

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<sup>△</sup>

(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<sup>△</sup>

(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<sup>[1-2]</sup>。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<sup>[3-4]</sup>。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(miRNA, miRNA)等<sup>[5]</sup>。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<sup>[6-10]</sup>。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 对临床上肝癌的发生、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<sup>[11]</sup>; BRAF-activated non-coding RNA (BANCR)能够对胃癌的发生、发展起到促进的作用等<sup>[12]</sup>。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。

<sup>△</sup> 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<sup>[13]</sup>,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 RNAfixer 并保存于  $-80^{\circ}\text{C}$  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 (LO<sub>2</sub>) 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  $75\text{ cm}^2$  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 LO<sub>2</sub> 细胞,于恒温培养箱中培养 ( $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ )。

**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 Thermo 说明逆转录合成 cDNA 的第一链。以合成的 cDNA 为模版,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  $\mu\text{L}$ ,反应条件  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min,  $94^{\circ}\text{C}$  变性 15 s,  $60^{\circ}\text{C}$  退火 60 s,  $72^{\circ}\text{C}$  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  $10\text{ mm}\times 10\text{ mm}$  玻片,按照每孔  $5\times 10^3$  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  $37^{\circ}\text{C}$  预杂交,LOC100288637 探针  $42^{\circ}\text{C}$  杂交 16~20 h。然后用  $2\times\text{SSC}$  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  $5\times 10^3$  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  $3\times 10^3$  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  $\mu\text{L}$  培养液中加入 10  $\mu\text{L}$  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  $2\times 10^4$  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: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  $1.80\pm 1.35$ 、 $0.53\pm 0.34$ ,LOC100288637 在临床患者的肝癌组织中的表达

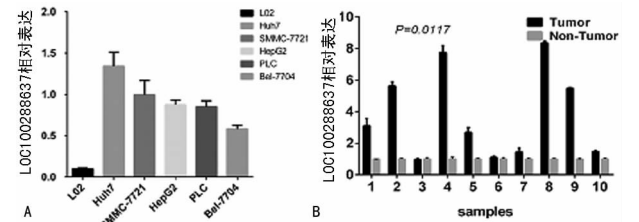
量高于癌旁组织中表达量,两组比较差异有统计学意义( $t=22.94, P<0.05$ ); LOC100288637 在肝癌细胞系 (HepG2、Huh7、PLC/PRF/5、SMMC-7721、Bel-7704) 中的相对表达量分别为  $0.88\pm0.05$ 、 $1.34\pm0.17$ 、 $0.85\pm0.07$ 、 $1.00\pm0.17$ 、 $0.58\pm0.04$ , 在正常肝细胞系 (LO<sub>2</sub>) 中的相对表达量为  $0.10\pm0.01$ , LOC100288637 在 5 组肝癌细胞系中的表达量均明显高于在肝细胞系 LO<sub>2</sub> 中的表达量, 5 组肝癌细胞系分别与 LO<sub>2</sub> 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。



A: LOC100288637 在 HepG2、Huh7、PLC/PRF/5、SMMC-7721、Bel-7704 及 LO<sub>2</sub> 中表达水平; B: LOC100288637 在 10 个患者组织标本中肝癌及癌旁表达水平。

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

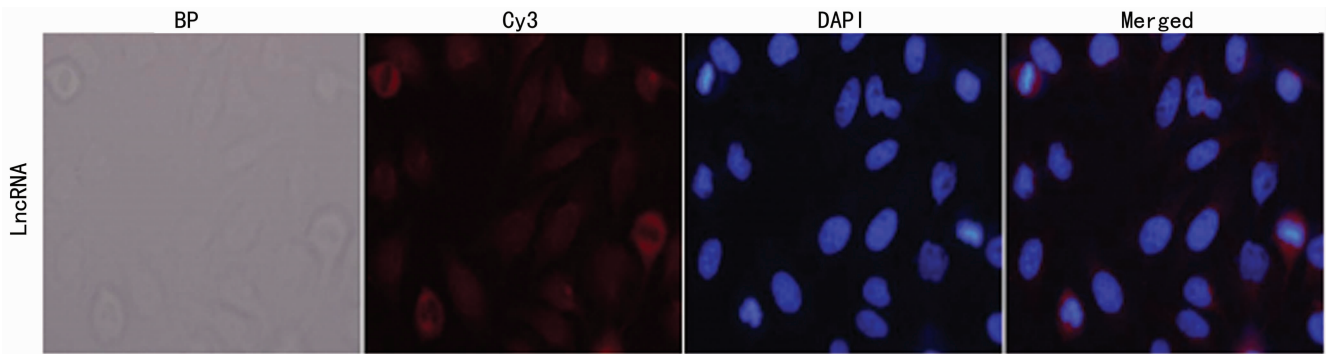


图 2 荧光原位杂交检测 LOC100288637 在 HepG2 细胞中的分布

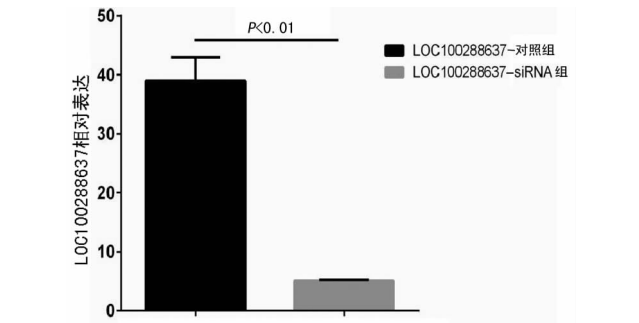


图 3 LOC100288637 的干扰序列 (siRNA) 能有效降低 HepG2 细胞中 LOC100288637 的表达量

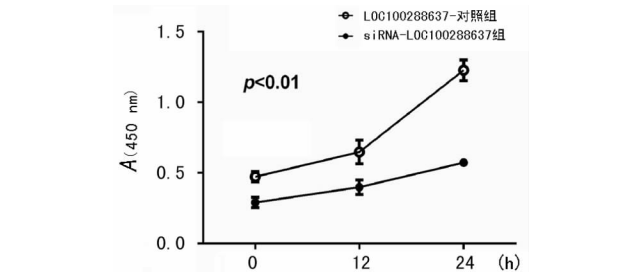


图 4 LOC100288637 的干扰序列 (siRNA) 能有效抑制 HepG2 肝癌细胞增殖

**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。

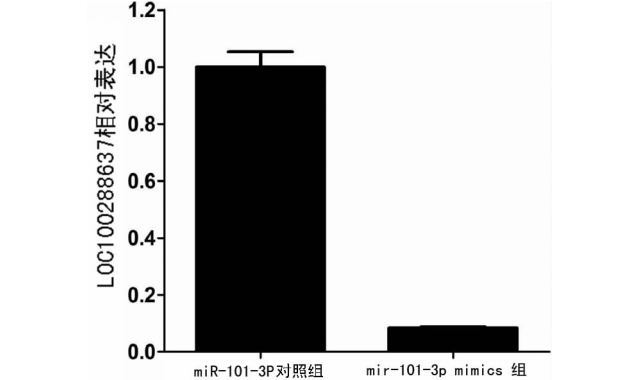


图 5 hsa-miR-101-3p 能有效抑制 LOC100288637 的表达

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<sup>[1-4]</sup>, 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<sup>[6-10]</sup>。

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<sup>[14]</sup>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<sup>[15]</sup>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 LncRNARNALOC100288637 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靶点。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 factor $\beta$  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- $\kappa$ B1[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.