

# The Expression of Long Non-coding RNA SNHG3 in Breast Cancer Tissues and Its Prognostic Effect

Bingjun Guo<sup>1</sup> Cheng Yang<sup>2</sup>

1.Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China  
2.Department of Endocrine and Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

## Abstract

**Objective:** Long non-coding RNAs (lncRNAs) play a crucial role during the development and progression of various tumors, including breast cancer (BC). The expression of the small nucleolar RNA host gene 3 (SNHG3) is highly regulated in BC. Nevertheless, the clinical significance and prognostic value of SNHG3 in BC have not been studied. Here, we examined the potential prognostic role of SNHG3 in patients with BC. **Methods:** We investigated the differential expression of SNHG3 using the data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Then we measured SNHG3 expression in BC tissues (n = 176) and in neighboring normal tissues via quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The correlation between SNHG3 and clinical pathological characteristics was analyzed using Pearson's  $\chi^2$  test. A survival analysis using the Kaplan-Meier and Cox regression methods clarified the prognostic value of SNHG3. **Results:** SNHG3 was significantly upregulated in tumor tissues vs. neighboring normal tissues in patients with BC. Furthermore, SNHG3 expression was positively associated with tumor size, lymphatic metastasis, and TNM stage. The Kaplan-Meier survival analysis showed that patients in the high-expression group had a shorter disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) than did patients in the low-expression group. A subsequent multivariate analysis showed that SNHG3 might be an independent prognostic factor for both DFS in patients with BC. **Conclusion:** Our study suggests that the SNHG3 is upregulated and might be used as a biomarker of prognosis in patients with BC.

## Keywords

breast cancer; SNHG3; biomarkers; prognosis

# 长链非编码 RNA SNHG3 在乳腺癌组织中的表达及其预后作用

郭炳君<sup>1</sup> 杨程<sup>2</sup>

1. 重庆医科大学附属第一医院超声科, 中国·重庆 400016  
2. 重庆医科大学附属第一医院内分泌乳腺外科, 中国·重庆 400016

## 摘要

**目的:** 探讨 SNHG3 在乳腺癌组织中的表达及其潜在预后价值。**方法:** 利用公共数据库研究 SNHG3 在乳腺癌中的作用。采用实时定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 检测乳腺癌组织及其配对癌旁组织中 SNHG3 的表达水平, 并比较两组之间的表达差异。采用卡方检验分析乳腺癌中 SNHG3 的表达水平与临床病理特征之间的相关性, 随后进行 Kaplan-Meier 生存分析, 并使用 Cox 回归模型进一步研究 SNHG3 的表达在乳腺癌中的预后价值。**结果:** 在乳腺癌患者中, SNHG3 在癌组织中表达水平较癌旁组织明显升高, 且 SNHG3 的表达高低与肿瘤大小、淋巴结转移和 TNM 分期呈正相关。高表达组患者的无病生存期 (disease-free survival, DFS) 和总生存期 (overall survival, OS) 均短于低表达组, 且 SNHG3 可能是乳腺癌患者 DFS 和 OS 的独立预后因素。**结论:** SNHG3 在乳腺癌组织中表达升高, 且与较大肿瘤体积、淋巴结转移和 TNM 分期晚有关, 是乳腺癌患者的独立危险因素, 可能成为乳腺癌患者预后标志物之一。

## 关键词

乳腺癌; SNHG3; 生物标志物; 预后

## 1 引言

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤。近年来, 规范化治疗明显提高了乳腺癌患者的生存率, 但个体的异质性导

致部分患者疗效不佳或者出现复发转移。长链非编码 RNA (lncRNAs) 是一系列长度超过 200nt 且没有蛋白质编码能力的转录本<sup>[1]</sup>, 在人类恶性肿瘤的发生、发展、转移和耐药过程中起着重要作用<sup>[2-4]</sup>, lncRNAs 的表达失调在乳腺癌患者中也十分常见<sup>[5-7]</sup>。其中长链非编码小核仁 RNA 宿主基因-3 (SNHG3), 被发现在多种恶性肿瘤中均出现表达异常<sup>[8-11]</sup>。

**【作者简介】**郭炳君 (1989-), 女, 中国湖北黄石人, 研究生学历, 医师, 从事乳腺癌基础与临床研究。

本研究中主要探讨 SNHG3 在乳腺癌中的表达及其潜在预后价值。

## 2 资料和方法

### 2.1 UALCAN

UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/analysis.html>) 是一个基于癌症基因组图谱 (TCGA) 和 MET500 队列数据提供相关分析的较全面的网络资源<sup>[12]</sup>, 通过比较了乳腺癌组织和正常乳腺组织中 SNHG3 的表达差异, 并利用在线数据库 (<http://kmplot.com/analysis/>) 探讨 SNHG3 在乳腺癌中的预后作用。

### 2.2 患者和组织样本

选取 2014 年 1 月至 2015 年 12 月在我院就诊的乳腺癌患者。纳入标准如下: 经病理首次明确诊断为乳腺癌; 术前没有进行抗癌治疗。排除标准如下: 转移性乳腺癌、妊娠相关乳腺癌、除乳腺癌外的其他肿瘤患者。术中收集的 176 对乳腺癌组织和癌旁组织样本, 立即放入液氮中, 于 -80℃ 保存, 术后至少接受 5 年的定期随访。本研究经我院伦理审查委员会批准, 所有研究对象均知情同意。

### 2.3 RNA 提取、逆转录和 qRT-PCR

按照说明书使用 TRIzol 试剂 (Invitgen 公司, 美国) 提取组织的总 RNA, 使用逆转录试剂盒 (ABI 公司, 美国) 将 mRNA 转录成 cDNA。使用 SYBR Green PCR Master Mix/Rox II 试剂盒 (Takara 公司, 日本) 在 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司, 美国) 中进行 qRT-PCR 反应。

反应条件: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 15s、退火 / 延伸 60℃ 30 s, 40 个循环。以 GAPDH 为内参采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  测定 SNHG3 的相对表达量。使用下列引物进行 qRT-PCR 反应, 一式三份。

SNHG3: TTCAAGCGATTCTCGTGCC (Forward, 5' (3') and AAGATTGTC AAACCCTCCCTGT (Reverse, 5' (3') ;

GAPDH: GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3' (Forward, 5' (3') and GAAGAT GGTGATGGGATTTTC (Reverse, 5' (3') 。

### 2.4 统计学处理

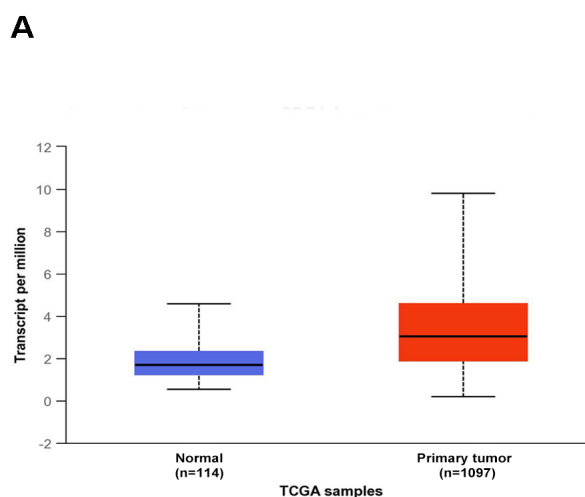
应用 SPSS22.0 软件 (IBM 公司) 进行相关统计分析。用 Wilcoxon 配对检验比较乳腺癌组织与癌旁组织之间的表达差异。用卡方检验来评估患者的临床病理特征与 SNHG3 表

达的关系。进行 Kaplan-Meier 生存分析及 Log-rank 检验。采用单因素和多因素 Cox 回归模型研究 SNHG3 在乳腺癌中的预后价值。P < 0.05 认为差异具有统计学意义。

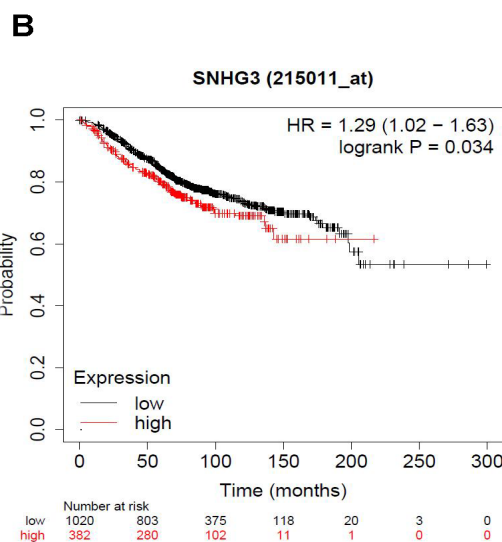
## 3 结果

### 3.1 SNHG3 在乳腺癌组织中表达上调

首先, 使用 TCGA 数据库中的 RNA-Seq 数据, 结果表明 SNHG3 在乳腺癌组织中的表达明显高于正常乳腺组织 (见图 1A), 且发现与 SNHG3 高表达组相比, SNHG3 低表达组的乳腺癌患者具有更长的总生存期 (见图 1B)。与上述结果一致, 检测了 176 对配对样本中 SNHG3 的表达水平, 发现乳腺癌组织中 SNHG3 的表达明显高于癌旁组织 (见图 2)。



(A) SNHG3 在乳腺癌组织中的表达较正常乳腺组织显著升高 (UALCAN)



(B) 在线数据库 (<http://kmplot.com/analysis/>) 中 SNHG3 表达高低组间患者的生存差异

图 1 SNHG3 在乳腺癌组织中的表达

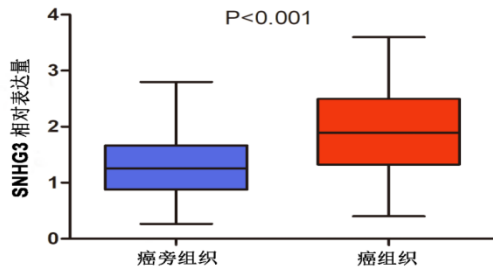


图2 SNHG3在乳腺癌组织中表达上调

### 3.2 乳腺癌患者的临床病理特征及 SNHG3 表达水平

根据 SNHG3 在乳腺癌组织中表达值的中位数，将患者分为低表达组和高表达组，探讨了 SNHG3 的表达水平与乳腺癌患者临床病理特征的关系。结果表明，SNHG3 的表达与肿瘤大小、淋巴结转移、TNM 分期呈正相关，而 SNHG3 的表达水平与其他临床病理特征，包括年龄、ER、PR 和 HER-2 没有显著相关性（见表 1）。

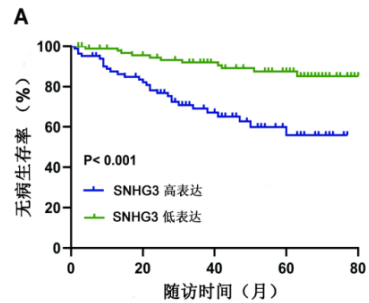
表 1 乳腺癌患者的临床病理特征及 SNHG3 表达水平

临床病理特征	病人数量 (%)	SNHG3 表达水平		P 值
		低表达组 (%)	高表达组 (%)	
总数	176 (100)	88 (50.0)	88 (50.0)	
年龄 (岁)				0.070
< 60	92 (52.3)	40 (22.7)	52 (29.6)	
≥ 60	84 (47.7)	48 (27.3)	36 (20.4)	
肿瘤大小 (cm)				0.006*
< 2.0	70 (39.8)	44 (25.0)	26 (14.8)	
≥ 2.0	106 (60.2)	44 (25.0)	62 (35.2)	
淋巴结转移				0.015*
无	98 (55.7)	57 (32.3)	41 (23.4)	
有	78 (44.3)	31 (17.7)	47 (26.6)	
ER 状态				0.132
阴性	90 (51.1)	40 (22.7)	50 (28.4)	
阳性	86 (48.9)	48 (27.3)	38 (21.6)	
PR 状态				0.226
阴性	96 (54.5)	44 (25.0)	52 (29.5)	
阳性	80 (45.5)	44 (25.0)	36 (20.5)	
HER-2 状态				0.421
阴性	119 (67.6)	62 (35.2)	57 (32.4)	
阳性	57 (32.4)	26 (14.8)	31 (17.6)	
TNM 分期				0.012*
I - II 期	127 (72.1)	71 (40.3)	56 (31.8)	
III 期	49 (27.9)	17 (9.7)	32 (18.2)	

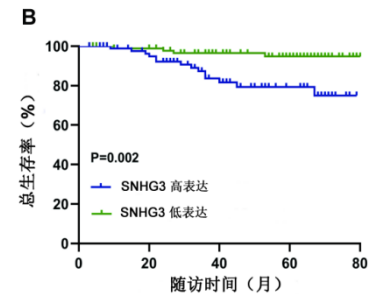
### 3.3 SNHG3 的表达与乳腺癌患者的预后有关

Kaplan-Meier 生存分析提示 SNHG3 与乳腺癌患者的不

良预后有关。在乳腺癌患者中，SNHG3 低表达组患者的 DFS 和 OS 均优于 SNHG3 高表达组（见图 3）。单因素 COX 回归分析结果表明，SNHG3 的表达、肿瘤大小、淋巴结转移和 TNM 分期与患者的 DFS（见表 2）和 OS（见表 3）显著相关。多因素 COX 回归分析结果显示，SNHG3 表达升高是乳腺癌患者 DFS（见表 2）和 OS（见表 3）的独立危险因素。此外，淋巴结转移及 TNM 分期晚也是乳腺癌的独立危险因素。



(A) SNHG3 低表达组患者的无病生存优于 SNHG3 高表达组



(B) SNHG3 低表达组患者的总生存优于 SNHG3 高表达组

图3 Kaplan-Meier 生存分析提示 SNHG3 与乳腺癌患者的不良预后有关。

表 2 关于无病生存期的单因素及多因素分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	P 值	HR	95%CI	P 值	HR	95%CI
年龄 (年) (≥ 60 vs < 60)	0.629	0.856	0.457-1.607			
肿瘤大小 (cm) (≥ 2.0 vs < 2.0)	0.005 *	3.017	1.386-6.567	0.199	1.697	0.758-3.803
淋巴结转移 (有 vs 无)	< 0.001 *	3.558	2.634-6.726	0.028 *	2.660	1.112-4.367
ER 状态 (阳性 vs 阴性)	0.084	0.561	0.292-1.080			
PR 状态 (阳性 vs 阴性)	0.219	0.663	0.345-1.276			
HER-2 状态 (阳性 vs 阴性)	0.735	1.120	0.582-2.155			
TNM 分期 (III 期 vs I - II 期)	< 0.001 *	3.573	2.371-8.815	0.009 *	2.914	1.314-6.464
SNHG3 表达 (高 vs 低)	< 0.001 *	3.910	1.936-7.898	0.004 *	2.876	1.414-5.850

表3 关于总生存期的单因素及多因素分析

变量	单因素分析			多因素分析		
	P值	HR	95%CI	P值	HR	95%CI
年龄(年) (≥60vs<60)	0.538	0.961	0.119–1.795			
肿瘤大小(cm) (≥2.0vs<2.0)	0.039*	2.698	1.068–9.745	0.418	1.704	0.469–6.196
淋巴结转移(有vs无)	0.001*	3.675	1.213–7.496	0.073	3.528	0.890–4.982
ER状态(阳性vs阴性)	0.080	0.397	0.142–1.115			
PR状态(阳性vs阴性)	0.944	0.967	0.382–2.451			
HER-2状态(阳性vs阴性)	0.604	0.761	0.271–2.135			
TNM分期(III期vs I-II期)	<0.001*	2.487	2.662–6.012	0.017*	2.773	1.862–4.923
SNHG3表达(高vs低)	0.002*	4.971	2.014–8.129	0.016*	4.707	1.342–6.505

## 4 讨论

LncRNAs 在基因表观遗传修饰、转录调控和转录后调控等生物学过程中发挥着重要作用<sup>[13]</sup>。lncRNAs 表达异常与许多肿瘤的发生、侵袭和转移有关，部分 lncRNA 被发现在一些肿瘤中具有诊断、预测和预后的生物标志物的潜能<sup>[14-16]</sup>。其中，SNHG3 在肾透明细胞癌<sup>[11]</sup> 中被发现起着类似致癌基因的作用。Ma 等<sup>[17]</sup> 发现 SNHG3 在乳腺癌中过表达，且在体内外细胞实验均可抑制了乳腺癌细胞的生长和侵袭。Jiang 等<sup>[18]</sup> 发现 SNHG3 可激活 notch 信号通路促进乳腺癌细胞增殖和转移。Li 等<sup>[9]</sup> 发现 SNHG3 可促进乳腺癌细胞的增殖。目前还没有相关研究探讨 SNHG3 在乳腺癌中的预后作用。

在本次研究中，通过 UALCAN 中乳腺癌的相关表达数据，发现 SNHG3 在乳腺癌组织中的表达较正常乳腺组织明显升高，且 SNHG3 低表达组的乳腺癌患者具有更长的总生存期。而在本中心样本检测发现，SNHG3 在乳腺癌组织中的表达显著高于癌旁组织，提示 SNHG3 与乳腺癌的发生发展可能密切相关。SNHG3 高表达与较大肿瘤大小、淋巴结转移及 TNM 分期晚显著相关，提示 SNHG3 可能与乳腺癌的预后有关。生存分析显示 SNHG3 高表达的乳腺癌患者预后较低表达的患者差，且 SNHG3 是乳腺癌患者预后的独立危险因素。因此，SNHG3 可能成为一种新的乳腺癌预后标志物。后续将结合公共数据库，进行更大样本量、更长随访时间的研究，并进一步深入到相关分子作用机制的研究。

## 5 结语

综上所述，本研究结果发现 SNHG3 在乳腺癌中表达上调，并与乳腺癌的预后相关，提示 SNHG3 可能作为乳腺癌患者预后的生物标志物。

## 参考文献

- [1] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms [J]. Cell. 2013;154:26–46.
- [2] Liz J, Esteller M. lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development [J]. Biochim Biophys Acta, 2016(1859):169–176.
- [3] Bhan A, Soleimani M, Mandal SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm [J]. Cancer Res, 2017(77):3965–3981.
- [4] Boon RA, Jaé N, Holdt L, et al. Long Noncoding RNAs: from clinical genetics to therapeutic targets? [J]. J Am Coll Cardiol, 2016(67):1214–1226.
- [5] Shi Y, Li J, Liu Y, et al. The long noncoding RNA SPRY4-IT1 increases the proliferation of human breast cancer cells by upregulating ZNF703 expression [J]. Mol Cancer, 2015(05):14:51.
- [6] Liu B, Sun L, Liu Q, et al. A cytoplasmic NF-κB interacting long noncoding RNA blocks IκB phosphorylation and suppresses breast cancer metastasis [J]. Cancer Cell, 2015(27):370–381.
- [7] Eades G, Wolfson B, Zhang Y, et al. lincRNA-RoR and miR-145 regulate invasion in triple-negative breast cancer via targeting ARF6 [J]. Mol Cancer Res, 2015(13):330–338.
- [8] Yi Xuan, Yanong Wang. Long non-coding RNA SNHG3 promotes progression of gastric cancer by regulating neighboring MED18 gene methylation [J]. Cell Death and Disease, 2019(10):694.
- [9] Zhang PF, Wang F, Wu J, et al. LncRNA SNHG3 induces EMT and sorafenib resistance by modulating the miR-128/CD151 pathway in hepatocellular carcinoma [J]. J Cell Physiol, 2019(234):2788–2794.
- [10] Huang W, Tian Y, Dong S, et al X. The long non-coding RNA SNHG3 functions as a competing endogenous RNA to promote malignant development of colorectal cancer [J]. Oncol Rep 2017(38):1402–1410.
- [11] Zhang C, Qu Y, Xiao H, et al. LncRNA SNHG3 promotes clear cell renal cell carcinoma proliferation and migration by upregulating TOP2A [J]. Exp Cell Res, 2019(384):111595.
- [12] Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya SAH, et al. UALCAN:

- a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses[J]. *Neoplasia*,2017(19):649 – 658.
- [13] Li X, Wu Z, Fu X, et al. Long noncoding RNAs: insights from biological features and functions to diseases [J]. *Med Res Rev*, 2013(33):517–553.
- [14] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis [J]. *Nature* 2010(464):1071–1076.
- [15] Li X, Wu Z, Mei Q, et al. Long non-coding RNA HOTAIR, a driver of malignancy, predicts negative prognosis and exhibits oncogenic activity in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2013(109):2266–2278.
- [16] Qiu JJ, Wang Y, Ding JX, et al. The long non-coding RNA HOTAIR promotes the proliferation of serous ovarian cancer cells through the regulation of cell cycle arrest and apoptosis [J]. *Exp Cell Res*, 2015(333):238–248.
- [17] Ma Q, Qi X, Lin X, et al. LncRNA SNHG3 promotes cell proliferation and invasion through the miR-384/hepatoma-derived growth factor axis in breast cancer [J]. *Hum Cell*,2020(33):232–242.
- [18] Jiang H, Li X, Wang W, et al. Long non-coding RNA SNHG3 promotes breast cancer cell proliferation and metastasis by binding to microRNA-154-3p and activating the notch signaling pathway [J]. *BMC Cancer*,2020,20(01):838.
- [19] Yan Li, Zhenhui Zhao,Wei Liu. SNHG3 Functions as miRNA Sponge to Promote Breast Cancer Cells Growth Through the Metabolic Reprogramming [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2020,191(03):1084–1099.