

长链非编码RNA HCG22在口腔鳞状细胞癌中的表达及作用机制研究

高永强¹ 施鹏伟² 师文楷³ 刘一鸣²

1. 郑州大学第一附属医院口腔牙周科, 郑州 450052;

2. 郑州大学第一附属医院口腔颌面外科, 郑州 450052;

3. 郑州大学第一附属医院肝胆外科, 郑州 450052

[摘要] **目的** 探讨长链非编码RNA (lncRNA) HCG22在口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 中的表达及作用机制。**方法** 检测OSCC组织和对应癌旁组织、OSCC细胞和正常口腔角质细胞HOK中HCG22的水平; 转染过表达载体质粒上调SCC-25和HSC-3细胞中HCG22的表达, 采用甲基噻唑基四唑 (MTT) 法、流式细胞仪、Transwell小室检测细胞的增殖、凋亡, 迁移和侵袭能力变化, Western blotting检测细胞上皮间质转化相关蛋白的表达; 荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测细胞中微小RNA-650 (miR-650) 表达水平; 双荧光素酶报告基因实验检测HCG22和miR-650靶向关系。**结果** 与癌旁组织比较, OSCC组织中HCG22表达明显降低 ($P<0.05$), 且HCG22低表达患者预后生存期显著低于高表达组 ($P<0.05$); 与HOK细胞比较, SCC-25、HN13、HSC-3和CAL-27细胞中HCG22表达明显下调 ($P<0.05$); 上调HCG22表达可抑制SCC-25和HSC-3细胞增殖、迁移、侵袭, 诱导细胞凋亡, 上调上皮间质转化蛋白上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin) 和下调N-钙黏着蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 蛋白表达 ($P<0.05$)。miR-650模拟物可使转染HCG22野生型质粒细胞的荧光素酶活性降低 ($P<0.05$), 且上调HCG22表达后SCC-25和HSC-3细胞中miR-650表达下降 ($P<0.05$)。**结论** HCG22在OSCC中低表达, 上调其表达可抑制OSCC细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化, 其作用机制可能与对miR-650的靶向调控有关。

[关键词] 口腔鳞状细胞癌; 长链非编码RNA HCG22; 细胞迁移; 细胞侵袭; 微小RNA-650

[中图分类号] Q 786 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2021.06.006



开放科学 (资源服务)
标识码 (OSID)

Expression and mechanism of long non-coding RNA HCG22 in oral squamous cell carcinoma Gao Yongqiang¹, Shi Pengwei², Shi Wenkai³, Liu Yiming². (1. Dept. of Periodontics, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 3. Dept. of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Supported by: Institution of Higher Education Key Scientific Research Project of Henan Province in 2020 (20B320019).

Correspondence: Liu Yiming, E-mail: liulei_yxk@163.com.

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and mechanism of the long non-coding RNA (lncRNA) HCG22 in oral squamous cell carcinoma (OSCC). **Methods** HCG22 levels were detected in the OSCC and adjacent tissues, OS-

CC cells, and normal oral keratinocytes. HCG22 expression in SCC-25 and HSC-3 cells was upregulated by transfection of the overexpressing plasmid vector. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay, flow cytometry, and Transwell assay were employed to detect changes in cell proliferation, apoptosis, migration, and invasion ability,

[收稿日期] 2020-11-27; **[修回日期]** 2021-09-03

[基金项目] 2020年度河南省高等学校重点科研项目 (20B320019)

[作者简介] 高永强, 主治医师, 硕士, E-mail: Yongqiang86@outlook.com

[通信作者] 刘一鸣, 副主任医师, 博士, E-mail: liulei_yxk@163.com

while Western blotting was used to detect the expression of epithelial-mesenchymal transformation-related proteins. The expression level of miR-650 in the cells was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), and dual-luciferase reporter gene assay was applied to assess the targeting relationship between HCG22 and miR-650.

Results Compared with that in adjacent tissues, the expression of HCG22 significantly decreased in OSCC tissues ($P < 0.05$). Moreover, the prognostic survival of patients in the low-HCG22 expression group was significantly lower than that in the high-expression group ($P < 0.05$). Compared with that in HOK cells, the expression of HCG22 was significantly lower in SCC-25, HN13, HSC-3, and CAL-27 cells ($P < 0.05$). Upregulation of HCG22 expression could inhibit the proliferation, migration, invasion, and apoptosis of SCC-25 and HSC-3 cells, upregulate the expression of E-cadherin, and downregulate the expression of N-cadherin and vimentin ($P < 0.05$). miR-650 mimics could reduce the luciferase activity of HCG22 wild-type plasmid cells ($P < 0.05$), and the expression of miR-650 in SCC-25 and HSC-3 cells decreased after upregulation of HCG22 expression ($P < 0.05$). **Conclusion** HCG22 is expressed at low levels in OSCC. Upregulation of the expression of this lncRNA can inhibit the proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition of OSCC cells. The mechanism of action of HCG22 may be related to its targeted regulation of miR-650.

[Key words] oral squamous cell carcinoma; long non-coding RNA HCG22; cell migration; cell invasion; microRNA-650

口腔癌是全球常见的恶性肿瘤之一, 口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 是其常见的病理类型, 约占所有口腔癌的90%^[1]。全世界每年新发超过30万的OSCC患者, 且OSCC整体5年死亡率达到48%^[2]。目前, 手术、化疗和放疗是OSCC重要的治疗手段, 但患者在5年内的生存率仍不理想。研究显示, 长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 的异常表达与OSCC发生发展和预后不良有关^[3-5]。lncRNA HCG22 (HLA complex group 22) 是常见lncRNAs的一种, 已被报道在食管鳞癌和膀胱癌等组织中特异性表达下调且发挥一定抑癌作用, 被认为是潜在的治疗新靶点^[6-7]。近年来, 有学者^[8]利用基因表达综合数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 和肿瘤基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 分析发现HCG22在口腔癌的诊断和预后方面显示出优越的潜力, 但HCG22在OSCC中的表达和作用机制并不完全清楚。本研究通过检测OSCC组织和细胞中HCG22的表达情况, 分析HCG22表达与OSCC患者预后的关系, 并探讨HCG22表达对OSCC细胞系增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化的作用及可能机制, 以期为OSCC诊疗提供新线索。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 组织标本的获取 收集2017年9月—2018年9月于郑州大学第一附属医院行手术切除的68例OSCC患者的癌组织样本及相应的癌旁组织 (距离

肿瘤2~3 cm) 标本。纳入标准: 1) 病理诊断为OSCC; 2) 接受手术且术前未接受任何治疗; 3) 有完整的临床病理资料; 4) 无感染性疾病及其他系统肿瘤等。其中, 男性36例, 女性32例, 年龄27~80岁, 中位年龄58岁; 获取的新鲜组织标本立即放入液氮中保存。对所有参与者术后进行随访, 随访截止时间为2020年9月。本研究的开展经患者或家属知情同意, 并已获得郑州大学第一附属医院伦理委员会的批准。

1.1.2 其他实验材料 人OSCC细胞株 SCC-25、HN13、HSC-3 (上海素尔生物科技有限公司) 和 CAL-27 (湖南丰晖生物科技有限公司), 人正常口腔角质永生化细胞株 HOK、pcDNA3.1-HCG22 过表达载体质粒和 pcDNA3.1 空载体质粒 (上海雅吉生物科技有限公司), RPMI1640 培养基、DMEM 培养基、胎牛血清、脂质体 3000、甲基噻唑基四唑 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 试剂盒、逆转录试剂盒和 Transwell 小室 (北京索莱宝生物科技有限公司), AnnexinV-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒 (上海钰博生物科技有限公司), 微小 RNA-650 (microRNA-650, miR-650) 模拟物 (mimics) 及其阴性对照 mimics-NC (广州锐博生物科技有限公司), 上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin)、N-钙黏着蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 和磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (Abcam 公司, 英国), 37XC 型倒置显微镜 (上海光学仪器厂), iMark 型酶标仪和 CFX96 型实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain

reaction, RT-qPCR) 仪 (Bio-Rad公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、转染和分组处理 HSC-3和CAL-27细胞采用含10%胎牛血清的DMEM培养基培养, 而HOK、SCC-25和HN-13细胞采用含10%胎牛血清的RPMI1640培养基培养, 均置于温度为37℃、5%CO₂和湿度饱和的培养箱内贴壁培养。将对数期SCC-25和HSC-3细胞种植到6孔板上, 培养至70%融合度时, 按照脂质体3000使用说明进行瞬时转染; 其中, 将转染pcDNA3.1-HCG22过表达载体质粒的SCC-25和HSC-3细胞作为HCG22组, 转染pcDNA3.1空载体质粒的SCC-25和HSC-3细胞作为空载体组, 并以正常培养不做转染的细胞作为对照组, 每组均设3个重复。

1.2.2 RT-qPCR检测OSCC组织和细胞中HCG22及miR-650表达 按照Trizol试剂使用说明提取待测组织样品或细胞的总RNA, 测定RNA纯度与浓度后, 使用逆转录试剂盒将RNA合成单链cDNA。取2μL cDNA作为模板, 加入10μL SYBR Green Mix、0.5μL上游引物、0.5μL下游引物和7μL ddH₂O制备20μL荧光定量体系; 将其上样至RT-qPCR仪上后, 在设定的程序(95℃ 3 min; 95℃ 20 s、60℃ 30 s、72℃ 30 s, 循环40次)下进行PCR扩增。以GAPDH或U6为内参照, 2^{-ΔΔCt}法计算组织样品或细胞中HCG22及miR-650表达水平。其中, 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)引物序列(上海生工生物工程股份有限公司)如下。HCG22上游引物序列: 5'-ACAGCAGT-GAAACCCACCA-3', 下游引物序列: 5'-GAA-GCCCAATCCAACAAAGAGC-3'; miR-650上游引物序列: 5'-AGGAGGCAGCGCTCTC-3', 下游引物序列: 5'-GAACATGTCTGCGTATCTC-3'; GAPDH上游引物序列: 5'-GTCTCCTCTGACTT-CAACAGCG-3', 下游引物序列: 5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'; U6上游引物序列: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACAT-3', 下游引物序列: 5'-TTTGCGTGTCATCCTTGCG-3'。

1.2.3 MTT法检测SCC-25和HSC-3细胞增殖活力 将对数期的SCC-25和HSC-3细胞种植到96孔板上后, 培养箱内常规培养至65%~75%融合度时按照1.2.1中的方法进行转染; 在转染0、24、48、72和96 h时, 按照MTT试剂盒说明书以酶标仪于450 nm处检测SCC-25和HSC-3细胞的光密度(optical density, OD)值。

1.2.4 流式细胞仪检测SCC-25和HSC-3细胞凋亡

率 以预冷的磷酸缓冲液重悬收集到的SCC-25和HSC-3细胞后, 1000 r·min⁻¹离心5 min; 以结合缓冲液调整细胞后, 取100 μL细胞液(含10⁵个细胞)于流式管中, 分别加入AnnexinV-APC 5 μL和7-AAD 10 μL, 室温避光孵育5 min后, 上流式细胞仪检测SCC-25和HSC-3细胞凋亡率。

1.2.5 Transwell小室实验检测SCC-25和HSC-3细胞迁移和侵袭能力 收集对数期的HCG22组、空载体组SCC-25和HSC-3细胞, 加入无血清培养基制成浓度为每毫升10⁵个单细胞悬液; 取100 μL细胞液至未处理(观察迁移)或经Matrigel胶包被(观察侵袭)的Transwell小室上室中, 于24孔板中加入含血清的培养基600 μL, 放入培养箱内常规培养; 24 h后以棉签拭去小室上室内残留的细胞后, 先以甲醇固定细胞25 min, 再以0.5%结晶紫染色10 min。洗涤干燥后, 采用倒置显微镜观察拍照并统计穿膜细胞数。

1.2.6 Western blotting检测SCC-25和HSC-3细胞上皮间质转化相关蛋白的表达 按照总蛋白提取试剂盒使用说明提取SCC-25和HSC-3细胞的总蛋白后, 采用二喹啉甲酸法检测蛋白的浓度。将变性后的蛋白样品行电泳分离后, 半干法转膜。脱脂奶粉封膜2 h后, 加入GAPDH(1:2 000)、E-cadherin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)和Vimentin(1:800)抗体; 4℃下孵育过夜后, 再加入辣根过氧化酶标记的二抗(1:5 000); 室温孵育2 h后, 化学发光剂显影; 采用凝聚成像分析系统分析SCC-25和HSC-3细胞中E-cadherin、N-cadherin和Vimentin蛋白的表达水平, 以GAPDH为内参照进行校正。

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验检测HCG22和miR-650靶向关系 将野生的HCG22及定点突变后的HCG22序列片段克隆重组至pGL3-Basic-Vector载体质粒上, 构建野生型pGL3-HCG22(HCG22-WT)和突变型pGL3-HCG22(HCG22-MUT)质粒。将HCG22-WT、HCG22-MUT分别与miR-650 mimics及mimics-NC共转染293T细胞, 转染48 h后按照双荧光素酶报告基因实验检测试剂盒使用说明检测荧光素酶活性。

1.3 统计学分析

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料, 其中, 独立样本 t 检验分析两组间差异, 单因素方差分析多组间差异, SNK- q 检验对组间进一步两两比较进行分析; 计数资料采用 χ^2 检验分析, 并采用Kaplan-Meier法分析随访3年患

者的生存情况;以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCG22 在 OSCC 组织中的表达及与临床病理特征的关系

RT-qPCR 检测结果显示:OSCC 组织中 HCG-22 表达水平 (0.89 ± 0.21) 较癌旁组织 (2.12 ± 0.22) 明显降低 ($P < 0.05$)。以 HCG22 表达水平中位值为

界,将 68 例 OSCC 组织样本分为低表达组和高表达组,观察分析 HCG22 表达水平与 OSCC 患者临床病理特征的关系。结果显示:HCG22 表达水平可能与患者肿瘤大小、TNM 分期、分化程度和淋巴结转移等密切相关 ($P < 0.05$) (表 1)。生存曲线分析结果显示:截止随访,HCG22 低表达组、高表达组患者的总生存率分别为 23.25% 和 45.27%;与 HCG22 高表达组比较,HCG22 低表达组患者总生存率明显降低 ($P < 0.05$) (图 1)。

表 1 HCG22 表达与 OSCC 患者临床病理特征的关系

Tab 1 The relationship between HCG22 expression and clinicopathological features of OSCC patients

资料	n	HCG22 [n (%)]		χ^2 值	P 值	
		低表达组	高表达组			
性别	男	36	20 (55.56)	16 (44.44)	0.846	0.358
	女	32	20 (62.50)	12 (37.50)		
年龄/岁	>60	39	22 (56.41)	17 (43.59)	0.744	0.388
	≤60	29	18 (62.07)	11 (37.93)		
肿瘤大小/cm	≥3	41	21 (51.22)	20 (48.78)	7.553	0.006
	<3	27	19 (70.37)	8 (29.63)		
肿瘤部位	舌部	38	22 (57.89)	16 (42.11)	0.111	0.946
	颊部	20	12 (60.00)	8 (40.00)		
	其他	10	6 (60.00)	4 (40.00)		
TNM 分期	I~II 期	40	26 (65.00)	14 (35.00)	4.604	0.032
	III~IV 期	28	14 (50.00)	14 (50.00)		
分化程度	低分化	42	27 (64.29)	15 (35.71)	3.998	0.046
	中、高分化	26	13 (50.00)	13 (50.00)		
淋巴结转移	无	47	30 (63.83)	17 (36.17)	5.195	0.023
	有	21	10 (47.62)	11 (52.38)		

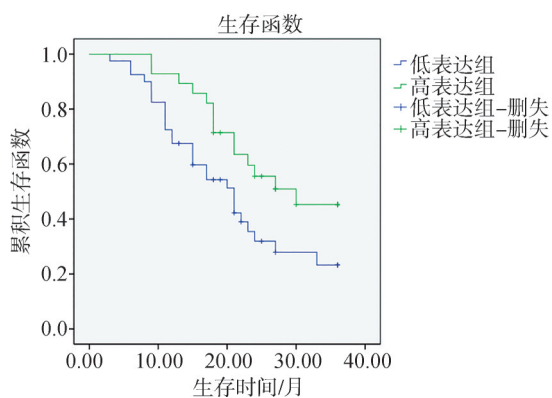


图 1 HCG22 表达与 OSCC 患者预后的关系

Fig 1 The relationship between HCG22 expression and prognosis of OSCC patients

2.2 HCG22 在 OSCC 中的表达及转染效果

与人正常口腔角质 HOK 细胞比较,OSCC 细胞株 HN13、SCC-25、CAL-27 和 HSC-3 中 HCG22

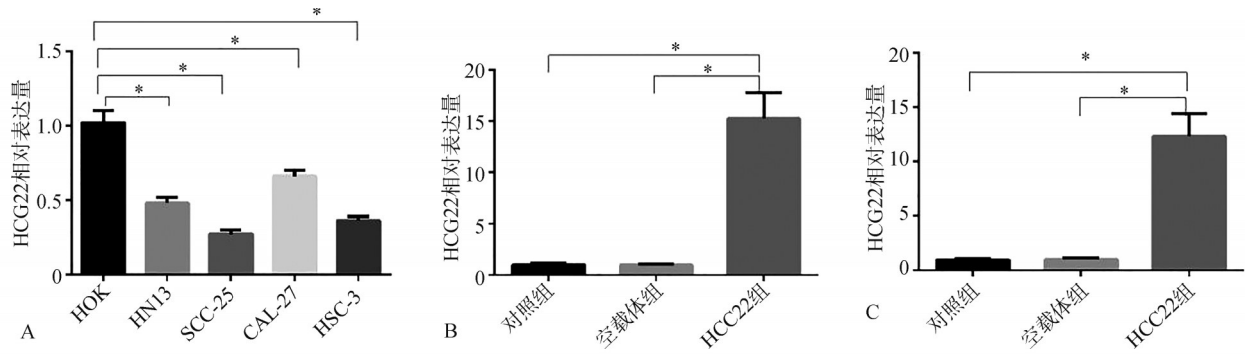
表达水平明显降低 ($P < 0.05$),且 SCC-25 和 HSC-3 细胞相对较低。故选择 SCC-25 和 HSC-3 细胞上调 HCG22 的表达进行后续实验。将 pcDNA3.1-HCG-22 过表达载体转染至 SCC-25 和 HSC-3 细胞中,RT-qPCR 检测结果显示:与对照组比较,转染 pcDNA3.1 空载体后 HCG22 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$),转染 pcDNA3.1-HCG22 过表达载体组 HCG22 水平明显升高 ($P < 0.05$) (图 2)。

2.3 上调 HCG22 表达对 OSCC 细胞增殖的影响

CCK-8 法检测结果显示:与空载体组比较,HCG22 组 SCC-25 细胞和 HSC-3 细胞增殖活力均明显降低 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.4 上调 HCG22 表达对 OSCC 细胞凋亡的影响

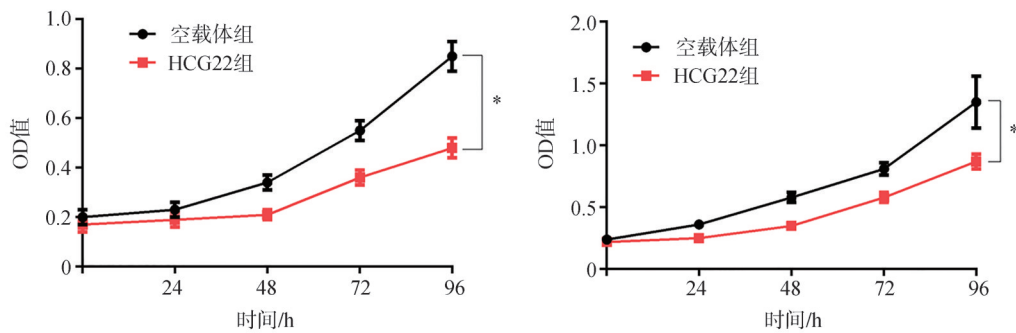
流式细胞仪检测结果显示,与空载体组比较,HCG22 组 SCC-25 细胞和 HSC-3 细胞的凋亡率均明显升高 ($P < 0.05$) (图 4)。



A: HCG22在OSCC中的表达,与HOK细胞比较, * $P < 0.05$; B、C:分别为转染后SCC-25细胞和HSC-3细胞中HCG22的表达水平;与对照组和空载体组比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 OSCC细胞中HCG22表达水平检测

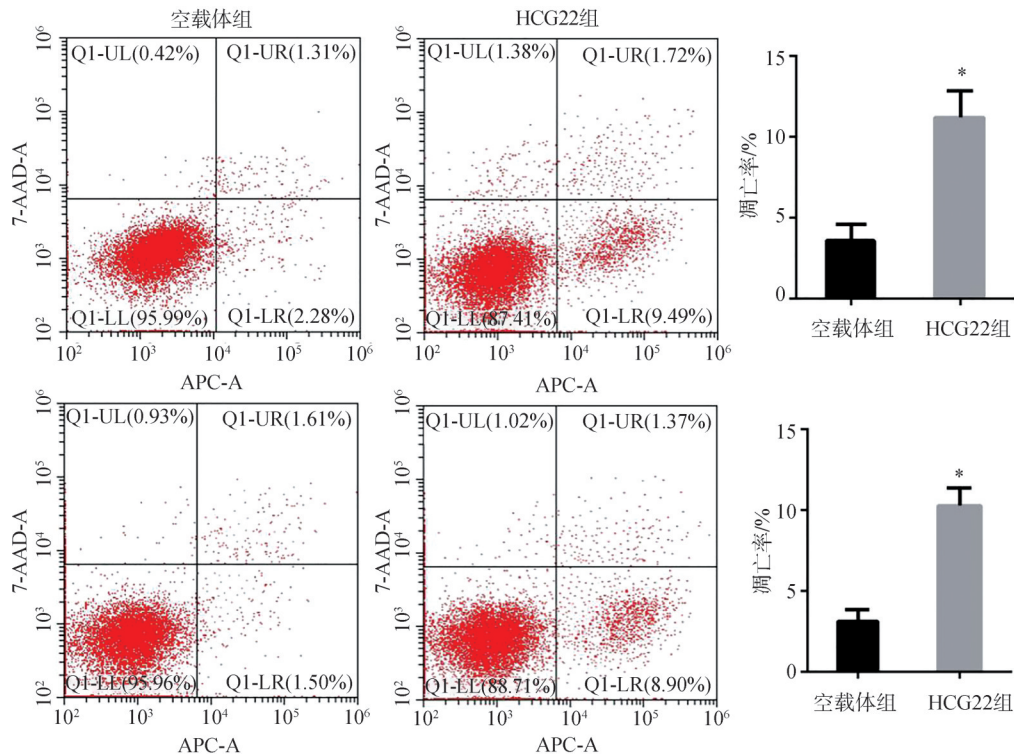
Fig 2 Detection of HCG22 expression level in OSCC cells



左: SCC-25细胞增殖活力比较;右: HSC-3细胞增殖活力比较。与空载体组比较, * $P < 0.05$ 。

图 3 上调HCG22表达对OSCC细胞增殖的影响

Fig 3 Effect of up-regulating HCG22 on the proliferation of OSCC cells



上: 流式细胞仪检测SCC-25细胞凋亡率;下: 流式细胞仪检测HSC-3细胞凋亡率。与空载体组比较, * $P < 0.05$ 。

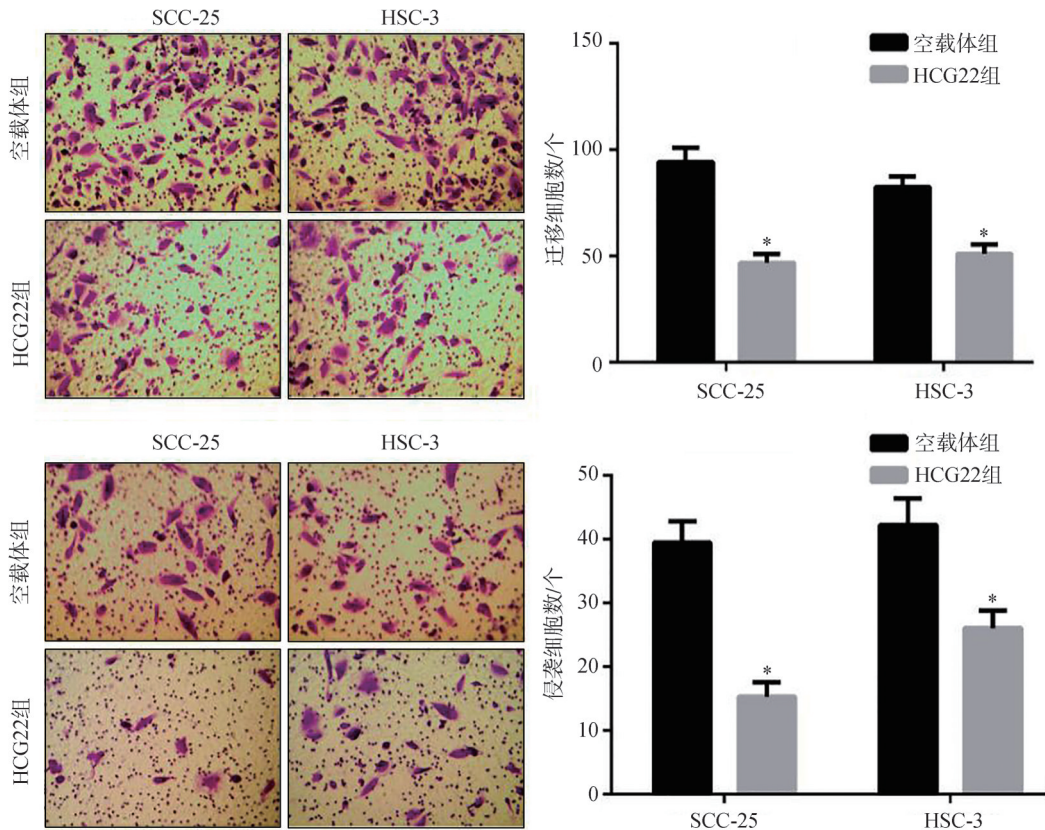
图 4 上调HCG22表达对OSCC细胞凋亡的影响

Fig 4 Effect of up-regulating HCG22 on the apoptosis of OSCC cells

2.5 上调 HCG22 表达对 OSCC 细胞迁移和侵袭影响

Transwell小室检测结果显示:与空载体组比

较, HCG22组 SCC-25细胞和HSC-3细胞迁移和侵袭能力明显减弱 ($P<0.05$) (图5)。



上: Transwell小室迁移实验; 下: Transwell小室侵袭实验; 左: Transwell小室结晶紫染色 $\times 200$; 右: 与空载体组比较, $*P<0.05$ 。

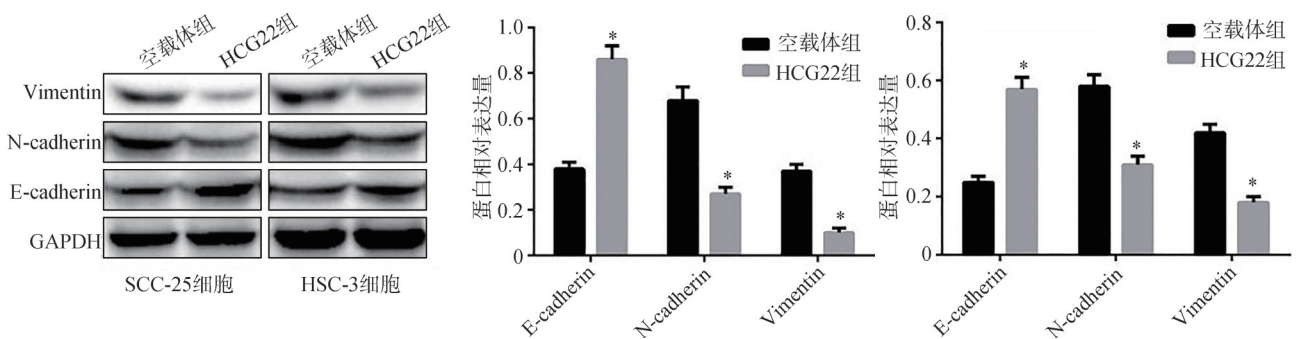
图 5 上调HCG22表达对OSCC细胞迁移和侵袭影响

Fig 5 Effects of up-regulating HCG22 on the migration and invasion of OSCC cells

2.6 上调 HCG22 表达对 OSCC 细胞上皮间质转化相关蛋白的影响

Western blotting检测结果显示:与空载体组比较, HCG22组 SCC-25细胞和HSC-3细胞中上皮间

质转化相关蛋白 E-cadherin表达水平明显升高, 而 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$) (图6)。



左: Western blotting检测上皮间质转化相关蛋白结果; 中: SCC-25细胞中各蛋白的相对表达量; 右: HSC-3细胞中各蛋白的相对表达量。与空载体组比较, $*P<0.05$ 。

图 6 上调HCG22表达对OSCC细胞上皮间质转化相关蛋白的影响

Fig 6 Effects of up-regulating HCG22 on epithelial mesenchymal transformation related proteins in OSCC cells

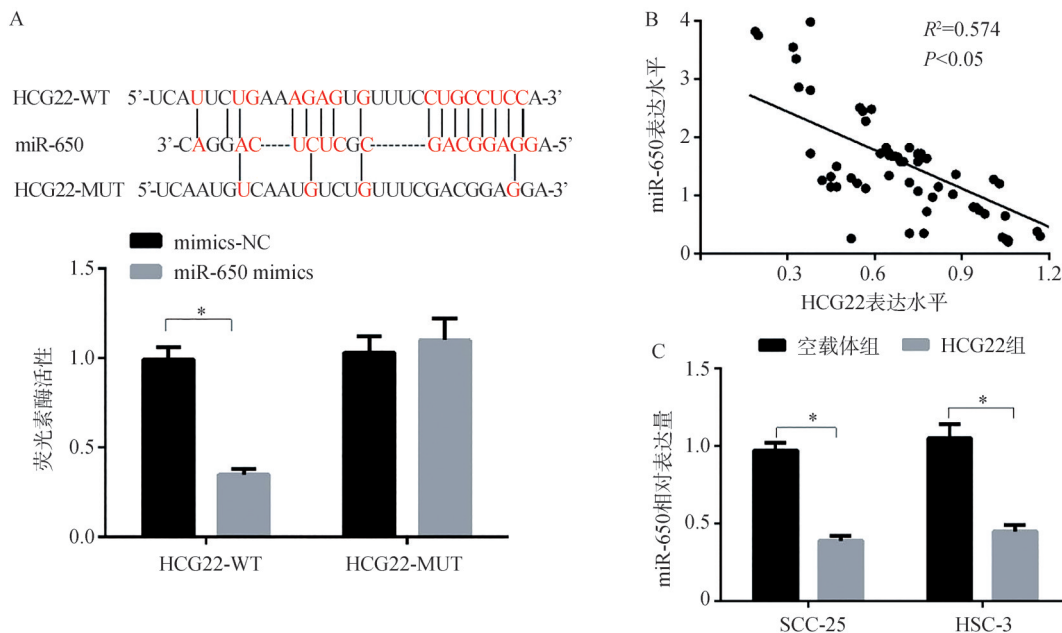
2.7 HCG22 靶基因预测及其验证

生物学软件 LncBase Predicted v.2 预测结果显

示: HCG22 和 miR-650 之间存在互补的结合位点; 双荧光素酶报告基因实验检测结果显示, 转染

miR-650 mimics 可使 HCG22-WT 载体的荧光素酶活性明显降低 ($P<0.05$) (图 7A); RT-qPCR 检测结果显示, OSCC 组织中 HCG22 和 miR-650 表达

水平呈负相关性, 上调 HCG22 表达可引起 SCC-25 和 HSC-3 细胞中 miR-650 表达水平降低 ($P<0.05$) (图 7C)。



A: 荧光素酶报告基因实验验证 HCG22 和 miR-650 靶向关系活性; B: OSCC 组织中 HCG22 和 miR-650 表达的相关性; C: 上调 HCG22 表达后 OSCC 细胞中 miR-650 表达水平, 与空载体组比较, $*P<0.05$ 。

图 7 HCG22 和 miR-650 靶向关系的验证

Fig 7 Verification of the targeting relationship between HCG22 and miR-650

3 讨论

OSCC 是一种好发于舌、颊和牙龈等部位的恶性肿瘤, 有着较高的发病率和死亡率^[9]。目前, 手术切除是 OSCC 治疗的主要手段, 但部分患者术后易出现复发和转移, 导致预后不良^[10], 其根本原因在于 OSCC 恶性发生发展的机制不够明确。在人类基因组中, 有 98% 的 RNA 为非编码 RNA, 而 lncRNAs 在非编码 RNA 中占 80~90%; lncRNAs 是一类长度超过 200 个碱基的非编码 RNA, 在基因的表达遗传、基因翻译、基因转录及转录后调控等过程中发挥着重要作用, 广泛参与了机体的各组生理和病理过程^[11]。随着对 OSCC 发生发展分子机制研究的深入, 越来越多的证据表明 OSCC 中异常表达的 lncRNAs 不仅与患者临床病理特征关系密切, 还可通过调控 miRNA 或者信号通路等多种机制影响肿瘤细胞的生物学行为, 发挥促进或抑制癌症进展的作用^[12-14]; lncRNAs 不仅可作为肿瘤诊断和预后因子, 还可作为肿瘤标志物和肿瘤治疗的靶点。因此, 研究差异性表达的 lncRNAs 对 OSCC 早期诊断和治疗具有重要意义。

HCG22 是一种研究相对较少的 lncRNA, 与人体多种疾病的发生密切相关。如 Yatagai 等^[15]研究发现, 日本人群迟发性哮喘易感性的增加与 HCG-22 的变异有关。Jeong 等^[16]报道指出, HCG22 是一种黏蛋白基因, 在类固醇诱导的高眼压发生过程中发挥着重要作用。除了与哮喘和高眼压发生有关外, HCG22 表达异常也被证实与肿瘤的发生密切相关。Li 等^[6]报道指出, HCG22 在食管鳞癌组织中表达下调, 且其表达与分化程度及临床 TNM 分期显著相关; 另外, 生物功能实验证实 HCG22 可以通过靶向调控 ADAMTS12 的表达抑制肿瘤细胞迁移和侵袭。Jiang 等^[7]研究指出, HCG-22 在膀胱癌中呈弱表达, 且 HCG22 低表达与患者低生存率密切相关; 细胞水平上也证实 HCG22 可通过调控 HuR/PTBP1 轴发挥抑制癌细胞增殖、迁移和上皮-间充质转化的作用。尽管, 有学者^[17]采用 GEO 数据库及检测 20 例 OSCC 组织发现 HCG22 表达下调, 但其在 OSCC 中的表达及作用机制并不完全清楚。本研究通过检测 OSCC 组织和细胞中 HCG22 的表达情况, 结果发现 HCG22 在 OSCC 中呈低表达状态; 进一步分析发现, HCG22 低表达与 OSCC 患者肿瘤大小、TNM 分期、分化程度和淋巴结

转移等密切相关。结果提示, HCG22可能在OSCC的恶性进展过程中扮演着重要角色。在具有代表性的SCC-25和HSC-3细胞株中进行功能实验发现,上调HCG22表达可抑制SCC-25和HSC-3细胞增殖、迁移、侵袭,诱导细胞凋亡,并可通过上调上皮间质转化上皮标志物E-cadherin和下调间质标志物N-cadherin、Vimentin蛋白的表达。因此可见, HCG22在OSCC发生和发展过程中扮演着抑癌因子的角色,可能是OSCC诊疗的潜在靶点。

miRNAs是一种不同于lncRNAs的且研究相对较多的短链非编码RNA,其异常表达与包括肿瘤在内的多种疾病的发生发展有着密切联系^[18]。研究^[19-21]显示, lncRNAs和miRNA之间存在着相互作用, lncRNAs可作为“分子海绵”靶向调控miRNA的表达来发挥生物学作用。miR-650是一种与结肠癌、肝癌和非小细胞肺癌等肿瘤发生发展密切相关的致癌基因,在肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭和上皮间质转化等过程中发挥着重要的调控作用^[22-24]。有研究^[25]指出, miR-650在OSCC中表达上调,且可通过上调Gfi1的表达促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。本研究采用生物学软件对HCG22潜在靶基因进行预测发现: HCG22与miR-650之间存在互补的结合位点,结合上述相关资料最终将miR-650作为HCG22的靶向研究对象。检测结构显示, miR-650在OSCC组织中的表达与HCG22呈负相关,同时, miR-650 mimics可使转染HCG22-WT质粒细胞的荧光素酶活性降低,而上调HCG22表达可降低SCC-25和HSC-3细胞中miR-650表达。因此推测,在OSCC中HCG22可直接靶向作用于miR-650,而HCG22在OSCC中发挥抑癌作用的分子机制也可能与对miR-650的调控有关。

综上所述,本研究认为HCG22在OSCC组织和细胞中低表达,上调其表达可抑制OSCC细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化,其作用机制可能与靶向调控miR-650表达有关。该结果的发现为进一步探讨HCG22在OSCC抑癌机制中的作用奠定基础,也为OSCC有效诊疗方案开辟了新的前景。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] 耿玉东,王树斌,卢泰青,等.长链非编码RNA肌动蛋白纤维相关蛋白1-反义RNA1在口腔鳞状细胞癌中的

表达及其相关功能[J].华西口腔医学杂志,2019,37(6):594-601.

Geng YD, Wang SB, Lu TQ, et al. Expression and functions of long non-coding RNA actin filament-associated protein1-antisense RNA1 in oral squamous cell carcinoma[J]. West China J Stomatol, 2019, 37(6): 594-601.

[2] Vucicevic Boras V, Fucic A, Virag M, et al. Significance of stroma in biology of oral squamous cell carcinoma[J]. Tumori, 2018, 104(1): 9-14.

[3] Qu XH, Shi YL, Ma Y, et al. LncRNA DANCR regulates the growth and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells via altering miR-216a-5p expression[J]. Hum Cell, 2020, 33(4): 1281-1293.

[4] Chen ZF, Wang Y, Sun LL, et al. LncRNA SNHG20 enhances the progression of oral squamous cell carcinoma by regulating the miR-29a/DIXDC1/Wnt regulatory axis [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(10): 5436-5445

[5] Liu L, Zhan Y, Huang Y, et al. LncRNA FGD5-AS1 can be predicted as therapeutic target in oral cancer[J]. J Oral Pathol Med, 2020, 49(9): 243-252.

[6] Li X, Xiao X, Chang R, et al. Comprehensive bioinformatics analysis identifies lncRNA HCG22 as a migration inhibitor in esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(1): 468-481.

[7] Jiang D, Zhang Y, Yang L, et al. Long noncoding RNA HCG22 suppresses proliferation and metastasis of bladder cancer cells by regulation of PTBP1[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2): 1711-1722.

[8] Yin J, Zeng X, Ai Z, et al. Construction and analysis of a lncRNA-miRNA-mRNA network based on competitive endogenous RNA reveal functional lncRNAs in oral cancer[J]. BMC Med Genomics, 2020, 13(1): 84-97.

[9] 程兰欣,朱卓立.具核梭杆菌与口腔鳞状细胞癌关系的研究进展[J].重庆医学,2020,49(16):2767-2770,2774. Cheng LX, Zhu ZL. Advances in the relationship between Fusobacterium nucleatum and oral squamous cell carcinoma[J]. Chongqing Med, 2020, 49(16): 2767-2770, 2774.

[10] 王倩,侯大为.口腔鳞状细胞癌发病及转移机制研究进展[J].口腔医学研究,2018,34(11):1164-1167.

Wang Q, Hou DW. Research progress in pathogenesis of oral squamous cell carcinoma[J]. J Oral Sci Res, 2018, 34(11): 1164-1167.

[11] 王婷梅,曲丽娜,李莹辉. LncRNA的结构、功能及其

- 与疾病的关系[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2015, 31(7): 659-666.
- Wang TM, Qu LN, Li YH. Structures and functions of long non-coding RNAs and its roles in diseases[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2015, 31(7): 659-666.
- [12] Gao P, Fan R, Ge T. SNHG20 serves as a predictor for prognosis and promotes cell growth in oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1): 951-957.
- [13] Zhang L, Meng X, Zhu XW, et al. Long non-coding RNAs in oral squamous cell carcinoma: biologic function, mechanisms and clinical implications[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 102.
- [14] 黄佳欣, 邵婷如, 陈跃川, 等. 长链非编码RNA在口腔鳞状细胞癌中的研究进展[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(2): 120-124.
- Huang JX, Shao TR, Chen YC, et al. The progress of lncRNAs in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Mol Diagn Ther*, 2018, 10(2): 120-124.
- [15] Yatagai Y, Hirota T, Sakamoto T, et al. Variants near the HLA complex group 22 gene (HCG22) confer increased susceptibility to late-onset asthma in Japanese populations[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(1): 281-283.
- [16] Jeong S, Patel N, Edlund CK, et al. Identification of a novel mucin gene HCG22 associated with steroid-induced ocular hypertension[J]. *Invest Ophthalmol Vis*, 2015, 56(4): 2737-2748.
- [17] Feng L, Houck JR, Lohavanichbutr P, et al. Transcriptome analysis reveals differentially expressed lncRNAs between oral squamous cell carcinoma and healthy oral mucosa[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31521-31531.
- [18] Zhong X, Coukos G, Zhang L. miRNAs in human cancer [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 822: 295-306.
- [19] 武丹, 曾林祥. 长链非编码RNA的微RNA海绵作用与呼吸系统疾病[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(5): 499-503.
- Wu D, Zeng LX. The roles of long non-coding RNAs functioning as MicroRNA sponge in respiratory diseases [J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2019, 35(5): 499-503.
- [20] Shen Y, Xu J, Pan X, et al. LncRNA KCNQ1OT1 sponges miR-34c-5p to promote osteosarcoma growth via ALDOA enhanced aerobic glycolysis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 278.
- [21] Zhang J, Wang L, Jiang J, et al. The lncRNA SNHG15/miR-18a-5p axis promotes cell proliferation in ovarian cancer through activating Akt/mTOR signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(12): 4699-4710.
- [22] 王琴, 何峰, 刘强, 等. TNF- α 通过调控miR-650/LATS1表达对结肠癌细胞增殖和凋亡的影响及其机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(6): 699-706.
- Wang Q, He F, Liu Q, et al. Effects of TNF- α on proliferation and apoptosis of colon cancer cells by regulating expression of miR-650/LATS1 and its mechanism[J]. *Chin J Immun*, 2020, 36(6): 699-706.
- [23] Han LL, Yin XR, Zhang SQ, et al. miR-650 promotes the metastasis and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma by directly inhibiting LATS2 expression[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(3): 1179-1192.
- [24] Tang XQ, Ding YJ, Wang XQ, et al. miR-650 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and invasion by targeting ING4 through Wnt-1/ β -catenin pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(5): 4621-4628.
- [25] Ningning S, Libo S, Chuanbin W, et al. MiR-650 regulates the proliferation, migration and invasion of human oral cancer by targeting growth factor independent 1 (Gfi1)[J]. *Biochimie*, 2019, 156: 69-78.

(本文编辑 杜冰)