

lncRNA-HMGCS1 的靶基因预测及信号通路富集分析

肖 杨, 蒋 振

(川北医学院基础医学与法医学院生物化学与分子生物学教研室, 四川 南充 637000)

摘要:目的 运用生物信息学方法,分析长链非编码 RNA-HMGCS1 在细胞内的调控靶基因及信号通路,并对其进行生物学功能注释,阐述 lncRNA-HMGCS1 在细胞内的功能作用。方法 在 miRDB 数据库和 Starbase3.0 数据库中分别以 lncRNA-HMGCS1 作为目标基因,搜索与其结合的所有 miRNAs,将 2 个数据库搜索的结果取交集,得到候选 miRNAs。在 Starbase3.0 数据库中预测 miRNAs 的靶基因,并在 DAVID 数据库进行 GO 功能注释和 Pathway 通路富集。结果 miRDB 数据库预测到 95 个 miRNA 与 lncRNA-HMGCS1 相作用,Starbase3.0 数据库预测到 167 个 miRNA 与之相作用,选取 2 个数据库的交集共 14 个 miRNA;GO 功能注释显示 14 个 miRNA 的靶基因主要分布在转录调控、转录因子结合及细胞双链 DNA 结合等方面,生物学过程主要分布在细胞内转运、内质网-高尔基复合体物质转运等功能方面,信号通路富集结果主要分布在细胞衰老、细胞节律、细胞长时程增强以及泛素介导的蛋白降解方面。结论 长链非编码 RNA-HMGCS1 调控的细胞内靶基因及信号通路主要包括内质网-高尔基复合体物质转运、细胞衰老、细胞节律、细胞长时程增强以及泛素介导的蛋白降解等方面,进而调控细胞的生理和病理过程。

关键词:生物学功能;靶基因;lncRNA-HMGCS1;内质网-高尔基复合体

中图分类号:Q343.1

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2022.17.002

文章编号:1006-1959(2022)17-0007-05

Target Gene Prediction and Signal Pathway Enrichment Analysis of lncRNA-HMGCS1

XIAO Yang,JIANG Zhen

(Department of Biochemistry and Molecular Biology,School of Basic Medicine and Forensic Medicine,North Sichuan Medical College,Nanchong 637000,Sichuan,China)

Abstract: Objective To analyze the regulatory target genes and signaling pathways of long non-coding RNA-HMGCS1 in cells by bioinformatics methods, and to annotate its biological function, and to elucidate the function of lncRNA-HMGCS1 in cells. **Methods** In the miRDB database and the Starbase3.0 database, lncRNA-HMGCS1 was used as the target gene to search for all miRNAs bound to it, and the results of the two database search were intersected to obtain candidate miRNAs. The target genes of miRNAs were predicted in the Starbase3.0 database, and GO function annotation and Pathway pathway enrichment were performed in the DAVID database. **Results** A total of 95 miRNAs were predicted to interact with lncRNA-HMGCS1 in miRDB database, and 167 miRNAs were predicted to interact with lncRNA-HMGCS1 in Starbase3.0 database. A total of 14 miRNAs were selected from the intersection of the two databases. GO functional annotation showed that the target genes of 14 miRNAs were mainly distributed in transcriptional regulation, transcription factor binding and cell double-stranded DNA binding. Biological processes were mainly distributed in intracellular transport, endoplasmic reticulum-Golgi complex material transport and other functions. Signal pathway enrichment results were mainly distributed in cell senescence, cell rhythm, cell long-term enhancement and ubiquitin-mediated protein degradation. **Conclusion** The intracellular target genes and signaling pathways regulated by long non-coding RNA-HMGCS1 mainly include endoplasmic reticulum-Golgi complex material transport, cell senescence, cell rhythm, cell long-term potentiation and ubiquitin-mediated protein degradation, thereby regulating the physiological and pathological processes of cells.

Key words: Biological functions; Target genes; lncRNA-HMGCS1; Endoplasmic reticulum-Golgi complex

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)作用范围广、功能多未探索,近年来引起了广泛关注。研究发现,lncRNA 在多种疾病的发生发展过程中发挥着调控作用,其与多种疾病的发生发展及预后密切相关。3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 1(HMGCS1)是甲羟戊酸(MVA)途径的限速酶,催化 HMG-CoA 的合成,HMGCR 的底物是 MVA 的中间体^[1-4]。HMGCS 有两种亚型,细胞溶质 HMGCS1 和线粒体 HMGCS2。研究发现^[5,6],HMGCS1 基因组扩增和突变涉及各种肿瘤类型,尤其是乳腺癌和肺癌。作为 MVA 的中间体,HMG-CoA 也可以被 HMGCl 催化产生酮体。HMGCS1 可通过 HMGCL-

乙酰乙酸轴增强 BRAFV600E 依赖性 MEK1 激活,从而促进 BRAFV600E 阳性黑色素瘤的细胞增殖和肿瘤生长^[7-10]。研究发现,甲羟戊酸(MVA)信号通路中的 HMGCS1 在结肠癌组织中过表达,并正向调节细胞增殖及结肠癌细胞的迁移和侵袭。此外,HMGCS1 可增强 PERK 的活性而不依赖于 MVA 途径,抑制 HMGCS1 可完全降低 EGF 诱导的结肠癌细胞增殖^[11-14]。然而,HMGCS1 在细胞内的作用及其在疾病发展中的作用仍不明确。为了全面阐明长链非编码 RNA HMGCS1 在细胞内所调控的分子功能及生物学过程,本研究拟运用生物信息学方法,分析 lncRNA-HMGCS1 在细胞内的调控靶基因及信号通路,并对其进行生物学功能注释,阐述 lncRNA-HMGCS1 在细胞内的功能作用和分子机制。

1 资料与方法

1.1 lncRNA-HMGCS1 靶基因预测 经 NCBI 基因数据库查询 lncRNA-HMGCS1 的序列,经 miRDB 数据

基金项目:南充市科技局项目(编号:20SXJCQN0004、18SXHZ0281)

作者简介:肖杨(1995.6-),女,四川绵阳人,硕士研究生,主要从事肿瘤分子生物学研究

通讯作者:蒋振(1983.10-),男,四川南充人,硕士,讲师,主要从事肿瘤分子生物学研究

库 (<http://www.mirdb.org/>) 和 Starbase3.0 数据库 (<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 预测与 lncRNA-HMGCS1 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA, 将 miRDB 数据库预测到 miRNA 与 Starbase3.0 数据库预测到的 miRNA 选取 2 个数据库的交集进行进一步分析。

1.2 miRNAs 靶基因预测 在 Starbase3.0 数据库中分别对这些 miRNA 进行靶基因预测, 选取预测程序数为 3, 预测到靶基因的评分比较高的前 5 个, 通过 David 数据库 (www.ncicrf.gov) 进行靶基因的 GO 注释和信号通路富集分析。

1.3 GO 注释 在 David 数据库中对选取的 miRNAs 靶基因结果进行功能注释 (GO analysis), 主要从基因功能的 4 个方面进行: 细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)、生物学过程 (biological process, BP) 和信号通路 (pathways)。得到具有统计学意义的 GO 注释显著性分析 ($P \leq 0.05$), 同样信号通路富集分析阈值取 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

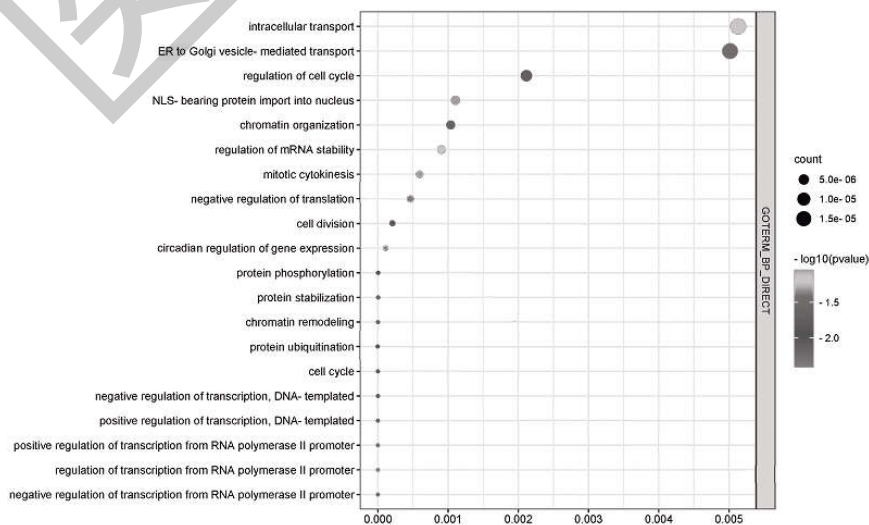
2 结果

2.1 lncRNA-HMGCS1 预测 miRNAs 结果显示, 在 miRDB 数据库预测到与 lncRNA-HMGCS1 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNAs 95 个, Starbase3.0 数据库预测到 167 个; 取两者交集共有 14 个 miRNA, 是在 Starbase3.0 数据库预测程序数为 3 时能预测到靶基因的 miRNA, 具体如下: hsa-miR-543、hsa-miR-429、hsa-miR-200b-3p、hsa-miR-200c-3p、hsa-miR-1-3p、hsa-miR-496、hsa-miR-206、hsa-miR-4735-3p、hsa-miR-18b-5p、hsa-miR-18a-5p、hsa-miR-2355-3p、hsa-miR-664b-3p、hsa-miR-579-3p、hsa-miR-450b-5p。

2.2 GO 注释分析 选取其中评分较高的前 2 个

miRNA 进行靶基因预测, 再运用数据库对结果中的靶基因进行 GO 功能注释。结果显示, lncRNA-HMGCS1 通过 hsa-miR-543 作用的靶基因主要调控细胞内转运、内质网到高尔基复合体物质转运、调控细胞周期、染色质组装、细胞分裂以及蛋白质磷酸化等生物学过程; 通过 hsa-miR-543 作用的细胞内分子功能主要有转录调控区序列特异性 DNA 结合、转录因子结合、转录协作因子活性、组蛋白结合、GDP 结合、GDP 结合、ATPase 结合及染色质结合等功能; 长链非编码 RNA HMGCS1 通过 hsa-miR-429 作用的靶基因主要调控细胞周期、凋亡过程、RNA 剪接、细胞应对 DNA 损伤反应、细胞内蛋白转运、细胞分裂、细胞内信号传导、蛋白磷酸化与去磷酸化、染色质重塑、蛋白质泛素化以及负性调控细胞增殖等生物学过程; 通过 hsa-miR-429 作用的细胞内分子功能主要有 ATP 结合、泛素化蛋白连接酶活性、RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 结合转录因子结合、PDZ 结构域结合、蛋白激酶活性、小 GTPase 结合及序列特异性 DNA 结合等分子功能, 见图 1。

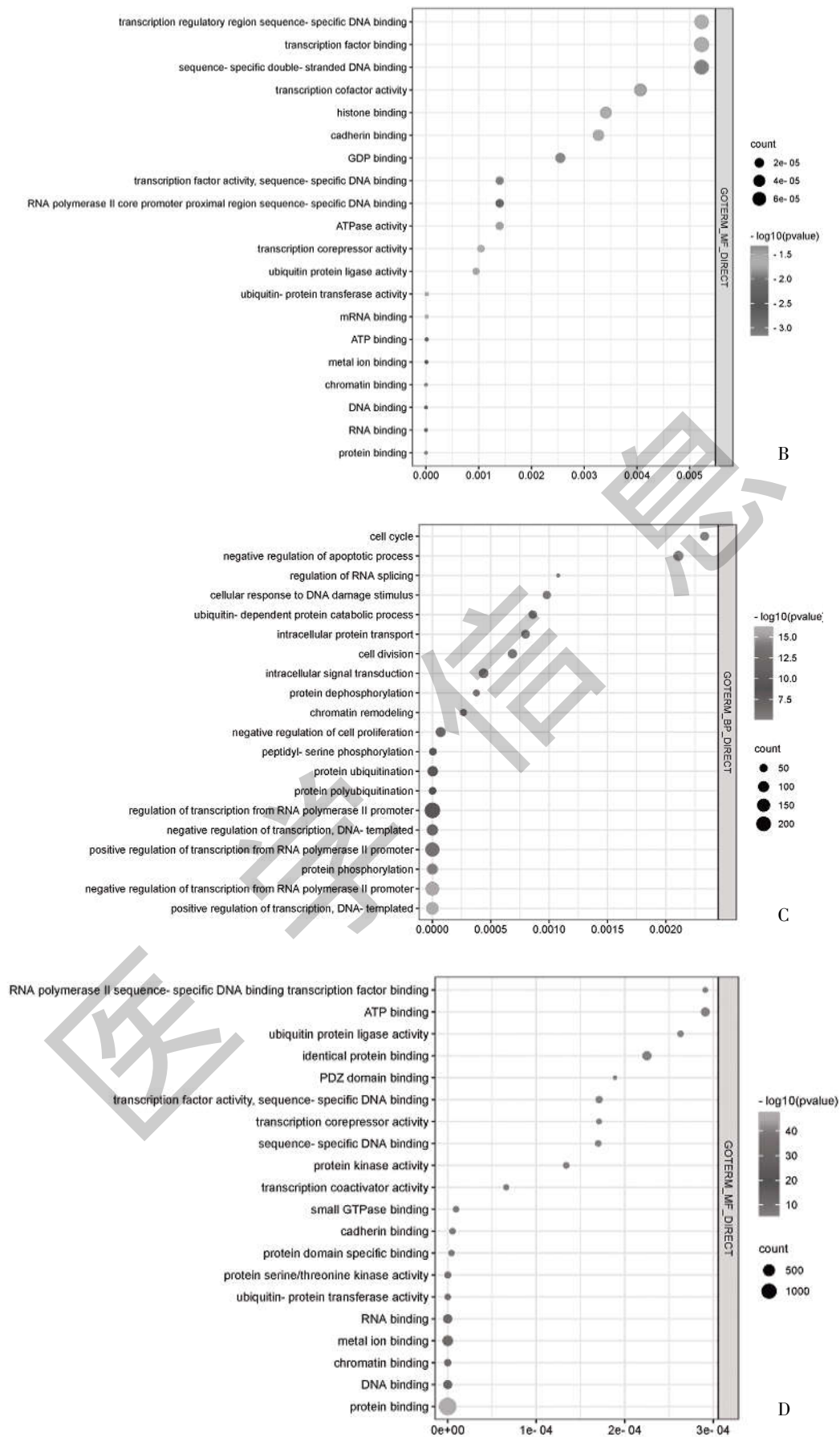
2.3 信号通路富集分析 选取评分较高的前 2 个 miRNA 进行信号通路富集, 结果显示, 长链非编码 RNA HMGCS1 通过 hsa-miR-543 作用的信号通路包括细胞衰老泛素化介导的蛋白质降解、昼夜节律、FoxO 信号途径、生长激素合成分泌和作用、TGF-beta 信号通路、人 T 细胞白血病病毒 1 感染、肿瘤信号通路、Kaposi 肉瘤相关疱疹病毒感染、MAPK 信号通路、VEGF 信号通路以及自噬信号通路等; 长链非编码 RNA HMGCS1 通过 hsa-miR-429 作用的信号通路包括神经营养素信号通路、肿瘤中的糖蛋白信号通路、FoxO 信号通路、泛素介导的蛋白降解信号通路、Ras 信号通路、人乳头状瘤病毒感染、MAPK 信号通路、细胞衰老以及自噬信号通路等, 见图 2。



A

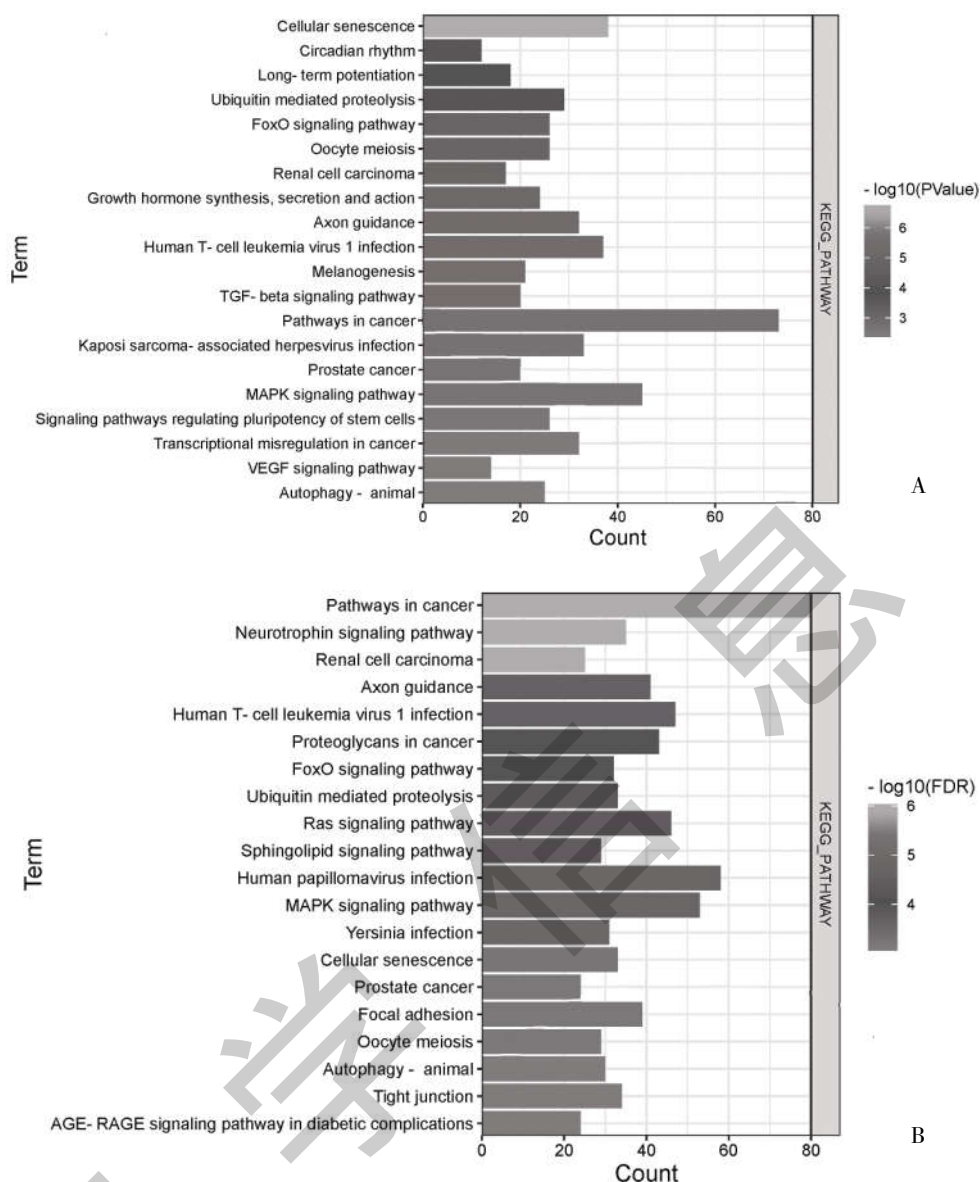
注: A、B 为 hsa-miR-543-5p 靶基因的 GO 注释分析; C、D 为 hsa-miR-429 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析



注: A、B 为 hsa-miR-543-5p 靶基因的 GO 注释分析; C、D 为 hsa-miR-429 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析(续)



注: A: hsa-miR-543-5p 靶基因的 Pathway 分析; B: hsa-miR-429 靶基因的 Pathway 分析

图2 富集通路分析

3 讨论

HMGCS1 是甲羟戊酸途径中的一个潜在调节节点,在多种疾病中发生突变^[15-18],其表达在肿瘤中普遍失调。癌症基因组学数据集显示,HMGCS1 在胃癌、乳腺癌和肺癌等多种癌症中得到扩增,HMGCS1 可促进细胞增殖,如 HMGCS1 介导的胆固醇生物合成促进结直肠癌细胞的增殖和生长。

HMGCS1 可通过 HMGCL-乙酰乙酸轴增强,MEK1 的激活,从而促进黑色素瘤的细胞增殖和肿瘤生长,其在细胞生长、分化、个体发育等方面发挥重要作用^[19-21]。本研究通过分析 lncRNA-HMGCS1 的靶基因,并进一步分析其在细胞内调控的信号通路。

本次研究在 miRDB 数据库预测到 lncRNA-HMGCS1 相关的 miRNAs 共 95 个,同时在 Starbase3.0

数据库预测到 miRNAs 共 167 个,取交集共得到 14 个 miRNAs,分别是 hsa-miR-543, hsa-miR-429, hsa-miR-200b-3p, hsa-miR-200c-3p, hsa-miR-1-3p, hsa-miR-496, hsa-miR-206, hsa-miR-4735-3p, hsa-miR-18b-5p, hsa-miR-18a-5p, hsa-miR-2355-3p, hsa-miR-664b-3p, hsa-miR-579-3p, hsa-miR-450b-5p。对评分较高的前 2 个 miRNA 通过 GO 功能注释发现, lncRNA-HMGCS1 通过 hsa-miR-543 主要调控细胞内物质转运,比如内质网到高尔基复合体物质转运。还调控细胞周期、染色质组装、细胞分裂以及蛋白质磷酸化等生物学过程。同时,作用的细胞内分子功能主要有转录调控区序列特异性 DNA 结合、转录因子结合、转录协作因子活性及组蛋白结合等。此外,通过 hsa-miR-429 的靶基因主

要包括细胞应对 DNA 损伤反应、细胞内蛋白转运、细胞分裂、细胞内信号传导、蛋白磷酸化与去磷酸化、染色质重塑、蛋白质泛素化,以及负性调控细胞增殖等生物学过程,表明其生物学功能主要跟细胞内的转录调控、转录因子结合及蛋白质结合密切相关。

进一步研究显示,lncRNA-HMGCS1 在细胞内作用的信号通路包括细胞衰老泛素化介导的蛋白质降解、昼夜节律、FoxO 信号途径、生长激素分泌和作用、TGF- β 信号通路,提示它们的功能主要与细胞衰老、细胞节律、细胞长时程增强以及泛素介导的蛋白降解等方面相关。另一方面,通过 hsa-miR-429 作用的信号通路包括神经营养素信号通路、肿瘤中的糖蛋白信号通路、FoxO 信号通路、泛素介导的蛋白降解信号通路及 Ras 信号通路等,提示其与细胞内的神经营养、肿瘤形成、蛋白降解等多种病理生理过程相关。然而,HMGCS1 的作用十分广泛,研究显示 HMGCS1 可增强整合应激反应(ISR),并与内质网应激转导蛋白激酶 RNA 样内质网激酶(PERK)相互作用,以代谢和非代谢方式促进胃癌的进展。

综上所述,lncRNA-HMGCS1 在细胞内调控的多个靶基因和信号通路,涉及到多种细胞内的生理和病理过程,与疾病的发生发展密切相关,长链非编码 RNA-HMGCS1 是有潜力的疾病诊断或治疗靶点。

参考文献:

- [1]Zhou C,Li J,Du J,et al.HMGCS1 drives drug-resistance in acute myeloid leukemia through endoplasmic reticulum-UPR-mitochondria axis[J].Biomed Pharmacother,2021,137:111378.
- [2]Wang IH,Huang TT,Chen JL,et al.Mevalonate Pathway Enzyme HMGCS1 Contributes to Gastric Cancer Progression[J].Cancers (Basel),2020,12(5):1088.
- [3]Walsh CA,Akrup N,Garre E,et al.The mevalonate precursor enzyme HMGCS1 is a novel marker and key mediator of cancer stem cell enrichment in luminal and basal models of breast cancer[J].PLoS One,2020,15(7):e0236187.
- [4]Zhang J,Jiang M,Qian L,et al.The STAT3-miR-223-TGFBR3/HMGCS1 axis modulates the progression of cervical carcinoma[J].Mol Oncol,2020,14(9):2313-2331.
- [5]Berridge MJ.The endoplasmic reticulum: a multifunctional signaling organelle[J].Cell Calcium,2002,32(5-6):235-249.
- [6]Chen B,Li P,Li L,et al.Putative genes and pathways involved in the acne treatment of isotretinoin via microarray data analyses[J].Biomed Res Int,2020,2020:5842795.
- [7]Yang Z,Cappello T,Wang L.Emerging role of microRNAs in lipid metabolism[J].Acta Pharm Sin B,2015,5(2):145-150.
- [8]Zhou S,Xu H,Tang Q,et al.Dipyridamole Enhances the Cytotoxicities of Trametinib against Colon Cancer Cells through

Combined Targeting of HMGCS1 and MEK Pathway[J].Mol Cancer Ther,2020,19(1):135-146.

[9]Zheng ZG,Zhu ST,Cheng HM,et al.Discovery of a potent SCAP degrader that ameliorates HFD-induced obesity, hyperlipidemia and insulin resistance via an autophagy-independent lysosomal pathway[J].Autophagy,2021,17(7):1592-1613.

[10]He J,Zhao H,Liu X,et al.Sevoflurane suppresses cell viability and invasion and promotes cell apoptosis in colon cancer by modulating exosome mediated circ HMGCS1 via the miR-34a-5p/SGPP1 axis[J].Oncol Rep,2020,44(6):2429-2442.

[11]Hernandez JA,Castro VL,Reyes-Nava N,et al.Mutations in the zebrafish hmgcs1 gene reveal a novel function for isoprenoids during red blood cell development[J].Blood Adv,2019,3(8):1244-1254.

[12]Pandya AA,Mullen PJ,Goard CA,et al.Penn Genome-wide RNAi analysis reveals that simultaneous inhibition of specific mevalonate pathway genes potentiates tumor cell death[J].Oncotarget,2015,6(29):26909-26921.

[13]Lyu L,Yang EJ,Head SA,et al.Shim Pharmacological blockade of cholesterol trafficking by cepharanthine in endothelial cells suppresses angiogenesis and tumor growth[J].Cancer Lett,2017,409:91-103.

[14]Wang IH,Huang TT,Chen JL,et al.Mevalonate pathway enzyme HMGCS1 contributes to gastric cancer progression[J].Cancers (Basel),2020,12(5):1088.

[15]Ho WY,Chang JC,Lim K,et al.TDP-43 mediates SREBF2-regulated gene expression required for oligodendrocyte myelination[J].J Cell Biol,2021,220(9):e201910213.

[16]Ying X,Zhu Y,Jin X,et al.Umbilical cord plasma-derived exosomes from preeclamptic women induce vascular dysfunction by targeting HMGCS1 in endothelial cells[J].Placenta,2021,103:86-93.

[17]van den Boomen DJH,Sienkiewicz A,Berlin I,et al.A trimeric Rab7 GEF controls NPC1-dependent lysosomal cholesterol export[J].Nat Commun,2020,11(1):5559.

[18]Fujimoto N,Akiyama M,Satoh Y,et al.Interaction of Gal-7 with HMGCS1 In Vitro May Facilitate Cholesterol Deposition in Cultured Keratinocytes[J].J Invest Dermatol,2022,142(3 Pt A):539-548.

[19]Liu Y,Lu LL,Wen D,et al.MiR-612 regulates invadopodia of hepatocellular carcinoma by HADHA-mediated lipid reprogramming[J].J Hematol Oncol,2020,13(1):12.

[20]Vallejo A,Erice O,Entrialgo-Cadierno R,et al.FOSL1 promotes cholangiocarcinoma via transcriptional effectors that could be therapeutically targeted[J].J Hepatol,2021,75(2):363-376.

[21]Zhao S,Cheng L,Shi Y,et al.MIEF2 reprograms lipid metabolism to drive progression of ovarian cancer through ROS/AKT/mTOR signaling pathway[J].Cell Death Dis,2021,12(1):18.

收稿日期:2022-08-12;修回日期:2022-08-22

编辑/成森