

## · 论 著 ·

## lncRNA RGMB-AS1 在脑胶质瘤预后评估中的价值

程飞飞 刘 江 周红军

**【摘要】目的** 探讨长链非编码RNA(lncRNA)RGMB-AS1在脑胶质瘤病人预后评估中的作用。**方法** 选取2014年9月~2017年6月经术后病理检查证实的脑胶质瘤140例(低级别64例,高级别76例),另选取颅脑损伤内减压术中切取正常脑组织25例为对照。实时荧光定量PCR法检测lncRNA RGMB-AS1的表达水平,以RGMB-AS1表达量的中位数为截断值,分为高表达组和低表达组。用Kaplan-Meier法比较总体生存期(OS)和无进展生存期(PFS),用Cox比例回归风险模型分析影响胶质瘤病人预后的因素。**结果** 140例胶质瘤中,lncRNA RGMB-AS1高表达70例,低表达70例。胶质瘤组织lncRNA RGMB-AS1的相对表达量明显高于对照组( $P<0.05$ )。多因素Cox比例回归风险模型分析结果显示年龄 $\geq 50$ 岁、术前KPS评分 $<80$ 分、WHO分级Ⅲ~Ⅳ级、lncRNA RGMB-AS1高表达是胶质瘤病人PFS和OS的独立影响因素( $P<0.05$ )。lncRNA RGMB-AS1高表达胶质瘤病人PFS和OS较低表达病人均明显缩短( $P<0.05$ )。无论是高级别胶质瘤,还是低级别胶质瘤,lncRNA RGMB-AS1高表达病人PFS和OS较低表达病人均明显缩短( $P<0.05$ )。**结论** lncRNA RGMB-AS1表达水平与脑胶质瘤病例级别呈正相关,lncRNA RGMB-AS1高表达脑胶质瘤病人生存期较低表达病人明显缩短。这提示lncRNA RGMB-AS1表达水平可作为脑胶质瘤病人预后评估指标。

**【关键词】** 脑胶质瘤;长链非编码RNA RGMB-AS1;预后评估;生存期

**【文章编号】** 1009-153X(2020)04-0199-04 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q 786

**Value of lncRNA RGMB-AS1 to prognosis assessment of patients with gliomas**

CHENG Fei-fei, LIU Jiang, ZHOU Hong-jun. Neurology Disease Center, The Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University (Gener Hospital), Chongqing 401120, China

**【Abstract】 Objective** To explore the value of long-chain non-coding RNA (lncRNA) RGMB-AS1 to the prognosis assessment of patients with gliomas. **Methods** The expression levels of lncRNA RGMB-AS1 were detected in glioma tissues obtained from 140 patients with gliomas (64 of low grade, and 76 of high grade) confirmed by postoperative pathological examinations who were admitted to our hospital from September 2014 to June 2017 and in normal brain tissues obtained from 25 patients with traumatic brain injury during internal decompression (control group) by real-time fluorescence quantitative PCR. The median of lncRNA RGMB-AS1 expression level was used as the cutoff value, and then the patients with gliomas were divided into high expression group and low expression group. Kaplan-Meier method was used to compare the overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) of patients with gliomas, and Cox proportional regression risk model was used to analyze the factors affecting the prognosis of glioma patients. **Results** Of 140 glioma patients, 70 patients had high expression of lncRNA RGMB-AS1 and 70 low expression. The relative expression level of lncRNA RGMB-AS1 in glioma tissues was significantly higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). The results of multivariate Cox proportional regression risk model analysis showed that age $\geq 50$  years, preoperative KPS score $<80$  points, WHO grade Ⅲ~Ⅳ, and high expression of lncRNA RGMB-AS1 were independent risk factors for the PFS and OS of glioma patients ( $P<0.05$ ). Regardless of the grade of glioma, the PFS and OS were significantly shorter in glioma patients with high expression of lncRNA RGMB-AS1 than those in glioma patients with lower expression of lncRNA RGMB-AS1 ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression level of lncRNA RGMB-AS1 is positively correlated with the grade of glioma. The survival time of glioma patients with high expression of lncRNA RGMB-AS1 is significantly shortened. These results suggest that lncRNA RGMB-AS1 could be used as a prognostic indicator for glioma patients.

**【Key words】** Glioma; Long chain non coding RNA; RGMB-AS1; Prognosis; Survival analysis

胶质瘤是最常见的原发性脑肿瘤。据报道,WHO分级I~II级胶质瘤病人5年存活率在30%~70%,IV级病人的存活期仅9~12个月<sup>[1]</sup>。虽然过去

几十年里,胶质瘤的治疗取得了巨大的进步,但是病人总体生存率仍未明显提高<sup>[1]</sup>。研究证实,长链非编码RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)在人类多种肿瘤中异常表达,并参与肿瘤的侵袭和转移<sup>[2]</sup>。RGMB-AS1是近年来发现的lncRNA。Li等<sup>[3]</sup>首次发现lncRNA RGMB-AS1在非小细胞肺癌中表达上调,能够促进癌细胞的增殖和迁移。而且,

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.04.003

作者单位:401120 重庆,重庆医科大学附属第三医院(捷尔医院)神经疾病中心(程飞飞、刘江、周红军)

通讯作者:刘江, E-mail: 38951017@qq.com)

lncRNA RGMB-AS1 在肝细胞癌、甲状腺癌和食管鳞癌等中发挥致癌作用<sup>[4-6]</sup>。Pan 等<sup>[7]</sup>发现,胶质瘤组织 lncRNA RGMB-AS1 表达上调,沉默 RGMB-AS1 表达可以抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,可通过靶向调控 miR-1200/HOXB2 信号通路发生致癌作用。本文探讨 lncRNA RGMB-AS1 在脑胶质瘤病人预后评估中的作用。

### 1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 2014 年 9 月~2017 年 6 月收治的经术后病理检查证实的脑胶质瘤 140 例,术前未接受过放、化疗。术中切除胶质瘤组织后,立即冻存于液氮,随后保存于-80℃冰箱。140 例中,男 72 例,女 68 例;年龄 23~78 岁,平均(53.68±4.20)岁;术前 KPS 评分<80 分 77 例,≥80 分 63 例;WHO 分级 I 级 19 例,II 级 45 例,III 级 22 例,IV 级 54 例。另选取颅脑损伤内减压术中切取正常脑组织 25 例为对照。本研究已经过本院伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 实时荧光定量 PCR 法检 lncRNA RGMB-AS1 的表达 严格按照试剂盒说明书操作。用 TRIzol 试剂(美国 invitrogen 公司)提取总 RNA,随后利用 AMV 反转录试剂盒(美国 Sigma 公司)反转录为 cDNA。使用 2×SYBR Green PCR Mastermix 试剂盒(美国 Sigma 公司)检测 lncRNA RGMB-AS1 相对表达量。本研究引物均由北京奥科鼎盛生物科技有限公司设计并提供。RGMB-AS1:上游 5'-AGTGGCAAACCTCAACGTTTC-3';下游 5'-GAGCTGC-CATTGAATTAATCCG-3'。内参 GAPDH:上游 5'-GAGTCCACTGGCGTCTTC-3';下游 5'-GATGATCTTGAGGCTGTTGTC-3'。PCR 反应条件为:95℃ 20 s,95℃ 10 s,60℃、20 s,共 40 个循环。用 2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算 RGMB-AS1 相对表达量。以 RGMB-AS1 表达量的中位数为截断值,分为高表达组和低表达组。

1.3 随访 140 例脑胶质瘤术后以电话和门诊方式进行随访,每 3 个月随访 1 次,随访时进行 CT、MRI 或 PET 检查。总体生存期(overall survival, OS)定义为术后第一天至死亡或最后一次随访。无进展生存期(progression-free-survival, PFS)指术后至第一次发生疾病进展或任何原因死亡的时间<sup>[8]</sup>。随访时间截止至 2019 年 9 月。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 软件进行分析;正态分布计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验;计数资料采用

$\chi^2$  检验;用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,采用 log-rank 检验;多因素 Cox 比例回归风险模型检验生存期影响因素;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 胶质瘤组织 lncRNA RGMB-AS1 的表达变化 140 例胶质瘤中,lncRNA RGMB-AS1 高表达 70 例,低表达 70 例。胶质瘤组织 lncRNA RGMB-AS1 的相对表达量明显高于对照组(*P*<0.001)。高级别胶质瘤(WHO 分级 III~IV 级)lncRNA RGMB-AS1 的相对表达量明显高于低级别胶质瘤(WHO 分级 I~II 级;

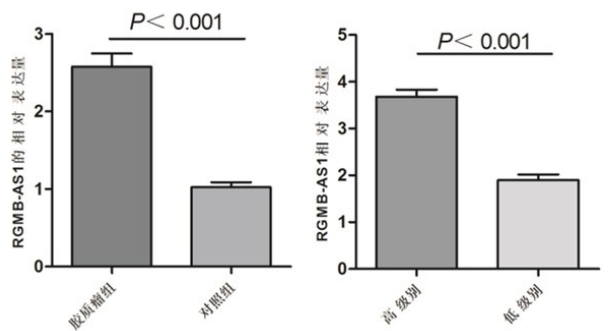


图 1 不同组织 lncRNA RGMB-AS1 相对表达量比较

*P*<0.001)。见图 1。

2.2 胶质瘤病人生存期的影响因素 多因素 Cox 比例回归风险模型分析结果显示,年龄≥50 岁、术前 KPS 评分<80 分、WHO 分级 III~IV 级、lncRNA RGMB-AS1 高表达是脑胶质瘤病人 PFS 和 OS 的独立影响因素(*P*<0.05),见表 1、2。

2.3 140 例脑胶质瘤病人的生存曲线分析结果 140 例胶质瘤的 PFS 在 1~60 个月,中位数为 17 个月(四分位间距:14~42 个月);OS 在 3~60 个月,中位数为 21 个月(四分位间距:15~50 个月)。lncRNA RGMB-AS1 低表达组 PFS 在 5~60 个月,中位数为 52 个月(四分位间距:34~56 个月);OS 在 6~60 个月,中位数为 52 个月(四分位间距:38~55 个月)。lncRNA RGMB-AS1 高表达组 PFS 在 1~42 个月,中位数为 11 个月(四分位间距:6~27 个月);OS 在 3~44 个月,中位数为 18 个月(四分位间距:14~35 个月)。lncRNA RGMB-AS1 低表达组 PFS 和 OS 均较高表达组明显延长(*P*<0.001,见图 2)。

2.4 不同级别胶质瘤病人的生存曲线分析结果

2.4.1 低级别胶质瘤 lncRNA RGMB-AS1 高表达组 PFS 在 7~58 个月,中位数为 23 个月(四分位间距:16~38 个月);OS 在 8~60 个月,中位数为 25 个月(四

表1 脑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

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(≥50岁/<50岁)	1.585	0.185~2.365	0.015	1.652	1.125~2.696	0.010
性别(男/女)	1.098	0.752~1.852	0.426	-	-	-
术前KPS评分(<80分/≥80分)	2.638	1.524~3.124	0.000	2.685	1.635~3.856	0.000
WHO分级(Ⅲ~Ⅳ级/Ⅰ~Ⅱ级)	6.524	4.231~12.365	0.000	8.635	4.236~16.325	0.000
肿瘤直径(≥3 cm/<3 cm)	1.121	0.688~1.365	0.869	-	-	-
lncRNA RGMB-AS1(高表达/低表达)	2.012	1.326~2.968	0.000	1.862	1.125~2.745	0.008

表2 脑胶质瘤病人总体生存期影响因素的Cox比例回归风险模型分析结果

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(≥50岁/<50岁)	1.567	1.052~2.312	0.012	1.668	1.125~2.534	0.018
性别(男/女)	1.152	0.757~1.685	0.434	-	-	-
术前KPS评分(<80分/≥80分)	1.989	1.265~2.867	0.000	2.265	1.658~4.001	0.000
WHO分级(Ⅲ~Ⅳ级/Ⅰ~Ⅱ级)	7.362	4.212~13.330	0.000	11.265	6.325~20.121	0.000
肿瘤直径(≥3 cm/<3 cm)	1.754	0.425~3.125	0.125	-	-	-
lncRNA RGMB-AS1(高表达/低表达)	2.121	1.253~3.003	0.000	1.685	1.165~2.968	0.001

分位间距:20~41个月);lncRNA RGMB-AS1低表达组PFS在5~60个月,中位数为53个月(四分位间距:43~56个月);OS在7~60个月,中位数为51个月(四分位间距:43~55个月)。lncRNA RGMB-AS1低表达组PFS和OS均较高表达组明显延长( $P<0.05$ ,图3)。

2.4.2 高级别胶质瘤 lncRNA RGMB-AS1高表达组PFS在5~27个月,中位数为9个月(四分位间距:5~13个月);OS在5~36个月,中位数为13个月(四分位间距:8~25个月)。低表达组PFS在5~43个月,中位数为18个月(四分位间距:12~27个月);OS在6~44个月,中位数为19个月(四分位间距:14~30个月)。lncRNA RGMB-AS1低表达组PFS和OS均较高表达

组明显延长( $P<0.05$ ,图3)。

### 3 讨论

lncRNA在胶质瘤的发生和发展中起重要作用,对胶质瘤的早期诊断及预后评估有一定意义<sup>[9]</sup>。lncRNA RGMB-AS1位于人类染色体5q21.1,长度为

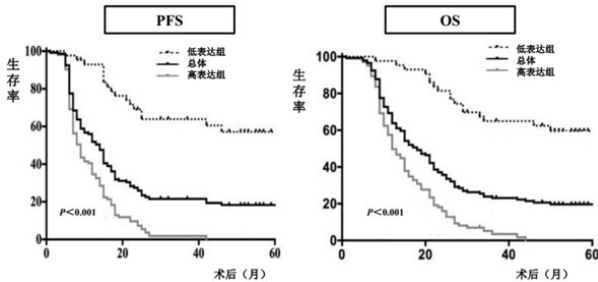


图2 lncRNA RGMB-AS1低表达组与高表达组脑胶质瘤病人的生存曲线

PFS. 无进展生存期;OS. 总体生存期

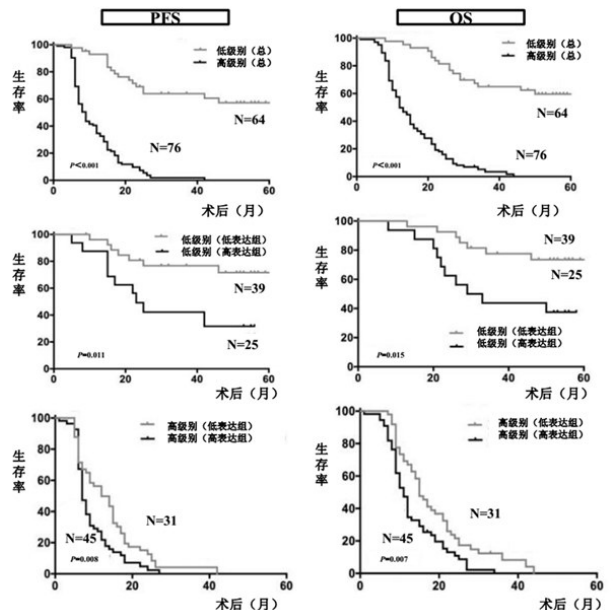


图3 不同级别胶质瘤病人生存曲线

PFS. 无进展生存期;OS. 总体生存期;低表达组lncRNA RGMB-AS1低表达;高表达组lncRNA RGMB-AS1高表达

2 053 bp。lncRNA RGMB-AS1 在多种肿瘤中表达上调。Li 等<sup>[10]</sup>发现 lncRNA RGMB-AS1 与排斥导向分子 b 的表达呈负相关, lncRNA RGMB-AS1 可能通过调控排斥导向分子 b 外显子 2 介导其表达, 进而参与肺腺癌的发生与发展。Zhang 等<sup>[5]</sup>发现, E2F1 可以通过激活 lncRNA RGMB-AS1 促进甲状腺肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移。Xu 等<sup>[4]</sup>也发现, lncRNA RGMB-AS1 可以通过靶向调控 miR-22/NLRP3 信号通路促进食管鳞癌细胞的侵袭。本文结果显示, 与正常脑组织比较, 胶质瘤组织 lncRNA RGMB-AS1 表达水平明显升高; 高级别胶质瘤组织 lncRNA RGMB-AS1 表达水平明显高于低级别胶质瘤; 此外, lncRNA RGMB-AS1 高表达胶质瘤病人预后更差。这提示 lncRNA RGMB-AS1 可能与胶质瘤发生和发展有关。本文结果发现 lncRNA RGMB-AS1 表达水平与胶质瘤 WHO 分级呈正相关, 说明 lncRNA RGMB-AS1 与胶质瘤的恶性程度相关。胶质瘤病人预后的影响因素有很多, 包括年龄、基因多态性、免疫、KPS 评分、WHO 分级和手术方式等<sup>[11]</sup>。本文发现 lncRNA RGMB-AS1 高表达是胶质瘤病人预后不良的独立影响因素, lncRNA RGMB-AS1 高表达的胶质瘤病人 PFS 和 OS 较低表达病人明显缩短, 并且这种差异与胶质瘤病理分级无关。

综上所述, lncRNA RGMB-AS1 表达水平与胶质瘤恶性程度和分化程度有关。lncRNA RGMB-AS1 高表达水平与胶质瘤病人的不良预后有关。这提示 lncRNA RGMB-AS1 可作为胶质瘤的分子标志物。

【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] Quinn JJ, Chang HY. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17

(1): 47-62.  
 [3] Li P, Li J, Yang R, *et al*. Study on expression of lncRNA RGMB-AS1 and repulsive guidance molecule b in non-small cell lung cancer [J]. *Diagn Pathol*, 2015, 10(1): 63-72.  
 [4] Xu Z, Xi K. LncRNA RGMB-AS1 promotes laryngeal squamous cell carcinoma cells progression via sponging miR-22/NLRP3 axis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 1-11.  
 [5] Zhang Z, Li SY, Zhang LB. LncRNA RGMB-AS1 is activated by E2F1 and promotes cell proliferation and invasion in papillary thyroid carcinoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7): 1979-1986.  
 [6] Sheng N, Li Y, Qian R, *et al*. The clinical significance and biological function of lncRNA RGMB-AS1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 577-584.  
 [7] Pan B, Zhao M, Wang N, *et al*. LncRNA RGMB-AS1 promotes glioma growth and invasion through miR-1200/HOXB2 axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 10107-10114.  
 [8] Xu W, Liu Z, Ren H, *et al*. Twenty metabolic genes based signature predicts survival of glioma patients [J]. *J Cancer*, 2020, 11(2): 441-449.  
 [9] Wang L, Yu Z, Sun S, *et al*. Long non-coding RNAs: potential molecular biomarkers for gliomas diagnosis and prognosis [J]. *Rev Neurosci*, 2017, 28(4): 375-380.  
 [10] Li P, Zhang G, Li J, *et al*. Long noncoding RNA RGMB-AS1 indicates a poor prognosis and modulates cell proliferation, migration and invasion in lung adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): 1-9.  
 [11] Zhu T, Xie P, Gao YF, *et al*. Nucleolar and spindle-associated protein 1 is a tumor grade correlated prognosis marker for glioma patients [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(3): 178-186.

(2020-01-07 收稿, 2020-03-10 修回)