

食管癌组织中 lnc RNA DNAJC3-AS1 的表达及其与临床病理特征的相关性研究

梁晓虎^{1a}, 雷尚昆^{1b}, 郭俊霞²(1. 宝鸡市人民医院 a. 胸外肿瘤外科; b. 胸外科, 陕西宝鸡 721000;
2. 宝鸡市中心医院全科医学科, 陕西宝鸡 721008)

摘要: 目的 食管癌(esophageal cancer, EC)组织中 lnc RNA DNAJC3-AS1 的表达及其与临床病理特征的相关性研究。方法 选取2017年6月~2019年5月宝鸡市人民医院收集的246例EC患者的肿瘤组织及相应的癌旁正常组织为研究对象。通过实时荧光定量PCR法检测 lnc RNA DNAJC3-AS1 的相对表达量, 分析 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与EC患者临床病理特征间的关系, 采用K-M法绘制EC患者生存曲线, 用log-rank检验 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与患者总体生存率(overall survival, OS)的关系。结果 lnc RNA DNAJC3-AS1 在EC肿瘤组织中的相对表达量高于相应癌旁正常组织(0.0089 ± 0.0203 vs 0.0049 ± 0.0104 , $P=0.0008$)。lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与EC患者饮酒史($\chi^2=25.07$, $P<0.001$)、家族肿瘤史($\chi^2=4.73$, $P=0.047$)、BMI指数($\chi^2=16.94$, $P<0.001$)、临床分期($\chi^2=33.39$, $P<0.001$)、是否原位癌($\chi^2=11.97$, $P=0.001$)、是否淋巴结转移($\chi^2=19.01$, $P<0.001$)、是否远端转移($\chi^2=16.65$, $P<0.001$)和肿瘤类型($\chi^2=9.17$, $P=0.010$)显著相关。lnc RNA DNAJC3-AS1 高表达组患者的OS低于 lnc RNA DNAJC3-AS1 低表达组($\chi^2=20.93$, $P<0.001$)。结论 lnc RNA DNAJC3-AS1 在EC肿瘤组织中高表达, lnc RNA DNAJC3-AS1 高表达患者OS较低。

关键词: 食管癌; 临床病理特征; 长链非编码RNA

中图分类号: R735.1; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2021)02-075-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.018

Expression of Lnc RNA DNAJC3-AS1 in Esophageal Carcinoma Tissues and Its Correlation with Clinicopathological Features

LIANG Xiao-hu^{1a}, LEI Shang-kun^{1b}, GUO Jun-xia²

(a. Department of Extrathoracic Tumor Surgery; b. Department of Thoracic Surgery, Baoji People's Hospital, Shaanxi Baoji 721000, China; 2. Department of Family Medicine, Baoji Central Hospital, Shaanxi Baoji 721008, China)

Abstract: **Objective** To detect the expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 in esophageal carcinoma (EC) tissues and its correlation with clinicopathological features. **Methods** EC tumor tissues and corresponding adjacent normal tissues of 246 EC patients collected from Baoji People's Hospital from June 2017 to May 2019 were selected as research objects. The relative expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 in the tumor tissues of EC patients and the corresponding adjacent normal tissues were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The relationship between the expression level of lnc RNA DNAJC3-AS1 and the clinicopathological characteristics of EC patients was analyzed. The survival curve of EC patients was drawn by K-M method, and the overall survival (OS) of the patients was tested by log-rank. **Results** The relative expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 in EC tumor tissues was higher than that in adjacent normal tissues (0.0089 ± 0.0203 vs 0.0049 ± 0.0104 , $P=0.0008$). The expression level of lnc RNA DNAJC3-AS1 was correlated with the alcohol consumption history of EC patients ($\chi^2=25.07$, $P<0.001$), family tumor history ($\chi^2=4.73$, $P=0.047$), BMI ($\chi^2=16.94$, $P<0.001$), clinical stage ($\chi^2=33.39$, $P<0.001$), whether carcinoma in situ ($\chi^2=11.97$, $P=0.001$), whether lymph node metastasis ($\chi^2=19.01$, $P<0.001$), whether distal metastasis ($\chi^2=16.65$, $P<0.001$), and tumor type ($\chi^2=9.17$, $P=0.010$). The OS of patients with high expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 was lower than that of patients with low expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 ($\chi^2=20.93$, $P<0.001$). **Conclusion** The high expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 in EC tumor tissues was found, while the OS in patients with high expression of lnc RNA DNAJC3-AS1 was found to be low.

Keywords: esophageal cancer(EC); clinicopathological characteristics; lnc RNAs

食管癌(esophageal cancer, EC)是消化道常见恶性肿瘤^[1-3], 预后较差^[4-6], 严重危害人类健康。我国是EC的高发国家, 也是世界上EC新发病例最多的国家^[7-8]。近年来研究表明, 长链非编码

作者简介: 梁晓虎(1982-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 胸外肿瘤的临床诊疗, E-mail: baoliangxiaoh@163.com。

通讯作者: 雷尚昆(1980-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 胸外科, E-mail: 15209171950@163.com。

RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 的表达异常与多种疾病有关,尤其在肿瘤中扮演重要角色。因此,确定肿瘤相关的 lncRNA 并且深度解析其生物学功能对阐明肿瘤的发生、发展至关重要。lnc RNADNAJC3-AS1 位于染色体 13q32.1, 含有 2 个外显子, 已有报道指出 lnc RNADNAJC3-AS1 与骨肉瘤^[9]和乳腺癌^[10]密切相关。关于 lnc RNADNAJC3-AS1 与 EC 的关联研究鲜有报道, 本研究拟分析 EC 组织中 lnc RNA DNAJC3-AS1 的表达及其与临床病理特征的相关性, 旨在为 EC 的临床诊疗提供合理参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2017 年 6 月~2019 年 5 月宝鸡市中心医院全科医学科收集的 246 例 EC 患者的肿瘤组织及相应的癌旁正常组织 (距离原发灶 > 5cm) 为研究对象, 取材后用液氮保存并标记。患者均为食管鳞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC), 手术前未行免疫治疗、放化疗等抗肿瘤治疗。其中, 男性 180 例, 女性 66 例; 年龄 33~75 岁, 平均年龄 54.9 ± 13.1 岁。本研究经由我院伦理委员会批准, 患者自愿参加且均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 逆转录试剂盒 (日本 TAKARA 公司), ABI7500 PCR 仪 (美国 ABI), Sybr Green 荧光染料 (日本 TAKARA 公司)。

1.3 方法 从液氮中取适量 EC 组织标本, 充分研磨后, 用 Trizol 法抽提总 RNA, 逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为相应的 cDNA, 用 pfimer 5 软件设计引物, 引物设计如下: 正向引物 5'-TTGCTCTAAGGCAGGTAGGTAA-3'; 反向引物: 5'-GGGTCTTCCACAATCGCTCT-3'。与 Sybr Green 荧光染料配置, 使用 PCR 仪进行实验, qPCR Mix 选用 ABI 公司配套的 Master Mix, 反应体系根据其说明书配置。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析, 使用 GAPDH 作为内参。当 lnc RNA DNAJC3-AS1 在肿瘤组织中的相对表达量高于相应的癌旁正常组织则为高表达, 反之为低表达。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 采用 χ^2 检验, 计量资料采用 t 检验, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 K-M 法绘制 EC 患者生存曲线, 用 log-rank 检验 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与患者总体生存率 (overall survival, OS) 的关系。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 lnc RNA DNAJC3-AS1 在 EC 肿瘤组织及相应癌旁正常组织中的相对表达量 见图 1。lnc RNA

DNAJC3-AS1 在 EC 肿瘤组织中的相对表达量高于相应癌旁正常组织 (0.0089 ± 0.0203 vs 0.0049 ± 0.0104 , $P=0.0008$)。

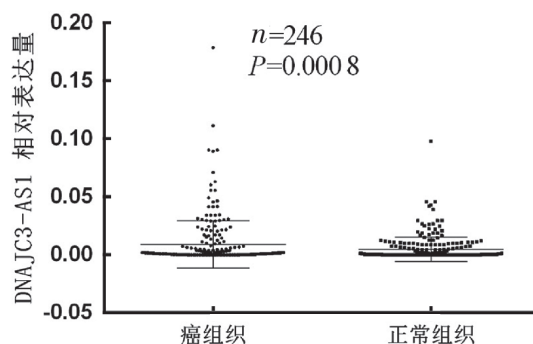


图1 lnc RNA DNAJC3-AS1 在 EC 肿瘤组织及相应癌旁正常组织中的相对表达量

2.2 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与 EC 患者临床特征间的关系 见表 1。依据 2.1 的结果, 根据 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平的不同将患者分为高表达组和低表达组, 每组各 123 例。lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与 EC 患者饮酒史 ($\chi^2=25.07$, $P<0.001$)、家族肿瘤史 ($\chi^2=4.73$, $P=0.047$)、BMI 指数 ($\chi^2=16.94$, $P<0.001$)、临床分期 ($\chi^2=33.39$, $P<0.001$)、是否原位癌 ($\chi^2=11.97$, $P=0.001$)、是否淋巴结转移 ($\chi^2=19.01$, $P<0.001$)、是否远端转移 ($\chi^2=16.65$, $P<0.001$) 和肿瘤类型 ($\chi^2=9.17$, $P=0.010$) 显著相关。

2.3 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与 EC 患者总体生存率的关系 见图 2。使用 Kaplan-Meier 法进行生存分析结果显示, lnc RNA DNAJC3-AS1 低表达组患者的中位生存时间为 34.0 个月, 高表达组患者的中位生存时间为 17.0 个月。lnc RNA DNAJC3-AS1 高表达组患者的 OS 低于 lnc RNA DNAJC3-AS1 低表达组 ($\chi^2=20.93$, $P<0.001$)。

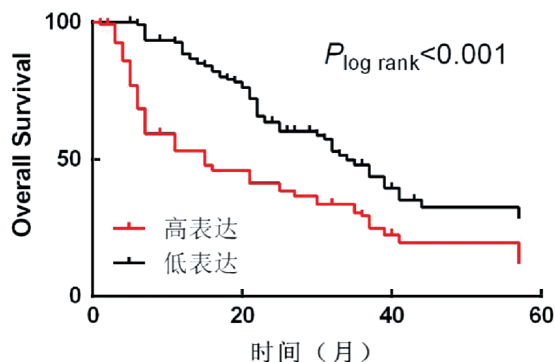


图2 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与 EC 患者 OS 的关系

表1 不同临床特征研究对象 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平差异性分析 [n=123, n (%)]

类别	低表达组	高表达组	χ^2 值	P 值
年龄 (岁)	< 60	87(70.7)	6.77	0.493
	≥ 60	36(29.3)		
性别	男	88(71.5)	0.33	0.666
	女	35(28.5)		
吸烟史	无	64(52.0)	0.26	0.702
	有	59(48.0)		
饮酒史	无	65(52.8)	25.07	<0.001
	有	58(47.2)		
家族肿瘤史	无	114(92.7)	4.73	0.047
	有	9(7.3)		
BMI 指数 (kg/m ²)	< 20	46(37.4)	16.97	<0.001
	20 ~ 28	67(54.5)		
	> 28	10(8.1)		
临床分期	I	60(48.8)	33.39	<0.001
	II	54(43.9)		
	III	9(7.3)		
T	I - II	81(65.9)	11.97	0.001
	III - IV	42(34.1)		
N	0	85(69.1)	19.01	<0.001
	1+2+3	38(30.9)		
M	0	78(63.4)	16.65	<0.001
	1	45(36.6)		
肿瘤类型	ESCC	94(76.4)	9.17	0.010
	EAC	29(23.6)		

3 讨论

食管是癌症的常见发病部位, EC 是全球排名第 6 位的癌症死因。EC 预后较差, 对人类健康危害严重。近年来研究指出 lncRNAs 在 EC 的发生、发展中扮演重要角色^[11-12], lnc RNA DNAJC3-AS1 位于染色体 13q32.1, 含有 2 个外显子, 其与 DNAJC3 是同源靶基因。有报道指出, 在骨肉瘤组织中高表达并与骨肉瘤的分化程度、临床进展密切相关, 其能提高骨肉瘤体内外的细胞增殖、迁移和侵袭能力, 并降低对顺铂的药物敏感性。另外 lnc RNA DNAJC3-AS1 在乳腺癌中高表达且其高表达能缩短乳腺癌患者生存期。目前, 关于 lnc RNADNAJC3-AS1 与 EC 的关联研究鲜有报道。

本研究结果显示, lnc RNA DNAJC3-AS1 在 EC 肿瘤组织中高表达, 并且高表达 lnc RNA DNAJC3-AS1 患者的 OS 较低, 这就说明了 lnc RNA DNAJC3-

AS1 是 EC 的潜在生物标志物, 其表达水平的升高会对 EC 患者的 OS 带来消极影响。分析 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与 EC 患者临床病理特征间的关系, 结果表明 lnc RNA DNAJC3-AS1 表达水平与患者饮酒史、家族肿瘤史、BMI 指数、临床分期、T, N, M 等相关。

EC 的组织学类型分为 ESCC 和 EAC, 本研究纳入的对象均是 ESCC 患者, 并未涉及 EAC 患者, 因此关于 lnc RNA DNAJC3-AS1 与 EAC 的关联仍未阐明, 值得深入探究和分析。

参考文献:

- [1] 唐任光, 韦叶生, 陈宏明, 等. 食管癌患者血清细胞因子和急性时相反应蛋白的变化及其临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(1):11-14.
TANG Renguang, WEI Yesheng, CHEN Hongming, et al. Study on the changes of serum cytokine and acute phase reaction protein(APRP)in patients with

- esophageal cancer and its clinical significance[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2008, 23(1):11-14.
- [2] 肖小平, 张熊, 秦光明. 食管癌和良性食管疾病患者血浆 miRNA-21 和 miRNA-143 检测的临床应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(4):72-75, 139. XIAO Xiaoping, ZHANG Xiong, QIN Guangming. Clinical research of detecting plasma miRNA-21 and miRNA-143 for identifying early esophageal cancer and benign esophageal diseases[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(4):72-75, 139.
- [3] 邱巍, 胡威, 赵建江, 等. 江苏宿迁地区汉族人群 DNMT3B 基因启动子区 -149C > T 和 -579G > T 多态性与食管癌易感性的分析[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2):28-30. QIU Wei, HU Wei, ZHAO Jianjiang, et al. Study on the promoter region -149C > T and -579G > T polymorphism of DNMT3B with genetic susceptibility to esophageal cancer of han population in Jiangsu Suqian[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(2):28-30.
- [4] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. Lancet (London, England), 2018, 391(10253): 1023-1075.
- [5] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(6): 394-424.
- [6] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2019, 69(1): 7-34.
- [7] CHEN Wanqing. Cancer statistics: updated cancer burden in China[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2015, 27(1): 1.
- [8] CHEN Wanqing, SUN Kexin, ZHENG Rongshou, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2018, 30(1): 1-12.
- [9] 景文江, 郭翠萍, 马军, 等. miR-144 和 lncRNA DNAJC3-AS1 在乳腺癌组织中的表达及其在乳腺癌细胞 MCF-7 化疗耐药中的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(2):177-183. JING Wenjiang, GUO Cuiping, MA Jun, et al. Expression of miR-144 and lncRNA DNAJC3-AS1 in breast cancer tissues and their roles in chemotherapy resistance of breast cancer MCF-7 cells[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2020, 27(2):177-183.
- [10] 梁日东. 长链非编码 RNA DNAJC3-AS1 在骨肉瘤中的表达和功能探讨[D]. 广州: 南方医科大学, 2019. LIANG Ridong. Expression and functional study of long non-coding RNA DNAJC3-AS1 in osteosarcoma[D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2019.
- [11] 吴璇, 邝钢, 任利兵, 等. 长链非编码 RNA ZNF667-AS1 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其 DNA 甲基化状态的研究[J]. 肿瘤防治研究, 2018, 45(12):976-980. WU Xuan, KUANG Gang, REN Libing, et al. Expression and DNA methylation status of long non-coding RNA ZNF667-AS1 in esophageal squamous cell carcinoma tissues[J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2018, 45(12):976-980.
- [12] 李国良, 朱明闯, 熊鹏, 等. 长链非编码 RNA 在食管癌中的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(24):4015-4018. LI Guoliang, ZHU Mingchuang, XIONG Peng, et al. Research progress of long non-coding RNA in esophageal cancer[J]. The Journal of Practical Medicine, 2018, 34(24):4015-4018.

收稿日期: 2020-10-15

修回日期: 2020-12-02

(上接第52页)

- [8] 邹晋梅. Rho 相关信号通路对类风湿关节炎患者 FLS 活性的影响[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(21): 5260-5262. ZOU Jinmei. Effect of Rho related signal pathway on the activity of FLS in patients with rheumatoid arthritis[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2018, 38(21): 5260-5262.
- [9] 童也, 武振方, 王宇翔, 等. 类风湿关节炎滑膜巨噬细胞基因芯片分析[J]. 江苏大学学报(医学版), 2019, 29(5): 379-385. TONG Ye, WU Zhenfang, WANG Yuxiang, et al. Gene chip analysis of synovial macrophages in rheumatoid arthritis[J]. Journal of Jiangsu University(Medicine Edition), 2019, 29(5): 379-385.
- [10] ESTELIUS J, LENGQVIST J, OSSIPOVA E, et al. Mass spectrometry-based analysis of cerebrospinal fluid from arthritis patients-immune-related candidate proteins affected by TNF blocking treatment[J]. Arthritis Research & Therapy, 2019, 21(1):60.
- [11] XIA Wei, WU Jian, DENG Feiyan, et al. Integrative analysis for identification of shared markers from various functional cells/tissues for rheumatoid arthritis[J]. Immunogenetics, 2017, 69(2): 77-86.
- [12] DU Juping, YU Sufei, WANG Donglian, et al. Germline and somatic mtDNA mutation spectrum of rheumatoid arthritis patients in the Taizhou area, China [J]. Rheumatology (Oxford, England), 2020, 59(10): 2982-2991.

收稿日期: 2020-05-22

修回日期: 2020-07-03