

APTR 基因扩增在胶质瘤患者预后评估中的潜在价值

张姗姗 于林

【摘要】目的 探讨长链非编码 RNA 基因 APTR 扩增在胶质瘤细胞增殖和侵袭中的作用及其对胶质瘤患者预后评估的潜在价值。**方法** 采用实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测本院共 30 例 WHO II ~ IV 级胶质瘤组织中 APTR 基因扩增及表达水平,并收集肿瘤基因组学图谱计划 (TCGA) 数据库中 1119 例 WHO II ~ IV 级胶质瘤组织中 APTR 基因扩增及表达数据,分析两组病例 APTR 基因扩增阳性率与胶质瘤 WHO 分级、APTR LncRNA 表达水平及患者预后的关系,噻唑蓝 (MTT) 法及 Transwell 侵袭实验检测 APTR 基因对胶质瘤细胞增殖活性和侵袭能力的影响。**结果** TCGA 数据库组 APTR 基因扩增阳性率与胶质瘤分级呈同步递增且差异有统计学意义 ($\chi^2 = 53.901, P = 0.000; \chi^2 = 267.832, P = 0.000; \chi^2 = 118.412, P = 0.000$)。Spearman 秩相关分析显示,APTR 基因拷贝数扩增程度与 APTR LncRNA 表达水平呈正相关 (本院病例组: $r_s = 0.917, P = 0.000$; TCGA 数据库病例组: $r_s = 0.591, P = 0.000$)。单因素和多因素逐步法 Cox 回归分析显示,APTR 基因扩增及由此引起的 APTR LncRNA 过表达均是患者预后不良的危险因素 (均 $P < 0.05$)。敲低胶质瘤细胞 APTR 基因表达可显著抑制其增殖及侵袭。**结论** 胶质瘤细胞中 APTR 基因扩增及由此引起的 APTR LncRNA 过表达均可作为评估胶质瘤患者预后的新预测因素,也是促进胶质瘤细胞增殖和侵袭的重要因素。

【关键词】 神经胶质瘤; 分子生物学; APTR 基因扩增 (非 MeSH 词)

The potential effect of APTR amplification on glioma patients' prognosis

ZHANG Shan-shan¹, YU Lin²

¹Department of Medical Image, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Corresponding author: YU Lin (Email: onoblivion@tmu.edu.cn)

【Abstract】 Objective To explore the potential effect of long non-coding RNA APTR gene amplification on glioma cell proliferation and invasion and glioma patients' prognosis. **Methods** Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to analyze the APTR gene amplification and expression condition of 30 cases of World Health Organization (WHO) grade II - IV glioma patients from Tianjin Medical University General Hospital, and the APTR amplification and expression in 1119 cases of glioma patients from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The correlation of APTR amplification rate with glioma grade, APTR LncRNA level and patients' prognosis was accessed. The effects of APTR gene on proliferation and invasion in U251 glioma cells were further confirmed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay and Transwell assay. **Results** The APTR amplification rate was positively correlated with glioma grade, the results were significant ($\chi^2 = 53.901, P = 0.000; \chi^2 = 267.832, P = 0.000; \chi^2 = 118.412, P = 0.000$). APTR amplification rate was also positively correlated with APTR LncRNA level (patients from our hospital: $r_s = 0.917, P = 0.000$; patients from TCGA: $r_s = 0.591, P = 0.000$). Univariate and multivariate stepwise Cox regression results showed APTR amplification and LncRNA level were independent predictors of poorer prognosis of glioma patients (all $P < 0.05$). Knocking down APTR gene in glioma cells could inhibit cell proliferation and invasion. **Conclusions** APTR amplification and induced APTR LncRNA over-expression are novel independent glioma prognosis biomarkers, which could provide valuable information for grading and prognosis evaluation

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2019.07.009

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81672592)

作者单位:300052 天津医科大学总医院医学影像科(张姗姗);300070 天津医科大学基础医学院生物化学与分子生物学系(于林)

通讯作者:于林,Email: onoblivion@tmu.edu.cn

of glioma patients, and could also become key factor to promote glioma cell proliferation and invasion.

【Key words】 Glioma; Molecular biology; *APTR* gene amplification (not in *MeSH*)

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81672592).

Conflicts of interest: none declared

胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性肿瘤,因肿瘤细胞具有胶质细胞表型特征而得名^[1-2]。以往的世界卫生组织(WHO)中枢神经系统肿瘤分类根据组织学形态将胶质瘤分为 I ~ IV 级,级别越高、预后越差。胶质瘤的 WHO 分级是最主要的预后评估指标,也是制定治疗方案的重要决定因素。为更好地预测胶质瘤患者预后,2016 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类第四版修订版增加了以异柠檬酸脱氢酶 1/2(*IDH1/2*)基因突变和染色体 1p/19q 共缺失为代表的分子分型^[3],但仍不能满足实际需求^[4]。故筛选更多具有预后评估作用的分子标志物,对提高预后评估准确性及实施个性化治疗具有重要的现实意义。

研究显示,胶质瘤细胞基因组易发生重排,使一些关键基因的拷贝数异常增加(扩增)^[5-6],并通过影响下游信号转导通路中特定致瘤基因的表达或活化,在胶质瘤的发生与发展中起重要作用,而且这些分子异常事件也是决定胶质瘤患者生存状况及存活时间的关键因素^[7]。Alu 介导的转录调节因子(*APTR*)基因定位于第 7 号染色体长臂 11.23 区(7q11.23),其转录产物为长链非编码 RNA(LncRNA),*APTR* LncRNA 可通过诱导染色质组蛋白甲基化,广泛抑制抑瘤基因的转录,从而发挥促瘤作用^[8-9]。然而,胶质瘤细胞中是否有 *APTR* 基因扩增及其编码的 *APTR* LncRNA 过表达,二者异常与胶质瘤级别、患者预后及胶质瘤细胞增殖和侵袭之间的关系尚不清楚。本研究以来自天津医科大学总医院的 30 例和肿瘤基因组学图谱计划(TCGA)数据库的 1119 例 WHO II ~ IV 级胶质瘤患者以及人胶质母细胞瘤细胞系 U251(U251 细胞)作为研究对象,对上述问题进行探讨。

材料与方 法

一、实验材料

1. 胶质瘤组织标本 收集天津医科大学总医院 2015 年 2 月至 2017 年 12 月神经外科手术切除的胶质瘤组织标本共 30 例,男性 15 例、女性 15 例,年龄

为 31 ~ 71 岁、平均为(48.72 ± 12.68)岁,其中 WHO II ~ IV 级各 10 例;来自 TCGA 数据库的 1119 例胶质瘤组织标本,其中,男性 646 例、女性 473 例,年龄为 27 ~ 68 岁、平均(47.29 ± 14.83)岁,其中 WHO II 级 225 例、III 级 270 例、IV 级 624 例。所纳入病例的详细临床信息参见表 1。所有用于统计的患者均有完整的随访记录,无中途失访。

2. 人胶质母细胞瘤细胞系 U251 U251 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,置于含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基,于 37 ℃、含 5% 二氧化碳的饱和湿度培养箱中培养。

二、实验方法

1. *APTR* 基因敲低 *APTR* 基因敲低采用含有针对该基因的短发夹 RNA(shRNA)慢病毒稳定转染的方式完成。*APTR* shRNA 的序列为 5' - CCAGGUACUGCCUUCUAAC-3',慢病毒由吉玛基因公司构建,以 10 × 10⁶ 滴度病毒液按照 1 : 1000 体积比感染 U251 细胞 48 h,以 17 μg/ml 的嘌呤霉素筛选 7 d,获得 *APTR* 基因稳定敲低细胞株用于后续细胞实验。

2. *APTR* 及 *IDH* 基因变异检测 采用石蜡包埋组织 DNA 快速提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取组织样品基因组 DNA 用于后续检测。*APTR* 及 *IDH* 基因点突变采用全基因组第二代测序技术(NGS)检测,全基因组第二代测序由华大基因科技有限公司完成,每例样品最终收获 3 GB 纯净数据用于构建全基因组文库并检测基因突变。*APTR* 基因扩增检测采用 TaqMan 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR),检测探针为 TaqMan Copy Number Assays kit(美国 ABI 公司,探针 ID 号:Hs04982080 和 Hs05019275),内参探针为 RNaseP TaqMan Copy Number Reference kit(美国 ABI 公司,探针 ID 号:4403326)。PCR 反应条件为 95 ℃ 解链 15 s、60 ℃ 退火延伸 40 s,共循环 45 次。

3. *APTR* LncRNA 表达检测 采用石蜡包埋组织切片总 RNA 提取试剂盒提取组织样本总 RNA,每例标本取总 RNA 1 μg 以 lnRcute lncRNA cDNA 第

表 1 本院 30 例胶质瘤患者和来自 TCGA 数据库的 1119 例胶质瘤患者的临床资料

Table 1. The clinical data of 30 cases of glioma patients from our hospital and 1119 cases of glioma patients from TCGA database

项目	本院患者			来自 TCGA 数据库的患者		
	WHO II (N = 10)	WHO III (N = 10)	WHO IV (N = 10)	WHO II (N = 225)	WHO III (N = 270)	WHO IV (N = 624)
性别[例(%)]						
男性	5(5/10)	5(5/10)	5(5/10)	138(61.33)	152(56.30)	356(57.05)
女性	5(5/10)	5(5/10)	5(5/10)	87(38.67)	118(43.70)	268(42.95)
年龄($\bar{x} \pm s$, 年)	43.23 \pm 11.88	47.27 \pm 13.88	56.47 \pm 12.43	39.58 \pm 12.47	45.66 \pm 10.27	58.14 \pm 8.77
肿瘤部位[例(%)]						
额叶	8(8/10)	7(7/10)	5(5/10)	126(56.00)	148(54.81)	321(51.44)
颞叶	1(1/10)	1(1/10)	4(4/10)	72(32.00)	87(32.22)	199(31.89)
顶叶	1(1/10)	1(1/10)	1(1/10)	24(10.67)	25(9.26)	41(6.57)
枕叶	0(0/10)	1(1/10)	0(0/10)	2(0.89)	7(2.59)	29(4.65)
松果体	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
鞍区	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0.00)	1(0.37)	11(1.76)
丘脑	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0.00)	0(0.00)	6(0.96)
小脑	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	1(0.44)	1(0.37)	12(1.92)
第三脑室	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0.00)	1(0.37)	5(0.80)
IDH 基因[例(%)]						
突变型	9(9/10)	8(8/10)	0(0/10)	196(87.11)	224(82.96)	44(7.05)
野生型	1(1/10)	2(2/10)	10(10/10)	29(12.89)	46(17.04)	580(92.95)

TCGA, The Cancer Genome Atlas, 肿瘤基因组学图谱计划

一链合成试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]反转录为 cDNA 用于后续检测。采用 FastStart Universal SYBR[®] Green Master Mix 试剂盒(瑞士 Roche 公司)以 qRT-PCR 检测 *APTR* LncRNA 表达量。PCR 反应条件为 95℃ 解链 15 s、60℃ 退火延伸 40 s, 共循环 45 次。采用 $\Delta\Delta C_t$ 法计算各样本 *APTR* LncRNA 相对表达量, 计算公式为: $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t(\text{目标基因}) - \Delta C_t(\text{内参基因})$, 其中目标基因相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。

4. 细胞增殖实验 将 U251 细胞以 2000 个/孔的细胞密度接种于 96 孔板中, 分别培养 1、2、3、4 和 5 d, 每组重复 8 孔, 每组细胞在达到设定培养天数后每孔加入噻唑蓝(MTT)溶液 20 μ l, 孵育 1 h, 酶标仪于 490 nm 波长处计算光密度(OD)值, 并绘制生长曲线。

5. 细胞侵袭实验 将 U251 细胞悬液(总容积 200 μ l)以 200×10^3 个/孔的细胞密度接种于 Matrigel 预包被的 Transwell 小室中, 小室下层加入 600 μ l 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基作为趋化剂, 于 37℃、5% 二氧化碳条件下培养 24 h, 结晶紫染色并于光学显微镜下随机选取 5 个高倍视野(\times

400)计数发生侵袭的细胞数, 各组独立重复 3 次。

三、统计分析方法

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据处理与分析。计数资料以相对数构成比(%)或率(%)表示, 采用 χ^2 检验或 Mann-Whitney *U* 检验; 呈正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, *APTR* 基因敲低组与对照组 U251 细胞增殖活性和侵袭能力的比较, 采用两独立样本的 *t* 检验。胶质瘤 *APTR* LncRNA 表达水平与 *APTR* 基因拷贝数扩增程度的相关性采用 Spearman 秩相关分析。胶质瘤患者生存预测分析采用 Cox 比例风险回归模型。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、胶质瘤级别与 *APTR* 基因扩增的关系

qRT-PCR 法显示, 本院 30 例不同级别胶质瘤中, *APTR* 基因扩增阳性率随肿瘤 WHO 分级的增加而同步递增, WHO IV 级组与 II 级组间差异具有统计学意义($P < 0.05$; 表 2, 3)。来自 TCGA 数据库的 1119 例不同级别胶质瘤的全基因组 DNA 测序显示, *APTR* 基因扩增阳性率也随肿瘤 WHO 分级的增加

表 2 不同级别胶质瘤患者 *APTR* 基因扩增阳性率的比较 [例(%)]

Table 2. The *APTR* amplification rate among different grades glioma patients [case (%)]

肿瘤分级	本院患者		来自 TCGA 数据库的患者	
	例数	<i>APTR</i> 基因扩增阳性率	例数	<i>APTR</i> 基因扩增阳性率
WHO II (1)	10	2(2/10)	225	51(22.67)
WHO III (2)	10	4(4/10)	270	149(55.19)
WHO IV (3)	10	8(8/10)	624	549(87.98)
Z 或 χ^2 值	46.500		117.912	
P 值	0.027		0.000	

Mann-Whitney *U* test for comparison of patients in our hospital and χ^2 test for comparison of patients from TCGA database, 本院患者的比较采用 Mann-Whitney *U* 检验, TCGA 数据库患者的比较采用 χ^2 检验。TCGA, The Cancer Genome Atlas, 肿瘤基因组学图谱计划

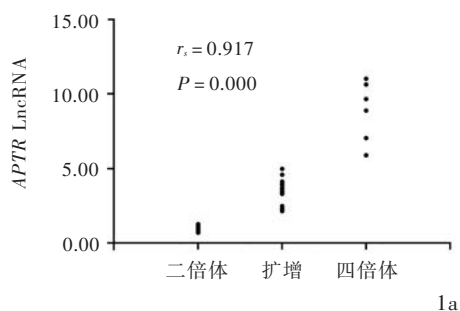


表 3 不同级别胶质瘤患者 *APTR* 基因扩增阳性率的两两比较

Table 3. Paired comparison of *APTR* amplification among different grades glioma patients

组间两两比	本院患者	来自 TCGA 数据库的患者	
	P 值*	χ^2 值	P 值
(1) χ (2)	0.628	53.901	0.000
(1) χ (3)	0.023	267.832	0.000
(2) χ (3)	0.170	118.412	0.000

*Fisher exact probability, Fisher 确切概率法。TCGA, The Cancer Genome Atlas, 肿瘤基因组学图谱计划

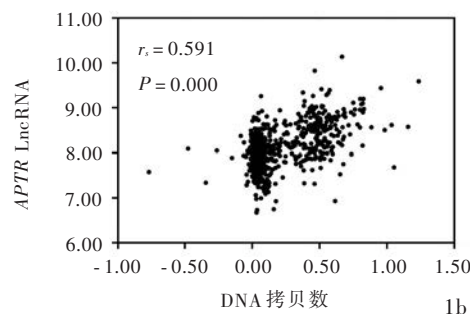


图 1 Spearman 秩相关分析显示, *APTR* 基因拷贝数扩增程度与 *APTR* LncRNA 表达呈正相关 1a 本院 30 例胶质瘤患者 1b 来自 TCGA 数据库的 1119 例胶质瘤患者

Figure 1 The results of Spearman correlation showed that *APTR* amplification rate was positively correlated with its own gene expression. 30 cases of glioma patients from our hospital (Panel 1a). 1119 cases of glioma patients from TCGA database (Panel 1b).

而递增(均 $P < 0.05$; 表 2, 3)。然而, 无论是本院病例还是来自 TCGA 数据库的病例, 均显示胶质瘤细胞仅有 *APTR* 基因扩增, 而无该基因缺失或突变。

二、*APTR* 基因扩增致 *APTR* LncRNA 过表达

qRT-PCR 法显示, 本院 30 例不同级别胶质瘤的 *APTR* LncRNA 表达水平与 *APTR* 基因拷贝数扩增程度呈同步上升, 经 Spearman 秩相关分析证实二者之间呈正相关关系(图 1a; $r_s = 0.917, P = 0.000$)。比对来自 TCGA 数据库的 1119 例不同级别胶质瘤患者转录组 RNA 测序数据与全基因组 DNA 测序数据, 经 Spearman 秩相关分析显示, *APTR* LncRNA 表达水平与 *APTR* 基因拷贝数扩增程度亦呈正相关关系(图 1b; $r_s = 0.591, P = 0.000$)。

三、*APTR* 基因扩增及其 LncRNA 表达水平是胶质瘤预后的危险因素

对本院 30 例患者和 TCGA 数据库的 1119 例患

者的临床(性别、年龄、肿瘤部位、KPS 评分)和病理(WHO 分级、*IDH* 基因突变、*APTR* 基因拷贝数扩增程度、*APTR* LncRNA 表达水平)危险因素与无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)的关系进行单因素和(或)多因素 Cox 回归分析, 结果显示, *IDH* 基因突变是胶质瘤预后良好的预测因素($P < 0.05$), 而年龄、WHO 分级、*APTR* 基因拷贝数扩增程度、*APTR* LncRNA 表达水平是胶质瘤预后不良的危险因素(均 $P < 0.05$, 表 4~7)。

四、敲低 *APTR* 基因表达抑制胶质瘤细胞增殖和侵袭

MTT 法细胞增殖实验显示, 与对照组比较, 敲低 *APTR* 基因表达可有效抑制 U251 细胞的增殖活性且差异有统计学意义($P < 0.05$, 表 8)。Transwell 细胞侵袭实验显示, 与对照组比较, 敲低 *APTR* 基因表达可有效抑制 U251 细胞的侵袭能力且差异有统

表 4 本院 30 例胶质瘤患者生存预测的单因素 Cox 分析

Table 4. Univariate Cox analysis of the 30 cases of glioma patients from our hospital

因素	PFS			OS		
	RR	RR 95%CI	P 值	RR	RR 95%CI	P 值
性别	0.708	0.602~1.117	0.312	0.801	0.601~1.221	0.411
年龄	1.280	1.127~1.311	0.000	1.255	1.170~1.288	0.000
肿瘤部位	1.210	1.119~1.214	0.028	1.181	1.044~1.262	0.027
KPS 评分	1.021	0.892~1.107	0.103	1.188	0.933~1.254	0.151
WHO 分级	1.397	1.292~1.407	0.000	1.241	1.182~1.277	0.000
IDH 基因突变	0.155	0.088~0.172	0.000	0.141	0.092~0.151	0.000
APTR 基因拷贝数扩增程度	1.301	1.277~1.355	0.000	1.208	1.192~1.233	0.000
APTR LncRNA	1.311	1.289~1.355	0.000	1.344	1.281~1.392	0.000

PFS, progression free survival, 无进展生存期; OS, overall survival, 总生存期。The same for tables below

表 6 本院 30 例胶质瘤患者生存预测的多因素逐步法 Cox 分析

Table 6. Multivariate stepwise Cox analysis of the 30 cases of glioma patients from our hospital

因素	PFS						OS					
	b	SE	Wald χ^2	P 值	RR	RR 95%CI	b	SE	Wald χ^2	P 值	RR	RR 95%CI
年龄	0.164	0.012	1.127	0.016	1.179	1.107~1.225	0.194	0.013	1.003	0.039	1.215	1.088~1.241
WHO 分级	0.251	0.021	2.152	0.002	1.286	1.119~1.331	0.163	0.011	1.327	0.006	1.178	1.153~1.241
IDH 基因突变	-0.962	0.081	2.647	0.000	0.382	0.167~0.412	-1.036	0.101	2.416	0.001	0.355	0.294~0.392
APTR 基因拷贝数扩增程度	0.241	0.019	2.637	0.000	1.272	1.211~1.337	0.248	0.018	2.553	0.000	1.282	1.192~1.307
APTR LncRNA	0.270	0.023	2.331	0.001	1.310	1.222~1.392	0.248	0.021	2.415	0.000	1.282	1.231~1.334
常数项	0.131	0.014	0.812				0.114	0.010	0.613			

表 7 来自 TCGA 数据库的 1119 例患者生存预测的多因素逐步法 Cox 分析

Table 7. Multivariate stepwise Cox analysis of the 1119 cases of glioma patients from TCGA database

因素	PFS						OS					
	b	SE	Wald χ^2	P 值	RR	RR 95%CI	b	SE	Wald χ^2	P 值	RR	RR 95%CI
年龄	0.271	0.020	5.334	0.002	1.311	1.232~1.378	0.195	0.016	5.217	0.011	1.215	1.127~1.377
WHO 分级	0.194	0.015	15.371	0.000	1.214	1.188~1.357	0.205	0.023	16.208	0.000	1.227	1.199~1.292
IDH 基因突变	-0.751	0.051	24.129	0.000	0.472	0.392~0.550	-0.794	0.062	24.450	0.000	0.452	0.417~0.499
APTR 基因拷贝数扩增程度	0.154	0.011	41.147	0.000	1.166	1.121~1.207	0.194	0.016	44.300	0.000	1.214	1.172~1.239
APTR LncRNA	0.120	0.013	40.631	0.013	1.127	1.102~1.214	0.108	0.011	44.601	0.021	1.114	1.092~1.221
常数项	0.092	0.007	7.521				0.077	0.009	5.931			

计学意义 ($P < 0.05$; 表 8, 图 2)。

讨 论

基因扩增系指某一特定基因拷贝数选择性增加, 而其他基因并未按比例同时增加的分子遗传学调控过程, 分为生理性和病理性基因扩增。后者是肿瘤细胞中常见的分子遗传学异常事件, 可表现为三倍体、四倍体乃至多倍体扩增^[10-11]。病理性基因扩增可通过直接改变关键下游调控基因的表达水

表 5 来自 TCGA 数据库的 1119 例患者生存预测的单因素 Cox 分析

Table 5. Univariate Cox analysis of the 1119 cases of glioma patients from TCGA database

因素	PFS			OS		
	RR	RR 95%CI	P 值	RR	RR 95%CI	P 值
性别	0.901	0.834~1.214	0.355	1.167	0.892~1.388	0.324
年龄	1.406	1.292~1.457	0.000	1.129	1.092~1.256	0.000
肿瘤部位	1.121	0.888~1.301	0.233	1.201	1.001~1.257	0.045
KPS 评分	0.882	0.599~0.992	0.091	0.811	0.692~0.903	0.033
WHO 分级	1.331	1.122~1.377	0.000	1.214	1.177~1.341	0.000
IDH 基因突变	0.244	0.152~0.311	0.000	0.192	0.133~0.251	0.000
APTR 基因拷贝数扩增程度	1.352	1.207~1.377	0.000	1.288	1.159~1.315	0.000
APTR LncRNA	1.380	1.292~1.399	0.000	1.407	1.388~1.433	0.000

平, 引起下游信号转导通路调控紊乱, 是导致细胞转化及肿瘤发生与发展的关键因素^[12-13]。本研究结果显示, 胶质瘤细胞中仅有 APTR 基因扩增, 而无该基因缺失或突变, 且 APTR 基因扩增阳性率随胶质瘤 WHO 分级的升高而同步递增, WHO II 级、III 级、IV 级之间差异有统计学意义, 表明 APTR 基因扩增发生率与胶质瘤分级密切相关, 是评价胶质瘤生物学行为和患者预后的重要参考指标。

LncRNA 为一类包含约 200 个核苷酸、不翻译

表 8 APTR 基因敲低组与对照组 U251 细胞增殖活性和侵袭能力的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 8. Comparison of proliferative and invasive ability of U251 cells in control and APTR knockdown groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	OD _{490nm}					侵袭细胞数	
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	例数	个
对照组	8	0.079 ± 0.004	0.310 ± 0.019	0.591 ± 0.049	0.811 ± 0.050	1.172 ± 0.067	9	102.013 ± 5.405
APTR 基因敲低组	8	0.070 ± 0.001	0.210 ± 0.029	0.202 ± 0.021	0.392 ± 0.027	0.445 ± 0.002	9	47.133 ± 5.037
t 值		1.993	3.293	6.046	7.470	8.504		7.427
P 值		0.066	0.005	0.000	0.000	0.000		0.000

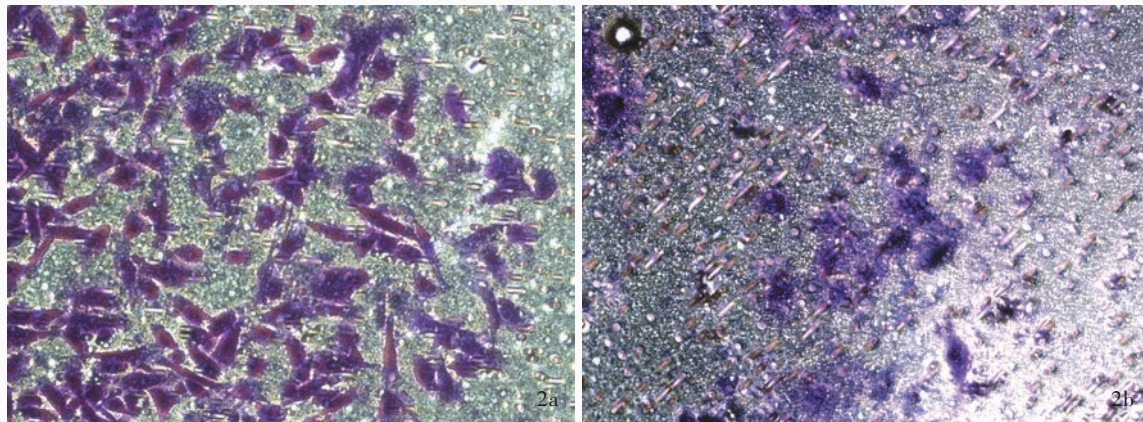


图 2 光学显微镜观察显示, APTR LncRNA 促进 U251 胶质瘤细胞侵袭 结晶紫染色 ×100 2a 对照组 2b APTR 基因敲低组

Figure 2 The APTR LncRNA promoted the invasion of glioma cell U251. Optical microscope findings Crystal violet solution staining ×100 Control group (Panel 2a). APTR knockdown group (Panel 2b).

蛋白质的非编码 RNA, 是重要的表观遗传学调控因子^[14]。根据功能主要分为异染色质诱导因子^[15-16]、中介分子^[17]、剪切因子^[18-19]和缓冲分子^[20]四大类。APTR LncRNA 可以通过其 Alu 序列结合多梳蛋白家族成员多梳抑制复合体 2 (PRC2), 属于中介分子 LncRNA^[8-9]。PRC2 是细胞内主要的转录抑制复合体^[21]。在乳腺癌细胞中, APTR LncRNA 通过 PRC2 抑制细胞周期抑制基因 *p21^{WIF1}* 转录, 通过加速细胞周期进程促进肿瘤细胞增殖^[8]。在骨肉瘤中, APTR 基因通过抑制抑癌微小 RNA132-3p (miRNA132-3p) 转录, 间接上调被 miRNA132-3p 敲低的促癌靶基因, 促进肿瘤细胞增殖^[9]。本研究结果显示, 不同级别胶质瘤细胞 APTR LncRNA 表达水平与 APTR 基因拷贝数扩增程度呈正相关; 敲低 APTR 基因表达可有效抑制 U251 细胞增殖活性和侵袭能力; APTR 基因拷贝数扩增程度和 APTR LncRNA 表达水平均是胶质瘤患者预后不良的危险因素。上述结果表明, 胶质瘤细胞 APTR 基因扩增引起的 APTR LncRNA 高表达是其获得无限增殖活性和侵袭能力的重要分子机制; APTR 基因扩增和表达检测对于

预测胶质瘤患者预后具有重要的参考价值。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Brodbelt A, Greenberg D, Winters T, Williams M, Vernon S, Collins VP; (UK) National Cancer Information Network Brain Tumour Group. Glioblastoma in England: 2007-2011 [J]. Eur J Cancer, 2015, 51:533-542.
- [2] Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas [J]. Acta Neuropathol, 2005, 109:93-108.
- [3] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary [J]. Acta Neuropathol, 2016, 131:803-820.
- [4] Pal S, Bi Y, Macyszyn L, Showe LC, O'Rourke DM, Davuluri RV. Isoform - level gene signature improves prognostic stratification and accurately classifies glioblastoma subtypes [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42:E64.
- [5] Binder H, Willscher E, Loeffler-Wirth H, Hopp L, Jones DTW, Pfister SM, Kreuz M, Gramatzki D, Fortenbacher E, Hentschel B, Tatagiba M, Herrlinger U, Vatter H, Matschke J, Westphal M, Krex D, Schackert G, Tonn JC, Schlegel U, Steiger HJ, Wick W, Weber RG, Weller M, Loeffler M. DNA methylation, transcriptome and genetic copy number signatures of diffuse cerebral WHO grade II/III gliomas resolve cancer heterogeneity and development [J]. Acta Neuropathol Commun, 2019, 7:59.

- [6] Synhaeve NE, van den Bent MJ, French PJ, Dinjens WNM, Atmodimedjo PN, Kros JM, Verdijk R, Dirven CMF, Dubbink HJ. Clinical evaluation of a dedicated next generation sequencing panel for routine glioma diagnostics [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6:126.
- [7] López GY, Van Ziffle J, Onodera C, Grenert JP, Yeh I, Bastian BC, Clarke J, Oberheim Bush NA, Taylor J, Chang S, Butowski N, Banerjee A, Mueller S, Kline C, Torkildson J, Samuel D, Siongco A, Raffel C, Gupta N, Kunwar S, Mummaneni P, Aghi M, Theodosopoulos P, Berger M, Phillips JJ, Pekmezci M, Tihan T, Bollen AW, Perry A, Solomon DA. The genetic landscape of gliomas arising after therapeutic radiation[J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137:139-150.
- [8] Negishi M, Wongpalee SP, Sarkar S, Park J, Lee KY, Shibata Y, Reon BJ, Abounader R, Suzuki Y, Sugano S, Dutta A. A new lncRNA, APTR, associates with and represses the CDKN1A/p21 promoter by recruiting polycomb proteins [J]. *PLoS One*, 2014, 9:E95216.
- [9] Guan H, Shang G, Cui Y, Liu J, Sun X, Cao W, Wang Y, Li Y. Long noncoding RNA APTR contributes to osteosarcoma progression through repression of miR-132-3p and upregulation of yes-associated protein 1[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234:8998-9007.
- [10] Rosenberg S, Ducray F, Alentorn A, Dehais C, Elarouci N, Kamoun A, Marie Y, Tanguy ML, De Reynies A, Mokhtari K, Figarella-Branger D, Delattre JY, Idbaih A. Machine learning for better prognostic stratification and driver gene identification using somatic copy number variations in anaplastic oligodendroglioma[J]. *Oncologist*, 2018, 23:1500-1510.
- [11] Cimino PJ, McFerrin L, Wirsching HG, Arora S, Bolouri H, Rabadan R, Weller M, Holland EC. Copy number profiling across glioblastoma populations has implications for clinical trial design[J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20:1368-1373.
- [12] Lehrer S, Rheinstein PH, Rosenzweig KE. Glioblastoma Multiforme: fewer tumor copy number segments of the SGK1 gene are associated with poorer survival[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2018, 15:273-278.
- [13] Yu L, Xu J, Liu J, Zhang H, Sun C, Wang Q, Shi C, Zhou X, Hua D, Luo W, Bian X, Yu S. The novel chromatin architectural regulator SND1 promotes glioma proliferation and invasion and predicts the prognosis of patients [J]. *Neuro Oncol*, 2019, 21:742-754.
- [14] Li D, Lu J, Li H, Qi S, Yu L. Identification of a long noncoding RNA signature to predict outcomes of glioblastoma [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19:5406-5416.
- [15] Barros de Andrade ESL, Jonkers I, Syx L, Dunkel I, Chaumeil J, Picard C, Foret B, Chen CJ, Lis JT, Heard E, Schulz EG, Marsico A. Kinetics of Xist-induced gene silencing can be predicted from combinations of epigenetic and genomic features [J]. *Genome Res*, 2019, 29:1087-1099.
- [16] Sarma K, Levasseur P, Aristarkhov A, Lee JT. Locked nucleic acids (LNAs) reveal sequence requirements and kinetics of Xist RNA localization to the X chromosome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107:22196-22201.
- [17] Zhang P, Cao L, Zhou R, Yang X, Wu M. The lncRNA Neat1 promotes activation of inflammasomes in macrophages [J]. *Nat Commun*, 2019, 10:1495.
- [18] Engreitz JM, Haines JE, Perez EM, Munson G, Chen J, Kane M, McDonel PE, Guttman M, Lander ES. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. *Nature*, 2016, 539:452-455.
- [19] Pospiech N, Cibis H, Dietrich L, Muller F, Bange T, Hennig S. Identification of novel PANDAR protein interaction partners involved in splicing regulation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8:2798.
- [20] Arora R, Azzalin CM. Telomere elongation chooses TERRA ALTERNATIVES[J]. *RNA Biol*, 2015, 12:938-941.
- [21] Shi Y, Wang XX, Zhuang YW, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Structure of the PRC2 complex and application to drug discovery [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38:963-976.

(收稿日期:2019-07-12)

第九届世界华人神经外科学术大会征文通知

由世界华人神经外科协会、北京市王忠诚医学基金会和北京市神经外科研究所主办,武汉医学会、武汉医学会神经外科分会和华中科技大学同济医学院附属同济医院共同承办的第九届世界华人神经外科学术大会拟定于2020年5月7-10日在湖北省武汉市召开。

1. 征文内容 中枢神经系统肿瘤、脑血管病、颅脑创伤、神经外科重症管理、功能神经外科、脊柱脊髓疾病、小儿神经外科、先天性疾病、神经介入、神经内镜、护理、基础研究(含转化医学)等基础与临床研究。

2. 征文要求 尚未在国内外公开发表的论文摘要1份,字数800~1000字,请按照背景与目的、材料与方法、结果、结论格式书写,并于文题下注明作者姓名(注明第一作者或通讯作者)、工作单位、地址、邮政编码、联系方式 and Email地址。要求内容科学性强、重点突出、数据可靠、结论恰当、文字通顺精炼。

3. 投稿方式 会议接受网络投稿或电子版投稿,请登录会议官方网站 www.icfns.com,在线注册并投稿;或将电子版发送至: master@icfns.com,并于主题中注明“世界华人神经外科学术大会征文”。

4. 截稿日期 2020年2月28日。

5. 联系方式 联系人:何乐。联系电话:(010)59976765,(010)59975633。Email: icfns1212@163.com。联系人:邹宗颖。联系电话:(027)83662448。Email: naowai@tjh.tjmu.edu.cn。详情请登录会议官方网址 <http://www.icfns.com>。