

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.02.002

LncRNA SNHG4 在结直肠癌中的表达及对细胞奥沙利铂耐药性的影响 *

庄晓鹏 刘友东 郑宾宾 管冰杰 谢博文 严东旺[△]

(上海交通大学附属第一人民医院普外科 上海 200080)

摘要 目的:探讨长链非编码 RNA(LncRNA)SNHG4 在结直肠癌(CRC)中的表达以及对细胞奥沙利铂耐药性的影响。**方法:**采用实时定量 PCR(qRT-PCR)法检测 24 例 CRC 组织及其邻近癌旁组织中 LncRNA SNHG4 的表达水平,并用费希尔精确检验(Fisher's exact test)分析 LncRNA SNHG4 表达水平与 CRC 患者临床病理特征相关性。体外培养 HCT116 细胞,将 HCT116 细胞分为 sh-SNHG4 组(敲减组)、sh-NC 组(阴性对照组),qRT-PCR 法检测各组 HCT116 细胞中 LncRNA SNHG4 表达水平,CCK8 法检测两组细胞经梯度浓度(1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{mol/L}$)奥沙利铂(L-OHP)处理 24 小时后细胞增殖能力变化情况。EdU 和免疫荧光(Immunofluorescence, IF)实验检测两组细胞经 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 L-OHP 处理 24 小时后,细胞增殖能力以及核 DNA 损伤情况。**结果:** CRC 癌组织中 LncRNA SNHG4 相对表达水平与癌旁组织相比明显升高($P<0.05$),其表达水平与 CRC 患者淋巴结转移、TNM 分期、脉管侵犯显著相关($P<0.05$)。与 sh-NC 组相比,sh-SNHG4 组在梯度浓度的 L-OHP 处理下,相对细胞活性下降更加明显($P<0.05$)。在 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 L-OHP 处理条件下,sh-SNHG4 组相比 sh-NC 组,细胞增殖能力减弱 ($P<0.05$),核 DNA 损伤情况更严重 ($P<0.05$)。**结论:**LncRNA SNHG4 在 CRC 组织中高表达,敲减 LncRNA SNHG4 可以减弱 HCT116 细胞对 L-OHP 耐药性。

关键词:长链非编码 RNA;SNHG4;结直肠癌;奥沙利铂;耐药

中图分类号:R-33;R735.3;Q75 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)02-207-06

Expression of LncRNA SNHG4 in Colorectal Cancer and Its Effects on Cell Oxaliplatin Resistance*

ZHUANG Xiao-peng, LIU You-dong, ZHENG Bin-bin, GUAN Bing-jie, XIE Bo-wen, YAN Dong-wang[△]

(Department of General Surgery, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University school of Medicine, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of Long non-coding RNA (LncRNA) SNHG4 in colorectal cancer (CRC) and its effects on cell oxaliplatin(L-OHP) resistance. **Methods:** LncRNA SNHG4 expression levels in CRC tissues and its corresponding adjacent tissues of 24 cases were analyzed by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The correlation between LncRNA SNHG4 expression and clinicopathologic features of CRC patients was analyzed by Fisher's exact test. Cultured in vitro, HCT116 cells were divided into sh-SNHG4 group (knockdown group) and sh-NC group (negative control group). qRT-PCR assays were used to detect the expression of LncRNA SNHG4 in sh-SNHG4 group and sh-NC group. CCK-8 assays indicated that relative cell viability in HCT116 treated with oxaliplatin at concentrations of 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0 $\mu\text{mol/L}$. Cell proliferation and nuclear DNA damage in HCT116 treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ oxaliplatin were analyzed by EdU and IF assays, respectively. **Results:** Relative expression level of LncRNA SNHG4 was elevated in CRC tumor tissues compared with adjacent normal tissues($P<0.05$). High LncRNA SNHG4 expression level was significantly correlated with lymph node metastasis, TNM stage and vascular invasion of CRC patients($P<0.05$). Decreased relative cell viability was observed in sh-SNHG4 group compared with sh-NC group under the treatment of L-OHP with gradient concentration($P<0.05$). Compared with sh-NC group, decreased proliferation and enhanced nuclear DNA damage were detected in sh-SNHG4 group treated with 10 $\mu\text{mol/L}$ L-OHP ($P<0.05$). **Conclusions:** LncRNA SNHG4 is upregulated in CRC tissues and correlated with lymph node metastasis, TNM stage and vessel invasion. LncRNA SNHG4 Knockdown could reduce the resistance to L-OHP in HCT116 cells.

Key words: Long non-coding RNA; SNHG4; Colorectal cancer; Oxaliplatin; Resistance

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R735.3; Q75 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)02-207-06

前言

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是全球范围内第三常见的恶性肿瘤。在癌症相关的死亡原因排名中也高达第二位^[1]。化

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81871931)

作者简介:庄晓鹏(1995-),男,硕士研究生,主要研究方向:胃肠肿瘤的基础及微创外科临床研究,电话 18816936693, E-mail: xiaopengzhuang@163.com

[△] 通讯作者:严东旺(1970-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:胃肠肿瘤的基础及微创外科临床研究, E-mail: yandw70@163.com

(收稿日期:2021-04-08 接受日期:2021-04-30)

疗耐药是 CRC 患者治疗失败和死亡的常见原因,成为目前影响患者预后,制约临床治疗的核心问题^[2]。多种因素参与肿瘤化疗耐药的发生发展过程,其中长链非编码 RNA(Long non-coding RNA, LncRNA)是肿瘤耐药中的重要调控分子^[3,4]。LncRNA 是一类长度大于 200 个核苷酸,并且无蛋白编码能力的 RNA。越来越多的研究表明 LncRNA 在调节许多的细胞功能和生物过程,如细胞增殖,凋亡,肿瘤分化,侵袭和转移,免疫应答和耐药等方面发挥重要作用^[5,6]。此前,已有文献报道 LncRNA Small Nucleolar RNA Host Gene 4(SNHG4)能够调节 CRC 细胞周期^[7],但其在 CRC 奥沙利铂(Oxaliplatin, L-OHP)耐药中的作用尚未有人研究过。因此,在本研究拟通过检测 LncRNA SNHG4 在 CRC 组织中的表达,分析其表达水平与临床病理特征相关性,以及敲减 LncRNA SNHG4 后观察 HCT116 细胞对 L-OHP 敏感性的变化,初步探讨 LncRNA SNHG4 在 CRC 中的临床意义以及对 CRC 细胞 L-OHP 耐药性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料 选择 2013 年 3 月至 2017 年 9 月在上海市第一人民医院胃肠外科确诊并行根治性切除术的 CRC 患者 24 例,其中包括男性患者 19 例,女性患者 5 例;65 岁以上患者 20 例,65 岁以下患者 4 例;TNM 分期: I - II 期 9 例, III-IV 期 15 例。所有组织标本均在离体 30 分钟内采集,取材范围包括 CRC 粘膜层非坏死区和距离肿瘤组织边缘 5 cm 以上的正常结直肠粘膜上皮组织。本研究获得上海市第一人民医院伦理委员会批准认可。

1.1.2 主要试剂与仪器 人 CRC 细胞株 HCT116 购自中科院细胞典藏库。TRIzol 和 DEPC 水购自美国 Invitrogen 公司、氯仿、异丙醇和无水乙醇均购自上海生工生物工程股份有限公司、逆转录和 qRT-PCR 试剂盒购自上海新贝生物科技有限公司、Lipofectamine 3000 试剂购自美国 ThermoFisher Scientific 公司、胎牛血清和 McCoy's 5A 培养基购自美国 Gibco 公司、奥沙利铂粉剂购自美国 MedChemExpress 公司、CCK-8 试剂购自日本 Dojindo 公司、EdU 试剂盒购自广州锐博生物科技有限公司、荧光兔二抗购自美国 Jackson ImmunoResearch 公司;实时荧光定量 PCR 仪(型号 MX3000P)购自美国 Stratagene 公司、二氧化碳培养箱(型号 MCO-15AC)购自日本 SANYO 公司、生物安全柜(型号 BSC-II A2)购自上海上净净化设备有限公司、激光共聚焦荧光显微镜(型号 TCS-SP8 SR)购自德国 Leica 公司、多功能酶标仪(型号 M1000)购自瑞士 Tecan 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及实验分组 HCT116 细胞接种于含 10 % FBS+ McCoy's 5A 培养基 +1 %青 - 链霉素双抗的完全培养液,置于 37 °C 恒温培养箱中培养,调节 CO₂ 浓度为 5 %。每 2 天更换一次完全培养液,当 HCT116 细胞培养至 70-90 %左右融合度,进行消化传代,视后续实验需要铺板至不同规格培养皿内。按照 Lipo3000 试剂说明书将质粒转染进 HCT116 细胞。LncRNA SNHG4-shRNA 质粒由上海新贝生物科技有限公司(中国)设计合成,序列为:5'-GCCTGGCTCCACTAGGACA-3'。

1.2.2 实时定量 PCR(qRT-PCR)检测 CRC 组织及两组 HCT116

细胞中 LncRNA SNHG4 表达水平 使用 TRIzol 提取 CRC 组织及两组 HCT116 细胞中总 RNA,并使用分光光度计检测 RNA 质量,以 OD_{260/280} 值在 1.8-2.0 范围内为合格,同时调节 RNA 浓度至 500 ng/μL。使用 HyperScript™ III RT Super-Mix 及 gDNA Remover 对 RNA 进行逆转录,得到 cDNA。在此基础上使用 2× S6Universal SYBR qPCR Mix 进行 qRT-PCR 反应,内参基因为 GAPDH。反应体系为 20 μL:2× S6S6Universal SYBR qPCR Mix 10 μL,上下游引物各 0.4 μL,cDNA 模板 2.0 μL,ddH₂O 7.2 μL。反应条件:预变性 95 °C 30 s。变性 95 °C 8 s,退火 & 延伸 60 °C 20 s,共 42 个循环。溶解曲线使用仪器默认程序即可。引物由上海新贝生物科技有限公司设计合成。具体引物序列详见表 1。使用 2^{-ΔΔCT} 法计算 CRC 组织及两组 HCT116 细胞中 LncRNA SNHG4 相对表达量。

表 1 qRT-PCR 上下游引物序列

Table 1 Sequence of qRT-PCR forward and reverse primers

Primers	Sequence 5'-3'
SNHG4 Forward	GAACATGCGCCCTTCTAC
SNHG4 Reverse	GGTGAACCTGCTTCTTAGAGG
GAPDH Forward	GTCTCTCTGACTTCAACAGCG
GAPDH Reverse	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

1.2.3 CCK-8 检测经 L-OHP 处理后两组 HCT116 细胞增殖能力 将 sh-NC 和 sh-SNHG4 组 HCT116 细胞铺板至 96 孔板内(每孔接种 1× 10⁵ 左右个细胞),培养至对数生长状态后,分别加入 1、2.5、5.0、10.0、20.0 μmol/L 的 L-OHP,并设置 3 个复孔。培养 24 h 后,每孔加入 10 μLCCK-8 溶液,37 °C 孵育 2-4 h,使用酶标仪检测两组 HCT116 细胞在 450 nm 波长处的吸光度(OD 值)。实验重复 3 次以排除偶然误差。

1.2.4 免疫荧光(IF)检测经 L-OHP 处理后两组 HCT116 细胞核 DNA 损伤情况 在共聚焦皿内铺好 sh-NC 和 sh-SNHG4 组 HCT116 细胞,培养至对数生长期后,加入 10.0 μmol/L 的 L-OHP 后培养 24 h。弃去旧培养基,PBS 清洗 3 次。4 %多聚甲醛固定细胞 15 min,PBS 浸洗 3 次,每次 3 min;PBS 浸洗 3 次,每次 3 min,在共聚焦皿内滴加 1 %BSA 溶液,室温封闭 30 min;吸水纸吸掉封闭液,不洗,每孔滴加足够量的稀释好的 γH2AX 抗体,并放入湿盒,4 °C 孵育过夜;PBST 浸洗共聚焦皿 3 次,每次 3 min。吸水纸上吸干多余液体后滴加稀释过的荧光二抗,湿盒中 20-37 °C 孵育 1 h,PBST 洗 3 次,每次 3 min(滴加荧光二抗后要注意避光);滴加 DAPI 后,避光孵育 5 min,PBST 洗 4 次,每次 5 min。用吸水纸吸干多余的液体,然后在每孔滴加抗荧光淬灭剂,在激光共聚焦显微镜下观察采集图像。实验重复 3 次以排除偶然误差。

1.2.5 EdU 试剂盒检测经 L-OHP 处理后两组 HCT116 细胞增殖能力 将 sh-NC 和 sh-SNHG4 组 HCT116 细胞悬液浓度调节至 1× 10⁶ 个/mL,每孔 100 μL 接种于 96 孔板中,培养至对数生长期。每孔分别加入 10.0 μmol/L 的 L-OHP,各组设置 3 个复孔,培养 24 h 后。后续实验操作按照 EdU 试剂盒说明书进行,其中要点如下:按 96 孔板每孔 100 μL 的量,将 50 μM 的 EdU 培养基加到培养板中,孵育 2 h 后弃去旧培养基,PBS 清

洗 1-2 次, 每次 5 分钟; 4 % 多聚甲醛溶液固定 HCT116 细胞 30 min, 按每孔 50 μL 的量加入 2 mg/mL 甘氨酸孵育 5 min, PBS 清洗 5 min 后加入 0.5 % TritonX-100, 于脱色摇床上作用 10 min, PBS 清洗 5 min。加入 100 μL 的 1 $\times$ Apollo 染色反应液, 室温避光脱色摇床孵育 30 min。加入 100 μL 的 0.5 % TritonX-100, 置于脱色摇床上清洗 2-3 次, 每次 10 min。最后加入按每孔 100 μL 加入 Hoechst 33342 反应液, 室温避光孵育 30 min, PBS 清洗 1-3 次, 倒置荧光显微镜下观察结果。实验重复 3 次以排除偶然误差。

1.3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8 和 IBM SPSS Statistics 26 软件分析

处理数据并作图, 计量资料数据采用均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示, 采用费希尔精确检验 (Fisher's exact test) 分析 LncRNA SNHG4 表达水平与 CRC 患者临床病理特征相关性, 配对 t 检验来分析两组间数据是否具有统计学差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA SNHG4 在 CRC 组织中的表达情况

LncRNA SNHG4 在 24 对 CRC 组织中相对表达量为 37.05 ± 29.89 , 显著高于癌旁组织的 18.66 ± 19.50 , 差异具有统计学意义 ($t = 2.524$, $P = 0.0151$)。见图 1。

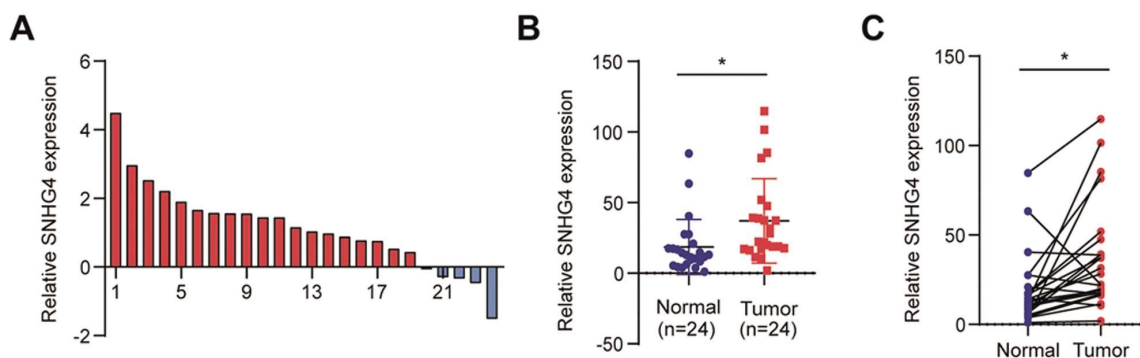


图 1 LncRNA SNHG4 在 CRC 组织中的相对表达水平

Fig.1 Relative Expression level of LncRNA SNHG4 in CRC tissues

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 24$. * $P < 0.05$, compared with adjacent normal tissues group.

2.2 LncRNA SNHG4 与 CRC 患者临床病理特征相关性

LncRNA SNHG4 表达水平与 CRC 患者年龄、性别、T 分期、神经侵犯、肿瘤部位均无相关 ($P > 0.05$)。而 CRC 患者淋巴转移、TMN 分期、脉管侵犯则与 LncRNA SNHG4 表达量显著

相关 ($P < 0.05$)。TMN 分期 III、IV 期、淋巴结转移、脉管侵犯的患者 LncRNA SNHG4 表达量显著高于 TMN 分期 I、II 期、无淋巴结转移和脉管侵犯患者 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 LncRNA SNHG4 与 CRC 患者临床病理特征相关性

Table 2 Association between clinicopathologic features and LncRNA SNHG4 expression

Variable	Case (n=24)	SNHG4 expression		P value
		High (n=19)	Low (n=5)	
Age (years)				
<65	4	3	1	1.000
≥ 65	20	16	4	
Gender				
Male	19	15	4	1.000
Female	5	4	1	
T stage				
T1+T2	2	1	1	0.380
T3+T4	22	18	4	
N stage				
N0	9	5	4	0.047*
N1-N3	15	14	1	
TNM stage				
I + II	9	5	4	0.047*
III+IV	15	14	1	

Nerve invasion				
No	16	12	4	0.631
Yes	8	7	1	
Vessel invasion				
No	7	3	4	0.014*
Yes	17	16	1	
Location				
Right	14	11	3	1.000
Left and rectal cancer	10	8	2	

Note: Bold values stand for significance * $P < 0.05$.

2.3 LncRNA SNHG4 对 CRC 细胞 HCT116 奥沙利铂耐药性的影响

qRT-PCR 结果显示, sh-SNHG4 组 HCT116 细胞中 LncRNA SNHG4 表达量被明显敲低 ($P < 0.05$)。为了探究 LncRNA SNHG4 对 CRC 细胞奥沙利铂耐药性的影响, 我们将 sh-NC 和

sh-SNHG4 组 HCT116 细胞分别暴露在 1、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 L-OHP, 处理 24 h 后, 采用 CCK-8 实验检测两组细胞的增殖能力。结果显示, SNHG4 敲减后, CRC 细胞对 L-OHP 敏感性增强, 耐药性减弱, 细胞相对活性减弱。见图 2。

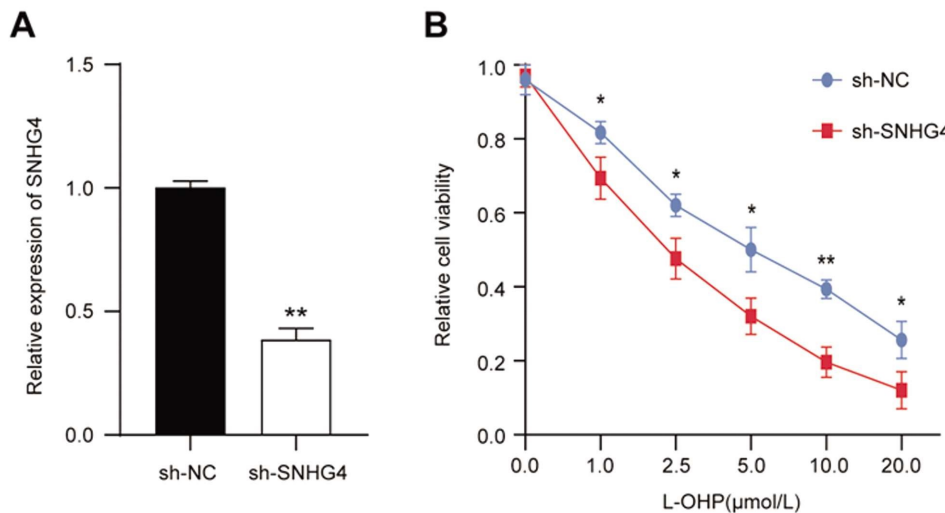


图 2 敲减 SNHG4 显著降低 L-OHP 作用下的 HCT116 细胞相对活性

Fig.2 Knockdown of SNHG4 decreased relative cell viability of HCT116 cells with the treatment of L-OHP

我们进一步用 EdU 实验检测 HCT116 细胞经 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 L-OHP 处理 24 h 后, sh-NC 组和 sh-SNHG4 组的细胞增殖能力。结果显示, sh-NC 组细胞 EdU 荧光信号占比为 26.74 %

$\pm 0.7673\%$, 显著高于 sh-SNHG4 组细胞的 $7.087\% \pm 1.024\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明敲低 SNHG4 能够显著减弱 CRC 细胞对 L-OHP 耐药性, 增强 L-OHP 的抗肿瘤作用。见图 3。

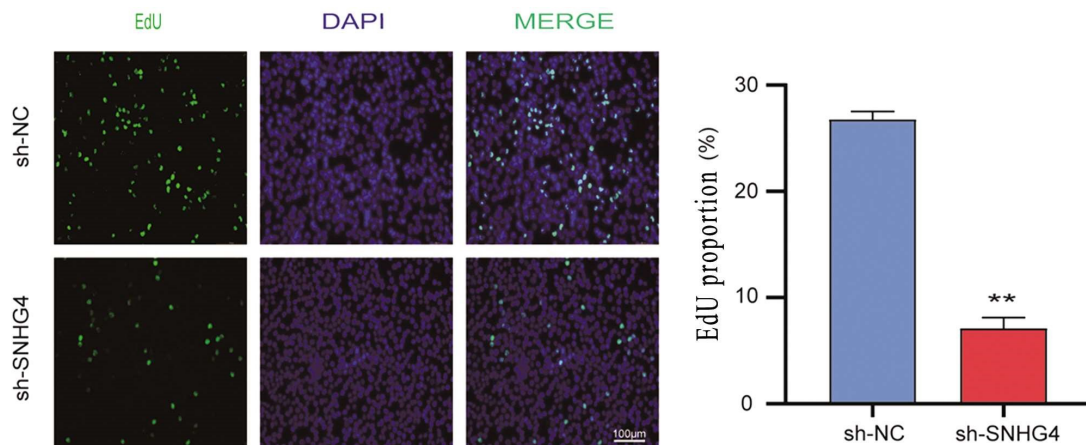


图 3 敲减 SNHG4 显著降低 L-OHP 作用下的 HCT116 细胞增殖能力

Fig.3 Knockdown of SNHG4 decreased proliferation of HCT116 cells with the treatment of L-OHP

鉴于 L-OHP 通过作用于肿瘤细胞核 DNA 进而发挥抗肿瘤作用,我们通过 IF 技术检测 γ H2AX(一种核 DNA 损伤标志物^[8])的表达,从而更加直观地探究 sh-NC 和 sh-SNHG4 组 HCT116 细胞经 10 μ mol/L 的 L-OHP 处理 24 h 后,核 DNA 受

损情况。结果显示,敲减 SNHG4 后,CRC 细胞对 L-OHP 耐药性减弱,对 L-OHP 介导的核 DNA 损伤作用更加易感, γ H2AX 表达增加。见图 4。

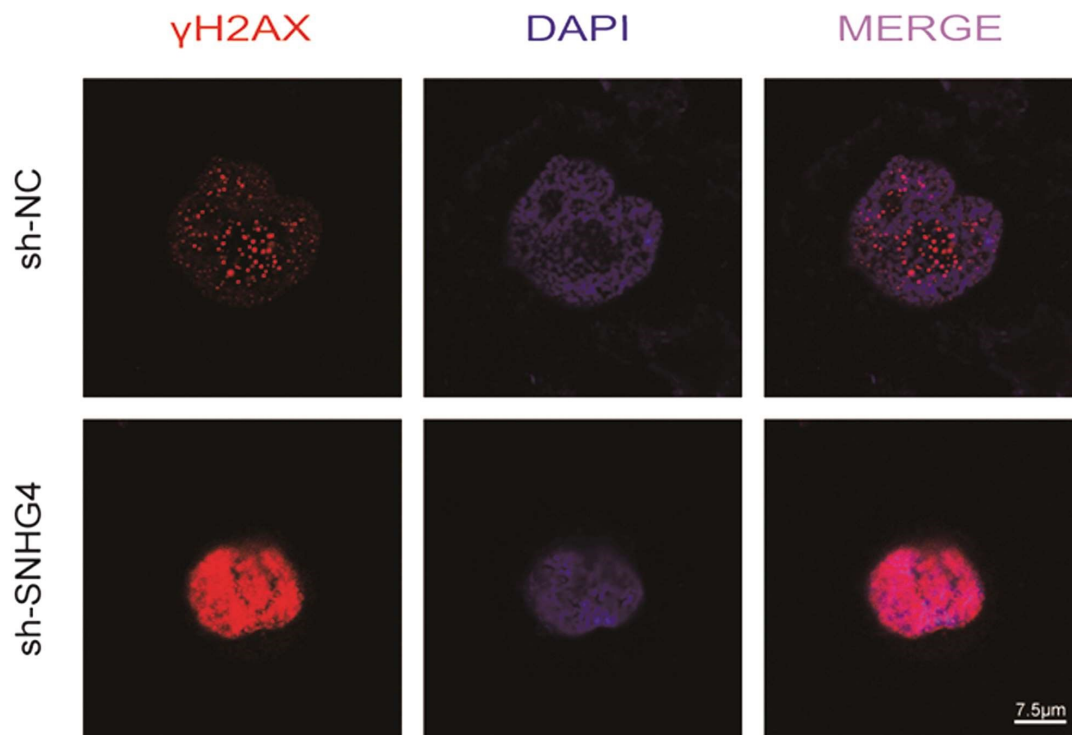


图 4 敲减 SNHG4 显著增加 L-OHP 作用下的 HCT116 细胞核 DNA 损伤

Fig.4 Knockdown of SNHG4 enhanced nuclear DNA damage of HCT116 cells induced by L-OHP

3 讨论

尽管随着内镜筛查的普及、手术技术的提高,结直肠癌患者的预后已经得到了较好的改善^[9-11]。但是在结直肠癌的综合诊治过程中,化疗耐药仍然是导致 CRC 患者死亡的重要原因。而奥沙利铂作为 CRC 一线化疗用药^[12],其耐药性的产生很大程度上导致了 CRC 患者化疗失败和不良预后的发生。而与 CRC 奥沙利铂耐药性相关的靶分子尚未完全明确^[13],亟待后续研究进一步探索。LncRNA 普遍存在于多种细胞组分中,过去被认为是没有什么功能的,非必需的转录噪声。但是随着近年来研究地不断深入,越来越多的文献报道了 LncRNA 参与了细胞的增殖凋亡、肿瘤的侵袭转移、发生发展、化疗耐药等过程^[14-17]。目前多项研究发现 LncRNA 在许多恶性肿瘤中,表达水平具有差异,且具有重要调节作用,包括食管癌、前列腺癌、胃癌、肝癌、肾癌、结直肠癌、乳腺癌、肺癌等^[18-25]。

LncRNA SNHG4 作为核仁小 RNA 簇主基因,已经被越来越多的科研人员关注,目前已有许多研究报道其在人类多种疾病的发生发展中起到了不可替代的作用。如 Wang 等人发现 LncRNA SNHG4 能够通过调控 let-7e/KDM3A/P21 信号轴促进非小细胞肺癌的进展^[26];Wu 等发现了 LncRNA SNHG4 通过海绵样作用吸附 miR-204-5p,解除其对 RUNX2 的表达抑制作用,进而促进肾癌肿瘤发生和侵袭^[27]。本研究发现,LncRNA SNHG4 在 CRC 癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织,表明

LncRNA SNHG4 在 CRC 中呈高表达,可能在 CRC 进展过程中起到调节作用。我们进一步敲减 CRC 细胞中 LncRNA SNHG4 表达量,研究其表达水平变化对 CRC 细胞奥沙利铂耐药性的影响。CCK-8、EdU 和 IF 实验结果显示,敲减 LncRNA SNHG4 能够减弱 CRC 细胞奥沙利铂耐药性,增加其对奥沙利铂的敏感性,进而增强奥沙利铂的抗肿瘤作用。值得一提的是,本研究首次揭示了在 CRC 组织中异常高表达的 LncRNA SNHG4 能够促进 CRC 细胞奥沙利铂耐药性,为临床上预测及治疗 CRC 奥沙利铂耐药问题提供了潜在靶分子。本课题组后续拟深入研究 LncRNA SNHG4 促进 CRC 细胞奥沙利铂耐药的具体机制,并利用人源肿瘤异种移植模型^[16](Patient-Derived tumor Xenograft, PDX)在体内水平验证具体机制。同时联合检测其它影响 CRC 奥沙利铂耐药性的 LncRNA,并优化组合,构建临床预测模型,为理解 LncRNA 在 CRC 奥沙利铂耐药中的作用提供更加细致的角度,期望为实现 CRC 化疗耐药基础研究向临床应用的转化提供更加确凿有力的科学依据。

综上所述,LncRNA SNHG4 在 CRC 组织呈高表达,其表达水平与 CRC 患者淋巴结转移、TMN 分期 III、IV 期以及脉管侵犯显著相关。敲减 LncRNA SNHG4 表达水平可以减弱 CRC 细胞奥沙利铂耐药性。检测 SNHG4 表达水平有利于评估 CRC 奥沙利铂耐药性,为解决其耐药问题提供新的视角。

参考文献(References)

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36

- Cancers in 185 Countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249
- [2] Saltz L B, Clarke S, Díaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(12): 2013-2019
- [3] Qi F F, Yang Y, Zhang H, et al. Long non-coding RNAs: Key regulators in oxaliplatin resistance of colorectal cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128: 110329
- [4] Zhou C, Yi C, Yi Y, et al. LncRNA PVT1 promotes gemcitabine resistance of pancreatic cancer via activating Wnt/ β -catenin and autophagy pathway through modulating the miR-619-5p/Pygo2 and miR-619-5p/ATG14 axes[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 118
- [5] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(12): 861-874
- [6] Li J, Chen Z, Tian L, et al. LncRNA profile study reveals a three-lncRNA signature associated with the survival of patients with oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *Gut*, 2014, 63(11): 1700-1710
- [7] Zhou Z, Tan F, Pei Q, et al. LncRNA SNHG4 modulates colorectal cancer cell cycle and cell proliferation through regulating miR-590-3p/CDK1 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (7): 9838-9858
- [8] Chen B, Dragomir M P, Fabris L, et al. The Long Noncoding RNA CCAT2 Induces Chromosomal Instability Through BOP1-AURKB Signaling[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(6): 2146-2162.e33
- [9] Wang K, Ma W, Wu K, et al. Long-Term Colorectal Cancer Incidence and Mortality After Colonoscopy Screening According to Individuals' Risk Profiles[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2021, 113(9): 1177-1185
- [10] Zorzi M, Battagello J, Selby K, et al. Non-compliance with colonoscopy after a positive faecal immunochemical test doubles the risk of dying from colorectal cancer[J]. *Gut*, 2021[Epub ahead of print]
- [11] Curtis N J, Foster J D, Miskovic D, et al. Association of Surgical Skill Assessment With Clinical Outcomes in Cancer Surgery [J]. *JAMA Surg*, 2020, 155(7): 590-598
- [12] Yamazaki K, Yamanaka T, Shiozawa M, et al. Oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy duration (3 versus 6 months) for high-risk stage II colon cancer: the randomized phase III ACHIEVE-2 trial [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(1): 77-84
- [13] Pothuraju R, Rachagani S, Krishn S R, et al. Molecular implications of MUC5AC-CD44 axis in colorectal cancer progression and chemoresistance[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 37
- [14] Chang K C, Diermeier S D, Yu A T, et al. MaTAR25 lncRNA regulates the Tensin1 gene to impact breast cancer progression [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6438
- [15] Huang Z, Chu L, Liang J, et al. H19 Promotes HCC Bone Metastasis Through Reducing Osteoprotegerin Expression in a Protein Phosphatase 1 Catalytic Subunit Alpha/p38 Mitogen-Activated Protein Kinase-Dependent Manner and Sponging microRNA 200b-3p[J]. *Hepatology*, 2021, 74(1): 214-232
- [16] Arena S, Corti G, Durinikova E, et al. A Subset of Colorectal Cancers with Cross-Sensitivity to Olaparib and Oxaliplatin [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(6): 1372-1384
- [17] Yue B, Cai D, Liu C, et al. Linc00152 Functions as a Competing Endogenous RNA to Confer Oxaliplatin Resistance and Holds Prognostic Values in Colon Cancer[J]. *Mol Ther*, 2016, 24(12): 2064-2077
- [18] Wang Y, Zhang W, Liu W, et al. Long Noncoding RNA VESTAR Regulates Lymphangiogenesis and Lymph Node Metastasis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Enhancing VEGFC mRNA Stability[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(12): 3187-3199
- [19] Zhang C, Liang Y, Zhang C D, et al. The novel role and function of LINC01235 in metastasis of gastric cancer cells by inducing epithelial-mesenchymal transition[J]. *Genomics*, 2021, 113(3): 1504-1513
- [20] Eke I, Bylicky M A, Sandfort V, et al. The lncRNAs LINC00261 and LINC00665 are upregulated in long-term prostate cancer adaptation after radiotherapy[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 24: 175-187
- [21] Luo Y, Zheng S, Wu Q, et al. Long noncoding RNA (lncRNA) EIF3J-DT induces chemoresistance of gastric cancer via autophagy activation[J]. *Autophagy*, 2021, 17(12): 4083-4101
- [22] Xiang X, Fu Y, Zhao K, et al. Cellular senescence in hepatocellular carcinoma induced by a long non-coding RNA-encoded peptide PINT87aa by blocking FOXM1-mediated PHB2 [J]. *Theranostics*, 2021, 11(10): 4929-4944
- [23] Zhang G, Yang Y, Hu H, et al. Energy stress-induced linc01564 activates the serine synthesis pathway and facilitates hepatocellular carcinogenesis[J]. *Oncogene*, 2021, 40(16): 2936-2951
- [24] Yang L, Chen Y, Liu N, et al. Low expression of TRAF3IP2-AS1 promotes progression of NONO-TFE3 translocation renal cell carcinoma by stimulating N⁶-methyladenosine of PARP1 mRNA and downregulating PTEN[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 46
- [25] Qin Y, Hou Y, Liu S, et al. A Novel Long Non-Coding RNA lnc030 Maintains Breast Cancer Stem Cell Stemness by Stabilizing SQLE mRNA and Increasing Cholesterol Synthesis [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2021, 8(2): 2002232
- [26] Wang F, Quan Q. The long non-coding RNA SNHG4/microRNA-let-7e/KDM3A/p21 pathway is involved in the development of non-small cell lung cancer [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 20: 634-645
- [27] Wu J, Liu T, Sun L, et al. Long noncoding RNA SNHG4 promotes renal cell carcinoma tumorigenesis and invasion by acting as ceRNA to sponge miR-204-5p and upregulate RUNX2 [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 514