

·生物信息学·

# 长链非编码 RNA-Hexokinase 2 的生物信息学分析

魏晨, 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 运用生物信息学分析方法, 分析长链非编码 RNA-Hexokinase 2(HK2)在细胞内的调控靶基因及信号通路, 并对其生物学功能注释, 阐述 lncRNA-HK2 在细胞内的功能作用。方法 在 miRDB 数据库和 Starbase3.0 数据库中预测与 lncRNA-HK2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA, 将结果取交集。在 Starbase3.0 数据库中预测 miRNAs 靶基因, 并进行 GO 功能注释和 Pathway 通路富集分析。结果 在 miRDB 数据库预测到 50 个 miRNAs 与 lncRNA-HK2 相作用, Starbase3.0 数据库预测到 14 个 miRNAs 与之相作用, 取 2 个数据库的交集得到 hsa-miR-374a-5p、hsa-miR-374b-5p 2 个 miRNAs; GO 功能注释显示 hsa-miR-374a-5p 的靶基因主要调控蛋白磷酸化、肿瘤发生通路、转录调控、DNA 损伤反应、脂肪细胞分化及胚胎发育等基因及信号通路; hsa-miR-374b-5p 作用的靶基因主要调控基因表达, 调控序列特异性 DNA 结合转录因子的活性、翻译调控、细胞对于胰岛素的反应、细胞粘附及细胞周期等生物学过程, 信号通路富集结果主要分布在 TNF 信号通路、RAS 信号通路、人乳头状瘤病毒感染、转录错误调控及多种肿瘤信号通路等方面。结论 长链非编码 RNA HK2 在细胞内的重要的调控作用, 具体与蛋白磷酸化、肿瘤发生通路、转录调控、DNA 损伤反应、翻译以及细胞周期等多条信号通路密切相关, 其主要通过上述作用通路调控生理和病理进程。

**关键词:**长链非编码 RNA-Hexokinase 2; 信号通路; 蛋白磷酸化

中图分类号: Q343.1; Q811.4

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.19.001

文章编号: 1006-1959(2022)19-0001-06

## Bioinformatics Analysis of Long Non-coding RNA-Hexokinase 2

WEI Chen, 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 lncRNA-HK2 in cells by bioinformatics analysis, and annotate its biological functions, so as to explain the functions of lncRNA-HK2 in cells. **Methods** The miRNAs interacting with lncRNA-HK2 were predicted in miRDB database and Starbase3.0 database, and the results were intersected. Target genes of miRNAs were predicted in the Starbase 3.0 database, and GO functional annotation and Pathway enrichment analysis were performed. **Results** A total of 50 miRNAs were predicted to interact with lncRNA-HK2 in miRDB database, and 14 miRNAs were predicted to interact with lncRNA-HK2 in Starbase3.0 database. A total of 2 miRNAs from the intersection of the two databases were selected for further analysis. GO functional annotation showed that the target genes of hsa-miR-374a-5p mainly regulated protein phosphorylation, tumorigenesis pathway, transcriptional regulation, DNA damage response, adipocyte differentiation and embryonic development. The target genes of hsa-miR-374b-5p mainly regulate gene expression, regulate the activity of sequence-specific DNA binding transcription factors, translation regulation, cell response to insulin, cell adhesion, cell cycle and other biological processes. The results of signal pathway enrichment are mainly distributed in TNF signaling pathway, RAS signaling pathway, human papillomavirus infection, transcriptional error regulation and various tumor signaling pathways. **Conclusion** The important regulatory role of long non-coding RNA HK2 in cells is closely related to multiple signaling pathways such as protein phosphorylation, tumorigenesis pathways, transcriptional regulation, DNA damage response, translation, and cell cycle. It mainly regulates physiological and pathological processes through the above-mentioned pathways.

**Key words:** Long non-coding RNA-Hexokinase 2; Signal pathway; Protein phosphorylation

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 为长度超过 200 个 nt 的 RNA 分子, 尽管本身不编码蛋白, 但在多种疾病的发生发展过程中发挥着调控作用。大量研究表明<sup>[1-3]</sup>, lncRNA 与肿瘤的发生发展、侵袭转移、耐药及预后密切相关。己糖激酶(HKs)是一个普遍存在的磷酸化酶家族, 可启动葡萄糖以供细胞内利用<sup>[4,5]</sup>。己糖激酶 2 是该家族中最活跃的同工酶, 主要在胰岛素敏感组织中表达。己糖激酶是一种进化上保守的磷酸化六碳糖(己糖)的酶。磷酸化的葡萄糖(葡萄糖-6-磷酸)在糖酵解中、糖原合成、磷酸戊糖和己糖胺生物合成途径, 以

及在 ATP 合成、葡萄糖储存和蛋白质糖基化中以及肿瘤的发生发展中起关键作用<sup>[6,7]</sup>。在哺乳动物中, 已经鉴定了 4 种 HK 同工酶(HK1~4), 并且最近鉴定了命名为 HKDC1(含有己糖激酶结构域的蛋白 1)的第 5 种同工酶。HK1 在大多数组织中普遍存在并构成主要的 HK 形式; HK2 广泛存在, 是胰岛素敏感器官如心脏、骨骼肌和脂肪组织以及广泛的肿瘤的主要同工酶。HK3 和 HKDC1 表达有限, 目前研究不多。HK4 具有在肝脏和胰腺  $\beta$  细胞中高水平表达的单一催化部分, 其分别控制糖原生成和胰岛素分泌。与 HK4 相反, 所有其它 HKs 具有 2 个酶的催化口袋, 但只有 HK2 中两种都起作用, 而 HK1、HK3 和 HKDC1 仅在 C-末端催化位点中具有活性<sup>[8,9]</sup>。上述研究表明, HK2 在多种器官的糖代谢及肿瘤的糖代谢中起着重要的作用, 然而目前对于 HK2 的研究多为针对单独的靶点进行细胞内的实验研究很少涉及

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

作者简介: 魏晨(1990.2-), 女, 四川南充人, 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

对 lncRNA-HK2 在细胞内功能的研究,这使得对 lncRNA-HK2 的功能至今还不明确。为了全面阐明 lncRNA-HK2 在细胞内的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分析方法,分析 lncRNA-HK2 在细胞内的调控靶基因及信号通路,并对其生物学功能注释,阐述 lncRNA-HK2 在细胞内的功能作用和分子机制。

## 1 资料与方法

1.1 lncRNA-HK2 靶基因预测 经 NCBI 基因数据库查询 lncRNA-HK2 的序列,经 miRDB 数据库(<http://www.mirdb.org/>)和 Starbase3.0 数据库(<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>)预测与 lncRNA-HK2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA,将 miRDB 数据库预测到的 miRNA 与 Starbase3.0 数据库预测到的 miRNA 取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,选取预测程序个数为 3,预测靶基因评分比较高的前 5 个,通过 DAVI 数据库进行靶基因的 GO 注释和信号通路富集分析。

1.3 GO 注释 从基因功能的 3 个方面:细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF)、生物学过程 (biological process, BP) 进行分析,得到具有统计学意义的 GO 注释显著性分

析 ( $P < 0.05$ ),信号通路富集分析阈值取  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

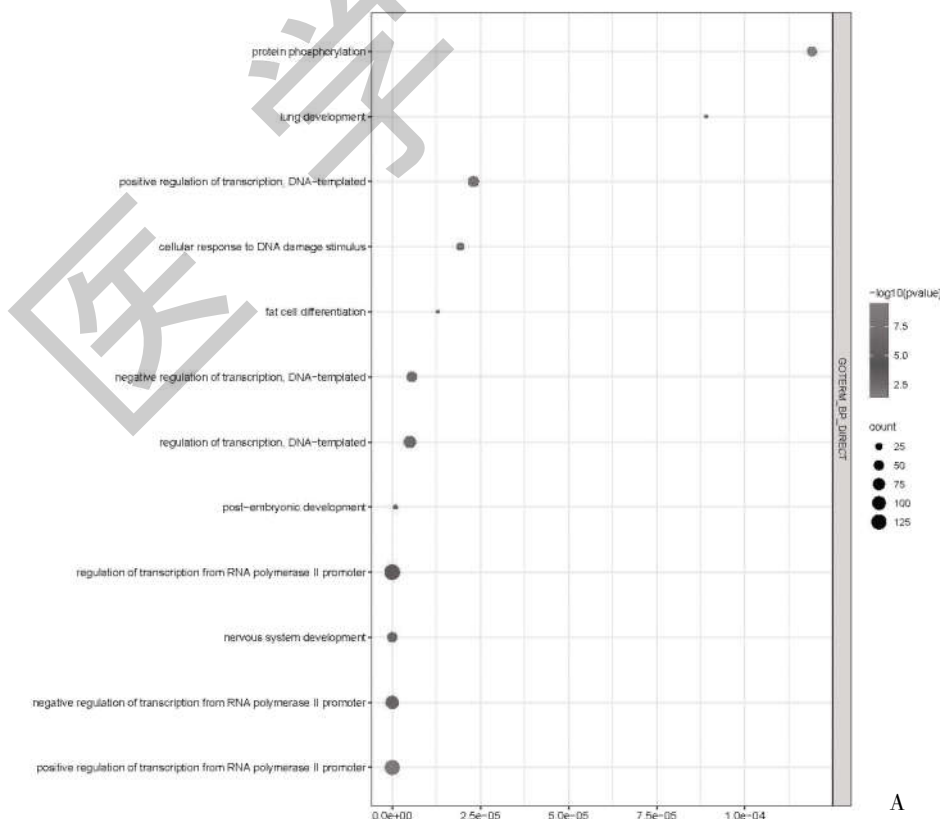
## 2 结果

2.1 lncRNA-HK2 预测 miRNAs 在 miRDB 数据库预测到的 miRNAs 有 15 个与 lncRNA-HK2 有 miRNA-lncRNA 互作关系的 miRNA,在 Starbase3.0 数据库预测到有 60 个,取两者交集共有 2 个 miRNAs,其 miRNA 序列见表 1。

表 1 长链非编码 RNA-HK2 预测的 miRNAs

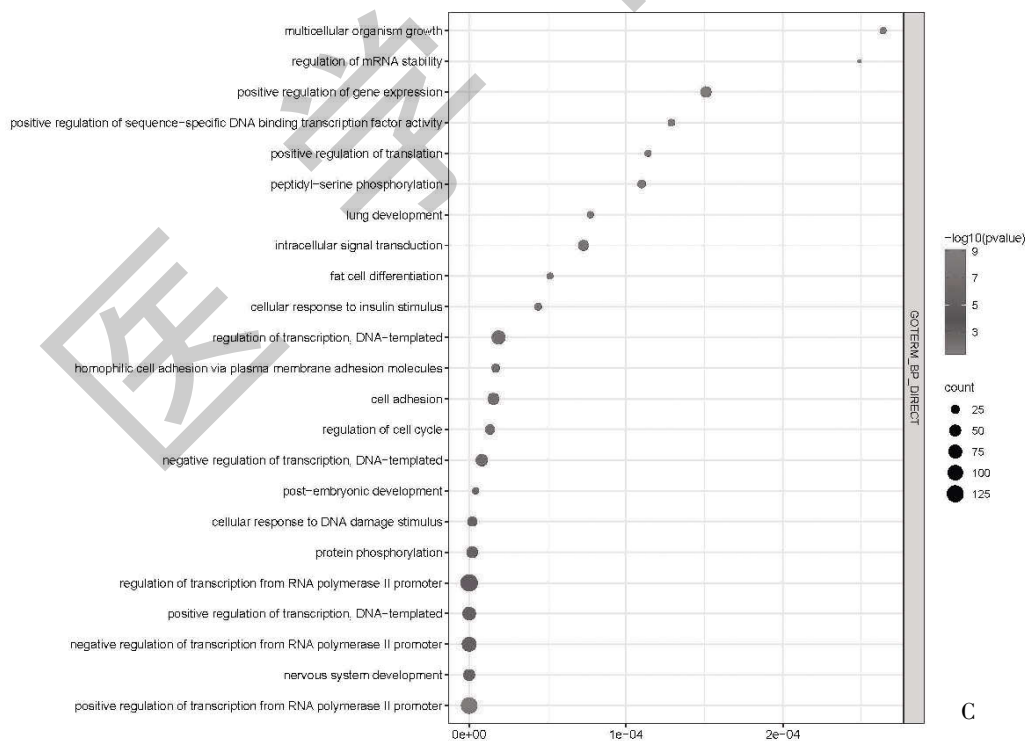
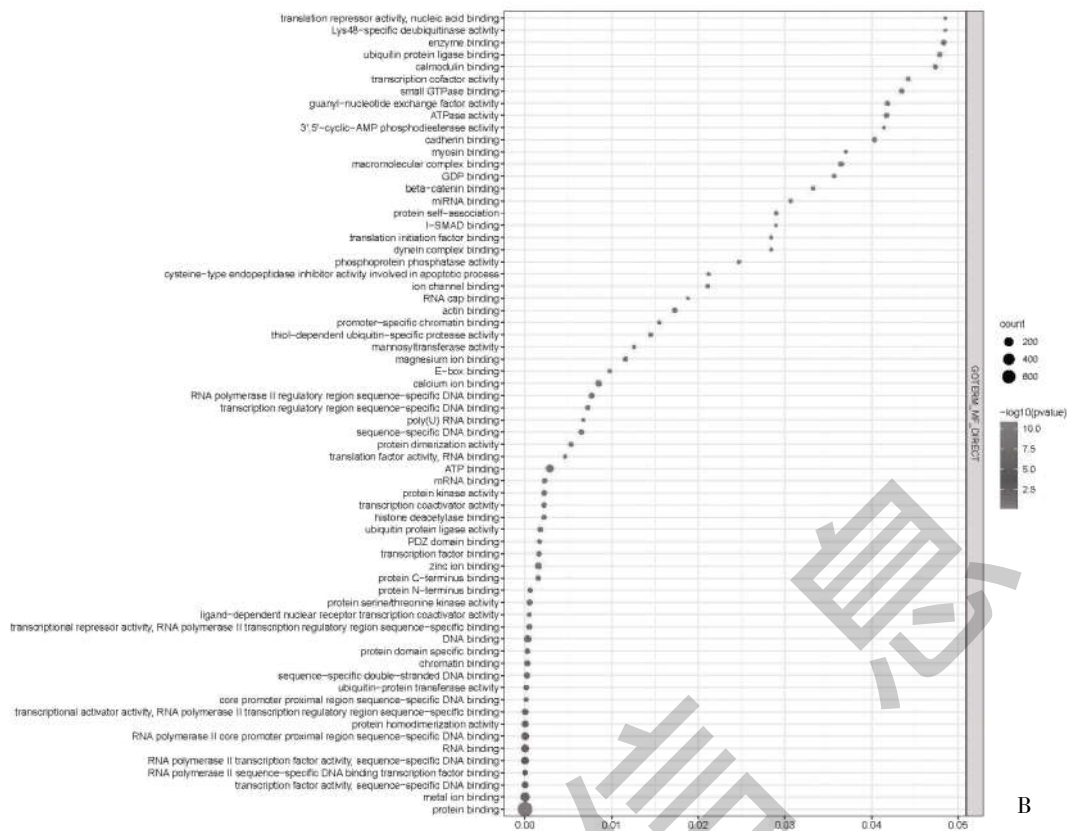
序号	miRNA	miRNA 序列
1	hsa-miR-374a-5p	uauaccaaacccecuuacugu
2	hsa-miR-374b-5p	uacggucgtcaugcgaucacat

2.2 GO 注释分析 lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374a-5p 作用的靶基因主要调控蛋白磷酸化、肿瘤发生通路、转录调控、DNA 损伤反应、脂肪细胞分化及胚胎发育等基因及信号通路;分子功能主要与细胞的酶结合、翻译抑制、泛素化结合、钙离子结合等有关;lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374b-5p 作用的靶基因主要调控基因表达、调控序列特异性 DNA 结合转录因子的活性、翻译调控、细胞对于胰岛素的反应等;分子功能主要与蛋白激酶活性、转录抑制活性、DNA 结合、染色质结合、金属离子结合及 RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 转录因子结合等功能相关,见图 1。



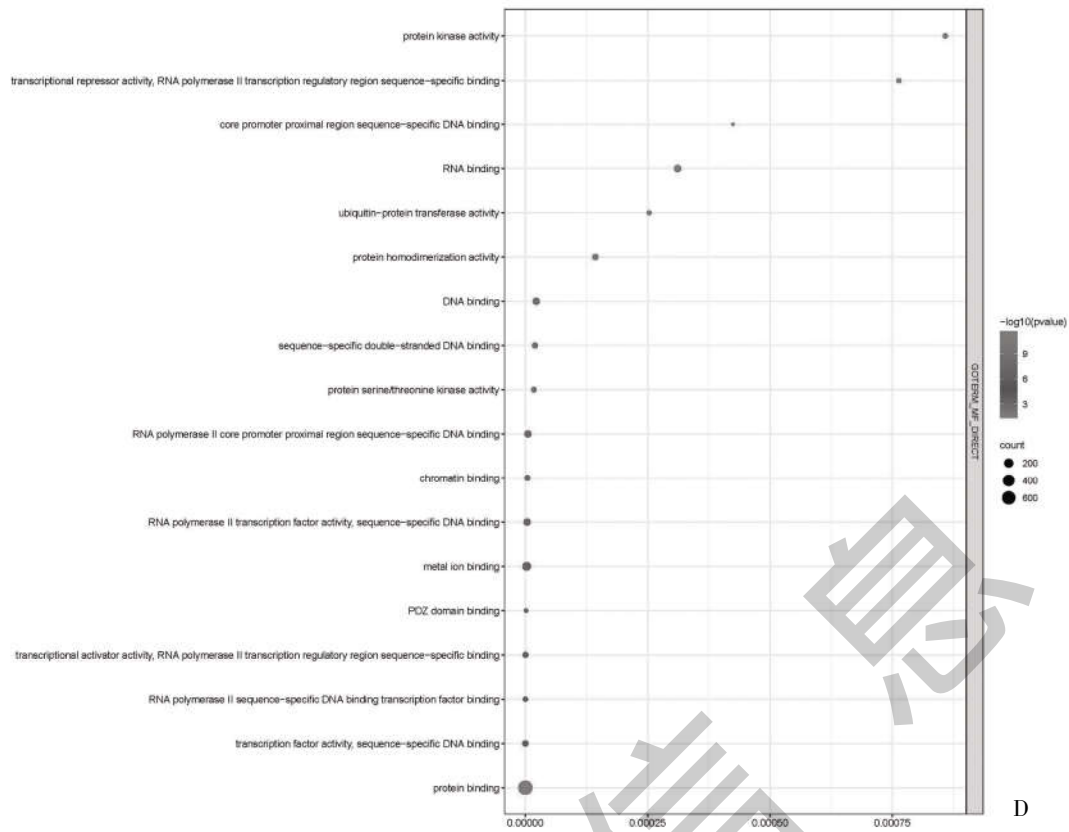
注:A、B:hsa-miR-374a-5p 靶基因的 GO 注释分析;C、D:hsa-miR-374b-5p 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析



注: A、B: hsa-miR-374a-5p 靶基因的 GO 注释分析; C、D: hsa-miR-374b-5p 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析(续)

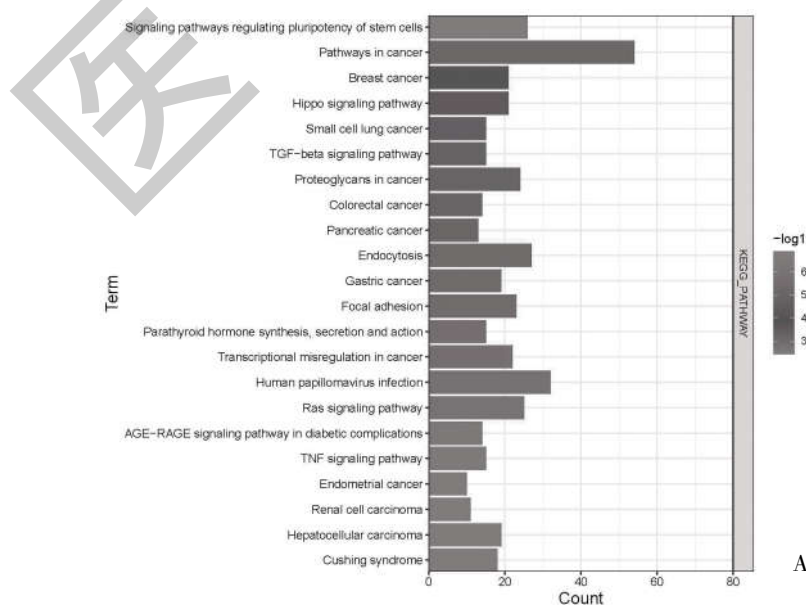


注: A、B: hsa-miR-374a-5p 靶基因的 GO 注释分析; C、D: hsa-miR-374b-5p 靶基因的 GO 注释分析

图 1 GO 注释分析(续)

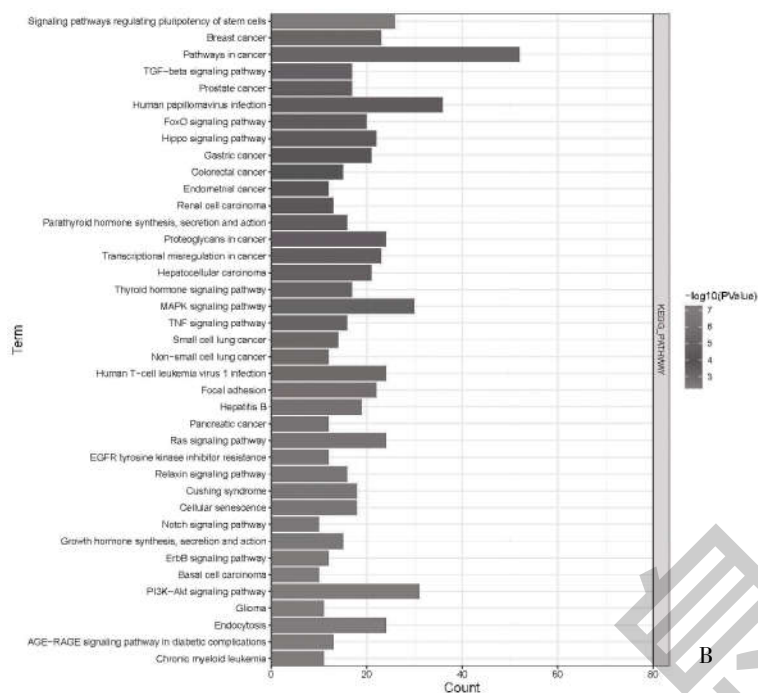
2.3 信号通路富集分析 lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374a-5p 作用的靶基因主要调控干细胞的多能性、肿瘤中的信号通路、TGF- $\beta$  信号通路、糖蛋白信号通路, 以及肺癌、结直肠癌、乳腺癌、胰腺癌及胃癌等多种肿瘤发展的信号通路; lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374a-5p 作用的靶基因主要调控人乳

头状病毒感染、甲状腺激素合成、分泌及作用、MAPK 信号通路、TNF 信号通路、RAS 信号通路、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药信号通路、生长激素合成、分泌及作用与 ErbB 信号通路等细胞内参与多种功能的信号通路, 见图 2。



注: A: hsa-miR-374a-5p 靶基因的 Pathway 分析; B: hsa-miR-374b-5p 靶基因的 Pathway 分析

图 2 富集通路分析



注:A:hsa-miR-374a-5p 靶基因的 Pathway 分析;B:hsa-miR-374b-5p 靶基因的 Pathway 分析

图 2 富集通路分析(续)

### 3 讨论

HK2 是己糖激酶家族中最活跃的同工酶,主要在胰岛素敏感组织中表达。大多数肿瘤细胞中的己糖激酶 2 诱导有助于它们重新转向有氧糖酵解。HK2 可以停靠在线粒体上,在自噬调节和细胞死亡抑制方面发挥功能,这些功能独立于其酶活性<sup>[10-13]</sup>。HK2 水平和活性受许多转录、翻译和翻译后水平的因素调节。研究表明<sup>[14,15]</sup>,HK2 可以保护组织免受应激状态的影响,并有助于组织的正常发育。它是由生长因子如 TGF- $\beta$  等诱导的,这些生长因子影响转录因子 c-MYC 的激活,进一步调控 HK2 基因表达。FGF 信号传导对血管形成很重要,内皮细胞和淋巴细胞中的 HK2 降低可导致血液和淋巴血管缺陷,与 FGF 受体(FGFR)-KO 小鼠相似。在成纤维细胞中,HK2 增强了 TGF- $\beta$  的促纤维化作用,而 HK2 基因敲除降低了 TGF- $\beta$  刺激的纤维化过程<sup>[16-18]</sup>。这些结果说明, lncRNA-HK2 在细胞内也具有非常重要的功能。

本研究共得到 2 个靶 miRNAs,分别是 miR-374a-5p 和 miR-374b-5p。通过 GO 功能注释和 Pathway 信号通路富集发现, lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374a-5p 作用的靶基因主要调控蛋白磷酸化、肿瘤发生通路、转录调控、DNA 损伤反应、脂肪细胞分化及胚胎发育等基因及信号通路,这些结果说明其生物学功能主要与细胞内蛋白功能调节、转录调控、DNA 损伤修复及肿瘤发生发展等多种功能密切相关。另一方面, lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374b-5p 作用的靶基因主要调控基因表达、调控序列特异性 DNA 结合转录因子的活性、翻译调控、细

胞对于胰岛素的反应、细胞粘附及细胞周期等生物学过程,进一步说明其广泛参与调控细胞内的转录、翻译及细胞周期等基本生理过程。而它们的分子功能主要与蛋白激酶活性、转录抑制活性、DNA 结合、染色质结合、金属离子结合及 RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 转录因子结合等功能相关,说明其在细胞内与多种生物大分子结合并发挥作用。而 lncRNA-HK2 通过 hsa-miR-374a-5p 作用的信号通路主要调控干细胞的多能性、TGF- $\beta$  信号通路、糖蛋白信号通路以及多种肿瘤发展的信号通路,表明其调控的功能主要与细胞生长,尤其是肿瘤性异常增生及其信号通路密切相关。此外通过 hsa-miR-374a-5p 作用的信号通路主要调控甲状腺激素合成、分泌及作用,生长激素合成、分泌及作用,MAPK 信号通路,TNF 信号通路,RAS 信号通路等细胞内参与多种功能的信号通路,提示它们的功能主要与细胞内肿瘤等多种疾病和生物合成信号通路相关。

综上所述, lncRNA-HK2 在细胞内调控的多个靶基因和信号通路,这些信号通路与多种疾病密切相关, lncRNA-HK2 可能作为有效的疾病诊断或治疗靶点。

### 参考文献:

- [1]Zhang Y,Zhao L,Yang S,et al.CircCDKN2B-AS1 interacts with IMP3 to stabilize hexokinase 2 mRNA and facilitate cervical squamous cell carcinoma aerobic glycolysis progression [J].J Exp Clin Cancer Res,2020,39(1):281.
- [2]Wen JF,Jiang YQ,Li C,et al.LncRNA-SARCC sensitizes osteosarcoma to cisplatin through the miR-143-mediated glycolysis inhibition by targeting Hexokinase 2 [J].Cancer Biomark, 2020,28(2):231-246.

(下转第 10 页)



(上接第 5 页)

- [3]Chen J,Yu Y,Li H,et al.Long non-coding RNA PVT1 promotes tumor progression by regulating the miR-143/HK2 axis in gallbladder cancer[J].Mol Cancer,2019,18(1):33.
- [4]Gao Y,Wang Z,Tong J,et al.LncRNA loc285194 inhibits tumor growth of laryngeal squamous cell carcinoma cells by downregulating hexokinase 2 [J].Exp Ther Med,2019,18 (4): 2378-2384.
- [5]Gao SJ,Ren SN,Liu YT,et al.Targeting EGFR sensitizes 5-Fu-resistant colon cancer cells through modification of the lncRNA-FGD5-AS1-miR-330-3p-Hexokinase 2 axis[J].Mol Ther Oncolytics,2021,23:14-25.
- [6]Chen J,Yu Y,Li H,et al.Long non-coding RNA PVT1 promotes tumor progression by regulating the miR-143/HK2 axis in gallbladder cancer[J].Mol Cancer,2019,18(1):33.
- [7]Zhang X,Cui Y,Ding X,et al.Analysis of mRNA lncRNA and mRNA lncRNA-pathway co expression networks based on WGCNA in developing pediatric sepsis [J].Bioengineered, 2021,12(1):1457-1470.
- [8]Song H,Li D,Wang X,et al.HNF4A-AS1/hnRNPU/CTCF axis as a therapeutic target for aerobic glycolysis and neuroblastoma progression[J].J Hematol Oncol,2020,13(1):24.
- [9]Zhang J,Chen G,Gao Y,et al.HOTAIR/miR-125 axis-mediated Hexokinase 2 expression promotes chemoresistance in human glioblastoma[J].J Cell Mol Med,2020,24(10):5707-5717.
- [10]Fan JL,Zhu TT,Xue ZY,et al.lncRNA-XIST protects the hypoxia-induced cardiomyocyte injury through regulating the miR-125b-hexokinase 2 axis [J].In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2020,56(4):349-357.
- [11]Zhang Y,Liu Y,Xu X.Knockdown of LncRNA-UCA1 suppresses chemoresistance of pediatric AML by inhibiting glycolysis through the microRNA-125a/hexokinase 2 pathway[J].J Cell Biochem,2018,119(7):6296-6308.
- [12]Chen C,Wei M,Wang C,et al.Long noncoding RNA KCNQ1OT1 promotes colorectal carcinogenesis by enhancing aerobic glycolysis via hexokinase-2[J].Aging (Albany NY),2020,12 (12):11685-11697.
- [13]Wang L,Huang Q,Lin Q,et al.Knockdown of long non-coding RNA small nucleolar RNA host gene 9 or hexokinase 2 both suppress endometrial cancer cell proliferation and glycolysis [J].J Obstet Gynaecol Res,2021,47(6):2196-2203.
- [14]Yu P,Willhelm K,Dubrac A,et al.FGF-dependent metabolic control of vascular development[J].Nature,2017,545:224-228.
- [15]Yin X,Choudhury M,Kang JH,et al.Hexokinase 2 couples glycolysis with the profibrotic actions of TGF-beta [J].Signal, 2019,12:eaax4067.
- [16]Podar K,Anderson KC.A therapeutic role for targeting c-akt/Hif-1-dependent signaling pathways [J].Cell Cycle,2010,9: 1722-1728.
- [17]Corona JC,Gimenez-Cassina A,Lim F,et al.Hexokinase II gene transfer protects against neurodegeneration in the rotenone and MPTP mouse models of Parkinson's disease [J].J Neurosci Res,2010,88:1943-1950.
- [18]Li C,Wang P,Du J,et al.LncRNA RAD51-AS1/miR-29b/c-3p/NDRG2 crosstalk repressed proliferation, invasion and glycolysis of colorectal cancer [J].IUBMB Life,2021,73 (1):286-298.

收稿日期:2022-09-12;修回日期:2022-09-20

编辑/成森