

长链非编码 RNA SNHG6 在胶质瘤组织中表达及临床意义

赵岗¹, 张哲莹^{2*}, 杜宝顺¹, 王阳¹, 马欢¹

1. 河南省新乡市中心医院神经外科, 河南 新乡 453000

2. 河南省新乡医学院基础医学院病理教研室, 河南 新乡 453000

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA SNHG6 (LncRNA SNHG6) 在胶质瘤组织中表达及临床意义。方法 选取 2009 年 2 月—2014 年 2 月在新乡市中心医院接受手术治疗的胶质瘤患者 94 例, 同期, 选取留取因颅脑外伤或癫痫而行手术治疗的正常脑组织 37 例, 实时荧光定量 PCR 检测胶质瘤和正常脑组织中 LncRNA SNHG6 表达, 所有胶质瘤患者均于院外随访, 随访截止时间 2019 年 2 月 28 日, 记录患者总生存时间, 生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 影响预后的风险因素分析采用 Cox 比例风险回归模型。结果 LncRNA SNHG6 表达量胶质瘤组织中为 (1.88 ± 0.17) , 正常脑组织中为 (1.01 ± 0.13) , 两者比较, 差异有统计学意义 ($t = 28.230, P < 0.001$); 不同 WHO 分级、KPS 评分和术后复发的胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); Kaplan-Meier 生存分析结果显示, 两组中位生存时间和累积生存率比较, 低表达组均高于高表达组, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.562, P = 0.002$); WHO 分级、KPS 评分、术后复发和 LncRNA SNHG6 相对表达均是影响胶质瘤患者预后的风险因素 ($HR = 2.365, 2.028, 2.188$ 和 $2.038, P < 0.05$)。结论 胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 表达量升高, 且与胶质瘤恶性程度及不良预后有关, 可作为患者预后评估的风险因素。

关键词: 胶质瘤; 长链非编码 RNA; SNHG6; 病理指标; 预后

中图分类号: R739.41

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.03.007

Expression and clinical significance of long non-coding RNA SNHG6 in glioma tissues

ZHAO Gang¹, ZHANG Zhe-Ying^{2*}, DU Bao-Sun¹, WANG Yang¹, Ma Huan¹. 1. Department of Neurosurgery, Xinxiang Center Hospital, Xinxiang 453000, China; 2. Department of Pathology, Xinxiang Medical University, 601 jinsui Road, Xinxiang, Henan 453000, P. R. China

Corresponding author: ZHANG Zhe-Ying, Email: dbszy @ gmail. com

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of long non-coding RNA (LncRNA) SNHG6 in glioma tissues. **Methods** Ninety-four patients with glioma were selected who underwent surgery at Xinxiang Central Hospital from February 2009 to February 2014. Meanwhile, normal brain tissues from 37 cases undergoing surgery for traumatic brain injury or epilepsy were obtained. Real-time PCR was used to measure the expression of LncRNA SNHG6 in glioma and normal brain tissues. All the patients with glioma were followed up outside the hospital until February 28, 2019. Overall survival time was recorded. Survival analysis was performed using the Kaplan-Meier method. A Cox proportional-hazards regression model was applied to analyze the risk factors for a poor outcome. **Results** The expression level of LncRNA SNHG6 in glioma tissues was significantly higher than that in normal brain tissues (1.88 ± 0.17 vs 1.01 ± 0.13 , $t = 28.230$, $P < 0.001$). There were significant differences in the expression level of LncRNA SNHG6 in glioma tissues between different WHO grades, between different KPS scores, and between cases with and without postoperative recurrence (all $P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that the low-expression group had a significantly longer median survival time (40.2 months vs 19.0 months) and a significantly higher cumulative survival rate (45.8% vs 15.7% , $\chi^2 = 9.562$, $P =$

基金项目: 河南省科技攻关计划项目, 基金编号: 192102310362。

收稿日期: 2019-09-11; 修回日期: 2020-06-22

作者简介: 赵岗 (1982-), 男, 硕士研究生, 主治医师, 神经系统恶性肿瘤方向。

通信作者: 张哲莹 (1980-), 女, 博士研究生, 副教授, 神经系统肿瘤病理学方向。Email: dbszy @ gmail. com。

0.002) than the high-expression group. WHO grade (HR = 2.365), KPS score (HR = 2.028), postoperative recurrence (HR = 2.188), and the expression of LncRNA SNHG6 (HR = 2.038) were risk factors for a poor prognosis in patients with glioma (all $P < 0.05$). **Conclusions** The expression of LncRNA SNHG6 is increased in glioma tissues, and is associated with the degree of malignancy and prognosis of glioma. It can be used as an indicator for assessing prognosis.

Key words: Glioma; Long non-coding RNA; SNHG6; Pathological index; Prognosis

胶质瘤作为最为常见的颅内原发性恶性肿瘤,恶性程度高、侵袭力强,且呈浸润性生长,致使肿瘤组织与正常脑组织界限不清^[1],尽管现有的手术及放化疗治疗手段不断提高,但患者治疗后复发率高,总体预后依然较差^[2]。有研究指出^[3],高侵袭和转移性是导致胶质瘤预后不佳的重要因素。因此,依靠现代分子生物学技术,寻找与胶质瘤侵袭和转移相关的敏感基因,对指导患者治疗及改善预后具有重要意义。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 作为一种广泛存在于机体内的长度在 200 个核苷酸以上的 RNA,无法正常编码蛋白,但在多种生理、病理及一些疾病发生进展中发挥重要作用^[4],近年来,越来越多的研究发现^[5-6],LncRNA 参与了恶性肿瘤发生、进展过程,与肿瘤细胞恶性生物学特性密切相关。核仁小 RNA 宿主基因 6 (small nucleolar RNA host gene 6, SNHG6) 是一种重要的 LncRNA,在结直肠癌组织中呈高表达^[7],参与了结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭过程^[8],但其在胶质瘤发生进展中的作用鲜有报道。本研究检测胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 表达,分析其在不同临床病理指标间表达差异性,并探讨其与患者预后的相关性,以期对胶质瘤机制研究提供参考资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2009 年 2 月—2014 年 2 月在新乡市中心医院接受手术治疗的胶质瘤患者,纳入标准:①术前无放化疗等治疗史;②术后经病理学检查确诊;③临床资料完整,均顺利完成院外随访。排除标准:①合并有其他肿瘤病史、凝血功能障碍及免疫缺陷性疾病者;②并发颅内感染、血肿等术后并发症;③心肝肾等重要脏器严重功能障碍者;④随访过程中由于其他疾病死亡者。共入选患者 94 例。其中,男性 57 例,女性 37 例;年龄 21 ~ 75 岁,平均 (51.37 ± 10.74) 岁,中位年龄 53 岁;肿瘤位置:额部 43 例,颞部 51 例;根据 2016 年世界卫生组织 (WHO) 关于中枢神经系统肿瘤分级标

准^[9]: I、II 级 41 例,III、IV 级 53 例。同期,选取留取因颅脑外伤或癫痫而行手术治疗的正常脑组织 37 例;其中,男性 20 例,女性 17 例;平均年龄 (52.02 ± 11.34) 岁。两组在性别、年龄等方面比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),均衡可比。所有研究对象均于术中留取组织并置于液氮中, -80°C 保存。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测胶质瘤和正常脑组织中 LncRNA SNHG6 表达 取胶质瘤和正常脑组织,切碎,研磨,加入细胞裂解液,按 Trizol 总 RNA 提取试剂盒 (购自美国 Invitrogen 公司) 说明提取总 RNA,并使用紫外分光光度计检测其纯度。用反转录试剂盒 (购自日本 TaKaRa 公司) 将总 RNA 反转录为 cDNA,使用美国 ABI 公司生产的 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪按 PCR 扩增试剂盒 (购自日本 TaKaRa 公司) 说明对引物扩增,引物合成由上海生工生物公司设计完成。LncRNA SNHG6: 正向: 5' -TTAGTCATGCCCGGTGTGGTG-3', 反向: 5' -AATACATGCCCGGTGATCCT-3'; GAPDH: 正向: 5' -CGAGCCACATCGCTCAGACA-3', 反向: 5' -GTGGTGAAGACGCCAGTGA-3'。反应条件: 95°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 76°C 延伸 30 s,进行 38 次循环。以 GAPDH 为参照,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 SNHG6 mRNA 相对表达量。

1.2.2 病例随访 所有胶质瘤患者均于院外进行随访,形式包括门诊及住院病历收集、电话随访等,随访截止时间 2019 年 2 月 28 日,以死亡作为终点事件,记录患者总生存时间,生存时间 3 ~ 120 个月,中位生存时间 21 个月。

1.3 统计学方法

使用 SPSS 21.0 软件分析,计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 t 检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 法和 Log-Rank 检验,影响预后的风险因素分析采用 Cox 比例风险回归模型,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤和正常脑组织中 LncRNA SNHG6 表达水平

胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 相对表达量为 (1.88 ± 0.17),而在正常脑组织中为 (1.01 ± 0.13),两者比较差异有统计学意义 ($t = 28.230, P < 0.001$)。

2.2 不同临床指标胶质瘤患者组织中 LncRNA SNHG6 表达水平

不同年龄、性别、肿瘤位置、肿瘤直径和肿瘤数量的胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 相对表达量比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),不同 WHO 分级、KPS 评分和术后复发的胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 相对表达量比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 不同临床指标胶质瘤患者组织中 LncRNA SNHG6 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

临床指标	n	LncRNA SNHG6 表达量	t 值	P 值
年龄(岁)				
≥51	52	1.85 ± 0.18	1.460	0.148
<51	42	1.90 ± 0.15		
性别				
男性	57	1.87 ± 0.16	0.698	0.487
女性	37	1.89 ± 0.17		
肿瘤位置				
额部	43	1.85 ± 0.17	1.494	0.139
颞部	51	1.90 ± 0.16		
肿瘤直径(cm)				
<4	52	1.85 ± 0.17	1.770	0.080
≥4	42	1.91 ± 0.16		
肿瘤数量				
单个	50	1.85 ± 0.16	1.440	0.153
多个	44	1.90 ± 0.17		
WHO 分级				
I、II 级	41	1.82 ± 0.16	3.070	0.003
III、IV 级	53	1.92 ± 0.16		
KPS 评分				
<80	52	1.92 ± 0.18	2.688	0.009
≥80	42	1.83 ± 0.14		
术后复发				
是	43	1.93 ± 0.16	2.795	0.006
否	51	1.83 ± 0.16		

2.3 胶质瘤患者组织中 LncRNA SNHG6 表达水平与预后的相关性

以胶质瘤患者组织中 LncRNA SNHG6 表达量的 P25 为界值,将患者分为低表达组 ($n = 24$) 和高表达组 ($n = 70$),Kaplan-Meier 生存分析结果显示,随访结束时,低表达组存活 11 例,死亡 13 例,高表达组存活 11 例,死亡 59 例;低表达组患者中位生存时间 40.2 个月,累积生存率 45.8%,高表达组患者中位生存时间 19.0 个月,累积生存率 15.7%,Log-Rank 检验差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.562, P = 0.002$),见图 1。

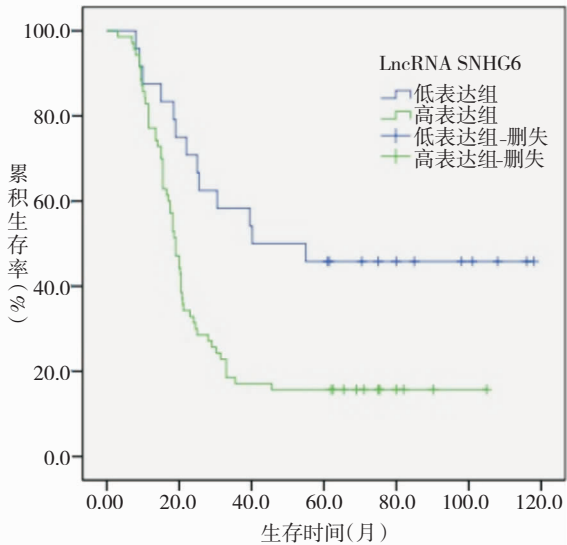


图 1 胶质瘤患者组织中 LncRNA SNHG6 表达水平对预后的影响

2.4 影响胶质瘤患者预后的多因素分析

结果显示,WHO 分级、KPS 评分、术后复发和 LncRNA SNHG6 表达是影响胶质瘤患者预后的危险因素 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 影响胶质瘤患者预后的多因素 Cox 比例风险回归模型分析

指标	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>HR</i> (95% <i>CI</i>)
年龄	0.138	0.254	0.294	0.588	1.148(0.697~1.889)
性别	0.019	0.269	0.005	0.944	1.019(0.602~1.726)
肿瘤位置	0.261	0.255	1.049	0.306	1.299(0.787~2.142)
肿瘤直径	0.072	0.257	0.078	0.781	1.074(0.649~1.779)
肿瘤数量	0.194	0.271	0.514	0.474	1.214(0.714~2.065)
WHO 分级	0.861	0.267	10.369	0.001	2.365(1.401~3.994)
KPS 评分	0.707	0.283	6.236	0.013	2.028(1.164~3.534)
术后复发	0.783	0.263	8.862	0.003	2.188(1.307~3.665)
LncRNA SNHG6 表达	0.712	0.343	4.323	0.038	2.038(1.042~3.989)

3 讨论

胶质瘤作为中枢神经系统恶性程度及侵袭力均较强的肿瘤,近年来发病率呈升高趋势^[10],由于该肿瘤很难用手术的方式彻底切除,治疗后极易复发,致使患者总体预后较差,病死率较高^[11]。目前,该肿瘤发生及进展机制尚未完全清楚,特别是与该肿瘤高恶性、高侵袭性及高复发相关机制或敏感基因仍在研究探索中。LncRNA 作为一类没有编码蛋白能力的长链 RNA,越来越多的研究表明^[12-13],其在染色体修饰、转录及转录后水平处理、表观遗传调控、基因组防御等方面发挥重要作用。近年来,其在肿瘤恶性生物学行为中的作用越来越受到重视,不仅与肿瘤细胞恶性增殖有关^[14],而且参与调控了细胞侵袭转移、化疗耐药、自噬等^[15]。SNHG6 是一种定位于核仁内的含有 472 个核苷酸长度的 LncRNA,在指导转录后修饰保证产生有效和准确的核糖体中发挥重要作用^[16],随着研究的深入,其在恶性肿瘤发生、进展中的作用越来越受到重视。有研究指出^[17],SNHG6 在肝细胞癌中表达失调,与肿瘤进展密切相关。研究发现^[18],SNHG6 促进了结直肠癌进展。且与结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭过程密切相关^[19]。本研究结果显示,胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 表达量高于正常脑组织,说明 LncRNA SNHG6 在胶质瘤组织中呈高表达。本研究结果显示,WHO 分级Ⅲ、Ⅳ级、KPS 评分<80 分及术后复发的胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 表达量升高,说明 LncRNA SNHG6 可能与胶质瘤恶性程度及预后有关,提示 LncRNA SNHG6 表达量越高,则预示胶质瘤恶性程度越高、患者术后易复发且预后不佳。

Yan 等^[19]指出,LncRNA SNHG6 在前列腺癌中上调预示预后不良。陈青^[20]指出,SNHG6 高表达的结直肠癌患者预后更差。Zhang 等^[21]指出,LncRNA

SNHG6 高表达可作为食管鳞癌不良预后的潜在标志物。本研究生存分析结果显示,低表达组患者中位生存时间和累积生存率均高于高表达组,说明 LncRNA SNHG6 与胶质瘤患者预后有关,LncRNA SNHG6 高表达则患者预后较差。本研究 Cox 比例风险回归模型结果显示,WHO 分级、KPS 评分、术后复发和 LncRNA SNHG6 表达是影响胶质瘤患者预后的风险因素,进一步说明 LncRNA SNHG6 高表达是胶质瘤患者预后的风险因素,可能是评估患者预后的潜在标志物。

综上所述,胶质瘤组织中 LncRNA SNHG6 表达量升高,且与胶质瘤恶性程度及不良预后有关,可作为患者预后评估的风险因素。但 LncRNA SNHG6 在胶质瘤发生、进展、侵袭转移中的具体作用机制尚待进一步开展研究以明确。

参 考 文 献

[1] 代从新,王裕,马文斌. 脑胶质瘤动物模型的研究进展[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(25):2052-2054.

[2] Philbrick BD, Adamson DC. Early clinical trials of Toca 511 and Toca FC show a promising novel treatment for recurrent malignant glioma[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2019, 28(3):207-216.

[3] Fu MH, Wang CY, Hsieh YT, et al. Functional role of matrix gla protein in glioma cell migration[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(6):4624-4636.

[4] Guo J, Liu ZS, Gong RJ. Long noncoding RNA: an emerging player in diabetes and diabetic kidney disease[J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(12):1321-1339.

[5] Botti G, Marra L, Malzone MG, et al. LncRNA HOTAIR as prognostic circulating marker and potential therapeutic target in patients with tumor diseases[J]. Curr Drug Targets, 2017, 18(1):27-34.

[6] Tao F, Xu YP, Yang DZ, et al. LncRNA NKILA correlates with the malignant status and serves as a tumor-suppressive

- role in rectal cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119 (12):9809-9816.
- [7] 黎丰华, 古国财, 庄雄标, 等. 长链非编码 RNA SNHG6 在结肠癌中的表达及其生物学意义[J]. *重庆医学*, 2018, 47(18):2413-2417.
- [8] Wang XK, Lai QH, He JL, et al. LncRNA SNHG6 promotes proliferation, invasion and migration in colorectal cancer cells by activating TGF- β /Smad signaling pathway via targeting UPF1 and inducing EMT via regulation of ZEB1 [J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(1):51-59.
- [9] Diamandis P, Aldape K. World Health Organization 2016 Classification of Central Nervous System Tumors [J]. *Neurol Clin*, 2018, 36(3):439-447.
- [10] Ren JH, Jia PL, Feng HX, et al. Involvement of poly (ADP-ribose) polymerase-1 in Chinese patients with glioma: a potential target for effective patient care [J]. *Int J Biol Markers*, 2018, 33(1):68-72.
- [11] Dubinski D, Won SY, Gessler F, et al. Dexamethasone-induced leukocytosis is associated with poor survival in newly diagnosed glioblastoma [J]. *J Neurooncol*, 2018, 137(3):503-510.
- [12] Li Q, Dong CY, Cui JY, et al. Over-expressed lncRNA HOTAIRM1 promotes tumor growth and invasion through up-regulating HOXA1 and sequestering G9a/EZH2/Dnmts away from the HOXA1 gene in glioblastoma multiforme [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):265-280.
- [13] 李倩, 尹恬恬, 胡宇辰, 等. 长链非编码 RNA HULC 沉默表达对人脑胶质母细胞瘤细胞 SHG44 增殖和凋亡的影响 [J]. *中山大学学报 (医学版)*, 2019, 40(1):31-36.
- [14] Yu DJ, Li YH, Zhong M. LncRNA FBXL19-AS1 promotes proliferation and metastasis via regulating epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(11):4800-4806.
- [15] Heery R, Finn SP, Cuffe S, et al. Long non-coding RNAs: key regulators of epithelial-mesenchymal transition, tumour drug resistance and cancer stem cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2017, 9(4):1-48.
- [16] Fan RH, Guo JN, Yan W, et al. Small nucleolar host gene 6 promotes esophageal squamous cell carcinoma cell proliferation and inhibits cell apoptosis [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5):6497-6502.
- [17] Birgani MT, Hajjari M, Shahrisa A, et al. Long non-coding RNA SNHG6 as a potential biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24(2):329-337.
- [18] Zhu YK, Xing YW, Chi FX, et al. Long noncoding RNA SNHG6 promotes the progression of colorectal cancer through sponging miR-760 and activation of FOXC1 [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11(11):5743-5752.
- [19] Yan YJ, Chen ZJ, Xiao Y, et al. Long non-coding RNA SNHG6 is upregulated in prostate cancer and predicts poor prognosis [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(3):2771-2778.
- [20] 陈青. GEO 数据库分析长链非编码 RNA SNHG6 在结肠癌中的表达及临床意义 [J]. *临床医学研究与实践*, 2018, 3(17):7-9.
- [21] Zhang YL, Li RJ, Ding XL, et al. Upregulation of long non-coding RNA SNHG6 promote esophageal squamous cell carcinoma cell malignancy and its diagnostic value [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(2):1084-1091.