的恶变累积风险分别为 1.8% 和 4%^[2], 但目前尚无法鉴别出隐藏在慢性炎症组织中的恶性细胞。因此 PC 诊断标志物的挖掘, CP 恶变过程中关键基因的鉴定是需要重点解决的难题。miRNA 是诊断、预测和治疗多种疾病的生物学靶点, 已有研究表明 miRNA 可以稳定检测, 并作为 PC 诊断的生物标志物。近年来基因组学的发展和芯片检测的广泛应用积累了海量的表达谱数据, 而生物信息学能够通过交互分析挖掘出疾病的关键靶点。因此, 本研究设计采用生物信息学的方法, 筛选 GEO 数据库中在 CP 和 PC 中差异表达的关键 miRNA (differential expression miRNAs, DEM), 以期寻找可以预测和治疗 CP 恶变的生物学靶点, 并为 CP 恶变的调控机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 资料来源 从 GEO 数据库中检索了 CP 和 PC 的基因表达谱数据集, 限定样本为组织学, 例数 ≥ 10 , 最终确定 GSE24279 和 GSE25820 为符合条件的数据集。其中 GSE24279 的微阵列数据基于 GPL10944 平台 (febit human miRBase v11), 包括 136 个 PC 样本和 27 个 CP 样本; GSE25280 基于 GPL7731 平台 (agilent-019118 human miRNA microarray 2.0 G4470B), 由 5 个 PC 样本和 5 个 CP 样本组成。研究资料来源于公开的科研数据库, 无需医学伦理学审查。

1.2 方法与统计学分析

1.2.1 DEM 筛选: 使用 R 软件对两组样本 (PC vs CP) 进行比较, 先将两个数据集中的数据进行标准化处理和 \log_2 转换, 然后使用 Limma R 包鉴定 DEM, 以 $FDR < 0.05$, $|\log_2FC| > 1$ 作为筛选标准, 将筛选出来的 DEM 进行靶基因鉴定及后继分析。

1.2.2 DEM 靶基因的鉴定: 富集分析及 PPI 构建: 使用 starBase3.0 数据库 (<http://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 进行靶基因分析。本研究中, miRNA 靶基因的筛选采用以下标准: CLIP 数据 (\geq 中度严格), Degradome 数据 (\geq 中度严格), 癌症类型 (≥ 1) 和项目数 (≥ 3)。使用 Metascape (<http://metascape.org>) 对 DEM 的靶基因进行了基因本体论 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 途径分析。其中, GO 分析包括以下三个

方面: 生物过程 (biological process, BP), 细胞成分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF), 分析结果以 $P < 0.01$ 作为阈值。使用 STRING10.5 数据库 (<https://string-db.org/>) 构建 DEM 靶基因的 PPI 网络, 将合并得分 > 0.4 设置为截断标准。随后, 使用 Cytoscape 软件 (版本 3.6.1) 的 Cytohubba 插件以结点 ≥ 5 的标准选择枢纽基因, 使用 MCODE 插件筛选生物功能模块, 将 MCODE 得分 ≥ 5 设置为截止标准 (度截止 ≥ 2 , 结点得分 ≥ 0.2 , K-core ≥ 2 , 最大深度 = 100)。然后使用 Metascape 以 $P < 0.01$ 的标准进行富集分析。

1.2.3 基因表达分析: GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/detail.php>) 可用于分析癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 和 GTEx 项目的 RNA 测序表达数据。GEPIA 包括 179 个胰腺肿瘤组织样本和 171 个正常胰腺组织样本, 但缺乏基于胰腺炎状态的表达数据。而 UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 则纳入了来自 TCGA 数据库的临床数据, 分析结果可以基于不同的临床参数进行可视化。本研究中, 我们使用这两个数据库比较了关键基因的表达, 以 $P < 0.05$ 作为截止标准。

1.2.4 生存分析: Kaplan Meier 数据库 (<http://kmplot.com/analysis/index.php?p=background>) 记录了基因和 miRNA 在多种癌症中的预后数据。本研究设置筛选参数为中位数, 自动选择最佳临界值, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。miRNet 数据库 (<https://www.mirnet.ca/miRNet/home.xhtml>) 是查询 miRNA 靶标和功能的集成平台, 并对 miRNA 相匹配的 LncRNA 进行了优化, 本研究采用的筛选方法为: 生物 (H.sapiens)、组织 (pancreas) 和目的 (LncRNA), 随后使用 Kaplan Meier 数据库对候选 LncRNA 进行了生存分析。

1.2.5 LncRNA-miRNA-gene 的 ceRNA 网络构建: 根据 ceRNA 的假设, LncRNA 可以通过影响 miRNA 诱导的基因沉默而充当 miRNA 的 ceRNA, 因此 miRNA 与 LncRNA 之间存在反比关系, 而 mRNA 与 LncRNA 之间存在正相关。但由于目前数据库中不存在基于胰腺炎状态的 LncRNA 的表达, 因此我们检测了这些 LncRNA 在 PC 中的预后价值, 将与关键 DEM 具有相反预后, 且与关键基因一致的 LncRNA 视为 ceRNA 构建调控网络。

2 结果

2.1 DEM 和靶基因的识别 在 GSE24279 中筛选出 47 个 DEM, 包括 27 个上调 DEM 和 20 个下调的 DEM; GSE25820 中筛选出 230 个 DEM, 包括 108 个上调 DEM 和 122 个下调 DEM, 两者中均显著上调的有 9 个 DEM, 均显著下调的有 7 个 DEM, 见表

1。将这 16 个 DEM 视为候选 DEM 进一步分析靶基因（根据纳入标准，hsa-miR-132-5p 未获得靶基因）得出，上调 DEM 有 250 个靶基因，下调 DEM

有 161 靶基因。其中，上调 DEM 的靶基因中有 90 个重复基因，下调 DEM 的靶基因有 57 个重复基因。

表 1 数据库 GSE24279 和 GSE25820 中表达趋势相同的 DEM

DEM	GSE24279		GSE25820		PC 中的表达
	logFC	P.Value	logFC	P.Value	
hsa-miR-222-3p	1.84	7.61E-14	1.88	9.79E-05	上调
hsa-miR-107	1.03	1.04E-10	1.33	0.000 874	上调
hsa-miR-221-3p	1.41	1.90E-10	1.53	0.001 526	上调
hsa-miR-92a-3p	1.23	4.20E-06	1.49	0.001 508	上调
hsa-miR-20a-5p	1.32	6.89E-06	2.37	6.82E-06	上调
hsa-miR-210-3p	2.31	0.000 166	3.99	8.58E-07	上调
hsa-miR-146a-5p	1.32	0.000 273	1.56	0.011 93	上调
hsa-miR-17-5p	1.05	0.000424	2.26	6.21E-05	上调
hsa-miR-106b-5p	1.58	0.001434	1.53	0.00265	上调
hsa-miR-216a-5p	- 3.42	7.38E-09	- 11.93	3.11E-05	下调
hsa-miR-148a-3p	- 2.44	1.89E-08	- 3.94	9.10E-06	下调
hsa-miR-216b-5p	- 3.60	2.76E-08	- 7.74	0.000 361	下调
hsa-miR-30b-5p	- 1.08	1.60E-07	- 1.07	0.002 952	下调
hsa-miR-30c-5p	- 1.05	3.07E-07	- 1.72	8.32E-05	下调
hsa-miR-30e-5p	- 1.05	0.000137	- 1.29	0.001 436	下调
hsa-miR-132-5p	- 1.46	0.000458	- 1.80	0.015 494	下调

2.2 靶基因富集分析、PPI 网络构建与模块分析 使用 Metascape 进行候选 DEM 靶基因的 GO 富集分析表明，上调 DEM 的靶基因主要富集在共生过程（BP）、噬菌体装配位点（CC）和蛋白结构域特异性结合（MF），而下调 DEM 的靶基因则主要富集于染色质沉默（BP）、胞质核周区域（CC）和双链 RNA 结合（MF）。KEGG 分析显示，上调 DEM 的靶基因主要参与了线粒体、自噬和乙型肝炎信号通路，而下调 DEM 的靶基因则主要参与了内吞作用，RNA 转运和酒精中毒相关信号通路，见表 2。

对这些靶基因构建 PPI 网络，在删除孤立和部分连接的节点后使用 Cytoscape 可视化发现，该网络由 169 个节点和 364 个连接组成。其中 Degree ≥ 9 的枢纽基因共有 17 个：ACLY，MAPK8，EP300，CALM3，DDX5，APP，CCT2，HNRNPA2B1，CASP8，SRSF7，HIF1A，PTBP1，BUB3，MET，UBE2D3，RNPS1 和 UBQLN1。从 PPI 网络中识别出 3 个群集，最重要的群集由 7 个

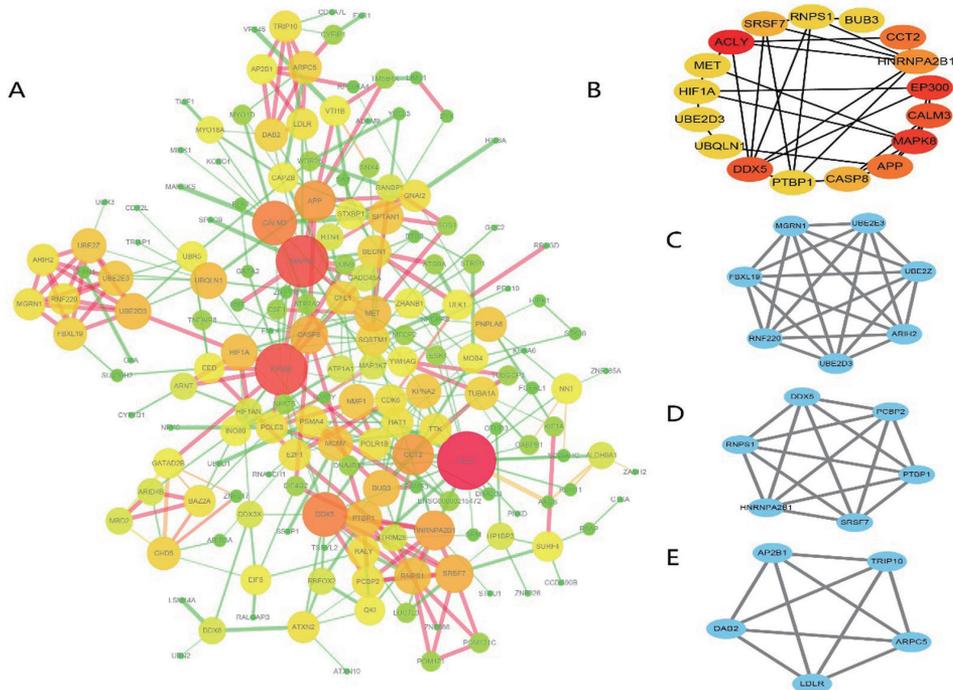
节点和 21 个连接组成，见图 1。这些节点基因和群集中的基因可视为在慢性胰腺炎到胰腺癌进展过程发挥了重要作用的关键基因。富集分析表明，节点基因主要富集在剪接体对 mRNA 剪接的负调控、前 mRNA 结合、结合的正调控等；群集中的基因则主要富集在泛素蛋白转移酶活性、剪接体对 mRNA 剪接的负调控和内吞作用等。

2.3 基因的表达与生存分析 将上述枢纽基因和群集中的基因进行表达分析发现，只有 5 个基因（ACLY，RNPS1，FBXL19，MGRN1 和 TRIP10）的表达在基于胰腺炎状态时存在差异。其中，RNPS1 和 MGRN1 是 PC 中 3 个上调 DEM 的靶基因（hsa-miR-221-3p，hsa-miR-222-3p 和 hsa-miR-210-3p）。见图 2C，2F 所示，在胰腺癌患者中 RNPS1 和 MGRN1 的高表达均代表着预后较好（ $P < 0.05$ ），而根据 UALCAN 的数据，RNPS1 和 MGRN1 表达的趋势更多的取决于有无合并胰腺炎，见图 2。

表 2 候选 DEM 靶基因的富集分析

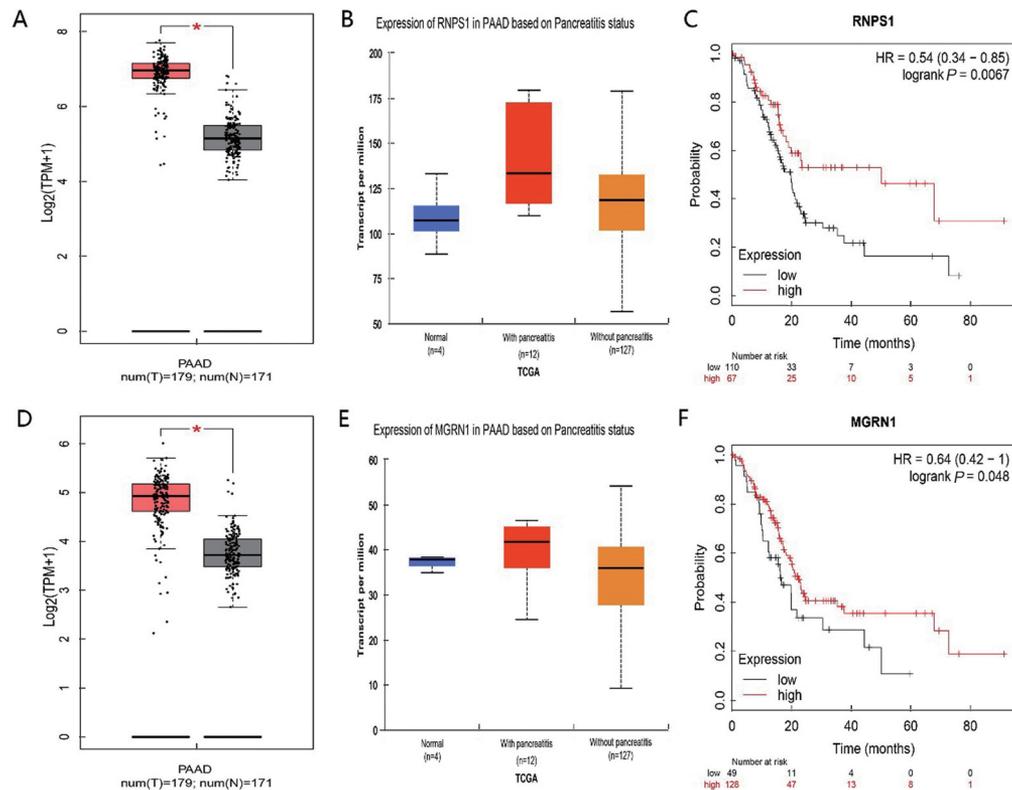
靶基因富集条目	富集项目	条目描述	基因数目	LogP		
PC 中上调 DEM 靶基因	GO:0044403	BP	共生过程	22	- 8.2	
	GO:0010638	BP	细胞组织的正性调控	18	- 7	
	GO:0016032	BP	病毒过程	19	- 6.7	
	GO:0000407	CC	荧光体组装位点	5	- 5.8	
	GO:0000118	CC	组蛋白脱乙酰酶复合物	5	- 4.3	
	GO:0043209	CC	髓鞘	7	- 4	
	GO:0019904	MF	蛋白质结构域特异性结合	18	- 6	
	GO:0019900	MF	激酶结合	16	- 4.6	
	GO:0000982	MF	转录因子活性, RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合	12	- 4.4	
	hsa04137	KEGG	线粒体 - 动物	7	- 6.6	
	hsa04140	KEGG	自噬 - 动物	6	- 3.7	
	hsa05161	KEGG	乙肝病毒	6	- 3.4	
	PC 中下调 DEM 靶基因	GO:0006342	BP	染色质沉默	5	- 3.9
		GO:0045814	BP	基因表达的负调控, 表观遗传	5	- 3.6
GO:0071479		BP	细胞对电离辐射的反应	4	- 3.6	
GO:0048471		CC	细胞质的核周区域	14	- 5.8	
GO:0030176		CC	内质网膜的组成部分	6	- 4.3	
GO:0031227		CC	内质网膜的固有成分	6	- 4.2	
GO:0003725		MF	双链 RNA 结合	5	- 4.7	
GO:0001046		MF	核心启动子序列特异性 DNA 结合	3	- 3.2	
GO:0019902		MF	磷酸酶结合	5	- 3	
hsa04144		KEGG	胞吞作用	5	- 2.3	
hsa03013		KEGG	RNA 转运	4	- 2.2	
hsa05034		KEGG	酒精中毒	4	- 2.1	

注: GO: 基因本体论; BP: 生物过程; CC: 细胞成分; MF: 分子功能; KEGG: 京都基因和基因组百科全书。



A. PPI 网络; B. 枢纽基因; C ~ E. 群集 1 ~ 3。红色代表得分较高, 生物统计学意义显著

图 1 PPI 网络构建及模块分析



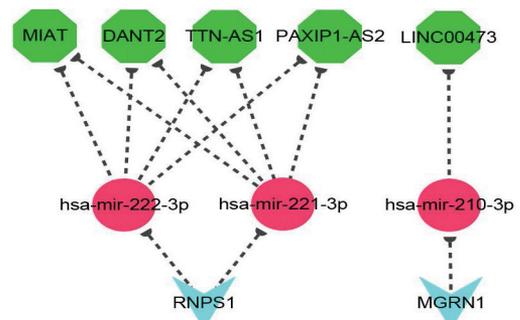
A 与 D: 来自 GEPIA 数据库的 RNPS1 和 MGRN1 在胰腺癌中的表达; B 与 E: 根据 TCGA 数据库基于胰腺炎状态的 RNPS1 和 MGRN1 在胰腺癌中的表达; C 与 F: RNPS1 和 MGRN1 在胰腺癌中的预后价值。

图 2 关键基因在胰腺癌中的表达和预后价值

2.4 LncRNA-miRNA-gene 的 ceRNA 网络构建 生存分析显示 3 个上调的 DEM (hsa-miR-221-3p, hsa-miR-222-3p 和 hsa-miR-210-3p) 对 PC 患者提示不良预后, 而 3 个下调的 DEM (hsa-miR-148a-3p, hsa-miR-30b-5p 和 hsa-miR-132-5p) 提示预后较好。结合靶基因分析的结果, 将 hsa-miR-221-3p, hsa-miR-222-3p 和 hsa-miR-210-3p 视为 CP 进展为 PC 中发挥重要作用并影响预后的关键 DEM。对这 3 个关键 DEM 进行 LncRNA 的预测分析发现, 有 41 个 LncRNA 可能与这 3 个关键 DEM 相关, 其中有 5 个 LncRNA (MIAT, DANT2, TTN-AS1, PAXIP1-AS2 和 LINC00473) 在胰腺癌中具有预后价值, 并且与关键 DEM 相反, 与关键基因一致。基于以上结果及 ceRNA 的假设, 我们构建了一个 LncRNA-miRNA-gene 的三重调控网络, 见图 3。

3 讨论

PC 常见的危险因素除了吸烟、饮酒和糖尿病外, CP 也被认为是胰腺癌发病的独立因素, 但目前仍无法早期区分胰腺炎性肿块和恶性肿瘤, 研究 CP 在演变为 PC 的过程中发挥作用的 key 节点也因此具有重要意义。通过对临床样本进行芯片检测, 继而采用生物信息学分析可为疾病的基因诊断及治疗提供潜在的分子靶点^[3-4]。



注: 绿色六边形代表 LncRNA, 红色圆形代表在 PC 中表达上调的 miRNA, 蓝色箭头代表 miRNA 的下游靶基因。

图 3 LncRNA-miRNA-gene 的三重调控网络

本研究通过 GEO 数据库, 在筛选出的两个数据集中利用交互分析的方法, 首先筛选出了存在相同表达趋势的 16 个 DEM。目前已有研究报道证实 hsa-miR-221-3p, hsa-miR-222-3p 和 hsa-miR-210-3p 的高表达可能在胰腺癌变过程中发挥作用, 是潜在的生物标志物^[5-7]。而且, 这 3 个 DEM 的表达水平在包括慢性胰腺炎在内的许多胰腺疾病中是不同的^[8-10], 表达水平的高低有可能鉴别出胰腺的良恶性病变。CP 的纤维化炎症反应导致胰腺的外分泌功能受损, 继而引起肠道菌群失调, 而后者在 PC 的发生、发展中可能发挥重要作用^[11]。本研究中,

2个数据集中的 hsa-miR-148a-3p 表达在 CP 中均显著升高, 已有研究报道 miR-148a 参与了在胰腺纤维化中非常重要的 TGF- β /SMAD 信号通路^[12], 这些发现也证实了本研究中生物信息学分析的科学性。与 CP 相比, PC 中的 hsa-miR-132-5p 表达下调, 这与 OncomiR 数据库中的记录一致, 生存分析也表明 hsa-miR-132 的高表达与 PC 预后良好相关, 但 has-miR-132-5p 在 PC 发生和进展中的作用尚需进一步研究。对于 hsa-miR-30b-5p, 多项研究示其过度表达可抑制细胞增殖、侵袭和迁移, 并被认为是许多肿瘤的抑制因子^[13-15], 而迄今为止, 关于 hsa-miR-30b-5p 在 PC 中作用的报道很少, XIONG 等^[16]报道, 在三阳性 (CD24+, CD44+, EpCAM+) 胰腺癌干细胞中, hsa-miR-30b-5p 显著下调, 并可能作为 PC 的潜在治疗靶点。

通过构建 DEM 和靶基因的交互网络, 我们发现, 上调 DEM 的靶基因有 36% (90/250) 重叠, 而下调 DEM 靶基因有 35% (57/161) 重叠, 这表明上调或下调 DEM 在生物学行为中具有极为相似的功能。其中, 上调 DEM 的靶基因参与了自噬的正调控, 而下调 DEM 的靶基因则参与了自噬的负调控。肿瘤细胞可以使用自噬介导的循环来维持线粒体功能和能量稳态, 以满足增长和增殖的新陈代谢需求, 但自噬在癌症中的作用机制仍知之甚少^[17]。在 CP 的发病及进展中, 胰腺星状细胞活化发挥了重要作用, 而通过对胰腺星状细胞自噬的抑制可降低胰腺肿瘤的侵袭性^[18-19], 自噬抑制剂还可提高吉西他滨对 PC 的疗效^[20]。因此, 分析得出的 DEM 可通过下游靶基因对机体的自噬功能调控发挥抑制肿瘤形成的作用, 这也为进一步的功能研究提供了方向。此外, 在 PC 的发病机制中, 基于基因突变的致病机制为精准医疗提供了理论支持, 一项大样本的结合基因突变频率的研究揭示了众多节点蛋白和关键通路, 其中 CDKN2A, TP53, MLH1, BRCA1, BRCA2 及 ATM 视为高风险基因^[21]。本研究中筛选出的关键基因的功能分析同样富集在 mRNA 的调控、结合等可能发生基因突变的过程中, 可为研究胰腺癌发生过程中的基因突变机制提供备选基因。

ceRNA 的假设首先由 SALMENA 等人提出。随后, 越来越多的研究已在多种肿瘤和疾病 (包括 PC 和 CP) 中证实了这一现象^[22]。有研究报道, 血清中 LncRNA 的表达可区分出胰腺炎症和恶性肿瘤^[23], 而 WANG 等^[12]人基于生物信息学分析和 RT-PCR 检测结果证实, STX12/miR-148a/SMAD5 的调控网络可作为治疗 CP 和逆转胰腺纤维化的新靶点。在该研究中, WANG 等^[12]人检测到 has-

miR-148a 在 CP 中的表达显著升高, 这也与我们的分析一致。因此, 为了进一步探讨 miRNA 在 CP 到 PC 的过程中所发挥的生物学作用, 我们基于 ceRNA 假设, 预测了 41 个可能与关键 DEM 结合的 LncRNA, 在分析 LncRNA 的预后价值后, 筛选出 MIAT, DANT2, TTN-AS1, PAXIP1-AS2 和 LINC00473, 结合对 DEM 靶基因综合分析后得到的 RNPS1 和 MGRN1, 构建了与 CP 和 PC 表达及预后相关的 LncRNA-miRNA-gene 调控网络。在该网络中, MIAT 和 LINC00473 作为 miRNA 的 ceRNA 已在 PC 或 CP 中得到证实^[24-25], 因此, 该 ceRNA 调控网络中的节点在从 CP 到 PC 的过程中所发挥的生物学作用值得深入研究。

综上所述, 本研究通过交互分析, 筛选出可在 CP 患者恶变过程发挥关键作用的靶点, 并结合目前发表的研究, 将这些关键节点所发挥的生物学作用进行了初步探讨。但是, 本研究同样存在一些局限性, 首先, 由于临床样本较难获得, 大样本的芯片分析尤为难得, 该研究纳入的数据集和样本量均有不足; 其次, 由于采用的筛选标准和算法, 一些有价值的生物标志物有可能被排除在外; 分析得出的 DEM, 基因和 LncRNA 尚需要进一步实验验证, 再探索它们在 PC 的诊断和分子治疗中的应用。

参考文献:

- [1] 郭勇, 龚建平, 李培志. 胰腺癌的综合治疗进展 [J]. 国际外科学杂志, 2021, 48(9): 638-643.
GUO Yong, GONG Jianping, LI Peizhi. Advances in the comprehensive treatment of pancreatic cancer [J]. International Journal of Surgery, 2021, 48(9): 638-643.
- [2] LOWENFELS A B, MAISONNEUVE P, CAVALLINI G, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer [J]. N Engl J Med, 1993, 328(20):1433-1437.
- [3] 李超, 朱晓丹, 张玲华, 等. 基于 GEO 数据库整合 miRNA-mRNA 表达谱筛选卵巢癌的关键基因分子及生物信息分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(5): 38-42.
LI Chao, ZHU Xiaodan, ZHANG Linghua, et al. Screening key biomarkers and bioinformatic analysis of ovarian cancer by integrated miRNA-mRNA expression profiles based on GEO database [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(5): 38-42.
- [4] 吴良银, 李文丽, 刘俊. 基于 GEO 数据的病毒相关性肝癌潜在生物基因标志物的筛选及生物信息学分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6): 106-110.
WU Liangyin, LI Wenli, LIU Jun. Screening and bioinformatics analysis of potential biomarkers for virus-associated hepatocellular carcinoma based on GEO data [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(6): 106-110.
- [5] XIE J, WEN J T, XUE X J, et al. MiR-221 inhibits proliferation of pancreatic cancer cells via down

- regulation of SOCS3[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(7): 1914-1921.
- [6] 高杰, 张晓, 魏超. 差异表达 miRNA 在胰腺癌预后判断中的价值 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2019, 31(3): 173-179.
GAO Jie, ZHANG Xiao, WEI Chao. Involvement of differentially expressed miRNA in prognosis of pancreatic cancers[J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2019, 31(3): 173-179.
- [7] 胡应霞, 张海蓉, 石围, 等. 血浆 miR-155, miR-196a, miR-21 和 miR-210 对胰腺癌的早期诊断价值 [J]. *肿瘤*, 2015, 35(10): 1135-1143.
HU Yingxia, ZHANG Hairong, SHI Wei, et al. Early diagnostic value of plasma miR-155, miR-196a, miR-21 and miR-210 in patients with pancreatic cancer[J]. *Tumor*, 2015, 35(10): 1135-1143.
- [8] XIN Lei, GAO Jun, WANG Dan, et al. Novel blood-based microRNA biomarker panel for early diagnosis of chronic pancreatitis[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40019.
- [9] ZHANG Yuqing, LI Min, WANG Hao, et al. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis[J]. *World Journal of Surgery*, 2009, 33(4): 698-709.
- [10] WANG Lei, ZHENG Jianming, SUN Chang, et al. MicroRNA expression levels as diagnostic biomarkers for intraductal papillary mucinous neoplasm[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(35): 58765-58770.
- [11] 孙莹莹, 陆颖影, 靖大道. 慢性胰腺炎和胰腺癌发生及发展中肠道微生态的研究进展 [J]. *国际消化病杂志*, 2021, 41(4): 240-243.
SUN Yingying, LU Yingying, JING Dadao. Research progress of intestinal microbiology in the development of chronic pancreatitis and pancreatic cancer [J]. *International Journal of Digestive Diseases*, 2021, 41(4): 240-243.
- [12] WANG Hao, JIANG Yanfeng, LU Ming, et al. STX12 LncRNA/miR-148a/SMAD5 participate in the regulation of pancreatic stellate cell activation through a mechanism involving competing endogenous RNA[J]. *Pancreatology*, 2017, 17(2): 237-246.
- [13] QI Z, ZHANG B, ZHANG J, et al. MicroRNA-30b inhibits non-small cell lung cancer cell growth by targeting the epidermal growth factor receptor[J]. *Neoplasia*, 2018, 65(2): 192-200.
- [14] WANG Ning, XIANG Xiaohui, CHEN Kai, et al. Targeting of NT5E by miR-30b and miR-340 attenuates proliferation, invasion and migration of gallbladder carcinoma[J]. *Biochimie*, 2018, 146: 56-67.
- [15] LIU Wenjuan, LI Honghong, WANG Yan, et al. MiR-30b-5p functions as a tumor suppressor in cell proliferation, metastasis and epithelial-to-mesenchymal transition by targeting G-protein subunit α -13 in renal cell carcinoma[J]. *Gene*, 2017, 626: 275-281.
- [16] XIONG Yicheng, WANG Yao, WANG Lei, et al. MicroRNA-30b targets Snail to impede epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer stem cells[J]. *Journal of Cancer*, 2018, 9(12): 2147-2159.
- [17] WHITE E, MEHNERT J M, AUTOPHAGY C C. Metabolism and cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(22): 5037-5046.
- [18] MAERTIN S, ELPERIN J M, LOTSHAW E, et al. Roles of autophagy and metabolism in pancreatic cancer cell adaptation to environmental challenges[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2017, 313(5): G524-G536.
- [19] ENDO S, NAKATA K, OHUCHIDA K, et al. Autophagy is required for activation of pancreatic stellate cells, associated with pancreatic cancer progression and promotes growth of pancreatic tumors in mice[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(6): 1492-1506, e24.
- [20] KWON J J, WILLY J A, QUIRIN K A, et al. Novel role of miR-29a in pancreatic cancer autophagy and its therapeutic potential[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(44): 71635-71650.
- [21] HU Chunling, HART S N, POLLEY E C, et al. Association between inherited germline mutations in cancer predisposition genes and risk of pancreatic cancer[J]. *JAMA*, 2018, 319(23): 2401-2409.
- [22] 臧龙军, 陈东杰, 高文哲, 等. 长链非编码 RNA SOX21-AS1 调控 miR-31-5p/MMP-16 轴对胰腺癌细胞活性与增殖的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2022, 31(3): 329-339.
ZANG Longjun, CHEN Dongjie, GAO Wenzhe, et al. Effect of long non-coding RNA SOX21-AS1 on viability and proliferation of pancreatic cancer cells via modulating miR-31-5p/MMP-16 axis[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2022, 31(3): 329-339.
- [23] 王东琴, 霍浩然, 秦瑞峰, 等. 胰腺癌患者血清 LncRNA-SNHG11 的表达水平及其临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(1): 125-129, 144.
WANG Dongqin, HUO Haoran, QIN Ruifeng, et al. Expression level of serum LncRNA-SNHG11 in patients with pancreatic cancer and its clinical significance[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(1): 125-129, 144.
- [24] LIU Hao, YU Kaihuan, MA Peng, et al. Long noncoding RNA myocardial infarction-associated transcript regulated the pancreatic stellate cell activation to promote the fibrosis process of chronic pancreatitis[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(6): 9547-9555.
- [25] ZHOU Wenyang, ZHANG Mingming, LIU Chang, et al. Long noncoding RNA LINC00473 drives the progression of pancreatic cancer via upregulating programmed death-ligand 1 by sponging microRNA-195-5p[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(12): 23176-23189.

收稿日期: 2022-11-14

修回日期: 2022-12-12