

• 论 著 •

联合检测血清中长链非编码 RNA Loc344887、GAS5、Linc00152 对 NSCLC 的诊断价值

张保友¹, 史 建², 王海龙², 张贡献³, 孔劲松¹, 汪国文^{4△}

(宿州市第一人民医院: 1. 胸外科; 2. 呼吸内科; 3. 肿瘤内科, 安徽宿州 234000;

4. 蚌埠医学院第一附属医院胸外科, 安徽蚌埠 233004)

摘 要:目的 探讨联合检测长链非编码 RNA(LncRNA) Loc344887、GAS5、Linc00152 对非小细胞肺癌(NSCLC)的诊断价值。方法 选择 2015 年 12 月至 2019 年 12 月宿州市第一人民医院和蚌埠医学院第一附属医院收治的早期 NSCLC 患者 90 例纳入肿瘤组、肺部良性疾病患者 90 例纳入良性组、体检健康者 90 例纳入对照组。通过实时荧光定量 PCR 检测受试者血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对表达水平。用受试者工作特征(ROC)曲线的相关参数分析 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 在早期 NSCLC 中的诊断意义。结果 肿瘤组、良性组和对照组血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对表达水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Loc344887、GAS5、Linc00152 水平鉴别肿瘤组与良性组的灵敏度分别为 0.86、0.87、0.87, 特异度分别为 0.85、0.88、0.88。Loc344887、GAS5、Linc00152 水平鉴别肿瘤组与对照组的灵敏度分别为 0.96、0.94、0.96, 特异度分别为 0.96、0.85、0.94。血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 联合对早期 NSCLC 的诊断灵敏度为 0.863, 特异度为 0.926, 准确度为 0.929。结论 血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对表达量检测可作为早期 NSCLC 的潜在标志。

关键词: Loc344887; GAS5; Linc00152; 非小细胞肺癌; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.17.019

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2020)17-2134-04

文献标识码: A

Diagnostic value of long-chain non-coding RNA Loc344887, GAS5, Linc00152 in non-small cell lung cancer

ZHANG Baoyou¹, SHI Jian², WANG Hailong², ZHANG Gongxian³, KONG Jinsong¹, WANG Guowen^{4△}

(1. Department of Thoracic Surgery; 2. Department of Respiratory Medicine; 3. Department of

Oncology, First People's Hospital of Suzhou, Suzhou, Anhui 234000, China;

4. Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu

Medical College, Bengbu, Anhui 233004, China)

Abstract: Objective To explore the diagnostic value of combined detection of long-chain non-coding RNA Loc344887, GAS5, Linc00152 for non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** From December 2015 to December 2019, 90 patients with early stage NSCLC who were admitted to First People's Hospital of Suzhou and the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College were included in the tumor group, 90 patients with benign lung diseases were included in the benign group, and 90 healthy patients were included in the control group. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the relative expression levels of long-chain non-coding RNAs Loc344887, GAS5 and Linc00152 in the patients' serum. The relative parameter of receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic significance of long-chain non-coding RNAs Loc344887, GAS5, Linc00152 in early NSCLC. **Results** The relative expression levels of long-chain non-coding RNA Loc344887, GAS5 and Linc00152 in the serum of tumor group, benign group and control group were compared, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The sensitivity of Loc344887, GAS5 and Linc00152 levels to distinguish the tumor group from the benign group was 0.86, 0.87, 0.87, and the specificity was 0.85, 0.88, 0.88, respectively. The sensitivity of Loc344887, GAS5 and Linc00152 levels to distinguish the tumor group from the control group was 0.96, 0.94, 0.96, and the specificity was 0.96, 0.85, 0.94, respectively. The sensitivity of the combination of long-chain non-coding RNAs Loc344887, GAS5, Linc00152 in serum for early diagnosis of NSCLC was 0.863, specificity was 0.926, and accuracy was

作者简介: 张保友, 男, 副主任医师, 主要从事非小细胞肺癌的相关研究。△ **通信作者,** E-mail: wgwzj@163.com。

本文引用格式: 张保友, 史建, 王海龙, 等. 联合检测血清中长链非编码 RNA Loc344887、GAS5、Linc00152 对 NSCLC 的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(17): 2134-2137.

0. 929. **Conclusion** The relative expression of long-chain non-coding RNAs Loc344887, GAS5, Linc00152 in serum can be used as potential markers of early NSCLC.

Key words: Loc344887; GAS5; Linc00152; non-small cell lung cancer; diagnosis

在全球预计癌症死亡人数中,肺癌占男性患者死亡人数的 29%,女性患者死亡人数的 26%,在中国与癌症相关的病死率方面位居首位^[1]。肺癌的主要类型是小细胞肺癌(SCLC)和非小细胞肺癌(NSCLC)^[2]。尽管传统疗法和新疗法取得了长足的进步,但 NSCLC 患者的总体生存率仍然很差,因为大多数患者是在肿瘤转移后才被诊断。因此,NSCLC 的早期诊断十分必要。长链非编码 RNA(LncRNA)是非编码 RNA 家族的重要新成员,其长度超过 200 bp^[3]。据报道,越来越多的 LncRNA 在癌症进展和转移中起关键作用^[4]。此外,最近的研究证实,LncRNA 的失调与各种肿瘤(如胃癌、神经胶质瘤和 NSCLC)的诊断和预后相关^[5]。但是,大多数 LncRNA 的详细生物学作用仍然未知。NSCLC 患者血清中失调的 LncRNA (Loc 344887^[6]、GAS5^[7]、Linc00152^[8])作用已确定,但是 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 在早期 NSCLC 中的诊断价值仍然未知。基于此,本研究旨在探讨联合检测 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 对 NSCLC 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 12 月至 2019 年 12 月宿州市第一人民医院和蚌埠医学院第一附属医院(后简称“两所医院”)收治的早期 NSCLC 患者 90 例纳入肿瘤组;其中男 58 例,女 32 例;年龄 46~79 岁,平均(56. 21±23. 40)岁;肿瘤直径 0. 8~6. 6 cm,平均(2. 39±1. 64)cm;分型:腺癌 46 例,鳞癌 44 例;TNM 分期:Ⅰ期 78 例,Ⅱ期 12 例。另选择同期两所医院收治的肺部良性疾病患者 90 例纳入良性组;其中男 45 例,女 45 例;年龄 39~77 岁,平均(56. 54±24. 92)岁;其中肺结核 77 例,肺炎 13 例。90 例早期 NSCLC 患者和 90 例肺部良性疾病患者均经两所医院病理科证实。排除标准:(1)严重心、肝、肾功能损害者;(2)长期使用皮质类固醇激素及免疫抑制剂者;(3)患有精神疾病者;(4)患有其他癌症者。同时选取同期两所医院体检的体检健康者 90 例纳入对照组;其中男 45 例,女 45 例;年龄 42~79 岁,平均(56. 32±22. 44)岁。肿瘤组和良性组受试人员性别、年龄和吸烟史比较,差异均无统计学意义($P>0. 05$),见表 1,具有可比性。本研究经两所医院伦理委员会研究通过,所有受试者均已签署知情同意书。

1.2 RNA 的提取与实时荧光定量 PCR 采集对照组人群、未治疗的肿瘤组、良性组患者肘静脉血 5 mL。使用北京源畅致和生物科技有限公司的 RNA 提取试剂盒(RNA simple 总 RNA 提取试剂盒,货号:dp419)进行总 RNA 提取。使用微克特锐生物科技

(武汉)有限公司的逆转录试剂盒(货号:K1622)进行逆转录。使用广州铖铖生物科技有限公司的 SYBR green(货号:AQ140-01)进行 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 相对水平的检测。所有反应设置两组重复试验,取中间值以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行 mRNA 相对水平的计算。

表 1 一般临床资料在肿瘤组和良性组患者间的比较				
	肿瘤组(<i>n</i>)	良性组(<i>n</i>)	χ^2	<i>P</i>
性别			3. 836	0. 051
男	58	45		
女	32	45		
年龄(岁)			0. 093	0. 760
≥60	35	37		
<60	55	53		
吸烟史			2. 425	0. 119
无	27	37		
有	63	53		

1.3 统计学处理 使用 R studio 中 R 语言的统计学基础包进行统计学分析。数据符合正态分布,组间比较采用 Ordinary one-way ANOVA 检验。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或百分数形式表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0. 05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组受试人员血清 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 相对表达水平比较 肿瘤组、良性组和对照组血清 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对水平比较,差异均有统计学意义($P<0. 05$),见表 2。

表 2 3 组受试人员血清 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	Loc344887	GAS5	Linc00152
肿瘤组	90	3. 40±1. 31	0. 25±0. 09	2. 59±0. 82
良性组	90	1. 33±0. 41	1. 40±0. 50	1. 11±0. 34
对照组	90	0. 15±0. 05	1. 68±0. 56	0. 58±0. 29
<i>F</i>		464. 8	325. 5	403. 2
<i>P</i>		<0. 001	<0. 001	<0. 001

2.2 LncRNA 鉴别早期 NSCLC 患者与肺部良性疾病患者的 ROC 曲线相关参数 为了评估血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 在鉴别早期 NSCLC 患者与肺部良性疾病患者中的诊断价值,绘制 ROC 曲线。LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 鉴别早期 NSCLC 患者与肺部良性疾病患者的 ROC 曲线相关参数见表 3。

2.3 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 鉴别早

期 NSCLC 患者与体检健康者的 ROC 曲线相关参数 为了评估血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 在早期 NSCLC 患者与体检健康者中的诊 断价值,通过软件绘制 ROC 曲线。LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 鉴别早期 NSCLC 患者与体检健康者的 ROC 曲线相关参数见表 4。

表 3 LncRNA 鉴别早期 NSCLC 患者与肺部良性疾病患者的 ROC 曲线相关参数

检测变量	阳性临界值	灵敏度	特异度	约登指数	AUC	P	95%CI
Loc344887	1.914	0.86	0.85	0.71	0.87	<0.001	0.826 3~0.928 1
GAS5	0.620	0.87	0.88	0.75	0.86	<0.001	0.813 9~0.920 3
Linc00152	1.868	0.87	0.88	0.75	0.88	<0.001	0.836 0~0.932 2

表 4 LncRNA 鉴别早期 NSCLC 患者与体检健康者的 ROC 曲线相关参数

检测变量	阳性临界值	灵敏度	特异度	约登指数	AUC	P	95%CI
Loc344887	0.560 6	0.96	0.96	0.93	0.95	<0.001	0.925 0~0.987 0
GAS5	1.056 0	0.94	0.85	0.80	0.90	<0.001	0.854 6~0.945 8
Linc00152	0.973 4	0.96	0.94	0.91	0.90	<0.001	0.918 9~0.985 0

2. 4 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 对 NSCLC 的联合诊断 以 Loc344887 的阳性临界值 1.914、GAS5 的阳性临界值 0.620、Linc00152 的阳性临界值 1.868 为诊断阈值,三者均满足为联合诊断阳性,反之则为联合诊断阴性。患有早期 NSCLC 的为真阳性,未患有早期 NSCLC 的为真阴性。采用以上标准对两所医院就诊的 324 例肺部疾病患者进行联合诊断,血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 联合对早期 NSCLC 的诊断结果为阳性 117 例(其中病理结果阳性 101 例、阴性 16 例)、阴性 207 例(其中病理结果阳性 7 例、阴性 200 例)。因此,三者联合诊断的灵敏度为 0.863(101/117),特异度为 0.926(200/216),准确度为 0.929(301/324)。

3. 讨 论

肺癌是全球最常见的癌症。癌症统计资料显示,2015 年中国约有 429.2 万例新癌症病例和 281.4 万例癌症死亡病例,其中肺癌是导致癌症死亡的主要原因^[9]。NSCLC 约占肺癌病例的 85%,其中包括鳞状细胞癌、腺癌、大细胞癌和其他几种类型^[10]。尽管已经取得了一些癌症治疗进展,但 NSCLC 患者的 5 年生存率仍然未能令人满意^[11]。目前,癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)和糖类抗原 19-9(CA19-9)等传统 NSCLC 生物标志物的灵敏度已不能令人满意^[12],因此,迫切需要找到新的非侵入性的敏感生物标志物,以补充和改善当前的 NSCLC 筛选方法。

肿瘤细胞可以向外周血释放大量 RNA,并且 RNA 的水平足以进行定量分析^[13-14]。据报道,血清中的 LncRNA 可以反映癌症患者的病理和生理变化。现阶段,许多研究将关注点集中于 LncRNA^[15-16]。LncRNA 是一种转录物,长度超过 200 个核苷酸,保守性很差,不能翻译成蛋白质^[17]。研究表明,Ln-

cRNA 在许多生物学过程中,特别是在肿瘤生物学中起至关重要的作用^[18]。例如,血清中的 LncRNA HULC 可以作为胃癌的新型生物标志物^[19]。在本研究中,发现血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 联合检测对早期 NSCLC 诊断灵敏度为 0.863,特异度为 0.926,准确度为 0.929。具有良好的诊断效能。

肿瘤组、良性组和对照组血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。Loc344887、GAS5、Linc00152 水平鉴别肿瘤组与良性组的灵敏度分别为 0.86、0.87、0.87,特异度分别为 0.85、0.88、0.88。Loc344887、GAS5、Linc00152 水平鉴别肿瘤组与对照组的灵敏度分别为 0.96、0.94、0.96,特异度分别为 0.96、0.85、0.94。Linc00152 是一种位于 2p11.2 的新型 LncRNA,已被证明在胃癌、肝细胞癌、肾透明细胞癌、结肠癌和胆囊癌中表达失调^[20-21]。此外,最近的研究表明,Linc00152 可以作为食管鳞状细胞癌和胃癌的血清生物标志物^[22-23]。WU 等^[24]的一项研究报道了 Loc344887 在胆囊癌组织和细胞中的表达明显升高。体外测定表明 Loc344887 通过调节诱导胆囊癌的上皮细胞-间充质转化来抑制迁移、侵袭和增殖。GAS5 位于 1q25.1,包含 12 个外显子,只有一个短的开放阅读框,不能编码功能蛋白^[25]。GAS5 的高表达丰度可以通过 mTOR 途径与 NMD 途径之间的相互作用来解释^[26-27]。提示 mTOR 途径与 NMD 途径可能在 NSCLC 的发生、发展中起到重要作用。

4 结 论

综上所述,血清中 LncRNA Loc344887、GAS5、Linc00152 的相对表达量检测可作为早期 NSCLC 的潜在标志。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015[J]. *CA-Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5-29.
- [2] National Lung Screening Trial Research Team. Lung cancer incidence and mortality with extended follow-up in the National Lung Screening Trial[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(10): 1732-1742.
- [3] LUO K, GENG J, ZHANG Q, et al. LncRNA CASC9 interacts with CPSF3 to regulate TGF- β signaling in colorectal cancer[J]. *J Exp Clin Can Res*, 2019, 38(1): 249-255.
- [4] MÜLLER V, OLIVEIRA-FERRER L, STEINBACH B, et al. Interplay of lncRNA H19/miR-675 and lncRNA NEAT1/miR-204 in breast cancer[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(5): 1137-1149.
- [5] MANSOORI Y, ZENDEHBAD Z, ASKARI A, et al. Breast cancer-linked lncRNA α -Eleanor is upregulated in breast of healthy women with lack or short duration of breastfeeding[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(6): 9869-9876.
- [6] LI N, WANG Y, LIU X, et al. Identification of circulating long noncoding RNA HOTAIR as a novel biomarker for diagnosis and monitoring of non-small cell lung cancer[J]. *Technol Cancer Res T*, 2017, 16(6): 1060-1066.
- [7] TAN Q, ZUO J, QIU S, et al. Identification of circulating long non-coding RNA GAS5 as a potential biomarker for non-small cell lung cancer diagnosis non-small cell lung cancer, long non-coding RNA, plasma, GAS5, biomarker[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(5): 1729-1738.
- [8] WU B, ZHANG X J, LI X G, et al. Long non-coding RNA Loc344887 is a potential prognostic biomarker in non-small cell lung cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(17): 3808-3812.
- [9] LI Y, ZHAO J, YU S, et al. Extracellular Vesicles Long RNA Sequencing Reveals Abundant mRNA, circRNA, and lncRNA in Human Blood as Potential Biomarkers for Cancer Diagnosis[J]. *Clin Chem*, 2019, 65(6): 798-808.
- [10] LI J, XU Q, WANG W, et al. MIR100HG: a credible prognostic biomarker and an oncogenic lncRNA in gastric cancer[J]. *Bioscience Rep*, 2019, 39(4): BSR20190171.
- [11] WANG W, XIE Y, CHEN F, et al. LncRNA MEG3 acts as a biomarker and regulates cell functions by targeting A-DAR1 in colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(29): 3972.
- [12] LUZÓN-TORO B, FERNÁNDEZ R M, MARTOS-MARTÍNEZ J M, et al. LncRNA LUCAT1 as a novel prognostic biomarker for patients with papillary thyroid cancer[J]. *Sci Rep-UK*, 2019, 9(1): 1-12.
- [13] LIU Y, FENG W, LIU W, et al. Circulating lncRNA ABHD11-AS1 serves as a biomarker for early pancreatic cancer diagnosis[J]. *J Cancer*, 2019, 10(16): 3746-3756.
- [14] SONG B, LI R, ZUO Z, et al. LncRNA ENST00000539653 acts as an oncogenic factor via MAPK signalling in papillary thyroid cancer[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 297.
- [15] ZHENG Y, XU Q, LIU M, et al. lncAR: a comprehensive resource for lncRNAs from Cancer Arrays[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(8): 2076-2083.
- [16] DONG P, XIONG Y, YUE J, et al. Exploring lncRNA-Mediated Regulatory Networks in Endometrial Cancer Cells and the Tumor Microenvironment: Advances and Challenges[J]. *Cancers*, 2019, 11(2): 234-244.
- [17] TU C, REN X, HE J, et al. The Value of lncRNA BCAR4 as a Prognostic Biomarker on Clinical Outcomes in Human Cancers[J]. *J Cancer*, 2019, 10(24): 5992.
- [18] KELEMEN E, DANIS J, GÖBLÖ S A, et al. Exosomal long non-coding RNAs as biomarkers in human diseases[J]. *Ejifcc*, 2019, 30(2): 224-230.
- [19] XIN L, ZHOU Q, YUAN Y W, et al. METase/lncRNA HULC/FoxM1 reduced cisplatin resistance in gastric cancer by suppressing autophagy[J]. *J Cancer Res Clinical*, 2019, 145(10): 2507-2517.
- [20] 肖洒, 蔡宙, 钟欣超, 等. 血清 miR-210 和 miR-375 在 NSCLC 患者中的表达变化情况[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(2): 156-161.
- [21] WANG H, CHEN W, YANG P, et al. Knockdown of linc00152 inhibits the progression of gastric cancer by regulating microRNA-193b-3p/ETS1 axis[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(4): 461-473.
- [22] MAO Y, TIE Y, DU J, et al. LINC00152 promotes the proliferation of gastric cancer cells by regulating B-cell lymphoma-2[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 3747-3756.
- [23] 卢兴兵, 石佳, 李勤, 等. PLR、NLR 参数联合肿瘤标志物在 NSCLC 诊断中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2019, 40(10): 1223-1226.
- [24] WU X C, WANG S, OU H, et al. The NmrA-like family domain containing 1 pseudogene Loc344887 is amplified in gallbladder cancer and promotes epithelial-mesenchymal transition[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2017, 90(3): 456-463.
- [25] 李明凯, 詹浩炼, 吴灵飞. 长链非编码 RNA GAS5 在肿瘤中的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2019, 27(3): 175-182.
- [26] 卢建峰, 余倩茹, 梁任隆, 等. p21WAF1 基因在 NSCLC 中的表达及临床意义的 meta 分析[J]. *现代临床医学*, 2019, 45(4): 284-287.
- [27] GOUSTIN A S, THEPSUWAN P, KOSIR M A, et al. The Growth-Arrest-Specific (GAS)-5 Long Non-Coding RNA: A Fascinating lncRNA Widely Expressed in Cancers[J]. *Non-coding RNA*, 2019, 5(3): 46.

(收稿日期: 2020-02-02 修回日期: 2020-05-15)