

DOI: 10.12289/j.issn.1008-0392.22217

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA CCAT2 在不同亚型 乳腺癌的表达特征及亚结构分布

谢荷樱¹, 王陶², 赵倩², 俞作仁^{1,2}

(1. 锦州医科大学上海东方临床医学院, 上海 200120; 2. 同济大学附属东方医院转化医学研究中心, 上海 200120)

【摘要】目的 分析长链非编码 RNA 结直肠癌相关转录本 2 (colon cancer-associated transcript 2, CCAT2) 在不同亚型乳腺癌的表达和分布, 有利于揭示其调控乳腺癌的功能和机制。**方法** 利用 TCGA 公共数据库, 分析乳腺癌患者 CCAT2 在 Luminal 型、HER2 阳性、三阴性乳腺癌及正常对照组织中的表达水平; 通过在线数据库 Kaplan-Meier Plotter 分析 Luminal 型和三阴性乳腺癌患者生存率与 CCAT2 表达水平之间相关性; 通过乳腺癌细胞荧光定量 PCR 分析, 检测 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7、T47D 及三阴性乳腺癌细胞 Hs578T、SUM159 的表达水平; 通过细胞核质分离和荧光原位杂交实验, 明确 CCAT2 在不同亚型乳腺癌细胞的亚结构分布。结果 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌细胞的表达水平显著低于三阴性乳腺癌细胞 ($P < 0.01$)。和正常对照相比, CCAT2 在 Luminal 型和 HER2 阳性乳腺癌组织异常低表达 ($P < 0.05$), 且在 Luminal 型的表达水平与患者生存率呈正相关; 相反, CCAT2 在三阴性乳腺癌表达水平与患者生存率呈负相关。细胞亚结构定位研究显示, CCAT2 在乳腺癌细胞主要分布于细胞核, 但其在 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7、T47D 中的细胞质分布比例显著高于在三阴性乳腺癌细胞中的分布。**结论** 内源性 CCAT2 在 Luminal 型和三阴性乳腺癌中发挥不同功能, 可能与其在两种亚型乳腺癌的表达水平及细胞亚结构分布有关。

【关键词】 结直肠癌相关转录本 2; 乳腺癌; 亚型; 亚结构分布

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1008-0392(2022)05-0611-07

Expression and cellular distribution of long non-coding RNA CCAT2 in different subtypes of breast cancer

XIE Heying¹, WANG Tao², ZHAO Qian², YU Zuoren^{1,2}

(1. Jinzhou Medical University, Shanghai East Hospital Campus, Shanghai 200120, China; 2. Research Center for Translational Medicine, Shanghai East Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200120, China)

【Abstract】 Objective To analyze the expression and distribution of long non-coding RNA (lncRNA) colon cancer-associated transcript 2 (CCAT2) in different subtype of breast cancer, which will be useful to reveal its function and mechanism in regulating breast cancer. **Methods** TCGA public database was applied to determine the expression levels of CCAT2 in Luminal, HER2 positive, triple-negative breast cancer patients and normal control tissues; A online tool of Kaplan Meier Plotter was applied to determine correlations between the overall survival and CCAT2 expression levels in Luminal or triple-negative breast cancer patients; Quantitative RT-PCR analysis was applied to detect the expression of CCAT2 in Luminal breast cancer cell lines MCF-7 and T47D, and triple-negative breast cancer cell lines Hs578T and SUM159; Cytoplasmic & nuclear isolation and in situ hybridization were applied to determine the substructural distribution of CCAT2 in different subtypes of breast cancer cells.

收稿日期: 2022-05-22

基金项目: 上海市科学技术委员会基础研究项目(20JC1410400)

作者简介: 谢荷樱(1997—), 女, 硕士研究生. E-mail: heyxingxie77@163.com

通信作者: 俞作仁. E-mail: zuoren.yu@tongji.edu.cn

Results CCAT2 showed lower levels in Luminal breast cancer cells than triple-negative breast cancer cells ($P < 0.01$). Compared with normal control tissues, CCAT2 was downregulated in Luminal and HER2⁺ subtypes of breast cancer patients ($P < 0.05$). Its expression levels were positively correlated with the overall survival in Luminal breast cancer patients. In contrast, CCAT2 expression showed negative correlation with the overall survival in triple-negative breast cancer patients. Endogenous CCAT2 was mainly distributed in the nucleus of breast cancer cells, but the percentage of cytoplasmic CCAT2 in Luminal subtype of breast cancer cells was significantly higher than that in triple-negative breast cancer cells. **Conclusion** CCAT2 may play different roles in Luminal and triple-negative breast cancer, which may be related with the difference of its expression level and subcellular distribution in different subtypes of breast cancer.

[Key words] colon cancer-associated transcript 2; breast cancer; subtype; substructure distribution

乳腺癌是威胁全球生命健康最严重的恶性肿瘤之一。据 2020 年世界卫生组织国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 的统计学数据,女性乳腺癌已超过肺癌成为发病率最高的恶性肿瘤^[1]。乳腺癌具有明显异质性^[2],在临床病理上分为 Luminal A、Luminal B、人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)过表达和基底样 4 种亚型^[3]。不同亚型乳腺癌,其临床表现、治疗手段和预后各不相同,且手术是现阶段最主要治疗方式^[4]。Luminal 型乳腺癌具有激素受体,内分泌治疗有效,且预后良好^[3,5];HER2 过表达亚型主要以抗 HER2 靶向治疗为主^[6-7];基底样亚型通常缺乏雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)及 HER2,大多数归属三阴性乳腺癌,对激素治疗不敏感,临床以化疗为主,但恶性程度高,转移性强,预后不良^[8-9]。

非编码 RNA 是一类不编码功能性蛋白,但其是一种参与基因表达调控等多种功能的 RNA^[10-11]。根据 RNA 链长度分为微小非编码 RNA (small non-coding RNA, small mRNA) 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)^[10]。microRNA 是研究较多的一类短链非编码 RNA,可使靶 mRNA 降解或抑制其翻译^[12-13]。lncRNAs 则数量多、保守性差、细胞亚结构分布不同、生物学功能复杂^[14-16]。细胞核 lncRNA 主要调节基因转录、染色质修饰和细胞核结构^[16-17]。细胞质 lncRNA 主要负责基因转录后调控、RNA 互作、细胞器功能及代谢调控等^[11,18-19]。lncRNAs 在肿瘤的发生和进展中发挥重要作用,参与细胞增殖、分化、凋亡、侵袭、迁移和转移等各个环节^[20-21]。

前期研究工作通过高通量筛选发现 lncRNA 结直肠癌相关转录本 2(colon cancer-associated transcript

2, CCAT2)在乳腺癌细胞表达异常,呈现乳腺癌亚型依赖性的表达特征,在三阴型乳腺癌表达高且发挥促癌功能^[22]。本研究通过 TCGA 数据库及乳腺癌细胞的基因表达分析,发现 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌异常低表达,且显著低于三阴性乳腺癌 ($P < 0.01$)。其表达水平与患者生存率及预后密切相关。进一步分析发现,CCAT2 在 Luminal 型及三阴性乳腺癌的细胞亚结构分布不同,提示其亚型依赖性的功能与表达水平及亚结构分布有关。

1 材料与方法

1.1 细胞和培养

人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MCF-7、T-47D、SUM159 和 Hs578T 细胞源自美国模式培养物集存库 ATCC(American Type Culture Collection),长期在同济大学附属东方医院转化医学研究中心留种及培养。培养基为达尔伯克(氏)改良伊格尔(氏)培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素、10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS);培养条件为 37 °C、5% CO₂ 的培养箱。

1.2 RNA 提取及反转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

利用 TRIzol 试剂[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]提取细胞 RNA。利用 HiScript® III RT SuperMix 反转录试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行 RNA 反转录反应。利用 SYBR Green Master Mix[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]和 Applied Biosystems QuantStudio 6[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]进行荧光定量 PCR 反应。GAPDH 作为内参基因。基因扩增引物如下。CCAT2, F: 5'-CCGA-

GGTGATCAGGTGGACTTC-3'; R: 5'-GTCTTCTGGCTGATGTTGC-3'。 GAPDH, F: 5'-TGCACCAC-CAACTGCTTAGC-3'; R: 5'-GGCATGGACTGTGG-TCATGAG-3'。

1.3 细胞核质分离

将收集好的细胞沉淀用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤一次,加入 200 μL 缓冲液 A (10 mmol/L HEPES, pH = 7.9, 10 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L EDTA, 0.1 mmol/L EGTA, 1 mmol/L DTT, 0.15% NP40, 1% 蛋白酶抑制剂),剧烈振荡后冰上孵育 15 min, 离心(离心半径 7.69 cm, 13 000 r/min, 5 min)后取上清液, 主要为细胞质成分; 剩下的细胞沉淀继续缓冲液 A 洗涤 2 次,PBS 洗涤 3 次,每次轻吹起沉淀。之后加缓冲液 B(20 mmol/L HEPES, pH=7.9, 400 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L EGTA, 1 mmol/L DTT, 0.5% NP40, 1% 蛋白酶抑制剂)剧烈振荡后冰上孵育 15 min 后离心(离心半径 7.69 cm, 13 000 r/min, 5 min), 底部沉淀主要为细胞核成分。

1.4 蛋白免疫印迹反应

50 μg 细胞裂解物利用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS/PAGE) 分离蛋白质。一抗 (1:2 000 稀释) 包括甘油醛-3-磷酸脱氢酶 [glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH, sc-47724, 圣克鲁斯生物科技(上海)有限公司], 组蛋白 H3[ab1791, 翼圣生物科技(上海)有限公司]。二抗 (1:3 000 稀释) 为辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG [7074S, 赛信通(上海)生物试剂有限公司] 和 辣根过氧化物酶标记抗小鼠 IgG [7076S, 赛信通(上海)生物试剂有限公司]。

1.5 原位杂交

利用 In situ 原位杂交试剂盒(上海吉玛制药技术有限公司),按照说明书步骤,细胞接种在 48 孔板内爬片,密度为 70% 时依次完成加 100 μL 4% 多聚甲醛固定,缓冲液 A 通透细胞,100 μL 封闭液封闭细胞等步骤后,利用 100 μL 探针混合液,杂交过夜,依次使用 0.1% 缓冲液 F、2×缓冲液 C、PBS 洗涤,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)工作液染核。最后加抗淬灭剂后,在荧光显微镜下观察。18S rRNA 探针: 5'-CTGCCTTCCTTGG-ATGTGGTAGCCGTTTC-3'; CCAT2 探针: 5'-T+TACCTGGCAGT + TGAG-AAACGAGA + ATCA + TT-TGGACGACGCC + TCATT + TCCT + TGCTGGG +

TTCCTGCCCTT+TG-3', 均由吉玛公司合成及纯化。

1.6 统计学处理

采用软件 GraphPad Prism 8 处理数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 CCAT2 在不同亚型乳腺癌的临床相关性分析

利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库, 对 Luminal 型及三阴性乳腺癌 CCAT2 表达及其与临床总生存率的相关性开展了研究。如图 1 所示, 在 Luminal 型亚型的乳腺癌, 患者总生存率与 CCAT2 表达水平呈显著性正相关(图 1A);而在三阴性乳腺癌, 患者总生存率与 CCAT2 表达水平呈负正相关(图 1B)。这些结果提示, CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌可能发挥抑癌效应, 有助于患者康复。而在三阴型乳腺癌发挥促癌作用, 其表达不利于患者预后。这和本团队前期发表的工作一致^[22], CCAT2 在三阴性乳腺癌促进肿瘤细胞干性及远处转移。

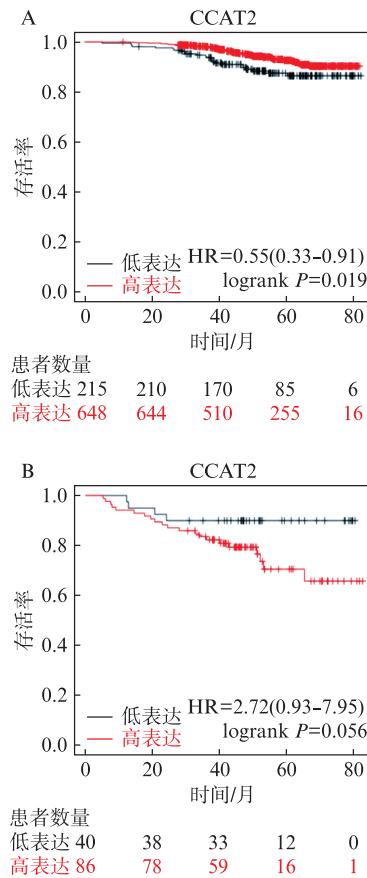


图 1 Luminal 型乳腺癌和三阴性乳腺癌中 CCAT2 表达水平与总生存率之间的相关性

Fig. 1 Correlation between the expression levels of CCAT2 and overall survival in Luminal and triple negative subtypes of breast cancer

A: Luminal 型乳腺癌; B: 三阴性乳腺癌

2.2 CCAT2 在不同亚型乳腺癌的表达特征分析

为了进一步明确 CCAT2 在不同亚型乳腺癌的表达特征,本研究团队体外培养了 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7、T-47D 以及三阴性乳腺癌细胞 Hs578T 和 SUM159,制备 RNA,通过 RT-PCR 检测了 CCAT2 的表达。如图 2A 所示,CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7 和 T47D 的表达水平显著低于其在三阴型乳腺癌细胞 Hs578T 和 SUM159 的表达。进一步分析了 TCGA 数据库 808 例 Luminal 型乳腺癌、114 例三阴型乳腺癌、36 例 HER2 阳性(HER2⁺)乳腺癌患者及 96 例正常对照,如图 2B 所示,CCAT2 在 Luminal 型及 HER2⁺乳腺癌组织的表达显著低于正常组织($P<0.05$),进一步提示 CCAT2 在 ER⁺乳腺癌的抑癌功能。

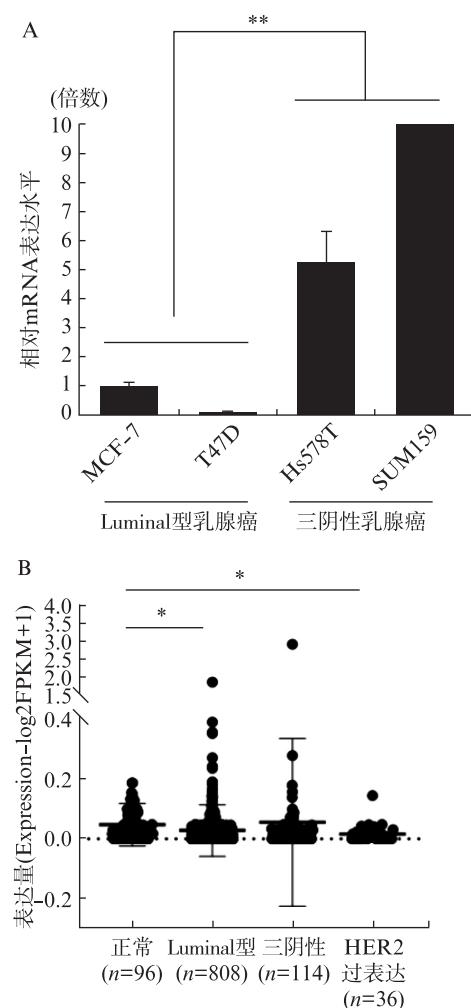


图 2 CCAT2 在不同亚型乳腺癌细胞株及临床患者的表达特征分析

Fig. 2 Expression of CCAT2 in different subtypes of breast cancer cell lines and patients

A: CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌和三阴性乳腺癌细胞中的表达水平;B: CCAT2 在 Luminal 型、三阴性、HER2 过表达型乳腺癌临床患者的表达水平; $*P<0.05$, $**P<0.01$

2.3 CCAT2 在不同亚型乳腺癌的细胞亚结构分布分析

CCAT2 在 Luminal 型及三阴性乳腺癌的表达水平不同,行使的功能不同,是否与其在细胞内分布异同有关。为了回答这个问题,本研究团队将 Luminal 型乳腺癌细胞及三阴性乳腺癌细胞质核分离,通过对细胞质标志物 GAPDH 及细胞核标志物 H3(组蛋白)的蛋白电泳分析(图 3A),证明了本研究采用的细胞质核分离方法的可靠性。分别制备 RNA 后,通过荧光定量 PCR 方法,检测了 CCAT2 在不同亚型乳腺癌细胞亚结构(细胞质及细胞核)的含量(GAPDH 作为细胞质标志物的阳性对照)。如图 3B~3D 所示,CCAT2 在三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的分布占比为细胞质占 10%,细胞核占 90%(图 3B);在 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7 和 T47D 中,CCAT2 的分布占比为细胞质占 25%,细胞核占 75%(图 3C、3D)。

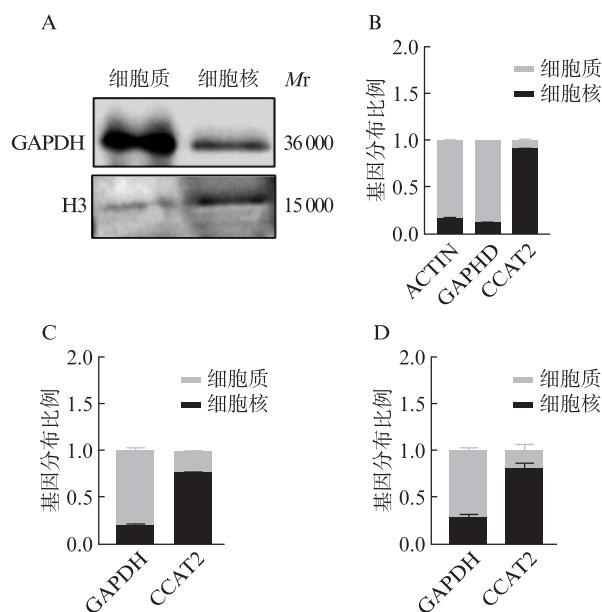


图 3 CCAT2 在不同亚型乳腺癌细胞株细胞核和细胞质的表达分布

Fig. 3 The distribution of CCAT2 in nucleus and cytoplasm of MDA-MB-231, MCF-7 and T47D cells

A: 蛋白印迹法验证质核分离后标签蛋白的表达;B: CCAT2 在 MDA-MB-231 细胞核与细胞质中的表达分布;C: CCAT2 在 MCF-7 细胞核与细胞质中的表达分布;D: CCAT2 在 T47D 细胞质与细胞核的表达分布

为进一步验证上述 CCAT2 质核分布的研究结果,本研究团队合成了 CCAT2 原位杂交探针,分别在 Luminal 型乳腺癌细胞 MCF-7 和三阴性乳腺癌细胞 MDA-MB-231 开展了免疫荧光定位分析。以 18S rRNA 作为阳性对照(图 4A)。结果显示,CCAT2

在 MCF-7 细胞的细胞质与细胞核均有分布(图 4B),但在 MDA-MB-231 细胞中,CCAT2 集中分布在细胞核(图 4C)。CCAT2 在 MCF-7 细胞质的荧光强度显著高于其在 MDA-MB-231 细胞质的荧光强度,支撑了上述质核分离的研究结果。

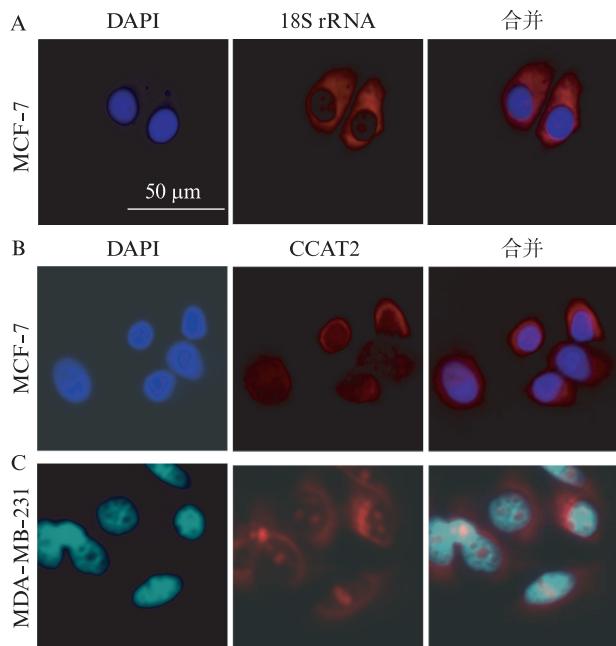


图 4 原位杂交实验显示 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌 MCF-7 细胞及三阴性 MDA-MB-231 细胞的不同定位分布

Fig. 4 FISH showed the localization of CCAT2 in MCF-7 and MDA-MB-231 cells, 18S rRNA was used for the positive control of cytoplasm

A: 18S rRNA 作为细胞质分布的阳性对照;B: CCAT2 在 MCF-7 细胞中的荧光定位;C: CCAT2 在 MDA-MB-231 细胞中的荧光定位

3 讨 论

非编码基因曾被认为是基因转录的副产品,是“垃圾基因”^[23]。但 21 世纪以来研究表明非编码基因具有重要调控功能。尤其人类基因组计划的完成,揭示了人细胞基因组 97% 以上序列属于非编码基因。在肿瘤发生发展中,非编码基因包括 lncRNA 发挥重要的调控作用,包括对肿瘤干细胞及肿瘤微环境的调节^[24-25]。比如 lncRNA 结直肠肿瘤差别表达基因 (colorectal neoplasia differentially expressed, CRNDE) 在结直肠癌、乳腺癌、肝癌及白血病患者均异常高表达,调控肿瘤干细胞,患者预后不良^[26]。本团队前期发表的工作发现 lncRNA CCAT2 在三阴性乳腺癌细胞高表达后,促进肿瘤发生及发展。但 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌的表达特征及功能尚未见研究报道。

LncRNA 功能与其在细胞的亚分布密切相

关^[27]。Zhang 等^[28]发现,LINC00641 主要分布在宫颈癌细胞的细胞质中,抑制细胞增殖、侵袭和迁移,并抑制上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。其他研究发现人肺腺癌转移相关转录本 1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 主要定位在胃癌细胞的细胞核,促进癌细胞增殖及肿瘤^[29-31]。本研究发现在乳腺癌细胞中,CCAT2 主要在细胞核,少量分布在细胞质。但在不同亚型乳腺癌中,CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌细胞质的比例(25%)显著高于其在三阴性乳腺癌细胞质的比例(10%)。尤其重要的是,本研究发现 CCAT2 在 Luminal 型乳腺癌可能发挥抑癌效应,其表达水平与患者生存率呈正相关。而其在三阴性乳腺癌发挥相反的功能。推测 CCAT2 乳腺癌亚型依赖性的不同功能可能与它的细胞亚结构分布有关。在细胞质中,线粒体参与能量代谢,细胞凋亡等关键生物过程,且与核基因组相互作用。lncRNAs 可在细胞核和线粒体之间异常分布,提示其可能参与了癌细胞代谢重编程的调节^[32-35]。目前,本研究还没有涉及 CCAT2 在线粒体的分布情况,这将是后续值得探究的问题。相关报道,长链非编码基因常常和 miRNA 互相作用,调控肿瘤发生及发展^[36]。在 Luminal 型乳腺癌中,CCAT2 在细胞质中表达水平升高,可能和 miRNA 相互作用,从而调节下游靶基因;也可能和 RNA 结合蛋白作用,从而调节相关信号通路^[37]。当 lncRNA 分布在细胞核时,可能和转录因子或转录调控因子结合形成复合物,并特异性结合到基因组 DNA,调控相关基因的表达^[37-38]。

本文阐述了长链非编码基因 CCAT2 在不同亚型乳腺癌中具有不同的表达特征,这将有助于阐明 CCAT2 调控乳腺癌的功能和分子机制,也可能为治疗不同亚型乳腺癌提供新的思路,为探索非编码基因的生物学功能提供一个新视角。

【参考文献】

- [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] 王丽娜, 张崇建, 李连方, 等. 三阴性乳腺癌表柔比星

- 和环磷酰胺联合紫杉醇周疗新辅助化疗临床观察[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(3): 211-215.
- [3] GOLDHIRSCH A, WINER E P, COATES A S, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013[J]. Ann Oncol, 2013, 24(9): 2206-2223.
- [4] 朱俊勇, 刘佩蓉, 彭生, 等. 亚麻醉剂量右旋氯胺酮给药对乳腺癌患者术后抑郁和焦虑的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2022, 43(2): 249-253.
- [5] MARTÍ C, YÉBENES L, OLIVER J M, et al. The clinical impact of neoadjuvant endocrine treatment on Luminal-like breast cancers and its prognostic significance: results from a single-institution prospective cohort study[J]. Curr Oncol, 2022, 29(4): 2199-2210.
- [6] NI Y B, TSANG J Y, SHAO Y, et al. Combining analysis of tumor-infiltrating lymphocytes(TIL) and PD-L1 refined the prognostication of breast cancer subtypes[J]. Oncologist, 2022, 27(4): e313-e327.
- [7] LIGORIO F, ZAMBELLI L, FUCÀ G, et al. Prognostic impact of body mass index (BMI) in HER2⁺ breast cancer treated with anti-HER2 therapies: from preclinical rationale to clinical implications[J]. Ther Adv Med Oncol, 2022, 14: 17588359221079123.
- [8] FOULKES W D, SMITH I E, REIS-FILHO J S. Triple-negative breast cancer[J]. N Engl J Med, 2010, 363(20): 1938-1948.
- [9] ZHANG Y L, DENG L, LIAO L, et al. Chromatin complexes subunit BAP18 promotes triple-negative breast cancer progression through transcriptional activation of oncogene S100A9[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(4): 408.
- [10] BENEDETTI A, TURCO C, FONTEMAGGI G, et al. Non-coding RNAs in the crosstalk between breast cancer cells and tumor-associated macrophages [J]. Noncoding RNA, 2022, 8(1): 16.
- [11] LIU Y M, CHENG L L, ZHAN H T, et al. The roles of noncoding RNAs in systemic sclerosis [J]. Front Immunol, 2022, 13: 856036.
- [12] SCHWARZ D S, HUTVÁGNER G, DU T T, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. Cell, 2003, 115(2): 199-208.
- [13] HUTVÁGNER G. Small RNA asymmetry in RNAi: function in RISC assembly and gene regulation [J]. FEBS Lett, 2005, 579(26): 5850-5857.
- [14] CHOWDHARY A, SATAGOPAM V, SCHNEIDER R. Long non-coding RNAs: mechanisms, experimen-
- tal, and computational approaches in identification, characterization, and their biomarker potential in cancer [J]. Front Genet, 2021, 12: 649619.
- [15] USZCZYNSKA-RATAJCZAK B, LAGARDE J, FRANKISH A, et al. Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome [J]. Nat Rev Genet, 2018, 19(9): 535-548.
- [16] SUN Q Y, HAO Q Y, PRASANTH K V. Nuclear long noncoding RNAs: key regulators of gene expression[J]. Trends Genet, 2018, 34(2): 142-157.
- [17] TITO C, GANCI F, SACCONI A, et al. LINC00174 is a novel prognostic factor in thymic epithelial tumors involved in cell migration and lipid metabolism [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(11): 959.
- [18] GIL N, ULITSKY I. Regulation of gene expression by cis-acting long non-coding RNAs[J]. Nat Rev Genet, 2020, 21(2): 102-117.
- [19] RASHID F, SHAH A, SHAN G. Long non-coding RNAs in the cytoplasm [J]. Genom Proteom Bioinform, 2016, 14(2): 73-80.
- [20] HUARTE M. The emerging role of lncRNAs in cancer [J]. Nat Med, 2015, 21(11): 1253-1261.
- [21] WU X, TUDORAN O M, CALIN G A, et al. The many faces of long noncoding RNAs in cancer [J]. Antioxid Redox Signal, 2018, 29(9): 922-935.
- [22] XU Z, LIU C, ZHAO Q, et al. Long non-coding RNA CCAT2 promotes oncogenesis in triple-negative breast cancer by regulating stemness of cancer cells [J]. Pharmacol Res, 2020, 152: 104628.
- [23] DJEBALI S, DAVIS C A, MERKEL A, et al. Landscape of transcription in human cells [J]. Nature, 2012, 489(7414): 101-108.
- [24] XIAO X, CHENG W, ZHANG G X, et al. Long non-coding RNA: shining stars in the immune microenvironment of gastric cancer[J]. Front Oncol, 2022, 12: 862337.
- [25] LIU J X, ZHANG Q Q, YANG D L, et al. The role of long non-coding RNAs in angiogenesis and anti-angiogenic therapy resistance in cancer [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28: 397-407.
- [26] MA X F, JIN W, ZHAO C X, et al. CRNDE: a valuable long noncoding RNA for diagnosis and therapy of solid and hematological malignancies [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2022, 28: 190-201.
- [27] STATELLO L, GUO C J, CHEN L L, et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(2):

- 96-118.
- [28] ZHANG Y, YU R, LI L. LINC00641 hinders the progression of cervical cancer by targeting miR-378a-3p/CPEB3[J]. *J Gene Med*, 2020, 22(9): e3212.
- [29] WU M Y, LIN Z J, LI X N, et al. HULC cooperates with MALAT1 to aggravate liver cancer stem cells growth through telomere repeat-binding factor 2[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36045.
- [30] WANG J Q, SU L P, CHEN X H, et al. MALAT1 promotes cell proliferation in gastric cancer by recruiting SF₂/ASF[J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(5): 557-564.
- [31] ZHOU Q F, LIU L F, ZHOU J, et al. Novel insights into *MALAT1* function as a microRNA sponge in NSCLC[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 758653.
- [32] ZHAO Y J, LIU S S, ZHOU L, et al. Aberrant shuttling of long noncoding RNAs during the mitochondria-nuclear crosstalk in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(5): 999-1008.
- [33] RACKHAM O, SHEARWOOD A M, MERCER T R, et al. Long noncoding RNAs are generated from the mitochondrial genome and regulated by nuclear-encoded proteins[J]. *RNA*, 2011, 17(12): 2085-2093.
- [34] NOH J H, KIM K M, ABDELMOHSEN K, et al. HuR and GRSF₁ modulate the nuclear export and mitochondrial localization of the lncRNA RMRP[J]. *Genes Dev*, 2016, 30(10): 1224-1239.
- [35] LI Y, LI W, HOFFMAN A R, et al. The nucleus/mitochondria-shuttling LncRNAs function as new epigenetic regulators of mitophagy in cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 699621.
- [36] WEN Q R, LIU Y, LYU H B, et al. Long noncoding RNA GAS5, which acts as a tumor suppressor via microRNA 21, regulates cisplatin resistance expression in cervical cancer[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(6): 1096-1108.
- [37] DAHARIYA S, PADDIBHATLA I, KUMAR S, et al. Long non-coding RNA: classification, biogenesis and functions in blood cells[J]. *Mol Immunol*, 2019, 112: 82-92.
- [38] AGUILLO F, ZHOU M M, WALSH M J. Long non-coding RNA, polycomb, and the ghosts haunting INK4b-ARF-INK4a expression [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(16): 5365-5369.