



## Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

### Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;  
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

### Research Article

A. Volkogon, V. Harbuzova, A. Ataman, Ye. Harbuzova, A. Kolnoguz

doi: 10.31450/ukrjnd.2(66).2020.03

### Analysis of association between long non-coding RNA HOTAIR gene rs1899663 polymorphism and disease-free survival in kidney cancer patients

Sumy State University, Sumy, Ukraine

### Citation:

Volkogon A, Harbuzova V, Ataman A, Harbuzova Ye, Kolnoguz A. Analysis of association between long non-coding RNA HOTAIR gene rs1899663 polymorphism and disease-free survival in kidney cancer patients. Ukr J Nephrol Dial. 2020;2(66):17-23. doi: 10.31450/ukrjnd.2(66).2020.03

**Abstract.** *The aim of the current study was to investigate the possible association of HOTAIR gene rs1899663 polymorphism with kidney cancer patients survival and clinicopathological characteristics of kidney cancer.*

**Methods.** *The whole venous blood of 101 patients with clear cell renal cell carcinoma (CCRCC) (42 women and 59 men) was used in the study. Genotyping of rs1899663 HOTAIR gene polymorphic locus was performed by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP). Statistical analysis was performed using SPSS (version 17.0). The Kaplan-Meier test and the Cox regression were used to test the possible association between rs1899663 polymorphism of long non-coding RNA HOTAIR gene and the age of CCRCC onset. P values < 0.05 were considered as statistically significant.*

**Results.** *The results of HOTAIR gene rs1899663 polymorphism genotyping showed that the ratio of GG-homozygotes, GT-heterozygotes and TT-homozygotes in CCRCC patients was 39.6%, 52.5%, and 7.9%, respectively. This distribution did not deviate from the expected by Hardy-Weinberg law (P = 0.143). Results of one-way ANOVA showed that rs1899663-locus of HOTAIR gene was not associated with tumor size of CCRCC patients (P > 0.05), was not related to body mass index, erythrocyte sedimentation rate, fasting glucose, hemoglobin, creatinine and leukocyte amount in the blood of CCRCC patients (P > 0.05). In addition, the results of the Kaplan-Meier test showed that life expectancy until the CCRCC occurrence does not depend on rs1899663 SNP (log-rank P = 0.739). At the same time, the results of Cox regression analysis both before and after adjusting for covariates (sex, body mass index, metastases, smoking habits and alcohol abuse) showed that CCRCC risk development with age does not depend on HOTAIR gene rs1899663 polymorphism (P > 0.05).*

**Conclusions.** *This is the first report about the possible link between HOTAIR gene polymorphism and survival of kidney cancer patients both in Ukraine and worldwide. The rs1899663 polymorphic site of HOTAIR gene is not associated with the age of CCRCC onset in the Ukrainian population. In addition, the rs1899663 SNP is also not related to tumor size and clinical and laboratory data in patients with kidney cancer.*

**Key words:** HOTAIR, long non-coding RNA, gene polymorphism, kidney cancer, survival.

**Conflict of interest statement:** the authors declared no competing interests.

### Article history:

Received February 29, 2020

Received in revised form  
March 18, 2020

Accepted March 20, 2020

© Volkogon A., Harbuzova V., Ataman A., Harbuzova Ye., Kolnoguz A., 2020.

Correspondence should be addressed to Andriy Volkogon: [volkogon\\_andrei@ukr.net](mailto:volkogon_andrei@ukr.net)



© Волкогон А. Д., Гарбузова В. Ю., Атаман О. В., Гарбузова Є. А., А.В. Колногуз, 2020

УДК 616.61-006:577.213/.216

А.Д. Волкогон, В.Ю. Гарбузова, О.В. Атаман, Є.А. Гарбузова, А.В. Колногуз

## Аналіз зв'язку поліморфізму rs1899663 гена довгої некодуєчої РНК HOTAIR із виживаністю пацієнтів із раком нирки

Сумський державний університет, м. Суми, Україна

**Резюме.** Метою дослідження було вивчення можливої асоціації поліморфного сайту rs1899663 гена HOTAIR із виживаністю пацієнтів із раком нирки та його клініко-патологічними характеристиками.

**Методи.** У роботі було використано венозна кров 101 пацієнта зі світлоклітинним нирково-клітинним раком (СКНKP) (42 жінки і 59 чоловіків). Генотипування за поліморфним локусом rs1899663 гена HOTAIR проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Статистичний аналіз виконували за допомогою пакету SPSS (версія 17.0). Тест Каплана-Мейєра та регресія Кокса були використані для перевірки можливого зв'язку між поліморфізмом rs1899663 гена довгої некодуєчої РНК HOTAIR та віком виникнення СКНKP. Значення  $P < 0,05$  вважали статистично значущими.

**Результати.** Результати генотипування за rs1899663-поліморфізмом гена HOTAIR показали, що у хворих із СКНKP співвідношення гомозигот GG, гетерозигот GT і гомозигот TT складає 39,6 %, 52,5 % і 7,9 %, відповідно. Цей розподіл не відхилявся від очікуваного за законом Харді-Вайнберга ( $P = 0,143$ ). Результати однофакторного дисперсійного аналізу показали, що rs1899663-локус гена HOTAIR не асоційований із розмір пухлини хворих із СКНKP, не пов'язаний із показниками індексу маси тіла, швидкістю осідання еритроцитів, вмістом глюкози, гемоглобіну, креатиніну та лейкоцитів у крові пацієнтів із СКНKP ( $P > 0,05$ ). Крім цього результати тесту Каплана-Мейєра показали, що тривалість життя до моменту виникнення СКНKP не залежить від rs1899663-локусу (log rank  $P = 0,739$ ). Разом із цим результати аналізу методом регресії Кокса без та з поправкою на коваріати (стать, індекс маси тіла, наявність метастазів, звички курити та зловживання алкоголем) продемонстрували, що ризик виникнення СКНKP з віком не залежить від поліморфізму rs1899663 гена HOTAIR ( $P > 0,05$ ).

**Висновки.** Виконане дослідження є першим щодо пошуку асоціації генетичного поліморфізму HOTAIR із виживаністю пацієнтів із раком нирки як в Україні, так і в усьому світі. Поліморфний сайт rs1899663 гена HOTAIR не асоційований із віком виникнення СКНKP в українській популяції. Крім цього, rs1899663-локус також не пов'язаний із розмірами пухлини та даними клініко-лабораторних досліджень у хворих із раком нирки.

**Ключові слова:** HOTAIR, довга некодуєча РНК, генетичний поліморфізм, рак нирки, виживаність.

**Вступ.** HOTAIR (Homeobox transcript antisense intergenic RNA) – це довга некодуєча РНК (lncRNA), що бере участь у регуляції активності багатьох генів на епігенетичному та транскрипційному рівнях [1]. Основний молекулярний механізм дії HOTAIR полягає у взаємодії з PRC2 (полікомбінний репресивний комплекс 2), що призводить до посилення метилювання гістону H3K27 та пригнічення експресії таргетних генів [2]. Нині показано, що HOTAIR є негативним прогностичним фактором багатьох пухлинних захворювань [3], зокрема і раку нирки.

Групою Pan et al. було виявлено підвищення експресії HOTAIR у клітинах нирково-клітинного раку (НKP) [4]. Авторами також було встановлено, що надмірна продукція HOTAIR сприяє проліфе-

рації, міграції та інвазії клітин НKP. Значне зростання експресії HOTAIR в клітинах НKP та її важливу роль у прогресії НKP було також встановлено в дослідженнях Dasgupta et al. [5] та Wu et al. [6].

Разом із цим колективом Xia et al. показано, що HOTAIR сприяє метастазуванню клітин НKP шляхом підвищення активності гістону H3K27 деметилази JMJD3 [7]. А у роботі Hu et al. [8] і Wang et al. [9] показано, що хворі на НKP з високим рівнем експресії HOTAIR мають значно менший показник виживаності, ніж хворі із низьким рівнем продукції цієї РНК.

На сьогодні особливо цікавий інтерес становить також вивчення зв'язку генетичного поліморфізму HOTAIR із виникненням та характеристиками різних пухлин. Одним із найбільш клінічно значущих поліморфних сайтів гена HOTAIR вважається rs1899663.

У дослідженні Dadas et al. показано, що гаплотип Trs12826786/Crs1899663 гена HOTAIR асоційований із підвищеним ризиком виникнення раку легень [10]. Колективом Taheri et al. було встановлено, що іранські чоловіки, які є носіями мінорного rs1899663T-алелю мають вищий ризик виник-

Волкогон Андрій Дмитрович

volkogon\_andrei@ukr.net

нення гіперплазії передміхурової залози, ніж гомозиготи GG [11]. А Hassanzarei et al. виявлено, що серед іранських жінок rs1899663T-алель має захисний ефект стосовно настання раку молочної залози [12]. При цьому дані стосовно зв'язку генетичного поліморфізму HOTAIR, зокрема локусу rs1899663, із виникненням та характеристиками раку нирки на сьогодні відсутні. Це і спонукало нас до проведення власного дослідження.

**Мета роботи:** вивчення можливого зв'язку поліморфного сайту rs1899663 гена HOTAIR із виживаністю пацієнтів із раком нирки та його клініко-патологічними характеристиками.

**Пацієнти та методи.** У роботі було використано венозну кров 101 пацієнта зі світлоклітинним нирково-клітинним раком (СКНKP) (42 жінки і 59 чоловіків). Спостереження за хворими здійснювалось на базі Сумського обласного клінічного онкологічного диспансеру з 2005 по 2016 рік. Морфологічний діагноз СКНKP встановлювався відповідно до рекомендацій Європейської асоціації урологів (European Association of Urology Guidelines). Усі пацієнти мали II клінічну стадію раку відповідно до TNM-класифікації злоякісних пухлин.

Дослідження проводили у відповідності до основних положень Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації та Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. Усі учасники надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

ДНК із цільної венозної крові екстрагували за стандартним протоколом із використанням наборів GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Розподіл алелів за поліморфним сайтом rs1899663 гена HOTAIR встановлювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Суміш для ампліфікації містила 0,1 мМ прямого (5'-TGAAAGCCAGGATCATTTAACA-3') праймеру, 0,1 мМ зворотнього (5'-GGGCTCATGGAGACATTTTAAAG-3') праймеру, 5 мМ DreamTaq™ Green Buffer (10X) (Thermo Fisher Scientific, США), 0,5 мМ dNTP (Thermo Fisher Scientific, США), 1 U Taq-полімерази (Thermo Fisher Scientific, США), 100 нг ДНК та 24,25 мкл деіонізованої води. Ампліфікація потрібного фрагмента гена HOTAIR складалася із 33 циклів: денатурація – 94°C (45 с), гібридизація – 59,0°C (45 с), елонгація

– 72°C (45 с). Для рестрикції 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37°C протягом 18 годин із 2 мкл рестриктази BseG1 (ThermoFisher Scientific, США). Якщо в rs1899663-сайті гена HOTAIR містився гуанін, ампліфікат, що складався з 401 пар основ, розщеплювався ендонуклеазою BseG1 на два фрагменти – 76 і 325 пар основ. У разі заміни гуаніну на тимін вихідний ампліфікат розрізався на три частини – 63, 76 та 262 пар основ.

Горизонтальний електрофорез (10 V/cm) проводили в 2,5 % агарозному гелі з додаванням бромистого етидію (30 хв). ДНК візуалізували на транслюмінаторі «Біоком».

Математичний аналіз виконано за допомогою пакету SPSS (версія 17.0). Безперервні дані представлені у вигляді середнього значення  $\pm$  SD, номінальні дані подані у вигляді кількісних та відсоткових значень. Перевірку безперервних даних на нормальність розподілу здійснювали за допомогою тесту Шапіро – Вілка. Перевірку відповідності розподілу алелів за rs1899663-сайтом рівновазі Харді-Вайнберга проводили за допомогою  $\chi^2$ -критерію Пірсона. Достовірність відмінностей середніх величин у групах із різними rs1899663-генотипами визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Тест Каплана-Мейера та регресія Кокса були використані для перевірки можливого зв'язку між поліморфізмом rs1899663 гена HOTAIR та віком виникнення СКНKP. Регресія Кокса виконувалась в рамках домінантної, супердомінантної та рецесивної моделей успадкування як без, так і з поправкою на стать, індекс маси тіла пацієнтів, наявність в них метастазів, звички палити та зловживання алкоголем. Значення  $P < 0,05$  вважали статистично значущими.

**Результати.** Результати генотипування за поліморфним локусом rs1899663 гена HOTAIR продемонстрували, що у хворих із СКНKP співвідношення гомозигот GG, гетерозигот GT і гомозигот TT складало 39,6 %, 52,5 % і 7,9 %, відповідно. Указаний розподіл (частота мінорного алелю T – 0,34) не відхилявся від очікуваного за законом Харді-Вайнберга ( $P = 0,143$ ).

Результати аналізу асоціації поліморфізму rs1899663 гена HOTAIR із деякими клініко-лабораторними показниками пацієнтів із СКНKP та морфометричними параметрами пухлин наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

**Клініко-патологічна характеристика пацієнтів із СКНKP залежно від генотипу за локусом rs1899663 гена HOTAIR**

Показник	Генотип			P
	GG (n = 40)	GT (n = 53)	TT (n = 8)	
<b>Клініко-лабораторні показники</b>				
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,4 $\pm$ 4,5	27,3 $\pm$ 4,3	28,0 $\pm$ 4,0	0,454
Нь, (г/л)	130,7 $\pm$ 17,9	130,0 $\pm$ 18,0	128,4 $\pm$ 24,5	0,947

Продовження таблиці 1

Показник	Генотип			P
	GG (n = 40)	GT (n = 53)	TT (n = 8)	
Лейкоцити, (10 <sup>9</sup> /л)	6,3 ± 2,1	6,0 ± 2,1	6,8 ± 1,5	0,532
ШОЕ, (мм/год)	16,5 ± 11,2	18,5 ± 15,9	14,3 ± 14,2	0,639
Глюкоза натше, (ммоль/л)	5,7 ± 1,8	5,3 ± 1,4	5,6 ± 1,4	0,516
Креатинін, (мкмоль/л)	93,2 ± 46,0	90,3 ± 28,6	94,5 ± 31,8	0,910
<b>Морфологія пухлини</b>				
Довжина пухлини, (см)	6,0 ± 1,6	6,4 ± 1,5	6,6 ± 2,5	0,451
Ширина пухлини, (см)	5,7 ± 1,4	5,8 ± 1,5	6,3 ± 1,4	0,568
Висота пухлини, (см)	6,2 ± 2,0	6,1 ± 1,6	6,8 ± 2,4	0,615
Об'єм пухлини, (см <sup>3</sup> )	252,1 ± 257,0	256,6 ± 165,4	353,3 ± 340,8	0,484

Примітки: СКНKP – світлоклітинний нирково-клітинний рак; ІМТ – індекс маси тіла; Нb – гемоглобін; ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів; n – кількість пацієнтів

Показано, що величина досліджуваних показників у хворих із СКНKP не залежала від генотипу за rs1899663-локусом (P > 0,05).

Після цього нами був проведений аналіз можливого зв'язку rs1899663-сайту гена HOTAIR із віком виникнення СКНKP. У таблиці 2 наведений середній вік настання СКНKP у дослідних осіб

залежно від rs1899663-генотипу. На рисунку 1 показана крива Каплана-Мейєра, що відображає залежність ймовірності не захворіти на СКНKP від віку в осіб із різними генотипами за поліморфізмом rs1899663 гена HOTAIR (аналіз виконано в рамках адитивної моделі успадкування).

Таблиця 2

#### Аналіз залежності віку виникнення СКНKP від поліморфного сайту rs1899663 гена HOTAIR

Генотип	n	Середній вік	SE	95 % CI	log rank P
GG	40	57,9	1,5	54,9-60,7	0,739
GT	53	55,6	1,5	52,6-58,6	
TT	8	53,6	4,0	45,7-61,5	

Примітки: СКНKP – світлоклітинний нирково-клітинний рак; SE – стандартна похибка; 95 % CI – 95 % довірчий інтервал; n – кількість пацієнтів

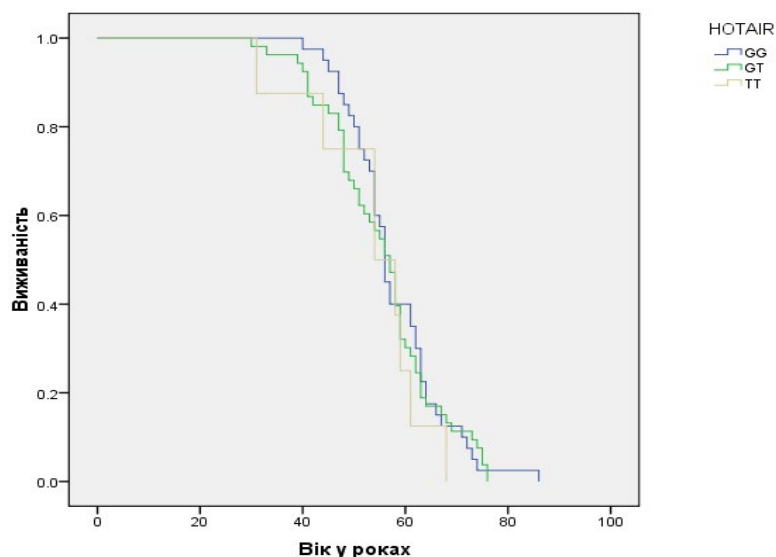


Рис 1. Крива Каплана-Мейєра для аналізу ймовірності не захворіти на рак нирки залежно від віку в осіб із різними генотипами за поліморфним локусом rs1899663 гена HOTAIR.

Встановлено, що тривалість життя до моменту виникнення СКНKP не залежить від rs1899663-локусу (log rank  $P = 0,739$ ).

У таблиці 3 представлені результати аналізу методом регресії Кокса. Виявлено, що в рамках жодної моделі успадкування ризик виникнення

СКНKP з віком не залежав від поліморфного сайту rs1899663 гена HOTAIR ( $P > 0,05$ ). Статистично достовірні результати були відсутніми і після врахування таких факторів ризику, як стать, індекс маси тіла хворих, наявність метастазів, звичка палити та зловживання алкоголем ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 3

**Аналіз ризику настання СКНKP залежно від віку в осіб із різними генотипами за поліморфізмом rs1899663 гена HOTAIR**

Модель	Одноваріантний аналіз			Мультиваріабельний аналіз		
	HR	95 % CI	P	HR	95 % CI	P
TT+GT vs GG	1,089	0,727-1,631	0,679	1,130	0,736-1,734	0,576
GT vs TT+GG	1,013	0,682-1,506	0,947	1,102	0,723-1,682	0,651
TT vs GT+GG	1,297	0,626-2,687	0,483	1,077	0,506-2,292	0,847

Примітки: СКНKP – світлоклітинний нирково-клітинний рак; HR – ризик небезпеки; 95 % CI – 95 % довірчий інтервал

**Обговорення.** За останні декілька років стало зрозуміло, що lncRNAs відіграють ключові ролі в реалізації різних фундаментальних біологічних процесів, а зміна їх експресії специфічно корелює із виникненням і метастазуванням пухлин [13]. Глибоке розуміння зв'язку між lncRNAs та молекулярною біологією злоякісних новоутворень дозволить розробити нові терапевтичні цілі для своєчасної діагностики та лікування різноманітних пухлинних захворювань, включаючи і рак нирок [14].

Результати експериментальних досліджень показали, що однією із lncRNA, причетних до ниркового туморогенезу, є HOTAIR [13]. Відомо, що ген цієї РНК має довжину 12,649 пн, а його кодуючий ланцюг є частиною мінус-ланцюга довгого плеча 12-ї хромосоми (12q13.13) [15]. Станом на лютий 2020 року в гені HOTAIR налічується 3828 однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) (за даними NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=HOTAIR>), серед яких rs1899663 є одним із найбільш досліджених у контексті зв'язку із пухлинними патологіями.

Сайт rs1899663 локалізується в інтронній ділянці гена HOTAIR (позиція 4903 відповідно до NC\_000012.12). Враховуючи таке його розташування, можна припустити, що вказаний SNP може впливати на регуляцію транскрипції свого гена. Біоінформатичний аналіз показав, що rs1899663-полморфізм змінює спорідненість до факторів транскрипції PAX-4, SPZ1 та ZFP281, що в кінцевому результаті може змінити рівень експресії всього гена HOTAIR [11]. Поряд із цим функціональні дослідження Gong et al. встановили, що трансверсія rs1899663G на rs1899663T призводить до підвищення мінімальної вільної енергії у центральній ділянці молекули HOTAIR (на 7,8 ккал/моль), що може ставати причиною зміни її вторинної структури [16].

У нашому дослідженні був проведений аналіз залежності тривалості життя до часу виникнення СКНKP від генотипу за rs1899663-поліморфним локусом гена HOTAIR. Як вже зазначалось, експериментальні дослідження Hu et al. [8] і Wang et al. [9] виявили, що високий рівень експресії HOTAIR пов'язаний зі значним зменшенням показника виживаності у хворих із раком нирки. При цьому результати нашого аналізу показали, що вік настання СКНKP не пов'язаний із поліморфізмом rs1899663 гена довгої некодуючої РНК HOTAIR. Схожі результати були отримані і групою Weng et al. [17], які не виявили зв'язку rs1899663-локусу із виживаністю та часом настання рецидиву в азіатських жінок із цервікальною інтраепітеліальною неоплазією.

Разом із цим у нашій роботі був проведений аналіз асоціації між генетичним поліморфізмом HOTAIR і морфологічними показниками пухлини пацієнтів із СКНKP. Колективом Hu et al. [8] показано, що нокдаун гена HOTAIR призводить до зменшення об'єму та ваги пухлини нирки *in vitro*. Окрім цього у роботі Dasgupta et al. [5] показано, що введення в пухлину miR-203 – мікроРНК, що пригнічує активність HOTAIR – призводить до значного зменшення розміру злоякісної пухлини нирки. Проте, отримані нами результати показали, що заміна нуклеотидів у rs1899663-локусі гена HOTAIR не впливає на структуру пухлини хворих із СКНKP, так само як і не чинить впливу на показник індексу маси тіла дослідних пацієнтів, вміст глюкози, гемоглобіну, креатиніну та лейкоцитів у їх крові, а також на швидкість осідання еритроцитів.

Обмеженням нашого дослідження стала відсутність аналізу залежності показника експресії гена HOTAIR від поліморфного сайту rs1899663. При цьому певним обмеженням можна вважати та-

кож і відносно малий розмір вибірки для аналізу. Можливо, збільшення кількості хворих із СКНКР разом із функціональним аналізом rs1899663-поліморфізму дозволять зробити кінцевий висновок про його вплив на виживаність пацієнтів із раком нирки. Поряд із цим слід вказати, що дане дослідження є першим щодо пошуку асоціації генетичного поліморфізму HOTAIR із виживаністю пацієнтів із раком нирки як в Україні, так і в усьому світі.

**Висновки.** Отже, поліморфний локус rs1899663 гена довгої некодуєчої РНК HOTAIR не пов'язаний із віком виникнення СКНКР. Крім цього, rs1899663-поліморфізм також не асоційова-

ний із розмірами пухлини та даними клініко-лабораторних досліджень у хворих із СКНКР.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Інформація про внесок кожного учасника.**

**А.Д. Волкогон:** підбір хворих для дослідження, написання манускрипту.

**В.Ю. Гарбузова:** статистичний аналіз та інтерпретація отриманих даних.

**О.В. Атаман:** планування дослідження, завершення остаточної версії статті.

**Є.А. Гарбузова:** генотипування за rs1899663-поліморфізмом.

**О.В. Колногуз:** виділення ДНК із крові пацієнтів.

### Література (References):

1. Yu X, Li Z. Long non-coding RNA HOTAIR: A novel oncogene (Review). *Mol Med Rep* 2015; 12(4):5611-8. doi: 10.3892/mmr.2015.4161.
2. Cai B, Song XQ, Cai JP, Zhang S. HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA. *Neoplasma* 2014; 61(4):379-91. doi: 10.4149/neo\_2014\_075.
3. Hajjari M, Rahnema S. Association Between SNPs of Long Non-coding RNA HOTAIR and Risk of Different Cancers. *Front Genet.* 2019 Feb 28;10:113. doi: 10.3389/fgene.2019.00113.
4. Pan Y, Wu Y, Hu J, Shan Y, Ma J, Ma H et al. Long noncoding RNA HOTAIR promotes renal cell carcinoma malignancy through alpha-2, 8-sialyltransferase 4 by sponging microRNA-124. *Cell Prolif.* 2018;51(6):e12507. doi: 10.1111/cpr.12507.
5. Dasgupta P, Kulkarni P, Majid S, Shahryari V, Hashimoto Y, Bhat N et al. MicroRNA-203 Inhibits Long Noncoding RNA HOTAIR and Regulates Tumorigenesis through Epithelial-to-mesenchymal Transition Pathway in Renal Cell Carcinoma. *Mol Cancer Ther.* 2018;17(5):1061-1069. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0925.
6. Wu Y, Liu J, Zheng Y, You L, Kuang D, Liu T. Suppressed expression of long non-coding RNA HOTAIR inhibits proliferation and tumorigenicity of renal carcinoma cells. *Tumour Biol.* 2014;35(12):11887-94. doi: 10.1007/s13277-014-2453-4.
7. Xia M, Yao L, Zhang Q, Wang F, Mei H, Guo X et al. Long noncoding RNA HOTAIR promotes metastasis of renal cell carcinoma by up-regulating histone H3K27 demethylase JMJD3. *Oncotarget.* 2017;8(12):19795-19802. doi: 10.18632/oncotarget.15047.
8. Hu G, Dong B, Zhang J, Zhai W, Xie T, Huang B et al. The long noncoding RNA HOTAIR activates the Hippo pathway by directly binding to SAV1 in renal cell carcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(35):58654-58667. doi: 10.18632/oncotarget.17414.
9. Wang C, Li Y, Li Y, Zhang H, Gong H, Yuan Y et al. HOTAIR lncRNA SNPs rs920778 and rs1899663 are associated with smoking, male gender, and squamous cell carcinoma in a Chinese lung cancer population. *Acta Pharmacol Sin.* 2018;39(11):1797-1803. doi: 10.1038/s41401-018-0083-x.
10. Dada E, Aydın M. Effect of HOTAIR rs12826786 and rs1899663 polymorphisms on lung cancer susceptibility and clinicopathological characteristics in a Turkish population: a hospital-based case-control study. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* [Internet]. 2018;64(7):97-102. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29974853>
11. Taheri M, Habibi M, Noroozi R, Rakhshan A, Sarrafzadeh S, Sayad A, Omrani MD, et al. HOTAIR genetic variants are associated with prostate cancer and benign prostate hyperplasia in an Iranian population. *Gene.* 2017; 613:20-24. doi: 10.1016/j.gene.2017.02.031.
12. Hassanzareei S, Hashemi M, Sattarifard H, Hashemi SM, Bahari G, Ghavami S. Genetic polymorphisms of HOTAIR gene are associated with the risk of breast cancer in a sample of southeast Iranian population. *Tumour Biol.* 2017; 39(10): doi: 10.1177/1010428317727539
13. Blondeau JJ, Deng M, Syring I, Schröder S, Schmidt D, Perner S. Identification of novel long non-coding RNAs in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Epigenetics.* 2015;7:10. doi: 10.1186/s13148-015-0047-7
14. Jiang MC, Ni JJ, Cui W, Wang BY, Zhuo W. Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. *Am J Cancer Res* [Internet]. 2019;9(7):1354-1366. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6682721/>
15. Bhan A, Mandal S. LncRNA HOTAIR: A master regulator of chromatin dynamics and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1856(1):151-64. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.07.001.

16. Gong WJ, Yin JY, Li XP, Fang C, Xiao D, Zhang W, Zhou HH, et al. Association of well-characterized lung cancer lncRNA polymorphisms with lung cancer susceptibility and platinum-based chemotherapy response. *Tumour Biol.* 2016; 37(6):8349-58. doi: 10.1007/s13277-015-4497-5.
17. Weng SL, Wu WJ, Hsiao YH, Yang SF, Hsu CF, Wang PH. Significant association of long non-coding RNAs HOTAIR genetic polymorphisms with cancer recurrence and patient survival in patients with uterine cervical cancer. *Int J Med Sci.* 2018; 15(12):1312-1319. doi: 10.7150/ijms.27505.