

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.17.022

## MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 在喉癌组织中的表达及相关性分析

杨颖 李智 王骏 杨启梅 贾艳平

(陕西省人民医院耳鼻咽喉头颈外科 陕西 西安 710068)

**摘要 目的:**探讨基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、脆性组氨酸三联体基因(Fhit)、逆转录诱导蛋白基因(RECK)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)在喉癌组织中的表达及其相关性。**方法:**选取2011年1月到2016年12月在陕西省人民医院接受治疗的喉癌患者80例,收集其手术中切除的喉癌组织和癌旁组织,另收集40例喉癌组织切除外缘的正常喉粘膜组织。比较喉癌组织、癌旁组织、正常喉粘膜组织中MMP-2、Fhit、RECK、VEGF的表达,分析喉癌组织中MMP-2、Fhit、RECK、VEGF的表达与临床病理特征的关系,并分析四个指标的相关性。**结果:**喉癌组织中MMP-2、VEGF表达明显高于癌旁组织和正常喉粘膜组织,Fhit、RECK表达明显低于癌旁组织和正常喉粘膜组织( $P<0.05$ )。喉癌组织中MMP-2的表达与淋巴结转移、临床分期、分化程度有关( $P<0.05$ );Fhit、RECK的表达与淋巴结转移、临床分期有关( $P<0.05$ );VEGF的表达与淋巴结转移有关( $P<0.05$ )。喉癌组织中MMP-2的表达水平与Fhit、RECK呈负相关( $P<0.05$ ),与VEGF呈正相关( $P<0.05$ );Fhit与RECK呈正相关( $P<0.05$ ),与VEGF呈负相关( $P<0.05$ );RECK与VEGF呈负相关( $P<0.05$ )。**结论:**在喉癌组织中MMP-2、Fhit、RECK、VEGF均存在异常表达;其相互影响,可能共同参与了喉癌的发生、发展。

**关键词:**喉癌;基质金属蛋白酶-2;脆性组氨酸三联体基因;逆转录诱导蛋白基因;血管内皮细胞生长因子

**中图分类号:**R739.65 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)17-3306-04

## Expression and Correlation Analysis of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in Laryngeal Cancer Tissues

YANG Ying, LI Zhi, WANG Jun, YANG Qi-mei, JIA Yan-ping

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the expression and correlation of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal cancer tissues.

**Methods:** 80 cases of laryngeal cancer who were treated in Shaanxi People's Hospital from January 2011 to December 2016 were selected, the laryngeal cancer tissues and the paracancerous tissues were collected, and 40 cases of normal laryngeal mucosa tissues in excision margin of laryngeal carcinoma were collected. The expression of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal cancer tissues, paracancerous tissues and normal laryngeal mucosa tissues were compared, the expression of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal cancer tissues and its relationship with clinicopathological features were analysed, and the correlation of four indexes were analyzed. **Results:** The expression of MMP-2 and VEGF in laryngeal cancer tissues were significantly higher than those in paracancerous tissues and normal laryngeal mucosa tissues, the expression of Fhit and RECK were significantly lower than those in paracancerous tissues and normal laryngeal mucosa tissues ( $P<0.05$ ). The expression of MMP-2 in laryngeal cancer tissues was related to lymph node metastasis, clinical stage and degree of differentiation ( $P<0.05$ ); The expression of Fhit and RECK were related to lymph node metastasis and clinical stage ( $P<0.05$ ); The expression of VEGF was related to lymph node metastasis ( $P<0.05$ ). The expression of MMP-2 was negatively correlated with Fhit and RECK in laryngeal cancer tissues ( $P<0.05$ ), and positively correlated with VEGF ( $P<0.05$ ); Fhit was positively correlated with RECK ( $P<0.05$ ), and negatively correlated with VEGF ( $P<0.05$ ); RECK was negatively correlated with VEGF ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The expression of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal carcinoma are abnormal, they interact with each other, may be involve in the occurrence and development of laryngeal cancer.

**Key words:** Laryngeal cancer; Matrix metalloproteinase 2; Fragile histidine traid; Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motif; Vascular endothelial growth factor

**Chinese Library Classification(CLC):** R739.65 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2018)17-3306-04

### 前言

喉癌是来源于喉粘膜上皮组织的恶性肿瘤,其发病率在头

颈部恶性肿瘤中排第三位,仅次于鼻咽癌和鼻窦癌<sup>[1,2]</sup>。喉癌患者临床表现主要为声音嘶哑、呼吸困难、咳嗽、吞咽困难等,发病对象主要集中在40-60岁的人群,且男性多于女性<sup>[3,4]</sup>。喉癌的主要危险因素有吸烟、大量饮酒、环境污染、工作环境、遗传因素等<sup>[5]</sup>。近年来,喉癌患者的5年生存率已明显上升,但仍然不够理想,术后肿瘤细胞发生侵袭和转移是患者死亡的重要因

作者简介:杨颖(1983-),女,硕士,主治医师,从事耳鼻咽喉头颈外科方面的研究,E-mail:kphfhd@163.com

(收稿日期:2017-11-30 接受日期:2017-12-27)

素,同时多种基因也对肿瘤的发展起到重要的作用<sup>[67]</sup>。基质金属蛋白酶-2(Matrix metalloproteinase 2, MMP-2)是具有分解细胞外基质能力的非糖化的明胶酶,与肺癌、胃癌等多种恶性肿瘤的侵袭和转移有关<sup>[8]</sup>。脆性组氨酸三联体基因(Fragile histidine traid, Fhit)是一种抑癌基因,相关研究显示<sup>[9]</sup>,Fhit参与了细胞周期调控和凋亡。逆转录诱导蛋白基因(Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motif, RECK)又被称为金属蛋白酶抑制基因,可对多种金属蛋白酶的表达起到抑制作用,同时具有维护细胞外基质稳定的作用<sup>[10]</sup>。血管内皮细胞生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种特异性肿瘤血管形成因子,其能促进血管内皮细胞增殖,与多种肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[11]</sup>。本研究旨在探讨 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 在喉癌组织中的表达及相关性,现做如下报道。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月到 2016 年 12 月在陕西省人民医院接受治疗的喉癌患者 80 例,纳入标准:① 所有患者均符合喉癌的典型临床症状,且经过病理检验确诊;② 均为鳞状细胞癌;③ 经评估患者生存期大于 3 个月;④ 未接受过放疗化疗治疗;⑤ 患者及其家属对本次研究知情同意。排除标准:① 喉癌复发者;② 患有其他恶性肿瘤者;③ 存在严重器质性疾病者;④ 临床资料不全者。收集 80 例喉癌患者手术中切除的喉癌组织和癌旁组织,男 52 例,女性 28 例,年龄 42-73 岁,平均年龄(58.26±4.36)岁,有淋巴结转移 43 例,无淋巴结转移 37 例,临床分期:I-II 期 46 例,III-IV 期 34 例,分化程度:高分化 32 例,中分化 26 例,低分化 22 例。另收集 40 例正常喉粘膜组织,均来自喉癌组织切除外缘,且经病理检验无癌浸润,男 26 例,女 14 例,年龄 40-75 岁,平均年龄(56.22±4.51)岁。提供喉癌组织和正常喉粘膜组织的患者的一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

1.2.1 免疫组化法检测 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 的表达 所有组织在离体后立即进行处理,进行常规固定、包埋,制成切片。取适量切片,二甲苯 I、II 脱蜡处理,梯度酒精水化,滴加 3%  $H_2O_2$ ,反应 10 min,PBS 工作液冲洗 3 次,每次 2 min。进行抗原热修复,滴加稀释好的一抗(兔抗人多克隆抗体 MMP-2、Fhit、

RECK、VEGF 多克隆抗体购于武汉博士德生物技术开发公司),在 37℃ 的环境下反应 120 min,PBS 缓冲液冲洗 2 次,每次 3 min,SABC 和 DAB 处理,进行显色,苏木素溶液复染,常规分化、脱水、透明处理,中性树胶封片。

1.2.2 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达的判定方法 MMP-2 蛋白染色阳性细胞以胞质呈黄色至棕黄色为主,Fhit 蛋白染色阳性细胞以胞浆呈黄色至棕黄色为主,RECK、VEGF 阳性表达染色为细胞膜和细胞质、胞浆呈黄色至棕黄色为主。共随机选取 5 个视野,统计每个视野下 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 阳性细胞数量,并计算其占比,计算平均值。阳性细胞率评分标准如下:若无阳性细胞则为 0 分,若阳性细胞率 $\leq 10\%$ 则为 1 分,若阳性细胞率在 11%-50%则为 2 分,若阳性细胞率在 51%-75%则为 3 分,若阳性细胞率 $>75\%$ 则为 4 分。染色强度评分:无色则为 0 分,淡黄色则为 1 分,棕黄色则为 2 分,棕褐色则为 3 分。染色强度得分与阳性细胞率的乘积 $>3$ 分为阳性。

### 1.3 观察指标

比较喉癌组织、癌旁组织、正常喉粘膜组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 的表达,分析喉癌组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达与临床病理特征的关系,并采用 Spearman 相关系数分析喉癌组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 的相关性。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS22.0 进行统计分析,MMP-2、Fhit 阳性率等计数资料以率(%)表示,进行  $\chi^2$  检验,平均年龄等计量资料以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,进行 t 检验,采用 Spearman 进行相关分析,将 $\alpha=0.05$ 作为检验标准。

## 2 结果

### 2.1 喉癌组织、癌旁组织、正常喉粘膜组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达的比较

喉癌组织、癌旁组织、正常喉粘膜组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达整体比较均有统计学差异( $P<0.05$ ),喉癌组织中的 MMP-2、VEGF 表达明显高于癌旁组织和正常喉粘膜组织,Fhit、RECK 表达明显低于癌旁组织和正常喉粘膜组织( $P<0.05$ ),癌旁组织中的 MMP-2、VEGF 表达明显高于正常喉粘膜组织,Fhit、RECK 表达明显低于正常喉粘膜组织( $P<0.05$ ),具体见表 1。

表 1 喉癌组织、癌旁组织、正常喉粘膜组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达

Table 1 The expression of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal cancer tissues, paracancerous tissues and normal laryngeal mucosa tissues

| Tissues                                  | MMP-2       |           | Fhit        |           | RECK        |           | VEGF        |           |
|------------------------------------------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
|                                          | Positive    | Negative  | Positive    | Negative  | Positive    | Negative  | Positive    | Negative  |
| Laryngeal cancer tissues<br>(n=80)       | 63(78.75)*# | 17(21.25) | 30(37.50)*# | 50(62.50) | 42(52.50)*# | 38(47.50) | 72(90.00)*# | 8(10.00)  |
| Paracancerous tissues<br>(n=80)          | 15(18.75)*  | 65(81.25) | 66(82.50)*  | 14(17.50) | 73(91.25)*  | 7(8.75)   | 55(68.75)*  | 25(31.25) |
| Normal laryngeal mucosa<br>tissues(n=40) | 4(10.00)    | 36(90.00) | 37(92.50)   | 3(7.50)   | 40(100.00)  | 0(0.00)   | 18(45.00)   | 22(55.00) |
| $\chi^2$                                 | 79.392      |           | 51.532      |           | 48.961      |           | 28.025      |           |
| P                                        | 0.000       |           | 0.000       |           | 0.000       |           | 0.000       |           |

Note: Compared with normal laryngeal mucosa, \* $P<0.05$ ; compared with paracancerous tissues, # $P<0.05$ .

## 2.2 喉癌组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达与临床病理特征的关系

喉癌组织中 MMP-2 的表达与年龄、性别无关( $P>0.05$ ),与淋巴结转移、临床分期、分化程度有关( $P<0.05$ );Fhit、RECK 的

表达与年龄、性别、分化程度无关( $P>0.05$ ),与淋巴结转移、临床分期有关( $P<0.05$ );VEGF 的表达与年龄、性别、临床分期、分化程度无关( $P>0.05$ ),与淋巴结转移有关( $P<0.05$ )。具体见表2。

表 2 喉癌组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 表达与临床病理特征的关系

Table 2 The expression of MMP-2, Fhit, RECK and VEGF in laryngeal cancer tissues and its relationship with clinicopathological features

| Clinicopathological features |        |    | MMP-2     |           | Fhit      |           | RECK      |           | VEGF      |          |
|------------------------------|--------|----|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| n                            |        |    | Positive  | Negative  | Positive  | Negative  | Positive  | Negative  | Positive  | Negative |
| Ages                         | <60    | 36 | 30(83.33) | 6(16.67)  | 12(33.33) | 24(66.67) | 22(61.11) | 14(38.39) | 32(88.89) | 4(11.11) |
|                              | 60     | 44 | 33(75.00) | 11(25.00) | 18(40.91) | 26(59.09) | 20(45.45) | 24(54.55) | 40(90.91) | 4(9.09)  |
| x <sup>2</sup>               |        |    | 0.822     |           | 0.485     |           | 1.946     |           | 0.006     |          |
| P                            |        |    | 0.365     |           | 0.486     |           | 0.163     |           | 0.940     |          |
| Gender                       | Male   | 52 | 43(82.69) | 9(17.31)  | 17(32.69) | 35(67.31) | 24(46.15) | 28(53.85) | 49(94.23) | 3(5.77)  |
|                              | Female | 28 | 20(71.43) | 8(28.57)  | 13(46.43) | 15(53.57) | 18(64.29) | 10(35.71) | 23(82.14) | 5(17.86) |
| x <sup>2</sup>               |        |    | 1.380     |           | 1.465     |           | 2.399     |           | 1.764     |          |
| P                            |        |    | 0.240     |           | 0.226     |           | 0.121     |           | 0.086     |          |
| Lymph node metastasis        | Yes    | 43 | 38(88.37) | 5(11.63)  | 6(13.95)  | 37(86.05) | 17(39.53) | 26(60.47) | 42(97.67) | 1(2.33)  |
|                              | No     | 37 | 25(67.57) | 12(32.43) | 24(64.86) | 13(35.14) | 25(67.57) | 12(32.43) | 30(81.08) | 7(18.92) |
| x <sup>2</sup>               |        |    | 5.144     |           | 21.994    |           | 6.267     |           | 4.380     |          |
| P                            |        |    | 0.023     |           | 0.000     |           | 0.012     |           | 0.036     |          |
| Clinical stages              | I-II   | 46 | 32(69.57) | 14(30.43) | 22(47.83) | 24(52.17) | 32(69.57) | 14(30.43) | 40(86.96) | 6(13.04) |
|                              | III-IV | 34 | 31(91.18) | 3(8.82)   | 8(23.53)  | 26(76.47) | 10(29.41) | 24(70.59) | 32(94.12) | 2(5.88)  |
| x <sup>2</sup>               |        |    | 5.456     |           | 4.924     |           | 12.640    |           | 0.460     |          |
| P                            |        |    | 0.019     |           | 0.026     |           | 0.000     |           | 0.497     |          |
| Differentiation degree       | High   | 32 | 20(62.50) | 12(37.50) | 16(50.00) | 16(50.00) | 18(56.25) | 14(43.75) | 28(87.50) | 4(12.50) |
|                              | Medium | 26 | 22(84.62) | 4(15.38)  | 10(38.46) | 16(61.54) | 16(61.54) | 10(38.46) | 23(88.46) | 3(11.54) |
|                              | Low    | 22 | 21(95.45) | 1(4.55)   | 4(18.18)  | 18(81.82) | 8(36.36)  | 14(63.64) | 21(95.45) | 1(4.55)  |
| x <sup>2</sup>               |        |    | 9.252     |           | 5.647     |           | 3.329     |           | 1.018     |          |
| P                            |        |    | 0.010     |           | 0.059     |           | 0.189     |           | 0.601     |          |

## 2.3 喉癌组织中 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 的相关性分析

经 Spearman 分析,喉癌组织中 MMP-2 的表达水平与 Fhit、RECK 呈负相关( $r=-0.589$ 、 $-0.503$ , $P=0.026$ 、 $0.031$ ),与 VEGF 呈正相关( $r=0.674$ , $P=0.012$ );Fhit 与 RECK 呈正相关( $r=0.511$ , $P=0.028$ ),与 VEGF 呈负相关( $r=-0.704$ , $P=0.007$ );RECK 与 VEGF 呈负相关( $r=-0.686$ , $P=0.009$ )。

## 3 讨论

喉癌是头颈部肿瘤中最常见的恶性肿瘤之一,主要为鳞状细胞癌,约占整体的 95%<sup>[12]</sup>。虽然近年来治疗喉癌的方法取得较大的进展,除传统的放化疗和手术治疗外,更加先进的靶向治疗手段也得到了一定的应用<sup>[13]</sup>,但喉癌患者的整体生存率仍然不容乐观,尤其是晚期喉癌患者的生存率仅在 30%-40%<sup>[14,15]</sup>。近年来,由于人们生活环境的污染和抽烟人数的增多,喉癌的发病率呈逐年递增的趋势<sup>[16,17]</sup>,严重威胁了人们的生命健康,因此探究与喉癌发生、发展相关的指标,以更好的预防和治疗喉癌具有重要的临床价值。随着遗传学、分子生物学等相关学科

的不断发展,已证实喉癌的发展是一个多步骤、多基因渐进发展的过程,而这个过程与多种相关基因和肿瘤标志物有关<sup>[18-20]</sup>。

在本研究中,喉癌组织中的 MMP-2、VEGF 表达明显高于癌旁组织和正常喉粘膜组织,Fhit、RECK 表达明显低于癌旁组织和正常喉粘膜组织( $P<0.05$ ),癌旁组织中的 MMP-2、VEGF 表达明显高于正常喉粘膜组织,Fhit、RECK 表达明显低于正常喉粘膜组织( $P<0.05$ ),这说明了 MMP-2、VEGF 在喉癌组织中呈高表达,Fhit、RECK 在喉癌组织中呈低表达,喉癌的发生、发展可能与 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 的表达水平有关。进一步研究发现,喉癌组织中 MMP-2 的表达与淋巴结转移、临床分期、分化程度有关( $P<0.05$ );Fhit、RECK 的表达与淋巴结转移、临床分期有关( $P<0.05$ );VEGF 的表达与淋巴结转移有关( $P<0.05$ )。这说明了 MMP-2、Fhit、RECK、VEGF 均与喉癌存在一定的联系,其表达水平的高低与喉癌患者的部分临床病理特征有关。肿瘤细胞发生侵袭和转移至少要有以下三个步骤,即粘附、降解、移动,三者缺一不可,因此降解和破坏细胞外基质和血管基底膜是肿瘤细胞发生侵袭和转移的基础条件<sup>[21,22]</sup>。MMP-2 由

12 个内含子以及 13 个外显子组成,基因长度为 27kb,多项研究显示<sup>[23,24]</sup>,MMP-2 能降解细胞外基质的主要成分,细胞外基质能起到稳定细胞的作用,是肿瘤细胞侵袭和转移过程中的一道屏障,当细胞外基质受到降解和破坏时,肿瘤细胞更容易穿透组织细胞的基底膜和血管,转移到其他的组织部位,因此 MMP-2 表达能力越强,肿瘤细胞越不稳定,发生侵袭、转移的概率越大。VEGF 是一种超强的血管生成因子,通过与其特异性受体(VEGFR)结合来发挥生物效能,VEGF 可促进血管内皮细胞增殖,并诱导肿瘤内的血管形成,为肿瘤的生长发育提供氧气和营养,进而促进肿瘤的发展<sup>[25,26]</sup>。另外,VEGF 也能促进肿瘤细胞增殖,可通过激活肿瘤细胞表面的神经菌毛蛋白来活化磷酸肌醇-3 激酶和蛋白激酶 B 通路,进而促进肿瘤细胞的生长<sup>[27]</sup>。Fhit 基因为抑癌基因,具有调控细胞周期、诱导细胞凋亡的作用。Fhit 可对细胞生长造成阻碍,使其停滞于 S 期,并能激活 Caspase-8、Caspase-9 引起 Caspase 酶介导的凋亡级联反应,现有研究表明<sup>[28]</sup>,Fhit 在肺癌、肝癌、胃癌中均呈低表达,后续可进一步探究 Fhit 抑制肿瘤的具体作用机制,或可发现治疗喉癌的新方向。RECK 基因是一种金属蛋白酶抑制基因,可降低 MMP-2、MMP-9 等多种金属蛋白酶的活性,避免了细胞外基质受到过度的破坏,进而降低了肿瘤细胞发生侵袭和转移的几率<sup>[29,30]</sup>。本研究还发现,喉癌组织中 MMP-2 的表达水平与 Fhit、RECK 呈负相关( $P<0.05$ ),与 VEGF 呈正相关( $P<0.05$ );Fhit 与 RECK 呈正相关( $P<0.05$ ),与 VEGF 呈负相关( $P<0.05$ );RECK 与 VEGF 呈负相关( $P<0.05$ ),这说明这几个指标之间均具有一定的内在联系,其中 RECK 可直接抑制 MMP-2 的表达,因此二者呈负相关,而其他因子的具体联系还有待进一步的研究。

综上所述,喉癌组织中 MMP-2、VEGF 呈高表达,Fhit、RECK 呈现低表达,四个指标均与喉癌的发生、发展存在一定的联系,临床上可通过检测四个指标的表达情况来对患者的病情程度进行评估,进而可以辅助患者的治疗和预后,后续可以进行更深入的研究,或能发现治疗喉癌的新方向。

#### 参考文献(References)

- [1] Tomeh C, Holsinger FC. Laryngeal cancer [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2014, 22(2): 147-153
- [2] Ferlito A, Haigentz M Jr, Bradley PJ, et al. Causes of death of patients with laryngeal cancer [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2014, 271(3): 425-434
- [3] 马泓智,冯凌,李平栋,等.中晚期喉癌颈淋巴结转移规律相关因素分析[J].*中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(7): 542-547  
Ma Hong-zhi, Feng Ling, Li Ping-dong, et al. Lymphatic metastatic rules of advanced laryngeal cancer and its correlative factors [J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2015, 22 (7): 542-547
- [4] Bobdey S, Jain A, Balasubramaniam G. Epidemiological review of laryngeal cancer: An Indian perspective [J]. *Indian J Med Paediatr Oncol*, 2015, 36(3): 154-160
- [5] Brandstorp-Boesen J, Sørup Falk R, Folkvard Evensen J, et al. Risk of Recurrence in Laryngeal Cancer [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (10): e0164068
- [6] Bradford CR, Kumar B, Bellile E, et al. Biomarkers in advanced larynx cancer[J]. *Laryngoscope*, 2014, 124(1): 179-187
- [7] Xuan L, Qu L, Zhou H, et al. Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 932-939
- [8] Liu RR, Li MD, Li T, et al. Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) protein expression and laryngeal cancer prognosis: a meta analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 2261-2266
- [9] 吴春芳,李玲香,李海洲,等.Survivin、Fhit 蛋白在喉癌组织中的表达及临床意义[J].*解放军医药杂志*, 2015, 27(1): 82-85  
Wu Chun-fang, Li Ling-xiang, Li Hai-zhou, et al. Expression of Survivin and Fhit Proteins in Laryngeal Carcinoma Tissues and Their Clinical Significances [J]. *Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2015, 27(1): 82-85
- [10] Liu J, Chi D, Lu H, et al. Reversion-inducing-cysteine-rich protein with Kazal motif is involved in intimal hyperplasia in carotid arteries: a new insight in the prevention of restenosis after vascular angioplasty [J]. *Ann Vasc Surg*, 2015, 29(6): 1293-1299
- [11] 吴波,张萌,曹蜀伟,等.SDF-1/CXCR4 及 VEGF-C 在喉癌淋巴结转移中的作用机制[J].*现代生物医学进展*, 2016, 16(11): 2054-2056, 2073  
Wu Bo, Zhang Meng, Cao Shu-wei, et al. Mechanism of SDF-1 / CXCR4 and VEGF-C in Laryngeal Cancer Lymph Node Metastasis[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(11): 2054-2056, 2073
- [12] Baugnon KL, Beitler JJ. Pitfalls in the staging of cancer of the laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Neuroimaging Clin N Am*, 2013, 23 (1): 81-105
- [13] Kennedy WR, Amdur RJ, Boyce BJ, et al. Neck Management with Total Laryngectomy and Adjuvant Radiotherapy in Locally Advanced Larynx Cancer[J]. *Oncol Res Treat*, 2017, 40(9): 503-506
- [14] Megwalu UC, Sikora AG. Survival outcomes in advanced laryngeal cancer[J]. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 2014, 140(9): 855-860
- [15] 刘红兵,刘月辉,罗英,等.喉癌的手术方式选择及远期疗效的分析[J].*中国癌症杂志*, 2015, 25(2): 145-149  
Liu Hong-bing, Liu Yue-hui, Luo Ying, et al. Analysis of surgical methods and clinical analysis of its long-term effect of laryngeal carcinoma[J]. *China Oncology*, 2015, 25(2): 145-149
- [16] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132
- [17] 邓阳,王烨菁,周建军,等.上海市卢湾区居民 2004-2011 年喉癌发病和死亡资料分析[J].*中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(3): 151-155  
Deng Yang, Wang Ye-jing, Zhou Jian-jun, et al. Incidence and mortality of laryngeal cancer among residents in Luwan district of Shanghai, 2004-2011 [J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2017, 24(3): 151-155
- [18] Liu J, Fu S, Xu Y, et al. RNA interference targeting inhibition of S100A4 suppresses cell growth and promotes apoptosis in human laryngeal carcinoma Hep 2 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10 (3): 1389-1394
- [19] Li Z, Ding S, Zhong Q, et al. Significance of MMP11 and P14(ARF) expressions in clinical outcomes of patients with laryngeal cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 15581-15590
- [20] Niu J, Huang Y, Zhang L, et al. CXCR4 silencing inhibits invasion and migration of human laryngeal cancer Hep-2 cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6255-6261

- [20] 赵艾君,谢鹏.鼻前庭囊肿揭盖术与传统唇龈沟径路鼻前庭囊肿切除术治疗鼻前庭囊肿的疗效对比[J].广西医科大学学报, 2016, 33(5): 880-882  
Zhao Ai-jun, Xie Peng. Comparison of the efficacy of nasal vestibule dissecting and traditional labiocutaneous sulcus approach in the treatment of nasal vestibular tumefaction [J]. Journal of Guangxi Medical University, 2016, 33(5): 880-882
- [21] 余国跃,唐兵华.鼻内镜下揭盖法治疗鼻前庭囊肿 24 例临床观察[J].西部医学, 2012, 24(7): 1318-1319  
She Guo-yue, Tang Bing-hua. Effect of uncovering under nasal endoscopy on treatment of nasal vestibular cyst [J]. Medical Journal of West China, 2012, 24(7): 1318-1319
- [22] 苟建军,张怡,王朝山,等.鼻内镜动力切削术对鼻前庭囊肿患者 CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 IL-8 的影响[J].现代生物医学进展, 2015, 15(25): 4942-4945  
Gou Jian-jun, Zhang Yi, Wang Zhao-shan, et al. LEffect of CRP, TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8 in Patients with Nasal Vestibular Cyst by Nasal Endoscopic Surgery [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 15(25): 4942-4945
- [23] Musilova I, Kacerovsky M, Stepan M, et al. Maternal serum C-reactive protein concentration and intra-amniotic inflammation in women with preterm prelabor rupture of membranes [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182731
- [24] Buchheit J, Uhring J, Sergeant P, et al. Can preoperative CRP levels predict infections of bipolar hemiarthroplasty performed for femoral neck fracture? A retrospective, multicenter study [J]. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2015, 25(1): 117-121
- [25] Drutskaya MS, Nosenko MA, Atretkhany KS, et al. Interleukin-6 From molecular mechanisms of signal transduction to physiological properties and therapeutic targeting[J]. Mol Biol (Mosk), 2015, 49(6): 937-943
- [26] Rao SA, Kunte AR. Interleukin-6: An Early Predictive Marker for Severity of Acute Pancreatitis[J]. Indian J Crit Care Med, 2017, 21(7): 424-428
- [27] Dong R, Chen G, Zheng S, et al. Hepatic expression of interleukin 8 in diagnosing biliary atresia[J]. Hepatology, 2015, 61(2): 731-732
- [28] Milovanovic J, Todorovic-Rakovic N, Abu Rabi Z. The role of interleukin 8 and matrix metalloproteinases 2 and 9 in breast cancer treated with tamoxifen[J]. J Buon, 2017, 22(3): 628-637
- [29] 王少勇,张忠民,黄进堂,等.腹腔镜与开腹手术对胃癌根治术患者 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平的影响研究[J].现代生物医学进展, 2015, 15(3): 481-483  
Wang Shao-yong, Zhang Zhong-min, Huang Jin-tang, et al. Effect of Laparoscopic Surgery and Open Surgical Resection on TNF- $\alpha$  and IL-6 Levels in Patients with Radical Gastrectomy [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 15(3): 481-483
- [30] 孙桂好,孙宏亮,王海鹏.血清与脑脊液中炎性因子检测对颅内感染早期诊断的临床意义 [J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(18): 4665-4667  
Sun Gui-hao, Sun Hong-liang, Wang Hai-peng. Study on clinical significance of inflammatory cytokines in serum and cerebrospinal fluid testing for early diagnosis of intracranial infection[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2014, 24(18): 4665-4667

(上接第 3309 页)

- [21] 陈磊,郑树艳,黄永望,等.MTA2 对喉癌细胞系 Hep-2 的增殖、迁移和侵袭的影响[J].中国实验诊断学, 2015, 19(6): 883-885  
Chen Lei, Zheng Shu-yan, Huang Yong-wang, et al. MTA2 influence on cell proliferation, migration, and invasion of laryngeal Hep-2 cells [J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2015, 19(6): 883-885
- [22] Lu Q, Lv M, Xu E, et al. Recombinant hirudin suppresses the viability, adhesion, migration and invasion of Hep-2 human laryngeal cancer cells[J]. Oncol Rep, 2015, 33(3): 1358-1364
- [23] Mao W, Sun Y, Zhang H, et al. A combined modality of carboplatin and photodynamic therapy suppresses epithelial-mesenchymal transition and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)/MMP-9 expression in HEp-2 human laryngeal cancer cells via ROS-mediated inhibition of MEK/ERK signalling pathway [J]. Lasers Med Sci, 2016, 31(8): 1697-1705
- [24] Popov TM, Stancheva G, Goranova TE, et al. Strong Correlation Between mRNA Expression Levels of HIF-2 $\alpha$ , VEGFR1, VEGFR2 and MMP2 in Laryngeal Carcinoma [J]. Pathol Oncol Res, 2016, 22(4): 741-746
- [25] Popov TM, Goranova T, Stancheva G, et al. Relative quantitative expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , -2 $\alpha$  and -3 $\alpha$ , and vascular endothelial growth factor A in laryngeal carcinoma[J]. Oncol Lett, 2015, 9(6): 2879-2885
- [26] Akdeniz O, Akduman D, Haksever M, et al. Relationships between clinical behavior of laryngeal squamous cell carcinomas and expression of VEGF, MMP-9 and E-cadherin [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(9): 5301-5310
- [27] Zhang LP, Chen HL. Increased vascular endothelial growth factor expression predicts a worse prognosis for laryngeal cancer patients: a meta-analysis[J]. J Laryngol Otol, 2017, 131(1): 44-50
- [28] 李娜, 贾秀红.FHIT 基因与肿瘤 [J]. 国际肿瘤学杂志, 2013, 40(8): 563-566  
Li Na, Jia Xiu-hong. FHIT gene and tumor[J]. Journal of International Oncology, 2013, 40(8): 563-566
- [29] Jacomasso T, Trombetta-Lima M, Sogayar MC, et al. Downregulation of reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs in malignant melanoma: inverse correlation with membrane-type 1-matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 [J]. Melanoma Res, 2014, 24(1): 32-39
- [30] 左文娜.回复引导半胱氨酸丰富蛋白 Kazal 基元、基质金属蛋白酶-14、内皮抑素及血管内皮生长因子在喉癌中的表达及相关性研究[J].中国现代医学杂志, 2015, 25(23): 71-75  
Zuo Wen-na. Expressions of RECK, MMP-14, endostatin and VEGF in laryngeal cancer and their correlations[J]. China Journal of Modern Medicine, 2015, 25(23): 71-75