



非编码RNA多维调控网络与肝细胞癌

杨金娥, 谢忱, 黎兰奇, 王宇, 朱颖, 庄诗美*

中山大学生命科学学院, 基因功能与调控教育部重点实验室, 广州 510275

* 联系人, E-mail: lsszsm@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2023-09-11; 接受日期: 2023-10-07; 网络版发表日期: 2023-11-13

国家自然科学基金(批准号: 91940305)和国家重点研发计划(批准号: 2022YFA1303300)资助

摘要 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC, 下称肝癌)是一种全球高发的恶性肿瘤, 其生长快、易转移、死亡率高。非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指由基因组转录的不编码蛋白质的RNA。它们数量巨大, 占人类基因组转录产物的90%以上。近年研究发现, ncRNA可以在表观遗传、转录和转录后水平调控基因表达, 或者调控蛋白质的定位及活性, 进而影响细胞的分化、增殖、死亡、运动等重要活动; ncRNA的失调与疾病的发生发展密切相关。发现肝癌相关的ncRNA并深入研究其调控网络及作用机制将为肝癌的诊断和治疗提供新策略。本文介绍了ncRNA的分类, ncRNA的生成、加工和降解机制, ncRNA的功能网络, 并总结了ncRNA在肝癌细胞恶性表型调控中的功能及机制, 最后讨论了ncRNA作为诊断标志物和治疗靶点的潜在应用。

关键词 非编码RNA, 微小RNA, 长非编码RNA, 肝癌

非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)是指不编码蛋白质的转录本, 占人类基因组转录产物的90%以上。ncRNA在生理和病理过程中发挥重要作用, 具有促癌或抑癌的功能^[1,2]。

1 非编码RNA的分类

在人类转录产物中, 除了广为人知的信使RNA(messenger RNA, mRNA), 还有数量巨大的ncRNA。ncRNA可分为两种主要类型^[3]: 结构性ncRNA和调节性ncRNA。结构性ncRNA包括核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)、转运RNA(transfer RNA, tRNA)、小核RNA(small nuclear RNA, snRNA)和小核仁RNA(small

nucleolar RNAs, snoRNAs)等。它们丰度高, 具有管家基因的特点, 主要参与蛋白质的翻译和RNA的剪接。而调节性ncRNA主要参与调控其他RNA或蛋白质的加工、修饰和功能, 进而影响细胞生命活动, 在肿瘤发生发展过程中发挥重要作用。调节性ncRNA可以进一步分为微小RNA(microRNA和piRNA)、长非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)和环状RNA(circular RNA, circRNA)。哺乳动物的ncRNA基因可位于蛋白质编码基因的内含子或外显子区域、或基因间隔区域。由于piRNA主要在生殖细胞特异表达, 因此本文主要聚焦于miRNA, lncRNA, circRNA这几类调控性ncRNA的研究进展。

1993年, Ambros课题组^[4]在线虫中发现了第一个

引用格式: 杨金娥, 谢忱, 黎兰奇, 等. 非编码RNA多维调控网络与肝细胞癌. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1626–1642
Yang J E, Xie C, Li L Q, et al. Multidimensional regulatory networks of noncoding RNAs and hepatocellular carcinoma (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1626–1642, doi: 10.1360/SSV-2023-0208

miRNA基因, 即*lin-4*, 它长度为22个核苷酸(nt), 在转录后水平抑制蛋白基因*lin-14*的表达, 从而调控线虫的发育. 此后, 人们在多种模式动物及人类细胞中发现了上千个类似的小分子RNA, 并将它们命名为微小RNA, 即microRNA, 简称miRNA. miRNA长度一般在20~24 nt, 在不同物种间的保守性强. 根据miRBase数据库(<https://www.mirbase.org>)显示, 目前已在人类细胞中鉴定了1917个miRNA基因, 它们调控了至少60%蛋白编码基因的表达^[5,6].

lncRNA是长度>200 nt的非蛋白质编码转录本的总称, 它们是ncRNA中数目最多的一类. 根据最新NONCODE(v6.0)数据库(<http://www.noncode.org/>)显示, 目前在人类基因组鉴定的lncRNA基因共有96411个, 它们转录产生的lncRNA多达173112种^[7]. 大多数lncRNA为线性分子, 部分lncRNA的3'和5'末端共价连接成环状RNA, 即circRNA, 可以看作是一类特殊的lncRNA. 与miRNA不同, 大多数lncRNA序列的物种间保守性差, 人类细胞中的多数lncRNA在模式生物中并无对应的同源基因.

2 非编码RNA的生成、加工及降解机制

2.1 miRNA

目前对miRNA的生成、加工机制了解比较清楚. 它们首先在核内由RNA聚合酶II或III转录成长度可达数千个nt的初级转录本(pri-miRNA). 这些转录本内部可形成发夹状的结构, 该结构在核内被双链RNA特异性内切酶Drosha和RNA结合蛋白(DGCR8)等构成的复合物切割, 生成60~70 nt的miRNA前体(pre-miRNA), 该前体一般具有2 nt的3'-突出部末端. 随后, pre-miRNA被exportin-5(XPO5)和RanGTP转运到细胞质, 被DICER1酶进一步加工成在3'-末端具有2 nt突出结构的miRNA双链, 其中一条miRNA链被Argonaute(AGO)识别并选择性装载到RNA诱导的沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)中, 进而发挥功能. 未装载到RISC复合物的另一条链则被降解^[8].

已有的研究揭示miRNA表达失调是肿瘤中常见的现象, 其机制包括miRNA基因的缺失、扩增、点突变和表观遗传调控等^[9]. 值得注意的是, 肿瘤中miRNA呈现整体下调的特征, 但具体机制仍不清楚. Schmittgen团队^[10]发现, 虽然肿瘤细胞中大量的miRNA基因

可被转录为pre-miRNA, 但原位杂交显示许多pre-miRNA滞留在细胞核, 并没有被进一步加工成成熟的miRNA. 与此吻合的是, Sun等人^[11]发现, 癌细胞中ERK激酶可磷酸化pre-miRNA的转运受体XPO5, 导致XPO5装载pre-miRNA的能力减弱; ERK还能通过磷酸化核孔蛋白NUP153, 抑制pre-miRNA-XPO5复合物的核输出, 导致pre-miRNA无法出核. 这些发现提示, 核输出减少是癌细胞中miRNA整体下调的重要原因.

此外, Mendell团队^[12]在人和小鼠B细胞淋巴瘤模型中研究发现, 癌基因MYC的激活会导致miRNA的转录被广泛抑制. 作者通过染色质免疫沉淀检测发现, MYC可与大部分受它抑制的miRNA的启动子区直接结合. MYC是具有双向调控功能的转录因子, 它可与MAX形成二聚体促进转录, 也可与锌指蛋白1(Myx-interacting zinc finger protein 1, MIZ1)结合形成转录抑制复合物. 已知70%的人类肿瘤呈现MYC表达的异常上调, 提示癌细胞中MYC的上调, 可能直接抑制miRNA的转录, 成为癌细胞中miRNA整体丰度下降的原因之一.

2.2 lncRNA

lncRNA的转录与mRNA类似, 主要由RNA聚合酶II转录, 但相对于蛋白编码基因和miRNA, lncRNA的丰度普遍较低. 基于ENCODE转录本的分析发现, 除少数假基因来源的lncRNA在细胞中的表达水平接近蛋白编码基因外, 多数lncRNA的丰度只有mRNA的十分之一左右, 有的在单个细胞中仅有几个拷贝^[13]. 绝大多数lncRNA的转录后加工过程与mRNA大致相同, 包括5'-末端加帽、3'-末端聚腺苷酸化和剪接, 然后产生成熟体的lncRNA. 值得注意的是, 有的成熟体lncRNA含有特殊的末端结构, 如以snoRNA作为末端^[14], 或者在lncRNA末端形成高度稳定的三螺旋结构^[15], 提示除了常规加工方式外, 可能还存在其他未知的lncRNA加工方式. 选择性剪接在lncRNA加工中也很常见, 由选择性剪接产生的不同亚型lncRNA可能具有不同的功能或作用机制. 例如, 长转录本的lncRNA-PXN-AS1优先与PXN mRNA的3'-非翻译区(3'-untranslated region, 3'-UTR)结合, 以保护PXN mRNA免受miRNA诱导的降解. 相反, 缺乏外显子4的lncRNA-PXN-AS1短转录本与PXN mRNA的编码序列结合并抑制其翻译^[16]. lncRNA的降解途径包括核内

RNA外切体介导的降解(nuclear RNA exosome-mediated degradation)^[17]和无义介导的降解(nonsense-mediated decay)^[18],以及mRNA通用的方式,如p-body介导的降解。

2.3 circRNA

circRNA由前体RNA(pre-RNA)反向剪接产生,即pre-RNA下游5'-剪接位点以相反的顺序与上游3'-剪接位点共价连接,从而产生环状的circRNA^[19]。许多真核蛋白质编码基因可通过反向剪切产生circRNA,绝大部分circRNA与mRNA使用相同的拼接位点和剪切机器,因此可以视为一种特殊的RNA可变剪切产物。封闭的环状结构使circRNA不易被核酸外切酶降解,因此其稳定性较高,一些circRNA的丰度高于其同源线性mRNA。陈玲玲团队^[20]研究发现,核酸内切酶介导的circRNA降解与细胞抗病毒反应密切相关,其机制是内源性circRNA分子内部可形成长16~26 bp的双链RNA茎环结构(intra-dsRNA),该结构与抗病毒因子PKR结合并抑制其活性。病毒感染导致细胞内核酸内切酶RNase L激活并大量降解circRNA,致使circRNA水平整体下降。而circRNA的减少导致PKR被释放,并激活下游抗病毒效应。更详细的circRNA生成、加工及降解机制方式可参考陈玲玲团队发表的综述^[21,22]。

3 非编码RNA的功能和作用机制

与siRNA类似,人类miRNA也通过RISC复合物发挥功能。但不同的是,siRNA通过与靶标mRNA完全互补配对,从而介导mRNA的降解。而miRNA与其靶mRNA的配对可以是部分互补,即除了第2~7 nt的种子区(seed region)与靶标完全互补外,其他位置可能只有部分配对,最终导致mRNA降解或翻译抑制^[8]。生物信息学分析显示,超过60%的人类蛋白质编码基因含有至少一个在不同物种间保守的miRNA结合位点,再加上许多非保守的miRNA结合位点,绝大多数人类蛋白质编码基因都可能受到miRNA调控^[6]。

解析lncRNA的作用机制具有很大的挑战性,这是由于它们缺少类似miRNA的种子区或蛋白质结构域等功能元件,难以通过序列或结构预测其作用方式。此外,虽然有的研究者认为,lncRNA的调控功能主要取

决于其二级或三级结构^[23],但由于RNA分子固有的柔性,对其高级结构的解析进展缓慢,这都限制了lncRNA的作用机制研究。

已有的研究揭示,lncRNA和circRNA可通过与DNA、RNA或蛋白质分子相互作用而发挥调控功能^[2](图1)。首先,lncRNA可作为引导分子,帮助与之结合的蛋白质定位到特定的染色体或mRNA区域,保证蛋白质作用的特异性。如lncHDAC2和HAND2-AS1均可以与染色质重塑复合物结合并作为核向导,将它们募集到靶标基因的启动子区,从而调控启动子区的染色质构象,最终调控基因表达^[24,25]。细胞质定位的lncRNA MEG3引导PTBP1蛋白与SHP mRNA的编码序列结合,导致其降解^[26]。其次,lncRNA可作为支架分子,提供蛋白质相互作用的平台。如HOTAIR,它可作为转录抑制复合物PRC2及其互作蛋白质的支架。当HOTAIR介导PRC2的核心亚基SUZ12与E3连接酶Mex3b发生相互作用时,SUZ12将被蛋白酶体降解,从而削弱PRC2对靶基因的抑制作用。相反,当HOTAIR介导SUZ12与DDX5互作时,PRC2复合物稳定性增加,对其靶基因的抑制作用增强^[27]。另外两种lncRNA,lnc-β-Catm^[28]和HULC^[29],分别作为β-catenin/EZH2和YB-1/ERK复合物组装的支架,来调控β-catenin甲基化和YB-1磷酸化。此外,lncRNA还可作为分子诱饵,竞争结合蛋白质或RNA,使其与靶分子分隔,干扰其功能。例如,lncRNA TRINGS可通过与STRAP相互作用,阻断STRAP结合并激活GSK3β的作用^[30]。本团队^[31]发现,lnc-UCID通过结合RNA解旋酶DHX9,防止DHX9结合CDK6,解除DHX9抑制CDK6表达的作用。许多lncRNA包括circRNA上存在miRNA的结合位点,因此可作为miRNA的诱饵,通过竞争性结合miRNA,减少miRNA与蛋白编码基因mRNA的结合,从而解除miRNA对蛋白编码基因表达的抑制作用,这类lncRNA又称竞争性内源RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)。HULC^[32],lncRNA-ATB^[33],PDIA3P1^[34]和lnc-APUE^[35]等均可作为ceRNA结合miRNA,继而阻断miRNA对其靶基因的抑制作用。一个引人注目的circRNA例子是ciRS-7,它有73个miR-7的结合位点,可作为miR-7的ceRNA行使功能^[36]。值得注意的是,同一lncRNA可以通过不同的机制发挥作用,如HULC既可以作为支架lncRNA,也可以作为诱饵lncRNA。

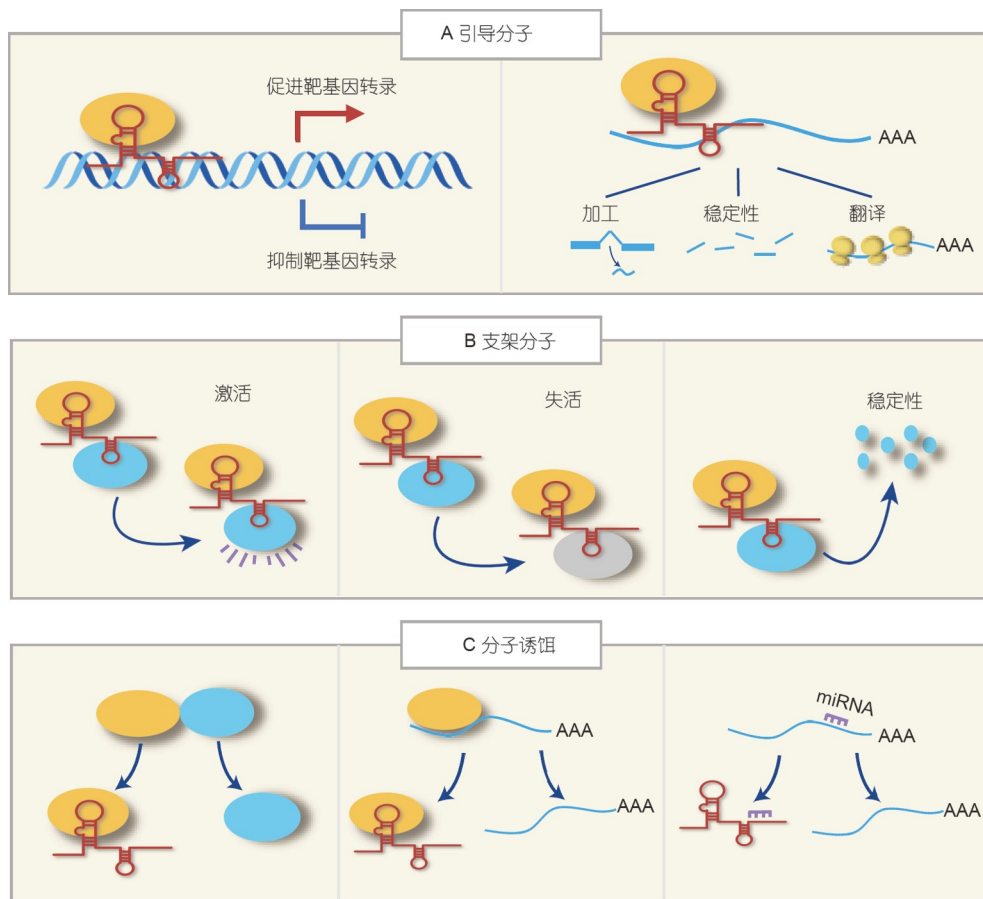


图 1 肝癌相关lncRNA的作用机制. A: 作为引导分子: lncRNA通过募集特定蛋白质定位至基因启动子或增强子区域, 促进(红色箭头)或抑制(蓝色线)下游基因的转录; 或通过募集特定蛋白质到靶标RNA, 调节RNA的加工、稳定性或翻译. B: 作为支架分子: lncRNA通过结合不同的蛋白质, 介导它们之间的相互作用, 进而调节靶蛋白(蓝色)的活性或稳定性. C: 作为诱饵分子: lncRNA通过竞争性结合蛋白质(橙色)或miRNA(紫色), 从而干扰它们与靶蛋白或靶标mRNA的结合

Figure 1 Regulatory mechanisms of HCC-associated lncRNAs. A: As a guide: lncRNA can recruit specific proteins to gene promoters or enhancers, thereby promote (red arrow) or inhibit (blue line) gene transcription. lncRNA may also recruit proteins to RNAs, in turn regulate RNA processing, stability, or translation. B: As a scaffold: lncRNA can bind to different proteins, thereby mediate the interaction between these proteins, which in turn modulates the activity or stability of the target protein (blue). C: As a decoy: lncRNA acts as a bait for proteins (orange) or miRNAs (purple), separate them from their target molecules and interfering with their function

4 肝细胞癌

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC, 以下简称肝癌)是全球常见的恶性肿瘤, 其生长快、易转移复发、死亡率高^[37]. 中国是肝癌的高发区, 我国的肝癌患者约占全球病例的50%^[38]. 由于缺少敏感的早期检测方法, 大多数患者在就医时已是肝癌晚期, 因而失去了手术切除的机会. 此外, 肝癌对化疗和放疗不敏感, 其五年总生存率只有10%左右.

肝癌的致病因素主要包括病毒感染、代谢性肝病、酒精性肝病、致癌剂(如黄曲霉毒素)等. 它们往

往导致慢性肝损伤、慢性肝炎及肝硬化, 最终发展成为肝癌. 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染诱发的慢性肝炎肝硬化是肝癌的最重要病因. 据统计, 全球每年大约80%的肝癌是由于HBV或HCV感染诱发的^[39]. HBV相关肝癌主要发生于亚洲和非洲, 占这些地区肝癌病例的60%左右, 而在中国的占比更高, 达80%~90%. 而慢性HCV感染则常见于北美、欧洲和日本肝癌患者. 此外, 由于过量脂肪摄入导致的非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)和非酒精性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 已经成为许多发达国

家中肝癌的另一大诱发因素, 并呈现上升趋势^[40]. 在欧美等国家, 由NAFLD引起的肝癌病人已占肝癌患者的10%~20%^[41]. 酒精、黄曲霉素摄入等因素也是HCC的重要病因^[42]. 男性的肝癌发病率和病死率显著高于女性.

肝细胞癌变是多步骤、多异常积累的长期过程. 针对临床肝癌标本的基因组、转录组及蛋白质组分析显示, 端粒酶(TERT)、p53和 β -catenin通路发生异常的频率较高^[43~45]. 研究发现, 我国HBV阳性患者的肝癌组织中, 导致TERT上调的突变约占57%, 失活型p53突变约44%, 激活型 β -catenin突变约17%, 而且, 携带这三个分子中任何一个异常的标本约占73%^[43]. 这与法国科学家在过量酒精摄入(high alcohol intake)相关的肝癌, 以及日本科学在肝炎病毒(HBV和/或HCV)相关肝癌中的研究结果一致^[44,45].

以往有关肝癌发生发展机制的研究多关注蛋白编码基因的功能. 近年来的研究表明, ncRNA的失调与肝癌的发生发展密切相关. 国内外研究者已经鉴定了一大批肝癌相关的ncRNA, 并揭示了其功能和调控机制. 本文将介绍ncRNA的生成和功能, 重点总结调控肝癌细胞恶性表型的ncRNA及其作用机制, 并讨论ncRNA作为诊断标志物和治疗靶点的潜力, 以及该领域面临的挑战.

5 miRNA与肝癌

5.1 肝癌中具有抑癌功能的miRNA

多项基于肝癌及癌旁组织的miRNA表达谱分析结果显示, 众多miRNA, 包括miR-26, miR-29, miR-99, miR-100, miR-101, miR-125, miR-195, miR-199等, 在肝癌中显著下调^[46~53], 具有抑癌基因的特性. 此外, 肝细胞特异高表达的miR-122和肝中高丰度的miR-194/192也具有抑癌作用^[54](图2).

研究发现, miRNA的功能具有其独特性. 首先, 一个miRNA可以同时调控同一信号通路上下游的多个分子, 发挥“自动防故障”的作用. 本团队和其他团队的研究揭示, miR-26a和miR-195能够直接靶向细胞周期G1/S时相转换调控通路中的上下游分子, 如cyclin D, cyclin E, CDK6和E2F3等, 抑制细胞周期进程及肝癌细胞增殖^[46,51,55]. 本团队还发现, miR-29和miR-125b可分别抑制线粒体通路中多个抗凋亡分子的表达, 促进肝

癌细胞凋亡, 提高癌细胞对化疗药物的敏感性, 进而抑制肝癌生长^[47,50]. 其次, 单个miRNA可以同时抑制肝癌进展多个阶段的调控分子, 从而影响肝癌细胞的不同恶性表型. miR-199既能通过抑制PAK4/ERK信号通路, 削弱肝癌细胞增殖^[52], 也可通过抑制糖酵解关键酶HK2的表达, 抑制肝癌细胞乳酸生成及代谢重塑, 进而抑制肝癌细胞在体内外的生长^[53]. 本团队发现, miR-195除了阻断细胞周期G1/S转换和肝癌细胞增殖的作用^[51], 也能通过抑制促血管生成因子VEGF以及促迁移蛋白VAV2和CDC42的表达, 进而抑制肝癌的血管生成及肝肺转移^[56]. 此外, 何祥火团队^[57]发现, miR-195通过直接靶向NF- κ B下游信号分子IKK α 和TAB3来抑制肝癌的生长, 进一步提示了miRNA的多重作用. 类似地, miR-29在诱导肝癌细胞凋亡的同时^[47], 还可通过调控MMP-2表达抑制肝癌血管生成和转移^[48]. miR-101既可诱导癌细胞凋亡, 也可抑制癌细胞转移^[49,58,59]. 这些具有多重调控作用的miRNA分子的发现, 为针对肝癌进展多节点的治疗奠定了理论基础.

miRNA作为一种转录后的负调控因子, 还可与其靶基因及其信号通路的相关蛋白构成复杂的反馈回路, 加强信号传导, 或者维持内环境的稳态. TGF- β -SMAD2/3-miR-195-SMAD7正反馈回路就是个典型例子. 在正常肝细胞中, TGF- β 信号通过Smad2/3促进miR-195的转录, 而miR-195能够直接靶向抑制SMAD7的表达, 解除SMAD7对TGF- β 信号传导的抑制作用, 从而构成TGF- β -Smad2/3-miR-195-SMAD7正反馈回路, 加强TGF- β 的抑增殖信号, 防止肝细胞异常增殖^[60]. 而肝癌细胞中组蛋白去乙酰化酶HDAC1/3升高, 导致miR-195启动子去乙酰化, miR-195表达继而下降, TGF- β -Smad2/3-miR-195-Smad7正反馈回路失调及肝癌细胞失控增殖^[60,61]. 类似地, 肝细胞高表达的miR-122与其上游转录子C/EBP α 和下游靶标IGF-1R共同组成了GSK-3 β -C/EBP α -miR-122-IGF-1R正反馈回路: C/EBP α 转录激活miR-122的表达, 而miR-122通过直接抑制IGF-1R表达, 阻断生长信号的传导, 进而维持GSK-3 β 的活性; 活化的GSK-3 β 通过磷酸化激活C/EBP α , 维持miR-122的高表达, 进一步增强miR-122对IGF-1R信号通路的抑制作用, 有效防止细胞异常增殖及肝癌进展^[62]. 此外, miR-101与AP-1可形成AP-1/miR-101负反馈回路, 维持肝细胞稳态: ERK2激活转

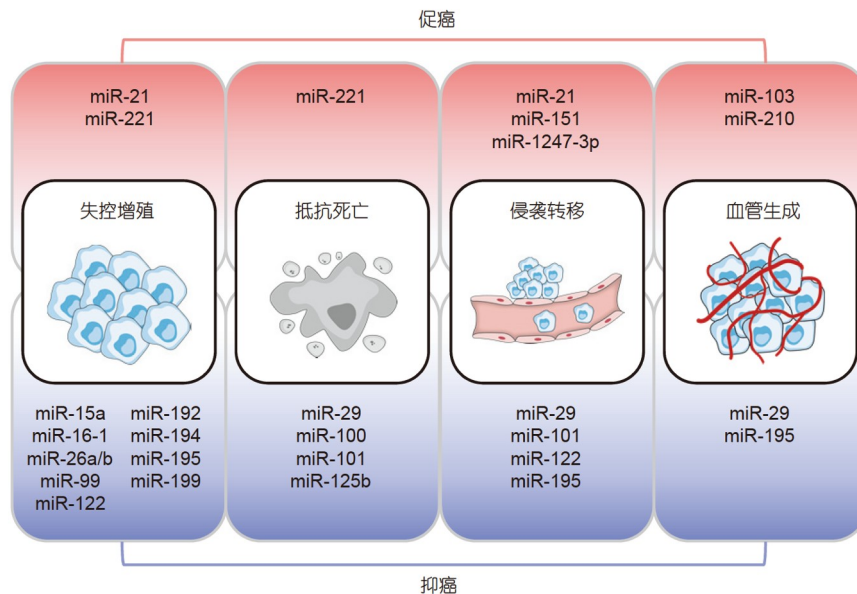


图 2 miRNA在肝癌发生发展中的作用. miRNA可通过调控肝癌细胞增殖、死亡、侵袭转移和肿瘤血管生成等表型, 扮演促癌(红色背景)或抑癌(蓝色背景)基因的角色. 图示在肝癌恶性表型中发挥调控作用的代表性miRNA

Figure 2 The role of miRNAs in the development and progression of HCC. miRNA may act as oncogenes (red background) or tumor suppressors (blue background) by regulating HCC cell proliferation, death, metastasis, or tumor angiogenesis. Representative miRNAs and their regulatory roles in malignant phenotypes of HCC are shown

录因子复合物AP-1, 后者诱导miR-101的转录, 而miR-101可反过来抑制ERK2和c-FOS(AP-1家族成员)的表达, 防止AP-1介导的促转移信号过度激活, 而肝癌中miR-101的表达下调导致该回路被破坏, 从而促进肿瘤转移^[58].

位于蛋白编码基因内含子的miRNA往往与其宿主基因协同发挥功能. 本团队^[46]发现, miR-26a/b位于宿主基因CTDSP1/2/L磷酸酶的内含子, 两者在生理和病理情况下, 表达趋势均一致. 而且, miR-26a/b直接抑制CDK6和cyclin E1的表达, 进而降低pRb的磷酸化水平, 而CTDSP1/2/L则可将pRb去磷酸化, 两者协同抑制G1/S时相的转换和细胞增殖, 从而提供双重保障系统, 防止细胞恶性增殖. miR-26a/b和CTDSP1/2/L在肝癌细胞中均降低, 导致肿瘤恶性增殖生长.

最近一项研究揭示了miRNA可通过调控肝癌免疫微环境发挥抑癌功能. 作者发现, 在尾静脉高压注射AKT/RAS或MYC诱发的小鼠肝癌模型中, AKT/RAS或MYC信号的激活可通过驱动Kupffer细胞过表达NF- κ B和趋化因子配体Ccl22来诱导免疫抑制, 而向小鼠肝脏递送miR-15a/16-1, 可增加肝癌微环境中细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的数量, 抑

制调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)的招募, 抑制肿瘤生长. 当通过CRISPR/Cas9基因编辑技术破坏Kupffer细胞中NF- κ B基因上miR-15a/16的结合位点后, miR-15a/16抑制Ccl22产生, Treg招募和肝细胞癌发生的能力减弱, 提示miR-15a/16-1可能通过破坏Kupffer细胞和Treg细胞之间的通讯来恢复免疫监视, 从而抑制AKT/RAS和MYC诱导的肝癌发生^[63].

5.2 肝癌中具有癌基因功能的miRNA

报道较多的在肝癌中表达上调的miRNA包括miR-21, miR-151, miR-221等, 它们可能发挥癌基因的功能(图2).

目前miR-221促进肝癌发生发展的功能已较为明确. 大约80%的临床肝癌标本显示miR-221上调^[64], 并且其高表达与肝癌患者无复发生存时间显著负相关^[65,66]. 细胞模型研究显示, miR-221可促进癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并抵抗凋亡. 在永生化的p53^{-/-}肝祖细胞中过表达miR-221, 可促进癌细胞在裸鼠体内成瘤^[65]. 机制研究揭示, miR-221通过直接抑制CDKN1B/p27和CDKN1C/p57^[64], DDIT4^[65], BMF^[66]及HDAC6^[67]等多个靶基因的表达, 从而促进肝癌生长和

转移. Callegari等人^[68]采用肝中高表达的miR-221转基因小鼠模型验证了其促癌功能, 发现有50%(4/8)的雄性转基因小鼠在出生后9个月即可自发形成肝癌, 而且在DEN诱导的肝癌模型中, 转基因小鼠比野生型对照鼠的荷瘤数目更多, 肿瘤体积更大. 有研究表明, 治疗前血清miR-221水平较低的肝癌患者对索拉非尼的反应更好^[69], 提示血清miR-221可能作为预测索拉非尼治疗敏感性的标志物.

miR-21在多种癌症中表达水平显著升高. 肝癌研究中已证实的miR-21靶标包括*PTEN*, *PDCD4*和*RECK*等^[70,71]. miR-21通过抑制这些抑癌基因的表达, 促进肝癌细胞的体外增殖和侵袭以及体内的生长和转移^[70,71]. miR-151与其宿主基因*FAK*位于肝癌细胞中频繁扩增的基因组区域, 它在肝癌中的表达显著上调, 且与肝内转移显著相关. 研究表明, miR-151与其宿主基因协同促进*RAC1*, *CDC42*和*RHO* GTP酶的活化, 从而增强肝癌细胞的迁移和侵袭, 促进肝癌转移^[72].

近年来研究揭示, miRNA还可以被分泌到肿瘤细胞外, 并介导肿瘤细胞与间质细胞相互作用, 从而促进肿瘤生长转移. 王红阳团队^[73]报道, 高转移潜能的肝癌细胞分泌miR-1247-3p, 并可被成纤维细胞摄取, 促进肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)分泌促炎细胞因子IL-6和IL-8, 进而促进肿瘤转移. 本团队^[74,75]发现, 肝癌细胞分泌的miR-103和miR-210可进入血管内皮细胞, 分别通过抑制VE-Cad, p120和ZO-1或抑制SMAD4和STAT6的表达, 从而增加血管通透性或促进血管生成, 进而促进肿瘤转移. 这些miRNA在血清中的水平与肝癌转移正相关.

值得注意的是, 同一个miRNA在不同的肝脏疾病中可能发挥不同甚至相反的作用. 例如, miR-122在肝癌发生中充当抑癌基因的角色, 但在HCV感染肝细胞时, miR-122与HCV病毒基因组的5'-UTR结合, 促进病毒在肝细胞的复制^[76], 用miR-122反义寡核苷酸(SPC3649)治疗慢性HCV感染的黑猩猩, 可抑制HCV引起的病毒血症^[77]. 类似地, miR-192通过靶向巨噬细胞中的*RICTOR*来促进NAFLD的肝脏炎症^[78], 但在肝癌中, 它通过靶向*PABPC4*来抑制肝癌干细胞(cancer stem cell, CSC)的恶性特征^[79]. 这些发现提示, miRNA在不同病程或肝脏不同类型细胞中的靶标基因具有特异性, 从而导致其在不同肝脏疾病中的功能不同. 因此, 未来的研究应关注miRNA的时空特异

性, 这将有助于更准确地确定治疗靶点, 避免脱靶效应.

6 lncRNA与肝癌

已有较多研究揭示lncRNA, 包括circRNA, 可以通过调控肝癌细胞增殖、死亡及运动侵袭等表型, 进而调控肝癌发生发展(图3). 但由于大多数lncRNA的物种间保守性差, 模式生物中缺少其对应的同源基因, 人们难以借助基因敲除的动物模型研究lncRNA的功能及机制, 而是更多地借助人类肝癌细胞在免疫缺陷鼠构建异源移植瘤模型开展研究.

6.1 调控细胞增殖的lncRNA

失控增殖是癌症最重要的特征, 源于细胞周期失调, 特别是G1/S时相转换加速. 多个lncRNA, 如*HULC*, *lnc-UCID*, *lnc-APUE*和*HEIH*在肝癌组织中过表达, 可以通过上调cyclin, CDK, E2F或降低CDK抑制因子的表达, 促进G1/S转换, 进而促进细胞增殖^[31,35,80,81]. *lncRNA-HULC*是最早报道的在肝癌中上调的lncRNA^[80]. 它与YB-1蛋白特异结合并增强其磷酸化, 导致YB-1释放被其扣留的mRNA, 包括cyclin D1和cyclin E1等, 增强它们的翻译^[29]. 本团队^[31,35]发现, *lnc-UCID*和*lnc-APUE*可作为分子诱饵, 分别通过结合*DHX9*和miR-20b, 解除它们对*CDK6*和*E2F1*表达的抑制作用. *HEIH*通过与*EZH2*结合, 抑制CDK抑制因子p16, p21和p27的表达^[81]. 沉默这些lncRNA的表达可抑制肝癌细胞的体内外生长. 目前已报道的大多数影响肝癌细胞增殖的环状RNA主要是通过结合miRNA, 发挥ceRNA的作用. 例如, 在肝癌组织中显著下调的*circGPR137B*, *circMTO1*和*MAT2B*可分别通过结合miR-4739, miR-9和miR-338-3p, 促进*FTO*, p21和*PKM2*的表达^[82-84].

另有证据表明, 在肝癌中经常过度激活的促生长信号通路, 包括IL-6/STAT3, Wnt/ β -catenin和PI3K/Akt通路等, 也受到lncRNA调控^[85]. 何祥火团队^[86]发现, *TSLNC8*是一个具有抑癌功能的lncRNA, 它通过干扰TKT介导的STAT3磷酸化, 阻止IL-6/STAT3信号通路活化. 肝癌组织*TSLNC8*的表达下调导致肝癌细胞过度增殖和肿瘤生长. 另有研究发现, *MEG3*通过下调 β -catenin和上调*PTEN*来抑制肝癌细胞的增殖^[87]. 此外, 多个lncRNA可以通过调控抑癌基因*p53*调控肝癌细胞

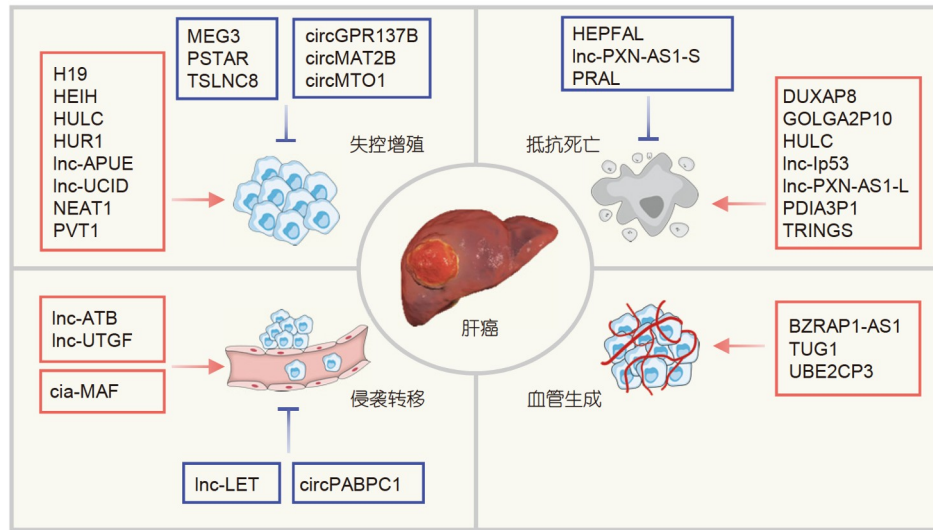


图 3 lncRNA在肝癌发生发展中的作用。图示在肝癌失控增殖、抵抗死亡、侵袭转移和血管生成等表型中发挥调控作用的代表性lncRNA。红色框内为扮演促癌功能的lncRNA, 蓝色框内为具抑癌作用的lncRNA

Figure 3 The role of lncRNAs in the development and progression of HCC. Representative lncRNAs and their regulatory roles in malignant phenotypes of HCC, including uncontrolled proliferation, resistance to cell death, invasion/metastasis, or tumor angiogenesis. lncRNAs with oncogenic (in red box) or tumor suppressive (in blue box) function are shown

增殖。lnc-HUR1可被HBV病毒的HBx诱导表达, 结合并抑制p53的功能。在DEN诱导的肝癌模型中, lnc-HUR1转基因小鼠显示出更高的肿瘤负荷^[88]。lncRNA PSTAR则通过增强hnRNPK的SUMO化修饰, 促进其与p53的相互作用, 导致p53的积累, 从而抑制肝癌生长^[89]。胎肝高表达的lncRNA, 包括H19^[90]和PVT1^[91], 均可通过增强肝癌起始细胞的干性促进肝癌生长。

此外, lncRNA还可通过影响代谢相关的酶类, 从而而影响细胞增殖。如lncRNA NEAT1可作为ceRNA, 通过结合miR-124, 增加甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL)的表达, 促进甘油三酯(triglyceride, TAG)的分解, 提高细胞中甘油二酯和游离脂肪酸含量, 进而促进细胞增殖^[92]。

6.2 调控细胞死亡的lncRNA

逃避死亡是癌细胞的另一重要特征。细胞凋亡主要受到BCL2家族促凋亡和抗凋亡成员的调控。研究表明, lncRNA可以通过调控BCL2家族成员或者BCL2通路相关因子, 从而调控细胞凋亡。内质网应激诱导的lncRNA GOLGA2P10可通过增强BCL-xL的表达和抑制BAD的活性来抑制细胞凋亡^[93]。lncRNA PDIA3P1则作为ceRNA, 通过结合miR-125a/b和miR-

124, 增强TRAF6的表达, 从而促进NF- κ B通路下游抗凋亡基因, 包括BCL-xL, XIAP和BIRC3的表达^[34]。沉默PDIA3P1的表达可促进阿霉素诱导的肝癌细胞凋亡, 增强肝癌移植瘤对阿霉素的敏感性。PXN基因反义链来源的不同亚型的lncRNA-PXN-AS1对PXN基因的作用不同: 包含第四个外显子的lncRNA-PXN-AS1的长转录本可保护PXN的mRNA免受microRNA诱导的降解, 而短转录本可抑制PXN-mRNA的翻译。由于PXN可促进MCL1并抑制BIM的表达, 因此lncRNA-PXN-AS1的长转录本可抑制细胞凋亡, 而短转录本的作用相反^[16]。

除细胞凋亡外, 自噬和坏死也受lncRNA的调控。HULC通过增强去泛素酶USP22的表达, 触发自噬, 促进肝癌细胞的耐药^[94]。吴团队^[30]发现, 在葡萄糖饥饿时, p53诱导lncRNA TRINGS的表达, 而TRINGS通过激活STRAP-GSK3 β -NF- κ B信号通路, 促进肝癌细胞抵抗葡萄糖饥饿诱导的坏死。

铁死亡(ferroptosis)是近年来新发现的细胞死亡方式, 其特征是铁依赖性的细胞内脂质过氧化物积累。分子靶向药物索拉非尼可通过诱导铁死亡来杀伤癌细胞^[95]。氨基酸转运蛋白SLC7A11是铁死亡的关键抑制因子。研究显示, 肝癌组织中表达下调的lncRNA HEP-

FAL可通过增强SLC7A11的泛素化降解,从而促进肿瘤细胞铁死亡,抑制肝癌移植瘤的生长^[96]。而在肝癌中表达上调的lncRNA DUXAP8则通过促进SLC7A11棕榈酰化,增强其稳定性,从而抑制铁死亡。敲低DUXAP8可抑制肝癌移植瘤的生长,并增强索拉非尼的抗肿瘤效果^[97]。

有些lncRNA可同时调控细胞周期和细胞凋亡,进而调控肝癌生长。靶向p53通路的lncRNA就是典型的例子。在肝癌中经常缺失的lncRNA-PRAL通过与MDM2竞争结合p53,防止p53的泛素化降解,从而抑制细胞增殖并促进凋亡^[98]。本团队^[99]发现,在肝癌中表达升高的lnc-Ip53可被p53诱导转录,lnc-Ip53则可通过结合并调控HDAC1和p300的活性,负反馈抑制p53的乙酰化及转录活性,进而抑制凋亡,促进化疗抵抗及肿瘤生长。

6.3 调控肝癌血管生成的lncRNA

血管生成是肿瘤快速生长和转移的前提条件。癌细胞通过分泌促血管生成因子,诱导内皮细胞形成新生血管。目前只有少数文献关注lncRNA的表达失调对肝癌血管生成的影响。据报道,肝癌细胞中的lncRNA TUG1和UBE2CP3可分别通过结合miR-34a-5p和激活HIF-1 α 信号,增强促血管生成因子VEGFA的表达。敲低它们的表达可削弱肿瘤细胞对内皮细胞管形成的促进作用,并抑制肝癌移植瘤的血管生成^[100,101]。血小板反应素-1(THBS1,也称为TSP-1)是一种新生血管形成的天然抑制剂。肝癌中表达上调的lncRNA BZRAP1-AS1通过结合DNA甲基转移酶DNMT3b,增强DNMT3b介导的THBS1启动子甲基化及转录抑制,从而促进肝癌移植瘤的血管生成^[102]。

值得注意的是,肿瘤间质细胞,包括成纤维细胞和巨噬细胞,也可分泌促血管生成因子以维持血管生成和肿瘤进展,但lncRNA是否参与这些过程仍然未知。此外,本团队^[103]发现,肝癌组织中除了经典的毛细管样血管结构,还存在另一种肿瘤包绕型血管(vessels that encapsulated tumor cluster, VETC)结构。VETC血管能够帮助癌细胞在血管内皮的包裹中成团入血转移,为肝癌提供不依赖于运动侵袭的新型高效转移模式。因此,在肝癌血管生成的相关研究中,应同时关注lncRNA对不同类型血管(如VETC)的影响。

6.4 调控肝癌转移的lncRNA

转移是导致肿瘤患者死亡的主要原因。肝癌细胞中lncRNA失调可以影响肝癌转移的不同方面,包括癌细胞的黏附、运动和侵袭能力以及细胞外基质重塑。SNAI, SLUG, TWIST, EZH2和ZEB家族是已知的促运动侵袭的关键转录因子,它们受TGF- β , Wnt/ β -catenin和HIF等上游信号通路控制^[104]。此外,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族、整合素家族和Rho/ROCK通路等与细胞外基质重塑和癌细胞运动相关^[105,106]。

多个lncRNA通过调控上述通路,进而影响肝癌转移。lncRNA-ATB和lnc-UTGF在肝癌中表达上调,受TGF- β 诱导表达,并具有促转移的作用^[33,107]。lncRNA-ATB作为ceRNA,通过结合miR-200家族成员,上调ZEB1/2表达,进而促进转移^[33]。而lnc-UTGF则通过碱基互补配对与SMAD2和SMAD4的mRNA结合,增强其稳定性,形成TGF- β /SMAD/lnc-UTGF正反馈回路,从而增强TGF- β 促转移信号的传导^[107]。而lncRNA-LET则通过与NF90结合降低HIF1- α 和CDC42的mRNA稳定性,从而抑制肝癌的转移。缺氧诱导的HDAC3可以抑制lncRNA-LET的表达,进而促进转移^[108]。

circRNA在肝癌转移中的研究报道较少。肝癌中表达下调的circPABPC1通过促进整合素 β 1(integrin β 1, ITGB1)的降解,抑制细胞黏附和肝癌移植瘤的肝、肺转移^[109]。范祖森团队^[110]揭示了circRNA对肝癌起始细胞自我更新的影响。他们发现在肝癌中高表达的环状RNA cia-MAF,可以通过激活MAFF的转录,促进肝癌干细胞自我更新、致瘤性和转移潜能。

以上这些研究多是针对肝癌细胞中lncRNA调控网络对癌细胞自身的运动、侵袭及对肝癌局部微环境的影响,然而lncRNA是否参与重塑远端靶器官的微环境,从而影响癌细胞在靶器官的定植和生长也是值得深入探讨的方向。

7 非编码RNA作为肝癌的诊断标志物和治疗靶点

由于肝癌发病隐匿,生长快速,大多数患者确诊时已是晚期,无法进行根治性治疗。因此早期诊断是提高肝癌患者生存率的关键。ncRNA在肝癌发生发展中的

重要作用, 提示它们潜在的诊断或治疗价值。

自2008年张辰宇团队^[111]报道miRNA可在人类和动物的血液中稳定存在以来, 血清或血清外泌体中的ncRNA作为一类无创的生物标志物引起了人们的广泛关注。樊嘉团队^[112]发现了一个在肝癌患者血清中降低或升高的7个miRNA组合, 经独立验证, 它能较好区分肝癌与正常人、慢性乙型肝炎或肝硬化患者。目前, 基于该成果的肝癌辅助诊断试剂盒miRNA7™已上市, 它是目前国内唯一获批的肝癌miRNA基因检测产品。本团队^[113]通过高通量筛选及多中心验证, 并在小肝癌(<3 cm)患者临床诊断前3, 6, 9, 12个月收集的血清中验证, 发现了一个由7个在肝癌患者血清中升高的miRNA组成的分类器(Cmi), 可以明确区分肝癌与正常人、慢性肝炎及肝硬化患者。更重要的是, Cmi可检测早期(BCLC-0/A)肝癌、小肝癌(<3 cm)及甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)阴性肝癌, 而且在小肝癌临床诊断前9个月即可检出48%的微小肝癌, 其敏感性和准确性均明显优于目前临床使用的AFP。王红阳团队^[114]筛选出5个在肝癌血清中降低或升高的miRNA组合, 可提前半年预警肝癌。基于血清lncRNA的肝癌预警标志物研究多处于探索阶段, 大多研究的标本较少, 或未进行多中心验证。

已有研究报道也提示, 在肝癌组织中表达异常的miRNA或lncRNA可能作为预测预后和治疗反应的标志物。美国国立癌症研究院王心伟和复旦大学中山医院孙惠川团队^[115]分析了455例肝癌标本的miRNA表达谱, 发现miR-26a在肝癌组织中表达显著下调, 且低表达miR-26a的患者总生存时间更短, 但这些患者对于干扰素治疗的反应却优于miR-26a高表达的患者, 这可能与促炎的IL-6和NF-κB信号通路在miR-26低表达的肿瘤中被激活有关。与之吻合的是, 钦伦秀团队^[116]发现IL-6是miR-26a的直接靶标。这些研究提示, miR-26的表达水平可能作为判断肝癌患者是否接受干扰素治疗的指标。

ncRNA在肝癌治疗中也已显示出潜力。以miRNA为靶点的治疗策略在动物模型中取得喜人的效果。针对具有抑癌功能的miRNA靶点通常采用的策略是过表达miRNA的腺相关病毒或体外合成的经过修饰的miRNA类似物。Mendell团队^[55]报道, 在小鼠肝癌模型中注射过表达miR-26的腺相关病毒, 可显著抑制癌细胞增殖和肿瘤生长。而瘤内注射偶联胆固醇的

miR-199类似物, 或者通过尾静脉注射靶向肝的miR-199腺相关病毒, 均可显著抑制肝癌生长, 延长荷瘤鼠的生存期^[52]。Negrini课题组^[117]在二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)诱导的小鼠肝癌模型中也验证了miR-199的抗肿瘤治疗效果。Park等人^[118]探讨了具有促癌功能的miR-221作为肝癌治疗靶标的潜力, 发现静脉注射胆固醇修饰的miR-221抑制物(chol-anti-miR-221)一周即可显著降低肝脏中的miR-221水平, 并抑制体内肿瘤生长, 提高小鼠的存活率。以lncRNA为靶点的治疗策略主要采用反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)或siRNA, 它们根据碱基配对原理设计, 技术上相对简单。曹雪涛团队^[119]发现, 注射MALAT1的ASO可减弱荷瘤肝癌裸鼠的肿瘤增殖。本团队研究^[31]揭示, 靶向lnc-UCID的胆固醇偶联siRNA可以抑制肝癌移植瘤的生长。此外, 由于lncRNA通过形成稳定的二级和三级结构起作用, 因此靶向lncRNA中独特结构元件的小分子抑制剂也可能干扰lncRNA的功能, 从而达到治疗效果。最近报道显示一种基于小分子化合物的核糖核酸酶靶向嵌合体技术(ribonuclease-targeting chimera, RIBOTAC), 它通过特殊结构的小分子物质将核酸酶募集到RNA的特定结构, 从而导致RNA降解^[120]。小鼠模型已证实, 针对miR-155设计的RIBOTAC可以在体内选择性降解pre-miR-155, 并抑制尾静脉注射的乳腺癌细胞在肺中的定植^[121], 提示RIBOTAC是非常有潜力的ncRNA靶向治疗策略。

总体来说, 基于ncRNA的疗法仍处于开发的早期阶段。miR-34的类似物, 即MRX34用于治疗包括肝癌在内的多种类型肿瘤的临床试验, 是目前唯一一项基于ncRNA的肝癌治疗临床试验, 由于受试者出现严重不良反应而提前终止^[122]。

8 非编码RNA研究的挑战和未来发展

从2002年Croce团队^[123]首次报道miRNA与肿瘤相关至今短短20余年的时间, 肿瘤相关ncRNA的研究呈井喷式增长, 中外研究者已鉴定出大量在各种肿瘤中表达异常的ncRNA, 并揭示了它们的调控网络及在肿瘤发生发展中的作用^[2,124-126]。

虽然研究者在肝癌中已经鉴定了许多功能性ncRNA, 但人们对其中多数ncRNA的了解局限于

ncRNA调控网络对癌细胞本身增殖、死亡和迁移/侵袭等的影响。近来研究发现, 癌细胞不仅与局部组织微环境中其他类型的细胞(如成纤维细胞、免疫和炎症细胞、内皮细胞)互作^[127~129], 还与区域淋巴组织器官、远处器官微环境, 以及免疫、神经和内分泌等全身各系统之间密切联系^[130~132], 这一系列错综复杂的相互作用贯穿于肿瘤发生发展的全过程, 也受肿瘤治疗干预影响而发生变化, 决定着肿瘤对治疗的敏感性。基于此, 宋尔卫教授^[133]提出肿瘤生态理论, 指出肿瘤发生发展受到机体整体内环境的影响, 强调从整体角度来重新审视肿瘤与局部生态圈、远端生态圈以及宿主系统生态圈之间的相互作用的重要性。因此, 从肿瘤系统生态的视角开展肝癌相关ncRNA的研究, 鉴定调控肿瘤生态内环境的新型ncRNA, 尤其是外泌体ncRNA, 并描绘它们多维互作网络的全景图谱, 将是需要重点开展的研究方向。由于细胞间以及器官间互作的体内验证难度大, 体内RNA分子示踪技术将是急需攻克的瓶颈问题。

体液中的ncRNA具有作为非侵入性生物标志物的潜力。因此发现可用于肝癌早期诊断的ncRNA生物标志物也是今后研究的重点。值得注意的是, 目前多数ncRNA标记物研究为回顾性的病例-对照分析, 而且缺乏多中心验证。因此, 多中心的前瞻性队列研究, 对于

评估ncRNA对肝癌的预警和诊断效果非常重要。

肝癌治疗药物非常有限。多年来, 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs)是唯一经美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)批准的晚期肝癌一线治疗药物^[134], 直到2020年5月, PD-L1单抗联合VEGF拮抗剂的方案才获批用于治疗晚期肝癌。近年来RNA药物研发热潮在世界各地兴起。特别是卡塔琳·卡里科(Katalin Karikó)和德鲁·韦斯曼(Drew Weissman)两位科学家发现了RNA修饰技术, 使RNA药物特别是新冠疫苗的开发成为可能, 并因此获得2023的诺贝尔生理学或医学奖(<https://ki.se/en/about/the-nobel-prize-in-physiology-or-medicine>), 充分显示了RNA疗法的光明前景。对在肝癌发生发展中发挥重要功能的ncRNA及其调控网络的理解将促进基于ncRNA的肝癌疗法的开发。但目前ncRNA在肝癌治疗中的应用研究急需加强, 尤其需要关注ncRNA药物的特异性、靶向性、递送系统的效率以及药物的稳定性和安全性。

尽管将ncRNA研究转化为临床应用仍然具有挑战性, 但ncRNA靶向疗法和基于ncRNA的检测策略已显示出巨大的潜力。更深入地了解ncRNA在肝癌中的功能和机制, 最终将为肝癌临床提供新的治疗靶点和生物标志物。

参考文献

- Palazzo A F, Lee E S. Non-coding RNA: what is functional and what is junk? *Front Genet*, 2015, 6: 2
- Slack F J, Chinnaiyan A M. The role of non-coding RNAs in oncology. *Cell*, 2019, 179: 1033–1055
- Mattick J S, Makunin I V. Non-coding RNA. *Hum Mol Genet*, 2006, 15: R17–R29
- Lee R C, Feinbaum R L, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*, 1993, 75: 843–854
- Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D155–D162
- Ha M, Kim V N. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 509–524
- Zhao L, Wang J, Li Y, et al. NONCODEV6: an updated database dedicated to long non-coding RNA annotation in both animals and plants. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: D165–D171
- Shang R, Lee S, Senavirathne G, et al. microRNAs in action: biogenesis, function and regulation. *Nat Rev Genet*, 2023, doi: 10.1038/s41576-023-00611-y
- Peng Y, Croce C M. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther*, 2016, 1: 15004
- Lee E J, Baek M, Gusev Y, et al. Systematic evaluation of microRNA processing patterns in tissues, cell lines, and tumors. *RNA*, 2008, 14: 35–42
- Sun H L, Cui R, Zhou J K, et al. ERK activation globally downregulates miRNAs through phosphorylating exportin-5. *Cancer Cell*, 2016, 30: 723–736
- Chang T C, Yu D, Lee Y S, et al. Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nat Genet*, 2008, 40: 43–50

- 13 Grammatikakis I, Lal A. Significance of lncRNA abundance to function. *Mamm Genome*, 2022, 33: 271–280
- 14 Xing Y H, Yao R W, Zhang Y, et al. SLERT regulates DDX21 rings associated with Pol I transcription. *Cell*, 2017, 169: 664–678
- 15 Wilusz J E, JnBaptiste C K, Lu L Y, et al. A triple helix stabilizes the 3' ends of long noncoding RNAs that lack poly(A) tails. *Genes Dev*, 2012, 26: 2392–2407
- 16 Yuan J, Liu X, Wang T, et al. The MBNL3 splicing factor promotes hepatocellular carcinoma by increasing PXN expression through the alternative splicing of lncRNA-PXN-AS1. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 820–832
- 17 Meola N, Domanski M, Karadoulama E, et al. Identification of a nuclear exosome decay pathway for processed transcripts. *Mol Cell*, 2016, 64: 520–533
- 18 Tan K, Stupack D G, Wilkinson M F. Nonsense-mediated RNA decay: an emerging modulator of malignancy. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22: 437–451
- 19 Chen L L, Bindereif A, Bozzoni I, et al. A guide to naming eukaryotic circular RNAs. *Nat Cell Biol*, 2023, 25: 1–5
- 20 Liu C X, Li X, Nan F, et al. Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity. *Cell*, 2019, 177: 865–880
- 21 Chen L L. The expanding regulatory mechanisms and cellular functions of circular RNAs. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 475–490
- 22 Liu C X, Chen L L. Circular RNAs: Characterization, cellular roles, and applications. *Cell*, 2022, 185: 2016–2034
- 23 Diederichs S. The four dimensions of noncoding RNA conservation. *Trends Genet*, 2014, 30: 121–123
- 24 Wu J, Zhu P, Lu T, et al. The long non-coding RNA LncHDAC2 drives the self-renewal of liver cancer stem cells via activation of Hedgehog signaling. *J Hepatol*, 2019, 70: 918–929
- 25 Wang Y, Zhu P, Luo J, et al. LncRNA HAND2-AS1 promotes liver cancer stem cell self-renewal via BMP signaling. *EMBO J*, 2019, 38: e101110
- 26 Zhang L, Yang Z, Trottier J, et al. Long noncoding RNA MEG3 induces cholestatic liver injury by interaction with PTBP1 to facilitate shp mRNA decay. *Hepatology*, 2017, 65: 604–615
- 27 Zhang H, Xing Z, Mani S K K, et al. RNA helicase DEAD box protein 5 regulates Polycomb repressive complex 2/Hox transcript antisense intergenic RNA function in hepatitis B virus infection and hepatocarcinogenesis. *Hepatology*, 2016, 64: 1033–1048
- 28 Zhu P, Wang Y, Huang G, et al. lnc- β -Catm elicits EZH2-dependent β -catenin stabilization and sustains liver CSC self-renewal. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, 23: 631–639
- 29 Li D, Liu X, Zhou J, et al. Long noncoding RNA HULC modulates the phosphorylation of YB-1 through serving as a scaffold of extracellular signal-regulated kinase and YB-1 to enhance hepatocarcinogenesis. *Hepatology*, 2017, 65: 1612–1627
- 30 Khan M R, Xiang S, Song Z, et al. The p53-inducible long noncoding RNA TRINGS protects cancer cells from necrosis under glucose starvation. *EMBO J*, 2017, 36: 3483–3500
- 31 Wang Y L, Liu J Y, Yang J E, et al. Lnc-UCID promotes G1/S transition and hepatoma growth by preventing DHX9-mediated CDK6 down-regulation. *Hepatology*, 2019, 70: 259–275
- 32 Wang J, Liu X, Wu H, et al. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 5366–5383
- 33 Yuan J H, Yang F, Wang F, et al. A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*, 2014, 25: 666–681
- 34 Xie C, Zhang L Z, Chen Z L, et al. A hMTR4-PDIA3P1-miR-125/124-TRAF6 regulatory axis and its function in NF kappa B signaling and chemoresistance. *Hepatology*, 2020, 71: 1660–1677
- 35 Li S Y, Zhu Y, Li R N, et al. LncRNA Lnc-APUE is repressed by HNF4 α and promotes G1/S phase transition and tumor growth by regulating miR-20b/E2F1 axis. *Adv Sci*, 2021, 8: 2003094
- 36 Hansen T B, Jensen T I, Clausen B H, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature*, 2013, 495: 384–388
- 37 Vogel A, Meyer T, Sapisochin G, et al. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 2022, 400: 1345–1362
- 38 Rumgay H, Arnold M, Ferlay J, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040. *J Hepatol*, 2022, 77: 1598–1606
- 39 Maucourt-Boulch D, de Martel C, Franceschi S, et al. Fraction and incidence of liver cancer attributable to hepatitis B and C viruses worldwide. *Intl J Cancer*, 2018, 142: 2471–2477
- 40 Huang D Q, Singal A G, Kono Y, et al. Changing global epidemiology of liver cancer from 2010 to 2019: NASH is the fastest growing cause of liver cancer. *Cell Metab*, 2022, 34: 969–977

- 41 Younossi Z M, Blissett D, Blissett R, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. [Hepatology](#), 2016, 64: 1577–1586
- 42 McGlynn K A, Petrick J L, El-Serag H B. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2021, 73: 4–13
- 43 Jiang Y, Sun A, Zhao Y, et al. Proteomics identifies new therapeutic targets of early-stage hepatocellular carcinoma. [Nature](#), 2019, 567: 257–261
- 44 Guichard C, Amadio G, Imbeaud S, et al. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. [Nat Genet](#), 2012, 44: 694–698
- 45 Totoki Y, Tatsuno K, Covington K R, et al. Trans-ancestry mutational landscape of hepatocellular carcinoma genomes. [Nat Genet](#), 2014, 46: 1267–1273
- 46 Zhu Y, Lu Y, Zhang Q, et al. MicroRNA-26a/b and their host genes cooperate to inhibit the G1/S transition by activating the pRb protein. [Nucleic Acids Res](#), 2012, 40: 4615–4625
- 47 Xiong Y, Fang J H, Yun J P, et al. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2010, 51: 836–845
- 48 Fang J H, Zhou H C, Zeng C, et al. MicroRNA-29b suppresses tumor angiogenesis, invasion, and metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 expression. [Hepatology](#), 2011, 54: 1729–1740
- 49 Su H, Yang J R, Xu T, et al. MicroRNA-101, down-regulated in hepatocellular carcinoma, promotes apoptosis and suppresses tumorigenicity. [Cancer Res](#), 2009, 69: 1135–1142
- 50 Gong J, Zhang J P, Li B, et al. MicroRNA-125b promotes apoptosis by regulating the expression of Mcl-1, Bcl-w and IL-6R. [Oncogene](#), 2013, 32: 3071–3079
- 51 Xu T, Zhu Y, Xiong Y, et al. MicroRNA-195 suppresses tumorigenicity and regulates G1/S transition of human hepatocellular carcinoma cells. [Hepatology](#), 2009, 50: 113–121
- 52 Hou J, Lin L, Zhou W, et al. Identification of miRNomes in human liver and hepatocellular carcinoma reveals miR-199a/b-3p as therapeutic target for hepatocellular carcinoma. [Cancer Cell](#), 2011, 19: 232–243
- 53 Guo W, Qiu Z, Wang Z, et al. MiR-199a-5p is negatively associated with malignancies and regulates glycolysis and lactate production by targeting hexokinase 2 in liver cancer. [Hepatology](#), 2015, 62: 1132–1144
- 54 Wang X, He Y, Mackowiak B, et al. MicroRNAs as regulators, biomarkers and therapeutic targets in liver diseases. [Gut](#), 2021, 70: 784–795
- 55 Kota J, Chivukula R R, O'Donnell K A, et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. [Cell](#), 2009, 137: 1005–1017
- 56 Wang R, Zhao N, Li S, et al. MicroRNA-195 suppresses angiogenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma by inhibiting the expression of VEGF, VAV2, and CDC42. [Hepatology](#), 2013, 58: 642–653
- 57 Ding J, Huang S, Wang Y, et al. Genome-wide screening reveals that miR-195 targets the TNF- α /NF- κ B pathway by down-regulating I κ B kinase alpha and TAB3 in hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2013, 58: 654–666
- 58 Liu J J, Lin X J, Yang X J, et al. A novel AP-1/miR-101 regulatory feedback loop and its implication in the migration and invasion of hepatoma cells. [Nucleic Acids Res](#), 2014, 42: 12041–12051
- 59 Xu L, Beckebaum S, Jacob S, et al. MicroRNA-101 inhibits human hepatocellular carcinoma progression through EZH2 downregulation and increased cytostatic drug sensitivity. [J Hepatol](#), 2014, 60: 590–598
- 60 Wang R, Fu T, You K, et al. Identification of a TGF- β -miR-195 positive feedback loop in hepatocytes and its deregulation in hepatoma cells. [FASEB J](#), 2018, 32: 3936–3945
- 61 Zhao N, Li S, Wang R, et al. Expression of microRNA-195 is transactivated by Sp1 but inhibited by histone deacetylase 3 in hepatocellular carcinoma cells. [Biochim Biophys Acta](#), 2016, 1859: 933–942
- 62 Zeng C, Wang R, Li D, et al. A novel GSK-3 β -C/EBP α -miR-122-insulin-like growth factor 1 receptor regulatory circuitry in human hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2010, 52: 1702–1712
- 63 Liu N, Chang C W, Steer C J, et al. MicroRNA-15a/16-1 prevents hepatocellular carcinoma by disrupting the communication between Kupffer cells and regulatory T cells. [Gastroenterology](#), 2022, 162: 575–589
- 64 Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, et al. MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma. [Oncogene](#), 2008, 27: 5651–5661

- 65 Pineau P, Volinia S, McJunkin K, et al. miR-221 overexpression contributes to liver tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 264–269
- 66 Gramantieri L, Fornari F, Ferracin M, et al. MicroRNA-221 targets bmf in hepatocellular carcinoma and correlates with tumor multifocality. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 5073–5081
- 67 Bae H J, Jung K H, Eun J W, et al. MicroRNA-221 governs tumor suppressor HDAC6 to potentiate malignant progression of liver cancer. *J Hepatol*, 2015, 63: 408–419
- 68 Callegari E, Elamin B K, Giannone F, et al. Liver tumorigenicity promoted by microRNA-221 in a mouse transgenic model. *Hepatology*, 2012, 56: 1025–1033
- 69 Fornari F, Pollutri D, Patrizi C, et al. In hepatocellular carcinoma miR-221 modulates sorafenib resistance through inhibition of caspase-3-mediated apoptosis. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 3953–3965
- 70 Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology*, 2007, 133: 647–658
- 71 Liu C, Yu J, Yu S, et al. MicroRNA-21 acts as an oncomir through multiple targets in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2010, 53: 98–107
- 72 Ding J, Huang S, Wu S, et al. Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating RhoGDI α . *Nat Cell Biol*, 2010, 12: 390–399
- 73 Fang T, Lv H, Lv G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer. *Nat Commun*, 2018, 9: 191
- 74 Fang J H, Zhang Z J, Shang L J, et al. Hepatoma cell-secreted exosomal microRNA-103 increases vascular permeability and promotes metastasis by targeting junction proteins. *Hepatology*, 2018, 68: 1459–1475
- 75 Lin X J, Fang J H, Yang X J, et al. Hepatocellular carcinoma cell-secreted exosomal microRNA-210 promotes angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 243–252
- 76 Jopling C L, Yi M K, Lancaster A M, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. *Science*, 2005, 309: 1577–1581
- 77 Lanford R E, Hildebrandt-Eriksen E S, Petri A, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*, 2010, 327: 198–201
- 78 Liu X L, Pan Q, Cao H X, et al. Lipotoxic hepatocyte-derived exosomal microRNA 192-5p activates macrophages through Rictor/Akt/Forkhead box transcription factor O1 signaling in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2020, 72: 454–469
- 79 Gu Y, Wei X, Sun Y, et al. miR-192-5p silencing by genetic aberrations is a key event in hepatocellular carcinomas with cancer stem cell features. *Cancer Res*, 2019, 79: 941–953
- 80 Panzitt K, Tschernatsch M M O, Guelly C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA. *Gastroenterology*, 2007, 132: 330–342
- 81 Yang F, Zhang L, Huo X S, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*, 2011, 54: 1679–1689
- 82 Liu L, Gu M, Ma J, et al. CircGPR137B/miR-4739/FTO feedback loop suppresses tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer*, 2022, 21: 149
- 83 Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology*, 2017, 66: 1151–1164
- 84 Li Q, Pan X, Zhu D, et al. Circular RNA MAT2B promotes glycolysis and malignancy of hepatocellular carcinoma through the miR-338-3p/PKM2 axis under hypoxic stress. *Hepatology*, 2019, 70: 1298–1316
- 85 Xie C, Li S Y, Fang J H, et al. Functional long non-coding RNAs in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2021, 500: 281–291
- 86 Zhang J, Li Z, Liu L, et al. Long noncoding RNA TSLNC8 is a tumor suppressor that inactivates the interleukin-6/STAT3 signaling pathway. *Hepatology*, 2018, 67: 171–187
- 87 Zheng Q, Lin Z, Xu J, et al. Long noncoding RNA MEG3 suppresses liver cancer cells growth through inhibiting β -catenin by activating PKM2 and inactivating PTEN. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 253
- 88 Liu N, Liu Q, Yang X, et al. Hepatitis B virus-upregulated LNC-HUR1 promotes cell proliferation and tumorigenesis by blocking p53 activity.

- [Hepatology](#), 2018, 68: 2130–2144
- 89 Qin G, Tu X, Li H, et al. Long noncoding RNA p53-stabilizing and activating RNA promotes p53 signaling by inhibiting heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K deSUMOylation and suppresses hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2020, 71: 112–129
- 90 Zhang J, Han C, Ungerleider N, et al. A transforming growth factor- β and H19 signaling axis in tumor-initiating hepatocytes that regulates hepatic carcinogenesis. [Hepatology](#), 2019, 69: 1549–1563
- 91 Wang F, Yuan J H, Wang S B, et al. Oncofetal long noncoding RNA PVT1 promotes proliferation and stem cell-like property of hepatocellular carcinoma cells by stabilizing NOP2. [Hepatology](#), 2014, 60: 1278–1290
- 92 Liu X, Liang Y, Song R, et al. Long non-coding RNA NEAT1-modulated abnormal lipolysis via ATGL drives hepatocellular carcinoma proliferation. [Mol Cancer](#), 2018, 17: 90
- 93 Wu M Z, Fu T, Chen J X, et al. LncRNA GOLGA2P10 is induced by PERK/ATF4/CHOP signaling and protects tumor cells from ER stress-induced apoptosis by regulating Bcl-2 family members. [Cell Death Dis](#), 2020, 11: 276
- 94 Xiong H, Ni Z, He J, et al. LncRNA HULC triggers autophagy via stabilizing Sirt1 and attenuates the chemosensitivity of HCC cells. [Oncogene](#), 2017, 36: 3528–3540
- 95 Chen X, Kang R, Kroemer G, et al. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer. [Nat Rev Clin Oncol](#), 2021, 18: 280–296
- 96 Zhang B, Bao W, Zhang S, et al. LncRNA HEPFAL accelerates ferroptosis in hepatocellular carcinoma by regulating SLC7A11 ubiquitination. [Cell Death Dis](#), 2022, 13: 734
- 97 Shi Z, Li Z, Jin B, et al. Loss of LncRNA DUXAP8 synergistically enhanced sorafenib induced ferroptosis in hepatocellular carcinoma via SLC7A11 de-palmitoylation. [Clin Transl Med](#), 2023, 13: e1300
- 98 Zhou C C, Yang F, Yuan S X, et al. Systemic genome screening identifies the outcome associated focal loss of long noncoding RNA PRAL in hepatocellular carcinoma. [Hepatology](#), 2016, 63: 850–863
- 99 Zhang L Z, Yang J E, Luo Y W, et al. A p53/lnc-Ip53 negative feedback loop regulates tumor growth and chemoresistance. [Adv Sci](#), 2020, 7: 2001364
- 100 Dong R, Liu G B, Liu B H, et al. Targeting long non-coding RNA-TUG1 inhibits tumor growth and angiogenesis in hepatoblastoma. [Cell Death Dis](#), 2016, 7: e2278
- 101 Lin J, Cao S, Wang Y, et al. Long non-coding RNA UBE2CP3 enhances HCC cell secretion of VEGFA and promotes angiogenesis by activating ERK1/2/HIF-1 α /VEGFA signalling in hepatocellular carcinoma. [J Exp Clin Cancer Res](#), 2018, 37: 113
- 102 Wang W, Chen G, Wang B, et al. Long non-coding RNA BZRAP1-AS1 silencing suppresses tumor angiogenesis in hepatocellular carcinoma by mediating THBS1 methylation. [J Transl Med](#), 2019, 17: 421
- 103 Fang J H, Zhou H C, Zhang C, et al. A novel vascular pattern promotes metastasis of hepatocellular carcinoma in an epithelial-mesenchymal transition-independent manner. [Hepatology](#), 2015, 62: 452–465
- 104 Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2014, 15: 178–196
- 105 Castro-Castro A, Marchesin V, Monteiro P, et al. Cellular and molecular mechanisms of MT1-MMP-dependent cancer cell invasion. [Annu Rev Cell Dev Biol](#), 2016, 32: 555–576
- 106 Hamidi H, Ivaska J. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis. [Nat Rev Cancer](#), 2018, 18: 533–548
- 107 Wu M Z, Yuan Y C, Huang B Y, et al. Identification of a TGF- β /SMAD/lnc-UTGF positive feedback loop and its role in hepatoma metastasis. [Signal Transduct Target Ther](#), 2021, 6: 395
- 108 Yang F, Huo X S, Yuan S X, et al. Repression of the long noncoding RNA-LET by histone deacetylase 3 contributes to hypoxia-mediated metastasis. [Mol Cell](#), 2013, 49: 1083–1096
- 109 Shi L, Liu B, Shen D D, et al. A tumor-suppressive circular RNA mediates uncanonical integrin degradation by the proteasome in liver cancer. [Sci Adv](#), 2021, 7: eabe5043
- 110 Chen Z, Lu T, Huang L, et al. Circular RNA cia-MAF drives self-renewal and metastasis of liver tumor-initiating cells via transcription factor MAFF. [J Clin Invest](#), 2021, 131: e148020
- 111 Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. [Cell Res](#), 2008, 18: 997–1006
- 112 Zhou J, Yu L, Gao X, et al. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. [J Clin Oncol](#), 2011, 29: 4781–4788

- 113 Lin X J, Chong Y, Guo Z W, et al. A serum microRNA classifier for early detection of hepatocellular carcinoma: a multicentre, retrospective, longitudinal biomarker identification study with a nested case-control study. *Lancet Oncol*, 2015, 16: 804–815
- 114 Li L, Chen J, Chen X, et al. Serum miRNAs as predictive and preventive biomarker for pre-clinical hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2016, 373: 234–240
- 115 Ji J, Shi J, Budhu A, et al. MicroRNA expression, survival, and response to interferon in liver cancer. *N Engl J Med*, 2009, 361: 1437–1447
- 116 Yang X, Liang L, Zhang X F, et al. MicroRNA-26a suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma by targeting interleukin-6-Stat3 pathway. *Hepatology*, 2013, 58: 158–170
- 117 Callegari E, D’Abundo L, Guerriero P, et al. miR-199a-3p modulates MTOR and PAK4 pathways and inhibits tumor growth in a hepatocellular carcinoma transgenic mouse model. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 485–493
- 118 Park J K, Kogure T, Nuovo G J, et al. miR-221 silencing blocks hepatocellular carcinoma and promotes survival. *Cancer Res*, 2011, 71: 7608–7616
- 119 Huang M, Wang H, Hu X, et al. lncRNA MALAT1 binds chromatin remodeling subunit BRG1 to epigenetically promote inflammation-related hepatocellular carcinoma progression. *OncoImmunology*, 2019, 8: e1518628
- 120 Costales M G, Aikawa H, Li Y, et al. Small-molecule targeted recruitment of a nuclease to cleave an oncogenic RNA in a mouse model of metastatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 2406–2411
- 121 Tong Y, Lee Y, Liu X, et al. Programming inactive RNA-binding small molecules into bioactive degraders. *Nature*, 2023, 618: 169–179
- 122 Van Roosbroeck K, Calin G A. Cancer hallmarks and microRNAs: the therapeutic connection. *Adv Cancer Res*, 2017, 135: 119–149
- 123 Calin G A, Dumitru C D, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15524–15529
- 124 Goodall G J, Wickramasinghe V O. RNA in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21: 22–36
- 125 Winkle M, El-Daly S M, Fabbri M, et al. Noncoding RNA therapeutics—challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20: 629–651
- 126 Zheng L L, Qi Y J, Qu L H. Chinese RNA research leading to the international science and technology frontier (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1323–1335 [郑凌玲, 戚益军, 屈良鹤. 走向国际科技前沿的中国RNA研究. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1323–1335]
- 127 Chen X, Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18: 99–115
- 128 Keeley T, Costanzo-Garvey D L, Cook L M. Unmasking the many faces of tumor-associated neutrophils and macrophages: considerations for targeting innate immune cells in cancer. *Trends Cancer*, 2019, 5: 789–798
- 129 De Palma M, Biziato D, Petrova T V. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 457–474
- 130 Cole S W, Nagaraja A S, Lutgendorf S K, et al. Sympathetic nervous system regulation of the tumour microenvironment. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15: 563–572
- 131 Magnon C, Hondermarck H. The neural addiction of cancer. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23: 317–334
- 132 Slominski R M, Raman C, Chen J Y, et al. How cancer hijacks the body’s homeostasis through the neuroendocrine system. *Trends Neurosci*, 2023, 46: 263–275
- 133 Chen X, Song E. The theory of tumor ecosystem. *Cancer Commun*, 2022, 42: 587–608
- 134 Li D, Sedano S, Allen R, et al. Current treatment landscape for advanced hepatocellular carcinoma: patient outcomes and the impact on quality of life. *Cancers*, 2019, 11: 841

Multidimensional regulatory networks of noncoding RNAs and hepatocellular carcinoma

YANG JinE, XIE Chen, LI LanQi, WANG Yu, ZHU Ying & ZHUANG ShiMei

MOE Key Laboratory of Gene Function and Regulation, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a worldwide malignancy with high incidence, rapid growth, early metastasis and high mortality. Non-coding RNA (ncRNA) refers to a class of RNA that is transcribed from the genome and does not code for proteins. They are abundant, accounting for about 80% of eukaryotic cell transcripts. Recent studies have revealed that ncRNAs can regulate gene expression at the epigenetic, transcriptional, and post-transcriptional levels, or regulate the localization, activity, and function of proteins, thereby affecting cell activity, like differentiation, proliferation, death, motility, and so on. A deeper understanding on the ncRNA regulatory networks in HCC development and progression will provide new strategies for the diagnosis and treatment of HCC. In this review, we introduce the classification of ncRNA, the mechanism of ncRNA biogenesis, processing, and degradation, and the functional network of ncRNAs. We also summarize recent findings on how ncRNAs regulate the malignant phenotypes of HCC. Finally, we discuss the potential applications of ncRNA as diagnostic biomarkers and therapeutic targets.

non-coding RNA, microRNA, long noncoding RNA, hepatocellular carcinoma

doi: [10.1360/SSV-2023-0208](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0208)