

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20210991

· 论 著 ·

长链非编码 RNA LINC00342 通过靶向微 RNA-384 促进肾透明细胞癌细胞增殖、迁移及侵袭

谢文杰, 雷坤阳, 孙庭*

南昌大学第一附属医院泌尿外科, 南昌 330006

[摘要] **目的** 探讨 lncRNA LINC00342 在肾透明细胞癌(ccRCC)中的作用及其机制。**方法** 通过基因表达谱动态分析(GEPIA)数据库分析 LINC00342 在 ccRCC 组织中的表达及其表达水平与患者生存率的关系。采用 qPCR 检测 ccRCC 组织及 ccRCC 细胞系中 LINC00342 的表达, 并分析其与 ccRCC 患者临床病理学特点的相关性。将 ccRCC 细胞分为 siRNA 组、阴性对照组和空白对照组, 通过 CCK-8 实验、划痕愈合实验及 Transwell 实验分别验证 LINC00342 对 ccRCC 细胞增殖、迁移及侵袭的影响, 采用蛋白质印迹法检测上皮间质转化(EMT)相关蛋白的表达变化。通过生物信息学方法预测 LINC00342 的靶分子, 并采用双萤光素酶报告基因实验验证 LINC00342 与 miRNA-384 的靶向关系。**结果** GEPIA 数据库的分析结果表明, LINC00342 在 ccRCC 组织中高表达, 并且高表达的 ccRCC 患者总生存率较低(P 均 <0.05)。qPCR 结果显示, ccRCC 组织及 ccRCC 细胞中 LINC00342 的表达水平均升高(P 均 <0.05)。LINC00342 高表达的患者肿瘤直径更大、临床分期更晚(P 均 <0.05)。通过 siRNA 沉默 LINC00342 的表达能够抑制 ccRCC 细胞的增殖、迁移及侵袭, 下调波形蛋白和神经钙黏素的表达, 上调上皮钙黏素的表达(P 均 <0.05)。生物信息学分析结果显示 miRNA-384 存在 LINC00342 的结合位点, 双萤光素酶报告基因实验结果表明 miRNA-384 是 LINC00342 的下游靶分子之一。**结论** LINC00342 可以促进 ccRCC 细胞的恶性表型。miRNA-384 是 LINC00342 的下游靶分子之一。

[关键词] 肾肿瘤; 透明细胞癌; 长链非编码 RNA; LINC00342; 微 RNA-384; 上皮间质转化; 生物信息学

[中图分类号] R 737.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)06-0614-08

Long non-coding RNA LINC00342 promotes proliferation, migration and invasion of clear cell renal cell carcinoma cells by targeting microRNA-384

XIE Wen-jie, LEI Kun-yang, SUN Ting*

Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

[Abstract] **Objective** To investigate the role of long non-coding RNA (lncRNA) LINC00342 in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) and its mechanism. **Methods** The expression of LINC00342 in ccRCC tissues was analyzed by the Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) database, and the relationship between LINC00342 expression and patient survival was analyzed. The expression of LINC00342 in ccRCC tissues and ccRCC cell lines was detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR), and its correlation with the clinicopathological characteristics of patients was analyzed. The ccRCC cells were divided into small interfering RNA group, negative control group, and blank group. The effects of LINC00342 on the proliferation, migration and invasion of ccRCC cells were verified by cell counting kit 8 (CCK-8) assay, scratch wound healing assay, and Transwell invasion assay. The expression of proteins involved in the epithelial-mesenchymal transition (EMT) pathway was detected by Western blotting. The target genes of LINC00342 were predicted by bioinformatics, and the targeting relationship of LINC00342 and microRNA (miRNA)-384 was validated by dual-luciferase reporter gene assay. **Results** The analysis of the GEPIA database showed that LINC00342 was highly expressed in ccRCC tissues, and the patients with high LINC00342 expression had a low overall survival rate (both $P < 0.05$). The qPCR results showed that the expression of LINC00342 was significantly increased in both ccRCC tissues and ccRCC cells (both $P < 0.05$). The patients with high LINC00342 expression had larger tumor size and later clinical stage (both $P < 0.05$). Silencing the

[收稿日期] 2021-09-28 **[接受日期]** 2021-12-06

[基金项目] 江西省卫生健康委科技计划(202210397)。Supported by Science and Technology Project of Health Commission of Jiangxi Province (202210397).

[作者简介] 谢文杰, 硕士, 主治医师。E-mail: doctorxiewenjie@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0791-88698267, E-mail: sunting1960@163.com

expression of LINC00342 by small interfering RNA inhibited the proliferation, migration and invasion of ccRCC cells (all $P < 0.05$), down-regulated the expression of vimentin and N-cadherin, and up-regulated the expression of E-cadherin (all $P < 0.05$). Bioinformatic analysis showed that miRNA-384 had a binding site with LINC00342, and the results of dual-luciferase reporter gene assay indicated that miRNA-384 was one of the downstream target genes of LINC00342. **Conclusion** LINC00342 can promote the malignant phenotype of ccRCC cells. miRNA-384 is one of the downstream target genes of LINC00342.

[**Key words**] kidney neoplasms; clear cell carcinoma; long non-coding RNA; LINC00342; microRNA-384; epithelial-mesenchymal transition; bioinformatics

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(6): 614-621]

肾细胞癌是泌尿外科常见的恶性肿瘤之一, 其中肾透明细胞癌 (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 最常见且具有发病率高、生存期短等特点。近年来, 随着外科技术的进步, 越来越多的早期 ccRCC 患者在手术切除肿瘤后长期存活^[1]。晚期 ccRCC 患者往往失去了手术机会, 并且对放射治疗和化学治疗不敏感, 因此在晚期 ccRCC 的治疗中靶向治疗十分重要^[2-3]。

lncRNA 是一类不包含任何开放阅读框的长度大于 200 bp 的 RNA^[4]。尽管 lncRNA 不编码蛋白质, 但它却是生物体内多种生物学过程中不可缺少的调节因子^[5]。已有许多研究表明, lncRNA 与多种肿瘤的发生和发展有非常密切的联系^[6-7]。多项研究表明 lncRNA 在 ccRCC 的发生和发展中起重要作用, 它可通过多种机制促进 ccRCC 细胞在体内外的增殖、迁移及侵袭^[8-9]。LINC00342 是一种长链基因间非编码 RNA, 最早在 2016 年被报道^[10]。目前有关 LINC00342 的研究并不少见, 例如, 有研究发现 LINC00342 可以促进结直肠癌和非小细胞肺癌的发生和发展^[11-12]。然而, LINC00342 在 ccRCC 中的作用及其机制尚未见报道。本研究旨在探索 LINC00342 在 ccRCC 中的作用及其分子生物学机制。

1 材料和方法

1.1 基因表达谱动态分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 数据库分析 通过 GEPIA 数据库分析 523 例 ccRCC 组织及 100 例癌旁组织中 LINC00342 的表达水平, 并分析 513 例 ccRCC 样本 (257 例高表达, 256 例低表达) 中 LINC00342 的表达水平与患者生存率的关系。

1.2 临床标本的获取 65 例 ccRCC 组织及配对的癌旁组织来源于 2020 年 1 月至 2021 年 1 月在南昌大学第一附属医院泌尿外科接受肾癌根治术的患

者, 所有标本均经病理诊断为 ccRCC, 患者术前均未接受过放射治疗和化学治疗, 组织标本采集后立即放入液氮, 后转移至 -80 °C 冰箱内保存供后续实验用。本研究通过南昌大学第一附属医院伦理委员会审批, 所有患者均知情同意。

1.3 细胞培养及转染 人正常肾小管上皮细胞系 (HK-2) 及 5 种人 ccRCC 细胞系 (786-O、A498、ACHN、OS-RC-2、769-P) 均购自武汉普诺赛生物科技有限公司。细胞用含有 10% FBS (美国 Gibco 公司) 和 1% 青霉素-链霉素混合液的 RPMI 1640 培养基于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行培养, 每 3 d 更换 1 次培养基。待细胞生长至融合度为 30%~50% 时, 用 Lipofectamine 3000 (美国 Invitrogen 公司) 进行转染。转染分组如下: siRNA 组 (转染 si-LINC00342)、阴性对照 (negative control, NC) 组 (转染 LINC00342-NC) 和空白对照组。转染所需的 si-LINC00342、LINC00342-NC 均购自汉恒生物科技 (上海) 有限公司。

1.4 qPCR 检测 LINC00342 和 miRNA-384 表达 采用 TRIzol 试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司) 提取组织及细胞中的 RNA, 用反转录试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司) 合成 cDNA, 并进行 PCR 扩增。反应条件: 预变性 95 °C 30 s; 变性 95 °C 15 s、退火 60 °C 30 s、延伸 72 °C 20 s, 循环 40 次。以 β -肌动蛋白及 U6 作为内参, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目的基因相对表达量。引物序列见表 1。

1.5 CCK-8 检测细胞增殖能力 将消化、离心并重悬后的细胞按照每孔 2×10^3 个细胞的密度接种至 96 孔板中, 培养 0、24、48、72 h 时在每孔内分别加入 10 μ L CCK-8 试剂 (武汉赛维尔生物科技有限公司), 在 37 °C 条件下孵育 2~4 h, 用酶标仪测定 450 nm 波长处的光密度 (D_{450}) 值。

1.6 划痕愈合实验检测细胞迁移能力 将细胞均匀地接种至 6 孔板中, 待细胞融合度达到 80% 时,

用枪头在每孔中做一“十”字划痕, PBS清洗后用无血清培养基培养, 于0 h和24 h时在显微镜下拍照, 并计算细胞迁移距离百分比。细胞迁移距离百

分比 = (各转染组0 h划痕宽度 - 各转染组24 h划痕宽度) / (空白对照组0 h划痕宽度 - 空白对照组24 h划痕宽度) × 100%。

表1 引物序列

Tab 1 Sequence of primers

Gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
LINC00342	TCCCACATCATGAGACCACAC	CCAGGGAAGCTCAGAGGGTTT
miRNA-384	TGTTAAATCAGGAATTTTAA	TGTTACAGGCATTATGAA
<i>β-actin</i>	CATGTACGTTGCTATCCAGGC	CTCCTTAATGTCACGCACGAT
<i>U6</i>	AAAGCAAATCATCGGACGACC	GGGGTCGTTGATGGCAACA

LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; miRNA: MicroRNA.

1.7 Transwell 实验检测细胞侵袭能力 事先在Transwell小室的上室中涂抹基质胶(美国Corning公司), 待其凝固后备用。在下室中加入600 μL含20% FBS的培养基, 放入Transwell小室。将细胞常规消化、离心后用无血清培养基重悬, 在上室中加入200 μL含 2×10^4 个细胞的细胞悬液。培养24 h时用棉签将上室擦拭干净, 用甲醇固定, 0.1%结晶紫染色。风干后在显微镜下拍照、计数。

1.8 蛋白质印迹法检测上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)通路相关蛋白的表达 用RIPA裂解液(武汉赛维尔生物科技有限公司)裂解细胞后提取蛋白质, 用BCA法检测所提取蛋白质的浓度。用SDS-PAGE分离蛋白质, 并转移至PVDF膜上。将PVDF膜与波形蛋白(vimentin)、神经钙黏素(N-cadherin)和上皮钙黏素(E-cadherin)抗体(英国Abcam公司)孵育过夜后, 再与二抗(英国Abcam公司)孵育1 h, 最后用显影液(武汉赛维尔生物科技有限公司)对PVDF膜进行成像, 分析各条带的灰度值。

1.9 LINC00342下游靶分子的预测及验证 利用Starbase网站和LncBook数据库预测LINC00342的下游靶分子, 并通过qPCR验证其表达, 然后预测LINC00342与miRNA-384的结合位点, 设计并合成LINC00342的野生型(wild type, WT)和突变型(mutation, Mut)结合位点, 构建目的质粒及阴性对照质粒。使用转染试剂[汉恒生物科技(上海)有限公司]将LINC00342-WT和LINC00342-Mut的目的质粒分别与miRNA-384 mimic和NC mimic[汉恒生物科技(上海)有限公司]共转染细胞, 转染48 h后, 使用双萤光素酶报告基因实验检测系统检测萤光素酶的活性。萤光素酶活性计算方法如下: 萤光素酶活性 = 萤火虫萤光素酶活性 / 海肾萤光素酶活性。

1.10 统计学处理 使用GraphPad Prism 7.0软件绘图及进行统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验或单因素方差分析。呈偏态分布的计量资料以中位数表示, 组间比较采用秩和检验。计数资料以例数和百分数表示, 组间比较采用 χ^2 检验。生存率的比较采用log-rank检验。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 LINC00342在ccRCC组织及细胞中的表达及其临床意义 GEPIA数据库分析结果显示, 与癌旁组织相比, LINC00342在ccRCC组织中高表达($P < 0.05$), 并且LINC00342高表达的患者总生存率低于低表达的患者($P = 0.0018$, 图1)。qPCR检测结果显示, 与癌旁组织和HK-2细胞相比, LINC00342在ccRCC组织和5种ccRCC细胞系中均呈高表达, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05 , 图2)。LINC00342在ccRCC细胞系786-O和OS-RC-2中表达最高, 因此选择这2种细胞系用于后续实验。根据LINC00342表达的中位数(8.396), 将65例ccRCC患者分为高表达组($n = 32$)和低表达组($n = 33$)。结果显示, LINC00342高表达的ccRCC患者肿瘤直径更大、临床分期更晚(P 均 < 0.05 , 表2)。

2.2 LINC00342对ccRCC细胞增殖、迁移及侵袭的影响 CCK-8实验结果显示, 利用siRNA沉默LINC00342能够抑制786-O和OS-RC-2细胞的增殖能力(P 均 < 0.05 , 图3)。划痕愈合实验结果显示, 沉默LINC00342可使786-O和OS-RC-2细胞的迁移能力减弱(P 均 < 0.05 , 图4)。Transwell实验结果显示, siRNA组786-O和OS-RC-2细胞的侵袭能力低于NC组及空白对照组, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.05 , 图5)。

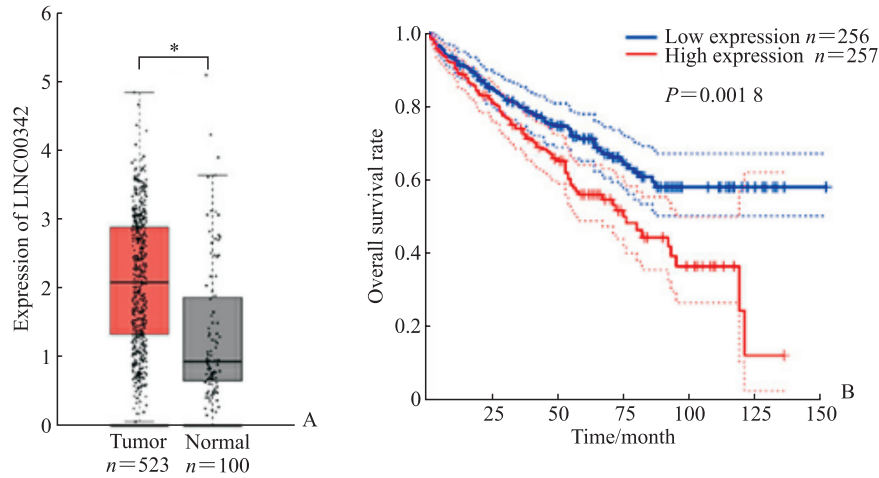


图1 LINC00342 在 ccRCC 组织中的表达及其与患者总生存率的关系

Fig 1 Expression of LINC00342 in ccRCC tissues and its relationship with overall survival rate

A: Expression of LINC00342 in ccRCC tissues and paracancerous normal renal tissues ($P < 0.05$); B: Overall survival rate was decreased in patients with high LINC00342 expression. The data were from the Gene Expression Profiling Interactive Analysis database. LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma.

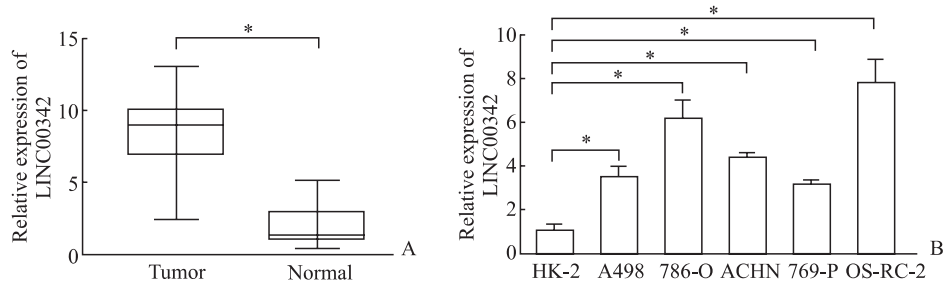


图2 LINC00342 在 ccRCC 组织及细胞系中的表达水平

Fig 2 Expression of LINC00342 in ccRCC tissues and cell lines

A: Expression of LINC00342 in ccRCC tissues and paracancerous normal renal tissues ($P < 0.05$, $n = 65$); B: LINC00342 was highly expressed in 5 kinds of ccRCC cell lines (A498, 786-O, ACHN, 769-P, and OS-RC-2), with the highest expression in 786-O and OS-RC-2 ($P < 0.05$, $n = 3$, $\bar{x} \pm s$). The expression of LINC00342 was detected by quantitative polymerase chain reaction. LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma.

表2 ccRCC 组织中 LINC00342 的表达与患者临床病理学特征之间的关系

Tab 2 Relationship between LINC00342 expression in ccRCC tissues and clinicopathological features of patients

Clinicopathological feature	N	High expression	Low expression	n (%)	P value
Age/year					0.896
≤60	31	15 (48.4)	16 (51.6)		
>60	34	17 (50.0)	17 (50.0)		
Gender					0.694
Male	37	19 (51.4)	18 (48.6)		
Female	28	13 (46.4)	15 (53.6)		
Tumor size/cm					0.044
<4	22	7 (31.8)	15 (68.2)		
≥4	43	25 (58.1)	18 (41.9)		
Robson stage					0.003
I - II	26	7 (26.9)	19 (73.1)		
III - IV	39	25 (64.1)	14 (35.9)		
Lymph node metastasis					0.107
Positive	28	17 (60.7)	11 (39.3)		
Negative	37	15 (40.5)	22 (59.5)		
Distance metastasis					0.492
Positive	23	10 (43.5)	13 (56.5)		
Negative	42	22 (52.4)	20 (47.6)		

ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma; LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342.

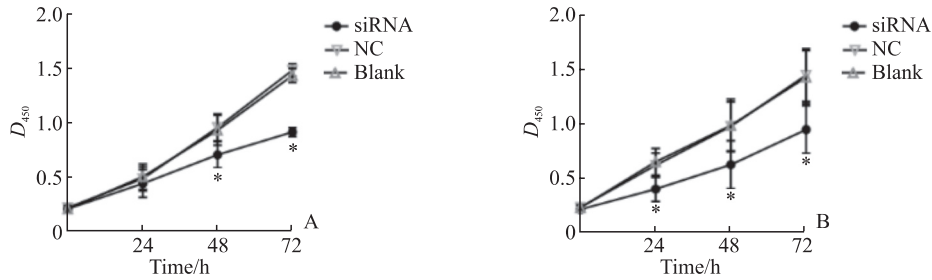


图3 沉默 LINC00342 抑制 ccRCC 细胞增殖

Fig 3 Silencing of LINC00342 inhibits proliferation of ccRCC cells

A: 786-O cells; B: OS-RC-2 cells. * $P < 0.05$ vs NC group and blank group at same time point. $n = 3, \bar{x} \pm s$. The cell proliferation was detected by cell counting kit 8. LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma; siRNA: Small interfering RNA; NC: Negative control.

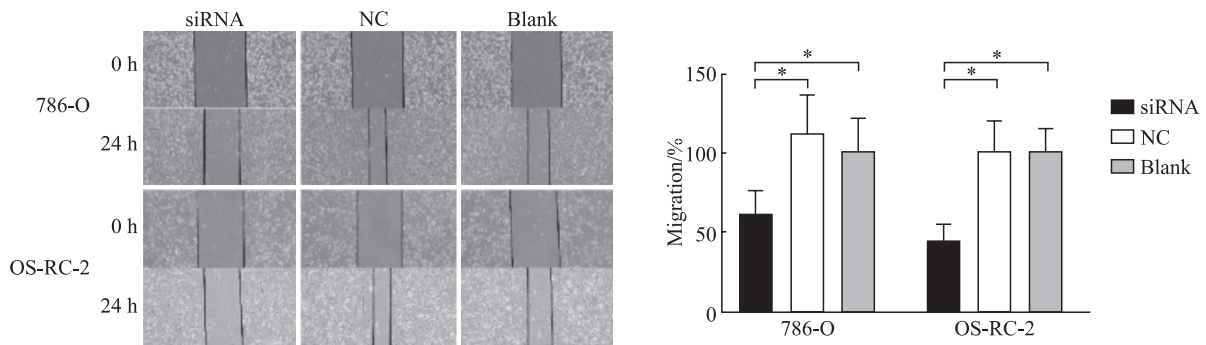


图4 沉默 LINC00342 抑制 ccRCC 细胞的迁移

Fig 4 Silencing of LINC00342 inhibits migration of ccRCC cells

* $P < 0.05$. $n = 3, \bar{x} \pm s$. The cell migration was detected by scratch wound healing assay (40 \times). LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma; siRNA: Small interfering RNA; NC: Negative control.

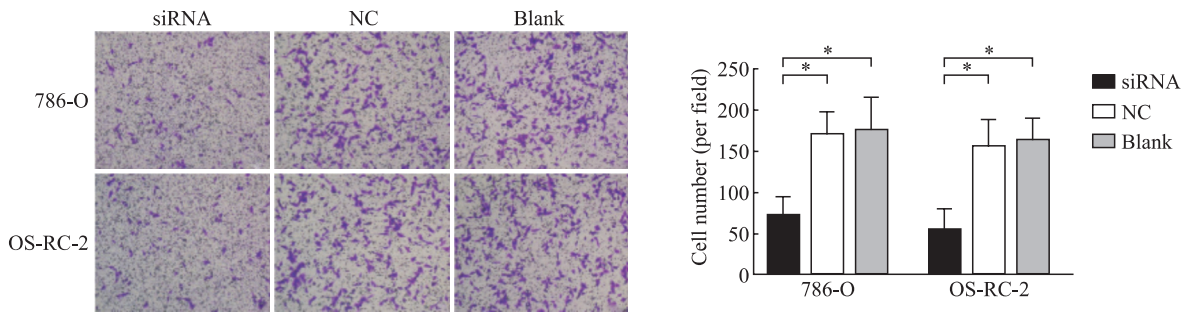


图5 沉默 LINC00342 抑制 ccRCC 细胞的侵袭

Fig 5 Silencing of LINC00342 inhibits invasion of ccRCC cells

* $P < 0.05$. $n = 3, \bar{x} \pm s$. The cell invasion was detected by Transwell assay. Crystal violet staining (200 \times). LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma; siRNA: Small interfering RNA; NC: Negative control.

2.3 LINC00342 对 ccRCC 细胞 EMT 的影响 蛋白质印迹法检测结果显示, 沉默 LINC00342 可使 786-O 和 OS-RC-2 细胞中波形蛋白和神经钙黏素的表达下调, 上皮钙黏素的表达上调 (P 均 < 0.05 , 图 6)。提示 LINC00342 可能通过调节 EMT 进程促进 ccRCC 细胞的迁移及侵袭。

2.4 LINC00342 促进 ccRCC 细胞恶性表型的机制 生物信息学分析结果显示, miRNA-384、miRNA-545-5p 和 miRNA-19a-3p 可能是 LINC00342

的下游靶分子 (图 7A)。qPCR 结果显示, 沉默 LINC00342 可使 786-O 和 OS-RC-2 细胞中 miRNA-384 的表达升高 (P 均 < 0.05 , 图 7B)。双萤光素酶报告基因实验显示, 在 786-O 和 OS-RC-2 细胞中, miRNA-384 mimic 与 LINC00342-WT 共转染后萤光素酶活性均下降 (P 均 < 0.05), 而 miRNA-384 mimic 与 LINC00342-Mut 共转染后萤光素酶活性没有明显下降 (P 均 > 0.05 , 图 7C~7E), 说明 miRNA-384 是 LINC00342 的下游靶分子。

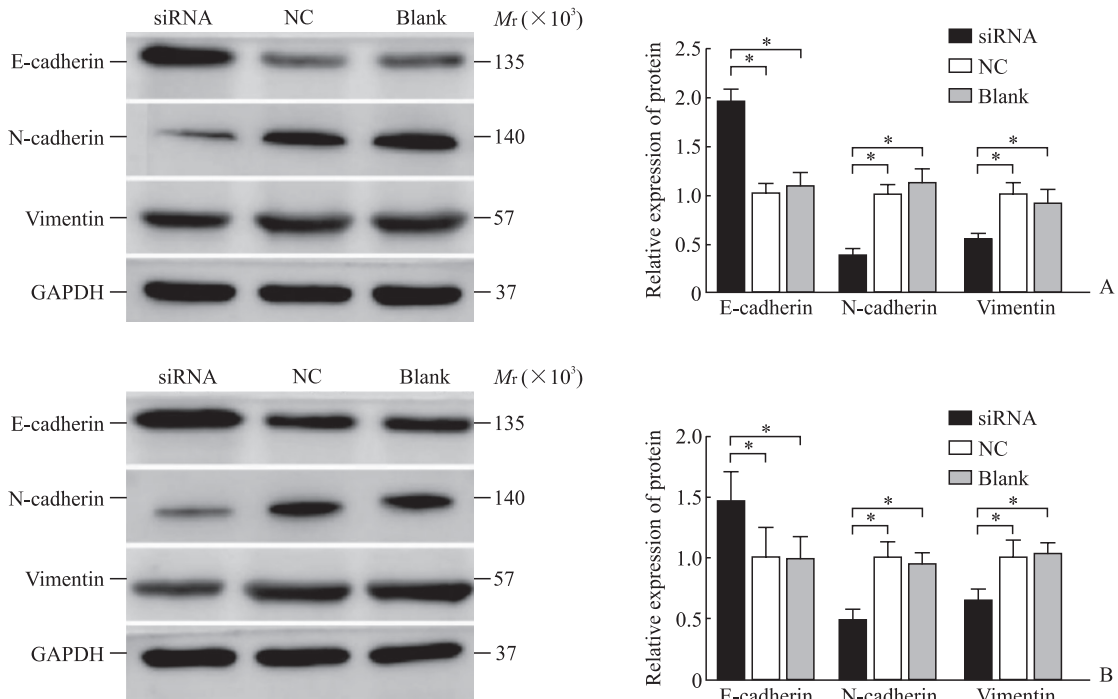


图6 沉默LINC00342抑制ccRCC细胞中EMT相关蛋白的表达

Fig 6 Silencing of LINC00342 inhibits expression of EMT-associated proteins in ccRCC cells

A: 786-O cells; B: OS-RC-2 cells. * $P < 0.05$. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. The expression of proteins was detected by Western blotting. LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; ccRCC: Clear cell renal cell carcinoma; EMT: Epithelial-mesenchymal transition; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; siRNA: Small interfering RNA; NC: Negative control.

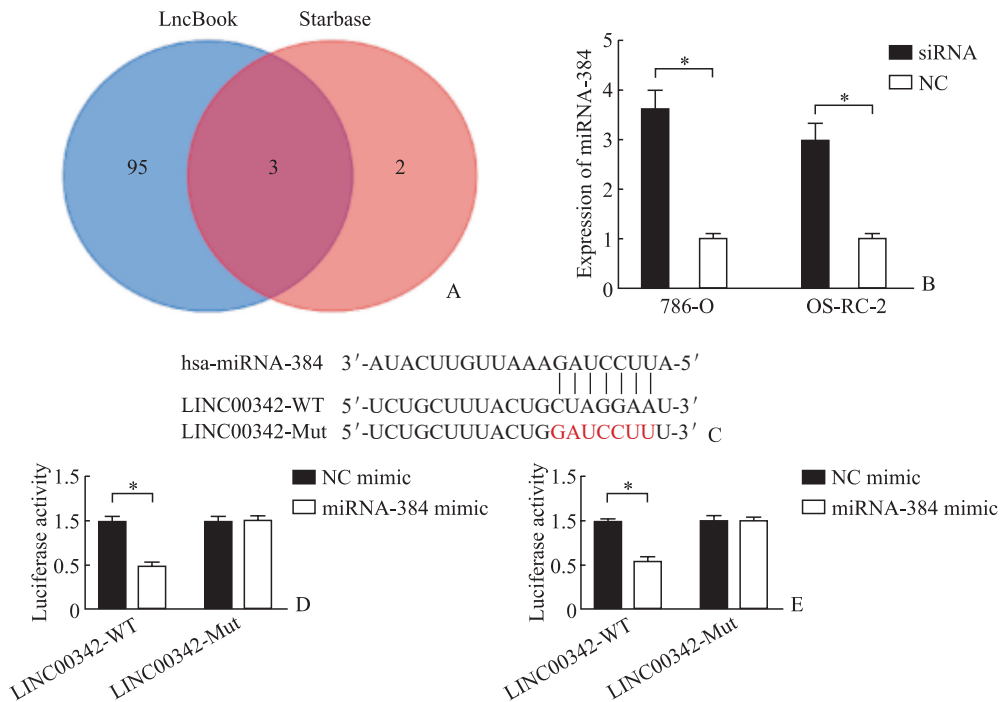


图7 miRNA-384是LINC00342的靶分子

Fig 7 miRNA-384 was a target gene for LINC00342

A: Bioinformatics predicted the downstream target genes of LINC00342; B: Quantitative polymerase chain reaction results showed that silencing of LINC00342 increased the expression of miRNA-384; C: LINC00342 had a binding site to miRNA-384; D, E: Luciferase activity decreased in 786-O (D) and OS-RC-2 (E) cells transfected with LINC00342 WT in combination with miRNA-384 mimic. * $P < 0.05$. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. miRNA: MicroRNA; LINC00342: Long non-coding RNA LINC00342; siRNA: Small interfering RNA; NC: Negative control; hsa: *Homo sapiens*; WT: Wild type; Mut: Mutant.

3 讨论

人类基因组测序结果显示,编码蛋白质的RNA只占一小部分,大部分RNA都是非编码RNA,其中lncRNA由于涉及多种生物学机制并且与多种肿瘤密切相关^[13],各国学者一直热衷于对其进行深入研究。随着靶向治疗的问世,针对肾癌的靶向治疗药物逐渐增多,然而其临床效果目前尚不能令人满意,探索lncRNA在ccRCC中的作用具有至关重要的意义^[14]。本研究在初始阶段对GEPIC数据库中的数据进行了分析,发现LINC00342在ccRCC组织中高表达,并且其高表达与患者生存率降低有关,因此将LINC00342作为研究对象。

本研究采用qPCR检测了65对ccRCC组织及癌旁组织、5种ccRCC细胞系中LINC00342的表达量,发现LINC00342在ccRCC组织及细胞系的表达升高,并且其高表达与肿瘤直径大、临床分期晚有关。为了验证LINC00342在ccRCC中的作用,本研究进行了一系列体外实验,CCK-8实验、划痕愈合实验和Transwell实验结果显示,LINC00342可以促进ccRCC细胞的增殖、迁移及侵袭。既往研究发现LINC00342在非小细胞肺癌中高表达,并且可以促进肺癌细胞的增殖、迁移及侵袭^[11]。LINC00342在大肠癌中不仅具有促进细胞增殖的作用,还可阻断细胞周期、抑制细胞的凋亡^[12,15]。因此,LINC00342可能与肿瘤恶性行为密切相关。

EMT通常是指上皮细胞在经历多种变化后呈现出间质细胞表型,包括迁移能力、侵袭性和抗凋亡能力的增加,以及大量细胞外基质成分的形成^[16]。EMT的特征是上皮标志物下调、间质标志物上调、基底膜降解、细胞向间质迁移^[17]。大多数肿瘤的进展往往伴随着EMT的发生,EMT在恶性肿瘤细胞的侵袭和迁移过程中起着至关重要的作用。多项研究表明,lncRNA可以通过作用于EMT对肿瘤的进展产生影响^[18-19]。本研究中蛋白质印迹法检测结果显示,沉默LINC00342可使ccRCC细胞中波形蛋白和神经钙黏素表达下调、上皮钙黏素表达上调。由此可以推断,LINC00342对ccRCC进展的影响可能与EMT有关。

miRNA-384是一种非编码小RNA,研究表明其参与调控多种恶性肿瘤的发生与发展。miRNA-384在胶质瘤中表达下调,上调其表达能抑

制胶质瘤细胞的增殖并促进凋亡^[20]。miRNA-384还可以抑制非小细胞肺癌细胞增殖^[21]。在ccRCC中,miRNA-384可靶向RAS癌基因家族成员RAB23来抑制细胞的增殖和迁移^[22]。本研究采用双萤光素酶报告基因实验验证了miRNA-384和LINC00342之间的靶向关系,发现miRNA-384是LINC00342的下游靶分子之一,LINC00342对ccRCC细胞恶性表型的调节作用可能是通过靶向miRNA-384而实现的。

本研究的不足之处有以下几点。首先,本研究采集的组织样本量较小,这可能使研究结论的可靠性下降;其次,由于条件有限,本研究没有进行在体实验;最后,本研究没有就miRNA-384发挥作用的下游机制进行深入研究。

综上所述,LINC00342在ccRCC组织中表达上调,且与不良的临床病理学结果相关。LINC00342可以促进ccRCC细胞的恶性表型,miRNA-384是LINC00342的下游靶分子之一。

[参考文献]

- [1] LJUNGBERG B, ALBIGES L, ABU-GHANEM Y, BENSALAH K, DABESTANI S, FERNÁNDEZ-PELLO S, et al. European association of urology guidelines on renal cell carcinoma: the 2019 update[J]. *Eur Urol*, 2019, 75: 799-810.
- [2] MOTZER R J, JONASCH E, MICHAELSON M D, NANDAGOPAL L, GORE J L, GEORGE S, et al. NCCN guidelines insights: kidney cancer, version 2.2020[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17: 1278-1285.
- [3] RINI B I, MCDERMOTT D F, HAMMERS H, BRO W, BUKOWSKI R M, FABAB, et al. Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of renal cell carcinoma[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 81. DOI: 10.1186/s40425-016-0180-7.
- [4] CAO H F, WAHLESTEDT C, KAPRANOV P. Strategies to annotate and characterize long noncoding RNAs: advantages and pitfalls[J]. *Trends Genet*, 2018, 34: 704-721.
- [5] KAIKKONEN M U, ADELMAN K. Emerging roles of non-coding RNA transcription[J]. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43: 654-667.
- [6] CHEN L L, QIAN X L, WANG Z Q, ZHOU X Q. The HOTAIR lncRNA: a remarkable oncogenic promoter in human cancer metastasis[J/OL]. *Oncol Lett*, 2021, 21: 302. DOI: 10.3892/ol.2021.12563.
- [7] GHAFOURI-FARD S, DASHTI S, HUSSEN B M,

- FARSI M, TAHERI M. BCYRN1: an oncogenic lncRNA in diverse cancers[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2021, 220: 153385. DOI: 10.1016/j.prp.2021.153385.
- [8] TAO M M, ZHOU Y, JIN Y C, PU J X. Blocking lncRNA MIR155HG/miR-155-5p/-3p inhibits proliferation, invasion and migration of clear cell renal cell carcinoma[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216: 152803. DOI: 10.1016/j.prp.2019.152803.
- [9] HAMILTON M J, YOUNG M, JANG K, SAUER S, NEANG V E, KING A T, et al. HOTAIRM1 lncRNA is downregulated in clear cell renal cell carcinoma and inhibits the hypoxia pathway[J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 50-58.
- [10] WANG L, CHEN Z H, AN L, WANG Y J, ZHANG Z J, GUO Y H, et al. Analysis of long non-coding RNA expression profiles in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38: 2389-2400.
- [11] CHEN Q F, KONG J L, ZOU S C, GAO H, WANG F, QIN S M, et al. LncRNA LINC00342 regulated cell growth and metastasis in non-small cell lung cancer via targeting miR-203a-3p[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23: 7408-7418.
- [12] MIAO Z H, LIU S Y, XIAO X W, LI D. LINC00342 regulates cell proliferation, apoptosis, migration and invasion in colon adenocarcinoma via miR-545-5p/MDM2 axis[J/OL]. *Gene*, 2020, 743: 144604. DOI: 10.1016/j.gene.2020.144604.
- [13] GROTE P, BOON R A. LncRNAs coming of age[J]. *Circ Res*, 2018, 123: 535-537.
- [14] BROWN L C, DESAI K, ZHANG T, ORNSTEIN M C. The immunotherapy landscape in renal cell carcinoma[J]. *BioDrugs*, 2020, 34: 733-748.
- [15] SHEN P, QU L L, WANG J J, DING Q C, ZHOU C W, XIE R, et al. LncRNA LINC00342 contributes to the growth and metastasis of colorectal cancer via targeting miR-19a-3p/NPEPL1 axis[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21: 105. DOI: 10.1186/s12935-020-01705-x.
- [16] DAS V, BHATTACHARYA S, CHIKKAPUTTAIAH C, HAZRA S, PAL M. The basics of epithelial-mesenchymal transition (EMT): a study from a structure, dynamics, and functional perspective[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 14535-14555.
- [17] KALLURI R, WEINBERG R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119: 1420-1428.
- [18] WANG J C, WANG W, TANG Q L, LU L B, LUO Z J, LI W C, et al. Long non-coding RNA lnc-GNAT1-1 suppresses liver cancer progression via modulation of epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. *Front Genet*, 2020, 11: 1029. DOI: 10.3389/fgene.2020.01029.
- [19] SHEN S, WANG J W, ZHENG B H, NI X J, GAO Z H, ZHANG D X, et al. The lnc-CITED2-2:1 inhibits metastasis via inhibiting CITED2 and epithelial-mesenchymal transition in gallbladder cancer[J/OL]. *Clin Transl Med*, 2020, 10: e116. DOI: 10.1002/ctm2.116.
- [20] TIAN Y H, JIA L W, LIU Z F, CHEN Y H. LINC01087 inhibits glioma cell proliferation and migration, and increases cell apoptosis via miR-384/Bcl-2 axis[J]. *Aging*, 2021, 13: 20808-20819.
- [21] GUO Q, ZHENG M, XU Y, WANG N, ZHAO W. MiR-384 induces apoptosis and autophagy of non-small cell lung cancer cells through the negative regulation of collagen α -1(X) chain gene[J/OL]. *Biosci Rep*, 2019, 39: BSR20181523. DOI: 10.1042/BSR20181523.
- [22] YAN L, WU K, DU F, YIN X, GUAN H. miR-384 suppressed renal cell carcinoma cell proliferation and migration through targeting RAB23[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120: 1420-1426.

[本文编辑] 魏莎莎, 孙岩