

# 基于 RNA-seq 分析人肝癌耐药细胞 BEL-7402/FU 的差异表达基因

周谢海<sup>1</sup>, 张婷<sup>1</sup>, 谢刚<sup>1</sup>, 崔志华<sup>1</sup>, 许杜娟<sup>1,2,3</sup>, 夏泉<sup>2</sup>

**摘要** 目的 分析调控人肝癌耐药细胞 BEL-7402/FU 耐药的关键基因和信号通路,进而探讨引起肝癌多药耐药的可能机制,寻找逆转肝癌多药耐药的潜在靶点。方法 TRIzol 法提取人肝癌细胞 BEL-7402 与耐药细胞 BEL-7402/FU 的总 RNA,采用 RNA-seq 测序技术检测两组细胞的数字基因表达谱并筛选差异表达基因( DEGs),运用生物信息学分析方法对 DEGs 进行生物通路等富集分析。结果 检测到上调的 DEGs 数为 2 899 个,下调的 DEGs 数为 3 313 个;GO 富集及 KEGG 分析发现涉及的主要生物进程为单生物体过程类别、细胞类别、结合分子功能类别,主要的信号通路为代谢通路等;PPI 分析显示,在蛋白互作网络中具有重要作用的基因为 TP53、EGFR、MAPK8、BCL2L1、STAT5A、STAT5B、

ABALON、FYN、CDKN1A、BCL2 等。结论 肝癌耐药过程涉及到多个基因和通路,这些具有差异的基因和通路或将成为逆转肝癌耐药的靶点。

**关键词** 肝癌耐药; RNA-seq 技术; 差异表达基因

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)03-0342-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.03.002

原发性肝癌主要是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC),简称肝癌,是常见的恶性肿瘤之一,临床发病率和死亡率均较高。化疗是中晚期肝癌重要的治疗手段,然而患者往往因为多药耐药的产生而导致化疗失败。肝癌耐药是一个多进程多种因素相互作用的结果,其中包括多药耐药蛋白的高表达<sup>[1]</sup>,凋亡抑制途径异常<sup>[2]</sup>,以及细胞内在信号通路的调节<sup>[3]</sup>等。但迄今为止仍尚未完全阐明肝癌耐药的机制。RNA-seq,即对经 RNA 反转录以及 PCR 扩增得到的 cDNA 进行高通量测序分析,具有数据量大、定量准确、可重复性高、分析可靠等特

2018-09-30 接收

基金项目:安徽省科技攻关计划项目(编号:1401045014)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学药学院,合肥 230032

<sup>2</sup>安徽医科大学第一附属医院药剂科,合肥 230022

<sup>3</sup>国家中医药管理局三级药物化学实验室,合肥 230001

作者简介:周谢海,女,硕士研究生;

许杜娟,女,主任药师,硕士生导师,责任作者,E-mail:

xudujuan6365@163.com

## Effects of TMEFF2 promoter methylation on proliferation, migration, invasion and apoptosis of bladder cancer

Zhang Wentao<sup>1,2</sup>, Zhang Ziwei<sup>2</sup>, Mao Shiyu<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Urology, Shanghai Clinical College of Anhui Medical University, Shanghai 200072;

<sup>2</sup>Dept of Urology, Shanghai Tenth People's Hospital, Shanghai 200072)

**Abstract Objective** To study the expression of transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 2 (TMEFF2) and promoter methylation level in bladder cancer. **Methods** The methylation level of the promoter region of TMEFF2 gene was analyzed by DNA methylation and gene expression in human cancer (MethHC) database. The methylation-specific quantitative PCR was used to detect the difference in methylation expression of TMEFF2 gene in 30 urine samples and the proliferation, migration, invasion and apoptosis of bladder cancer cell lines were analyzed after treated with 5-Aza-dc. At the same time, the TMEFF2 gene was highly expressed by transfecting the plasmid, further verifying its biological role in bladder cancer. **Results** Apoptosis of bladder cancer T24 cells was significantly increased after 5-Aza-dc treatment, while migration and invasion were significantly inhibited. The same result was obtained by highly expressing TMEFF2 by transfection of the plasmid. **Conclusion** TMEFF2 gene promoter methylation may be a potential biomarker of bladder cancer, which may play an important role in the development of bladder cancer.

**Key words** bladder cancer; TMEFF2; methylation

点<sup>[4]</sup> 近些年来已广泛运用于生命科学领域。该研究基于 RNA-seq 技术, 筛选出肝癌耐药细胞与亲本细胞的差异表达基因( differentially expressed genes, DEGs), 以期探讨与肝癌耐药相关的基因及信号传导通路。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人肝癌细胞株 BEL-7402 购自中科院上海细胞库, 人肝癌耐药细胞株 BEL-7402/FU 购自南京凯基生物有限公司, 由本实验室液氮冻存保种; 5-氟尿嘧啶( 5-FU) 购自美国 Sigma 公司( 货号: V900394); TRIzol Reagent 购自美国 Invitrogen 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 使用含 10% 胎牛血清、双抗( 青霉素 100 IU/ml、链霉素 100 mg/L) 的 RPMI-1640 培养基进行培养。置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中贴壁培养。细胞在对数生长期时用胰酶消化传代。肝癌耐药细胞株 BEL-7402/FU 每 48 h 使用含有 20 mg/L 5-FU 的培养基刺激, 以维持细胞的耐药性。为了避免 5-FU 的影响, 在样本处理前将 BEL-7402/FU 细胞在正常培养基中培养 48 h 后再进行取样。

**1.2.2 Total RNA 提取与鉴定** 使用 TRIzol 试剂分别提取两组细胞的总 RNA, 每组细胞重复 3 个生物学样品, 使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测总 RNA 的浓度、RIN 值、28S/18S 和片段大小。

**1.2.3 转录组测序及 DEGs 筛选** 将提取的 RNA 样品送至华大基因进行转录组文库构建, 并通过 BGISEQ-500 平台进行测序。运用 DESeq2 和 Pos-sionDis 算法进行 DEGs 检测, DESeq2 方法根据差异倍数在两倍及以上且校正后的  $P$  值  $\leq 0.05$  来筛选 DEGs。PosionDis 方法计算得到差异基因后, 对差异检验的  $P$  值作多重假设检验校正, 并通过控制错误发现率( false discovery rate, FDR) 决定  $P$  值的域值。本研究中, DEGs 默认定义为  $FDR \leq 0.001$  且倍数差异在 2 倍以上的基因。

**1.2.4 DEGs 分析** 根据 GO 富集、KEGG 注释结果以及官方分类, 将 DEGs 进行功能分类、生物通路等分类, 同时使用 R 软件中的 Phyper 函数进行富集分析。使用 DIAMOND 软件将 DEGs 比对至 STRING 数据库, 利用与已知蛋白的同源性获得 DEGs 编码蛋白间的互作关系, 即蛋白互作网络( protein protein interaction network, PPI) 分析。取得分最高的前 1 000 个关系画示例图。

**1.3 统计学处理** 本项目使用 R 软件里的 Cor 函数对每两个样品之间进行 Pearson 相关性分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。样品基因表达量服从泊松分布, 本项目  $P$  值采用 Wald test 方法计算并通过多重假设检验校正得出,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 转录组测序结果分析** 本项目使用 BGISEQ-500 平台一共测了两组细胞的样品, 每组重复 3 个样品。样品比对基因组的平均比率为 81.25%, 比对基因集的平均比率为 69.47%; 共检测到基因数为 17 738 个, 其中已知的基因为 16 897 个, 预测的新基因为 928 个; 共检测出 12 995 个新转录本, 其中 11 390 个属于已知蛋白编码基因的新的可变剪接亚型, 928 个属于新的蛋白编码基因的转录本, 剩下的 677 个属于长链非编码 RNA。

为了反映样本间基因表达的相关性, 本研究计算了每两个样品之间所有基因表达量的 Pearson 相关系数, 并将这些系数以热图的形式反映出来, 图中颜色越深代表相关性越高, 颜色越浅代表相关性越低, 见图 1。

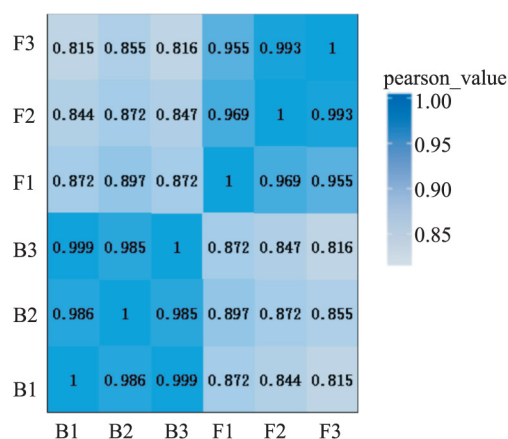


图1 样品间相关性分析热图

X、Y 轴均代表每个样品; 颜色代表相关性系数

**2.2 DEGs 表达水平分析** 根据各个样品基因表达水平不同, 筛选出样品组之间的 DEGs。统计结果显示, 共筛选出样品组之间的 DEGs 数为 6 212 个, 其中上调数为 2 899 个, 下调数为 3 313 个, 使用 MA plot 图展示 DEGs 的分布, 见图 2。为了筛选表达差异最为显著的基因, 项目对表达量上、下调 10 倍以上的基因进行分析。结果显示, 上、下调 10 倍以上的 DEGs 共有 83 个, 其中 72 个属于已知基因, 11 个

表 1 BEL7402 和 BEL7402/FU 细胞的部分 DEGs 表达

基因 ID	基因名称	BEL-7402 表达量	BEL-7402/FU 表达量	log <sub>2</sub> FoldChange	上/下调	P 值
8618	CADPS	0.33	1641.07	12.28	上	1.15E-19
84433	CARD11	0.33	1573.60	12.24	上	1.56E-19
118429	ANTXR2	0.32	1386.57	12.07	上	8.17E-19
1015	CDH17	1.03	4305.74	12.03	上	4.20E-48
51361	HOOK1	0.31	1150.70	11.84	上	6.13E-18
8507	ENC1	3.85	12005.03	11.61	上	5.02E-147
83998	REG4	3.14	8521.39	11.41	上	6.49E-117
5646	PRSS3	0.66	1759.63	11.39	上	1.31E-29
54658	UGT1A1	2.08	5573.29	11.39	上	5.47E-80
11226	GALNT6	0.66	1742.22	11.37	上	1.95E-29
11096	ADAMTS5	352.60	0.25	-10.46	下	4.04E-13
BGL_novel_G000724	NA	381.31	0.25	-10.57	下	1.72E-13
2304	FOXE1	443.48	0.25	-10.77	下	3.90E-14
489	ATP2A3	479.42	0.27	-10.81	下	4.30E-14
339263	C17orf51	2481.14	1.21	-11.01	下	1.41E-51
440119	FZD10-AS1	601.00	0.27	-11.14	下	2.37E-15
BGL_novel_G000742	NA	737.67	0.31	-11.23	下	6.00E-15
BGL_novel_G000741	NA	1012.61	0.28	-11.81	下	9.43E-18
BGL_novel_G000607	NA	1290.83	0.29	-12.13	下	4.38E-19
BGL_novel_G000760	NA	1474.84	0.29	-12.31	下	7.89E-20

log<sub>2</sub>FoldChange 指经过 log<sub>2</sub> 转换后的 BEL7402 和 BEL7402/FU 细胞样品组之间的差异表达倍数; NA 指检测到的新基因

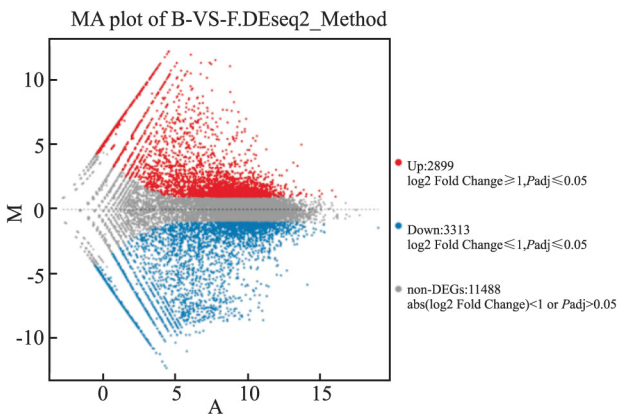


图 2 DEGs 的 MA-plot 分布图

X 轴代表 A 值 (log<sub>2</sub> 转换后的平均表达水平), Y 轴代表 M 值 (log<sub>2</sub> 转换后的差异倍数); 红色: 上调的 DEGs; 蓝色: 下调的 DEGs; 灰色代表非 DEGs。

为预测的新基因。本次选择上、下调的前 10 名分别列表展示, 见表 1。

**2.3 DEGs 的 GO 富集分析** 根据 DEGs 检测的结果, 本项目利用 GO 富集分析对转录组数据进行功能注释。GO 分析结果表明, 分别有 4 138 条注释到生物学进程 (biological process, P), 有 4 743 条注释到细胞组分 (cellular component, C), 有 4 465 条基因注释到分子功能 (molecular function, F)。之后又将其细分为 62 个小类。在 P 分类中, 70.5% 的 DEGs 可被富集到单生物体过程类别 (single-organism process) 条目中, 富集的基因数最多, 其次为单生物

细胞过程类别 (single-organism cellular process) 约占 61.3%。在 C 分类中, 分别有约 82.5% 的 DEGs 可被富集到细胞类别 (cell) 和细胞部分类别 (cell part) 条目, 约 75.5% 的 DEGs 可富集到细胞内类别条目 (intracellular)。在 F 分类中, 结合分子功能类别 (binding) 条目所占比例最多 (84.3%), 其次为蛋白结合类别 (protein binding) 条目, 约占 42.9%。

**2.4 DEGs 的 KEGG 生物通路富集分析** KEGG 分析表明, 共有 5 718 条 DEGs 涉及共 312 个通路 (pathways), 主要涉及的通路见图 3, 其中代谢通路 (metabolic pathways) 富集的基因数目最多, 约占 DEGs 总数的 10.84%; 其次为肿瘤中的蛋白聚糖通路 (proteoglycans in cancer) 以及人类嗜 T 细胞病毒感染通路 (HTLV-I infection)。

与此同时, 通过对上、下调 10 倍以上的基因进一步进行富集分析发现, 筛选出的 83 条 DEGs 中, 共有 57 条可被富集到 KEGG 通路中, 其中有 11 条基因涉及代谢通路, 约占 19.30%; 5 条涉及丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路, 约占 8.77%; 其余的主要涉及 RNA 降解 (RNA degradation), 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway) 等。接下来, 对代谢通路中上、下调 10 倍以上的基因进行汇总, 上调的基因有 UGT1A1、GALNT6、CDS1、MOCS1、HSD3B1、UGT8、DGKG、B3GALNT1、

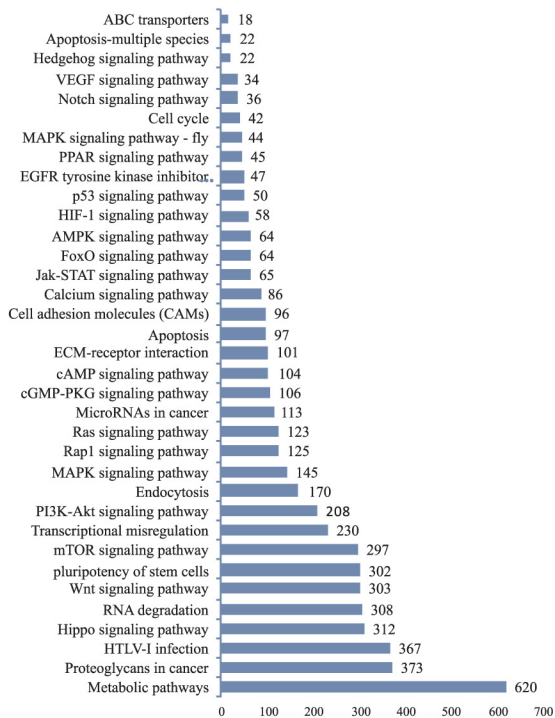


图3 差异表达基因的 Pathway 显著性富集分析

X 轴表示对应 Pathway 条目基因数目, Y 轴表示 Pathway 条目名称

TFF1, 下调的基因为 GALNT3、LINC00689。

**2.5 DEGs 编码蛋白质之间的 PPI 分析** 蛋白之间通常通过相互作用结合成复合物之后行使相应的功能, 具有相互作用的 DEGs 通常具有相似的功能。根据 STRING 蛋白互作数据库, 对每组 DEGs 进行

PPI 分析。采用可信度最高的前 1000 个互作关系做图, 结果见图 4。如图所示, 与各蛋白联系最密切的为 TP53 和表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR), 蛋白质相互作用主要集中在 CDKN1A、BCL2、ABALON、BCL2L1、MAPK8、FYN、ESR1、STAT5B 及 STAT5A 等基因之间。以上基因平均涉及到 23 条信号通路, 基因的表达情况见表 2。

### 3 讨论

本项目运用 RNA-seq 技术, 从整体水平研究肝癌亲本细胞 BEL-7402 与耐药细胞 BEL-7402/FU 的基因转录水平, 筛选出 DEGs 并通过生物信息学分析寻找与肝癌耐药关系密切的基因和通路。研究显示, BEL-7402 和 BEL-7402/FU 细胞之间存在着多个 DEGs 的上调和下调, 涉及到多种细胞信号通路和生物学过程。

GO 富集分析发现, 两组细胞在各分类中均富集了大量的 DEGs, 说明肝癌耐药的过程不是单一因素引发的, 而是多条途径相互作用的结果。例如在 P 分类中, Single-organism process 和 Single-organism cellular process 显著富集, 它们是最基础的生命活动类别; 在 C 分类中, Cell 占比最多, 说明细胞适应化疗药物的过程是整体的和全局性的; 在 F 分类中, Binding 和 Protein binding 富集最为显著, 说明肝癌

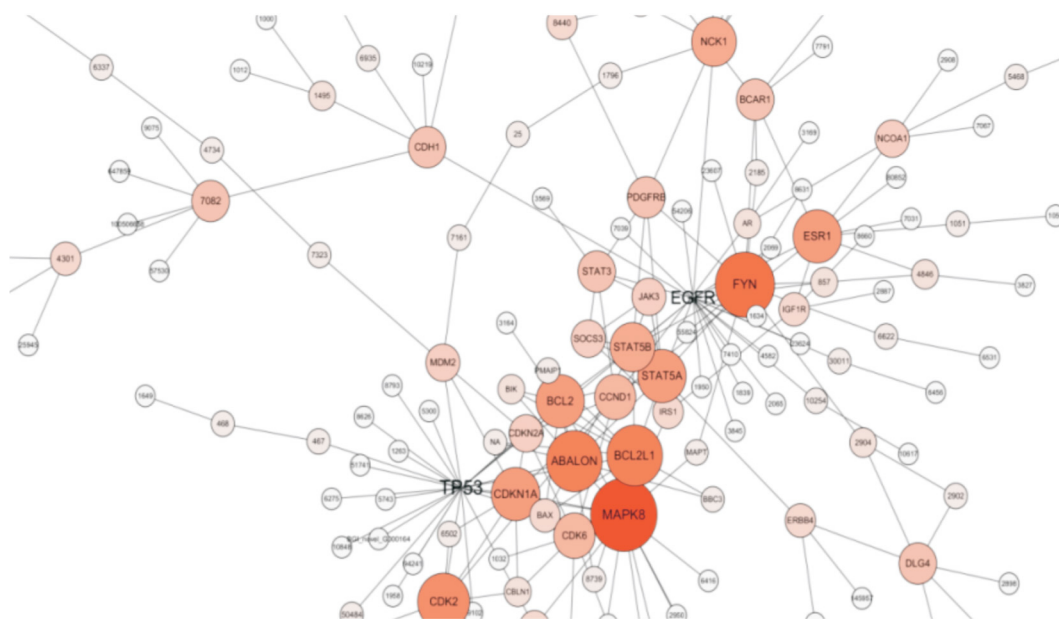


图4 差异表达基因的蛋白互作关系网络图

圈的大小表示关系密集程度, 颜色深浅表示基因在网络中的重要程度

表2 PPI 分析中主要 DEGs 的表达

基因 ID	基因名称	BEL7402 表达量	BEL-7402/FU 表达量	log <sub>2</sub> FoldChange	上/下调	P 值
1026	CDKN1A	488.47	12 447.50	4.67	上	2.90E-14
596	BCL2	50.54	240.74	2.25	上	3.50E-22
103021294	ABALON	121.51	476.72	1.97	上	9.39E-14
598	BCL2L1	3 311.10	10 941.21	1.72	上	1.54E-48
5599	MAPK8	663.08	1 408.63	1.09	上	3.73E-12
7157	TP53	3 816.67	1 297.16	-1.56	下	8.86E-43
1956	EGFR	13 821.37	4 667.93	-1.57	下	9.69E-07
2534	FYN	802.37	149.45	-2.42	下	9.03E-35
2099	ESR1	12.21	2.03	-2.59	下	4.79E-3
6777	STAT5B	7 078.95	737.32	-3.26	下	6.30E-108
6776	STAT5A	2 690.67	9.76	-8.11	下	2.87E-10

耐药涉及到细胞中各种蛋白和分子的结合作用。

KEGG 分析结果显示,代谢通路富集的基因数目最多,并且在上调、下调 10 倍的 DEGs 中,富集到代谢通路的基因占比最大,多数基因涉及到肿瘤能量代谢和糖蛋白的合成。肿瘤在适应化疗和放疗带来的损伤时,需要通过适应环境并开启防御机制,其中包括药物的外排、抵抗凋亡、DNA 的损伤修复以及信号通路的激活等,这些生物过程都需要足量的能量供给。早在 20 世纪初,科学家就发现肿瘤细胞具有高水平的糖酵解作用,并通过代谢重组维持细胞内的 ATP 和 NADH 水平的正常,以满足细胞生存和大分子合成的需要<sup>[5]</sup>。本课题组前期研究<sup>[6]</sup>发现,在肿瘤酸性微环境中,ASIC1a 通过调控 Ca<sup>2+</sup>/PI3K/AKT 信号通路诱导人肝癌耐药。肿瘤酸性微环境的产生原因之一正是肿瘤缺氧、肿瘤细胞高水平的糖酵解的发生<sup>[7]</sup>,此外,Zhou et al<sup>[8]</sup>研究也发现,结直肠癌细胞 ATP 损耗可以提高化疗药物的敏感性。因此,有理由认为肿瘤代谢通路与肝癌耐药关系密切。

在代谢通路中,尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1(Uridine diphosphoglucuronosyl transferase 1A1, UGT1A1)表达差异显著。UGT1A1 是参与胆红素代谢的一种酶,也是伊立替康代谢的关键酶,与结直肠癌耐药有关<sup>[9]</sup>,并且特异性沉默 UGT1A1 基因可显著提高伊立替康对结直肠癌细胞的化疗敏感性<sup>[10]</sup>,但 UGT1A1 与肝癌耐药的研究却鲜有报道。肿瘤耐药的机制之一为肿瘤细胞对化疗药物的代谢增强,因此,在 BEL-7402/FU 细胞中,可能存在由于 UGT1A1 的过度表达而提高了对 5-FU 的代谢,从而导致肝癌耐药的产生。本次研究中还发现 GALNT6、B3GALNT1、GALNT3 参与到 O-糖基化过程,与细胞膜上的糖蛋白合成和癌症进展息息相关<sup>[11]</sup>。以上 DEGs 可能在肝癌耐药细胞的代谢调

节中起到不可或缺的作用,它们均有可能是调控肝癌耐药的潜在基因。

PPI 分析显示,蛋白质相互作用主要集中在 CDKN1A、BCL2、ABALON 等基因之间,与各蛋白联系最密切的为 TP53 和 EGFR 基因。以上基因平均可富集到 23 条信号通路,它们多数参与了细胞周期、凋亡以及增殖等信号通路的调节,在肿瘤耐药的调节中起到了关键作用。TP53 是重要的抑癌基因之一,主要通过转录合成细胞周期相关蛋白进而调控细胞增殖和凋亡,TP53 的突变与化疗耐药有关<sup>[12]</sup>。本研究发现 TP53 表达轻度下调(-1.56 倍),但其位点是否存在突变仍需要进一步的检测。EGFR 是表皮生长因子受体(HER)家族成员之一,在大部分肝癌患者标本中呈高表达<sup>[13]</sup>,目前认为,EGFR 主要通过调控激活 RAS/MAPK 信号通路诱导原癌基因的表达促进肝癌的发展<sup>[14]</sup>。本次检测发现 EGFR 在肝癌亲本细胞中呈现高表达,而在耐药细胞中表达轻度下调(-1.57 倍),考虑到 EGFR 的调节需要磷酸化后发挥功能,因此仅仅只观察受体表达水平并不能代表功能的变化,仍须进一步检验其磷酸化水平。

本项研究共检测了 17 738 个基因,测序范围广,并且在本次测序中发现了 928 个属于新的蛋白编码基因的转录本。这些新基因的发现,为以往测序的结果做了补充,在这些基因中有可能存在尚未被发现的引起肝癌耐药的潜在位点。

综上所述,本研究筛选出代谢通路为肝癌耐药最为密切的通路,其中 UGT1A1、GALNT6、B3GALNT1 和 GALNT3 在代谢通路中高表达,可能是与肝癌耐药最为密切的基因,而 TP53 和 EGFR 等基因可能是蛋白调控网络中最为关键的基因。这些 DEGs 的筛选为解决肝癌耐药问题提供了新思路,课题组后期将针对 DEGs 的筛选结果进行验证,以



期进一步探讨肝癌耐药的机制。

### 参考文献

- [1] Ceballos M P , Decndido G , Quiroga A D , et al. Inhibition of sirtuins 1 and 2 impairs cell survival and migration and modulates the expression of P-glycoprotein and MRP3 in hepatocellular carcinoma cell lines [J]. *Toxicol Lett* ,2018 ,289: 63 – 74.
- [2] Li J , Duan B , Guo Y , et al. Baicalein sensitizes hepatocellular carcinoma cells to 5-FU and Epirubicin by activating apoptosis and ameliorating P-glycoprotein activity [J]. *Biomed Pharmacother* , 2018 ,98: 806 – 12.
- [3] Wang W , Xu B , Li Q , et al. Anti-cancer effects of a novel Pan-RAF inhibitor in a hepatocellular carcinoma cell line [J]. *Mol Med Rep* 2018 ,17(4) : 6185 – 93.
- [4] Van De Wiel M A , Leday G G , Pardo L , et al. Bayesian analysis of RNA sequencing data by estimating multiple shrinkage priors [J]. *Biostatistics* ,2013 ,14(1) : 113 – 28.
- [5] Oronsky B T , Oronsky N , Fanger G R , et al. Follow the ATP: tumor energy production: a perspective [J]. *Anti-Cancer Agent Me* 2014 ,14(9) : 1187 – 98.
- [6] Zhang Y , Zhang T , Wu C , et al. ASIC1a mediates the drug resistance of human hepatocellular carcinoma *via* the Ca/P13-kinase/AKT signaling pathway [J]. *Lab Invest* 2017 ,97(1) : 53 – 69.
- [7] Lee N. Cancer metabolism: fueling more than just growth [J]. *Mol Cells* 2016 ,39(12) : 847 – 54.
- [8] Zhou Y , Tozzi F , Chen J , et al. Intracellular ATP levels are a pivotal determinant of chemoresistance in colon cancer cells [J]. *Cancer Res* 2012 ,72(1) : 304 – 14.
- [9] Landmann H , Proia D A , He S , et al. UDP glucuronosyltransferase 1A expression levels determine the response of colorectal cancer cells to the heat shock protein 90 inhibitor ganetespib [J]. *Cell Death Dis* ,2014 ,5: e1411.
- [10] Xie F W , Peng Y H , Wang W W , et al. Influence of UGT1A1 gene methylation level in colorectal cancer cells on the sensitivity of the chemotherapy drug CPT-11 [J]. *Biomed Pharmacother* , 2014 ,68(7) : 825 – 31.
- [11] Sheta R , Bachvarova M , Plante M , et al. Altered expression of different GalNAc-transferases is associated with disease progression and poor prognosis in women with high-grade serous ovarian cancer [J]. *Int J Oncol* 2017 ,51(6) : 1887 – 97.
- [12] Li S , Gao M , Li Z , et al. p53 and P-glycoprotein influence chemoresistance in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Biosci (Elite Ed)* 2018 ,10: 461 – 8.
- [13] Lanaya H , Natarajan A , Komposch K , et al. EGFR has a tumour-promoting role in liver macrophages during hepatocellular carcinoma formation [J]. *Nat Cell Biol* ,2014 ,16(10) : 972 – 81.
- [14] Hwang S G , Kim K H , Lee B M. Transcriptome analysis for identifying possible gene regulations during maize root emergence and formation at the initial growth stage [J]. *Genes Genom* ,2018 ,40(7) : 755 – 66.

## Analysis of differentially expressed genes of chemo-resistant BEL-7402/FU cells in human hepatocellular carcinoma

Zhou Xiehai , Zhang Ting , Xie Gang , et al

( College of Pharmacy , Anhui Medical University , Hefei 230032)

**Abstract Objective** To analyze the key genes and signaling pathways that regulate the chemo-resistance BEL-7402/FU cells , and then explore the possible mechanism and find potential targets for reversing multi-drug resistance in human hepatocellular carcinoma ( HCC ) . **Methods** The total RNA of BEL-7402 cells and chemo-resistant BEL-7402/FU cells was extracted by Trizol reagent. The digital gene expression profile of the two groups of cells was detected by RNA-seq sequencing technology and differentially expressed genes ( DEGs ) were screened. The analytical method was used to analyze the enrichment of biological pathways in DEGs. **Results** The number of DEGs was up-regulated by 2 899 and the number of down-regulated genes was 3 313. The GO enrichment and KEGG analysis found that the main biological processes involved were single organism process categories , cell types , and molecular functional classes. The main signaling pathway was metabolic pathway , etc. PPI analysis showed that the key genes were TP53 , EGFR , MAPK8 , BCL2L1 , STAT5A , STAT5B , ABALON , FYN , CDKN1A and BCL2 , etc. **Conclusion** Multiple genes and signaling pathways could be involved in the process of chemo-resistance in HCCs. These differentially expressed genes and pathways may become targets for reversing drug resistance in HCC.

**Key words** multi-drug resistance of hepatocellular carcinoma; RNA-seq technology; differentially expressed genes