

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.18.012

长链非编码 RNA LOC100288637 在原发性肝癌中差异性表达的生物学意义及相关机制研究*

王宇洲,许建华,常伟华,付航玮,皮儒先,陈健,陈平[△]
(第三军医大学大坪医院野战外科研究所,重庆 400042)

[摘要] 目的 研究长链非编码 RNA(LncRNA) LOC100288637 在肝癌中的表达差异,对肝癌细胞增殖的影响及相关机制。方法 分析 GEO 数据集 GSE58043 和 GSE10694,得出 LOC100288637 及 hsa-miR-101-3p 在肝癌组织中差异表达, RNA-hybrid 分析 LOC100288637 与 hsa-miR-101-3p 的结合具有可能性。逆转录-聚合酶链式反应在组织和细胞水平检测 LOC100288637 表达量。荧光原位杂交观察 LOC100288637 在细胞中的定位。敲低 LOC100288637 后 CCK-8 检测细胞增殖情况。过表达 hsa-miR-101-3p 后,检测 LOC100288637 的变化。**结果** LOC100288637 在肝癌组织中的表达量高于癌旁组织 ($P < 0.05$); LOC100288637 在肝癌细胞系中的表达量高于肝细胞系 ($P < 0.05$)。LOC100288637 在 HepG2 细胞核质均有表达,以细胞质居多。敲低 LOC100288637 后 HepG2 细胞增殖活性降低 ($P < 0.01$)。过表达 hsa-miR-101-3p 后,LOC100288637 表达量下降 ($P < 0.05$)。**结论** LncRNA LOC100288637 可能在肝癌发生、发展过程中起重要作用并接受 hsa-miR-101-3p 靶向调控影响肝癌细胞的增殖。

[关键词] 肝肿瘤;增殖;LOC100288637;101-3p

[中图分类号] R394.2;R73-35;R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)18-2198-04

Research on the biological significance of the LncRNA LOC100288637 expression differences in primary hepatic carcinoma and the related mechanism*

Wang Yuzhou, Xu Jianhua, Chang Weihua, Fu Hangwei, Pi Ruxian, Chen Jian, Chen Ping[△]
(Field Surgery Research Institute, the Affiliated Daping Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression differences of long noncoding RNA(LncRNA) LOC100288637 in liver cancer, the effect of LOC100288637 on liver cancer cell proliferation and the relevant mechanisms. **Methods** Based on the analysis of the GEO database data sets GSE58043 and GSE10694, we found that both LOC100288637 and hsa-miR-101-3p has obvious expression differences in liver cancer tissues. RNA hybrid revealed the possibility of combination between LOC100288637 and hsa-miR-101-3p; RT-PCR was performed to measure the expression level of LOC100288637 in tissues and cells; fluorescence in situ hybridization was used to observe LOC100288637 localization in cells; cell proliferation was determined by CCK8 experiment after LOC100288637 siRNA knock down. The expression of LOC100288637 in cells were measured after treated with hsa-miR-101-3p mimics. **Results** Relative quantitative expression of LOC100288637 in liver cancer tissues group was significantly higher than that in no tumor tissues group ($P < 0.05$); relative quantitative expression of LOC100288637 in liver cancer cell lines were significantly higher than that in normal liver cell line ($P < 0.05$). LOC100288637 was located in both cytoplasm and nucleus of HepG2 cells, and mainly in cytoplasm. Cell proliferation vitality of HepG2 reduced after treated with LOC100288637-siRNA ($P < 0.01$). Relative quantitative expression of LOC100288637 in HepG2 reduced after treated with hsa-miR-101-3p mimics ($P < 0.05$). **Conclusion** LncRNA LOC100288637 may play an important role in liver cancer development, it can be down regulated by hsa-miR-101-3p and affect the proliferation of liver cancer cells.

[Key words] liver neoplasms; proliferation; LOC100288637; miRNA-101-3p

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC),是常见的恶性肿瘤,具有较高的病死率,预后较差^[1-2]。目前,手术治疗及化学治疗仍为肝癌治疗的主要手段,而肝癌患者的预后很大程度上取决于诊断、治疗的时期及个体差异^[3-4]。非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA) 根据其长度,可分为长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA) 及非编码微小 RNA (microRNA, miRNA) 等^[5]。在人类 LncRNA 占据非编码 RNA 的大多数,目前的研究表明它可以在不同水平调控细胞活动,既可以在转录水平调节基因的转录,也可以在转录后对蛋白质的修饰等进行调控,它可以促进或抑制基因的转录,也可以调节相应蛋白质的功能^[6-10]。已有研究表明,LncRNA 的失调与肝

癌,以及其他肿瘤的发生、发展有密切关系。例如 NEAT1 在肝癌组织中高表达,并且 NEAT1 对临幊上肝癌的发生、发展有促进作用,包括癌结节的数目、肝癌的 TNM 分级、肝癌的转移以及门静脉癌栓的形成^[11]; BRAF-activated non-coding RNA (BANCR) 能够对胃癌的发生、发展起到促进的作用等^[12]。到目前为止,仍有大量未经研究的 LncRNA 可能与原发性肝细胞肝癌的发生、发展有密切关系。因此,为了更加深入地发掘肝癌发生发展的分子机制,针对与肝癌有关的 LncRNA 的研究具有重要意义。本研究通过对美国国立生物技术信息中心 (NCBI) GEO 数据库的数据集 GSE58043、GSE10694 进行分析,明确 LncRNA LOC100288637, miRNA

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81270523)。作者简介:王宇洲(1989—),医师,硕士,主要从事肝癌及肝再生方面研究。

△ 通讯作者, Tel: 13708349071; E-mail: chenping@263.net。

101-3p 在肝癌组织和癌旁组织中存在差异性表达,通过 RNA-hybrid 进行生物信息学分析得出 LOC100288637 与 hsa-miR-101-3p 的结合具有可能性^[13],并在组织学及细胞学水平明确 LOC100288637 在肝癌发生、发展中的意义,以及受到 hsa-miR-101-3p 的靶向调控。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 2015 年 3 月至 2015 年 6 月,本院行手术切除并经病理确诊的 10 例原发性肝癌的肝癌组织及配对癌旁组织样本,所有病例术前均未行化疗、放疗及免疫治疗,癌旁组织取自上述癌组织切缘 3 cm 之外,样本获取后立即将样本浸入 RNAlater 并保存于 -80 ℃ 冰箱中。人类肝癌细胞系(HepG2、Huh7、PLC/PRF/5、SMMC-7721、Bel-7704)和人类正常肝细胞系(LO₂)均保存于本科,该原始细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库。主要试剂及材料:培养基、血清、胰酶、青霉素及链霉素均购自重庆卡尔波生物技术有限公司;引物为上海生物工程有限公司合成;转染试剂脂质体 2000 及 Trizol 试剂购自 Invitrogen(美国)公司;cDNA 第一联合成试剂盒及实时荧光定量 PCR(RT-PCR)试剂盒购自赛默飞世尔科技公司;siRNA、mimics、Exiqon miRCURY LNA LncRNA 原位杂交探针、缓冲液等购自苏州瑞博生物技术有限公司;Cell Counting Kit(CCK-8)试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,其他试剂均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 于 NCBI 的 GEO 数据库获得数据集 GSE58043(含 7 对肝癌及癌旁组织的部分 LncRNA 芯片)和数据集 GSE10694(含 78 对肝癌及癌旁组织,以及 10 例正常肝组织的部分 miRNA 芯片),使用 R 语言进行基因差异性分析。使用 RNA-hybrid 预测 LOC100288637 与 hsa-miR-101-3p 的相互作用位点。

1.2.2 细胞培养 向 75 cm² 培养瓶中加入 DMEM 高糖培养基、胎牛血清(占总培养基 10%)、50 U/mL 青霉素和 50 U/mL 链霉素,分别接种 HepG2、Huh7、PLC/PRF/5、SMMC-7721、Bel-7704 及 LO₂ 细胞,于恒温培养箱中培养(37 ℃、5% CO₂)。

1.2.3 总 RNA 抽提、逆转录及 RT-PCR 反应 用 Trizol 试剂提取细胞及组织总 RNA(方法按说明书步骤),紫外分光光度计测定其纯度及浓度。根据 Themo 说明逆转录合成 cDNA 的第一链。以合成的 cDNA 为模板,扩增 LOC100288637 和 GAPDH 基因。LOC100288637 引物序列:上游引物为 5'-TCC TTT CCC CGC TGT TCT AAT TG-3',下游引物为 5'-TGA GAC CAC AGC GCC TGA GAA C-3';GAPDH 作为内参,其上游引物为 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3',下游引物为 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'。RT-PCR 反应体系为 20 μL,反应条件 94 ℃ 预变性 2 min,94 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 60 s,72 ℃ 延伸 15 s,共 45 个循环。以 LOC100288637 产物的荧光强度比上 GAPDH 扩增产物的荧光强度的相对量代表 LOC100288637 的相对表达情况。每个实验重复 3 次。以水为模板扩增的反应作为 PCR 扩增的阴性对照。

1.2.4 荧光原位杂交(FISH) 取生长状态良好并处在对数生长期的 HepG2 细胞,于 24 孔培养板中置入 10 mm×10 mm 玻片,按照每孔 5×10³ 细胞密度接种于 24 空板中,24 h 后去除上清,4% 多聚甲醛固定后,0.1% Triton X-100 通透,预杂交液 37 ℃ 预杂交,LOC100288637 探针 42 ℃ 杂交 16~20 h。然后用 2×SSC 冲洗,滴加 DAPI 于切片杂交区域,10 min,PBS 清洗后在荧光显微镜下观察。

1.2.5 siRNA-LOC100288637 干扰实验 取生长状态良好并处在对数生长期的 HepG2 细胞,按照每孔 5×10³ 细胞密度接种于 6 孔板中,培养 24 h。将 HepG2 细胞分为 2 组,即对照组及 siRNA-LOC100288637 干扰组,待细胞贴壁后,按脂质体 2000 的说明书操作,混匀脂质体 2000 和 LOC100288637 的 siRNA,室温放置 20 min 后,将其滴入培养有 HepG2 的培养板中,混匀培养,对照组将脂质体 2000 空载体滴入培养有 HepG2 的培养板中。培养 4~6 h 后换为含血清的培养基。48 h 后 RT-PCR 检测 siRNA 的干扰效率。LOC100288637 的 siRNA 序列为序列 1:正义链 5'-CCA CUA GUA UAC UAU UAA AUU-3',反义链 5'-UUU AAU AGU AUA CUA GUG GGG-3';序列 2:正义链 5'-GGA CGU AUA UGC UGU GUA AAG-3',反义链 5'-UUA CAC AGC AUA UAC GUC CCU-3';序列 3:正义链 5'-GGU CAC UAU AAC AAA UAU AAU-3',反义链 5'-UAU AUU UGU UAU AGU GAC CUG-3'。

1.2.6 CCK8 细胞增殖实验 调整 HepG2 细胞密度接种于 96 孔板,每孔种约 3×10³ 个细胞,设对照组和实验组,每组设 6 个复孔,置于细胞培养箱中培养,24 h 后转染。对照组加入脂质体 2000 空载体,实验组转染 LOC100288637 的 siRNA。分别于转染 12、24 h 后从培养箱取出加入 CCK8 试剂,每孔 100 μL 培养液中加入 10 μL CCK8 试剂,置于细胞培养箱中培养 1 h 后取出,使用酶标仪测定 450 nm 处各孔吸光度(A)值,以反映细胞数目。

1.2.7 has-miR-101-3p 模拟物转染 取生长状态良好并处在对数生长期的 HepG2 细胞,按 2×10⁴ 细胞密度接种于 6 孔板中,培养 24 h,将 HepG2 细胞分为 2 组,即对照组和 has-miR-101-3p 模拟物组,待细胞贴壁后,按脂质体 2000 的说明书操作,混匀脂质体 2000 和 has-miR-101-3p 模拟物,室温放置 20 min 后,将其滴入培养有 HepG2 的培养皿中,混匀培养,对照组将脂质体 2000 空载体滴入培养有 HepG2 的培养皿中。培养 4~6 h 后换为含血清的培养基。24 h 后 RT-PCR 检测 LOC100288637 的表达量。has-miR-101-3p 模拟物序列为:正义链 5'-UAC AGU ACU GUG AUA ACU GAA-3',反义链 5'-CAG UUA UCA CAG UAC UGU AUU-3'。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组正态分布数据用 t 检验,多组数据选用单因素方差分析(ANOVA)进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。所有的图片制作均使用 Prism Graphpad 5.1。

2 结 果

2.1 生物信息学分析结果 本研究表明,LOC100288637,has-miR-101-3p 在肝癌组织及配对癌旁组织中存在差异性表达,且两者有相互作用位点。对 GEO 数据库的数据集 GSE58043、GSE10694 进行分析,7 对肝癌组织及癌旁组织的差异基因表达分析,LOC100288627 在肝癌组织中呈高表达,在癌旁组织中低表达。78 对肝癌组织及癌旁组织的差异基因表达分析显示,has-miR-101-3p 在肝癌组织中呈低表达,在癌旁组织中高表达。通过 RNA-hybrid 进行生物信息学分析得出 LOC100288637 与 hsa-miR-101-3p 的结合具有可能性,且明确了两者的结合空间结构及结合位点。

2.2 LOC100288637 在肝癌组织及肝癌细胞系中高表达 运用逆转录 PCR 检测手术切除的 10 例肝癌组织和配对癌旁组织,以及 5 种肝癌细胞株和一种正常肝细胞株中 LOC100288637 的表达量(图 1),LOC100288637 在临床患者的肝癌组织和癌旁组织中的相对表达量分别为 1.80±1.35、0.53±0.34,LOC100288637 在临床患者的肝癌组织中的表达

量高于癌旁组织中表达量,两组比较差异有统计学意义($t=22.94, P<0.05$);LOC100288637在肝癌细胞系(HepG2、HuH7、PLC/PRF/5、SMMC-7721、Bel-7704)中的相对表达量分别为 0.88 ± 0.05 、 1.34 ± 0.17 、 0.85 ± 0.07 、 1.00 ± 0.17 、 0.58 ± 0.04 ,在正常肝细胞系(LO₂)中的相对表达量为 0.10 ± 0.01 ,LOC100288637在5组肝癌细胞系中的表达量均明显高于在肝细胞系LO₂中的表达量,5组肝癌细胞系分别与LO₂细胞系比较,差异有统计学意义($t=24.47, 12.56, 18.41, 9.08, 18.38, P<0.05$),见图1。

2.3 FISH检测结果 FISH证实LOC100288637在胞质及胞核中均有分布,以胞质中的分布居多。使用LOC100288637探针对HepG2细胞株进行原位杂交,滴加荧光染料后,荧光显微镜下观察,见图2。

2.4 向HepG2细胞转染siRNA能有效干扰LOC100288637的表达 应用脂质体2000介导的方法向HepG2细胞转染LOC100288637的siRNA,RT-PCR检测转染后细胞内LOC100288637的表达量,LOC100288637-siRNA组和LOC100288637-对照组的LOC100288637表达量分别为 $5.12\pm0.15, 38.97\pm3.98$,LOC100288637-siRNA组的LOC100288637

表达量低于LOC100288637-对照组,两组比较,差异有统计学意义($t=14.72, P<0.01$),见图3。

2.5 敲低LOC100288637能有效抑制HepG2细胞增殖 使用siRNA敲低LOC100288637后,CCK8细胞增殖实验检测细胞的增殖活性。LOC100288637-siRNA组的细胞增殖活性明显低于LOC100288637-对照组,差异有统计学意义($F=139.80, 191.40, P<0.01$),见图4。

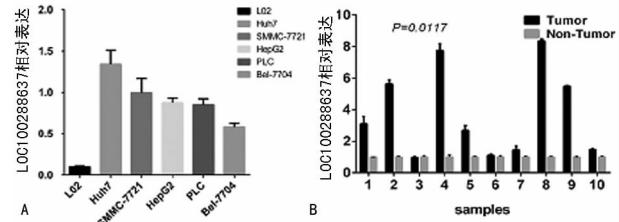


图1 RT-PCR检测LOC100288637在细胞系中表达水平及患者组织标本中表达量

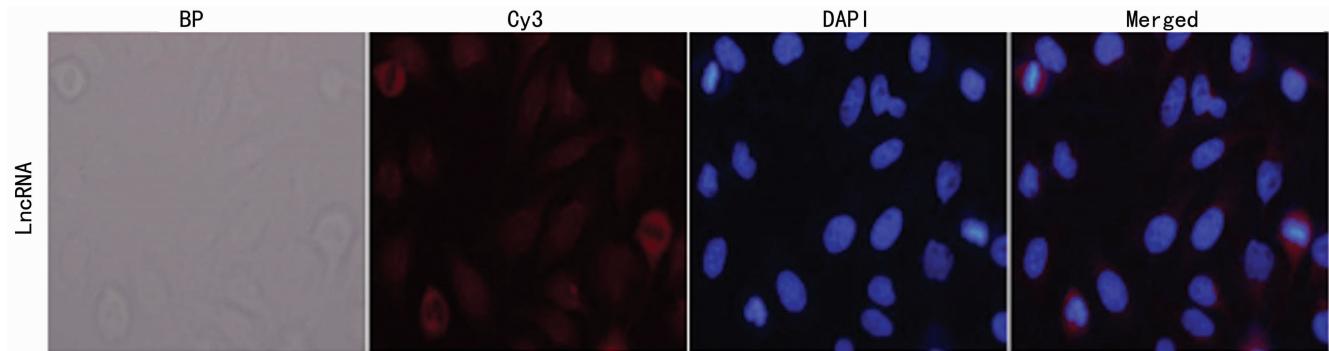


图2 荧光原位杂交检测LOC100288637在HepG2细胞中的分布

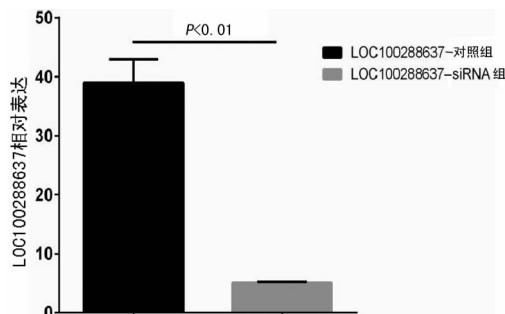


图3 LOC100288637的干扰序列(siRNA)能有效降低HepG2细胞中LOC100288637的表达量

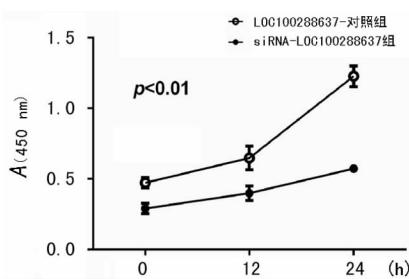


图4 LOC100288637的干扰序列(siRNA)能有效抑制HepG2肝癌细胞增殖

2.6 hsa-miR-101-3p能够抑制LOC100288637表达 用脂质

体2000向HePG2肝癌细胞转染hsa-miR-101-3p的模拟物,RT-PCR检测转染后LOC100288637的表达量。miR-101-3p mimics组和miR-101-3p对照组的LOC100288637表达量分别为 $0.08\pm0.00, 1.00\pm0.05$,miR-101-3p mimics组的LOC100288637表达量低于miR-101-3p对照组,差异有统计学意义($t=29.48, P<0.05$),见图5。

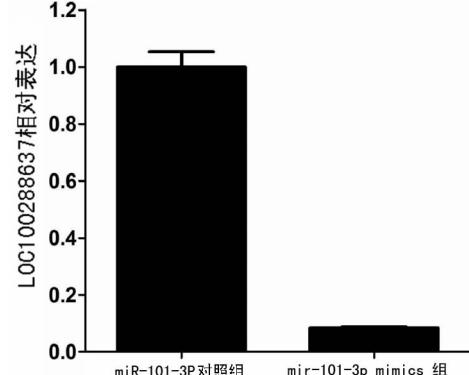


图5 hsa-miR-101-3p能有效抑制LOC100288637的表达

3 讨论

肝癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,对于人类健康造成严重威胁,目前人们对肝癌的发病机制尚未完全了解^[1-4],手术切除仍然是目前最主要的治疗方式,但是手术后复发和转移仍然影响患者的长期生存,因此,为了寻找对于肝癌的其他的诊

断及治疗方式,探索肝癌发生、发展的分子机制已成为目前的一个研究重点。

LncRNA 是一类转录本长度超过 200 nt 的 RNA 分子,它们并不编码蛋白,而是以 RNA 的形式在多种层面上(表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等)调控基因的表达水平。尽管 LncRNA 曾被认为是转录“噪音”,但近年来在临床及细胞实验等多方面对于 LncRNA 的深入研究表明 LncRNA 是一种具有多种生物学功能的非编码 RNA,它在细胞增殖、细胞周期、细胞分化、细胞凋亡,以及肿瘤的发生、发展等方面都具有非常重要的作用^[6-10]。

近年来针对 LncRNA 对肝癌发生、发展的影响方面的研究已成为目前研究肝癌分子机制的一个热点,已有一些研究表明多种 LncRNA 可能与肝癌的发生、发展有密切关系,例如 Yu 等^[14]发现 Metallothionein 1D, Pseudogene (MT1DP) 能够通过抑制 FoxA1 的蛋白合成负向调控 AFP,抑制肝癌细胞的增殖并且促进肝癌细胞凋亡。Huang 等^[15]发现 INK4 基因座中反义非编码 RNA(ANRIL) 在 HCC 组织中高表达,在体内和体外实验中敲低 ANRIL 均可以抑制肝癌细胞的增殖并且可以促进肝癌细胞凋亡。更重要的是,一些 LncRNA 已经被公认为癌症诊断及治疗的靶点,比如通过检测 H19、HOTAIR 等可以肝癌、胃癌、乳腺癌等的诊断提供帮助。这些经研究证实对肿瘤发生、发展有重要作用的 LncRNA 都有一个共同特点,即在肿瘤组织和正常组织中存在差异性表达,而这一点对进行有关 LncRNA 和肿瘤的研究具有重要的指导作用。

在本研究中,通过对 GEO 数据库的数据集 GSE58043 和数据集 GSE10694 进行分析,得出 LncRNARNA LOC100288637 在肝癌组织中高表达,而 miRNA-101-3p 在肝癌组织中低表达的趋势,因此考虑 LOC100288637 可能与肝癌的发生、发展有密切关系,并且不排除 has-miR-101-3p 与 LOC100288637 存在联系。进一步通过序列比对预测分析(RNA-hybrid),明确 has-miR-101-3p 和 LOC100288637 的结合空间结构及结合位点,为两者间存在作用关系找到了理论依据。通过 RT-PCR 检测 LOC100288637 表达量,发现 LOC100288637 在肝癌组织及肝癌细胞中高表达,而相应的癌旁组织及正常肝细胞则低表达该 LncRNA,从细胞和组织学水平证实了 LOC100288637 的差异性表达。荧光原位杂交实验进一步验证了 LOC100288637 在肝癌细胞中表达,其主要分布于细胞质中。通过使用 siRNA 干扰 LOC100288637 的表达,HepG2 肝癌细胞的增殖能力明显降低,说明 LOC100288637 能调控肝癌细胞的增殖。向 HepG2 肝癌细胞转染 has-miR-101-3p 的模拟物,上调 has-miR-101-3p 后,LOC100288637 的表达量明显下降,说明 has-miR-101-3p 能调控 LOC100288637 的表达。

综上所述,LncRNA LOC100288637 在肝癌的发生、发展中发挥着重要的作用,且受到 has-miR-101-3p 的调控;LncRNA LOC100288637 可能可以作为肝癌治疗的一个潜在生物标志点。但 LncRNA LOC100288637 在肝癌侵袭转移及肿瘤干细胞相关方面是否存在一定的作用,课题组尚在研究之中。

参考文献

- [1] Tomizawa M, Shinozaki F, Motoyoshi Y, et al. Suppression of hepatocellular carcinoma cell proliferation by short hairpin RNA of frizzled 2 with Sonazoid-enhanced irradiation[J]. Int J Oncol, 2016, 48(1):123-129.
- [2] Wu YH, Ai X, Liu FY, et al. c-Jun N-terminal kinase inhibitor favors transforming growth factorbeta to antagonize hepatitis B virus X protein induced cell growth pro-
- motion in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Med Rep, 2015, 13(2):1345-1352.
- [3] Gai JQ, Sheng X, Qin JM, et al. The effect and mechanism of bufalin on regulating hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis via Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2016, 48(1):338-348.
- [4] Lu X, Sun W, Tang Y, et al. Identification of key genes in hepatocellular carcinoma and validation of the candidate gene, cdc25a, using gene set enrichment analysis, meta-analysis and crossspecies comparison[J]. Mol Med Rep, 2015, 13(2):1172-1178.
- [5] Botti G, Marra L, Malzone MG, et al. LncRNA HOTAIR as prognostic circulating marker and potential therapeutic target in patients with tumor diseases[J]. Curr Drug Targets, 2015(9):1.
- [6] Li L, Zhang L, Zhang Y, et al. Increased expression of LncRNA BANCR is associated with clinical progression and poor prognosis in gastric cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2015(72):109-112.
- [7] Zhu S, Mao J, Shao Y, et al. Reduced expression of the long non-coding RNA AI364715 in gastric cancer and its clinical significance[J]. Tumour Biol, 2015, 36(10):8041-8045.
- [8] Zhou X, Yin C, Dang Y, et al. Identification of the long non-coding RNA H19 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer[J]. Sci Rep, 2015(5):11516.
- [9] Xu C, Shao Y, Xia T, et al. lncRNA-AC130710 targeting by miR-129-5p is upregulated in gastric cancer and associates with poor prognosis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(10):9701-9706.
- [10] Liang WC, Fu WM, Wong CW, et al. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(26):22513-22525.
- [11] Guo S, Chen W, Luo Y, et al. Clinical implication of long non-coding RNA NEAT1 expression in hepatocellular carcinoma patients[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(5):5395-5402.
- [12] Zhang ZX, Liu ZQ, Jiang B, et al. BRAF activated non-coding RNA (BANCR) promoting gastric cancer cells proliferation via regulation of NF-kappaB1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 465(2):225-231.
- [13] Rehmsmeier M, Steffen P, Hochsmann M, et al. Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes [J]. RNA, 2004, 10(10):1507-1517.
- [14] Yu W, Qiao Y, Tang X, et al. Tumor suppressor long non-coding RNA, MT1DP is negatively regulated by YAP and Runx2 to inhibit FoxA1 in liver cancer cells[J]. Cell Signal, 2014, 26(12):2961-2968.
- [15] Huang MD, Chen WM, Qi FZ, et al. Long non-coding RNA ANRIL is upregulated in hepatocellular carcinoma and regulates cell apoptosis by epigenetic silencing of KLF2[J]. J Hematol Oncol, 2015(8):50.