

口腔鳞状细胞癌组织中ZIC2与患者病理特征及预后的关系

黄二江¹ 周桂龙² 吴宝磊^{3*}

(¹中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院耳鼻喉科, 宝鸡 721000; ²中国人民解放军空军军医大学第三附属医院口腔颌面外科, 西安 710032; ³中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院口腔科, 宝鸡 721000)

摘要 该研究旨在分析小脑锌指蛋白2(zinc-finger protein of the cerebellum 2, ZIC2)在OSCC中的表达情况, 并探讨其与患者病理特征及预后的关系。该研究回顾性收集了2019年2月至2021年2月期间在中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院首诊的89例OSCC患者的癌组织及癌旁组织样本。采用免疫组化、实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)和蛋白质免疫印迹(Western blot, WB)检测ZIC2的表达水平。此外, 利用GEPIA2和BEST平台分析ZIC2在不同肿瘤中的表达情况。通过时间依赖受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线和K-M(Kaplan-Meier)生存曲线评估ZIC2在OSCC患者3年生存率中的预测价值, 并运用多因素Cox回归分析确定预后因素。qRT-PCR结果显示, ZIC2在OSCC患者癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织($P<0.0001$)。免疫组化结果显示, ZIC2在OSCC癌组织中的阳性率为71.91%(64/89), 显著高于癌旁组织的28.09%(25/89)($P<0.001$)。多因素Cox回归分析发现, ZIC2表达($P=0.001$, HR=4.993)、临床分期($P=0.003$, HR=5.267)以及淋巴结转移($P=0.026$, HR=2.458)是影响OSCC患者3年生存的独立预后因素。基于Cox回归分析构建的Nomogram模型显示, 该模型在预测患者3年生存率方面具有较高的准确性, AUC值为0.793。ZIC2在OSCC中的高表达与患者的临床分期及淋巴结转移显著相关。多因素分析表明, ZIC2的高表达与OSCC患者较差的预后密切相关, 提示ZIC2可作为OSCC的潜在预后生物标志物, 为临床分期、转移评估及治疗决策提供重要参考。

关键词 口腔鳞状细胞癌; 小脑锌指蛋白2; 预后; 生物标志物

The Relationship Between ZIC2 in Oral Squamous Cell Carcinoma Tissue and Pathological Characteristics and Prognosis

HUANG Erjiang¹, ZHOU Guilong², WU Baolei^{3*}

(¹Department of Eye, Ear, Nose and Throat, the 987th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Baoji 721000, China; ²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the Third Affiliated Hospital of the Air Force Military Medical University of the Chinese People's Liberation Army, Xi'an 710032, China; ³Department of Oral, the 987th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Baoji 721000, China)

Abstract This study aims to analyze the expression of ZIC2 (zinc-finger protein of the cerebellum 2) in OSCC and its correlation with patient prognosis. Cancer tissues and adjacent tissues were collected from 89 OSCC patients diagnosed between February 2019 and February 2021 at the 987th Hospital of the Joint Logistics Support Force of the Chinese People's Liberation Army. The expression levels of ZIC2 were detected using immunohisto-

收稿日期: 2024-12-26

接受日期: 2025-03-03

*通信作者。Tel: 0917-8957200, E-mail: wbl19892024@163.com

Received: December 26, 2024

Accepted: March 3, 2025

*Corresponding author. Tel: +86-917-8957200, E-mail: wbl19892024@163.com

chemistry, qRT-PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction), and WB (Western blot). The expression of *ZIC2* in different tumors was analyzed using the GEPIA2 and BEST platforms. The predictive value of *ZIC2* for the 3-year survival rate in OSCC patients was evaluated using time-dependent ROC (receiver operating characteristic) curves and K-M (Kaplan-Meier) survival curves. Prognostic factors were identified through multivariate Cox regression analysis. qRT-PCR results showed that the expression of *ZIC2* in OSCC cancer tissues was significantly higher than in adjacent tissues ($P<0.000\ 1$). Immunohistochemistry results showed that the positive rate of *ZIC2* in OSCC cancer tissues was 71.91% (64/89), significantly higher than the 28.09% (25/89) in adjacent tissues ($P<0.001$). Multivariate Cox regression analysis found that *ZIC2* expression ($P=0.001$, HR=4.993), clinical stage ($P=0.003$, HR=5.267), and lymph node metastasis ($P=0.026$, HR=2.458) were independent prognostic factors for the 3-year survival rate of OSCC patients. The Nomogram model based on Cox regression analysis demonstrated high accuracy in predicting the 3-year survival rate, with an AUC value of 0.793. *ZIC2* was highly expressed in OSCC, and its high expression was significantly associated with clinical stage and lymph node metastasis in patients. Multivariate analysis indicated that high expression of *ZIC2* was closely related to poorer prognosis in OSCC patients. This suggests that *ZIC2* can be a potential prognostic biomarker for OSCC, providing important references for clinical staging, metastasis assessment, and treatment decision-making.

Keywords oral squamous cell carcinoma; zinc-finger protein of the cerebellum 2; prognosis; biomarker

口腔癌是一种常见的口腔恶性肿瘤,具有病程进展迅速、侵袭广泛和预后较差的特点^[1]。统计数据显示,全球每年新发口腔癌病例约为52万例,死亡人数约达30万^[2]。在中国,根据2015年的癌症统计报告,新增口腔癌病例达4.8万例,其中2.2万例因病去世,且男性患者的发病率显著高于女性^[3]。口腔癌包括多种病理类型,其中口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)最为常见,占口腔癌病例总数的90%^[4]。由于口腔癌早期症状不明显,许多患者在确诊时已进入中晚期^[5],因此,迫切需要开发特异性的诊断指标,以实现早期诊断,从而显著提高患者的生存率并改善其生活质量。

小脑锌指蛋白2(zinc-finger protein of the cerebellum 2, *ZIC2*)属于Zic蛋白家族,具有高度保守的C2H2锌指结构^[6]。在肿瘤生物学中,*ZIC2*扮演着复杂的角色。研究表明,*ZIC2*的表达水平及其功能状态与多种肿瘤的发生和发展密切相关^[7]。在乳腺癌^[8]、结肠癌^[9]等癌症中,*ZIC2*可能作为肿瘤抑制因子,发挥抑制增殖、侵袭和转移的作用。此前的研究发现,*ZIC2*可作为一种泛癌诊断和预后生物标志物^[10]。然而,目前关于*ZIC2*在OSCC中是否具有预后价值尚不明确。本研究旨在分析*ZIC2*与OSCC预后的关系,为临床预后评估提供潜在的参考,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

以2019年2月到2021年2月期间在中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院首次就诊的89例OSCC患者作为研究对象。患者的年龄范围为27至80岁,平均年龄为(61.7±10.4)岁。纳入标准:所有患者均通过影像学检查和病理学活检确诊为OSCC,并符合第8版《头颈癌口腔癌TNM分期标准》^[11]。患者需配合随访,且病理资料完整。排除标准:合并其他肿瘤;预期生存期低于3个月;合并心、肝、肾功能不全的患者;以及在本研究前已接受过针对性的抗癌治疗(如化疗、放疗)者。本研究已获得中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院医学伦理委员会的批准(批准号:伦审-KY-2024-113)。所有患者均知情并签署了知情同意书。在手术过程中,收集患者的癌组织和相应的癌旁组织。部分组织经液氮冷冻保存至-80℃,其余组织送至病理科进行石蜡包埋。

1.2 材料来源

1.2.1 细胞来源 本研究使用的OSCC细胞系SCC-15和CAL-27购于美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC),正常人类口腔上皮细胞系HIOEC购于中国台湾癌症细胞库。

1.2.2 细胞培养 细胞接种于含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素及100 μg/mL链霉素的DMEM培养基(Gibco, USA)中,并在37℃、5% CO₂的恒温箱中培养。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化检测 免疫组化染色按照试剂盒说明书操作。石蜡标本切片厚度为4 μm , 常规脱蜡并进行抗原修复。随后加入兔抗人ZIC2单克隆抗体(Sigma, USA; 1:200), 室温孵育1 h; 随后加入二抗(1:500), 室温孵育1 h, 进行显色反应后, 用蒸馏水冲洗组织切片, 去除多余的显色试剂。随后进行复染处理(使用苏木精进行核染色), 再进行脱水处理(依次使用70%、80%、90%、100%乙醇进行脱水)。使用二甲苯透明化切片, 并在封片剂中封片。最后, 通过电子显微镜观察并拍摄组织切片的显微图像。依据染色强度和阳性细胞比例进行免疫组化阳性评分: 染色强度评分为0(无染色)、1(弱染色)、2(中等染色)、3(强染色); 阳性细胞比例评分为0(0%)、1(<10%)、2(10%~50%)、3(>50%)。两项评分的和为最终得分, 总分范围为0至6分, 得分 ≥ 4 分视为高表达, <4分为低表达。

1.3.2 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR) 收集的組織使用TRIzol试剂(Invitrogen, USA)提取总RNA, 并通过紫外分光光度计及琼脂糖凝胶电泳检测RNA的纯度、浓度及完整性。采用Transcript Green Two-Step qRT-PCR SuperMix(北京全式金生物技术有限公司)进行逆转录, 使用7500 PCR仪(ABI, USA)进行实时检测, 扩增反应体系的总量为20 μL , 其中包括10 μL 的2 $\times$ qPCR Master Mix、0.4 μL 上游引物(浓度为0.2 $\mu\text{mol/L}$)、0.4 μL 下游引物(浓度为0.2 $\mu\text{mol/L}$)、1 μL 的cDNA模板和补足至20 μL 的RNase-Free水。PCR仪的设置: 95 $^{\circ}\text{C}$ 初始变性10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸30 s, 40个循环。最后, 进行熔解曲线分析。每个样品设置3个重复孔。实验重复3次, GAPDH作为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法对数据进行分析。ZIC2上游引物: 5'-CCA CCT CCG ATA AGC CCT ATC T-3', 下游引物5'-GGC GTG GAC GAC TCA TAG C-3'; GAPDH上游引物 5'-GAG TCC ACT GGC GTC TTC AC-3', 下游引物5'-ATC TTG AGG CTG TTG TCA TAC TTC T-3'。

1.3.3 WB检测 使用RIPA裂解缓冲液提取蛋白, 采用BCA试剂盒测定蛋白浓度。通过10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白(30 μg), 然后将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜上。膜在室温下使用含5%脱脂牛奶和0.05%吐温-20的三羟甲基氨基甲烷盐缓冲液(TBS-

Tween-20)封闭1 h。接着, 膜在4 $^{\circ}\text{C}$ 下与抗ZIC2抗体(Sigma, USA; 1:1 000)、抗GAPDH抗体(Sigma, USA; 1:5 000)孵育过夜。随后, 加入HRP结合的抗兔IgG二抗(1:2 000), 在室温下孵育2 h。使用TBST缓冲液洗膜3次, 通过ECL系统(Pierce Biotechnology, Rockford, USA)检测二抗结合情况。GAPDH作为内参。

1.3.4 GEPIA2数据分析 登录GEPIA2网站(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#analysis0>), 选择“Expression Analysis”、“Expression DIY”和“Profile”, 在搜索框中输入“ZIC2”, 选择“所有癌症”, 然后点击“Plot”查看ZIC2在癌症基因图谱(The Cancer Genome Atlas Program, TCGA)中的表达情况^[12]。

1.3.5 BEST数据分析 登录BEST平台(https://rookieutopia.hiplot.com.cn/app_direct/BEST/), 选择“头颈癌”, 在搜索框中输入“ZIC2”, 并分析ZIC2在GEO和ArrayExpress数据库中的表达情况^[13]。

1.3.6 统计学方法 本研究使用SPSS 26.0软件进行数据分析。采用K-S检验分析计量数据的分布, 对于正态分布的数据, 采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较采用独立样本 t 检验, 组内比较使用配对 t 检验。对于等级资料, 采用秩和检验, 并以 Z 表示; 计数资料则采用卡方检验。使用时间依赖的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析ZIC2在OSCC患者3年生存率中的预测价值, 通过计算曲线下面积(area under curve, AUC)评估其在特定时间点的预测准确性; 采用K-M方法分析独立预后因素对3年生存率的影响, 并通过Log-rank检验进行显著性验证。多因素Cox回归分析用于确定影响患者预后的独立危险因素, 使用R软件中的rms包绘制列线图(Nomogram)。统计学差异以 $P<0.05$ 为显著标准。

2 结果

2.1 ZIC2在肿瘤中的表达情况

为了了解ZIC2在癌组织中的表达情况, 我们使用GEPIA2在线工具分析了ZIC2在33种癌症中的表达水平。结果显示, ZIC2在宫颈癌、食管癌、头颈癌、肝癌、肺腺癌和子宫肉瘤中呈高表达, 而在急性髓系白血病和睾丸癌中呈低表达。头颈癌包括多个部位的恶性肿瘤, OSCC是其中的重要组成部分, 因此头颈癌中ZIC2的高表达可以一定程度上反映其在OSCC中的表达情况。进一步通过GEO数据库中的GSE42743(头

颈癌)、GSE75538(OSCC)数据集, 以及ArrayExpress数据库中的E_MTAB_8588(头颈癌)数据集分析 *ZIC2* 的表达情况, 结果显示 *ZIC2* 在头颈癌中呈高表达(图1)。

2.2 *ZIC2*在OSCC患者组织中的表达情况

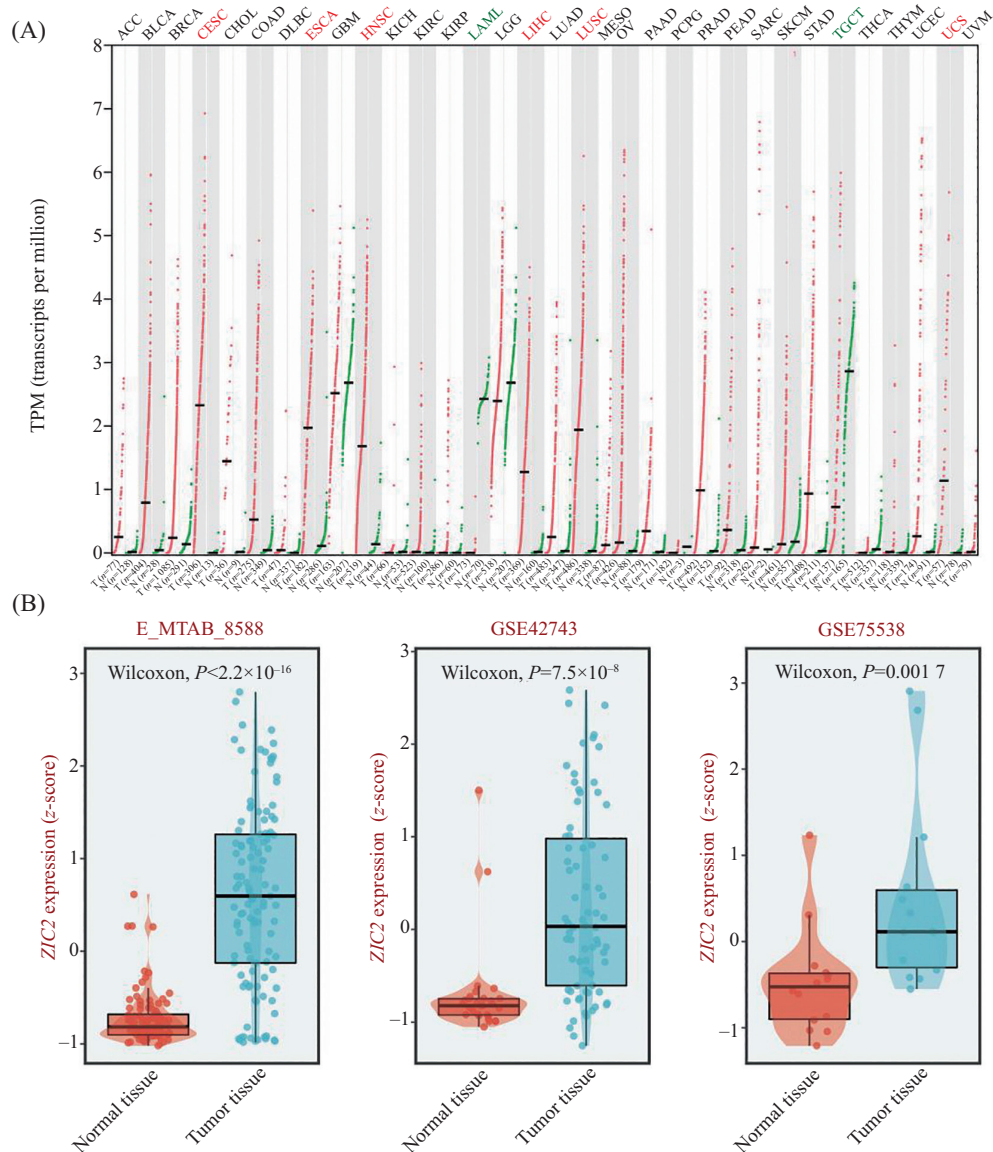
我们通过qRT-PCR检测了89例OSCC患者的癌组织和癌旁组织中的 *ZIC2* 表达水平, 结果显示癌组织中 *ZIC2* 表达水平显著高于癌旁组织 ($P < 0.0001$)。免疫组化分析进一步发现, *ZIC2* 在OSCC癌组织中的阳性比例为71.91%(64/89), 而在癌旁组织中的阳性比例为28.09%(25/89), 比较结果具有统计学差异 ($P < 0.001$)(图2)。

2.3 *ZIC2*与OSCC患者临床资料的关系

根据免疫组化结果, 我们进一步比较了 *ZIC2* 表达与患者临床资料的关系。结果发现, 在临床分期为III+IV($P=0.027$)和低分化($P=0.001$)的患者中, *ZIC2* 阳性患者比例显著高于阴性患者, 且差异具有统计学意义(表1)。

2.4 影响患者3年生存的预后因素分析

对患者进行了为期3年的随访, 结果显示在89例患者中, 3年内死亡患者26例, 死亡率为29.21%。随后, 我们进行了Cox回归分析。多因素Cox回归分析发现, *ZIC2* 表达 ($P=0.001$, HR=4.993)、临床分期 ($P=0.003$,



A: *ZIC2*在33个肿瘤组织中的表达水平; B: *ZIC2*在头颈癌数据集中的表达水平。

A: expression level of *ZIC2* in 33 tumor tissues; B: level of *ZIC2* in the head and neck cancer dataset.

图1 *ZIC2*在肿瘤组织中的表达水平

Fig.1 Expression levels of *ZIC2* in the tumor tissues

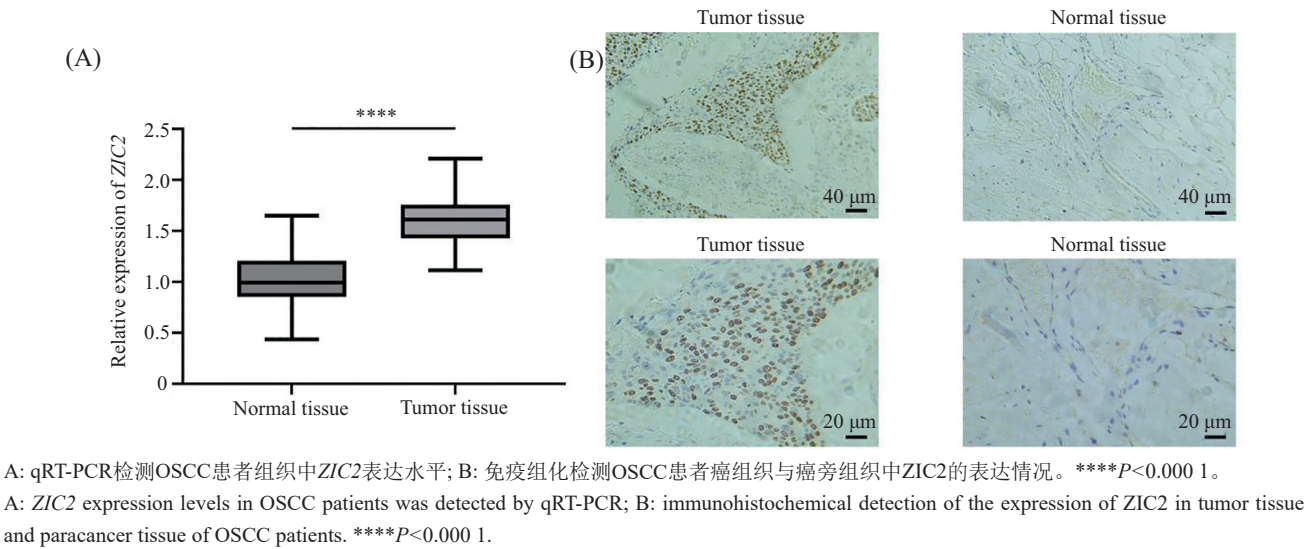


图2 ZIC2在OSCC患者组织中的表达水平

Fig.2 Expression level of ZIC2 in the tissues of OSCC patients

表1 ZIC2与患者临床资料的关系

Table 1 Association between ZIC2 and patient clinical data

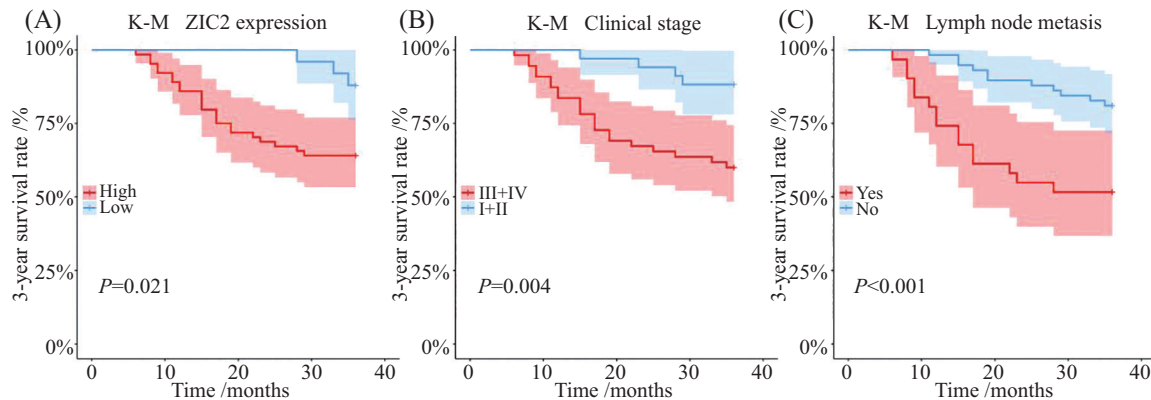
因素 Factor	ZIC2表达情况 Expression of ZIC2		χ^2	P
	阳性(n=64) Positive (n=64)	阴性(n=25) Negative (n=25)		
Age				
≥60 years	29 (45.31%)	13 (52.00%)	0.323	0.570
<60 years	35 (54.69%)	12 (48.00%)		
Gender				
Male	42 (65.62%)	15 (60.00%)	0.247	0.619
Female	22 (34.38%)	10 (40.00%)		
BMI (body mass index)				
≥25 kg/m ²	12 (18.75%)	6 (24.00%)	0.307	0.580
<25 kg/m ²	52 (81.25%)	19 (76.00%)		
Primary site				
Tongue	36 (56.25%)	15 (60.00%)	0.365	0.833
Floor of mouth	17 (26.56%)	7 (28.00%)		
Other	11 (17.19%)	3 (12.00%)		
Clinical stage				
I+II	29 (45.31%)	5 (20.00%)	4.879	0.027
III+IV	35 (54.69%)	20 (80.00%)		
Differentiation grade				
Poorly differentiated	56 (87.50%)	16 (64.00%)	6.425	0.011
Moderately/highly differentiated	8 (12.50%)	9 (36.00%)		
Lymph node metastasis				
Present	26 (40.62%)	5 (20.00%)	3.369	0.066
Absent	38 (59.38%)	20 (80.00%)		
Tumor diameter				
≥5 mm	51 (79.69%)	21 (84.00%)	0.216	0.642
<5 mm	13 (20.31%)	4 (16.00%)		

表2 Cox回归分析
Table 2 Cox regression analysis

因素 Factor	单因素分析 Univariate analysis				多因素分析 Multivariate analysis			
	P值 P value	HR值 Hazard ratio	95% CI		P值 P value	HR值 Hazard ratio	95% CI	
ZIC2 expression	0.032	3.744	1.123	12.484	0.001	4.993	1.467	16.998
Age	0.960	0.981	0.453	2.120	-	-	-	-
Gender	0.113	0.537	0.249	1.158	-	-	-	-
BMI (body mass index)	0.234	0.482	0.145	1.604	-	-	-	-
Primary site	0.930	1.024	0.603	1.738	-	-	-	-
Clinical stage	0.008	4.236	1.458	12.306	0.003	5.267	1.779	15.595
Differentiation grade	0.058	6.919	0.937	51.083	-	-	-	-
Lymph node metastasis	0.002	3.477	1.593	7.586	0.026	2.458	1.114	5.424
Tumor diameter	0.993	1.004	0.379	2.664	-	-	-	-

“-”表示没有为该特定分析提供数据。

“-” indicated that no data were provided for that particular analysis.



A: ZIC2阳性与阴性患者生存情况; B: 不同临床分期患者生存情况; C: 淋巴结转移患者生存情况。

A: survival of patients with positive and negative ZIC2; B: survival of patients with different clinical stages; C: survival of patients with lymph node metastasis.

图3 预后因素的生存曲线
Fig.3 Survival curves for prognostic factors

HR=5.267)以及淋巴结转移($P=0.026$, HR=2.458)是影响患者3年生存的独立预后因素(表2)。从K-M(Kaplan-Meier)生存曲线中可以看出, ZIC2阳性、临床分期为III+IV及存在淋巴结转移的患者,其3年生存率显著低于其对应组($P<0.05$)(图3)。

2.5 Cox-Nomogram模型的构建

基于Cox回归分析,我们成功构建了一个包含三个关键预后因素的Nomogram模型,这些因素包括ZIC2表达水平、临床分期和淋巴结转移情况。研究显示,ZIC2表达、临床分期和淋巴结转移均与患者的3年生存率显著相关,其中ZIC2高表达和晚期临床分期与较差的生存预后相关。进一步的时间依赖性ROC曲线分析表明,该模型在预测患者3年生存率方

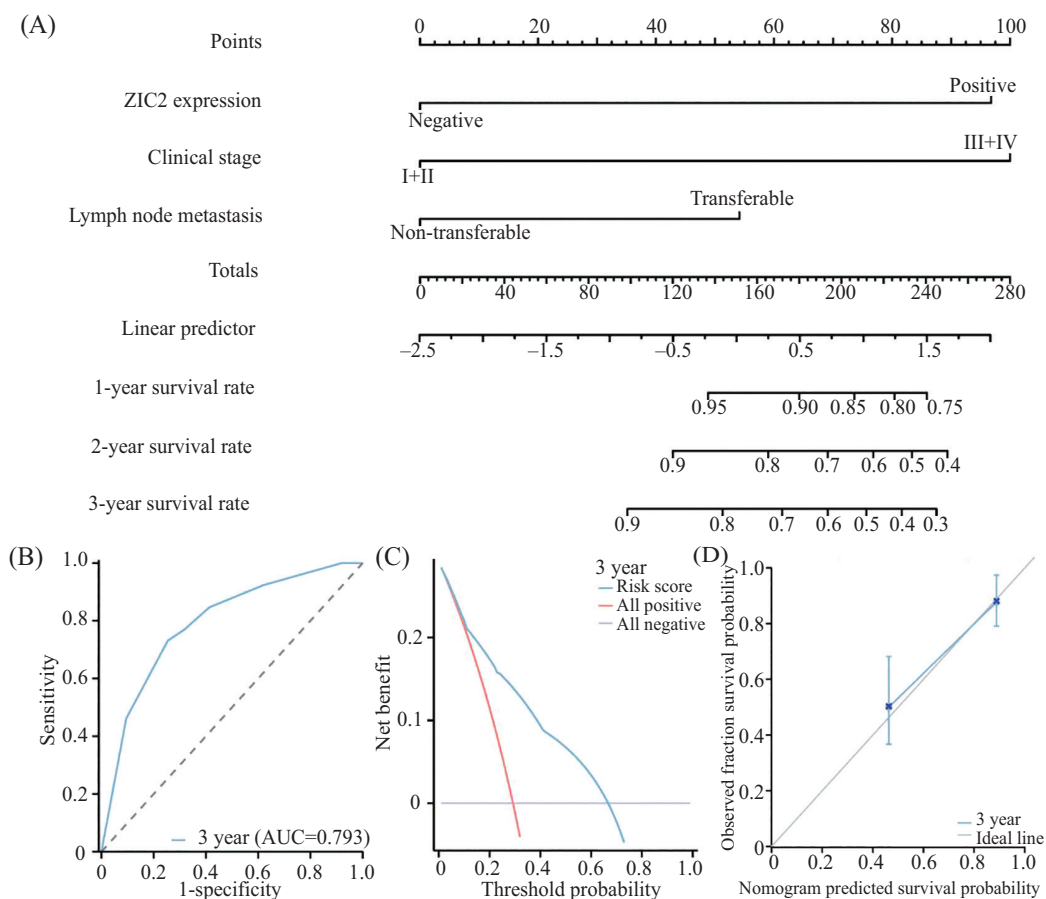
面具有较高的准确性,AUC值为0.793。此外,决策曲线分析(decision curve analysis, DCA)显示该模型在0%~78%之间存在获益,最高获益率为29.12%,进一步验证了该模型在临床决策中的价值(图4)。

2.6 ZIC2在OSCC细胞中的表达

我们通过qRT-PCR和WB检测了两种OSCC细胞系中ZIC2 mRNA和蛋白的表达水平。结果显示,SCC-15和CAL27细胞中的ZIC2 mRNA($P<0.05$)和蛋白($P<0.01$)表达水平均高于HIOEC细胞,且差异具有统计学意义(图5)。

3 讨论

口腔癌是全球常见的恶性肿瘤,发病率在欧

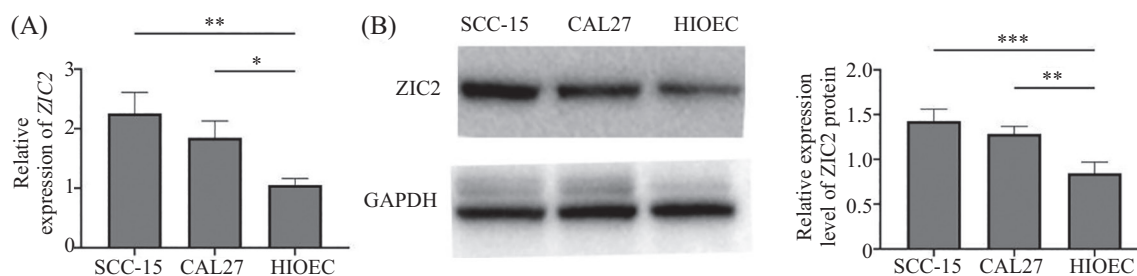


A: Cox回归模型与列线图(Nomogram)分析; B: 基于时间依赖性的ROC曲线评估模型对患者3年生存率的预测能力; C: 决策曲线分析(DCA)评估模型在预测患者3年生存中的临床获益; D: 校准曲线分析用于评估模型预测患者3年生存率的稳定性和准确性。

A: Cox regression model and Nomogram analysis; B: assessment of time-dependent ROC curves for evaluating the predictive performance of the model on 3-year patient survival; C: clinical benefit of the DCA (decision curve analysis) in predicting 3-year survival; D: performance of the calibration curve in assessing the model's stability in predicting 3-year survival.

图4 Cox-Nomogram模型构建

Fig.4 Cox-Nomogram model construction



A: qRT-PCR检测OSCC细胞中ZIC2 mRNA水平; B: WB检测OSCC细胞中ZIC2蛋白水平。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

A: ZIC2 mRNA level in OSCC cells was detected by qRT-PCR; B: ZIC2 protein expression in OSCC cells was detected by WB. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

图5 ZIC2在OSCC细胞中的表达情况

Fig.5 ZIC2 expression in oral squamous cell carcinoma cells

洲、美洲及亚洲较高,尤其是在中南亚的发病率最高,超过45.00%^[14]。在中国,口腔癌的发病率较高,研究表明,近年来口腔癌的发病率逐渐上升,并呈现年轻化趋势^[15]。尽管通过外科手术以及放化疗可改

善患者的病情,但口腔癌的预后和生存率依然令人担忧。

ZIC2是一种转录调节因子,研究发现其高表达与肿瘤发生及癌细胞自我更新密切相关^[16]。在本研

究中,我们发现 *ZIC2*在宫颈癌、食管癌、头颈癌、肝癌、肺腺癌和子宫肉瘤中呈现高表达,而在急性髓细胞白血病和睾丸癌中则表达水平较低,这一结果与先前的研究一致。然而,关于 *ZIC2*与OSCC之间的关系,现有的报道相对较少。本研究填补了这一领域的空白,通过qRT-PCR、免疫组化和WB等实验,系统分析了 *ZIC2*在OSCC患者癌组织中的表达情况,并首次发现 *ZIC2*在OSCC癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织。此外,SAKUMA等^[17]的研究也表明,OSCC患者组织中 *ZIC2*的表达水平明显高于正常组织,进一步支持了 *ZIC2*在OSCC发生发展中的关键作用。

在分析 *ZIC2*与OSCC病理特征的关系时,我们发现 *ZIC2*表达与OSCC患者的临床分期和分化程度显著相关。研究显示, *ZIC2*高表达主要见于临床分期为III+IV期和低分化程度的患者,其阳性表达比例显著升高,提示 *ZIC2*可能在OSCC的进展和恶化过程中发挥重要作用。III+IV期患者通常意味着疾病已进入晚期,具有侵袭性较强、预后较差的特点;而低分化的肿瘤细胞则因高度不成熟,表现出更强的增殖和侵袭能力,进一步加剧了病情的恶化。YI等^[18]的报道指出, *ZIC2*在鼻咽癌中表达上调,并与组织学特征及生存期相关,提示 *ZIC2*可作为鼻咽癌的预后标志物。其他研究也表明, *ZIC2*可作为肝癌的免疫应答标志物,用于预测肝细胞癌的预后^[19]。在本研究中,我们通过多因素Cox回归分析进一步验证了 *ZIC2*在OSCC中的预后作用,结果显示 *ZIC2*表达($P=0.001$, $HR=4.993$)是影响OSCC患者3年生存的独立预后因素。这表明, *ZIC2*高表达的患者预后较差,可能由其晚期临床分期和淋巴结转移导致。

本研究具有以下创新性。首先,我们结合了GEPID2、GEO等数据库,系统性地分析了 *ZIC2*在OSCC中的表达情况,确保了结果的全面性与可靠性。其次,我们基于Cox回归分析构建了一个包含 *ZIC2*表达、临床分期和淋巴结转移等关键预后因素的Nomogram模型,用于预测OSCC患者的3年生存率。结果表明,该模型在预测患者生存率方面具有较高的准确性($AUC=0.793$),进一步验证了 *ZIC2*在临床预后评估中的应用潜力。最后,本研究揭示了 *ZIC2*在OSCC中的特异性表达,为 *ZIC2*作为OSCC预后标志物的应用提供了实验依据,并为 *ZIC2*作为靶向治疗潜在靶点的未来研究提供了思路。

尽管本研究取得了重要发现,但仍存在一些局限性。首先,样本量相对较小,可能限制了结果的普适性,且本研究为单中心研究,结果可能不适用于其他地区或人群。未来的研究应增加样本量,并进行多中心研究,同时采用其他检测方法进一步验证结果。其次,部分患者的浸润深度数据缺失,为确保数据完整性,我们排除了这一变量,未来可以考虑收集相关数据并进行分析。我们还计划在后续研究中深入探讨 *ZIC2*在OSCC发生和发展中的具体作用,揭示其分子机制。此外,OSCC的预后可能受到治疗方式、肿瘤微环境和免疫状态等多种因素的影响,建议在未来的模型构建和数据分析中综合考虑这些因素,以构建更为全面的预后评估模型,从而提高预测的准确性,为个体化治疗方案的设计提供更有力的支持。

综上所述, *ZIC2*在OSCC中高表达,且 *ZIC2*阳性与患者的临床分期与淋巴结转移显著相关。 *ZIC2*的高表达与OSCC患者的较差预后密切相关,提示 *ZIC2*可作为OSCC的潜在预后生物标志物,为临床分期、转移评估及治疗决策提供重要参考。

参考文献 (References)

- [1] 何婧雅,邢爱丽,孙宾. 口腔癌影响因素研究进展[J]. 环境卫生学杂志(HE Q Y, XING A L, SUN B. Research progress on influencing factors of oral cancer [J]. Journal of Environmental Hygiene), 2023, 13(4): 302-6.
- [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.
- [3] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-32.
- [4] 刘茂华,刘旭倩,雍明媛,等. lncRNA对口腔鳞状细胞癌诊断价值的系统评价[J]. 西南医科大学学报(LIU M H, LIU X Q, YONG M Y, et al. Systematic evaluation of the diagnostic value of lncRNA in oral squamous cell carcinoma [J]. Journal of Southwest Medical University), 2022, 45(3): 200-5.
- [5] 姬智博,陈瑞果,杨浩,等. 口腔鳞状细胞癌化疗药物的现状及研究进展[J]. 安徽医科大学学报(JI Z B, CHEN R G, YANG H, et al. Current status and research progress of chemotherapy drugs for oral squamous cell carcinoma [J]. Journal of Anhui Medical University, 2024, 59(4): 736-41.
- [6] 肖伟,付逆,余波,等. 前列腺癌中 *ZIC2*与驱动蛋白KIF18B表达及相互关系与预后风险评估[J]. 中国老年学杂志(XIAO W, FU N, YU B, et al. Expression of *ZIC2* and kinesin KIF18B in prostate cancer and their relationship with prognosis risk assessment [J]. Chinese Journal of Gerontology), 2023, 43(10): 2342-5.
- [7] 肖伟,张能. *ZIC2*在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志(XIAO W, ZHANG N. Research progress of *ZIC2* in

- malignant tumors [J]. Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2022, 38(2): 197-200.
- [8] LIU Z H, CHEN M L, ZHANG Q, et al. ZIC2 is downregulated and represses tumor growth via the regulation of STAT3 in breast cancer [J]. Int J Cancer, 2020, 147(2): 505-18.
- [9] XU Z, ZHENG J, CHEN Z, et al. Multilevel regulation of Wnt signaling by Zic2 in colon cancer due to mutation of β -catenin [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(6): 584.
- [10] LÜ Z, QI L, HU X, et al. Zic family member 2 (ZIC2): a potential diagnostic and prognostic biomarker for pan-cancer [J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 631067.
- [11] HUANG S H, O'SULLIVAN B. Overview of the 8th edition TNM classification for head and neck cancer [J]. Curr Treat Options Oncol, 2017, 18(7): 40.
- [12] TANG Z, KANG B, LI C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(W1): W556-60.
- [13] LIU Z, LIU L, WENG S, et al. BEST: a web application for comprehensive biomarker exploration on large-scale data in solid tumors [J]. J Big Data, 2023, 10(1): 165.
- [14] FILHO A M, WARNAKULASURIYA S. Epidemiology of oral cancer in South and South-East Asia: incidence and mortality [J]. Oral Dis, 2024, 30(1): 1-12.
- [15] AN R, WU Z, LIU M, et al. Oral health behavior and oral health service utilization among cancer patients in China: a multicenter cross-sectional study [J]. Front Oncol, 2023, 13: 1027835.
- [16] LIU F, SHI Z, BAO W, et al. ZIC2 promotes colorectal cancer growth and metastasis through the TGF- β signaling pathway [J]. Exp Cell Res, 2022, 415(2): 113118.
- [17] SAKUMA K, KASAMATSU A, YAMATOJI M, et al. Expression status of Zic family member 2 as a prognostic marker for oral squamous cell carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136: 553-9.
- [18] YI W, WANG J, YAO Z, et al. The expression status of ZIC2 as a prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2018, 11(9): 4446.
- [19] SUN L, LIN Y, WANG G, et al. Correlation of zinc finger protein 2, a prognostic biomarker, with immune infiltrates in liver cancer [J]. Biosci Rep, 2021, 41(1): BSR20203115.