

lncRNA SNHG16 在人脑胶质瘤组织中的表达及其与病人预后的关系

孙青青 任洪波 牛国栋

【摘要】目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)SNHG16 在人脑胶质瘤组织中的表达及其与病人预后的关系。**方法** 实时荧光定量 PCR 检测 104 例 2013 年 9 月至 2015 年 1 月本院病理科冻存的胶质瘤组织和 2018 年 4 月至 2019 年 1 月颅脑损伤内减压术中切除的 40 例正常脑组织 lncRNA SNHG16 的相对表达量。以 SNHG16 表达量的中位数为截断值,将胶质瘤病人分为高表达组和低表达组。随访截止时间为 2019 年 6 月,记录总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)。**结果** 胶质瘤组织 SNHG16 相对表达量明显高于正常脑组织($P<0.001$);高级别胶质瘤组织 SNHG16 相对表达量明显高于低级别胶质瘤组织($P<0.001$)。多因素 Cox 比例回归风险模型分析结果显示,SNHG16 高表达是胶质瘤病人 OS 和 PFS 缩短的独立危险因素($P<0.05$)。生存曲线分析显示高表达组 OS(中位数 25 个月,四分位数 18~34 个月)和 PFS(中位数 15 个月,四分位数 9~18 个月)较低表达组(OS 中位数 35 个月,四分位数 20~42 个月;PFS 中位数 19 个月,四分位数 12~20 个月)明显缩短($P<0.05$)。**结论** 人脑胶质瘤 SNHG16 呈高表达,与病人不良生存预后和肿瘤进展有关。

【关键词】 胶质瘤;长链非编码 RNA;核内小 RNA 宿主基因 16;预后;影响因素

【文章编号】 1009-153X(2020)12-0831-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q 786

Expression of lncRNA SNHG16 in human glioma tissues and its relationship with prognosis of glioma patients

SUN Qing-qing, REN Hong-bo, NIU Guo-dong. Department of Neurosurgery, Handan Central Hospital, Handan 056000, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression of long non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 16 (SNHG16) in human glioma tissues and its relationship with the prognosis of glioma patients. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the relative expression level of lncRNA SNHG16 in glioma tissues obtained from 104 patients with glioma who underwent craniotomy from September 2013 to January 2015 and in normal cerebral tissues obtained from 40 patients with traumatic brain injury who underwent decompression from April 2018 to January 2019. Taking the median of SNHG16 expression as the cut-off value, glioma patients were divided into high expression group and low expression group. The deadline for follow-up was June 2019, and overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) were recorded. **Results** The relative expression level of SNHG16 in glioma tissues was significantly higher than that in normal cerebral tissues ($P<0.05$). The relative expression level of SNHG16 in high-grade glioma tissues was significantly higher than that in low-grade glioma tissues ($P<0.05$). The multivariate Cox proportional regression risk model analysis showed that high expression of SNHG16 was risk factors for shorter OS and PFS of glioma patients ($P<0.05$). The OS and PFS of the low expression group were significantly higher than those of the high expression group ($P<0.05$). **Conclusions** The lncRNA SNHG16 is highly expressed in human gliomas. The high expression of SNHG16 is related to the poor survival prognosis and tumor progression of glioma patients.

【Key words】 Glioma; Long chain noncoding RNA; Small nucleolar RNA host gene 16; Prognosis

胶质瘤是颅内常见肿瘤,预后较差,寻找胶质瘤潜在分子生物学标志物是临床研究的重点^[1]。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度大于 200 个核苷酸的非蛋白编码转录子,在染色质修饰、转录调节和转录后调节等多方面发挥作用,与肿瘤的发生和发展密切相关^[2]。核内小 RNA 宿主基

因 16(small nucleolar RNA host gene 16, SNHG16)最早在神经母细胞瘤中发现的 lncRNA,其在胃癌^[3]、肝细胞癌^[4]和胰腺癌^[5]等肿瘤组织中高表达,并且与病人预后密切相关。本文探讨胶质瘤组织 lncRNA SNHG16 的表达水平及其与病人预后的关系。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 2013 年 9 月至 2015 年 1 月本院病理科冻存的胶质瘤组织 104 例,术前均未接受过放化疗,其中男 67 例,女 37 例;年龄 26~76 岁,平均

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.12.005
作者单位:056000 河北,邯郸市中心医院神经外科(孙青青、任洪波、牛国栋)

(55.52±10.01)岁;低级别胶质瘤 37 例(WHO 分级 I 级 16 例,Ⅱ级 21 例),高级别胶质瘤 67 例(WHO 分级Ⅲ级 47 例,Ⅳ级 20 例)。另选取 2018 年 4 月~2019 年 1 月颅脑损伤内减压术中切除的脑组织 40 例为对照,其中男 26 例,女 14 例;年龄 39~66 岁,平均(53.10±8.76)岁。两组性别、年龄无统计学差异($P>0.05$)。

1.2 实时荧光定量 PCR 检测组织 lncRNA SNHG16 的表达 取 50 mg 组织标本,加入 1 ml TRIzol 充分匀浆,室温静置 5 min,随后加入氯仿、异丙醇、75%乙醇,晾干后加入 DEPC 水,获得总 DNA。用 AMV 反转录试剂盒(美国 Life Technologies 公司)反转录获得 cDNA,反应条件为 37 ℃ 15 min,85 ℃ 15 s;反应体系为 2 μl 5×反应混合液、1 μl RNA 和 7 μl H₂O。引物序列:SNHG16 上游 5'-ACATCGGCATGATGGCAGAA-3',下游 5'-TCACAAAAGGCGGGACCAC-3';内参 GAPDH 上游 5'-CAAGGTCATCCATGACAACTTTG-3',下游 5'-GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG-3'。按 2×SYBR Green PCR Mastermix 试剂盒(北京迈瑞达科技有限公司)进行 PCR,反应体系为 10 μl SYBR、1 μl cDNA、1 μl 引物和 8 μl 7 μl H₂O;反应条件为 95 ℃ 10 min、95 ℃ 30 s、60 ℃ 15 s、72 ℃ 20 s(40 个循环),72 ℃ 10 min。用 2^{-ΔΔC_t}法计算基因相对表达量。以 SNHG16 表达量的中位数为截断值,将胶质瘤病人分为高表达组和低表达组。

1.3 随访 术后第 1 年每 3 个月随访一次,随后每 6 个月随访 1 次。随访截止时间为 2019 年 6 月。记录总生存期(overall survival, OS),为术后第 1 天至死亡或最后一次随访;无进展生存期(progression-free-survival, PFS),为术后至第一次发生疾病进展或任何原因死亡的时间。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件分析;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线;多因素 Cox 比例回归风险模型分析生存期影响因素; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织 SNHG16 的表达变化 胶质瘤组织 SNHG16 相对表达量明显高于正常脑组织($P<0.001$);高级别胶质瘤组织 SNHG16 相对表达量明显高于低级别胶质瘤组织($P<0.001$)。见图 1。

2.2 胶质瘤病人生存预后的影响因素 多因素 Cox 比例回归风险模型分析结果显示,胶质瘤病理级别高、SNHG16 高表达、术后未放疗、术后未化疗是胶质瘤病人 OS 和 PFS 缩短的独立危险因素($P<0.05$)。见表 1、2。

2.3 SNHG16 表达水平与胶质瘤病人 OS 和 PFS 的关系 高表达组中位 OS 为 25 个月(四分位数 18~34 个月),中位 PFS 为 15 个月(四分位数 9~18 个月);低表达组中位 OS 为 35 个月(四分位数 20~42 个月),中位 PFS 为 19 个月(四分位数 12~20 个月)。低表达组 OS

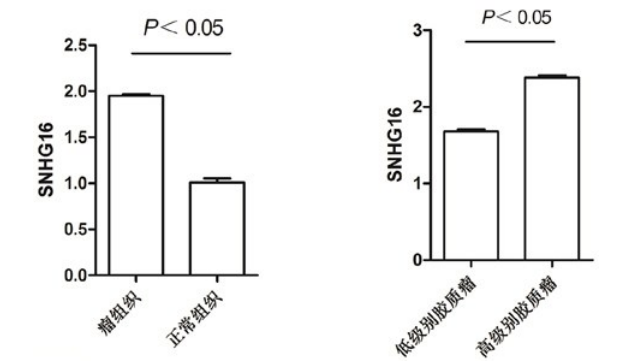


图 1 实时荧光定量 PCR 检测核内小 RNA 宿主基因 16

表 1 104 例胶质瘤病人总生存期影响因素的 Cox 比例回归风险模型分析结果

| 危险因素 | 单因素 | | | 多因素 | | |
|----------------------|-------|-------------|--------|-------|-------------|--------|
| | 风险比 | 95%置信区间 | P 值 | 风险比 | 95%置信区间 | P 值 |
| 年龄(≥55 岁/<55 岁) | 1.231 | 0.678~1.703 | 0.333 | | | |
| 性别(男/女) | 1.083 | 0.584~1.621 | 0.410 | | | |
| 肿瘤直径(≥3 cm/<3 cm) | 1.111 | 0.823~1.499 | 0.278 | | | |
| 肿瘤部位(额叶/其它) | 1.003 | 0.458~1.452 | 0.691 | | | |
| 病理类型(星形胶质细胞/其它) | 0.783 | 0.444~1.201 | 0.286 | | | |
| 胶质瘤分级(高级别/低级别) | 3.001 | 1.312~5.437 | <0.001 | 2.807 | 1.804~5.870 | <0.001 |
| 切除范围(未全切除/全切除) | 1.321 | 0.623~1.587 | 0.379 | | | |
| 术后放疗(否/是) | 1.878 | 1.200~3.098 | 0.003 | 1.563 | 1.351~2.879 | 0.017 |
| 术后化疗(否/是) | 1.763 | 1.320~2.312 | 0.011 | 1.345 | 1.108~1.897 | 0.042 |
| SNHG16 表达水平(高表达/低表达) | 3.365 | 1.651~4.265 | <0.001 | 2.907 | 2.110~4.576 | <0.001 |

表 2 104 例胶质瘤病人无进展生存期影响因素的 Cox 比例回归风险模型分析结果

| 危险因素 | 单因素 | | | 多因素 | | |
|----------------------|--------|-------------|--------|-------|-------------|--------|
| | 风险比 | 95%置信区间 | P 值 | 风险比 | 95%置信区间 | P 值 |
| 年龄(≥55 岁/<55 岁) | 1.231 | 0.704~1.452 | 0.274 | | | |
| 性别(男/女) | 1.4501 | 0.883~1.876 | 0.090 | | | |
| 肿瘤大小(≥3 cm/<3 cm) | 1.645 | 0.795~1.401 | 0.531 | | | |
| 肿瘤部位(额叶/其它) | 1.239 | 0.710~1.624 | 0.109 | | | |
| 病理类型(星形胶质细胞/其它) | 0.787 | 0.378~1.200 | 0.416 | | | |
| 胶质瘤分级(高级别/低级别) | 3.090 | 1.684~4.792 | <0.001 | 2.583 | 1.794~4.888 | <0.001 |
| 切除范围(未全切除/全切除) | 1.122 | 0.643~1.356 | 0.712 | | | |
| 术后放疗(否/是) | 2.098 | 1.445~2.897 | 0.029 | 1.897 | 1.345~2.660 | 0.031 |
| 术后化疗(否/是) | 1.897 | 1.240~3.001 | 0.003 | 2.121 | 1.437~2.897 | 0.025 |
| SNHG16 表达水平(高表达/低表达) | 2.784 | 1.674~4.050 | <0.001 | 3.001 | 1.865~4.163 | <0.001 |

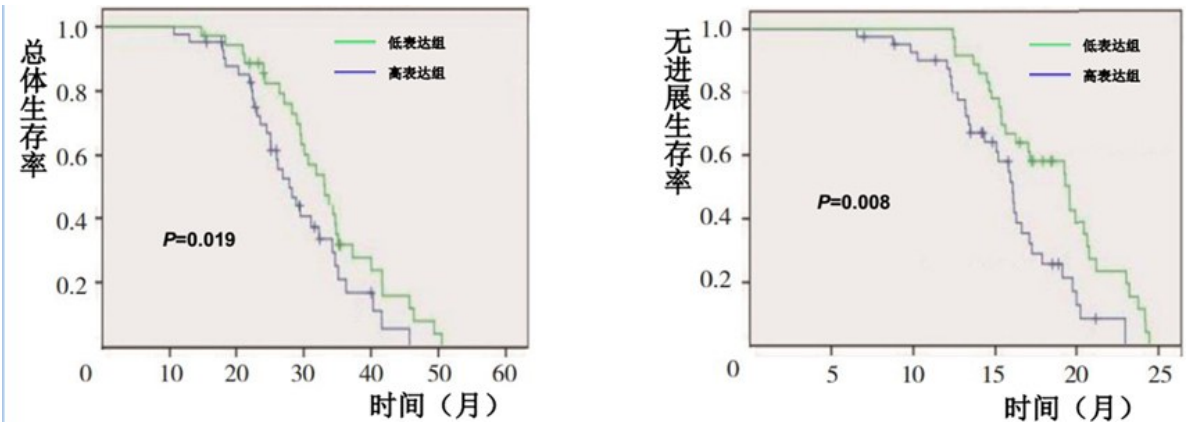


图 2 生存曲线分析 SNHG16 表达水平与胶质瘤病人生存预后的关系

和 PFS 均明显高于高表达组 ($P<0.05$)。见图 2。

3 讨论

lncRNA 在多种肿瘤中表达异常。本文采用实时荧光定量 PCR 检测 104 例胶质瘤组织 SNHG16 的表达,发现胶质瘤组织 SNHG16 呈高表达,胶质瘤病理级别越高,其表达水平越高,说明 SNHG16 可能参与胶质瘤的发生。SNHG16 是位于染色体 17q25.1 上的 lncRNA,与肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡密切相关,参与多种肿瘤的发生和发展^[6,7]。其作用机制可能有:①靶向作用于 miRNA,进而调控其下游信号通路^[3,5],SNHG16 可能通过 miR-373/EGFR 轴激活 PI3K/AKT 信号通路,进而促进胶质瘤 LN229 细胞侵袭^[8];②调控 Wnt 信号通路影响肿瘤脂质代谢^[9,10];③通过调控 CDK2 蛋白表达影响细胞周期,研究发现敲低 SNHG16 可使细胞周期中 S 期被阻滞^[11];④参与免疫炎症损伤^[12]。影响胶质瘤病人预后的因素较多。本文发现高级别胶质瘤是不良生存预后的危险因素,而术后放化疗是保护性因素。这与既往报道

一致^[13,14]。本文结果显示,SNHG16 低表达组 PFS 和 OS 明显高于高表达组,提示 SNHG16 可能作为胶质瘤预后评价的指标。

综上所述,SNHG16 在胶质瘤组织中呈高表达,并且与胶质瘤不良生存预后和肿瘤进展有关。

【参考文献】

[1] Gusyatiner O, Hegi ME. Glioma epigenetics: from subclassification to novel treatment options [J]. Semin Cancer Biol, 2018, 51: 50–58.

[2] Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm [J]. Cancer Res, 2017, 77(15): 3965–3981.

[3] Wang X, Kan J, Han J, et al. LncRNA SNHG16 functions as an oncogene by sponging mir-135a and promotes JAK2/STAT3 signal pathway in gastric cancer [J]. J Cancer, 2019, 10(4): 1013–1022.