

长链非编码 RNA HOTAIR 在胃癌中的表达及意义*

李晨¹ 范尧夫² 刘皓³ 吕涛³ 胡兵¹

(1 江苏省徐州市中医院消化内科 徐州 221000; 2 江苏省中西医结合医院内分泌科 南京 210028; 3 南京医科大学第一附属医院中医科 南京 210029)

摘要:目的:探讨长链非编码 RNA HOTAIR(lncRNA HOTAIR)在胃癌组织中的表达情况及其临床意义。方法:采用实时荧光定量 PCR 技术检测 42 例胃癌患者癌组织与癌旁组织中 HOTAIR 的表达水平,分析 lncRNA HOTAIR 表达水平与临床病理特征之间的关系。结果:胃癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达阳性率较癌旁组织明显升高,癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达与肿瘤分化程度及临床分期密切相关。结论:胃癌组织中 HOTAIR 的表达明显升高,且癌组织分化越低,HOTAIR 表达越高,可以将 HOTAIR 作为判断胃癌恶性程度的一个分子标志。

关键词:胃癌;长链非编码 RNA HOTAIR;PCR

中图分类号:R573.9

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2015.02.047

长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 是指不翻译产生蛋白质的 RNA, 其主要的作用是通过表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等多层面上调节基因表达水平^[1]。HOTAIR 是第一个已知的通过反式作用调节基因表达的 lncRNA, 其位于染色体 12q13.13 上 HOXC 位点, 长度为 2.2 kb^[2]。最新研究发现 HOTAIR 与多种肿瘤的发生发展密切相关, 如胰腺癌、结直肠癌、肝癌等, 并且与肿瘤的转移及预后密切相关^[3-5]。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其死亡率居消化道恶性肿瘤的前列, 很多患者在手术和化疗后仍然出现疾病进展或复发, 因此寻求新的治疗手段对胃癌的治疗至关重要。本文通过对胃癌患者进行研究, 以了解 HOTAIR 在胃癌发生发展过程中的作用, 为胃癌的诊断、治疗及预后提供依据。

1 资料与方法

1.1 组织标本 42 例胃癌组织及癌旁组织均取自 2010 年 1 月~2012 年 12 月徐州市中医院普外科胃癌手术患者, 术后均经病理诊断确诊为胃癌, 切缘为阴性。所有患者在手术前均无放疗、化疗及其他相关治疗, 其中男性 25 例, 女性 17 例, 年龄 26~70 岁, 平均年龄 57.4 岁。按照 IJCC 的 TNM 分期标准: I 期 6 例, II 期 5 例, III 期 19 例, IV 期 12 例; 肿瘤位于胃窦部 11 例, 贲门部 22 例, 胃小弯 9 例; 肿块直径 1.5~6.5 cm。所有标本在收集后迅速置于 -80 °C 冰箱中保存。本研究经徐州市中医院伦理委员会批准, 所有纳入患者均在手术前签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 Trizol(美国 SBS 公司); 总 RNA 提取试剂盒、逆转录 PCR 试剂盒(美国 Promega 公司); 引物由美国 Invitrogen 公司设计合成。紫外分光光度计(北京新技术应用研究所); PCR 扩增仪(德国

Eppendorf 公司); Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System(美国 ABI 公司)。

1.3 方法 (1) 总 RNA 提取: 从手术后的胃癌组织及癌旁组织中取 100 mg 组织, 按照 RNA 试剂盒的说明书进行提取, 提取出的 RNA 采用紫外分光光度计检测其浓度和纯度。(2) c DNA 反转录合成: 按照反转录试剂盒配置 20 μl 反应体系, 操作步骤按照说明书进行。将反应产物 c DNA 取出后, 用 DEPC 水将产物稀释后置于 -20 °C 保存备用。(3) 实时荧光定量 PCR 检测 lncRNA HOTAIR 的表达: 以 20 μl 反应体系进行扩增, 阴性对照用 2 μl DEPC 处理的超纯水代替 c DNA 模板。反应条件为: 预变性 95 °C 10 min, 循环阶段 95 °C 15 s, 60 °C 20 s, 72 °C 40 s, 40 个循环。所有实验均重复 3 次, 取 3 次结果的平均值作为最终的实验结果。

1.4 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计软件对实验结果进行统计分析, HOTAIR mRNA 相对表达量为非正态分布资料, 计数资料以中位数表示, 其差异采用两样本非参数检验, HOTAIR mRNA 的表达水平与临床病理特征的关系采用 Fisher's 确切检验。P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 实时荧光定量 PCR 检测结果 胃癌组织中 HOTAIR mRNA 表达水平明显高于癌旁组织 (Z=-3.02, P=0.026)。见图 1。

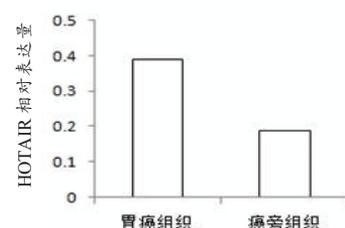


图 1 HOTAIR mRNA 在胃癌组织中的表达

* 基金项目:江苏省徐州市科技计划项目(编号:XM12B046)

2.2 HOTAIR mRNA 表达与胃癌患者临床病理特征的关系 HOTAIR mRNA 表达与肿瘤分化程度、淋巴结是否转移、临床分期有关 ($P < 0.05$), 与性别、年龄、肿块大小与部位均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 HOTAIR mRNA 表达与胃癌患者临床病理特征的关系 ($\bar{x} \pm s$)

病理参数	n	HOTAIR mRNA 表达量	P 值	
性别	男	25	0.36± 0.13	0.48
	女	17	0.39± 0.14	
年龄	≤60 岁	15	0.42± 0.14	0.08
	>60 岁	27	0.35± 0.11	
肿块大小	<3 cm	14	0.42± 0.20	0.24
	≥3 cm	28	0.35± 0.17	
肿瘤位置	胃窦部	11	0.37± 0.15	0.48
	贲门部	22	0.36± 0.12	
	胃小弯	9	0.41± 0.13	
分化程度	高	29	0.35± 0.10	0.037
	低	13	0.42± 0.09	
淋巴结转移	有	26	0.39± 0.06	0.017
	无	16	0.35± 0.03	
TNM 分期	I+II 期	11	0.41± 0.08	0.036
	III+IV 期	31	0.36± 0.06	

3 讨论

流行病学调查显示,我国每年约有 17 万人死于胃癌^[6]。因胃癌住院患者中 90%以上为进展期癌,通过手术治疗后 5 年生存率只能维持在 30%~40%^[7]。研究胃癌转移规律、确立亚临床转移的早期诊断或预测指标及治疗靶点是提高疗效的关键。在人类基因组中,仅有不到 2%的基因具有编码蛋白质的功能^[8]。大部分基因虽然不参与蛋白质编码,但是通过相对应的处理后仍可以被转录,生成非编码 RNA。近年来长链非编码 RNA (lncRNA) 得到了科研人员的重视。由于 lncRNA 数量的庞大以及其作用机制的多样化,lncRNA 与多种疾病,尤其与肿瘤的发生发展密切相关^[9]。lncRNA HOTAIR 是人类 12 号染色体 HOXC 基因簇的一条反义链,位于 2 号染色体 HOXD 位点。已有的研究发现 HOTAIR 可与 PRC2 协同发挥致癌作用^[3]。Chen 等对食管鳞癌患者病理组织中 39 个 HOX 基因的表达情况进行了相关分析,结果显示存在 11 个 HOX 基因在食管鳞癌中表达异常,提示 HOTAIR 与食管鳞癌的发生发展相关

^[10]。本研究从胃癌着手,比较分析了胃癌组织与癌旁组织中 HOTAIR mRNA 的表达情况,结果显示,与癌旁组织相比,HOTAIR mRNA 在胃癌组织中表达升高,且其表达随着肿瘤分化程度的降低和临床分期的进展而增高,这表明 HOTAIR mRNA 的高表达不仅与胃癌的恶性程度有关,且可能参与了胃癌的发生发展。

本研究结果显示,lncHOTAIR 在胃癌组织中有表达,且 HOTAIR mRNA 在胃癌组织中表达明显高于癌旁组织。同时我们发现 HOTAIR mRNA 表达与肿瘤分化程度、淋巴结是否转移密切相关,说明 HOTAIR 的高表达可能预示胃癌预后差。综上所述,HOTAIR 可以作为发现胃癌,甚至作为判断胃癌恶性程度的一个标志物,同时对于预后的转归也有重要意义。但是本基因与胃癌复发及转移的关系尚需要进一步探讨。

参考文献

- [1]杨韬,李俊堂,王丽娟,等.干涉 lncRNAs HOTAIR 对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2012,28(1):97-98
- [2]Rinn JL,Kertes M,Wang JK,et al.Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs[J].Cell,2007,129(7):1311-1323
- [3]Gupta RA,Shah N,Wang KC,et al.Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J].Nature,2010,464(7291):1071-1076
- [4]Geng YJ,Xie SL,Li Q,et al.Large intervening non-coding RNA HOTAIR is associated with hepatocellular carcinoma progression[J].J Int Med Res,2011,39(6):2119-2128
- [5]Shibashi M,Kogo R,Shibata K,et al.Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primay hepatocellular carcinoma[J].Oncol Rep,2013,29(3):946-950
- [6]詹文华.提高我国胃癌诊治及学术水平之我见[J].中华胃肠外科杂志,2006,9(1):56-57
- [7]冯斌.KISS-1 基因在胃癌组织中的表达与胃癌复发转移的关系[J].现代肿瘤医学,2013,21(10):2289-2290
- [8]Nagy Z,Szabo DR,Zsippai A,et al.Relevance of long non-coding RNAs in tumour biology[J].Orv Hetil,2012,153(38):1494-1501
- [9]钱力,杨逸,李震洋,等.长链非编码 RNA HOTAIR 的信号通路,作用机制及与消化系统肿瘤的关系[J].上海交通大学学报(医学版),2014,34(2):244-247
- [10]Chen KN,Gu ZD,Ke Y,et al.Expression of 11HOX genes is deregulated in esophageal squamous cell carcinoma [J].Clin Cancer Res,2005,11(3):1044-1049

(收稿日期:2014-09-09)

征订启事

本刊由江西省中医药研究院、江西省中西医结合学会主办,江西省卫生和计划生育委员会主管。系综合性中西医结合学术期刊 (ISSN 1671-4040, CN36-1251/R, 邮发代号 44-126, 国外代号 BM1734),为《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中国期刊网》全文数据库入选期刊,获《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊奖。本刊以宏

扬中西医结合学术、贴近临床、注重实用、鼓励创新、中西医并重为宗旨;适用于中西医结合、中医、中西药、西医临床教学科研人员和基层医护人员订阅。本刊为大 16 开,96 页,单月刊,定价 8.50 元,全年 12 期共 102 元,可在全国各地邮局订阅。亦可直接汇款至本编辑部订阅。地址:南昌市文教路 529 号,电话:0791-88528704。