

CD155 在口腔鳞癌组织中的表达及 对细胞迁移、增殖和侵袭的影响

张佳佳, 艾尔法提·艾麦尔, 郭超杰, 王晖予, 方桃莉, 徐江
(石河子大学第一附属医院口腔科, 石河子 832000)

摘要 目的 探索口腔鳞状细胞癌(OSCC)组织中脊髓灰质炎病毒受体(CD155)的表达及临床意义,探讨 CD155 对 OSCC 细胞迁移、增殖和侵袭的影响。方法 使用免疫组织化学法(IHC)验证 OSCC 组织中 CD155 的表达, χ^2 检验,COX 回归分析 CD155 的表达与 OSCC 患者临床病理特征和预后的关系。通过蛋白免疫印迹(Western blot)和实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)验证 CD155 在 OSCC 细胞系中的转录水平。转染 CD155 干扰 RNA 后,通过体外细胞实验验证 CD155 对人舌鳞癌 SCC15 细胞的生物行为功能的影响。结果 CD155 在 OSCC 组织中主要表达于细胞膜,与癌旁正常组织相比表达显著升高($\chi^2 = 50.750, P < 0.0001$);在 III + IV 期($\chi^2 = 25.488, P = 0.001$)、中低分化($\chi^2 = 6.299, P = 0.012$)及 T3 + T4 浸润深度($\chi^2 = 23.820, P = 0.001$)、有淋巴结转移($\chi^2 = 7.830, P = 0.005$)的患者中 CD155 的高表达率较高;高表达 CD155 与患者生存期较短有关($P < 0.05$);单因素和多因素 COX 回归分析显示:淋巴结转移是影响 OSCC 患者生存期较短的独立影响因素($P < 0.05$)。OSCC 细胞中 CD155 蛋白表达及 mRNA 转录水平显著上调($P < 0.05$)。在转染 siRNA-CD155 的 SCC15 细胞中,实验组的增殖、迁移和侵袭能力显著低于对照组($P < 0.05$)。结论 CD155 在 OSCC 患者癌组织中表达较高,与患者预后不良相关;干扰 CD155 表达可对 OSCC 细胞生物学功能产生影响,抑制细胞增殖、迁移和侵袭的能力。

关键词 口腔鳞状细胞癌;CD155;细胞迁移;细胞增殖;细胞侵袭

中图分类号 R 780.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1752-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.009

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)约占口腔恶性肿瘤的 90%^[1],是全球第六大最常见的上皮恶性肿瘤,具有高发病率和病死率的特点^[2]。因此,寻找有效的治疗靶点或预后生物标志物具有重要意义。脊髓灰质炎病毒受体 CD155 属于免疫球蛋白超家族中的成员,在细胞内在作用中以膜结合和可溶形式促进细胞的黏附、运动、接触抑制、增殖和存活等^[3]。研究^[4-6]表明 CD155 在多种类型的恶性肿瘤组织中表达上调,其过表达与不良预后相关,并参与调控细胞发育,介导多种信号及通路影响肿瘤增殖、迁移和侵袭能力以促进肿瘤发展。然而 CD155 在口腔鳞癌发生发展的作用尚不明确,有待进一步探究。该研究旨在探讨 CD155 在口腔鳞癌中的表达及临床意义,探索 CD155 的表达水平对 OSCC 细胞生物学功能的影响,为寻找 OSCC

潜在预后生物标志物提供一定实验理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例资料 收集 2008—2021 年就诊于石河子大学第一附属医院口腔医学中心颌面外科并诊断为 OSCC 患者的组织蜡块。共收集癌组织样本 116 例,相对应正常组织样本 69 例(距离癌组织 ≥ 2 cm),调取临床资料包括性别、年龄、肿瘤分化程度、TNM 分期等信息。后期据医院病历、电话等方式进行随访(截至 2023 年 7 月或死亡日期),失访 8 例。这项回顾性研究符合石河子大学第一附属医院伦理委员会的标准(编号:KXJ202205401)。

1.1.2 细胞及主要试剂 人正常口腔角质细胞 HOK 细胞购自河北北纳生物科技有限公司,OSCC 细胞系 SCC15 和 CAL27(美国 ATCC 细胞库)。CD155 单克隆抗体(美国 Abcam 生物公司,货号 ab267788),免疫组化试剂、 β -actin 抗体和 HRP-山羊抗鼠/兔(北京中杉金桥有限公司,货号 TA-09-ZB2305/ZB2301),10% SDS 快速制胶试剂盒(上海雅酶生物科技有限公司),CD155 引物序列(上海生物工

2024-06-05 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82160572);2023 年新疆生产建设兵团研究生教育创新项目(编号:BT2023052)

作者简介:张佳佳,女,硕士研究生;

徐江,男,主任医师,硕士生导师,通信作者,E-mail:1437759520@qq.com

程有限公司), siRNA-CD155 和 si-NC 序列(上海吉玛制药技术有限公司), CCK-8 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技公司, 货号 E-CK-A362), PCR 转录试剂(北京宝日医生物技术公司, 货号 RR047A)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学法 (immunohistochemistry, IHC) 烤片, 脱蜡, 高压 EDTA 液微波修复, 滴加抑制酶避光孵育 10 min, PBS 溶液冲洗后滴加配置的 CD155 抗体(配比 1 : 500), 室温孵育 12 h; 第 2 天在 37 °C 烘箱复温 30 min, PBS 溶液冲洗后孵育二抗(配比 1 : 1 000) 2 h, 再次冲洗, 随后显色、复染和酸酒精分化, 最后树胶封片。阅片由 2 位病理医师进行阅片评分, 终评分 = 组织染色强度评分 × 阳性细胞占比评分, 结果: 0 ~ 1 分为阴性, 2 ~ 4 分为弱阳性, 5 ~ 8 分为阳性, 9 ~ 12 分为强阳性。

1.2.2 Western blot 法 冰上提取细胞蛋白, 制备 10 % 电泳凝胶板, 电泳和转膜时间为 90 min, 快速封闭液封闭 20 min, 滴加配置的一抗预混液(CD155 配比 1 : 1 000, β -actin 配比 1 : 5 000), 4 °C 静孵过夜, 14 h 后滴加二抗预混液(配比 1 : 20 000) 继续孵育 2 h, 1 × TBST 溶液洗膜后用化学发光仪进行影像曝光, 使用 Image J 软件进行影像灰度值分析。

1.2.3 qRT-PCR 法 加入 1 ml TRIzol 试剂提取细胞 mRNA, 测定 mRNA 样品浓度, 行 RNA-gDNA 逆转录, 使用 SYBR Green Real-time PCR 上机扩增, 记录结果。CD155 引物序列如下: F-GCGTAGAGGAT-GAAGGCAACT; R-CAAGCACTCGGAGCCAGAT; β -actin 引物序列如下: F-CCTGGCACCCAGCACAAT; R-GGGCCGGACTCGTCATAC。

1.2.4 细胞转染 设置阴性对照组(NC)及实验组 siRNA-CD155 (siRNA-1# 及 2#), 铺板 24 h 后, 使用脂质体 2000 进行转染, 用 Western blot 和 RT-qPCR 法检测转染效率。siRNA-1 #: GGACAAACCAAU-

CAACACATT; siRNA-2 #: GGUAUCCAUCUCUGGC-UAUTT; NC: UGACCUCAACUACAUGGUUTT;

1.2.5 细胞增殖实验 细胞转染 24 h 后种于 96 孔板中, 按照 CCK-8 试剂说明书进行浓度配比(配比 1 : 10), 避光加入后反应 2 h, 并每间隔 24 h 加入配比试剂, 测定各时间点的吸光度值(OD 值 = 450 nm), 并记录数据。

1.2.6 细胞侵袭实验 稀释 Matrigel 胶, 铺胶, 水化, 接种 4×10^4 个细胞于小室中, 下层加入 20% 胎牛血清的培养基, 培养 48 h 后, 甲醇固定, 染色 20 min, 在光学显微镜下选取 5 个随机视野观察拍照($\times 200$) 并使用 Image J 软件进行定量。

1.2.7 细胞划痕实验 在 6 孔板用 200 μ l 吸头垂直底壁均匀划出直线, 缓冲液清洗, 使用显微镜拍摄 0、12、24 及 36 h 划痕愈合情况, 在不同时间点挑选 3 个固定视野进行拍摄。借助 Image J 软件对照片的划痕愈合距离进行量化, 并做统计学分析。

1.3 统计学处理 使用 GraphPad Prism 9.0 绘图、Image J 软件和 SPSS 26.0 进行数据处理和统计分析。数据为计数资料, 两独立样本均数之间比较采用 *t* 检验; 两样本率的比较采用四格表 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法检验; Kaplan-Meier 绘制 CD155 表达与 OSCC 生存关系曲线, Log-rank 检验进行生存分析比较; 采用 COX 回归风险模型分析相关指标能否成为独立预后因素, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD155 在口腔鳞癌和癌旁组织中的表达情况 IHC 结果显示 CD155 主要定位表达于肿瘤细胞的细胞膜, 在癌旁正常组织中基本不表达(图 1)。在 OSCC 组织及癌旁正常组织中 CD155 表达阳性率分别是 65.52 % 和 11.59 %, OSCC 组织中表达显著高于癌旁正常组织($\chi^2 = 50.75$, $P < 0.0001$)

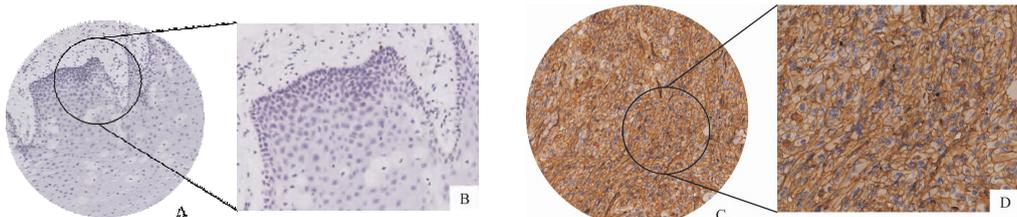


图 1 CD155 在 OSCC 组织中的表达

Fig.1 Expression of CD155 in OSCC

A, B: The expression of CD155 in normal tissues; C, D: The expression of CD155 in OSCC; A, C $\times 5$; B, D $\times 200$.

(表1)。

2.2 OSCC 中 CD155 的表达与临床病理参数间的关系 CD155 的表达与在 OSCC 患者的肿瘤临床分期,分化程度,浸润深度,淋巴结转移具有相关性($P < 0.05$),而与年龄、性别、远处转移无相关性(表2)。

2.3 CD155 与 OSCC 患者生存预后的关系 Kaplan-Meier 生存曲线结果显示,CD155 高表达的 OSCC 患者总体生存时间低于 CD155 低表达的患者($HR = 0.544, P < 0.001$)(图2)。单因素 COX 回归分析显示,分化程度、临床分期、CD155 表达是影响 OSCC 患者总生存期的危险因素;多因素 COX 回归分析显示淋巴结转移是影响 OSCC 患者生存时间

的独立危险因素($P < 0.05$)(表3)。

2.4 CD155 在 OSCC 细胞中的转录水平 Western blot 结果显示,CD155 蛋白在 OSCC 细胞中表达含量明显增高($t_{SCC15} = 10.43, t_{CAL27} = 12.68, P < 0.05$)(图3A,3B)。RT-qPCR 实验结果显示,OSCC 细胞中 CD155 mRNA 转录水平表达含量显著高于对照组($t_{SCC15} = 5.825, t_{CAL27} = 7.966, P < 0.05$),差异均有统计学意义(图3C)。

2.5 转染后 CD155 在 OSCC 细胞中的转录水平 选择将 siRNA-CD155 转染至状态更好的 SCC15 细胞中,运用 Western blot 和 RT-qPCR 验证转染效率,选取干扰效果最好的 siRNA-2#组(图4)进行后续实验($F = 0.049, t = 34.56, P < 0.001$)。

表1 CD155 在 OSCC 组织与癌旁正常组织的表达[n(%)]

Tab.1 The expression of CD155 in OSCC tissues and adjacent normal tissues[n(%)]

Tissues	n	CD155		χ^2 value	P value
		Low expression	High expression		
Adjacent normal tissues	69	61(88.41)	8(11.59)	50.75	0.0001
OSCC tissues	116	40(34.48)	76(65.52)		

表2 CD155 表达与临床病理参数的相关性[n(%)]

Tab.2 The correlation between CD155 expression and clinicopathological parameters[n(%)]

Item	n	CD155		χ^2 value	P value
		Low expression	High expression		
Gender				0.112	0.738
Male	57	22(38.60)	35(61.40)		
Female	59	21(35.60)	38(64.40)		
Age(Year)				0.002	0.960
<70	57	21(36.84)	36(63.16)		
≥70	59	22(37.29)	37(62.71)		
Clinical stage				25.488	0.001
I + II	59	35(59.32)	24(40.68)		
III + IV	57	8(14.04)	49(85.96)		
Tumor differentiation				6.299	0.012
High differentiation	50	25(50.00)	25(50.00)		
Low-middle differentiation	66	18(27.27)	48(72.73)		
Infiltrating degree				23.820	0.001
T1 + T2	63	36(57.14)	27(42.86)		
T3 + T4	53	7(13.21)	46(86.79)		
Lymphatic metastasis				7.830	0.005
Without Metastasis	92	40(43.48)	52(56.52)		
Metastasis	24	3(12.50)	21(87.50)		
Distant metastasis				2.826	0.093
M0	113	43(38.05)	70(61.95)		
M1	3	0(0)	3(100.00)		
Survival status				4.499	0.034
Alive	59	26(44.07)	33(55.93)		
Death	49	12(24.49)	37(75.51)		

表 3 OSCC 的 COX 回归分析
Tab.3 COX regression analysis of OSCC

Factor	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI	P value
Gender	0.998	0.565 – 1.762	0.995			
Age	0.707	0.399 – 1.253	0.235			
Differentiation	1.358	1.032 – 1.788	0.029	1.290	0.956 – 1.740	0.096
Clinical stages	2.082	1.153 – 3.758	0.015	1.186	0.558 – 2.524	0.657
Infiltrating degree	1.614	0.914 – 2.848	0.099			
Lymphatic metastasis	2.402	1.329 – 4.341	0.004	2.402	1.048 – 5.502	0.038
Distant metastasis	3.880	1.183 – 12.723	0.025	1.444	0.384 – 5.426	0.586
Expression of CD155	2.284	1.185 – 4.401	0.014	1.472	0.690 – 3.143	0.318

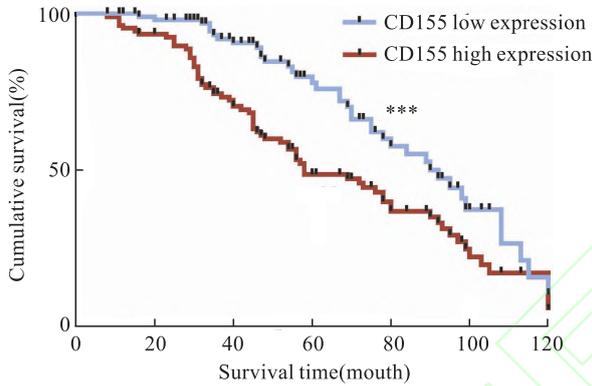


图 2 CD155 蛋白表达水平与 OSCC 患者生存分析图
Fig.2 CD155 protein expression level and survival analysis of OSCC patients

*** $P < 0.001$ vs CD155 high expression group.

2.6 沉默 CD155 对 OSCC 细胞增殖的影响

CCK-8 增殖实验结果显示,与 NC 组相比,转染 siRNA-CD155 的实验组细胞增殖率降低,细胞增殖能力减弱($P < 0.05$)。培养 24 h siRNA 组与 NC 组细

胞增殖能力已出现明显差异($F = 6.321, t = 9.765, P < 0.01$),随着时间增加,48 h($F = 2.990, t = 8.477, P < 0.01$)和 72 h($F = 1.060, t = 26.522, P < 0.001$)沉默 CD155 后的细胞增殖能力均低于 NC 组细胞。提示沉默 CD155 表达后可以抑制 OSCC 细胞的增殖能力(图 5)。

2.7 沉默 CD155 对 OSCC 细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示,与 NC 组相比,培养 36 h 后沉默 CD155 表达的 SCC15 细胞迁移速度明显减慢,Image J 量化统计分析,显示差异有统计学意义($F = 0.491, t = 10.52, P < 0.05$) (图 6)。提示干扰 CD155 后可以抑制 OSCC 细胞的迁移能力。

2.8 沉默 CD155 对 OSCC 细胞侵袭能力的影响

Transwell 侵袭实验结果显示,与 NC 组相比,有效转染 siRNA-CD155 的 SCC15 细胞培养 48 h 后,细胞侵袭能力明显减弱($F = 1.926, t = 13.25, P < 0.05$)。表明沉默 CD155 后可以抑制 SCC15 细胞侵袭能力,进一步说明 CD155 可能具有促进 OSCC 细胞发生发展的能力,发挥促癌因子的功能(图 7)。

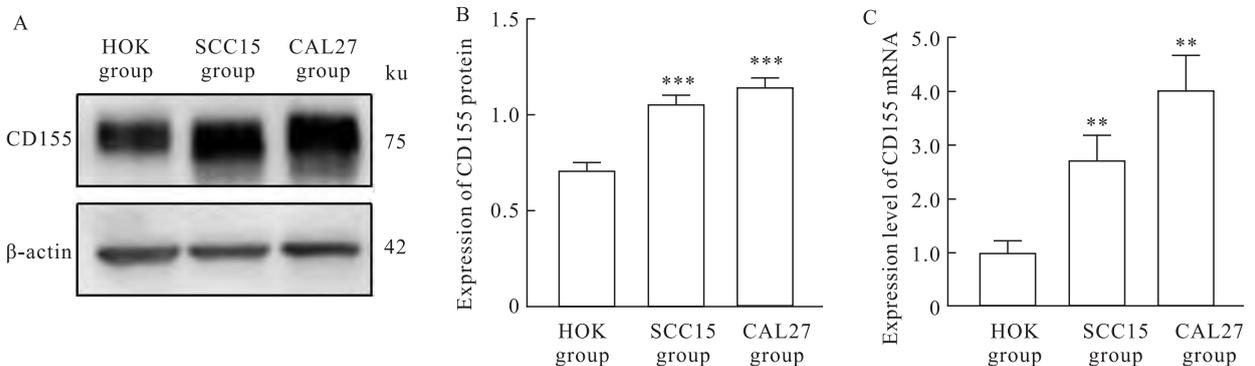


图 3 CD155 在 OSCC 细胞的转录水平

Fig.3 Transcriptional levels of CD155 in OSCC cells

A: Western blot detection of CD155 protein expression band; B: CD155 protein gray value statistical results; C: CD155mRNA transcription results in cells; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs HOK group.

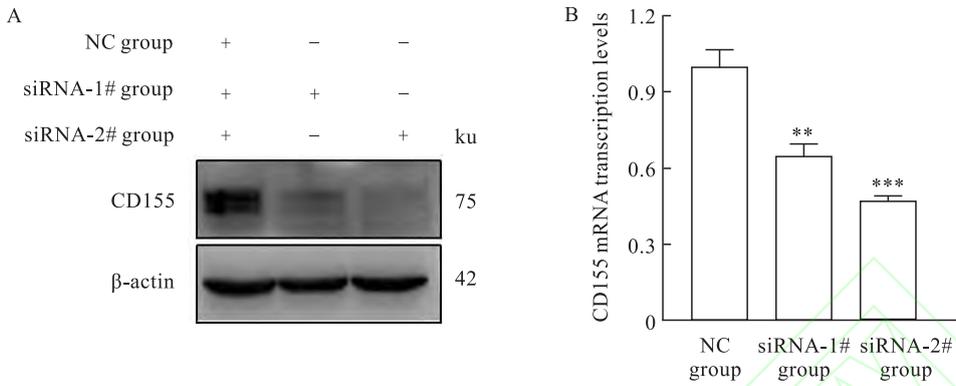


图4 siRNA-CD155 在 OSCC 中表达情况

Fig. 4 Expression of siRNA-CD155 in OSCC

A: siRNA-CD155 protein expression band diagram in OSCC cells; B: siRNA-CD155 mRNA expression statistical result diagram in OSCC cells; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs NC group.

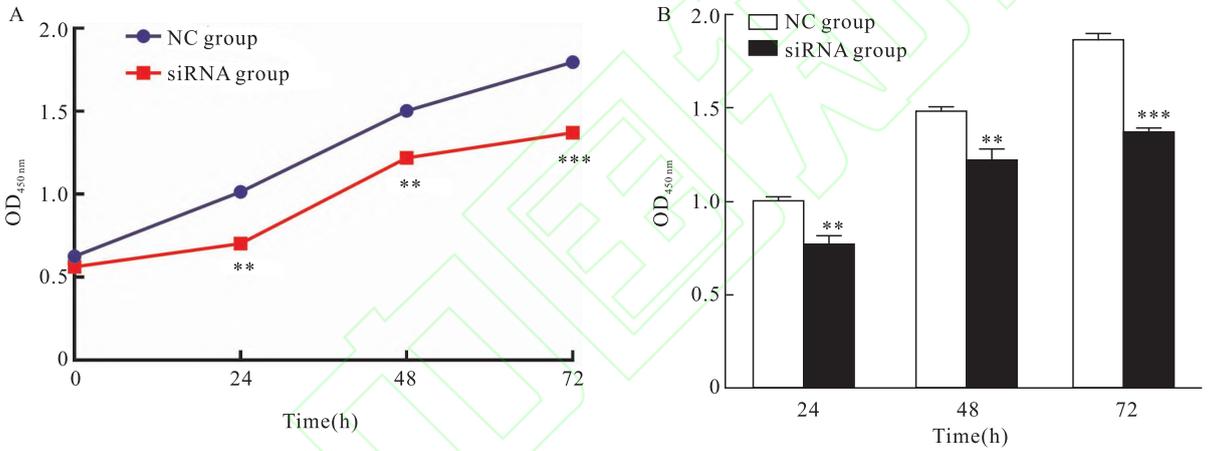


图5 干扰 CD155 后 OSCC 细胞的增殖能力

Fig. 5 Proliferation ability of OSCC cells after interfering with CD155

A: A line chart of OSCC cell proliferation ability after silencing CD155; B: Statistical quantitative map of OSCC cell proliferation ability after silencing CD155; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs NC group.

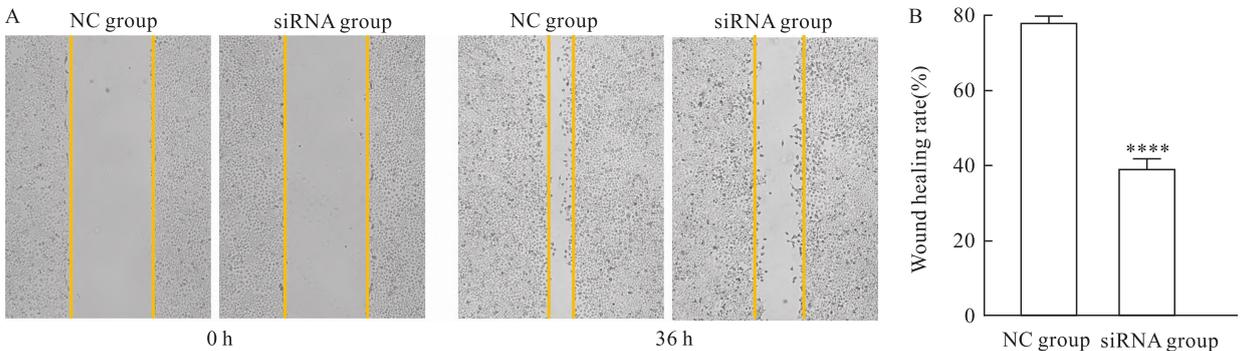


图6 干扰 CD155 后 OSCC 细胞的迁移能力

Fig. 6 The migration ability of OSCC cells after interference with CD155

A: OSCC cell migration ability map after silencing CD155 $\times 100$; B: Statistical quantitative map of OSCC cell migration ability after silencing CD155; **** $P < 0.0001$ vs NC group.

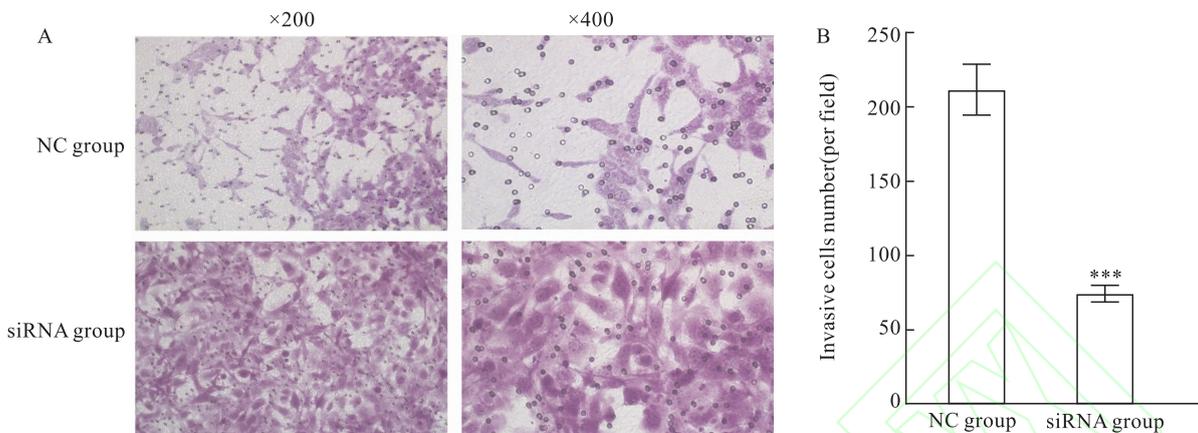


图7 干扰 CD155 后 OSCC 细胞的侵袭能力

Fig. 7 The invasion ability of OSCC cells after interference with CD155

A: OSCC cell invasion ability map after silencing CD155; B: Statistical quantitative map of OSCC cell invasion ability after silencing CD155;

*** $P < 0.001$ vs NC group.

3 讨论

OSCC 因其快速侵袭及转移的特点,具有较高的发生率和病死率,OSCC 的发生受多种因素影响,患者预后结局不同^[7]。因此,研究 OSCC 发生发展机制,寻找影响 OSCC 预后的有效生物标志物和分子治疗靶点是当前医疗的需求。目前 CD155 在 OSCC 组织中的表达及对 OSCC 细胞生物学行为的研究尚少。在该研究中,免疫组化实验显示 CD155 在 OSCC 组织中表达显著升高,其高表达与患者肿瘤的临床分期差、淋巴结转移率高、细胞分化程度低相关,而高表达 CD155 的患者生存期也相对缩短,这与骨肉瘤中研究^[8]结果一致。经单因素和多因素 COX 分析表明 CD155 表达是影响 OSCC 患者生存时间和状态的重要因素,但不是独立因素,而淋巴结转移是影响 OSCC 患者生存的独立预后因素。以上结果表明 CD155 高表达与 OSCC 患者预后不良相关,可作为预测 OSCC 预后状况的潜在生物标志物,与 Murakami et al^[9]在结直肠癌中得出结果一致。

CD155 及家族在细胞生理过程中发挥着重要作用。CD155 可以和 Necl-3 反式连接促进细胞的黏附,并结合 Necl-2 促进细胞骨架构成并参与细胞增殖^[10]。有研究^[11]表明沉默 CD155 后显著降低了宫颈癌细胞增殖,通过调控 AKT/mTOR/NF- κ B 通路增加细胞自噬和凋亡的能力。此外,CD155 可通过调控 SRC/p38 MAPK 信号通路以促进肝细胞的增殖和侵袭^[12]。另有研究^[13]证明在食管鳞癌中

CD155 下调可抑制其对癌细胞的促癌行为,可联合 PD-1/PD-L1 发挥作用。该研究结果表明了 CD155 的蛋白表达和 mRNA 转录水平在 OSCC 细胞中存在表达上调,为评估 CD155 在肿瘤细胞生物学行为方面发挥的作用,课题组采用 siRNA-CD155 转染 OSCC SCC15 细胞,通过 CCK-8 增殖实验、细胞划痕实验、Transwell 侵袭实验检测结果显示:抑制 CD155 的表达可减弱 OSCC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。说明 CD155 在 OSCC 中发挥着促癌因子的作用,补充了 CD155 在 OSCC 发生发展中作用的相关研究。有研究^[14]表明在口腔舌鳞癌中 TGF- β 1 通过上调 CD155 的表达,激活 ERK1/2 通路,促进舌鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭,该研究 CD155 在 OSCC 中的结果与之一致。这些研究说明 CD155 具有促进 OSCC 恶性行为的作用。

综上所述,该研究初步验证可通过干扰 CD155 的表达抑制 OSCC 细胞的恶性行为,减弱 OSCC 细胞的增殖,迁移及侵袭能力;也验证了 CD155 在 OSCC 组织中过表达,与患者预后较差有关,推测 CD155 在 OSCC 的进展中发挥促癌基因的作用,有望成为 OSCC 不良预后指标和潜在的分子治疗靶点。但对其具体的调控机制还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Singh P,Rai A,Verma A K, et al. Survival-based biomarker module identification associated with oral squamous cell carcinoma (OSCC) [J]. Biology (Basel), 2021, 10(8): 760. doi: 10.3390/biology10080760.

- [2] Mumtaz M, Bijnsdorp I V, Böttger F, et al. Secreted protein markers in oral squamous cell carcinoma (OSCC) [J]. *Clin Proteomics*, 2022, 19(1):4. doi:10.1186/s12014-022-09341-5.
- [3] Molfetta R, Zitti B, Lecce M, et al. CD155; a multi-functional molecule in tumor progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3):922. doi:10.3390/ijms21030922.
- [4] Mori K, Matsumoto K, Amano N, et al. Expression of membranous CD155 is associated with aggressive phenotypes and a poor prognosis in patients with bladder cancer [J]. *Cancers*, 2022, 14(6):1576. doi:10.3390/cancers14061576.
- [5] 周海波, 陈炯, 邬高华, 等. CD155 蛋白在胰腺癌组织和细胞系中的表达及其临床意义 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(8):1294-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.08.029.
- [5] Zhou H B, Chen J, Wu G H. Expression CD155 protein in pancreatic cancer tissues and cell lines and its clinical significance [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2020, 55(8):1294-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.08.029.
- [6] 祁小珍, 石立莹. CD155 依赖 m⁶A 修饰调控宫颈癌细胞的恶性行为 [J]. *天津医科大学学报*, 2022, 28(5):497-502.
- [6] Qi X Z, Shi L Y. CD155-dependent m⁶A modification regulates malignant behavior of cervical cancer cells [J]. *J Tianjin Med Univ*, 2022, 28(5):497-502.
- [7] Bugshan A, Farooq I. Oral squamous cell carcinoma; metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis [J]. *F1000Res*, 2020, 9:229. doi:10.12688/f1000research.22941.1.
- [8] 梁金容, 张雅文, 孙元珏, 等. CD155/TIGIT 在骨肉瘤组织中的表达 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(1):37-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.007.
- [8] Liang J R, Zhang Y W, Sun Y Y, et al. Expression of CD155/TIGIT in osteosarcoma [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(1):37-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.007.
- [9] Murakami D, Matsuda K, Iwamoto H, et al. Prognostic value of CD155/TIGIT expression in patients with colorectal cancer [J]. *PLoS One*, 2022, 17(3):e0265908. doi:10.1371/journal.pone.0265908.
- [10] Lupo K B, Matosevic S. CD155 immunoregulation as a target for natural killer cell immunotherapy in glioblastoma [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):76. doi:10.1186/s13045-020-00913-2.
- [11] Liu L, Wang Y, Geng C, et al. CD155 promotes the progression of cervical cancer cells through AKT/mTOR and NF- κ B pathways [J]. *Front Oncol*, 2021, 11:655302. doi:10.3389/fonc.2021.655302.
- [12] Jin A L, Zhang C Y, Zheng W J, et al. CD155/SRC complex promotes hepatocellular carcinoma progression *via* inhibiting the p38 MAPK signalling pathway and correlates with poor prognosis [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(4):e794. doi:10.1002/ctm2.794.
- [13] Tang X, Yang J, Shi A, et al. CD155 cooperates with PD-1/PD-L1 to promote proliferation of esophageal squamous cancer cells *via* PI3K/Akt and MAPK signaling pathways [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(22):5610. doi:10.3390/cancers14225610.
- [14] 史伟红, 刘严, 刘雪, 等. TGF- β 1 对舌鳞癌细胞生物学行为的影响及机制探讨 [J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2022, 20(5):437-42. doi:10.19438/j.cjoms.2022.05.004.
- [14] Shi W H, Liu Y, Liu X, et al. Activation of ERK1/2 pathway by TGF- β 1 regulation of CD155 expression in squamous cell carcinoma of the tongue [J]. *China J Oral Maxillofac Surg*, 2022, 20(5):437-42. doi:10.19438/j.cjoms.2022.05.004.

The expression of CD155 in oral squamous cell carcinoma tissues and its effects on migration, proliferation and invasion

Zhang Jiajia, Aierfati Aimaier, Guo Chaojie, Wang Huiyu, Fang Taoli, Xu Jiang
(Dept of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)

Abstract Objective To investigate the expression and clinical significance of CD155 in oral squamous cell carcinoma (OSCC) tissues, as well as its impact on migration, proliferation and invasion. **Methods** Immunohistochemistry (IHC) was used to analyze the expression of CD155 in OSCC tissues and its correlation with clinicopathological features and prognosis. The transcription levels of CD155 were assessed by Western blot and RT-qPCR. Cell experiments were conducted to evaluate the effects of CD155 on OSCC cells following transfection with CD155 siRNA. **Results** CD155 was predominantly expressed on the cell membrane in OSCC tissues, with higher expression levels compared to normal tissues ($\chi^2 = 50.750$, $P < 0.0001$). High CD155 expression was associated with III + IV disease stages ($\chi^2 = 25.488$, $P = 0.001$), poor differentiation ($\chi^2 = 6.299$, $P = 0.012$), T3 + T4 depth of invasion ($\chi^2 = 23.820$, $P = 0.001$) and lymph node metastasis ($\chi^2 = 7.830$, $P = 0.005$) in OSCC patients; survival analysis revealed a correlation between high CD155 expression and shorter patient survival ($P < 0.05$). COX regression analysis identified lymph node metastasis as an independent factor affecting the survival of OSCC patients ($P < 0.05$). Both CD155 protein expression and mRNA transcription levels were significantly upregulated

网络出版时间： 网络出版地址：

c-Myc 调控 lncRNA KCTD13-DT 对口腔鳞癌的影响

李文丽¹,朱友明^{1,2},何家才^{1,2}

(¹ 安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,合肥 230032;

²安徽省口腔疾病研究中心实验室,合肥 230032)

摘要 目的 探讨长链非编码 RNA (lncRNAs) lncRNA KCTD13-DT 在口腔鳞癌(OSCC)中的作用机制及与转录因子 c-Myc 的潜在相互作用,为 OSCC 患者提供新的治疗靶点和途径。**方法** 用 qRT-PCR 检测 OSCC 及癌旁组织中 lncRNA KCTD13-DT 的表达。检测敲低和过表达人舌鳞癌细胞 HN6、CAL27 中 c-Myc 后 lncRNA KCTD13-DT 的表达。采用荧光原位杂交实验 (FISH) 检测 lncRNA KCTD13-DT 在细胞内的定位。采用双荧光素酶报告基因分析 c-Myc 与 lncRNA KCTD13-DT 启动子区域的靶向结合作用。通过慢病毒感染的方式在人 OSCC 细胞系 HN6、CAL27 中构建 lncRNA KCTD13-DT 敲低和过表达的稳转细胞系,通过 qRT-PCR 检测 lncRNA KCTD13-DT 的敲低和过表达效率;采用生长曲线实验、CCK-8 法、克隆形成实验检测细胞增殖变化,采用划痕实验和 Transwell 检测细胞迁移情况。**结果** lncRNA KCTD13-DT 在 OSCC 组织和 OSCC 细胞系 (HN6、CAL27) 中表达水平均降低,Western blot 验证在 HN6、CAL27 中敲低和过表达 c-Myc 的效果,实验表明过表达 c-Myc 显著下调 lncRNA KCTD13-DT 水平,敲低 c-Myc 明显上调 lncRNA KCTD13-DT 水平。双荧光素酶报告基因显示 c-Myc 可靶向调控 lncRNA KCTD13-DT,c-Myc 可以参与调节并且抑制 lncRNA KCTD13-DT 的转录活性。FISH 显示 lncRNA KCTD13-DT 主要存在于细胞核中。生长曲线实验、CCK-8 法、细胞划痕实验、Transwell、克隆形成等实验显示,敲低 lncRNA KCTD13-DT 促进 OSCC 细胞的生长增殖,过表达 lncRNA KCTD13-DT 明显抑制 OSCC 细胞增殖与迁移能力。**结论** lncRNA KCTD13-DT 受 c-Myc 负性调控,敲低 lncRNA KCTD13-DT 会促进细胞增殖与迁移,反之则抑制细胞增殖与迁移。

关键词 长链非编码 RNA;c-Myc;口腔鳞癌;细胞增殖;细胞迁移

中图分类号 R 739.86

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1759-10

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.010

长链非编码 RNA (longnoncodingRNA, lncRNA) 是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA。研究^[1]表明,lncRNA 参与了基因组组织和生命过程的广泛功能,如生长和发育、细胞增殖、分化、免疫应答和某些疾病,如癌症和心血管疾病。长期以来一直

认为 c-Myc 是抗癌治疗的理想靶标。然而,由于 c-Myc 难以靶向的特征,已经开发了替代方法,通过靶向参与 c-Myc 失调的必需上游因子或 c-Myc 信号传导的下游效应物来治疗 c-Myc 激活的癌症^[2]。然而目前关于 lncRNA 与口腔癌两者之间关系的研究尚不详细,该研究以人舌鳞癌细胞系 CAL27 为研究对象,建立 CAL27 c-Myc 稳定敲低细胞系,并利用高通量测序技术进行检测,从中筛选出一个表达差异显著且由 c-Myc 负调控的 lncRNA,lncRNA KCTD13-DT (ENST00000450909),确定为后续研究对象。该研究旨在探讨 lncRNA KCTD13-DT 在口腔鳞癌

2024-06-06 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81771117);安徽省自然科学基金项目(编号:2308085Y23)

作者简介:李文丽,女,硕士研究生;

何家才,男,教授,主任医师,博士生导师,通信作者,

E-mail: hejiacai@163.com

in OSCC cells ($P < 0.05$). Transfection with siRNA-CD155 in OSCC cells resulted in significantly reduced proliferation, migration and invasion abilities compared to the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** CD155 is highly expressed in OSCC tissues and is associated with poor patient prognosis. Modulating CD155 expression can influence the biological functions of OSCC cells, leading to and inhibition of proliferation, migration, and invasion.

Key words oral squamous cell carcinoma; CD155; cellular migration; cellular proliferation; cellular invasion

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82160572); 2023 Graduate Education Innovation Project of The Xinjiang Production and Construction Corps (No. BT2023052)

Corresponding author Xu Jiang, E-mail: 1437759520@qq.com