

胶质瘤组织中LncRNA-TSIX的表达与临床病理特征及预后的关系

丁金科¹, 夏 凯¹, 李承龙², 张 倩^{3*}

¹聊城市第二人民医院神经外科, 山东 聊城

²滨州医学院附属医院神经外科, 山东 滨州

³聊城市第二人民医院急诊科, 山东 聊城

收稿日期: 2024年4月29日; 录用日期: 2024年5月21日; 发布日期: 2024年5月29日

摘 要

目的: 胶质瘤是人类中枢神经系统中最常见的恶性肿瘤, 胶质瘤病人预后差、生存期短, 寻找新的诊疗靶点以提高胶质瘤早期诊治率, 改善胶质瘤患者预后, 延长生存期, 是目前临床亟待解决的问题。方法: 在本研究中, 我们从胶质瘤基因组图谱数据库中下载LncRNAs表达谱, 通过R语言基因芯片分析技术筛选出胶质瘤中差异表达的LncRNA, 通过LncRNA芯片(Agilent-045997 Arraystar human LncRNA microarray V3)对5例正常脑组织及5例胶质瘤组织中LncRNA的差异表达情况进行检测, 选取差异表达最显著的LncRNA。随后, 我们利用逆转录定量聚合酶链反应(RT-PCR)技术对63例患者差异基因的表达情况进行检测, 分析其与胶质瘤临床病理特征及预后的关系。结果: 通过聚类分析, 我们发现LncRNA-TSIX是胶质瘤中表达差异最显著的LncRNA。RT-PCR结果发现胶质瘤中LncRNA-TSIX的表达量较正常组织显著下调, 且在不同级别胶质瘤组织中表达量逐级下调, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。临床特征相关性分析显示LncRNA-TSIX与胶质瘤的恶性程度(WHO分级)密切相关。生存分析显示LncRNA-TSIX的低表达或表达缺失的患者预后更差。结论: 胶质瘤组织中LncRNA-TSIX的表达与胶质瘤的进展及预后密切相关, 有望成为协助胶质瘤诊断、治疗和预后方面的关键分子。

关键词

胶质瘤, LncRNA-TSIX, 基因芯片分析技术

Relationship between the Expression of LncRNA-TSIX and Clinicopathological Characteristics and Prognosis in Glioma Tissue

*通讯作者。

文章引用: 丁金科, 夏凯, 李承龙, 张倩. 胶质瘤组织中 LncRNA-TSIX 的表达与临床病理特征及预后的关系[J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 1953-1961. DOI: 10.12677/acm.2024.1451639

Jinke Ding¹, Kai Xia¹, Chenglong Li², Qian Zhang^{3*}

¹Department of Neurosurgery, The Second People's Hospital of Liaocheng, Liaocheng Shandong

²Department of Neurosurgery, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou Shandong

³Department of Emergency, The Second People's Hospital of Liaocheng, Liaocheng Shandong

Received: Apr. 29th, 2024; accepted: May 21st, 2024; published: May 29th, 2024

Abstract

Objective: Glioma is the most common malignant tumor in the human central nervous system. Glioma patients have poor prognosis and short survival. Searching for new diagnostic and therapeutic targets to improve the early diagnosis and treatment rate of glioma, improve the prognosis of glioma patients, and extend their survival time is an urgent clinical problem to be solved. **Methods:** In this study, we downloaded the expression profiles of LncRNAs from the glioma genome atlas database. Differentially expressed LncRNAs in glioma were screened using R language gene chip analysis technology. An LncRNA microarray (Agilent-045997 Arraystar human LncRNA microarray V3) was used to detect the differential expression of LncRNAs in 5 normal brain tissues and 5 glioma tissues, and the most significantly differentially expressed LncRNA was selected. Subsequently, we used reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) technology to detect the expression of the differentially expressed gene in 63 patients and analyze its relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of glioma. **Results:** Through cluster analysis, we found that LncRNA-TSIX was the most significantly differentially expressed LncRNA in glioma. RT-PCR results showed that the expression of LncRNA-TSIX in glioma was significantly downregulated compared with normal tissues, and its expression gradually decreased in different grades of glioma tissues, with statistically significant differences ($P < 0.01$). Clinical feature correlation analysis showed that LncRNA-TSIX was closely related to the malignancy of glioma (WHO grade). Survival analysis showed that patients with low expression or absence of LncRNA-TSIX had worse prognosis. **Conclusion:** The expression of LncRNA-TSIX in glioma tissues is closely related to the progression and prognosis of glioma, and is expected to become a key molecule in assisting the diagnosis, treatment, and prognosis of glioma.

Keywords

Glioma, LncRNA-TSIX, Gene Chip Analysis Technique

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胶质瘤(Glioma)是人类中枢神经系统中最常见的恶性肿瘤,复发率和死亡率较高。根据胶质瘤组织学分类及肿瘤恶性程度,WHO 将其划分为 I~IV 级[1]。虽然近年来胶质瘤的诊疗策略有了明显的提高,但由于胶质瘤细胞对放、化疗表现出较高的耐受性,加之其极具组织侵袭性,常常浸润正常脑组织,极大地增加了手术切除的难度,直接导致了该病预后差、总体生存期短的现状[2]。即便接受规范系统的放化疗的 II 级胶质瘤患者,其中位生存时间也只有约 13.3 年,中位无进展生存时间只有约 10.4 年;尤其是胶

质母细胞瘤(Glioblastoma, WHO IV 级)患者,其平均生存期只有大约 15 个月[3]。因此,有必要寻找与胶质瘤发生发展相关的新的分子机制,探讨治疗胶质瘤的有效诊疗靶点。

长链非编码 RNA (Long non-coding RNA, LncRNA)是一类长度超过 200 个核苷酸且基本无蛋白质编码功能的内源性转录本,在表观遗传水平以及转录和转录后水平等方面调控基因的表达,参与机体内多种生物学过程,与人类多种疾病的发生发展密切相关[4]。有研究报道,LncRNA 可以通过调控肿瘤相关基因的表达、调节肿瘤相关通路,在包括胶质瘤在内的多种恶性肿瘤的发生发展过程中发挥促癌或抑癌的作用,其中肺腺癌转移相关转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT-1)、家族分子母源性印迹基因 19 转录因子(Familial molecular maternal imprinted genes and transcription factors, H19)、Hox 转录反义 RNA (Hox transcript antisense RNA, HOTAIR)以及核富集转录体 1 (nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1)在胶质瘤中过表达,通过不同通路促进胶质瘤细胞增殖和转移;而作为抑癌基因的母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3)、生长停滞特异性转录本 5 (growtharrest-specific transcript 5, GAS5)等,在胶质瘤内表达下调,从而诱导细胞周期停滞,抑制肿瘤细胞增殖,并增强肿瘤细胞凋亡[5] [6]。

目前仍有很多与胶质瘤发生发展密切相关的 LncRNA 分子亟待被发现,本研究旨在通过基因芯片技术筛选出新的胶质瘤相关 LncRNA 分子,以期寻找新的诊疗靶点,提高胶质瘤早期诊治率,改善胶质瘤患者预后,延长生存期,为以后胶质瘤诊疗及预后带来新的希望。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

纳入所有于 2015 年 1 月至 2018 年 12 月间在滨州医学院附属医院神经外科行胶质瘤切除术的 63 例患者,其中:男性 30 例,女性 33 例;年龄介于 31~80 岁之间, ≤ 55 岁者 22 例, >55 岁者 41 例;肿瘤直径 ≤ 5 cm 者 37 例,肿瘤直径 > 5 cm 者 26 例;肿瘤发生部位,额叶 15 例,顶叶 25 例,颞叶 17 例,其他部位 6 例;I~IV 级胶质瘤组织标本分别 10、21、18、14 例。另选取 10 例来源于脑出血患者必须切除的正常脑组织作为正常对照。所有患者资料完整,术前均未接受放化疗,且无其他肿瘤疾病。

收集手术切除的胶质瘤组织,迅速转移至液氮保存。所有手术标本均由我院两位病理科专家按照 2007 年 WHO 中枢神经系统肿瘤分类标准进行评估分级。

本研究经滨州医学院附属医院伦理委员会批准,所有标本的收集均已取得患者及家属的知情同意。

2.2. 主要试剂和设备

TaKaRaMiniBEST Universal RNA Extraction Kit (Takara, 日本)、PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) (Takara, 日本)、TB Green[®] Premix Ex TaqTM II (Tli RNaseH Plus) (Takara, 日本)、CFX96 Real-Time PCR Detection System (BIO-RAD, 美国)、Agilent-045997 Arraystar human LncRNA microarray V3。

2.3. 芯片分析 LncRNA 表达

使用 Agilent-045997 Arraystar human LncRNA microarray V3 分析 5 例胶质瘤标本及 5 例正常脑组织标本中的 LncRNA 的表达情况。芯片数据结果用 DNASTar 软件(Lasergene)进行,差异基因的筛选及热图通过 R 软件分析,GO 功能聚类分析通过 DAVID 在线分析工具进行。

2.4. 实时荧光定量 PCR 检测不同级别胶质瘤组织和正常脑组织中 LncRNA-TSIX 的表达量

使用实时荧光定量 PCR 检测所有患者胶质瘤组织和正常脑组织中 LncRNA-TSIX 的表达量,步骤如

下:取 40 mg 待检组织,按照 TaKaRaMiniBEST 通用 RNA 提取试剂盒操作说明提取总 RNA,利用 NanoDrop 1000 测定 RNA 浓度及纯度,以吸光度比值 A260/A280 和 A260/A230 接近 2.0 为准。利用 PrimeScript™ RT 试剂盒建立 10 uL 体系进行去除基因组 DNA 反应,然后采用 TB Green qPCR 法建立 20 uL 体系完成反转录反应,反转录条件:37℃ 15 min, 85℃ 5 sec, 4℃。应用 TB Green® Premix Ex Taq™ II 试剂盒建立 25 uL 反应体系在 CFX96 Real-Time PCR Detection System 下完成 Real Time PCR 反应,每个标本设置 3 个平行样,扩增条件: Hold stage 为 95℃ 30 s; Cycling stage 为 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40 个循环; Melt stage 为 95℃ 10 s, 65℃ 5 s, 95℃ 5 s。以 GAPDH 作为内参,所用引物序列: RNA-TSIX 上游引物: 5'-CTCTAAGCCAGACCAATGAGCAA-3', 下游引物: 5'-GAATCCCCCAAATCACTTCCTCA-3'; GAPDH 上游引物: 5'-CAGGAGGCATTGCTGATGAT-3', 下游引物: 5'-GAAGGCTGGGGCTCATTT-3'。进行 3 次独立实验。LncRNA-TSIX 的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ($\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{试验组基因}} - Ct_{\text{GAPDH}}) - (Ct_{\text{对照组基因}} - Ct_{\text{GAPDH}})$) 表示,以中位数划分其表达量的高低。

2.5. 随访

对 63 例患者采取电话和门诊复查的方式进行随访,随访内容包括一般情况、临床症状和影像学检查,首次随访时间为病理活检日期,末次随访时间为 2019 年 9 月 1 日,筛选术前治疗方案基本一致且排除非胶质瘤原因死亡的患者,最后共收集了 38 符合条件且具有完整随访资料的病例,对所收集的生存资料进行统计分析,探讨 LncRNA-TSIX 的差异性表达与胶质瘤临床病理特征及预后的关系。

2.6. 统计学方法

应用 GraphPad Prism 5.01 统计软件对数据进行统计学分析。RT-PCR 测得数据以 Mean $\pm$ SEM 表示,组间比较采用两独立样本非配对 t 检验。应用 χ^2 检验统计 LncRNA 的表达水平与肿瘤临床特征的相关性。采用 Kaplan-Meier 分析法分析 LncRNA-TSIX 的表达与患者生存时间及预后的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 芯片分析 LncRNA 表达

我们通过 LncRNA 芯片(Agilent-045997 Arraystar human LncRNA microarray V3)分析 5 例正常脑组织及 5 例胶质瘤组织中 LncRNA 的差异表达情况。以 Fold change 绝对值大于 4 及 $P < 0.05$ 作为筛选条件筛选差异表达的 LncRNA,通过聚类分析,差异表达最显著的 LncRNA 如图 1(a)和图 1(b)所示。其中 LncRNA-TSIX 差异表达最为明显。

3.2. LncRNA-TSIX 在不同级别胶质瘤组织和正常脑组织中的表达量

I~IV 级胶质瘤组织及正常脑组织中 LncRNA-TSIX 的相对表达量分别为 0.3686 ± 0.0465 、 0.1530 ± 0.0185 、 0.0547 ± 0.0099 、 0.0060 ± 0.0014 、 1.0000 ± 0.0264 (图 2); LncRNA-TSIX 在各级别胶质瘤组织表达水平较正常脑组织明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.01$);且在不同级别胶质瘤组织中表达量逐级下调,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

3.3. LncRNA-TSIX 的表达与胶质瘤临床特征的相关性分析

以 LncRNA-TSIX 相对表达量的中位数(0.0813)将 63 例胶质瘤组织划分为高表达组和低表达组。分析结果显示 LncRNA-TSIX 的表达量与胶质瘤组织 WHO 分级呈显著相关($P < 0.0001$),与患者的性别、年龄、肿瘤大小和肿瘤结节数量均无明显相关性(表 1)。

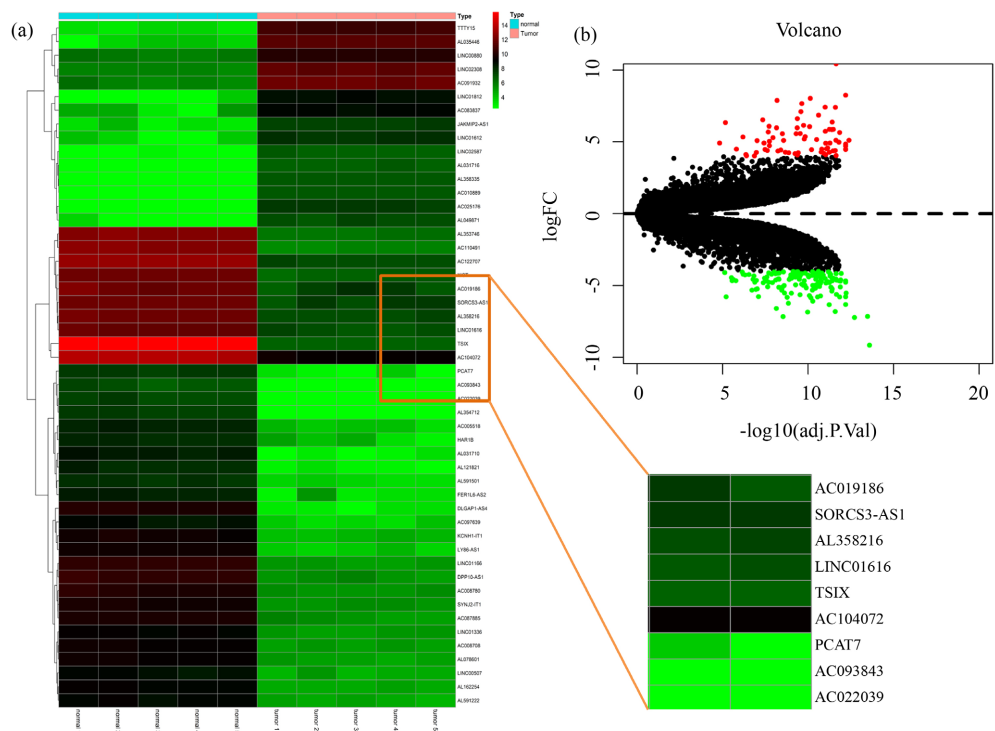


Figure 1. Glioma tissue microarray analysis. (a) Microarray analysis of differentially expressed lncRNA in glioma specimens and normal brain tissue specimens. Red represents up-regulated genes, and green expresses down-regulated genes. (b) Volcano map of microarray analysis, $|\text{Fold change}| > 4$ and $P < 0.05$

图 1. 胶质瘤组织芯片分析。(a) 芯片分析胶质瘤标本及正常脑组织标本中差异表达 lncRNA 热图。红色代表上调基因，绿色表达下调基因。(b) 芯片分析火山图， $|\text{Fold change}| > 4$ 且 $P < 0.05$

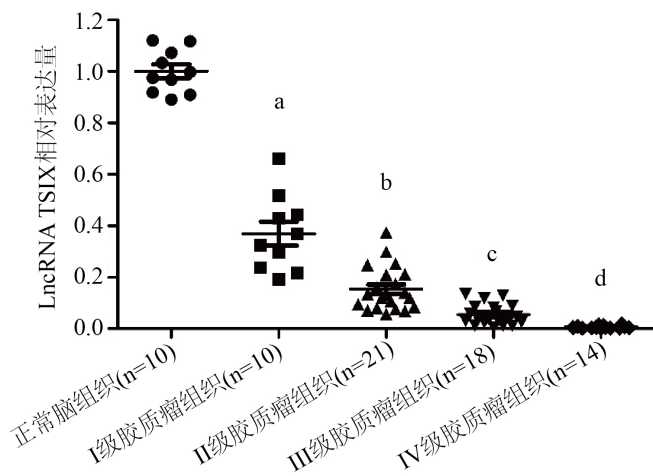


Figure 2. Relative expression of lncRNA-TSIX in tissue specimens. Comparison of lncRNA-TSIX expression in glioma and normal brain tissues of each grade (Compared to normal brain tissue, aP, bP, cP, dP < 0.01); The expression level of lncRNA-TSIX in grade IV glioma tissue was significantly lower than that in grade III glioma tissue ($P < 0.01$); The expression level of lncRNA-TSIX in grade III glioma tissues was significantly lower than that in grade II glioma tissues ($P < 0.01$); The expression level of lncRNA-TSIX in grade II glioma tissues was significantly lower than that in grade I glioma tissues ($P < 0.01$)

图 2. lncRNA-TSIX 在各组织标本中的相对表达量。各级别胶质瘤组织与正常脑组织中 lncRNA-TSIX 表达的比较(与正常脑组织相比, aP、bP、cP、dP 均 < 0.01); lncRNA-TSIX 在 IV 级胶质瘤组织表达水平较 III 级胶质瘤组织明显降低($P < 0.01$); lncRNA-TSIX 在 III 级胶质瘤组织表达水平较 II 级胶质瘤组织明显降低($P < 0.01$); lncRNA-TSIX 在 II 级胶质瘤组织表达水平较 I 级胶质瘤组织明显降低($P < 0.01$)

Table 1. Relationship between LncRNA-TSIX expression and clinical features of glioma
表 1. LncRNA-TSIX 的表达与胶质瘤临床特征的关系

临床特征	例数	LncRNA TSIX 表达		χ^2 值	P 值
		高表达组	低表达组		
总数	63	31	32		
性别					
男性	30	16	14	0.3903	0.5321
女性	33	15	18		
年龄					
≤55	22	12	10	0.3856	0.5346
>55	41	19	22		
肿瘤大小					
≤5	37	21	16	2.0450	0.1527
>5	26	10	16		
肿瘤发生部位					
额叶	15	6	9	1.6700	0.6436
顶叶	25	14	11		
颞叶	17	9	8		
其他部位	6	2	4		
WHO 分级					
低级别 I~II	31	26	5	29.34	<0.0001
高级别 III~IV	32	5	27		

3.4. 基于 LncRNA-TSIX 表达的胶质瘤患者 Kaplan-Meier 分析

随访期间(1700 d)，经筛选后 63 例患者中共收集到 38 符合条件且具有完整随访资料的病例，其中低级别胶质瘤(I、II 级)病例 23 例，其中 LncRNA-TSIX 低表达组 5 例，3 例死亡，高表达组 18 例，4 例死亡；高级别胶质瘤(III、IV 级)病例 15 例，其中 LncRNA-TSIX 低表达组 11 例，7 例死亡，高表达组 4 例，2 例死亡。根据 RT-PCR 结果，经 Kaplan-Meier 分析结果显示：在胶质瘤患者中，LncRNA-TSIX 的表达与胶质瘤患者的预后密切相关，差异具有统计学意义($P < 0.01$)；在低级别胶质瘤中，LncRNA-TSIX 的表达与患者预后密切相关，差异具有统计学意义($P < 0.05$)，而在高级别胶质瘤中，LncRNA-TSIX 的表达与患者预后无明显相关性($P > 0.05$) (图 3)。低表达组总体生存率(37.50%)低于高表达组(72.73%) ($P < 0.05$)；且低表达组总生存时间(556 ± 73 d)低于高表达组(834 ± 103 d) ($t = 2.046$, $P < 0.05$) (图 4)。生存分析显示 LncRNA-TSIX 的低表达或表达缺失的患者预后更差。

4. 讨论

胶质瘤是最常见的中枢神经系统肿瘤，占成人原发性颅内肿瘤的 60%。目前胶质瘤的主流治疗方法是手术联合放疗，辅以替莫唑胺(TMZ)辅助化疗[7]，因其恶性增殖能力强，极具侵袭性，常侵犯临近正常脑组织，而且大多数胶质瘤患者确诊即晚期，致使该病患者预后较差，生存期普遍较短，IDH 野生型和 IDH 突变型胶质瘤患者诊断时的中位年龄分别为 62 岁和 44 岁，而治疗后的中位生存时间分别为 15

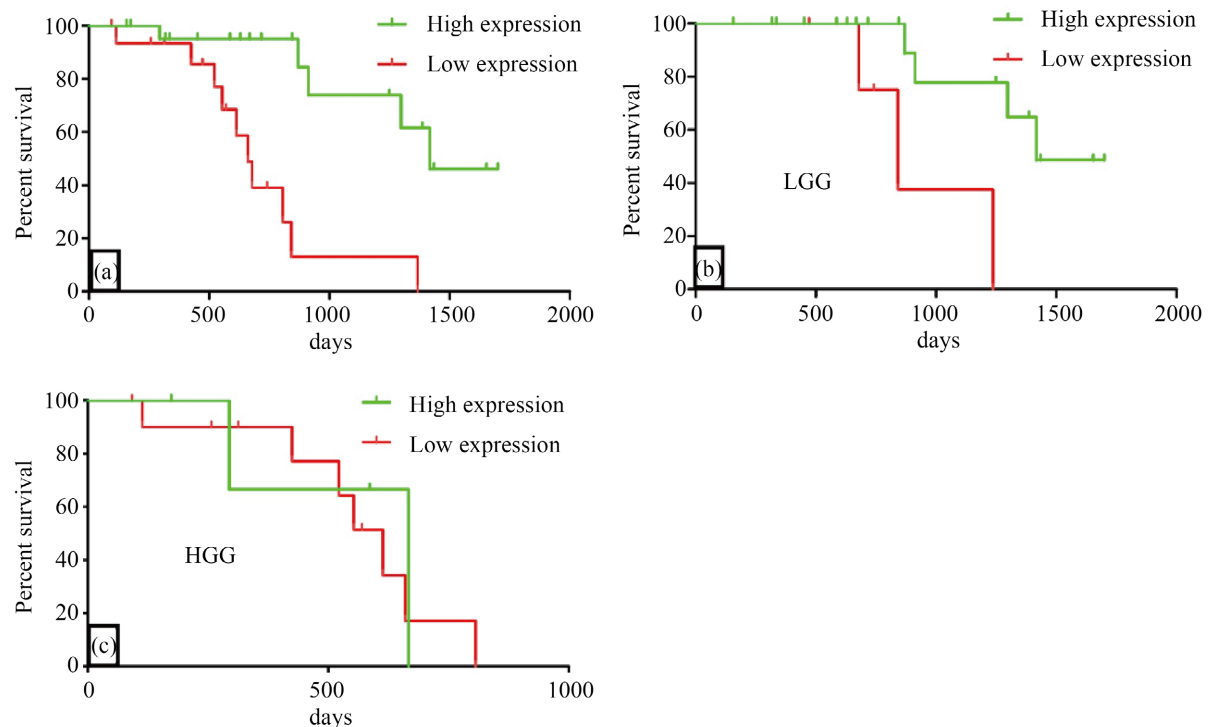


Figure 3. Kaplan-Meier survival curve in glioma patients based on LncRNA-TSIX expression. (a) The expression of LncRNA-TSIX and the overall survival rate of glioma patients; (b) The expression of LncRNA-TSIX and the survival rate of patients in low-grade glioma; (c) The expression of LncRNA-TSIX and the survival rate of patients in high-grade glioma

图 3. 基于 LncRNA-TSIX 表达的胶质瘤患者 Kaplan-Meier 生存曲线。(a) LncRNA-TSIX 的表达情况和胶质瘤患者的总体生存率；(b) 在低级别胶质瘤中，LncRNA-TSIX 的表达情况和患者的生存率；(c) 在高级别胶质瘤中，LncRNA-TSIX 的表达情况和患者的生存率

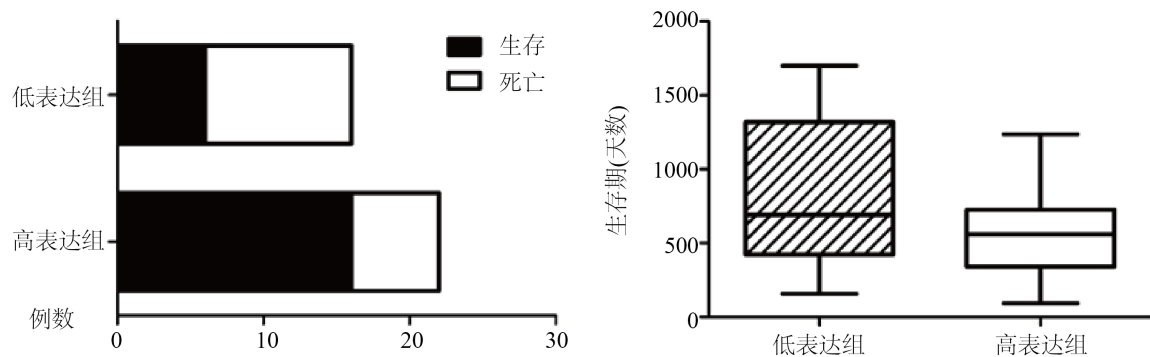


Figure 4. The relationship between the expression of LncRNA-TSIX and the survival rate and survival time of glioma patients

图 4. LncRNA-TSIX 的表达情况与胶质瘤患者生存率及生存时间的关系

个月和 31 个月[8]。胶质瘤的发病机制尚不清楚，但已有研究表明，许多基因分子的变化关系着胶质瘤发生发展。因此，探索与胶质瘤发生发展相关的新的分子机制，寻找与之相关的分子生物标志物尤为重要。

LncRNA 作为内源性转录本，参与人体内多种生物学过程，与人类多种疾病的发生发展密切相关。近年来，研究表明 LncRNA 的异常表达调控着包括胶质瘤在内的多种肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡，并且在恶性肿瘤的侵袭和转移中发挥着重要作用[9]。如 LncRNA-SNHG12 在胶质瘤组织中高表达，在高级别胶质瘤中，LncRNA-SNHG12 高表达患者的 5 年总生存率较低，且下调 LncRNA-SNHG12 的表达，可

降低胶质瘤细胞的增殖、侵袭以及迁移能力[10]; LncRNA-ANRIL 在胶质瘤组织中均呈高表达, LncRNA-ANRIL 表达与胶质瘤分级呈正相关, 其高表达提示患者很可能预后不良[11]; Lnc001089 在胶质瘤组织中表达下调, 且与预后不良有关, Lnc001089 过表达导致细胞在体外的增殖、迁移和侵袭能力下降[12]。

LncRNA-TSIX 最初以 LncRNA-XIST 的反义基因进入我们的视野, 同处于 X 染色体失活中心(X chromosome inactivation center, XIC)中的 XIST 基因相互调控, 共同参与 X 染色体的随机失活过程[13]。有研究发现血清 LncRNA-TSIX 在区分肝细胞癌患者、慢性丙肝病毒感染患者和健康人方面显示出了高度的敏感性和特异性, 推测血清 LncRNA-TSIX 或可作为 HCC 的诊断和预后生物标志物[14]; Wang [15] 等也发现 LncRNA-TSIX 能够明显抑制 HCC 细胞增殖、侵袭, 促进 HCC 细胞凋亡, 其机制可能与 LncRNA TSIX 负调节 miR-548-a-3p 有关。而 LncRNA-TSIX 在胶质瘤方面尚无相关研究报道。

在本研究中, 我们发现胶质瘤中 LncRNA-TSIX 的表达量较正常组织显著下调, 且在不同级别胶质瘤组织中表达量逐级下调。在 Shen 等[16]的研究中, LncRNA-TSIX 在胰腺癌组织和细胞中高表达; Habieb A [13]的研究表明与健康人和慢性丙肝患者相比, 肝细胞癌患者血清中 LncRNA-TSIX 表达水平明显增高。我们猜测不同肿瘤类型中 LncRNA-TSIX 存在表达差异, 亦可能发挥致癌或抑癌两种截然不同的生物学功能。

我们发现, LncRNA-TSIX 的表达量与胶质瘤组织 WHO 分级呈显著相关性, 与患者的性别、年龄、肿瘤位置、肿瘤大小均无明显相关性; LncRNA-TSIX 的低表达或表达缺失的患者生存率低, 生存期短。Yang 等[17]在研究食管鳞癌转移相关 RNA 时, 对差异表达 LncRNA-TSIX 进行生存能力分析, 结果也显示 TSIX 与食管鳞癌患者生存时间具有显著相关性。根据我们的研究结果, 我们认为 LncRNA-TSIX 在胶质瘤中可能发挥着抑癌基因的作用, 其表达与胶质瘤的恶性程度呈负相关, 与患者预后密切相关; LncRNA-TSIX 低表达或表达缺失可能与胶质瘤的发生发展有关, 可能是导致高级别胶质瘤患者生存期普遍较短的关键原因。

本研究仍有一些局限性, 本研究仅对临床数据进行了初步分析, 探讨了胶质瘤中 LncRNA-TSIX 的差异表达, 仍需进一步研究探讨胶质瘤中 LncRNA-TSIX 的具体作用机制及信号通路。

5. 结论

我们认为 LncRNA-TSIX 有望成为胶质瘤诊断、预后评估的新的分子标记物, 甚至可以成为胶质瘤的治疗靶点。

基金项目

山东省医药卫生科技发展计划, 面上项目, 基金号(2019WS323)。

参考文献

- [1] 《中国中枢神经系统胶质瘤诊断和治疗指南》编写组. 中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015) [J]. 中华医学杂志, 2016(7): 485-509. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.07.003>
- [2] Alfonso, J.C.L., Talkenberger, K., Seifert, M., et al. (2017) The Biology and Mathematical Modelling of Glioma Invasion: A Review. *Journal of the Royal Society, Interface*, **14**, 20170490. <https://doi.org/10.1098/rsif.2017.0490>
- [3] Wen, P.Y. (2016) Neuro-Oncology in 2015: Progress in Glioma Diagnosis, Classification and Treatment. *Nature Reviews Neurology*, **12**, 69-70. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.242>
- [4] Fernandes, J.C.R., Acuña, S.M., Aoki, J.I., et al. (2019) Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. *Non-Coding RNA*, **5**, 17. <https://doi.org/10.3390/ncrna5010017>
- [5] Rynkeviciene, R., Simiene, J., Strainiene, E., et al. (2018) Non-Coding RNAs in Glioma. *Cancers*, **11**, 17.

- <https://doi.org/10.3390/cancers11010017>
- [6] Pop, S., Enciu, A.M. and Necula, L.G. (2018) Long Non-Coding RNAs in Brain Tumours: Focus on Recent Epigenetic Findings in Glioma. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 4597-4610. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13781>
- [7] Boussiotis, V.A. (2018) Immunotherapies for Malignant Glioma. *Oncogene*, **37**, 1121-1141. <https://doi.org/10.1038/s41388-017-0024-z>
- [8] Strepkos, D., Markouli, M., Klonou, A., *et al.* (2019) Insights in the Immunobiology of Glioblastoma. *Journal of Molecular Medicine*, **98**, 1-10.
- [9] Taniue, K., Akimitsu, N. (2021) The Functions and Unique Features of LncRNAs in Cancer Development and Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 632. <https://doi.org/10.3390/ijms22020632>
- [10] Lei, W., Wang, Z.L., Feng, H.J., *et al.* (2018) Long Non-Coding RNA SNHG12 Promotes the Proliferation and Migration of Glioma Cells by Binding to HuR. *International Journal of Oncology*, **53**, 1374-1384. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4478>
- [11] Dai, W. and Tian, C. (2018) Effect of LncRNA ANRIL Silencing on Anoikis and Cell Cycle in Human Glioma via Microrna-203a. *OncoTargets and Therapy*, **11**, 5103-5109. <https://doi.org/10.2147/OTT.S169809>
- [12] Gu, J., Xu, F. and Dang, Y. (2019) Long Non-Coding RNA 001089 is a Prognostic Marker and Inhibits Glioma Cells Proliferation and Invasion. *Clinical Laboratory*, **65**. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2018.180817>
- [13] Habieb, A., Matboli, M. and El-Taye, H. (2019) Potential Role of LncRNA-TSIX, miR-548-a-3p, and SOGA1 mRNA in the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *Molecular Biology Reports*, **46**, 4581-4590. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04810-x>
- [14] Loos, F., Maduro, C., Loda, A., *et al.* (2016) Xist and Tsix Transcription Dynamics Is Regulated by the X-to-Autosome Ratio and Semistable Transcriptional States. *Molecular and Cellular Biology*, **36**, 2656-2667. <https://doi.org/10.1128/MCB.00183-16>
- [15] 王佳乐, 李琤, 李广明, 等. LncRNA TSIX 通过靶向 miR-548-a-3p 抑制肝细胞癌细胞增殖和侵袭的机制研究[J]. 肝脏, 2022, 27(2): 213-217.
- [16] 沈彬彬, 周俊, 黎亮, 陆宁, 姚明. 长链非编码 RNA TSIX 通过靶向 miR-384 调控人胰腺癌细胞增殖的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(6): 621-626.
- [17] Yang, F., Wen, S., Zhang, Y., *et al.* (2019) Identifying Potential Metastasis-Related Long Non-Coding RNAs, microRNAs, and Message RNAs in the Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry*, **120**, 13202-13215. <https://doi.org/10.1002/jcb.28594>