

人脑胶质瘤 lncRNA PIK3CD-AS2 表达及临床意义

郑江林 王 旋 汪珉杰 姜晓兵

【摘要】目的 探讨 lncRNA PIK3CD-AS2 在人脑胶质瘤中的表达及临床意义。方法 计算机检索 TCGA 和 GTEx 数据库关于 PIK3CD-AS2 在胶质瘤和正常脑组织中表达的 RNA 数据,应用生物信息学方法分析 PIK3CD-AS2 表达与胶质瘤病人预后的关系。收集 2010 年 9 月至 2015 年 6 月我院手术切除的胶质瘤组织 127 例以及 2018 年 1 月至 2019 年 10 月颅脑损伤内减压术中切除的正常脑组织 38 例,qRT-PCR 检测 PIK3CD-AS2 表达量。127 例胶质瘤病人随访至 2020 年 6 月或病人死亡,分析 PIK3CD-AS2 表达与胶质瘤病人预后的关系。结果 生信分析和临床病例分析结果显示,与正常脑组织相比,胶质瘤组织 PIK3CD-AS2 表达显著升高($P<0.05$);胶质瘤 WHO 分级越高,PIK3CD-AS2 的表达水平也越高($P<0.05$);PIK3CD-AS2 高表达是胶质瘤病人预后不佳的独立预测因子($P<0.05$),PIK3CD-AS2 高表达病人总生存期显著低于 PIK3CD-AS2 低表达病人($P<0.05$)。结论 PIK3CD-AS2 在胶质瘤中高表达,可作为胶质瘤病人的预后标志物。

【关键词】胶质瘤;长链非编码 RNA;PIK3CD-AS2;预后;影响因素

【文章编号】1009-153X(2021)09-0687-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Expression of lncRNA PIK3CD-AS2 in human brain gliomas and its clinical significance

ZHENG Jiang-lin, WANG Xuan, WANG Min-jie, JIANG Xiao-bing. Department of Neurosurgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

【Abstract】Objective To investigate the expression of lncRNA PIK3CD-AS2 in human glioma tissues and its relationship with the prognosis of glioma patients. Methods The databases of TCGA and GTEx were searched for the RNA data of lncRNA PIK3CD-AS2 expression in human glioma tissues and normal cerebral tissues. The relationship between PIK3CD-AS2 expression and the prognosis of glioma patients was analyzed using bioinformatics methods. The expression level of lncRNA PIK3CD-AS2 were detected by qRT-PCR in the glioma tissues obtained from 127 glioma patients who underwent surgery from September 2010 to June 2015 and in the normal cerebral tissues obtained from 38 patients with traumatic brain injury who underwent decompression from January 2018 to October 2019. The glioma patients were followed up until June 2020 or the patients died, and the relationship between PIK3CD-AS2 expression and the prognosis of 127 glioma patients was analyzed. Results The results of bioinformatics analysis and clinical case analysis showed that the expression of PIK3CD-AS2 in glioma tissues was significantly increased compared with normal brain tissue ($P<0.05$); the higher the WHO grade of glioma, the higher the expression level of PIK3CD-AS2 ($P<0.05$); high expression of PIK3CD-AS2 was an independent predictor of poor prognosis for patients with glioma ($P<0.05$); the overall survival of glioma patients with high expression of PIK3CD-AS2 was significantly lower than that of glioma patients with low expression of PIK3CD-AS2 ($P<0.05$). Conclusions lncRNA PIK3CD-AS2 is highly expressed in human brain gliomas and can be used as a prognostic biomarker for glioma patients.

【Key words】Brain glioma; Long non-coding RNA; PIK3CD-AS2; Prognosis

胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤,具有难治疗、易复发、生存期短的特点^[1-3],特别是胶质母细胞瘤,中位生存期仅 8 个月左右^[4]。近年来,胶质瘤潜在的分子生物学标志物成为研究的重点。长链非编码 RNA (long-coding RNA, lncRNA) 是一类长度大于 200 个核苷酸的非蛋白编码转录子,通过染色质修饰、转录修饰和转录后修饰等参与基因的表达调控,与肿瘤细胞的增殖、侵袭、代谢、耐

药等紧密相关^[5,6]。本文探讨 lncRNA PIK3CD-AS2 在人脑胶质瘤中的表达情况及临床意义。

1 资料与方法

1.1 公共数据库检索 检索 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载胶质瘤组织 RNA 测序数据及对应的临床数据。纳入标准为:①总生存期≥30 d;②WHO 分级明确;③IDH 突变、1p19q 共缺失和 MG-MT 启动子甲基化数据完整。最终纳入符合标准的胶质瘤共 531 例。检索 GTEx 数据库(<https://gtexportal.org/>)下载 1 152 例正常脑组织的 RNA 测序数据作为对照。所有 RNA 测序数据经过统一的标准化处

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2021.09.011
作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院神经外科(郑江林、王 旋、汪珉杰、姜晓兵)

理。

1.2 临床病例 收集 2010 年 9 月至 2015 年 6 月手术切除的原发性胶质瘤标本 127 例,其中男 84 例,女 43 例;年龄 19~76 岁,平均(45.14±11.50)岁;WHO 分级Ⅱ级 45 例,Ⅲ级 55 例,Ⅳ级 27 例。所有病人均为首次手术且术前未行放化疗,术后均随访至 2020 年 6 月或直至死亡。另收集 2018 年 1 月至 2019 年 10 月颅脑损伤内减压术中切除的正常脑组织标本 38 例作为对照,其中男 22 例,女 16 例;年龄 24~69 岁,平均(44.24±11.53)岁。本研究由华中科技大学同济医学院研究伦理委员会批准。

1.3 临床病例的 lncRNA PIK3CD-AS2 的提取及检测 采用 Trizol 提取总 RNA,测定 RNA 纯度和浓度,应用逆转录试剂盒(Takara RR036A)逆转录成 cDNA,qRT-PCR 采用 TB Green Premix Ex Taq II (Takara RR820A),检测 lncRNA PIK3CD-AS2 表达水平。引物序列:PIK3CD-AS2 正义链 5'-GGGATCATAAATGCTTGCTGTT-3',反义链 5'-CGTATTAGTTACTGTTGCTGTT-3';内参 GAPDH 正义链 5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3',反义链 5'-TGGGTGAATCATATTGGAACA-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法

进行相对定量分析,每个组织样品实验重复 3 次。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 25.0 软件分析;定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验;定性资料采用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率法检验;Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 Log-rank 检验;多因素 Cox 风险回归模型分析预后影响因素;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 公共数据库分析结果 与正常脑组织(GTEX;n=1 152)相比,胶质瘤组织(TCGA;n=531) lncRNA PIK3CD-AS2 表达水平显著升高(*P*<0.001;图 1)。胶质瘤 WHO 分级越高,PIK3CD-AS2 表达水平明显增高(*P*<0.001;图 1)。

以 PIK3CD-AS2 表达水平中位数为界,将 TCGA 中 531 例胶质瘤分为高表达组(265 例)和低表达组(266 例)。多因素 Cox 风险回归模型分析显示,年龄增大、WHO 高级别以及 PIK3CD-AS2 高表达是胶质瘤预后不良的独立危险因素(*P*<0.001,图 3),而 IDH 突变和 1p19q 共缺失是胶质瘤预后较好的独立保护因素(*P*<0.05,图 2)。生存曲线分析显示,高表达组总生存期较低表达组显著缩短(*P*<0.001;图 3)。

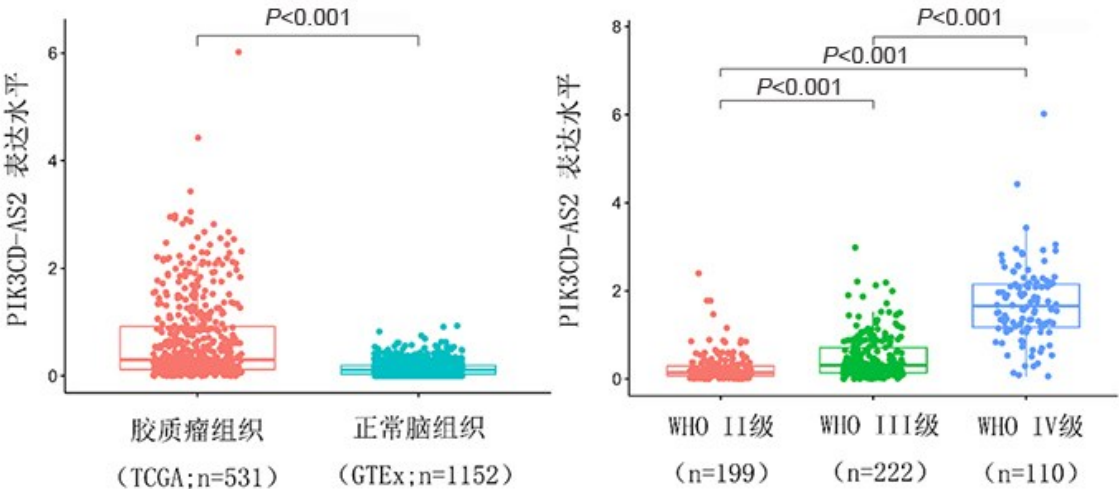


图 1 检索 TCGA 和 GTEX 数据库分析胶质瘤组织与正常脑组织 lncRNA PIK3CD-AS2 的表达情况

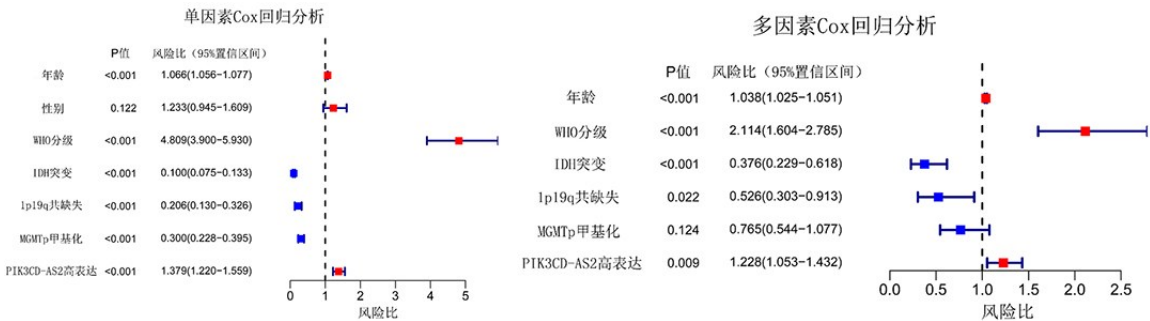


图 2 检索 TCGA 数据库应用多因素 Cox 比例回归风险模型分析胶质瘤预后影响因素

表 1 临床收集的 127 例胶质瘤生存预后影响因素的 Cox 比例回归风险模型分析

影响因素	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	1.045(1.024~1.067)	<0.001	1.010(0.987~1.033)	0.397
性别(男/女)	1.370(0.849~2.210)	0.197		
术前 KPS 评分(<80 分/≥80 分)	1.848(1.189~2.873)	0.006	1.064(0.666~1.700)	0.796
肿瘤直径(>4 cm/≤4 cm)	1.700(1.092~2.646)	0.019	0.544(0.269~1.097)	0.089
切除程度(未全切除/全切除)	0.792(0.511~1.226)	0.295		
WHO 分级(Ⅲ~Ⅳ级/Ⅰ~Ⅱ级)	2.260(1.678~3.045)	<0.001	2.133(1.287~3.537)	0.003
1p19q 缺失状态(共缺失/非共缺失)	0.792(0.511~1.226)	0.110		
MGMT 启动子甲基化状态	0.614(0.395~0.953)	0.030	1.231(0.742~2.040)	0.421
PIK3CD-AS2 表达水平(高表达/低表达)	13.480(6.023~30.172)	<0.001	6.540(2.408~17.757)	<0.001

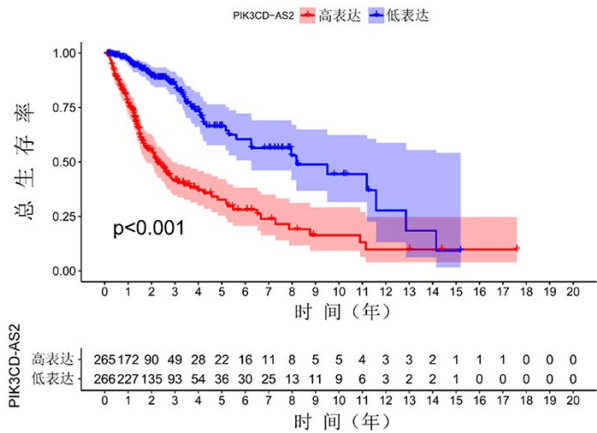


图 3 检索 TCGA 数据库应用生存曲线分析 PIK3CD-AS2 表达水平与胶质瘤病人总生存期的关系

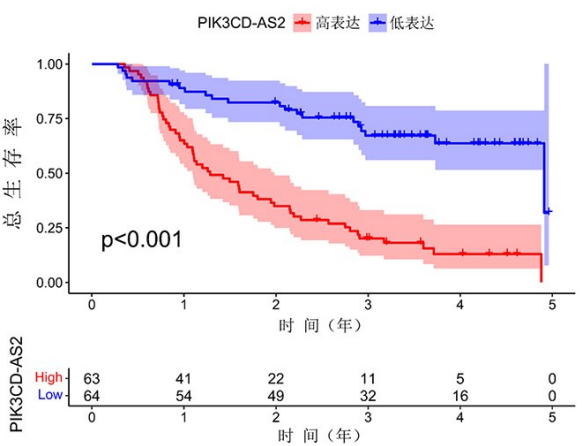


图 5 生存曲线分析临床收集的 127 例脑胶质瘤 lncRNA PIK3CD-AS2 表达水平与病人总生存期的关系
显著缩短($P<0.001$;图 5)。

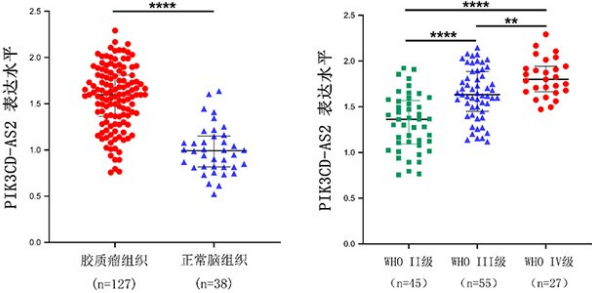


图 4 临床检测 125 例胶质瘤 lncRNA PIK3CD-AS2 表达水平
** $P<0.01$;**** $P<0.0001$

2.2 临床病例分析结果 与正常脑组织相比,胶质瘤组织 lncRNA PIK3CD-AS2 表达水平显著升高($P<0.0001$)。随胶质瘤 WHO 分级升高,PIK3CD-AS2 表达水平也明显增加(图 4)。以 PIK3CD-AS2 表达水平中位数为界,将 127 例胶质瘤分为高表达组(63 例)和低表达组(64 例)。多因素 Cox 风险回归模型分析显示例,WHO 高级别以及 PIK3CD-AS2 高表达是胶质瘤预后不良的独立危险因素($P<0.001$;表 1)。生存曲线分析显示,高表达组总生存期较低表达组

3 讨论

胶质瘤为中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤,难以完全切除,术后易复发,预后极差,因此,寻找胶质瘤潜在的分子生物学标志物具有重要意义。Wu 等^[7]发现 lncRNA DUXAP10 通过 HuR/Sox12 信号轴维持胶质瘤细胞的干细胞特性。Cai 等^[8]发现 lncRNA LINC0098 能够通过 CBX3 介导的 c-Met/Akt/mTOR 信号轴抑制胶质瘤细胞增殖。这表明, lncRNA 参与胶质瘤的发生与发展过程。
lncRNA PIK3CD-AS2 位于染色体 1p36.22,大小为 953 bp。Zheng 等^[9]研究发现 PIK3CD-AS2 在肺腺癌中高表达,并且通过 PIK3CD-AS2/YBX1/p53 信号轴促进肺腺癌细胞增殖。本文首先检索公共数据库进行生信分析,结果发现与正常脑组织比,胶质瘤组织 lncRNA PIK3CD-AS2 显著高表达,并且随胶质瘤 WHO 分级的升高,PIK3CD-AS2 的表达也明显增加。
(下转第 701 页)