



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.008  
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.008  
China Journal of General Surgery, 2023, 32(7):1032-1044.

· 基础研究 ·

## 长链非编码RNA LINC00313与miR-342-3p/膜联蛋白A2轴在肝细胞癌细胞中的作用与机制

吴剑飞, 白雪峰, 田晰晰, 杨季红, 张全, 赵继森, 于国栋, 张锐

(河北大学附属医院 肝胆外科, 河北 保定 071000)

### 摘要

**背景与目的:** 肝细胞癌(HCC)是造成癌症相关性死亡的常见原因之一, 研究表明长链非编码RNA(lncRNA)调控微小RNA(miRNA)的表达, 进而通过抑制靶mRNA翻译或促进mRNA降解来参与肿瘤发生及进展过程。LINC00313作为一种具有致癌活性的lncRNA参与肿瘤发生及进展过程; 膜联蛋白A2(ANXA2)在包括HCC的多种恶性肿瘤中表达上调, 促进恶性表型的发生, 并可能受上游miR-342-3p的调控。因此, 本研究探讨LINC00313、miR-342-3p、ANXA2在HCC细胞中的表达及其相互关系。

**方法:** 用qRT-PCR与Western blot检测人肝实质细胞及HCC细胞系(Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7)中LINC00313、miR-342-3p及ANXA2表达。将体外培养的Li-7细胞分为空白对照组(无处理)、LINC00313 siRNA组(转染LINC00313 siRNA)、miR-342-3p模拟物组(转染miR-342-3p模拟物)、共转染阴性对照组(转染阴性siRNA序列与阴性miRNA序列)、共转染组(转染LINC00313 siRNA及miR-342-3p抑制物), 用qRT-PCR与Western blot检测各组细胞LINC00313、miR-342-3p及ANXA2表达; MTT实验及平板集落形成实验检测各组细胞增殖; 进行TUNEL染色检测各组细胞凋亡; Transwell侵袭及Western blot分别检测各组细胞侵袭数目及上皮-间充质转化(EMT)相关蛋白波形蛋白(vimentin)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达; 免疫荧光染色检测各组细胞Bcl-2关联X蛋白(Bax)/B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2); 双荧光素酶报告实验分析Li-7细胞中LINC00313对miR-342-3p、miR-342-3p对ANXA2的靶向调控。建立皮下裸鼠异种移植瘤模型, 验证LINC00313沉默对Li-7细胞体内生长的影响。

**结果:** 与人肝实质细胞比较, Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7细胞的LINC00313、ANXA2 mRNA及蛋白表达均明显升高, 而miR-342-3p表达均明显降低(均 $P<0.05$ )。与对照组比较, LINC00313 siRNA组、miR-342-3p模拟物组细胞ANXA2 mRNA及蛋白表达、增殖率、集落生成率、侵袭细胞数目、vimentin蛋白表达均明显降低( $P<0.05$ ), miR-342-3p表达、凋亡率、E-cadherin蛋白表达、Bax/Bcl-2比值均明显升高(均 $P<0.05$ ); 与LINC00313 siRNA组比较, 共转染组细胞ANXA2 mRNA及蛋白表达、增殖率、集落生成率、侵袭细胞数目、vimentin蛋白表达均明显升高, 而miR-342-3p表达、凋亡率、E-cadherin蛋白表达、Bax/Bcl-2比值均明显降低(均 $P<0.05$ )。Li-7细胞中, LINC00313可靶向下调miR-342-3p表达, miR-342-3p可靶向下调其ANXA2表达(均 $P<0.05$ )。体内实验结果显示, 与无处理的Li-7细胞移植瘤比较, LINC00313敲低的Li-7细胞移植瘤的体积与质量均明显降低, 肿瘤组织中LINC00313、ANXA2 mRNA及蛋白表达均明显降低, 而miR-342-3p表达明显升高(均 $P<0.05$ )。

**结论:** LINC00313在HCC细胞中的表达上调, LINC00313可能通过抑制miR-342-3p而增加后者靶基因ANXA2的表达, 进而促进HCC细胞的恶性表型。

### 关键词

癌, 肝细胞; RNA, 长链非编码; 微RNAs; 膜联蛋白A2

中图分类号: R735.7

**基金项目:** 河北省保定市科技计划自筹基金资助项目(2041ZF324)。

**收稿日期:** 2023-04-11; **修订日期:** 2023-06-24。

**作者简介:** 吴剑飞, 河北大学附属医院主治医师, 主要从事胆道结石、肝胆胰良恶性疾病诊治、微创手术治疗方面的研究。

**通信作者:** 白雪峰, Email: zhulengp8@163.com

## Role of the long non-coding RNA LINC00313a and miR-342-3p/annexin A2 axis in hepatocellular carcinoma cells and the action mechanism

WU Jianfei, BAI Xuefeng, TIAN Xixi, YANG Jihong, ZHANG Quan, ZHAO Jisen, YU Guodong, ZHANG Rui

(Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding, Hebei 071000, China)

### Abstract

**Background and Aims:** Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common cause of cancer-related mortality. Studies have shown that long non-coding RNAs (lncRNAs) regulate the expression of microRNAs (miRNAs), which, in turn, participate in tumorigenesis and progression by inhibiting target mRNA translation or promoting mRNA degradation. LINC00313 is a cancer-promoting lncRNA that contributes to tumor development and progression. Annexin A2 (ANXA2) is upregulated in various malignant tumors, including HCC, promoting a malignant phenotype, and it may be regulated by upstream miR-342-3p. This study was conducted to explore the expression of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 in HCC cells and their interrelationships.

**Methods:** The expressions of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 were assessed in human liver tissue cells and HCC cell lines (Li-7, HuH-7, Hep3B2.1-7) using qRT-PCR and Western blot. Li-7 cells were cultured in vitro and divided into different groups: control (untreated), LINC00313 siRNA group (transfected with LINC00313 siRNA), miR-342-3p mimics group (transfected with miR-342-3p mimics), negative control co-transfection group (transfected with negative siRNA and negative miRNA), and co-transfection group (transfected with LINC00313 siRNA and miR-342-3p inhibitor). The expressions of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 were analyzed in these groups using qRT-PCR and Western blot. Cell proliferation was assessed using MTT assay and colony formation assay. Apoptosis was detected by TUNEL staining. Transwell invasion assay and Western blot were performed to evaluate cell invasion and expressions of epithelial-mesenchymal transition-related proteins (vimentin and E-cadherin), respectively. Immunofluorescence staining was used to determine the Bax/Bcl-2 ratio in the cells. Dual-luciferase reporter assay was conducted to analyze the regulatory relationship between LINC00313 and miR-342-3p and between miR-342-3p and ANXA2 in Li-7 cells. Furthermore, a xenograft tumor model in nude mice was established to validate the impact of LINC00313 knockdown on Li-7 cell growth in vivo.

**Results:** Compared to human liver tissue cells, the expressions of LINC00313 as well as ANXA2 mRNA and protein was significantly upregulated in Li-7, HuH-7, and Hep3B2.1-7 cells, while miR-342-3p expression was significantly downregulated (all  $P < 0.05$ ). Compared to the control group, the LINC00313 siRNA group and miR-342-3p mimics group showed significant reductions in ANXA2 mRNA and protein expressions, cell proliferation, colony formation, and invasion, as well as decreased vimentin protein expression (all  $P < 0.05$ ). Furthermore, miR-342-3p expression, apoptosis rate, E-cadherin protein expression, and Bax/Bcl-2 ratio were significantly increased in these groups (all  $P < 0.05$ ). When compared to the LINC00313 siRNA group, the co-transfection group exhibited elevated ANXA2 mRNA and protein expressions, increased cell proliferation, colony formation, and invasion, as well as enhanced vimentin expression. However, it reduced miR-342-3p expression, apoptosis rate, E-cadherin protein expression, and Bax/Bcl-2 ratio (all  $P < 0.05$ ). In Li-7 cells, LINC00313 could negatively regulate miR-342-3p expression, while miR-342-3p could negatively regulate ANXA2 expression (both  $P < 0.05$ ). In vivo experiments demonstrated that compared to untreated Li-7 cell xenografts, LINC00313

knockdown in Li-7 cells significantly reduced tumor volume and mass. Additionally, LINC00313 and ANXA2 mRNA and protein expression in tumor tissues were markedly decreased, while miR-342-3p expression was significantly increased (all  $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** LINC00313 is upregulated in HCC cells and may promote a malignant phenotype by inhibiting miR-342-3p, thereby increasing the expression of its target gene, ANXA2, in HCC cells.

**Key words**

Carcinoma, Hepatocellular; RNA, Long Noncoding; MicroRNAs; Annexin A2

**CLC number:** R735.7

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝癌组织学亚型, 在全球范围广泛流行, 是造成癌症相关性死亡的三大常见原因之一, 因其高复发率和转移率导致患者预后很差, 作为一种高病死率疾病, 给患者身心造成极大危害<sup>[1-2]</sup>。由于缺乏明显的症状, 大多数 HCC 患者在晚期才被确诊, 治疗选择有限<sup>[3]</sup>。尽管在过去几十年中, 在 HCC 的诊断和治疗方面取得了进展, 但复发率和转移率仍然很高。为了应对目前的情况, 必须制定筛查和监测 HCC 的新战略<sup>[2,4]</sup>。随着生物信息学的蓬勃发展, 已经确定许多生物标志物与 HCC 的发展有关, 但临床上可用于早期检测和预后评估的可靠肿瘤生物标志物数量仍然很少。因此, 有必要鉴定新的潜在生物标志物, 这可能有助于更新诊断技术和提高治疗效果。

研究<sup>[5]</sup>表明, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 通过多种机制在癌症 (包括 HCC) 发展中发挥重要作用。LINC00313 作为一种具有致癌活性的 lncRNA 参与肿瘤发生及进展过程, 能通过促进非小细胞肺癌中 M2 巨噬细胞的分化而促进其进展<sup>[6]</sup>, 并可加速宫颈癌细胞的生长、上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 和迁移<sup>[7]</sup>。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一类进化上保守的非编码 RNA (ncRNA), 长度为 18~25 个核苷酸, 通过介导靶基因的转录参与一系列生理和病理过程<sup>[8]</sup>。许多 miRNA 的异常表达与 HCC 的发生和进展有关<sup>[9-10]</sup>。研究<sup>[11]</sup>表明, 调控 miRNA 的表达是 LINC00313 介导肿瘤发生发展的机制之一, LINC00313 可通过吸收 miR-342-3p 而促使骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭和体内肿瘤生长, 敲除 LINC00313 可逆转上述过程。而 miR-342-3p 是一种肿瘤抑制因子, 在胶质母细胞瘤、喉鳞状细胞癌及 HCC 等肿瘤中明显下调, 对其进行过表达可抑制胶质母细胞瘤、喉鳞状细胞癌细胞的增殖、

迁移和侵袭<sup>[12-13]</sup>, 并可通过减轻 HCC 细胞增殖、迁移和集落形成而抑制其进展<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15]</sup>显示, miR-342-3p 可通过靶向下调膜联蛋白 A2 (annexin A2, ANXA2) 而抑制结直肠癌细胞增殖、EMT、迁移和侵袭。而 ANXA2 作为一种致癌基因在膀胱癌、HCC 中高表达, 并与膀胱癌患者的高病理分级和分期、低总体生存率等显著相关<sup>[16]</sup>, 下调其表达可减轻 HCC 细胞的增殖、EMT、迁移和侵袭, 并抑制其体内肿瘤生长和肺转移<sup>[17-18]</sup>。由此推测, LINC00313 可能通过 miR-342-3p/ANXA2 轴调节 HCC 细胞增殖、凋亡和侵袭, 本文通过体外培养人肝癌细胞系 Li-7, 对此预测进行分析探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

人肝实质细胞、HuH-7 细胞、Li-7 细胞、Hep3B2.1-7 细胞、人肝实质细胞完全培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司 (货号: CP-H043、CL-0120、CL-0139、CL-0102、CM-H043); 一步法反转录荧光定量试剂盒购自上海雅吉生物科技有限公司 (货号: B639277); 兔抗人  $\beta$ -肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 抗体、E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 抗体、波形蛋白 (vimentin) 抗体、B 淋巴细胞瘤 2 (Bcl-2) 抗体、小鼠抗人 Bcl-2 关联 X 蛋白 (Bax) 抗体、免疫荧光染色试剂盒-抗小鼠 Alexa Fluor 488、双荧光素酶报告基因检测试剂盒、免疫荧光染色试剂盒-抗兔 Alexa Fluor 555、结晶紫染色液购自上海碧云天生物技术有限公司 (货号: AF1216、AF6759、AF0243、AF1213、AF0054、P0188、RG089S、P0179、C0121); 兔抗人 ANXA2 抗体、MTT 检测试剂盒、辣根过氧化物酶标记驴抗兔 IgG 二抗、TUNEL 检测试剂盒购自英国 Abcam 公司 (货号: ab185957、ab211091、ab205722、ab66108)。

HM-PCR1 荧光定量 PCR 检测仪购自山东恒美电子科技有限公司; HED-SY96S 全自动多功能酶标仪购自山东格蓝普物联科技有限公司; XP-200 荧光显微镜购自青岛明博环保科技有限公司; SQ-188 迷你双垂直蛋白电泳槽、WH-600-LCD 电泳仪电源、SQ-189 迷你双垂直蛋白转印电泳槽购自上海江美生物科技有限公司。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养** 将购买的冻存人肝实质细胞及 Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7 细胞快速置于 40 °C 温水中解冻复苏, 离心并洗涤后分别加入人肝实质细胞完全培养基及混有 10% 胎牛血清与 1% 青-链霉素双抗的 RPMI-1640 培养基、DMEM 高糖培养基、MEM 培养基混匀培养, 均于约 80% 细胞汇合后进行传代。

**1.2.2 qRT-PCR 检测细胞 LINC00313、miR-342-3p 及 ANXA2 表达** 使用 TRIzol 试剂按照其说明指导分别提出各细胞总 RNA 后, 采用一步法反转录荧光定量试剂盒制备 PCR 反应混合液按照其说明指导设定反应条件, 40 个循环结束后得到各细胞 LINC00313、miR-342-3p 及 ANXA2 循环阈值, 采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 算法分别进行分析, 同时与内参基因 β-actin、U6 (LINC00313 及 ANXA2 内参为 β-actin, miR-342-3p 的内参为 U6) 相比得到其相对表达, 引物序列见下表 1。

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')
LINC00313	
正向	GGA AGC ACT TAG ACC CTG CC
反向	GCC GCT GTT GGT TTC ATC TC
ANXA2	
正向	CTC TAC ACC CCC AAG TGC AT
反向	TCA GTG CTG ATG CAA GTT CC
β-actin	
正向	ACA GGC ATC GTG ATG GAT TCT
反向	CAG CAGTGGTGGTGAAGTTAT
miR-342-3p	
正向	CAG GGA GGC GTG GAT CAC TG
反向	CGT CGG GGG CTC ATG GAG CGG
U6	
正向	ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT
反向	GGA ACG CTT CAC GAA TTT G

**1.2.3 Western blot 检测细胞 ANXA2 蛋白表达** 使用 RAPI 裂解液按照其说明指导分别提出各细胞总蛋白后, 采用 BCA 法测出其浓度后置于沸水浴中煮沸变性, 每种细胞取 15 μg 总蛋白跑电泳后湿转, 所得分离后的蛋白以 3% 牛血清白蛋白溶液封闭后, 自膜上剪下 β-actin、ANXA2 蛋白条带进行抗原抗体反应, 在 4 °C 下将膜与一抗 ANXA2 (1:1 000)、β-actin (1:2 000) 孵育 24 h, 次日, 洗去一抗, 添加 IgG 二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h, 洗涤后显色, 摄取各蛋白图像后以 Image J 软件分析, 定量各蛋白灰度值后统计得到其相对表达。

**1.2.4 细胞分组与处理** Li-7 细胞传代后接种在 24 孔板培养 (每孔接种约 1.5 × 10<sup>5</sup> 个细胞), 36 h 后分为对照组、LINC00313 siRNA 组、miR-342-3p 模拟物组、共转染阴性对照组、共转染组, 除对照组外的其余各组细胞使用脂质体 2000 按照其说明指导分组进行转染: LINC00313 siRNA 组转染 LINC00313 siRNA, miR-342-3p 模拟物组转染 miR-342-3p 模拟物, 共转染阴性对照组转染阴性 siRNA 序列及阴性 miRNA 序列, 共转染组转染 LINC00313 siRNA 及 miR-342-3p 抑制物, 转染 24 h 后采集各组细胞冻存在液氮备用。qRT-PCR 检测各组细胞中 LINC00313、miR-342-3p 及 ANXA2 mRNA 表达; Western blot 检测各组细胞中 ANXA2 蛋白表达。

**1.2.5 MTT 实验检测细胞增殖活性** Li-7 细胞传代后接种在 96 孔板培养 (每孔接种约 1 × 10<sup>4</sup> 个细胞), 36 h 后按照 1.2.4 中所示分组转染, 24 h 后采用 MTT 试剂盒按照其说明指导检测各组细胞增殖率, 所用公式为: 细胞增殖率 = 转染组吸光值 / 对照组吸光值 × 100%。

**1.2.6 平板集落形成实验检测细胞集落形成能力** Li-7 细胞传代后接种在 12 孔板培养 (每孔接种约 50 个细胞), 36 h 后按照 1.2.4 中所示分组转染, 24 h 后更换新的培养基继续培养, 3 周后可见细胞集落形成, 对其进行洗涤、固定、结晶紫染色、洗涤处理, 然后采用显微镜观察并摄取各组图像, 以 Image J 软件定量其各组细胞集落数目后算出其集落生成率, 所用公式为: 集落生成率 = 转染组细胞集落数 / 对照组细胞集落数 × 100%。

**1.2.7 TUNEL 染色检测各组 Li-7 细胞凋亡** Li-7 细胞传代后接种在 24 孔板培养 (每孔接种约 1.5 × 10<sup>5</sup> 个细胞), 36 h 后按照 1.2.4 中所示分组转染, 24 h 后

洗涤、固定各组细胞，接着采用TUNEL检测试剂盒按照其说明指导进行TUNEL染色，洗涤后孵育DAPI染液，洗涤后采用显微镜观察并摄取各组图像，以Image J软件定量其各组凋亡细胞数目及总细胞数目后算出其凋亡率，所用公式为：凋亡率=凋亡细胞数目/总细胞数目×100%。

**1.2.8 Transwell实验检测细胞侵袭能力** Li-7细胞传代后混匀，接种在24孔Transwell培养板上室中（预先用基质胶包被）培养（每孔接种约 $1.5 \times 10^5$ 个细胞），36 h后按照1.2.4中所示分组转染，24 h后更换为不含胎牛血清的RPMI-1640培养基继续培养，与此同时在下室加入适量含有10%胎牛血清的RPMI-1640培养基，24 h后对下室细胞进行洗涤、固定、结晶紫染色、洗涤处理，然后采用显微镜观察并摄取各组图像，以Image J软件定量其各组细胞数目作为其侵袭数目。

**1.2.9 Western blot检测细胞EMT相关蛋白表达** 将1.2.4中采集的各组Li-7细胞分别提取总蛋白后，进行Western blot检测各组细胞中vimentin、E-cadherin蛋白表达，具体方法见1.2.3。实验所用一抗vimentin、E-cadherin均按1:1 000比例稀释； $\beta$ -actin按照1:2 000比例稀释。

**1.2.10 免疫荧光染色检测细胞Bax/Bcl-2比值** Li-7细胞传代后接种在24孔板培养（每孔接种约 $1.5 \times 10^5$ 个细胞），36 h后按照1.2.4中所示分组转染，24 h后洗涤、固定各组细胞，以3%过氧化氢取出细胞内过氧化物酶后孵育小鼠源Bax一抗和兔源Bcl-2一抗溶液（均稀释150倍），洗涤后孵育均稀释200倍的Alexa Fluor 488标记的抗兔二抗与Alexa Fluor 555标记的抗小鼠二抗，洗涤后做DAPI染色，再次洗涤后采用显微镜观察并摄取各组图像，以Image J软件定量其各组细胞绿色和红色荧光强度，以各组绿色荧光强度/红色荧光强度作为Bax/Bcl-2。

**1.2.11 双荧光素酶报告基因检测实验验证LINC00313对miR-342-3p、miR-342-3p对ANXA2的靶向调控** Li-7细胞传代后接种在24孔板培养（每孔接种约 $1.5 \times 10^5$ 个细胞），36 h后随机分为野生型（WT）-LINC00313+miR-NC组（转染野生型LINC00313和阴性miRNA序列质粒）、WT-LINC00313+miR-342-3p组（转染野生型LINC00313和miR-342-3p模拟物质粒）、突变型（MUT）-LINC00313+miR-NC组（转染突变型LINC00313和阴性miRNA

序列质粒）、MUT-LINC00313+miR-342-3p组（转染突变型LINC00313和miR-342-3p模拟物质粒）、WT-ANXA2+miR-NC组（转染野生型ANXA2 3'-UTR报告质粒和阴性miRNA序列）、WT-ANXA2+miR-342-3p组（转染野生型ANXA2 3'-UTR报告质粒和miR-342-3p模拟物）、MUT-ANXA2+miR-NC组（转染突变型ANXA2 3'-UTR报告质粒和阴性miRNA序列）、MUT-ANXA2+miR-342-3p组（转染突变型ANXA2 3'-UTR报告质粒和miR-342-3p模拟物），使用脂质体2000按照其说明指导分组进行转染24 h，然后采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒按照其说明指导测定各组细胞双荧光素酶相对活性。

**1.2.12 体内动物研究** 建立皮下裸鼠异种移植瘤模型，评估敲低LINC00313的Li-7细胞在体内的生长能力。从上海斯莱克实验动物有限责任公司购买12只雄性BALB/c裸鼠（4周龄），并随机分为2组（ $n=6$ ）。将稳定转染sh-LINC00313和sh-NC慢病毒的Li-7细胞分别皮下注射到裸鼠的左侧腋下（ $1 \times 10^6$ 个/100  $\mu$ L），记为sh-LINC00313组和sh-NC组。每7天测量1次肿瘤大小，并按公式计算肿瘤体积：肿瘤体积=0.5×（长径×短径<sup>2</sup>）。4周后取出肿瘤进行称重，并提取肿瘤组织总RNA和总蛋白进一步检测瘤组织LINC00313、miR-342-3p、ANXA2 mRNA和ANXA2蛋白表达。动物实验获得河北大学动物护理与使用委员会的批准（伦理批件号：2022-0922）。

## 1.3 统计学处理

本研究数据采用平均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，并以GraphPad Prism 8.0软件做统计学分析，采用单因素方差分析进行多组间差异比较，两两之间差异进一步比较行SNK-*q*检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同细胞中LINC00313、miR-342-3p及ANXA2表达水平

与人肝实质细胞比较，Li-7、HuH-7、Hep3B 2.1-7细胞中的LINC00313以及ANXA2的mRNA及蛋白表达均升高，而miR-342-3p表达均降低（均 $P < 0.05$ ）（图1）。

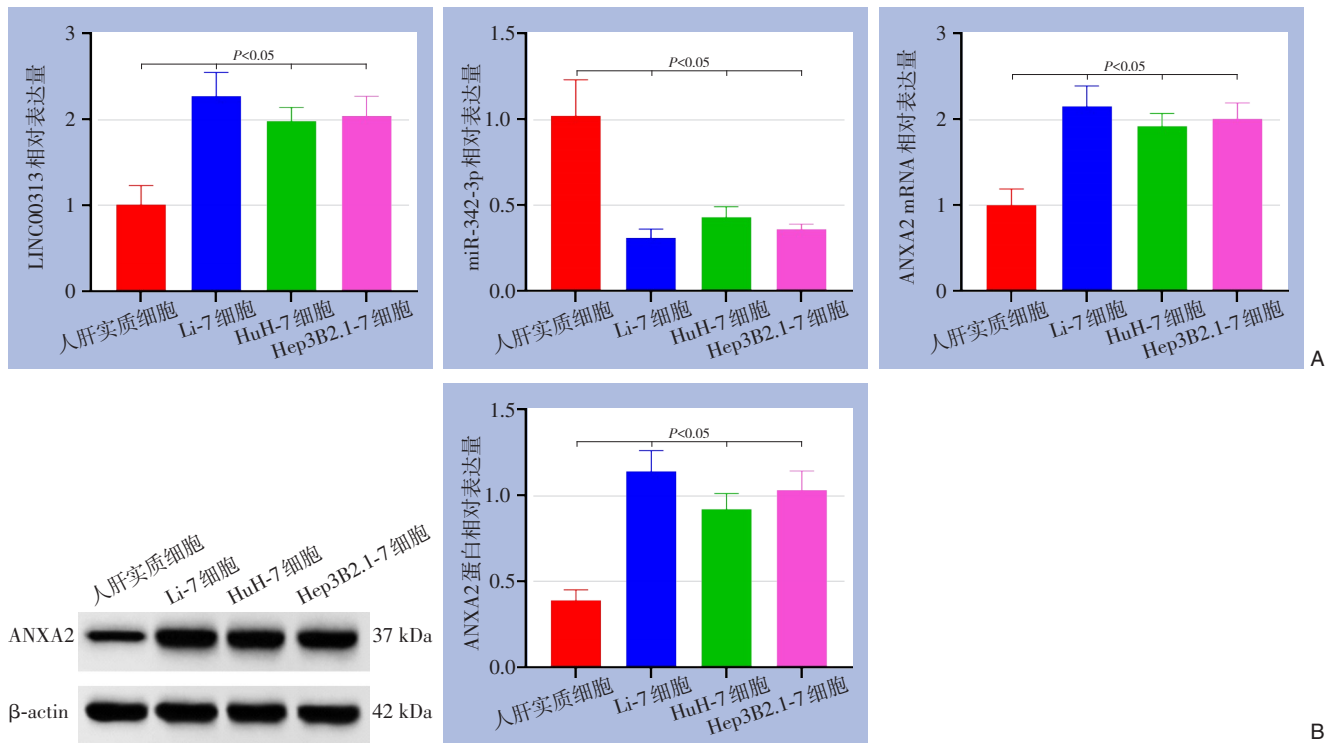


图1 LINC00313、miR-342-3p与ANXA2 mRNA及蛋白表达检测 A: 不同细胞中LINC00313、miR-342-3p、ANXA2 mRNA表达量; B: 不同细胞中ANXA2蛋白表达量

Figure 1 Detection of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 mRNA and protein expressions A: Expression levels of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 mRNA in different cells; B: Expression levels of ANXA2 protein in different cells

## 2.2 各组 Li-7 细胞 LINC00313、miR-342-3p 及 ANXA2 mRNA 表达

与对照组比较, LINC00313 siRNA 组细胞 LINC00313、ANXA2 mRNA 及蛋白表达降低, miR-342-3p 表达升高 (均  $P < 0.05$ ); miR-342-3p 模拟物组细胞 LINC00313 表达无明显差异 ( $P > 0.05$ ), ANXA2 mRNA 及蛋白表达降低, 而 miR-342-3p 表达升高 (均  $P < 0.05$ ); 共转染阴性对照组细胞 LINC00313、miR-342-3p、ANXA2 mRNA 及蛋白表达无明显差异 (均  $P > 0.05$ )。与 LINC00313 siRNA 组比较, 共转染组细胞 LINC00313 表达无明显差异 ( $P >$

$0.05$ ), miR-342-3p 表达降低, 而 ANXA2 mRNA 及蛋白表达升高 (均  $P < 0.05$ ) (图 2)。

## 2.3 各组 Li-7 细胞增殖与凋亡的检测结果

与对照组比较, LINC00313 siRNA 组、miR-342-3p 模拟物组细胞增殖率、集落生成率降低, 凋亡率升高 (均  $P < 0.05$ ); 共转染阴性对照组细胞增殖率、集落生成率、凋亡率无明显差异 (均  $P > 0.05$ )。与 LINC00313 siRNA 组比较, 共转染组细胞增殖率、集落生成率升高, 凋亡率降低 (均  $P < 0.05$ ) (图 3) (表 2)。

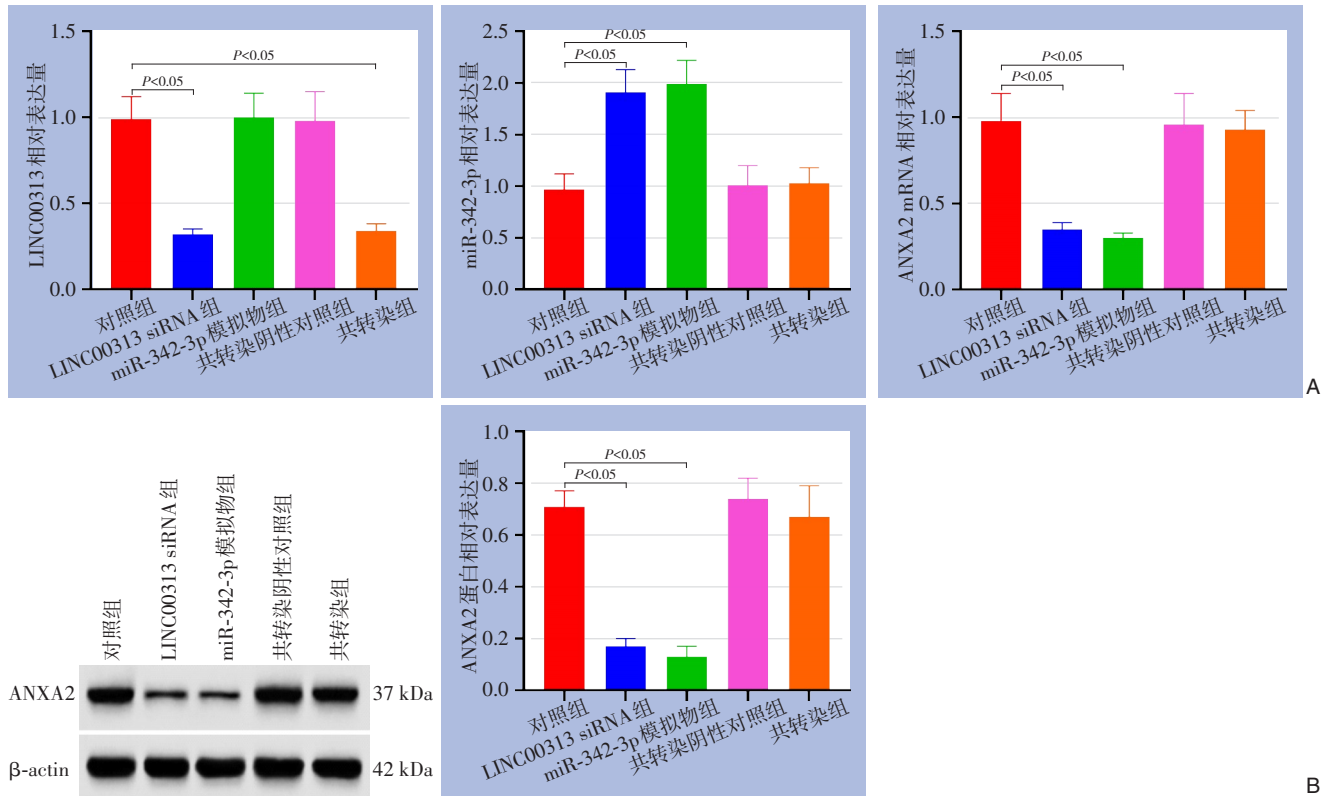


图2 各组 Li-7 细胞中 LINC00313、miR-342-3p 与 ANXA2 mRNA 及 ANXA2 蛋白表达 A: 各组细胞中 LINC00313、miR-342-3p、ANXA2 mRNA 表达量; B: 各组细胞中 ANXA2 蛋白表达量

Figure 2 Expressions of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 mRNA, and ANXA2 protein in each group of Li-7 cells A: Expression levels of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 mRNA in each group of cells; B: Expression levels of ANXA2 protein in each group of cells

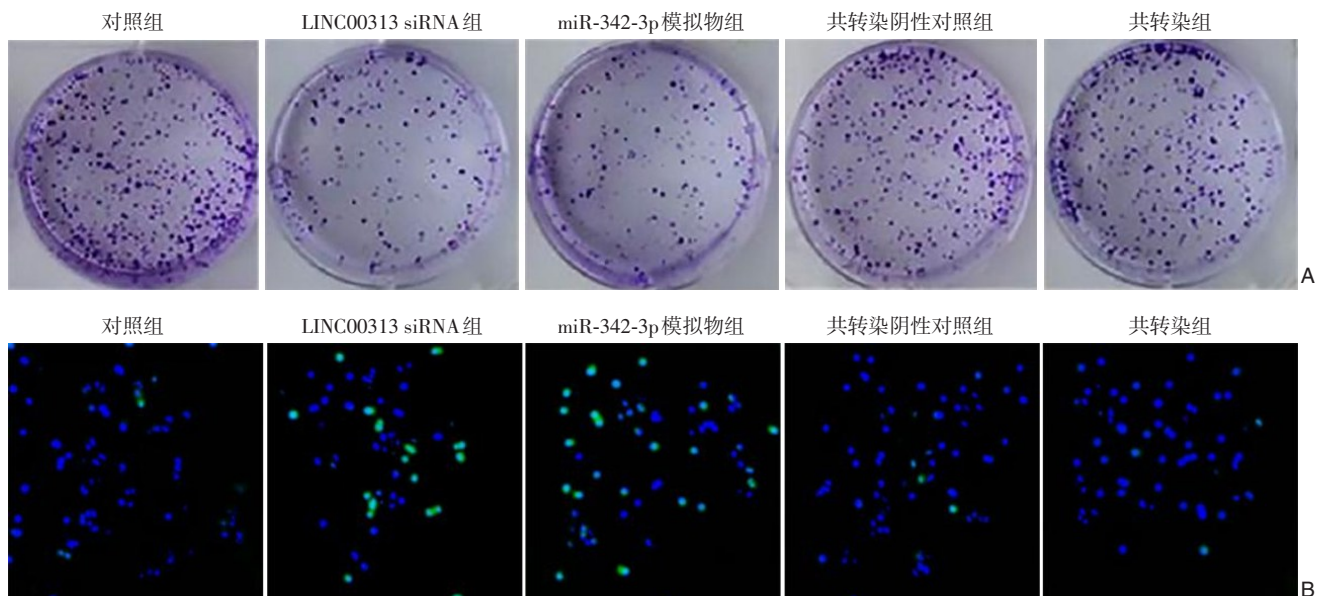


图3 增殖与凋亡检测 A: 结晶紫染色检测各组 Li-7 细胞集落生成; B: TUNEL 染色检测各组 Li-7 细胞凋亡 (×200)

Figure 3 Cell proliferation and apoptosis detection A: Crystal violet staining to assess colony formation in each group of Li-7 cells; B: TUNEL staining to detect apoptosis in each group of Li-7 cells (×200)

表2 各组Li-7细胞增殖率、集落生成率与凋亡率(%,  $\bar{x} \pm s$ , n=6)

Table 2 Proliferation rate, colony formation rate, and apoptosis rate of each group of Li-7 cells(%,  $\bar{x} \pm s$ , n=6)

组别	增殖率	集落生成率	凋亡率
对照组	100.00±0.00	100.00±0.00	1.65±0.28
LINC00313 siRNA组	48.90±6.21 <sup>1)</sup>	45.80±7.45 <sup>1)</sup>	52.75±6.38 <sup>1)</sup>
miR-342-3p模拟物组	43.85±7.14 <sup>1)</sup>	40.35±5.95 <sup>1)</sup>	60.12±8.05 <sup>1)</sup>
共转染阴性对照组	98.37±10.32	97.90±10.15	1.93±0.57
共转染组	92.04±11.25 <sup>2)</sup>	90.75±9.40 <sup>2)</sup>	2.81±0.84 <sup>2)</sup>

注:1)与对照组比较,P<0.05;2)与LINC00313 siRNA组比较,P<0.05

Notes: 1) P<0.05 vs. control group; 2) P<0.05 vs. LINC00313 siRNA group

### 2.4 各组Li-7细胞侵袭和EMT相关蛋白表达的检测结果

与对照组比较,LINC00313 siRNA组、miR-342-3p模拟物组细胞侵袭数目、vimentin蛋白表达降低,E-cadherin蛋白表达升高(均P<0.05);共转染阴性

对照组细胞侵袭数目、vimentin及E-cadherin蛋白表达无明显差异(均P>0.05)。与LINC00313 siRNA组比较,共转染组细胞侵袭数目、vimentin蛋白表达升高,E-cadherin蛋白表达降低(均P<0.05)(图4)(表3)。

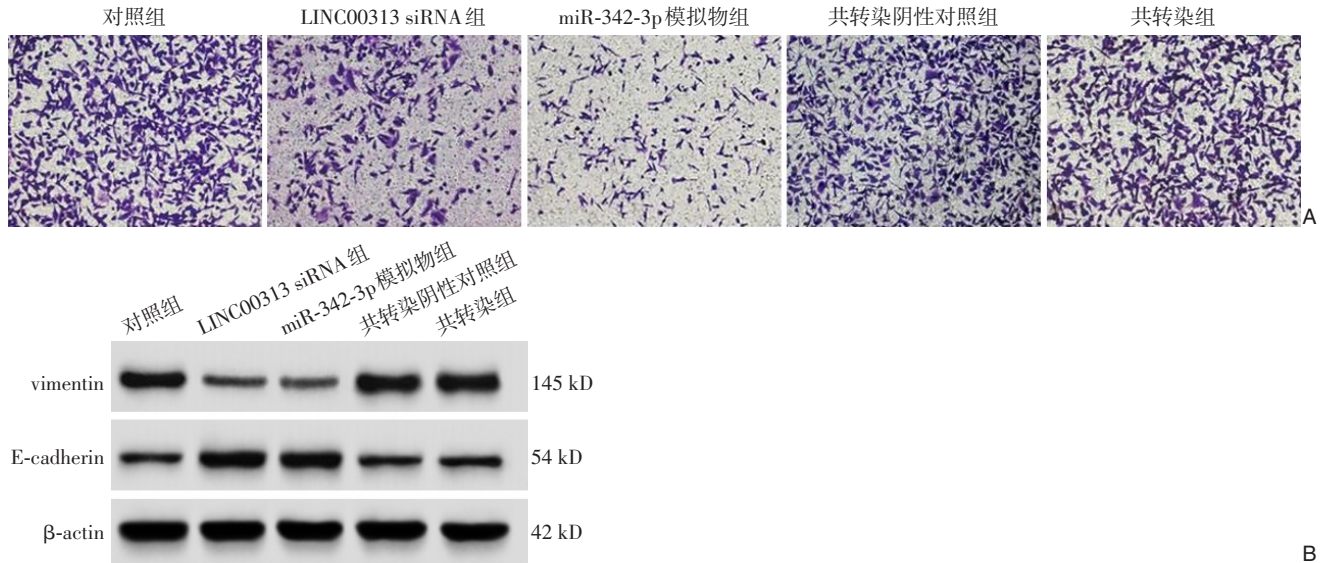


图4 细胞侵袭和EMT相关蛋白表达的检测 A: Transwell实验检测Li-7细胞侵袭(结晶紫染色, ×200); B: Western blot检测各组细胞EMT相关蛋白表达

Figure 4 Detection of cell invasion and EMT-related protein expressions A: Transwell assay to assess Li-7 cell invasion (crystal violet staining, ×200); B: Western blot analysis to detect the expression of EMT-related proteins in each group of cells

表3 各组Li-7细胞侵袭数目与EMT相关蛋白相对表达量( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

Table 3 Number of invaded Li-7 cells and relative expression levels of EMT-related proteins in each group( $\bar{x} \pm s$ , n=6)

组别	侵袭细胞数(个)	vimentin表达量	E-cadherin表达量
对照组	253.30±34.50	0.80±0.14	0.30±0.05
LINC00313 siRNA组	78.95±11.25 <sup>1)</sup>	0.21±0.03 <sup>1)</sup>	0.79±0.09 <sup>1)</sup>
miR-342-3p模拟物组	58.80±6.45 <sup>1)</sup>	0.16±0.02 <sup>1)</sup>	0.82±0.13 <sup>1)</sup>
共转染阴性对照组	243.75±30.95	0.78±0.19	0.31±0.06
共转染组	232.05±41.40 <sup>2)</sup>	0.76±0.15 <sup>2)</sup>	0.33±0.04 <sup>2)</sup>

注:1)与对照组比较,P<0.05;2)与LINC00313 siRNA组比较,P<0.05

Notes: 1) P<0.05 vs. control group; 2) P<0.05 vs. LINC00313 siRNA group



2.5 各组Li-7细胞凋亡相关蛋白表达的检测结果

与对照组比较，LINC00313 siRNA组、miR-342-3p模拟物组细胞Bax/Bcl-2升高（ $0.56 \pm 0.07$  vs.  $0.23 \pm 0.04$ ， $P < 0.05$ ）；共转染阴性对照组细胞

Bax/Bcl-2无明显差异（ $0.24 \pm 0.03$  vs.  $0.23 \pm 0.04$ ， $P > 0.05$ ）。与LINC00313 siRNA组比较，共转染组细胞Bax/Bcl-2降低（ $0.28 \pm 0.06$  vs.  $0.56 \pm 0.07$ ， $P < 0.05$ ）（图5）。

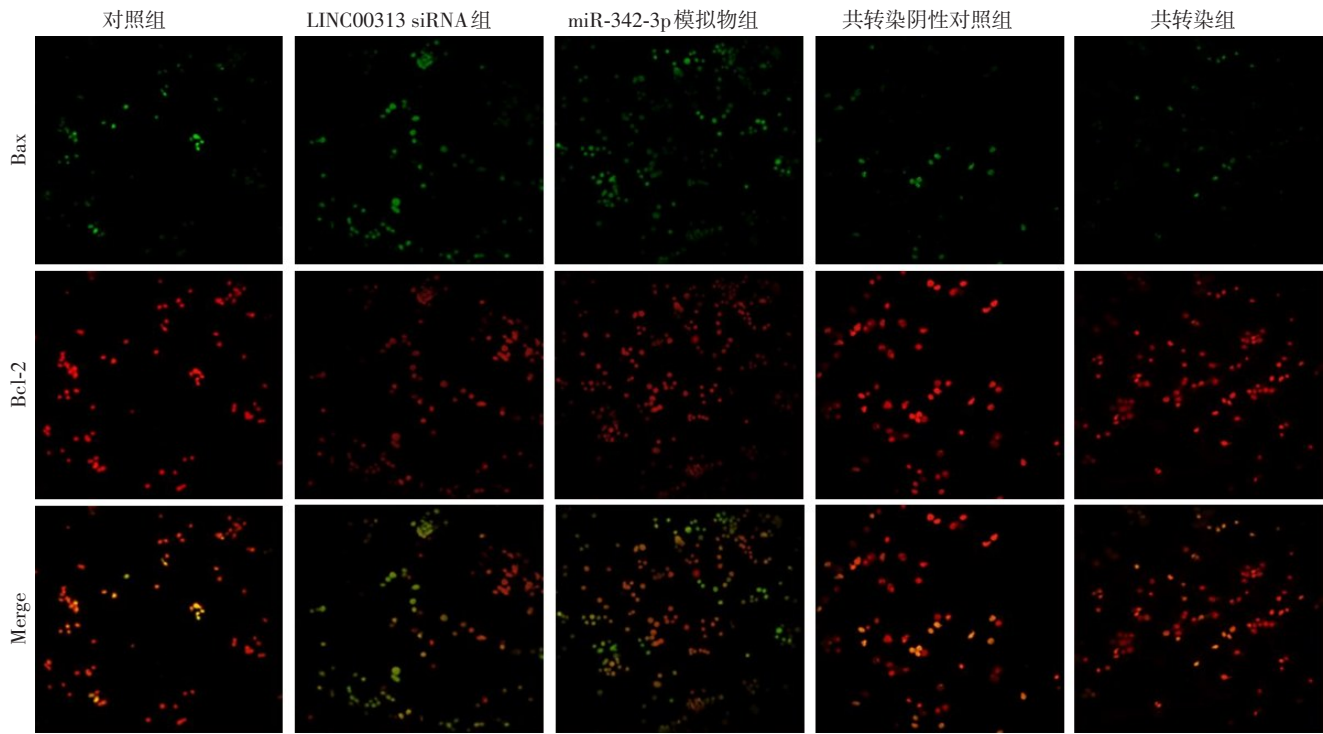


图5 免疫荧光染色检测各组Li-7细胞Bax、Bcl-2表达（×100）

Figure 5 Immunofluorescence staining to detect the expression of Bax and Bcl-2 in each group of Li-7 cells (×100)

2.6 LINC00313对Li-7细胞miR-342-3p、miR-342-3p对ANXA2的靶向调节

查询Starbase数据库可知LINC00313与miR-342-3p间存在结合位点（图6A）。与WT-LINC00313+miR-NC组比较，WT-LINC00313+miR-342-3p组相对荧光素酶活性显著降低（ $P < 0.05$ ）；MUT-LINC00313+miR-NC组与MUT-LINC00313+miR-342-3p组之间相对荧光素酶活性差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）（图6B）。

查询Starbase数据库可知miR-342-3p与ANXA2间存在结合位点（图7A）。与WT-ANXA2+miR-NC组比较，WT-ANXA2+miR-342-3p组相对荧光素酶活性明显降低（ $P < 0.05$ ）；MUT-ANXA2+miR-NC组与MUT-ANXA2+miR-342-3p组之间相对荧光素酶活性无明显差异（ $P > 0.05$ ）（图7B）。

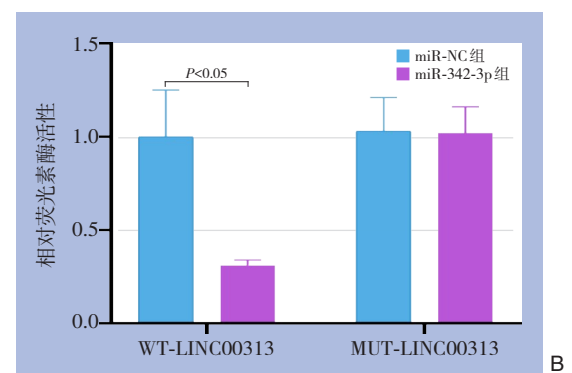
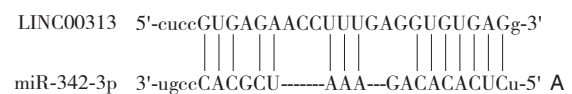


图6 LINC00313对miR-342-3p的靶向作用分析 A: LINC00313与miR-342-3p之间结合位点; B: 各组相对荧光素酶活性比较

Figure 6 Analysis of the targeting effect of LINC00313 on miR-342-3p A: Binding sites between LINC00313 and miR-342-3p; B: Comparison of relative luciferase activity in each group

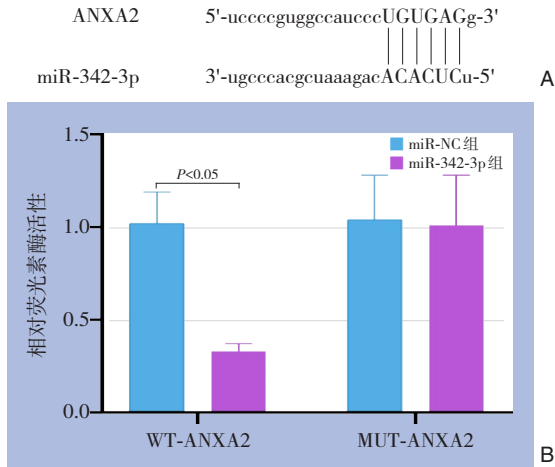


图7 miR-342-3p对ANXA2的靶向作用分析 A: miR-342-3p与ANXA2之间结合位点; B: 各组相对荧光素酶活性比较

Figure 7 Analysis of the targeting effect of miR-342-3p on ANXA2 A: Binding sites between miR-342-3p and ANXA2; B: Comparison of relative luciferase activity in each group

表4 沉默LINC00313对裸鼠移植瘤生长的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 The effect of silencing LINC00313 on the growth of xenograft tumors in nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	肿瘤体积(mm <sup>3</sup> )				肿瘤质量(g)
	1周	2周	3周	4周	
sh-NC组	112.70±14.61	234.40±26.38	402.28±35.60	619.30±48.15	0.75±0.07
sh-LINC00313组	106.54±12.39	155.31±20.75 <sup>1)</sup>	197.50±27.12 <sup>1)</sup>	248.69±35.04 <sup>1)</sup>	0.22±0.04 <sup>1)</sup>

注: 1)与sh-NC组比较,  $P<0.05$

Note: 1)  $P<0.05$  vs. sh-NC group

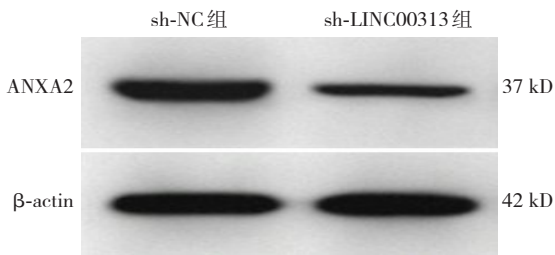


图9 两组裸鼠移植瘤中ANXA2蛋白表达

Figure 9 ANXA2 protein expressions in the two groups of xenograft tumors in nude mice

### 2.7 LINC00313对Li-7细胞体内生长的影响

与sh-NC组比较, sh-LINC00313组肿瘤体积和重量明显降低(均 $P<0.05$ )(图8)(表4), 肿瘤组织LINC00313、ANXA2 mRNA及蛋白表达降低, miR-342-3p表达升高(均 $P<0.05$ )(图9)(表5)。

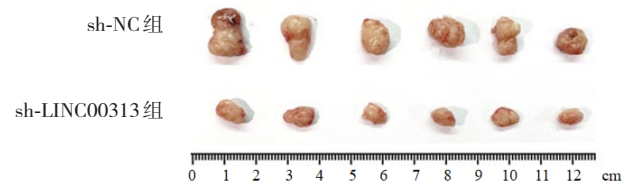


图8 两组裸鼠移植瘤代表图

Figure 8 Representative images of xenograft tumors in nude mice from two groups

表5 两组裸鼠移植瘤中LINC00313、miR-342-3p和ANXA2表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Comparison of LINC00313, miR-342-3p, and ANXA2 expression in xenograft tumors from two groups of nude mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	LINC00313	miR-342-3p	ANXA2 mRNA	ANXA2 蛋白
sh-NC组	1.02±0.11	0.99±0.12	1.00±0.08	0.91±0.06
sh-LINC00313组	0.35±0.06 <sup>1)</sup>	2.04±0.17 <sup>1)</sup>	0.42±0.05 <sup>1)</sup>	0.37±0.04 <sup>1)</sup>

注: 1)与sh-NC组比较,  $P<0.05$

Note: 1)  $P<0.05$  vs. sh-NC group

## 3 讨论

临床治疗HCC主要选择手术切除、外科介入、放疗、化疗、生物和免疫治疗等, 虽可一定程度缓解患者病情, 但患者生存期仍然不长, 还极易转移和复发, 总体来说疗效不理想, 对其发病机制进行深入探究对于改进其治疗手段具有重要临床意

义<sup>[19-20]</sup>。本研究通过比较人肝实质细胞和不同人HCC细胞系中LINC00313、miR-342-3p及ANXA2表达水平, 发现与人肝实质细胞相比, LINC00313、ANXA2表达在HCC细胞中上调, miR-342-3p表达下降; 体外侵袭测定、TUNEL染色、MTT测定和集落形成测定以及体内裸鼠肿瘤异种移植模型的结果证明了LINC00313在HCC中的促癌作用。

LINC00313 参与各种人类癌症的发病及进展过程,可增强睾丸生殖细胞瘤细胞的迁移和侵袭性特性,并减弱其免疫细胞浸润<sup>[21]</sup>;还可通过下调 miR-4429 促使非小细胞肺癌发生发展,其高表达预示着其患者预后不良<sup>[22]</sup>。本研究结果显示,与人肝实质细胞相比,人肝癌细胞系 Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7 细胞 LINC00313 表达升高,表明 LINC00313 参与 HCC 的发生;以 LINC00313 siRNA 转染 Li-7 细胞,可降低细胞增殖率、集落生成率、侵袭数目、vimentin 蛋白表达,升高细胞凋亡率、E-cadherin 蛋白表达、Bax/Bcl-2,表明敲低 LINC00313 可抑制 HCC 细胞增殖、EMT 及侵袭,诱导其大量凋亡,发挥明显抗癌效应;体内实验进一步证实敲低 LINC00313 可抑制 HCC 细胞体内生长,揭示 LINC00313 可作为潜在的 HCC 治疗靶点。

越来越多的证据<sup>[23-24]</sup>表明, lncRNA/miRNA 轴在癌症发生发展中起着关键作用。据报道<sup>[11]</sup>, LINC00313 可通过靶向下调 miR-342-3p 而促使骨肉瘤发生及进展,敲低 LINC00313 可上调 miR-342-3p,进而降低骨肉瘤细胞增殖、体内生长、迁移和侵袭能力,并促使其凋亡。另外过表达 miR-342-3p 可抑制非小细胞肺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和血管生成<sup>[25]</sup>,还可通过降低 HCC 细胞增殖及迁移能力而发挥抗肿瘤功能<sup>[26]</sup>。本研究结果显示,与人肝实质细胞相比, Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7 细胞中 miR-342-3p 表达均降低,这与 LINC00313 表达趋势相反;以 miR-342-3p 模拟物转染 Li-7 细胞,可抑制 HCC 细胞增殖、EMT、转移并促进其凋亡,表明 miR-342-3p 在 HCC 中发挥抑癌作用。双荧光素酶报告基因实验结果显示 LINC00313 与 miR-342-3p 存在靶向关系;实时荧光定量 PCR 结果显示,敲低 LINC00313 可上调 miR-342-3p 表达;提示 LINC00313 可靶向下调 Li-7 细胞 miR-342-3p 表达;体内实验证实敲低 LINC00313 可升高裸鼠移植瘤中 miR-342-3p 表达,表明敲低 LINC00313 可能通过靶向上调 miR-342-3p 抑制 HCC 进展。

ANXA2 是一种多效性钙依赖性磷脂结合蛋白,在乳腺癌<sup>[27]</sup>、肺癌<sup>[28]</sup>和肝癌<sup>[29]</sup>等多种癌症中异常表达。ANXA2 是 miR-342-3p 的下游直接作用靶点,其可被 miR-342-3p 靶向下调来对 CRC 起到明显抗癌作用<sup>[15]</sup>。ANXA2 在胰腺癌症细胞中表达上调可促进其增殖和转移<sup>[30]</sup>,且 ANXA2 可通过下调自然杀伤细胞和树突状细胞的比例及其效应分子的表达来

促进 HCC 的免疫逃逸<sup>[31]</sup>。下调 ANXA2 表达可抑制 HCC 的体外细胞增殖、迁移和侵袭以及体内肿瘤生长<sup>[17]</sup>。由此推测调控 miR-342-3p/ANXA2 轴可能是 LINC00313 影响 HCC 细胞增殖、凋亡和侵袭的分子机制。本研究结果显示,与人肝实质细胞相比, Li-7、HuH-7、Hep3B2.1-7 细胞 ANXA2 mRNA 及蛋白表达均升高,这与 miR-342-3p 表达趋势相反;双荧光素酶报告基因实验结果显示 miR-342-3p 与 ANXA2 存在靶向关系;实时荧光定量 PCR 结果显示,过表达 miR-342-3p 可下调 ANXA2 表达。以上结果提示 LINC00313 可能通过靶向 miR-342-3p 进而调控 ANXA2 表达。体内实验证实敲低 LINC00313 在升高裸鼠移植瘤中 miR-342-3p 表达的同时可降低 ANXA2 表达,提示 LINC00313 可能通过 miR-342-3p/ANXA2 轴介导 HCC 的发生过程。

为了进一步验证 LINC00313 在 HCC 中的作用机制,本研究以 LINC00313 siRNA 及 miR-342-3p 抑制物联合转染 Li-7 细胞,相比 LINC00313 siRNA 单独转染,可升高细胞 ANXA2 mRNA 及蛋白表达、增殖率、集落生成率、侵袭数目、vimentin 蛋白表达,降低其 miR-342-3p 表达、凋亡率、E-cadherin 蛋白表达、Bax/Bcl-2,表明 miR-342-3p 抑制剂可减弱敲低 LINC00313 对 HCC 细胞增殖、EMT 及侵袭的抑制作用,消除其对 HCC 细胞凋亡的促进作用,最终逆转其对 HCC 的抗癌功效,揭示敲低 LINC00313 抑制 HCC 细胞增殖及侵袭并促进其凋亡是通过上调 miR-342-3p 实现的。

综上所述, LINC00313 通过调节 miR-342-3p/ANXA2 轴而介导 HCC 的发生及恶性进展,敲低 LINC00313 可通过上调 miR-342-3p 而降低 ANXA2 表达,进而减弱 HCC 细胞增殖、侵袭能力,促使其凋亡,本文为 HCC 发病机制的深入阐释提供了新的科学依据,并提供了新的潜在治疗靶点,有助于 HCC 临床诊疗技术的开发改进。然而,本研究也存在一定局限性,如未过表达 ANXA2 进一步验证 LINC00313 的调控机制,仅使用一种 HCC 细胞系,在未来的实验中将结合其他 HCC 细胞系和上调 ANXA2 来验证这一结论。此外,收集临床样本来验证 LINC00313、miR-342-3p、ANXA2 在肝癌组织及正常组织中的表达,也是下一步研究的重点之一。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 吴剑飞负责实验设计与实施以及论文撰写, 白雪峰、田晰晰和杨季红负责数据的收集与统计学分析, 张全、赵继森负责技术、材料支持, 于国栋和张锐指导实验, 审核和修改论文。

## 参考文献

- [1] Ganesan P, Kulik LM. Hepatocellular carcinoma: new developments[J]. *Clin Liver Dis*, 2023, 27(1):85-102. doi: [10.1016/j.cld.2022.08.004](https://doi.org/10.1016/j.cld.2022.08.004).
- [2] Johnson P, Zhou Q, Dao DY, et al. Circulating biomarkers in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(10): 670-681. doi: [10.1038/s41575-022-00620-y](https://doi.org/10.1038/s41575-022-00620-y).
- [3] Haber PK, Castet F, Torres-Martin M, et al. Molecular markers of response to anti-PD1 therapy in advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(1):72-88. doi: [10.1053/j.gastro.2022.09.005](https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.09.005).
- [4] Yan T, Yu LX, Zhang N, et al. The advanced development of molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Med*, 2022, 19(6): 802-817. doi: [10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0661](https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0661).
- [5] Chen SS, Zhang YC, Ding XY, et al. Identification of lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA network as biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *Front Genet*, 2022, 13: 838869. doi: [10.3389/fgene.2022.838869](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.838869).
- [6] Kong WC, Zhang L, Chen Y, et al. Cancer cell-derived exosomal LINC00313 induces M2 macrophage differentiation in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24(12): 2395-2408. doi: [10.1007/s12094-022-02907-7](https://doi.org/10.1007/s12094-022-02907-7).
- [7] Zhai YN, Liu Y, Wang Z, et al. Long non-coding RNA LINC00313 accelerates cervical carcinoma progression by miR-4677-3p/CDK6 axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 2213-2226. doi: [10.2147/OTT.S265007](https://doi.org/10.2147/OTT.S265007).
- [8] Vishnoi A, Rani S. miRNA biogenesis and regulation of diseases: an updated overview[J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2595:1-12. doi: [10.1007/978-1-0716-2823-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2823-2_1).
- [9] Shehab-Eldeen S, Metwaly MF, Saber SM, et al. microRNA-29a and microRNA-124 as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma[J]. *Dig Liver Dis*, 2023, 55(2):283-290. doi: [10.1016/j.dld.2022.04.015](https://doi.org/10.1016/j.dld.2022.04.015).
- [10] Roy B, Ghose S, Biswas S. Therapeutic strategies for miRNA delivery to reduce hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 124:134-144. doi: [10.1016/j.semedb.2021.04.006](https://doi.org/10.1016/j.semedb.2021.04.006).
- [11] Chen HT, Wahafu P, Wang LL, et al. LncRNA LINC00313 knockdown inhibits tumorigenesis and metastasis in human osteosarcoma by upregulating FOSL2 through sponging miR-342-3p[J]. *Yonsei Med J*, 2020, 61(5): 359-370. doi: [10.3349/ymj.2020.61.5.359](https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.5.359).
- [12] Yao J, Dai Y, Liu Z, et al. miR-342-3p Suppresses glioblastoma development via targeting CDK6[J]. *Acta Biochim Pol*, 2022, 69(2): 393-397. doi: [10.18388/abp.2020\\_5830](https://doi.org/10.18388/abp.2020_5830).
- [13] Xie ZZ, Xiang H, Li JK, et al. SNHG20 promotes the development of laryngeal squamous cell carcinoma via miR-342-3p/MTDH axis[J]. *Heliyon*, 2022, 8(8): e10085. doi: [10.1016/j.heliyon.2022.e10085](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10085).
- [14] Komoll RM, Hu QL, Olarewaju O, et al. microRNA-342-3p is a potent tumour suppressor in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2021, 74(1):122-134. doi: [10.1016/j.jhep.2020.07.039](https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.07.039).
- [15] Zhou L, Li J, Tang YP, et al. Exosomal LncRNA LINC00659 transferred from cancer-associated fibroblasts promotes colorectal cancer cell progression via miR-342-3p/ANXA2 axis[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):8. doi: [10.1186/s12967-020-02648-7](https://doi.org/10.1186/s12967-020-02648-7).
- [16] Guo C, Trivedi R, Tripathi AK, et al. Higher expression of annexin A2 in metastatic bladder urothelial carcinoma promotes migration and invasion[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(22):5664. doi: [10.3390/cancers14225664](https://doi.org/10.3390/cancers14225664).
- [17] Wang Y, Xu W, Zu MH, et al. Circular RNA circ\_0021093 regulates miR-432/Annexin A2 pathway to promote hepatocellular carcinoma progression[J]. *Anticancer Drugs*, 2021, 32(5):484-495. doi: [10.1097/CAD.0000000000001053](https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000001053).
- [18] Yin D, Hu ZQ, Luo CB, et al. LINC01133 promotes hepatocellular carcinoma progression by sponging miR-199a-5p and activating annexin A2[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(5): e409. doi: [10.1002/ctm2.409](https://doi.org/10.1002/ctm2.409).
- [19] Nagaraju GP, Dariya B, Kasa P, et al. Epigenetics in hepatocellular carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 86(Pt 3): 622-632. doi: [10.1016/j.semcancer.2021.07.017](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.07.017).
- [20] Vogel A, Meyer T, Sapisochin G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1345-1362. doi: [10.1016/S0140-6736\(22\)01200-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01200-4).
- [21] Liu ZZ, Fang BR, Cao J, et al. LINC00313 regulates the metastasis of testicular germ cell tumors through epithelial-mesenchyme transition and immune pathways[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 12141-12155. doi: [10.1080/21655979.2022.2073128](https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2073128).
- [22] Wang JX, Zhang LH, Wang CH, et al. LINC00313/miR-4429 axis provides novel biomarkers for the diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancer[J]. *Acta Biochim Pol*, 2022, 69(2):343-348. doi: [10.18388/abp.2020\\_5794](https://doi.org/10.18388/abp.2020_5794).
- [23] 王响, 郜茜. 长链非编码RNA GAS8-AS1与微小RNA 135b在肝

- 细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(1): 87-93. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.01.007.
- Wang Y, Gao Q. Expressions of long noncoding GAS8-AS1 and microRNA 135b in hepatocellular carcinoma and their clinical significance[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(1):87-93. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.01.007.
- [24] 邓家琦, 钱保林, 张丽云, 等. 长链非编码RNA 909靶向调控miR-194-5p/DACH1轴对胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(3):340-350. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.03.007.
- Deng JQ, Qian BL, Zhang LY, et al. Effect of long non-coding RNA 909 on proliferation, migration, and invasion of pancreatic cancer cells by targeting regulation of miR-194-5p/DACH1 axis[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(3): 340-350. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.03.007.
- [25] Tang JC, Li X, Zhao LL, et al. Circ\_0006220 contributes to NSCLC progression through miR-342-3p/GOT2 axis[J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2023, 29(1): 11-22. doi: 10.5761/atcs. oa.22-00090.
- [26] Hong H, Sui CJ, Qian T, et al. Long noncoding RNA LINC00460 conduces to tumor growth and metastasis of hepatocellular carcinoma through miR-342-3p-dependent AGR2 up-regulation[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(11): 10544-10555. doi: 10.18632/aging.103278.
- [27] Abdelraouf EM, Hussein RRS, Shaaban AH, et al. Annexin A2 (AnxA2) association with the clinicopathological data in different breast cancer subtypes: a possible role for AnxA2 in tumor heterogeneity and cancer progression[J]. Life Sci, 2022, 308: 120967. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120967.
- [28] Wang YZ, Wang YC, Liu W, et al. TIM-4 orchestrates mitochondrial homeostasis to promote lung cancer progression via ANXA2/PI3K/AKT/OPA1 axis[J]. Cell Death Dis., 2023, 14:141. doi: 10.1038/s41419-023-05678-3.
- [29] Chauhan D, Chandra R, Kumar S. Hemocompatible functionalized hydrogen substituted graphdiyne based highly durable biosensor for liver cancer detection[J]. ACS Appl Bio Mater, 2023, 6(6):2257-2265. doi: 10.1021/acsabm.3c00116.
- [30] Wang J, He ZW, Liu XY, et al. LINC00941 promotes pancreatic cancer malignancy by interacting with ANXA2 and suppressing NEDD4L-mediated degradation of ANXA2[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(8):718. doi: 10.1038/s41419-022-05172-2.
- [31] Qiu LW, Liu YF, Cao XQ, et al. Annexin A2 promotion of hepatocellular carcinoma tumorigenesis via the immune microenvironment[J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(18):2126-2137. doi: 10.3748/wjg.v26.i18.2126.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 吴剑飞, 白雪峰, 田晰晰, 等. 长链非编码RNA LINC00313与miR-342-3p/膜联蛋白A2轴在肝细胞癌细胞中的作用与机制[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(7): 1032-1044. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.008

Cite this article as: Wu JF, Bai XF, Tian XX, et al. Role of the long non-coding RNA LINC00313 and miR-342-3p/annexin A2 axis in hepatocellular carcinoma cells and the action mechanism[J]. Chin J Gen Surg, 2023, 32(7): 1032-1044. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.07.008