

人翼状胬肉中 miR-486-3p 的表达及其潜在靶基因的生物信息学分析

徐玉亭^{1,2}, 乔晨³, 何思颖², 董世栖³, 徐云峰^{1,2}, 严明¹

引用:徐玉亭,乔晨,何思颖,等.人翼状胬肉中 miR-486-3p 的表达及其潜在靶基因的生物信息学分析.国际眼科杂志 2021; 21(6):969-974

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81770898);武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(No.WX18Q46)

作者单位:¹(430071)中国湖北省武汉市,武汉大学中南医院眼科;²(430071)中国湖北省武汉市,武汉大学第二临床学院;³(430024)中国湖北省武汉市,汉口爱尔眼科医院

作者简介:徐玉亭,在读硕士研究生,研究方向:眼表及遗传性眼病的基因诊断和机制研究。

通讯作者:严明,毕业于武汉大学,博士,主任医师,副教授,研究方向:眼表及遗传性眼病的基因诊断和机制研究. yanming72@whu.edu.cn

收稿日期:2020-07-10 修回日期:2021-05-06

摘要

目的:通过检测人翼状胬肉组织及正常结膜组织中 miR-486-3p 的表达情况,探寻其在翼状胬肉发生发展中可能的作用机制。

方法:于 2018-09/2019-12 收集原发性翼状胬肉患者 69 例 69 眼,收集术中切除的翼状胬肉组织和术眼正常结膜组织,采用 RT-PCR 定量检测标本中 miR-486-3p 的相对表达量,并利用 Targetscan 数据库、miWalk3.0 数据库、miRDB 数据库对 miR-486-3p 进行靶基因预测后将得到的潜在靶基因取交集;采用 DAVID 数据库对 miR-486-3p 潜在靶基因进行功能和通路富集分析;采用 String 网站对 miR-486-3p 潜在靶基因进行互作分析。

结果:miR-486-3p 在翼状胬肉组织中的相对表达量 [$(6.183 \pm 1.366) \times 10^{-6}$] 与正常结膜组织的相对表达量 [$(7.930 \pm 1.394) \times 10^{-5}$] 有显著差异 ($P < 0.0001$)。通过对靶基因预测及生物信息学分析发现 miR-486-3p 潜在靶基因 436 个,其生物学功能主要富集于对 RNA 聚合酶 II 启动子转录的调控、囊泡介导的转运和转录调控、DNA 依赖性 RNA 代谢过程的调控。KEGG 通路主要富集于神经轴突导向(Axon guidance)通路及溶酶体通路上,其中 Axon guidance 通路可能对翼状胬肉的发生发展起着重要的调控作用。PPI 网络分析进一步表明 Axon guidance 通路中的关键基因 ABL1、PLXNA1 对翼状胬肉具有重要作用。

结论:miR-486-3p 可能通过 SLIT(神经导向因子 Slit)/Robo(回旋引导受体)和 SEMA3A(神经导向因子 Semaphorin 3A)/PLXNA1(丛蛋白受体 A1)等 Axon guidance 通路致翼状胬肉的新生血管异常,从而参与翼状胬肉的发生、发展。

关键词:翼状胬肉;miR-486-3p;靶基因;生物信息学分析
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.6.06

Expression of miR - 486 - 3p and bioinformatics analysis of its potential target genes in human pterygium

Yu-Ting Xu^{1,2}, Chen Qiao³, Si-Ying He², Shi-Qi Dong³, Yun-Feng Xu^{1,2}, Ming Yan¹

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81770898); Scientific Research Project of Wuhan Health and Family Planning Commission (No.WX18Q46)

¹Department of Ophthalmology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China; ²Second Clinical College of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China; ³Hankou Aier Eye Hospital, Wuhan 430024, Hubei Province, China

Correspondence to: Ming Yan. Department of Ophthalmology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. yanming72@whu.edu.cn

Received:2020-07-10 Accepted:2021-05-06

Abstract

• **AIM:** To detect the expression of miR-486-3p in human pterygium tissue and normal conjunctival tissue and explore the possible mechanism of miR-486-3p in the development of pterygium.

• **METHODS:** Totally 69 patients 69 eyes with primary pterygium treat in Zhongnan Hospital of Wuhan University and Hankou Aier Eye Hospital from September 2018 to December 2019 were collected by excision of pterygium during surgery (experimental group). At the same time, a total of 69 patients with normal conjunctival tissue of their same eyes were taken as control group during surgery. The relative expression levels of miR-486-3p in the experimental group and the control group were quantitatively detected by RT-PCR. The Targetscan database, miWalk3.0 database and miRDB database were used to predict the potential target genes of miR-486-3p. DAVID database was used to analyse and enrich the function and pathway of the potential target genes of miR-486-3p. The String website performed an interactional analysis of the potential target genes of miR-486-3p.

• **RESULTS:** The relative expression level of miR-486-3p in the experimental group ($(6.183 \pm 1.366) \times 10^{-6}$) was significantly different from that in the control group ($(7.930 \pm 1.394) \times 10^{-5}$) ($P < 0.0001$). By the prediction of their target

genes and bioinformatical analysis, a total of 436 potential target genes of miR-486-3p were found. The biological functions were mainly concentrated in the regulation of RNA polymerase II promoter transcription, vesicle-mediated transport, transcriptional regulation and the regulation of DNA-dependent RNA metabolism. The Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway was mainly enriched in the Axon guidance pathway and lysosomal pathway. And the Axon guidance pathway might play an important regulatory role in the occurrence and development of pterygium. PPI network analysis further elucidated that the key genes of ABL1 and PLXNA1 (cell protein receptor A1) play an important role in the Axon guidance pathway for pterygium.

• CONCLUSION: MiR-486-3p might be involved in the occurrence and development of pterygium through SLIT (neuro-targeting factor)/Robo (rotatory guide receptor) and SEMA3A (neuro-guiding factor Semaphorin 3A)/PLXNA1 of Axon guidance pathways, which resulted in the abnormal new blood vessels of pterygium.

• KEYWORDS: pterygium; miR-486-3p; target genes; bioinformatics analysis

Citation: Xu YT, Qiao C, He SY, *et al.* Expression of miR-486-3p and bioinformatics analysis of its potential target genes in human pterygium. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(6):969-974

0 引言

翼状胬肉系角膜缘结膜上皮细胞异常生长和分化所致,其发生发展是一个复杂的过程,涉及细胞增殖、迁移、炎症浸润、纤维化、血管生成和细胞外基质分解^[1]。最新研究表明,上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transities, EMT)可能在翼状胬肉的发病机制中发挥关键作用^[2-3]。microRNA(miRNA)是一类小分子非编码RNA,可与靶基因mRNA的3'-UTR通过完全或非完全碱基互补配对原则结合,进而发挥降解或抑制靶基因mRNA的作用,藉此参与调控机体的生长发育。近年越来越多的研究发现miRNA在人类的多种疾病中起着重要的调控作用^[4]。目前已经证实,在翼状胬肉中差异表达的miRNA有35个,其中有16个表达升高,19个表达降低^[5],这些miRNA均对翼状胬肉的生长和分化发挥重要调控作用。研究发现miR-486-3p可通过靶向潜在靶基因对疾病的特定通路进行调控,已有研究证实胶质母细胞瘤^[6]、肺癌^[7]、膀胱癌^[8]、宫颈癌^[9]等多种疾病中miR-486-3p异常表达,其中miR-486-3p参与了肿瘤的增殖、生长和转移等病理过程。翼状胬肉头部向角膜侵入性生长在某种程度上与膀胱癌及宫颈癌的侵袭式生长类似^[10],据此,我们推测miR-486-3p可能同样参与了翼状胬肉疾病进程。本文拟对翼状胬肉组织中miR-486-3p的表达情况及其潜在靶基因进行检测和生物信息学分析,寻找miR-486-3p在翼状胬肉发生发展中可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象及取材 选取2018-09/2019-12在武汉大学中南医院和武汉爱尔眼科医院就诊的初发型翼状胬肉

患者69例69眼,其中男30例,女39例;左眼32眼,右眼37眼;平均年龄61.890±1.315岁。纳入标准:(1)确诊为原发性翼状胬肉;(2)均为汉族,无血缘关系;(3)无其他眼部疾病及眼部手术史。排除标准:(1)复发性翼状胬肉;(2)合并眼部严重外伤、眼部感染、白内障、青光眼、急性泪囊炎等病史;(3)合并严重精神疾病者。收集术中切除的鼻侧结膜下增生翼状胬肉组织和术眼颞侧健康结膜组织,取材大小1.5mm×1.5mm。本研究经武汉大学中南医院伦理委员会审核批准,并经患者及家属知情同意。

1.1.2 主要试剂及仪器 低温离心机(中国湘仪集团);CFX96荧光定量PCR仪、普通PCR仪(美国Bio-Rad公司);RNA保护剂(RNAlater™,美国SIGMA公司);Trizol Reagent、逆转录酶试剂盒(miRNA 1strand cDNA Synthesis Kit);Cham Q™ Universal SYBR® qPCR Master Mix(中国南京Vazyme公司);miRNA-486-3p及U6逆转录引物均由中国武汉天一辉远有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 组织RNA提取 术中采集标本并立即置于RNA保护剂(RNAlater™)中,存放于-20℃中。取标本组织60~100mg,用研磨棒研磨彻底,加1mL Trizol,匀浆彻底,转至EP管,颠倒上下混匀10下,室温搁置5min。加入1/5体积氯仿(约0.2mL),充分颠倒混匀15s,室温异丙醇,混匀后-20℃放置1h(或室温下放置20min)。4℃下12000r/min离心10min,弃上清,加入(-20℃)预冷的75%乙醇1mL混匀,4℃下7500r/min离心5min,弃上清。开风机干燥20~30min(不能完全干燥),加入30μL DEPC水,于55℃~60℃水浴8~10min,溶解后测浓度,存于-80℃。

1.2.2 逆转录及荧光定量 miR-486-3p相对表达量测定按照miRNA 1strand cDNA Synthesis Kit试剂盒的步骤对所提取的RNA逆转录为miR-486-3p,每个样本均独立重复实验2次。按照Cham Q™ Universal SYBR® qPCR Master Mix的要求以2.5μL cDNA配制RT-PCR体系,按如下条件进行PCR反应:95℃进行预变性30s,变性95℃3~10s,退火延伸60℃10~30s,扩增40个循环。以U6基因作为校正基数,ΔCt=目的基因Ct值-U6基因Ct值,采用2^{-ΔCt}法计算miR-486-3p的相对表达量。miR-486-3p逆转录引物序列: Forward 5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTAT-3', Reverse 5'-TCGCACTGGATACGACATCCTGTA-3'; U6内参逆转录引物序列: Forward 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', Reverse 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.2.3 生物信息学分析 采用TargetsScan 7.1数据库(<http://www.target-scan.org/>)、miWalk3.0数据库(<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)、miRDB数据库(<http://www.mirdb.org/>)分别对miR-486-3p进行靶基因预测,取3个数据库所得到的靶基因交集作为miR-486-3p的潜在靶基因;采用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对miR-486-3p潜在靶基因进行功能富集分析[GO(gene ontology)分析和KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)信号通路分析];采用String网站对miR-486-3p的靶基因进行互作分析(protein-protein interaction, PPI)。

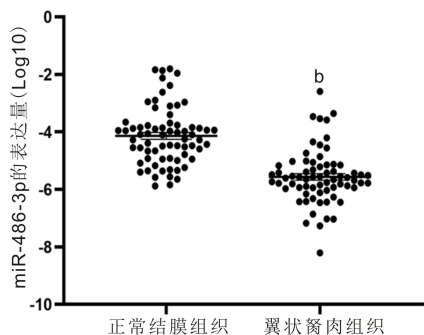


图1 翼状胬肉与正常结膜组织中 miR-486-3p 相对表达量 (Log10) ^b $P < 0.01$ vs 正常结膜组织。

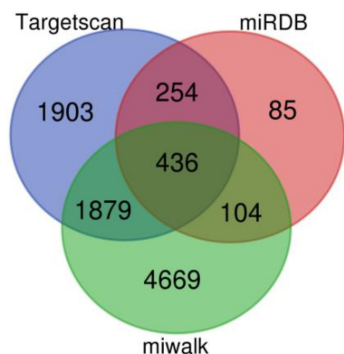


图2 miR-486-3p 潜在靶基因 Venn 图。

统计学分析:本研究数据分析采用 SPSS 23.0 软件进行。计量资料采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用配对样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。miR-486-3p 表达值取 Log10 后采用 GraphPad Prism 8.0 作图。GO 功能富集及通路采用直方图,KEGG 富集通路采用气泡图由 imageGP 网站 (<http://www.ehbio.com/>) 制作;Axon guidance (轴突导向) 通路图及 PPI 网络图采用 Cytoscape 3.7.2 进行可视化分析。

2 结果

2.1 翼状胬肉与正常结膜组织中 miR-486-3p 的表达

RT-PCR 检测结果显示,翼状胬肉组织中 miR-486-3p 相对表达量 [$(6.183 \pm 1.366) \times 10^{-6}$] 与正常结膜组织中 miR-486-3p 相对表达量 [$(7.930 \pm 1.394) \times 10^{-5}$] 有显著性差异 ($t = 9.363, P < 0.0001$),见图 1。

2.2 生物信息学分析结果

2.2.1 miR-486-3p 潜在靶基因 在 Targetscan 7.1 数据库中将物种设置为 Human,对 miR-486-3p 的靶基因进行预测,发现共 4 472 个靶基因;在 miRDB 数据库中对人 miR-486-3p 靶基因进行预测,发现共 879 个靶基因;在 miWalk3.0 数据库中筛选,得到人 miR-486-3p 潜在靶基因 7088 个。通过“<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>”网站绘制 Venn 图,如图 2 所示,得到 3 个数据库交集靶基因 436 个,这些潜在靶基因在细胞内的信号传导通路中具有重要作用。

2.2.2 miR-486-3p 潜在靶基因的 GO 及 KEGG 通路分析 miR-486-3p 的潜在靶基因功能 GO 分析发现其主要生物学功能(biological process, BP)有 221 条,主要富集于 RNA 聚合酶 II 启动子转录的调控,囊泡介导的转运、转录调控, DNA 依赖性 RNA 代谢过程的调控等过程中;细胞

组分(cellular component, CC) 主要富集于质膜部分、突触小体、网格蛋白包被的囊泡、细胞连接、包被的囊泡等;分子功能(molecular function, MF) 主要富集于转录因子活性、转录调节活性、转录阻遏物活性、转录因子结合、序列特异性 DNA 结合等,见图 3A。KEGG 通路分析气泡图显示,miR-486-3p 的靶基因主要富集于神经轴突导向(Axon guidance) 通路及溶酶体(Lysosom) 通路上,见图 3B。

2.2.3 潜在靶基因与 miR-486-3p 结合位点预测及与 Axon guidance 通路的关系 利用 Targetscan 7.1 数据库对 miR-486-3p 及 Axon guidance 通路中的靶基因“SEMA6A、PLXNA1、LIMK1、PLXNA2、SEMA3G、MAPK3、SRGAP3、ABL1、EPHB2”进行检索发现,miR-486-3p 与靶基因 ABL1 和 PLXNA1 有潜在的结合位点,且潜在靶基因 ABL1 和 PLXNA1 主要参与 SLIT/Robo 和 SEMA3A (Semaphorin 3A)/PLXNA1 (Plexin A1) 等 Axon guidance 信号通路,见图 4。

2.2.4 miR-486-3p 潜在靶基因的 PPI 网络分析 通过 String 网站对 miR-486-3p 的 436 个潜在靶基因进行分析得到 PPI 网络,采用 Cytoscape 插件对网络的基因互作进行计算分析,根据 Degree 值进行排名,按照 Degree 值取排名前 50 的关键基因重新构建网络图,发现 Degree 值较高的基因分别是 MAPK3、STAT3、GRIN1、SYK、ABL1,表明这些基因可能与翼状胬肉的发生、发展有着重要关系,同时发现 Axon guidance 通路中的关键基因 ABL1、PLXNA1 也分别在 Degree 值前 50 的 PPI 网络中起着重要的连接作用,见图 5。

3 讨论

翼状胬肉的发生与紫外线照射、长期炎症因子刺激等因素导致的结膜下血管及纤维组织向角膜侵入性生长有关。研究发现翼状胬肉主要表现为结膜下血管及纤维组织增生,其中结膜下纤维组织增生的机制主要与 EMT 有关,结膜下新生血管形成的机制主要与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)有关^[11]。

Axon guidance 通路即轴突导向通路,神经轴突到达相应靶组织的发育过程中,依赖周围环境中具有吸引和排斥作用的导向因子^[12]。导向因子与相应的膜受体结合,通过 Ca^{2+} 、cAMP、Rho GTP 酶信号通路最终引起细胞骨架向相应方向延伸^[13]。目前已证实轴突导向因子除了引起神经系统发育外,还参与多种神经系统外的疾病进程,如目前研究较多的神经导向因子 Semaphorins、Netrins、Slits 家族^[14],其与新生血管的生成有着密切联系^[15]。研究发现神经导向因子 Netrin-1 因子对多种肿瘤血管的发生、胎盘的生成、角膜及视网膜新生血管的生成具有重要的调控作用^[16],神经导向因子 Slit 通过 Slit/Robo 信号通路对多种肿瘤及视网膜新生血管均有调控作用^[17],有学者发现 Slit2/Robo4 蛋白网络通过抑制 VEGF 诱导新生血管形成和血管的渗透作用。神经导向因子 SEMA 因子家族不仅与神经系统、免疫系统、新生血管生成及多种肿瘤的发生及侵袭有密切联系^[18-19],其家族成员 Sema3A 可以与 VEGF 165 竞争 NP-1 的结合位点从而调节 VEGF 165 活性,而 VEGF 165 是血管系统发育早期的重要分子^[20]。

目前,翼状胬肉的治疗手段主要是手术切除,但术后

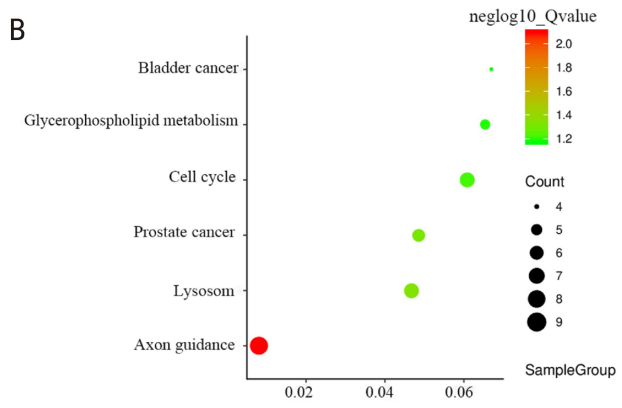
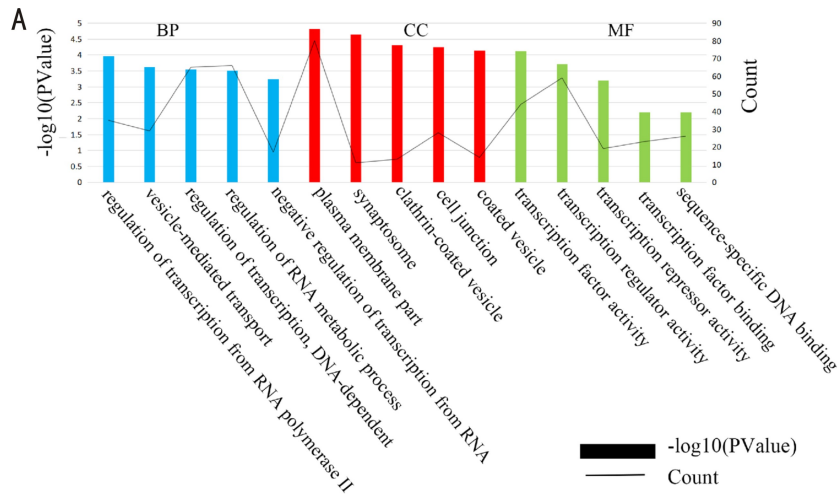


图3 miR-486-3p 潜在靶基因功能富集及途径分析 A: miR-486-3p 潜在靶基因功能富集直方图,其中 BP 表示生物学功能,CC 表示细胞组分,MF 表示分子功能;B:miR-486-3p 潜在靶基因途径富集气泡图。

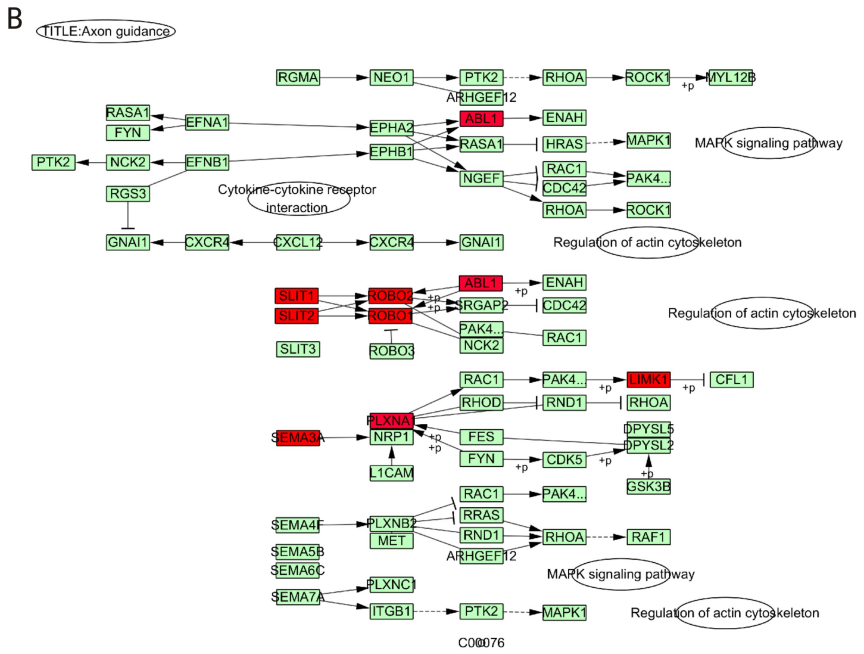
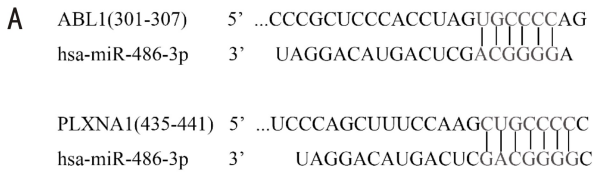


图4 miR-486-3p 与靶基因 ABL1、PLXNA1 预测结合位点及 Axon guidance 通路图 A:miR-486-3p 与靶基因 ABL1、PLXNA1 预测的结合位点;B:Axon guidance 通路图。

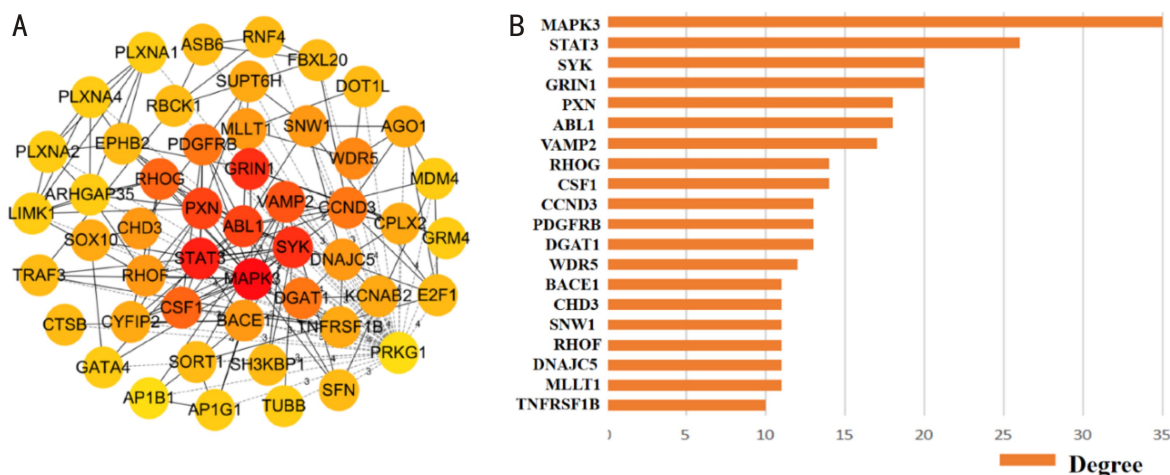


图5 miR-486-3p 靶基因的 PPI 网络图 A: PPI 网络图前 50 个 Hub 基因 (按照 Degree 排名), 颜色越深表示其 Degree 值越大; B: 前 20 个基因的条形图。

高复发率导致了手术的局限性,寻找新的治疗方式成为翼状胬肉治疗的研究热点。miRNA 是一类长度为 17~22 个核苷酸的单链非编码小分子,通过与 mRNA 的互补序列结合调节基因的表达进而实现对机体生长发育、疾病发生发展的调控^[21]。miRNA 具有明显促进血管新生、促进角膜 EMT^[22-23]和增加基质成纤维细胞数量的功能^[2,24],其与翼状胬肉的严重程度和疾病进展密切相关^[25]。因此,寻找与翼状胬肉相关的 miRNA 及其靶基因,阻断其靶基因的作用通路,有望成为小分子药物治疗翼状胬肉的研究基础。

miRNA-486-3p 已被证实参与多种癌症的发展,但其与翼状胬肉的作用关系尚无相关研究。本研究采用基础研究与生物信息学相结合的方式对 miRNA-486-3p 及其潜在靶基因进行深入分析,发现 miRNA-486-3p 在翼状胬肉组织中表达明显降低,其潜在靶基因功能主要富集在转录、囊泡的转运等生物学功能上,其 KEGG 通路主要富集在 Axon guidance、溶酶体等通路上,其中 Axon guidance 通路最具有显著性意义。本研究通过 Targetscan 数据库对 miR-486-3p 和 ABL1、PLXNA1 的靶点进行预测,发现其有潜在结合位点,进一步提示 miR-486-3p 可能通过靶向 ABL1 和 PLXNA1 对 Axon guidance 通路中的 SLIT1/Robo 和 SEMA3A/PLXNA1 通路来影响血管内皮细胞的骨架延伸方向,从而对翼状胬肉的血管生成发挥作用。PPI 网络分析发现 ABL1 和 PLXNA1 在 Degree 排名前 50 的潜在基因中起着重要的关联作用,进一步证实 ABL1 和 PLXNA1 是通过调控 Axon guidance 通路中的 SLIT1/Robo 和 SEMA3A/PLXNA1 从而对翼状胬肉的发生、发展产生作用。

本研究结果表明,miR-486-3p 在翼状胬肉组织中差异表达,miR-486-3p 可能通过靶向神经轴突导向因子的受体干预受体与神经轴突因子结合,导致结膜下血管异常增生,从而影响翼状胬肉的发生和发展。本次研究发现翼状胬肉组织中 miRNA-486-3p 的表达量降低,并对 miRNA-486-3p 靶基因的预测及通路分析发现神经轴突因子与翼状胬肉存在一定的相关性,该结果对阐明翼状胬肉的发病机制及治疗具有一定的创新性,为翼状胬肉的分

子治疗提供了新的理论基础,但本研究尚需临床验证,有一定的局限性,研究结果有待进一步研究证实。

参考文献

- Zhong XC, Tang JL, Li HY, *et al.* MiR-3175 promotes epithelial-mesenchymal transition by targeting Smad7 in human conjunctiva and pterygium. *FEBS Lett* 2020; 594(7): 1207-1217
- Engelsvold DH, Utheim TP, Olstad OK, *et al.* miRNA and mRNA expression profiling identifies members of the miR-200 family as potential regulators of epithelial-mesenchymal transition in pterygium. *Exp Eye Res* 2013; 115: 189-198
- Ando R, Kase S, Ohashi T, *et al.* Tissue factor expression in human pterygium. *Mol Vis* 2011; 17:63-69
- Wu CW, Cheng YW, Hsu NY, *et al.* MiRNA-221 negatively regulated downstream p27Kip1 gene expression involvement in pterygium pathogenesis. *Mol Vis* 2014; 20: 1048-1056
- He SY, Sun H, Huang YF, *et al.* Identification and interaction analysis of significant genes and MicroRNAs in pterygium. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 2767512
- Wu HG, Li X, Zhang TH, *et al.* Overexpression miR-486-3p promoted by allicin enhances temozolomide sensitivity in glioblastoma via targeting MGMT. *Neuromolecular Med* 2020; 22(3): 359-369
- ElKhouly AM, Youness RA, Gad MZ. MicroRNA-486-5p and microRNA-486-3p: Multifaceted pleiotropic mediators in oncological and non-oncological conditions. *Noncoding RNA Res* 2020; 5(1): 11-21
- Ye HQ, Yu XL, Xia JY, *et al.* MiR-486-3p targeting ECM1 represses cell proliferation and metastasis in cervical cancer. *Biomedicine Pharmacother* 2016; 80: 109-114
- Kanehisa M, Sato Y. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. *Protein Sci* 2020; 29(1): 28-35
- 周霞, 许玲. 翼状胬肉与肿瘤相关的发病机制的研究进展. *中国误诊学杂志* 2009; 9(25): 6063-6064
- Hacıoğlu D, Erdöl H. Developments and current approaches in the treatment of pterygium. *Int Ophthalmol* 2017; 37(4): 1073-1081
- Yuan XB. Axon guidance and neuronal migration research in China. *Sci China Life Sci* 2010; 53(3): 304-314
- Silva J, Hawthorn L, Cowell JK. Inactivation of Lgi1 in murine neuronal precursor cells leads to dysregulation of axon guidance pathways. *Genomics* 2020; 112(2): 1167-1172
- Chen B, Carr L, Dun XP. Dynamic expression of Slit1-3 and Robo1-2 in the mouse peripheral nervous system after injury. *Neural Regen Res*

2020; 15(5): 948-958

15 Iida C, Ohsawa S, Taniguchi K, *et al.* JNK-mediated Slit-Robo signaling facilitates epithelial wound repair by extruding dying cells. *Sci Rep* 2019; 9(1): 19549

16 Koohini Z, Koohini Z, Teimourian S. Slit/robo signaling pathway in cancer; a new stand point for cancer treatment. *Pathol Oncol Res* 2019; 25(4): 1285-1293

17 Solmaz M, Lane A, Gonen B, *et al.* Graphical data mining of cancer mechanisms with SEMA. *Bioinformatics* 2019; 35(21): 4413-4418

18 龚琳, 潘国庆. 神经导向分子 SEMA5A 的研究进展. *重庆医学* 2020; 49(15): 2566-2571

19 刘毅, 范文红, 范明. 轴突导向因子 semaphorin 家族及其信号通路研究进展. *军事医学科学院院刊* 2006; 1:80-83

20 Tan G. Inhibitory effects of Semaphorin 3F as an alternative candidate to anti-VEGF monoclonal antibody on angiogenesis. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2019; 55(9): 756-765

Anim 2019; 55(9): 756-765

21 Li HM, Xiao YJ, Min ZS, *et al.* Identification and interaction analysis of key genes and microRNAs in atopic dermatitis by bioinformatics analysis. *Clin Exp Dermatol* 2019; 44(3): 257-264

22 Wang S, Aurora AB, Johnson BA, *et al.* The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev Cell* 2008; 15(2): 261-271

23 Xu LJ, Zhang Y, Wang H, *et al.* Tumor suppressor miR-1 restrains epithelial-mesenchymal transition and metastasis of colorectal carcinoma via the MAPK and PI3K/AKT pathway. *J Transl Med* 2014; 12: 244

24 Lan WW, Chen SL, Tong L. MicroRNA-215 regulates fibroblast function: insights from a human fibrotic disease. *Cell Cycle* 2015; 14(12): 1973-1984

25 Chien KH, Chen SJ, Liu JH, *et al.* Correlation of microRNA-145 levels and clinical severity of pterygia. *Ocul Surf* 2013; 11(2): 133-138