



· 论 著 ·

长链非编码RNA ARAP1-AS1在肾透明细胞癌中的表达及作用研究

雷坤阳¹, 谢文杰¹, 孙庭¹, 刘贻富¹, 王旭²1. 南昌大学第一附属医院泌尿外科, 江西 南昌 330006 ;
2. 南昌大学第一附属医院病理科, 江西 南昌 330006

[摘要] 背景与目的: 长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) ARAP1-AS1在多种肿瘤中异常表达, 但在肾透明细胞癌 (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 中的作用尚不清楚。探讨ARAP1-AS1在ccRCC中的生物学作用。方法: 通过GEPIA数据库分析ARAP1-AS1在ccRCC组织中的表达及其与临床病理学特征及患者生存率的关系。采用实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 检测ccRCC组织及邻近的非肿瘤组织中ARAP1-AS1的表达水平。将患者分为ARAP1-AS1高表达组和低表达组, 分析ARAP1-AS1的表达水平与患者临床病理学特征之间的关系, 并进行生存分析。通过细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 实验、transwell迁移实验及侵袭实验检测ARAP1-AS1对ccRCC细胞体外增殖、迁移及侵袭能力的影响。采用蛋白质印迹法 (Western blot) 检测Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白表达变化。采用BALB/c裸小鼠移植瘤模型分析ARAP1-AS1对ccRCC细胞体内成瘤能力的影响。结果: GEPIA数据库分析结果显示, ARAP1-AS1在ccRCC中高表达, 且与患者肿瘤高分期及较差的生存率相关 (P 均 <0.05)。RTFQ-PCR显示, ARAP1-AS1在ccRCC组织及细胞系中高表达, ARAP1-AS1的高表达与肿瘤大小和分期相关 (P 均 <0.05)。ARAP1-AS1高表达患者的总生存率较差 ($P < 0.05$)。沉默ARAP1-AS1的表达可以抑制ccRCC细胞增殖、迁移和侵袭 (P 均 <0.05)。沉默ARAP1-AS1可以降低Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白的表达水平 (P 均 <0.05)。沉默ARAP1-AS1可使ccRCC细胞体内成瘤能力减弱, 并使Ki-67增殖指数降低。结论: ARAP1-AS1可通过激活Wnt/ β -catenin信号通路促进ccRCC的进展。

[关键词] 肾透明细胞癌; ARAP1-AS1; Wnt/ β -catenin

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.01.004

中图分类号: R737.11 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2022)01-0034-07

Expression and effect of long non-coding RNA ARAP1-AS1 in clear cell renal cell carcinoma LEI Kunyang¹, XIE Wenjie¹, SUN Ting¹, LIU Yifu¹, WANG Xu² (1. Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China; 2. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China)

Correspondence to: XIE Wenjie E-mail: doctorxiewenjie@163.com

[Abstract] **Background and purpose:** Long non-coding RNA (lncRNA) ARAP1-AS1 is abnormally expressed in a variety of tumors, but its role in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is unknown. This study aimed to explore the biological role of ARAP1-AS1 in ccRCC. **Methods:** The expression level of ARAP1-AS1 in ccRCC tissues and its relationship to patient's clinicopathological characteristics and survival rate were analyzed using the GEPIA database. The expression level of ARAP1-AS1 was measured in ccRCC and adjacent non-tumor tissues by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR). Patients were divided into ARAP1-AS1 high and low expression groups, the relationship between ARAP1-AS1 expression level and patient's clinicopathological characteristics was analyzed, and survival analysis was performed. The effect of ARAP1-AS1 *in vitro* proliferation, migration and invasion ability of ccRCC cells was determined by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, transwell migration and invasion assay. Changes in the expressions of Wnt/ β -catenin signaling pathway-related proteins were detected by

基金项目: 江西省卫生健康委科技计划项目 (202210397)。

通信作者: 谢文杰 E-mail: doctorxiewenjie@163.com

Western blot assay. The effect of ARAP1-AS1 on tumorigenic capacity in ccRCC cells *in vivo* was verified by tumor xenografts in nude mice. **Results:** The analysis of the GEPIA database showed that ARAP1-AS1 was highly expressed in ccRCC and associated with advanced tumor stage as well as poor survival in patients (all $P < 0.05$). The results of RTFQ-PCR showed that ARAP1-AS1 was highly expressed in ccRCC tissues and cell lines, and high expression correlated with tumor size and stage (all $P < 0.05$). The overall survival rate was poor in patients with high ARAP1-AS1 expression ($P < 0.05$). Knockdown of ARAP1-AS1 expression inhibited the proliferation, migration and invasion of ccRCC cells (all $P < 0.05$). Silencing of ARAP1-AS1 reduced the expression levels of the proteins involved in the Wnt/ β -catenin signaling pathway (all $P < 0.05$). Silencing of ARAP1-AS1 attenuated tumorigenic capacity in ccRCC cells and reduced Ki-67 proliferation index ($P < 0.05$). **Conclusion:** ARAP1-AS1 promotes ccRCC progression through activation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

[Key words] Clear cell renal cell carcinoma; ARAP1-AS1; Wnt/ β -catenin

肾透明细胞癌 (clear cell renal cell carcinoma, ccRCC) 是泌尿系统常见恶性肿瘤。尽管手术切除是治疗早期ccRCC的有效方法, 但是针对晚期及合并复发或转移患者的治疗方式仍然十分有限, 导致这类患者的预后较差^[1]。因此, 发现新的分子标志物对ccRCC的诊断及靶向治疗具有非常重要的意义。长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度超过200 bp的非编码RNA, 一般定位于细胞核或细胞质中^[2]。多项研究^[3-4]表明, lncRNA与多种肿瘤的发生、发展密切相关。例如, Hottip过表达可以促进急性白血病的进展^[3], MALAT1可以抑制乳腺癌的转移^[4]。另外, lncRNA在ccRCC的发生、发展中也占有非常重要的地位。已有研究^[5]证实, ASB16-AS1在ccRCC中低表达, 并且与肿瘤的分期及体积负相关。Zhu等^[6]的研究表明, MIR4435-2HG可以促进ccRCC细胞系的增殖和转移。反义RNA是指与mRNA互补的RNA分子, 也包括与其他RNA互补的RNA分子。由于核糖体不能翻译双链RNA, 所以反义RNA与mRNA特异性的互补结合, 会抑制该mRNA的翻译。ARAP1-AS1是ARAP1的反义RNA, 最早于2019年在膀胱癌中被发现^[7]。目前研究^[8-9]已证实, ARAP1-AS1与乳腺癌和结肠癌等多种肿瘤密切相关。然而, ARAP1-AS1在ccRCC中的作用及其机制尚未见相关报道。因此, 本研究将验证ARAP1-AS1在ccRCC中的作用, 并对其分子生物学机制进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 GEPIA数据库

GEPIA数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 是由国内科研机构开发的一种交互式网络服务器, 用于分析来自癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 等数据库的肿瘤和正常样本的RNA测序表达数据。GEPIA数据库可以进行差异表达分析、相关性分析和生存分析等。我们使用GEPIA数据库查找ccRCC患者的癌组织及正常组织中ARAP1-AS1的表达水平, 并分析ARAP1-AS1的表达水平与患者肿瘤分期和生存率的关系。

1.2 组织样本和细胞系

65对ccRCC组织和癌旁组织的标本来源于南昌大学第一附属医院, 所有患者在手术前均未接受放疗或化疗。获取标本后立即置于液氮中冻存, 以便进行后续实验。所有患者均经南昌大学第一附属医院病理科诊断为ccRCC。本研究获得南昌大学第一附属医院伦理委员会的批准, 所有患者均签署知情同意书。人类正常肾小管上皮细胞系HK2及两种人源ccRCC细胞系 (786-O和OSRC2) 均购自武汉普诺赛生物科技有限公司。

1.3 RNA抽提、反转录及实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)

用TRIzol (北京康为世纪生物科技有限公司) 提取组织和细胞中的总RNA, 用反转录试剂盒 (北京康为世纪生物科技有限公司) 将mRNA反转录成cDNA, 以GAPDH作为参照, 用SYBR

Green RTFQ-PCR Master Mix (武汉赛维尔生物科技有限公司) 进行RTFQ-PCR, 用 $2^{\Delta\Delta Ct}$ 法计算ARAP1-AS1的表达量。ARAP1-AS1引物的上游序列为5'-ACTGGAAGGAAGGCTGAAGTC-3', 下游序列为5'-ACTCCAGAAGCAGCAGAAAGC-3'; 内参GAPDH引物的上游序列为5'-GGTCGGAGTCAACGGATTTG-3', 下游序列为5'-ATGAGCCCCAGCCTTCTCCAT-3'。

1.4 细胞培养和转染

将细胞放置在37 °C、CO₂体积分数为5%的环境中, 用含有10%胎牛血清(美国Gibco公司)和1%青-链霉素的培养基培养, 每3 d更换1次培养基。待细胞生长至50%的密度时, 将si-ARAP1-AS1和si-NC [汉恒生物科技(上海)有限公司]用LipofectamineTM2000(美国Invitrogen公司)进行转染。sh-ARAP1-AS1和sh-NC慢病毒由汉恒生物科技(上海)有限公司设计及合成。将慢病毒按照说明书转染到786-O细胞中, 转染后48 h用RTFQ-PCR检测转染效率, 并用嘌呤霉素筛选出稳定转染细胞株。si-ARAP1-AS1的序列为5'-CCGGAGATGATTGCCCTGATTGCCCTCGAGGCAATCAGGGCAATC-3', si-NC的序列为5'-CCGGGAGTTTTTCGTTTTTATCACACTCGAGTGTGATAAAAAACGAAAAACTCTTTTG-3', sh-ARAP1-AS1的序列为5'-CCGGAGATGATTGCCCTGATTGCCCTCGAGGCAATCAGGGCAATC-3', sh-NC的序列为5'-CCGGGAGTTTTTCGTTTTTATCACACTCGAGTGTGATAAAAAACGAAAAACTCTTTTTG-3'。

1.5 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 实验

细胞转染48 h后, 将细胞按照 2×10^3 个/孔接种到96孔板中, 在温箱中培养24、48、72及96 h后, 在每孔内加入10 μ L CCK-8试剂(武汉赛维尔生物科技有限公司), 混匀后放入温箱继续培养2~4 h, 然后用酶标仪(瑞士Tecan公司)检测各组细胞在450 nm处的吸光度(D)值。

1.6 Transwell迁移及侵袭实验

对于transwell迁移实验, 在下室中加入600 μ L含20%胎牛血清的培养基, 放入transwell小室。将细胞常规消化、离心后, 用无血清培养

基重悬, 调整细胞密度为 1×10^5 /mL, 在上室中加入细胞悬液0.2 mL。培养24 h后用甲醛溶液固定, 0.1%结晶紫染色。用棉签将上室擦拭干净, 风干后在显微镜下拍照、计数。Transwell侵袭实验除在上室中涂抹基质胶外, 其余操作步骤与transwell迁移实验基本相同。

1.7 蛋白质印迹法 (Western blot)

用RIPA裂解液(北京康为世纪生物科技有限公司)将细胞在冰上裂解30 min, 离心后收集上清液备用。使用二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司)对所提取的蛋白进行定量。将蛋白样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜上, 用5%的脱脂奶粉封闭2 h, 在4 °C冰箱内用一抗温育过夜。第2天, 用含吐温-20三乙醇胺缓冲盐溶液(tris-buffered saline Tween, TBST)将膜清洗3遍, 每遍10 min, 室温下温育二抗1 h, 然后用TBST将膜清洗6遍, 每遍5 min。用电化学发光(electrochemical luminescence, ECL)试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司)进行显影, 用ImageJ软件分析各条带的灰度值。本研究中所使用的抗体均购自美国Abcam公司。

1.8 裸小鼠移植瘤模型

将6只4周龄的雌性BALB/c裸小鼠(湖南斯莱克景达实验动物有限公司)随机分为两组, 分别在裸小鼠腋下注射稳定转染sh-ARAP1-AS1和sh-NC的786-O细胞, 细胞密度为 5×10^7 个/只。每隔3 d用游标卡尺测量肿瘤大小, 并绘制生长曲线。肿瘤体积的计算公式如下: 肿瘤体积=0.5 \times (长 \times 宽²)。35 d后将裸小鼠处死, 切除肿瘤备用。本次动物实验获得南昌大学第一附属医院动物实验伦理委员会的批准。

1.9 免疫组织化学

将肿瘤组织用石蜡包埋、切片、烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水、蒸馏水冲洗。加入煮沸的抗原修复液, 切片冷却后滴加3%过氧化氢, 37 °C温育10 min, 磷酸缓冲盐溶液(phosphate-buffered saline, PBS)清洗3遍, 滴加一抗, 放入4 °C冰箱过夜。第2天, 用PBS清洗切片3遍,

滴加二抗，室温温育30 min。PBS清洗切片3遍，依次加入二氨基联苯胺（diaminobenzidine, DAB）和苏木精进行着色。用乙醇脱水后，封片、观察和拍照。

每张切片随机取10个视野，每个视野计数100个癌细胞。按阳性细胞染色强度计分：无着色为0分，淡黄色为1分，棕黄色为2分，棕褐色为3分。按着色阳性细胞数计分：0%~5%为0分，6%~25%为1分，26%~50%为2分，51%~75%为3分，>75%为4分。染色强度与着色细胞数得分相乘，0~1分为阴性（-），2~4分为弱阳性（+），5~7分为中度阳性（++），≥8分为强阳性（+++）。

1.10 统计学处理

使用GraphPad Prism 7.0软件作图及数据分析，每组实验独立重复3次，使用Kaplan-Meier法绘制生存曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ARAP1-AS1在ccRCC中的表达及其临床意义

通过GEPIA数据库分析ARAP1-AS1在ccRCC组织中的表达及其与患者临床病理学特征及生存率的关系。结果显示，ARAP1-AS1在ccRCC中高表达，并且表达水平与生存率呈负相关，与肿瘤分期呈正相关（图1A~1C）。采用RTFQ-PCR检测ARAP1-AS1在ccRCC组织和细胞系中的表达量，用相对表达水平表示，发现ARAP1-AS1在ccRCC组织中的表达（ 8.94 ± 3.15 ）高于癌旁组织（ 2.31 ± 1.24 ）（ $P < 0.001$ ，图2A）；

ARAP1-AS1在786-O（ 6.15 ± 0.72 ）和OSRC2细胞（ 4.75 ± 0.13 ）中的表达明显高于HK2细胞（ 1.00 ± 0.05 ）（ $P < 0.001$ ，图2B）。以ARAP1-AS1表达的中位数为界，将65例RCC患者分为高表达组（32例）和低表达组（33例）。高表达组的随访时间为（ 35.9 ± 12.7 ）个月，低表达组的随访时间为（ 42.7 ± 15.3 ）个月；至随访结束共存活39例，高表达组存活15例（28.1%），低表达组存活24例（72.7%）；高表达组的总生存率为21.6%，低表达组的总生存率为57.4%，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ，图2C）。另外，ARAP1-AS1的高表达与患者的肿瘤体积增大和晚期肿瘤显著相关（表1）。

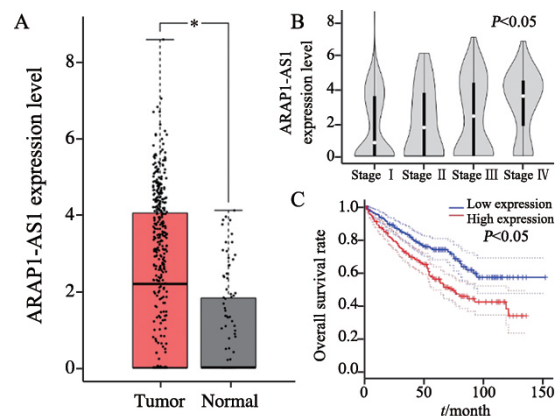


图1 GEPIA数据库中ARAP1-AS1在ccRCC中的表达及其与肿瘤分期和患者生存率关系

Fig. 1 Expression of ARAP1-AS1 in ccRCC in the GEPIA database and its relation to survival rate and tumor stage of the patients

A: Expression level of ARAP1-AS1 in ccRCC tissues; B: Relationship between ARAP1-AS1 expression level and tumor stage; C: Relationship between the expression levels of ARAP1-AS1 and the overall survival rate; *: $P < 0.05$, compared with tumor.

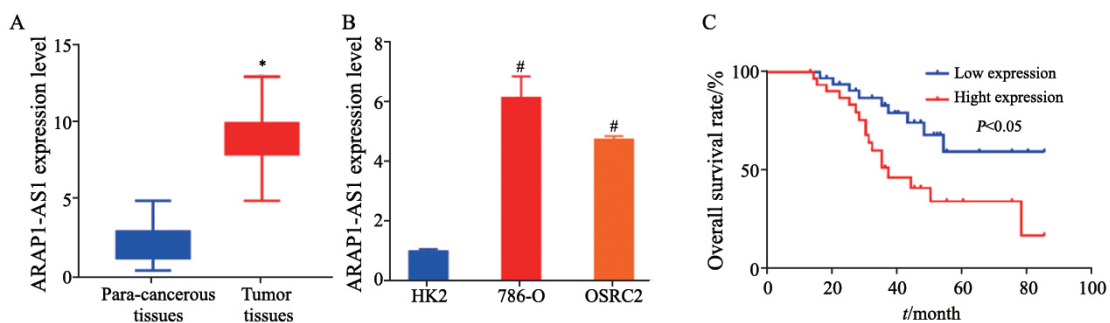


图2 ARAP1-AS1在ccRCC组织和细胞系中的表达以及生存分析

Fig. 2 ARAP1-AS1 expression in ccRCC tissues and cell lines and survival analysis of the patients

A: ccRCC tissues; B: ccRCC cell lines; C: Survival analysis; *: $P < 0.05$, compared with para-cancerous tissues; #: $P < 0.05$, compared with HK2.

表 1 ARAP1-AS1的表达与ccRCC患者临床病理学特征的关系

Clinicopathological feature	ARAP1-AS1 expression		P value
	High (n=32)	Low (n=33)	
Age/year			0.378
≤60	13	17	
>60	19	16	
Gender			0.174
Male	15	21	
Female	17	12	
Tumor size D/cm			0.032
<4	10	19	
≥4	22	14	
Tumor stage			0.035
I and II	12	21	
III and IV	20	12	
Lymph node metastasis			0.389
Positive	15	12	
Negative	17	21	
Distant metastasis			0.265
Positive	14	19	
Negative	18	14	

2.2 ARAP1-AS1对ccRCC细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

用si-ARAP1-AS1和si-NC分别转染ccRCC细胞(786-0和OSRC2),通过CCK-8实验检测ARAP1-AS1对ccRCC细胞体外增殖能力的影响,结果显示,沉默ARAP1-AS1的表达可使ccRCC细胞增殖能力明显减弱(图3A)。Transwell迁移实验验证ARAP1-AS1对ccRCC细胞体外迁移能力的影响,结果显示,si-ARAP1-AS1组细胞迁移能力明显低于si-NC组(786-O: 320 ± 42 vs 115 ± 19 ; OSRC2: 580 ± 75 vs 155 ± 32 ,

P 均 <0.05 ,图3B)。Transwell侵袭实验验证ARAP1-AS1对ccRCC细胞体外侵袭能力的影响,结果证实,si-ARAP1-AS1组细胞侵袭能力明显低于si-NC组(786-O: 110 ± 12 vs 35 ± 8 ; OSRC2: 175 ± 21 vs 40 ± 12 , P 均 <0.05 ,图3C)。

2.3 沉默ARAP1-AS1抑制Wnt/ β -catenin信号通路

为验证在ccRCC中ARAP1-AS1是否可以调节Wnt/ β -catenin信号通路,用si-ARAP1-AS1和si-NC分别转染ccRCC细胞(786-0和OSRC2),用Western blot和图像分析实验检测Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白的表达水平,用相对表达水平表示,结果见图4,沉默ARAP1-AS1可以显著抑制两株ccRCC细胞内 β -catenin、c-Myc及cyclin D1的表达。

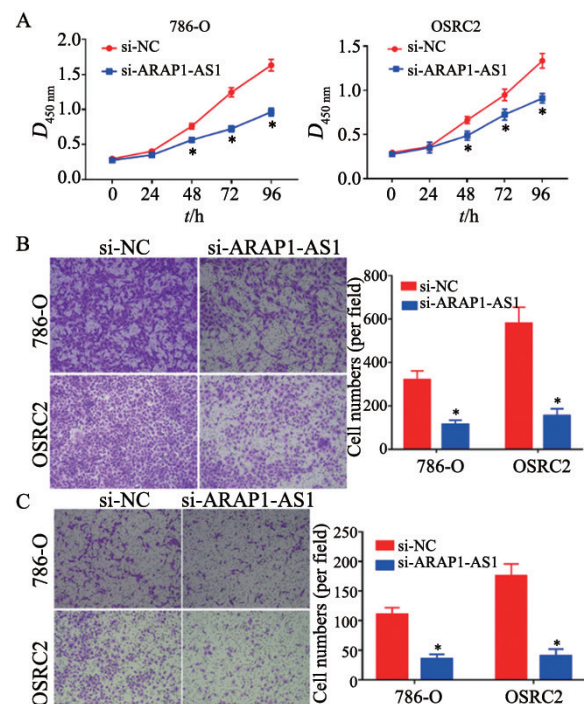


图 3 ARAP1-AS1对ccRCC细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

Fig. 3 Effect of ARAP1-AS1 on the proliferation, migration, and invasion capacity of ccRCC cells

A: Cell proliferation; B: Cell migration; C: Cell invasion; *: $P < 0.05$, compared with si-NC.

2.4 沉默ARAP1-AS1抑制ccRCC细胞的体内成瘤性及增殖活性

首先用RTFQ-PCR验证sh-ARAP1-AS1的沉默

效率,结果显示,与sh-NC组相比,sh-ARAP1-AS1组细胞的ARAP1-AS1表达下降,差异有统计学意义($P < 0.05$,图5A)。将转染sh-ARAP1-AS1和sh-NC的786-O细胞注射至裸小鼠腋下,细胞数量为 5×10^7 个/只,每隔3 d测量肿瘤大小,并绘制生长曲线,35 d后将裸小鼠处死,切除肿瘤。裸小鼠移植瘤实验结果显示,与sh-NC组相比,sh-ARAP1-AS1组裸小鼠的肿瘤生长速度明显减慢,且肿瘤的体积更小(图5B~5D)。采用免疫组织化学检测裸小鼠肿瘤组织中Ki-67增值指数,结果显示,sh-ARAP1-AS1组裸小鼠肿瘤组织中的Ki-67增值指数明显低于sh-NC组(17.2% vs 43.5%, $P < 0.001$,图5E)。上述实验结果显示,沉默ARAP1-AS1可以抑制ccRCC细胞的体内成瘤性及增殖活性。

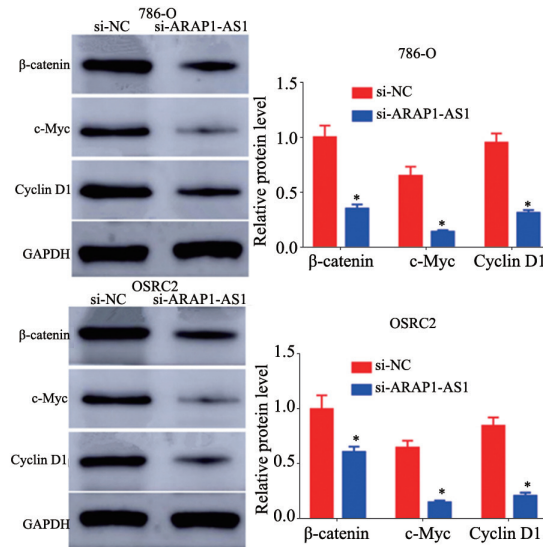


图4 沉默ARAP1-AS1对Wnt/β-catenin信号通路的影响
Fig. 4 Effect of silencing of ARAP1-AS1 on the Wnt/β-catenin signaling pathway

*: $P < 0.05$, compared with si-NC.

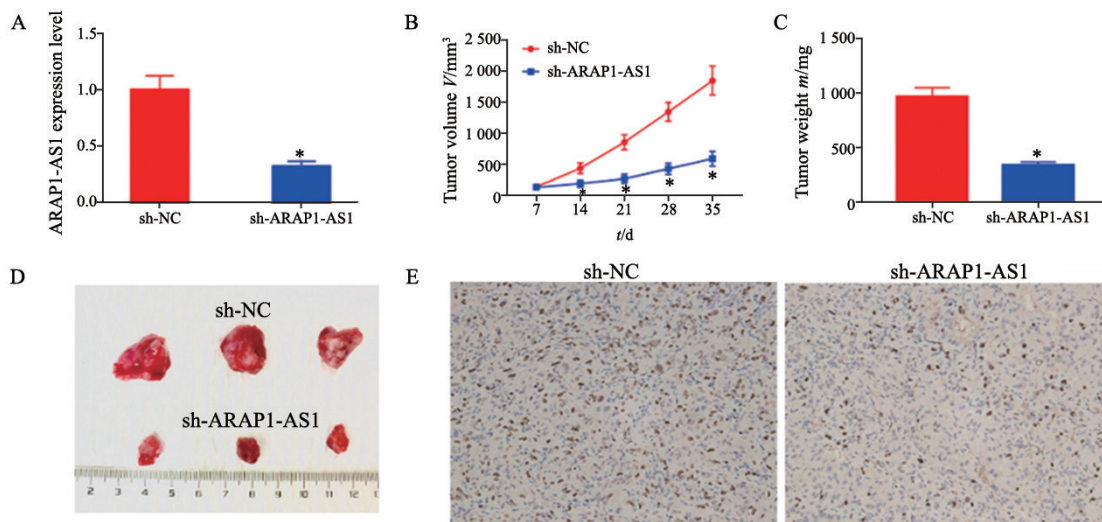


图5 沉默ARAP1-AS1对ccRCC细胞的体内成瘤性及增殖活性的影响

Fig. 5 Effect of ARAP1-AS1 on the proliferation, migration, and invasion capacity of ccRCC cells

A: Silencing efficiency of sh-ARAP1-AS1; B: Growth curves of the xenograft tumors; C: Tumor weights; D: Xenograft tumors; E: Immunohistochemistry; *: $P < 0.05$, compared with si-NC.

3 讨 论

近年来, lncRNA一直是分子生物学领域的研究热点。多项研究^[10-11]已经通过lncRNA阐明了多种肿瘤发生、发展的复杂生物学机制。作为一种泌尿系统常见的恶性肿瘤, ccRCC的治疗一直是一个棘手的问题,尤其是免疫治疗。因此,探讨lncRNA在ccRCC中的作用具有非常重要的意

义。本研究通过生物信息学分析了GEPIA数据库中与ccRCC相关的lncRNA,发现ARAP1-AS1在ccRCC组织中高表达,并且与不良预后及较高的分期相关,因此,本研究将ARAP1-AS1作为研究对象。

本研究显示, ARAP1-AS1在ccRCC组织和细胞系中高表达,并且与较大的肿瘤体积及较高的肿瘤分期相关,此外, ARAP1-AS1高表达组的患者总生存率也低于低表达组。有研究^[9]表明,

ARAP1-AS1在结肠癌组织和细胞中的表达明显高于正常的结肠组织和细胞, 并且其高表达与结肠癌的TNM分期及淋巴结转移正相关。另外, Zhang等^[12]研究表明, ARAP1-AS1在宫颈癌中的表达量与肿瘤大小、分期及淋巴结转移呈显著正相关。类似结果在胃癌中也可以观察到^[13]。

为验证ARAP1-AS1在ccRCC中的功能, 我们进行了一系列的体外实验和体内实验。体外实验结果表明, ARAP1-AS1可以促进ccRCC细胞增殖、侵袭和迁移。裸小鼠移植瘤模型结果显示, ARAP1-AS1可以在体内促进ccRCC肿瘤的生长, 并使ccRCC细胞的增殖活性增强。ARAP1-AS1在其他肿瘤中也有类似作用, 如在肺癌中ARAP1-AS1可以促进肿瘤细胞增殖^[14]。另外, ARAP1-AS1可以促进乳腺癌细胞增殖和迁移, 从而影响乳腺癌的进展^[8]。

Wnt/ β -catenin信号通路存在于各种类型的癌症中, 在细胞增殖、侵袭、转移及血管生成中发挥重要作用^[15]。Xu等^[16]研究表明, SDHA通过失活Wnt/ β -catenin信号通路抑制ccRCC细胞的增殖、迁移和侵袭。另有研究^[17]显示, 过表达LINC00675通过Wnt/ β -catenin信号通路可减弱ccRCC细胞的恶性表型。本研究中, 沉默ARAP1-AS1可以抑制Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白 β -catenin、c-Myc及cyclin D1的表达, 说明ARAP1-AS1可以通过靶向Wnt/ β -catenin信号通路影响ccRCC的进展。

综上所述, ARAP1-AS1在ccRCC中高表达, 且与不良预后相关。ARAP1-AS1可通过影响Wnt/ β -catenin信号通路而影响ccRCC的进展。ARAP1-AS1可能是ccRCC潜在的诊断标志物和治疗靶点。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] HSIEH J J, PURDUE M P, SIGNORETTI S, et al. Renal cell carcinoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17009.
- [2] 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.
- [3] LUO H C, ZHU G Q, XU J F, et al. HOTTIP lncRNA promotes hematopoietic stem cell self-renewal leading to AML-like disease in mice [J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(6): 645-659. e8.

- [4] KIM J, PIAO H L, KIM B J, et al. Long non-coding RNA MALAT1 suppresses breast cancer metastasis [J]. *Nat Genet*, 2018, 50(12): 1705-1715.
- [5] LI M Z, YIN B D, CHEN M L, et al. Downregulation of the lncRNA ASB16-AS1 decreases LARP1 expression and promotes clear cell renal cell carcinoma progression via miR-185-5p/miR-214-3p [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 617105.
- [6] ZHU K, MIAO C K, TIAN Y, et al. lncRNA MIR4435-2HG promoted clear cell renal cell carcinoma malignant progression via miR-513a-5p/KLF6 axis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(17): 10013-10026.
- [7] TENG J F, AI X, JIA Z M, et al. Long non-coding RNA ARAP1-AS1 promotes the progression of bladder cancer by regulating miR-4735-3p/NOTCH2 axis [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(4): 552-561.
- [8] LU C, WANG X H, ZHAO X W, et al. Long non-coding RNA ARAP1-AS1 accelerates cell proliferation and migration in breast cancer through miR-2110/HDAC2/PLIN1 axis [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(4): BSR20191764.
- [9] YE Y Q, GU B B, WANG Y, et al. YY1-induced upregulation of long non-coding RNA ARAP1-AS1 promotes cell migration and invasion in colorectal cancer through the wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2019, 34(8): 519-528.
- [10] CHEN Y Y, LI Z J, CHEN X G, et al. Long non-coding RNAs: from disease code to drug role [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(2): 340-354.
- [11] MING H, LI B W, ZHOU L, et al. Long non-coding RNAs and cancer metastasis: molecular basis and therapeutic implications [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(2): 188519.
- [12] ZHANG Y, WU D, WANG D. Long non-coding RNA ARAP1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis through facilitating proto-oncogene c-Myc translation via dissociating PSF/PTB dimer in cervical cancer [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(5): 1855-1866.
- [13] JIANG Y H, ZHU X Y, GUO Z Y, et al. Increased long non-coding RNA ARAP1-AS1 expression and its prognostic significance in human gastric cancer: a preliminary study [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(4): 1815-1820.
- [14] TAO X L, ZHANG Y, LI J P, et al. Low expression of long non-coding RNA ARAP1-AS1 can inhibit lung cancer proliferation by inducing G₀/G₁ cell cycle organization [J]. *J Thorac Dis*, 2020, 12(12): 7326-7336.
- [15] TREJO-SOLIS C, ESCAMILLA-RAMIREZ A, JIMENEZ-FARFAN D, et al. Crosstalk of the wnt/ β -catenin signaling pathway in the induction of apoptosis on cancer cells [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(9): 871.
- [16] XU X L, ZHANG N W, GAO R X, et al. Upregulation of SDHA inhibited proliferation, migration, and invasion of clear cell renal cell carcinoma cells via inactivation of the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2021: 1-13.
- [17] ZHU L, LIU X L, FU Z Q, et al. LINC00675 suppresses proliferative, migration and invasion of clear cell renal cell carcinoma via the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(5): 2313-2320.

(收稿日期: 2021-10-07 修回日期: 2021-11-25)