

长链非编码RNA表达与肺腺癌血管内皮功能的关系及对病情进展的影响研究

张召迪, 张良

(南阳医学高等专科学校附属中医院 肿瘤科, 河南 南阳 473000)

摘要: **目的** 观察长链非编码RNA (lncRNA) 与肺腺癌血管内皮功能的关系及对病情进展的影响。**方法** 本文为回顾性研究, 病例纳入南阳医学高等专科学校附属中医院2020年5月至2022年10月收治的123例肺腺癌患者, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) 检测入组患者肿瘤组织中的人肺腺癌转移相关转录本1 (MALAT1) 表达情况, 依据受试者工作特征 (ROC) 曲线分析结果, 将60例MALAT1低表达相患者列为A组, 将63例MALAT1高表达相患者列为B组, 收集并对比两组患者的一般资料、临床资料, 经统计学单因素分析、Logistic多因素回归分析归纳影响MALAT1表达的主要因素, 经Spearman相关性系数验证MALAT1表达与肺腺癌患者血管内皮功能及病情进展的关联。**结果** 统计学单因素分析结果显示, 两组患者的年龄、肿瘤直径最大值、肿瘤数目等一般资料以及肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、区域淋巴结受累情况、远处转移情况、血管内皮功能等临床资料均差异有统计学意义 ($P<0.05$)。Logistic多因素回归分析显示, 肿瘤直径最大值 >5 cm、多发肿瘤、低分化、肿瘤浸润T3~T4、区域淋巴结受累N1~N2、病灶远处转移M1、血管内皮生长因子 (VEGF) ≥ 142 pg/mL、血小板衍生生长因子B (PDGF-B) ≥ 200 pg/mL为影响肺腺癌MALAT1表达的主要因素。经Spearman相关性系数检验, MALAT1表达与肿瘤分化程度负相关, 与肿瘤浸润深度、淋巴结受累情况、远处转移情况、VEGF表达、PDGF-B正相关。**结论** MALAT1表达水平会随肺腺癌患者病情进展、血管内皮功能损伤加剧而不断上升, 敲低MALAT1表达能有效改善血管内皮细胞功能并抑制病情恶化, MALAT1有望成为治疗肺腺癌的lncRNA新型靶点。

关键词: 肺腺癌; 长链非编码RNA; 人肺腺癌转移相关转录本1; 病情进展; 血管内皮功能

中图分类号: R734.2

Relationship between long non-coding RNA expression and vascular endothelial function in lung adenocarcinoma and its influence on disease progress

ZHANG Zhaodi, ZHANG Liang

(Department of Oncology, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanyang Medical College, Nanyang, Henan 473000, China)

Abstract: **[Objective]** To observe the relationship between long non-coding RNA (lncRNA) and vascular endothelial function of adenocarcinoma of the lung and its influence on disease progression. **[Methods]** This is a retrospective study. The case was included from May 2020 to October 2022. The study object was 123 patients with adenocarcinoma of the lung. The expression of metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1) in tumor tissue of enrolled patients was detected by quantitative real-time PCR (qPCR). According to the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis results, 60 patients with low expression of MALAT1 were classified as Group A, and 63 patients with high expression of MALAT1 were classified as Group B. The general data and clinical data of the patients in the two groups were collected and compared. Logistic multi-factor regression analysis summarized the main factors affecting the expression of MALAT1. Spearman correlation coefficient was used to verify the correlation between the expression of MALAT1 and vascular endothelial function and disease progression in patients with lung adenocarcinoma. **[Results]** The results of statistical univariate analysis showed that there were certain differences in general information such as age, maximum tumor diameter, number of tumors, as well as clinical data such as tumor differentiation, tumor infiltration depth, regional lymph node involvement, distant metastasis, and vascular endothelial function between the two groups of patients ($P<0.05$). Logistic regression analysis showed that the main factors affecting the expression of MALAT1 in adenocarcinoma

of the lung were the maximum tumor diameter >5 cm, multiple tumors, poor differentiation, tumor invasion T3 – T4, regional lymph node involvement N1 – N2, distant metastasis M1, vascular endothelial growth factor (VEGF) ≥142 pg/mL, platelet-derived growth factor B (PDGF-B) ≥200 pg/mL. After Spearman correlation coefficient test, the expression of MALAT1 was negatively correlated with the degree of tumor differentiation, but positively correlated with tumor infiltration depth, lymph node involvement, distant metastasis, VEGF expression, and PDGF-B. **【Conclusion】** The expression level of MALAT1 will continue to rise with the progression of lung adenocarcinoma patients and the worsening of vascular endothelial function. Knocking down the expression of MALAT1 can effectively improve the function of vascular endothelial cells and inhibit the deterioration of disease. MALAT1 is expected to become a new target for adenocarcinoma of the lung.

Keywords: adenocarcinoma of the lung; long non-coding RNA; metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1; progress of the condition; vascular endothelial function

肺腺癌为非小细胞肺癌（NSCLC）常见病理类型之一，相关研究数据显示，临床约有 40%~50% 的 NSCLC 患者可诊断为肺腺癌^[1]。手术切除、化学治疗、免疫治疗及肿瘤靶向治疗均为目前治疗肺腺癌的重要手段，上述治疗方法一定程度上降低患者病死风险，但对于肿瘤 TNM 分期较高的晚期患者来说，即便经上述方法系统治疗后，其五年内生存率仍普遍较低^[2]。除病理组织活检这一金标准外，临床会通过检测多种血清肿瘤标志物表达水平以诊断肺腺癌并评估患者病情，但不同肿瘤标志物在各类肿瘤、非肿瘤疾病中均可存在表达异常情况^[3]。长链非编码 RNA（lncRNA）为一种广泛存在于哺乳动物细胞中、长度>200 nt 的非编码序列，可通过多种生物学功能参与细胞增殖、分化、转移及凋亡^[4]。肺腺癌转移相关转录本 1（MALAT1）为研究发现的首个定位于染色体 11q13.1 的 lncRNA，研究发现^[5]，MALAT1 表达水平在肺腺癌病理组织中显著高于癌旁组织。另有研究表示^[6]，抑制 MALAT1 表达能通过靶向调控微小 RNA-200a（miR-200a）而抑

制肺癌 A549 细胞增殖或转移，可作为治疗肺腺癌的全新靶点。本研究旨在分析 MALAT1 这一 lncRNA 与肺腺癌血管内皮功能的关系及对病情进展的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本文为回顾性研究，病例纳入南阳医学高等专科学校附属中医院 2020 年 5 月至 2022 年 10 月收治的 123 例肺腺癌患者，根据 MALAT1 表达情况不同，将入组患者分为 A 组（低表达相，60 例）、B 组（高表达相，63 例），两组患者的一般资料比较见表 1。本次研究已获得单位伦理委员会批准（A0155）

纳入标准：①入组患者均符合 NSCLC 诊断要点^[7]，经病理检查确认为肺腺癌；②经评估预计生存周期均≥1 年；③均知悉此次研究试验目的及内容，同意获取并公开既往临床资料。

排除标准：①存在血液系统、免疫系统疾病者；②存在其他非病理性肺通气功能异常者；③临床资料缺失者。

表 1 两组一般资料比较

组别	n	性别[n(%)]		年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	病程($\bar{x} \pm s$, 年)	肿瘤最大直径($\bar{x} \pm s$, cm)	肿瘤数目[n(%)]	
		男	女				单发	多发
A 组	60	35(58.33)	25(41.67)	48.23±5.16	4.14±1.25	4.47±1.26	39(65.00)	21(35.00)
B 组	63	36(57.14)	27(42.86)	51.44±5.47	4.23±1.17	5.75±2.03	28(44.44)	35(55.56)
χ^2		0.029		3.344	0.412	4.177	8.530	
P		0.865		0.001	0.681	<0.001	0.003	

1.2 方法

采用实时荧光定量聚合酶链式反应（qPCR）检测入组患者肿瘤组织中的 MALAT1 表达情况，依据受试者工作特征曲线（ROC）分析结果，将 60 例 MALAT1 低表达相患者列为 A 组，将 63 例 MALAT1 高表达相患者列为 B 组，收集并对比两

组患者的一般资料、临床资料，经统计学单因素分析、Logistic 多因素回归分析归纳导致 MALAT1 表达异常的主要影响因素，经 Spearman 相关性系数验证 MALAT1 表达与肺腺癌患者血管内皮功能及病情进展的关联。

qPCR 检测方法：取外周静脉需为检测样

本，经抗凝处理将血液样本送入离心机，按转速 3 000 r/min、半径 0.5 cm 分离血清后，经 Trizol 法提取血清样本中总 RNA，并取 5 μL 总 RNA 加入至浓度为 2% 的琼脂糖凝胶中电泳检测 RNA 纯度及完整度；将 RNA 逆转录为 cDNA 后，检测血清各 miRNA 表达情况，在 95℃ 环境下预变性 10 min 后，参考引物序列计算各 miRNA 的相关表达量。

1.3 观察指标

①比较两组患者的一般资料、临床资料：一般资料包括性别、年龄、病程、肿瘤直径最大值、肿瘤数目（单发肿瘤、多发肿瘤）等；临床资料包括肿瘤分化程度（低分化、中分化、高分化），肿瘤浸润深度（T1~T4）、肿瘤区域淋巴结受累情况（N0~N2）、肿瘤远处转移情况（M0、M1），血管内皮功能等，其中肿瘤浸润深度、区域淋巴结受累情况及转移情况参考肿瘤 TNM 分期标准^[8]；血管内皮功能检测指标主要包括血管内皮生长因子（VEGF）、血小板衍生生长因子 B（PDGF-B）。②影响肺腺癌患者 MALAT1 表达的因素分析^[9]：由于自变量、因变量间存在非线性关系，本研究

将 MALAT1 表达情况设为自变量，其余单因素设为因变量，将存在一定差异的单因素纳入 Logistic 多因素回归分析，当 $P<0.05$ 时认为该因素为导致 MALAT1 表达异常的主要影响因素。③MALAT1 表达与血管内皮功能及病情进展的相关性^[10]：经 Spearman 相关性系数验证 MALAT1 表达与血管内皮功能及病情进展情况的相关性，当 $P<0.05$ 时认为二者显著相关， $r<0$ 表示负相关， $r>0$ 表示正相关。

1.4 统计学方法

数据均采用软件 SPSS 22.0 处理。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较用 t 检验；计数资料以百分率 (%) 表示，比较用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MALAT1 表达异常的统计学单因素分析

统计学单因素分析结果显示，两组患者的年龄、肿瘤直径最大值、肿瘤数目等一般资料以及肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度、区域淋巴结受累情况、远处转移情况、血管内皮功能等临床资料均差异有统计学意义 ($P<0.05$)，见表 2。

表 2 MALAT1 表达异常的统计学单因素分析 [n(%)]

单因素	A 组(低表达相 n=60)	B 组(高表达相 n=63)	χ^2	P
年龄				
<50 岁	38(63.33)	23(36.51)	14.386	<0.001
≥50 岁	22(36.67)	40(63.49)		
肿瘤最大直径				
≤5 cm	37(61.67)	25(39.68)	9.673	0.002
>5 cm	23(38.33)	38(60.32)		
肿瘤数目				
单发肿瘤	39(65.00)	28(44.44)	8.530	0.003
多发肿瘤	21(35.00)	35(55.56)		
肿瘤分化程度				
中高分化	36(60.00)	26(41.27)	7.017	0.008
低分化	24(40.00)	37(58.73)		
肿瘤浸润深度				
T1~T2	38(63.33)	22(34.92)	16.148	<0.001
T3~T4	22(36.67)	41(65.08)		
淋巴结受累				
N0	35(58.33)	20(31.75)	14.270	<0.001
N1~N2	25(41.67)	43(68.25)		
远处转移				
M0	34(56.67)	24(38.10)	6.185	0.013
M1	26(43.33)	39(61.90)		
VEGF				
≥142 pg/mL	28(46.67)	41(65.08)	6.874	0.009
<142 pg/mL	32(53.33)	22(34.92)		

续表 2 MALAT1 表达异常的统计学单因素分析 [n(%)]

单因素	A 组(低表达相 n=60)	B 组(高表达相 n=63)	χ^2	P
PDGF-B				
≥200 pg/mL	30(50.00)	44(69.84)	8.195	0.004
<200 pg/mL	30(50.00)	19(30.16)		

2.2 MALAT1 表达异常的 Logistic 多因素回归分析

结合单因素分析分析结果，分别对 $P<0.05$ 的单因素进行赋值，具体赋值情况，见表 3。

Logistic 多因素回归分析结果显示，肿瘤直径最大值>5 cm、多发肿瘤、低分化、肿瘤浸润 T3~T4、区域淋巴结受累 N1~N2、病灶远处转移 M1、VEGF≥142 pg/mL、PDGF-B≥200 pg/mL 为导致 MALAT1 表达异常的主要影响因素，见表 4。

2.3 MALAT1 表达与血管内皮功能及病情进展的相关性分析

经 Spearman 相关性系数检验，MALAT1 表达与肿瘤分化程度负相关，与肿瘤浸润深度、淋巴结

表 3 各单因素赋值情况

单因素	赋值情况
年龄	≥50 岁=1, <50 岁=0
肿瘤最大直径	>5 cm=1, ≤5 cm=0
肿瘤数目	多发肿瘤=1, 单发肿瘤=0
肿瘤分化程度	低分化=1, 中高分化=0
肿瘤浸润深度	T3~T4=1, T1~T2=0
淋巴结受累	N1~N2=1, N0=0
远处转移	M1=1, M0=0
VEGF	≥142 pg/mL=1, <142 pg/mL=0
PDGF-B	≥200 pg/mL=1, <200 pg/mL=0

受累情况、远处转移情况、VEGF 表达、PDGF-B 正相关，见表 5。

表 4 MALAT1 表达异常的 Logistic 多因素回归分析

影响因素	β	标准误	Wald χ^2	OR	95%CI	P
年龄≥50 岁	1.102	0.112	2.435	1.244	1.256~8.977	0.215
肿瘤最大直径>5 cm	1.664	0.852	5.336	6.325	0.341~0.926	0.012
多发肿瘤	1.615	0.824	7.461	5.622	0.214~0.961	0.015
肿瘤低分化	1.557	0.811	6.623	5.736	0.211~0.926	0.024
肿瘤浸润 T3~T4	1.627	0.714	7.520	5.281	1.288~6.717	0.029
淋巴结受累 N1~N2	1.526	0.822	6.241	5.339	0.241~0.811	0.012
远处转移 M1	1.634	0.728	7.826	5.772	0.231~0.889	0.005
VEGF≥142 pg/mL	1.625	0.791	8.113	6.033	0.224~0.914	0.009
PDGF-B≥200 pg/mL	1.631	0.725	8.026	6.331	0.233~0.916	0.016

表 5 MALAT1 表达与血管内皮功能及病情进展的相关性分析

指标	r	P
肿瘤分化程度	-0.155	0.012
肿瘤浸润深度	0.255	0.015
淋巴结受累情况	0.253	0.014
肿瘤远处转移	0.254	0.011
VEGF	0.256	0.008
PDGF-B	0.255	0.006

3 讨论

肺癌为一种十分常见的恶性肿瘤，也是导致人类发生癌症相关死亡的首要原因，根据肿瘤病灶的形态及分化程度不同，临床主要将其分为小细胞肺癌（SCLC）和 NSCLC 两种类型，前者肿瘤生长速度快、病灶恶性程度高，后者病情进展缓慢且具有更多手术机会^[11-12]。肺腺癌为 NSCLC 常

见病理类型，早期、中期肺腺癌经手术、化疗、免疫治疗或肿瘤靶向治疗后大多可获得良好预后，但晚期患者经上述方法治疗后五年内病死风险仍较高^[13]。近年有研究指出^[14]，lncRNA 在多种实体肿瘤的发生及病情进展中均有重要作用，可参与调节肿瘤细胞的多种生物学行为及血管生成。MALAT1 为最早发现于 NSCLC 的 lncRNA 家族成员之一，已有的研究证实^[15]，MALAT1 在肺腺癌等 NSCLC 癌症组织中的表达水平较癌旁组织明显更高。

MALAT1 在多种恶性肿瘤中均呈高水平表达，相关文献指出^[16]，MALAT1 能通过海绵 miR-200a-3p 而靶向作用于程序性死亡配体 1 并促使肺腺癌细胞增殖或转移，与肺腺癌患者病情进展有密切联系。俞岑明等^[17]研究结果显示，MALAT1 呈高表达相的为导致 NSCLC 腺癌患者病情进展、病灶转移的危险因素。而本研究结果显示，肿瘤直径

最大值>5 cm、多发肿瘤、低分化、肿瘤浸润 T3~T4、区域淋巴结受累 N1~N2、病灶远处转移 M1、VEGF≥142 pg/mL、PDGF-B≥200 pg/mL 均为导致 MALAT1 表达异常的主要影响因素,除进一步明确 MALAT1 表达与肺腺癌患者病情进展的管理外,本研究结果还提示 MALAT1 高表达导致肺腺癌患者病情进展或许与血管内皮功能亢进、新生血管生成密切相关。研究指出^[18],肿瘤的发生、发展过程可涉及细胞增殖、侵袭或转移、上皮间质转化以及新生血管生成等多种生理过程,其中新生血管生成成为肿瘤发生或进展的主要机制。研究指出^[19],MALAT1 为一种可与 miRNA 发挥相互作用的竞争性内源性 RNA,可通过海绵效应进行互补配对后而抑制 miRNA 表达,并对肿瘤靶基因产生负向调控作用。SHYU 等^[20]研究指出,MALAT1 可通过抑制 miR92 并抵消 miR-92a 而下调 Kruppel 样转录因子表达,以抑制血管内皮细胞功能。VEGF 及其受体表达水平与肿瘤患者的病灶侵袭能力及预后均有密切关联。当 VEGF 与其受体相结合后即可介导细胞表面受体多种信号转到并诱发多种级联反应,高水平 VEGF 可促使细胞增殖并加快新生血管生成及肿瘤侵袭速度,其表达水平与 PDGF-B 正相关^[21]。另有学者通过缺氧复氧诱导血管内皮损伤的实验中指出^[22],MALAT1 还可通过与 miR-320a 相互作用而对血管生成产生一定调节作用。上述研究均证实了 MALAT1 表达与血管内皮功能间的关联。本研究经 Spearman 相关性系数检验得知,MALAT1 表达与肿瘤分化程度负相关,与肿瘤浸润深度、淋巴结受累情况、远处转移情况、VEGF 表达、PDGF-B 正相关。

综上所述,MALAT1 为一种可参与肺腺癌患者病情进展的 lncRNA,其影响机制考虑与上调 VEGF、PDGF-B 表达并导致血管内皮细胞损伤、促使新生血管生成相关。

参 考 文 献

- [1] ZHANG GH, DONG R, KONG DM, et al. The effect of GLUT1 on the survival rate and immune cell infiltration of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: a meta and bioinformatics analysis[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2022, 22(2): 223-238.
- [2] 罗文卿,李源奇,叶飞,等.肺腺癌患者列线图预后模型的构建与验证[J].*肿瘤防治研究*, 2022, 49(3): 197-204.
- [3] 张珍,白威峰.肿瘤标志物在肺腺癌诊断中的临床应用[J].*标记免疫分析与临床*, 2022, 29(1): 71-76.
- [4] WANG HL, HU AN, LIANG Y, et al. Genome-wide analysis of long non-coding RNA expression profile in lung adenocarcinoma compared to spinal metastasis[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(22): 1516.
- [5] 唐乐,李宏,何丽丽,等. MALAT1 调控 miR-19b-3p/HIF-1 α 分子轴参与非小细胞肺癌的发生发展[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2022, 51(5): 601-606.
- [6] 胡一明,张艺,徐旭燕. lncRNA MALAT1 通过靶向 miR-200a 对非小细胞肺癌细胞增殖的影响[J]. *国际呼吸杂志*, 2021, 41(11): 837-843.
- [7] 钱剑男,杨邵瑜,陈雪琴,等. 2022 年第 3 版《NCCN 非小细胞肺癌临床实践指南》更新解读[J]. *实用肿瘤杂志*, 2022, 37(3): 197-204.
- [8] 陈代标. 多层螺旋 CT 在非小细胞肺癌 TNM 分期诊断中的临床价值[J]. *实用放射学杂志*, 2020, 36(9): 1392-1395.
- [9] AKEBI T, MATSUGAKI R, ONO T. Relationship between wearing a lead apron and work-related musculoskeletal disorders: a questionnaire survey of Japanese radiological technologists[J]. *Acta Med Okayama*, 2022, 76(5): 541-545.
- [10] ROVETTA A. Raiders of the lost correlation: a guide on using Pearson and spearman coefficients to detect hidden correlations in medical sciences[J]. *Cureus*, 2020, 12(11): e11794.
- [11] 戴洁,孙良栋,靳凯淇,等. 外科治疗肺癌临床病理特征的演变规律:基于性别的异质性[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2022, 38(7): 396-401.
- [12] 王维威,张家齐,李单青. 小细胞肺癌的免疫治疗临床进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2022, 25(6): 425-433.
- [13] 王琳娜,李荣娟. 癌胚抗原、糖类抗原 50、鳞状上皮细胞癌抗原、细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1 联合检测在非小细胞肺癌诊断和预后评估中的价值[J]. *中医临床研究*, 2022, 14(17): 19-23.
- [14] 刘凯,张全武. 长链非编码 RNA MALAT1 与肿瘤血管生成关系的研究进展[J]. *肿瘤基础与临床*, 2022, 35(4): 366-369.
- [15] 金善丰,廖锦容,陈增,等. lncRNA MALAT1 在 EGFR 突变相关肺癌中的表达与临床意义[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(1): 23-27.
- [16] 周海燕,孙书林,金锦莲,等. lncRNA MALAT1 通过调控 miR-200a-3p/PD-L1 轴促进结肠癌发展[J]. *现代免疫学*, 2020, 40(6): 488-496.
- [17] 俞岑明,石佑萌,刘怡,等. lncRNA MALAT1 对非小细胞肺癌患者脑转移的预测价值[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(11): 1858-1861, 1866.
- [18] 杜伟,王山水,张焕焕. lncRNA H19 通过海绵 miR-675 和上调 CDH13 的表达促进肺癌的增殖、侵袭和上皮-间质转化[J]. *西部医学*, 2022, 34(8): 1121-1127, 1132.
- [19] SU K, WANG NN, SHAO QQ, et al. The role of a ceRNA regulatory network based on lncRNA MALAT1 site in cancer progression[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2021, 137: 111389.
- [20] SHYU KG, WANG BW, PAN CM, et al. Hyperbaric oxygen boosts long noncoding RNA MALAT1 exosome secretion to suppress microRNA-92a expression in therapeutic angiogenesis[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 274: 271-278.
- [21] 刘帮助,刘小霞,李茜,等. MAGE-A3 在非小细胞肺癌中表达与肿瘤血管生成相关性研究[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(11): 1711-1717.
- [22] ZHU RR, HU X, XU W, et al. lncRNA MALAT1 inhibits hypoxia/reoxygenation-induced human umbilical vein endothelial cell injury via targeting the microRNA-320a/RAC1 axis[J]. *Biol Chem*, 2020, 401(3): 349-360.

(方丽蓉 编辑)