

# 乳腺癌组织中 lncRNA MALAT1 的表达及临床意义

李子博 周江 周琳 杨芳慧 李敏

**摘要 目的** 探讨长链非编码 RNA MALAT1 在乳腺癌组织中的表达及临床意义。**方法** 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 方法检测 64 例乳腺癌患者癌组织标本及其对应的癌旁组织标本中 MALAT1 的表达情况,分析其与乳腺癌的临床病理特征关系以及诊断价值。**结果** MALAT1 在乳腺癌组织中的表达明显高于癌旁组织 ( $P < 0.05$ ),且癌组织中 MALAT1 的表达水平与 ER、PR 表达情况以及淋巴结转移明显相关 ( $P < 0.05$ ); ROC 曲线分析发现 AUC 为 0.706。**结论** 组织中高表达的 MALAT1 可作为乳腺癌诊断的一个潜在的新型生物学标志物。

**关键词** 长链非编码 RNA MALAT1 乳腺癌

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.03.020

**Expression and Clinical Significance of Long Non-coding RNA MALAT1 in Breast Cancer.** Li Zibo, Zhou Jiang, Zhou Lin, et al. Changsha Medical College, Hunan 410219, China

**Abstract Objective** To investigate the expression and clinical significance of long non-coding RNA (lncRNA) metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1) in breast cancer. **Methods** MALAT1 levels were measured in breast cancer tissue samples and corresponding adjacent tissues from 64 breast cancer patients using quantitative real-time PCR. The correlation between MALAT1 levels and clinical pathological characteristics of breast cancer was analyzed. A receiver operating characteristic (ROC) curve was constructed to determine the diagnostic value of MALAT1. **Results** The expression levels of MALAT1 in cancer tissues were significantly higher than those in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). The expression levels of MALAT1 in breast cancer patients correlated with expression of ER, PR and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ); the area under the ROC curve was 0.706. **Conclusion** Plasma lncRNA-MALAT1 may be involved in carcinogenesis and prove as a potential biomarker for the diagnosis of breast cancer.

**Key words** Long non-coding RNA; MALAT1; Breast cancer

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNAs) 是一类长度  $> 200\text{nt}$ , 无编码蛋白质功能的内源性 RNA 分子, 可通过多种机制调节特异基因表达, 参与包括肿瘤在内的多种疾病的发生<sup>[1-3]</sup>。肺癌转移相关转录 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 被证实在多种肿瘤, 包括乳腺癌中存在异常表达, 与肿瘤的发生、发展等过程密切相关<sup>[4,5]</sup>。因此, 本研究通过检测 lncRNA MALAT1 在乳腺癌组织中的表达情况, 分析其表达与乳腺癌患者临床病理特征的关系及其诊断意义。

## 对象与方法

1. 对象: 2014 年 9 月 ~ 2017 年 2 月经长沙医学院附属第一医院确诊的 64 例乳腺癌患者的肿瘤组织标本以及距肿瘤组织  $> 5\text{cm}$  的正常癌旁组织。所有标本均经医院病理科医生确诊。患者年龄 38 ~ 65

岁, 平均年龄  $52.4 \pm 11.7$  岁。所有患者经手术前均未行放、化疗。

2. 方法: (1) RNA 提取: 将所取组织在液氮中研磨成粉。应用 TRNzol 总 RNA 提取试剂盒 (北京天根生化科技公司) 提取癌和癌旁组织的总 RNA。1.5% 琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 的完整性, Nanodrop 2000 测定 RNA 的浓度和纯度。(2) cDNA 反转录及实时荧光定量 PCR 反应: 采用 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis 试剂盒 (美国 Thermo Scientific 公司) 进行 cDNA 合成。应用 SYBR Green 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司) 进行实时荧光定量 PCR 扩增, 反应体系:  $2 \times \text{FastStart Universal SYBR Green Master } 5\mu\text{l}$ , primer ( $5\mu\text{mol/L}$ )  $0.8\mu\text{l}$ , ddH<sub>2</sub>O  $3.2\mu\text{l}$ , cDNA  $1\mu\text{l}$ 。反应条件:  $95^\circ\text{C}$  预热 5min,  $95^\circ\text{C}$  变性 30s,  $60^\circ\text{C}$  退火 1min,  $72^\circ\text{C}$  延伸 30s, 35 个循环。定量检测中以三磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 为内参。引物设计用 Primer premier 5.0。其中 GAPDH 正向引物:  $5' - \text{ATGTCGTCATGGG TGTGAA} - 3'$ , 反向引物:  $5' -$

基金项目: 湖南省科技厅科技计划项目 (2014FJ3062)

作者单位: 410219 长沙医学院医学检验系

通讯作者: 李子博, 电子信箱: lzb3039@126.com

CAGTGATGGCATGGAC TGT - 3'; lncRNA MALAT1 扩增正向引物: 5' - GGATCGTCTCCCCACAAGCC - 3', 反向引物: 5' - GGTCTGTGCCTCGATCAAA AG-GCA - 3'。以上序列均由大连生工合成。

3. 统计学方法: 相对定量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行统计分析。计量数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 样本均数间的比较用  $t$  检验; lncRNA MALAT1 表达与患者临床病理特征参数之间的关系采用  $\chi^2$  检验。采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析。lncRNA MALAT1 对乳腺癌的诊断价值用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线来描述。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1. lncRNA MALAT1 在乳腺癌组织中的表达: 采用实时荧光定量 PCR 检测 64 例乳腺癌患者中肿瘤组织和对应的癌旁组织中的 lncRNA MALAT1 表达情况。与癌旁组织相比, lncRNA MALAT1 在肿瘤组织中存在高表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

表 1 lncRNA MALAT1 在乳腺癌组织中的表达

分组	n	相对 MALAT1 表达	t	P
癌组织	64	2.63 $\pm$ 1.14	2.28	0.005
癌旁组织	64	2.02 $\pm$ 1.25		

2. lncRNA MALAT1 表达与乳腺癌患者临床病理特征间的关系: 为分析 lncRNA MALAT1 的表达水平与乳腺癌患者临床病理特征关系, 定义  $2^{-\Delta\Delta Ct} \leq 1$  为低表达,  $2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$  为高表达<sup>[6]</sup>。结果发现, 癌组织中 lncRNA MALAT1 的表达水平与雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 以及淋巴结转移相关 ( $P$  值分别为 0.033、0.031 以及 0.003), 而与患者年龄、肿瘤分期、HER-2 表达水平及 Ki-67 水平无相关性 (表 2)。

3. lncRNA MALAT1 对乳腺癌的诊断价值: 用 ROC 曲线评价 lncRNA MALAT1 对乳腺癌的潜在诊断价值。分析发现, ROC 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.706; 敏感度和特异性分别是 78.6% 和 66.2% (图 1)。

讨 论

乳腺癌是一种在女性中致死率较高的恶性肿瘤。据统计其发生率每年在全世界以 0.3% ~ 0.8% 的速度增长<sup>[7]</sup>。在我国, 其发生率和病死率呈逐年上升以及年轻化趋势<sup>[8]</sup>。寻找新型有效的分子标志, 用于乳腺癌早期诊断具有重要意义。现在认为 lncRNAs 表达异常是人类肿瘤发生进展过程中的一类常

表 2 乳腺癌患者组织中 lncRNA MALAT1 表达水平与临床特征相关性

病理特征	n	MALAT1 表达		$\chi^2$	P
		低表达	高表达		
年龄 (岁)					
≤ 50	35	12	23	0.076	0.783
> 50	29	9	20		
TNM 分期					
I ~ II 期	40	23	17	1.506	0.220
III ~ IV 期	24	10	14		
ER					
+	44	16	28	4.55	0.033
-	20	13	7		
PR					
+	38	13	25	4.652	0.031
-	26	16	10		
HER-2					
+	49	19	30	0.007	0.932
-	15	6	9		
淋巴结转移					
有	27	4	23	9.051	0.003
无	37	19	18		
Ki-67 (%)					
≤ 10	45	16	29	0.01	0.922
> 10	19	7	12		

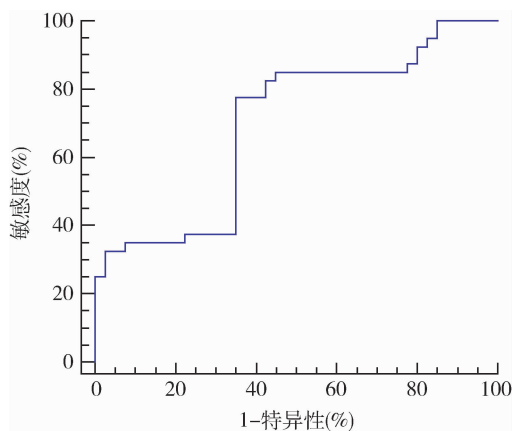


图 1 组织 lncRNA MALAT1 表达诊断 ROC 曲线图

见事件, 并发挥着至关重要的作用<sup>[9,10]</sup>。因此了解肿瘤相关 lncRNAs 改变特征, 可为肿瘤的诊断等方面提供有价值的分子标志物。在乳腺癌的研究中, 多个 lncRNAs 被发现参与肿瘤的多种重要的生理过程<sup>[11]</sup>。其中, 定位于人染色体 11q13 的 MALAT1 被认为是一种潜在的癌基因, 其转录产物 lncRNA MALAT1 可通过结合多种剪接因子途径调控 RNA 选择性剪切, 并可通过支架作用, 影响多种蛋白质在核内的定位, 还可通过影响信号通路、染色体重排、组蛋白修饰以及小 RNA 的构建等多种重要生理过程的方式,

调控肿瘤细胞增殖、侵袭转移等生物学行为,影响肿瘤的发生、发展<sup>[12-16]</sup>。研究表明,lncRNA MALAT1与乳腺癌的生成以及多种生物学行为关系密切<sup>[17-19]</sup>。

本研究中笔者通过实时荧光定量 PCR 检测了 lncRNA MALAT1 在 64 对乳腺癌及其对应癌旁组织中的表达水平,结果分析表明,癌组织中 lncRNA MALAT1 的表达水平高于癌旁组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。本研究结果提示细胞中 lncRNA MALAT1 表达上调可能参与到乳腺癌的发生、发展过程中,并起到促进作用。通过分析 lncRNA MALAT1 的表达与临床病理特征参数的关系发现,lncRNA MALAT1 的表达与患者年龄、肿瘤分期、HER2 以及 Ki-67 表达水平差异无相关性( $P > 0.05$ ),研究结果表明 lncRNA MALAT1 的表达异常独立于乳腺癌这些病理特征参数。这与刘艳华等<sup>[20]</sup>的研究结果基本一致。但 Huang 等研究发现,早期乳腺癌组织 lncRNA MALAT1 的表达水平表达高于晚期。这提示 lncRNA MALAT1 异常可能是乳腺癌发展过程的早期事件,表明其可作为一种潜在的早期指标。

此外,本研究表明 lncRNA MALAT1 在 ER 与 PR 表达阳性的肿瘤组织呈现高表达状态( $P < 0.05$ ),提示 lncRNA MALAT1 表达水平与 ERER 与 PR 表达相关,其检测可能有助于患者的预后评估。同时本研究结果显示 lncRNA MALAT1 的表达与淋巴结转移差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示 lncRNA MALAT1 高表达与乳腺癌的浸润转移危险性具有相关性,是一种与肿瘤侵袭转移潜能相关的长链非编码 RNA 分子。但其调控机制,目前尚未定论,有一些研究认为可能与 lncRNA MALAT1 调控相关 miRNA 分子的表达有关,如 hsa-miR-448 以及 miR-1,进而影响肿瘤的浸润转移。本研究通过 ROC 曲线分析进一步研究 lncRNA MALAT1 在乳腺癌中的诊断价值,发现 AUC 值为 0.706,提示 lncRNA MALAT1 在乳腺癌的诊断中具有有一定价值,可能是一个有价值的分子标志,但需要扩大样本量进一步证明。

总之,本研究表明 lncRNA MALAT1 在乳腺癌中呈现高表达状态,并可作为乳腺癌的新型诊断靶标,但其生物学作用与发病机制还需要进一步研究。

#### 参考文献

- 1 张徐,王梦瑶,徐检,等.长链非编码 RNA 在乳腺癌中的研究进展[J].临床检验杂志,2015,33(6):454-456
- 2 宋娜娜,柴志欣,钟金城.长链非编码 RAN 的研究进展[J].生物技术通报,2016,32(9):23-31

- 3 堵晶晶,谭镇东,刘辰东,等.长链非编码 RNA 的研究现状[J].2016,36(9):59-74
- 4 宋伟,王恺,张润锦,等.长链非编码 RNA MALAT1 作为一种判断肿瘤预后的新型生物标志物的 Meta 分析[J].中南大学学报:医学版,2016,41(11):1163-1167
- 5 宋铁峰,袁颖,王会琴,等.长链非编码 RNA MALAT1 的研究进展[J].生物技术通报,2016,32(1):20-28
- 6 Ding YC, Yu W, Ma C, et al. Expression of long non-coding RNA LOC285194 and its prognostic significance in human pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol,2014,7(11):8065-8070
- 7 Anothaisintawee T, Teerawattananon Y, Wiratkapun C, et al. Risk prediction models of breast cancer: a systematic review of model performances[J]. Breast Cancer Res Treat, 2012, 133(1):1-10
- 8 Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, et al. Breast cancer in China[J]. Lancet Oncol, 2014,15(7):279-289
- 9 连瑜,李夏雨,唐艳艳,等. lncRNA 作为 ceRNA 调控肿瘤的发生发展[J].生物化学与生物物理进展,2016,43(3):219-225
- 10 邓镇涛,许朋,王燕.长链非编码 RNA 与恶性肿瘤发生发展关系的研究进展[J].基因组学与应用生物学,2016,35(9):2286-2288
- 11 赵晗婷,林超逸. lncRNAs 在乳腺癌发生、发展中的作用及其潜在的临床意义[J].临床肿瘤学杂志,2016,21(8):736-742
- 12 Li B, Chen P, Qu J, et al. Activation of LTBP3 gene by a long non-coding RNA (lncRNA) MALAT1 transcript in mesenchymal stem cells from multiple myeloma [J]. J Biol Chem, 2014,289(42):29365-29375
- 13 Arun G, Diermeier S, Akerman M, et al. Differentiation of mammary tumors and reduction in metastasis upon Malat1 lncRNA loss [J]. Genes Dev, 2016,30(1):34-51
- 14 Zhao Z, Chen C, Liu Y, et al. 17β-Estradiol treatment inhibits breast cell proliferation, migration and invasion by decreasing MALAT-1 RNA level [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014,445(2):388-393
- 15 Pang EJ, Yang R, Fu XB, et al. Overexpression of long noncoding RNA MALAT1 is correlated with clinical progression and unfavorable prognosis in pancreatic cancer [J]. Tumour Biol, 2015,36(4):2403-2407
- 16 黄劲龙,沈建箴.长链非编码 RNA MALAT-1 在肿瘤中的作用及其机制研究进展[J].中国肿瘤临床,2016,43(4):161-164
- 17 白茹梦,王朝霞.长非编码 RNA MALAT1 在肿瘤研究中的新进展 [J].临床肿瘤学杂志,2016,21(12):1138-1145
- 18 闫宁宁,和占强,徐海燕,等.长链非编码 RNA 在乳腺癌中的研究进展[J].上海交通大学学报:医学版,2017,137(1):122-127
- 19 Soudyab M, Iranpour M, Ghafouri-Fard S. The role of long non-coding RNAs in breast cancer [J]. Arch Iran Med,2016,19(7):508-517
- 20 刘艳华,孙三元,鹿存涛.长链非编码 RNA 在乳腺癌组织与外周血中的表达[J].中华临床医师杂志,2016,10(12):1710-1712

(收稿日期:2017-05-11)

(修回日期:2017-05-27)