

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.06.007
网络首发 https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20221110.2133.006.html(2022-11-11)

血清 LncRNA OSER1-AS1 及 HOTAIR 表达与原发性肝细胞癌病理特征及预后的相关性分析*

甘景卓¹,李树义²,董雪燕²,黄立秋³

(1. 华北理工大学附属医院输血科,河北唐山 063007;2. 河北省唐山市第九医院检验科 063099;
3. 唐山中心医院检验科,河北唐山 063008)

[摘要] **目的** 探讨原发性肝细胞癌(HCC)患者血清长链非编码 RNA(LncRNA)OSER1-AS1 及 LncRNA HOX 转录物反义 RNA(HOTAIR)的表达情况及其与病理特征和预后的相关性。**方法** 选取 2016 年 6 月至 2019 年 6 月华北理工大学附属医院行 R0 切除术的 92 例原发性 HCC 患者作为 HCC 组,另选取同期体检的 100 例健康志愿者作为对照组。采集 HCC 组术前血清标本及对照组血清标本,收集 HCC 肿瘤组织及癌旁组织,检测 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平。随访 HCC 患者的术后总生存情况和无病生存情况。**结果** HCC 组术前血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平高于对照组($P<0.05$)。HCC 组织 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平高于癌旁组织($P<0.05$)。受试者工作特征(ROC)曲线分析,血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平对 HCC 具有诊断价值,截断值分别为 1.098(灵敏度 70.00%、特异度 69.69%)及 1.066(灵敏度 67.50%、特异度 69.57%)。HCC 组血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平与病理分级、临床分期、脉管浸润有关($P<0.05$)。LncRNA OSER1-AS1 ≥ 1.098 、LncRNA HOTAIR ≥ 1.066 的 HCC 患者累积总生存率及累积无病生存率均低于 LncRNA OSER1-AS1 <1.098 、LncRNA HOTAIR <1.066 的 HCC 患者($P<0.05$)。**结论** HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 高表达,且与病理进展、预后不良有关。

[关键词] 原发性肝细胞癌;长链非编码 RNA;OSER1-AS1;HOX 转录物反义 RNA;预后

[中图法分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2023)06-0834-06

Correlation analysis between the expression of LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR in serum and the pathological features and prognosis of primary hepatocellular carcinoma*

GAN Jingzhuo¹,LI Shuyi²,DONG Xueyan²,HUANG Lili³

(1. Department of Blood Transfusion, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan, Hebei 063007, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Ninth Hospital of Tangshan, Tangshan, Hebei 063099, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Tangshan Central Hospital, Tangshan, Hebei 063008, China)

[Abstract] **Objective** To study the the expression of serum long-chain noncoding RNA (LncRNA), OSER1-AS1 and HOX transcript antisense RNA (HOTAIR) in serum of patients with primary hepatocellular carcinoma (HCC) and its correlation with pathological features and prognosis. **Methods** From June 2016 to June 2019, a total of 92 patients with primary HCC who underwent R0 resection in the North China University of Science and Technology Affiliated Hospital were selected as the HCC group, and 100 healthy volunteers who underwent physical examination at the same time were selected as the control group. Preoperative serum samples of HCC group and serum samples of control group, HCC cancer tissues and adjacent tissues of the HCC group were collected, and the expression levels of LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR were detected.

* 基金项目:河北省卫生健康委员会医学科学研究课题(20210340)。 作者简介:甘景卓(1983—),主管技师,学士,主要从事医学检验研究。

The overall survival and disease-free survival of HCC patients were followed up. **Results** The expression levels of serum LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR of the HCC group were higher than those of the control group ($P < 0.05$). The expression levels of LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR in HCC tissues were higher than those in adjacent tissues ($P < 0.05$). According to the analysis of the receiver operator characteristic (ROC) curve, the expression levels of serum LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR had diagnostic value for HCC, and the cut-off values were 1.098 (sensitivity for 70.00%, specificity for 69.69%) and 1.066 (sensitivity for 67.50%, specificity for 69.57%). The expression levels of serum LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR in the HCC group were correlated with pathological grade, clinical stage and vascular invasion ($P < 0.05$). The cumulative overall survival rate and disease-free survival rate of HCC patients with LncRNA OSER1-AS1 ≥ 1.098 and LncRNA HOTAIR ≥ 1.066 were lower than those with those with LncRNA OSER1-AS1 < 1.098 and LncRNA HOTAIR expression levels < 1.066 ($P < 0.05$). **Conclusion** The high expression of LncRNA OSER1-AS1 and HOTAIR in serum of HCC patients associates with pathological progress and poor prognosis.

[Key words] primary hepatocellular carcinoma; long-chain noncoding RNA; OSER1-AS1; HOX transcript antisense RNA; prognosis

原发性肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的肝癌类型, 占有肝癌的 85%~90%。HCC 的血供丰富、恶性程度高, 虽然近些年手术切除、射频消融、经导管化疗栓塞、放化疗、分子靶向药物等治疗手段不断发展, 但 HCC 的整体预后仍较差, 5 年生存率为 5%~30%^[1-2]。目前, HCC 的发病机制尚不十分清楚, 临床上也缺乏诊断疾病及评估病情的特异性分子标志物。最近, 越来越多的学者开始关注长链非编码 RNA (Long noncoding RNA, LncRNA) 在恶性肿瘤发病中的作用, 多种 LncRNA 不仅能够作为恶性肿瘤诊断及病情评估的标志物, 也能作为发现发病机制的新靶点。LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOX 转录物反义 RNA (homeobox transcript antisense RNA, HOTAIR) 是两种具有促癌作用的 LncRNA, HCC 相关的细胞实验证实这两种 LncRNA 对 HCC 细胞的增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为具有促进作用^[3-4], 但 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 在 HCC 发病中的作用尚缺乏临床证据。因此, 本研究将探讨 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 的表达变化及临床意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月至 2019 年 6 月华北理工大学附属医院接受 R0 切除术的 92 例原发性 HCC 患者作为 HCC 组。纳入标准: (1) 经术后病理诊断为 HCC; (2) 临床病理资料及术后随访资料完整; (3) 术前血清标本、术后 HCC 组织标本及癌旁组织标本按要求保存。排除标准: (1) 术前接受放化疗、靶向药物、介入治疗; (2) 既往有其他恶性肿瘤病史; (3) 合并除乙型肝炎外

其他类型肝炎。另选取同期体检的 100 例健康志愿者作为对照组。HCC 组中男 53 例, 女 39 例, 年龄 37~66 岁, 平均 (52.31 $\pm$ 10.22) 岁; 对照组中男 59 例, 女 41 例, 年龄 35~60 岁, 平均 (49.57 $\pm$ 9.23) 岁。两组一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本研究获得医院伦理委员会批准, 取得受试者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 LncRNA 表达检测

采集 HCC 组手术前的肘静脉血 3 mL、对照组体检时的肘静脉血 3 mL, 采用全血 RNA 提取试剂盒提取分离 RNA; 手术后取适量 HCC 组织及癌旁组织, 采用动物组织 RNA 提取试剂盒提取分离 RNA。采用 cDNA 第一链合成试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA, 采用 LncRNA 荧光定量 PCR 试剂盒进行 PCR 反应, 分别使用 LncRNA OSER1-AS1、LncRNA HOTAIR 及 β -actin 的引物, 得到 LncRNA OSER1-AS1、LncRNA HOTAIR 及 β -actin 的循环曲线及循环阈值, 以 β -actin 为内参计算 LncRNA OSER1-AS1、LncRNA HOTAIR 相对表达水平。

1.2.2 资料收集

查阅 HCC 患者的病历, 收集以下资料: 性别、年龄、乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 感染情况、肝硬化、甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 水平, 以及 HCC 病理分级、临床分期、肿瘤数量、脉管浸润、包膜侵犯情况。

1.2.3 预后随访

采用门诊或住院复查、电话回访等方式进行随访, 截止日期为 2021 年 4 月 30 日, 随访内容为总生存情况和无病生存情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,比较采用 t 检验;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线分析诊断效能;采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线,比较采用 log-rank 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较

HCC 组血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较($\bar{x}\pm s$)				
项目	HCC 组 ($n=92$)	对照组 ($n=100$)	t	P
LncRNA OSER1-AS1	1.25±0.30	1.00±0.25	6.613	<0.001
LncRNA HOTAIR	1.19±0.29	1.00±0.24	6.217	<0.001

2.2 HCC 组织与癌旁组织 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较

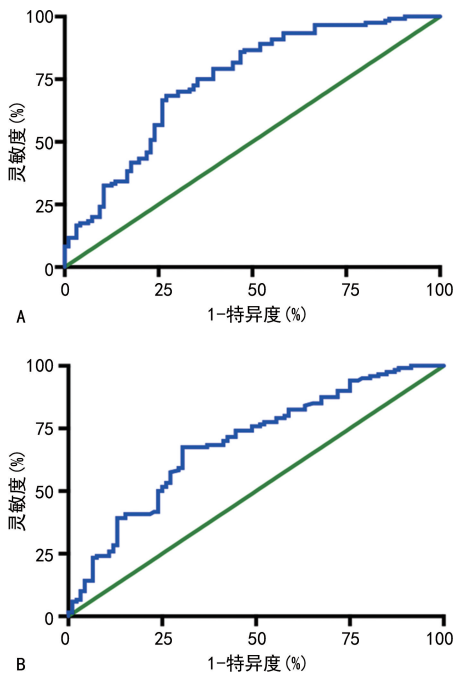
HCC 组织 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.3 血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 诊断效能分析

血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HO-

TAIR 诊断 HCC 的 ROC 曲线见图 1。根据约登指数最大值确定截断值,诊断效能分析结果见表 3。

表 2 HCC 组织与癌旁组织 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较($n=92,\bar{x}\pm s$)				
项目	HCC 组织	癌旁组织	t	P
LncRNA OSER1-AS1	1.21±0.32	1.00±0.26	4.885	<0.001
LncRNA HOTAIR	1.18±0.33	1.00±0.24	4.231	<0.001



A:血清 LncRNA OSER1-AS1 表达水平诊断 HCC 的 ROC 曲线;
B:血清 LncRNA HOTAIR 表达水平诊断 HCC 的 ROC 曲线。

图 1 ROC 曲线

表 3 血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 诊断效能分析						
项目	AUC	95 %CI	P	截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
LncRNA OSER1-AS1	0.742	0.675~0.810	<0.001	1.098	70.00	69.79
LncRNA HOTAIR	0.692	0.620~0.763	<0.001	1.066	67.50	69.57

2.4 HCC 组血清 LncRNA 与 HCC 组织 LncRNA 的相关性分析

HCC 组血清 LncRNA OSER1-AS1 表达水平与 HCC 组织 LncRNA OSER1-AS1 表达水平呈正相关($r=0.625$),HCC 组血清 LncRNA HOTAIR 表达水平与 HCC 组织 LncRNA HOTAIR 表达水平呈正相

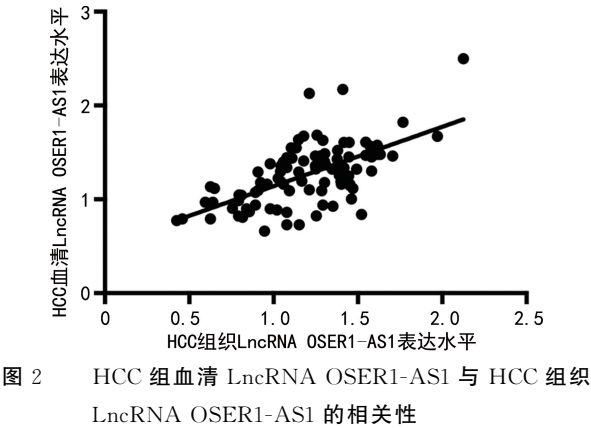
关($r=0.617$),见图 2、3。

2.5 不同临床病理特征 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平的比较

不同病理分级、临床分期、脉管浸润的 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 不同临床病理特征 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较($n=92,\overline{x}\pm s$)							
项目	n	LncRNA OSER1-AS1	t	P	LncRNA HOTAIR	t	P
性别			0.761	0.449		1.050	0.297
男	53	1.27±0.25			1.22±0.27		
女	39	1.22±0.38			1.15±0.37		

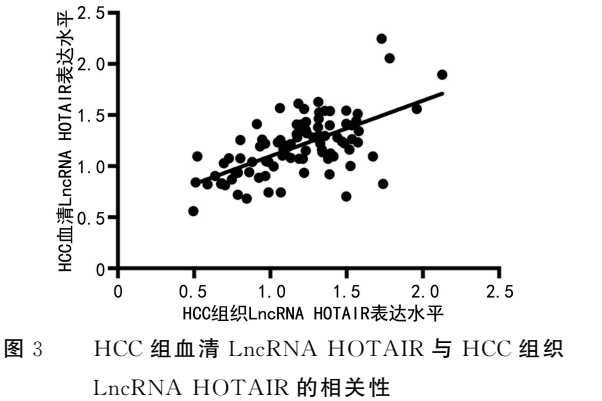
续表 4 不同临床病理特征 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平比较($n=92,\bar{x}\pm s$)							
项目	n	LncRNA OSER1-AS1	t	P	LncRNA HOTAIR	t	P
年龄			0.320	0.750		0.599	0.550
<50 岁	42	1.24±0.33			1.21±0.34		
≥50 岁	50	1.26±0.27			1.17±0.30		
HBV 感染			0.812	0.419		0.837	0.405
阳性	61	1.27±0.29			1.21±0.28		
阴性	31	1.21±0.41			1.15±0.40		
肝硬化			0.427	0.670		1.203	0.232
是	60	1.26±0.27			1.22±0.30		
否	32	1.23±0.40			1.13±0.41		
AFP			0.407	0.685		0.414	0.680
≥20 μg/L	63	1.24±0.27			1.20±0.26		
<20 μg/L	29	1.27±0.43			1.17±0.43		
病理分级			3.331	0.001		2.956	0.004
I~Ⅱ级	58	1.16±0.28			1.12±0.27		
Ⅲ级	34	1.40±0.41			1.31±0.34		
临床分期			3.353	0.001		3.770	0.001
I~Ⅱ期	30	1.13±0.41			1.02±0.35		
Ⅲ~Ⅳ期	62	1.37±0.27			1.27±0.27		
肿瘤数量			0.597	0.552		0.762	0.448
单个	53	1.27±0.30			1.17±0.27		
多个	39	1.23±0.34			1.22±0.36		
脉管浸润			2.762	0.007		2.112	0.037
否	48	1.17±0.27			1.13±0.27		
是	44	1.34±0.32			1.26±0.32		
包膜侵犯			0.727	0.469		0.773	0.442
否	53	1.23±0.28			1.17±0.28		
是	39	1.28±0.38			1.22±0.34		



2.6 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1、LncRNA HOTAIR 表达水平与预后的关系

与 LncRNA OSER1-AS1 < 1.098、LncRNA

HOTAIR < 1.066 的患者比较,LncRNA OSER1-AS1 ≥ 1.098、LncRNA HOTAIR ≥ 1.066 的 HCC 患者累积总生存率、累积无病生存率明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4、5。



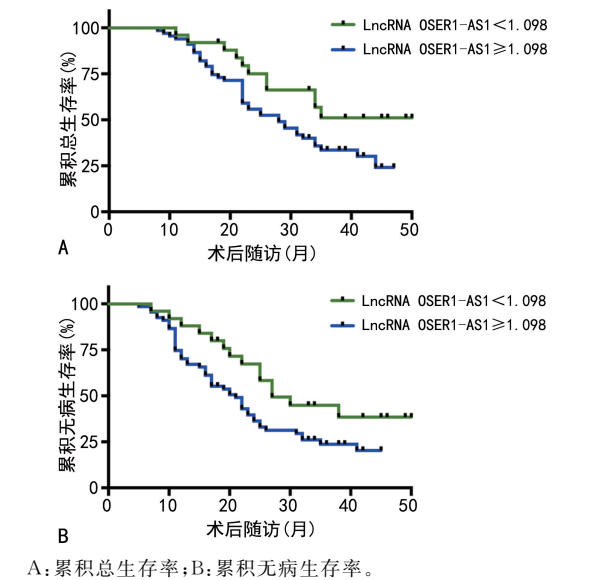


图 4 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 与累积总生存率、累积无病生存率的关系

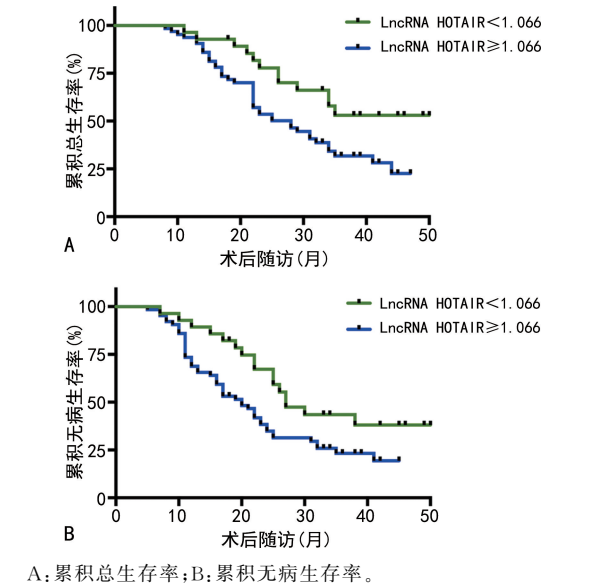


图 5 HCC 患者血清 LncRNA HOTAIR 与累积总生存率、累积无病生存率的关系

3 讨 论

目前已知 HCC 发病的相关因素包括 HBV 感染、大量饮酒、使用黄曲霉素污染的食物、基因突变等^[5-6],但具体的发病机制尚不十分清楚。LncRNA 在恶性肿瘤发病中的调控作用在近些年受到越来越多关注,LncRNA OSER1-AS1 和 LncRNA HOTAIR 是两种具有促癌作用的 LncRNA,在 HCC 细胞中表达增加且敲低这两种 LncRNA 能够抑制 HCC 细胞的增殖、迁移、侵袭^[3-4,7-8]。另有研究证实,在乳腺癌^[9]、肺癌^[10]、结直肠癌^[11]等恶性肿瘤组织内 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平增加。本研究对 HCC 组织中两种 LncRNA 表达的变化情况进行了分析,发现 HCC 组织 LncRNA OS-

ER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平较癌旁组织均明显增加,与其他研究结果一致,表明高表达的 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 可能通过促进癌细胞增殖、迁移、侵袭等方式参与 HCC 的发生、发展。

早期诊断 HCC 是改善预后、提高生存率的有效手段,目前临床常用的 HCC 诊断标志物 AFP、 α -L-岩藻糖肝酶、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 等的灵敏度及特异度均不佳^[12-13]。因此,根据 HCC 的发病机制寻找新的诊断及病情评估标志物具有迫切的临床需求。近些年,有研究将血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 作为诊断恶性肿瘤并评估病情的标志物^[14-15]。本研究在检测到 HCC 组织中两种 LncRNA 表达上调后探究了这两种 LncRNA 作为血清标志物在 HCC 诊断及病情评估中的价值,结果发现 HCC 组血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平较对照组均明显增加且与 HCC 组织中相应 LncRNA 表达呈正相关,表明 HCC 患者血清两种 LncRNA 表达增加主要来源于 HCC 组织相应 LncRNA 表达的增加。进一步通过 ROC 曲线分析发现,血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达水平对 HCC 具有诊断价值,由此证实两种 LncRNA 可作为血清标志物用于 HCC 诊断的价值。

LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 促进 HCC 细胞增殖、迁移、侵袭等恶性生物学行为在 HCC 的病理进展中起到重要作用^[16-17]。基于此,本研究分析了血清中两种 LncRNA 表达变化与 HCC 病理特征的关系,结果显示病理分级及临床分期越高、发生脉管浸润的 HCC 患者血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达越高,表明随着 HCC 的病理进展,血清中两种 LncRNA 表达也发生相应变化,与其促进 HCC 细胞增殖、迁移、侵袭的生物学效应吻合。

HCC 的预后差、5 年生存率低,在发病中起关键作用的分子不仅与病理进展有关,还与预后有关。本研究对入组的 HCC 患者进行了随访,随访内容包括累积总生存率和累积无病生存率,以 ROC 曲线得到的血清 LncRNA 表达水平诊断 HCC 的临界值为参考,通过分析血清中两种 LncRNA 表达水平与预后的关系,发现血清 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达 $\geq$ 临界值的患者累积总生存率及累积无病生存率均较低,表明两种 LncRNA 表达增加与 HCC 患者预后恶化、生存期缩短有关。

综上所述,LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 的高表达与 HCC 的发病有关,HCC 患者

血清及 HCC 肿瘤组织内 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 表达均增加且存在相关性,血清两种 LncRNA 表达的变化可能由 HCC 组织中相应 LncRNA 表达增加引起。血清中 LncRNA OSER1-AS1 及 LncRNA HOTAIR 可作为 HCC 诊断及病情评估的标志物,与 HCC 的病理进展、预后不良有关,这为未来研究 HCC 的发病机制及防治靶点提供了新思路。

参考文献

- [1] ASEMOTA J, SALEH M, IGBINOVIA O, et al. A concise review on current trends in imaging and surgical management of hepatocellular carcinoma[J]. *Cureus*, 2020, 12(7): e9191.
- [2] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1): 19-28.
- [3] FAN J, ZHANG J, HUANG S, et al. LncRNA OSER1-AS1 acts as a ceRNA to promote tumorigenesis in hepatocellular carcinoma by regulating miR-372-3p/Rab23 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(1): 196-203.
- [4] TOPEL H, BAGIRSAKCI E, COMEZ D, et al. LncRNA HOTAIR overexpression induced downregulation of c-Met signaling promotes hybrid epithelial/mesenchymal phenotype in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 110.
- [5] GANNE-CARRIÉ N, NAHON P. Hepatocellular carcinoma in the setting of alcohol-related liver disease[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(2): 284-293.
- [6] WANG S H, YEH S H, CHEN P J. Unique features of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in pathogenesis and clinical significance[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(10): 2454.
- [7] SHI T, SUN W, SHI Y L, et al. LncRNA OSER1-AS1 interacts with miR-612/FOXO1 axis to modulate gefitinib resistance of lung adenocarcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(3): 1365-1376.
- [8] GONG X, ZHU Z. Long noncoding RNA HOTAIR contributes to progression in hepatocellular carcinoma by sponging miR-217-5p [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2020, 35(5): 387-396.
- [9] LIU X, HUANG S, GUAN Y, et al. Long non-coding RNA OSER1-AS1 promotes the malignant properties of non-small cell lung cancer by sponging microRNA-433-3p and thereby increasing Smad2 expression [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(2): 599-610.
- [10] YU Y, REN K. Five long non-coding RNAs establish a prognostic nomogram and construct a competing endogenous RNA network in the progression of non-small cell lung cancer [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 457.
- [11] LIU S, CAO Q, AN G, et al. Identification of the 3-LncRNA signature as a prognostic biomarker for colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24): 9359.
- [12] LIU D, LUO Y, CHEN L, et al. Diagnostic value of 5 serum biomarkers for hepatocellular carcinoma with different epidemiological backgrounds: a large-scale, retrospective study [J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(1): 256-270.
- [13] XING H, QIU H, DING X, et al. Clinical performance of alpha-L-fucosidase for early detection of hepatocellular carcinoma [J]. *Biomark Med*, 2019, 13(7): 545-555.
- [14] EL-FATTAH A A A, SADIK N A H, SHAKER O G, et al. Serum long non-coding RNAs PVT1, HOTAIR, and NEAT1 as potential biomarkers in egyptian women with breast cancer [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(2): 301.
- [15] WU L, SHI Y, LIU B, et al. Expression of LncRNA-HOTAIR in the serum of patients with lymph node metastasis of papillary thyroid carcinoma and its impact [J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 907-913.
- [16] LIU R, WANG G, ZHANG C, et al. A prognostic model for hepatocellular carcinoma based on apoptosis-related genes [J]. *World J Surg Oncol*, 2021, 19(1): 70.
- [17] CHEN K, ZHU P, LIAO Y, et al. An apoptotic gene signature for the prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 2(14): 1589-1604.