

结肠癌中长链非编码 RNA LUCAT1 水平与患者预后的关系及对结肠癌细胞迁移、侵袭的影响*

程莉莉¹ 王琳¹ 董颖¹

[摘要] 目的:分析结肠癌中长链非编码 RNA(lncRNA)肺相关转录本 1(LUCAT1)水平与患者预后的关系及对结肠癌细胞迁移、侵袭的影响。方法:选择 2016 年 1 月—2017 年 12 月收治的行手术治疗的 53 例结肠癌患者作为研究对象,检测受试者肿瘤病灶组织和癌旁组织中 lncRNA LUCAT1 表达水平。取 LoVo 细胞检测分为空白组、阴性对照组、干预组,检测细胞增殖、迁移、侵袭活性。结果:肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 水平明显高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$);肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 水平是影响患者总生存期和无进展生存期的独立性威胁因素($P < 0.05$);低 lncRNA LUCAT1 表达患者总生存期和无进展生存期明显低于高 lncRNA LUCAT1 表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$);24 h 和 48 h 时空白组、阴性对照组和干预组 LoVo 细胞增殖活性存在明显差异,其中空白组最高,干预组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$);3 组 LoVo 细胞迁移及侵袭活性存在明显差异,其中空白组迁移及侵袭活性最高,干预组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:结肠癌肿瘤病灶组织中高 lncRNA LUCAT1 是影响患者预后质量的独立性威胁因素,且可促进结肠癌细胞迁移、侵袭。

[关键词] 结肠癌;lncRNA LUCAT1;预后;细胞迁移;细胞侵袭

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.02.003

[中图分类号] R735.3 **[文献标志码]** A

Relationship between lncRNA LUCAT1 level in colon cancer and prognosis of patients and its effect on colon cancer cell migration and invasion

CHENG Lili WANG Lin DONG Ying

(Department of Laboratory Medicine, Rugao People's Hospital, Rugao, 226500, China)

Corresponding author: WANG Lin, E-mail: fhsuwj@163.com

Abstract Objective: To analyze the relationship between the level of lncRNA LUCAT1 in colon cancer and the prognosis of patients and its impact on colon cancer cell migration and invasion. **Methods:** A total of 53 patients with colon cancer who underwent surgical treatment between January 2016 and December 2017 in our hospital were selected as the research object. The expression level of lncRNA LUCAT1 in the lesion tissue and adjacent tissue of the subject was detected. LoVo cell detection was divided into blank group, negative control group and intervention group, which were tested for cell proliferation, migration and invasion activity. **Results:** The level of lncRNA LUCAT1 in tumor tissue was significantly higher than that in adjacent tissues, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The level of lncRNA LUCAT1 in tumor tissue was an independent threat factor that affected the overall survival and progression-free survival of patients ($P < 0.05$). The overall survival and progression-free survival of the patients with low lncRNA LUCAT1 expression were significantly lower than those with high lncRNA LUCAT1 expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There were significant differences in the proliferation activity of LoVo cells among the blank group, negative control group and intervention group at 24 h and 48 h, among which the blank group was the highest and the intervention group was

*基金项目:南通市科研计划项目(No:WKZD2018029)

¹如皋市人民医院检验科(江苏如皋,226500)

通信作者:王琳,E-mail:fhsuwj@163.com

[12] 朱海涛,吕进泉,王秋霞,等. 过敏性紫癜患儿外周血单个核细胞 Toll 样受体 2 的表达变化及意义[J]. 山东医药,2018,58(31):87-89.

[13] Panchapakesan U, Pollock C. The role of toll-like receptors in diabetic kidney disease [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2018,27(1):30-34.

[14] Feng X, Yang R, Tian Y, et al. HMGB1 protein promotes glomerular mesangial matrix deposition via TLR2 in lupus nephritis[J]. J Cell Physiol, 2020, 235

(6):5111-5119.

[15] 常红,张秋业,程娜,等. 过敏性紫癜患儿外周血单个核细胞 TLR2、TLR4 表达及其与 Th1 和 Th2 型免疫应答相关性观察[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013,33(11):839-844.

[16] 黄可. 过敏性紫癜患儿 TLR2、TLR4 表达及其与 Th1 和 Th2 型免疫应答的关系[J]. 海南医学院学报, 2015,21(12):1664-1667.

(收稿日期:2020-09-17)

the lowest, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There were obvious differences in LoVo cell migration and invasion activity among the blank group, negative control group and intervention group, among which the blank group had the highest migration and invasion activity, and the intervention group had the lowest, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** High lncRNA LUCAT1 in colon cancer lesion tissue might be an independent threat factor that could affect the prognostic quality of patients, and could promote colon cancer cell migration and invasion.

Key words colon cancer; lncRNA LUCAT1; prognosis; cell migration; cell invasion

结肠癌是临床中常见的严重恶性肿瘤,临床病死率和发病率居高不下,每年新增 120 万左右新发结肠癌患者,有 60 万左右患者因结肠癌而死亡^[1]。肿瘤患者预后质量与肿瘤转移密切相关,结肠癌患者在确诊后有近 30% 已发生远处转移,且患者手术治疗后 5 年生存率约达 50%^[2]。因此,有研究对结肠癌的生物学特性进行分析,探索其复发机制是临床研究的热点^[3]。随着人类基因组计划完成,研究发现全部基因中仅 2% 可以编码和表达蛋白,90% 以上基因被转录成非编码 RNA(ncRNAs),在生命体的复杂功能调控过程中起到重要作用^[4]。其中长度超过 200 个核苷酸的 ncRNA 又称为长链非编码 RNA(lncRNAs),广泛参与细胞分化、染色体重构、免疫应答等生物体的生命过程。大量研究指出,lncRNA 在肿瘤发生、发展过程中起到十分重要的调控作用,lncRNA 肺癌相关转录本 1(LUCAT1)在多种肿瘤病灶组织中均呈现异常高表达状态^[5],lncRNA LUCAT1 在结肠癌中的表达情况仍鲜有报道。因而本研究选择我院收治的结肠癌患者作为研究对象,分析结肠癌中 lncRNA LUCAT1 水平与患者预后的关系及对结肠癌细胞迁移、侵袭的影响。

1 资料与方法

1.1 资料

选择我院 2016 年 1 月—2017 年 12 月收治的行手术治疗的 53 例结肠癌患者作为研究对象,其中男 34 例,女 19 例;年龄 38~77(56.28±10.93)岁;病程 1~7(3.48±1.21)个月。入组标准:①病理检测结果均为结肠癌且为腺癌;②无心肝肾等脏器疾病;③术前未接受放疗或化疗手段治疗;④临床及 24 个月的随访资料完整;⑤对本研究知情并签署知情同意书。排除标准:①伴严重组织感染或严重免疫性疾病;②合并严重恶性肿瘤;③伴严重器官功能障碍;④合并精神疾病或沟通障碍;⑤临床资料缺失或主动申请退出本研究。本研究所用 LoVo 结肠癌细胞购买自上海中国科学院细胞库,并遵照细胞培养说明书进行传代、培养和保存。

1.2 方法

1.2.1 组织中 lncRNA LUCAT1 检测 取手术获取的肿瘤病灶组织和癌旁组织 500 mg,使用 TRIzol 法提取总 RNA,严格遵照 TAKARA 公司试剂盒说明书进行逆转录和 PCR 反应,以 U6 基

因作为内参定量,检测肿瘤病灶组织和癌旁组织中 lncRNA LUCAT1 水平,所用引物均由南京金斯瑞生物科技有限公司合成,引物序列见表 1。对患者随访 2 年记录患者预后质量,并详细记录患者存活情况以及无进展生存情况。

1.2.2 LoVo 细胞分组及处理 取对数生长期 LoVo 细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液置于含 5% 二氧化碳的 37℃ 恒温培养箱中进行细胞培养,且依照 Lipofectamine 2000 说明书行细胞转染,共分为空白组(不做任何处理)、阴性对照组(Lipofectamine 2000 5 μL 和 50 pmol NC-SiRNA 处理)、干预组(Lipofectamine 2000 5 μL 和 50 pmol lncRNA LUCAT1-SiRNA 处理),后置于培养箱中培养,开展后续实验。①细胞增殖检测:细胞分组处理并培养 24 h 后将细胞依照分组接种在 96 孔板中,细胞密度 1000 个/100 μL,每孔加入细胞悬液 100 μL,后常规培养,24 h、48 h 时分别使用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力,分析细胞增殖能力。②细胞迁移和侵袭能力检测:取分组处理并培养 48 h 后的细胞使用空白 DMEM 培养液将细胞接种于 Transwell 小室内,接种密度为 2.5×10^4 个/100 μL,每个小室内接种 200 μL,小室下加入 0.5 mL 完全培养液,后置于培养箱中常规培养 24 h,以多聚甲醛固定结晶紫染色,后使用显微镜记录穿膜细胞数,在行细胞侵袭实验检测前先使用 10% Matrigel 基质胶包裹小室,其余方法和监测指标相同。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 进行统计学分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示符合正态分布的计量资料,采用 LSD-*t* 检验和方差检验分析各组间计量资料差异,采用 Cox 单因素分析 lncRNA LUCAT1 表达与患者总生存期和无进展生存期的关系,绘制卡米尔生存曲线分析符合患者总生存期和无进展生存期情况, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肿瘤病灶组织及癌旁组织中 lncRNA LUCAT1 水平检测结果

肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 (2.68 ± 0.23) 水平明显高于癌旁组织 (0.95 ± 0.16),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 引物序列表

基因	引物序列
lncRNA LUCAT1	上游:5'-ACCAGCTGTCCTCAGTGTCT-3';下游:5'-AGGCCTTTATCCTCGGGTTGCCT-3'
U6	上游:5'-TTATGGGTCCTAGCCTGAC-3';下游 5'-CACTATTGCGGGCTGC-3'

2.2 lncRNA LUCAT1 表达水平与患者预后质量关系

肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 水平是影响患者总生存期和无进展生存期的独立性威胁因素($P < 0.05$),见表 2。

2.3 不同 lncRNA LUCAT1 表达水平患者预后质量结果

低 lncRNA LUCAT1 表达患者总生存期和无

进展生存期明显低于高 lncRNA LUCAT1 表达患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

表 2 lncRNA LUCAT1 表达水平与患者预后质量关系

预后指标	P	HR	95%CI
总生存期	0.040	0.677	0.463~0.985
无进展生存期	0.038	0.675	0.447~0.899

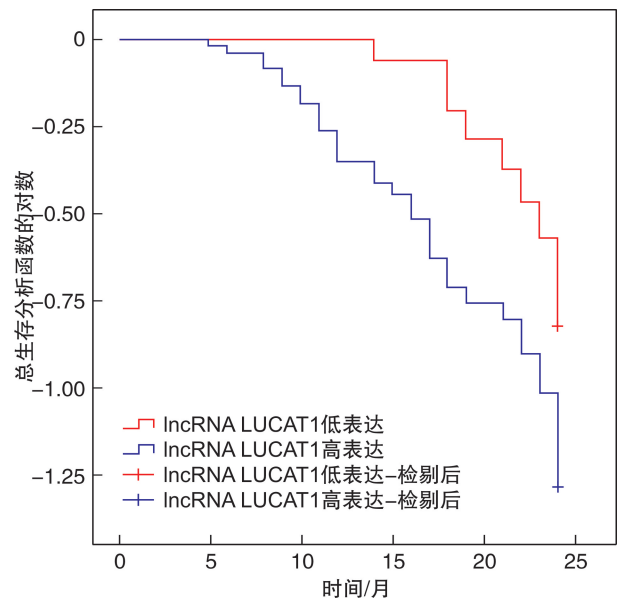
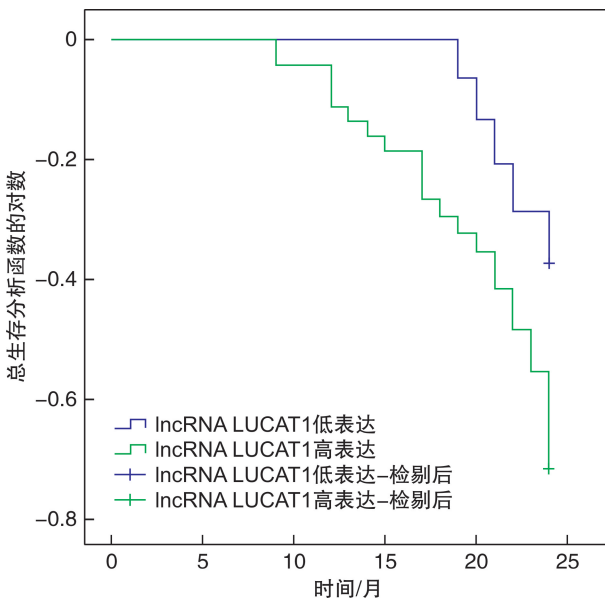


图 1 生存曲线图

2.4 LoVo 细胞增殖检测结果

24 h 和 48 h 时空白组、阴性对照组和干预组 LoVo 细胞增殖活性存在明显差异,其中空白组最高,干预组最低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 LoVo 细胞增殖检测结果 $\bar{x} \pm s$

组别	24 h	48 h
空白组	1.43 ± 0.04	2.16 ± 0.06
阴性对照组	1.32 ± 0.12	1.96 ± 0.13
干预组	1.01 ± 0.09	1.15 ± 0.08
P	<0.001	<0.001

2.5 LoVo 细胞迁移及侵袭活性检测

24 h 和 48 h 时空白组、阴性对照组和干预组 LoVo 细胞迁移及侵袭活性存在明显差异,其中空白组迁移及侵袭活性最高,干预组最低,差异有统

计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 LoVo 细胞迁移及侵袭活性检测 $\bar{x} \pm s$

组别	细胞迁移/个	细胞侵袭/个
空白组	147.93 ± 10.92	138.49 ± 8.94
阴性对照组	150.02 ± 13.28	130.27 ± 7.46
干预组	45.73 ± 5.94	34.21 ± 5.82
P	<0.001	<0.001

3 讨论

结肠癌是目前我国临床中常见的恶性肿瘤之一,好发于消化系统的直肠与乙状结肠交界处^[6]。有报道指出,近年来我国临床中结肠癌发病率呈上升趋势,相较于女性,男性发病率及病死率均居高不下^[7]。一般情况下结肠癌的发生和发展与高蛋白高脂类食物摄入等饮食因素关系密切。根治性切除手术则是现阶段对结肠癌进行临床治疗的主

要方式。随着医学技术进步结肠癌的治疗效果及患者生存期均显著提升,但患者远处转移及复发仍是亟待解决的重要问题,也是导致患者术后死亡的主要威胁性因素之一^[8]。深入了解结肠癌发生、发展机制对提升患者预后质量具有十分重要的意义。

lncRNA 是无蛋白质编码功能且长度超过 200 个核苷酸的 RNA^[9]。通过组织芯片和高通量测序技术,有学者发现人体内存在大量 lncRNA^[10]。且有研究表明,在机体内各种生理或病理过程中 lncRNA 起到十分重要的调节作用,lncRNA 异常表达常与阿尔茨海默症、心脏病、癌症等多种疾病发生和发展密切相关^[11]。

LUCAT1 在吸烟者呼吸道上皮细胞中广泛表达,其主要定位于 5 号染色体,有学者研究发现在肺癌细胞系其呈现明显的高表达状态^[12]。LUCAT1 可通过降低人非小细胞肺癌中 P57 和 P21 表达调控细胞周期和增殖,且浆液性卵巢癌对顺铂耐药的过程中 LUCAT1 可能起到重要作用^[13]。有研究发现,相较于正常组织,胃癌肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 呈明显的过表达状态,但其在结肠癌中的表达情况未见报道^[14]。本研究以我院收治的结肠癌患者作为研究对象,检测病灶及癌旁组织中 lncRNA LUCAT1 表达水平结果显示,肿瘤病灶组织中 lncRNA LUCAT1 表达水平明显高于癌旁组织,且单因素分析结果显示,结肠癌患者的总生存期和无进展生存期与 lncRNA LUCAT1 表达水平密切相关,lncRNA LUCAT1 高表达可作为影响结肠癌患者预后质量的独立性威胁因素。进一步对 lncRNA LUCAT1 潜在的调控机制进行深入研究结果显示,通过干扰下调 lncRNA LUCAT1 表达可抑制结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭,结果表明 lncRNA LUCAT1 可增强结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭,进而可能导致患者预后质量不佳。分析认为,lncRNA LUCAT1 可通过调节 DNA 甲基化调控甲基转移酶 1 稳定性而显著抑制肿瘤抑制物表达,促进肿瘤进展^[15]。此外,lncRNA LUCAT1 还可能促进肿瘤病灶组织新生血管形成,影响结肠癌组织血管形成微环境,促进肿瘤生长转移。

综上所述,结肠癌肿瘤病灶组织中高 lncRNA LUCAT1 是影响患者预后质量的独立性威胁因素,且可促进结肠癌细胞迁移、侵袭。但本研究并未对 lncRNA LUCAT1 高表达所引起的基因水平变化进行深入研究,有待后续深入研究分析。

参考文献

[1] Bo H, Fan L, Li J, et al. High Expression of lncRNA AFAP1-AS1 Promotes the Progression of Colon Cancer and Predicts Poor Prognosis [J]. *J Cancer*, 2018, 9(24):4677-4683.

[2] Chow FC, Chok KS. Colorectal liver metastases: An

update on multidisciplinary approach[J]. *World Journal of Hepatology*, 2019, 11(2):150-172.

- [3] 傅中懋,黄陈. “偏左,朝右”:基于原发部位结肠癌发生机制研究进展及临床治疗决策思辨[J]. *中华结直肠疾病电子杂志*, 2019, 8(6):546-552.
- [4] Yin D, Lu X, Su J, et al. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 predicts a poor prognosis and regulates non-small cell lung cancer cell proliferation by epigenetically repressing p21 expression[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):92.
- [5] Nai Y, Pan C, Hu X, et al. LncRNA LUCAT1 contributes to cell proliferation and migration in human pancreatic ductal adenocarcinoma via sponging miR-539[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(2):757-767.
- [6] Li X, Wang X, Mao L, et al. LncRNA TP73-AS1 predicts poor prognosis and promotes cell proliferation in ovarian cancer via cell cycle and apoptosis regulation [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(1):516-522
- [7] Liu T, Han Z, Li H, et al. LncRNA DLEU1 contributes to colorectal cancer progression via activation of KPNA3[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):118.
- [8] 肖维喜. 浅析导致接受手术治疗的结肠癌患者术后病情复发或转移的危险因素[J]. *当代医药论丛*, 2019, 17(7):58-60.
- [9] Qian P, Xu Z, Chen H, et al. Abnormally expressed lncRNAs in the prognosis and clinicopathology of oesophageal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Genet*, 2020, 99:43.
- [10] Yu J, Han Z, Sun Z, et al. LncRNA SLCO4A1-AS1 facilitates growth and metastasis of colorectal cancer through β -catenin-dependent Wnt pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):222.
- [11] Sun Y, Zeng C, Gan S, et al. LncRNA HOTTIP-Mediated HOXA11 Expression Promotes Cell Growth, Migration and Inhibits Cell Apoptosis in Breast Cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2):472.
- [12] 于贵林,林杰,赵国华,等. 长链非编码 RNA lucat1 对胃癌细胞侵袭和迁移能力的影响及其机制[J]. *山东医药*, 2018, 58(20):17-20.
- [13] Xiong Y, Wang J, Zhu H, et al. Chronic oxymatrine treatment induces resistance and epithelial mesenchymal transition through targeting the long non-coding RNA MALAT1 in colorectal cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3):967-976.
- [14] Gao L, Cao H, Cheng X. A positive feedback regulation between long noncoding RNA SNHG1 and YAP1 modulates growth and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(9):1712-1724.
- [15] 胡春艳,朱根海,邢艾文,等. LncRNA LUCAT1 通过靶向 miR-199a-5p 调控宫颈癌细胞活性、侵袭迁移及其分子机制[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(13):3257-3261.