

· 临床研究 ·

长链非编码 RNA H19 变异基因型与中国人群肾细胞癌发病风险及预后的相关性研究

邓夏珩¹, 吕 强², 李鹏超^{2*}

¹南京医科大学第一附属医院胸外科, ²泌尿外科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) H19 的 rs2839698、rs217727、rs3741216 和 rs3741219 这 4 个位点的多态性遗传变异对肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 易感性和预后的影响。方法:本研究为自 2004 年 5 月开始的两阶段病例对照研究,共纳入 1 014 例 RCC 患者及 1 063 例健康对照者。其中第一阶段 298 例 RCC 患者具有完整的随访资料。采用 TaqMan 探针法实时聚合酶链反应检测患者外周血的 4 个位点多态性基因分型,通过计算比值比 (odds ratio, OR) 和 95% 置信区间 (confidence interval, CI) 评估 H19 多态性与 RCC 发生风险及临床特征的关系;Kaplan-Meier 曲线评估临床特征与 H19 4 个位点不同基因型的生存状态,采用 COX 回归分析计算不同基因型、TNM 分期及病理分级发生死亡结局的风险比 (hazard ratio, HR) 和 95% CI, 评估影响 RCC 预后的独立危险因素。结果:与 H19 的 rs2839698 CC 基因型相比,CT/TT 基因型人群患 RCC 风险增加 ($P=0.012$, OR=1.13, 95% CI=1.02~1.55)。CT/TT 基因型患者更容易发生大体积肿瘤 ($P=0.003$, OR=1.35, 95% CI=1.10~1.73) 和临床高分期 ($P=0.010$, OR=1.63, 95% CI=1.08~2.21); rs2839698 CT/TT 基因型 RCC 患者的 5 年总生存率明显低于 CC 基因型 RCC 患者 (CT/TT vs. CC; Log-rank $P=0.027$, HR=2.24, 95% CI=1.10~4.59)。结论:H19 rs2839698 位点基因变异同 RCC 易感性和生存相关,其具体的功能影响仍需进一步研究验证。

[关键词] 肾细胞癌;基因变异;H19;易感性;生存

[中图分类号] R737.11

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)11-1607-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20211107

Association study of genetic variant in long non-coding RNA H19 and renal cell carcinoma susceptibility and prognosis in Chinese population

DENG Xiaoheng¹, LYU Qiang², LI Pengchao^{2*}

¹Department of Thoracic, ²Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to clarify the effects of H19 genetic variant rs2839698, rs217727, rs3741216 and rs3741219 on renal cell carcinoma (RCC) susceptibility and prognosis. **Methods:** We conducted this two-stage case-control study with a total of 1 014 RCC cases and 1 063 controls since May 2004. Total 298 RCC cases in the first stage had complete follow-up data available. Genotyping was performed using TaqMan real-time polymerase chain reaction assays. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated to evaluate the association between H19 polymorphism and RCC risk and clinical characteristics. Kaplan-Meier method was utilized to assess the survival of H19 polymorphisms. Hazard ratio (HR) and 95% CI were calculated by COX regression model to discover whether genotypes, TNM and grade were the independent prognostic factors. **Results:** Compared with the H19 rs2839698 CC genotype, the variant genotypes (CT/TT) were significantly associated with increased risk of RCC ($P=0.012$, OR=1.13, 95% CI=1.02-1.55). Besides, patients with variant genotypes (CT/TT) were more likely to develop large tumor ($P=0.003$, OR=1.35, 95% CI=1.10-1.73) and advanced disease ($P=0.010$, OR=1.63, 95% CI=1.08-2.21); and had a significantly unfavorable 5-year survival than those with the rs2839698 CC genotype (CT/TT vs. CC; Log-rank $P=0.027$, HR=2.24, 95% CI=1.10-4.59). **Conclusion:** The results suggested that H19 rs2839698 variant may be a genetic predictor of susceptibility and mortality of RCC. The precise

[基金项目] 国家自然科学基金(81772111);南京市卫生科技发展专项(YKK19146)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: supeokulian@aliyun.com

functional impact of the variant on H19 still needs further experimental validation.

[Key words] renal cell carcinoma; genetic variant; H19; susceptibility; survival

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(11): 1607-1613]

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是肾癌的主要类型,分别占男性和女性所有恶性肿瘤的5%和3%^[1-2],其中高达17%的患者在诊断时出现转移,其余30%的患者甚至在手术治疗后也会出现转移^[3-4],总体预后较差。肾癌的发生是一个复杂的过程,涉及环境和遗传因素之间的相互作用^[5]。近年来,基因变异已被广泛研究并证明影响RCC的易感性、进展和预后^[6-7]。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200个核苷酸的內源性细胞核糖核酸,缺乏蛋白质编码能力^[8],越来越多的证据表明lncRNA在各种癌症的发生和发展中起到至关重要的作用^[9]。lncRNAH19是一种父系印记基因,位于人类染色体11p15.5上^[10],通过调节miRNA功能及介导DNA甲基化参与重要的生物学和病理学过程^[11]。H19与胰岛素样生长因子2(insulin like growth factor 2, IGF-2)基因密切相关,该基因也位于受甲基化印记影响的区域,参与胎儿的正常生长和发育^[12],同时也在癌症的发生发展中发挥功能^[13]。研究表明H19异常表达与多种恶性肿瘤包括膀胱癌、乳腺癌、食管癌及肾细胞癌的发生相关^[14]。Wang等^[15]研究发现,H19在RCC肿瘤组织中高表达,并与肿瘤分期、淋巴结转移及远处转移有关,且H19表达是RCC患者临床预后的独立预测因子。新近研究一致表明H19基因多态性与各种癌症发病风险及预后相关,包括胃癌^[16]、结直肠癌^[17]、膀胱癌^[18]和乳腺癌^[19]等。最近一项荟萃分析表明,H19 rs2839698与胃肠癌风险增加有关^[20]。鉴于H19在RCC发生发展中的关键作用,其基因变异可能与RCC发病及预后相关。然而目前并没有研究探讨此类问题,因此本研究选择H19最被广泛研究的4个多态性:rs2839698、rs217727、rs3741216和rs3741219,并在一项两阶段病例对照研究中评估其与RCC风险及预后的关系。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究始于2004年5月,得到南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准。所有入组者均为汉

族,无血缘基因联系。所有患者均经组织病理学证实患RCC,既往接受过化疗、放疗或有其他类型恶性肿瘤的患者被排除在本研究之外。根据WHO标准及TNM系统进行分级,分为局部(I期和II期)及晚期(III期和IV期)RCC。对照组为门诊体检患者,并按照性别和年龄(± 5 岁)进行频率匹配,排除与患者有遗传关联或有癌症病史的患者。本研究设计为两个阶段:实验组于2004年5月—2009年10月共纳入342例RCC患者和361例对照,每6个月在门诊随访患者,终点为患者死亡或丢失访。其中44例(12.9%)患者缺少足够的随访信息被排除,最长随访时间为72.0个月,中位随访时间为25.1个月。验证组至今共纳入672例RCC患者和702例对照。所有患者信息均通过标准问卷调查获得,获得知情同意后,捐献5 mL静脉血。本研究对1 014例RCC患者及1 063例健康对照4种基因多态性的多种组合进行分型与分析。

1.2 方法

1.2.1 多态性选择

使用UCSC网站(<http://genome.ucsc.edu/>)对位于人染色体11p15.5(位置20164062021693)H19基因及其启动子中的基因多态性进行鉴定,在千人基因组计划的东亚人群中以定位等位基因频率 >0.05 为标准。本研究最终选择并研究rs2839698、rs217727、rs3741216和rs3741219 4个标记多态性。

1.2.2 DNA提取和基因分型

通过蛋白酶K消化及氯仿从外周血中提取基因组DNA,4种多态性基因分型使用预先设计的Taq-Man SNP基因分型试剂盒(Applied Biosystems公司,美国)进行分析,每个单核苷酸多态性的引物和探针序列可根据要求提供(表1)。在384孔ABI 7900HT实时聚合酶链反应系统中进行扩增和分析,使用SDS 2.3软件进行等位基因鉴别。每个平板内均包括质控品,以确保基因分型的准确性。随机选择约10%的样本进行重复基因分型,结果100%一致。

1.3 统计学方法

基因突变的等位基因频率在分析前使用拟合优度 χ^2 检验检测是否偏离Hardy-Weinberg平衡,采用Student's *t*检验(连续变量)和 χ^2 检验(分类变量)

表1 基因多态性的引物与探针序列
Table 1 Primers and probe sequences of polymorphisms

多态性	引物序列(5'→3')	探针序列(MGB)
rs2839698 C>T	F:CATCGTCCCCAGCTGATGTC	C:FAM-CTGGGCGCCTACT
	R:GGAGTGATGACGGGTGGAG	T:HEX-CCTGGGCACCTAC
rs3741219 T>C	F:CGAGTGTGCGTGAGTGTGAG	T:HEX-AAGTGCCTGTGCAGG
	R:TAATGGAATGCTTGAAGGCTGCTC	C:FAM-AGTGCCTGCGCAGG
rs217727 C>T	F:CAAAGAGACAGAAGGATGAAAAAGAA	C:FAM-TCAACCGTCCGCCG
	R:CGGCGACTCCATCTTCATG	T:HEX-TCAACCGTCCACCG
rs3741216 A>T	F:GCCTCCACGACTCTGTTTCC	A:HEX-CCCTTCTGAATTTAA
	R:CACAACTCCAACCACTGCAAA	T:FAM-CCCTTCTGAATTTTAT

评估病例和对照组之间的人口统计学特征、特定变量及基因型频率分布的差异。基于 Benjamin-Hochberg 方法对 4 组单核苷酸多态性的多重 P 值比较进行 FDR 矫正,当 FDR 矫正后的 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。H19 多态性与 RCC 风险和肿瘤特征的关系通过计算 OR 值和 95% 置信区间(95%CI)进行评估。生存时间为 RCC 诊断时至死亡或最后一次随访日期,Kaplan-Meier 曲线评估临床特征与 H19 不同基因型的生存状态。采用 COX 回归分析计算 HR 值和 95%CI 评估影响 RCC 预后的独立危险因素。所有分析均使用 SAS 9.1.3, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RCC 患者及健康对照的临床特征

所有纳入研究的 RCC 患者及健康对照的特征分布见表 2。其中,病例组与对照组在年龄、性别和饮酒状况方面无显著差异($P > 0.05$),病例组中吸烟者、高血压患者与糖尿病患者多于对照组(分别为 $P=0.021$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$)。65.7% 的患者临床分期处于 I 期,而 19.2% 的患者处于 II 期,6.9% 和 8.2% 的患者分别位于 III 和 IV 期。21.4%、51.4%、20.6% 和 6.6% 的患者病理分级分别为 I 至 IV 级。

2.2 H19 基因多态性与 RCC 发病风险的关系

H19 rs2839698、rs217727、rs3741216 和 rs3741219 基因多态性与 RCC 发病风险的关系见表 3,对照组 4 种多态性的基因型频率均符合 HWE($P > 0.05$)。病例组与对照组中 rs2839698 基因型分布显著不同($P=0.003$),经多次比较后仍保持显著性(FDR=0.013)。与携带 rs2839698 CC 基因型的个体相比,携带 rs2839698 变异 TT 基因型的个体与显著增加的 RCC 发病风险相关($P=0.005$, OR=1.37, 95% CI=1.34~3.02)。采用隐性遗传模型,结合 CT/TT 基因型,与 rs2839698CC 基因型相比,RCC 风险也显著增

表2 肾细胞癌患者与健康对照的特征分布
Table 2 Characteristic distribution of patients with renal cell carcinoma and healthy controls

特征	病例组 (n=1 014)	对照组 (n=1 063)	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	57.2 \pm 11.8	55.6 \pm 13.8	0.377
性别[n(%)]			0.280
男性	637(62.8)	692(65.1)	
女性	377(37.2)	371(34.9)	
吸烟状态[n(%)]			0.021
从未吸烟	634(62.5)	716(67.4)	
既往吸烟	380(37.5)	347(32.6)	
饮酒状态[n(%)]			0.804
从未饮酒	743(73.3)	784(73.8)	
既往饮酒	271(26.7)	279(26.2)	
高血压[n(%)]			<0.001
否	615(60.7)	779(73.3)	
是	399(39.3)	284(26.7)	
糖尿病[n(%)]			<0.001
否	879(86.7)	1 002(94.3)	
是	135(13.3)	61(5.7)	
临床分期[n(%)]			—
I	666(65.7)	—	
II	195(19.2)	—	
III	70(6.9)	—	
IV	83(8.2)	—	
病理分级[n(%)]			—
I	217(21.4)	—	
II	521(51.4)	—	
III	209(20.6)	—	
IV	67(6.6)	—	
病理类型[n(%)]			—
透明细胞癌	894(88.2)	—	
乳头状细胞癌	56(5.5)	—	
嫌色细胞癌	64(6.3)	—	

加($P=0.012$, OR=1.13, 95% CI=1.02~1.55)。但未发

表 3 H19 基因多态性在病例组与对照组中的分布频率及其与 RCC 风险的关系

Table 3 Frequencies of H19 polymorphisms of the cases and controls as well as the linkage with the risk of RCC [n(%)]

基因分型	病例组(n=1 014)	对照组(n=1 063)	P 值*	FDR	调整 OR(95%CI)*
rs2839698					
CC	511(50.4)	605(56.9)	0.003	0.013	1.00
CT	431(42.5)	413(38.9)	0.090		1.07(0.88~1.31)
TT	72(7.1)	45(4.2)	0.005		1.37(1.34~3.02)
CT/TT	503(49.6)	458(43.1)	0.012		1.13(1.02~1.55)
rs217727					
CC	346(34.1)	332(31.2)	0.162	0.502	1.00
CT	490(48.3)	540(50.8)	0.826		0.77(0.61~1.02)
TT	178(17.6)	191(18.0)	0.388		0.83(0.65~1.09)
CT+TT	668(65.9)	731(68.8)	0.160		0.81(0.64~1.01)
rs3741216					
AA	724(71.4)	780(73.4)	0.193	0.508	1.00
AT	260(25.6)	245(23.0)	0.254		1.05(0.72~1.17)
TT	30(3.0)	38(3.6)	0.516		0.69(0.51~1.18)
AT+TT	290(28.6)	283(26.6)	0.469		1.06(0.87~1.26)
rs3741219					
TT	548(54.0)	556(52.3)	0.679	0.582	1.00
TC	385(38.0)	406(38.2)	0.310		0.95(0.66~1.12)
CC	81(8.0)	101(9.5)	0.199		0.83(0.62~1.18)
TT+CC	466(46.0)	507(47.7)	0.427		0.92(0.86~1.03)

*: 双侧卡方检验; #: 调整因素包括年龄、性别、吸烟、饮酒、糖尿病和高血压。

现其他多态性与 RCC 发病风险的证据,结果表明 H19 rs2839698 基因多态性可能赋予个体 RCC 的遗传易感性。

2.3 H19 rs2839698 基因多态性对 RCC 患者临床病理特征的影响

探究 rs2839698 基因型与病例组中 RCC 肿瘤大小、临床分期及病理分级之间的关系,以评估 H19 rs2839698 基因多态性对 RCC 疾病进展的影响。如表 4 所示,未观察到 rs2839698 基因型与病理分级之

间的显著关联;然而,rs2839698 CT/TT 基因型在肿瘤大小超过 4 cm 及临床晚期患者中更常见(CT/TT vs. CC: $P=0.003$, $OR=1.35$, $95\% CI=1.10\sim1.73$; $P=0.010$, $OR=1.63$, $95\% CI=1.08\sim2.21$)。结果表明,与 rs2839698 CC 基因型患者相比,CT/TT 基因型患者更可能出现临床高分期。

2.4 H19 rs2839698 基因多态性对 RCC 患者生存的影响

前阶段结果证明 rs2839698 基因多态性与 RCC

表 4 H19 rs2839698 基因多态性与 RCC 患者临床病理特征的关系

Table 4 H19 rs2839698 polymorphism association with clinicopathological features of RCC patients [n(%)]

特征	CC(n=511)	CT/TT(n=503)	P 值*	调整 OR(95%CI)*
肿瘤大小				
≤4 cm	265(55.3)	214(44.7)	0.003	1.00
>4 cm	246(46.0)	289(54.0)		1.35(1.10~1.73)
病理分级				
I + II	382(51.6)	358(48.4)	0.199	1.00
III + IV	129(47.1)	145(52.9)		1.31(0.83~1.51)
临床分期				
I + II	449(52.1)	413(47.9)	0.010	1.00
III + IV	62(40.8)	90(59.2)		1.63(1.08~2.21)

*: 双侧卡方检验; #: 调整因素包括年龄、性别、吸烟、饮酒、糖尿病和高血压。

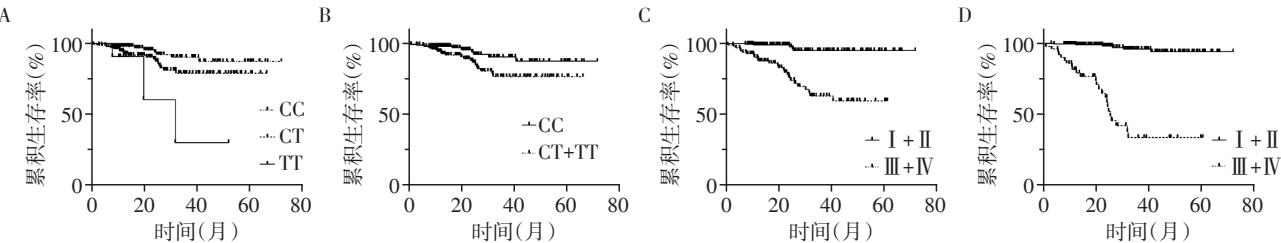
进展相关,采用Log-Rank 检验及Kaplan-Meier 分析评估rs2839698 基因多态性与RCC 患者生存之间的关系。rs2839698 基因多态性与RCC 患者生存显著相关(Log-rank $P=0.007$,表5)。与携带rs2839698 CC 基因型的患者相比,携带rs2839698 TT 或CT/TT 基因型的患者RCC 生存较差(HR=4.35,95%CI=1.65~16.92;HR=2.24,95%CI=1.10~4.59)。然而,在其他多态性和RCC 生存之间仍然没有发现显著的关联证据。随后,对RCC 患者生存进行单因素与多

因素COX 分析(表5 及图1),单因素分析显示临床分期、病理分级和H19 rs2839698(隐性遗传模型:CT/TT vs. CC)与肾细胞癌生存相关;在多因素分析中,临床分期是影响RCC 生存的最主要预测因子,其次是病理分级($P < 0.001$,HR=15.51,95%CI=5.94~40.42; $P < 0.001$,HR=4.89,95%CI=2.58~10.85)。有趣的是,H19 rs2839698(CT/TT vs. CC)也是RCC 生存的独立预测因子($P=0.027$,HR=2.24,95%CI=1.10~4.59)。

表5 H19 rs2839698 基因多态性与RCC 患者生存的关系
Table 5 H19 rs2839698 polymorphism association with survival of RCC patients

多态性	病例(<i>n</i> =298) [#]	死亡(<i>n</i> =30)	5 年生存率 (%)	Log-Rank <i>P</i> 值	HR(95%CI) [*]
rs2839698					
CC	153	9	87.5	0.007	1.00
CT	134	18	79.1		1.98(0.96~4.11)
TT	11	3	30.3		4.35(1.65~16.92)
CT+TT	145	21	76.6	0.027	2.24(1.10~4.59)
病理分级					
I + II	201	5	94.9	<0.001	1.00
Ⅲ+Ⅳ	97	25	59.3		4.89(2.58~10.85)
临床分期					
I + II	246	6	94.1	<0.001	1.00
Ⅲ+Ⅳ	52	24	33.6		15.51(5.94~40.42)

*:调整因素包括年龄,性别,吸烟、饮酒、糖尿病和高血压。#:纳入病例为第一阶段病例组具有定量随访信息的患者。



A、B:Kaplan-Meier 分析显示H19 rs2839698 不同基因型间的RCC 总体生存差异;C:不同病理分级(I + II vs. III+IV)间的RCC 总体生存差异;D:不同临床分期(I + II vs. III+IV)间RCC 总体生存的差异。

图1 H19 rs2839698 基因多态性对RCC 患者生存的影响
Figure 1 Effects of H19 rs2839698 polymorphism on survival of RCC patients

3 讨论

本研究探讨了H19 基因多态性与中国人肾RCC 易感性及预后之间的关系,结果表明H19 rs2839698 变异基因型与RCC 风险增加相关,且rs2839698 变异基因型与较大的肿瘤和晚期RCC 有关;在多变量分析中,它与临床分期和病理分级均是患者生存的独立预后预测因子。
lncRNA H19 位于染色体11p15.5,作为癌基因参与恶性肿瘤的发生和转移过程^[21]。H19 属于高度

保守的印记基因,存在3 种转录变体,分别包含5 个外显子和4 个内含子,通过调节RNA 及核糖体参与炎症发生、血管形成、细胞凋亡及死亡等进展^[22-23]。生物信息学研究表明,脑缺血发生时H19 的关联基因主要富集于甲基化、基因印记、RNA 折叠及DNA 转录^[24]。中国人研究显示,H19 基因高表达与乳腺癌发生风险呈正相关,且在ER(+)及HER2(+)患者中差异表达更为明显^[25]。研究表明,H19 在肾肿瘤中的表达水平明显高于临近的正常组织,且高表达与临床分期级别高及预后较差明显相关^[15];He

等^[26]表明H19在肾癌中高度表达,通过miR-29a-3p/E2F1途径参与RCC的转移和侵袭。越来越多的证据表明,基因变异在癌症易感性和预后中起重要作用,H19基因多态性也在各种恶性肿瘤中被广泛研究。Ge等^[27]研究表明rs217727 GG基因型携带者在肝细胞癌中H19的表达远高于GA及AA基因型携带者,表明17727G>A突变可能调控H19表达。结果与我们一致,都表明rs2839698突变基因是胃癌^[20]、结直肠癌^[17]和肝癌^[28]的独立危险因素。Yang等^[28]发现H19 rs2839698变异基因型不仅增加了肝癌风险,而且也是吸烟亚组肝癌预后的潜在遗传预测因子,另外也发现H19 rs2839698CT基因型的患者预后不良。一项大型多肿瘤Meta分析显示rs2839698变异基因型在亚洲人群中与肿瘤风险增加相关,而在高加索人群中与肿瘤风险降低相关^[29]。本研究结果和既往其他肿瘤中的研究发现基本一致,首先两阶段病例对照研究分析发现H19 rs2839698位点的突变等位基因T是肾癌的发病危险因素,与野生基因型携带者相比较,携带TT基因型的个体肾癌发病风险增加了1.37倍。此外,在患者群的分层分析中发现,突变基因型携带患者更易罹患较大肿瘤以及临床高分期肾癌,风险分别为野生型患者的1.35倍、1.63倍,总体死亡风险为野生型患者的4.35倍。大量研究证实H19是促癌基因,如前所述,其不仅在肾癌中高表达,参与肾癌的发生发展,在其他多种肿瘤中,H19也具有类似作用。因此,我们推测H19 rs2839698位点的突变等位基因T具有潜在的生物学功能,其可能通过调控H19的表达甚至功能而影响到肾癌的易感性、进展以及患者预后。

新近研究表明基因变异可能通过改变DNA及RNA的二级结构来发挥作用^[30],影响miRNA与特定区域的结合亲和力。研究表明,LINC00673中rs11655237处的G>A变化可以为miR1231产生一个靶向位点,以一种特殊的等位基因方式削弱了LINC00673的作用,增加胰腺癌易感性^[31]。结直肠癌研究也表明MALAT1中rs664589的等位基因C>G改变,改变了miR-195-5p与突变区的结合亲和力,导致MALAT1表达增加,促进结直肠癌的生长和转移^[32]。SNPfold预测H19的二级结构随着rs2839698 C/T等位基因突变发生改变,表明rs2839698突变可能通过改变H19的二级结构来影响RCC的易感性和预后。此外,H19 rs2839698多态性位点位于H19基因的3'UTR区域,可能通过改变相关miRNA和H19 3'UTR区域的结合而影响H19的表达和功能。生物

信息学预测发现(<http://bioinfo.life.hust.edu.cn/lnc-rNASNP/>),H19 rs2839698位点等位基因从C突变为T时,可能会导致hsa-miR-24-1-5p、hsa-miR-4486、hsa-miR-566以及hsa-miR-24-2-5p等结合失常,但是产生了hsa-miR-612、hsa-miR-5189、hsa-miR-1285-3p以及hsa-miR-3187-5p的结合位点。我们推测,H19 rs2839698位点突变可能导致了miRNA结合状态的变化而影响其表达,进一步参与到肾癌的发展和预后。在上述这些miRNA中,hsa-miR-566被报道在肾癌组织和细胞中高表达,并参与了肾癌细胞的侵袭行为^[33]。因此,H19 rs2839698是否和hsa-miR-566共同参与肾癌的发生发展,可能是未来的一个研究方向。

本研究也有一定局限性。首先,目前的病例对照研究是基于医院就诊人群,而不是基于总体人群,因此,不能排除特定基因型相关的个体存在选择偏差的可能性。此外,我们仅初步探讨H19 rs2839698基因型突变与RCC发病和预后的关系,仍需深入研究其对上下游基因及ncRNA功能影响的具体机制。本研究优势在于采用了两阶段的设计,在一阶段研究关联性分析中发现的结果,进一步在二阶段的研究中得到验证,可以在一定程度上排除因群体选择带来的偏倚;此外,本研究的发现结合生物信息学预测结果,推测hsa-miR-566可能与H19 rs2839698变异有关,为将来深入的功能研究提供了方向。

综上所述,中国汉族人群lncRNA H19 rs2839698变异与RCC患者发病率及远期预后密切相关,可能是RCC易感性和生存的遗传预测因子,但具体作用机制仍需进一步验证。

[参考文献]

- [1] FAN Z Y, HUANG Z H, HUANG X H. Bone metastasis in renal cell carcinoma patients: risk and prognostic factors and nomograms[J]. J Oncol, 2021, 2021: 5575295
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34
- [3] KANESVARAN R, LE SAUX O, MOTZER R, et al. Elderly patients with metastatic renal cell carcinoma: position paper from the International Society of Geriatric Oncology [J]. Lancet Oncol, 2018, 19(6): e317-e326
- [4] 刘边疆,唐敏,邵鹏飞,等. 序贯阻断血管法在伴有Ⅲ级以上腔静脉癌栓的肾癌手术中的应用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(2): 247-249
- [5] PADALA S A, BARSOUK A, THANDRA K C, et al. Epidemiology of renal cell carcinoma [J]. World J Oncol, 2020, 11(3): 79-87

- [6] MOLNAR A, YUSENKO M V, KOVACS G, et al. The role of genetic analysis in correct diagnosis of eosinophilic variant of chromophobe renal cell carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(12):6863-6867
- [7] TSAI Y C, HUANG C Y, HSUEH Y M, et al. Genetic variants in MAPK10 modify renal cell carcinoma susceptibility and clinical outcomes[J]. *Life Sci*, 2021, 275:119396
- [8] WANG X, OU H, ZHOU L, et al. Long non-coding RNA LUCAT1 promotes the progression of clear cell renal cell carcinoma via the microRNA - 375/YAP1 axis [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1):754
- [9] ZHANG M, GAO F, YU X, et al. LINC00261: a burgeoning long noncoding RNA related to cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):274
- [10] GABORY A, JAMMES H, DANDOLO L. The H19 locus: role of an imprinted non-coding RNA in growth and development[J]. *Bioessays*, 2010, 32(6):473-480
- [11] ALIPOOR B, PARVAR S N, SABATI Z, et al. An updated review of the H19 lncRNA in human cancer: molecular mechanism and diagnostic and therapeutic importance [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(8):6357-6374
- [12] MUHAMMAD T, LI M, WANG J, et al. Roles of insulin-like growth factor II in regulating female reproductive physiology[J]. *Sci China Life Sci*, 2020, 63(6):849-865
- [13] WERNER H, SARFSTEIN R, LARON Z. The role of nuclear insulin and IGF1 receptors in metabolism and cancer[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(4):531
- [14] GHAFOURI-FARD S, ESMAEILI M, TAHERI M. H19 lncRNA: roles in tumorigenesis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123:109774
- [15] WANG L, CAI Y, ZHAO X, et al. Down-regulated long non-coding RNA H19 inhibits carcinogenesis of renal cell carcinoma[J]. *Neoplasma*, 2015, 62(3):412-418
- [16] YANG C, TANG R, MA X, et al. Tag SNPs in long non-coding RNA H19 contribute to susceptibility to gastric cancer in the Chinese Han population [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17):15311-15320
- [17] LI S, HUA Y, JIN J, et al. Association of genetic variants in lncRNA H19 with risk of colorectal cancer in a Chinese population[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18):25470-25477
- [18] HUA Q, LV X, GU X, et al. Genetic variants in lncRNA H19 are associated with the risk of bladder cancer in a Chinese population[J]. *Mutagenesis*, 2016, 31(5):531-538
- [19] FANALE D, AMODEO V, CORSINI L R, et al. Breast cancer genome-wide association studies: there is strength in numbers[J]. *Oncogene*, 2012, 31(17):2121-2128
- [20] HASHEMI M, MOAZENI-ROODI A, SARABANDI S, et al. Association between genetic polymorphisms of long noncoding RNA H19 and cancer risk: a meta-analysis [J]. *J Genet*, 2019, 98(3):1-11
- [21] GHAFOURI-FARD S, SHOOREI H, BAHROUDI Z, et al. The role of H19 lncRNA in conferring chemoresistance in cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138:111447
- [22] YOSHIMURA H, MATSUDA Y, YAMAMOTO M, et al. Expression and role of long non-coding RNA H19 in carcinogenesis [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018, 23:614-625
- [23] 朱 萌, 高 伟, 赵 珊, 等. 长链非编码RNA H19基因多态性与早发冠心病患者易感性研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(5):670-673
- [24] BAO M H, SZETO V, YANG B B, et al. Long non-coding RNAs in ischemic stroke[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):281
- [25] LIN Y, FU F, CHEN Y, et al. Genetic variants in long non-coding RNA H19 contribute to the risk of breast cancer in a southeast China Han population[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10:4369-4378
- [26] HE H, WANG N, YI X, et al. Long non-coding RNA H19 regulates E2F1 expression by competitively sponging endogenous miR-29a-3p in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cell Biosci*, 2017, 7:65
- [27] GE L, WANG Q, HU S, et al. Rs217727 polymorphism in H19 promotes cell apoptosis by regulating the expressions of H19 and the activation of its downstream signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):7279-7291
- [28] YANG ML, HUANG Z, WANG Q, et al. The association of polymorphisms in lncRNA - H19 with hepatocellular cancer risk and prognosis [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5):BSR20171652
- [29] LIU C, CHEN L, YOU Z, et al. Association between lncRNA H19 polymorphisms and cancer susceptibility based on a meta-analysis from 25 studies[J]. *Gene*, 2020, 729:144317
- [30] SAHA A, NANAVATY V P, LI B. Telomere and subtelomere R-loops and antigenic variation in trypanosomes[J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(15):4167-4185
- [31] ZHENG J, HUANG X, TAN W, et al. Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation[J]. *Nat Genet*, 2016, 48(7):747-757
- [32] WU S, SUN H, WANG Y, et al. MALAT1 rs664589 polymorphism inhibits binding to miR-194-5p, contributing to colorectal cancer risk, growth, and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(20):5432-5441
- [33] PAN X, QUAN J, LI Z, et al. miR-566 functions as an oncogene and a potential biomarker for prognosis in renal cell carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102:718-727

[收稿日期] 2021-07-07