

高尔基体膜蛋白1对口腔鳞状细胞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其机制

李首成^{1,2} 文才^{2,3} 余丽^{2,4} 陈俊良^{2,5} 冯浩^{1,2}

1. 西南医科大学附属口腔医院口腔颌面外科, 泸州 646000;

2. 西南医科大学颌面修复重建和再生泸州市重点实验室, 泸州 646000;

3. 西南医科大学附属口腔医院修复科, 泸州 646000;

4. 西南医科大学附属口腔医院牙周黏膜病科, 泸州 646000;

5. 西南医科大学附属口腔医院综合急诊科, 泸州 646000

[摘要] **目的** 探讨高尔基体膜蛋白1 (GOLM1) 在口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 中的表达及其对OSCC细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间充质转化 (EMT) 的影响和作用机制。**方法** 利用生物信息学分析在TCGA数据库和GTEx数据库中有关头颈鳞状细胞癌 (HNSCC) 的数据, 分析GOLM1在HNSCC中的表达情况及其对其预后的影响。免疫组织化学法检测GOLM1在OSCC组织和癌旁组织中的表达情况。提取人正常口腔角质细胞 (HOK) 及OSCC细胞系HSC-3和SCC-25中GOLM1的mRNA和蛋白, 利用荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 和蛋白质免疫印记法 (Western blot) 检测GOLM1的表达差异。选取HSC-3和SCC-25进行体外实验, 利用慢病毒转染沉默GOLM1, 并通过qRT-PCR和Western blot验证转染效果; CCK-8和集落形成实验检测细胞增殖能力; 划痕实验和Transwell实验检测细胞迁移和侵袭能力; Western blot检测EMT相关蛋白E-钙粘蛋白 (E-cadherin)、N-钙粘蛋白 (N-cadherin) 和波形蛋白 (Vimentin) 的表达变化。基因集富集分析 (GSEA) 筛选GOLM1可能的作用通路, 并通过Western blot和挽救实验进行验证。**结果** 生物信息学分析结果发现GOLM1在HNSCC中高表达且与其预后不良有关。GOLM1在OSCC组织中高表达。GOLM1在OSCC细胞系HSC-3和SCC-25中的表达水平显著高于HOK。沉默GOLM1后, OSCC细胞的增殖、迁移和侵袭能力显著降低; E-cadherin的表达显著上升, 而N-cadherin和Vimentin的表达显著下降。GSEA分析显示GOLM1与转化生长因子- β (TGF- β) 信号通路密切相关; 沉默GOLM1后, TGF- β 1、Smad2和p-Smad2的表达降低; 外源性重组人TGF- β 1蛋白刺激可逆转沉默GOLM1导致的OSCC细胞增殖、迁移和侵袭能力降低。**结论** GOLM1在OSCC组织和细胞中高表达, 沉默GOLM1可通过TGF- β 1/Smad2通路抑制OSCC细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT。

[关键词] 口腔鳞状细胞癌; 高尔基体膜蛋白1; 上皮间充质转化; 转化生长因子- β 1/Smad2

[中图分类号] R739.8 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2025.2025073



本文链接 开放科学标识码

Effect of Golgi membrane protein 1 on the proliferation, migration, and invasion of oral squamous cell carcinoma cells and its mechanism

Li Shoucheng^{1,2}, Wen Cai^{2,3}, Yu Li^{2,4}, Chen Junliang^{2,5}, Feng Hao^{1,2}

1. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, The Affiliated Stomatological Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Oral & Maxillofacial Reconstruction and Regeneration of Luzhou Key Laboratory, Luzhou

646000, China; 3. Dept. of Oral Implantology, The Affiliated Stomatological Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 4. Dept. of Periodontics and Oral Mucosal Diseases, The Affiliated Stomatologi-

[收稿日期] 2025-02-26

[基金项目] 四川省科学技术厅科技计划项目 (2024JDR0040)

[第一作者] 李首成, 医师, 硕士, E-mail: 1418497536@qq.com

[通信作者] 冯浩, 讲师, 博士, E-mail: fenghao@swmu.edu.cn

cal Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 5. Dept. of Comprehensive Emergency Medicine, The Affiliated Stomatological Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

Supported by: Sichuan Science and Technology Program (2024JDRC0040)

Correspondence: Feng Hao, E-mail: fenghao@swmu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of Golgi membrane protein 1 (GOLM1) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) and its effects on proliferation, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in OSCC cells and the underlying mechanisms. **Methods** Bioinformatics analysis was performed using the data from The Cancer Genome Atlas and Genotype-Tissue Expression databases to evaluate the expression of GOLM1 in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and its prognostic significance. Immunohistochemistry was used to detect GOLM1 expression in OSCC tissues and adjacent tissues. The mRNA and protein levels of GOLM1 in human normal oral keratinocytes (HOK) and OSCC cell lines (HSC-3 and SCC-25, respectively) were measured via real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot. For *in vitro* experiments, GOLM1 was silenced in HSC-3 and SCC-25 cells via lentiviral transfection, with the transfection efficiency validated through qRT-PCR and Western blot. Cell proliferation was assessed through Cell Counting Kit-8 (CCK-8) and colony formation assays. Cell migration and invasion were evaluated via wound healing and Transwell assays, respectively. Western blot was used to analyze EMT-related proteins (E-cadherin, N-cadherin, and Vimentin). Gene set enrichment analysis (GSEA) was conducted to identify potential signaling pathways associated with GOLM1, followed by validation through Western blot and rescue experiments. **Results** GOLM1 exhibited a high expression in HNSCC, correlation with poor prognosis, and significant upregulation in OSCC tissues. In addition, GOLM1 showed markedly elevated expression levels in OSCC cell lines HSC-3 and SCC-25 compared with those in HOK cells. Silencing of GOLM1 markedly suppressed OSCC cell proliferation, migration, and invasion, accompanied with an increased E-cadherin expression and decreased N-cadherin and Vimentin levels. GSEA revealed a strong association between GOLM1 and the transforming growth factor-beta (TGF- β) signaling pathway. Silencing of GOLM1 reduced the expressions of TGF- β 1, Smad2, and phosphorylated Smad2. Exogenous recombinant human TGF- β 1 protein rescued the inhibitory effects of GOLM1 knockdown on OSCC cell proliferation, migration, and invasion. **Conclusion** GOLM1 is overexpressed in OSCC tissues and cells, and silencing of this protein inhibits OSCC cell proliferation, migration, invasion, and EMT via the TGF- β 1/Smad2 signaling pathway.

[Key words] oral squamous cell carcinoma; Golgi membrane protein 1; epithelial-mesenchymal transition; transforming growth factor-beta 1/Smad2

口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 简称口腔鳞癌, 是口腔颌面部最常见的上皮源性恶性肿瘤, 占有口腔恶性肿瘤的90%以上^[1-2]。近年来, 尽管在OSCC的治疗上取得了进展, 但因其侵袭性强、转移率高和易复发的特点, 患者5年生存率仍不超过50%^[3]。因此, 深入研究OSCC的潜在生物标志物和治疗靶点, 对提高其诊治水平具有重要意义。

高尔基体膜蛋白1 (Golgi membrane protein 1, GOLM1), 又称为GP73、GOLPH2, 主要表达于上皮来源的细胞中, 在成人巨细胞肝炎中鉴定发现^[4-5]。GOLM1编码基因位于人类染色体9q21.33上, 全长3 042 bp, 其1 200 bp的开放阅读框包含两个编码区, 分别可编码400个和391个氨基酸序列^[6]。作为维持高尔基体稳态的关键调控因子, GOLM1与Giantin蛋白共定位于高尔基体膜上,

并协同参与囊泡运输和蛋白糖基化等细胞过程^[4,6]。GOLM1的表达失调与肿瘤和感染性疾病密切相关^[7]。研究表明, GOLM1在肝癌^[8-9]、前列腺癌^[10]、结直肠癌^[11]、肺癌^[12]、卵巢癌^[13]等多种实体恶性肿瘤中高表达, 并通过调控肿瘤发生发展的关键通路发挥促癌作用。在OSCC中, GOLM1的表达上调, 且在转移淋巴结中的表达显著高于原发灶, 提示其可能参与OSCC的侵袭转移^[14]。然而, 目前关于GOLM1在OSCC中的具体生物学功能及其分子机制尚未阐明。

本研究首先利用生物信息学分析GOLM1在头颈鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 中的表达情况及其与预后的关系; 继而采用分子生物学技术检测OSCC组织和细胞中GOLM1的表达水平; 最后以OSCC细胞系HSC-3和SCC-25为研究对象, 探究沉默GOLM1

对 OSCC 细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的作用, 并初步解析其分子机制, 以期对 OSCC 的诊断和治疗提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

1.1.1 临床样本

OSCC 组织及癌旁组织取自西南医科大学附属医院口腔颌面外科, 所有标本经过病理科检查认证, 患者知情同意并通过西南医科大学附属医院医学伦理委员会批准 (编号: 20220531-002)。

1.1.2 细胞系

人正常口腔角质细胞 (human oral keratinocytes, HOK) (深圳豪地华拓生物科技有限公司); 人 OSCC 细胞株 HSC-3 和 SCC-25 (上海中乔新舟生物科技有限公司)。

1.1.3 其他材料和试剂

DMEM 培养基 (武汉普诺赛生命科技有限公司); 胎牛血清 (BI 公司, 以色列); 青霉素-链霉素双抗、0.25% 胰蛋白酶 (上海碧云天生物技术有限公司); 免疫组化 SP 试剂盒 (北京博奥森生物技术有限公司); 乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 抗原修复液、通用型组织固定液 (武汉赛维尔生物技术有限公司); 苏木素染液 (北京鼎国昌盛生物技术有限公司); SteadyPure 快速 RNA 提取试剂盒、Evo M-MLV 反转录试剂盒、SYBR Green ProTaqHS 预混型实时定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (湖南艾科瑞生物工程有限公司); 磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH) 和 GOLM1 引物 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司]; shRNA (sh-NC 和 sh-GOLM1) [和元生物技术 (上海) 股份有限公司]; CCK-8 试剂盒 (同仁公司, 日本); Transwell 小室 (Corning 公司, 美国); Matrigel 基质胶 (BD 公司, 美国); 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE) 制备试剂盒、RIPA 总蛋白裂解液、BCA 蛋白质浓度测定试剂盒、电化学发光 (electrochemiluminescence, ECL) 检测试剂盒 (武汉阿斯本生物技术有限公司); 抗 GOLM1、抗转化生长因子- β 1

(transforming growth factor-beta 1, TGF- β 1)、抗波形蛋白 (Vimentin) 抗体和重组人 TGF- β 1 蛋白 (武汉三鹰生物技术有限公司); 抗 Smad2、抗 p-Smad2、抗 E-钙粘蛋白 (E-cadherin) 和抗 N-钙粘蛋白 (N-cadherin) 抗体 (CST 公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析

TIMER2.0 分析 TCGA 数据库中 GOLM1 在人体肿瘤组织中的表达, UNCLAN 分析 TCGA 数据库中 GOLM1 在 HNSCC 不同临床分期中的表达, GEPIA 分析 TCGA 和 GTEx 数据库中 GOLM1 表达对 HNSCC 患者生存率影响。

1.2.2 免疫组化 (immunohistochemistry, IHC)

病理组织石蜡包埋、切片, EDTA 修复, 3% 过氧化氢溶液中避光孵育, 10% 山羊血清室温封闭。加入一抗在 4 °C 下过夜孵育。室温下二抗孵育 1 h。加入 DAB 显色液。显微镜下呈棕黄色为阳性, PBS 轻洗终止显色。苏木精复染。切片脱水、干燥, 中性树脂密封。数字病理切片扫描仪 (KF-PRO-002, 宁波江丰生物信息技术有限公司) 观察 IHC 结果。

1.2.3 细胞培养及转染

HSC-3 使用 DMEM 高糖培养基 (10% FBS+1% 青霉素-链霉素溶液)、SCC-25 使用 DMEM F-12 培养基 (10% FBS+1% 青霉素-链霉素溶液) 在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养。细胞生长至对数生长期后接种至 6 孔板, 细胞密度生长至 40% 时按照说明书进行转染, 将细胞分为未转染组 (Control 组)、转染空载病毒组 (sh-NC 组)、转染病毒组 (sh-GOLM1 组), 每孔加入 1 μ g/ μ L 的 Polybrene-plus 提高转染效率, 转染 12 h 后换液, 72 h 后观察转染荧光。确认转染成功后每孔加入含 2 mg/L 嘌呤霉素的培养液, 定期观察, 若 Control 组细胞死亡, 表示稳定转染细胞株筛选成功, 可进行后续实验。实验所用慢病毒的转染序列见表 1。在挽救实验中, 使用 10 ng/mL 的重组人 TGF- β 1 蛋白处理细胞 24 h 后, 进行后续实验。

1.2.4 qRT-PCR

将对数生长期的细胞接种于 6 孔板, 培养 24 h 后, 使用 Steady Pure 快速 RNA 提取试剂盒按照说明提取细胞总 RNA。使用 Evo M-MLV 反转录试剂盒逆转录 cDNA。SYBR Green ProTaqHS 预混型 qPCR 试剂盒处理后进行扩增。以 GAPDH 为内参, 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法进行相对定量分析。所用引物序列见表 2。

表 1 转染序列

Tab 1 Transfection sequence

基因名称	序列
sh-NC	CCTAAGGTTAAGTCGCCCTCG
sh-GOLM1 1#	GAACAGTGTGAGGAGCGAATA
sh-GOLM1 2#	GCAGGGAATGACAGAAACATA
sh-GOLM1 3#	CATCATCGTCTTGGGCTCAA

表 2 引物序列

Tab 2 Primer sequence

基因名称	序列 (5'-3')
GOLM1	F: ATCACCACAGGTGAGAGGCTCA
	R: ACTTCCTCTCCAGGTTGGTCTG
GAPDH	F: CAATGACCCCTTCATTGACC
	R: GACAAGCTTCCCGTTCTCAG

1.2.5 CCK-8实验

将细胞以 3×10^3 个/孔接种到 96 孔板中, 置于培养箱中分别培养 24、48 和 72 h。将 CCK-8 液与培养基以 1 : 9 比例混合, 每孔加入 100 μ L 混合后的液体, 培养箱中孵育 2 h, 使用酶标仪在 450 nm 处检测每孔的光密度 (optical density, OD) 值。

1.2.6 集落形成实验

将细胞以 1×10^3 个/孔接种于 6 孔板中, 每 3 d 换一次液。培养 14 d 后, PBS 缓冲液清洗, 4% 多聚甲醛固定, 0.1% 结晶紫染色, 拍照记录。ImageJ 分析集落形成个数。

1.2.7 划痕实验

在 6 孔板背面用记号笔做 3 条平行线, 将对数生长期细胞以 8×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 待细胞生长至 80% 密度时, 用灭菌后的 200 μ L 移液枪头在孔内进行垂直于记号笔平行线的划痕。PBS 缓冲液清洗 2 次, 每孔加入 2 mL 无血清培养基培养。在 0、24 h 分别于倒置显微镜下记录同一位置划痕愈合情况。ImageJ 分析划痕愈合率。

1.2.8 Transwell 迁移和侵袭实验

迁移实验: 细胞饥饿处理 24 h 后, 以 3×10^4 个/孔接种于无血清培养基的 Transwell 小室上室中, 下室中加入含 10% FBS 培养基 600 μ L。培养 24 h 后, PBS 缓冲液清洗, 4% 多聚甲醛固定, 棉签擦去上室中未迁移细胞, 0.1% 结晶紫染色, 显微镜下随机取 5 个视野观察并拍照记录。

侵袭实验: 用预冷的无血清 DMEM 培养基稀释 Matrigel 基质胶, 上室中加入 100 μ L 稀释混合液, 放入孵育箱中, 直至变为半固态。将饥饿处理后的细胞以 3×10^4 个/孔接种于无血清培养基的 Transwell 小室上室中, 下室中加入含 10% FBS 培

养基 600 μ L。培养 36 h, 余同迁移实验。

1.2.9 免疫印迹 (Western blot) 实验

RIPA 裂解液冰上裂解 30 min 提取总蛋白, BCA 蛋白质浓度测定试剂盒测定样品蛋白浓度。加入适当量的 5 \times 蛋白上样缓冲液, 95~100 $^{\circ}$ C 沸水浴 5 min。制备 SDS-PAGE 凝胶进行电泳, 转膜, 加封闭液至转好的膜室温封闭 1 h。除去封闭液, 一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜。二抗室温孵育 30 min。加入 ECL 发光液曝光显影。ImageJ 进行灰度分析。

1.3 统计学分析

使用 Graphpad prism 10.0 软件进行统计分析, 实验数据以均数 \pm 标准差表示, 2 组间差异比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析。P<0.05 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 GOLM1 在 HNSCC 中的表达及与预后的关系

基于 TCGA 数据库的分析显示, GOLM1 在膀胱癌、胆管癌以及 HNSCC 等多种实体瘤组织中均呈高表达 (P<0.05, 图 1A); GOLM1 在不同临床分期 HNSCC 中的表达较正常组织中均升高 (图 1B)。使用 GEPIA 对基于 TCGA 和 GTEx 数据库中提取的数据分析显示, GOLM1 高表达组的 HNSCC 患者总体生存率显著低于低表达组 (P<0.05, 图 1C)。OSCC 是 HNSCC 的主要瘤种之一, 这提示 GOLM1 在 OSCC 中有类似的异常高表达模式, 且其过表达与患者预后不良密切相关。

2.2 GOLM1 在 OSCC 组织和细胞中的表达

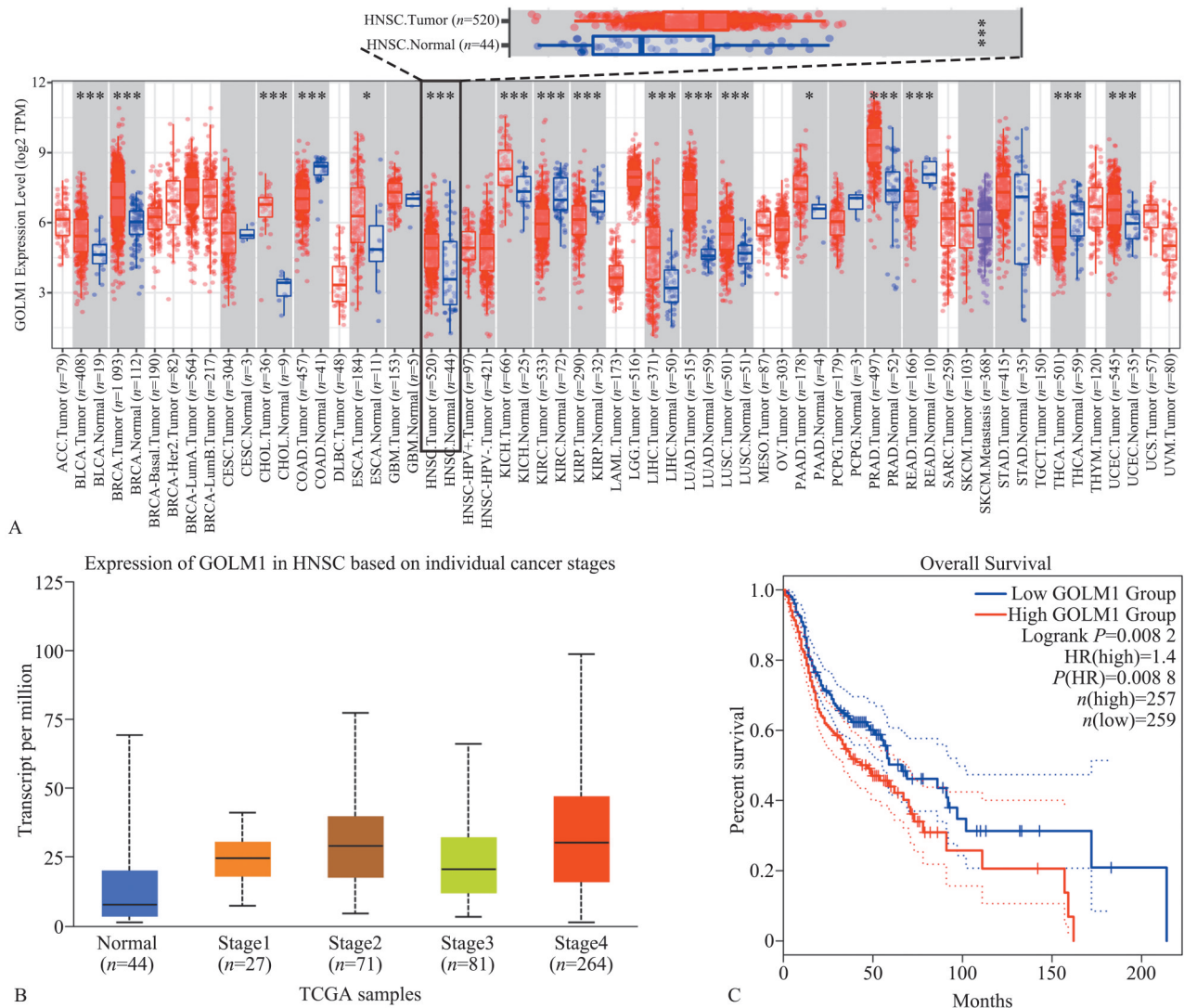
IHC 结果显示, GOLM1 在 OSCC 组织中的表达较癌旁组织明显升高 (图 2A)。qRT-PCR 和 Western blot 结果显示, 相较于 HOK, 在 HSC-3 和 SCC-25 中 GOLM1 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显升高 (P<0.05, 图 2B、C)。由此表明, GOLM1 在 OSCC 中表达升高。

2.3 sh-GOLM1 转染效率检测

荧光显微镜观察结果显示, Control 组细胞未检测到荧光信号, 而 sh-NC 组、sh-GOLM1 1#组、sh-GOLM1 2#组和 sh-GOLM1 3#组均呈现显著的荧光表达 (图 3A、4A)。qRT-PCR 检测结果表明, 与 Control 组相比, sh-NC 组 GOLM1 mRNA 表达水平无显著差异 (P>0.05); 而 sh-GOLM1 1#组、sh-GOLM1 2#组和 sh-GOLM1 3#组的 GOLM1 mRNA 表达均显著下调 (P<0.05), 其中 sh-GOLM1 1#组的抑制效果最为显著 (图 3B、4B)。基于上

述结果，选择 sh-GOLM1 1#组作为 sh-GOLM1 组进行后续实验。Western blot 分析显示，sh-GOLM1 组的 GOLM1 蛋白表达水平较 Control 组和 sh-NC 组均显著降低 ($P<0.05$ ，图 3C、4C)，这一结果

与 qRT-PCR 检测结果一致。以上结果表明，在 HSC-3 和 SCC-25 细胞中成功实现了 GOLM1 基因的敲低。



A: GOLM1 在肿瘤中的表达; B: GOLM1 在不同临床分期 HNSCC 中的表达; C: GOLM1 表达对 HNSCC 患者生存率的影响。

图 1 GOLM1 在 HNSCC 中的表达及与预后的关系

Fig 1 GOLM1 expression and prognostic significance in HNSCC

2.4 沉默 GOLM1 对 OSCC 细胞增殖的影响

CCK-8 结果示，HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组的 OD₄₅₀ 值较 sh-NC 组均明显降低 ($P<0.05$ ，图 5A、B)。集落形成实验显示，沉默 GOLM1 后，HSC-3 和 SCC-25 的集落形成数目明显减少 ($P<0.05$ ，图 5C、D)。结果表明，沉默 GOLM1 可显著抑制 OSCC 细胞的增殖能力。

2.5 沉默 GOLM1 对 OSCC 细胞迁移、侵袭的影响

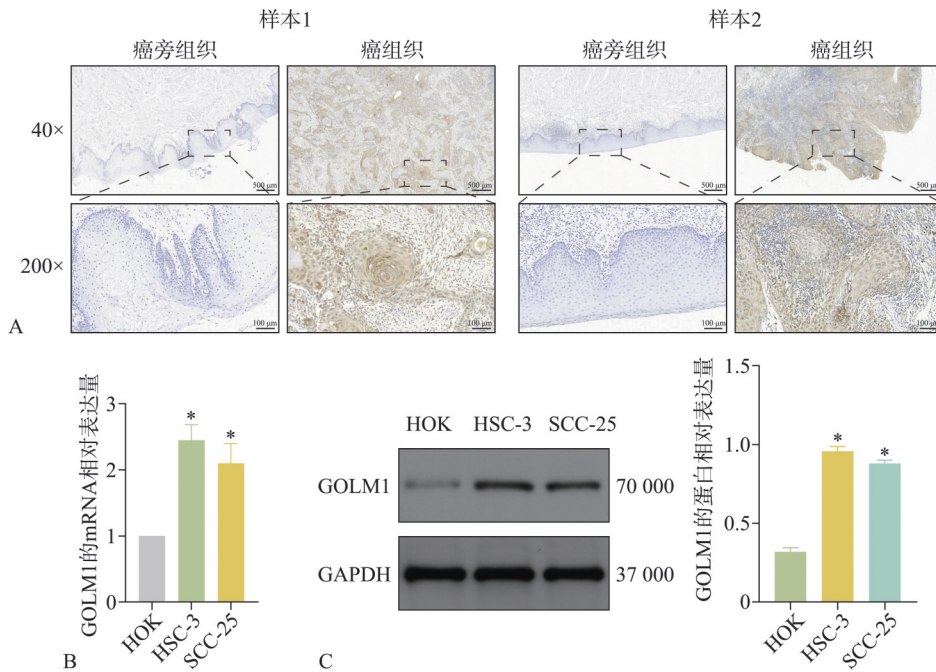
细胞划痕结果显示，HSC-3 和 SCC-25 的 sh-GOLM1 组在 24 h 的划痕相对愈合面积均显著低于 sh-NC 组 ($P<0.05$ ，图 6A、B)。Transwell 迁移实

验进一步证实，与 sh-NC 组相比，HSC-3 和 SCC-25 的 sh-GOLM1 组穿过上室的细胞数显著降低 ($P<0.05$ ，图 6C、D)。同样，Transwell 侵袭实验结果显示，HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组中穿膜细胞数量也显著低于 sh-NC 组 ($P<0.05$ ，图 6C、D)。这些结果表明，沉默 GOLM1 可显著抑制 OSCC 细胞的迁移和侵袭能力。

2.6 沉默 GOLM1 对 OSCC EMT 的影响

Western blot 结果显示，在 HSC-3 和 SCC-25 中，与 sh-NC 组相比，sh-GOLM1 组 E-cadherin 的表达显著上升，而 N-cadherin 和 Vimentin 的表达显

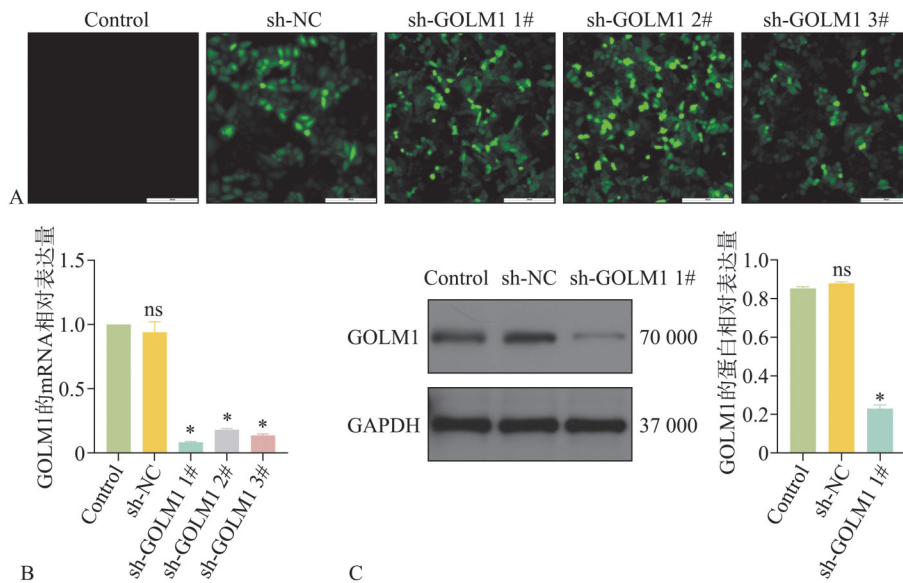
著下降 ($P<0.05$, 图 7A、B)。这表明, 沉默 GO-LM1 可抑制 OSCC 的 EMT。



A: GOLM1 在 OSCC 组织和癌旁组织中的表达; B、C: GOLM1 在 HOK、HSC-3 和 SCC-25 中 mRNA 及蛋白表达。与 HOK 相比, $*P<0.05$ 。

图 2 GOLM1 在 OSCC 组织和细胞中的表达

Fig 2 Expression of GOLM1 in OSCC tissues and cells



A: 转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 细胞各组荧光; B: qRT-PCR 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 细胞各组 GOLM1 mRNA 的表达量; C: Western blot 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 细胞各组 GOLM1 蛋白的表达量。与 Control 组相比, ns 为 $P>0.05$; $*P<0.05$ 。

图 3 HSC-3 sh-GOLM1 转染效率检测

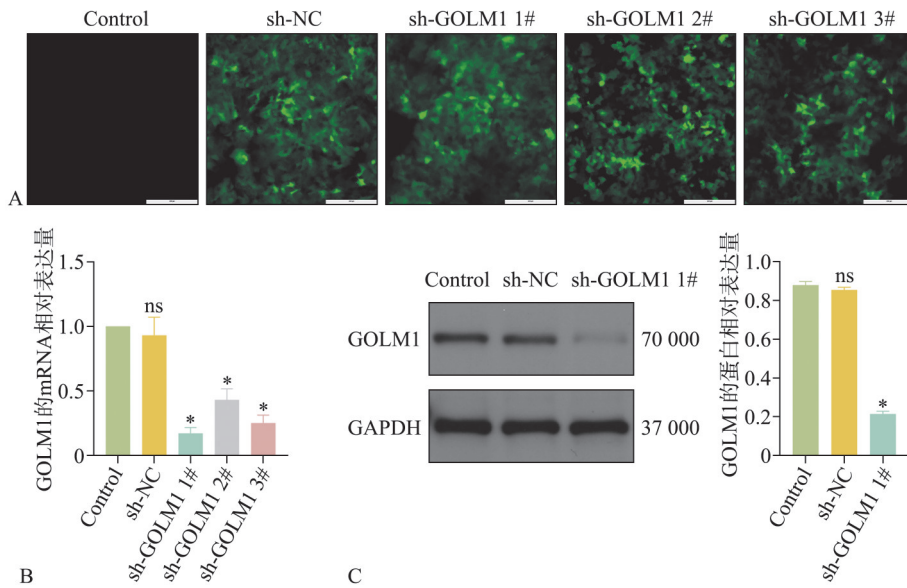
Fig 3 Transfection efficiency detection of sh-GOLM1 in HSC-3 cells

2.7 GOLM1 通过 TGF-β1/Smad2 通路调控 OSCC 的进展

基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 显示 GOLM1 与 TGF-β 信号通路存在显著关联 ($P<0.05$, 图 8A)。Western blot 结果表

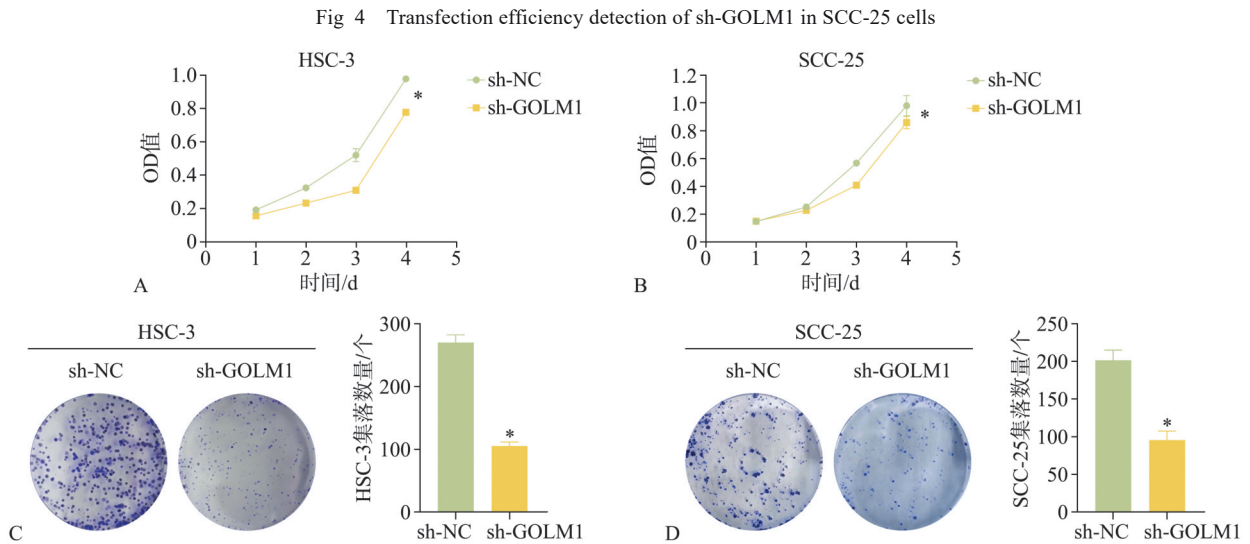
明, sh-GOLM1 组 TGF-β1、Smad2、p-Smad2 表达较 sh-NC 组显著降低 ($P<0.05$, 图 8B、C)。加入重组人 TGF-β1 的挽救实验结果显示, sh-GOLM1+TGF-β1 组细胞的增殖 (图 9)、迁移和侵袭能力 (图 10) 较 sh-GOLM1 组细胞显著增强 ($P<0.05$)。

由此表明，GOLM1 可通过 TGF-β1/Smad2 通路促进 OSCC 的进展。



A: 转染 sh-GOLM1 后 SCC-25 细胞各组荧光; B: qRT-PCR 检测转染 sh-GOLM1 后 SCC-25 细胞各组 GOLM1 mRNA 的表达量; C: Western blot 检测转染 sh-GOLM1 后 SCC-25 细胞各组 GOLM1 蛋白的表达量。与 Control 组相比, ns 为 $P>0.05$; $*P<0.05$ 。

图 4 SCC-25 sh-GOLM1 转染效率检测



A、B: CCK-8 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 的增殖能力; C、D: 集落形成实验检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 增殖能力。与 sh-NC 组相比, $*P<0.05$ 。

图 5 沉默 GOLM1 对 OSCC 细胞增殖的影响

Fig 5 Effect of GOLM1 silencing on OSCC cell proliferation

3 讨论

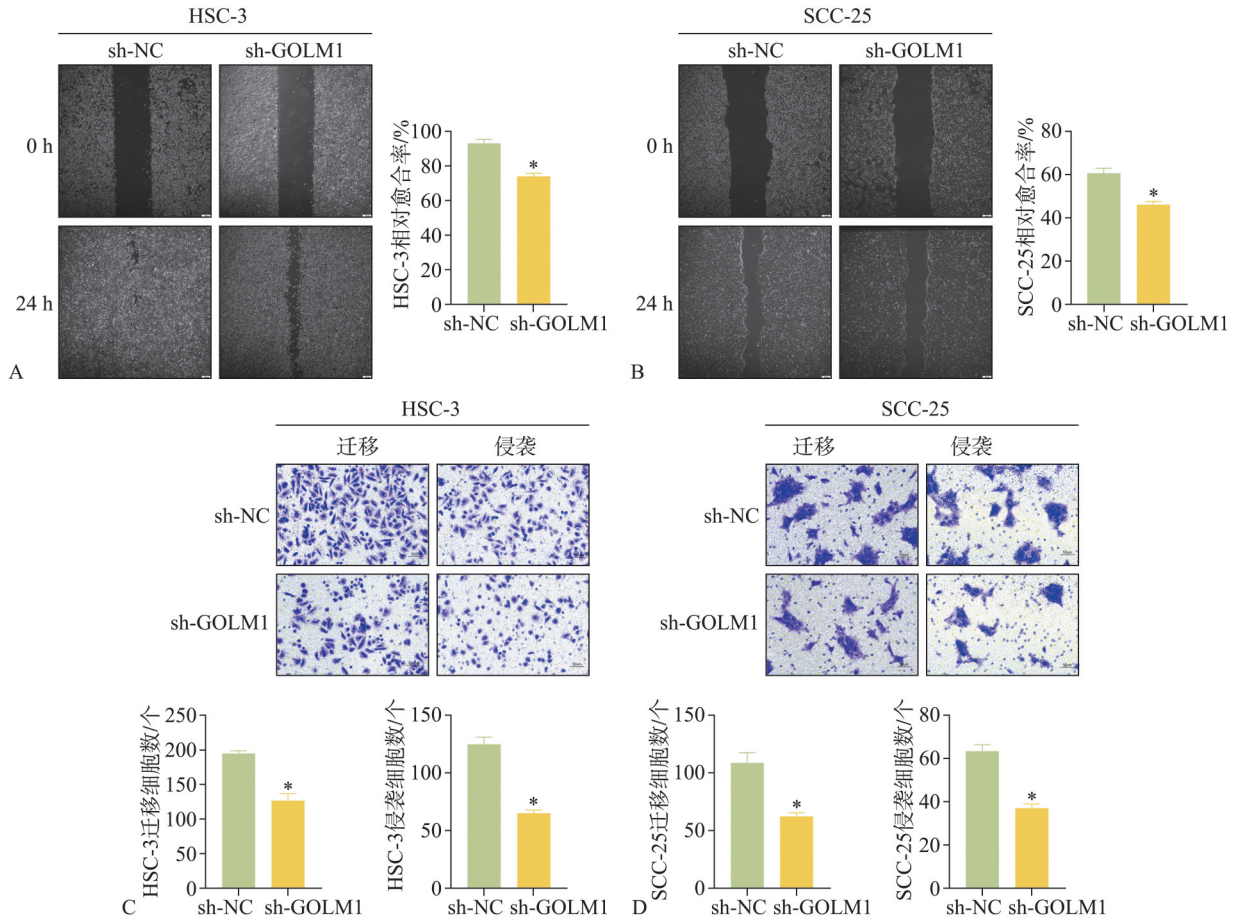
近年来, OSCC 在全球的发病率总体呈上升趋势^[1]。据统计, 2022 年中国 OSCC 年新增病例 31 733 例, 死亡 15 745 例, 凸显其严峻的疾病负担^[5]。目前, 根治性手术仍是主要治疗手段, 但伴随的创伤性组织缺损及不可逆性功能损伤, 常导致患者面容损毁和生存质量显著下降^[16]。因此,

探寻 OSCC 诊疗的潜在标志物并探究其作用机制, 对提高 OSCC 诊疗效果具有重要的临床意义。

GOLM1 是一种定位于顺式高尔基体上的糖基化蛋白, 在蛋白质翻译后修饰与分选的过程中发挥关键作用^[5]。大量研究^[8-13]表明, GOLM1 在肝癌、结直肠癌、非小细胞肺癌等多种实体恶性肿瘤中呈异常高表达, 且其表达水平与患者不良预后显著正相关。在 OSCC 领域, Li 等^[14]利用组织芯片技术证实 GOLM1 在 OSCC 组织中异常高表达,

其表达水平虽与肿瘤大小、病理分级和淋巴结转移状态等临床病理特征无统计学差异,但与患者总生存期缩短显著相关。Xi等^[7]在HNSCC的相关研究中,也得到了类似的结果。本研究通过整合TCGA和GTEx数据库进行生物信息学分析,发现GOLM1在HNSCC组织中的表达显著上调,且高

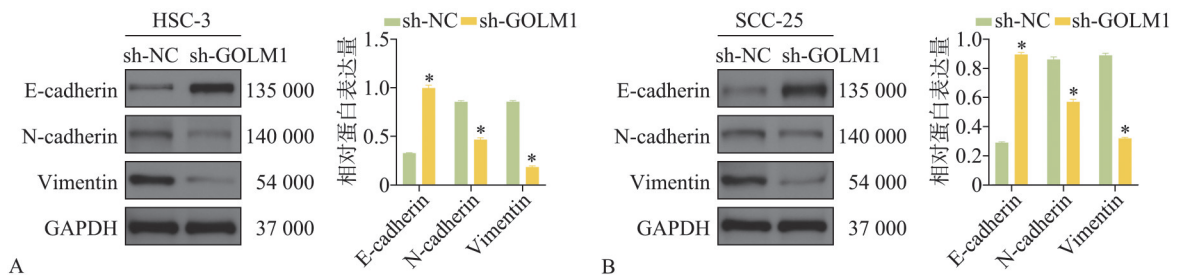
表达患者预后不良。结合IHC、qRT-PCR和Western blot的实验结果,本研究进一步在临床样本和细胞水平验证了GOLM1在OSCC中的异常高表达特征。这些结果与上述研究形成重要互补,共同确立了GOLM1在OSCC的发生发展中的潜在生物学价值。



A、B: 划痕实验检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 的迁移能力; C、D: Transwell 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 的迁移、侵袭能力。与 sh-NC 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 6 沉默 GOLM1 对 OSCC 细胞迁移、侵袭的影响

Fig 6 Impact of GOLM1 silencing on OSCC cell migration and invasion



A、B: Western blot 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 EMT 相关蛋白的表达变化。与 sh-NC 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 7 沉默 GOLM1 对 OSCC EMT 的影响

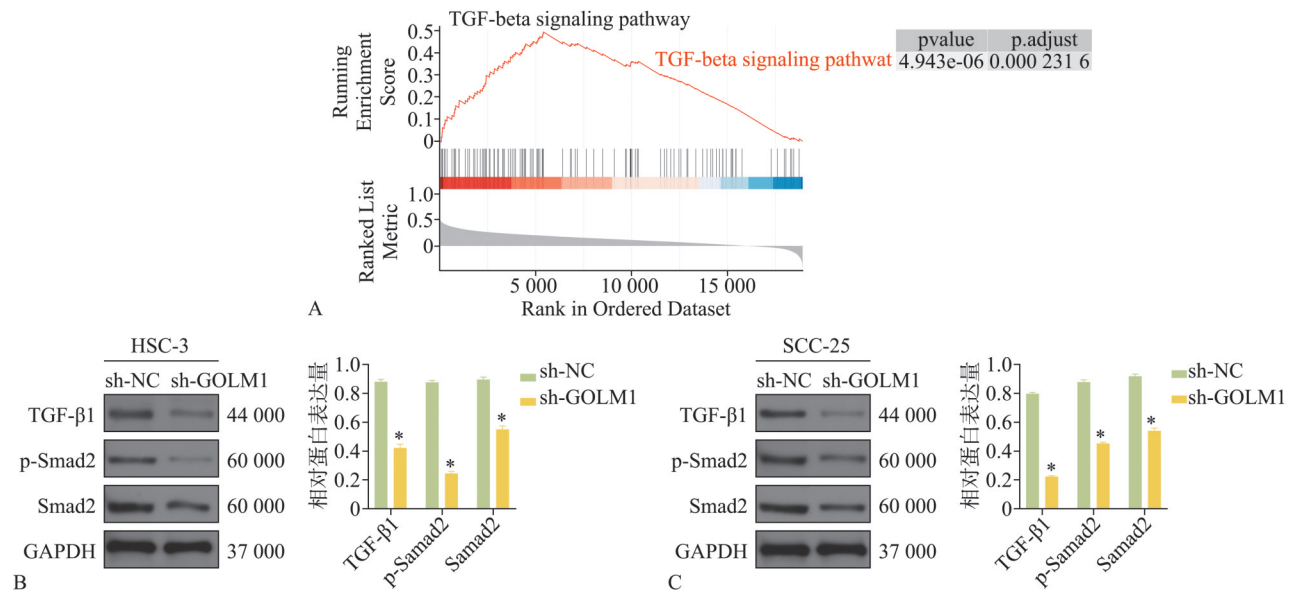
Fig 7 GOLM1 silencing modulates EMT in OSCC cells

GOLM1 可通过多维度分子机制参与肿瘤恶性表型调控。Wang 等^[9]发现 GOLM1 可通过与丙酮酸

激酶 M2 的协同作用,促进血管生成和 M2 型巨噬细胞的极化,从而导致肝癌的恶性进展和索拉非

尼的获得性耐药。在结直肠癌中，Dang等^[11]研究显示GOLM1通过募集髓源性抑制细胞构建免疫抑制微环境，进而促进肿瘤转移。朱海鹏等^[12]研究发现，沉默GOLM1可阻断PI3K/AKT/mTOR通路的磷酸化级联反应，显著抑制肺腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力。然而，目前关于GOLM1在OSCC中的具体作用及其调控机制尚未见相关报道。在OSCC中，Li等^[14]发现GOLM1在转移性淋巴结

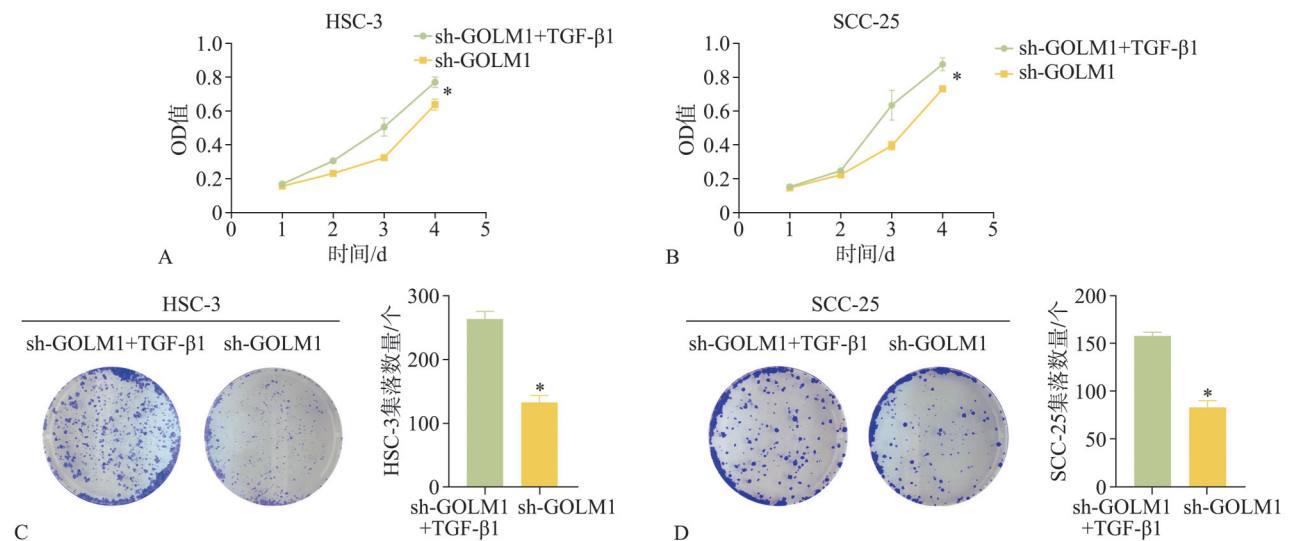
中的表达显著高于原发灶，提示其可能参与OSCC的侵袭转移调控。本研究通过构建shRNA慢病毒稳转系统，成功建立了GOLM1稳定低表达的OSCC细胞模型。功能学实验显示，沉默GOLM1后HSC-3和SCC-25的增殖、迁移和侵袭能力显著下降，这从细胞学层面初步揭示了GOLM1在OSCC恶性进展中的关键作用。



A: GSEA 富集分析预测 GOLM1 的作用通路; B、C: Western blot 检测转染 sh-GOLM1 后 HSC-3 和 SCC-25 中 TGF-β1/Smad2 通路相关蛋白的表达变化。与 sh-NC 组相比, *P<0.05。

图 8 GOLM1 在 OSCC 中对 TGF-β1/Smad2 通路的影响

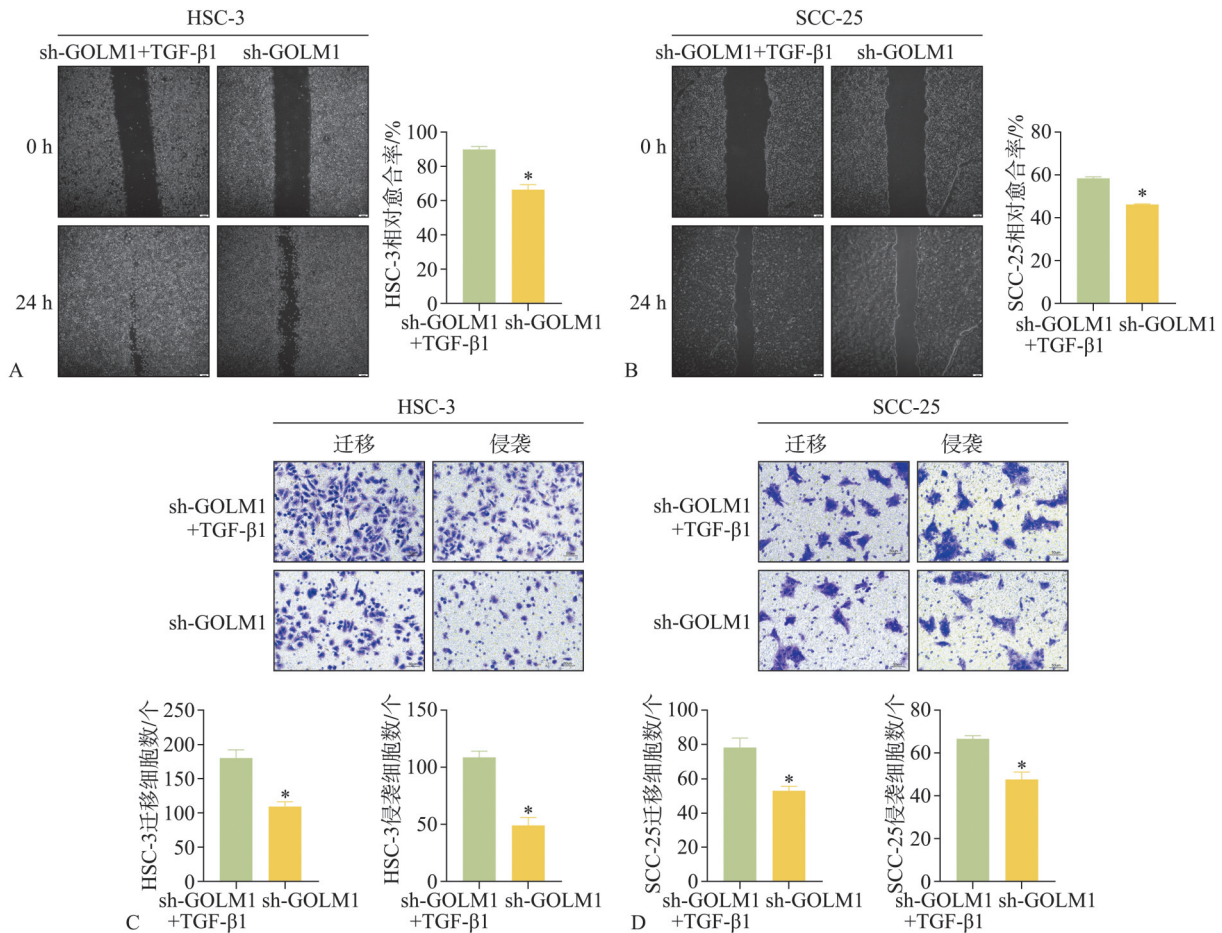
Fig 8 Regulatory role of GOLM1 in the TGF-β1/Smad2 pathway in OSCC



A、B: CCK-8 检测 TGF-β1 处理后对 HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组细胞增殖能力的影响; C、D: 集落形成实验检测 TGF-β1 处理后对 HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组细胞增殖能力的影响。与 sh-GOLM1+TGF-β1 组相比, *P<0.05。

图 9 TGF-β1 处理对 sh-GOLM1 组 OSCC 细胞增殖能力的影响

Fig 9 TGF-β1 treatment rescues proliferative capacity in sh-GOLM1 OSCC cells



A、B: 划痕实验检测 TGF-β1 处理后对 HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组细胞迁移能力的影响; C、D: Transwell 检测 TGF-β1 处理后对 HSC-3 和 SCC-25 sh-GOLM1 组细胞迁移和侵袭能力的影响。与 sh-GOLM1+TGF-β1 组相比, *P<0.05。

图 10 TGF-β1 处理对 sh-GOLM1 组 OSCC 细胞迁移和侵袭能力的影响

Fig 10 TGF-β1 treatment restores migratory and invasive abilities in sh-GOLM1 OSCC cells

EMT 作为肿瘤转移的核心生物学过程, 其分子特征表现为 E-cadherin 等上皮标志物的表达缺失, 同时伴随 N-cadherin、Vimentin 等间充质标志物的异常激活^[18-19]。研究^[6]表明, GOLM1 作为 EMT 的重要调控因子, 可通过多维度调控机制 (包括蛋白表达调控、转录激活和胞内运输过程) 驱动 EMT 进程。在结直肠癌中, Mao 等^[20]发现 GOLM1 可通过蛋白激酶 B/糖原合成酶 3β (protein kinase B/glycogen synthase kinase 3β, AKT/GSK-3β) 通路促进 EMT 的发生。在本研究中, 沉默 GOLM1 后, OSCC 细胞 E-cadherin 的表达明显升高并伴随 N-cadherin 和 Vimentin 显著下调。这表明 GOLM1 在 OSCC EMT 进程中发挥驱动作用。

为了进一步探究 GOLM1 的作用机制, 本研究通过 GSEA 富集分析发现其与 TGF-β 信号通路存在显著关联。作为 EMT 的核心调控通路, TGF-β 信号激活的经典传导机制涉及配体与转化生长因子 β I 型/转化生长因子 β II 型受体复合物 (transform-

ing growth factor β type I /transforming growth factor β type II receptor complex, TβR I /TβR II) 结合, 触发 Smad2/3 磷酸化并与 Smad4 形成转录复合体入核调控靶基因^[21-23]。本研究发现, 沉默 GOLM1 可导致 TGF-β1、Smad2 及其磷酸化形式 p-Smad2 的蛋白水平显著下降。而 sh-GOLM1 细胞在经外源性 TGF-β1 处理后, 可成功逆转因沉默 GOLM1 而导致的 HSC-3 和 SCC-25 细胞增殖、迁移和侵袭能力的下降。笔者推测 GOLM1 在 OSCC 中可能通过双重机制调控 TGF-β1/Smad2 通路: 一方面调节 TGF-β1 的表达水平, 另一方面调控 Smad2 的磷酸化激活过程, 从而促进 OSCC 的恶性生物学行为进展。这或许可解释其在多种恶性肿瘤转移侵袭中的广谱促进作用。需要指出的是, 本研究尚未阐明 GOLM1 与 TGF-β1/Smad2 通路相互作用的具体分子界面, 且缺乏体内实验验证, 这些都是后续研究的重点方向。

近年来, 基于蛋白质组学技术的新型标志物筛

选已成为 OSCC 的热点研究领域。通过对唾液、血清和组织样本的蛋白组学分析, 研究人员已筛选出多个具有诊断潜力的 OSCC 的标志物, 如白细胞介素 (interleukin, IL) -6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase 1, MMP1) 等^[3,24]。研究^[25]发现, 弗林蛋白酶通过对 GOLM1 上 R52V-RR55PC 位点的酶切作用, 促进该蛋白从细胞中释放, 从而使其能够在体液中被检测到。在肝癌领域, 血清 GOLM1 的诊断效能 (敏感性/特异性) 显著优于传统标志物甲胎蛋白, 已成为肝癌早期诊断和术后复发病情评估的理想标记物^[26]。本研究及既往文献表明, GOLM1 在 OSCC 组织样本中具有潜在的诊断价值, 然而其作为非侵入性生物标志物在血清和唾液等体液样本中的检测价值仍有待进一步验证。

综上所述, GOLM1 在 OSCC 组织和细胞中的表达显著升高。沉默 GOLM1 后, HSC-3 和 SCC-25 细胞的增殖、迁移、侵袭和 EMT 受到抑制, TGF- β 1/Smad2/p-Smad2 的表达均显著降低; 而外源性 TGF- β 1 处理可逆转因沉默 GOLM1 而导致的 OSCC 恶性生物学行为下降。由此推测, GOLM1 可通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路促进 OSCC 的增殖、迁移、侵袭和 EMT。这些发现为 GOLM1 作为 OSCC 潜在的诊疗靶点提供了一定的理论依据, 但其对 TGF- β 1/Smad2 通路的具体调控机制及体内功能验证仍需深入研究。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] 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): 229-263.
- [2] 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.
- [3] Radaic A, Kamarajan P, Cho A, et al. Biological biomarkers of oral cancer[J]. *Periodontol 2000*, 2024, 96(1): 250-280.
- [4] Kladney RD, Bulla GA, Guo L, et al. GP73, a novel Golgi-localized protein upregulated by viral infection[J]. *Gene*, 2000, 249(1/2): 53-65.
- [5] Xia Y, Zhang Y, Shen M, et al. Golgi protein 73 and its diagnostic value in liver diseases[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12538.
- [6] Liu Y, Hu X, Liu S, et al. Golgi phosphoprotein 73: the driver of epithelial-mesenchymal transition in cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 783860.
- [7] Feng P, Hu X, Zhou S, et al. Golgi protein 73: the driver of inflammation in the immune and tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2025, 15: 1508034.
- [8] Xie P, Wu M, Wang H, et al. GOLM1 dictates acquired Lenvatinib resistance by a GOLM1-CSN5 positive feedback loop upon EGFR signaling activation in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncogene*, 2024, 43(42): 3108-3120.
- [9] Wang S, Zhang T, Zhou Y, et al. GP73-mediated secretion of PKM2 and GP73 promotes angiogenesis and M2-like macrophage polarization in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1): 69.
- [10] Yan G, Zhu T, Zhou J, et al. GOLM1 promotes prostate cancer progression via interaction with PSMD1 and enhancing AR-driven transcriptional activation[J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(20): e70186.
- [11] Dang Y, Yu J, Zhao S, et al. GOLM1 drives colorectal cancer metastasis by regulating myeloid-derived suppressor cells[J]. *J Cancer*, 2021, 12(23): 7158-7166.
- [12] 朱海鹏, 胡军, 姜敏, 等. GOLM1 调控 PI3K/AKT/mTOR 信号转导通路促进肺腺癌细胞增殖、侵袭和迁移的机制研究[J]. *中国癌症杂志*, 2022, 32(3): 207-217.
- [12] Zhu HP, Hu J, Jiang M, et al. A study on mechanism of GOLM1 regulating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to promote proliferation, invasion and migration of lung adenocarcinoma cells[J]. *Chin Oncol*, 2022, 32(3): 207-217.
- [13] Guan J, Qin Y, Deng G, et al. GOLM1 as a potential therapeutic target modulates B7-H3 secretion to drive ovarian cancer metastasis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 5151065.
- [14] Li H, Yang LL, Xiao Y, et al. Overexpression of Golgi phosphoprotein 2 is associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma[J]. *Am J Clin Pathol*, 2018, 150(1): 74-83.
- [15] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022, 135(5): 584-590.
- [16] 刘梅, 石兴莲, 李哲臻, 等. 口腔癌患者生存质量相关因素的系统评价[J]. *华西口腔医学杂志*, 2024, 42(4): 486-493.

- Liu M, Shi XL, Li ZZ, et al. Systematic review of factors related to quality of life in patients with oral cancer: a systematic review[J]. West Chin J Stomatol, 2024, 42(4): 486-493.
- [17] Xi Y, Zhang T, Sun W, et al. GOLM1 and FAM49B: potential biomarkers in HNSCC based on bioinformatics and immunohistochemical analysis[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(23): 15433.
- [18] Huang Y, Hong W, Wei X. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 129.
- [19] Fontana R, Mestre-Farrera A, Yang J. Update on epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression[J]. Annu Rev Pathol, 2024, 19: 133-156.
- [20] Mao Z, Wu Y, Yao P, et al. GOLM1 facilitates human colorectal cancer progression and metastasis via activating the AKT/GSK3 β /EMT axis[J]. Neoplasma, 2023, 70(1): 136-144.
- [21] 冀为, 赵元元, 张飞, 等. TGF- β 与细胞内信号通路的交互作用在肿瘤研究中的进展[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(15): 800-803.
- Ji W, Zhao YY, Zhang F, et al. Research progress on the crosstalk between TGF- β and multiple intracellular signaling pathways in cancer progression[J]. Chin J Clin Oncol, 2018, 45(15): 800-803.
- [22] Lee JH, Massagué J. TGF- β in developmental and fibrogenic EMTs[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86(Pt 2): 136-145.
- [23] Peng D, Fu M, Wang M, et al. Targeting TGF- β signal transduction for fibrosis and cancer therapy[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 104.
- [24] 王迪侃, 廖贵清. 唾液中白细胞介素与口腔癌的关系[J]. 华西口腔医学杂志, 2018, 36(3): 325-330.
- Wang DK, Liao GQ. Relationship between interleukins in the saliva and oral cavity cancer[J]. West Chin J Stomatol, 2018, 36(3): 325-330.
- [25] Bachert C, Fimmel C, Linstedt AD. Endosomal trafficking and proprotein convertase cleavage of cis Golgi protein GP73 produces marker for hepatocellular carcinoma [J]. Traffic, 2007, 8(10): 1415-1423.
- [26] Zhang X, Wu LN, Li XQ, et al. Whether the Golgi protein 73 could be a diagnostic serological marker in hepatocellular carcinoma: a meta analysis[J]. BMC Gastroenterol, 2023, 23(1): 85.

(本文编辑 杜冰)

《美学区贴面修复中的定深与控厚》出版发行

书籍名称: 美学区贴面修复中的定深与控厚

主编: 于海洋

出版社: 人民卫生出版社

内容简介: 瓷贴面临床操作的难点为如何控制深度使之足够且能位于牙釉质内。本书基于目标修复体空间理论, 首次提出了数字引导的瓷贴面定深与控厚方式, 介绍了瓷贴面预备深度与瓷贴面厚度的精准设计与控制, 从而实现瓷贴面的精准微创修复。本书从术前分析设计到术中临床实施, 系统且详细地讲解了瓷贴面修复定深与控厚的相关理论与关键技术。根据瓷贴面修复的临床流程, 内容分为瓷贴面修复的术前分析设计、牙体预备的深度控制与牙釉质保存、牙体预备后深度实测、瓷贴面修复体控厚等部分, 每个部分都包括了关键技术的理论讲解与实例讲解。例如牙体预备阶段, 结合临床病例, 图文并茂地讲解了不同引导方式下牙体预备的深度控制与牙釉质保存; 从引导方式、预备体、车针切磨系统、量具等多个要素系统讲解了瓷贴面牙体预备深度控制关键要素的相互影响、共同作用。

