

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.05.0422

论著

早发性卵巢功能不全的 lncRNA-miRNA-mRNA 网络的构建和生物信息学分析

董玉梅¹, 杜雪²

(1.天津医科大学总医院妇产科,天津市女性生殖健康与优生重点实验室,天津 300052;2.天津市人民医院/南开大学人民医院妇科,天津 300121)

摘要 目的:探讨 lncRNA 相关内源竞争 RNA(ceRNA)网络在早发性卵巢功能不全中的作用机制。方法:从 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库中筛选出两个早发性卵巢功能不全患者的数据集,使用 R 语言“limma”包筛选出差异表达的 lncRNA、miRNA 和 mRNA。使用 Starbase 数据库预测与差异 lncRNA 相互作用的 miRNAs,使用 TargetScan 和 miRDB 数据库预测与差异 miRNAs 相互作用的 mRNAs,预测的 mRNAs 与差异 mRNAs 取交集。根据 RNA 之间的相互作用关系,建立早发性卵巢功能不全的 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 调控网络。使用 Metascape 在线工具对 ceRNA 调控网络中的 mRNA 进行 GO 和 KEGG 功能分析,通过 String 数据库建立蛋白质相互作用(PPI)网络,利用 Cytoscape 插件识别 PPI 网络中的 hub 基因并构建 lncRNA-miRNA-hub 基因网络。结果:从早发性卵巢功能不全患者与正常对照组中筛选了 116 个差异 lncRNAs,22 个差异 miRNAs 和 282 个差异 mRNAs。通过 116 个差异 lncRNAs,利用数据库预测到了 13 个差异 lncRNAs,7 个差异 miRNAs 和 54 个差异 mRNAs 的相互作用,构建了早发性卵巢功能不全的 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 调控网络。GO 和 KEGG 富集分析结果显示,调控网络中的 mRNA 参与早发性卵巢功能不全的生物学过程,包括凋亡信号通路、mRNA 的代谢过程和 cAMP 信号通路。通过 PPI 网络筛选了 8 个 hub 基因(*EIF4ENIF1*、*SENPI1*、*RBM5*、*DYNLL2*、*AGO2*、*SRSF1*、*CAPZB*、*SRSF10*),构建了一个 lncRNA-miRNA-hub 基因网络。结论:12 个 lncRNA 通过参与 SRSF1 等 hub 基因的表达,调控影响早发性卵巢功能不全的发生、发展。

关键词 早发性卵巢功能不全;生物信息学;ceRNA 调控网络;lncRNA;颗粒细胞

中图分类号 R711.75

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)05-0422-07

Construction and bioinformatics analysis of lncRNA-miRNA-mRNA network in premature ovarian insufficiency

DONG Yumei¹, DU Xue²

(1.Department of Gynecology and Obstetrics,the General Hospital,Tianjin Medical University,Tianjin Key Laboratory of Female Reproductive Health and Eugenics,Tianjin 300052,China;2.Department of Gynecology,Tianjin Union Medical Center,Nankai University,Tianjin 300121,China)

Abstract Objective: To explore the mechanism of lncRNA related endogenous competitive RNA(ceRNA) regulatory network in premature ovarian insufficiency. **Methods:** Two data sets about premature ovarian insufficiency patients and healthy controls were screened from the Gene Expression Omnibus(GEO) database. Differentially expressed lncRNAs, miRNAs and mRNAs were identified by "limma" package of R software. The miRNAs interacting with differentially expressed lncRNAs were predicted by the Starbase database, TargetScan and miRDB databases were used to predict mRNAs that interact with the differentially expressed miRNAs, and the predicted mRNAs were intersected with differentially expressed mRNAs. Based on the interactions between RNAs, a lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA regulatory network for premature ovarian insufficiency was established. GO and KEGG functional analysis of mRNA in ceRNA network was performed by "Metascape" online analysis tools, and protein-protein interaction(PPI) network was established by String database. The Cytoscape plugin of Cytoscape was used to identify hub genes in the PPI network, and a lncRNA-miRNA-hub gene network was constructed. **Results:** 116 differentially expressed lncRNAs, 22 differentially expressed miRNAs and 282 differentially expressed mRNAs were identified between premature ovarian insufficiency patients and normal controls. Based on the 116 lncRNAs, the interaction of 13 differentially expressed lncRNAs, 7 differentially expressed miRNAs and 54 differentially expressed mRNAs were predicted by the database, the lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network of premature ovarian insufficiency was constructed. The results of GO and KEGG analysis showed that the mRNAs in the ceRNA network were involved in premature ovarian insufficiency related biological processes, including apoptosis signaling pathway, regulation of mRNA metabolic process, cAMP signaling pathway. We identified 8 hub genes from the PPI network(*EIF4ENIF1*, *SENPI1*, *RBM5*, *DYNLL2*, *AGO2*, *SRSF1*, *CAPZB*, *SRSF10*) and constructed a lncRNA-miRNA-hub gene network. **Conclusion:** Twelve lncRNAs influence the occurrence and development of premature ovarian insufficiency by participating in expression of hub gene SRSF1 and so on.

作者简介 董玉梅(1983-),女,主治医师,学士,研究方向:妇科内分泌;通信作者:杜雪,E-mail:lanlandetomao@163.com。

Key words premature ovarian insufficiency; bioinformatics; ceRNA regulatory network; lncRNA; granulosa cells

早发性卵巢功能不全 (premature ovarian insufficiency, POI) 是指女性在 40 岁之前出现卵巢功能的减退。据统计,有 1% 的女性受此疾病影响,而且发病率有上升趋势^[1]。生物性的早发性卵巢功能不全 (biological premature ovarian insufficiency, bPOI) 是 POI 的一个时期,临床特点包括卵泡刺激素 (FSH) 水平升高,生育率下降,但月经周期正常^[2]。POI 的病因尚不明了,其发生、发展与多种因素有关,包括遗传、自身免疫、感染和医源性损伤等。目前,在 POI 的诊治过程中缺乏有效的生物标志物和治疗靶点,因此,有必要鉴别对 POI 的发生、发展具有重要作用的基因。

近年来,人类转录组的非编码 RNA (ncRNA) 受到了越来越多的关注^[3]。lncRNA 是没有明显编码蛋白潜能的 ncRNA,可通过多种机制参与许多生理、病理过程的调节。研究发现,POI 患者颗粒细胞中的 lncRNA *HCP5* 下调并损害了颗粒细胞的 DNA 损伤修复过程^[4]。lncRNA-*HOTAIR* 通过调控 miRNA-148b-3p 来调节 POI 患者的自噬和增殖机制^[5]。可见,lncRNA 在疾病的发生、发展中可能发挥着重要作用。但是,关于 lncRNA 的内源竞争 RNA (ceRNA) 调控网络在 POI 中作用的研究甚少。

本研究通过差异分析获得 POI 患者差异表达的 lncRNAs、miRNAs、mRNAs,并对差异基因进行生物信息学分析,鉴别关键 lncRNA 和靶基因,为探索 POI 的分子标志物和治疗靶点提供了研究方向。

1 材料与方法

1.1 微阵列数据 本研究数据来源于 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)。以“premature ovarian insufficiency, lncRNA”、“premature ovarian insufficiency, miRNA”、“premature ovarian insufficiency, mRNA”为搜索条件,检索 POI 相关的 lncRNA、miRNA 和 mRNA 数据集。从数据库中筛选了两个数据集 GSE135697 和 GSE100238。GSE135697 来源于 GPL16956 平台 (Agilent-045997 Arraystar human lncRNA microarray V3), 包含 10 例 bPOI 患者的颗粒细胞样本和 10 名对照组的样本。GSE100238 来源于 GPL19128 (Exiqon miRCURY LNA microRNA array), 包含 10 例 bPOI 患者颗粒细胞的样本和 10 名对照组的样本。

1.2 筛选差异表达基因 使用 R 语言的“GEOquery”包下载数据集中的 lncRNA、miRNA 和 mRNA 表达数据,随后应用“limma”包进行差异分析。删除没有基因符号的探针组和对应多个基因符号的探针。以

$P < 0.05$ 和 $|\log_2|FC| > 1$ 为阈值,筛选差异表达的 mRNA、miRNA、lncRNA。使用“ggplot2”包将结果可视化热图以及火山图。

1.3 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络的构建 利用 Starbase v3.0 (<http://starbase.sysu.edu.cn>) 数据库预测 lncRNA 的靶基因。Starbase 数据库由中山大学研发,支持多种查询类型,可以探索常见靶标、通路等。利用 TargetScan (<https://www.targetscan.org/>) 和 miRDB (<https://www.mirdb.org/>) 预测与差异 miRNAs 相互作用的 mRNAs。TargetScan 基于碱基互补配对原则,在比对靶基因 3'UTR 的保守性 8mer、7mer 或 6mer 位点后,根据配对位点个数、配对位点的热力学稳定性等 14 个特征指标来确定靶基因。miRDB 数据库使用 MirTarget 算法预测靶基因,此算法分析了 52 个 miRNA 过表达样本的 RNA-seq 数据集,鉴定了特征性的下调靶基因。

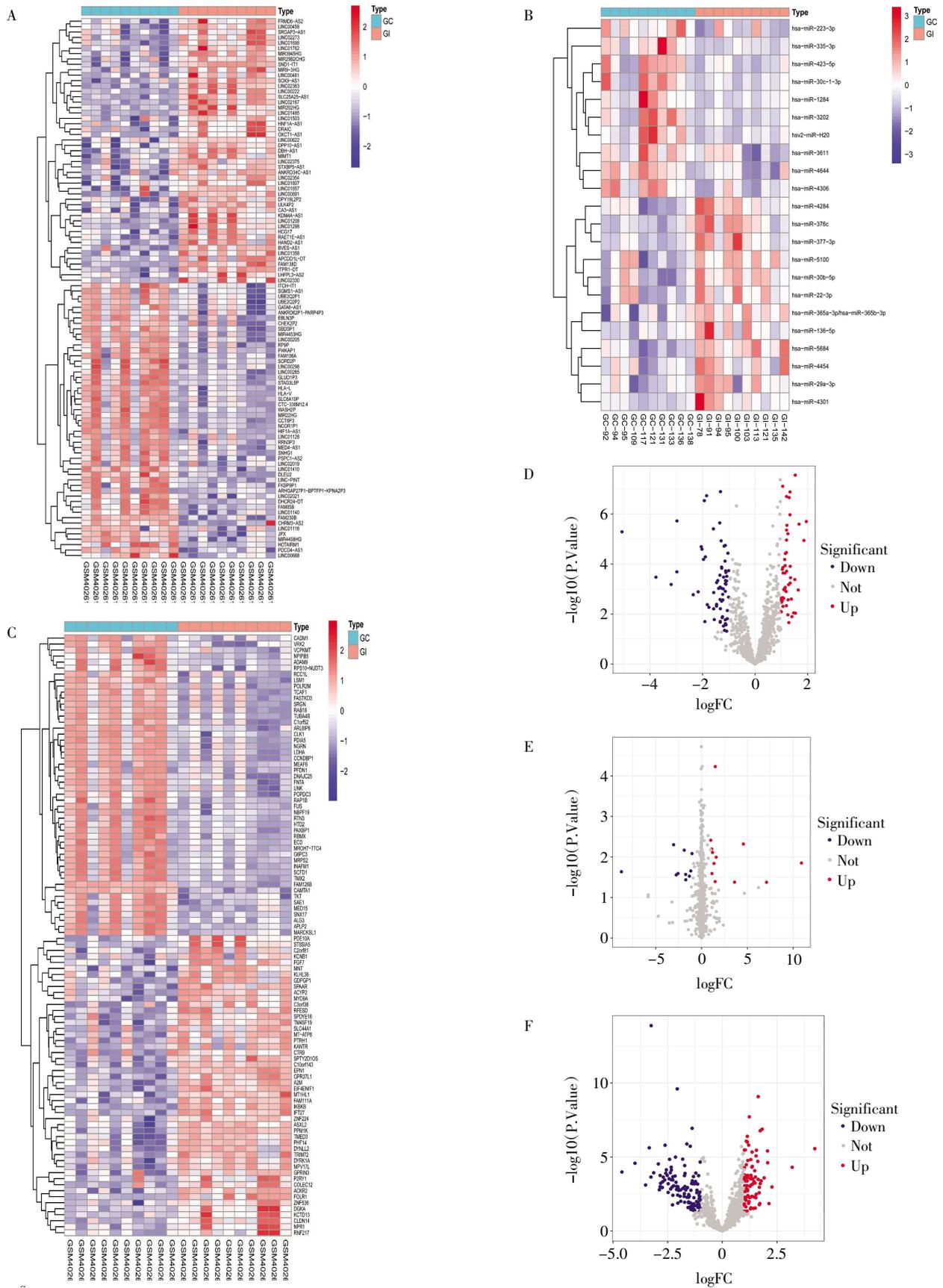
1.4 富集与通路分析 使用 Metascape (<https://metascape.org/>) 网站进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。GO 富集分析包括细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF) 和生物学过程 (biological process, BP) 3 部分。KEGG 是对基因参与的生物学信号通路的分析。筛选条件为 $P < 0.05$ 。

1.5 蛋白质相互作用网络及 hub 基因的筛选 将调控网络中的差异基因输入到 String (<https://string-db.org/>) 数据库中进一步分析。String 数据库通过对蛋白之间的相互关系进行研究,可从大量调控基因中挖掘核心的枢纽基因。置信度设置为 0.4。使用 Cytoscape 对结果进行可视化,并且应用 cytoHubba 插件的 MCC 算法提取 PPI 网络中的 hub 基因。

1.6 lncRNA-miRNA-hub 基因调控网络的构建 根据 PPI 网络中鉴别的 hub 基因,从 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络中提取出 hub 基因和与其相互作用的 miRNA、lncRNA,构建 lncRNA-miRNA-hub 基因调控网络。通过 Cytoscape 对结果进行可视化。

2 结果

2.1 筛选 POI 中的差异 lncRNA、差异 miRNA 和差异 mRNA 在 GSE135697 数据集中,共筛选出 116 个差异 lncRNAs,其中有 50 个表达上调,66 个表达下调;在此数据集中共筛选出 282 个差异 mRNAs,其中 142 个表达上调,140 个表达下调。在 GSE100238 数据集中共筛选出 22 个差异 miRNAs,其中 12 个表达上调,10 个表达下调。基于差异分析结果,使用 R 软件的“ggplot2”包将差异 lncRNAs、差异 miRNAs 和差异 mRNAs 的热图和火山图进行可视化 (图 1)。

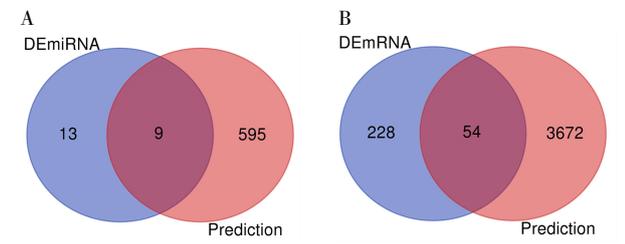


注:A:差异 lncRNAs 的热图;B:差异 miRNAs 的热图;C:差异 mRNAs 的热图;D:差异 lncRNAs 的火山图;E:差异 miRNAs 的火山图;F:差异 mRNAs 的火山图

图1 lncRNAs,miRNAs 和 mRNAs 的差异表达分析

Fig.1 Differentially expressed analysis of lncRNAs, miRNAs and mRNAs

2.2 POI 中 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络的构建 利用 Starbases 数据库预测与差异 lncRNAs 相互作用的 miRNA, 将预测结果与差异 miRNAs 取交集, 得到 17 个差异 lncRNA 和 9 个差异 miRNA 相互作用对(图 2A)。利用 TargetScan 和 miRDB 数据库预测与 9 个差异 miRNA 相互作用的 mRNA, 将预测的 mRNA 与差异 mRNA 取交集, 得到 7 个差异 miRNA 和 54 个差异 mRNA 相互作用对(图 2B)。将以上差异 lncRNA 和差异 miRNA 相互作用对以及差异 miRNA 和差异 mRNA 相互作用对整合后, 得到了一个包含 13 个差异 lncRNA、7 个差异 miRNA 和 54 个差异 mRNA 的 ceRNA 调控网络。应用 Cytoscape 将结果进行可视化(图 3)。



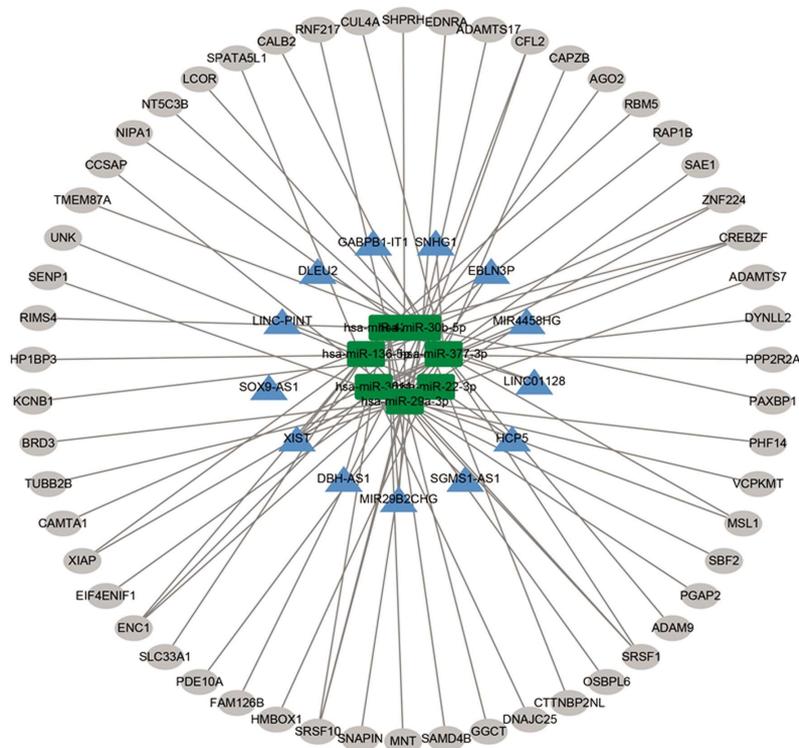
注:A:差异 lncRNA 预测的 miRNA 与 DEmiRNA 取交集的维恩图;B:差异 miRNA 预测的 mRNA 与 DEmRNA 取交集的维恩图

图 2 预测差异 lncRNAs 的靶 miRNAs 和差异 miRNAs 的靶 mRNAs

Fig.2 Prediction of differentially expressed lncRNAs target miRNAs and differentially expressed miRNAs target mRNAs

2.3 ceRNA 网络中差异 mRNAs 的富集分析与通路分析 GO 富集分析结果显示, ceRNA 网络中差异 mRNAs 参与的 BP 主要包括:突触小泡胞吐作用的调控(regulation of synaptic vesicle exocytosis)、mRNA 代谢过程的调控(regulation of mRNA metabolic process)、核糖核蛋白复合体生源(ribonucleoprotein complex biogenesis)、小蛋白耦联的蛋白修饰(protein modification by small protein conjugation)、凋亡信号通路(apoptotic signaling pathway)等。CC 主要为:细胞质处理小体(P-body)、核斑点(nuclear speck)、轴突(axon)、细胞边缘(cell leading edge)、细胞质区(cytoplasmic region)等。MF 主要为:金属内肽酶活性(metalloendopeptidase activity)、泛素蛋白连接酶活性(ubiquitin protein ligase activity)、信使核糖核酸结合(mRNA binding)等。KEGG 通路分析结果显示, ceRNA 调控网络中差异 mRNAs 主要参与了泛素介导的蛋白水解(ubiquitin mediated proteolysis)、运动蛋白(motor proteins)、cAMP 信号通路(cAMP signaling pathway)。

2.4 PPI 网络的构建和 hub 基因的筛选 将 54 个差异 mRNA 输入 String 数据库进行 PPI 网络分析。去除未连接到主网络的节点后, 得到了包含 22 个节点和 36 条边的 PPI 网络(图 4A)。使用 CytoHubba 插件探索 PPI 网络的重要节点。根据 MCC 算法, 选



注:绿色长方形节点表示 miRNA, 蓝色三角形节点表示 lncRNA, 灰色椭圆形节点表示 mRNA

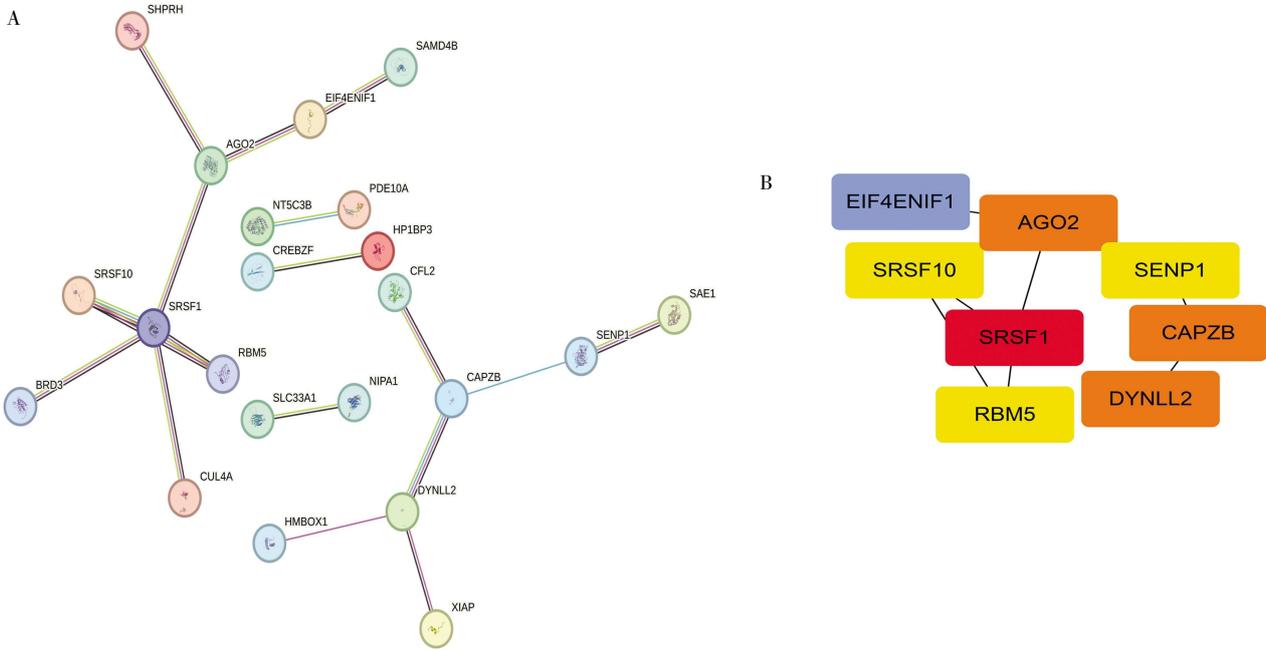
图 3 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 调控网络

Fig.3 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA regulatory network

取了 PPI 网络中排名前 8 位的基因为 hub 基因,包括 *EIF4ENIF1*、*SEN1*、*RBM5*、*DYNLL2*、*AGO2*、*SRSF1*、*CAPZB*、*SRSF10*(图 4B)。

2.5 构建 lncRNA-miRNA-hub 基因网络

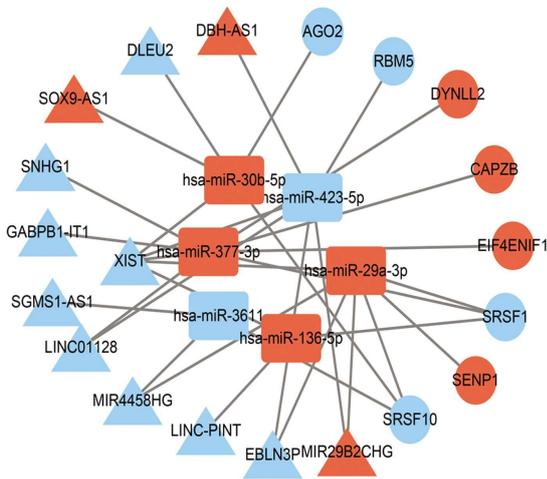
从 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络中提取 8 个 hub 基因及其相关的 lncRNA 和 miRNA, 构建了一个包含 12 个 lncRNA、6 个 miRNA、8 个 hub 基因的调控网络, 结果通过 Cytoscape 进行可视化(图 5)。



注:A:PPI 网络由 22 个节点和 36 条边组成;B:通过 cytoHubba 分析 PPI 网络,选取前 8 个点作为 hub 基因

图 4 差异 mRNA 的 PPI 网络

Fig.4 PPI network of differentially expressed mRNA



注:长方形节点表示 miRNA,三角形节点表示 lncRNA,圆形节点表示 hub 基因,红色表示上调基因,蓝色表示下调基因

图 5 lncRNA-miRNA-hub 基因调控网络

Fig.5 lncRNA-miRNA-hub gene regulatory network

3 讨论

女性卵巢功能减退是一个逐渐进展的过程, POI 是卵巢功能减退至一定阶段发生的疾病状态。患者的生育力显著下降, 目前尚缺乏有效的方法恢复卵巢功能。颗粒细胞是卵泡的重要成分, 对卵泡

的形成起到重要作用。有研究显示, 颗粒细胞的凋亡与卵巢早衰有关^[6]。POI 患者颗粒细胞的功能失调可能促进了卵巢功能不全的发生、发展^[7]。随着微阵列技术和高通量测序技术的发展, 研究人员发现了一些 ncRNAs 在一些疾病中的调节作用^[3]。研究显示, 一些 lncRNAs 和 miRNAs 在 POI 的发生、发展中起到了重要作用^[8-9]。有学者指出 lncRNA *PVT1* 通过促进 *SCP4* 介导的 *Foxo3a* 去磷酸作用, 改善了颗粒细胞的凋亡现象, 说明颗粒细胞中 lncRNA 的异常表达可能参与了 POI 的发生、发展^[10]。近年来, 在一些肿瘤和妇科疾病研究中相继报道了 ceRNA 调控网络的机制, 以帮助探究疾病的病因和治疗的靶点^[11-12]。本研究建立了 lncRNA-miRNA-mRNA 的 ceRNA 调控网络用以帮助探究 POI 的病因。

构建 ceRNA 调控网络后, 对 ceRNA 网络中的差异 RNA 进行了功能富集分析, 探索这些基因的生物学功能。网络中的 mRNA 主要富集于 mRNA 的物质代谢过程、凋亡信号通路、cAMP 信号通路。一项代谢相关的横断面研究显示, 与年龄和体重指数匹配的正常女性相比, POI 患者血清甘油三酯 (TG) 和葡萄糖水平升高, 而高密度脂蛋白-胆固醇

(HDL-C)、尿酸水平降低,肾功能受损^[13]。先前研究证实,颗粒细胞凋亡的减少可以改善 POI 小鼠的卵巢功能^[14]。cAMP 是细胞内重要的第二信使,可激活蛋白激酶 APKA,磷酸化各种靶蛋白,如转录因子-cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)。黄体生成素(LH)和促卵泡素(FSH)主要通过 cAMP 及其激活的特异性信号通路调节卵巢功能^[15],而且有研究报道芍药苷通过激活 PSHR/cAMP/PKA/CREB 信号通路,恢复了卵巢颗粒细胞雌激素合成的功能,改善了卵巢储备减少(DOR)^[16],说明 cAMP 信号通路对卵巢功能具有调节作用。

PPI 网络分析中,共筛选出 8 个关键基因: *EIF4ENIF1*、*SENPI*、*RBM5*、*DYNLL2*、*AGO2*、*SRSF1*、*CAPZB*、*SRSF10*。*EIF4ENIF1* 用于转运翻译起始因子 eIF4E 的核质穿梭蛋白。在小鼠模型中,*EIF4ENIF1* 对核膜的破坏和减数分裂的恢复具有重要作用,一项关于 POI 和卵巢储备减少的遗传研究显示,*EIF4ENIF1* 存在基因突变,表明其与 POI 有关^[17]。剪接因子 *SRSF1* 属于 SR 蛋白(serine/arginine-rich protein, SR protein)家族成员,其家族成员属于 RNA 结合蛋白,在调控 pre-mRNA 可变剪接及基因表达方面发挥重要作用,*SRSF1* 可以通过结合外显子剪接增强子,调控可变剪接。有研究显示,*SRSF1* 在猪的闭锁卵泡颗粒细胞中下调^[18],表明 *SRSF1* 可能参与了卵巢功能的调控。*SENPI* 是 SUMO 化和去 SUMO 化过程中所需的关键蛋白酶。SUMO 化蛋白在 *SENPI* 的作用下去 SUMO 化,导致功能改变,影响细胞周期、细胞增殖和凋亡状态^[19]。有研究报道,基质细胞 *SENPI* 缺失的小鼠,卵母细胞生长和卵泡成熟延迟,导致卵巢早衰^[20],表明 *SENPI* 可能与卵巢早衰的发生有关。*SRSF10* 也是 SR 蛋白家族成员。当 DNA 损伤时,*SRSF10* 与 hnRNP 蛋白和 Bcl-x pre-mRNA 的相互作用发生改变,以有利于产生促凋亡调节因子^[21]。AGO 蛋白是一类结构高度保守的碱性蛋白家族,广泛存在于生物体内。*AGO2* 蛋白是 RNA 诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)的重要成分,具有核酸内切酶活性,可与 miRNA 结合,参与信使 RNA 的基因沉默^[22]。有研究显示,*AGO2* 基因在卵巢浆液癌患者的胸腹水中表达升高,提示其可能在卵巢癌的发生、发展中发挥着重要作用^[23]。*DYNLL2* 基因又称为 *Dlc2*、*DNCLIB*、*RSPH22*,属于 SAPAP 家族。有研究表明,*DYNLL2* 位于细胞骨架,是一个大分子复合蛋白,由 6 个不同亚基组成蛋白复合体,参与人体的免疫调

节等^[24]。*CAPZB* 是肌动蛋白结合蛋白中的纤维末端结合蛋白,可通过与细胞骨架肌动蛋白相互作用参与调控细胞的运动过程,其高表达可促进细胞迁移。*RBM5* 是 RNA 结合基序蛋白家族成员,属于肿瘤抑制因子。目前尚无研究探讨 *SRSF10*、*AGO2*、*DYNLL2*、*CAPZB*、*RBM5* 与 *POI* 的关系。

调控网络中的 6 个 miRNA 是 hsa-miR-30b-5p、hsa-miR-377-3p、hsa-29a-3p、hsa-miR-136-5p、hsa-miR-3611、hsa-miR-423-5p。有研究显示,hsa-miR-423-5p 可能通过影响颗粒细胞增殖和雌激素分泌来调节卵巢对排卵诱导的反应^[25]。一项关于多囊卵巢综合征的研究指出,circ-RANBP9 通过介导 miR-136-5p 通路,调节颗粒细胞的增殖与凋亡^[26],说明 miR-423-5p 和 miR-136-5p 可能参与了卵巢功能的调节。其余 4 个 miRNA 与卵巢功能的相关研究和机制尚不清楚。*XIST* 定位于染色体 Xq13.2,在 X 染色体的失活过程中发挥重要作用。X 染色体失活是指两条 X 染色体随机失活,使得 XY 雄性和 XX 雌性间 X 连锁基因计量相等。有报道称,*XIST* 基因启动子区的胞嘧啶-鸟嘌呤(C43G)突变与 X 染色体失活偏斜有关,而 X 染色体失活偏斜与 POI 有关^[27-28]。因此,推测 *XIST* 可能与 POI 相关。国内学者研究发现,*LINC-PINT* 通过调节 miR-374a-5p 抑制卵巢癌细胞的增殖、迁移、侵袭^[29]。*SNHG1* 通过下调 miR454 来增加 ZEB1 的表达,促进上皮间充质转化和卵巢癌细胞的侵袭^[30]。综上所述,本研究共筛选出了 116 个差异 lncRNAs,22 个差异 miRNAs 和 282 个差异 mRNAs,从中进一步筛选出 8 个 hub 基因。凋亡信号通路和 cAMP 信号通路在 POI 的发生、发展中起到一定作用,12 个 lncRNA 通过 6 个 miRNA 参与疾病相关基因的表达和调控。

本研究揭示了 lncRNA 相关的 ceRNA 调控网络在 POI 中的作用机制,有助于进一步了解 POI 的发病机制,并提供潜在的治疗靶点。同时,本研究存在一些局限性。虽然使用了多个数据库提高结果的可靠性,但是研究中使用的数据来自公共数据库,缺少体内外研究对通路和机制进行验证。后续可以使用 Western 印迹、双荧光素酶报告实验等验证 ceRNA 调控网络在 POI 中的作用机制。

参考文献:

- [1] WEBBER L, DAVIES M, ANDERSON R, et al. ESHRE guideline: management of women with premature ovarian insufficiency[J]. Hum Reprod, 2016, 31(5): 926-937.
- [2] LEW R. Natural history of ovarian function including assessment of ovarian reserve and premature ovarian failure[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2019, 55: 2-13.

- [3] DAHARIYA S, PADDIBHATLA I, KUMAR S, et al. Long noncoding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells[J]. *Mol Immunol*, 2019, 112: 82–92.
- [4] WANG X, ZHANG X, DANG Y, et al. Long noncoding RNA HCP5 participates in premature ovarian insufficiency by transcriptionally regulating MSH5 and DNA damage repair via YB1[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(8): 4480–4491.
- [5] LUO C, WEI L, QIAN F, et al. LncRNA HOTAIR regulates autophagy and proliferation mechanisms in premature ovarian insufficiency through the miR-148b-3p/ATG14 axis[J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 44.
- [6] DANG Y, WANG X, HAO Y, et al. MicroRNA-379-5p is associated with biochemical premature ovarian insufficiency through PARP1 and XRCC6[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 106.
- [7] PANKIEWICZ K, LAUDAŃSKI P, ISSAT T. The role of noncoding RNA in the pathophysiology and treatment of premature ovarian insufficiency[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9336.
- [8] BOUCKENHEIMER J, FAUQUE P, LECELLIER CH, et al. Differential long non-coding RNA expression profiles in human oocytes and cumulus cells[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2202.
- [9] GUO Y, SUN J, LAI D. Role of microRNAs in premature ovarian insufficiency[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2017, 15(1): 38.
- [10] WANG F, CHEN X, SUN B, et al. Hypermethylation-mediated downregulation of lncRNA PVT1 promotes granulosa cell apoptosis in premature ovarian insufficiency via interacting with Foxo3a[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(7): 5162–5175.
- [11] ZHAO X, Tang DY, ZUO X, et al. Identification of lncRNA-miRNA-mRNA regulatory network associated with epithelial ovarian cancer cisplatin-resistant[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19886–19894.
- [12] CAPONNETTO A, BATTAGLIA R, FERRARA C, et al. Down-regulation of long non-coding RNAs in reproductive aging and analysis of the lncRNA-miRNA-mRNA networks in human cumulus cells[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2022, 39(4): 919–931.
- [13] HUANG Y, LV Y, QI T, et al. Metabolic profile of women with premature ovarian insufficiency compared with that of age-matched healthy controls[J]. *Maturitas*, 2021, 148: 33–39.
- [14] WANG S, LIN S, ZHU M, et al. Acupuncture reduces apoptosis of granulosa cells in rats with premature ovarian failure via restoring the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6311.
- [15] WANG Z, SHI F. Phosphodiesterase 4 and compartmentalization of cyclicAMP signaling [J]. *Chinese Sci Bull*, 2007, 52: 34–46.
- [16] WU Q, CHEN M, LI Y, et al. Paeoniflorin alleviates cisplatin-induced diminished ovarian reserve by restoring the function of ovarian granulosa cells via activating FSHR/cAMP/PKA/CREB signaling pathway [J]. *Molecules*, 2023, 28(24): 8123.
- [17] ZHAO M, FENG F, CHU C, et al. A novel EIF4ENIF1 mutation associated with a diminished ovarian reserve and premature ovarian insufficiency identified by whole-exome sequencing[J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 119.
- [18] WANG H, ZHANG Y, ZHANG J, et al. circSLC41A1 resists porcine granulosa cell apoptosis and follicular atresia by promoting SRSF1 through miR-9820-5p sponging[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1509.
- [19] WU Y, YU B, WANG M. SENP1 is required for the growth, migration, and survival of human adipose-derived stem cells[J]. *Adipocyte*, 2021, 10(1): 38–47.
- [20] TAN S, FENG B, YIN M, et al. Stromal Senp1 promotes mouse early folliculogenesis by regulating BMP4 expression[J]. *Cell Biosci*, 2017, 7: 36.
- [21] SHKRETA L, TOUTANT J, DURAND M, et al. SRSF10 connects DNA damage to the alternative splicing of transcripts encoding apoptosis, cell-cycle control, and DNA repair factors[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(8): 1990–2003.
- [22] PAPACHRISTOU D J, KORPETINO A, GIANNPOULOU E, et al. Expression of the ribonucleases Drosha, Dicer, and Ago2 in colorectal carcinomas[J]. *Virchows Arch*, 2011, 459(4): 431–440.
- [23] VAKSMAN O, HETLAND T E, TROPE C G, et al. Argonaute, Dicer, and Drosha are up-regulated along tumor progression in serous ovarian carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2012, 43(11): 2062–2069.
- [24] BAGLIO S R, VAN EIJNDHOVEN M A, KOPPERS-LALIC D, et al. Sensing of latent EBV infection through exosomal transfer of 5'pppRNA [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(5): E587–E596.
- [25] XIE S, ZHANG Q, ZHAO J, et al. MiR-423-5p may regulate ovarian response to ovulation induction via CSF1[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2020, 18(1): 26.
- [26] LU X, GAO H, ZHU B, et al. Circular RNA circ_RANBP9 exacerbates polycystic ovary syndrome via microRNA-136-5p/XIAP axis[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 6748–6758.
- [27] PUGACHEVA E M, TIWARI V K, ABDULLAEV Z, et al. Familial cases of point mutations in the XIST promoter reveal a correlation between CTCF binding and pre-emptive choices of X chromosome inactivation[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(7): 953–965.
- [28] SATO K, UEHARA S, HASHIYADA M, et al. Genetic significance of skewed X-chromosome inactivation in premature ovarian failure[J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 130a(3): 240–244.
- [29] HAO T, HUANG S, HAN F. LINC-PINT suppresses tumour cell proliferation, migration and invasion through targeting miR-374a-5p in ovarian cancer[J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38(8): 1089–1099.
- [30] WU Y, ZHU B, YAN Y, et al. Long non-coding RNA SNHG1 stimulates ovarian cancer progression by modulating expression of miR-454 and ZEB1[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(5): 1584–1596.

(2024-03-25 收稿)