

- 机制的研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(10):784-789.
- [18] PALUMBO R, SAMPAOLESI M, MARCHIS F D, et al. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation[J]. J Cell Biol, 2004, 164(3): 441-449.
- [19] CHANDRASEKARAN KS, SATHYANARAYANAN A, KARANAGARAN D. Downregulation of HMGB1 by miR-34a is sufficient

to suppress proliferation, migration and invasion of human cervical and colorectal cancer cells[J]. Tumour Biol, 2016, 37(10):13155-13166.

- [20] MENG Q, ZHAO J, LIU H, et al. HMGB1 promotes cellular proliferation and invasion, suppresses cellular apoptosis in osteosarcoma[J]. Tumor Biol, 2014, 35(12):12265-12274.

(收稿日期:2019-08-22,修回日期:2019-10-15)

引用本文:贺伯伟,王鹏国.长链非编码RNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J].安徽医药,2021,25(8):1618-1621.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.034.

◇临床医学◇



长链非编码RNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

贺伯伟,王鹏国

作者单位:陕西省核工业二一五医院胸外科,陕西 咸阳712000

通信作者:王鹏国,男,副主任医师,研究方向为肺食管肿瘤,Email:vsrnf1@163.com

摘要: **目的** 分析长链非编码RNA(lncRNA) TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及其与临床病理特征的关系。**方法** 收集2014年7月至2016年9月陕西省核工业二一五医院非小细胞肺癌标本及癌旁组织各100例,采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测非小细胞肺癌标本、癌旁组织中lncRNA TPT1-AS1表达情况,分析lncRNA TPT1-AS1表达水平与非小细胞肺癌病人临床病理特征及预后的关系。**结果** 与癌旁肺组织相比,lncRNA TPT1-AS1在肺癌组织的表达显著升高($P<0.05$)。肺癌组织中lncRNA TPT1-AS1表达与TNM分期、淋巴转移有相关性($P<0.05$)。与lncRNA TPT1-AS1低表达组生存率(41.46%)相比,lncRNA TPT1-AS1高表达组非小细胞肺癌病人生存率(10.17%)显著降低($\chi^2=13.376, P<0.05$)。多因素分析显示,lncRNA TPT1-AS1表达和TNM分期是影响非小细胞肺癌病人预后的独立危险因素($HR=1.954, 95\% CI: 1.545-2.473, P<0.05$; $HR=2.013, 95\% CI: 1.591-2.547, P<0.05$)。**结论** lncRNA TPT1-AS1与非小细胞肺癌的发生发展及预后密切相关,可能作为临床预后判断的参考指标。

关键词: 癌,非小细胞肺; 长链非编码RNA; TPT1-AS1

Expression and clinical significance of long non-coding RNA TPT1-AS1 in non-small cell lung cancer

HE Bowei, WANG Pengguo

Author Affiliation: Department of Thoracic Surgery, No.215 Hospital of Shanxi Nuclear Industry, Xianyang, Shaanxi 712000, China

Abstract: **Objective** To analyze the expression of long non-coding RNA (lncRNA) TPT1-AS1 in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its relationship with clinicopathological features. **Methods** One hundred samples of NSCLC and 100 adjacent tissues were collected in No.215 Hospital of Shanxi Nuclear Industry from July 2014 to September 2016, the expression of lncRNA TPT1-AS1 in NSCLC and adjacent tissues was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR), and the relationships between the expression of lncRNA TPT1-AS1 and the clinicopathological features, prognosis of NSCLC were analyzed. **Results** The expression of lncRNA TPT1-AS1 in lung cancer tissue was significantly higher than that in paracancerous lung tissue ($P<0.05$). The expression of lncRNA TPT1-AS1 was correlated with TNM stage and lymph metastasis ($P<0.05$). Compared with the survival rate (41.46%) in the low expression group of lncRNA TPT1-AS1, the survival rate (10.17%) in the high expression group of lncRNA TPT1-AS1 was significantly lower ($\chi^2=13.376, P<0.05$). Multivariate analysis showed that the expression of lncRNA TPT1-AS1 and TNM stage were independent risk factors for the prognosis of NSCLC ($HR = 1.954, 95\% CI: 1.545-2.473, P<0.05$; $HR = 2.013, 95\% CI: 1.591-2.547, P<0.05$). **Conclusion** lncRNA TPT1-AS1 is closely related to the occurrence, development and prognosis of NSCLC, which may be a reference index for clinical prognosis.

Key words: Carcinoma, non-small-cell lung; Long non-coding RNA; TPT1-AS1

肺癌是最常见的癌症,其中85%的病人为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),据统计,经手术治疗后约40%NSCLC病人,会因癌细胞转移复发或死亡,严重危害人们身体健康^[1]。因此,找寻与NSCLC疾病进展密切相关的生物标志物,是寻找新型靶向药物的基础。近来研究发现转录生成的RNA,只有2%左右序列进行编码蛋白质,其它的称均不编码蛋白称为非编码RNA^[2]。非编码RNA分为长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和小非编码RNA(small non-coding RNA, snRNA),lncRNA与肿瘤细胞的增殖、凋亡密切相关^[3]。研究发现,lncRNA异常表达与乳腺癌^[4]、胃癌^[5]、肾细胞癌^[6]等多种肿瘤发生发展密切相关。已有研究发现^[7-8],lncRNA TPT1-AS1在脑胶质瘤、肝癌中有重要的作用,但在非小细胞肺癌少有报道,本研究通过观察TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达,分析其与临床病理特征的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年7月至2016年9月陕西省核工业二一五医院非小细胞肺癌病人,手术切除非小细胞癌组织100例、癌旁肺组织100例。病人男性65例,女性35例,年龄(54.70±6.21)岁。纳入标准:(1)经诊断确诊为非小细胞肺癌病人;(2)所选病人术前未进行过化疗和放疗;(3)病人生存期不小于3个月,排除标准:(1)无明确的病灶;(2)患有严重心脑血管疾病的病人;(3)患有精神障碍疾病的病人。样本在-80℃冰箱保存。所有病人均签订知情同意书。术后对所有病人进行随访,统计病人生存情况,以病人死亡为终点事件,随访截止时间2019年2月。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 试剂及仪器 PrimeScript RT reagent Kit(货号RR047A)购自日本TAKARA公司; AceQ qPCR SYBR Green Master Mix(货号Q111-02)购自南京诺唯赞生物科技有限公司;BCA蛋白浓度检测试剂盒(货号P0010S)购自上海碧云天公司;TRizol试剂(货号TR118-100)购自上海索尔生物科技有限公司;酶标仪(型号Multiskan GO)、超低温冰箱(型号MDF-U32V)购自美国Thermo公司;Real time-PCR所需引物由生工生物工程上海股份有限公司合成。

1.3 方法 定量聚合酶链反应(qPCR):(1)提取组织RNA:取100 mg肺癌组织及癌旁组织于试管内然

后加1 mL Trizol,用研磨器在冰上研磨45 s制备组织匀浆液,加入氯仿和异丙醇提取RNA,加20~50 μL RNase-free水溶解完全后,测浓度。按照PrimeScript RT reagent Kit说明书进行逆转录操作,体系为10 μL,在冰盒上进行操作。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)体系按照试剂盒说明书进行配制,总体积20 μL,每个样本设置3个重复,GAPDH为内参,PCR反应条件:预变性:95℃,30 s,40个循环,95℃,10 s,60℃,20 s,延伸:70℃,10 s,反应结束后,TPT1-AS1相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算,引物序列见表1。

1.4 统计学方法 采用SPSS22.0统计软件(SPSS公司,美国)分析,符合正态分布的计量实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两比较行 t 检验;计数资料以例(%)表示,行 χ^2 检验;非小细胞肺癌病人存活率采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,行log-rank检验;影响非小细胞肺癌病人预后的因素采用Cox比例风险模型分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的相对表达 经qRT-PCR检测后,与癌旁肺组织相比,非小细胞肺癌组织中TPT1-AS1表达水平显著升高[(2.18±0.16)比(0.91±0.12), $t=63.500$, $P < 0.05$]。

2.2 lncRNA TPT1-AS1的表达与非小细胞肺癌临床病理特征的关系 100例非小细胞肺癌病人按照lncRNA TPT1-AS1平均表达水平将非小细胞肺癌组分为lncRNA TPT1-AS1高表达组59例和低表达组41例,分析lncRNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌病人中的表达与临床病理特征的关系结果表明,lncRNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌病人组织中的表达与淋巴转移、TNM分期有关($P < 0.05$),与病人的性别、年龄、肿瘤大小、病理类型、分化程度无关($P > 0.05$)。见表2。

2.3 lncRNATPT1-AS1表达对病人生存关系的影响 lncRNATPT1-AS1高表达组NSCLC病人3年存活率为10.17%,lncRNATPT1-AS1低表达组NSCLC病人3年存活率为41.46%,log-rank检验显示,与lncRNA TPT1-AS1低表达组相比,高表达者生存率显著降低($\chi^2=13.376$, $P < 0.001$)。

2.4 预后影响因素分析 单因素分析显示,lncRNATPT1-AS1表达、TNM分期、淋巴转移是非小细

表1 qRT-PCR引物序列

基因	上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')
TPT1-AS1	CCAACATTTGGAGGGTGGAT	GTCTTGTGAGTCCTTCCTGGC
GAPDH	AGCCACATCGCTCAGACAC	GCCCAATACGACCAATCC

表2 TPT1-AS1的表达与非小细胞肺癌临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	TPT1-AS1 相对表达水平/例		χ^2 值	P值
		高表达 (n=59)	低表达 (n=41)		
性别				0.448	0.503
男	57	32	25		
女	43	27	16		
年龄				1.760	0.185
<50岁	42	28	14		
≥50岁	58	31	27		
肿瘤大小				0.891	0.345
<4 cm	48	26	22		
≥4 cm	52	33	19		
病理分型				0.000	0.987
腺癌	56	33	23		
鳞癌	44	26	18		
TNM分期				11.463	0.001
I+II	41	16	25		
III	59	43	16		
分化程度				0.001	0.974
低分化	73	43	30		
中/高分化	27	16	11		
淋巴转移				18.584	0.000
阳性	72	52	20		
阴性	28	7	21		

肺癌病人预后的危险因素。多因素分析显示, lncRNATPT1-AS1 表达和 TNM 分期是影响非小细胞肺癌病人预后的独立危险因素(HR=1.954, 95% CI 为 1.545~2.473, $P<0.05$; HR=2.013, 95% CI 为 1.591~2.547, $P<0.05$)。见表3。

3 讨论

肺癌主要分为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC), 其中 NSCLC 是肺癌中发病率最高, 根据其病理学形态和临床特征可以分为: 腺癌、鳞癌、大细胞癌等^[9]。近年来, 常规化学疗法和放射疗法已取得较好发展, 是肺癌病人治疗的重要手段^[10], NSCLC 发生受多种基因的调控, 目前其发病机制尚不明^[11]。因此, 加强分子水平研究 NSCLC 发生发

展相关因子, 寻找新的治疗靶点有利于 NSCLC 的诊治及预后。

长链非编码 RNA(lncRNA) 是长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA, 缺少完整功能性的开放阅读框, 水平表达低, 无蛋白编码能力, 但可以通过与 RNA 结合蛋白互动, 调控其靶基因启动子^[12-14], 还可在转录或转录后调控基因表达。Schmitz 等^[15]研究报道 lncRNA 在基因控制发育和分化以及人类疾病中发挥多中功能, Zhang 等^[16]研究发现, lncRNATUG1 通常在非小细胞肺癌(NSCLC)组织中被下调, TUG1 敲低促进体外和体内的肿瘤细胞增殖。Chen 等^[17]研究发现, lncRNA HULC 在多种肿瘤中的预后效果密切相关。Liu 等^[18]研究发现, lncRNA XLOC 的异位表达促进胃癌细胞活力, 迁移和侵袭, 导致转移加速, 而 lncRNA XLOC 表达降低则阻碍细胞迁移和侵袭。Jiang 等^[19]发现, 通过调控 lncRNA EGFR 表达, 可以促进 Treg 细胞分化。综上所述, 异常的 lncRNA 在各种生物学过程中发挥关键作用, 包括细胞分化, 增殖, 凋亡, 迁移, 侵袭等。目前, 大量研究结果表明, 多种 lncRNA 在肺癌中起着抑制或促进的调控作用。本研究发现, lncRNA TPT1-AS1 在 NSCLC 的癌组织中的表达显著高于癌旁组织, 提示 lncRNA TPT1-AS1 可能在 NSCLC 中是促癌因子。

Lu 等^[20]研究表明, lncRNA AFAP1-AS1 在肝细胞癌和肝内胆管癌中表达均上调, 与癌症的恶化程度及预后密切相关。本研究结果与此类似: lncRNA TPT1-AS1 表达与 NSCLC 病人临床病理学特征的相关性, 结果显示, lncRNA TPT1-AS1 在 NSCLC 癌组织相对表达量与淋巴转移、TNM 分期显著相关, 提示 lncRNA TPT1-AS1 的表达可能与 NSCLC 的发生发展过程相关。通过对研究组生存相关分析, 发现 lncRNA TPT1-AS1 高表达组病人生存率显著低于 lncRNATPT1-AS1 低表达组 NSCLC 病人, 进一步多因素分析结果显示, lncRNA TPT1-AS1 表达和 TNM 分期是影响 NSCLC 病人预后的独立危险因素, 提示 lncRNA TPT1-AS1 表达和 TNM 分期与 NSCLC 病人预后密切相关, 可能通过检测 lncRNA TPT1-AS1 表

表3 影响非小细胞肺癌病人预后的危险因素分析结果

变量	单因素分析			多因素分析		
	HR	95% CI	P值	HR	95% CI	P值
年龄(<50岁 vs. ≥50岁)	1.267	0.856~1.875	0.241	1.453	0.982~2.151	0.062
lncRNATPT1-AS1 表达(高表达 vs. 低表达)	3.548	2.805~4.490	0.000	1.954	1.545~2.473	0.000
TNM 分期(I+II vs. III)	2.154	1.702~2.725	0.000	2.013	1.591~2.547	0.000
分化程度(低分化 vs. 中/高分化)	1.254	0.847~1.856	0.260	1.031	0.697~1.526	0.883
淋巴转移(阳性 vs. 阴性)	1.359	1.074~1.719	0.011	1.235	0.834~1.828	0.290

达监测 NSCLC 病人病情发展,评估病人预后。

综上所述,研究 lncRNA TPT1-AS1 在 NSCLC 病人癌组织中高表达,与 NSCLC 的发生发展相关,对 NSCLC 病人预后评估有一定的指导意义。由于本研究临床样本的数量和地域有局限性,需要扩大样本,并且需要进一步研究 lncRNA TPT1-AS1 的分子作用机制,为 NSCLC 的早期筛查和预后判断提高更多的理论依据。

参考文献

- [1] HERBST RS, MORGENZSTERN D, BOSHOF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. *Nature*, 2018, 553(7689):446-454.
- [2] MELISSARI M T, GROTE P. Roles for long non-coding RNAs in physiology and disease [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468 (6) : 945-958.
- [3] TANTAI J, HU D, YANG Y, et al. Combined identification of long non-coding RNA XIST and HIF1A-AS1 in serum as an effective screening for non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7) : 7887-7895.
- [4] PICKARD MR, WILLIAMS GT. Regulation of apoptosis by long noncoding RNA GAS5 in breast cancer cells: implications for chemotherapy [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 145 (2) : 359-370
- [5] SUN M, JIN FY, XIA R, et al. Decreased expression of long non-coding RNA GAS5 indicates a poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14 (1) : 319-322.
- [6] HE H, WANG N, YI X, et al. Long non-coding RNA H19 regulates E2F1 expression by competitively sponging endogenous miR-29a-3p in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Cell Biosci*, 2017, 7 (1):65-65.
- [7] JIANG H, HUANG G, ZHAO N, et al. Long non-coding RNA TPT1-AS1 promotes cell growth and metastasis in cervical cancer via acting AS a sponge for miR-324-5p [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):169.
- [8] WANG W, YANG F, ZHANG L, et al. LncRNA profile study reveals four-lncRNA signature associated with the prognosis of patients with anaplastic gliomas [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (47) : 77225-77236.
- [9] FEHRENBACHER L, SPIRA A, BALLINGER M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-smallcell lung cancer (POPLAR) : a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2016, 387 (10030): 1837-1846.
- [10] HANNA N, JOHNSON D, TEMIN S, et al. Systemic therapy for stage IV non-small-cell lung cancer: American society of clinical oncology clinical practice guideline update [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(30): 3484-3515.
- [11] TRAVIS WD, BRAMBILLA E, BURKE AP, et al. Introduction to The 2015 world health organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart [J]. *Thorac Oncol*, 2015, 10(9): 1240-1242.
- [12] SANG H, LIU H, XIONG P, ZHU M. Long non-coding RNA functions in lung cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36 (6) : 4027-4037.
- [13] YANG Q, ZHANG S, LIU H, et al. Oncogenic role of long noncoding RNA AF118081 in anti-benzo[a]pyrene-trans-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide-transformed 16HBE cells [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 229(3):430-439.
- [14] 王金辉, 高然, 明超, 等. 长链非编码 RNA 在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(17):2819-2822.
- [15] SCHMITZ SU, GROTE P, HERRMANN BG. Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(13):2491-2509.
- [16] ZHANG EB, YIN DD, SUN M, et al. P53-regulated long non-codingRNA TUG1 affects cell proliferation in human non-small cell lung cancer, partly through epigenetically regulating HOXB7 expression [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1243. DOI: 10.1038/cddis.2014.201.
- [17] CHEN X, LUN L, HOU H, et al. The value of lncRNA HULC as a prognostic factor for survival of Cancer outcome: a meta-analysis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4):1424 - 1434.
- [18] LIU YY, CHEN ZH, PENG JJ, et al. Up-regulation of long non-coding RNA XLOC_010235 regulates epithelial-to-mesenchymal transition to promote metastasis by associating with Snail in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):2461-2461.
- [19] JIANG R, TANG J, CHEN Y, et al. The long noncoding RNA lnc-EGFR stimulates T-regulatory cells differentiation thus promoting hepatocellular carcinoma immune evasion [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:15129.
- [20] LU X, ZHOU C, LI R, et al. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 promoted tumor growth and invasion in cholangiocarcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(1):222 - 230.
- [21] JIANG H, HUANG G, ZHAO N, et al. Long non-coding RNA TPT1-AS1 promotes cell growth and metastasis in cervical cancer via acting AS a sponge for miR-324-5p [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):169.
- [22] WU W, GAO H, LI X, et al. LncRNA TPT1-AS1 promotes tumorigenesis and metastasis in epithelial ovarian cancer by inducing TPT1 expression [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(5):1587-1598.

(收稿日期:2020-02-02,修回日期:2020-03-09)