

# 基因组不稳定相关 LncRNA 模型预测结肠癌患者预后和顺铂药物敏感性

童 瞳, 杨 阳, 余昌俊, 方昌义

**摘要** 目的 探索结肠癌基因组不稳定性相关的长链非编码 RNA(LncRNA) 和其预测临床预后及治疗的潜力。方法 差异分析采用 R 包“limma”, 使用单因素 Cox 分析和多变量 Cox 比例风险回归分析构建预后风险模型。预后差异采用 Kaplan-Meier 法评价, log-rank 检验差异显著性。预后模型效能通过时间依赖的受试者工作特征曲线下面积(AUC) 进行评价。使用 R 包“pRRophetic”对患者进行抗癌药物敏感性预测。使用 R 软件包 rms 建立了列线图, 并计算列线图总体的一致性指数。应用实时荧光定量 PCR 法检测预后保护因素表达水平差异。结果 共获得 22 个与患者预后基因组不稳定相关 LncRNAs, 2 个为结肠癌患者预后的保护因素, 20 个为预后危险因素。构建了一个基因组不稳定相关 LncRNAs 构成的预后模型, 高风险评分的患者的 AUC 更低, 中位生存期更短。该模型预测五年生存的 AUC 在训练集中为 0.823, 在验证集中为 0.722, 在总体 TCGA 结肠癌患者中为 0.759。低风险评分的患者顺铂的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>) 更低, 敏感性更高( $P < 0.0001$ )。结肠癌组织中预后保护因素的表达显著低于结肠癌旁组织。结论 构建一个由 8 个基因组不稳定相关 LncRNAs 组成的预后预测风险模型, 并加以验证。此外, 该模型还可以预测顺铂药物的敏感性。结合肿瘤分期(stage) 和该预后模型构建一个列线图。该列线图对于结肠癌患者五年生存的预后预测能力要优于传统的组织病理学特征和前人所构建的预后模型。

**关键词** 结肠癌; 生物信息学; 肿瘤预后; 基因组不稳定; 长链非编码 RNA

**中图分类号** R 735.35

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1480-09  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.008

结肠癌是种常见的消化道恶性肿瘤, 其发生转移的结肠癌患者的五年生存率很低, 这被归因为治疗过程中肿瘤耐药的发生<sup>[1]</sup>。证实基因组不稳定

性的程度与肿瘤的进展及化疗药物耐药生存息息相关, 基因组不稳定性是肿瘤一个重要的预后不良影响因素。长非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA) 广义上被定义为长度大于 200 nt, 并且没有蛋白质编码功能的转录本基因<sup>[2]</sup>。LncRNA 在多种生物进程中发挥着重要作用, 特别是 LncRNA 的异常表达可能会影响癌细胞增殖、肿瘤进展或转移<sup>[3]</sup>。现着重鉴定结肠癌患者中基因组不稳定性相关的 LncRNAs, 并探索 and 开发其在预测患者预后以及指导患者个性化治疗方案的潜力。

## 1 材料与方法

**1.1 资料收集与处理** 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 中收集结肠癌患者的临床信息、转录组高通量测序数据和体细胞突变数据<sup>[4]</sup>。使用人类参考基因组(Genome Reference Consortium Human Build 38, GRCH38) (last-updated 2019-06) 并通过 R 包对转录组高通量测序数据进行了注释, 并筛选出了所有 LncRNA 基因的表达。最终选择 433 例具有配对的临床资料、体细胞突变资料和 LncRNA 表达数据的患者进一步分析。按 1:1 的比例随机将所有患者分为训练组( $n = 217$ ) 和验证组( $n = 216$ )。TCGA 数据库中结肠癌患者的临床和病理特征总结如表 1 所示。

**1.2 基因组不稳定相关 LncRNAs 的鉴定** 为了识别与基因组不稳定性相关的 LncRNAs, 建立了一个结合肿瘤基因组中 LncRNA 表达谱和体细胞突变谱的计算框架, 具体步骤如下: ① 计算每个患者的体细胞突变的累积数量; ② 患者按体细胞突变累积数量递减排序; ③ 前 25% 的患者被定义为基因组不稳定(genomic instability, GU) 样组, 后 25% 的患者被定义为基因组稳定(genomic stability, GS) 样组; ④ 采用 R 包“limma”, 比较 GU 组和 GS 组 LncRNAs 的表达谱, 设置阈值为: 差异倍数(Fold change) > 2 或者 < 0.5, 错误发现率(FDR) < 0.05; ⑤ 将得到的差异表达 LncRNAs 定义为基因组不稳定性相关的

2023-01-11 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81902451)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院高新院区胃肠外科, 合肥 230032

作者简介: 童 瞳, 男, 硕士研究生;

方昌义, 男, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: chyfrank@163.com

表1 TCGA 数据库中结肠癌患者临床和病理特征[n(%)]

临床信息	训练集	验证集	总体 TCGA	$\chi^2$ 值	P 值
年龄(岁)					
<70	94(54.97)	105(60.34)	199(57.68)	0.812 1	0.367 5
≥70	77(45.03)	69(39.66)	146(42.32)		
性别					
女	71(42.77)	86(48.04)	157(45.51)	0.765 0	0.381 8
男	95(57.23)	93(51.96)	188(54.49)		
死亡					
否	136(79.53)	134(77.01)	270(78.26)	0.191 0	0.662 1
是	35(20.47)	40(22.99)	75(21.74)		
stage 分期					
I	28(16.37)	34(19.54)	62(17.97)	0.896 5	0.826 5
II	65(38.01)	62(35.63)	127(36.81)		
III	52(30.41)	48(27.59)	100(28.99)		
IV	22(12.87)	24(13.79)	46(13.33)		
NA	4(2.34)	6(3.45)	10(2.9)		
M 分期					
M0	127(74.27)	132(75.86)	259(75.07)	0	1
M1	22(12.87)	24(13.79)	46(13.33)		
NA	22(12.87)	18(10.34)	40(11.59)		
N 分期					
N0	99(57.89)	103(59.2)	202(58.55)	1.637 0	0.441 1
N1	45(26.32)	37(21.26)	82(23.77)		
N2	27(15.79)	34(19.54)	61(17.68)		
T 分期					
T1	4(2.34)	7(4.02)	11(3.19)	5.187 0	0.268 6
T2	29(16.96)	32(18.39)	61(17.68)		
T3	123(71.93)	111(63.79)	234(67.83)		
T4	14(8.19)	24(13.79)	38(11.01)		
Tis	1(0.58)	0(0)	1(0.29)		

LncRNAs<sup>[5]</sup>。

为了进一步验证鉴定的基因组不稳定性相关的 LncRNAs 的合理性, R 包“sparcl”使用所有基因组不稳定性相关的 LncRNAs 的基因表达模式将所有结肠癌患者进行无监督的层次聚类<sup>[6]</sup>。观察不同聚类之间患者基因突变的数目差异, 若具有显著差异, 则进一步验证了关于此基因组不稳定性相关的 LncRNAs 鉴定的合理性。

**1.3 预后模型的构建** 通过单变量和多变量 Cox 比例风险回归分析计算基因组不稳定性相关 LncRNAs 与总生存期之间的关系。通过上述过程, 使用单因素 Cox 分析获得与预后相关的基因组不稳定性相关的 LncRNAs。预后相关的基因组不稳定性相关的 LncRNAs 被纳入多变量 Cox 比例风险回归分析并在训练集中构建预后风险模型。每个患者将通过此预后模型被赋予一个风险评分, 具体公式如下:

基因组不稳定相关预后风险评分 =  $\sum_{i=1}^n \text{Coef}(LncRNA_i) * \text{表达量}(LncRNA_i)$

R 包“aftools”运算训练集和试验集的数据, 通

过构建的瀑布图结果得出各高低风险组中 TP53 的突变比例和总 TCGA 的数据。使用训练集中风险评分的中位值作为截断值分别将训练集, 验证集和总体的 TCGA 结直肠癌患者划分为高风险组和低风险组。

使用 R 包“pRRophetic”对高低风险组的患者进行抗癌药物反应的预测。“pRRophetic”算法使用岭回归估算出每个患者对药物的半抑制浓度 ( $IC_{50}$ ), 并采用十倍交叉进行内部验证<sup>[7-8]</sup>。上述计算基于癌症药物敏感性基因组学 (GDSC) 数据库<sup>[9]</sup>。使用 R 软件包 rms 建立了列线图, 并计算列线图总体的一致性指数 (C-index)。

**1.4 标本采集** 收集 2020 年 10 月—2021 年 10 月安徽医科大学第一附属医院高新院区胃肠外科一病区行结肠癌根治术的患者术中切除的癌组织及对应的癌旁组织 (距癌组织边缘 2~3 cm), 立即放入液氮中保存, 随机选取 10 对进行实验。

**1.5 实时荧光定量聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR) 检测 AC115989.1 和 AL096803.3 的表达水平** 组织标本液氮冷冻中研磨成末, TRIzol 试剂盒 (上海冠泰生物科技有限公司) 提取组织总 RNA, 使用反转录试剂盒 (日本 TaKaRa Bio 公司) 逆转录合成 cDNA, 采用 SYBR 试剂 (日本 TaKaRa Bio 公司) 检测各组中 AC115989.1 和 AL096803.3 的相对表达量, 反应在荧光定量 PCR 仪 (型号 ABI7500, 美国 ABI 公司) 上进行。所有引物均由上海金维智公司合成, 内参 GAPDH 的引物上游序列为 5'-CATGTACGTTGCTA-TCCAGGC-3', 下游序列为 5'-CTCCTTAATGTCACG-CACGAT-3'; AC115989.1 的引物序列: 上游 5'-GT-TCTGTATCCAACCAGTGCAT-3', 下游 5'-TCCTGAC-AGTGAGGCAGCT-3'; AL096803.3 的引物上游序列为 5'-GGGACCCAGAACAGATAGTCTT-3', 下游序列为 5'-CTTTCCTCTTTCAGGTGCTGC-3', 采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 AC115989.1 和 AL096803.3 的表达水平。

**1.6 统计学处理** 使用 Kaplan-Meier 法计算不同分组之间总生存率和中位生存期之间的差异, 并使用 log-rank 进行检验差异是否显著。并通过时间依赖的 ROC 曲线评估该预后模型对患者总生存期的预测能效。两组间比较采用非参数 Wilcoxon 检验计算 P 值, 多重比较采用 Kruskal-Wallis 检验, 卡方检验来检验分类变量。以上统计分析均由 R (version 4.0.3) 完成。使用 GraphPad Prism 9.5 软件分析实时荧光定量 PCR 数据, 以  $P < 0.05$  为差异有统

计学意义。

## 2 结果

**2.1 基因组不稳定相关 LncRNAs 的鉴定** 将 TCGA 数据库中结肠癌患者中 (TCGA-COAD) 的 102 名患者定义为基因组不稳定组, 101 名患者定义为基因组稳定组。两组之间使用“limma”R 包差异分析共得到 435 个差异表达的 LncRNAs (下调 169 个, 上调 266 个)。将差异倍数最大和最小的前 20 个 LncRNAs 展示在热图中 (图 1)。使用这些差异表达的 LncRNAs 进行无监督聚类将所有 433 名结肠癌患者划分为了两个聚类 (图 2A), 两个聚类之间的基因突变数目差异显著 (两组间比较采用非参数 Wilcoxon 检验计算  $P$  值,  $P < 0.0001$ ; 图 2B)。据此, 将 435 个差异表达的 LncRNAs 定义为基因组不稳定相关 LncRNAs。

为了进一步揭示这些基因组不稳定相关 LncRNAs 所参与的生理进程, 使用皮尔森相关性分析鉴定与这些 LncRNAs 共表达的 mRNAs。将阈值设置为:  $P < 0.001$ ,  $r > 0.8$ , 获得 535 个与基因组不稳定相关 LncRNAs (绿色) 所共表达的 mRNAs (红色) (图 3)。使用 R 包“clusterProfiler”对这些 mRNAs 进行 KEGG 和 GO 富集分析, 选取  $P$  值最小的前 30 个富集通路展示 (图 4)。这些共表达的 mRNAs 与免疫细胞的激活, 分化与增殖关系密切。

## 2.2 预后模型的构建 单因素 Cox 分析鉴定出 22

个预后相关的 LncRNAs, 其中 AC115989.1 和 AL096803.3 为结肠癌患者预后的保护因素, 其余均为预后的危险因素 (图 5)。在训练集中将这些预后相关的 LncRNAs 进行多变量 Cox 比例风险回归分析获得一个预后风险模型, 公式如下: 基因组不稳定相关预后风险评分 =  $AC016745.2 * 0.467555063 + AC115989.1 * -0.640420875 + AC138466.1 * 0.246904352 + AL035252.3 * 0.177208929 + AL096803.3 * -0.393895877 + AL132655.1 * 0.210712291 + AP003555.1 * 0.25031386 + HHLA3 - AS1 * 0.177722417$ 。通过训练集患者风险评分的中位值 (1.00730515533047) 将训练集, 验证集和总 TCGA 队列划分为高风险组和低风险组, K-M 曲线提示低风险组预后显著优于高风险组 ( $P$  值来自

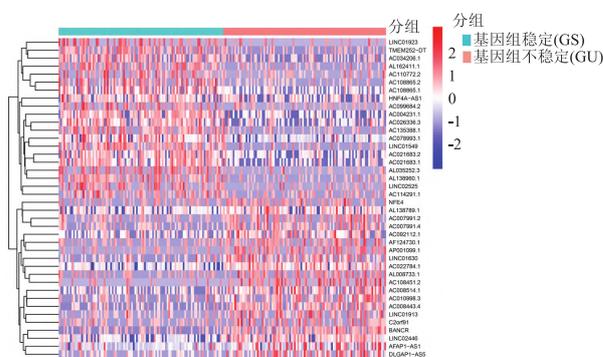


图 1 “limma”R 包差异分析得到差异表达的 LncRNAs 绿色: 基因组稳定 (GS); 红色: 基因组不稳定 (GU)

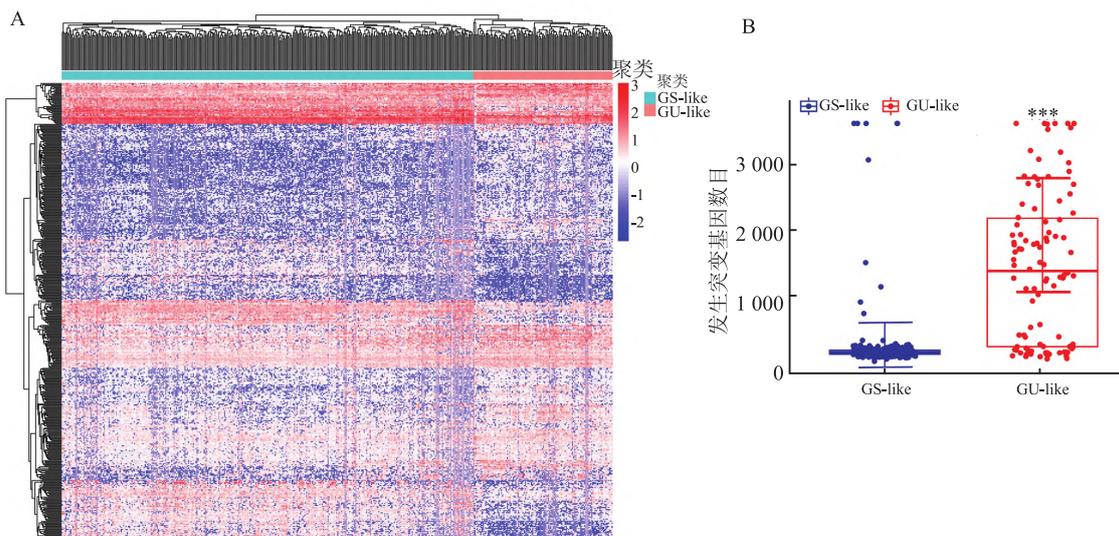


图 2 R 包进行无监督的层次聚类及不同聚类基因突变的数目差异

A: R 包进行无监督的层次聚类; 绿色集群: 潜在基因组不稳定组 (GU-like); 红色集群: 潜在基因组稳定组 (GS-like); B: 总体基因突变频率水平; 与 GS-like 比较:  $**** P < 0.0001$

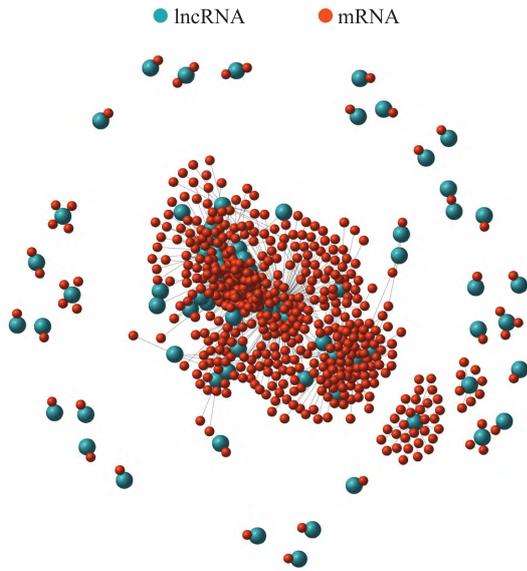


图3 皮尔森相关性分析鉴定与基因组不稳定相关 LncRNAs 共表达的 mRNAs  
绿色: LncRNA; 红色: mRNA

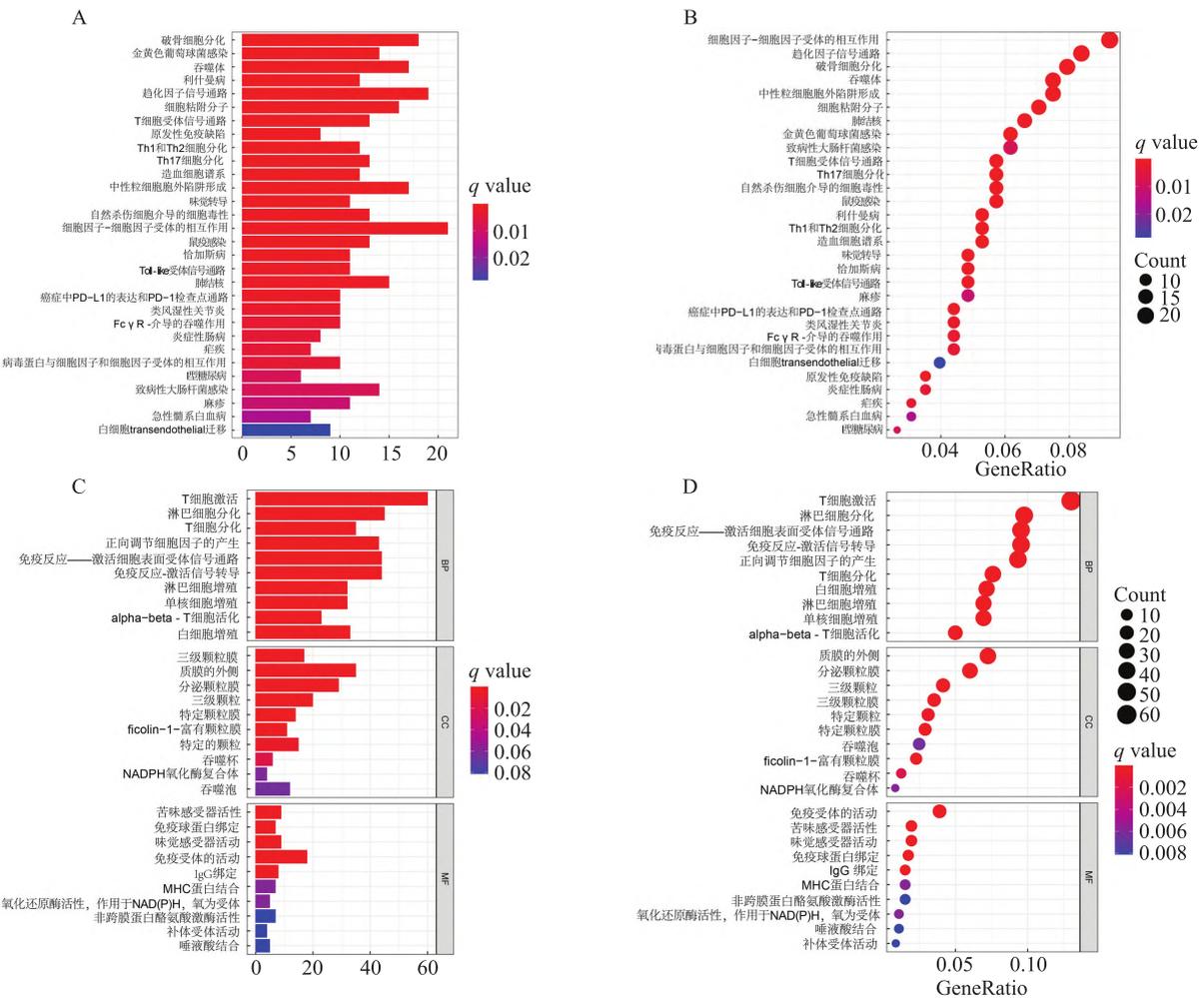


图4 R包进行对这些 mRNAs 进行 KEGG 和 GO 富集分析  
P 值最小的前 30 个富集通路; A, C (GO 分析); C, D (KEGG 分析)

log-rank 检验,图 6)。训练集、验证集以及总 TCGA 队列,预测五年生存的受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 下面积 (area under curve, AUC) 均高于 0.7,这提示该模型预测效能较优异。为了进一步验证该预后模型,将所有患者通过不同的临床特征进行分层,如年龄,性别,淋巴结转移和肿瘤分期,发现该模型在不同的分层患者中依旧保持着良好的预后预测的能力(图 7) ( $P < 0.05$ ;  $P$  值来自 log-rank 检验)。此外,在结肠癌组织、癌旁正常组织中通过 qRT-PCR 进一步验证 AC115989.1 和 AL096803.3 表达,发现 AC115989.1 和 AL096803.3 在结肠癌组织中相对表达量下调,与预测结果一致(图 8)。

### 2.3 风险模型预测结肠癌患者顺铂化疗敏感性 TP53 基因是重要的抑癌基因,被报道在过半数的癌症类型中发生突变,评价训练集,验证集和总 TCGA 队列中高低风险组之间 TP53 突变频率比例

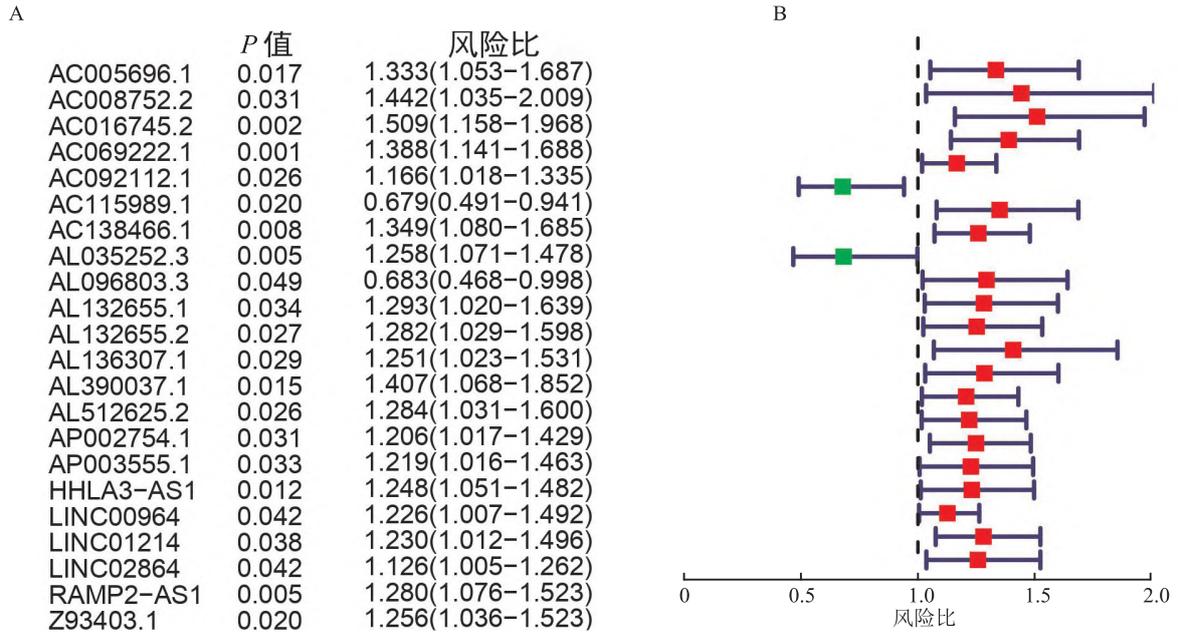


图5 单因素 Cox 得到预后相关的 LncRNAs

A, B: 获得预后相关 LncRNAs 以及 P 值、风险比, 并以此构建的森林图

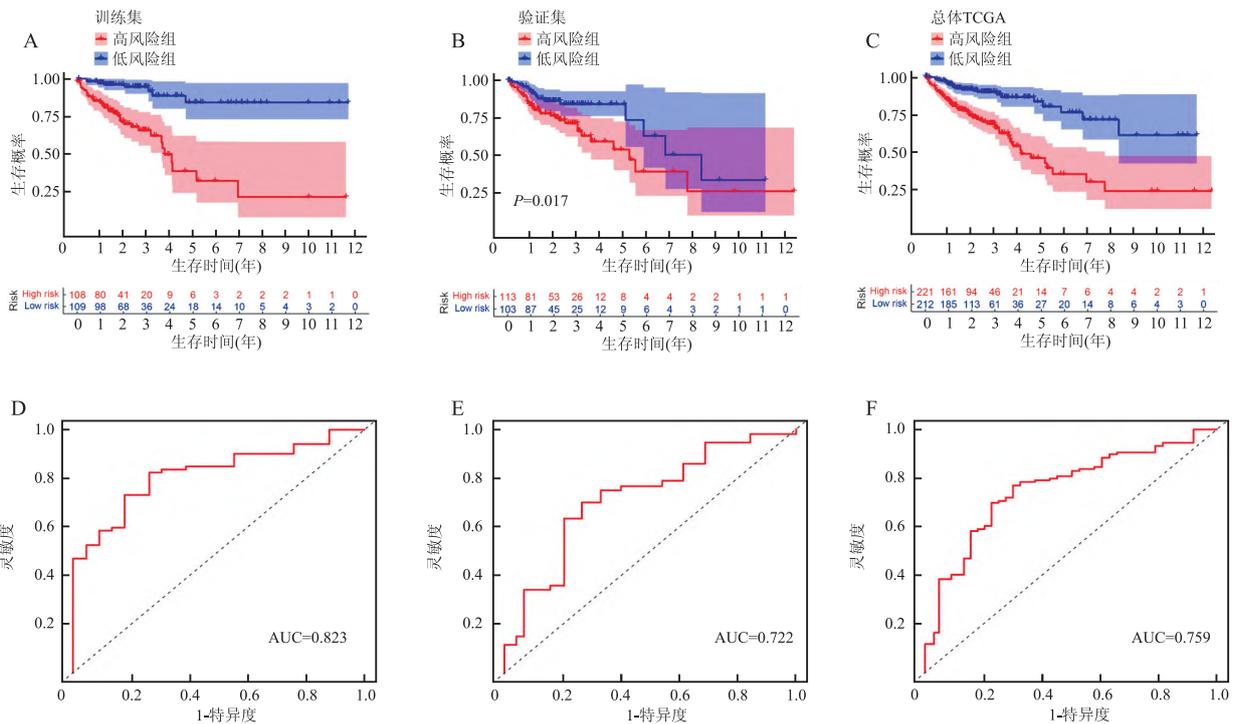
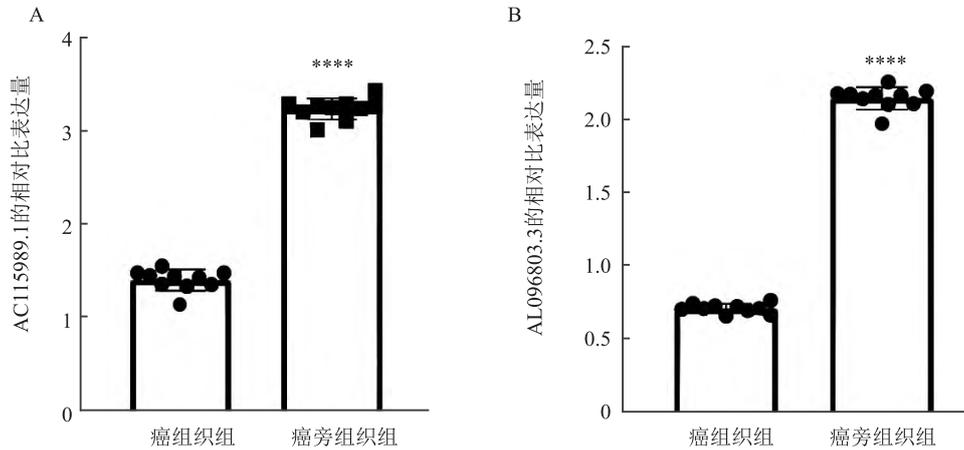
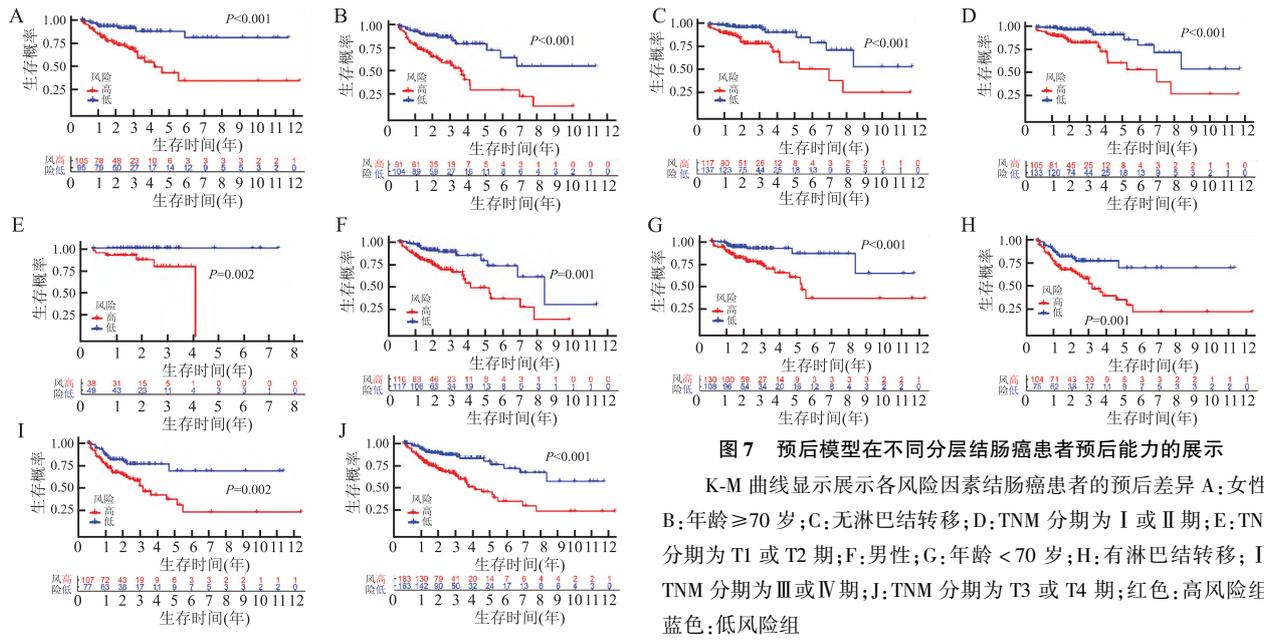


图6 预后模型预测效能展示

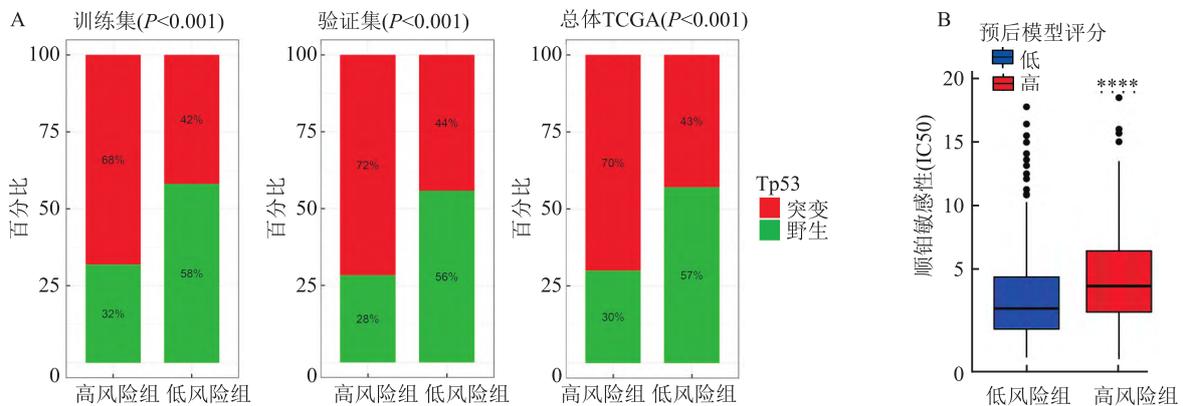
K-M 曲线显示展示结肠癌患者的预后差异 (红色线代表高风险组, 蓝色线代表低风险组): A: 训练集; B: 验证集; C: 总 TCGA 队列; 结肠癌患者 1、3、5 年总生存期随时间变化的 ROC 曲线; D: 训练集; E: 验证集; F: 总体 TCGA

卡方检验提示高风险组患者中 TP53 基因突变的比例显著高于低风险组。以顺铂为基础的化疗是大多数癌症的一线治疗方案, 包括膀胱癌、乳腺癌和结直肠癌等, 顺铂耐药与基因组不稳定息息相关, 因此探索

其与构建的基因组不稳定相关预后风险模型之间的关联。“pRRophetic”算法提示高风险组患者对药物的半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 显著高于低风险组 (P < 0.001), 因此低风险组患者对顺铂的药物敏感性更高 (图 9)。



A: AC115989.1 相对表达量; B: AC115989.1 相对表达量; 与结肠癌组织比较; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$



A: 结肠癌患者训练集, 验证集和总 TCGA 队列中高低风险组之间 TP53 突变频率比例; B: 预后模型评分; 与低风险组比较; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$

为了进一步优化该模型的临床应用,将其与传统的肿瘤分期(stage)相结合构建了一个列线图(图10A)。校准曲线提示该列线图对于患者1、3、5年的生存概率预测较为准确,该列线图总体的 C-index 为:0.783,95% CI(0.735 ~ 0.832), $P < 0.000 1$ (图10B),该列线图对于结肠癌患者5年生存的预后预测能力要优于传统的组织病理学特征(图10C)。

### 3 讨论

在本研究中,鉴定结肠癌中的基因组不稳定相关的 LncRNAs 及与其共表达的 mRNAs,通过对这些共表达 mRNA 进行富集分析发现,这些 LncRNAs 的主要生物学功能可能集中在免疫细胞的增殖分化和激活中。肿瘤的免疫细胞浸润受基因组不稳定性影响已有文献报道, Schrock et al<sup>[10]</sup> 发现肿瘤突变符合和微卫星不稳定影响结直肠癌免疫相关检查位点的表达量(PD-1/L1),同时能够预测免疫治疗的应答,提示的结果与前人研究相符合。同时,构建预后模型进行多角度的验证,卡方检验提示使用的内部验证集与训练集在全部的临床特征上是无显著差异的,因此该验证结果一定程度上是可信的。该预后模型在不同临床特征分层中也具有良好的预测效果,进一步证实该模型的稳健性。为了进一步优化该模型的临床应用,将其与传统的肿瘤分期(stage)相结合构建了一个列线图,该列线图总体的 C-index

为:0.783,95% CI(0.735 ~ 0.832), $P < 0.000 1$ , LinboChena et al<sup>[11]</sup>的模型五年生存 AUC 为 0.741, Joon-Hyop Lee et al<sup>[12]</sup>的模型五年生存 AUC 为 0.78,而 Taohua Yue et al<sup>[13]</sup>学者的模型仅为 0.72,这说明对于结肠癌患者五年生存的预后预测能力要优于传统的组织病理学特征和前人所构建的预后模型。肠癌化疗的常用药物一般要根据患者的病情来决定,其中以氟尿嘧啶与铂类化疗药组成的联合化疗方案较常用。铂类药物如顺铂,与 DNA 上的嘌呤基发生交联同时干扰 DNA 修复机制,引起 DNA 损伤,进而诱导癌细胞凋亡<sup>[14]</sup>。Dennis et al<sup>[15]</sup>发现 TP53 的完全敲除引起生殖细胞肿瘤细胞系顺铂耐药性的增加,表明 TP53 突变有助于推动顺铂耐药表型。本次研究中预后模型得到的高低风险组患者的 TP53 突变是具有显著差异的,因此进一步评价两组之间对于顺铂药物的敏感性。与 Dennis et al<sup>[15]</sup>的研究结果类似,在结肠癌中低风险,低 TP53 突变频率的患者拥有更高的顺铂药物敏感性。因此在临床应用中,构建的预后模型有着筛选顺铂更敏感的结肠癌患者的作用,这对结肠癌患者的个性化治疗方案的拟定有意义。基于生物信息学分析,借助 TCGA 数据库中的大样本量的结肠癌患者队列,鉴定出了在结肠癌中与基因组不稳定相关的 435 个 LncRNAs,构建且验证了一个由 8 个基因组不稳定相关 LncRNAs 构成的预后预测风险模型,另外,此

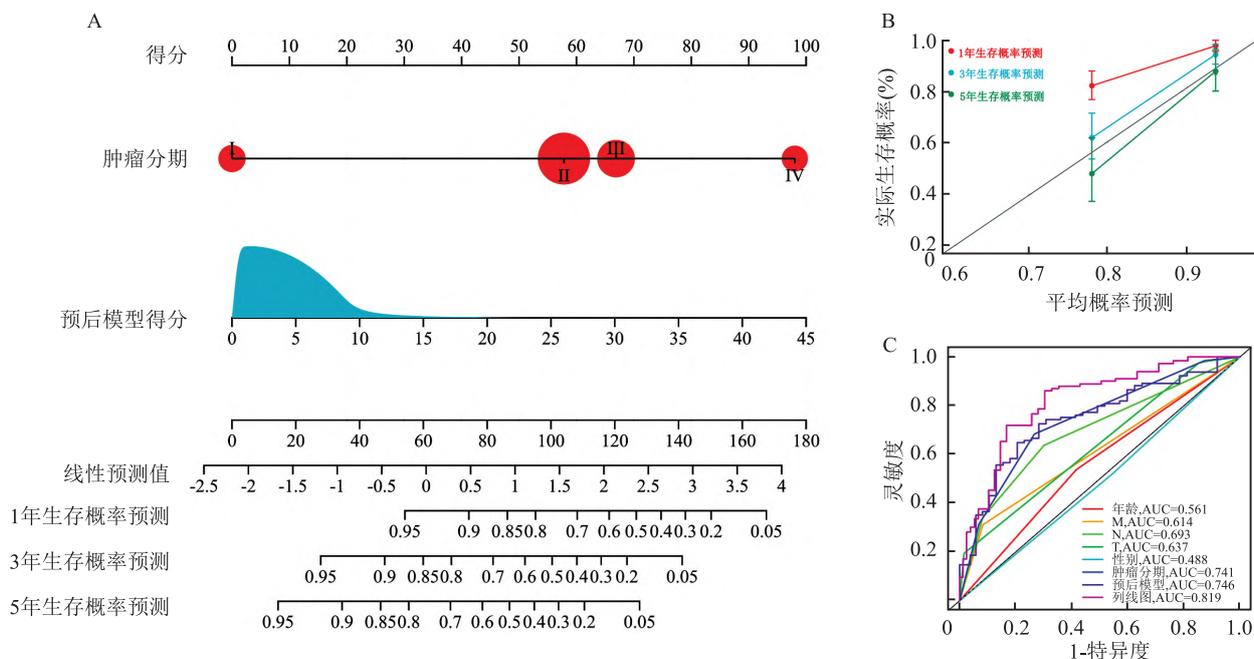


图 10 预后模型与传统的肿瘤分期相结合构建一个列线图

A:肿瘤分期(stage)结合预后风险模型构建列线图;B:该列线图对于患者1(红)、3(蓝)、5年(绿)的生存概率预测的校准曲线;C:ROC 分析该列线图对于结肠癌患者五年生存的预后预测的 AUC 与传统的组织病理学特征进行比较

模型还可提示患者 TP53 突变频率和顺铂药物的敏感性。为进一步优化该模型的临床使用,将其与传统的肿瘤分期(stage)相结合构建了一个列线图,该列线图对于结肠癌患者五年生存的预后预测能力要优于传统的组织病理学特征和前人所构建的预后模型。

### 参考文献

- [1] Dekker E, Tanis P J, Vleugels J L A, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10207): 1467 – 80.
- [2] Ali T, Grote P. Beyond the RNA-dependent function of LncRNA genes [J]. *Elife*, 2020, 9: e60583.
- [3] 马二民, 张兆宏, 黄晶晶, 等. 外泌体源性 LncRNA ESCCAL-1/miR-874/ITGBL1 对结直肠癌细胞增殖凋亡的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(3): 442 – 50.
- [4] Sanchez Calle A, Kawamura Y, Yamamoto Y, et al. Emerging roles of long non-coding RNA in cancer [J]. *Cancer science*, 2018, 109(7): 2093 – 100.
- [5] Zheng H, Zhao X, Wang H, et al. Location deviations of DNA functional elements affected SNP mapping in the published databases and references [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2020, 21(4): 1293 – 301.
- [6] Liu S, Wang Z, Zhu R, et al. Three differential expression analysis methods for RNA sequencing: limma, EdgeR, DESeq2 [J]. *J Vis Exp*, 2021, (175).
- [7] Chen W, Huang J, Xiong J, et al. Identification of a tumor micro-environment-related gene signature indicative of disease prognosis and treatment response in colon cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6290261.
- [8] Yue T, Liu X, Zuo S, et al. BCL2A1 and CCL18 are predictive biomarkers of cisplatin chemotherapy and immunotherapy in colon cancer patients [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 9: 799278.
- [9] Ding C, Shan Z, Li M, et al. Characterization of the fatty acid metabolism in colorectal cancer to guide clinical therapy [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2021, 20: 532 – 44.
- [10] Schrock A B, Ouyang C, Sandhu J, et al. Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(7): 1096 – 103.
- [11] Chen L, Lu D, Sun K, et al. Identification of biomarkers associated with diagnosis and prognosis of colorectal cancer patients based on integrated bioinformatics analysis [J]. *Gene*, 2019, 692: 119 – 25.
- [12] Lee J H, Jung S, Park W S, et al. Prognostic nomogram of hypoxia-related genes predicting overall survival of colorectal cancer-A analysis of TCGA database [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1803.
- [13] Yue T, Chen S, Zhu J, et al. The aging-related risk signature in colorectal cancer [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(5): 7330 – 49.
- [14] Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 88: 102925.
- [15] Timmerman D M, Eleveld T F, Gillis A J M, et al. The role of TP53 in cisplatin resistance in mediastinal and testicular germ cell tumors [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11774.

## Construction of genomic instability-associated LncRNA models to predict prognosis and cisplatin sensitivity in colon cancer patients

Tong Tong, Yang Yang, Yu Changjun, Fang Changyi

(Dept of Gastrointestinal Surgery, High-tech Campus, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To explore whether the long-chain noncoding RNA associated with genomic instability in colon cancer can predict clinical prognosis and therapeutic. **Methods** The R package "limma" was used for differential analysis, and the prognostic risk model was constructed by univariate Cox analysis and multivariate Cox proportional risk regression analysis. The difference in prognosis was evaluated by Kaplan-Meier method, and the difference was significant by log-rank test. The efficiency of the prognostic model was evaluated using a time-dependent area under the subject operating characteristic curve (AUC). The R package "pRRophetic" was used to predict the sensitivity of patients to anticancer drugs. R software package rms was used to build a line graph, and the consistency index of the line graph was calculated. Real-time quantitative PCR was used to detect the difference in the expression levels of prognostic protective factors. **Results** A total of 22 LncRNAs associated with genomic instability in patients with prognosis were obtained, 2 were protective factors for prognosis in patients with colon cancer, and 20 were risk factors for prognosis. A prognosis model composed of LncRNAs associated with genomic instability was constructed, and patients with high risk scores had lower AUCs and shorter median survival. The

# 银屑病血清与 M5 因子对角质形成细胞炎症和增殖影响的比较研究

王泽洪<sup>1</sup>, 李俊琴<sup>2</sup>, 邹 朋<sup>1</sup>, 李新华<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨银屑病血清与五联因子(M5)对角质形成细胞炎症和增殖影响的差异性。方法 分别用健康人、银屑病患者血清和 M5 因子对人类永生角质形成细胞(Human immortalized keratinocyte cell line, HaCaT)进行培养,通过 CCK-8 监测细胞的增殖情况,并采用 RT-qPCR 检测各组 HaCaT 细胞中炎症因子白介素 1 $\beta$ /8/21/23(IL-1 $\beta$ /8/21/23)与增殖标志物角质蛋白 6/16(K6/K16)和细胞相关抗原 67(Ki67)的 mRNA 表达水平。结果 健康人、银屑病血清和 M5 因子均能有效促进 HaCaT 细胞的生长,且银屑病血清和 M5 因子对细胞生长的促进作用强于健康人血清。与 M5 因子相似,银屑病患者血清显著促进细胞中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-23 和增殖标志物 K6、Ki67 的表达;与 M5 因子不同的是,银屑病患者血清对炎症因子 IL-21 的促进作用增强,而对增殖标志物 K16 的促进作用减弱。结论 银屑病患者血清微环境对角质形成细胞增殖和炎症反应的促进作用高于健康人,且与 M5 因子相似,可以用于构建银屑病角质形成细胞模型。

**关键词** 银屑病;角质形成细胞;炎症;增殖

**中图分类号** R 758.63

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1488-05  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.009

2023-08-09 接收

基金项目:山西省重点医学攻关专项(编号:2020XM20)

作者单位:<sup>1</sup>山西医科大学基础医学院微生物与免疫学教研室,晋中 030619

<sup>2</sup>山西医科大学附属太原中心医院皮肤科,太原 030009

作者简介:王泽洪,男,硕士研究生;

李新华,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: tylixinhua@sina.com

银屑病是一种免疫介导的炎症性皮肤病,其典型的症状是红斑、瘙痒和鳞屑,严重影响着患者的身心健康<sup>[1]</sup>。普遍认为角质形成细胞的过度增殖和炎症反应是银屑病发病的关键机制<sup>[2]</sup>。研究表明,与健康人相比,银屑病患者血清中存在多种细胞因子,可调节细胞的生长和分化,并引导免疫反应和炎症<sup>[3-4]</sup>。故笔者认为银屑病患者血清微环境是角质形成细胞发生增殖和炎症反应的诱因。

由于技术的限制目前尚无法获得足量的银屑病角质形成细胞,因此国内外学者多采用五联因子(a mixture of five proinflammatory cytokines, M5)刺激 HaCaT 细胞构建银屑病角质形成细胞模型,以开展银屑病角质形成细胞的体外研究<sup>[5]</sup>。但是由于 M5 因子购置困难、效期较短,且价格昂贵,限制了实际应用。因此,通过比较银屑病患者血清和 M5 造模对 HaCaT 细胞增殖和炎症反应的影响,旨在比较银屑病血清与 M5 因子对 HaCaT 细胞的异同,并进一步探讨血清微环境在银屑病发病中的机制。

## 1 材料与方法

**1.1 临床标本** 选取太原市中心医院皮肤科门诊经确诊为中度寻常型银屑病的患者(排除了其他自身免疫性疾病及慢性炎症性疾病,且一个月内未使用过免疫抑制剂、糖皮质激素、生物制剂等)外周血标本 12 例作为实验组,同时选取本院体检部健康人外周血标本 12 例作为对照组。

**1.2 细胞来源与试剂** 人类永生角质形成细胞

five-year survival AUC predicted by the model was 0.823 in the training set, 0.722 in the validation set, and 0.759 in the overall TCGA colon cancer patient population. Patients with low risk scores had lower half inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of cisplatin and higher sensitivity ( $P < 0.0001$ ). The expression of prognostic protective factors in colon cancer tissues was significantly lower than that in adjacent colon cancer tissues. **Conclusion** A prognostic risk model composed of 8 LncRNAs associated with genomic instability was constructed and verified. In addition, the model can also predict cisplatin drug sensitivity. A histogram was constructed combining the tumor stage and the prognosis model. The predictive ability of this graph for five-year survival of colon cancer patients is better than that of traditional histopathological features and prognostic models constructed by predecessors.

**Key words** colon cancer; bioinformatics; tumor prognosis; genomic instability; long non-coding RNAs