第 31 卷　第 1 期
2022 年 1 月

中国普通外科杂志
Chinese Journal of General Surgery

Vol.31　No.1
Jan.　2022

·基础研究·

# 缺氧诱导的 lncRNA AC114803 在肝细胞癌中的表达及其作用

肖雪莲，刘润坤，涂康生

（西安交通大学第一附属医院 肝胆外科，陕西 西安 710000）

**摘　要**　**背景与目的：** 缺氧是肝细胞癌（HCC）微环境的关键特征之一。缺氧可诱导编码基因和非编码 RNA 的表达，从而影响 HCC 的进展。既往研究发现缺氧反应性长链非编码 RNA（lncRNA）AC114803 与肾细胞癌预后相关，但其在 HCC 中尚未见研究。因此，本研究探讨 HCC 中 lncRNA-AC114803 表达与缺氧的关系及其功能。

**方法：** 低氧（1%O$_2$）诱导后，用 lncRNA 芯片检测 Hep3B 细胞中缺氧调控的 lncRNA，并用 qRT-PCR 在 HCCLM3 和 Hep3B 细胞中验证。通过 TCGA 数据分析 AC114803 在 HCC 组织中的表达及其与患者预后的关系。用 AC114803 过表达质粒转染 HCCLM3 和 Hep3B 细胞后，分别用 CCK-8、细胞划痕实验检测细胞增殖和迁移能力的变化，用 Western blot 检测相关蛋白的表达变化。

**结果：** lncRNA 芯片分析结果显示，AC114803 是 Hep3B 细胞中在缺氧环境下明显变化的 lncRNA 之一；qRT-PCR 验证结果显示，HCCLM3 和 Hep3B 细胞中仅 AC114803 的表达在缺氧环境下明显上调（均 $P<0.05$）。TCGA 数据分析显示，AC114803 在 HCC 组织表达明显高于正常肝组织，且 AC114803 高表达患者生存率明显低于 AC114803 低表达患者（均 $P<0.05$）。HCC 细胞（HCCLM3、Hep3B）过表达 AC114803 后，增殖和迁移能力明显增强，间质标志物 N-cadherin 和 vimentin 以及抗凋亡蛋白 bcl-2 和细胞周期蛋白 CCND1 明显上调，而上皮标志物 E-cadherin 和促凋亡蛋白 bax 明显下调（均 $P<0.05$）。

**结论：** 缺氧可诱导 HCC 细胞中 AC114803 的表达，其高表达与 HCC 患者的不良预后密切相关，AC114803 可能通过调控上皮间质转化从而促进细胞增殖、迁移。

**关键词**　癌，肝细胞；低氧；RNA，长链非编码；预后；肿瘤浸润

**中图分类号：** R735.7

# Expression of hypoxia-induced long non-coding RNA AC114803 in hepatocellular carcinoma and its function

XIAO Xuelian, LIU Runkun, TU Kangsheng

(Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710000, China)

**Abstract**　**Background and Aims:** Hypoxia is one of the key features of microenvironment of hepatocellular carcinoma (HCC). Hypoxia can induce the expressions of coding genes and non-coding RNAs thus,

http://www.zpwz.net

affecting the progression of HCC. Previous studies demonstrated that the hypoxia responsive long non-coding RNA (lncRNA) AC114803 is related to the prognosis of renal cell carcinoma. However, its role in HCC has not been studied. Therefore, this study was performed to investigate the relationship between AC114803 expression and hypoxia and its function in HCC cells.

**Methods:** After hypoxia exposure, the hypoxia-regulated lncRNAs in Hep3B cells were detected by lncRNA microarray, and then were verified in HCCLM3 and Hep3B cells by qRT-PCR. The expression of AC114803 in HCC tissues and its relationship with the prognosis of patients were analyzed in TCGA samples. In HCCLM3 and Hep3B cells after transfection with AC114803 overexpression plasmids, the changes in proliferative and migration abilities were determined by CCK-8 assay and wound healing assay, and changes in expressions of the relevant proteins were measured by Western blot analysis.

**Results:** LncRNA microarray analysis showed AC114803 was one of the significantly changed lncRNAs in Hep3B cells under hypoxia condition, and qRT-PCR verification showed that only the expression in AC114803 was significantly up-regulated in either HCCLM3 cells or Hep3B cells (all $P<0.05$). TCGA data analysis showed that the expression of AC114803 in HCC tissues were significantly higher than that in normal liver tissues, and the survival rate in patients with high AC114803 expression was significantly lower than in those with low AC114803 expression (both $P<0.05$). After AC114803 overexpression, the proliferation and migration abilities of HCC cells (HCCLM3 and Hep3B) were significantly enhanced, and the expressions of the mesenchymal markers N-cadherin and vimentin as well as the anti-apoptotic protein bcl-2 and CCND1 were significantly up-regulated, while the epithelial marker E-cadherin and the pro-apoptotic protein bax were significantly down-regulated (all $P<0.05$).

**Conclusion:** Hypoxia can induce the expression of AC114803 in HCC cells, and high expression of AC114803 is closely associated with the poor prognosis of HCC patients. The action of AC114803 may probably be associated with promoting cell proliferation and migration by regulating the epithelial-mesenchymal transition process.

**Key words**　　Carcinoma, Hepatocellular; Hypoxia; RNA, Long Noncoding; Prognosis; Neoplasm Invasiveness

**CLC number:** R735.7

原发性肝癌是世界第五大常见肿瘤，其中75%~85%为肝细胞癌（HCC），而中国该病发病例数约占全球的45.3%[1]。尽管现有治疗手段如手术切除、局部射频消融治疗和介入治疗等取得了不错的进展，但由于较高的复发和转移率，HCC患者的5年生存率仍不到12%[2]。越来越多的研究表明在HCC中存在大量分子的异常表达，在癌症进程中发挥重要的调控作用[3-4]。进一步探索HCC进展的机制将有助于治疗方法的改进，最终改善患者预后。

实体肿瘤中，由于肿瘤细胞的快速增长对氧的大量消耗导致缺氧微环境的产生，缺氧进一步诱导肿瘤细胞适应性地表达缺氧诱导因子1α（hypoxia-inducible factor-1α，HIF-1α），而HIF-1α参与调控多种靶基因的表达，进而促进肿瘤细胞的多种恶性生物学行为[5-6]。长链非编码RNAs（long non-coding RNAs，lncRNA）是一类长度>200核苷酸的非编码RNA，在包括HCC在内的多种肿瘤中表达紊乱，并影响患者预后[7-8]。研究[9-10]发现，缺氧不仅可以调控蛋白编码基因的表达，同时也可以诱导lncRNA的表达。缺氧诱导的lncRNA表达可通过多种机制影响细胞的增殖、迁移和代谢，进而影响患者预后[11-12]。然而，仍有很多缺氧反应性lncRNA，以及这些lncRNA调控肿瘤进程的机制有待发现。本研究通过芯片发现了HCC细胞中的缺氧反应性lncRNA AC114803，并进一步探索了其对HCC生物学功能的影响及可能的机制，以期更好地理解HCC进展的分子机制。

# 1　材料与方法

## 1.1　数据来源

本研究下载了 TCGA 数据库（https://portal.gdc.cancer.gov）中 HCC 的转录组数据（HCC 组织 374 例，正常组织 50 例），同时获取了患者的生存时间。

## 1.2　实验材料

人 HCC 细胞系 HCCLM3 和 Hep3B 购买于中科院上海细胞库，缺氧培养箱（PHCbi），Dulbecco 的改良 Eagle 培养基（Dulbecco's Modified Eagle Medium，DMEM）（Sigma），青霉素 – 链霉素双抗（HyClone），胰酶及胎牛血清（Gibco），RNA 提取试剂 TRIzol（Life technologies），RNA 反转录试剂盒（ThermFisher），SYBR Premix Ex Taq ™ II Kit（Takara），AC114803 过表达质粒和阴性对照质粒、AC114803 引物，18S 引物（北京擎科），RIPA 细胞裂解液，BCA 蛋白定量试剂盒，5× 蛋白示踪缓冲液，转染试剂 lip8000，CCK-8 试剂盒（碧云天），聚偏二氟乙烯（polyvinylidene fluoride，PVDF）膜，增强化学发光（enhanced chemiluminescent，ECL）试剂（Millipore），N-cadherin，E-cadherin，vimentin，β-actin 抗体（Proteintech），bcl-2，bax，CCND1 抗体（Santa Cruz）。

## 1.3　实验方法

### 1.3.1　细胞培养　
人 HCC 细胞 HCCLM3 和 Hep3B 培养于含 1% 双抗、10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中，并放置于 5%$CO_2$ 或 1%$O_2$ 的 37 ℃培养箱中培养。

### 1.3.2　lncRNA 芯片　
Hep3B 细胞分别在常氧（20%$O_2$）和缺氧（1%$O_2$）条件下培养 48 h，然后，使用 TRIzol 试剂从 Hep3B 细胞中分离总 RNA，通过 NanoDrop ND-1000 测量 RNA 数量和质量。根据制造商的标准方案，应用上海数谱生物的 Arraystar Human LncRNA Arrays V5 芯片鉴定不同培养条件下 Hep3B 表达的 lncRNA 和 mRNA。芯片数据（GSE155505）被上传到 GEO 数据库。

### 1.3.3　细胞转染　
将处于生长对数期的 HCCLM3 和 Hep3B 细胞计数，按照 $3 \times 10^5$ 个细胞/孔接种于 6 孔板中，待细胞融合度达约 50% 时进行转染。按照 lip8000 试剂转染说明书，将 2.5 μg AC114803 质粒或阴性对照质粒稀释至 125 μL 无血清培养基，4 μL lipo8000 稀释至 125 μL 无血清培养基，两者混合后加入 6 孔板细胞中，24 h 后换液，继续培养至 48 h。48 h 收取细胞并提取 RNA 进行 qRT-PCR 检测转染

效率，同时收取细胞并提取蛋白进行蛋白质免疫印记实验，其余细胞进行后续功能学试验。

### 1.3.4　RNA 提取和 qRT-PCR　
参照 TRIzol 说明书将 TRIzol 加入细胞中提取总 RNA。用核酸仪测定 RNA 浓度后，取 1 μg RNA 按 PrimeScript RT 试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,反应条件为：16 ℃ 30 min，42 ℃ 30 min，72 ℃ 10 min。取 3 μL cDNA 按照 SYBR Premix Ex Taq™ II Kit 说明书进行 qRT-PCR，反应条件为：98 ℃ 10 min，98 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，共 50 个循环。反转录及 qRT-PCR 在 BIO-RAD CFX96 上进行。AC114803 正向：5'-CCT CTG GGG ACT TGG ACT GAT-3'，反向：5'-TGC TCT GG TGT CCT CTC TGT A-3'；以人 18s 为内参，18s 正向：5'-CGG CGA CGA CCC ATT CGA AC-3'，反向：5'-GAA TCG AAC CCT GAT TCC CCG TC-3'。采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算 AC114803 的相对表达量。

### 1.3.5　CCK-8 试验　
细胞转染 48 h 后按 5 000 个/孔接种于 96 孔板，每组实验设 5 个复孔。于 5% $CO_2$、37 ℃培养箱中培养 0、24、48、72 h 后，每孔加入 10 μL CCK-8 试剂，培养箱孵育 1 h，酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度值（OD 值）。

### 1.3.6　细胞划痕试验　
细胞转染 48 h 后，用枪头在每孔细胞中十字交叉画出 4 条直线，PBS 洗涤细胞，加入新鲜培养液，拍照，此时为 0 h，继续培养 48 h 后拍照为 48 h。细胞迁移率 =（宽度$_{0 h}$-宽度$_{48 h}$）/宽度$_{0 h}$×100%。

### 1.3.7　Western blotting 试验　
按照 RIPA 试剂盒步骤，在 4 ℃条件下充分裂解细胞提取总蛋白。采用 BCA 法进行蛋白定量，取 20 μg 总蛋白加入 5× 上样缓冲液后 100 ℃煮沸 5 min 变性蛋白。将变性蛋白质在 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶上电泳后转印至 PVDF 膜，用 5% 封闭牛奶封闭 2 h，膜与一抗（N-cadherin：1∶2 000；E-cadherin：1∶2 000；vimentin：1∶1 000；bcl-2：1∶1 000；bax：1∶1 000；CCND1：1∶1 000；β-actin：1∶2 000）4 ℃孵育过夜，将膜与二抗（1∶3 000）室温孵育 1 h，用 ECL 发光液显影，最后用 Amersham™ Imager 680 凝胶成像仪拍照。

## 1.4　统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析。符合正态分布、方差齐性的计量资料的两组间比较使用 $t$ 检验，方差不齐性计量资料的两组间比较使用非参数检验。表达量采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。根据 AC114803 表达中位值将患者分为高、低

表达组，使用 R 语言的 survival 包绘制生存曲线，采用 Kaplan-Meier 法计算其与生存的相关性。$P<0.05$ 视为差异有统计学意义。

# 2 结 果

## 2.1 缺氧对 HCC 细胞 AC114803 表达的影响

将 Hep3B 细胞缺氧处理 48 h 后通过芯片检测缺氧相关的 lncRNA，结合 TCGA 预后分析，图 1A 展示了与 HCC 患者预后有关的缺氧诱导变化倍数较大的 lncRNA。通过 qRT-PCR 进一步验证，发现在 HCC 细胞 HCCLM3 和 Hep3B 中仅 AC114803 可被缺氧诱导表达（图 1B–C）。

## 2.2 AC114803 表达与 HCC 患者预后的关系

通过 TCGA 数据分析发现 AC114803 在 HCC 组织中表达水平明显高于正常组织，差异有统计学意义（$P<0.05$）（图 2A）。根据 AC114803 表达中位值将患者分为高表达组和低表达组，采用 Kaplan-Meier 法计算其与总生存时间的相关性，生存曲线显示，AC114803 高表达组患者的总生存率明显低于 AC114803 低表达组（$P<0.05$）（图 2B）。以上结果提示 AC114803 在 HCC 中可能发挥促癌作用。
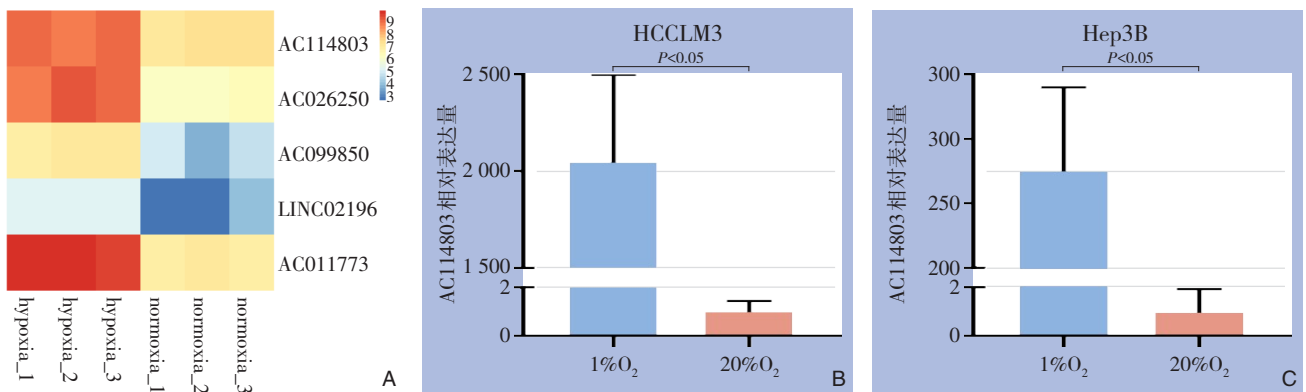


图 1 缺氧对 HCC 细胞 AC114803 表达的影响 A：芯片检测 Hep3B 细胞系中缺氧诱导的 lncRNA；B–C：qRT-PCR 检测缺氧对 HCCLM3 和 Hep3B 细胞中 AC114803 表达的影响

**Figure 1 Influence of hypoxia on expression of AC114803 in HCC cells** A: The lncRNAs induced by hypoxia in Hep3B cells detected by microarray; B–C: The effect of hypoxia on the expression of AC114803 in HCCLM3 and Hep3B cells detected by qRT-PCR
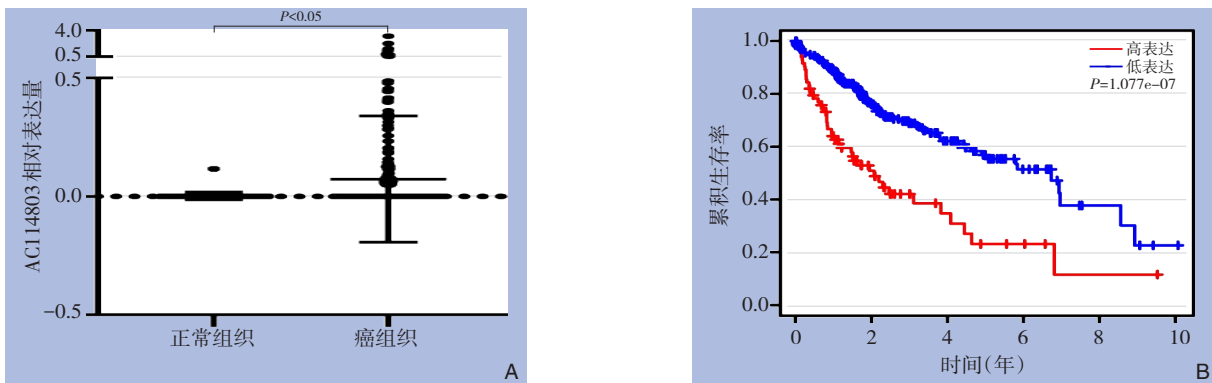


图 2 HCC 的 TCGA 数据中 AC114803 的表达及与预后的关系 A：AC114803 在 HCC 组织和正常组织中的表达；B：不同 AC114803 表达水平患者的总生存曲线

**Figure 2 The expression of AC114803 in HCC and its prognostic value from TCGA data analysis** A: The expression of AC114803 in HCC tissues and normal tissues; B: Overall survival curves of HCC patients with different expression levels of AC114803

## 2.3 AC114803 对 HCC 细胞增殖的影响

在 HCC 细胞 HCCLM3 和 Hep3B 中转染 AC114803 过表达质粒和阴性对照质粒，用 RT-

qPCR 检测转染效率，结果显示 AC114803 质粒组和阴性对照组的 AC114803 相对表达量分别是 345 310 ± 27 377 和 1.000 ± 0.271（HCCLM3），70 510 ± 2 589 和

1.000 ± 0.164（Hep3B），差异均有统计学意义（均 $P<0.05$）（图 3A−B）。通过 CCK-8 试验检测 AC114803 对细胞增殖能力的影响，结果显示，自转染后第 3 天，AC114803 过表达组细胞增殖能力明显

增加，差异均有统计学意义（均 $P<0.05$）（图 3C−D），提示过表达 AC114803 可以促进 HCC 细胞的增殖能力。



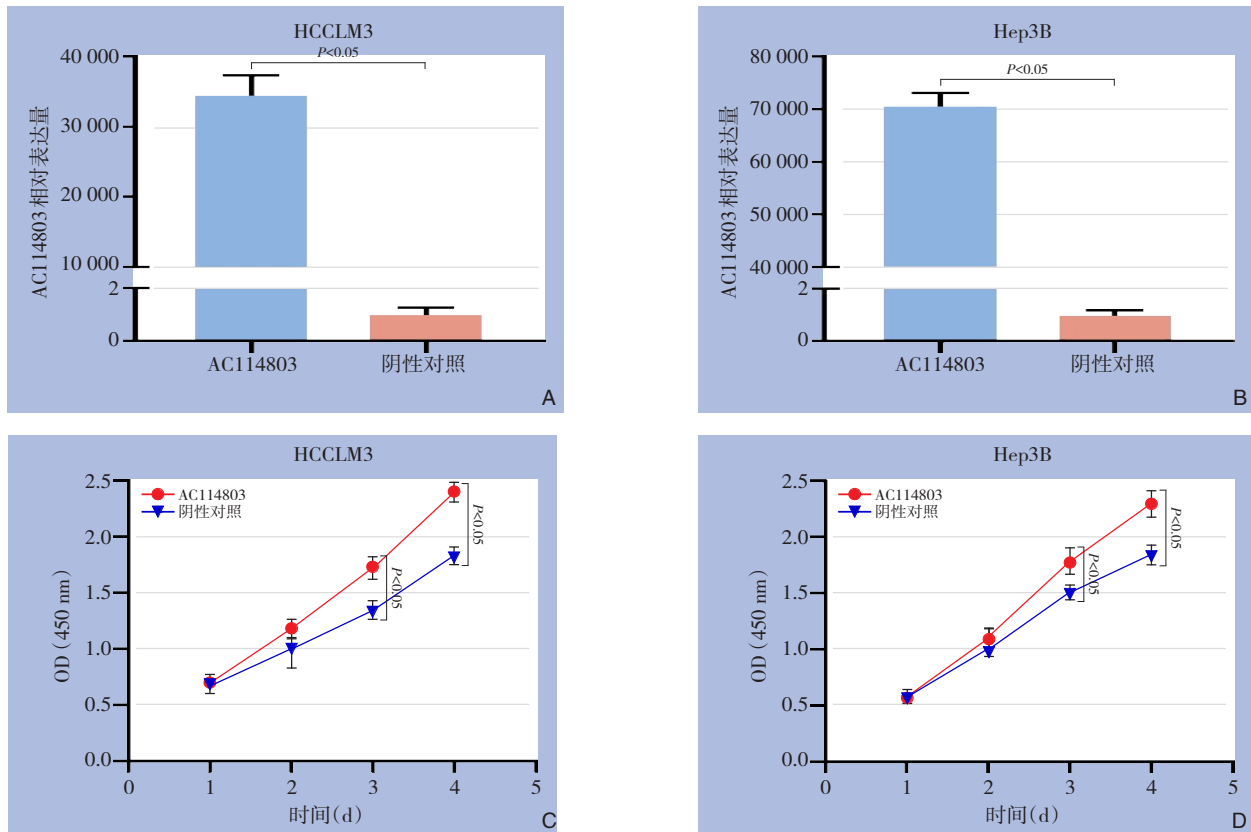图 3　过表达 AC114803 对 HCC 细胞增殖的影响　　A−B：qRT-PCR 检测 HCCLM3 和 Hep3B 细胞转染 AC114803 过表达质粒或阴性对照质粒后 AC114803 的相对表达量；C−D：CCK8 试验检测 AC114803 对 HCCLM3 和 Hep3B 细胞增殖能力的影响

**Figure 3　The effect of AC114803 overexpression on the proliferation in HCC cells**　　A−B: The relative expressions of AC114803 in HCCLM3 and Hep3B cells after transfected with AC114803 overexpression plasmid and empty plasmid detected by qRT-PCR; C−D: The effect of AC114803 on the proliferation ability of HCCLM3 and Hep3B cells detected by CCK8 assay

### 2.4　AC114803 对 HCC 细胞迁移的影响

为了进一步探索 AC114803 对细胞迁移能力的影响，在 HCC 细胞 HCCLM3 和 Hep3B 中转染 AC114803 过表达质粒和阴性对照质粒 48 h 后进行细胞划痕试验。结果显示 AC114803 质粒组和阴性对照组的细胞迁移率分别为 0.490 ± 0.018 和 0.296 ± 0.084（HCCLM3），0.507 ± 0.065 和 0.312 ± 0.056（Hep3B），差异均有统计学意义（均 $P<0.05$）（图 4A−B），提示过表达 AC114803 可以促进 HCC 细胞的迁移能力。

### 2.5　AC114803 对细胞增殖和迁移相关蛋白表达的影响

为了揭示 AC114803 促进 HCC 细胞增殖和迁移

能力的潜在机制，在 HCC 细胞 HCCLM3 和 Hep3B 中转染了 AC114803 过表达质粒和阴性对照质粒，48 h 后检测了细胞增殖和迁移相关蛋白的表达。结果显示 AC114803 过表达组间叶细胞标志物 N-cadherin 和 vimentin 表达上调，而上皮细胞标志物 E-cadherin 表达下调，提示 AC114803 可能通过促进上皮间质转化过程促进细胞的迁移；同时发现 AC114803 过表达组抗凋亡蛋白 bcl-2 表达上调而促凋亡蛋白 bax 表达下调，细胞周期蛋白 CCND1 表达上调，提示 AC114803 可能通过抑制细胞的凋亡、调控细胞周期促进 HCC 细胞的增殖（图 5）。
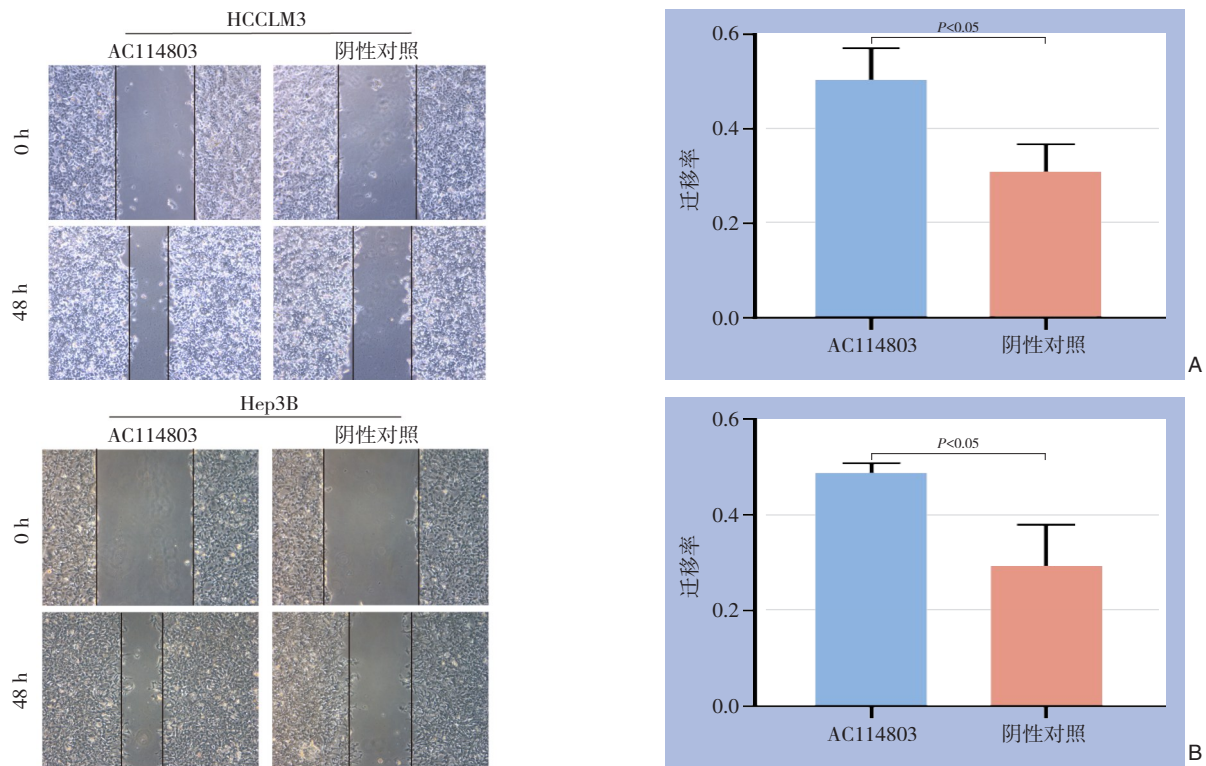
图4 过表达 AC114803 对HCC 细胞迁移的影响    A: HCCLM3 细胞；B: Hep3B 细胞
Figure 4    The effect of AC114803 overexpression on migration abilityin HCC cells    A: HCCLM3 cells; B: Hep3B cells
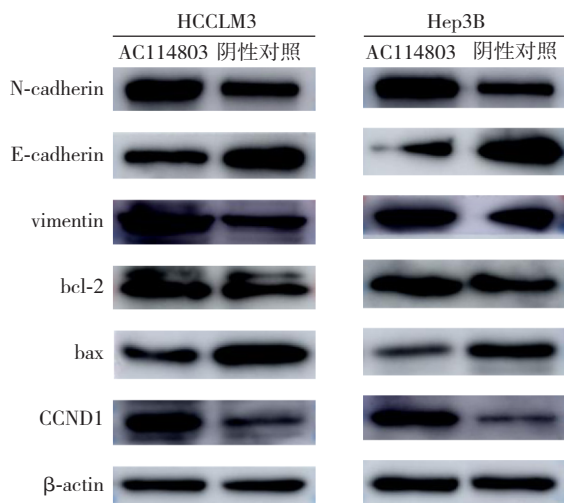


图5 过表达 AC114803 对增殖和迁移相关蛋白表达的影响
Figure 5    The effect of AC114803 overexpression on the expressions of proteins associated with cell proliferation and migration

## 3　讨　论

HCC 中存在大量基因的表达紊乱，包括编码基因和非编码基因[13]。lncRNA 作为非编码基因，在 HCC 中常异常表达并参与调控肿瘤进程[14–15]。肝肿瘤中常存在不同程度的缺氧，并导致 HIF-1α 适应性的激活，从而改变下游靶基因的表达[5, 16]。因此，进一步地探索缺氧反应性 lncRNA 与 HCC 的关系将有助于更好地理解 HCC 发生发展的分子机制[17–18]。本研究通过芯片检测发现缺氧可诱导 Hep3B 细胞中多种 lncRNA 的表达，并进一步通过 qRT-PCR 在 HCC 细胞中验证发现了一个新的缺氧诱导性 lncRNA AC114803。通过 TCGA 数据分析发现 AC114803 在肿瘤组织中表达上调，其高表达与患者预后不良有关，提示 AC114803 可能参与调控 HCC 的疾病进程。研究报道多种缺氧反应性 lncRNA 如 AC099850.4、MIR210HG 和 NRAV 可联合作为 HCC 的独立预后标志物[19]。这些研究结果表明缺氧反应性 lncRNA 可能参与调控了肿瘤进展，进而影响患者预后。

缺氧反应性 lncRNA 通过影响肿瘤的多种生物学行为调控肿瘤进展，如肿瘤细胞的增殖、迁移、血管侵犯、代谢特性等[11–12, 20]。本研究发现 AC114803 可促进 HCC 细胞的增殖和迁移，进一步机制探索发现 AC114803 促进抗凋亡基因 bcl-2 表达，而抑制促凋亡基因 bax 表达，同时促进细胞增殖标志物 CCND1 的表达，提示 AC114803 可能通过

抑制细胞的凋亡促进细胞的增殖。多个研究表明缺氧诱导 lncRNA 表达上调, 并通过不同机制促进肿瘤细胞的增殖。Wang 等[21]研究发现 MIR31HG 通过靶向作用于 HIF-1α 和 P21 调控细胞周期进程, 抑制细胞凋亡, 从而促进头颈癌细胞的增殖。Zhou 等[22] 研究发现 HIF-1α 可以激活 lncRNA RAET1K 转录, RAET1K 沉默显著抑制 HCC 细胞增殖和侵袭并阻断缺氧诱导的乳酸浓度和葡萄糖摄取的增加, 提示缺氧诱导性 lncRNA 可能作为潜在的治疗靶点。另外, 本研究发现 AC114803 可促进间叶细胞标志物 N-cadherin 和 vimentin 的表达, 而抑制上皮细胞标志物 E-cadherin 的表达, 表明 AC114803 可能促进 HCC 细胞的上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程, 减弱细胞的黏附能力, 从而促进细胞的迁移。EMT 是上皮细胞获得间质细胞特征的过程, 在上皮肿瘤中常被激活, 从而促进肿瘤细胞迁移、肿瘤干性和化疗抵抗等[23-24]。lncRNAs 可通过调控 EMT 过程影响肿瘤进展, 研究发现 lncRNA-PNUTS 通过靶向作用于 miR-205 激活乳腺癌细胞的 EMT 过程, 表现为 vimentin 表达增强和 E-cadherin 表达减弱, 最终促进癌细胞的迁移和侵袭[25]。

由于缺氧可诱导 HIF-1α, HIF-2α 等多种分子表达上调[26], 后期需要进一步探索缺氧是通过何种机制诱导 AC114803 的表达。lncRNA 可竞争性结合相应的 miRNA 而相互调控[27-28], 也可以通过表观遗传学调控基因的表达等机制影响细胞的增殖、分化和凋亡等多种生物学行为[29-30], 故下一步需要探究 AC114803 具体通过哪个靶点来调控增殖和迁移相关蛋白的表达。

总之, 本研究新发现了 HCC 中的缺氧诱导性 lncRNA AC114803, 其高表达导致患者预后不良, 这可能与 AC114803 促进 HCC 细胞的增殖和迁移能力有关。

利益冲突 : 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参考文献

[1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7−30. doi: 10.3322/caac.21590.

[2] Ghouri YA, Mian I, Rowe JH. Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis[J]. J Carcinog, 2017,

16:1. doi: 10.4103/jcar.JCar_9_16.

[3] Wu JF, Ho MC, Ni YH, et al. Dysregulation of liver developmental microRNA contribute to hepatic carcinogenesis[J]. J Formos Med Assoc, 2020, 119(6):1041−1051. doi: 10.1016/j.jfma.2019.09.018.

[4] Li S, Hu Z, Zhao Y, et al. Transcriptome-Wide Analysis Reveals the Landscape of Aberrant Alternative Splicing Events in Liver Cancer[J]. Hepatology, 2019, 69(1): 359−375. doi: 10.1002/hep.30158.

[5] Lee SH, Golinska M, Griffiths JR. HIF-1-Independent Mechanisms Regulating Metabolic Adaptation in Hypoxic Cancer Cells[J]. Cells, 2021, 10(9):2371. doi: 10.3390/cells10092371.

[6] Jing X, Yang F, Shao C, et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment[J]. Mol Cancer, 2019, 18 (1):157. doi: 10.1186/s12943−019−1089−9.

[7] Huarte M. The emerging role of lncRNAs in cancer[J]. Nat Med, 2015, 21(11):1253−1261. doi: 10.1038/nm.3981.

[8] 周京涛, 刘佳, 努尔买买提·阿米都拉, 等. 上调 lncRNA SNHG12 与 miR-199a-5p/FZD6 轴对肝细胞癌细胞增殖、侵袭和上皮-间质转化的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(2):173−186. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2021.02.007.

Zhou JT, Liu J, Nuermaimaiti·AMDL, et al. Influence of lncRNA SNHG12 up-regulation and miR-199a-5p/FZD6 axis on proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(2): 173−186. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2021.02.007.

[9] Choudhry H, Schödel J, Oikonomopoulos S, et al. Extensive regulation of the non-coding transcriptome by hypoxia: role of HIF in releasing paused RNApol2[J]. EMBO Rep, 2014, 15(1):70−76. doi: 10.1002/embr.201337642.

[10] Chang YN, Zhang K, Hu ZM, et al. Hypoxia-regulated lncRNAs in cancer[J].Gene, 2016, 575(1):1−8. doi: 10.1016/j.gene.2015.08.049.

[11] Deng SJ, Chen HY, Ye Z, et al. Hypoxia-induced LncRNA-BX111 promotes metastasis and progression of pancreatic cancer through regulating ZEB1 transcription[J]. Oncogene, 2018, 37(44): 5811−5828. doi: 10.1038/s41388−018−0382−1.

[12] Hua Q, Mi B, Xu F, et al. Hypoxia-induced lncRNA-AC020978 promotes proliferation and glycolytic metabolism of non-small cell lung cancer by regulating PKM2/HIF-1α axis[J]. Theranostics, 2020, 10(11):4762−4778. doi: 10.7150/thno.43839.

[13] Li L, Lei Q, Zhang S, et al. Screening and identification of key biomarkers in hepatocellular carcinoma: Evidence from bioinformatic analysis[J]. Oncol Rep, 2017, 38(5):2607−2618. doi: 10.3892/or.2017.5946.

[14] Huang Z, Zhou JK, Peng Y, et al. The role of long noncoding RNAs in hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 77. doi:

10.1186/s12943−020−01188−4.

[15] Wei L, Wang X, Lv L, et al. The emerging role of microRNAs and long noncoding RNAs in drug resistance of hepatocellular carcinoma[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 147. doi: 10.1186/s12943−019−1086−z.

[16] Feng J, Dai W, Mao Y, et al. Simvastatin re-sensitizes hepatocellular carcinoma cells to sorafenib by inhibiting HIF-1α/PPAR- γ/PKM2-mediated glycolysis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1):24. doi: 10.1186/s13046−020−1528−x.

[17] Zhang Q, Cheng Q, Xia M, et al. Hypoxia-Induced lncRNA-NEAT1 Sustains the Growth of Hepatocellular Carcinoma via Regulation of miR-199a-3p/UCK2[J]. Front Oncol, 2020, 10: 998. doi: 10.3389/fonc.2020.00998.

[18] Wang L, Sun L, Liu R, et al. Long non-coding RNA MAPKAPK5-AS1/PLAGL2/HIF-1α signaling loop promotes hepatocellular carcinoma progression[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 72. doi: 10.1186/s13046−021−01868−z.

[19] Zhou C, Zhang H, Lu L. Identification and Validation of Hypoxia-Related lncRNA Signature as a Prognostic Model for Hepatocellular Carcinoma[J]. Front Genet, 2021, 12: 744113. doi: 10.3389/fgene.2021.744113.

[20] Niu Y, Bao L, Chen Y, et al. HIF2-Induced Long Noncoding RNA RAB11B-AS1 Promotes Hypoxia-Mediated Angiogenesis and Breast Cancer Metastasis[J]. Cancer Res, 2020, 80(5): 964−975. doi: 10.1158/0008−5472.CAN−19−1532.

[21] Wang R, Ma Z, Feng L, et al. LncRNA MIR31HG targets HIF1A and P21 to facilitate head and neck cancer cell proliferation and tumorigenesis by promoting cell-cycle progression[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1):162. doi: 10.1186/s12943−018−0916−8.

[22] Zhou Y, Huang Y, Hu K, et al. HIF1A activates the transcription of lncRNA RAET1K to modulate hypoxia-induced glycolysis in hepatocellular carcinoma cells via miR-100−5p[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(3):176. doi: 10.1038/s41419−020−2366−7.

[23] Pastushenko I, Blanpain C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis[J]. Trends Cell Biol, 2019, 29(3):212−226. doi: 10.1016/j.tcb.2018.12.001.

[24] Jayachandran A, Dhungel B, Steel JC. Epithelial-to-mesenchymal plasticity of cancer stem cells: therapeutic targets in hepatocellular carcinoma[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1): 74. doi: 10.1186/s13045−016−0307−9.

[25] Grelet S, Link LA, Howley B, et al. A regulated PNUTS mRNA to lncRNA splice switch mediates EMT and tumour progression[J]. Nat Cell Biol, 2017, 19(9):1105−1115. doi: 10.1038/ncb3595.

[26] Bartoszewski R, Moszyńska A, Serocki M, et al. Primary endothelial cell-specific regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 and HIF-2 and their target gene expression profiles during hypoxia[J]. FASEB J, 2019, 33(7): 7929−7941. doi: 10.1096/fj.201802650RR.

[27] Zhao Z, Sun W, Guo Z, et al. Mechanisms of lncRNA/microRNA interactions in angiogenesis[J]. Life Sci, 2020, 254: 116900. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116900.

[28] 袁妙贤, 尹强, 季春宜, 等. lncRNA TUG1 在儿 童肝母细胞瘤中的表达及其与 miR-204 介导的 JAK2-STAT3 通 路关系[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(9): 1069−1075. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2020.09.006.
Yuan MX, Yin Q, Ji CY, et al. Expression of lncRNA TUG1 pediatric in hepatoblastoma and its association with miR-204-mediated JAK2-STAT3 pathway[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(9): 1069−1075. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2020.09.006

[29] Zhou Y, Sun W, Qin Z, et al. LncRNA regulation: New frontiers in epigenetic solutions to drug chemoresistance[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 189:114228. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114228.

[30] Xing C, Sun SG, Yue ZQ, et al. Role of lncRNA LUCAT1 in cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 134: 111158. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111158.

（本文编辑　宋涛）