

• 论 著 •

喉鳞状细胞癌组织中 SEPT2、CMTM6 表达及其与化疗敏感性的关系*

武川军, 彭丽娜[△], 冯志星, 韩海平

邯郸市中心医院耳鼻喉科, 河北邯郸 056002

摘要:目的 探讨喉鳞状细胞癌(LSCC)组织中胞裂蛋白 2(SEPT2)、含 CKLF 样 MARVEL 跨膜结构域的蛋白 6(CMTM6)表达变化及其与化疗敏感性的关系。方法 选取 2017 年 1 月至 2019 年 8 月该院收治的 117 例 LSCC 患者作为研究对象。比较 LSCC 组织和对应癌旁组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达情况,并分析 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与临床病理特征的关系。绘制生存曲线分析不同 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达 LSCC 患者客观缓解率和生存情况。结果 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达高于对应癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。不同 TNM 分期和淋巴结转移 LSCC 患者 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 高表达组的客观缓解率低于 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 低表达组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。生存曲线分析显示,SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 高表达组总生存率低于 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 低表达组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 LSCC 患者 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 呈高表达,其表达情况与 LSCC TNM 分期、淋巴结转移、化疗敏感性和预后有关。

关键词:喉鳞状细胞癌; 胞裂蛋白 2; 含 CKLF 样 MARVEL 跨膜结构域的蛋白 6; 病理特征; 化疗敏感性; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.09.011

中图法分类号:R446.11;R739.65

文章编号:1673-4130(2023)09-1075-05

文献标志码:A

Expression of SEPT2 and CMTM6 in laryngeal squamous cell carcinoma tissues and its relationship with chemotherapy sensitivity*

WU Chuanjun, PENG Lina[△], FENG Zhixing, HAN Haiping

Department of Otorhinolaryngology, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056002, China

Abstract: Objective To investigate the expression changes of septin 2 (SEPT2) and CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 6 (CMTM6) in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) tissues and their relationship with chemotherapy sensitivity. **Methods** A total of 117 patients with LSCC admitted to the hospital from January 2017 to August 2019 were selected as the research objects. The expressions of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA in LSCC tissues and corresponding adjacent tissues were compared, and the relationship between the expressions of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA in LSCC tissues and clinicopathological features was analyzed. Survival curves were drawn to analyze the objective remission rate and survival of LSCC patients with different SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA expressions. **Results** The expression levels of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA were significantly higher in LSCC tissues than those in adjacent tissues ($P < 0.05$). The expressions levels of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA in LSCC patients with different TNM stages and lymph node metastasis were statistically significant ($P < 0.05$). The objective remission rate of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA high expression group were significantly lower than that of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA low expression group ($P < 0.05$). Survival curve analysis showed that the overall survival rate of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA high expression group were significantly lower than those of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA low expression group ($P < 0.05$). **Conclusion** High expression of SEPT2 mRNA and CMTM6 mRNA in LSCC tissues are associated with LSCC TNM stage, lymph node metastasis, chemotherapy sensitivity and prognosis.

* 基金项目:河北省邯郸市科学技术研究与发展计划项目(2242208009ZC)。

作者简介:武川军,女,副主任医师,主要从事喉癌相关临床研究。 [△] 通信作者, E-mail: pengpengheng2009@163.com。

Key words: laryngeal squamous cell carcinoma; septin 2; CKLF like MARVEL transmembrane domain containing 6; pathological features; chemotherapy sensitivity; prognosis

喉癌是头颈部常见的恶性肿瘤之一,2020 年世界卫生组织统计显示,全球喉癌新发和死亡病例分别为 18.46 万例、9.98 万例,中国喉癌新发和死亡病例分别为 2.91 万例、1.58 万例,疾病负担严重^[1]。喉鳞状细胞癌(LSCC)是喉癌最常见的类型,目前手术和放化疗仍然是 LSCC 的主要治疗策略,但 LSCC 发病机制复杂导致治疗疗效受到严重限制^[2]。因此,了解 LSCC 发生的分子机制,对 LSCC 治疗和预后评估至关重要。有研究表明,细胞骨架改变和免疫逃逸参与肿瘤发生发展^[3-4]。胞裂蛋白 2(SEPT2)是公认的细胞骨架调节的重要参与者^[5]。含 CKLF 样 MARVEL 跨膜结构域的蛋白 6(CMTM6)是新近发现的一种共刺激分子,能增强免疫抑制促进肿瘤免疫逃逸^[6]。已有研究报道,SEPT2、CMTM6 在 LSCC 患者中表达上调^[7-8]。然而,关于 SEPT2、CMTM6 表达与 LSCC 化疗敏感性的关系尚不清楚。本研究探讨 LSCC 组织中 SEPT2、CMTM6 表达,以及与化疗敏感性的关系,旨在为 LSCC 的靶向治疗和化疗方案选择提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2019 年 8 月本院收治的 117 例 LSCC 患者作为研究对象。纳入标准:(1)经病理检查确诊为 LSCC;(2)年龄≥18 岁;(3)初诊且喉次全切除术或喉全切除术后行化疗治疗;(4)临床资料完整。排除标准:(1)喉转移瘤或合并其他部位恶性肿瘤;(2)入院前接受过抗肿瘤治疗或术前行放化疗;(3)医院内死亡;(4)合并全身性感染性疾病和血液系统、免疫系统疾病;(5)拒绝接受随访。本研究经医院伦理委员会批准,所有患者或家属知情并签署知情同意书。LSCC 患者一般资料见表 1。

表 1 117 例 LSCC 患者一般资料

项目	n(%)/ $\bar{x}\pm s$	项目	n(%)/ $\bar{x}\pm s$
性别		分化程度	
男	82(70.09)	低分化	45(38.46)
女	35(29.91)	中、高分化	72(61.54)
年龄(岁)	60.58±5.62	TNM 分期	
吸烟	48(41.03)	I 期	38(32.48)
饮酒	40(34.19)	II 期	36(30.77)
肿瘤最大径(cm)		III 期	24(20.51)
≥2	82(70.09)	IV 期	19(16.24)
<2	35(29.91)	淋巴结转移	43(36.75)

1.2 方法 所有患者均先行手术治疗,术中留取部

分癌组织和癌旁组织,以生理盐水清晰后于液氮保存,术后按照《喉癌外科手术及综合治疗专家共识》^[10]接受 TP 方案(紫杉醇+顺铂)化疗。取出冻存组织研磨成末,按照 Trizol 试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)说明书提取组织中总 RNA,琼脂糖电泳确认 RNA 纯度后再按照 Takara 逆转录试剂盒(北京宝日医生物技术有限公司)说明书将 2 μg RNA 逆转录为 cDNA。按照荧光定量 PCR(RT-qPCR)试剂盒(北京百迈客生物科技有限公司)说明书配制 PCR 反应体系(20.0 μL):cDNA 模板 1.0 μL、2×Master mix 8 μL、正向引物 0.5 μL、反向引物 0.5 μL、SYBR Premix Ex Taq 5.0 μL、RNase-free ddH₂O 5.0 μL。SEPT2 引物:正向 5'-CGTGGAGAAGAATTGGGC-3',反向 5'-CGTGGAGAAGAATTGGGC-3';CMTM6 引物:正向 5'-AGGCAATAGGTCAGTAAGGTCAGTAGG-3',反向 5'-GTCCAGAAGCAGTCAGTCTCAAGTC-3';内参 GAPDH 引物:正向 5'-AGATCTC-CAGTGGCTGG-3',反向 5'-TAGGGACATGATATGCTGT-3'。于 LightCycler 440 型 RT-qPCR 仪(瑞士罗氏公司)上进行 PCR 反应,反应条件:95 ℃ 10 min,1 个循环,95 ℃ 15 s、60 ℃ 60 s、72 ℃ 60 s,45 个循环。记录 Ct 值,以 2^{-ΔΔCt} 法计算组织中 SEPT2、CMTM6 的 mRNA 相对表达水平。

1.3 观察指标 (1)疗效评价:根据文献^[11]评价。完全缓解:所有病灶消失;部分缓解:病灶直径总和缩小≥30%,维持>4 周;疾病稳定:病灶直径总和缩小<30%,增加<20%,维持>4 周;疾病进展:病灶直径总和增加≥20%或出现新病灶。(2)随访:患者出院后通过门诊或电话随访 3 年,统计患者生存情况。根据 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达均值分为 SEPT2 mRNA 高表达组和 SEPT2 mRNA 低表达组、CMTM6 mRNA 高表达组和 CMTM6 mRNA 低表达组,比较不同 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达 LSCC 患者客观缓解率和生存情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS28.0 统计学软件分析数据,计数资料以率或构成比表示,采用 χ^2 检验进行比较;计量资料经检验均呈正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验进行比较;采用 K-M 法绘制生存曲线,分析不同 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达 LSCC 患者的生存情况,生存率比较采用 Log-rank 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LSCC 组织与癌旁组织中 SEPT2 mRNA、

CMTM6 mRNA 表达比较 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 相对表达水平高于癌旁组织($P<0.05$)。见表 2。

2.2 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与临床病理特征的关系 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与 LSCC 的 TNM 分期和淋巴结转移有关($P<0.05$),与性别、年龄、吸烟、饮酒、肿瘤最大径和分化程度无关($P>0.05$)。见表 3。

表 2 LSCC 组织与癌旁组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	SEPT2 mRNA	CMTM6 mRNA
癌组织	117	1.18±0.29	1.86±0.43
癌旁组织	117	0.75±0.10	1.25±0.20
<i>t</i>		15.231	13.777
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 3 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与临床病理特征的关系($\bar{x}\pm s$)							
项目	<i>n</i>	SEPT2 mRNA			CMTM6 mRNA		
		相对表达水平	<i>t</i>	<i>P</i>	相对表达水平	<i>t</i>	<i>P</i>
性别			0.059	0.953		0.154	0.878
男	82	1.18±0.29			1.86±0.45		
女	35	1.18±0.30			1.85±0.40		
年龄(岁)			0.372	0.710		0.445	0.657
≥60	77	1.19±0.29			1.87±0.45		
<60	40	1.17±0.30			1.83±0.40		
吸烟			1.004	0.318		1.150	0.253
是	48	1.21±0.30			1.91±0.46		
否	69	1.16±0.28			1.82±0.41		
饮酒			1.198	0.233		0.859	0.392
是	40	1.22±0.32			1.90±0.45		
否	77	1.16±0.27			1.83±0.42		
肿瘤最大径(cm)			1.286	0.201		1.277	0.204
≥2	82	1.20±0.30			1.89±0.43		
<2	35	1.13±0.26			1.78±0.43		
分化程度			1.777	0.078		1.887	0.062
低分化	45	1.24±0.31			1.95±0.43		
中、高分化	72	1.14±0.27			1.80±0.42		
TNM 分期			2.132	0.035		2.150	0.034
I ~ II 期	74	1.14±0.27			1.79±0.45		
III ~ IV 期	43	1.25±0.32			1.97±0.38		
淋巴结转移			2.843	0.005		2.859	0.005
有	43	1.28±0.32			2.00±0.43		
无	74	1.12±0.26			1.77±0.41		

2.3 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与化疗敏感性的关系 根据 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达水平均值分为 SEPT2 mRNA 高表达组($\geq 1.18, n=56$)和 SEPT2 mRNA 低表达组($<1.18, n=61$)、CMTM6 mRNA 高表达组($\geq 1.86, n=54$)和 CMTM6 mRNA 低表达组($<1.86, n=63$),结果显示,SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 高表达组的客观缓解率低于 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 低表达组($P<0.05$)。见

表 4、5。

2.4 LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与预后的关系 117 例 LSCC 患者随访 4~36 个月,失访 5 例,死亡 29 例,3 年总生存率为 75.21%(88/117)。K-M 生存曲线分析显示,SEPT2 mRNA 高表达组总生存率[66.07%(37/56)]低于 SEPT2 mRNA 低表达组[83.61%(51/61)];CMTM6 mRNA 高表达组总生存率[66.67%(36/54)]低于 CMTM6 mRNA 低表达组[82.54%(52/63)],差异有

统计学意义(Log-rank $\chi^2=5.571, 5.107, P=0.018、0.024$)。见图 1。

表 4 不同 SEPT2 mRNA 表达 LSCC 患者客观缓解率比较[n(%)]

组别	n	完全缓解	部分缓解	稳定	疾病进展	客观缓解
SEPT2 mRNA 高表达组	56	10(17.86)	14(25.00)	18(32.14)	14(25.00)	24(42.86) ^a
SEPT2 mRNA 低表达组	61	23(37.70)	24(39.34)	8(13.11)	6(9.84)	47(77.05)

注:与 SEPT2 mRNA 低表达组比较, $\chi^2=14.307, ^aP<0.001$ 。

表 5 不同 CMTM6 mRNA 表达 LSCC 患者客观缓解率比较[n(%)]

组别	n	完全缓解	部分缓解	稳定	疾病进展	客观缓解
CMTM6 mRNA 高表达组	54	10(18.52)	12(22.22)	15(27.78)	17(31.48)	22(40.74) ^a
CMTM6 mRNA 低表达组	63	24(38.10)	25(39.68)	7(11.11)	7(11.11)	49(77.78)

注:与 CMTM6 mRNA 低表达组比较, $\chi^2=16.718, ^aP<0.001$ 。

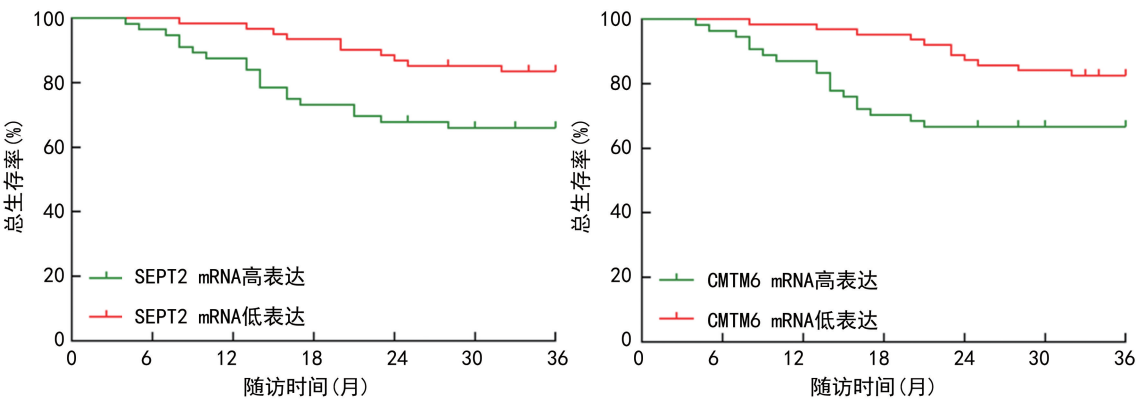


图 1 LSCC 组织中不同 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达患者 K-M 生存曲线

3 讨 论

喉癌是起源于喉黏膜上皮组织的恶性肿瘤,其中 90%以上为 LSCC,由于喉部与人的外貌、营养和社交互动等密切相关,因此 LSCC 不仅会影响患者寿命,还可因喉部结构损害和功能障碍降低患者生命质量^[12]。化疗是 LSCC 治疗中不可或缺的手段,然而临床实践中部分患者对化疗药物耐药、继发耐药和化疗抵抗,导致 LSCC 治疗失败和预后不良^[13],研究 LSCC 化疗敏感性的发生机制对指导筛选患者人群和提高化疗效果具有重要意义。

SEPT 家族是一类介导细胞骨架网络的组织和动力学调控的 GTP 酶,SEPT2 是 SEPT 家族重要成员,能与肌动蛋白形成螺旋式或圈形的纤维束,维持肌动蛋白束中稳定性,当细胞骨架损伤引起肌动蛋白组装活跃时,SEPT2 与肌动蛋白分裂后会影肌动蛋白稳定性,导致细胞骨架异常^[14-15]。基于 SEPT2 对细胞骨架间的重要作用,近年多项研究报道了 SEPT2 与结直肠癌、胃癌等恶性肿瘤的关系^[16-17]。本研究结果显示,LSCC 组织中 SEPT2 mRNA 表达上调,这与既往研究报道一致^[7],分析原因可能是 LSCC 细胞骨架异常改变导致肌动蛋白组装活跃,引起 SEPT2 与肌

动蛋白分裂,促进 SEPT2 表达。本研究结果还显示,LSCC 组织中 SEPT2 mRNA 表达与 TNM 分期和淋巴结转移有关,同时 SEPT2 mRNA 高表达组客观缓解率显著降低,提示 SEPT2 mRNA 高表达参与 LSCC 发展,与化疗敏感性降低有关。

CMTM6 是 CMTM 超家族成员,主要表达于免疫器官,能通过结合 PD-L1 防止其被靶向降解,增强免疫系统抑制,帮助肿瘤细胞免疫逃逸^[18]。本研究结果显示,LSCC 组织中 CMTM6 mRNA 表达上调,分析与肿瘤激活 CMTM6 启动免疫逃逸有关,与既往报道结果一致^[8]。本研究结果还显示,LSCC 组织中 CMTM6 mRNA 表达与 TNM 分期和淋巴结转移有关,同时 CMTM6 mRNA 高表达组客观缓解率显著降低,提示 CMTM6 可能参与 LSCC 的发展,与化疗敏感性降低有关。本研究通过随访发现,SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 高表达患者 3 年总生存率显著降低,提示 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 表达与 LSCC 患者预后有关,二者可能作为 LSCC 患者预后潜在预测指标。

综上所述,LSCC 组织中 SEPT2 mRNA、CMTM6 mRNA 高表达与临床病理特征、化疗敏感性

和预后有关,但本研究结果还需多中心研究证实。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] 王朝阳, 桂琳, 何小慧, 等. 头颈鳞状细胞癌新辅助免疫治疗进展[J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2022, 46(3): 134-139.

[3] CISZEWSKI W M, WAWRO M E, SACEWICZ-HOFMAN I, et al. Cytoskeleton reorganization in EndMT: the role in cancer and fibrotic diseases[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11607.

[4] 杨芙蓉, 张雨婷, 陈志鹏, 等. 肿瘤代谢介导的免疫逃逸及血管生成研究进展[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(6): 756-760.

[5] 张家静, 杨洋, 刘莹, 等. Septin 蛋白的生理功能及其对相关疾病发生发展的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2018, 40(8): 1392-1401.

[6] 邓丹, 杨帆. 趋化素样因子超家族 6 的研究新进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(12): 2172-2176.

[7] LI M, LI X, ZHANG Y, et al. Micropeptide MIAC inhibits HNSCC progression by interacting with aquaporin 2[J]. J Am Chem Soc, 2020, 142(14): 6708-6716.

[8] ZHU S W, WANG S, WU Z Z, et al. Overexpression of CD168 is related to poor prognosis in oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Dis, 2022, 28(2): 364-372.

[9] AMIN M B, EDGE S B, GREENE F L, et al. AJCC cancer staging manual[M]. 8th ed. New York: Springer, 2017: 155-156.

[10] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会头颈外科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会头颈学组, 李晓明. 喉癌外科手术及综合治疗专家共识[J]. 中华耳鼻咽喉头颈

外科杂志, 2014, 49(8): 620-626.

[11] EISENHAUER E A, THERASSE P, BOGAERTS J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(2): 228-247.

[12] 中国医师协会放射肿瘤治疗医师分会, 中华医学会放射肿瘤治疗学分会, 中国抗癌协会肿瘤放射治疗专业委员会. 中国头颈部肿瘤放射治疗指南(2021 年版)[J]. 国际肿瘤学杂志, 2022, 49(2): 65-72.

[13] 刘坤, 顾湘, 陈南翔, 等. 头颈部恶性肿瘤患者肿瘤药物敏感性检测的临床意义[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2022, 36(3): 205-211.

[14] SPILIOTIS E T, NAKOS K. Cellular functions of actin- and microtubule-associated septins[J]. Curr Biol, 2021, 31(10): R651-R666.

[15] SCHMIDT K, NICHOLS B J. Functional interdependence between septin and actin cytoskeleton[J]. BMC Cell Biol, 2004, 5(1): 43.

[16] SONG K, YU P, ZHANG C, et al. The lncRNA FGD5-AS1/miR-497-5p axis regulates septin 2 (SEPT2) to accelerate cancer progression and increase cisplatin-resistance in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Mol Carcinog, 2021, 60(7): 469-480.

[17] 肖宽诚. 肿瘤免疫与肿瘤免疫逃逸概述[J]. 生物学教学, 2020, 45(9): 73-75.

[18] 袁萌钰, 郭志娟. 趋化素样因子 MARVEL 跨膜结构域家族成员 4/6 作为程序性死亡受体配体 1 调节因子的研究进展[J]. 癌症进展, 2022, 20(1): 8-11.

[19] CHEN L, YANG Q C, LI Y C, et al. Targeting CMTM6 suppresses stem cell-like properties and enhances antitumor immunity in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(2): 179-191.

(收稿日期: 2022-09-28 修回日期: 2023-02-02)

(上接第 1074 页)

[18] KONG X, LI J, CAI Y, et al. A modified TNM staging system for non-metastatic colorectal cancer based on nomogram analysis of SEER database[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 50.

[19] 赵之标, 毕明宏, 李国祥. 非小细胞肺癌免疫治疗前后 NLR 和 PLR 变化及对免疫治疗疗效的预测价值[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(4): 613-618.

[20] 王婷, 朱丰林. 非小细胞肺癌 PD-1/PD-L1 免疫治疗疗效

预测研究进展[J]. 海南医学, 2020, 31(13): 1737-1740.

[21] 孙静玮, 王俊. 陈列平: 开启“免疫正常化”肿瘤免疫治疗新纪元[J]. 自然杂志, 2019, 41(2): 144-150.

[22] 张智博, 李晔, 袁方, 等. 免疫检查点抑制剂治疗 EGFR-TKI 耐药晚期非小细胞肺癌的疗效及不良反应[J]. 中国肿瘤临床, 2020, 47(1): 20-24.

(收稿日期: 2022-09-12 修回日期: 2022-12-31)