

· 论 著 ·

lncRNA CASC9、YKT6 在口腔鳞状细胞癌中表达意义及预后价值研究^{*}

杨 丹¹,雷明辉¹,崔立丰¹,邵智文¹,文 雨¹,付敬敏^{2△}

1. 陕西中医药大学附属医院口腔科, 陕西咸阳 712000; 2. 咸阳市第一人民医院口腔科, 陕西咸阳 712000

摘 要:目的 探讨长链非编码 RNA 肿瘤易感性候选基因 9(lncRNA CASC9)、YKT6 在口腔鳞状细胞癌(OSCC)中表达意义及预后价值。**方法** 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月在陕西中医药大学附属医院诊治的 110 例 OSCC 患者作为研究对象。采用实时荧光定量 PCR 法检测患者 OSCC 癌组织及癌旁组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达。采用免疫组化检测 OSCC 癌组织及癌旁组织 YKT6 蛋白表达。Kaplan-Meier 曲线分析不同 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达对 OSCC 患者预后的影响。Cox 回归模型分析影响 OSCC 预后的因素。**结果** OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达分别为 3.12 ± 0.57 、 2.69 ± 0.42 , 均明显高于癌旁组织(依次为 1.02 ± 0.25 、 1.13 ± 0.21), 差异有统计学意义($t=35.386$ 、 34.843 , $P<0.05$)。OSCC 癌组织 YKT6 蛋白阳性率为 81.82%(90/110), 高于癌旁组织[9.09%(10/110)], 差异有统计学意义($\chi^2=117.333$, $P<0.05$)。OSCC 癌组织 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 表达呈正相关($r=0.788$, $P<0.001$)。TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、低分化及有淋巴结转移的 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、高中分化及无淋巴结转移的 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。lncRNA CASC9 高表达组、YKT6 mRNA 高表达组 5 年累积生存率低于 lncRNA CASC9 低表达组、YKT6 mRNA 低表达组, 差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=7.080$ 、 8.741 , $P=0.008$ 、 0.003)。lncRNA CASC9 高表达、YKT6 mRNA 高表达、TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、低分化及有淋巴结转移是 OSCC 患者预后危险因素。**结论** OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9、YKT6 表达升高, 两者可作为评估 OSCC 患者预后的肿瘤标志物。

关键词:口腔鳞状细胞癌; 长链非编码 RNA 肿瘤易感性候选基因 9; YKT6; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.16.002

中图法分类号:R739.8

文章编号:1673-4130(2024)16-1925-06

文献标志码:A

Expression significance and prognostic value of lncRNA CASC9 and YKT6 in oral squamous cell carcinoma^{*}

YANG Dan¹, LEI Minghui¹, CUI Lifeng¹, SHAO Zhiwen¹, WEN Yu¹, FU Jingmin^{2△}

1. Department of Stomatology, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi 712000, China; 2. Department of Stomatology, Xianyang First People's Hospital, Xianyang, Shaanxi 712000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression significance and prognostic value of long non-coding RNA tumor susceptibility candidate gene 9 (lncRNA CASC9) and YKT6 in oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods** A total of 110 patients with OSCC treated in the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine from January 2016 to January 2018 were selected as the study objects. The mRNA expression of lncRNA CASC9 and YKT6 in OSCC cancer tissue and adjacent tissues was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Immunohistochemistry was used to detect YKT6 protein expression in OSCC cancer tissue and adjacent tissues. Kaplan-Meier curves were used to analyze the influence of different lncRNA CASC9 and YKT6 mRNA expression on the prognosis of OSCC patients. Cox regression model was used to analyze the prognostic factors of OSCC. **Results** The lncRNA CASC9 and YKT6 mRNA expression in OSCC cancer tissues were 3.12 ± 0.57 and 2.69 ± 0.42 , respectively, which were significantly higher than those in adjacent tissues (1.02 ± 0.25 , 1.13 ± 0.21), and the differences were statistically significant ($t=35.386$, 34.843 , $P<0.05$). The positive rate of YKT6 protein in OSCC cancer tissues was 81.82% (90/110), which was higher than that in adjacent tissues [9.09% (10/110)], and the difference was statistically significant ($\chi^2=117.333$, $P<0.05$). There was a positive correlation between lncRNA CASC9 mRNA expression

^{*} 基金项目:陕西省科技计划青年项目(2021JQ-915)。

作者简介:杨丹,女,主治医师,主要从事口腔恶性肿瘤研究。△ 通信作者,E-mail:1174216838@qq.com。

and YKT6 mRNA expression in OSCC cancer tissues ($r=0.788, P<0.001$). The lncRNA CASC9 and YKT6 mRNA expressions in cancer tissues of OSCC with TNM stages Ⅲ to Ⅳ, low differentiation and lymph node metastasis were higher than those in cancer tissues of OSCC with TNM stages Ⅰ to Ⅱ, high school differentiation and no lymph node metastasis, the difference was statistically significant (all $P<0.05$). The 5-year cumulative survival rate of lncRNA CASC9 high expression group and YKT6 mRNA high expression group was lower than that of lncRNA CASC9 low expression group and YKT6 mRNA low expression group, and the difference was statistically significant (Log-rank $\chi^2=7.080, 8.741, P=0.008, 0.003$). High expression of lncRNA CASC9, high expression of YKT6 mRNA, TNM stage Ⅲ to Ⅳ, low differentiation and lymph node metastasis were prognostic risk factors in OSCC patients. **Conclusion** The expression of lncRNA CASC9 and YKT6 in OSCC cancer tissue is elevated, which can be used as tumor markers to evaluate the prognosis of OSCC patients.

Key words: oral squamous cell carcinoma; long non-coding RNA tumor susceptibility candidate gene 9; YKT6; prognosis

口腔癌是常见的头颈部恶性肿瘤,全球每年新发 37.7 万例,死亡 17.8 万例^[1]。口腔鳞状细胞癌(OSCC)是最常见的口腔癌类型,占有病理类型的 90%^[2]。目前 OSCC 的治疗包括手术、放化疗等,但复发转移仍然是影响患者生存预后的主要原因^[3]。深入研究 OSCC 疾病机制,寻找能够评估 OSCC 预后的指标,有利于指导临床治疗。长链非编码 RNA 肿瘤易感性候选基因 9(lncRNA CASC9)是一种长链非编码 RNA,位于人类染色体 8q21.11。有研究表明, lncRNA CASC9 在宫颈鳞癌、食管鳞癌等恶性肿瘤中表达升高,其能够通过结合微小 RNA-383-5p 等,激活丝裂原活化蛋白激酶,促进肿瘤细胞的恶性增殖^[4-5]。YKT6 是可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感性因子附着蛋白受体家族成员,包含 Longin 结构域和 SNARE 结构域,参与囊泡运输、细胞膜融合过程^[6]。有研究表明,YKT6 在非小细胞肺癌、胰腺癌等恶性肿瘤中表达升高,其能促进肿瘤细胞的迁移和侵袭,导致患者不良生存预后^[7-8]。目前 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 表达的临床意义尚不清楚。本研究探讨 lncRNA CASC9、YKT6 在 OSCC 中表达意义及预后价值,旨在为 OSCC 患者的预后判断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月在陕西中医药大学附属医院诊治的 110 例 OSCC 患者作为研究对象,其中男 65 例、女 45 例,年龄 35~79 岁,平均(57.35±7.89)岁;肿瘤最大径:≥3 cm 73 例,<3 cm 37 例;浸润深度:黏膜下层 70 例,肌层或骨组织 40 例;分化程度:低分化 36 例,中高分化 74 例;TNM 分期:Ⅰ~Ⅱ期 60 例,Ⅲ~Ⅳ期 50 例;淋巴结转移:有淋巴结转移 44 例、无淋巴结转移 66 例。纳入标准:(1)均接受口腔癌根治术,术后病理组织检查明确为 OSCC;(2)患者术前均无化疗或介入治疗等;(3)患者均为原发且初次诊治的患者;(4)病历和随访资料完整;(5)年龄>18 岁,一般身体状况良好,卡氏功能状态评分>80 分。排除标准:(1)围术期死亡;(2)合并其他恶性肿瘤;(3)合并肝、肾等脏器功能

衰竭;(4)近 3 个月有急慢性感染性疾病、脑卒中及心肌梗死等疾病;(5)近 1 个月有激素或免疫抑制剂药物治疗史。患者和家属对本研究均知情同意,同时签署知情同意书。本研究通过医院伦理审核(批号:JM202306003)。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 法检测 OSCC 癌组织及癌旁组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达 留取患者 OSCC 癌组织及癌旁组织(距癌组织边缘 2 cm 以上,病理明确为正常口腔黏膜)。组织冰上研磨后,采用 TRIzol 法提取组织总 RNA,分光光度计(美国赛默飞公司,型号 NanoDrop1000)检测,吸光度(A)₂₆₀/A₂₈₀=1.8~2.0。将总 RNA 逆转录为 cDNA。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参对照,进行实时荧光定量 PCR。实时荧光定量 PCR 仪器购自美国 ABI 公司,型号 ABI7500。引物由北京天一辉远生物科技公司。2×SYBR Green Master mix 购自上海泽叶生物科技公司,型号 ZY6SL2690。引物序列见表 1。总体积 10.0 μL,包括 SYBR Green Master mix(2×)5.0 μL,上游引物(10 μmol/L) 0.3 μL,下游引物(10 μmol/L)0.3 μL,cDNA 0.2 μL,二甲基亚硝基乙酰胺水 4.2 μL。反应步骤:第一步 94℃预变性 10 min;第二步 94℃30 s,72℃10 s,60℃15 s,循环 40 次。采用 2^{-△△Ct} 法计算 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 的相对表达量。分别以 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达的平均数 3.12、2.69 为临界值,其中 lncRNA CASC9 高表达≥3.12 患者(lncRNA CASC9 高表达组)52 例,lncRNA CASC9 低表达<3.12 患者(lncRNA CASC9 低表达组)58 例;YKT6 mRNA 高表达≥2.69 患者(YKT6 mRNA 高表达组)53 例,YKT6 mRNA 低表达<2.69 患者(YKT6 mRNA 低表达组)57 例。

1.2.2 免疫组化法检测患者 OSCC 癌组织和癌旁组织 YKT6 蛋白表达 留取患者 OSCC 癌组织和癌旁组织标本蜡块,5 μm 层厚切片,60℃烤片 2 h。免疫组化 Envision 二步法试剂盒购自北京中杉金桥公司,

货号 PV-9100。二甲苯中脱蜡 5 min;梯度浓度的酒精中静置水化;将切片置于柠檬酸修复液(pH=6)中,压力锅内 8 min 后熄火放气;滴加 3%的过氧化氢,室温 10 min;滴加一抗(购自 abcam 公司,货号 ab236583,一抗稀释比例为 1:200),放置 4℃冰箱孵育过夜;滴加二抗,37℃ 20 min;3,3'-二氨基联苯胺(1:100)显色溶液显色 5 min,苏木素复染,自来水反蓝;梯度酒精中脱水;树胶封片,显微镜(日本 Olympus 公司,型号 DX31)观察染色结果。结果由两名病理医生随机双盲阅片和评分,YKT6 蛋白染色部位主要在细胞质和细胞膜。判定准则:以综合染色强度与阳性细胞总量比例评价。由染色强度评分和阳性细胞百分比评分相乘所得,分别为 0~<5 分是阴性,5~12 分是阳性。按照阳性细胞百分比评分:<5% 0 分,5%~25% 1 分,>25%~50% 2 分,>50%~75% 3 分,>75%~100% 4 分;按照染色强度评分:无着色 0 分,浅黄色 1 分,棕黄色 2 分,棕褐色 3 分。

表 1 引物序列		
引物	序列(5'-3')	大小(bp)
lncRNA CASC9		
上游	CAGCGTCCTCTACAAAGGCG	20
下游	ACAATCAGTTGACTCGTGAAGG	22
YKT6		
上游	CGCTCATCGAAAGGCACTAGA	21
下游	GGCTGGGTAATGGATTGTAGC	21
GAPDH		
上游	TGGTCACCTCAGTAGATACCAG	22
下游	CTCGCTCTAACAGAGACTCCA	21

1.2.3 随访 OSCC 患者出院后进行随访,以门诊和电话形式进行,总随访时间 5 年,随访截至 2023 年 2 月。每 3~6 个月复查 1 次,了解患者生存状态。随访终点为患者死亡或者随访结束。

1.3 统计学处理 采用统计软件 SPSS26.0 进行数据分析。连续变量以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立

样本 t 检验。分类变量以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。Pearson 相关分析 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 表达的相关性。采用 Kaplan-Meier 法和 Log-Rank 检验绘制并比较 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 生存曲线。多因素分析应用 Cox 比例风险回归模型。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 OSCC 癌组织和癌旁组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达比较 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达分别为 3.12 ± 0.57 、 2.69 ± 0.42 ,均明显高于癌旁组织(依次为 1.02 ± 0.25 、 1.13 ± 0.21),差异有统计学意义($t=35.386$ 、 34.843 , $P<0.05$)。

2.2 OSCC 癌组织和癌旁组织 YKT6 蛋白表达比较 OSCC 癌组织 YKT6 蛋白阳性率为 81.82%(90/110),高于癌旁组织[9.09%(10/110)],差异有统计学意义($\chi^2=117.333$, $P<0.05$)。见图 1。

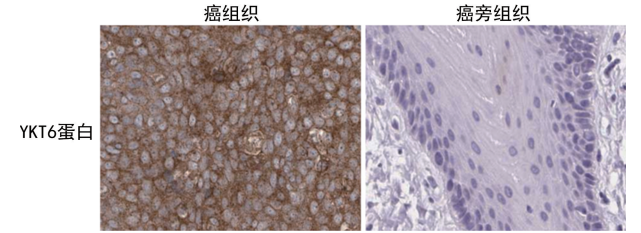


图 1 OSCC 癌组织和癌旁组织 YKT6 蛋白表达(免疫组化,×200)

2.3 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 表达的关系 Pearson 相关分析结果,OSCC 癌组织 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 表达呈正相关($r=0.788$, $P<0.001$)。

2.4 OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 与临床病理特征的关系 TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、低分化及有淋巴结转移的 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、高中分化及无淋巴结转移的 OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 表达,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)						
参数	<i>n</i>	lncRNA CASC9	<i>t</i>	<i>P</i>	YKT6 mRNA	<i>t</i> <i>P</i>
性别			0.637	0.525		1.454 0.149
男	65	3.15 ± 0.55			2.74 ± 0.40	
女	45	3.08 ± 0.59			2.62 ± 0.46	
年龄(岁)			1.308	0.194		1.494 0.138
≤60	63	3.06 ± 0.52			2.64 ± 0.39	
>60	47	3.20 ± 0.60			2.76 ± 0.45	
肿瘤最大径(cm)			0.960	0.339		1.762 0.081
≤3	37	3.05 ± 0.62			2.59 ± 0.51	

续表 2 OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 与临床病理特征的关系($\bar{x} \pm s$)

参数	<i>n</i>	lncRNA CASC9	<i>t</i>	<i>P</i>	YKT6 mRNA	<i>t</i>	<i>P</i>
>3	73	3.16±0.54			2.74±0.37		
浸润深度			1.171	0.244		0.723	0.471
黏膜下层	70	3.07±0.53			2.67±0.40		
肌层或骨组织	40	3.20±0.61			2.73±0.45		
分化程度			11.340	<0.001		22.572	<0.001
高中分化	74	2.70±0.51			2.09±0.36		
低分化	36	3.98±0.64			3.92±0.47		
TNM 分期			11.986	<0.001		18.578	<0.001
Ⅰ～Ⅱ期	60	2.54±0.52			2.02±0.38		
Ⅲ～Ⅳ期	50	3.82±0.60			3.49±0.45		
淋巴结转移			2.426	0.017		18.263	<0.001
有	44	3.28±0.63			3.58±0.44		
无	66	3.01±0.53			2.10±0.40		

2.5 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 与 OSCC 患者预后的关系 110 例 OSCC 患者随访 5 年,死亡 47 例,5 年总生存率为 57.27%(63/110)。lncRNA CASC9 高表达组和 lncRNA CASC9 低表达组 5 年累积生存率为 44.23%(23/52)、68.97%(40/58),YKT6 mRNA 高表达组和 YKT6 mRNA 低表达组 5 年累积生存率为 41.51%(22/53)、71.93%(41/57)。lncRNA CASC9 高表达组、YKT6 mRNA 高表达组 5 年累积生存率低于 lncRNA CASC9 低表达组、YKT6

mRNA 低表达组,差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=7.080,8.741,P=0.008,0.003$)。见图 2。

2.6 OSCC 患者预后的影响因素 以 OSCC 患者预后(生存=0,死亡=1)为因变量,单因素和多因素 Cox 回归模型结果显示,lncRNA CASC9 高表达、YKT6 mRNA 高表达、TNM 分期Ⅲ～Ⅳ期、低分化及有淋巴结转移是 OSCC 患者预后危险因素。见表 3、4。

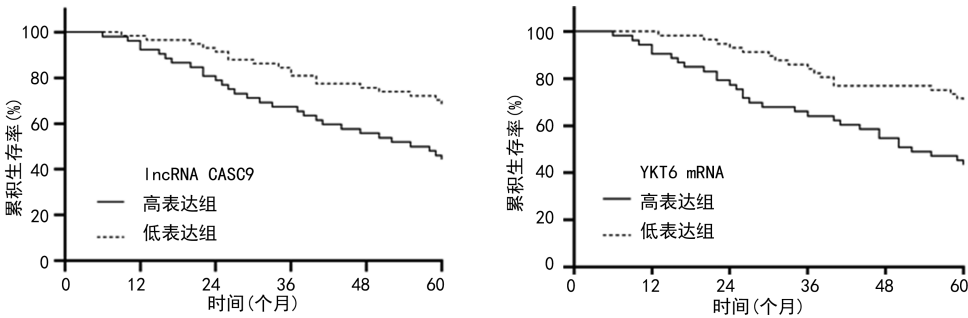


图 2 Kaplan-Meier 曲线分析 lncRNA CASC9、YKT6 mRNA 与 OSCC 患者预后的关系

表 3 单因素 Cox 回归分析

因素	赋值	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
年龄	>60 岁=1,≤60 岁=0	0.242	0.113	2.502	0.340	1.274	0.944~1.719
性别	男=1,女=0	0.168	0.131	1.645	0.428	1.183	0.915~1.529
肿瘤最大径	>3cm=1,≤3cm=0	0.159	0.140	1.290	0.568	1.172	0.891~1.542
浸润深度	肌层或骨组织=1,骨组织=0	0.380	0.252	2.274	0.281	1.462	0.892~2.396
分化程度	低分化=1,高中分化=0	0.395	0.113	12.219	<0.001	1.484	1.189~1.852
淋巴结转移	有=1,无=0	0.476	0.163	8.527	<0.001	1.610	1.169~2.126
TNM 分期	Ⅲ～Ⅳ期=1,Ⅰ～Ⅱ期=0	0.560	0.182	9.467	<0.001	1.751	1.225~2.501
lncRNA CASC9	高表达=1,低表达=0	0.610	0.174	12.290	<0.001	1.840	1.309~2.588
YKT6 mRNA	阳性=1,阴性=0	0.572	0.168	11.592	<0.001	1.772	1.275~2.463

表 4 多因素 Cox 回归分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
lncRNA CASC9 高表达	0.914	0.286	9.647	<0.001	2.552	1.420~4.455
YKT6 mRNA 高表达	0.564	0.232	6.675	<0.001	1.754	1.125~2.534
TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期	0.685	0.241	8.079	<0.001	1.984	1.237~3.182
低分化	0.841	0.368	5.223	<0.001	2.319	1.127~4.770
有淋巴结转移	0.966	0.422	5.458	<0.001	2.797	1.233~5.876

3 讨 论

口腔癌是一种具有较强侵袭性的上皮源性肿瘤，多见于舌、颊、牙龈等部位，近年来我国口腔癌死亡风险呈上升趋势^[9]。OSCC 是最常见的口腔癌类型，目前 OSCC 治疗以手术、放化疗及免疫治疗等综合治疗为主，但由于口腔颌面部解剖结构复杂，淋巴和血液循环丰富，肿瘤容易早期出现淋巴或血行转移，进而影响患者生存预后^[10]。目前 TNM 分期是用于评估 OSCC 患者预后的主要指标，但其并未纳入分子遗传学指标、神经血管侵犯等指标，难以准确有效评估 OSCC 患者的预后^[11]。因此，寻找能够评估 OSCC 患者病情及预后的肿瘤标志物，对于指导临床治疗意义重大。

lncRNA CASC9 是一种长链非编码 RNA，参与炎症反应、细胞增殖等生物过程，参与肺炎、呼吸衰竭等多种人类疾病过程^[12]。有研究表明，lncRNA CASC9 作为致癌基因，能够促进鳞状上皮细胞的肿瘤转化和非鳞状上皮组织中的鳞状化生，导致癌细胞的增殖、迁移和耐药性形成^[13]。本研究结果显示，OSCC 癌组织 lncRNA CASC9 表达明显高于癌旁组织，差异有统计学意义($P<0.05$)，这与文献^[14]报道结果一致。本研究进一步证实 OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9 升高，lncRNA CASC9 促进 OSCC 的发生。有研究报道，胶质瘤中胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 2 可以识别 lncRNA CASC9 的 N6 甲基腺苷修饰位点，提高 lncRNA CASC9 的稳定性，促进下游己糖激酶 2 的表达，促进肿瘤细胞恶性增殖。此外，lncRNA CASC9 表达与 OSCC 患者 TNM 分期、分化程度及淋巴结转移有关，表明 lncRNA CASC9 促进 OSCC 的肿瘤进展。有学者发现，lncRNA CASC9 通过激活丝/苏氨酸激酶/人哺乳动物雷帕霉素靶蛋白途径增强口腔鳞癌细胞系 SCC15 和 CAL27 的恶性增殖，抑制自噬介导的细胞凋亡，促进 OSCC 的肿瘤进展，而在敲除 lncRNA CASC9 的表达后，促进自噬诱导的肿瘤细胞凋亡^[14]。另有学者发现，lncRNA CASC9 通过与细胞核中的转录共激活因子 CREB 结合蛋白结合，增加层粘连蛋白亚基 $\gamma 2$ 基因启动子组蛋白 H3K27 乙酰化修饰水平，从而上调层粘连蛋白亚基 $\gamma 2$ 的表达，促进肿瘤细胞的侵袭和转移^[15]。本研究结果显示，lncRNA CASC9 高表达组 5 年累积生存率低于 lncRNA CASC9 低表达组，表明 lncRNA CASC9 有助于评估 OSCC 患者的预后。笔者分析，lncRNA CASC9 高表达的 OSCC 患者肿瘤

负荷大，肿瘤分化程度差，侵袭转移能力强，这些因素均会增加术后肿瘤复发转移的风险，导致患者不良生存预后。另外，lncRNA CASC9 还能够上调多药耐药基因的表达，降低对紫杉醇、阿霉素等化疗药物及靶向治疗的敏感性，降低肿瘤辅助治疗效果，引起肿瘤术后恶性进展，导致患者不良预后^[16]。

YKT6 属于 SNARE 家族成员，相对分子质量约 23×10^3 ，具有高度的保守性，其 N 端的 Longin 结构域和 C 端的 SNARE 结构域相互作用，形成折叠/闭合构象，参与外泌体的形成和释放过程^[17]。有研究表明，YKT6 在肝癌等恶性肿瘤中表达上调，能促进肿瘤转移，是新的预后相关肿瘤标志物^[18]。本研究结果显示，OSCC 癌组织 YKT6 mRNA 表达明显高于癌旁组织，差异有统计学意义($P<0.05$)，与以往学者研究结果相似^[19]。但文献^[19]仅对人类癌症基因组图谱数据库中的 YKT6 mRNA 水平进行研究，未能对 OSCC 癌组织 YKT6 蛋白表达进行验证。有研究发现，微小 RNA-584-5p 能够靶向调节 YKT6 mRNA 的稳定性，非小细胞肺癌中微小 RNA-584-5p 表达下调，导致 YKT6 mRNA 和 YKT6 蛋白表达升高，进而促进肿瘤细胞的迁移和侵袭^[20]。本研究结果显示，TNM 分期Ⅲ~Ⅳ期、低分化及有淋巴结转移的 OSCC 癌组织 YKT6 mRNA 表达高于 TNM 分期Ⅰ~Ⅱ期、高中分化及无淋巴结转移的 OSCC 癌组织 YKT6 mRNA 表达，差异有统计学意义(均 $P<0.05$)，提示 YKT6 表达促进 OSCC 的恶性进展。有研究报道，OSCC 肿瘤细胞中 YKT6 的表达上调，能够抑制肿瘤微环境中 $CD8^+$ T 淋巴细胞的浸润，促进免疫抑制微环境形成，促进 OSCC 细胞肿瘤免疫逃逸及侵袭和转移^[19]。此外，非小细胞肺癌分泌的外泌体囊泡中的 YKT6 一方面能够促使巨噬细胞极化为 M2 型免疫抑制表型，增加程序性死亡因子配体 1 的表达，促进肿瘤免疫逃逸，还能活化肿瘤细胞核因子- κB 信号通路，抑制线粒体氧化磷酸化，葡萄糖摄取及糖酵解增加，导致肿瘤代谢重编程，促进肿瘤增殖及侵袭^[21]。本研究结果显示，YKT6 mRNA 高表达组 5 年累积生存率低于 YKT6 mRNA 低表达组，提示 YKT6 mRNA 能评估 OSCC 患者预后。分析其原因，YKT6 的表达能够活化肿瘤中效应性 $CD4^+$ T 淋巴细胞，增强肿瘤对吉西他滨化疗治疗的耐药性，导致不良生存预后^[22]。也有学者在多西紫杉醇耐药的乳腺癌患者癌组织中发现，YKT6 表达显著升高，其能够增强耐药相关基因及肿瘤干性基因的表达，降低

化疗治疗的敏感性,而在敲低 YKT6 的表达后,则能重新恢复肿瘤对多西紫杉醇治疗的敏感性^[23]。本研究结果显示,OSCC 癌组织 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 表达呈正相关($r=0.788, P<0.001$)。分析其原因,lncRNA CASC9 能够作为分子支架结合下游微小 RNA,如微小 RNA-383-5p 等,继而调控 YKT6 mRNA 的稳定性,影响下游靶基因的表达。但目前 OSCC 癌组织中 lncRNA CASC9 与 YKT6 mRNA 的具体相互作用机制仍有待深入研究。

综上所述,OSCC 癌组织 lncRNA CASC9、YKT6 表达升高,lncRNA CASC9 高表达、YKT6 mRNA 高表达是 OSCC 患者预后危险因素,两者可作为评估 OSCC 患者预后的肿瘤标志物。本研究的局限在于标本量较小,待今后设计大样本临床实验,以便对其进行深入研究和探索。

参考文献

[1] SARODE G, MANIYAR N, SARODE S C, et al. Epidemiologic aspects of oral cancer[J]. Dis Mon, 2020, 66(12):1009-1018.

[2] SAALIM M, SANSARE K, KARJODKAR F R, et al. The prevalence of oral squamous cell carcinoma with oral submucous fibrosis[J]. J Cancer Res Ther, 2021, 17(6): 1510-1514.

[3] JOHNSON D E, BURTNES B, LEEMANS C R, et al. Head and neck squamous cell carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1):92-103.

[4] GAO S, LV Q, XU F, et al. LncRNA CASC9-1 facilitates cell malignant behaviors in cervical squamous cell carcinoma by targeting miR-383-5p to up-regulate MAPKAP1[J]. Arch Med Res, 2022, 53(2):138-146.

[5] QI Y, SONG C, ZHANG J, et al. Oncogenic lncRNA CASC9 in cancer progression[J]. Curr Pharm Des, 2021, 27(4):575-582.

[6] TIAN X, TENG J, CHEN J. New insights regarding SNARE proteins in autophagosome-lysosome fusion[J]. Autophagy, 2021, 17(10):2680-2688.

[7] LEE S B, PARK Y S, SUNG J S, et al. Tumor suppressor miR-584-5p inhibits migration and invasion in smoking related non-small cell lung cancer cells by targeting YKT6[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(5):1159-1167.

[8] SUN C, WANG P, DONG W, et al. LncRNA PVT1 promotes exosome secretion through YKT6, RAB7, and VAMP3 in pancreatic cancer[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(11):10427-10440.

[9] 宋识, 吴琳雪, 黄平. 1990—2019 年中国唇和口腔癌死亡风险的分析和预测[J]. 现代预防医学, 2022, 49(5):789-793.

[10] EUN Y G, LEE J W, KIM S W, et al. Oral microbiome associated with lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2021, 11(1):23176-23189.

[11] CHEN Y, FENG Y, YAN F, et al. A novel immune-related gene signature to identify the tumor microenvironment

and prognose disease among patients with oral squamous cell carcinoma patients using ssGSEA: a bioinformatics and biological validation study[J]. Front Immunol, 2022, 13(8):9221-9235.

[12] ZHOU C, WU D. Abnormal expression of lncRNA CASC9 in pneumonia children with respiratory failure and its feasible value for the clinical diagnosis of patients[J]. Cell Cycle, 2022, 21(17):1879-1886.

[13] QI Y, SONG C, ZHANG J, et al. Oncogenic lncRNA CASC9 in cancer progression[J]. Curr Pharm Des, 2021, 27(4):575-582.

[14] YANG Y, CHEN D, LIU H, et al. Increased expression of lncRNA CASC9 promotes tumor progression by suppressing autophagy-mediated cell apoptosis via the AKT/mTOR pathway in oral squamous cell carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(2):41-54.

[15] LIANG Y, CHEN X, WU Y, et al. LncRNA CASC9 promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis through upregulating LAMC2 expression by interacting with the CREB-binding protein[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(11):1980-1995.

[16] SHANG C, SUN L, ZHANG J, et al. Correction: silence of cancer susceptibility candidate 9 inhibits gastric cancer and reverses chemoresistance[J]. Oncotarget, 2022, 11(13):684-685.

[17] KRIEGENBURG F, BAS L, GAO J, et al. The multi-functional SNARE protein Ykt6 in autophagosomal fusion processes[J]. Cell Cycle, 2019, 18(6/7):639-651.

[18] XU J Z, JIANG J J, XU H J, et al. High expression of YKT6 associated with progression and poor prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Scand J Gastroenterol, 2021, 56(11):1349-1354.

[19] YANG Z, YAN G, ZHENG L, et al. YKT6, as a potential predictor of prognosis and immunotherapy response for oral squamous cell carcinoma, is related to cell invasion, metastasis, and CD8⁺ T cell infiltration[J]. Oncoimmunology, 2021, 10(1):1938-1948.

[20] LEE S B, PARK Y S, SUNG J S, et al. Tumor suppressor miR-584-5p inhibits migration and invasion in smoking related non-small cell lung cancer cells by targeting YKT6[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(5):1159-1164.

[21] MORRISSEY S M, ZHANG F, DING C, et al. Tumor-derived exosomes drive immunosuppressive macrophages in a pre-metastatic niche through glycolytic dominant metabolic reprogramming[J]. Cell Metab, 2021, 33(10):2040-2058.

[22] GU J, ZHANG J, HUANG W, et al. Activating miRNA-mRNA network in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cell associates with alteration of memory CD4⁺ T cells[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(6):279-288.

[23] GUAN B, XU M, ZHENG R, et al. Novel biomarkers to predict treatment response and prognosis in locally advanced rectal cancer undergoing neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. BMC Cancer, 2023, 23(1):1099-1108.