

非编码 RNA 调节肝癌干细胞的研究进展

王存福¹, 郭 驹²

(1. 广西中医药大学附属瑞康医院, 广西 南宁 530011; 2. 南方医科大学第五附属医院, 广东 广州 510980)

摘要: 肝癌是一种侵袭性极强的恶性肿瘤, 临床预后极差。肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)是肝癌细胞中一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞亚群, 具有极强的侵袭、迁移能力, 与肝癌的发生、进展、转移密切相关。非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)亚群的关键调节因子, 参与了 CSCs 的自我更新、侵袭、耐药和分化等过程。全文对 ncRNAs 在 LCSCs 发生、维持和调节中的功能及作用机制等近年来研究进展作一综述; 通过 ncRNAs 寻找肝癌治疗新靶点, 以期选择性消除 LCSCs, 最终改善肝癌患者的预后。

关键词: 肝癌干细胞; 生物标志物; 非编码 RNA; 自我更新; 分化

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)10-0878-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.10.B011

Research Progress on Non-Coding RNA's Regulation of Liver Cancer Stem Cells

WANG Cunfu¹, GUO Ju²

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China; 2. The Fifth Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510980, China)

Abstract: Liver cancer is a highly aggressive malignant tumor with a very poor clinical prognosis. Liver cancer stem cells (LCSCs) are a subpopulation of cells with self-renewal and multi-directional differentiation potential in liver cancer cells, which have strong invasion and migration capabilities, and are closely related to the occurrence, progression and metastasis of liver cancer. Non-coding RNAs (ncRNAs) are a key regulator of cancer stem cells (CSCs) subsets, which are involved in CSCs self-renewal, invasion, drug resistance and differentiation. This paper reviews the research progress on function and mechanism of ncRNAs in the initiation, maintenance and regulation of LCSCs in recent years, and uses ncRNAs to find new targets for the treatment of liver cancer, in order to selectively eliminate LCSCs and ultimately improve the prognosis of liver cancer patients.

Subject words: liver cancer stem cell; biomarker; non-coding RNA; self-renewal; differentiation

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的一种重要病理类型, 至今尚无有效的治疗方法。近年来, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准多个类别的药物, 其中包括: 索拉非尼、仑伐替尼和卡博替尼等激酶抑制剂, 雷莫芦单抗和贝伐珠单抗等血管生成抑制剂, 帕博利珠单抗、纳武利尤单抗和阿特利珠单抗等免疫检查点抑制剂。虽然这些药物对于某些患者是有效的, 但是仅能使患者的总存活时间增加数月^[1]。由于 HCC 高发病率、高死亡率和当前治疗方案的局限性, 已经成为被关注的公共卫生问题。和大多数癌症一样, HCC 是由一个高度异质性的肝癌细胞组

成, 其中一部分独特的小亚群被称为癌症干细胞(cancer stem cells, CSCs)。CSCs 具有无限增殖、自我更新、分化和肿瘤再生的特性, 是肿瘤发生及进展、复发、转移和耐药的主要原因^[2]。

随着人类基因组学和转录组测序技术的发展, 许多非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)得到了广泛的研究和证实^[3]。结果显示, ncRNAs 在 HCC 的发生及进展过程中起到了重要的调控作用^[4]。在这些细胞中, lncRNAs、miRNAs 和 circRNAs 以及在维持 HCC 中的 CSCs 特别重要^[5]。这些研究结果使我们对肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)的复杂性有了新的认识, 并且帮助我们更好地了解 LCSCs 的基本原理。本文对 LCSCs 和 ncRNAs 的研究进展进行了系统的综述, 并对其作用机制进

通信作者: 郭 驹, E-mail: medicaldreamguoju@gmail.com

收稿日期: 2023-06-24; 修回日期: 2023-08-12

行了阐述, 以期为 HCC 的诊断和治疗寻找新的靶点, 并为 HCC 的临床应用提供依据。

1 肝癌干细胞及非编码 RNA

HCC 是一种异常复杂且具有高度异质性的肿瘤。不同类型的肿瘤具有不同的分子特性, 且对治疗的敏感性也不同。有证据显示, 肿瘤的异质性与其治疗效果相关。肿瘤的异质性是由肿瘤的表现遗传改变引起的^[6]。肿瘤微环境的变化也会导致肿瘤细胞的异质性改变。另外, CSCs 还可以促进肿瘤的异质性。CSCs 能够复制肿瘤的全部特征, 因为它的自身再生和分化能力与干细胞相似。大量证据显示, HCC 的生长是由 LCSCs 所推动的, 而这些细胞是 HCC 患者频繁复发和耐药的主要原因^[7]。

早期的肝脏造血干/祖细胞研究主要集中在识别肝脏造血干细胞标志物, 这些标志物来源于细胞分选和免疫缺陷小鼠异种移植实验中所获得的 LCSCs 标志物。尽管不应过分依赖标志物来鉴定 CSCs 和识别 CSCs 标志物, 但这些早期研究为当前 LCSCs 研究奠定了基础。HCC 的进展与胎儿肝脏、正常肝脏和再生肝脏的进展模式相似, 即出现了表达某些干细胞特性的细胞和信号转导通路的激活^[8]。实际上, 许多在 HCC 中发现的 LCSCs 标志物是肝细胞和肝脏祖细胞共有的胎儿标志物。

ncRNAs 虽然是一类不会编码蛋白质的 RNA 转录物, 但它们会产生很多潜在的功能性 RNAs^[3,9]。根据其功能, ncRNAs 主要可分为两大类型: 基础性和调节性 ncRNAs^[9]。基础性 ncRNAs 包括 rRNA、tRNA 和 snRNA, 在蛋白质翻译和 mRNA 剪接中起着管家作用。调节性 ncRNAs 参与其他 RNAs 的修饰, 因此在表观遗传调节中尤为重要^[9-10]。这些参与表观遗传过程的 ncRNAs 又可分为两大类: 短 ncRNAs (<30 个核苷酸) 和长 ncRNAs (>200 个核苷酸), 它们都在调节染色质形成、组蛋白修饰、DNA 甲基化和基因沉默中起作用。除了功能分类, ncRNAs 还可以根据分子大小进行简单的分类, 长于 200 个核苷酸的 ncRNAs 被称为长链 ncRNAs (lncRNAs), 而短于 200 个核苷酸的 ncRNAs 被认为是小 ncRNAs (sncRNAs)^[4]。sncRNAs 代表了一种全面的调控 RNA 物种, 负责调控一系列的基因表达, 并根据大

小分为两类^[3]: 第一类是小型 ncRNAs, 长度为 17~30 个核苷酸, 如 microRNAs (miRNAs)、短干扰 RNAs (siRNAs)、piwi 相关小 RNAs 和转录起始 RNAs。第二类为中等大小的 ncRNAs, 一般长度为 20~300 个核苷酸, 主要包括 snRNAs、小型 Cajal 身体特异性 RNA (scaRNAs) 和小核仁 RNAs (snoRNAs)^[3]。ncRNAs 在 LCSCs 发生、维持和调节功能中发挥着调控作用 (Table 1)^[11-40]。

2 非编码 RNA 在肝癌干细胞中的调控作用

2.1 长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs)

研究已证实 lncRNAs 在 LCSCs 标志物阳性亚群中具有不同的表达, 且在肝癌干性调控中发挥着至关重要的作用。有研究在顺铂耐药的肝细胞三维培养物中发现了 *lncDILC* 的耗竭, 是通过促进自分泌 IL-6-STAT3 信号和介导 TNF-NF- κ B 与 IL-6-STAT3 信号之间的干扰, 有助于 EpCAM⁺ 和 CD24⁺ 的 LCSCs 细胞亚群扩增^[41]。*lncHDAC2* 和 *lncBRM* 都在 CD13⁺CD133⁺ 的 LCSCs 亚群中过表达, 它们通过招募核糖体重塑和去乙酰化酶复合物到 PTCH1 的启动子上以抑制其表达, 从而分别激活 Hedgehog 信号和启动 BRG1-BRM 开关来激活 YAP1, 从而驱动自我更新^[42-43]。另外两项研究发现, *lnc β -Catm* 和 *lncTCF7* 在 CD13⁺ CD133⁺ HCC 细胞中过表达, 它们共同促进了 WNT/ β -catenin 信号通路的激活^[44-45]。研究发现 *lncDANCR* 通过减少 β -catenin 促进了 HCC 的干性特征, 这有助于 WNT 的激活^[46]。*lncSOX4* 在 EpCAM⁺ 和 CD133⁺ 的 HCC 细胞中过表达, 它与 STAT3 相互作用并将其招募到 SOX4 启动子上以驱动自我更新^[47]。NANOG 调控的 *lncICR* 在 LCSCs 的 ICAM1⁺ 亚群中高表达, 并通过 RNA 双链形成增强其 mRNA 的稳定性来维持 ICAM1 的表达^[13]。*lncPVT1* 也被发现在 HCC 细胞中高表达, 它通过增强 NOP2 的稳定性来促进增殖和 CSCs 干性^[48]。最近, tRNA 甲基转移酶 METTL6 也被证明可以调节 HCC 细胞中的多能性和促进 HCC 细胞生长^[49], 从而开辟了一个与 RNA 生物学参与维持 LCSCs 相关的新研究

Table 1 Regulatory role of ncRNAs in LCSCs

ncRNAs	Role in LCSCs	Signaling pathways/targets	Reference
lncRNAs			
<i>lncCAMTA1</i>	Promote	Inhibits the tumor suppressor <i>CAMTA1</i>	[11]
<i>lncHOTAIR</i>	Promote	Downward adjustment of <i>SETD2</i>	[12]
<i>lncCAM-1-related</i>	Promote	Maintenance of <i>ICAM-1</i> expression	[13]
<i>lncCU DR</i>	Promote	Upregulation of <i>TERT</i> and <i>c-Myc</i>	[14]
<i>lncMEG3</i>	Inhibitory	Activation of <i>PKM2</i> and inactivation of <i>PTEN</i> to inhibit β -catenin	[15]
miRNAs			
<i>Let-7a</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>TCF4</i>	[16]
<i>Let-7b</i>	Inhibitory	Suppression of <i>FZD4</i>	[17]
<i>miR-21</i>	Promote	Upregulation of <i>PTEN</i> , <i>RECK</i> , <i>PDCD4</i>	[18]
<i>miR-25</i>	Promote	Upregulation of <i>PTEN/PI3K/AKT/Bad</i>	[19]
<i>miR-122</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>PKK4</i>	[20]
<i>miR-130b</i>	Promote	Upregulation of <i>TP53INP1</i>	[21]
<i>miR-137</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>ANT2</i>	[22]
<i>miR-142-3p</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>CD133</i>	[23]
<i>miR-145</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>Oct4</i>	[24]
<i>miR-150</i>	Inhibitory	Down-regulation of cyclin D1, <i>Bcl-2</i> , <i>c-Myc</i> expression	[25]
<i>miR-152</i>	Inhibitory	Inhibition <i>KIT</i>	[26]
<i>miR-155</i>	Promote	Upregulation of <i>TP53INP1</i>	[27]
<i>miR-200a</i>	Inhibitory	Down-regulates the expression of N-cadherin, <i>ZEB2</i> and waveform proteins; upregulates E-cadherin expression	[28]
<i>miR-200b</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>BM11</i> , <i>CD13</i> , <i>CD24</i>	[29]
<i>miR-214</i>	Inhibitory	Inhibits Catenin, <i>EZH2</i>	[30]
<i>miR-216a/217</i>	Promote	Up-regulates the expression of <i>PTEN</i> and <i>Smad7</i>	[31]
<i>miR-449a</i>	Promote	Downward adjustment of <i>TCF3</i>	[32]
<i>miR-589-5p</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>MAP3K8</i>	[33]
<i>miR-612</i>	Inhibitory	Inhibition of <i>SPI1/Nanog</i>	[34]
circRNAs			
<i>circMTO1</i>	Inhibitory	<i>miR-9</i> of <i>p21</i>	[35]
<i>cSMARCA5</i>	Inhibitory	<i>miR-17-3p</i> and <i>miR-181b-5p</i> of <i>TIMP3</i>	[36]
<i>circMAT2B</i>	Promote	<i>miR-338-3p</i>	[37]
<i>circ-10720</i>	Promote	Twist1, the transcription factor of <i>EMT</i>	[38]
<i>circRHOT1</i>	Inhibitory	Recruit <i>TIP60</i> to <i>NR2F6</i>	[39]
<i>circASAP1</i>	Promote	<i>miR-326</i> and <i>miR-532-5p</i>	[40]

领域。

2.2 微小 RNA (microRNAs, miRNAs)

有研究对标志物阳性和阴性的 LCSCs 或有无 LCSCs 干性特征的 HCC 组织样本进行微核糖核酸分析,发现多种直接调节干性标志物或调节干性相关途径的 miRNAs,如:*miR-125b*、*miR-130b*、*miR-148a*、*miR-181*、*miR-192-5p*、*miR-150*、*miR-155*、*miR-223*、*let-7c*、*miR-200b*、*miR-222*、*miR-424*、*miR-429* 和 *miR-1246* 等^[50]。

miRNAs 的下调都汇集在自我更新途径上,如:WNT/ β -catenin 信号被 Oct4 所驱动的 *miR-1246* 对 AXIN2 和 GSK3 β 28 的影响,以及 *miR-181* 对 NLK23

和 *miR-155* 对 EpCAM25 的影响。同样,BMP-SMAD 信号也受到 *miR-148a* 和 *miR-125b* 的影响,前者与 ACVR1 相互作用,后者针对 SMAD2 和 SMAD4^[51]。其他下调的 miRNAs 通过改变分化和细胞周期调节的转录来调节干性,如:*miR-181* 调节 CDX2 和 GATA6 的转录^[52],*miR-192-5p* 调节 PABPC4^[53]和 *miR-429* 调节 RB1、RBBP4 和 E2F1^[54]。 α 2 δ 1⁺ LCSCs 中一组 miRNAs(即 *let-7c*、*miR-200b*、*miR-222* 和 *miR-424*)的下调导致其靶点 PBX3 的水平维持在一定的阈值^[55],这是维持 LCSCs 表型所必需的。

2.3 环状 RNA (circular RNAs, circRNAs)

circRNAs 是一类由剪接体机制催化的外显子

反向剪接环化而形成的 ncRNAs, 它不具有 5'末端帽子和 3'末端 poly(A)尾。它具有 miRNAs 海绵功能来控制 miRNAs, 从而调节 RNA 的加工与转录。circRNAs 作为癌基因或抑癌基因在 HCC 中的作用已被阐明。一项研究使用 HCC 组织或血浆的 circRNAs 微阵列在 HCC 患者中鉴定出了数百种差异表达的 circRNAs, 结果表明 circRNAs 在 HCC 的发生及进展中发挥着重要作用, 可作为 HCC 诊断的可靠生物标志物^[56]。

circMTO1 和 *cSMARCA5* 在 HCC 患者中表达较低, 其表达水平与 HCC 患者的生存呈负相关, 且它们的过表达可抑制 SMMC-7721 异种移植物的体内生长。*circMTO1* 海绵功能靶向 *p21* 的 miR-9, 而 *cSMARCA5* 通过海绵靶向着 *TIMP3* 的 miR-17-3p 和 miR-181b-5p^[35-36]。目前, *circMAT2B* 已被确定为致癌 circRNA, 它可通过海绵 miR-338-3p 促进糖酵解并调节丙酮酸激酶, 从而刺激 Huh7 和 HepG2 异种移植物的生长^[37]。而在 HCC 中过表达的 *circ-10720* 可促进 EMT 的转录因子 *Twist1* 进行转录调节, 并在诱导表达 *Twist-1* 的小鼠 HCC 模型中, 敲低 *circ-10720* 可抑制肿瘤生长^[38]。同时 *circ-10720* 可吸收多种靶向波形蛋白的 miRNAs^[38]。*circRHOT1* 可从 HCC 的早期到晚期均高表达, 其表达水平与 HCC 预后不良相关^[39]。敲低 *circRHOT1* 可消除 Hep3B 和 Huh7 细胞的肿瘤发生, 且 *circRHOT1* 可从机制上将组蛋白乙酰转移酶 *TIP60* 招募至核受体亚族 2F 组成员 6 的启动子以增加其转录^[39]。*circASAP1* 在转移性肝癌患者中过表达, 且通过体内 PLC/PRF/5 细胞促进肺转移^[40]。*circASAP1* 海绵作用于 miR-326 和 miR-532-5p, 分别增加其靶点 MAPK1 和集落刺激因子-1, 从而促进肿瘤细胞增殖和侵袭以及巨噬细胞的浸润^[40]。

3 肝癌干细胞相关非编码 RNA 的治疗意义

ncRNAs 的基因调控表达能力使其成为药物研发的潜在靶点。然而, 传统的小分子和抗体药物都不能针对 ncRNAs。相反, 互补的寡核苷酸或双链 RNA 可用于靶向 ncRNAs 或模拟物。寡核苷酸是理想的

治疗模型, 因为其合成简单, 且成本低廉^[57]。寡核苷酸经过化学修饰, 以提高其稳定性、疗效和药代动力学。例如: 2'-O-甲基化和锁核酸碱基显著增强了 RNA 在体外的稳定性^[58-59]。

在 HCC 中经常观察到致癌性 miRNAs 的过表达, 它们可作为潜在的治疗靶标。例如: 用针对 miR-221 的反义 2'-O-甲基寡核苷酸治疗可以减少异种移植和抑制 miR-221tg-DEN 诱导的肝癌小鼠模型的肿瘤生长^[60-61]。这些临床前研究表明, 抑制 miRNA 在 HCC 治疗中极具潜力。第一个靶向 miRNA 疗法 miravirsen 是为治疗慢性 HCV 感染而设计的。miravirsen 是一种 15 个核苷酸的锁核酸, 靶向 miR-122 以控制 HCV 的复制。在对黑猩猩的临床前研究和对慢性 HCV 感染患者的 II a 期临床试验表明, miravirsen 治疗可以导致对 HCV 水平的剂量依赖性且能够长时间抑制, 而不产生主要的急性毒副作用^[62-63]。然而, 由于 miR-122 是一个重要的代谢调节器和抑癌因子, 与非酒精性脂肪肝和 HCC 的发病有关, miravirsen 治疗的长期安全性有待于进一步观察。一些在 HCC 中下调的 miRNAs 已被证明能发挥突出的抗肿瘤作用。因此, 重新引入这些 miRNAs 可能是一种潜在的治疗策略, 以抑制肿瘤的生长。Kota 等^[64]通过在 HCC 小鼠模型中成功引入 miR-26a, 使荷瘤小鼠的肿瘤大小和结节数量均大幅减少, 且毒性很小。同样, Zheng 等^[65]使用慢病毒载体方法在肝脏肿瘤小鼠模型中系统地引入 miR-101, 导致肿瘤生长和转移的急剧抑制。在使用 DEN 诱导的 HCC 小鼠和大鼠模型中, miR-122 被下调。通过输送 agomiR-122 (一种与胆固醇结合和化学修饰的 miR-122 模拟物) 恢复 miR-122 的水平, 有效抑制了 DEN 诱导的 C57BL/J 小鼠 HCC 肿瘤的形成^[66]。一些研究开始探索纳米脂质体结合的 miRNA 在全身系统中的潜在应用。2013 年, MRX34 (一种纳米脂质体内含的 miR-34 模拟物) 进入 I 期临床试验 (NCT01829971), 用于治疗原发性肝癌和其他实体瘤^[67]。在入组的 75 例患者中, 根据实体肿瘤反应评价标准 (response evaluation criteria in solid tumours, RECIST), 有 2 例患者获得了部分缓解, 1 例是 HCC 患者, 另 1 例是恶性黑色素瘤患者^[67]。然而, 因为这项临床试验有 5 例患者观察到了意外的免疫相关严重不良事件, 该临床试验最近被终止了。

封闭 miRNAs 是内源性 lncRNAs 的一个共同机制。基于这一原理,研究人员研发了人工 lncRNAs 来封存 HCC 中的致癌 miRNAs。Tang 等^[68]通过采用 AAV 传递一种人工 lncRNAs,该 lncRNAs 含有与索拉非尼抗肿瘤相关的多个 miRNAs 的串联反义序列,能够在体内和体外模型中提高索拉非尼的疗效。目前,lncRNAs 疗法的研发正处于起步阶段。然而,在基础实验中,反义寡核苷酸已经被广泛用于研究 lncRNAs 的机制和功能。例如:反义寡核苷酸靶向致癌性 lncRNA-MALAT1 已被证明可明显减少肺癌小鼠模型中的肿瘤生长和转移^[69]。随着对 lncRNAs 功能知识的不断增加和反义寡核苷酸技术经验的不断积累,相信在不久的将来,该方法将用于靶向治疗 HCC 相关 lncRNAs 的临床应用。

4 结语与展望

ncRNAs 正成为参与调节各种生物和细胞活动的重要调节因子。ncRNAs 的失调与 HCC 的发生密切相关,但 ncRNAs 的失调如何有助于 HCC 的异质性和肿瘤克隆仍有待探索。近年来 miRNAs 的功能已被广泛研究,多种基于 miRNAs 治疗 HCC 的方法已经进入临床试验。然而,机遇与挑战一直并存。ncRNAs 可以同时调节多个靶点,可能参与较为复杂的反馈机制。识别合适的治疗性 ncRNAs 靶点或模拟物需要对 HCC 特定的分子生物学有透彻的理解,以避免产生不良的脱靶效应。此外,寡核苷酸的体内生物活性和癌细胞特异性传递是治疗的关键因素。化学修饰可以帮助稳定治疗性寡核苷酸并延长其半衰期,从而将治疗性寡核苷酸封装在纳米颗粒中以提高体内传递的效率。化学技术和纳米技术的进步将有助于设计出更好的基于 ncRNAs 的治疗策略,使治疗获益最大化,毒性反应最小化。然而,还需要更多的转化研究和临床试验来推动基于 ncRNAs 的诊断测试和治疗干预,使 HCC 患者最大化受益。

参考文献:

[1] Niu M, Yi M, Li N, et al. Advances of targeted therapy for hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol, 2021, 11: 719896.
[2] Walcher L, Kistenmacher AK, Suo H, et al. Cancer stem cells-origins and biomarkers: perspectives for targeted

personalized therapies[J]. Front Immunol, 2020, 11: 1280.
[3] Galasso M, Sana ME, Volinia S. Non-coding RNAs: a key to future personalized molecular therapy? [J]. Genome Med, 2010, 2(2): 12.
[4] Slack FJ, Chinnaiyan AM. The role of non-coding RNAs in oncology[J]. Cell, 2019, 179(5): 1033-1055.
[5] Lv H, Lv G, Han Q, et al. Noncoding RNAs in liver cancer stem cells: the big impact of little things[J]. Cancer Lett, 2018, 418: 51-63.
[6] Guo L, Yi X, Chen L, et al. Single-cell DNA sequencing reveals punctuated and gradual clonal evolution in hepatocellular carcinoma [J]. Gastroenterology, 2022, 162 (1): 238-252.
[7] Nio K, Yamashita T, Kaneko S. The evolving concept of liver cancer stem cells[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 4.
[8] Liu K, Ou JJ. Regulators of liver cancer stem cells [J]. World J Stem Cells, 2021, 13(8): 1127-1133.
[9] Morris KV, Mattick JS. The rise of regulatory RNA[J]. Nat Rev Genet, 2014, 15(6): 423-437.
[10] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease [J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(12): 861-874.
[11] Ding LJ, Li Y, Wang SD, et al. Long noncoding RNA lnc-CAMTA1 promotes proliferation and cancer stem cell-like properties of liver cancer by inhibiting CAMTA1[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(10): 1617.
[12] Li H, An J, Wu M, et al. lncRNA HOTAIR promotes human liver cancer stem cell malignant growth through downregulation of SETD2[J]. Oncotarget, 2015, 6(29): 27847-27864.
[13] Guo W, Liu S, Cheng Y, et al. ICAM-1-related noncoding RNA in cancer stem cells maintains ICAM-1 expression in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2016, 22 (8): 2041-2050.
[14] Pu H, Zheng Q, Li H, et al. CUDR promotes liver cancer stem cell growth through upregulating TERT and C-Myc [J]. Oncotarget, 2015, 6(38): 40775-40798.
[15] Yoshida M, Yamashita T, Okada H, et al. Sorafenib suppresses extrahepatic metastasis de novo in hepatocellular carcinoma through inhibition of mesenchymal cancer stem cells characterized by the expression of CD90[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11292.
[16] Jin B, Wang W, Meng XX, et al. Let-7 inhibits self-renewal of hepatocellular cancer stem-like cells through regulating the epithelial-mesenchymal transition and the Wnt signaling pathway[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 863.
[17] Cai H, Chen Y, Yang X, et al. Let7b modulates the Wnt/ β -catenin pathway in liver cancer cells via downregulated

- Frizzled4[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(7):1010428317716076.
- [18] Zhou L, Yang ZX, Song WJ, et al. MicroRNA-21 regulates the migration and invasion of a stem-like population in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43 (2): 661–669.
- [19] Feng X, Jiang J, Shi S, et al. Knockdown of miR-25 increases the sensitivity of liver cancer stem cells to TRAIL-induced apoptosis via PTEN/PI3K/Akt/Bad signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(6):2600–2610.
- [20] Song K, Kwon H, Han C, et al. Active glycolytic metabolism in CD133 (+) hepatocellular cancer stem cells; regulation by MIR-122[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(38):40822–40835.
- [21] Ma S, Tang KH, Chan YP, et al. miR-130b promotes CD133 (+) liver tumor-initiating cell growth and self-renewal via tumor protein 53-induced nuclear protein 1[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(6):694–707.
- [22] Lu AQ, Lv B, Qiu F, et al. Upregulation of miR-137 reverses sorafenib resistance and cancer-initiating cell phenotypes by degrading ANT2 in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(4):2071–2078.
- [23] Chai S, Tong M, Ng KY, et al. Regulatory role of miR-142-3p on the functional hepatic cancer stem cell marker CD133[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(14):5725–5735.
- [24] Jia Y, Liu H, Zhuang Q, et al. Tumorigenicity of cancer stem-like cells derived from hepatocarcinoma is regulated by microRNA-145[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(6):1865–1872.
- [25] Zhang J, Luo N, Luo Y, et al. microRNA-150 inhibits human CD133-positive liver cancer stem cells through negative regulation of the transcription factor c-Myb [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(3):747–756.
- [26] Huang H, Hu M, Li P, et al. miR-152 inhibits cell proliferation and colony formation of CD133 (+) liver cancer stem cells by targeting Klf11[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(2):921–928.
- [27] Liu F, Kong X, Lyu L, et al. TGF- β 1 acts through miR-155 to down-regulate TP53INP1 in promoting epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes [J]. *Cancer Lett*, 2015, 359(2):288–298.
- [28] Wang J, Yang X, Ruan B, et al. Overexpression of miR-200a suppresses epithelial-mesenchymal transition of liver cancer stem cells[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4):2447–2456.
- [29] Tsai SC, Lin CC, Shih TC, et al. The miR-200b-ZEB1 circuit regulates diverse stemness of human hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(9):2035–2047.
- [30] Xia H, Ooi LL, Hui KM. miR-214 targets β -catenin pathway to suppress invasion, stem-like traits and recurrence of human hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9):e44206.
- [31] Xia H, Ooi LL, Hui KM. MicroRNA-216a/217-induced epithelial-mesenchymal transition targets PTEN and SMAD7 to promote drug resistance and recurrence of liver cancer[J]. *Hepatology*, 2013, 58(2):629–641.
- [32] Zhang Q, Yang Z, Shan J, et al. MicroRNA-449a maintains self-renewal in liver cancer stem-like cells by targeting Tcf3[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(66):110187–110200.
- [33] Zhang X, Jiang P, Shuai L, et al. miR-589-5p inhibits MAP3K8 and suppresses CD90+ cancer stem cells in hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1):176.
- [34] Liu Y, Liu DL, Dong LL, et al. miR-612 suppresses stem cell-like property of hepatocellular carcinoma cells by modulating Sp1/Nanog signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9):e2377.
- [35] Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circmto1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression[J]. *Hepatology*, 2017, 66(4):1151–1164.
- [36] Yu J, Xu QG, Wang ZG, et al. Circular RNA csmarca5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(6):1214–1227.
- [37] 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 [J]. *Hepatology*, 2019, 70(4):1298–1316.
- [38] Meng J, Chen S, Han JX, et al. Twist1 regulates vimentin through cul2 circular RNA to promote EMT in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(15):4150–4162.
- [39] Wang L, Long H, Zheng Q, et al. Circular RNA circrhot1 promotes hepatocellular carcinoma progression by initiation of nr2f6 expression[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18 (1):119.
- [40] Hu ZQ, Zhou SL, Li J, et al. Circular RNA sequencing identifies circasap1 as a key regulator in hepatocellular carcinoma metastasis[J]. *Hepatology*, 2020, 72(3):906–922.
- [41] Wang X, Sun W, Shen W, et al. Long non-coding RNA DILC regulates liver cancer stem cells via IL-6/STAT3 axis[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(6):1283–1294.
- [42] 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]. *J Hepatol*, 2019, 70(5):918–929.
- [43] Zhu P, Wang Y, Wu J, et al. lncBRM initiates YAP1 signalling activation to drive self-renewal of liver cancer stem cells[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:13608.
- [44] Zhu P, Wang Y, Huang G, et al. lnc- β -Catm elicits EZH2-dependent β -catenin stabilization and sustains liver CSC

- self-renewal[J]. *Nat Struct Mol Biol*,2016,23(7):631–639.
- [45] Wang Y,He L,Du Y,et al. The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling[J]. *Cell Stem Cell*,2015,16(4):413–425.
- [46] Yuan SX,Wang J,Yang F,et al. Long noncoding RNA DANCR increases stemness features of hepatocellular carcinoma by derepression of CTNNB1[J]. *Hepatology*,2016,63(2):499–511.
- [47] Chen ZZ,Huang L,Wu YH,et al. LncSox4 promotes the self-renewal of liver tumour-initiating cells through Stat3-mediated Sox4 expression[J]. *Nat Commun*,2016,7:12598.
- [48] Wang F,Yuan JH,Wang SB,et al. Oncofetal long noncoding RNA PVT1 promotes proliferation and stem cell-like property of hepatocellular carcinoma cells by stabilizing NOP2[J]. *Hepatology*,2014,60(4):1278–1290.
- [49] Ignatova VV,Kaiser S,Ho JSY,et al. METTL6 is a tRNA m3C methyltransferase that regulates pluripotency and tumor cell growth[J]. *Sci Adv*,2020,6(35):eaaz4551.
- [50] Pan G,Liu Y,Shang L,et al. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance[J]. *Cancer Commun (Lond)*,2021,41(3):199–217.
- [51] Zhou JN,Zeng Q,Wang HY,et al. MicroRNA-125b attenuates epithelial-mesenchymal transitions and targets stem-like liver cancer cells through small mothers against decapentaplegic 2 and 4[J]. *Hepatology*,2015,62(3):801–815.
- [52] Ji J,Yamashita T,Budhu A,et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells[J]. *Hepatology*,2009,50(2):472–480.
- [53] 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[J]. *Cancer Res*,2019,79(5):941–953.
- [54] Li L,Tang J,Zhang B,et al. Epigenetic modification of miR-429 promotes liver tumour-initiating cell properties by targeting Rb binding protein 4 [J]. *Gut*,2015,64(1):156–167.
- [55] Han H,Du Y,Zhao W,et al. PBX3 is targeted by multiple miRNAs and is essential for liver tumour-initiating cells [J]. *Nat Commun*,2015,6:8271.
- [56] Qiu L,Xu H, Ji M,et al. Circular RNAs in hepatocellular carcinoma: biomarkers, functions and mechanisms [J]. *Life Sci*,2019,231:116660.
- [57] Sehgal A,Vaishnav A,Fitzgerald K. Liver as a target for oligonucleotide therapeutics [J]. *J Hepatol*,2013,59(6):1354–1359.
- [58] Hutvagner G,Simard MJ,Mello CC,et al. Sequence-specific inhibition of small RNA function[J]. *PLoS Biol*,2004,2(4):E98.
- [59] Elmén J,Lindow M,Schütz S,et al. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates [J]. *Nature*,2008,452(7189):896–899.
- [60] Callegari E,Elamin BK,Giannone F,et al. Liver tumorigenicity promoted by microRNA-221 in a mouse transgenic model[J]. *Hepatology*,2012,56(3):1025–1033.
- [61] Park JK,Kogure T,Nuovo GJ,et al. miR-221 silencing blocks hepatocellular carcinoma and promotes survival[J]. *Cancer Res*,2011,71(24):7608–7616.
- [62] Lanford RE,Hildebrandt-Eriksen ES,Petri A,et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection[J]. *Science*,2010,327(5962):198–201.
- [63] Janssen HL,Reesink HW,Lawitz EJ,et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA [J]. *N Engl J Med*,2013,368(18):1685–1694.
- [64] Kota J,Chivukula RR,O'Donnell KA,et al. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model[J]. *Cell*,2009,137(6):1005–1017.
- [65] Zheng F,Liao YJ,Cai MY,et al. Systemic delivery of microRNA-101 potently inhibits hepatocellular carcinoma in vivo by repressing multiple targets [J]. *PLoS Genet*,2015,11(2):e1004873.
- [66] Li C,Deng M,Hu J,et al. Chronic inflammation contributes to the development of hepatocellular carcinoma by decreasing miR-122 levels [J]. *Oncotarget*,2016,7(13):17021–17034.
- [67] Hong DS,Kang YK,Borad M,et al. Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours[J]. *Br J Cancer*,2020,122(11):1630–1637.
- [68] Tang S,Tan G,Jiang X,et al. An artificial lncRNA targeting multiple miRNAs overcomes sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncotarget*,2016,7(45):73257–73269.
- [69] Gutschner T,Hämmerle M,Eissmann M,et al. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells[J]. *Cancer Res*,2013,73(3):1180–1189.