

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.12.005

CCAT1 在结直肠癌中海绵吸附 miR-210-5p 促进肿瘤进展 *

高 佳¹ 金慧成² 应荣超^{1,2Δ} 刘信春² 朱阿考²

(1 南京医科大学附属杭州医院 浙江 杭州 310000; 2 杭州市第一人民医院 浙江 杭州 310000)

摘要 目的:探索长链非编码 RNA Colon cancer associated transcript-1(CCAT1)在结直肠癌发生发展过程中的作用及可能的分子机制。**方法:**通过反转录-荧光实时定量 PCR(RT-qPCR)检测 15 对结直肠癌组织和相应的癌旁组织中 CCAT1 的表达水平;通过 RT-qPCR,比较结直肠癌细胞系 RKO 细胞和正常结肠细胞 NCM460 中 CCAT1 表达量的差异;在结直肠癌细胞系 RKO 细胞中,我们敲低了 CCAT1 的表达水平,并用 CCK8 法和 Transwell 侵袭实验分别检测了 RKO 细胞增殖能力和侵袭能力的变化。通过全转录组测序,我们分析了在 CCAT1 沉默后差异表达的基因,并通过挽救实验和过表达实验进一步验证可能的分子机制。**结果:**结直肠癌组织和 RKO 细胞中的 CCAT1 表达水平均显著高于对应的癌旁组织和 NCM460 细胞($P<0.001$, $P<0.005$)。结直肠癌细胞系 RKO 细胞的增殖能力和侵袭能力随着 CCAT1 水平的降低而显著下降($P<0.005$)。全转录组测序结果显示,在 CCAT1 被沉默后,miR-210-5p 的表达量显著升高($P<0.005$)。在细胞增殖能力随 CCAT1 表达水平降低的 RKO 细胞中转入 miR-210-5p inhibitors 后,细胞增殖能力显著提高($P<0.05$)。相对的,在正常 RKO 细胞中转入 miR-210-5p mimics 以后,细胞增殖能力显著下降($P<0.05$)。**结论:**CCAT1 通过海绵吸附 miR-210-5p 促进结直肠癌的进展,有望成为结直肠癌诊断治疗的新靶点。

关键词:CCAT1; 结直肠癌; miR-210-5p

中图分类号:R-33;R735.3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)12-2224-05

CCAT1 Promotes Progression in Colorectal Cancer Via Binding miR-210-5p*

GAO Jia¹, JIN Hui-cheng², YING Rong-chao^{1,2Δ}, LIU Xin-chun², ZHU A-ka²

(1 The Affiliated Hangzhou Hospital of Nanjing Medical University, Hangzhou, Zhejiang, 310000, China;

2 Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou, Zhejiang, 310000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the role of long non-coding RNA Colon cancer associated transcript-1 (CCAT1) in colorectal cancer (CRC) and its possible underlying molecular mechanism. **Method (s):** The expression of CCAT1 in 15 pairs of CRC tissues and corresponding adjacent tissues was detected by reverse transcription-fluorescence real-time quantitative PCR (RT-qPCR). The difference of CCAT1 expression between CRC cell line RKO cells and normal colon cells NCM460 was compared by RT-qPCR. In RKO cells, we knocked down the expression level of CCAT1, and detected the changes of proliferation and invasion ability of RKO cells by CCK8 and transwell invasion assay, respectively. Through full transcriptome sequencing, we analyzed the differentially expressed genes after CCAT1 silencing, and further verified the possible molecular mechanism through a rescue assay and an overexpression assay. **Result(s):** the expression level of CCAT1 in CRC tissues and RKO cells was significantly higher than that in corresponding adjacent tissues and NCM460 cells. The proliferation and invasion ability of RKO cells decreased significantly with the decrease of CCAT1 level. The results of full transcriptome sequencing showed that the expression of miR-210-5p increased significantly after CCAT1 was silenced. When miR-210-5p inhibitor were transferred into RKO cells with the decrease of CCAT1 expression level, the cell proliferation ability was significantly improved. In contrast, the ability of cell proliferation decreased significantly after miR-210-5p mimic was transferred into normal RKO cells. **Conclusion (s):** CCAT1 promotes the progression of CRC through sponge adsorption of miR-210-5p, and is expected to become a new target for diagnosis and treatment of CRC.

Key words: CCAT1; Colorectal cancer; miR-210-5p

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

Article ID: 1673-6273(2020)12-2224-05

前言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的早期诊断、早期治疗的进展,使得 CRC 的死亡率有所下降,但美国的一项的数据显

* 基金项目:浙江省自然科学基金项目(Y18H160291)

作者简介:高佳(1994-),男,硕士研究生,主要研究方向:胃肠道肿瘤, E-mail: 1921044512@qq.com

Δ 通讯作者:应荣超(1963-),男,硕士生导师,主任医师,主要研究方向:胃肠道肿瘤, E-mail: 18268158410@163.com, 电话:18268158410

(收稿日期:2020-02-03 接受日期:2020-02-28)

示:2018年CRC发病人数和死亡人数分别为140250和50630例,2020年则为147950和53200例^[1-2],形势仍不容乐观。而中国2015年CRC的发病人数和死亡人数分别为37.63万和19.1万,形势更为严峻^[3]。由于CRC普筛尚未普及和CRC早期症状的隐匿性,大部分病人确诊时已为进展期肿瘤^[4]。术前新辅助化疗和术后辅助化疗是提高进展期CRC患者五年生存率和降低复发风险的关键因素。准确地判断化疗敏感性和避免化疗耐药性是决定CRC患者化疗能否收益的重要因素。因此,寻找高精度、高特异性的肿瘤诊断标志物和探索更有效的治疗靶点,对改善CRC患者预后显得尤为必要和关键。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度大于200个核苷酸,不具备编码蛋白质能力的RNA。研究表明,lncRNA参与了细胞的增殖、凋亡等众多生理过程,同时也在许多肿瘤的发展过程中起到了调节的作用,有望成为肿瘤重要的诊断和治疗靶点^[5-7]。多种功能特异性的lncRNA已被发现,并对其在恶性肿瘤中的作用和相关分子机制作了阐释,为恶性肿瘤的诊断和治疗提供了新的视野和思路^[5,6,8,9]。Colon cancer associated transcript-1(CCAT1)是其中一种非常具有研究价值的结肠癌相关转录本,被发现在急性髓系白血病、食管癌、胃癌等许多肿瘤中异常高表达,并在肿瘤的增殖和转移中扮演了重要角色^[10-12]。然而,CCAT1在CRC中发挥的作用及潜在的作用机制尚不明确,需要进一步探索。本文就CCAT1在CRC增殖和转移过程中的作用及参与的信号通路做进一步研究,以期可以为CRC提供更精确的肿瘤标志物和新的、更有效的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

人结直肠癌细胞系RKO细胞由中国科学院提供;结直肠肿瘤组织和对应的癌旁组织收集于在杭州市第一人民医院接受结直肠癌手术的患者(已签署知情同意书);胎牛血清、高糖培养基DMEM、0.25%胰酶Trypsin、EDTA、PS(青霉素+链霉素)购自Gibco公司;CCAT1-siRNA、miR-210-5p mimic、miR-210-5p inhibitor购自上海吉玛公司;Lipofectamine2000购自美国Invitrogen公司;RNA快速提取试剂盒购自Aidlab Biotechnologies公司(Co, RN28);逆转录试剂盒和PCR试剂盒购自Takara公司;PCR引物由杭州tsingke生物科技公司合成;CCK8试剂盒购自美国MedChemExpress公司;光学显微镜、全自动酶标仪(BIO-RAD550)购自美国Bio-rad公司;ABI7500PCR仪购自Applied Biosystems, Carlsbad。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 10%胎牛血清(FBS)+DMEM培养基+1%PS的培养液被用来培养人结直肠癌细胞系RKO细胞。RKO细胞被放置于37℃含5%CO₂的孵箱中孵育。常规方法进行细胞的复苏、传代和冻存。

1.2.2 组织样本收集 所有的肿瘤组织及相应的癌旁组织来源于2018.10.1-2019.7.1在杭州市第一人民医院接受结直肠癌手术的患者,术前已签署知情同意书。组织在取出后立即放入液氮中,并保存于-80℃的冰箱中。

1.2.3 细胞转染 根据Lipofectamine2000试剂说明书,将

RKO细胞按组别分别与CCAT1特异性siRNA,miR-210-5p inhibitor及miR-210-5p mimic共同孵育24h,为下一步实验做准备。相关序列如下:

CCAT1:sense:GCCCUGUUAAGUAAACGAATT,antisense:UUCGUUUACUUAACAGGGCTT;

miR-210-5p mimic:sense:AGCCCCUGCCCACCGCACACU G,antisense:GUGUGCGGUGGGCAGGGGCUUU;

miR-210-5p inhibitor:CAGUGUGCGGUGGGCAGGGGCU。

1.2.4 RNA的收集和RT-qPCR 根据RNA快速提取试剂盒的使用说明准备好相应的组织和细胞的总RNA。购自Takara公司的The PrimeScript™ RT reagent Kit将提取好的RNA逆转录为cDNA。按照TB Green® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)说明书的比例配好PCR反应体系,并在ABI7500 system上进行PCR。每个实验组均包含3个复孔。每个基因的表达水平被GAPDH标准化。相应的引物序列如下:

GAPDH:F: 5'-GGTATCGTGGAAGGACTCATGAC-3',

R: 5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCCGTTTCAG-3';

CCAT1:F: 5'-TCACTGACAACATCGACTTTGAAG-3';

R: 5'-GGAGAAAACGCTTAGCCATACAG-3';

1.2.5 CCK8法测定细胞增殖能力 在细胞转染24h后,实验组和对照组细胞常规消化下来后以2500/孔的密度种在96孔板里。分别在之后的24h和48h,吸净96孔中培养液,每孔加入90ul DMEM+10μL CCK8,孵箱中避光放置1h后,用酶标仪测定450nm吸光度。

1.2.6 挽救实验 为了验证miR-210-5p为CCAT1的下游通路,我们实施了一个挽救实验。实验分组如下:实验组:RKO细胞+si-CCAT1+miR-210-5p inhibitor,对照组:RKO细胞+si-CCAT1。如上细胞转染方法1.2.3所示,按组别分别向RKO细胞中转入siRNA和miR-210-5p inhibitor,其余条件相同,然后用CCK8法检测RKO细胞的增殖能力。

1.2.7 过表达实验 为了进一步验证CCAT1/miR-210-5p信号通路,我们进行了一个过表达实验。实验分组如下:实验组:RKO细胞+miR-210-5p mimic,对照组:RKO细胞。如上细胞转染方法1.2.3所示,按组别向RKO细胞中转入miR-210-5p mimic,其余条件相同,然后用CCK8法检测RKO细胞的增殖能力。

1.2.8 Transwell侵袭实验 在RKO细胞转入si-CCAT1 24h后,将2×10⁴个RKO细胞+si-CCAT1接种于含200μL无血清DMEM培养液的transwell小室中,小室底部预涂Matrigel,小室放置在含有600μL DMEM和20%血清的24孔板中。24h后,上室细胞用棉球擦拭,下膜用含0.1%结晶紫的甲醇浸润1h。最后在显微镜下观察固定细胞并计数。

1.3 统计学分析

所有的实验均重复了三次。GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, USA)被用来分析和展示数据,数据以Mean±SD呈现。组间是否存在差异性用t检验来验证,P<0.05被认为存在显著差异。

2 结果

2.1 结直肠癌组织和癌旁组织、RKO和NCM460中CCAT1表

达水平的差异

15 例病例一般资料如表 1。结肠癌组织中 CCAT1 表达量显著高于癌旁组织($P<0.001$),而结肠癌细胞系 RKO 细胞中的 CCAT1 表达水平显著高于正常结肠细胞 NCM460($P<0.005$)。见图 1。

表 1 15 例病例一般资料

Table 1 General data of 15 cases

Item	Amount(n)
Age	
>60 years old	12
≤60 years old	3
Gender	
Male	8
Female	7
T stage	
T1,T2	3
T3,T4	12
Clinical staging	
I+II	5
III+IV	10
Tumor differentiation	
Low+Middle	13
High	2

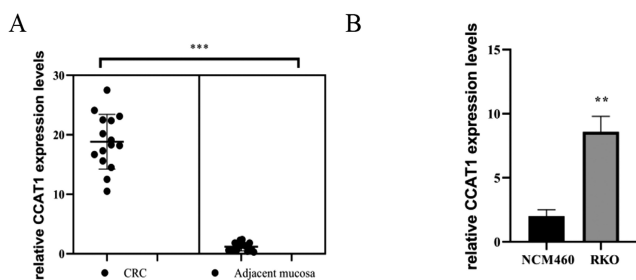


图 1 结直肠癌组织和癌旁组织、RKO 和 NCM460 中 CCAT1 表达水平的差异

Fig.1 Differences in CCAT1 expression levels in colorectal cancer and adjacent mucosa tissues, RKO and NCM460

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$. *** $P<0.001$, compared with Adjacent mucosa tissues; ** $P<0.005$, compared with NCM460.

2.2 CCAT1 敲除后 RKO 细胞增殖能力的变化

PCR 结果显示,在与 CCAT1 特异性 siRNA 共转染后, RKO 细胞中 CCAT1 表达水平较 NC 组(未处理组)相比显著降低($P<0.005$);与 NC 组(未处理组)相比, RKO 细胞的增殖能力显著降低($P<0.005$)。见图 2。

2.3 CCAT1 敲除后 RKO 细胞侵袭能力的变化

Transwell 侵袭实验结果显示,在与 CCAT1 特异性 siRNA 共转染后, RKO 细胞的侵袭能力较 NC 组(未处理组)显著降低($P<0.005$)。见图 3。

2.4 CCAT1 通过抑制 miR-210-5p 表达促进 RKO 细胞增殖能力

全转录组测序结果显示,在与 CCAT1 特异性 siRNA 共转染后, RKO 细胞中 miR-210-5p 表达水平较 NC 组(为处理组)相比显著增高($P<0.005$);BioEdit software 结果显示, CCAT1 和 miR-210-5p 之前存在潜在的结合位点;CCK8 结果显示,在

CCAT1 被敲除的 RKO 细胞中转入 miR-210-5p inhibitor, RKO 细胞增殖能力显著上升($P<0.05$),而当未经处理的 RKO 细胞中转入 miR-210-5p mimic 时, RKO 细胞增殖能力显著下降($P<0.05$)。见图 4。

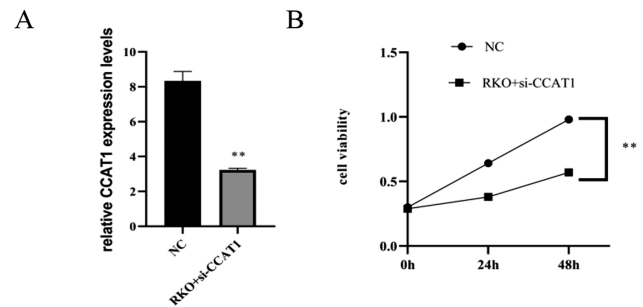


图 2 CCAT1 敲除后 RKO 细胞增殖能力变化

Fig.2 Changes of proliferation capacity of RKO cells after CCAT1 knockout

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$. ** $P<0.005$, compared with NC group (Untreated RKO cells);

** $P<0.005$, compared with NC group (Untreated RKO cells).

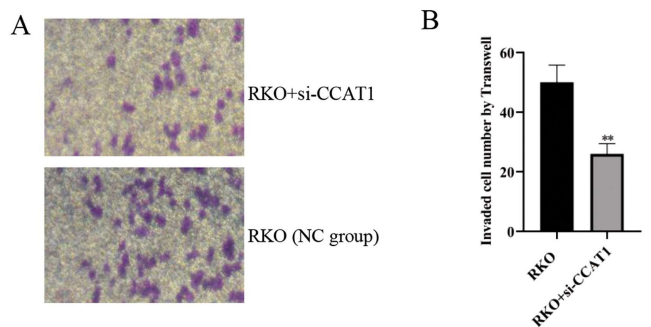


图 3 CCAT1 敲除后 RKO 细胞侵袭能力变化

Fig.3 Changes of invasion capacity of RKO cells after CCAT1 knockout

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$. ** $P<0.005$, compared with NC group (Untreated RKO cells).

3 讨论

2018 年全球癌症数据统计显示,在全球范围内, CRC 的发病率和死亡率均位于前四位,发病率和死亡率分别占恶性肿瘤 6.1%和 9.2%^[13]。随着对 CRC 分子机制的不断研究,发现了许多与 CRC 进展相关的因素和分子靶向治疗方法。已发现表皮生长因子受体(EGFR), Notch, PI3K / AKT 途径,转化生长因子-β (TGF-β) 和 Wnt 信号传导下游的促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联途径等信号通路与 CRC 的发展有关,并针对性地研发了靶向治疗方法^[14,15]。本研究发现 lncRNA CCAT1 通过海绵吸附 miR-210-5p 促进 CRC 的进展,为 CRC 的诊断和治疗提供了新的靶点。

近十几年来,对于 lncRNA 在肿瘤中的作用及相应的分子机制已引起极大的关注,并取得了许多重要的进展。Ji Lili 等发现在甲状腺癌中, lncRNA RPL34-AS 通过抑制 miR-3663-3p 的表达来上调 RGS4 的水平,从而抑制了甲状腺癌细胞的增殖和侵袭,促进了细胞凋亡,为甲状腺癌的临床治疗提供的新的思路^[16]。Mao Qixin 等研究结果显示 long intergenic noncoding

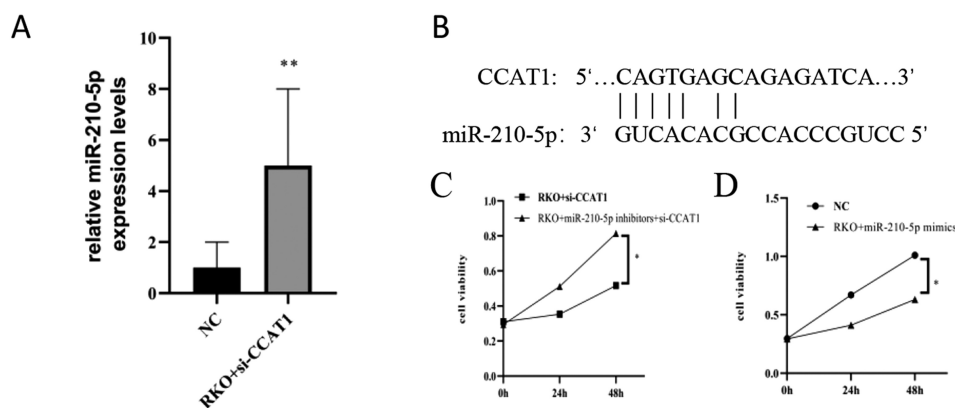


图4 CCAT1 通过抑制 miR-210-5p 表达促进细胞增殖能力

Fig.4 CCAT1 promoted cell proliferation by inhibiting miR-210-5p expression

Note: Data are expressed as $\bar{x} \pm SD$. ** $P < 0.005$, compared with NC group (Untreated RKO cells); Potential binding sites of CCAT1 and miR-210-5p;* $P < 0.05$, compared with RKO+si-CCAT1 group; $P < 0.05$, compared with NC group (Untreated RKO cells).

RNA 00641 (LINC00641) 与乳腺癌大小、淋巴结转移、临床分期呈负相关,其通过竞争性结合 miR-194-5p 起到抑制肿瘤细胞增殖、转移和侵袭的作用^[17]。在 CRC 中也发现了许多异常表达的 lncRNA^[18]。与其他恶性肿瘤相同,这些 lncRNA 在 CRC 的发生、发展、侵袭和耐药中起到了关键的作用^[19,20]。lnc-AGER-1 在 CRC 中低表达,并与 T 分期相关。过表达的 lnc-AGER-1 抑制 CRC 细胞增殖和迁移效率,诱导细胞周期阻滞于 G0/G1 期,促进细胞凋亡^[21]。LncRNA TTN-AS1 通过 miR-376a-3p/KLF15 轴促进了大肠癌的增殖和侵袭^[22],而 CASC21 在 CRC 中作为一种 ceRNA,通过调节 miR-7-5p/YAP1 轴而在大肠癌的进展中发挥致癌作用^[23]。

CCAT1 是一类结肠癌转录相关的 lncRNA,全长 2628 个核苷酸。Nissan Aviram 等人研究证实 CCAT1 两个外显子分别对应于核苷酸 1-288 和 289-2612,而基因的内含子异常长,约为 9 kb,CCAT1 定位于染色体 8q24.21,与包括结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌和慢性淋巴细胞白血病在内的多种癌症相关的几个突变热点密切相关^[24]。Zhang, S 等认为 lncRNA CCAT1 在肝内胆管癌 (ICC) 中高表达,并与 ICC 细胞的转移、侵袭及上皮-间质转化 (EMT) 相关蛋白的激活有关^[25]。Li, Y 等人发现 CCAT1 在胃癌中高表达,并通过负调控 miR-219-1 的表达促进胃癌的发生、发展和转移^[26]。Ma, M-Z 等也发现 CCAT1 在胆囊癌中异常表达,并促进了肿瘤的进展^[27]。基于 CCAT1 在多种肿瘤中高表达,且在肿瘤的发生、发展、侵袭等过程中起到关键作用的研究结果,CCAT1 已成为恶性肿瘤治疗新的靶点。Chen, L 等在多发性骨髓瘤 (MM) 中,通过下调 CCAT1 的表达,在体外显著抑制了 MM 细胞增殖,诱导细胞周期在 G0/G1 期停止,促进细胞凋亡,在体内抑制肿瘤生长,认为 CCAT1 可成为 MM 新的诊断标志物和治疗靶点^[28]。Li, J 等通过具有抗癌能力的人参皂苷 Rg3 下调肿瘤中 CCAT1 的表达水平,发现可显著降低肿瘤细胞活力、迁移和侵袭能力,促进细胞凋亡,同时下调细胞周期蛋白 D1、基质金属蛋白酶 (MMP)-9 和波形蛋白的表达,上调凋亡相关蛋白 p53、Bax 和 Cleaved-Caspase-3 的表达^[29]。在本次研究中,我们发现 CCAT1 在 CRC 中高表达,并与 CRC 的进展密切相关,有望 CRC 诊断和治疗提供新的视野和思路。

既往的研究显示,lncRNA 作用机制主要包括:1) 作为转录

信号;2) 作为结合转录因子的诱饵;3) 引导染色质修饰酶使其可被招募至靶基因;4) 作为支架来聚集多种蛋白质形成核糖蛋白复合体;5) 作为 ceRNA 调控 miRNA 及其功能^[30]。现有的研究显示 CCAT1 可能通过海绵吸附 miRNA 在结直肠癌中发挥作用^[18,31]。在本次研究中,我们发现 CCAT1 在结直肠癌和结直肠癌细胞系 RKO 细胞中高表达,并促进了结直肠癌细胞的增殖和侵袭。通过全转录测序,我们发现 CCAT1 通过竞争性结合 miR-210-5p 在结直肠癌中起到调控作用。进一步的挽救实验和 miR-210-5p 过表达实验进一步证实了 CCAT1 通过海绵吸附 miR-210-5p 促进 CRC 进展。

在全转录组测序中,我们还发现了一些 mRNA 在 CCAT1 被沉默后异常表达,其机制可能是 CCAT1 海绵吸附了调控这些 mRNA 的 miR-210-5p,从而起到了调控细胞表型的作用。下一步我们将进一步探索 miR-210-5p 下游蛋白,完善相关信号通路,为 CRC 的诊断和治疗提供新的思路和靶点。

参考文献 (References)

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [4] DeSantis CE, Lin CC, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(4): 252-271
- [5] Chen H, Li M, Huang P. LncRNA SNHG16 Promotes Hepatocellular Carcinoma Proliferation, Migration and Invasion by Regulating miR-186 Expression[J]. J Cancer, 2019, 10(15): 3571-3581
- [6] Thiele JA, Hosek P, Kralovcova E, et al. lncRNAs in Non-Malignant Tissue Have Prognostic Value in Colorectal Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9). [Epub ahead of print]
- [7] Wu Y, Wang Y, Wei M, et al. Advances in the study of exosomal lncRNAs in tumors and the selection of research methods [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 123: 109716
- [8] Liming W, Xin Z, Yang L, et al. Long noncoding RNA FBXL19-AS1 induces tumor growth and metastasis by sponging miR-203a-3p in

- lung adenocarcinoma[J]. *Journal of cellular physiology*, 2020, 235(4): 3612-3625
- [9] Zhijia Y, Guoqing L, Chao D, et al. Long non-coding RNA HULC exerts oncogenic activity on papillary thyroid cancer in vitro and in vivo [J]. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 2020, 48(1): 326-335
- [10] Chenghong W, Fangping C, Zili F, et al. LncRNA CCAT1/ miR-490-3p /MAPK1/c-Myc Positive Feedback Loop Drives Progression of Acute Myeloid Leukemia[J]. *Journal of biochemistry*, 2019[Epub ahead of print]
- [11] Min H, Qi Z, Xiao-Hui T, et al. lncRNA CCAT1 is a biomarker for the proliferation and drug resistance of esophageal cancer via the miR-143/PLK1/BUBR1 axis[J]. *Molecular carcinogenesis*, 2019, 58(12): 2207-2217
- [12] Yanfeng L, Guanyu Z, Yan M, et al. lncRNA CCAT1 contributes to the growth and invasion of gastric cancer via targeting miR-219-1[J]. *Journal of cellular biochemistry*, 2019, 120(12): 19457-19468
- [13] Freddie B, Jacques F, Isabelle S, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018, 68(6): 394-424
- [14] Martinelli E, Ciardiello D, Martini G. Implementing anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) therapy in metastatic colorectal cancer: challenges and future perspectives [J]. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 2020, 31(1): 30-40
- [15] Zahra K, Farnoush P, Mehrdad V, et al. Signaling pathways involved in colorectal cancer progression[J]. *Cell & bioscience*, 2019, 9: 97
- [16] Lili J, Xing F, Feng Z, et al. lncRNA RPL34-AS1 inhibits cell proliferation and invasion while promoting apoptosis by competitively binding miR-3663-3p/RGS4 in papillary thyroid cancer [J]. *Journal of cellular physiology*, 2020, 235(4): 3669-3678
- [17] Qixin M, Minhao L, Lianfang L, et al. Long intergenic noncoding RNA 00641 inhibits breast cancer cell proliferation, migration, and invasion by sponging miR-194-5p[J]. *Journal of cellular physiology*, 2020, 235(3): 2668-2675
- [18] Li F, Li Q, Wu X. Construction and analysis for differentially expressed long non-coding RNAs and MicroRNAs mediated competing endogenous RNA network in colon cancer[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192494
- [19] Mercedes B, Maribel A-M, Erik L-V, et al. LncRNAs as Regulators of Autophagy and Drug Resistance in Colorectal Cancer[J]. *Frontiers in oncology*, 2019, 9: 1008
- [20] Yuxia D, Zhixue F, Zeya S, et al. Knockdown of lncRNA CCEPR suppresses colorectal cancer progression [J]. *Experimental and therapeutic medicine*, 2019, 18(5): 3534-3542
- [21] Mingzhu L, Yinyan L, Jianfeng X, et al. Long non-coding RNA AGER-1 inhibits colorectal cancer progression through sponging miR-182 [J]. *The International journal of biological markers*, 2020. [Epub ahead of print]
- [22] Wang Y, Jiang F, Xiong Y, et al. LncRNA TTN-AS1 sponges miR-376a-3p to promote colorectal cancer progression via upregulating KLF15[J]. *Life sciences*, 2020, 244: 116936
- [23] Yuanwen Z, Peihua N, Shifeng X. Long noncoding RNA CASC21 exerts an oncogenic role in colorectal cancer through regulating miR-7-5p/YAP1 axis [J]. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2020, 121: 109628
- [24] Nissan A, Stojadinovic A, Mitrani-Rosenbaum S, et al. Colon cancer associated transcript-1: A novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues[J]. *International Journal of Cancer*, 2012, 130(7): 1598-1606
- [25] Zhang S, Xiao J, Chai Y, et al. LncRNA-CCAT1 Promotes Migration, Invasion, and EMT in Intrahepatic Cholangiocarcinoma Through Suppressing miR-152[J]. *Dig Dis Sci*, 2017, 62(11): 3050-3058
- [26] Li Y, Zhu G, Ma Y, et al. LncRNA CCAT1 contributes to the growth and invasion of gastric cancer via targeting miR-219-1 [J]. *Journal of cellular biochemistry*, 2019, 120(12): 19457-19468
- [27] Ma MZ, Chu BF, Zhang Y, et al. Long non-coding RNA CCAT1 promotes gallbladder cancer development via negative modulation of miRNA-218-5p[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(1): e1583
- [28] Chen L, Hu N, Wang C, et al. Long non-coding RNA CCAT1 promotes multiple myeloma progression by acting as a molecular sponge of miR-181a-5p to modulate HOXA1 expression [J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(3): 319-329
- [29] Li J, Qi Y. Ginsenoside Rg3 inhibits cell growth, migration and invasion in Caco-2 cells by downregulation of lncRNA CCAT1 [J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 106: 131-138
- [30] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10(3): 155-159
- [31] Zhu Y, Bian Y, Zhang Q, et al. Construction and analysis of dysregulated lncRNA-associated ceRNA network in colorectal cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 9250-9263