

· 论 著 ·

lncRNA NEAT1 在人脑胶质瘤的表达变化
及其与病人预后的关系

周建华 胡 涛 陈 宇 雷 丹 陈谦学

【摘要】目的 探讨长链非编码核糖核酸(lncRNA)NEAT1 在人脑胶质瘤中的表达水平及其临床意义。方法 收集武汉大学人民医院神经外科 2008 年 4 月到 2013 年 4 月收治的 65 例脑胶质瘤标本及同期因颅脑手术切除的正常脑组织 27 例。65 例胶质瘤中,WHO I~II 级 26 例,III~IV 级 39 例。根据胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 表达水平,将 65 例胶质瘤分成 lncRNA NEAT1 高表达组($n=38$)和低表达组($n=27$)。应用 RT-PCR 检测 lncRNA NEAT1 的表达水平,用 Kaplan-Meier 法进行生存分析,用多因素 Cox 比例风险回归模型分析 lncRNA NEAT1 的表达水平与病人预后关系。结果 胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 的表达水平(2.893 ± 0.296)显著高于正常人大脑组织(1.000 ± 0.297 ; $P=0.001$)。WHO I~II 级胶质瘤 lncRNA NEAT1 的表达水平(2.160 ± 0.270)显著低于 WHO III~IV 级胶质瘤(3.627 ± 0.312 ; $P=0.005$)。lncRNA NEAT1 高表达组病人术后生存期明显缩短($P=0.033$),术后 5 年累积生存率显著低于 lncRNA NEAT1 低表达组($P=0.033$)。lncRNA NEAT1 表达水平高、病理级别高、KPS 评分 <80 分以及复发时间 <3 个月是影响胶质瘤病人术后预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 lncRNA NEAT1 在人脑胶质瘤组织中表达水平明显增高,其表达水平与胶质瘤病人预后显著相关。

【关键词】胶质瘤;长链非编码核糖核酸;NEAT1;预后

【文章编号】1009-153X(2019)03-0148-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 739.41; Q 786

Relationship of expression level of long non-coding RNA NEAT1 with prognoses in the patients with gliomas

ZHOU Jian-hua^{1,2}, HU Tao², CHEN Yu², LEI Dan³, CHEN Qian-xue¹. 1. Department of Neurosurgery, People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2. Department of Neurosurgery, Union Jiangbei Hospital, Wuhan 430100 China; 3. Department of Neurosurgery, Wuhan Hanyang Hospital, Wuhan 420100 China

【Abstract】Objective To study the expression level of the long non-coding RNA NEAT1 in glioma tissues and its clinical significance. Methods The levels of long on-coding RNA NEAT1 expression were determined by RT-PCR in 27 normal cerebral tissues samples and 65 gliomas tissues samples, of which, 26 were WHO grades I~II glioma samples and 39 WHO grades III~IV. The survival rate in 65 patients with gliomas from whom the gliomas samples were derived was analyzed by Kaplan-Meier method and Log-rank. The factors related to the prognoses in these 65 patients with gliomas were univariate analysis and the Cox proportional risk regression model. Results The level of NEAT1 expression was significantly higher in the glioma tissues than that in the normal cerebral tissues ($P<0.01$). The level of the NEAT1 expression was significantly higher in the grades III~IV gliomas tissues than that in the grades I~II gliomas tissues ($P<0.01$). The risk factors related to the prognoses in these 65 patients with gliomas included the high level of NEAT1 expression, high WHO grade, Karnofsky performance score <80 points and recurrence time <3 months. Conclusion The level of NEAT1 expression is significantly increased in the gliomas tissues compared to that in the normal cerebral tissues and is negatively correlated with the prognoses in the patients with gliomas. It is suggested that the level of NEAT1 expression in the gliomas tissues is an important index to predict the prognoses in the patients with gliomas.

【Key words】Gliomas; Long non-coding RNA; NEAT1; Prognosis; Expression

胶质瘤呈侵袭性生长,使肿瘤组织与周围正常组织无明显分界,即使手术联合放、化疗的综合性治疗,低级别胶质瘤存活时间仅 3~5 年,而高级别胶质瘤则短至 1~2 年^[1-3]。长链非编码核糖核酸(long

non-coding RNA, lncRNA)是一类转录副本长度超过 200 个核苷酸的 RNA。因 lncRNA 无蛋白编码功能,最初被认为是转录过程中产生的垃圾,不具有生物学活性^[4]。但越来越多的研究表明 lncRNA 在细胞内的多个生物学过程中发挥重要作用,参与基因表达、基因组印记、核内运输、染色质修饰、细胞周期等过程的调控从而广泛参与细胞内复杂的生物学过程^[5]。核富含丰富的转录本 1 (nuclear paraspeckle assembly transcript 1, NEAT1)是从人类第 11 号染色

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2019.03.007

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(周建华、陈谦学);430100 武汉,协和江北医院神经外科(胡 涛、陈 宇);420100,武汉市汉阳医院神经外科(雷 丹)

通讯作者:陈谦学, E-mail: chenqx666@sohu.com

体上一个被称为多发性内分泌瘤病 I 型的基因位点,由 RNA 聚合酶 II 转录而来,一个长度约 4 kb,未经剪切的非编码 RNA^[6]。NEAT1 与系统性红斑狼疮^[7]、结核病^[8]、胃腺癌^[9]、食管鳞状细胞癌^[10]、卵巢癌^[11]、肝癌^[12]、鼻咽癌^[13]等多种疾病的发生发展有关。本文采用实时荧光定量技术检测 65 例人脑胶质瘤组织及 30 例正常脑组织 lncRNA NEAT1 水平,探讨其与病人预后的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集武汉大学人民医院神经外科 2008 年 4 月到 2013 年 4 月收治的 65 例人脑胶质瘤组织及同期因颅脑手术切除的正常人脑组织 27 例。入选病人年龄 25~75 岁,平均 52 岁。65 例胶质瘤中,男 31 例,女 34 例;年龄<52 岁 30 例,≥52 岁 35 例;WHO I~II 级 26 例,III~IV 级 39 例;肿瘤直径<4 cm 28 例,≥4 cm 37 例;术前 KPS 评分≥80 分 29 例,<80 分 36 例;单发肿瘤 32 例,多发肿瘤 33 例;肿瘤位于额部 29 例、颞部 36 例;术后复发时间<3 个月 31 例,>3 个月 34 例。所有病人均进行 3 个月一次的定期随访,随访方式为门诊复诊或进行电话随访,随访截止时间 2018 年 4 月。

1.2 病例选取与排除标准 选取标准:①符合 WHO (2007 年)神经系统肿瘤诊断标准;②经术后病理检查确诊;③术前均未进行放、化疗或其他抗癌治疗;④所有入选病人均签署知情同意书,自愿参与本研究;⑤获得武汉大学人民医院伦理委员会批准。

排除标准:①合并其他恶性肿瘤;②合并凝血功能障碍性疾病;③合并艾滋病等免疫缺陷性疾病;④合并严重心、肝、肾等实质性器官功能障碍性疾病;⑤合并糖尿病、高血压等慢性疾病。

1.3 提取 RNA 以及实时 PCR 检测 NEAT1 表达水平 采用 Trizol 法 (Invitrogen, CA, USA) 提取组织总 RNA,吸光度值在 1.9~2.0 为合格。取 1 μl 总 RNA,按照逆转录试剂盒说明逆转录为 cDNA。然后应用实时定量逆转录 PCR 检测 NEAT1 的水平,以 GAPDH 基因为内参。引物及探针序列:NEAT1 引物正向 5'- TGGCTAGCTCAGGGCTTCAG- 3', 反向 5'- TCTCCTTGCCAAGCTTCCTTC-3';GAPDH 引物正向 5'-TGTTGCCATCAATGACCCCTT-3',反向 5'-CTC-CACGACGTACTCAGCG-3'。使用 2^{-ΔΔCt} 法定量分析。所有实验步骤至少重复 3 次。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 22.0 软件进行分析;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 *t* 检验;计数资料采用 χ^2 检验;

应用 Kaplan-Meier 法分析生存率后应用 Log-rank 进行检验;应用多因素 Cox 比例风险回归模型评估胶质瘤独立的预后危险因素;*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 表达水平变化 胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 的表达水平 (2.893±0.296) 显著高于正常脑组织 (1.000±0.297;*P*=0.001)。根据胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 表达水平,将 65 例胶质瘤分成高表达组 (n=38) 和低表达组 (n=27)。WHO I

表 1 不同 lncRNA NEAT1 表达水平的胶质瘤病人临床特征比较(例)

临床特征	lncRNA NEAT1 表达水平	
	低表达	高表达
年龄		
< 52 岁	13	17
≥ 52 岁	14	21
性别		
男	12	19
女	15	19
病理分级		
I ~ II 级	16(59.3%)	10(26.3%)*
III ~ IV 级	11	28
肿瘤直径		
<4 cm	10	18
≥4 cm	17	20
肿瘤位置		
额部	11	18
颞部	16	20
肿瘤数目		
单发	15	17
多发	12	21

注:与低表达组相应值比,* *P*<0.05

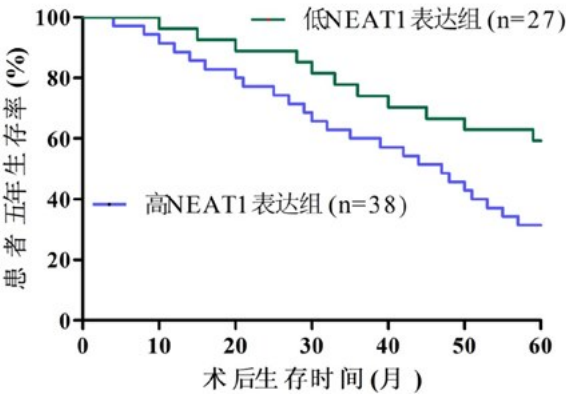


图 2 lncRNA NEAT1 高表达组和低表达组病人生存曲线

~Ⅱ级胶质瘤 lncRNA NEAT1 的表达水平 (2.160 ± 0.270) 显著低于 WHO Ⅲ~Ⅳ级胶质瘤 (3.627 ± 0.312 ; $P=0.005$)。不同年龄、不同性别、不同大小、不同部位胶质瘤 lncRNA NEAT1 的表达水平无明显差异 ($P>0.05$)。见表 1。

2.2 lncRNA NEAT1 的表达水平与胶质瘤病人预后的关系 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果显示, lncRNA NEAT1 高表达组病人术后生存期明显缩短 ($P=0.033$), 术后 5 年累积生存率显著低于 lncRNA NEAT1 低表达组 ($P=0.033$)。见图 2。

多因素 COX 比例风险回归分析结果显示, lncRNA NEAT1 的水平表达高[风险比(hazard ratio, HR)=2.443; 95% 置信区间(confidence interval, CI): 1.224~4.854; $P=0.012$]、病理分级高(HR=2.866; 95% CI: 1.625~5.445; $P=0.005$)、KPS 评分<80 分(HR=2.987; 95% CI: 1.642~5.798; $P=0.003$)以及术后复发时间<3 个月(HR=3.148; 95% CI: 1.702~5.926; $P<0.001$)是影响胶质瘤病人预后的独立危险因素。

3 讨论

胶质瘤发病年龄高峰在 10~20 岁和 30~40 岁, 易复发, 预后差^[14, 15]。寻找可靠、准确的可预测胶质瘤预后的生物学标志物以及更好的治疗手段是目前研究热点^[16, 17]。

lncRNA 不具有开放阅读框, 是不具有蛋白质编码功能的 RNA。近些年, 研究发现, 一些肿瘤组织 lncRNA 的表达水平出现异常, 而这些异常表达的 lncRNA 可影响肿瘤细胞增殖、分化或凋亡^[16, 17]。同时, 一些 lncRNA 在肿瘤组织中的表达水平与病人的生存率密切相关^[18]。陈青^[19]发现 lncRNA SNHG6 的高表达与结肠癌的分期和不良预后显著相关, 并且证实 SNHG6 在结肠癌中发挥致癌基因的作用。Yang 等^[20]发现 lncRNA HEIH 在肝癌组织中的表达水平明显升高, 通过 EZH2 增强子调控 EZH2 靶基因的表达, 进而影响细胞的增殖, 下调 HEIH 水平可使肝癌细胞出现 G0/G1 期阻滞, 导致肝癌细胞增殖能力降低。NEAT1 在多种恶性肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[21, 22]。本文采用定量逆转录 PCR 检测 lncRNA NEAT1 在胶质瘤组织及正常脑组织中的表达水平, 结果显示胶质瘤组织 lncRNA NEAT1 表达水平明显高于正常组织, 并且高分级胶质瘤 lncRNA NEAT1 的表达水平明显高于低分级胶质瘤; 高表达水平的 lncRNA NEAT1 是影响病人预后的独立危险因素, 且 lncRNA NEAT1 高表达病人术后 5 年生存率

显著降低。这提示 lncRNA NEAT1 可作为预测胶质瘤病人预后的生物学标志物。

【参考文献】

- [1] 孙荣辉, 徐国政. VEGF、MMP-9 在人脑胶质瘤中的表达及其意义[J]. 中国临床神经外科杂志, 2010, 15: 273-277.
- [2] 徐国政, 袁先厚. 脑胶质瘤靶向治疗新进展[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(9): 568-572.
- [3] 常 骏, 潘先文. 胶质瘤基因治疗进展[J]. 临床神经外科杂志, 2012, 9(3): 184-185.
- [4] 卢耀星, 杨建安, 刘银河. 心血管疾病相关 lncRNA 调控机制的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24: 537-540.
- [5] 潘 翔, 金 露, 全 晶, 等. NEAT1 在肾癌中的表达及其临床意义研究[J]. 临床泌尿外科杂志, 2016, 31(8): 706-709.
- [6] 靳倩倩, 孙亚男. 长链非编码 RNA NEAT1 在肿瘤中的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(3): 326-329.
- [7] Zhang F, Wu L, Qian J, *et al.* Identification of the long non-coding RNA NEAT1 as a novel inflammatory regulator acting through MAPK pathway in human lupus [J]. J Autoimmun, 2016, 75: 96-104.
- [8] 姚芳苒, 黄自坤, 熊国亮, 等. 肺结核患者外周血单个核细胞中 lncRNA NEAT1 的检测及临床意义[J]. 实验与检验医学, 2017, 35(1): 5-8.
- [9] Ma Y, Liu L, Yan F, *et al.* Enhanced expression of long non-coding RNA NEAT1 is associated with the progression of gastric adenocarcinomas[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 41.
- [10] Chen X, Kong J, Ma Z, *et al.* Up regulation of the long non-coding RNA NEAT1 promotes esophageal squamous cell carcinoma cell progression and correlates with poor prognosis [J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(9): 2808-2815.
- [11] 郭春芳, 李华强, 陈晏林. 卵巢癌患者组织中 lncRNA NEAT1 和 CTBP2 表达水平及其与临床病理特征的关系 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(12): 1285-1289.
- [12] 周炼钢, 廖 恺, 周晓燕. lncRNA NEAT1 对肝癌细胞凋亡的影响[J]. 齐鲁医学杂志, 2017, 32(5): 547-549.
- [13] 罗泳林, 陆爱英, 蔡永林, 等. 血浆长链非编码 RNA NEAT1 和 H19 及 MALAT1 在鼻咽癌中的表达及临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2018, 24: 230-235.
- [14] 徐红超, 牟永告, 周旺宁, 等. 规范治疗与脑胶质瘤患者的预后[J]. 中国临床神经外科杂志, 2007, 12(5): 259-262.

(下转第 161 页)