

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.14.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1097.R.20230310.1521.002.html\(2023-03-13\)](https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1097.R.20230310.1521.002.html(2023-03-13))

可变剪切事件在鳖甲煎丸抑制肝癌细胞增殖过程中的作用机制及变化^{*}

杨利¹,林洪升¹,李屏¹,韦巍¹,孔茵芝²,谢杨益²,李明芬^{1,3},潘爱萍^{1△}

(1. 广西中医药大学第一附属医院检验诊断教研室, 南宁 530022; 2. 广西中医药大学研究生学院, 南宁 530200; 3. 广西中医药防治医学分子生物学重点实验室, 南宁 530022)

[摘要] **目的** 探讨可变剪切事件在鳖甲煎丸抑制肝癌细胞过程中的变化和作用机制。**方法** 鳖甲煎丸血清(实验组)、空白血清(对照组)分别作用于人肝癌细胞株 SMMC-7721, 观察两组肝癌细胞增殖活性, 采用全细胞转录组学检测和分析两组肝癌细胞的可变剪切变化及基因的差异表达。**结果** 实验组细胞的增殖活性较对照组明显降低($P<0.05$)。实验组鉴定出 5 736 个基因对应 20 447 个剪切体, 对照组中鉴定出 5 533 个基因对应 18 955 个剪切体, 且均以外显子跳跃和第 1 个外显子可变剪切两种类型为主。实验组中有 1 061 个基因的可变剪切事件不重合, 对照组中有 858 个基因不重合, 96 个基因差异表达明显, 其中 ARHGAP8、ATP5L2、BIRC7、CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19、TNRC18、TPT1 与肿瘤发生、发展密切相关。CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19 的表达与肝癌患者生存率明显相关($P<0.05$)。在不同肝炎病毒感染所致的肝癌中, ARHGAP8、HES5、INPP4B、TPT1 起到保护因素的作用; 酒精摄入所致的肝癌中, ATP5L2、HES5、INPP4B、TNRC18、TPT1 起到保护因素的作用。**结论** 可变剪切事件可能参与了鳖甲煎丸抑制肝癌细胞的增殖。

[关键词] 鳖甲煎丸; 可变剪切事件; 肝癌细胞

[中图法分类号] R285

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2023)14-2101-06

Action mechanism and change of alternative splicing event in Biejiajian Pills inhibiting hepatocellular carcinoma cell proliferation process^{*}

YANG Li¹, LIN Hongsheng¹, LI Ping¹, WEI Wei¹, KONG Yinzi², XIE Yangyi²,
LI Mingfen^{1,3}, PAN Aiping^{1△}

(1. Teaching and Researching Section of Laboratory Diagnosis, First Affiliated Hospital, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530022, China; 2. Graduate School, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530200, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Medical Molecular Biology of Traditional Chinese Medicine Prevention and Control Medicine, Nanning, Guangxi 530022, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes and action mechanism of alternative splicing even in the Biejiajian Pills inhibiting hepatocellular carcinoma cells proces. **Methods** Biejiajian Pills serum (experiment group) and blank serum (control group) acted on human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 respectively. The proliferation activity of hepatocellular carcinoma cell line in the two groups was observed. The whole-cell transcriptomics was used to detect and analyze the alternative splicing changes of hepatocellular carcinoma cells in the two groups and gene differential expression. **Results** The cell proliferation activity in the experiment group was significantly decreased compared with the control group ($P<0.05$). A total of corresponding 18 955 shear bodies in 5 533 genes were identified in the control group, moreover which were mainly the two alternative splicing types of exon jump and the first exon variable shear. The variable shear events did not overlap in 1 061 genes in the experimental group and 858 genes in the control group, in which 96

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目(81960840, 82160829); 广西壮族自治区自然科学基金项目(2021GXNSFBA220073)。 作者简介: 杨利(1985—), 主管技师, 硕士, 主要从事医学微生物学与分子生物学研究。 △ 通信作者, E-mail: 182867756@qq.com。

gene differential expressions were significant, in which ARHGAP8, ATP5L2, BIRC7, CASP9, HES5, INPP4B, SLC6A19, TNRC18 and TPT1 were closely correlated with the tumor occurrence and development. The expressions of CASP9, HES5, INPP4B and SLC6A19 were significantly correlated with the survival rate of the patients with hepatocellular carcinoma ($P < 0.05$). In hepatocellular carcinoma caused by different hepatitis viruses infections, ARHGAP8, HES5, INPP4B and TPT1 played the effect as the protective factors; in hepatocellular carcinoma caused by alcohol intake, ATP5L2, HES5, INPP4B, TNRC18 and TPT1 played the effect as the protective factors. **Conclusion** The alternative splicing event may be involved in Biejiajian Pills inhibiting hepatocellular carcinoma cells proliferation.

[Key words] Biejiajian Pills; alternative splicing event; hepatocellular carcinoma cells

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是原发性肝癌中最常见的肿瘤类型, 也是目前最常见的致死性恶性肿瘤。流行病学显示我国的 HCC 患者 5 年生存率小于 15%^[1]。虽然早期的 HCC 可以通过肝切除、移植和消融等治疗方案取得了较好的治疗效果, 但 HCC 是一种高度侵袭性和转移性的肿瘤, 早期诊断较难, 导致了 HCC 治疗选择的局限性和低生存率^[2]。鳖甲煎丸是由二十三味中药组成的中成药, 源于《金匱要略·疟病脉证并治》, 具有活血化瘀、软坚散结的功效^[3]。越来越多的研究表明鳖甲煎丸具有诱导肿瘤细胞凋亡、调节免疫功能、抑制肿瘤血管生成等作用。可变剪切是一种可增加蛋白质多样性的重要转录调控机制, 国内有学者认为异常可变剪切事件可能在肿瘤发展和治疗中发挥作用^[4]。本研究旨在探讨鳖甲煎丸是否通过增强可变剪切进而抑制 HCC 的发展, 为 HCC 的诊断和治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源

人肝癌细胞株 SMMC-7721 获赠于广西中医药大学大学生化教研室。

1.1.2 动物

60 只 SPF 级 SD 雄性大鼠 (许可证号: SYXK 桂 2013-0005), 体重 (200 ± 30) g, 饲养于广西中医药大学第一附属医院医学分子生物学实验室, 进食配制基础饲料。

1.1.3 药品

鳖甲煎丸药剂购自武汉中联公司 (批号: 160400), 其组成包括炙鳖甲、赤硝各十二分 (各 90 g), 蜣螂六分 (45 g), 芍药、牡丹、土鳖虫各五分 (各 37.5 g), 蜂巢四分 (30 g), 炒乌扇、柴胡、黄芩、鼠妇虫、干姜、大黄、桂枝、厚朴、石韦、紫葳、炙阿胶各三分 (各 22.5 g), 瞿麦、桃仁各二分 (各 15 g), 葶苈、半夏、人参各一分 (各 7.5 g)。

1.1.4 实验试剂和仪器

DMEM 细胞培养基 (批号: 8169175) 和细胞培养

所添加的胎牛血清 (批号: 1828728) 均购自美国 Thermo Scientific 公司, CCK-8 试剂盒 (批号: 6972-75-8) 购自日本同仁公司。总 RNA 提纯试剂盒 (批号: 74104) 购自德国 Qiagen 公司。测序平台 Illumina HiSeq2500 购自美国 Illumina 公司, 酶联免疫检测仪 (Multiskan FC) 购自美国 Thermo Scientific 公司, 恒温培养箱 (Thermo Scientific Forma) 购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 方法

1.2.1 血清制备

鳖甲煎丸含药血清按参考文献[5]的方法进行制备。1 g/kg 的给药剂量配制鳖甲煎丸生理盐水混悬液, 给予大鼠灌胃给药 (10 mL/kg), 每天 2 次, 连续 3 d, 第 4 天给药 2 h 后腹主动脉取血, 常温静置 2 h 后离心分离血清, 56 °C 灭活 30 min, 经 0.45 μm 和 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌, 置于 -20 °C 下保存。将同一体积鳖甲煎丸悬液替换成生理盐水, 空白血清制备方法和流程与鳖甲煎丸含药血清制备相同。

1.2.2 细胞干预分组和培养

实验组采用 10% 鳖甲煎丸含药血清和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基用于培养人肝癌细胞株 SMMC-7721; 对照组采用 10% 空白血清和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基用于培养人肝癌细胞株 SMMC-7721。培养条件均为 5% CO₂、37 °C 恒温条件。

1.2.3 人肝癌细胞 SMMC-7721 的增殖活性检测

CCK-8 法检测鳖甲煎丸对肝癌细胞的抑制作用。在 96 孔板中加入约 1×10^4 个细胞悬液, 每组设 3 个复孔, 将培养板放在培养箱中预培养 24 h, 细胞贴壁后向培养板中加入 100 μL 制备血清 (鳖甲煎丸含药血清或空白血清) 和 100 μL 胎牛血清。干预 24、48、72 h 后, 每孔加入 20 μL CCK-8 液, 在培养箱中继续培养 2 h, 酶标仪检测 450 nm 处的吸光度 (A) 值, 重复 3 次。

1.2.4 细胞总 RNA 的提取

将约 1×10^6 个细胞悬液接种至培养瓶, 培养过夜待其贴壁, 将细胞培养基更换为含 10% 鳖甲煎丸含

药血清的 DMEM 培养基培养 24 h,RNeasy mini Kit 试剂盒提取细胞总 RNA。

1.2.5 转录组测序和分析

细胞转录组测序和分析由深圳海一时代基因科技有限公司完成。

1.2.6 差异表达基因的鉴定和分析

从两组差异表达基因中筛选出与实验组可变剪切事件相关的基因,采用 ualcan 对其进行肝癌患者生存分析,kmplot 进行风险因素分析。

1.2.7 GO 富集分析和 KEGG pathway 富集分析

采用 David 数据库进行 GO 富集分析,网页工具 metascape 进行 KEGG pathway 富集分析。

1.3 统计学处理

采用 Graph Pad8.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验或重复测量方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组细胞增殖活性比较

实验组细胞的增殖活性较对照组明显降低,差异有统计学意义($F = 66.662, P = 0.003$),见图 1。

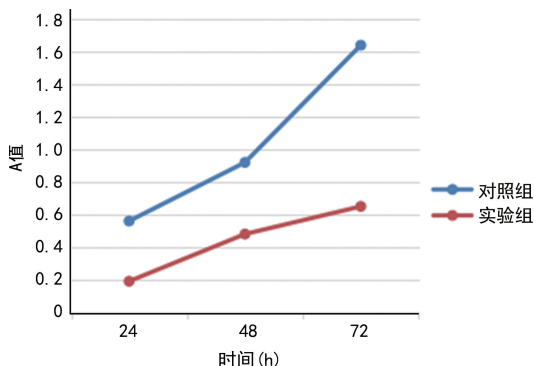


图 1 鳖甲煎丸含药血清对肝癌细胞增殖活性的影响

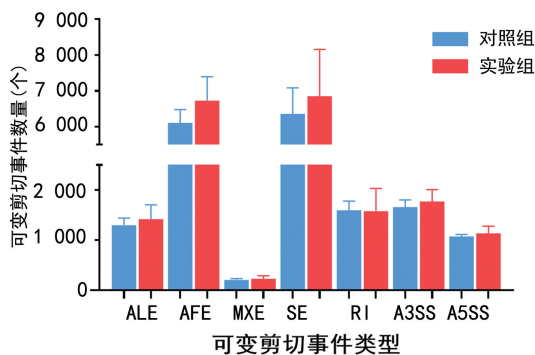
2.2 两组可变剪切事件分析

两组测序后的转录组数据分别与人基因组进行比对,实验组中 5 736 个基因发生了可变剪切,共 20 447 个剪切体,对照组中 5 533 个基因发生可变剪切,共 18 955 个剪切体。两组均检测到 7 种可变剪切事件类型,对照组以外显子跳跃(SE)、第 1 个外显子可变剪切(AFE)为主,分别为 6 348(33.49%)、6 105(32.21%),其他 5 种类型占比为 1.57%~9.79%。实验组主要发生的可变剪切事件类型仍为 AFE、SE,分别为 6 921 个(33.85%)、6 775 个(33.13%),其他 5 种类型比例为 1.49%~9.27%,见图 2。

2.3 两组发生可变剪切事件基因和差异表达基因分析

两组间 4 675 个基因的可变剪切事件重合。实验组中有 1 061 个基因不重合,对照组中有 858 个基因不重合,96 个基因差异表达明显,且存在多个抗肿瘤相

关基因,分别为 ARHGAP8、ATP5L2、BIRC7、CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19、TNRC18、TPT1,见图 3。



ALE:最后 1 个外显子可变剪切;MXE:外显子互斥;RI:内含子保留;A3SS:外显子 3'端的可变剪切;A5SS:外显子 5'的可变剪切。

图 2 两组可变剪切事件比较

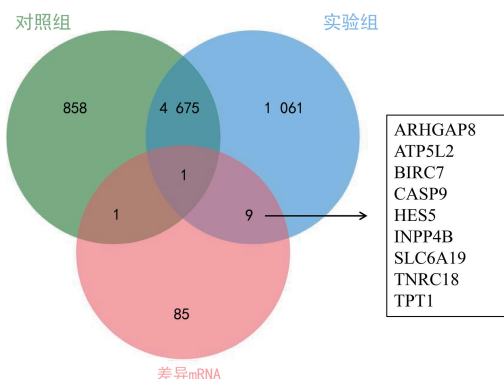


图 3 与实验组可变剪切事件相关的差异表达基因

2.4 差异表达基因 KEGG pathway 富集分析和 GO 富集分析

GO 富集分析显示,实验组可变剪切事件相关的差异表达基因在分子功能(MF)方面,参与了 GTPase 活性的正调控、信号转导、细胞形态调节;在细胞组成(CC)方面,组成细胞质、外泌体、中心黏附;生物过程(BP)方面,主要参与蛋白质结合、GTPase 激活剂活性、肌动蛋白丝结合,见图 4。KEGG pathway 富集分析的前 20 个结果显示,实验组可变剪切事件相关的差异表达基因主要在肌动蛋白骨架组织、细胞黏附调节、调节型胞吐作用等方面富集,见图 5。

2.5 差异表达基因与肝癌患者的生存分析

ualcan 数据库分析显示,CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19 4 个差异表达基因的表达量影响肝癌患者的生存时间($P < 0.05$),其余基因的高表达和低表达对肝癌患者生存时间无明显影响($P > 0.05$)。

2.6 差异表达基因与病毒、酒精所致肝癌患者的生存分析

在不同肝炎病毒感染所致的肝癌中,ARHGAP8、HES5、INPP4B、TPT1 起到保护因素的作用,见表 1;酒精摄入所致的肝癌中,ATP5L2、HES5、INPP4B、TNRC18、TPT1 起到保护因素的作用,见表 2。

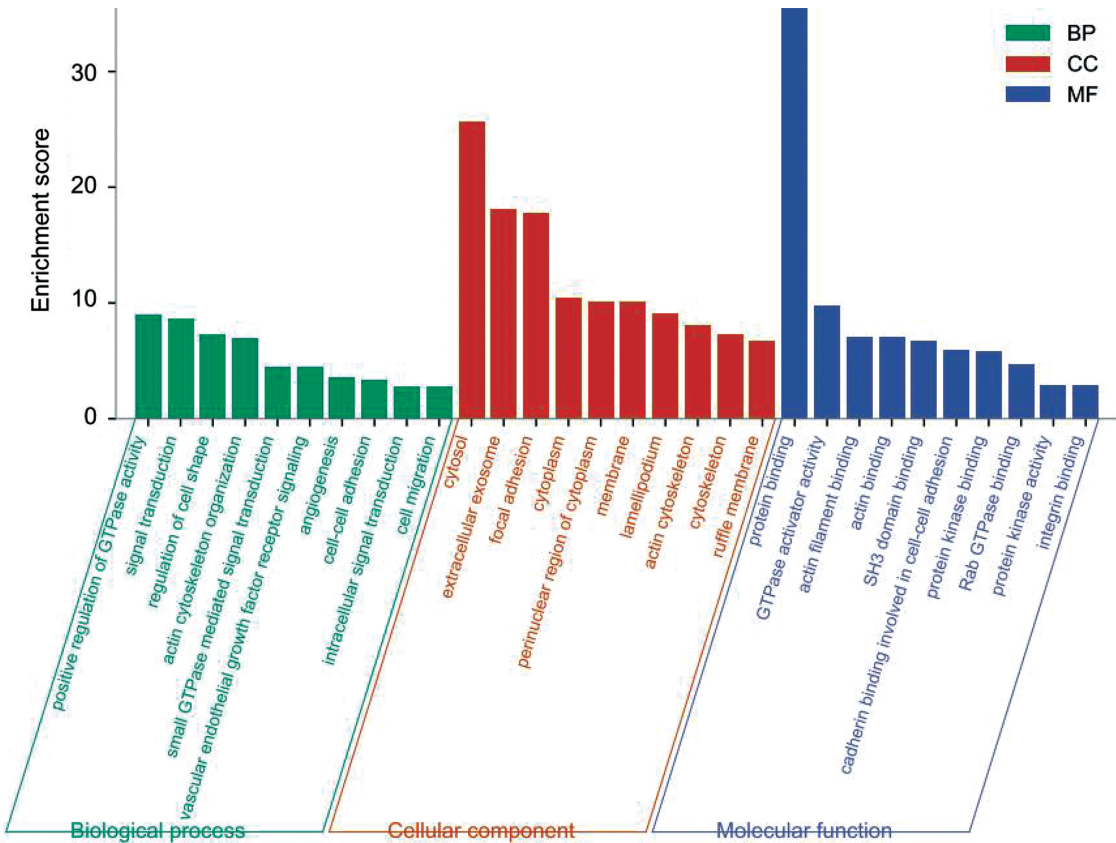


图 4 实验组可变剪切事件的差异表达基因 GO 富集分析

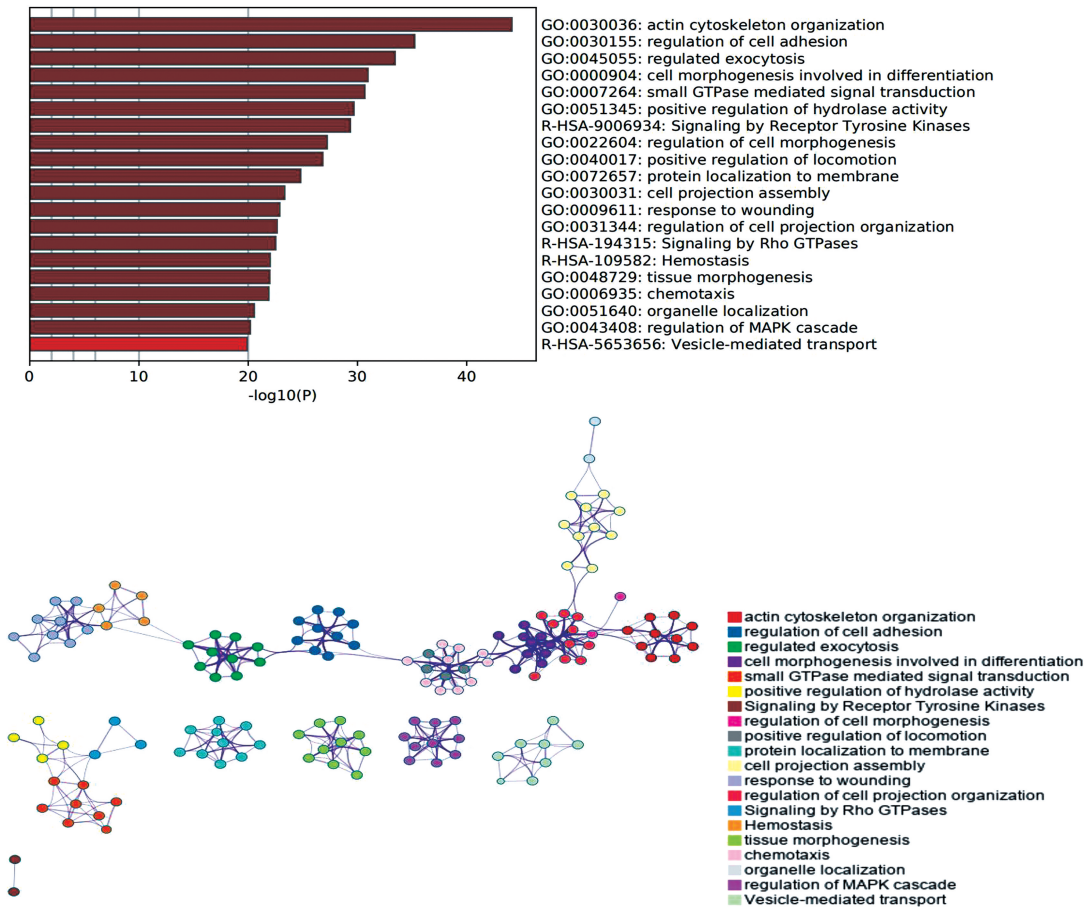


图 5 实验组可变剪切事件相关的差异表达基因 KEGG pathway 富集分析

表 1 差异表达基因与肝炎病毒感染所致肝癌患者的
风险因素分析

基因	肝炎病毒	<i>n</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>
ARHGAP8	是	150	0.43(0.19~0.97)	0.037
	否	167	0.59(0.37~0.94)	0.023
ATP5L2	是	150	1.82(0.94~3.45)	0.073
	否	167	0.45(0.28~0.73)	<0.001
BIRC7	是	150	1.63(0.85~3.11)	0.133
	否	167	0.72(0.45~1.15)	0.175
CASP9	是	150	1.58(0.79~3.16)	0.195
	否	167	0.59(0.38~0.93)	0.021
HES5	是	150	0.44(0.22~0.92)	0.022
	否	167	0.41(0.25~0.66)	<0.001
INPP4B	是	150	0.29(0.14~0.66)	<0.001
	否	167	0.43(0.24~0.66)	<0.001
SLC6A19	是	150	1.48(0.75~2.92)	0.252
	否	167	0.74(0.46~1.18)	0.253
TNRC18	是	150	0.61(0.31~1.22)	0.164
	否	167	1.61(0.97~2.69)	0.065
TPT1	是	150	0.38(0.20~0.73)	0.003
	否	167	0.55(0.35~0.87)	0.010

表 2 差异表达基因与酒精摄入所致肝癌患者的
风险因素分析

基因	酒精摄入	<i>n</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>
ARHGAP8	是	115	1.68(0.77~3.67)	0.194
	否	202	0.48(0.30~0.76)	0.001
ATP5L2	是	115	0.53(0.28~0.81)	0.039
	否	202	0.47(0.29~0.74)	0.001
BIRC7	是	115	0.53(0.24~1.16)	0.113
	否	202	1.68(1.06~2.65)	0.025
CASP9	是	115	2.04(1.02~4.10)	0.141
	否	202	0.54(0.34~0.86)	0.058
HES5	是	115	0.53(0.28~0.98)	0.039
	否	202	0.38(0.22~0.65)	<0.001
INPP4B	是	115	0.28(0.13~0.57)	<0.001
	否	202	0.47(0.29~0.75)	0.001
SLC6A19	是	115	0.64(0.33~1.22)	0.173
	否	202	1.42(0.87~2.31)	0.169
TNRC18	是	115	0.65(0.30~0.89)	0.046
	否	202	0.64(0.40~0.81)	0.043
TPT1	是	115	0.54(0.28~0.88)	0.045
	否	202	0.46(0.29~0.74)	0.001

3 讨 论

目前肝癌是全世界肿瘤所致死亡的第二主要原

因,而我国肝癌病例占全球病例总数的一半以上^[5]。流行病学研究表明,我国 80% 以上肝癌因乙型/丙型肝炎病毒感染和酗酒所致^[6]。HCC 是最常见的原发性肝癌,80% 的原发性肝癌病理诊断为 HCC 癌。因此研究 HCC 的预防和诊治迫在眉睫。

有学者认为鳖甲煎丸具有诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、调节人免疫功能、抑制纤维化等作用^[3,7]。本研究的前期实验发现,加入 10% 鳖甲煎丸含药血清共同培养的 SMMC-7721 肝癌细胞增殖受到明显抑制,特别是培养 72 h 后。有研究显示,鳖甲煎丸抑制 SMMC-7721 肝癌细胞增殖,提高肝癌细胞的凋亡率,其抑制过程涉及许多 miRNA、mRNA 和信号通路,其中代谢通路及信号通路中的核心基因 PN-MT 和 ST8SIAG 是其发挥作用的重要通路^[7]。但肿瘤细胞的增殖、凋亡受多因素的影响,多种细胞因子和信号转导通路参与其中,组成了一个复杂多变的分子生物网络系统。

可变剪切是转录后的一种重要调控机制,可调节 mRNA 亚型的翻译并诱导蛋白质的多样性,从而扩展基因编码能力^[8]。人类基因组中大约 95% 的基因经历可变剪切事件^[9]。越来越多的研究表明,可变剪切与肝癌的发生、发展、治疗、预后相关,如从 HCC 患者中检测到的异常可变剪切基因,包括 p53 拮抗蛋白 MDM2、E3 泛素连接酶、细胞表面黏附钙黏着 17 蛋白等被证明是潜在的肝癌致癌基因^[9-11]。也有研究表明剪切因子 SRSF2 在肝癌中频繁上调,与肝癌患者预后不良有关^[12]。高通量测序技术的发展和肝癌样品 RNA 序列数据的快速积累,为研究 HCC 全基因组可变剪切模式提供丰富的资源,也为肝癌提供潜在的特异性诊断与治疗靶标^[13]。

本研究结果显示,两组均检测到 7 种可变剪切事件类型,其中 SE 和 AFE 发生数量最多,且每一种可变剪切事件中,实验组发生数量均大于对照组。这些结果验证了国内学者认为可变剪切事件与肝癌的发生、发展、治疗、预后密切相关的结论^[9,11]。对差异表达基因进行 GO 富集分析,发现这些基因参与了 MF、CC 等诸多过程,包括 GTPase 活性的正调控、信号转导、组蛋白结合等;KEGG pathway 富集分析结果进一步提示,实验组可变剪切事件相关的差异表达基因与肌动蛋白骨架组织、细胞黏附调节、调节型胞吐作用密切相关。说明鳖甲煎丸在肝癌细胞发生的可变剪切事件涉及多种多样的生物学过程,其从多方面调控肝癌细胞的增殖。

在实验组调控的可变剪切事件中,鉴定出 9 个差异表达基因,其中 CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19 影响肝癌患者的生存时间。CASP9 是调控线粒体凋亡通路中必不可少的关键性分子^[14]。有学者研究表

明 CASP9 在 HCC 中表达明显下调,其高表达预示着 HCC 患者预后良好^[15]。HES5 在 HCC 中具有抗肿瘤的功能。在小鼠模型中,HES5 能抑制 MYC 依赖的肝癌发生,而促进 AKT 依赖的肝癌形成和干细胞特征,而细胞培养的功能分析表明,HES5 可降低肝癌细胞的侵袭和增殖^[16]。INPP4B 在人肝癌中是一种肿瘤抑制基因。高表达 INPP4B 可以抑制肝癌细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮间质细胞转换过程,此外,INPP4B 可抑制肝癌细胞 PI3K/AKT 信号的激活^[17]。SLC6A19 作为谷氨酰胺转运体,在癌症的给药治疗中也发挥着重要作用^[18]。综合课题组的研究结果和相关文献的报道,推测鳖甲煎丸通过可变剪切事件引起肝癌细胞 CASP9、HES5、INPP4B、SLC6A19 基因差异表达,进而在抑制肝癌的发展中发挥重要作用。在我国乙型肝炎病毒感染和酒精摄入是肝癌高发的危险因素之一。在对鳖甲煎丸调控可变剪切事件中密切相关的 9 个基因进行风险因素分析发现,不同肝炎病毒所致的肝癌中,ARHGAP8、HES5、INPP4B、TPT1 起保护作用;在酒精摄入所致的肝癌中,ATP5L2、HES5、INPP4B、TNRC18、TPT1 起保护作用。鳖甲煎丸对于我国肝癌常见的风险因素具有潜在的调节和保护作用。

综上所述,可变剪切事件可能涉及鳖甲煎丸治疗肝癌相关的基因和主要的生物学过程。因此,进一步挖掘可变剪切事件及其相关基因在肝癌中扮演的角色,对深入探讨鳖甲煎丸抑癌机制和鉴定新的肝癌靶点具有重要的意义。

参考文献

- [1] HUANG R, YAN G, SUN H, et al. Identification of prognostic and metastasis-related alternative splicing signatures in hepatocellular carcinoma[J]. Biosci Rep, 2020, 40(7): BSR 20201001.
- [2] AL-ABDULLA R, LOZANO E, MACIAS R, et al. Epigenetic events involved in organic cation transporter 1-dependent impaired response of hepatocellular carcinoma to sorafenib[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(6): 787-800.
- [3] 杜会萍, 白莉婧, 龚燕花, 等. 鳖甲煎丸治疗老年原发性肝癌肝动脉栓塞术后纤维化的疗效[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(16): 3895-3897.
- [4] DONG S, LU L J. An alternative splicing signature model for predicting hepatocellular carcinoma-specific survival[J]. J Gastrointest Oncol, 2020, 11(5): 1054-1064.
- [5] CAO W, CHEN H D, YU Y W, et al. Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020[J]. Chin Med J (Engl), 2021, 134(7): 783-791.
- [6] YANG L, HE Y, ZHANG Z, et al. Systematic analysis and prediction model construction of alternative splicing events in hepatocellular carcinoma: a study on the basis of large-scale splice-seq data from The Cancer Genome Atlas[J]. Peer J, 2019, 7: e8245.
- [7] 李明芬, 潘爱萍, 林英辉, 等. 鳖甲煎丸含药血清抑制肝癌细胞的 miRNA-mRAN 调控机制分析[J]. 中成药, 2021, 43(6): 1437-1444.
- [8] CHEN Q F, LI W, WU P, et al. Alternative splicing events are prognostic in hepatocellular carcinoma[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(13): 4720-4735.
- [9] ZHU G Q, ZHOU Y J, QIU L X. Prognostic alternative mRNA splicing signature in hepatocellular carcinoma: a study based on large-scale sequencing data[J]. Carcinogenesis, 2019, 40(9): 1077-1085.
- [10] CAI Y, XIA J, WANG N, et al. Identification of prognostic alternative splicing signatures in hepatitis B or/and C viruses related hepatocellular carcinoma[J]. Genomics, 2020, 112(5): 3396-3406.
- [11] SOTO M, REVIEJO M, AL-ABDULLA R. Relationship between changes in the exon-recognition machinery and SLC22A1 alternative splicing in hepatocellular carcinoma[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1866(5): 165687.
- [12] WU F, CHEN Q, LIU C. Profiles of prognostic alternative splicing signature in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Med, 2020, 9(6): 2171-2180.
- [13] LEE S E, ALCEDO K P, KIM H J, et al. Alternative splicing in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2020, 10(4): 699-712.
- [14] IWAI N, YASUI K, TOMIE A. Oncogenic miR-96-5p inhibits apoptosis by targeting the caspase-9 gene in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2018, 53(1): 237-245.

(下转第 2114 页)