

# 肾透明细胞癌差异表达基因的筛选及其核心基因相应miRNA和lncRNA预测分析

朱合欢, 赵 虎, 林智文, 王 洁, 路 君, 谭建明

(厦门大学附属东方医院(福州总医院)//福建省移植生物学重点实验室, 福建 福州 350025)

**摘要:**【目的】筛选肾透明细胞癌(ccRCC)中差异表达基因并其相关miRNA和lncRNA,寻找可作为ccRCC诊断及治疗的生物标志物。【方法】通过从TCGA数据库和GEO数据库筛选ccRCC差异表达基因并取交集,对差异表达基因进行GO功能分析和KEGG通路富集分析,使用MCODE软件筛选出差异表达基因中的核心基因,并利用mirDIP数据库和STARBASE数据库对核心基因上游的miRNA和lncRNA进行预测。【结果】共筛选出427个差异表达基因,这些差异表达基因在GO功能分析上主要与催化活性、受体活性和细胞黏附分子活性等功能相关,KEGG信号通路富集结果则表明其主要与PPAR、Rap1以及细胞因子受体相互作用等信号通路相关。从这些差异表达基因中筛选出11个核心基因,并预测到134个相应miRNA,接着对5个与ccRCC总体生存率相关的miRNA在STARBASE中共预测到6个相应lncRNA。最后将lncRNA、miRNA、核心基因以及相应信号通路在CYTOSCAPE中构建出一个互作网络。【结论】利用生物信息学技术将TCGA数据库与GEO数据库结合起来,筛选出ccRCC中差异表达基因,并对其中的核心基因进行miRNA与lncRNA预测分析,为后续找到可用于ccRCC临床诊断的靶标与治疗的靶点提供了有力帮助。

**关键词:**肾透明细胞癌;差异表达基因;miRNA;lncRNA;生物信息学

**中图分类号:**R563.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2018)05-0771-09

## Identification of Differentially Expressed Genes in Clear Cell Renal Cell Carcinoma and Prediction Analysis for Corresponding miRNA and lncRNA of Core Genes

ZHU He-huan, ZHAO Hu, LIN Zhi-wen, WANG Jie, LU Jun, TAN Jian-ming

(Xiamen University Fuzhou General Hospital//Fujian Provincial Key Laboratory of Transplant Biology, Fuzhou 350025, China)

Corresponding to: TAN Jian-ming, E-mail: tanjm156@xmu.edu.cn

**Abstract:**【Objective】Identifying differentially expressed genes in renal clear cell carcinoma (ccRCC) and their associated miRNA and lncRNA. Exploring potential biomarkers for diagnosis and treatment of ccRCC.【Methods】Screening out differentially expressed genes of ccRCC from TCGA database and GEO database and get them intersected. Then GO function analysis and KEGG pathway enrichment analysis were carried out for differentially expressed genes. Next, the MCODE software was used to screen out core genes in differentially expressed genes. Finally, the mirDIP database and STARBASE database were utilized to predict miRNA and lncRNA of the core genes.【Results】A total of 427 differentially expressed genes were identified, which were mainly involved in the functions of Catalytic activity, Receptor activity and Cell adhesion molecule activity according to GO analysis. And the KEGG signal pathway enrichment results indicate that these genes mainly related to signal pathways such as PPAR signaling pathway, Rap1 signaling pathway, and Cytokine-cytokine receptor interaction. A total of 11 core genes were selected from the differentially expressed genes and 134 miRNA

收稿日期:2018-03-29

基金项目:国家自然科学基金(81570748);福州总医院杰出青年培养专项(2017Q05)

作者简介:朱合欢,硕士研究生,研究方向:泌尿系统疾病,E-mail: zhuhh93@gmail.com;谭建明,通信作者,教授,博士生导师,E-mail: tanjm156@xmu.edu.cn

corresponding to them were predicted. Then 6 lncRNA were predicted in STARBASE database for 5 miRNA which were related to patients' overall survival in ccRCC. Finally, an interaction network was constructed in CYTOSCAPE including lncRNA, miRNA, core genes, and corresponding signaling pathways. 【Conclusions】 Bioinformatics technology was carried out by combining TCGA database with GEO database to reveal differentially expressed genes in ccRCC. The miRNA and lncRNA corresponding to the core genes were predicted and analysed, which will help to discover clinical diagnosis biomarkers in ccRCC and improve the treatment measure.

**Key words:** clear cell renal cell carcinoma; differentially expressed genes; miRNA; lncRNA; bioinformatics analysis

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(5): 772-780; 790]

肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是肾皮质肿瘤的一种,以恶性上皮细胞伴随透明的胞浆这种生长模式为特点<sup>[1]</sup>。在过去的30年里,ccRCC的发病率在欧洲以及美国等地区逐年稳定增加,在成人恶性肿瘤中所占比例也在逐年上升<sup>[2]</sup>。在治疗方式上,对于同器官组织紧密结合的ccRCC,通常根据肿瘤大小采取部分切除或者根治性全切;冷冻消融与射频消融技术则尝试性应用于体积小且孤立的肿瘤<sup>[3]</sup>。然而由于ccRCC具有转移侵犯的特点,部分患者即使完全切除肿瘤,仍旧会出现肿瘤转移的现象,并且一旦出现转移,这些患者的预后及总体生存率则明显较差<sup>[4]</sup>。近年来分子医学的快速发展使得大量的肿瘤标志物相继被发现并应用于临床,使得诸多肿瘤疾病的早期诊断率以及患者预后水平明显提高<sup>[5-7]</sup>。在近十年间有大量研究报道发现ccRCC的诊断标志物,但由于分子调控机制尚未研究清楚,距离正式投入临床应用还有较大差距。因此,寻找切实有效的ccRCC肿瘤标志物并研究其调控机制以及所涉及的信号通路显得尤为重要。生物信息学通过智能系统为了解癌症生物学提供了新的途径,已成为临床实验室生成、分析、维护和解释分子遗传学检测数据的重要组成部分<sup>[8]</sup>。本研究运用生物信息学方法,首次将从癌症基因组图谱数据库TCGA(The Cancer Genome Atlas)与从基因芯片公共数据库GEO(Gene Expression Omnibus)中下载的ccRCC中mRNA表达数据分析处理后进行整合。通过分析整合后的mRNA本身的分子功能以及涉及的信号通路,并寻找其上游的调控分子,为探索ccRCC发病的分子机制及找到可用于临床诊断或治疗的分子靶点提供可靠的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 数据材料 通过GDC(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)工具下载TCGA数据库中ccRCC临床资料(530例病人)以及基因的表达数据(539个ccRCC样本以及72个对应的癌旁组织样本)。本研究严格遵守TCGA发布的发表指导规范(<https://cancergenome.nih.gov/publications/publication-guidelines>)。从NCBI中GEO芯片数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中检索ccRCC芯片数据,最终选用由Peng等提交的“GSE100666”数据下载并进行后续分析,该芯片包含3例ccRCC样本与3例对应的癌旁组织样本。

1.1.2 分析软件及数据库 R软件(<https://www.r-project.org/>)及其附带的“edgeR”包、“Survival”包;差异基因分析工具GEO2R(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>);绘图软件CYTOSCAPE(<http://www.cytoscape.org/>)及其插件“MCODE”;基因功能富集分析软件FunRich(<http://www.funrich.org/>);miRNA在线预测工具mirDIP(<http://ophid.utoronto.ca/mirDIP/>);lncRNA在线预测工具STARBASE(<http://starbase.sysu.edu.cn/>);韦恩图在线绘制工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>);蛋白质互作网络在线分析工具STRING(<https://string-db.org/>)。

### 1.2 筛选差异表达基因

利用R软件的“edgeR”包筛选出TCGA数据库中ccRCC与正常组织的差异表达mRNA,筛选标准为: $\log_2 \text{FC} \geq 2$ ,  $\text{adj. } P \leq 0.01$ 。运用GEO数据库自带的GEO2R在线分析软件分析GSE100666中

ccRCC 与正常组织的差异表达基因,筛选标准为: $|\log FC| \geq 2$ ,  $\text{adj. } P \leq 0.05$ 。将TCGA数据库(癌症测序数据)中筛选出的差异基因与GEO数据库(芯片数据)中筛选出的差异表达基因用韦恩图取交集,得到的可信度高的差异表达基因(differentially expressed genes, DEGenes)。

### 1.3 DEGenes 功能分析及通路富集

将DEGenes分别导入FunRich软件和STRING工具中进行GO功能分析和KEGG通路富集分析。筛选条件均按照软件自带默认参数设置。

### 1.4 筛选核心基因及 miRNA 预测

在STRING中输入DEGenes,然后将具有交互关系的基因导入在CYTOSCAPE中构建可视化网络,再利用MCODE插件筛选出网络中的稳定结构。将构成稳定结构的基因导入mirDIP数据库中预测其各自的miRNA,为提高预测结果可信度,按该工具自带的评分标准,仅保留分数排名前1%结果进行后续分析<sup>[9]</sup>。

### 1.5 miRNA 生存分析及 lncRNA 预测

运用R软件的“Survival”包以及TCGA中530例病人的生存信息,对预测出的miRNA进行生存分析,阈值设置为 $P < 0.05$ 。然后将符合条件的miRNA在STARBASE上预测其lncRNA,为提高预测结果可信度,仅保留至少在1种及以上肿瘤中得到验证的lncRNA。

### 1.6 构建 lncRNA-miRNA-mRNA-pathway 网络图

将生存期分析符合筛选标准的miRNA与它对应的lncRNA和DEGenes(mRNA),以及参与重要通路的基因和通路名称的关系对,导入CYTOSCAPE软件中进行可视化,构建出一个包含lncRNA、miRNA、mRNA以及信号通路的调节网络。

## 2 结果

### 2.1 ccRCC 差异表达的基因筛选结果

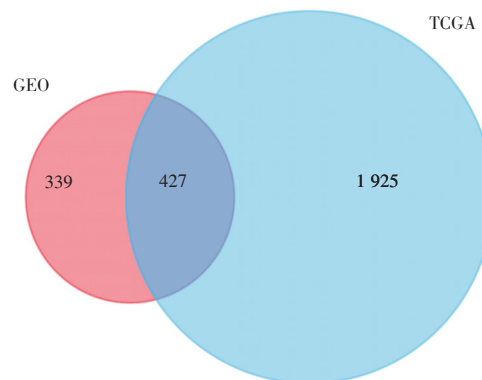
按照筛选条件,从TCGA数据库中一共得到2352个差异表达基因,其中上调基因1599个,下调基因753个;在GEO数据库中,一共得到766个差异表达基因,其中上调基因509个,下调基因个257。按 $|\log FC|$ 大小排序,高表达与低表达排名前5的基因名及对应信息见表1。利用韦恩图对2种数据库筛选出的差异表达基因取交集,得到与ccRCC

相关可信度高的差异表达基因427个(图1)。

表1 TCGA数据库与GEO数据库中前5名差异表达基因  
Table 1 Top 5 differentially expressed genes in TCGA database and GEO database

mRNA	log FC	Adj. P Value
TCGA		
GSG1L2	10.139322	<0.0001
PAEP	9.2965821	<0.0001
MUC17	8.8974649	<0.0001
SLC18A3	8.7315433	<0.0001
CFHR5	8.337594	<0.0001
AQP2	-8.921997	<0.0001
UMOD	-8.538155	<0.0001
SLC12A1	-8.248671	<0.0001
TMEM207	-8.117681	<0.0001
ELF5	-7.828425	<0.0001
GEO		
AQP2	12.037058	0.0005
ATP6V0A4	9.3015473	<0.0001
HRG	9.2568289	0.0001
CASR	9.0198089	<0.0001
GDF3	8.6193453	0.0028
HERPUD2	-9.680816	0.0079
CA9	-8.269913	<0.0001
FABP7	-7.724973	0.0001
HAVCR2	-7.341618	0.0008
SDC3	-7.241941	0.0011

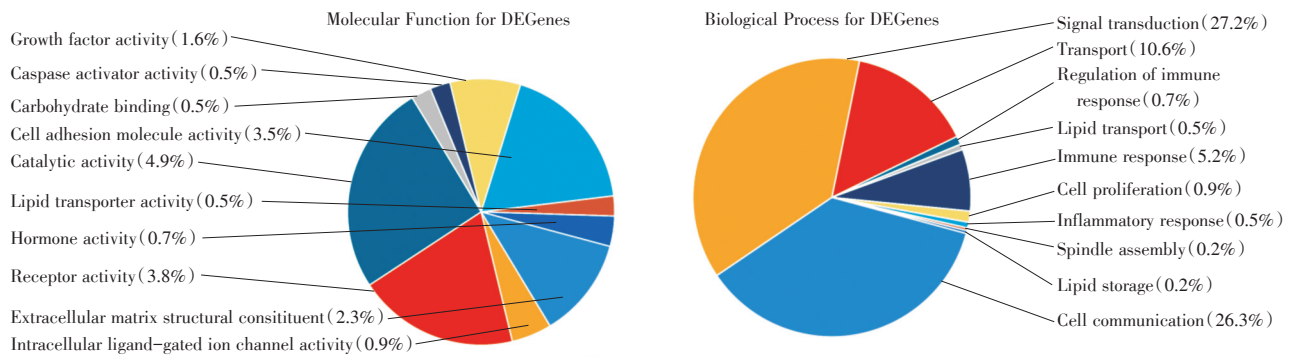
log FC: log fold change



Footnote: 427 represents common differentially expressed genes in two databases

图1 TCGA数据库与GEO数据库中ccRCC差异表达基因韦恩图

Fig.1 Venn diagram of differentially expressed genes in ccRCC from TCGA database and GEO database



DEGenes : differentially expressed genes.

图2 差异表达基因 GO 分析结果

Fig.2 GO analysis results of differentially expressed genes

表2 差异表达基因 KEGG 分析结果

Table 2 KEGG analysis results of differentially expressed genes

Pathway description	FDR	Genes(part)
PPAR signaling pathway	0.0151	ANGPTL4, APOA5, FABP1
Rap1 signaling pathway	0.0151	ANGPT2, APBB1IP, EGF
Cytokine-cytokine receptor interaction	0.0151	BMPRI1, CCL11, CCR5
HIF-1 signaling pathway	0.0151	ANGPT2, EGF, EGLN3
Focal adhesion	0.0151	BIRC3, CCND1, COL4A4
Cell adhesion molecules (CAMs)	0.0151	CD86, CLDN11, CLDN14
Complement and coagulation cascades	0.0151	C3, C7, F11
Leukocyte transendothelial migration	0.0151	CLDN11, CLDN14, CLDN16
Aldosterone-regulated sodium reabsorption	0.0151	FXYP4, KCNJ1, PIK3R5
Pathways in cancer	0.0151	BIRC3, CCND1, CDKN2A
Melanoma	0.0151	CCND1, CDKN2A, EGF
PI3K-Akt signaling pathway	0.0166	ANGPT2, CCND1, COL4A4
Bladder cancer	0.0208	CCND1, CDKN2A, EGF
Pancreatic cancer	0.0333	CCND1, CDKN2A, EGF
Small cell lung cancer	0.0344	BIRC3, CCND1, COL4A4

FDR: false discovery rate.

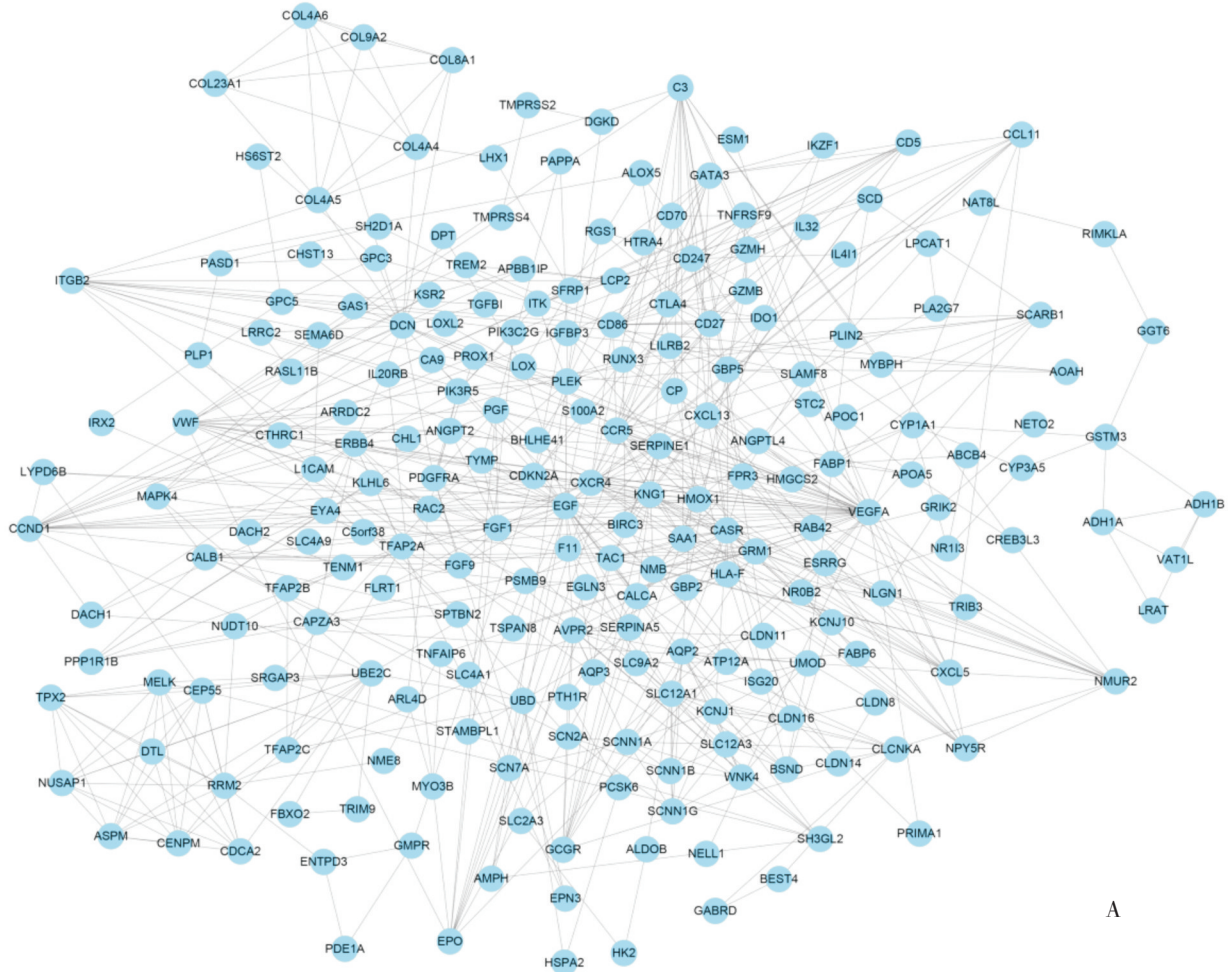
## 2.2 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析结果

在 FunRich 中进行 GO 分析发现, DEGenes 在分子功能(molecular function, MF)上主要集中在催化活性(catalytic activity)、受体活性(receptor activity)和细胞黏附分子活性(cell adhesion molecule activity)等功能上,这些功能在生物学进程(biological process, BP)上又与细胞通讯(cell communication)、信号转导(signal transduction)以及调节免疫应答(regulation of immune response)等密切相关。其中,按  $P$  值大小排序, MF 与 BP 富集结果

前 10 名及相关基因在 DEGenes 中的占比结果见图 2。在 STRING 中对 DEGenes 进行 KEGG 分析发现这个基因主要与 PPAR 信号通路(PPAR signaling pathway)、Rap1 信号通路(Rap1 signaling pathway)以及细胞因子受体相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)等信号通路有着密切联系。按照 FDR(false discovery rate) < 0.05 标准,相关富集通路及其对应基因名见表 2。

## 2.3 ccRCC 差异核心基因及其 miRNA

将 DEGenes 导入 STRING 后除去孤立无相互

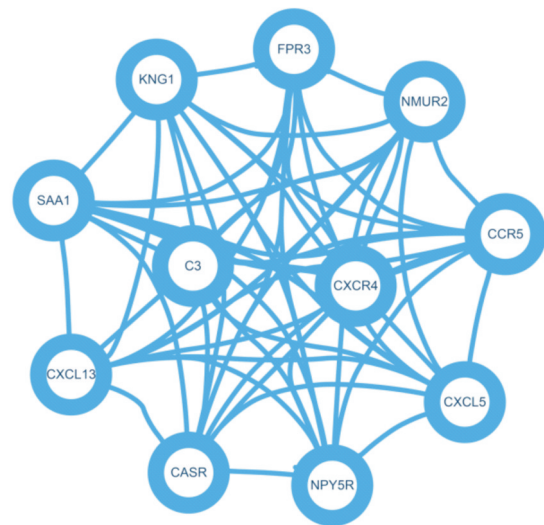


A

作用的基因 139 个,将剩余 288 个具有相互作用的基因导入 CYTOSCAPE 中进行网络可视化(图 3A),运用该软件的插件“MCODE”对该网络进行 K 核解析(k-core decomposition),按“MCODE”默认算法,筛选出网络中最稳定结构(图 3B),该稳定结构包含 11 个基因(*KNG1*、*CCR5*、*CXCR4*、*CXCL13*、*C3*、*CXCL5*、*CASR*、*SAA1*、*FPR3*、*NMUR2*、*NPY5R*)和 55 条相互作用关系对。这 11 个基因 mirDIP 数据库共预测到 134 个对应的 miRNA,为使基因及 miRNA 对应关系更加直观,利用 CYTOSCAPE 软件构建出 mRNA-miRNA 网络图(图 4)。

2.4 miRNA 生存分析结果

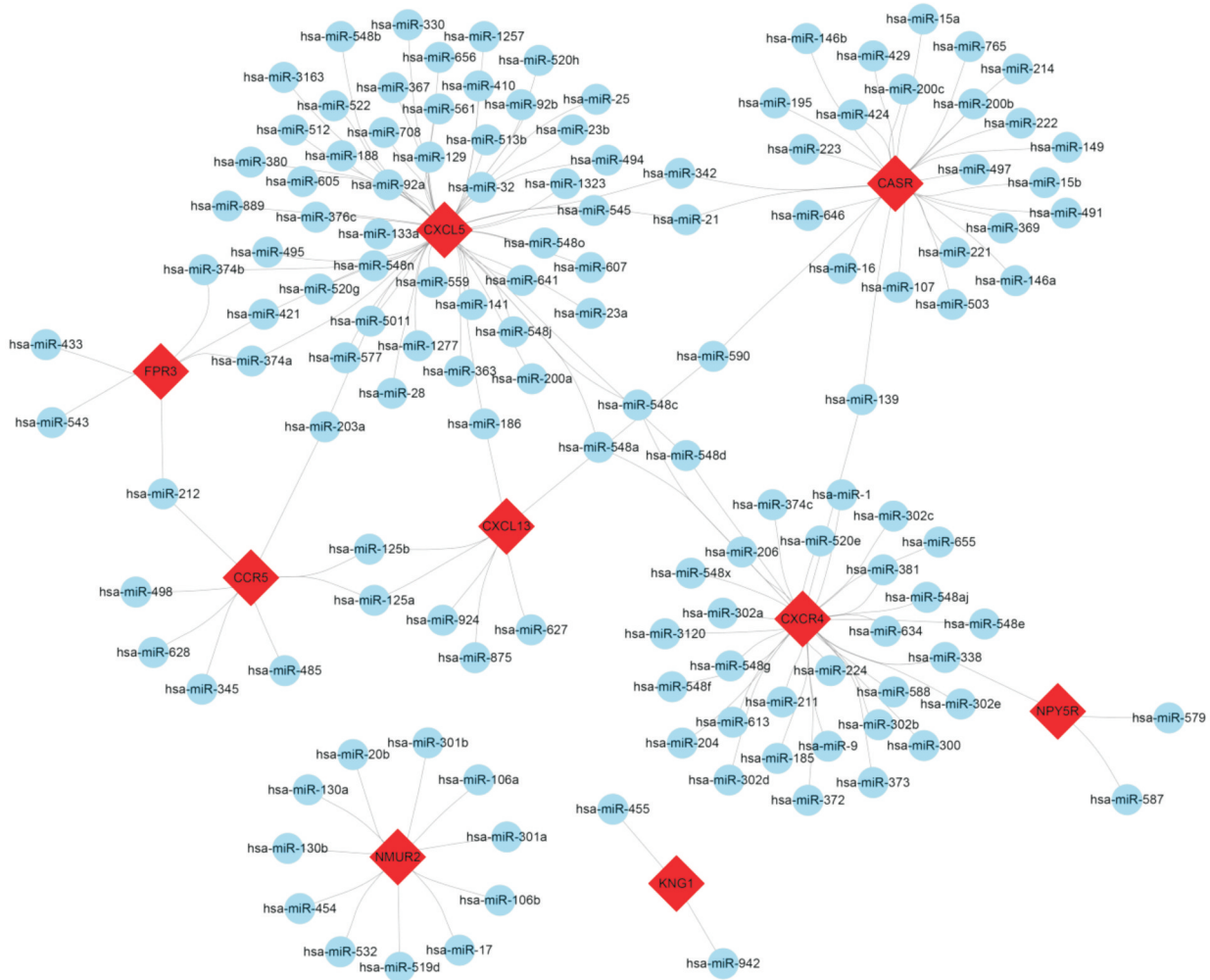
R 软件的“Survival”包对这 134 个 miRNA 生存分析结果表明,按照  $P < 0.05$  的筛选标准,共有 5 个 miRNA 的表达水平与病人总体存活率具有相关性(图 5)。其中,hsa-mir-21、hsa-mir-221、hsa-mir-223 以及 hsa-mir-301b 这 4 个 miRNA 表达水平与



B

A: Interaction diagram of differential expressed genes (part); B: Interaction diagram of core genes.

图 3 差异表达基因互作关系图及核心基因互作关系图  
Fig.3 Interaction diagram of differential expressed genes and core genes



The diamond represents core gene and the ellipses represent miRNA , respectively.

图4 核心基因及其对应 miRNA

Fig.4 Core genes and their corresponding miRNA

病人总体存活率呈负相关,而 hsa-mir-204 表达水平则表现为与病人总体存活率呈正相关。

### 2.5 lncRNA 预测结果

将这5个与病人总体生存率相关的 miRNA 在 STARBASE 中进行预测上游 lncRNA,按筛选标准,共预测到6个符合条件的 lncRNA (XIST、GAS5、KCNQ10T1、NEAT1、MIR17HG、H19)。这些 miRNA 与其对应的 lncRNA 关系对的具体信息结果见表3。

### 2.6 lncRNA-miRNA-mRNA-pathway 网络图

根据以上结果,预测的 lncRNA、与病人总体生存率相关的 miRNA、核心 mRNA 以及涉及的重要信号通路在 CYTOSCAPE 中构建的网络图见图6。该网络共包含17个节点(6个 lncRNA、5个 miRNA、4个 mRNA、2条信号通路)和18个关系对。

## 3 讨论

近年来随着分子医学快速发展,生物信息学作为新兴的交叉性学科被广泛应用于包括肿瘤在内的各种疾病的诊断及治疗靶点的挖掘过程<sup>[10]</sup>。ccRCC 作为一种严重影响人类身体健康及生活水平的恶性肿瘤,近年来虽然在治疗效果上有所进展,但病人整体预后情况仍不容乐观。TCGA 数据库与 GEO 数据库是近年来收集肿瘤相关资料最为全面的数据库,也是诸多肿瘤研究学者最常使用的数据库<sup>[11-12]</sup>。在本研究中,我们首次将 TCGA 数据库与 GEO 数据库中 ccRCC 样本信息结合起来,筛选出可信度高的差异表达基因427个,并找到其中11个核心基因,接着对这些核心基因上

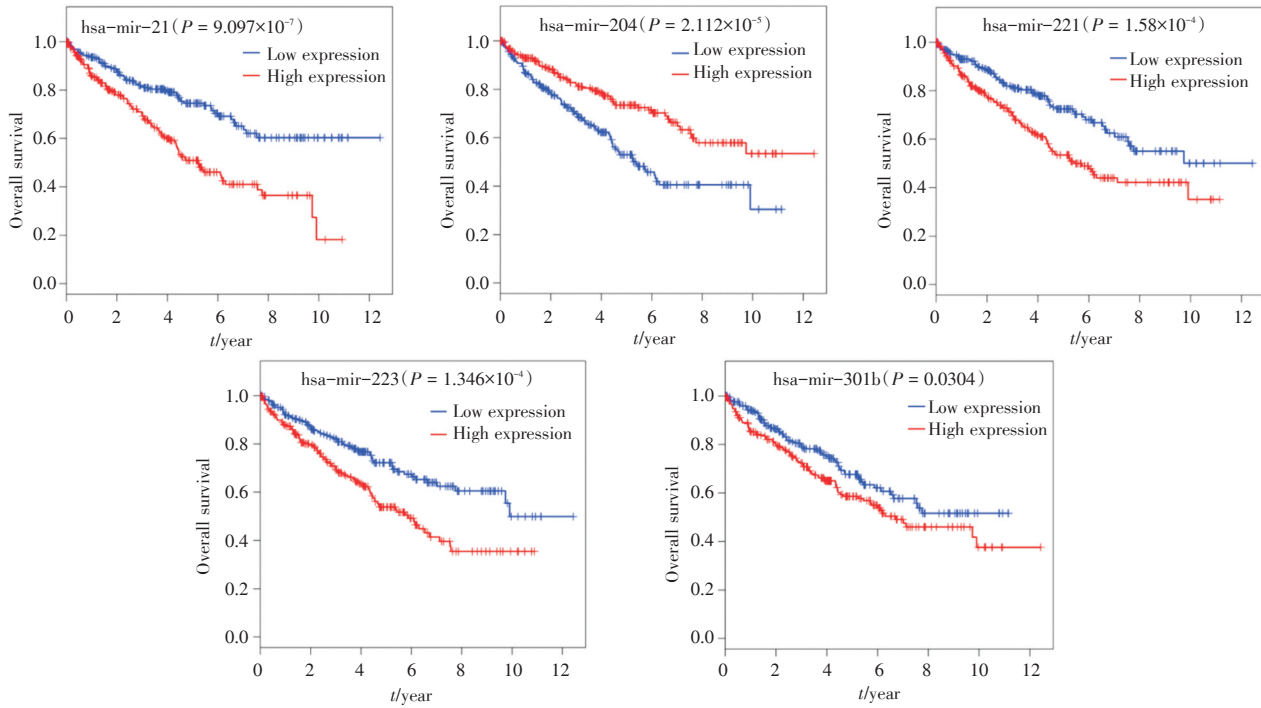


图5 miRNA 生存分析结果

Fig.5 Survival analysis results of miRNA

游 miRNA 以及 lncRNA 进行预测,最后通过综合分析构建出一个与 ccRCC 直接相关的 lncRNA-miRNA-mRNA 网络。

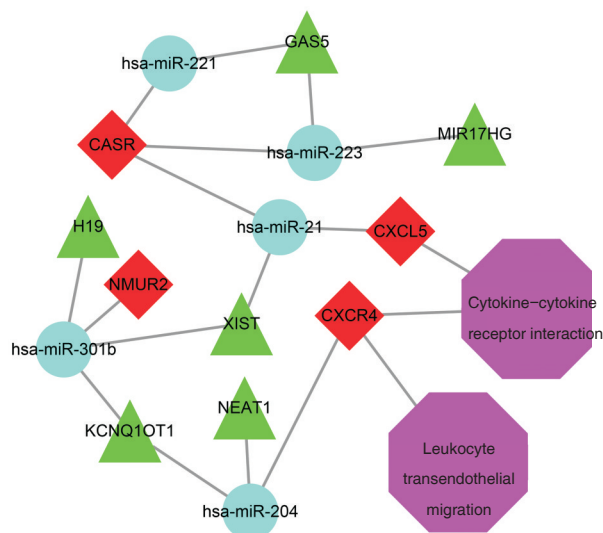
图2与表2结果表明,筛选出的427个差异表达基因GO功能分析和KEGG信号通路富集主要集中在受体活性、细胞黏附分子活性等功能以及PPAR、Rap1等信号通路,而这些功能与信号通路均与ccRCC的发生发展有着密不可分的联系。如Eichelberg等<sup>[13]</sup>报道在ccRCC中,上皮细胞粘附分子能够影响肿瘤细胞的迁移和侵袭能力,是ccRCC的独立预后指标。Collet等<sup>[14]</sup>发现PPAR $\gamma$ 激动剂能够在包括ccRCC在内的多种肿瘤模型中发挥抑制细胞生长的作用。Rap1涉及多种肿瘤的生长与侵袭过程, Kim等<sup>[15]</sup>研究发现其与ccRCC的远处转移密切相关,因而可作为其潜在的治疗靶点。

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)由于其大部分具有基因表达调控功能,并且有些可以在特定时期和/或特定组织中特异性表达,近年十余年来逐渐成为肿瘤中研究的热点<sup>[16]</sup>。根据其大小、结构与功能不同,ncRNA又分为微RNA(mi-croRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-cod-ing RNA, lncRNA)以及环状RNA(circular RNA,

circRNA)等几种类型<sup>[17]</sup>。在卵巢癌(ovarian cancer, OC)中,miR-376a在肿瘤组织中高表达并可以促进肿瘤细胞的增殖及转移,因而其可作为OC潜在的特异性分子标志物<sup>[18]</sup>。而在胃癌(gastric cancer, GC)中,高表达的lncRNA-HOTAIR通过吸附miR-331-3p进而调控HER2的表达水平使其表达增加,而高表达的HER2与GC的病理进程及预后不良直接相关,因此,高表达的HOTAIR可以作为GC预后不良诊断的分子标志物<sup>[19]</sup>。本研究在mirDIP数据库中预测核心基因的上游miRNA,并将这些miRNA利用TCGA数据库中ccRCC的临床样本进行生存分析,共找到5个与ccRCC患者总体生存率具有相关性的miRNA,其中如hsa-mir-21、hsa-mir-221这些已被多个研究证实其与ccRCC疾病发展进程有着密切联系<sup>[20-21]</sup>。本研究利用由中山大学研发的STARBASE软件对这5个miRNA上游的lncRNA进行预测,筛选条件为关系对至少在1种及以上的肿瘤中得到验证,共筛选到6个lncRNA(XIST、GAS5、KCNQ1OT1、NEAT1、MIR17HG、H19)。其中,H19在ccRCC中可以通过吸附miR-29a-3p从而调控E2F1表达水平,进而影响肿瘤的恶性程度及分期分级<sup>[22]</sup>。NEAT1作为lncRNA中的明星分子,之前在ccRCC中鲜有

表3 miRNA 与其对应的 lncRNA  
Table 3 MiRNA and corresponding lncRNA

miRNA	lncRNA	Cancer Type	P-Value
hsa-miR-21	XIST	Breast cancer (BRCA)	<0.000 1
hsa-miR-221	GAS5	Urothelial bladder cancer (BLCA)	0.048 5
hsa-miR-221	GAS5	Head and neck squamous cell carcinoma (HNSC)	0.000 1
hsa-miR-221	GAS5	Lung adenocarcinoma (LUAD)	<0.000 1
hsa-miR-204	KCNQ1OT1	Glioblastoma multiforme (GBM)	0.014 6
hsa-miR-204	NEAT1	Urothelial bladder cancer (BLCA)	0.004 8
hsa-miR-204	NEAT1	Chromophobe renal cell carcinoma (KICH)	<0.000 1
hsa-miR-204	NEAT1	Papillary thyroid carcinoma (THCA)	0.000 6
hsa-miR-223	GAS5	Urothelial bladder cancer (BLCA)	0.003 3
hsa-miR-223	GAS5	Colon and Rectal adenocarcinoma (CRC)	0.013 4
hsa-miR-223	GAS5	Lung adenocarcinoma (LUAD)	0.001 0
hsa-miR-223	GAS5	Lung squamous cell carcinoma (LUSC)	0.040 4
hsa-miR-223	GAS5	Ovarian serous cystadenocarcinoma (OV)	0.037 6
hsa-miR-223	GAS5	Cutaneous melanoma (SKCM)	<0.000 1
hsa-miR-223	GAS5	Papillary thyroid carcinoma (THCA)	0.002 1
hsa-miR-223	GAS5	Uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC)	0.012 0
hsa-miR-223	MIR17HG	Glioblastoma multiforme (GBM)	0.003 4
hsa-miR-301b	XIST	Breast cancer (BRCA)	<0.000 1
hsa-miR-301b	H19	Breast cancer (BRCA)	<0.000 1
hsa-miR-301b	H19	Papillary thyroid carcinoma (THCA)	<0.000 1
hsa-miR-301b	KCNQ1OT1	Breast cancer (BRCA)	0.001 2
hsa-miR-301b	KCNQ1OT1	Acute Myeloid Leukemia (LAML)	0.018 8



The triangle, ellipse, diamond and octagon represent lncRNA, miRNA, mRNA and pathway, respectively.

图6 lncRNA-miRNA-mRNA-pathway 网络图

Fig.6 Network of lncRNA-miRNA-mRNA-pathway

研究报道,而在2017年间则有2个不同的研究团

队先后报道该 lncRNA 可通过调节上皮-间质转化进而影响癌症的进程<sup>[23-24]</sup>。其余4个 lncRNA 涉及多种肿瘤疾病的发生发展进程<sup>[25-28]</sup>,但尚未有在 ccRCC 中的研究报道,因此值得我们进行更深入的研究与探讨。

此研究通过筛选 ccRCC 中的差异表达基因并对其功能和信号通路进行综合分析,找到了这些差异基因中的核心基因,并通过对这些核心基因上游靶点进行预测分析,最终构建出了一个包含 lncRNA、miRNA、mRNA 以及信号通路的网络图。通过该网络图可以清楚地了解各分子之间的相互作用及潜在的调控机制,为 ccRCC 的早期诊断和治疗提供了理论依据,为找到新的 ccRCC 肿瘤标志物指明了方向。本研究亦有自身不足之处,即无相应实验对各靶点预测进行二次验证。但在后续研究过程中我们会加入实验验证部分,争取从潜在的 ccRCC 的诊断及治疗靶点中找到可应用于临床的分子标志物。

## 参考文献

- [1] Bhagat TD, Zou Y, Huang S, et al. Notch pathway is activated via genetic and epigenetic alterations and is a therapeutic target in clear cell renal cancer [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(3): 837-846.
- [2] Haas NB, Manola J, Dutcher JP, et al. Adjuvant treatment for high-risk clear cell renal cancer: updated results of a high-risk subset of the assure randomized trial [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(9): 1249-1252.
- [3] Stewart GD, O'mahony FC, Laird A, et al. Carbonic anhydrase 9 expression increases with vascular endothelial growth factor-targeted therapy and is predictive of outcome in metastatic clear cell renal cancer [J]. *Eur Urol*, 2014, 66(5): 956-963.
- [4] Sharpe K, Stewart GD, Mackay A, et al. The effect of VEGF-targeted therapy on biomarker expression in sequential tissue from patients with metastatic clear cell renal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(24): 6924-6934.
- [5] Kirwan A, Utratna M, O'dwyer ME, et al. Glycosylation-based serum biomarkers for cancer diagnostics and prognostics [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 20(14): 4905-4931.
- [6] Liloglou T, Bediaga NG, Brown BR, et al. Epigenetic biomarkers in lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2014, 342(2): 200-212.
- [7] Mabert K, Cojoc M, Peitzsch C, et al. Cancer biomarker discovery: current status and future perspectives [J]. *Int J Radiat Biol*, 2014, 90(8): 659-677.
- [8] Oliver GR, Hart SN, Klee EW. Bioinformatics for clinical next generation sequencing [J]. *Clin Chem*, 2015, 61(1): 124-135.
- [9] Tokar T, Pastrello C, Rossos AEM, et al. mirDIP 4.1-integrative database of human microRNA target predictions [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): 360-370.
- [10] Banwait JK, Bastola DR. Contribution of bioinformatics prediction in microRNA-based cancer therapeutics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 81(9): 94-103.
- [11] Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D991-995.
- [12] Tomczak K, Czerwinska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2015, 19(1a): A68-77.
- [13] Eichelberg C, Chun FK, Bedke J, et al. Epithelial cell adhesion molecule is an independent prognostic marker in clear cell renal carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2013, 132(12): 2948-2955.
- [14] Collet N, Theoleyre S, Rageul J, et al. PPARgamma is functionally expressed in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(3): 851-857.
- [15] Kim W J, Gersey Z, Daaka Y. Rap1GAP regulates renal cell carcinoma invasion [J]. *Cancer Lett*, 2012, 320(1): 65-71.
- [16] Kowalski MP, Krude T. Functional roles of non-coding Y RNAs [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 66(8): 20-29.
- [17] Hombach S, Kretz M. Non-coding RNAs: Classification, Biology and Functioning [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 937(1): 3-17.
- [18] Yang L, Wei QM, Zhang XW, et al. MiR-376a promotion of proliferation and metastases in ovarian cancer: Potential role as a biomarker [J]. *Life Sci*, 2017, 173(6): 2-7.
- [19] Boku N. HER2-positive gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2014, 17(1): 1-12.
- [20] Lu GJ, Dong YQ, Zhang QM, et al. miRNA-221 promotes proliferation, migration and invasion by targeting TIMP2 in renal cell carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5224-5229.
- [21] Vergho D, Kneitz S, Rosenwald A, et al. Combination of expression levels of miR-21 and miR-126 is associated with cancer-specific survival in clear-cell renal cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(2): 5-17.
- [22] He H, Wang N, Yi X, et al. Long non-coding RNA H19 regulates E2F1 expression by competitively sponging endogenous miR-29a-3p in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cell Biosci*, 2017, 7(6):

(下转第790页 to page 790)