

## 成骨不全环状 RNA 生物信息学分析

马翔<sup>1,2</sup> 鲁艳芹<sup>1,2</sup> 王廷宙<sup>3</sup> 刘军龙<sup>4</sup> 苏学利<sup>4</sup> 张遥<sup>1,2</sup> 左清利<sup>1,2</sup> 任秀智<sup>4</sup> 韩金祥<sup>1,2\*</sup>

1. 济南大学-山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250022

2. 山东省医药生物技术研究中心, 山东省医学科学院, 山东 济南 250062

3. 山东省立医院, 山东 济南 250021

4. 天津市武清区人民医院, 天津 301700

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 04-0431-06

**摘要:** **目的** 对成骨不全血清中差异表达的 miR-21、miR-26a、miR-29a、miR-29b、miR-30e、miR-34c、miR-133a、miR-145、miR-210、miR-489 与 miR-1297 等共 11 种 miRNAs 进行 circRNAs 及其靶基因的预测, 同时分析其与 circRNAs 及靶基因间的相互作用。**方法** 采用 starbase 软件对 11 种差异性表达 miRNAs 相关 circRNAs 进行预测, 将得到的 miRNA-circRNA 进行频数分布分析并通过 cytoscape 软件进行网络分析寻找核心分子。采用 miRWALK 软件对 11 种差异性表达 miRNAs 相关靶基因进行预测, 将得到的 miRWALK-靶基因进行频数分布分析并通过 cytoscape、DAVID 软件进行网络分析寻找核心分子。**结果** Starbase 软件对 11 种不同 miRNAs 所预测的靶 circRNAs 的总数量为 222 个, 非重叠 circRNAs 为 141 个。其中 MIB1\_hsa\_circ\_000886, MIB1\_hsa\_circ\_002013, CPNE1\_hsa\_circ\_000657, CYP4F3\_hsa\_circ\_001395, KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 与其中 4 种 miRNA 相互作用。另有 14 个 circRNAs 与 3 种 miRNA 相互作用。miRWALK 软件对 11 种不同 miRNAs 所预测的靶基因中 CNOT6、ELF2、NAV3 等基因在不同数量级数据库中与相应不同种 miRNAs 作用密切。通过对 11 种 miRNA 相应 circRNA 以及靶基因生物学预测分析得到 YES1 基因与 miR-133a、miR-145 以及 FAT1\_hsa\_circ\_000713 与 LMNB2\_hsa\_circ\_001499 之间存在相互作用。PPP2CA 与 miR-29a、miR-29b、miR-133a 以及 KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 之间存在相互作用。NTN4 和 SRGAP1 与 miR-26a、miR-145 以及 RFC1\_hsa\_circ\_001649 之间存在相互作用。**结论** 本研究对成骨不全血清中差异表达的 11 种 miRNAs 及其相互作用的 circRNAs、靶基因与相关信号通路进行了网络分析与预测, 为进一步分析之间相互作用奠定了基础。

**关键词:** 成骨不全; miRNA; circRNA; 靶基因; 信号通路; 生物信息学预测

### Bioinformatics analysis of osteogenesis imperfecta related cyclic RNAs

MA Xiang<sup>1,2</sup>, LU Yanqin<sup>1,2</sup>, WANG Yanzhou<sup>3</sup>, LIU Junlong<sup>4</sup>, SU Xueli<sup>4</sup>, ZHANG Yao<sup>1,2</sup>, ZUO Qingli<sup>1,2</sup>, REN Xiuzhi<sup>4</sup>, HAN Jinxiang<sup>1,2\*</sup>

1. University of Jinan-Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250022, China

2. Shandong Medicinal Biotechnology Center, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China

3. Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021, China

4. The People's Hospital of Tianjin Wuqing District, Tianjin 301700, China

Corresponding author: HAN Jinxiang, Email: samshjx@sina.com; REN Xiuzhi, Email: xiuzhiren@hotmail.com

**Abstract: Objective** To predict circRNAs and target genes for 11 differentially expressed miRNAs including miR-21, miR-26a, miR-29a, miR-29b, miR-30e, miR-34c, miR-133a, miR-145, miR-210, miR-489 and miR-1297 in the serum specimens of osteogenesis imperfecta (OI) patients. **Methods** The Starbase software was used to predict the related circRNAs of the eleven differentially expressed miRNAs, and the frequency distribution of miRNA-circRNA was analyzed and the network analysis was conducted by Cytoscape software to find the core elements. Using the miRWALK software, the target genes of the eleven differentially expressed miRNAs were predicted, the target genes of miRWALK were obtained by frequency distribution analysis and Cytoscape DAVID software to find the core molecule using network analysis. **Results** A total of 222 circRNAs were predicted by the Starbase software for these 11 miRNAs and 141 of them belonged to non-overlapping circRNAs. Among them, MIB1\_hsa\_circ\_000886, MIB1\_hsa\_circ\_002013, CPNE1\_hsa\_circ\_000657 CYP4F3\_hsa\_circ\_001395 and KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 were

\*通讯作者: 韩金祥, Email: samshjx@sina.com; 任秀智, Email: xiuzhiren@hotmail.com

found to interact with four kinds of miRNAs. Another 14 circRNAs were found to interact with three kinds of miRNAs. MiRWALK software predicted that the target genes of CNOT6, ELF2 and NAV3 were closely interacted with corresponding differentially expressed miRNAs of OI. MiR-133a\miR-145 was identified to interact with YES1 gene and circRNA FAT1\_hsa\_circ\_000713 and LMNB2\_hsa\_circ\_001499. MiR-29a\miR-29b\miR-133a interacted with PPP2CA gene and KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 circRNA. MiR-145\miR-26a interacted with NTN4 and SRGAP1 genes and RFC1\_hsa\_circ\_001649 circRNA. **Conclusion** In this study, we analyzed differentially expressed miRNAs of OI and their corresponding circRNAs and target genes. Meanwhile, the network interaction among miRNAs, circRNAs and target genes as well as signaling pathways were also analyzed. The study laid the foundation for the further interaction analysis of miRNAs, circRNAs and target genes.

**Key words:** Osteogenesis imperfecta; MicroRNAs; CircRNAs; Target genes; Signaling pathway; Bioinformatics prediction

环状 RNA 作为新型的非编码 RNA 分子稳定性高,存在范围广泛,具有高表达性、组织特异性以及良好的物种保守性。CircRNAs 具有重要的调控功能,能作为 miRNAs 海绵功能分子<sup>[1]</sup>。在斑马鱼实验中,胚胎中超高表达 CDR1as 可导致斑马鱼脑中脑体积减少,将人/鼠的 CDR1as 注射到斑马鱼中会出现与 miR-7 敲除相似的表型,CDR1as 的表达水平与 miR-7 靶基因表达水平表现出一致性,表明 CDR1as 是 miR-7 的环状抑制剂<sup>[2-3]</sup>。研究发现 circRNAs 与阿兹海默症、动脉粥样硬化、糖尿病、癌症等疾病的发生有关<sup>[4-8]</sup>。最新研究发现在一些癌症(肺癌、胃癌)等疾病中对于筛选出差异性表达的 circRNAs,通过结合临床信息以及医学统计学检验,认为所筛选出的 circRNAs 具有作为疾病诊断潜在标记物的可能性<sup>[9-11]</sup>。同时又有研究发现相比于其他组织血液中很多 circRNAs 分子表达稳定性更高<sup>[12]</sup>,circRNAs 所发挥的生物学功能和作为疾病诊断标志物在临床治疗上的潜力是巨大的。

成骨不全(osteogenesis imperfecta, OI)是一种通过遗传或者基因突变而产生的先天性骨骼发育障碍结缔组织疾病<sup>[13-15]</sup>。通过对 116 种相关的 miRNAs 进行检测发现 miR-21 与 miR-26a 等 11 种 miRNAs 在成骨不全血清中存在差异表达<sup>[16-18]</sup>。本文拟通过生物信息学预测,分析与成骨不全差异性表达 miRNAs 相互作用的 circRNAs,同时探讨 circRNA-miRNA-靶基因之间的相互作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 miRNAs-circRNAs 相互作用的生物信息学预测与网络分析

采用 starbase 软件(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)<sup>[19]</sup>分别对成骨不全血清中差异表达的 miR-21、miR-26a、miR-29a、miR-29b、miR-30e、miR-34c、miR-133a、miR-145、miR-210、miR-489 与 miR-1297 等 11 种 miRNAs 进行生物信息学预测。采用

Cytoscape 3.2.1([www.cytoscape.org](http://www.cytoscape.org))对在成骨不全血清中差异表达的上述 11 种 miRNAs 通过 starbase 预测的 141 种 circRNAs 进行网络分析<sup>[20]</sup>。参数设置:其中将 circRNAs 用圆形表示,miRNAs 用正方形表示,节点的大小(圆的大小)代表该分子在网络中的度(所对应的 miRNAs 邻居个数),颜色随节点大小(圆的大小)由浅绿到深红渐变。

### 1.2 miRNAs 靶基因的生物信息学预测与网络分析

通过 miRWALK 软件(<http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk>)<sup>[21]</sup>对上述在成骨不全血清中差异表达的 11 种 miRNAs 利用 DIANA-mT、miRanda、miRDB、miRWALK、RNAhybrid、PICTAR4、PICTAR5、PITA、RNA22 与 TargetScan 十个数据库进行靶基因的生物信息学预测。对原始数据首先进五个数据库以上记录的相互作用靶基因分析。将得到的靶基因采用 Cytoscape 3.2.1<sup>[19]</sup>([www.cytoscape.org](http://www.cytoscape.org))进行网络分析。对预测的靶基因通过 DAVID 软件([www.david.ncifcrf.gov](http://www.david.ncifcrf.gov))进行 pathway 分析<sup>[22]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 miRNAs-circRNAs 相互作用的生物信息学预测与网络分析

Starbase 软件对 11 种不同 miRNAs 所预测的靶 circRNAs 的总数量为 222 个,其中非重叠 circRNAs 为 141 个。

对预测出的 circRNAs 进一步分析得出 CPNE1\_hsa\_circ\_000657 与 miR-26a、miR-34c、miR-30e 和 miR-1297 等 4 种 miRNAs 相互作用;KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 与 miR-29、miR-29b、miR-34c 和 miR-133a 等 4 种 miRNAs 相互作用;CYP4F3\_hsa\_circ\_001395 与 miR-29a、miR-29b、miR-30e 和 miR-133a 等 4 种 miRNA 相互作用;MIB1\_hsa\_circ\_002013 和 MIB1\_hsa\_circ\_000886 与 miR-29a、miR-29b、miR-

34c 和 miR-145 等 4 种 miRNA 相互作用。见图 1。14 种 circRNAs 分别与 3 种不同的 miRNAs 共同相互作用。见表 1、图 1。

2.2 miRNAs 靶基因的生物信息学预测与网络分析

MiRwalk 对 11 种 miRNAs 靶基因预测结果中,对超过 7 个数据库以上的三种情况进行分析。分析得到超过 7 个数据库记录的靶基因总数为 1297 个,非重叠靶基因 944 个。超过 8 个数据库记录的靶基因总数为 416 个,非重叠靶基因 312 个。超过 9 个数据库记录的靶基因总数为 91 个,非重叠靶基因 70 个。

Cytoscape 网络分析结果表明 7 个以上数据库记录的 MiRNA-Target Gene 相互作用中 CNOT6 节点最大,其次 ABCE1, BCL11A, ELF2, EML5, NAV3, JARID2, KLF4, QKI 这 8 个靶基因节点较大。8 个以上数据库记录的 MiRNA-Target Gene 相互作用中 ELF2 与 NAV3 基因节点最大分别与 4 个 miRNA 相互作用,PTEN、TET1、KBTBD8、TRIB2、RLF、REV3L、SBF2、PAN3、RARB 9 个靶基因节点较大分别与 3 种不同 miRNA 相互作用。9 个以上数据库记录的 MiRNA-Target Gene 相互作用中仅 NAV3 基因节点最大与 3 个不同 miRNA 相互作用,ADAMTS6、ANKRD13C、C5orf13、COL11A1 等 19 个靶基因节点较大分别与 2 种 miRNA 相互作用。

目前为止有文献纪录与骨病相关的信号通主要包括 WNT、OPG/RNAKL/RNAK、TGF-beta、MAPK、NOTCH 信号通路等途径<sup>[23-24]</sup>。将超过 7 个数据库与 9 个数据库预测所共有的信号通路为 Focal

adhesion、ECM-receptor interaction、TGF-beta signaling pathway、Notch signaling pathway、Tight junction、Axon guidance、Pathways in cancer、Wnt signaling pathway、Small cell lung cancer、mTOR signaling pathway。见表 1。

表 1 成骨不全差异性 miRNAs 靶基因的 KEGG 信号通路在 7-9 以上预测数据库中的 P 值变化

Table 1 P value in KEGG signaling pathways of involved genes predicted by more than 7-9 databases targeting differentially expressed miRNAs of OI

| Term                       | ≥9       | ≥8       | ≥7          |
|----------------------------|----------|----------|-------------|
| Focal adhesion             | 1.17E-04 | 1.74E-05 | 1.12E-08    |
| ECM-receptor interaction   | 1.80E-05 | 1.50E-04 | 1.07E-04    |
| TGF-beta signaling pathway | -        | 0.005428 | 0.001895926 |
| Notch signaling pathway    | -        | 0.01104  | 0.002866437 |
| Tight junction             | —        | 0.012153 | 0.024094689 |
| Axon guidance              | —        | 0.032829 | 3.89E-05    |
| Pathways in cancer         | —        | 0.040896 | 3.96E-05    |
| Wnt signaling pathway      | —        | 0.062243 | 9.15E-04    |
| Small cell lung cancer     | —        | 0.071221 | 1.07E-04    |
| mTOR signaling pathway     | —        | 0.072432 | 0.01859007  |

对以上除肿瘤相关信号通路外其余信号通路得到的靶基因进行 circRNA-miRNA-Target Gene 分析表明,YES1 基因与 miR-133a、miR-145 以及 FAT1\_hsa\_circ\_000713 与 LMNB2\_hsa\_circ\_001499 之间存在相互作用。PPP2CA 与 miR-29a、miR-29b、miR-133a 以及 KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 之间存在相互作用。NTN4 和 SRGAP1 与 miR-26a、miR-145 以及 RFC1\_hsa\_circ\_001649 之间存在相互作用。见图 2。

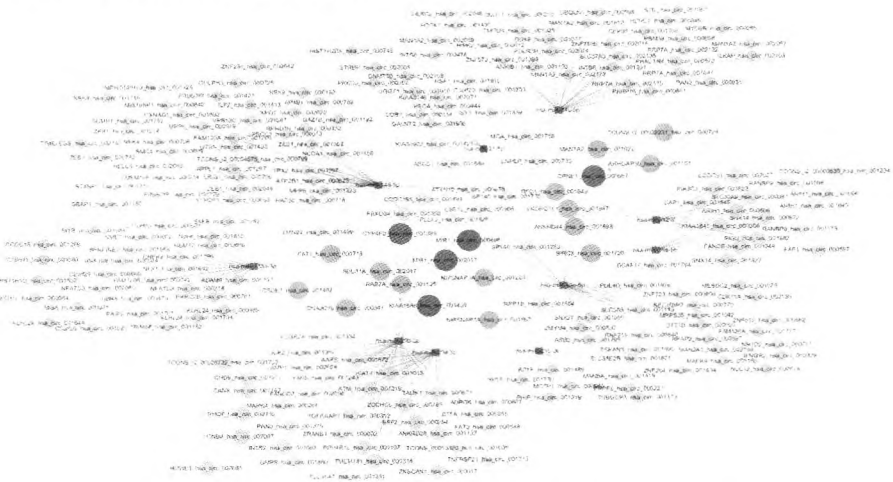


图 1 成骨不全差异性 miRNAs 及其相互作用的 circRNAs

Fig. 1 Differentially expressed miRNAs of OI and circRNAs predicted by miRNAs

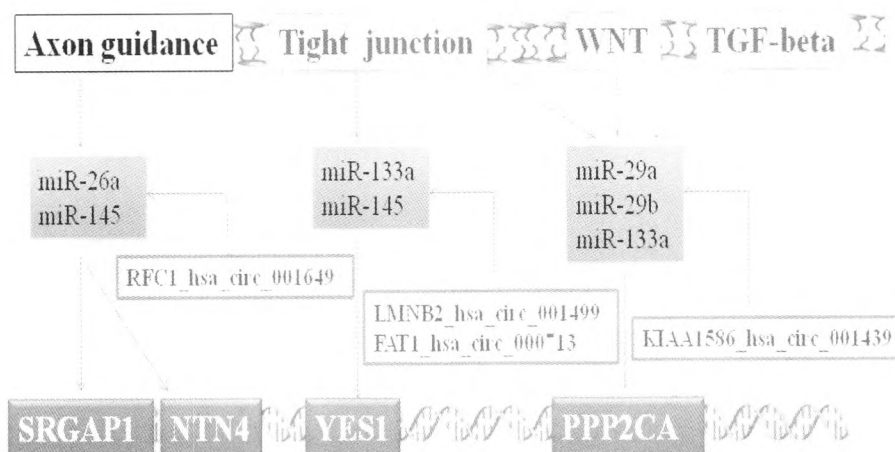


图 2 成骨不全差异性 miRNAs 及其相互作用的 circRNAs 与靶基因的网络分析

Fig. 2 Network analysis of the interaction among differentially expressed miRNAs of OI and predicted circRNAs and genes

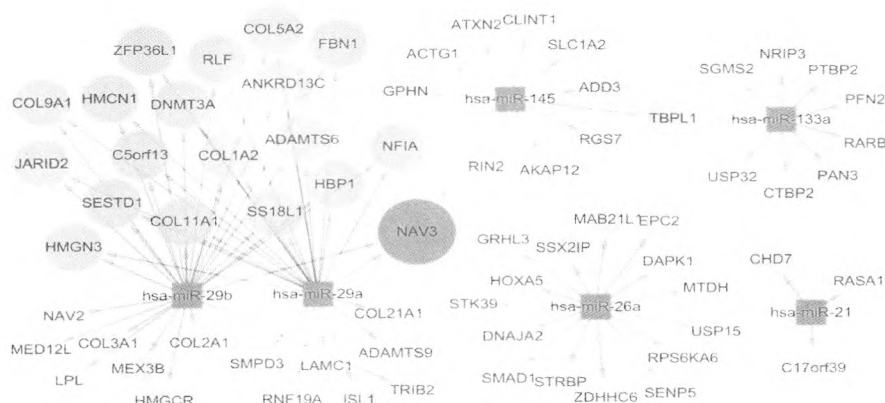


图 3 成骨不全差异性 miRNAs 与其靶基因间相互作用网络分析图

Fig. 3 Network analysis between differentially expressed miRNAs of OI and predicted target genes

### 3 讨论

本文分析预测出的 4 种差异性表达成骨不全 miRNA 所共有的 MIB1\_hsa\_circ\_000886 等 5 种 circRNA 以及 3 种差异性成骨不全 miRNA 所共有的 19 种 circRNA 在成骨不全中的生物学作用仍需进一步实验探究。同时所预测得到的相关 circRNAs 能否作为成骨不全血清中差异表达的 11 种 miRNA 的海绵功能需进一步实验探究。通过对成骨不全血清中差异表达的 11 种 miRNAs 进行 circRNAs 及其靶基因的预测得到在 Tight junction 信号通路中 YES1 基因与 miR-133a、miR-145 以及 FAT1\_hsa\_circ\_000713 与 LMNB2\_hsa\_circ\_001499 之间存在相互作用, TGF-beta, WNT 以及 Tight junction 信号通路中 PPP2CA 与 miR-29a、miR-29b、miR-133a 以及

KIAA1586\_hsa\_circ\_001439 之间存在相互作用, Axon guidance 信号通路中 NTN4 和 SRGAP1 与 miR-26a、miR-145 以及 RFC1\_hsa\_circ\_001649 之间存在相互作用, 这些相互作用的 circRNA-miRNA-靶基因是否在成骨不全疾病中发挥着海绵功能需进一步实验探究。

YES1 是一种致癌基因, 与 ATP 结合, 酶联反应, 蛋白连接, 表皮生长因子受体连接, 离子通道绑定, 受体结合等有关<sup>[25-26]</sup>。PP2A 是一种丝/苏氨酸磷酸酶, 是一种多功能性蛋白酶, 与细胞分裂周期和信号传导相关。PP2A 的催化亚基 PP2Ac 包括两种亚型 PP2CA 和 PP2CB, 其在胚胎发育和阿兹海默症和肿瘤等疾病中发挥着重要作用<sup>[27-29]</sup>。NTN4 是一种蛋白编码基因, 发挥着 laminin-1 连接和蛋白连接的功能<sup>[30-31]</sup>。SRGAP1 同样也是蛋白编

码基因,发挥着 GTPase 激活功能,连接 RacGTPase 以及蛋白连接功能<sup>[32]</sup>。

骨的形成是通过成骨细胞合成骨基质,分泌骨基质,矿化骨基质而来。而成骨细胞来源于多潜能的间充质干细胞,多潜能的间充质干细胞存在于脂肪和骨髓中,其在两种不同组织间的分化机制与多种生长因子和胞外信号通路相关,包括 Wnt 信号通路,OPG/RANKL/RANK、TGF-beta、MAPK、NOTCH、BMP 信号通路,hedgehogs 信号通路等<sup>[33-37]</sup>。Wnt 信号通路中相关分子在骨髓间充质干细胞分化为成熟成骨细胞,成骨细胞的增殖以及功能上发挥着重要的调节功能,这些信号通路中的相关分子与细胞内钙离子水平,骨密度,骨量密切联系<sup>[37]</sup>。紧密连接(Tight junction, TJ)在细胞旁途径中发挥着重要作用,同时参与调解细胞通透性,该信号通路与很多生理,病理等发生密切相关<sup>[38]</sup>。轴突导向(Axon guidance)是神经系统发育过程的一个分支<sup>[39]</sup>。TGF-beta 信号通路在胚胎发生,成骨细胞的分化与增殖,和软骨损伤后的修复中发挥着重要的作用,同时影响多种组织的修复再生<sup>[34]</sup>。

小脑变性相关蛋白 1 的天然环状反义转录物(antisense to the cerebellar degeneration-related protein1 transcript, CDR1as)中含有 70 个左右 miRNA-7 的结合位点,并且与相应的 miRNA 所作用的靶基因在表达水平上表现出一致性,作为 miRNA 的环状抑制剂发挥着 miRNA 海绵功能,Y 染色体性别决定区(sex-determining region Y, SRY)中含有 16 个 miR-138 的结合位点,同样发挥着 miRNA 海绵功能<sup>[2-3]</sup>。通过对成骨不全血清中差异表达的 11 种 miRNAs 进行 circRNAs 及其靶基因的预测分析得到上述结果,所预测得到的相关 circRNA-miRNA-靶基因中相关 circRNA 是否作为 miRNA 海绵功能影响相应靶基因表达进而在成骨不全疾病的发生以及发展中发挥着重要作用仍需进一步的实验研究。

### 【参 考 文 献】

- [1] Jeck W R, Sorrentino J A, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. RNA, 2013, 19(2): 141-157.
- [2] Hansen T B, Kjems J, Damgaard C K. Circular RNA and miR-7 in cancer [J]. Cancer Res, 2013, 73(18): 5609-5612.
- [3] Hansen T B, Jensen T I, Clausen B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. Nature, 2013, 495(7441): 384-388.
- [4] Ghosal S, Das S, Sen R, et al. Circ2Traits: a comprehensive database for circular RNA potentially associated with disease and traits [J]. Front Genet, 2013, 4: 283.
- [5] Lonskaya I, Shekoyan A R, Hebron M L, et al. Diminished parkin solubility and co-localization with intraneuronal amyloid- $\beta$  are associated with autophagic defects in Alzheimer's disease [J]. Journal of Alzheimers Disease, 2013, 33(1): 231-247.
- [6] Chang H Y, Burd C E, Jeck W R, et al. Expression of Linear and Novel Circular Forms of an INK4/ARF-Associated Non-Coding RNA Correlates with Atherosclerosis Risk [J]. PLoS Genetics, 2010, 6(12): e1001233.
- [7] Y Wang, J Liu, C Liu, et al. MicroRNA-7 Regulates the mTOR Pathway and Proliferation in Adult Pancreatic  $\beta$ -Cells [J]. Diabetes, 2012, 62(3): 887-895.
- [8] Junn E, Lee K W, Jeong B S, et al. Repression of alpha-synuclein expression and toxicity by microRNA-7 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(31): 13052-13057.
- [9] Li Y, Zheng Q, Bao C, et al. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis [J]. Cell Research, 2015, 25(8): 981-984.
- [10] Xiong S, Zheng Y, Jiang P, et al. MicroRNA-7 inhibits the growth of human non-small cell lung cancer A549 cells through targeting BCL-2 [J]. International Journal of Biological Sciences, 2011, 7(6): 805-814.
- [11] Li P, Chen S, Chen H, et al. Using circular RNA as a novel type of biomarker in the screening of gastric cancer [J]. Clinica Chimica Acta, 2015, 444: 132-136.
- [12] Memczak S, Papavasiliou P, Peters O, et al. Identification and Characterization of Circular RNAs As a New Class of Putative Biomarkers in Human Blood [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0141214.
- [13] Forlino A, Cabral W A, Barnes A M, et al. New perspectives on osteogenesis imperfecta [J]. Nature Reviews Endocrinology, 2011, 7(9): 540-557.
- [14] 徐超, 韩金祥, 鲁艳芹, 等. 成骨不全的分子机制 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2012, 28(4): 310-315.  
Xu C, Han JX, Lu YQ, et al. Molecular Mechanism of Osteogenesis Imperfecta [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 28(4): 310-315. (in Chinese)
- [15] 鲁艳芹, 任秀智, 王延宙, 等. 成骨不全及其分子机制 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2015, 42(6): 511-518.  
Lu YQ, Ren XZ, Wang YZ, et al. Molecular Mechanisms of Osteogenesis Imperfecta [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2015, 42(6): 511-518. (in Chinese)
- [16] Wang ZQ, Lu YQ, Han JX, et al. MicroRNAs: important mediators of ossification [J]. Chinese Medical Journal, 2012, 125(22): 4111-4116.
- [17] Wang Z, Lu Y, Zhang X, et al. Serum microRNA is a promising biomarker for osteogenesis imperfecta [J]. Intractable Rare Dis Res, 2012, 1(2): 81-85.
- [18] 王子强, 鲁艳芹, 任秀智, 等. 成骨不全症血清中骨相关 microRNAs 的初步筛查 [J]. 生物工程学报, 2012, 28(10):

- 1245-1252.
- Wang ZQ, Lu YQ, Ren XZ, et al. Screening of bone-related microRNAs in serum of patients with osteogenesis imperfect[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2012, 28(10): 1245-1252. (in Chinese)
- [19] P Shannon, A Markiel, O Ozier, et al. Cytoscape a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Research, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [20] Li J H, Liu S, Zhou H, et al. starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(D1): D92-97.
- [21] Dweep H, Gretz N, Sticht C, et al. miRWalk Database for miRNA-Target Interactions[J]. Methods in Molecular Biology, 2014, 1182: 289-305.
- [22] Huang Da W, Sherman B T, Lempicki R A, et al. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 44-57.
- [23] ZQ Zhao, CD Morris, JM Budde, et al. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion [J]. Cardiovascular Research, 2003, 59(1): 132-142.
- [24] Niu L J, Xu R X, Zhang P, et al. Suppression of Frizzled-2-mediated Wnt/Ca<sup>2+</sup> signaling significantly attenuates intracellular calcium accumulation in vitro and in a rat model of traumatic brain injury[J]. Neuroscience, 2012, 213(213): 19-28.
- [25] Hamamura K, Tsuji M, Hotta H, et al. Functional Activation of Src Family Kinase Yes Protein Is Essential for the Enhanced Malignant Properties of Human Melanoma Cells Expressing Ganglioside GD3 [J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(21): 18526-18537.
- [26] Sato A, Sekine M, Virgona N, et al. Yes is a central mediator of cell growth in malignant mesothelioma cells [J]. Oncology Reports, 2012, 28(5): 1889-1893.
- [27] Arora D K, Machhadieh B, Matti A, et al. High glucose exposure promotes activation of protein phosphatase 2A in rodent islets and INS-1 832/13  $\beta$ -cells by increasing the posttranslational carboxylmethylation of its catalytic subunit[J]. Endocrinology, 2014, 155(2): 380-391.
- [28] MZ Mui, M Kucharski, MJ Miron, et al. Identification of the adenovirus E4orf4 protein binding site on the B55 $\alpha$  and Cdc55 regulatory subunits of PP2A Implications for PP2A function, tumor cell killing and viral replication [J]. Plos Pathogens, 2013, 9(11): e1003742.
- [29] L Bengtsson, R Schwappacher, M Roth, et al. PP2A regulates BMP signalling by interacting with BMP receptor complexes and by dephosphorylating both the C-terminus and the linker region of Smad1[J]. Journal of Cell Science, 2009, 122(8): 1248-1257.
- [30] Zhang L, Li L, Hu Y, et al. NETRIN-4 Protects Glioblastoma Cells FROM Temozolomide Induced Senescence[J]. PLoS ONE, 2013, 8(11): e80363.
- [31] Y Hayano, K Sasaki, N Ohmura, et al. Netrin-4 regulates thalamocortical axon branching in an activity-dependent fashion [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014, 111(42): 15226-15231.
- [32] He H, Bronisz A, Liyanarachchi S, et al. SRGAP1 is a candidate gene for papillary thyroid carcinoma susceptibility[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(5): e973-980.
- [33] Zhu XF, Wang TC, Zhang RH, et al. Effects of Total Flavonoids in *Drynaria fortunei* on Osteoblasts Differentiation and the Expression of ERK<sub>1/2</sub> and p38 MAPK after Treatment by High Glucose in vitro [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(3): 424-429.
- [34] Zhang P, Zhong Z H, Yu H T, et al. Exogenous expression of IL-1Ra and TGF- $\beta$ 1 promotes in vivo repair in experimental rabbit osteoarthritis[J]. Scandinavian Journal of Rheumatology, 2015, 44(5): 1-8.
- [35] Lu Y, Ren X, Wang Y, et al. Mutational and structural characteristics of four novel heterozygous C-propeptide mutations in the pro $\alpha$ 1(I) collagen gene in Chinese osteogenesis imperfecta patients[J]. Clinical Endocrinology, 2014, 80(4): 524-531.
- [36] Chen C, Yinhua M A, Tan X, et al. Relationship between coronal intercondylar notch width index and osteoarthritis [J]. Journal of Southern Medical University, 2015, 35(10): 1384-1389.
- [37] Takada I, Kouzmenko A P, Kato S. Wnt and PPARgamma signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis [J]. Nat Rev Rheumatol, 2009, 5(8): 442-447.
- [38] Greene C, Campbell M. Tight junction modulation of the blood brain barrier: CNS delivery of small molecules [J]. Tissue Barriers, 2016, 4(1): e1138017
- [39] Bearce E A, Erdogan B, Lowery L A. TIPsy tour guides: how microtubule plus-end tracking proteins (+TIPs) facilitate axon guidance[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9: 241.

(收稿日期: 2016-09-19, 修回日期: 2016-10-13)