

Y-box 结合蛋白-1 在口腔鳞癌中的表达及作用机制

张宜¹,余笑¹,邵伟²,陈新¹

(¹安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院口腔颌面外科,安徽省口腔疾病研究重点实验室,合肥 230032;²安徽医科大学基础医学院病原生物学教研室,合肥 230032)

摘要 目的 分析口腔鳞癌(OSCC)组织和细胞中 Y-box 结合蛋白-1(YB1)的表达水平及临床意义。方法 采用生物信息学分析、免疫组化、Western blot 及 qRT-PCR 检测 OSCC 组织中 YB1 的表达情况并进行预后及生存分析;构建敲低 YB1 的 OSCC 细胞株,通过 CCK-8、划痕实验和 Transwell 实验检测 YB1 对 OSCC 细胞增殖、迁移和侵袭的影响,并通过 Western blot 检测敲低 YB1 后 磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/AKT) 信号通路及上皮-间充质转化(EMT)相关标志物的表达变化。结果 生物信息学分析显示,YB1 在 OSCC 样本中的表达水平高于正常样本($P<0.001$),且其表达与性别($P=0.022$)、肿瘤分化程度($P<0.001$)有相关性。Kaplan-Meier plotter 生存分析表明,YB1 高表达者生存率低(Log-rank $P=0.012$)。免疫组化、Western blot 及 qRT-PCR 实验验证了 YB1 在 OSCC 组织中的表达水平高于正常组织。细胞实验结果显示,敲低 YB1 抑制 OSCC 细胞增殖、迁移和侵袭等恶性生物学行为。Western blot 检测结果显示,敲低 YB1 能够降低 p-PI3K 和 p-AKT 的蛋白表达水平,并抑制 EMT。结论 YB1 在 OSCC 组织及细胞中高表达,并揭示了 YB1/PI3K/AKT 轴在 OSCC EMT 过程中的重要作用,有望成为 OSCC 早期诊疗、预后评估的新型肿瘤标志物。

关键词 Y-box 结合蛋白-1;口腔鳞癌;增殖;迁移;侵袭;PI3K/AKT 信号通路

中图分类号 R 739.8

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0524-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.019

头颈部鳞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是全球第七大癌症,约60%的患者初诊即为晚期。其中,口腔鳞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)最为常见,经历上皮恶性转化、区域淋巴结及远处转移^[1]。据 WHO 全球癌症观察站^[2]报道,2022 年全球唇癌及口腔癌新发 38 万余例,死亡 18 万余例,中国发病率和病死率均居全球前十。2040 年口腔癌的发病增长率或达 40%,病死率也将持续攀升^[3]。OSCC 传统依赖组织活检诊断,但其五年生存率不足 50%,因此,亟待通过机制研究开发新型生物标志物及个体化治疗策略^[4]。

Y-box 结合蛋白 1(Y-box binding protein-1, YB1/YBX1)是多功能 DNA/RNA 结合蛋白,作为调控肿瘤恶性表型的核心枢纽分子,在多种癌症进展、转移及耐药中发挥关键作用,其血清水平或可作为炎症和癌症的生物标志物^[5]。研究^[6]表明,YB1 通过

抑制 miRNA 成熟、激活促生存通路及重塑免疫微环境驱动肿瘤恶性进展。然而,其在 OSCC 中的功能调控机制尚不明确。本研究旨在阐明 YB1 在 OSCC 中的分子调控网络,为理解肿瘤转移与耐药提供新视角,并为开发靶向 YB1 的精准治疗奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 组织样本收集 本研究经安徽医科大学附属口腔医院伦理委员会批准(编号:K2023011)。收集 2023—2024 年安徽省口腔医院口腔颌面外科 OSCC 组织、癌前病损组织(oral premalignant lesion, OPL)、距癌组织 2 cm 以上的癌旁正常组织(normal oral tissue, NOT)、智齿冠周炎患者的磨牙后区组织及牙周炎患者的牙周组织作为炎症组织(oral inflammatory tissue, OIT),各 4 例,直径约 0.5 cm,所有样本离体后立即放入 EP 管中,−80 °C 保存。记录患者的临床病理资料,包括基本信息(姓名、性别、年龄、病历号、身份证号、现住址、电话、确诊日期等);病理信息(肿瘤部位、体积、送检标本类型、分化程度等);一般情况(身高、体质量、BMI、血压、吸

2025-11-21 接收

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(编号:2023AH050644)

作者简介:张宜,女,硕士研究生;

陈新,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,通信作者,

E-mail:chenxin2672@ahmu.edu.cn

烟史、饮酒史、放疗、化疗等)。选取 2021—2024 年安徽省口腔医院 OSCC 组织及正常组织所制成的蜡片,各 18 例,常温保存。患者标本均经组织病理学确诊,病理诊断由病理科参照 2017 年世界卫生组织标准执行。

1.1.2 主要试剂与仪器 人口腔角质细胞系(human oral keratinocytes, HOK)和 3 种人 OSCC 细胞系(CAL27、HSC3、SCC9)保存于安徽医科大学口腔中心实验室,实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad Laboratories 公司,型号:CFX96),CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Heracell 150i),DMEM 高糖培养基(南京维森特生物技术有限公司,货号:319-205-CL)及胎牛血清(南京维森特生物技术有限公司,货号:085-150),0.25% 胰蛋白酶(苏州新赛美生物科技有限公司,货号:C100C1),青霉素-链霉素溶液(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0222),转染试剂 Lipofectamine 2000(美国 Invitrogen 公司,货号:11668019),荧光定量 PCR 试剂盒(日本 Takara 公司,货号:RR820A),反转录试剂盒(日本 Takara 公司,货号:RR036A),CCK-8 试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:C0038),引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 本研究从癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)公共数据库(<http://tcgadata.nci.nih.gov/>)中筛选出 OSCC 样本和相应的正常样本,共 280 例。纳入标准:包括唇、颊、舌、牙龈组织等所有组织来源的 OSCC 组织。排除标准:组织来源的病例无临床病理学相关信息和无生存跟踪数据。使用 R 软件(版本 4.4.3)分析 OSCC 样本与正常样本中 YB1 的表达差异,YB1 表达与 OSCC 患者临床病理特征的关联性,并进行预后生存分析。

OSCC 病例高发于 51~70 岁的中老年人群,其中男性 189 例,女性 91 例,与吸烟、饮酒等风险因素的性别差异一致。TNM 分期的评估严格遵循国际抗癌联盟与美国癌症联合委员会共同制定的权威标准。I 期样本有 11 例,此阶段肿瘤相对局限,预后较好;II 期样本 70 例,肿瘤有一定进展但仍处于可控制范围;III 期样本 62 例,已出现局部广泛浸润或区域淋巴结转移;IV 期样本 137 例,提示肿瘤已发生远处转移。各分期样本的纳入,有助于全

面研究疾病在不同发展阶段的特点。在分化程度上,高分化样本 44 例,这类肿瘤细胞形态和功能接近正常细胞,恶性程度相对较低;中分化样本 177 例,其细胞形态和功能介于高分化与低分化之间;低分化样本 59 例,肿瘤细胞形态和功能与正常细胞存在较大差异,恶性程度较高。另外,本研究将吸烟患者进行分度,终身不吸烟者(一生中吸烟少于 100 支)=1;当前吸烟者(包括每日吸烟者和非每日吸烟者或偶尔吸烟者)=2;当前戒烟超过 15 年=3;当前戒烟不超过 15 年=4。通过以上分析,能够深入探究肿瘤细胞的生物学行为与各临床特征的关系。

1.2.2 免疫组化 石蜡切片脱蜡和水化,微波炉加热法抗原修复,3% H₂O₂ 室温孵育 15 min, PBS 中浸泡 5 min,重复 3 次。1% BSA,室温封闭 15 min。一抗用 PBS 1:200,湿盒内 4 °C 过夜。二抗用 PBS 1:500,37 °C 孵育 60 min,后浸泡在 PBS 中 5 min,重复 3 次。DAB 显色:在管中先加入 0.85 mL 蒸馏水,再按试剂 A、B、C 顺序加入试剂各 50 μL,混匀即成 DAB 显色液。切片上滴加 100 μL 显色试剂,待颜色刚刚变深时迅速置于水中终止反应。苏木精复染后于显微镜下观察染色效果及拍照。

1.2.3 qRT-PCR 实验 设计 YB1 引物序列 F: 5'-GCAGGGAGAAGTGATGG-3', R: 5'-CTGTCTTTG GCGAGGAG-3', β-actin 引物序列 F: 5'-GGCACCC AGCACAAATGAA-3', R: 5'-TAGAAGCATTTCGGTG G-3',将手术剩余标本提取的癌组织及癌旁组织充分研磨,以 TRIzol 提取 RNA,采用反转录试剂盒在 37 °C 下合成 cDNA。用试剂盒进行 qRT-PCR。PCR 反应条件:预变性 95 °C、5 min 后,95 °C、10 s,60 °C、10 s,72 °C、15 s,40 个循环。利用 2^{-ΔΔC_T} 方法分析数据。实验重复 3 次,取均值。

1.2.4 Western blot 实验 用全蛋白提取试剂盒分别裂解肿瘤、癌旁组织和细胞,离心后收集上清液。使用 BCA 法测定蛋白浓度。按比例加入 5×Loading Buffer,置 100 °C 水浴锅中煮沸 5 min,-20 °C 保存备用。制备 12% SDS-PAGE,每孔上样 20 μL,电压 80 V,恒压电泳 2.5 h,待蛋白分离后,采用电转移法转移至 PVDF 膜上(调整电流至最大,电压 80 V 转印 1.5 h),5% 脱脂奶粉封闭 1 h, TBST 洗膜,一抗 4 °C 孵育过夜。1×TBST 洗膜后,使用辣根过氧化物酶偶联标记的二抗孵育 1 h,显影成像。应用全自动化学发光成像分析系统采集图像。将胶片进行扫描,用凝胶图象处理系统(Gel-Pro-Analyzer

软件)分析目标条带的吸光度值。

1.2.5 细胞培养及转染实验 HOK 和 3 种人 OSCC 细胞系(CAL27、HSC3、SCC9)用含有 10% FBS 和 1% 双抗的 DMEM 培养基于 37 °C、5%CO₂ 条件下进行常规培养。qRT-PCR 选择 YB1 表达最为显著的细胞用于后续实验。针对人源 YB1 基因设计合成 3 条 siRNA 及 1 条阴性对照 NC, 调整 CAL27 细胞状态, 选择对数生长期细胞进行转染。细胞转染 48 h 后, Western blot 及 qRT-PCR 分别检测细胞中 YB1 蛋白及 mRNA 的表达, 选择转染效果最好的一组进行正式实验。

1.2.6 CCK-8 细胞增殖实验 以转染效果最好的 siRNA 转染 CAL27 细胞, 48 h 后同空白对照组以每孔 1×10⁵ 个细胞接种于 96 孔板中, 并在培养箱中(37 °C, 5%CO₂)培养 2 h 后, 分别于 0、24、48、72 h 加入 10 μL/孔 CCK-8 液, 细胞于培养箱孵育 1 h, 在酶标仪 450 nm 下测量吸光度(Absorbance, A)值。

1.2.7 划痕实验 将各组细胞以 4×10⁵ 个/mL 密度均匀接种于 6 孔板中, 培养 24 h。待细胞贴壁后, 用 200 μL 枪头在孔板底部划 3 条平行线, 以 PBS 轻轻洗去划掉的细胞后放回培养箱培养, 24 h 后于显微镜下拍照并计算痕迹宽度。

1.2.8 Transwell 实验 用无血清培养基重悬细胞, 将 200 μL 细胞密度为 2×10⁵ 个/mL 的细胞悬液加入 Transwell 小室, 将小室放进 24 孔板, 下室加入含 10%FBS 的完全培养基, 孵育 24 h 后, 甲醇固定 20 min, 结晶紫染色, 在显微镜下拍照。

1.2.9 细胞转录组测序 设置阴性对照组 si-NC 和 YB1 si-RNA 干扰组, 每组包含 3 个生物学重复(si-NC 组: si-NC-1、si-NC-2、si-NC-3; si-YB1-1、si-YB1-2、si-YB1-3), 测序样本用于冰保存运送至广州基迪奥生物科技有限公司进行转录组测序。

1.3 统计学处理 计量资料用平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较使用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线以进行生存分析, Log-rank 检验组间差异性, 构建多因素 Cox 比例风险模型, 探究基因表达是否为独立预后因素。所有数据分析使用 R 4.4.3 和 SPSS 27.0, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 YB1 在 OSCC 组织中的表达及其与临床病理特征的关系 TCGA 数据库分析显示, YB1 在

OSCC 中表达水平高于正常组织, 差异有统计学意义(图 1A, *P*<0.001), 且其高表达与性别(图 1B, *P*=0.022)、肿瘤分化程度(图 1C, *P*<0.001)有相关性, 但与肿瘤 TNM 分期(图 1D, *P*=0.41)无明显相关性。根据 Kaplan-Meier 生存曲线, 发现 YB1 表达较高的患者, 其总生存率更低(图 1E, *P*=0.012)。使用受试者工作特征(ROC)分析评估 YB1 对 OSCC 的预测性能, 估计 AUC 为 0.797, 预测性能较好(图 1F)。多因素 Cox 回归分析显示(图 1G), YB1 高表达以及吸烟是 OSCC 患者生存率较差的危险因素。为了验证上述结果, 本研究对 OSCC 组织和正常组织进行了免疫组化染色(图 2A、2B), Western blot(图 2C)和 qRT-PCR(图 2D)检测, 结果均显示, YB1 在 OSCC 中表达水平高于正常组织。此外, qRT-PCR(图 2E)结果显示 YB1 在 OSCC 细胞系中表达水平高于人口腔角质细胞系 HOK, 且在 CAL27 细胞系中表达最为显著。因此, 选择 CAL27 细胞系用于后续研究。

2.2 差异基因的 GO 及 KEGG 分析 图 3A、3B 结果显示, YB1-si-774 的敲低效率最高。为了探究 YB1 敲低后, OSCC 生物学功能减弱的可能机制, 对 YB1 转染细胞株进行转录组测序。火山图显示, YB1 敲低后, CAL27 细胞中表达上调基因 210 个, 表达下调基因 81 个(图 3C)。其差异基因热图见图 3D, 其中, PI3K/AKT 信号通路的关键分子 FGFR1、COL4A1 等呈显著差异表达。对差异基因从生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组成(cell component, CC)这 3 个层面进行 GO 注释, 筛选出基因富集的显著性 GO。可见差异基因在 BP 层面主要富集在“应激反应”, “细胞对化学刺激响应”上(图 3E), 在 MF 层面主要富集在“信号受体结合活性”“Ryanodine 敏感钙释放通道活性”上(图 3F), 在 CC 层面主要富集在“胞外区域”“细胞表面”“染色中心”上(图 3G)。随后, 对差异基因进行 KEGG 分析, 分析显示, 这些基因主要集中于“细胞因子-受体相互作用”等通路(图 3H)。

2.3 YB1 对 OSCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 本实验采用 si-YB1 敲低 YB1 在 OSCC 细胞中的表达, 研究了 YB1 对 CAL27 恶性表型的影响, 探讨 YB1 在 OSCC 进展中作用。CCK-8 实验(图 4A)结果显示, 敲低 YB1 导致 CAL27 细胞的增殖减少; 划痕实验(图 4B、4C)表明, 敲低 YB1 减弱了

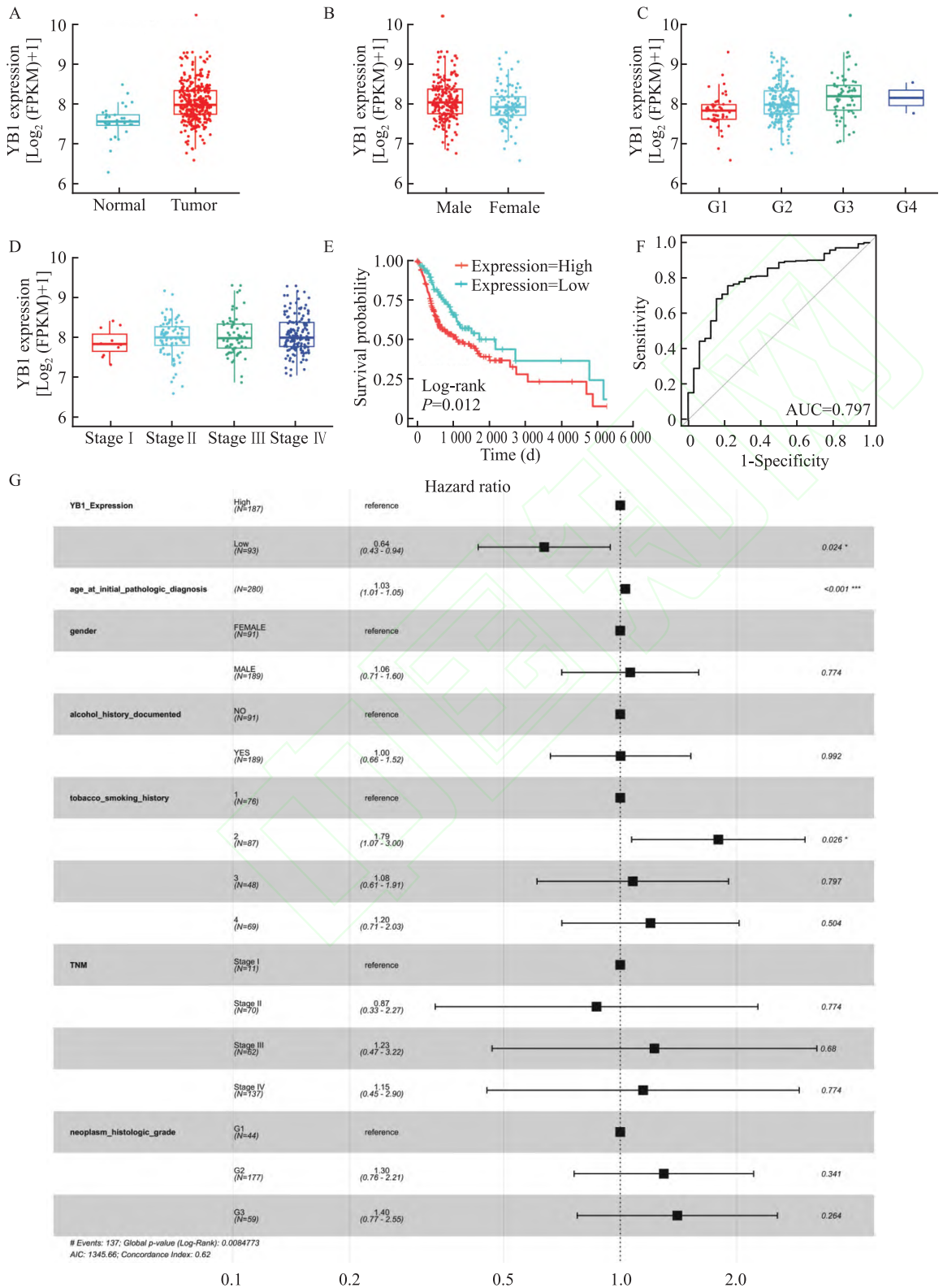


图 1 生物信息学分析 YB1 在 OSCC 中的表达

Fig. 1 Bioinformatics analysis of YB1 expression in OSCC

A: Analysis of YB1 expression in normal tissues and OSCC tissues using the TCGA database; B-D: The expression of YB1 in OSCC tissues and their relationships with clinicopathologic features; E: Kaplan-Meier curve of correlation between YB1 expression in OSCC tissues and survival prognosis; F: ROC curve analysis of YB1 diagnosis of OSCC patients; G: Multivariate Cox regression analysis of prognostic factors in patients with OSCC.

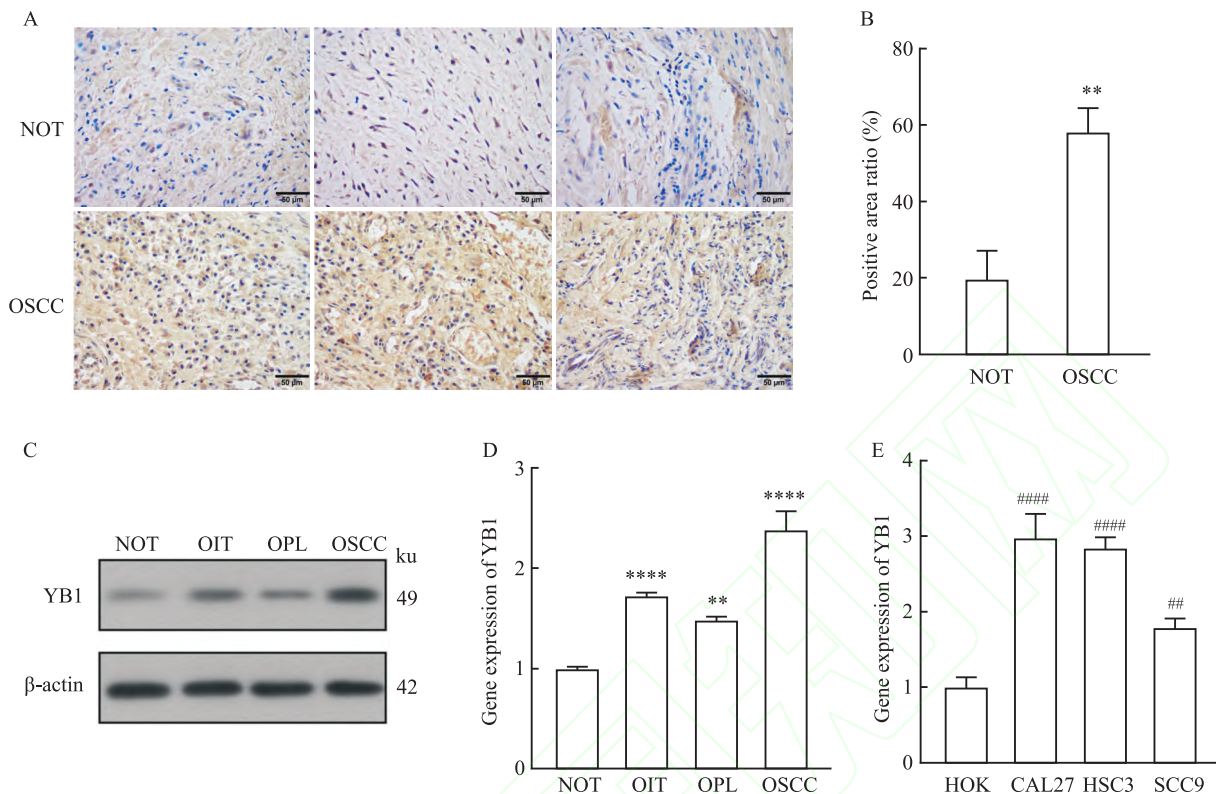


图2 YB1在OSCC组织中的表达

Fig. 2 Expression of YB1 in OSCC tissues

A, B: Immunohistochemical staining was used to detect the expression level of YB1 in OSCC tissues and normal tissues ×400; C: Western blot was used to detect the expression level of YB1 in OSCC, precancerous lesions, inflammation and normal tissues; D: qRT-PCR was used to detect the expression level of YB1 in OSCC, precancerous lesions, inflammation and normal tissues; E: qRT-PCR was used to detect the differential expression of YB1 in human normal oral cell lines and various OSCC cell lines; ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ vs Normal group; ## $P < 0.01$, #### $P < 0.0001$ vs HOK group.

CAL27 细胞的迁移能力; Transwell 实验(图 4D、4E)表明,敲低 YB1 导致 CAL27 细胞的侵袭能力减弱。

2.4 YB1对PI3K/AKT信号通路及OSCC细胞上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响 本研究将 si-YB1 引入 CAL27 细胞,通过 Western blot(图 4F)测定 PI3K、AKT 及其磷酸化之后的蛋白表达水平,结果显示,敲低 YB1 后,总蛋白不变,磷酸化后蛋白降低。同时,Western blot(图 4G)测定 EMT 蛋白标志物的表达水平,结果显示,上皮标志物 E-cadherin 上调,转录因子 Snail 下调,表明敲低 YB1 减弱了 YB1 中 EMT 的激活。而当加入 PI3K/AKT 信号通路激活剂 IGF-1 后,能逆转该现象,加快 OSCC 细胞增殖(图 5A)、迁移(图 5B、5C)和侵袭(图 5D、5E),激活 PI3K/AKT 信号通路(图 5F)并促进 EMT(图 5G)。

3 讨论

体内外相关研究显示, YB1 在 OSCC 中呈现异

常高表达,其表达水平与 OSCC 患者的生存及预后存在显著相关性,提示该分子可能深度参与疾病演进并具有预后评估价值。采用基因敲低技术特异性抑制舌鳞癌细胞的 YB1 表达后,观察到细胞增殖活力显著受抑。划痕实验及 Transwell 实验显示 YB1 可以促进 OSCC 细胞的迁移及侵袭能力,而这已被证明与 OSCC 晚期患者生存率下降密切相关。

EMT 的核心特征表现为上皮极性丧失与间质表型获得,通过介导免疫逃逸、抗凋亡及微环境重塑等恶性表型驱动肿瘤转移^[7]。该过程受 MAPK/ERK、Wnt/ β -catenin 以及 PI3K/AKT/GSK-3 β 等信号通路介导,参与调控细胞的表观遗传变化,促进细胞极性的转变^[8]。其中,PI3K/AKT 信号通路因其在各种癌症进展过程中持续调节 EMT 而备受关注,并在胃癌、骨肉瘤、卵巢癌等多种类型的肿瘤中得到证实^[9]。本研究通过 Western blot 观察敲低 YB1 对 PI3K/AKT 信号通路及 EMT 相关分子标志物的调控作用,从分子水平揭示 YB1 通过参与调控 PI3K/

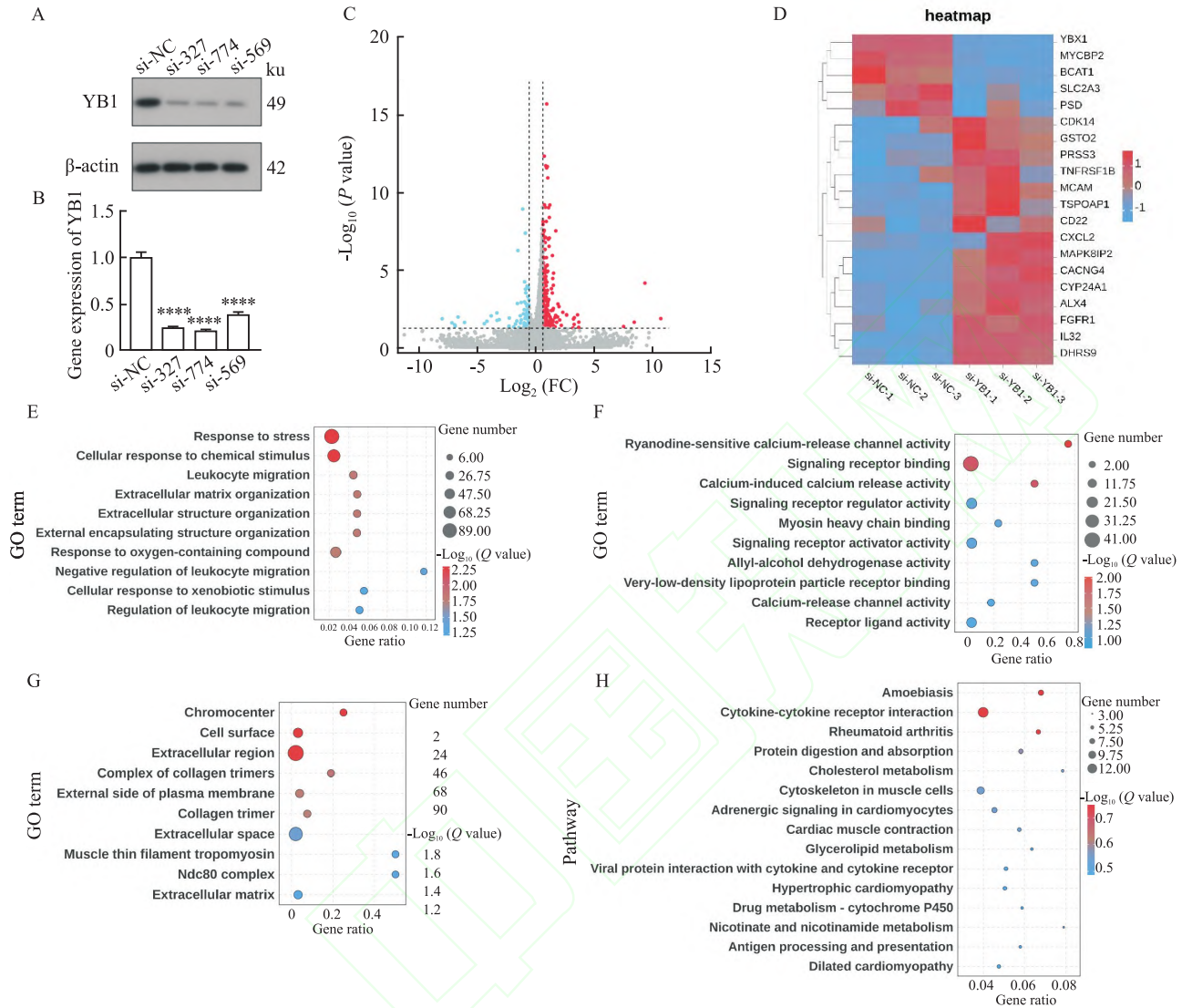


图 3 转录组测序结果分析

Fig. 3 Analysis of transcriptome sequencing outcomes

A, B: Human tongue squamous cell line CAL27 was selected for transfection, and the knockdown efficiency was detected by Western blot and qRT-PCR; C: Differential gene volcano map; D: Differential gene heatmap; E-G: GO analysis of differential genes; H: KEGG analysis of differential genes; **** $P < 0.0001$ vs si-NC group.

AKT 信号通路干预 EMT 进程,进而影响 OSCC 恶性演进的生物学机制。这一研究首次在 OSCC 中建立了 YB1/PI3K/AKT 轴的调控关系,补充了既往关于 YB1 参与 HNSCC 进展的报道。

YB1 最初因调控 MHC II 类基因转录而被发现,通过特异性结合启动子区 Y-box 元件中的 CCAAT 基序,发挥转录抑制功能进而影响细胞增殖动态^[10]。随后,相关研究^[11]进一步揭示了 YB1 可作为多功能转录因子调节细胞生长发育,这表明 YB1 在维持生物体内复杂基因网络平衡中的重要性,并为探索细胞生长和分化的分子机制开辟了全新的研究视角。在早期有关喉鳞癌、鼻咽癌的研究中,

显示出 YB1 高表达与临床分期、组织分化及转移潜能的正相关性^[12]。此外,Kolk et al^[13]研究表明 YB1 高表达与肿瘤恶性程度和生存期缩短直接相关,其诊断价值甚至优于传统 TNM 分期系统,提示 YB1 可能作为 HNSCC 诊断及预后的生物标志物。

YB1 对 PI3K/AKT 通路的调控具有多维度特征,有研究^[14]表明,YB1 降低 PTEN 细胞内水平,从而导致 PI3K/AKT 通路激活。然而,在肝癌和卵巢癌耐药模型中,YB1 对 PI3K/AKT 的调控更倾向于直接转录激活,尤其在化疗压力下,YB1 通过维持通路活性促进细胞存活^[15]。在癌症转移过程中,YB1 更多通过 miRNA 或与其他通路交互间接影响

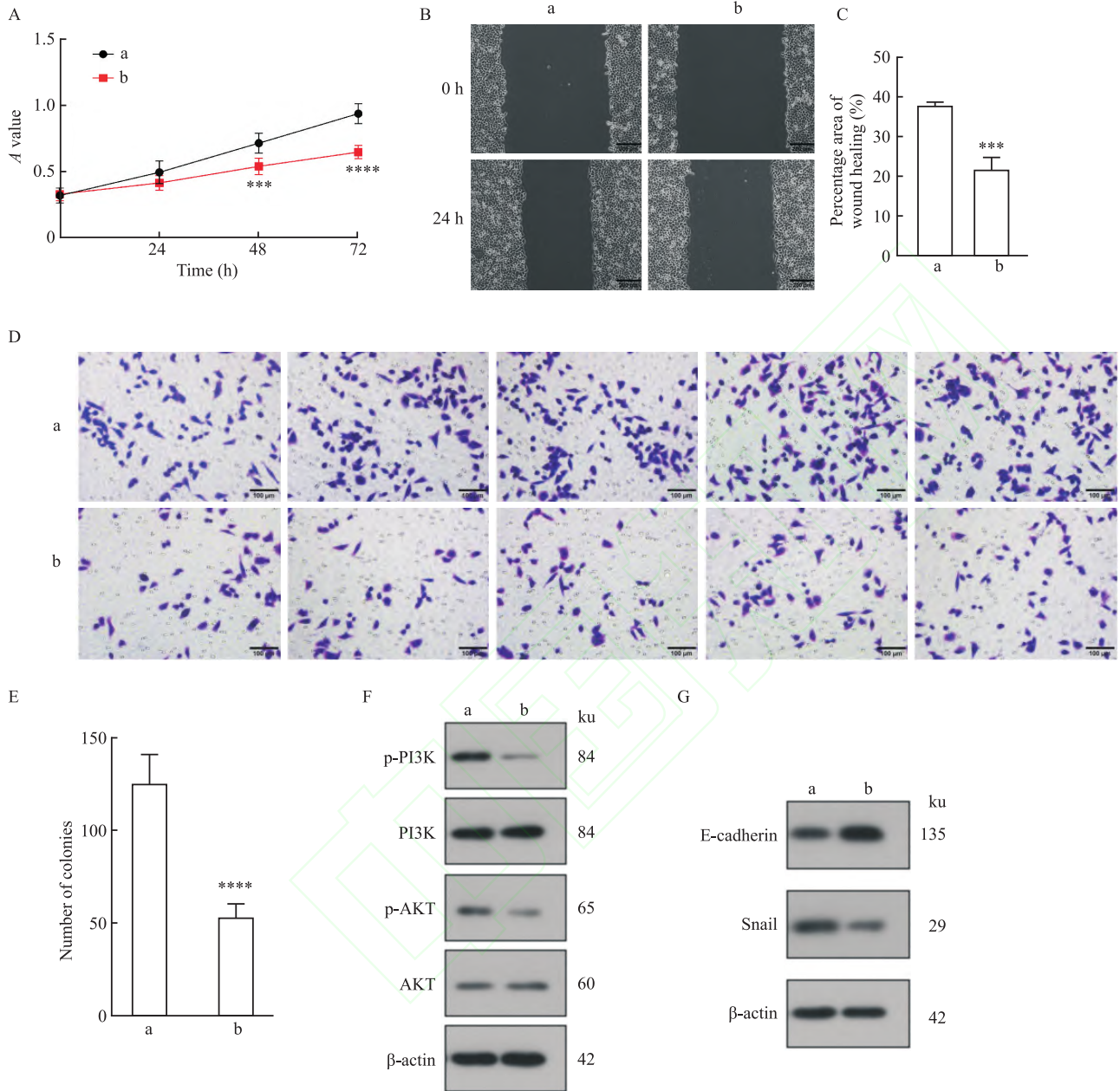


图 4 敲低 YB1 对 OSCC 的影响

Fig. 4 The effects of YB1 knockdown on OSCC

A: CCK-8 verified the effects of transfection on the proliferation rate of cells; B, C: Cell scratch verified the effects of transfection on the migration rate of cells $\times 100$; D, E: Transwell verified the effect of transfection on the invasion rate of cells $\times 200$; F: The expression levels of PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT were detected by Western blot 48 hours after the knockdown of YB1; G: The expression levels of E-cadherin and Snail were detected by Western blot 48 hours after the knockdown of YB1; a: si-NC; b: si-YB1; *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs si-NC group.

PI3K/AKT 信号通路,如通过上调 ZEB1 或抑制凋亡相关蛋白的表达^[16]。目前研究仅基于临床样本和细胞系,并未揭示 YB1 是否直接调控 PI3K/AKT 信号通路,为进一步阐明 YB1 的调控网络,未来需结合蛋白质质谱技术筛选 YB1 在 OSCC 中的互作蛋白,通过单细胞测序解析细胞异质性,明确是否有其他信号通路(如 Wnt/ β -catenin)协同促进 OSCC 进

展。构建条件性 YB1 敲除小鼠模型,评估其在 OSCC 发生中的动态作用。开发 YB1 特异性抑制剂,或与 PI3K/AKT 抑制剂联用,可能成为 OSCC 的新型治疗策略^[17]。未来需结合多组学分析与临床前试验,在患者来源类器官(PDO)中测试疗效,推动 YB1/PI3K/AKT 轴向临床应用转化。

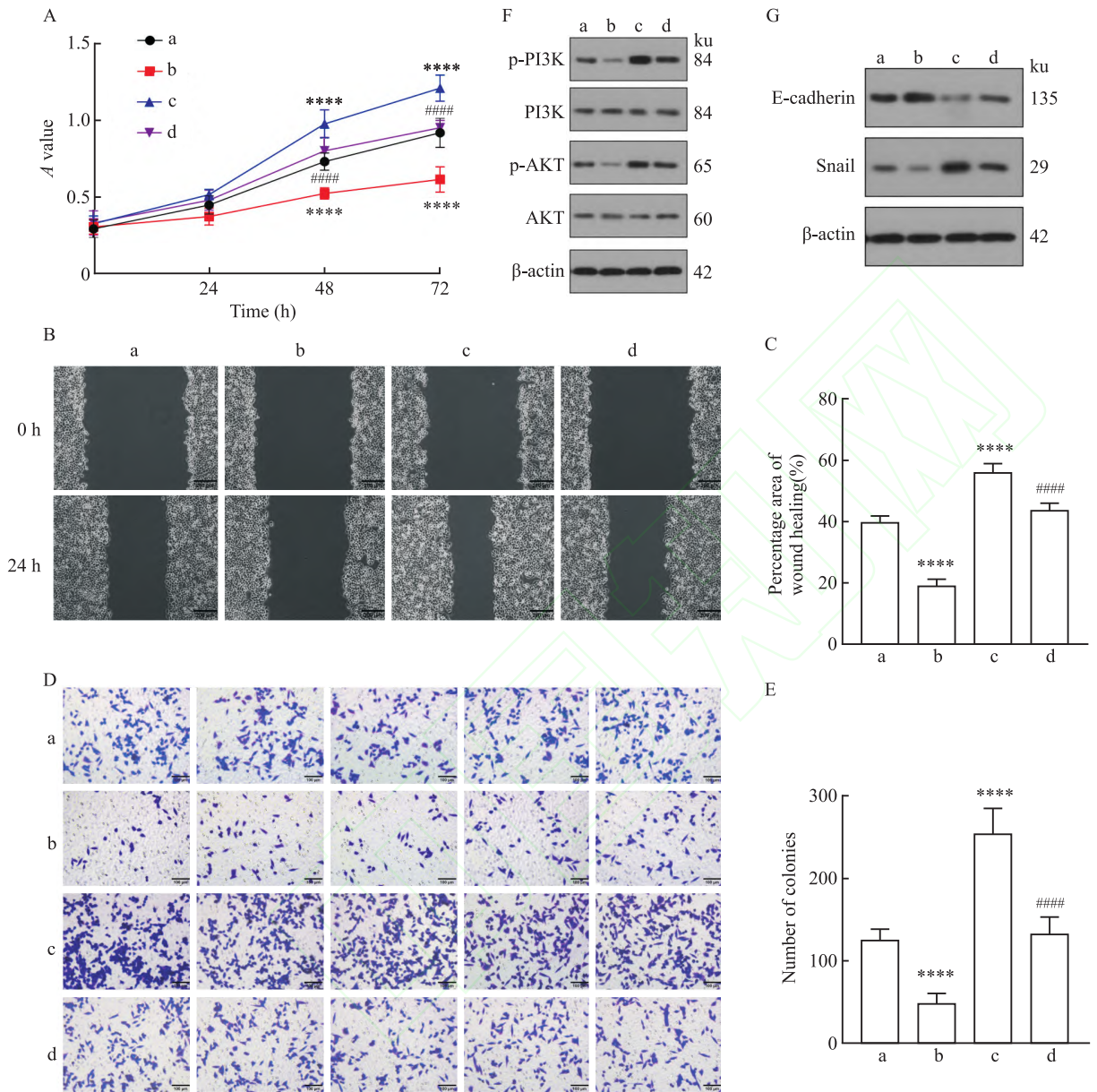


图 5 敲低 YB1 并使用 PI3K/AKT 信号通路激活剂 IGF-1 对 OSCC 的影响

Fig. 5 Effect of knockdown YB1 and use of the PI3K/AKT signaling pathway activator IGF-1 on OSCC

A-E: CCK-8, cell scratch and Transwell assay verified the effects of the knockdown YB1 and IGF-1 on the proliferation, migration ($\times 100$) and invasion ($\times 200$) rates of OSCC, respectively; F: The expression levels of PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT were detected by Western blot 48 hours after the knockdown of YB1 and IGF-1; G: The expression levels of E-cadherin and Snail were detected by Western blot 48 hours after the knockdown of YB1 and IGF-1; a: si-NC; b: si-YB1; c: si-NC+IGF-1; d: si-YB1-IGF-1; **** $P < 0.0001$ vs si-NC group; ##### $P < 0.0001$ vs si-YB1 group.

参考文献

[1] Barsouk A, Aluru J S, Rawla P, et al. Epidemiology, risk factors, and prevention of head and neck squamous cell car. Epidemiology, risk factors, and prevention of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Med Sci (Basel), 2023, 11(2): 42. doi:10.3390/medsci11020042.

[2] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,

2024, 74(3): 229-63. doi:10.3322/caac.21834.

[3] Tan Y, Wang Z, Xu M, et al. Oral squamous cell carcinomas: state of the field and emerging directions[J]. Int J Oral Sci, 2023, 15(1): 44. doi:10.1038/s41368-023-00249-w.

[4] Zhao C. Exploring cell death pathways in oral cancer: mechanisms, therapeutic strategies, and future perspectives[J]. Discov Oncol, 2025, 16(1): 395. doi:10.1007/s12672-025-02022-3.

[5] Lettau K, Forchhammer S, Fehrenbacher B, et al. The subcellular distribution of phosphorylated Y-box-binding protein-

- I at S102 in colorectal cancer patients, stratified by KRAS mutational status and clinicopathological features[J]. *Mol Oncol*, 2025, 19(10): 2936-50. doi:10.1002/1878-0261.70060.
- [6] Sun XY, Yu B, Yu J, et al. YBX1 is required for maintaining PD-L1 expression in intrahepatic cholangiocarcinoma by regulating STAT1 stability in an m5C-dependent manner [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis In*. 2025, 24 (6) : 643-55. doi: 10.1016/j.hbpd.2025.05.001.
- [7] Haddadin L, Sun X. Stem cells in cancer: from mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Cells*, 2025, 14 (7) : 538. doi: 10.3390/cells14070538.
- [8] Yang J. Emerging roles of long non-coding RNA FOXP4-AS1 in human cancers: From molecular biology to clinical application [J]. *Heliyon*, 2024, 10 (21) : e39857. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e39857.
- [9] Wu F, Li D. YB1 and its role in osteosarcoma: a review [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1452661. doi: 10.3389/fonc.2024.1452661.
- [10] Didier DK, Schiffenbauer J, Wouffe SL, et al. Characterization of the cDNA encoding a protein binding to the major histocompatibility complex class II Y box [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(19): 7322-6. doi:10.1073/pnas.85.19.7322.
- [11] Ladomery M, Sommerville J. A role for Y-box proteins in cell proliferation [J]. *Bioessays*, 1995, 17(1): 9-11. doi:10.1002/bies.950170104.
- [12] Zhan Y, Chen X, Zheng H, et al. YB1 associates with oncogenic roles and poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 3699. doi:10.1038/s41598-022-07636-z.
- [13] Kolk A, Jubitz N, Mengele K, et al. Expression of Y-box-binding protein YB-1 allows stratification into long- and short-term survivors of head and neck cancer patients [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(12): 1864-73. doi:10.1038/bjc.2011.491.
- [14] Delicato A, Montuori E, Angrisano T, et al. YB-1 oncoprotein controls PI3K/AKT pathway by reducing pten protein level [J]. *Genes*, 2021, 12(10): 1551. doi:10.3390/genes12101551.
- [15] Liu T, Xie XL, Chen SX, et al. Y-box-binding protein 1 mediates sorafenib resistance *via* the extracellular signal regulated-protein kinase pathway in hepatoma cells [J]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2023, 31(4): 401-7. doi:10.3760/cma.j.cn501113-20210510-00229.
- [16] Liu X, Chen D, Chen H, et al. YB1 regulates miR-205/200b-ZEB1 axis by inhibiting microRNA maturation in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(7): 576-95. doi:10.1002/cac2.12164.
- [17] Li B, Xing F, Wang J, et al. YBX1 as a therapeutic target to suppress the LRP1- β -catenin-RRM1 axis and overcome gemcitabine resistance in pancreatic cancer [J]. *Cancer Lett*, 2024, 602: 217197. doi:10.1016/j.canlet.2024.217197.

The expression and mechanistic study of Y-box binding protein-1 in oral squamous cell carcinoma

Zhang Yi¹, Yu Xiao¹, Shao Wei², Chen Xin¹

(¹ College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University, Key Lab. of Oral Diseases, Research of Anhui Province, Hefei 230032; ² Department of Pathogen Biology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To analyze the expression level and clinical significance of Y-box binding protein-1 (YB1) in tissues and cells of oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods** Bioinformatics analysis, immunohistochemistry, Western blot and qRT-PCR were used to detect the expression of YB1 in OSCC tissues, and the prognosis and survival analysis were performed. The effects of YB1 on the proliferation, migration and invasion of OSCC cells were evaluated by CCK-8, scratch assay and Transwell assay, and the expression changes of Phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (PI3K/AKT) signaling pathway and epithelial-mesenchymal transition (EMT) related markers after YB1 knockdown were detected by Western blot. **Results** Bioinformation analysis showed that the expression level of YB1 in OSCC samples was higher than that in normal samples ($P < 0.001$), and its expression was correlated with gender ($P = 0.022$) and tumor differentiation degree ($P < 0.001$). Kaplan-Meier plotter survival analysis showed that the survival rate of YB1 was low (Log-rank $P = 0.012$). Immunohistochemistry, Western blot and qRT-PCR experiments verified that the expression level of YB1 in OSCC tissues was higher than that of normal tissues. The results of cell experiments showed that knockdown of YB1 inhibited the malignant biological behaviors such as proliferation, migration and invasion of OSCC cells. Western blot results showed that the knockdown of YB1 could reduce the protein expression levels of p-PI3K and p-AKT, and inhibit EMT. **Conclusion** YB1 is

LncRNA SNHG16靶向miR-141-3p/HMGB1轴对子宫腺肌病异位子宫内膜间质细胞血管生成的影响

刘婷,王明阳,邹晓锋

(遵义医科大学附属医院妇科,遵义 563000)

摘要 目的 探讨干扰长链非编码RNA(LncRNA)核仁小分子RNA宿主基因16(SNHG16)通过靶向上调微小RNA(miR)-141-3p抑制高迁移率族蛋白B1(HMGB1),改善子宫腺肌病(AM)异位子宫内膜间质细胞(ESCs)血管生成。方法 定量逆转录聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测52例AM患者子宫内膜组织(AM组)及因宫颈癌、卵巢癌需切除子宫的52例患者的子宫内膜组织(对照组)中SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达水平;将Y14细胞分为小发夹RNA(shRNA)NC组、shRNA SNHG16组、shRNA SNHG16+miR-141-3p抑制剂(inhibitor)组、shRNA SNHG16+inhibitor NC组、blank组,验证miR-141-3p与SNHG16、HMGB1的靶向关系;qRT-PCR检测Y14细胞中SNHG16、miR-141-3p、HMGB1 mRNA表达水平;细胞计数实验(CCK-8)、Transwell实验检测细胞增殖、侵袭和迁移;免疫荧光测定微血管密度(MVD);Western blot检测缺氧诱导因子 α (HIF-1 α)、环氧化酶-2(Cox-2)及血管内皮生长因子(VEGF)、HMGB1蛋白表达。结果 AM组SNHG16、HMGB1 mRNA表达高于对照组,但miR-141-3p表达低于对照组($P<0.05$);shRNA SNHG16组SNHG16、HMGB1 mRNA表达、增殖率、迁移、侵袭数、MVD、VEGF、HIF-1 α 、Cox-2及HMGB1蛋白表达低于blank组、shRNA NC组,miR-141-3p表达高于blank组、shRNA NC组($P<0.05$);抑制miR-141-3p逆转了干扰SNHG16对ESCs血管生成的改善作用。结论 干扰LncRNA SNHG16通过靶向上调miR-141-3p抑制HMGB1,改善ESCs血管生成,抑制ESCs增殖、迁移和侵袭。

关键词 子宫腺肌病;异位子宫内膜间质细胞;LncRNA SNHG16;miR-141-3p;HMGB1;血管生成

中图分类号 R 713.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)03-0533-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.03.020

子宫腺肌病(adenomyosis, AM)是一种良性妇科疾病,以子宫内膜细胞异常侵入子宫肌层深处为特征,临床表现通常包括月经过多、痛经、慢性盆腔疼痛等^[1-2]。异位子宫内膜间质细胞(ectopic endometrial stromal cells, ESCs)的持续增殖以及迁移,可能导致异位病变侵袭增强,同时研究^[3-4]表明,异位子宫内膜的植入需要血液供应维持其生长和存活。

长链非编码RNA(long noncoding RNA, LncRNA)可参与肿瘤发生、心血管疾病等多种疾病的发展^[5]。核仁小分子RNA宿主基因16(small nucleolar RNA host gene16, SNHG16)是一种LncRNA,主要与各种恶性肿瘤的发生和发展有关^[6]。但研究^[7]表明LncRNA主要功能是通过微小RNA(microRNA, miRNA)的竞争性结合影响下游靶基因,且miR-141-3p参与调节AM中子宫肌界面平滑肌细胞的增殖和凋亡,为AM治疗提供潜在靶点,高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)高表达促进了子宫内膜炎发展^[8]。基于此,本课题组

2025-12-31接收

基金项目:贵州省科技计划项目(编号:黔科合成果-LC[2023]033)

作者简介:刘婷,女,硕士研究生,副主任医师,通信作者, E-mail:l_2865@163.com

highly expressed in tissues and cells in OSCC, and reveals the important role of the YB1/PI3K/AKT axis in the process of EMT of OSCC, which is expected to become a new tumor marker for early diagnosis and treatment and prognosis evaluation of OSCC.

Key words Y-box binding protein-1; oral squamous cell carcinoma; proliferation; migration; invasion; PI3K/AKT signaling pathway

Fund program Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH050644)

Corresponding author Chen Xin, E-mail: chenxin2672@ahmu.edu.cn