

血浆长链非编码 RNA AFAP1-AS1 对鼻咽癌的诊断价值

林 欢, 陈锡山*, 陆 颖, 许卓华, 江 舟

广西医科大学第四附属医院肿瘤科 广西柳州

【摘要】目的 探讨血浆长链非编码 RNA AFAP1-AS1 在鼻咽癌 (NPC) 中的诊断价值及其与临床病理特征的关系。**方法** 采用病例对照研究设计, 纳入 2019 年 1 月至 2019 年 10 月本院初治鼻咽癌患者 39 例及年龄、性别匹配的健康对照 20 例, 排除吸烟、EBV 感染及其他恶性肿瘤病史。采用实时荧光定量 PCR 检测血浆 AFAP1-AS1 表达, 分析其与临床病理特征的关联性, 并通过受试者工作特征 (ROC) 曲线评估诊断效能, 基于 Youden 指数确定最佳临界值。**结果** 鼻咽癌组 AFAP1-AS1 表达水平显著高于健康对照组 (2.57 ± 0.89 vs. 0.78 ± 0.19 , $t=12.097$, $P<0.01$)。吸烟患者 AFAP1-AS1 表达 (3.29 ± 0.37) 显著高于非吸烟患者 (2.36 ± 0.89 , $t=-4.568$, $P<0.01$), 但与性别、年龄、T/N/TNM 分期无关 ($P>0.05$)。ROC 曲线分析显示, AFAP1-AS1 诊断 NPC 的 AUC 为 0.964 (95% CI: 0.911 - 1.000), 最佳临界值为 1.1389, 灵敏度 79.5%, 特异度 90.0%, 阳性预测值 93.9%、阴性预测值 69.2%, 诊断准确度 83.1%。**结论** 血浆 AFAP1-AS1 在鼻咽癌中高表达, 且与吸烟状态显著相关, 其作为非侵入性生物标志物对 NPC 诊断具有较高临床应用潜力。

【关键词】 鼻咽癌; AFAP1-AS1; 长链非编码 RNA; 诊断

【基金项目】 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题 (编号: Z20210680); 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题 (编号: Z20200269)

【收稿日期】 2025 年 10 月 17 日

【出刊日期】 2026 年 1 月 26 日

【DOI】 10.12208/j.ijcr.20260015

Plasma long non-coding RNA AFAP1-AS1 as a potential diagnostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma

Huan Lin, Xishan Chen*, Ying Lu, Zhuohua Xu, Zhou Jiang

Department of Oncology, The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou, Guangxi

【Abstract】 Objective To investigate the diagnostic value of plasma long non-coding RNA (lncRNA) AFAP1-AS1 in nasopharyngeal carcinoma (NPC) and its association with clinicopathological features. **Methods** From January 2019 to October 2019, 39 treatment-naïve NPC patients and 20 healthy controls were enrolled. Plasma AFAP1-AS1 expression was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Associations with clinicopathological features were analyzed, and diagnostic efficacy was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) curves with the Youden index to determine the optimal cutoff value. **Results** AFAP1-AS1 expression was significantly higher in NPC patients than in controls (2.57 ± 0.89 vs. 0.78 ± 0.19 , $t=12.097$, $P<0.01$). Smokers exhibited higher AFAP1-AS1 expression (3.29 ± 0.37) than non-smokers (2.36 ± 0.89 , $t=-4.568$, $P<0.01$), while no associations were observed with gender, age, T/N/TNM staging ($*P>0.05$). ROC curve analysis showed an area under the curve (AUC) of 0.964 (95% CI: 0.911–1.000), with an optimal cutoff value of 1.1389. At this cutoff, the sensitivity was 79.5%, specificity 90.0%, positive predictive value 93.9%, negative predictive value 69.2%, and diagnostic accuracy 83.1%. **Conclusion** Plasma AFAP1-AS1 is highly expressed in NPC and significantly associated with smoking status. As a non-invasive biomarker, it demonstrates promising clinical potential for NPC diagnosis.

【Keywords】 Nasopharyngeal carcinoma; AFAP1-AS1; Long non-coding RNA; Diagnosis

引言

鼻咽癌 (Nasopharyngeal carcinoma, NPC) [1,2] 是一

种具有显著地域特征的头颈部恶性肿瘤, 全球约 80% 的病例集中在东南亚地区, 中国南方为高发区。尽管近

*通讯作者: 陈锡山

年来放疗技术及靶向治疗取得进展, 但晚期患者 5 年生存率仍有待提高, 早期诊断率低是限制疗效提升的关键瓶颈^[3]。目前临床常用的诊断手段包括内镜活检、影像学检查及 EBV DNA 检测^[4,5], 但 EBV DNA 在健康人群中存在假阳性(如 EBV 携带者), 且灵敏度受肿瘤负荷影响, 亟需开发新型分子标志物。

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)^[6]作为基因表达的重要调控因子, 其异常表达与肿瘤的发生发展密切相关。AFAP1-AS1 (Actin Filament Associated Protein 1 Antisense RNA 1)^[7]是近年发现的致癌 lncRNA, 通过调控细胞增殖、侵袭和上皮-间质转化(EMT)参与肝癌^[8,9]、结直肠癌^[10]等实体瘤的进展。但其在鼻咽癌中的表达模式及临床价值尚未见报道。

本研究旨在探讨血浆 AFAP1-AS1 对鼻咽癌的诊断效能及其与临床病理特征的关联性, 为鼻咽癌的早期精准诊断提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

纳入 2019 年 1 月至 2019 年 10 月在我院经病理确诊的初治鼻咽癌(NPC)患者(AJCC 8th 版分期)共 39 例。其中男 20 例, 女 19 例, 中位年龄 45 岁(21-72 岁)。根据 AJCC 8th 版鼻咽癌分期系统, II 期 1 例, III 期 23 例, IVa 期 15 例。同期选择我院门诊健康体检者 20 例为对照组, 排除吸烟史、EBV 抗体阳性、头颈部疾病及其他恶性肿瘤病史, 其中男 15 例, 女 5 例, 中位年龄 41 岁(22-52 岁)。排除标准: 合并其他恶性肿瘤(包括头颈部肿瘤); 严重肝肾功能不全; 自身免疫性疾病或免疫抑制治疗史; 近 3 个月接受放化疗、靶向治疗或免疫治疗; 妊娠或哺乳期女性。

该研究经本院医学伦理委员会批准, 所有患者及家属均签署书面知情同意书。

1.2 血浆采集、处理

空腹采集静脉血 5 mL 于 EDTA 抗凝管中, 4℃离心(3000 rpm, 10 min), 提取分离血浆 500μL, 用 1.5mL 无 RNA 酶 EP 管置于-80℃冰箱保存备用。

1.3 主要试剂及仪器

RNA 提取: Trizol 试剂(Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, USA); 逆转录试剂盒: PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser (Takara Bio Inc., Japan); 荧光定量 PCR 试剂盒: TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Takara Bio Inc., Japan); 实时荧光定量 PCR 仪: CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)。

1.4 总 RNA 的提取与反转录

将“1.2”中标本常温解冻, 加入 600μL TRIzol 试剂, 涡旋振荡充分裂解; 随后加入 200μL 氯仿, 剧烈振荡 15s, 室温静置 5 min。于 4℃、12000×g 离心 15 min, 小心移取上层水相, 加入等体积异丙醇, 轻柔颠倒混匀, 冰浴 15 min 沉淀总 RNA。经 4℃、12000×g 再次离心 10 min, 弃上清, 收集沉淀并用 75%乙醇洗涤 2 次。室温干燥后, 加入 DEPC 水溶解。检测 RNA 纯度, 当 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值为 1.8~2.0 时, 按反转录试剂盒说明书, 于冰上配制 20 μL 反应体系。设置反转录程序: 37℃孵育 15 min, 85℃加热 5 s, 4℃保存。反应结束后, 将 cDNA 置于-20℃冻存备用。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测血浆中 AFAP1-AS1 的表达

按照荧光定量 PCR 试剂盒说明书, 于冰上精确配制 20 μL 反应体系, 包含 cDNA 模板、PCR 反应液、目的基因(AFAP1-AS1)及内参基因(GAPDH)上下游引物。设置实时荧光定量 PCR 仪反应程序: 95℃预变性 20 s; 随后进入 40 个循环, 每个循环为 95℃ 10 s(变性)、60℃ 20 s(退火延伸), 记录 CT 值。以 GAPDH 作为内参基因, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算血浆中 AFAP1-AS1 的相对表达量。

试验中特异性引物如下:

AFAP1-AS1 上游序列 5' -CTAGTCTAGAGTCGC TGTTATCTCATTGCTCTG-3', 下游序列 5' -CGCG GATCCTCTGCTTCTGTACAGAATC-3' ;

GAPDH 上游序列 5' -TATGATGATATCAAGAGG GTAGT-3', 下游序列 5' -TG TATCCAACTCATTG TCATATAC-3' 。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行数据分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间连续变量比较采用独立样本 t 检验或 Mann-Whitney U 检验。多组间比较采用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis 检验。构建受试者工作特征(ROC)曲线, 计算曲线下面积(AUC)及其 95%置信区间(CI)。

采用 Youden 指数($J = \text{灵敏度} + \text{特异度} - 1$), 通过最大化真阳性与真阴性的总和优化诊断效能, 计算灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值及诊断准确度。所有检验均为双侧检验, 以 $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌组和对照组中 AFAP1-AS1 水平的表达

与健康对照组比较, 鼻咽癌组 AFAP1-AS1 表达水平明显升高 ($P<0.01$) (见表 1 及图 1)。

2.2 NPC 患者血浆 lncRNA AFAP1-AS1 与临床病理特征关系

如表 2, 本研究分析鼻咽癌 (NPC) 患者血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达水平与临床病理特征的关联性, 结果显示: 性别 ($t=1.317, p=0.196$)、年龄 ($t=1.065,$

$p=0.294$)、T 分期 ($t=-0.785, p=0.438$)、N 分期 ($F=1.350, p=0.272$) 及 TNM 分期 ($t=1.314, p=0.197$) 与 lncRNA AFAP1-AS1 相对表达量均无统计学差异 ($p>0.05$); 仅吸烟状态与 lncRNA AFAP1-AS1 表达显著相关 ($t=-4.568, p<0.01$), 其中有吸烟史患者的 lncRNA AFAP1-AS1 相对表达量 (3.29 ± 0.37) 显著高于无吸烟史患者 (2.36 ± 0.89)。

表 1 健康对照组与鼻咽癌组中 lncRNA AFAP1-AS1 的表达水平

Groups	n	<u>lncRNA AFAP1-AS1</u>
健康对照组	20	0.78 ± 0.19
鼻咽癌组	39	2.57 ± 0.89
t		12.097
p		<0.01

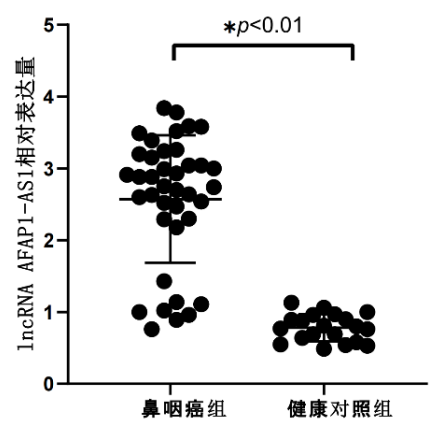


图 1 鼻咽癌组和健康对照组血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达水平比较

表 2 NPC 患者血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达水平与临床病理特征关系

临床特征		n	lncRNA AFAP1-AS1 相对表达量	t/F	p 值
性别	男	20	2.75 ± 0.87	$t=1.317$	0.196
	女	19	2.38 ± 0.88		
年龄	>60 岁	32	2.25 ± 0.85	$t=1.065$	0.294
	≤60 岁	7	2.57 ± 1.04		
T	1-2	17	2.45 ± 0.87	$t=-0.785$	0.438
	3-4	22	2.67 ± 0.91		
N	1	7	2.32 ± 0.89	$F=1.350$	0.272
	2	25	2.74 ± 0.90		
	3	7	2.21 ± 0.78		
TNM 分期	II-III	24	2.72 ± 0.91	$t=1.314$	0.197
	IV	15	2.33 ± 0.82		
吸烟	有	9	3.29 ± 0.37	$t=-4.568$	<0.01
	无	30	2.36 ± 0.89		

2.3 血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达诊断 NPC 效能的评价

采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评估血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达对鼻咽癌 (NPC) 的诊断效能。如图 2 结果显示, 曲线下面积 (AUC) 为 0.964 (95% 置信区间: 0.911~1.000), 经非参数检验, 差异具有统计学显著性 ($P<0.01$)。该结果表明, 血浆 lncRNA

AFAP1-AS1 表达在鼻咽癌诊断中具备较好的判别能力, 其诊断效能显著优于随机水平 (零假设曲线下面积 = 0.5)。经计算, 基于 Youden 指数 ($J = \text{灵敏度} + \text{特异度} - 1$) 确定血浆 lncRNA AFAP1-AS1 表达诊断鼻咽癌的最佳临界值为 1.1389, 此时 Youden 指数 $J = 0.846$ 。进一步分析显示, 该临界值对应的诊断效能指标为见表 3。

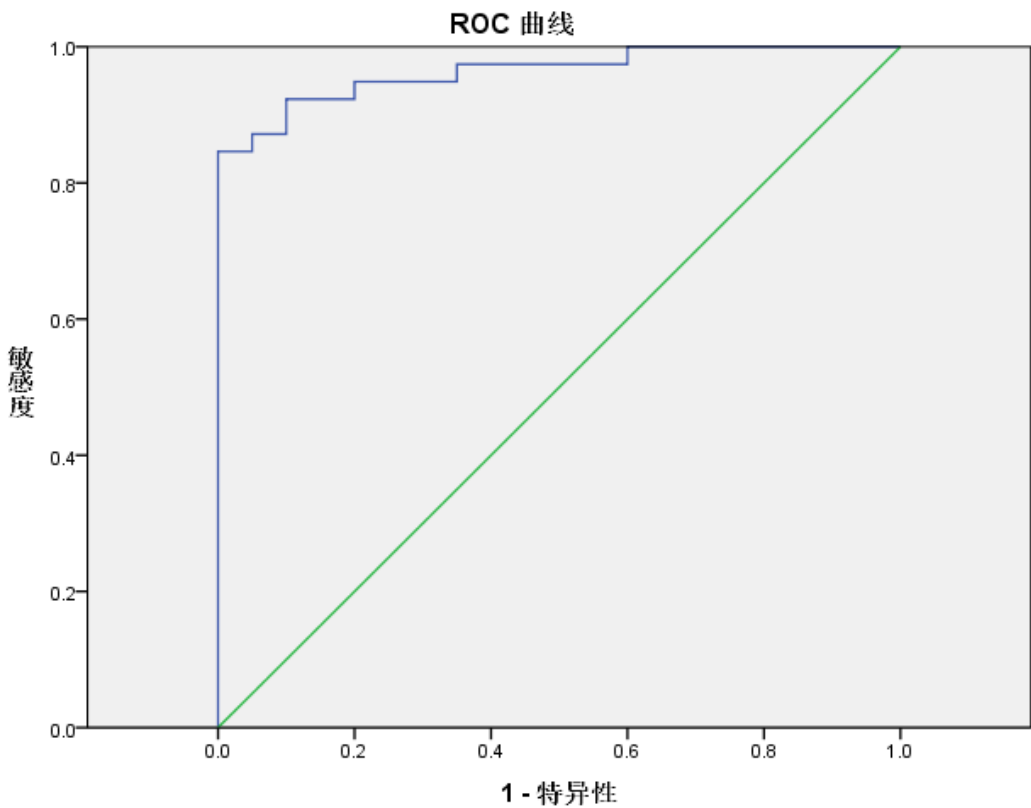


图 2 血浆 lncRNA AFAP1-AS1 诊断 NPC 的 ROC 曲线

表 3 血浆 lncRNA AFAP1-AS1 诊断 NPC 的效能

检测项目	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	准确度 (%)
AFAP1-AS1	79.5	90.0	93.9	69.2	83.1

3 结论

本研究证实血浆 AFAP1-AS1 在鼻咽癌中高表达, 与吸烟密切相关, 且具有较高的诊断效能, 有望成为鼻咽癌早期诊断的新型生物标志物。本研究的局限性包括样本量较小 (吸烟亚组仅 9 例) 及单中心设计, 未来需通过多中心大样本队列验证结果, 并探索 AFAP1AS1 的分子机制及探索其作为治疗靶点的潜力。

4 讨论

本研究首次揭示了血浆长链非编码 RNA AFAP1-AS1 在鼻咽癌 (NPC) 中的高表达特征及其诊断潜力。结果显示, NPC 患者血浆 AFAP1-AS1 表达水平显著高于健康对照组 ($P<0.01$), 且与吸烟状态密切相关, 这一发现为 NPC 的分子机制研究和临床诊断提供了新的视角。

AFAP1-AS1 的异常高表达与多种实体瘤 (如肺癌^[11,12]、卵巢癌^[13]、喉癌^[14]、口腔癌^[15]、结直肠癌^[10]) 的侵袭性表型相关, 在三阴性乳腺癌^[16]中, AFAP1-AS1

通过 Wnt/ β -Catenin 信号通路促进三阴性乳腺癌的 Epithelial-Mesenchymal 转变和肿瘤发生。本研究进一步扩展了 AFAP1-AS1 的肿瘤相关性, 提示其在 NPC 中可能通过相似机制发挥作用。然而, AFAP1-AS1 在 NPC 中的具体功能仍需通过体外实验(如基因敲除/过表达)和动物模型验证。

吸烟是 NPC 的潜在危险因素之一, 有吸烟史的人群 EB 病毒感染风险高于无吸烟史人群, 其可能通过诱导 DNA 损伤或表观遗传修饰促进肿瘤发生^[17]。本研究发现, 吸烟患者的 AFAP1-AS1 表达水平显著高于非吸烟者 (3.29 ± 0.37 vs. 2.36 ± 0.89 , $P < 0.01$), 提示烟草暴露可能通过调控 lncRNA 表达参与 NPC 发展, 如王志鹏^[12]发现吸烟可诱导肺癌中 AFAP1-AS1 的上调, 与本研究发现一致。但受限于吸烟组样本量较小(仅 9 例), 这一结果的普适性需通过扩大样本进一步验证。

ROC 曲线分析显示, AFAP1-AS1 对 NPC 的诊断 AUC 高达 0.964 (95% CI: 0.911 - 1.000), 灵敏度和特异度分别为 79.5% 和 90.0%, 显著优于传统 EBV 抗体检测(灵敏度约 85%)^[3]。这一结果表明, AFAP1-AS1 可作为 NPC 的非侵入性辅助诊断标志物, 尤其适用于早期筛查或活检禁忌患者。然而, 本研究样本量较小且为单中心设计, 吸烟亚组样本量不足, 且未深入探讨 AFAP1-AS1 调控鼻咽癌进展的分子机制。下一步需通过多中心大样本队列验证诊断效能, 并结合功能实验阐明 AFAP1-AS1 在鼻咽癌中的生物学作用及与吸烟的分子关联。

本研究初步证实了血浆 AFAP1-AS1 在 NPC 中的高表达及其诊断价值, 并揭示了其与吸烟状态的相关性。未来研究需进一步深化机制探索并推动临床转化, 以期 NPC 患者提供更高效、低成本的诊断工具。

参考文献

- [1] Chen YP, Chan A, Le QT, Blanchard P, Sun Y, Ma J. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet*. 2019. 394(10192): 64-80.
- [2] Wong K, Hui EP, Lo KW, et al. Nasopharyngeal carcinoma: an evolving paradigm. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021. 18(11): 679-695.
- [3] Chua M, Wee J, Hui EP, Chan A. Nasopharyngeal carcinoma. *Lancet*. 2016. 387(10022): 1012-1024.
- [4] 李键锋. 探究鼻咽癌患者治疗前、治疗中、治疗后 EBV-DNA 截断值及生存预后差异. 2024.
- [5] Li W, Duan X, Chen X, et al. Immunotherapeutic approaches in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma. *Front Immunol*. 2022. 13: 1079515.
- [6] Wang H, Wang W, Fan S. Emerging roles of lncRNA in Nasopharyngeal Carcinoma and therapeutic opportunities. *Int J Biol Sci*. 2022. 18(7): 2714-2728.
- [7] Fang M, Zhang M, Wang Y, et al. Long Noncoding RNA AFAP1-AS1 Is a Critical Regulator of Nasopharyngeal Carcinoma Tumorigenicity. *Front Oncol*. 2020. 10: 601055.
- [8] Zhang JY, Weng MZ, Song FB, et al. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 indicates a poor prognosis of hepatocellular carcinoma and promotes cell proliferation and invasion via upregulation of the RhoA/Rac2 signaling. *Int J Oncol*. 2016. 48(4): 1590-8.
- [9] Abdul S, Majid A, Wang J, Liu Q, Sun MZ, Liu S. Bidirectional interaction of lncRNA AFAP1-AS1 and CRKL accelerates the proliferative and metastatic abilities of hepatocarcinoma cells. *J Adv Res*. 2020. 24: 121-130.
- [10] Li Y, Zhu Z, Hou X, Sun Y. LncRNA AFAP1-AS1 Promotes the Progression of Colorectal Cancer through miR-195-5p and WISP1. *J Oncol*. 2021. 2021: 6242798.
- [11] 王志鹏. 血浆 lncRNA AFAP1-AS1 和 lncRNA SOX2OT 水平测定诊断非小细胞肺癌. 2021.
- [12] Tasnim A, Sumaiya AA, Noman AA, et al. A Comparative Meta-Analysis on the Association of lncRNAs MALAT1, HOTAIR, and AFAP1-AS1 With the Risk of Developing Lymph Node Metastasis in Lung Cancer. *Cancer Rep (Hoboken)*. 2024. 7(12): e70091.
- [13] 江飞云, 丁叶屏, 刘星宇, 蔡文, 吴明彩. AFAP1-AS1 在卵巢癌组织中的表达水平及其对卵巢癌生物学行为的影响. *解剖学研究*. 2025. 47(01): 43-50.
- [14] 李志明, 龙凤, 何建新, 黄勇, 孙少康. 长链非编码 RNA AFAP1-AS1 在癌症中作用及其机制的研究进展. *中国癌症杂志*. 2021. 31(04): 350-360.
- [15] 付丛, 张行炜. 长链非编码 RNA AFAP1-AS1 在口腔鳞状细胞癌中的表达及临床意义. *口腔医学研究*. 2016. 32(09): 983-986.

- [16] Zhang K, Liu P, Tang H, et al. AFAP1-AS1 Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition and Tumorigenesis Through Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Triple-Negative Breast Cancer. *Front Pharmacol*. 2018. 9: 1248.
- [17] 陈少仪, 麦如蓝, 赵淑芬, 田峰, 黄穗平. 2017-2021 年佛山市顺德区鼻咽癌筛查人群 EB 病毒流行状况及影响因

素. *社区医学杂志*. 2025. 23(01): 9-15.

版权声明: ©2026 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

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



OPEN ACCESS