·论　　著·

lncRNA HOTAIR 和 lncRNA UCA1 在肾上腺恶性肿瘤中的表达及临床意义*

孙青风[1]，杜学谦[1]，王晓鹏[1]，郭岩松[1]，梅向楠[1]，姜利宁[2]
（1. 河北省沧州市人民医院泌尿外科，河北沧州 061001；2. 河北省沧州市中心医院泌尿外科，河北沧州 061001）

摘　要：目的　探讨长链非编码 RNA（lncRNA）HOX 转录反义 RNA（HOTAIR）和 lncRNA 尿路上皮癌相关基因 1（UCA1）在肾上腺恶性肿瘤中的表达及临床意义。**方法**　收集 2016 年 6 月至 2019 年 6 月沧州市人民医院及沧州市中心医院收治的 52 例肾上腺癌患者手术切除的肾上腺癌组织及配对癌旁组织标本，提取 RNA，反转录获得 cDNA，采用实时荧光定量 PCR 检测癌组织和癌旁组织中 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 相对表达水平，分析其与临床病理特征的相关性。**结果**　肾上腺癌组织中 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 相对表达水平显著高于癌旁正常组织（$P<0.05$）；lncRNA HOTAIR 相对表达水平与肿瘤最大径、远处转移、TNM 分期有关（$P<0.05$），肿瘤最大径大、发生远处转移、TNM 分期晚的患者 lncRNA HOTAIR 相对表达水平显著增高；lncRNA UCA1 相对表达水平与肿瘤最大径、远处转移、包膜浸润、TNM 分期有关（$P<0.05$），肿瘤最大径大、发生远处转移和包膜浸润、TNM 分期晚的患者 lncRNA UCA1 相对表达水平显著增高。**结论**　lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在肾上腺癌组织中显著上调，其相对表达水平与肿瘤大小、转移和分期有关，可能成为肾上腺癌诊断和治疗新的分子标记物。

关键词：肾上腺恶性肿瘤；　长链非编码 RNA；　HOX 转录反义 RNA；　尿路上皮癌相关基因；　临床病理特征

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2020.23.012　　**中图法分类号：**R737.11

文章编号：1673-4130(2020)23-2867-04　　**文献标识码：**A

Expression and clinical significance of lncRNA HOTAIR and lncRNA UCA1 in adrenal maligant tumor*

SUN Qingfeng[1], *DU Xueqian*[1], *WANG Xiaopeng*[1], *GUO Yansong*[1], *MEI Xiangnan*[1], *JIANG Lining*[2]
(1. *Department of Urologic Surgery, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou, Hebei* 061001, *China*;
2. *Department of Urologic Surgery, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei* 061001, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the expression and clinical significance of long-chain noncoding RNA (lncRNA) HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) and lncRNA urothelial carcinoma associated 1 (UCA1) in adrenal maligant tumor. **Methods**　From June 2016 to June 2019, 52 cases of adrenal carcinoma tissues and paired paracancerous tissues from Cangzhou People's Hospital and Cangzhou Central Hospital were collected. RNA was extracted and retranscribed to obtain the cDNA. The relative expression levels of lncRNA HOTAIR and lncRNA UCA1 in cancer tissues and paracan cerous tissues was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The correlation between them and clinicopathological features was analyzed. **Results**　The relative expressions levels of lncRNA HOTAIR and lncRNA UCA1 in adrenal carcinoma tissues were significantly higher than those in paracancerous normal tissues ($P<0.05$). The relative expression level of lncRNA HOTAIR was correlated with maximum diameter of tumor, distant metastasis and TNM stage ($P<0.05$). The relative expression level of lncRNA HOTAIR was significantly increased in patients with large maximum diameter of tumor, distant metastasis and late TNM stage. The relative expression level of lncRNA UCA1 was correlated with maximum diameter of tumor, distant metastasis, capsular infiltration and TNM stage ($P<0.05$). The relative expression level of lncRNA UCA1 was significantly increased in patients with large maximum diameter of tumor, distant metastasis and capsular infiltration, and late TNM stage. **Conclusion**　LncRNA HOTAIR and lncRNA UCA1 are significantly up-regulated in adrenal carcinoma tissues, and their rela-

*　**基金项目：**河北省沧州市重点研发计划指导项目（183302032）。

作者简介：孙青风，男，副主任医师，主要从事泌尿系统肿瘤研究。

本文引用格式：孙青风，杜学谦，王晓鹏，等. lncRNA HOTAIR 和 lncRNA UCA1 在肾上腺恶性肿瘤中的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志，2020，41(23)：2867-2870.

tive expression levels are related to the size, metastasis and stage of the tumors, which may provide new molecular markers for the diagnosis and treatment of adrenal carcinoma.

Key words: adrenal maligant tumor; long-chain non-coding RNA; HOX transcript antisense RNA; urothelial carcinoma associated; clinicopathological features

肾上腺肿瘤是泌尿外科常见肿瘤，肾上腺本身的组织学特性和解剖学特点导致其容易被漏诊或误诊[1]。大量研究显示，长链非编码 RNA(lncRNA)在多种肿瘤中均有异常表达，提示其与多种肿瘤的发生、发展关系密切[2]。HOX 转录反义 RNA(HOTAIR)是首个被发现的具有反式转录调控基因表达的 lncRNA，在肝癌、结直肠癌等癌症的增殖、浸润、转移中发挥作用[3]。尿路上皮癌相关基因 1(UCA1)是与泌尿系统相关的 lncRNA，最早发现于膀胱移行细胞癌中，同时在结直肠癌、膀胱癌等癌症中存在不同程度的高表达[4]。但上述 2 种 lncRNA 在肾上腺肿瘤中的表达和临床意义缺少相关报道，为探究 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在肾上腺肿瘤中的作用机制，本研究采用实时荧光定量(qPCR)检测肾上腺癌患者组织中 HOTAIR、UCA1 的相对表达水平，分析其相对表达水平与临床病理的关系，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 组织标本为 2016 年 6 月至 2019 年 6 月在沧州市人民医院及沧州市中心医院行手术切除的 52 例肾上腺癌患者肾上腺癌及配对癌旁组织标本。所有患者在术前均未接受射频消融、放疗、化疗等治疗，肾上腺癌组织标本经病理切片证实含 80%以上癌细胞，癌旁组织取自距肾上腺癌组织超过 2 cm 处，经病理切片证实无癌细胞。标本组织切除后 15 min 以内置入液氮中冷冻，−80 ℃保存备用。本研究经医院伦理委员会审核批准，52 例肾上腺癌患者均知情同意且签署知情同意书。所有患者临床资料完整，其中男 31 例，女 21 例；年龄 34～79 岁，平均(55.10±6.32)岁；国际抗癌组织(UICC)TNM 分期：Ⅰ期 11 例，Ⅱ期 19 例，Ⅲ期 16 例，Ⅳ期 6 例。

1.2 仪器与试剂 SP-756P 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)，ABI 2720 PCR 仪(美国应用生物系统公司)，ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 系统(美国应用生物系统公司)，ABI life 2720 PCR 热循环仪(美国应用生物系统公司)，GenoSens 1860 凝胶成像分析系统(上海勤翔科学仪器有限公司)，德国 SIGMA1-14 小型台式高速离心机(德国 Sigma 公司)，Trizol RNA 提取试剂盒(北京英格恩生物有限公司)，miRNA 反转录试剂盒(美国应用生物系统公司)，miRNA qPCR 检测试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)，其他常规试剂、仪器及实验耗材均由医院实验室提供。

1.3 方法 取 100 mg 冻存组织以 Trizol 法提取组织总 RNA，操作步骤同试剂盒说明书。使用紫外可见分光光度计测定提取 RNA 的吸光值，并测定浓度。按照 miRNA 反转录试剂盒所示操作步骤反转录得到 cDNA，−20 ℃备用。取 cDNA 进行 qPCR 检测 HOTAIR 和 UCA1 表达水平。lncRNA HOTAIR 正向引物 5′-3′：GGTAGAAAAAGCAACCACGAAG；反向引物 3′-5′：ACATAAACCTCTGTCTGTGAGTGC。内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)正向引物 5′-3′：AGGACATGCATGGACACAGA；反向引物 3′-5′：GGACGGAATCAACTCTGACA。反应条件：95 ℃ 5 s，85 ℃ 10 s，60 ℃ 25 s，共 40 个循环；lncRNA UCA1 正向引物：5′-ACGCTAACTGGCACCTTGTT-3′；反向引物：5′-TGGGGATTACTGGGGTAGGG-3′。GAPDH 正向引物：5′-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3′；反向引物：5′-GAAGATGGTGGGATTTC-3′。反应条件：90 ℃ 10 s，65 ℃ 20 s，75 ℃ 10 s，共 45 个循环。根据 PCR 扩增曲线得到 Ct 值，使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 基因相对表达水平。$\Delta Ct = Ct_{HOTAIR} - Ct_{GAPDH}$，$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{癌组织} - \Delta Ct_{癌旁组织}$，UCA1 同上。根据 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 基因相对表达水平是否超过相对表达水平平均值，将肾上腺癌组织分为 lncRNA HOTAIR 高表达组、lncRNA HOTAIR 低表达组及 lncRNA UCA1 高表达组、lncRNA UCA1 低表达组。

1.4 统计学处理 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 基因相对表达水平经对数转换后数据符合正态分布，使用 SPSS22.0 软件进行统计分析，计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较使用两独立样本 t 检验，各治疗组前后比较采用配对 t 检验。计数资料以频数、率表示，组间比较采用 χ^2 检验。所有统计资料均为双侧检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在不同组织中的相对表达水平比较 肾上腺癌组织中 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 相对表达水平显著高于癌旁组织($P<0.05$)，见表 1。

表 1 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在不同组织中的相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组织	n	lncRNA HOTAIR 相对表达水平	lncRNA UCA1 相对表达水平
癌组织	52	4.85±1.12	5.13±1.35
癌旁组织	52	1.03±0.31	1.26±0.38
t		23.704	19.899
P		<0.001	<0.001

2.2 lncRNA HOTAIR 在肾上腺癌组织中的相对表达水平与临床病理特征的关系　对 52 例肾上腺癌患者癌组织中 lncRNA HOTAIR 相对表达水平与临床病理特征进行分析后发现，lncRNA HOTAIR 相对表达水平与肿瘤最大径、远处转移、TNM 分期有关（$P<0.05$），肿瘤最大径大、发生远处转移、TNM 分期晚的患者 lncRNA HOTAIR 相对表达水平增高；lncRNA HOTAIR 相对表达水平与性别、年龄、单发或多发、包膜浸润、分化程度无关（$P>0.05$）。见表 2。

表 2　lncRNA HOTAIR 在肾上腺癌组织中的相对表达水平与临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理参数	n	低表达组（n=22）	高表达组（n=30）	χ^2	P
性别				0.256	0.613
男	31	14(45.16)	17(54.84)		
女	21	8(38.10)	13(61.90)		
年龄(岁)				0.667	0.414
≥60	18	9(50.00)	9(50.00)		
<60	34	13(38.24)	21(61.76)		
肿瘤最大径(cm)					
≥5	29	7(24.14)	22(75.86)	8.868	0.003
<5	23	15(65.22)	8(34.78)		
单发或多发				0.171	0.680
单发	23	9(39.13)	14(60.87)		
多发	29	13(44.83)	16(55.17)		
包膜浸润				0.315	0.575
有	26	10(38.46)	16(61.54)		
无	26	12(46.15)	14(53.85)		
远处转移					
有	28	6(21.43)	22(78.57)	10.835	<0.001
无	24	16(66.67)	8(33.33)		
TNM 分期				5.990	0.014
Ⅰ～Ⅱ期	30	17(56.67)	13(43.33)		
Ⅲ～Ⅳ期	22	5(22.73)	17(77.27)		
分化程度				0.254	0.881
低	17	8(47.06)	9(52.94)		
中	13	5(38.46)	8(61.54)		
高	22	9(40.91)	13(59.09)		

2.3 lncRNA UCA1 在肾上腺癌组织中的相对表达水平与临床病理特征的关系　对 52 例肾上腺癌患者癌组织中 lncRNA UCA1 相对表达水平与临床病理特征进行分析后发现，lncRNA UCA1 相对表达水平与肿瘤最大径、远处转移、包膜浸润、TNM 分期有关（$P<0.05$），肿瘤最大径大、发生远处转移和包膜浸润、TNM 分期晚的患者 lncRNA UCA1 相对表达水平显著增高；lncRNA HOTAIR 相对表达水平与性别、年龄、单发或多发、分化程度无关（$P>0.05$）。见表 3。

表 3　lncRNA UCA1 在肾上腺癌组织中的相对表达水平与临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理参数	n	低表达组（n=25）	高表达组（n=27）	χ^2	P
性别				0.003	0.957
男	31	15(48.39)	16(51.61)		
女	21	10(47.62)	11(52.38)		
年龄(岁)				0.041	0.84
≥60	18	9(50.00)	9(50.00)		
<60	34	16(47.08)	18(52.94)		
肿瘤最大径(cm)					
≥5	29	9(31.03)	20(68.97)	7.629	0.006
<5	23	16(69.57)	7(30.43)		
单发或多发				0.349	0.554
单发	23	10(43.48)	13(56.52)		
多发	29	15(51.72)	14(48.28)		
包膜浸润					
有	26	8(30.77)	18(69.23)	6.240	0.012
无	26	17(65.38)	9(34.62)		
远处转移					
有	28	8(28.57)	20(71.43)	9.246	0.002
无	24	17(70.83)	7(29.17)		
TNM 分期					
Ⅰ～Ⅱ期	30	19(63.33)	11(36.67)	6.612	0.010
Ⅲ～Ⅳ期	22	6(27.27)	16(72.73)		
分化程度				0.241	0.886
低	17	8(47.06)	9(52.94)		
中	13	7(53.85)	6(46.15)		
高	22	10(45.45)	12(54.55)		

3　讨　论

肾上腺是人体最重要的内分泌腺体之一，分泌皮质醇类、儿茶酚胺类、醛固酮类等多种具有重要调节功能的激素[5]。遗传、基因突变等原因能够导致肾上腺癌变，由于患者可表现为不同类型的临床症状和体征，诊断难度显著提高。随着影像学技术的不断发展和应用，肾上腺癌诊断成功率大幅增加，但是该病起病隐匿，早期缺乏特异性症状，尤其是恶性嗜铬细胞瘤，其症状、体征、影像学检查、实验室检查等方面检查结果均与肾上腺良性肿瘤相似[6]，多数肾上腺癌患者一般发现已经处于中晚期，已经失去最佳治疗时机，且中晚期患者治疗效果不佳，复发率高，易发生转移，5 年生存率较低[7]。因此，早期诊断和治疗对于肾上腺癌患者意义重大。癌症属于多因素、多阶段发生、发展的疾病，目前对于肾上腺癌的确切发病机制尚未完全明确。肿瘤抗原和异位激素是目前常用的肿瘤标志物，然而传统的肿瘤标志物存在灵敏度和特异度不高，漏诊和误诊概率较大等不足。寻找一个肿瘤早期诊断、预后判断及治疗的新的分子标志物是临床研究的热点。

lncRNA 是一类转录本长度超过 200 个核苷酸的

RNA 分子[8]，自身缺乏编码蛋白的能力，定位于细胞核和/或细胞质[9]。最初缺乏对 lncRNA 数量、种类和功能的了解，将其称之为基因组转录的“噪音”“暗物质”“垃圾 DNA”等[10]。随着对 lncRNA 的研究不断深入，研究显示其广泛参与多种生物学过程，并能够通过信号、分子诱饵、支架、导向等多种机制调控下游靶基因的表达[11]。研究表明，lncRNA 在肿瘤发生及进展的过程中扮演着重要的角色，已经成为新的肿瘤标志物的关注焦点[12-13]。

HOTAIR 是一种与肿瘤发生密切相关的 lncRNA，其 DNA 序列位于人类第 12 号染色体 H0xC11 基因与 H0xC12 基因之间[14]。HOTAIR 与多种肿瘤的发生与发展存在密切联系，周怿等[15]研究发现其在胃癌患者病灶中的表达上调，张蔚等[16]研究发现其在妇科癌症组织中的表达显著高于正常组织，但在肾上腺癌中的表达研究较少。本研究显示，肾上腺癌组织中 lncRNA HOTAIR 相对表达水平显著高于正常癌旁组织，且 lncRNA HOTAIR 高表达与肿瘤最大径、远处转移、TNM 分期有关，提示 lncRNA HOTAIR 能够促进肾上腺癌细胞的增殖、侵袭和转移。UCA1 也是一种 lncRNA，在膀胱癌、黑色素瘤、结肠癌等恶性肿瘤中被证实表达异常[17-18]。有研究认为，UCA1 可以通过 mTOR-STAT3 通路或抑制 miR-143 上调 HK2 的表达参与糖代谢的调节[19]。本研究证实，lncRNA UCA1 在肾上腺癌组织中高表达，且与肿瘤最大径、远处转移、包膜浸润、TNM 分期有关，提示 UCA1 与肾上腺癌的发生、发展存在一定的关系，可能能够作为肾上腺癌生物标志物，为后续的研究提供一定的试验基础。

4　结　　论

lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在肾上腺癌患者癌组织中表达上调，其相对表达水平与肿瘤大小、转移和分期有关，可能成为肾上腺癌诊断和治疗新的分子标志物。检测 lncRNA HOTAIR、lncRNA UCA1 在肾上腺癌患者癌组织中相对表达水平有助于肾上腺癌的早期诊断、预后判断及治疗，但尚需更多样本量的临床研究证据对本结论予以佐证。

参考文献

[1] 丑赛，张玉石，李汉忠. 肾上腺肿瘤诊治的分子生物学进展[J]. 基础医学与临床，2016，36(6)：856-859.

[2] 蔡华荣，王志强，江跃全. 长链非编码 RNA UCA1 靶向调控 miR-185-5p 对非小细胞肺癌 A549 细胞的作用及其机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志，2018，25(6)：555-561.

[3] 席文娜，宋伟. LncRNA HOTAIR 表达水平与肿瘤患者预后关系的 Meta 分析[J]. 中南大学学报(医学版)，2016，41(12)：1352-1357.

[4] 邹远康，曹爽，张一萌，等. 长链非编码 RNA UCA1 在肿瘤中的作用[J]. 医学分子生物学杂志，2016(4)：228-233.

[5] 刘宇军，郭剑明. 肾上腺肿瘤的临床诊断和外科治疗进展[J]. 实用肿瘤杂志，2017，32(1)：10-16.

[6] 李继霞，罗南萍，公衍文，等. 尿 17-OH、17-KS、VMA 与血浆 ALD、COR 联合检测在肾上腺肿瘤中的诊断价值[J]. 实用医药杂志，2017，34(5)：401-404.

[7] CELIK E, SEMRAU R, BAUES C, et al. Robot-assisted extracranial stereotactic radiotherapy of adrenal metastases in oligometastatic non-small cell lung cancer[J]. Anticancer Res, 2017, 37(9): 5285-5291.

[8] LU M Y, LIAO Y W, CHEN P Y, et al. Targeting LncRNA HOTAIR suppresses cancer stemness and metastasis in oral carcinomas stem cells through modulation of EMT[J]. Oncotarget, 2017, 8(58): 98542-98552.

[9] LOEWEN G, JAYAWICKRAMARAJAH J, ZHUO Y, et al. Functions of lncRNA HOTAIR in lung cancer[J]. J Hematol Oncol, 2014, 7(1): 90.

[10] NASROLLAHZADEH-KHAKIANI M, EMADI-BAYGI M, NIKPOUR P. Augmented expression levels of lncRNAs ecCEBPA and UCA1 in gastric cancer tissues and their clinical significance[J]. Iran J Basic Med Sci, 2017, 20(10): 1149-1158.

[11] 赵向阳，殷成强，石永强，等. 长链非编码 RNA HOTAIR 在胃癌中的表达及意义[J]. 江苏医药，2017，43(5)：318-320.

[12] PAN W T, LIU L S, WEI J Y, et al. A functional lncRNA HOTAIR genetic variant contributes to gastric cancer susceptibility[J]. Mol Carcinog, 2016, 55(1): 90-96.

[13] 亢华银，平秦榕，钟一鸣，等. 长链非编码 RNA 在膀胱癌中的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志，2018，38(5)：847-850.

[14] 王海博，李忠廉. lncRNA UCA1 在肝癌中的表达及对肝癌 HepG2 细胞增殖和侵袭的作用及机制[J]. 天津医药，2018，46(7)：682-686.

[15] 周怿，黄重发，朱清，等. 长链非编码 RNA HOTAIR 在胃癌中的表达及意义[J]. 现代肿瘤医学，2015，23(6)：825-828.

[16] 张蔚，毛林，胡晓霞. lncRNA HOTAIR 在妇科恶性肿瘤中的研究进展[J]. 现代妇产科进展，2016，25(7)：546-548.

[17] YAN J, DANG Y N, LIU S Y, et al. LncRNA HOTAIR promotes cisplatin resistance in gastric cancer by targeting miR-126 to activate the PI3K/AKT/MRP1 genes[J]. Tumor Biology, 2016, 37(12): 16345-16355.

[18] 熊飞，刘传珍，李万强，等. 长链非编码 UCA1 调控 miR-143 表达对前列腺癌细胞生物学行为的影响[J]. 解放军医药杂志，2017，29(12)：13-16.

[19] BARBAGALLO C, BREX D, CAPONNETTO A, et al. LncRNA UCA1, upregulated in CRC biopsies and downregulated in serum exosomes, controls mRNA expression by RNA-RNA interactions[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 12: 229-241.

(收稿日期：2020-01-09　修回日期：2020-09-10)