

# 脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 预测 脑胶质瘤复发的价值

刘玉川 崔彦魁 程 鹏

**【摘要】目的** 探讨脑脊液 lncRNA SOCS2-AS1 预测脑胶质瘤术后复发的价值。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月手术治疗的脑胶质瘤 84 例(高级别胶质瘤 46 例,低级别胶质瘤 38 例),另选取健康体检者 30 例为对照,腰椎穿刺术取脑脊液并分离外泌体,用 RT-PCR 检测外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 水平。以 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量中位数为截断值,将胶质瘤分为高表达组和低表达组。**结果** 胶质瘤脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量明显高于对照组( $P<0.05$ ),而且高级别胶质瘤脑脊液 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量明显高于低级别胶质瘤( $P<0.05$ )。多因素 logistic 回归分析显示,脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达是脑胶质瘤术后复发的独立影响因素( $P<0.05$ )。ROC 曲线分析显示,脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达预测脑胶质瘤术后复发的曲线下面积为 0.917,灵敏度为 85.78%,特异度为 93.10%。**结论** 脑胶质瘤病人脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 表达水平升高;脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达对脑胶质瘤术后复发有较高的预测价值。

**【关键词】** 脑胶质瘤;脑脊液;lncRNA SOCS2-AS1;肿瘤复发

**【文章编号】** 1009-153X(2022)09-0751-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; Q 786

**Predictive value of cerebrospinal fluid exosomal lncRNA SOCS2-AS1 in postoperative recurrence of human brain glioma**

LIU Yu-chuan, CUI Yan-kui, CHENG Peng. Department of Neurosurgery, Jiaozuo Second People's Hospital (The First Affiliated Hospital of Henan University of Technology), Jiaozuo 454000, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the predictive value of cerebrospinal fluid (CSF) exosomal lncRNA SOCS2- AS1 in predicting postoperative recurrence of human brain glioma. **Methods** Eighty-four patients with glioma (46 high-grade glioma and 38 low-grade glioma) who underwent surgery from January 2017 to January 2018 were selected, and 30 health examination subjects were selected as control. CSF was extracted by lumbar puncture and exosomes were isolated. The level of exosomal lncRNA SOCS2-AS1 was detected by RT-PCR. The glioma patients were divided into high expression group and low expression group according to the median expression level of lncRNA SOCS2- AS1. **Results** The expression level of CSF exosomal lncRNA SOCS2- AS1 of glioma was significantly higher than that of control group ( $P<0.05$ ), and the expression level of CSF exosomal lncRNA SOCS2-AS1 of high-grade glioma was significantly higher than that of low-grade glioma ( $P<0.05$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that high expression of CSF exosomal lncRNA SOCS2-AS1 was an independent risk factor for postoperative recurrence of glioma ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis showed that the area under the curve of high expression of CSF exosomal lncRNA SOCS2- AS1 for predicting postoperative recurrence of glioma was 0.917, with a sensitivity of 85.78% and a specificity of 93.10%. **Conclusions** The expression level of CSF exosomal lncRNA SOCS2- AS1 is up-regulated in patients with glioma. The high expression of CSF exosomal lncRNA SOCS2-AS1 has a high predictive value for postoperative recurrence of glioma.

**【Key words】** Glioma; Cerebrospinal fluid; Long noncoding RNA SOCS2-AS1; Postoperative recurrence

胶质瘤是颅内常见肿瘤之一,术后易复发。研究显示,复发性脑胶质瘤的中位生存时间在 3~6 个月<sup>[1]</sup>。外泌体是一种直径在 40~100 nm 的盘状囊泡,存在于血液、脑脊液、尿液和唾液等体液中<sup>[2]</sup>,参与细胞信号转导并影响肿瘤细胞恶性生物学特征<sup>[2,3]</sup>。相比于体液长链非编码 RNA (long non-coding RNA,

lncRNA),外泌体 lncRNA 更易检测,也更准确反映肿瘤细胞真实 lncRNA 的表达水平<sup>[4]</sup>。细胞因子信号转导抑制因子 2-反义转录本 1 (suppressor of cytokine signaling 2-antisense transcript 1, SOCS2-AS1)是新发现的 lncRNA,影响肿瘤细胞凋亡、侵袭、迁移等<sup>[5-7]</sup>。本文探讨脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 预测脑胶质瘤术后复发的价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 病例选择标准 纳入标准:组织病理学检测证实

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2022.09.010  
作者单位:454000 河南,焦作市第二人民医院(河南理工大学第一附属医院)神经外科(刘玉川、崔彦魁、程 鹏)

为脑胶质瘤;术后完成 2~4 个疗程放疗、化疗或同步放化疗;病例资料完整。排除标准:合并其他部位肿瘤;合并其他脑部疾病;既往有脑部手术史;合并严重心肝肾疾病;存在急慢性感染;合并免疫性疾病。

1.2 一般资料 2017 年 1 月至 2018 年 1 月收治符合标准的脑胶质瘤 84 例,其中男 49 例,女 35 例;年龄 35~79 岁,平均(49.30±10.02)岁;高级别胶质瘤 46 例,低级别胶质瘤 38 例。选取将健康体检者 30 例为对照,其中男 18 例,女 12 例;年龄 28~54 岁,平均(48.23±8.23)岁。本研究经我院伦理委员会批准,病人均签署知情同意书。

1.3 外泌体的分离和鉴定 腰椎穿刺术取脑脊液 1.5 ml。1 500 转/min 离心 15 min,留取上清液。用外泌体分离试剂盒(上海源叶生物科技有限公司)分离外泌体,操作步骤按照试剂盒说明书进行。

取 10 μl 外泌体悬液滴加于铜网上沉淀 60 s,用滤纸吸取悬液。取醋酸双氧铀 10 μl 滴加于铜网上沉淀 60 s,吸干液体。在常温下干燥 10 min,用 Tecnai Spirit G2 透射电子显微镜观察外泌体形态。采用英国 NanoSight 纳米颗粒分析仪检测外泌体粒径分布及浓度。采用免疫印迹法检测外泌体表面标志蛋白 CD63 和 TSG101<sup>[8]</sup>,步骤如下:取 100 μl 外泌体,加入 RIPA 细胞裂解液,提取蛋白;进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并电转至 PVDF 膜上;用 5%脱脂牛奶封闭,加入兔抗人 CD63 单克隆抗体(1:1 000,美国 Sigma 公司)或兔抗人 TSG101 单克隆抗体(1:500,美国 Sigma 公司),4 ℃孵育过夜。TBST 洗涤 3 次,加入羊抗兔二抗,温室孵育 1 h,再用 TBST 洗涤 3 次。最后用 ECL 显影。

1.4 RT-PCR 检测脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 的表达水平 用外泌体 RNA 提取试剂盒(武汉艾美捷科技有限公司)提取外泌体总 RNA。用 Prime-Script RT 试剂盒(武汉艾美捷科技有限公司)进行逆转录,获得 cDNA。随后用 SYBR Green 试剂盒(上海联迈生物工程有限公司)对 cDNA 进行扩增。反应条件:94 ℃、10 min,94 ℃、45 s;60 ℃、45 s;72 ℃、45 s;共计 40 个循环。SOCS2-AS1 上游引物 5'-AAAGCAAGGTCTCCCCACAAG-3',下游引物 5'-GGTCTGTGCTAGATCAAAAGGCA-3';内参 GAPDH 上游引物 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',下游引物 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 计算相对表达量。以 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量中位数为截断值,将胶质瘤分为高表达组和低表达组。

1.5 随访 术后门诊或电话随访,随访时间 1~36 个月。复发定义为:肿瘤生长范围较术前扩大或者肿瘤出现在不同部位<sup>[9]</sup>。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 20.0 进行分析;计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,用 *t* 检验;计数资料用  $\chi^2$  检验;采用多因素 logistic 回归模型分析脑胶质瘤复发的影响因素;采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 水平预测脑胶质瘤复发的价值,计算曲线下面积(area under the curve, AUC)、灵敏度和特异度;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑脊液外泌体鉴定结果 透射电子显微镜观察显示,脑脊液外泌体直径约 100 nm(图 1A);免疫印迹法检测结果显示胶质瘤组及对照组脑脊液外泌体均表达 CD63 和 TSG101 蛋白(图 1B);Nanosight 检测发现,外泌体直径平均 138.2 nm,浓度平均为 2.30×10<sup>11</sup> 个颗粒/ml(图 1C)。

2.2 胶质瘤病人脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 的表达水平 胶质瘤组脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量[(1.45±0.25)]明显高于对照组[(0.56±0.12),*P*<0.001]。高级别胶质瘤脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 相对表达量为[(1.87±0.51)]明显高于低级别胶质瘤[(1.04±0.28),*P*<0.001]。

2.3 脑胶质瘤术后复发的影响因素 单因素分析显示,肿瘤直径、肿瘤分级、肿瘤切除程度、脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 表达水平与脑胶质瘤术后复发有关(*P*<0.05,表 1)。多因素 logistic 回归分析显

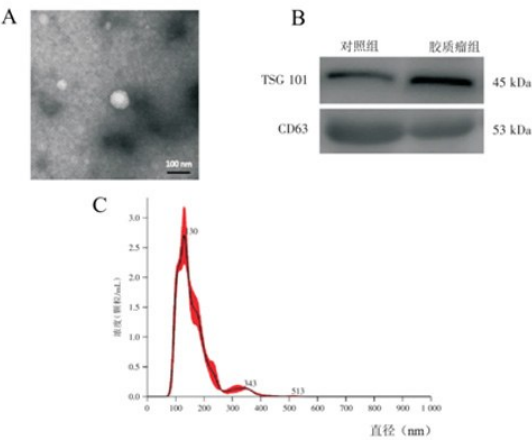


图 1 脑脊液外泌体鉴定结果

A. 透射电子显微镜观察外泌体;B. 免疫印迹法检测外泌体特异性蛋白 CD63 及 TSG101;C. Nanosight 检测外泌体浓度和直径

表 1 脑胶质瘤术后复发危险因素的 logistic 回归分析

| 危险因素                        | 单因素分析 |             |        | 多因素分析 |             |        |
|-----------------------------|-------|-------------|--------|-------|-------------|--------|
|                             | 比值比   | 95%置信区间     | P 值    | 比值比   | 95%置信区间     | P 值    |
| 年龄≥49 岁                     | 1.003 | 0.763~1.210 | 0.402  |       |             |        |
| 男性                          | 1.102 | 0.897~1.291 | 0.314  |       |             |        |
| 肿瘤直径≥5 cm                   | 1.897 | 1.021~2.004 | 0.014  | 1.210 | 1.003~1.786 | 0.031  |
| 肿瘤位于额叶                      | 0.645 | 0.573~1.002 | 0.700  |       |             |        |
| 高级别胶质瘤                      | 3.908 | 1.786~6.895 | <0.001 | 2.103 | 1.583~3.397 | 0.004  |
| 肿瘤未全切除                      | 2.786 | 1.210~4.002 | <0.001 | 1.903 | 1.356~2.876 | 0.012  |
| 脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达 | 3.453 | 1.767~6.673 | <0.001 | 3.001 | 1.563~6.024 | <0.001 |

示,肿瘤直径≥5 cm、高级别胶质瘤、肿瘤未全切除、脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达是术后复发的独立影响因素( $P<0.05$ ,表 1)。

2.4 脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 水平预测脑胶质瘤术后复发的价值 ROC 曲线分析显示,脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达预测脑胶质瘤术后复发的 AUC 为 0.917,灵敏度为 85.78%,特异度为 93.10%。见图 2。

3 讨论

胶质瘤通常呈侵袭性生长,边界不清楚,手术不易完全切除,因此术后容易复发<sup>[10]</sup>。外泌体是一种内源性囊泡,能够运输脂质、核苷酸、非编码 RNA 及蛋白质等<sup>[3]</sup>。肿瘤细胞可以通过外泌体将活性分子传递给受体细胞,影响受体细胞功能;另外,外泌体运载的活性分子可以与肿瘤微环境中巨噬细胞相互作用,加速肿瘤进展<sup>[11]</sup>。lncRNA 在表观遗传、转录

及转录后水平影响基因表达,与肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡等密切相关。外泌体源性 lncRNA 参与脑胶质瘤的发生、发展,在脑胶质瘤诊断、治疗和预后评估中发挥重要作用<sup>[4, 12, 13]</sup>。lncRNA SOCS2-AS1 是近年来新发现的 lncRNA,在转录水平起调节作用,影响肿瘤进展<sup>[5-7]</sup>。有研究发现,lncRNA SOCS2-AS1 在前列腺癌组织<sup>[5]</sup>、脑胶质瘤组织<sup>[14]</sup>中高表达,并且与病人不良生存预后有关。本文发现,脑胶质瘤病人脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 表达水平升高,并且高级别胶质瘤的表达水平明显高于低级别胶质瘤,提示 lncRNA SOCS2-AS1 可能参与脑胶质瘤发生、发展。

影响脑胶质瘤术后复发的因素较多。本文发现肿瘤直径、肿瘤分级、肿瘤切除范围是脑胶质瘤术后复发的影响因素,与既往报道一致<sup>[8, 15, 16]</sup>。肿瘤侵袭性增长是胶质瘤术后复发的重要影响因素。lncRNA SOCS2-AS1 可通过 miR-1264 信号通路<sup>[7]</sup>、ITGB1 信号通路<sup>[14]</sup>等促进肿瘤细胞侵袭。本文单因素 logistic 回归分析和 ROC 曲线分析显示 lncRNA SOCS2-AS1 与脑胶质瘤术后复发的关系,结果显示 lncRNA SOCS2-AS1 高表达是脑胶质瘤术后复发的独立影响因素,并且有较高的预测价值,灵敏度为 85.78%,特异度为 93.10%。

总之,脑胶质瘤病人脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 表达水平升高,脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 高表达对脑胶质瘤术后复发有较高的的预测价值。

【参考文献】

[1] 何远秀,钟文君,李悦. 复发脑胶质瘤的诊断及治疗进展[J]. 海南医学,2021,32(2):246-249.

(下转第 757 页)

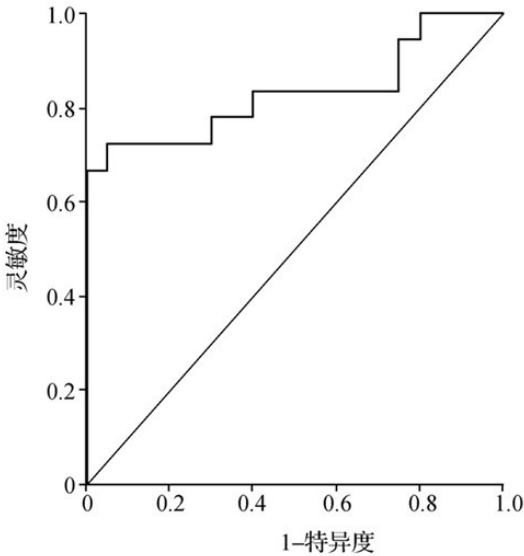


图 2 ROC 曲线分析脑脊液外泌体 lncRNA SOCS2-AS1 水平预测脑胶质瘤术后复发的价值



膜瘤患者术后复发的影响[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(3):443-447.

[13] Goldbrunner R, Stavrinou P, Jenkinson MD, *et al.* EANO guideline on the diagnosis and management of meningiomas [J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(11): 1821-1834.

[14] 杨启荣,胡智洪,李 伟,等. 良性脑膜瘤术后早期复发相关危险因素的 Logistic 回归分析[J]. 肿瘤预防与治疗, 2022, 35(3):250-254.

[15] Raman SG, Prakash P, Sumit J, *et al.* Clinical outcome and recurrence after meningioma surgery: an experience from a developing country, Nepal [J]. *World Neurosurg*, 2021, 148: e138-e144.

[16] Li J, Geraldo LH, Dubrac A, *et al.* Slit2-Robo signaling promotes glomerular vascularization and nephron development [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2021, 32(9): 2255-2272.

[17] Sherchan P, Travis ZD, Tang J, *et al.* The potential of Slit2 as a therapeutic target for central nervous system disorders [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24(8): 805-818.

[18] Liu Y, Yin Z, Xu X, *et al.* Crosstalk between the activated Slit2- Robo1 pathway and TGF-  $\beta$ 1 signalling promotes cardiac fibrosis [J]. *ESC Heart Fail*, 2021, 8(1): 447-460.

[19] Yang H, Zhou S, Lan D, *et al.* The expression of Slit2 and Robo1 increased during retinoic acid syndrome in acute promyelocytic leukemia and impacted differentiated cell migration [J]. *Transl Oncol*, 2022, 18: 101370.

[20] Wang G, Jiang LM, Tan BY, *et al.* Cell survival controlled by lens-derived Sema3A-Nrp1 is vital on caffeine-suppressed corneal innervation during chick organogenesis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9826-9838.

[21] Wang L, Zheng J, Pathak JL, *et al.* SLIT2 overexpression in periodontitis intensifies inflammation and alveolar bone loss, possibly via the activation of MAPK pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 593.

(2022-06-17 收稿, 2022-07-28 修回)

(上接第 753 页)

[2] Isaac R, Reis FCG, Ying W, *et al.* Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(9): 1744-1762.

[3] 崔舒悦,汤 帅,丁晓玲,等. 间充质干细胞及其外泌体对肿瘤影响的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2022, 25(5): 351-357.

[4] Li Z, Meng X, Wu P, *et al.* Glioblastoma cell-derived lncRNA-containing exosomes induce microglia to produce complement C5, promoting chemotherapy resistance [J]. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9(12): 1383-1399.

[5] Misawa A, Takayama K, Urano T, *et al.* Androgen-induced long noncoding RNA (lncRNA) SOCS2-AS1 promotes cell growth and inhibits apoptosis in prostate cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(34): 17861-17880.

[6] Qu Y, Qi L, Hao L, *et al.* Upregulation of circ-ASPH contributes to glioma cell proliferation and aggressiveness by targeting the miR-599/AR/SOCS2-AS1 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(5): 388.

[7] Zheng Z, Li X, You H, *et al.* lncRNA SOCS2-AS1 inhibits progression and metastasis of colorectal cancer through stabilizing SOCS2 and sponging miR-1264 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(11): 10517-10526.

[8] 杨 智,唐 栋,曹 磊,等. 血清外泌体 miRNA-30a-5p 在人脑胶质瘤诊断及预后评价中的作用[J]. 中国临床神经外科杂志, 2020, 25(5):296-298.

[9] 田 艳,魏可欣,张向宁. 脑脊液外泌体 miR-146a 与人脑胶质瘤术后复发的相关性[J]. 中国临床神经外科杂志, 2021, 26(4):250-253.

[10] 李皓然,王海洋,董 军. 细胞外囊泡在脑胶质瘤中的研究进展及其应用前景[J]. 中华神经外科杂志, 2022, 38(4):429-432.

[11] 史竞彤,陈敏捷. 恶性肿瘤来源外泌体在巨噬细胞 M2 极化中作用的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2022, 36(1): 59-63.

[12] Zhao W, Xie Q. Exosomal lncRNA-mediated intercellular communication promotes glioblastoma chemoresistance [J]. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9(12): 1372.

[13] Movahedpour A, Khatami SH, Khorsand M, *et al.* Exosomal noncoding RNAs: key players in glioblastoma drug resistance [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(11): 4081-4092.

[14] Wu D, Sun J, Wang H, *et al.* lncRNA SOCS2-AS1 promotes the progression of glioma via regulating ITGB1 expression [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 765: 136248.

[15] 程慧冉. 多模态导航辅助电生理技术应用于脑胶质瘤治疗的效果及术后复发的影响因素分析[J]. 实用癌症杂志, 2022, 37(5):836-839.

[16] 连露露,范小璇,赵晓平,等. 复发性脑胶质瘤的临床治疗进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(2): 84-88.

(2022-06-25 收稿, 2022-08-15 修回)