

· 论 著 ·

# lncRNA-ADAMTS9-AS2 与胶质瘤预后的相关性

杨建龙 葛晗明 闫忠军 胡 焱

**【摘要】目的** 探讨长链非编码 RNA-ADAMTS9-AS2(lncRNA-ADAMTS9-AS2)在神经胶质瘤组织中的表达情况及其与胶质瘤病人预后的相关性。**方法** 收集 2009 年 6 月至 2013 年 6 月手术治疗的原发性神经胶质瘤 57 例(WHO I~II 级 27 例,III~IV 级 30 例)。应用 qRT-PCR 法分别检测神经胶质瘤组织以及瘤旁正常脑组织 lncRNA-ADAMTS9-AS2 的表达水平。所有入选病人术后均进行 5 年随访或直到死亡,根据 Kaplan-Meier 方法进行生存曲线分析,采用多因素 Cox 比例风险回归模型分析死亡的风险因素。**结果** 与瘤旁正常脑组织相比,胶质瘤组织 lncRNA-ADAMTS9-AS2 的表达水平明显降低( $P<0.001$ );而且,高级别(WHO III~IV 级)胶质瘤表达水平明显低于低级别(WHO I~II 级)胶质瘤( $P<0.05$ )。57 例中,lncRNA-ADAMTS9-AS2 呈低表达 31 例(低表达组),高表达 26 例(高表达组)。57 例中,死亡 30 例,其中低表达组 21 例(67.7%),高表达组 10 例(38.5%)。生存曲线分析显示,低表达组病人生存时间较高表达组明显缩短( $P<0.05$ )。多因素 Cox 比例风险回归模型分析结果显示,lncRNA-ADAMTS9-AS2 低表达是预测胶质瘤病人预后不良的独立风险因素( $HR=2.413$ ;95% CI 1.462~4.421; $P=0.004$ )。**结论** lncRNA-ADAMTS9-AS2 在神经胶质瘤中表达下调,其可作为胶质瘤病人预后不良的肿瘤标志物。

**【关键词】** 神经胶质瘤;长链非编码 RNA-ADAMTS9-AS2;临床预后;肿瘤标志物

**【文章编号】** 1009-153X(2019)05-0276-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q 786

**Correlativity between low expression level of long non-coding RNA ADAMTS9-AS2 and poor prognosis in patients with gliomas**

YANG Jian-long<sup>1,2</sup>, GE Han-ming<sup>3</sup>, YAN Zhong-jun<sup>1</sup>, HU Yan<sup>1</sup>. 1. Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an 710038, China; 2. Department of Neurosurgery, Yulin Municipal Hospital, Yulin 718000, China; 3. Department of Neurology, The Affiliated Xi'an Hospital, Northwest University, Xi'an 710000, China

**【Abstract】Objective** To investigate the expression of long non-coding RNA ADAMTS9-AS2 (lncRNA-ADAMTS9-AS2) in glioma tissues in order to explore the correlativity of its expression level with the clinical prognosis in the patients with gliomas. **Methods** The levels of ADAMTS9-AS2 expression in 57 cases of glioma tissues of which, 11 belonged in WHO grade I, 16 in grade II, 22 in grade III and 8 in grade IV, and 57 cases of peritumorous normal brain tissues were detected by qRT-PCR, and then the relationship of the expression level of ADAMTS9-AS2 with the clinicopathological factors and prognosis in the patients with gliomas was statistically analyzed. **Results** The level of ADAMTS9-AS2 expression was significantly lower in the glioma tissues than that in the normal brain tissues ( $P<0.05$ ). The level of ADAMTS9-AS2 expression was significantly lower in WHO grades III~IV gliomas than that in WHO grades I~II ( $P<0.01$ ). The level of ADAMTS9-AS2 expression was significantly higher in the gliomas tissues derived from the patients with Karnofsky performance scale (KPS) $\geq 80$  or without the postoperative recurrent gliomas than those in the gliomas tissues derived from the patients with  $< 80$  scores or the patients suffering from the recurrent gliomas after the surgery ( $P<0.05$ ). **Conclusions** This study suggested that the down-regulation of ADAMTS9-AS2 expression in the glioma tissues may play a important role in the athogenesis and development of gliomas, and it can be used as a marker of poor prognosis in the patients with gliomas.

**【Key words】** Gliomas; lncRNA-ADAMTS9-AS2; Clinical prognosis; Tumor markers

胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,发病率在(4~5)/10 万人<sup>[1]</sup>。目前,手术联合放、化疗是标准的治疗方案,这对低级别胶质瘤有效,而胶质母细

胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)的平均存活时间只有 14.6 个月<sup>[2]</sup>。近年来,基于肿瘤的遗传学和分子机制相关的靶向治疗研究为胶质瘤的诊疗提供了新思路。长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA)通常被认为是一类非蛋白质编码的 RNA 分子<sup>[3]</sup>,广泛参与细胞功能的关键调节,调节细胞的多个生物学过程,包括细胞增殖和分化、凋亡和代谢<sup>[4]</sup>。lncRNA 的表达谱在正常组织和癌症组织之间有所不同,并可为人类各种癌症的诊疗和预后的提供

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2019.05.006

作者单位:710038 西安,空军军医大学第二附属医院神经外科[杨建龙[现在陕西省榆林市第一医院神经外科工作]、闫忠军、胡 焱]; 710000 西安,西北大学附属医院/西安市第三医院神经内科(葛晗明)

通讯作者:胡 焱, E-mail: yienhoo2008@163.com

指导<sup>[5]</sup>。因此,本文探讨 lncRNA-ADAMTS9-AS2 在胶质瘤中的表达模式以及临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 本研究由空军军医大学第二附属医院研究伦理委员会批准,所有入选病人均签署书面知情同意书。收集 2009 年 6 月至 2013 年 6 月在空军军医大学第二附属医院神经外科接受肿瘤切除术治疗的原发性神经胶质瘤 57 例,其中男 32 例,女 25 例;年龄 12~71 岁,平均 46 岁;WHO I 级 11 例,Ⅱ级 16 例,Ⅲ级 22 例,Ⅳ级 8 例。所有入选病人均为首次手术,且术前未行放、化疗。术中切除的瘤组织标本立刻储存在-80℃液氮中,以备后期提取 RNA。所有入选病人术后均进行 5 年随访或直到死亡,总生存时间为手术之日到死亡的日期。病人死于与神经胶质瘤无关的疾病或意外事件被排除。

1.2 lncRNA-ADAMTS9-AS2 的提取及检测 采用 Trizol 法从冷冻的组织标本中提取总 RNA,采用 NanoDrop ND-1000 分光光度计测定浓度和纯度。应用 qRT-PCR 法分别检测 lncRNA-ADAMTS9-AS2 在神经胶质瘤组织以及瘤旁正常脑组织中的表达水平,内参设置为 RNU6B。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行相对定量分析,每个组织样品实验重复 3 次。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行分析,定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用方差分析;定性资料应用  $\chi^2$  检验;根据 Kaplan-Meier 方法进行生存曲线分析;采用多因素 Cox 比例风险回归模型分析预后不良的风险因素; $P < 0.05$  为具有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤 lncRNA-ADAMTS9-AS2 表达水平显著降低 与瘤旁正常脑组织(3.62±0.30)相比,胶质瘤组织 lncRNA-ADAMTS9-AS2 的表达水平(1.32±0.15)明显降低( $P < 0.001$ )。而且,高级别(WHO Ⅲ~Ⅳ级)胶质瘤表达水平(1.00±0.19)明显低于低级别(WHO I~Ⅱ级)胶质瘤(1.64±0.17; $P < 0.05$ )。

2.2 lncRNA-ADAMTS9-AS2 表达水平与胶质瘤病人临床特征的关系 57 例中,lncRNA-ADAMTS9-AS2 表达水平低于中值水平 31 例(低表达组),高于中值水平 26 例(高表达组)。低表达组 KPS 评分<80 分比例、WHO Ⅲ~Ⅳ级比例、肿瘤部分切除比例、术后复发比例较高表达组均明显增高( $P < 0.05$ ;表 1)。

2.3 lncRNA-ADAMTS9-AS2 表达水平与胶质瘤病人生存时间的关系 57 例中,死亡 30 例,其中低表达

表 1 lncRNA-ADAMTS9-AS2 表达水平与胶质瘤病人临床特征的关系

临床特征	ADAMTS9-AS2 表达水平		P 值
	高表达组	低表达组	
年龄			0.783
<50 岁	11	12	
≥ 50 岁	15	19	
性别			0.829
男	15	17	
女	11	14	
肿瘤直径			0.370
< 4.5 cm	12	18	
≥ 4.5 cm	14	13	
KPS 评分			0.013
≥80 分	17	10	
<80 分	9(34.6%)	21(67.7%)	
病理分级			
WHO I~Ⅱ级	15	8	0.015
WHO Ⅲ~Ⅳ级	11(42.3%)	23(74.2%)	
切除程度			0.012
部分切除	5(19.2%)	16(51.6%)	
全切	21	15	
术后复发			0.025
是	9(34.6%)	20(64.5%)	
否	17	11	

表 2 胶质瘤预后不良风险因素的多因素 Cox 比例风险回归模型分析结果

风险因素	风险比(95%置信区间)	P 值
KPS 评分<80 分	2.446(1.517~4.447)	0.003
WHO 分级Ⅲ~Ⅳ级	2.311(1.424~4.245)	0.006
肿瘤部分切除	2.379(1.472~4.287)	0.005
肿瘤术后复发	2.618(1.619~4.895)	<0.001
ADAMTS9-AS2 低表达	2.413(1.462~4.421)	0.004

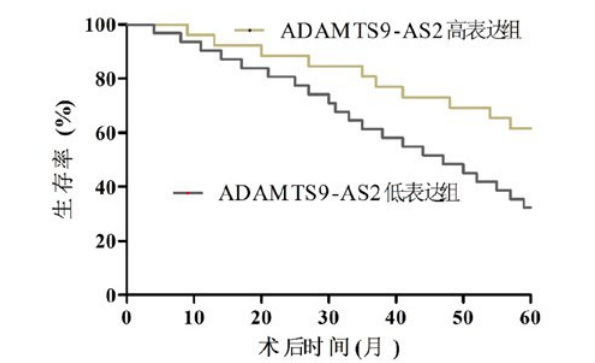


图 1 lncRNA-ADAMTS9-AS2 高表达组和低表达组病人生存曲线图

组 21 例(67.7%),高表达组 10 例(38.5%)。生存曲线分析显示,低表达组病人生存时间较高表达组明显缩短( $P<0.05$ ;图 1)。多因素 Cox 比例风险回归模型分析结果显示,KPS 评分 $<80$ 分、肿瘤病理级别高、肿瘤部分切除、肿瘤术后复发、lncRNA-ADAMTS9-AS2 低表达是预测胶质瘤病人预后不良的独立风险因素( $P<0.05$ ),见表 2。

### 3 讨论

越来越多的研究表明,lncRNA 在细胞发育和人类疾病的发生、发展过程中发挥非常重要的作用,尤其是癌症<sup>[6]</sup>。lncRNA 可以调节神经胶质瘤的某些致癌过程,例如细胞增殖、细胞周期进展和侵袭等,提示 lncRNA 可作为神经胶质瘤的生物标记物和治疗靶点。也有研究证实,lncRNA 表达和肿瘤的发生以及预后之间有密切的联系<sup>[7]</sup>。

目前,许多 lncRNA 被报道直接参与肿瘤的发生和发展,并涉及多个调节机制,包括 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、PI3K/Akt/mTOR 信号通路等。Li 等<sup>[8]</sup>发现 lncRNA-AB073614 可激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,进而促进胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。Liu 等<sup>[9]</sup>证实,lncRNA-TP73-AS1 通过抑制 KISS1 的表达,从而促进肾透明细胞癌细胞增殖并抑制细胞凋亡。Wang 等<sup>[10]</sup>发现 lncRNA-HOXA11-AS 可预测神经胶质瘤病人的预后。然而,到目前为止,只有少数 lncRNA 被报道与神经胶质瘤发生和发展有关。lncRNA-ADAMTS9-AS2 被发现在多种类型的恶性肿瘤细胞的生物进程中发挥作用。Liu 等<sup>[11]</sup>证实 lncRNA-ADAMTS9-AS2 在肺癌组织中表达降低,提高其表达水平可抑制癌细胞增殖和迁移能力,并促进细胞凋亡。有研究发现 lncRNA-ADAMTS9-AS2 的表达水平在胶质瘤中显著降低,从而发挥抑癌基因的作用<sup>[12]</sup>。本文结果显示 lncRNA-ADAMTS9-AS2 低表达可作为神经胶质瘤病人预后不良的独立预测因子。

总之,lncRNA-ADAMTS9-AS2 在胶质瘤组织中呈低表达,可能是胶质瘤病人低生存率以及恶性进展的表现,可作为预测胶质瘤病人不良预后的肿瘤标志物以及临床治疗的潜在靶点。

### 【参考文献】

[1] 林婷婷,李 钢.脑胶质瘤的综合临床治疗的研究进展

[J].中国临床神经外科杂志,2013,18(5):316-319.

- [2] 赛 克,陈忠平.胶质瘤的疗效评价[J].中国临床神经外科杂志,2016,21(6):321-322.
- [3] Dianatpour A, Ghafouri-Fard S. Long non coding RNA expression intersecting cancer and spermatogenesis: a systematic review [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(10): 2601-2610.
- [4] Kraus TF, Greiner A, Guibourt V, *et al.* Identification of stably expressed lncRNAs as valid endogenous controls for profiling of human glioma [J]. J Cancer, 2015, 6(2): 111-119.
- [5] Barry G. Integrating the roles of long and small non-coding RNA in brain function and disease [J]. Mol Psychiatry, 2014, 19(4): 410-416.
- [6] Koch L. Functional genomics: screening for lncRNA function [J]. Nat Rev Genet, 2017, 18(2): 70.
- [7] 张素洁,胡 毅,马俊勋.长链非编码 RNA 检测在肿瘤诊断及预后评估中的应用综述[J].解放军医学院学报, 2016,37(8):912-915.
- [8] Li Y, Zhu G, Zeng W, *et al.* Long noncoding RNA AB073614 promotes the malignance of glioma by activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling through downregulating SOX7 [J]. Oncotarget, 2017, 8(39): 65577-65587.
- [9] Liu G, Zhao X, Zhou J, *et al.* LncRNA TP73-AS1 Promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis in clear cell renal cell carcinoma through repressing kiss1 expression and inactivation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 48(1): 371-384.
- [10] Wang Q, Zhang J, Liu Y, *et al.* A novel cell cycle-associated lncRNA, HOXA11-AS, is transcribed from the 5'-prime end of the HOXA transcript and is a biomarker of progression in glioma [J]. Cancer Lett, 2016, 373(2): 251-259.
- [11] Liu C, Yang Z, Deng Z, *et al.* Upregulated lncRNA ADAMTS9-AS2 suppresses progression of lung cancer through inhibition of miR-223-3p and promotion of TGFBR3 [J]. Iubmb Life, 2018, 70(6):536-546.
- [12] Yao J, Zhou B, Zhang J, *et al.* A new tumor suppressor lncRNA ADAMTS9-AS2 is regulated by DNMT1 and inhibits migration of glioma cells [J]. Tumour Biol, 2014, 35(8): 7935-7944.

(2018-10-18 收稿,2019-01-18 修回)