

## · 论著 ·

DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2025-0049

# 广州地区口腔鳞状细胞癌中 EB 病毒与人乳头状瘤病毒的感染及临床病理特征

——以中山大学附属医院的标本为例

梁思泓<sup>1</sup>, 邵怡婷<sup>2</sup>, 李海刚<sup>3</sup>, 杜钰<sup>1</sup>, 纪燕英<sup>1</sup>, 班媛媛<sup>1</sup>, 胡雯<sup>1</sup>, 陈健宁<sup>1</sup>, 邵春奎<sup>1</sup>✉

(1. 中山大学附属第三医院病理科, 广东 广州 510630; 2. 中山大学附属第三医院口腔医学中心, 广东 广州 510630; 3 中山大学孙逸仙纪念医院病理科, 广东 广州 510120)

**【摘要】** 目的 探讨广州地区口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 中 EB 病毒 (EBV)、人乳头状瘤病毒 (HPV) 的感染及临床病理特征。方法 收集广州地区 304 例 OSCC 标本, 其中 123 例来自中山大学附属第三医院 (2014 年 1 月至 2024 年 12 月), 181 例来自中山大学孙逸仙纪念医院 (2017 年 1 月至 2018 年 12 月)。采用聚合酶链反应 (PCR) 检测病毒 DNA, 原位杂交分析 EBV 编码小 RNA (EBER) 表达, 免疫组织化学检测病毒相关蛋白并明确感染类型。结果 在 304 例 OSCC 标本中, 26.3% (80/304) 为 EBV-PCR 阳性, 其中 63.8% (51/80) 确诊于 TNM 分期的 I / II 期, 与阴性标本相比, 肿瘤分期差异具有统计学意义 ( $P = 0.042$ )。EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, EBER 阳性率为 33.8% (27/80), 其中 92.6% (25/27) 定位于细胞质。EBV 核抗原 1 (EBNA-1)、潜伏膜蛋白 1 (LMP-1) 及 EBNA-2 的检出率分别为 83.8% (67/80)、81.3% (65/80) 和 56.3% (45/80), EBV 裂解蛋白 ZEBRA 未检出, III 型潜伏感染占 41.3% (33/80)。相比之下, HPV DNA 检出率仅 2.6% (8/304), 其中 2 例 p16-IHC 阳性, EBV-HPV 共感染 OSCC 仅 1 例。结论 以中山大学附属医院标本为例, 广州地区 OSCC 中 EBV 检出率较高, 以 III 型潜伏感染为主, EBER 主要定位于细胞质, 提示 EBV 可能在 OSCC 发病机制中发挥作用。相比之下, HPV 相关 OSCC 罕见, 其致病作用有限。

**【关键词】** EB 病毒; 人乳头状瘤病毒; 口腔鳞状细胞癌; 潜伏感染; 临床病理特征

## Epstein-Barr virus and human papillomavirus infections and clinicopathological characteristics in oral squamous cell carcinoma in Guangzhou: a study based on specimens from affiliated hospitals of Sun Yat-sen University

LIANG Sihong<sup>1</sup>, SHAO Yiting<sup>2</sup>, LI Haigang<sup>3</sup>, DU Yu<sup>1</sup>, JI Yanying<sup>1</sup>, BAN Yuanyuan<sup>1</sup>, HU Wen<sup>1</sup>, CHEN Jianning<sup>1</sup>, SHAO Chunkui<sup>1</sup>✉

(1. Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 2. Department of Stomatology, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; 3. Department of Pathology, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Corresponding author: SHAO Chunkui, E-mail: shaohk@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the infection status and clinicopathological characteristics of Epstein-Barr virus (EBV) and human papillomavirus (HPV) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) in Guangzhou, China. **Methods** A total of 304 OSCC specimens were collected from Guangzhou, including 123 cases from the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University (January 2014 to December 2024) and 181 cases from Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University (January 2017 to December 2018). Polymerase Chain Reaction (PCR) was used to detect viral DNA, in situ hybridization was used to assess EBV-encoded RNAs (EBER), and immunohistochemistry was performed to identify viral-related proteins and determine the type of infection. **Results** Among the 304 OSCC specimens, 26.3% (80/304) were EBV-PCR positive, with 63.8% (51/80) diagnosed at TNM stage I/II. Compared with EBV-negative cases, the difference in tumor staging was statistically significant ( $P = 0.042$ ). Among the EBV-

收稿日期: 2025-02-17

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金 (2024A1515012426, 2022A1515012555, 2021A1515110979); 中国博士后科学基金 (2023M744005)

作者简介: 梁思泓, 医师, 研究方向: EB病毒相关肿瘤, E-mail: liangshchn@163.com; 邵春奎, 通信作者, 教授, 主任医师, 研究方向: 肿瘤病理, E-mail: shaohk@mail.sysu.edu.cn

PCR-positive OSCC cases, the EBV-positive rate was 33.8% (27/80), with 92.6% (25/27) localized in the cytoplasm. The detection rates of EBV-encoded nuclear antigen-1 (EBNA-1), latent membrane protein-1 (LMP-1), and EBV-encoded nuclear antigen-2 (EBNA-2) were 83.8% (67/80), 81.3% (65/80), and 56.3% (45/80), respectively, while the lytic protein ZEBRA was not detected. Type III latent infection accounted for 41.3% (33/80). In contrast, HPV DNA was detected in only 2.6% (8/304) of OSCC cases, among which two were p16-IHC positive. Only one case of OSCC showed EBV-HPV coinfection. **Conclusions** Based on samples collected from Sun Yat-sen University affiliated hospitals, EBV infection is relatively prevalent in OSCC cases in Guangzhou, mainly characterized by type III latency and cytoplasmic localization of EBV, suggesting a potential role of EBV in the pathogenesis of OSCC. In contrast, HPV-related OSCC appears to be rare and likely plays a limited pathogenic role.

**[ Key words ]** Epstein-Barr virus; Human papillomavirus; Oral squamous cell carcinoma; Latency infection; Clinicopathological characteristics

口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 是口腔最常见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 全球年新增约 30 万例, 死亡约 14.5 万例<sup>[2,3]</sup>。OSCC 的 5 年生存率长期维持在 50% 左右<sup>[4]</sup>。EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 和人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 可能在 OSCC 的发生、发展中发挥作用, 但不同研究结果存在较大差异, 病毒检出率在不同地区从 0%~100% 不等, 其致癌机制仍不明确<sup>[5,8]</sup>。广州地区为鼻咽癌高发区, 鼻咽癌与 EBV 感染密切相关, 但 OSCC 与 EBV 的关系如何却鲜有报道。一项小样本研究提示 EBV 可能参与 OSCC 发生, 但未对感染类型进行分析<sup>[9]</sup>。HPV 在广州地区 OSCC 中的作用亦缺乏研究, 一项针对舌鳞状细胞癌的研究显示, 15.7% (19/121) 标本存在 HPV DNA 扩增, 且与男性患者相关。但该研究限于舌部 OSCC, 其普适性及代表性仍需进一步确认<sup>[10]</sup>。此外, 近年来未有研究报道广州地区 EBV 和 HPV 共同感染与 OSCC 的关系。因此, 本研究以中山大学附属医院标本为例, 旨在探讨广州地区 OSCC 中 EBV、HPV 的感染及临床病理特征, 以深化对 OSCC 病因的理解。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

本研究共收集 304 例原发性 OSCC 标本, 其中 123 例来自中山大学附属第三医院 (2014 年 1 月至 2024 年 12 月), 181 例来自中山大学孙逸仙纪念医院 (2017 年 1 月至 2018 年 12 月)。所有患者术前均未接受放射治疗或化学治疗。为降低中心效应, 本研究严格统一病例纳入标准、组织固定及保存方法, 以确保不同中心样本的处理一致性, 从而提高数据的可比性。收集患者的临床病理资

料, 包括性别、年龄、肿瘤部位、肿瘤大小、组织学类型、淋巴结转移及肿瘤分期, 其中肿瘤分期依据《美国癌症联合委员会 (AJCC) TNM 分期系统》第 8 版。本研究经医学伦理委员会审批 (批件号: 中大附三医伦 II2024-075-02, 中大附二医伦 SYSKY-2022-256-01), 所有患者均签署知情同意书。

### 1.2 主要试剂

本研究主要使用以下试剂: QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen)、2×Pro Taq PCR 预混液 (艾科瑞生物工程有限公司)、聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 引物 (生工生物工程股份有限公司)、Novolink Max 聚合物 (Leica) 及 EBV 编码小 RNA (EBV-encoded RNA, EBV) 检测试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC) 检测采用以下抗体及稀释比例: EBNA-1 (1:2000, Santa Cruz)、LMP-1 (1:1500, Abcam)、EBNA-2 (1:300, Novus)、ZEBRA (1:450, Santa Cruz) 及 p16 (即用型, Roche)。

### 1.3 实验方法

采用 PCR 检测 OSCC 标本中的 EBV 和 HPV DNA, 并通过原位杂交 (*in situ* hybridization, ISH) 分析 EBV 的表达。此外, 利用 IHC 检测 EBV 核抗原 1 (EBV-encoded nuclear antigen-1, EBNA-1)、EBV 核抗原 2 (EBV-encoded nuclear antigen-2, EBNA-2)、潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein-1, LMP-1) 及 EBV 裂解蛋白 ZEBRA 的表达, 同时检测 p16<sup>INK4A</sup> (p16) 蛋白, 以评估 EBV 感染类型及 HPV 相关性。所有实验均在相同实验室条件下进行, 采用统一的检测平台、试剂及标准化操作流程, 并严格执行质量控制措施, 以确保数据的稳定性和可比性。

## 1.4 标本处理

所有组织标本经10%中性福尔马林固定并行石蜡包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded, FFPE), 制备 3.5  $\mu\text{m}$  连续切片供后续实验分析。

## 1.5 基因组 DNA 提取及 PCR 检测

使用 QIAamp DNA FFPE Tissue Kit 提取 OSCC 组织 DNA, 按照制造商说明操作。提取的 DNA 通过微量分光光度计测定浓度和纯度, 并储存于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  以备 PCR 分析。经  $\beta$ -珠蛋白基因 PCR 扩增评估 DNA 提取质量, 见表 1。采用 MY09/MY11 通用引物扩增 L1 片段, 以检测多种 HPV 亚型<sup>[11]</sup>。使用特异性引物扩增 EBNA-1、EBNA-3C、BamHI-F 和 BamHI-W 片段, 其中 EBNA-3C 片段扩增产物可区分 EBV A 型 (153 bp) 与 B 型 (246 bp)<sup>[12]</sup>。PCR 反应条件为:  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s,  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 10 s,  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 1 min, 共 35 个循环, 最终延伸 1 min。每次 PCR 检测均设相应对照, 以确保实验可靠性。阳性对照为 HPV 阳性宫颈高级别鳞状上皮内病变及 EBV 阳性鼻咽癌 FFPE 组织 DNA, 阴性对照为 DEPC 处理的无核酸去离子水。

## 1.6 免疫组织化学检测

根据试剂盒说明, 采用 Novolink Max 聚合物检测系统进行 IHC 检测, 以分析 EBV 相关蛋白及 p16 的表达。显微镜下评估染色结果, 判定标准如下:  $\geq 1\%$  的肿瘤细胞呈现明确阳性染色, 则判断为 EBNA-1、LMP-1、EBNA-2 或裂解蛋白 ZEBRA 阳性。p16 阳性标准为  $\geq 70\%$  的肿瘤细胞胞质及细胞核呈现强烈、弥漫的阳性染色。为确保实验结果的可靠性, 设置相应对照。阳性对照包括宫颈高级别鳞状上皮内病变 FFPE 组织 (p16 阳性

对照)、EBV 阳性鼻咽癌 FFPE 组织 (EBNA-1 和 LMP-1 阳性对照)、B95-8 细胞蜡块 (EBNA-2 阳性对照) 及 EBV 相关淋巴增生性疾病 FFPE 组织 (ZEBRA 阳性对照)。阴性对照使用磷酸盐缓冲液 ( $1\times$ ) 替代一抗孵育。

## 1.7 原位杂交检测

按照制造商说明, 采用 EBER 检测试剂盒进行 ISH 检测。显微镜下观察染色情况, 若肿瘤细胞的细胞核或胞质呈现阳性染色, 则判定为 EBER 阳性<sup>[13]</sup>。EBER 阳性鼻咽癌 FFPE 组织切片作为阳性对照, 阴性对照则以磷酸盐缓冲液 ( $1\times$ ) 替代探针处理。

## 1.8 统计学方法

采用 SPSS 26.0 分析数据。计数资料以  $n(\%)$  表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法。所有检验均为双侧检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 OSCC 中 EBV DNA 的扩增及临床病理特征

在 OSCC 标本中, 成功扩增 EBV 基因组片段, 包括 BamHI-W (3.6%, 11/304)、BamHI-F (11.2%, 34/304)、EBNA-1 (13.5%, 41/304) 和 EBNA-3C (23.4%, 71/304), 见图 1。在 80 例 (26.3%) EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, 51 例 (63.8%) 至少扩增 2 种 EBV 片段, 其中 3 例扩增 4 种、20 例扩增 3 种、28 例扩增 2 种。所有 EBNA-3C PCR 扩增产物均为 153 bp, 提示所有 EBNA-3C 阳性 OSCC (100%, 71/71) 均感染 A 型 EBV。

表 1 实验扩增引物  
Table 1 Experimental amplification primers

片段	序列	长度
$\beta$ -globin	F: 5'-CAACTCATCCACGTTACC-3' R: 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3'	268 bp
HPV L1	MY09: 5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3' MY11: 5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'	450 bp
BamHI-W	F: 5'-CCCAACACTCCACCACACC-3' R: 5'-TCTTAGGAGCTGTCCGAGGG-3'	76 bp
BamHI-F	F: 5'-TCCCACCTGTTACCACATTC-3' R: 5'-GGCAATGGGACGTCTTGTA-3'	198 bp
EBNA-1	F: 5'-GCCGGTGTGTTCTGATATGG-3' R: 5'-CAAAACCTCAGCAAATATATGAG-3'	213 bp
EBNA-3C	F: 5'-AGAAGGGGAGCGTGTGTTGT-3' R: 5'-GGCTCGTTTTGACGTCGGC-3'	A 型: 153 bp B 型: 246 bp

对 EBV-PCR 阳性 OSCC 患者的临床病理特征进行分析, 见表 2。结果显示, I 期为最常见 TNM 分期 (37.5%, 30/80), 肿瘤原发部位以舌部为主 (62.5%, 50/80), 其次为牙龈和颊黏膜 (各 13.8%, 11/80), 大部分唇部 OSCC 标本为 EBV-

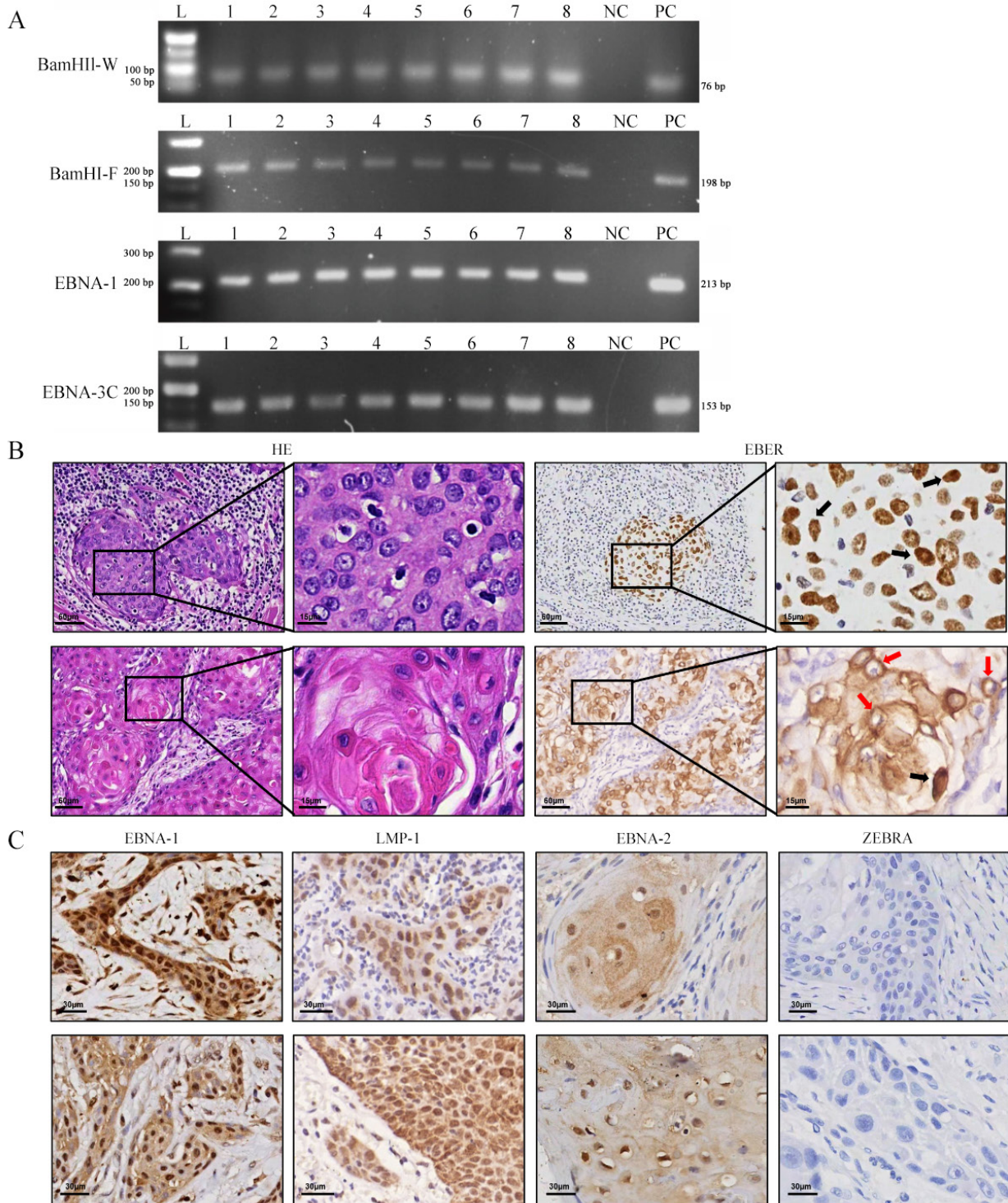
PCR 阳性 (3/4)。EBV-PCR 阳性与阴性 OSCC 患者在肿瘤分期 ( $P = 0.042$ ) 和肿瘤部位 ( $P = 0.029$ ) 方面比较差异有统计学意义, 阳性组中 I/II 期患者比例更高, 部位以牙龈、颊黏膜及唇部构为主。EBV-PCR 阳性 OSCC 患者中, 男性占 65% (52/80),

表 2 EBV-PCR 及 EBER-ISH 阴性或阳性 OSCC 的临床病理特征

Table 2 Clinicopathological features of OSCC and their association with EBV-PCR and EBER-ISH negative or positivity

临床病理特征	数量 /n (%)	EBV-PCR		$\chi^2$ 值	P 值	EBER-ISH		$\chi^2$ 值	P 值
		阴性 (n=224)	阳性 (n=80)			阴性 (n=277)	阳性 (n=27)		
性别 /n (%)				0.154	0.694			0.711	0.399
男	203 (66.8)	151 (67.4)	52 (65.0)			183 (66.1)	20 (74.1)		
女	101 (33.2)	73 (32.6)	28 (35.0)			94 (33.9)	7 (25.9)		
年龄 /n (%)				3.831	0.147			2.225	0.329
<40 岁	33 (10.9)	22 (9.8)	11 (13.8)			28 (10.1)	5 (18.5)		
40~60 岁	142 (46.7)	112 (50.0)	30 (37.5)			132 (47.7)	10 (37.0)		
>60 岁	129 (42.4)	90 (40.2)	39 (48.8)			117 (42.2)	12 (44.4)		
部位 /n (%)				12.460	0.029				0.433 <sup>a</sup>
舌	205 (67.4)	155 (69.2)	50 (62.5)			189 (68.2)	16 (59.3)		
颊黏膜	30 (9.9)	19 (8.5)	11 (13.8)			27 (9.7)	3 (11.1)		
牙龈	31 (10.2)	20 (8.9)	11 (13.8)			27 (9.7)	4 (14.8)		
口底	23 (7.6)	18 (8.0)	5 (6.3)			20 (7.2)	3 (11.1)		
硬腭	11 (3.6)	11 (4.9)	0 (0)			11 (4.0)	0 (0)		
唇	4 (1.3)	1 (0.4)	3 (3.8)			3 (1.1)	1 (3.7)		
肿瘤最大径 /n (%)				1.331	0.514			2.762	0.251
<2 cm	89 (29.3)	63 (28.1)	26 (32.5)			83 (30.0)	6 (22.2)		
2~4 cm	183 (60.2)	135 (60.3)	48 (60.0)			163 (58.8)	20 (74.1)		
>4 cm	32 (10.5)	26 (11.6)	6 (7.5)			31 (11.2)	1 (3.7)		
组织学类型 /n (%)				0.945	0.623				1.000 <sup>a</sup>
高分化	187 (61.5)	136 (60.7)	51 (63.7)			170 (61.4)	17 (63.0)		
中分化	109 (35.9)	83 (37.1)	26 (32.5)			99 (35.7)	10 (37.0)		
低分化	8 (2.6)	5 (2.2)	3 (3.8)			8 (2.9)	0 (0)		
淋巴结转移 /n (%)				2.843	0.092			0.391	0.532
无	209 (68.8)	148 (66.1)	61 (76.3)			189 (68.2)	20 (74.1)		
有	95 (31.3)	76 (33.9)	19 (23.8)			88 (31.8)	7 (25.9)		
TNM 分期 /n (%)				9.931	0.042				0.274 <sup>a</sup>
I	92 (30.3)	62 (27.7)	30 (37.5)			84 (30.3)	8 (29.6)		
II	72 (23.7)	51 (22.8)	21 (26.3)			63 (22.7)	9 (33.3)		
III	51 (16.8)	46 (20.5)	5 (6.3)			50 (18.1)	1 (3.7)		
IVa	87 (28.6)	64 (28.6)	23 (28.7)			78 (28.2)	9 (33.3)		
IVb	2 (0.7)	1 (0.4)	1 (1.3)			2 (0.7)	0 (0)		

注: <sup>a</sup> 为 Fisher 确切概率法结果。



注：A 为 OSCC 标本中多个 EBV 片段的 PCR 扩增结果，显示 BamHI-W、BamHI-F、EBNA-1 和 EBNA-3C 片段在阳性对照及 OSCC 标本中的成功扩增，产物长度分别为 76、198、213 和 153 bp（L 为 500 bp DNA ladder；NC 为阴性对照；PC 为阳性对照）。B 为 ISH 显示 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中 EBER 的表达及定位，上排示中分化 OSCC，肿瘤细胞呈实性巢状分布，伴明显淋巴细胞浸润，EBER 主要定位于细胞核（黑箭头）；下排示另一例中分化 OSCC，淋巴细胞浸润较少，EBER 主要分布于胞质（红箭头），少量位于细胞核（黑箭头）（×100、×400，标尺为 60、15 μm）。C 为 IHC 显示 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中 EBV 潜伏及裂解期蛋白的表达，EBNA-1、LMP-1、EBNA-2 在肿瘤细胞核及胞质内呈阳性，而 EBV 裂解蛋白 ZEBRA 未检出（×200，标尺为 30 μm）。

图 1 OSCC 中 EBV 的检测  
Figure 1 Detection of EBV in OSCC

96.2% (77/80) 为中-高分化 OSCC, 76.3% (61/80) 无淋巴结转移。EBV-PCR 阳性与阴性 OSCC 患者在性别、年龄、肿瘤大小、组织学分化及淋巴结转移方面比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

## 2.2 OSCC 中 EBER 表达情况及临床病理特征

在 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, 33.8% (27/80) EBER 表达阳性。EBER 阳性标本中, 肿瘤细胞核及胞质均可见不同程度的染色, 见图 1。其中 92.6% (25/27) 主要定位于胞质, 仅 7.4% (2/27) 局限于细胞核。

EBER-ISH 阳性 OSCC 标本的临床病理特征整体上与 EBV-PCR 阳性标本相似。EBER-ISH 阳性 OSCC 主要发生于舌部 (59.3%, 16/27), 其次为牙龈 (14.8%, 4/27) 和颊黏膜 (11.1%, 3/27)。此外, EBER-ISH 阳性 OSCC 以男性为主 (74.1%, 20/27), 所有标本均为中-高分化型, 且多数 (74.1%, 20/27) 无淋巴结转移。EBER-ISH 阳性与阴性 OSCC 患者在性别、年龄、部位、肿瘤大小、组织学类型、淋巴结转移及 TNM 分期方面比

较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

## 2.3 OSCC 中 EBV 潜伏与 EBV 裂解蛋白 ZEBRA 的表达

在 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, EBNA-1、LMP-1 和 EBNA-2 的阳性率分别为 83.8% (67/80)、81.3% (65/80) 和 56.3% (45/80), 见图 1。所有标本均未检测到 EBV 裂解蛋白 ZEBRA (0/80)。结合 EBV 潜伏蛋白的表达模式<sup>[14-15]</sup>, 可推测其潜伏感染类型, 见表 3。在 71 例 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, III 型潜伏感染占 41.3% (33/80), 特征为 EBNA-1、EBNA-2 和 LMP-1 均表达。II 型潜伏感染占 36.3% (29/80), 进一步分为 IIa 型 (EBNA-1 和 LMP-1 表达, 28.8%, 23/80) 及 IIb 型 (EBNA-1 和 EBNA-2 表达, 7.5%, 6/80)。此外, I 型潜伏感染占 6.3% (5/80), 仅表达 EBNA-1。另有 5.0% (4/80) 标本未检测到 EBV 潜伏蛋白, 可能为 0 型潜伏感染或 EBV-PCR 假阳性。其余 11.3% (9/80) 标本的 EBV 潜伏感染类型尚不明确。

表 3 EBV-PCR 阳性的 OSCC 标本中 EBV 感染类型  
Table 3 EBV infection types in EBV-PCR-positive OSCC

EBV 相关蛋白的表达				数量 / n (%) (占 80 例 EBV-PCR 阳性 OSCC 的百分比)	EBV 感染类型
EBNA1	LMP1	EBNA2	ZEBRA		
+	+	+	-	33 (41.3)	III 型潜伏感染
+	+	-	-	23 (28.8)	IIa 型潜伏感染
+	-	+	-	6 (7.5)	IIb 型潜伏感染
+	-	-	-	5 (6.3)	I 型潜伏感染
-	+	+	-	6 (7.5)	未明确
-	+	-	-	3 (3.8)	未明确
-	-	-	-	4 (5.0)	0 型潜伏感染 <sup>a</sup>

注: <sup>a</sup> 为 EBV 的 0 型潜伏感染或 EBV-PCR 的假阳性结果。

## 2.4 OSCC 中 HPV 的感染情况

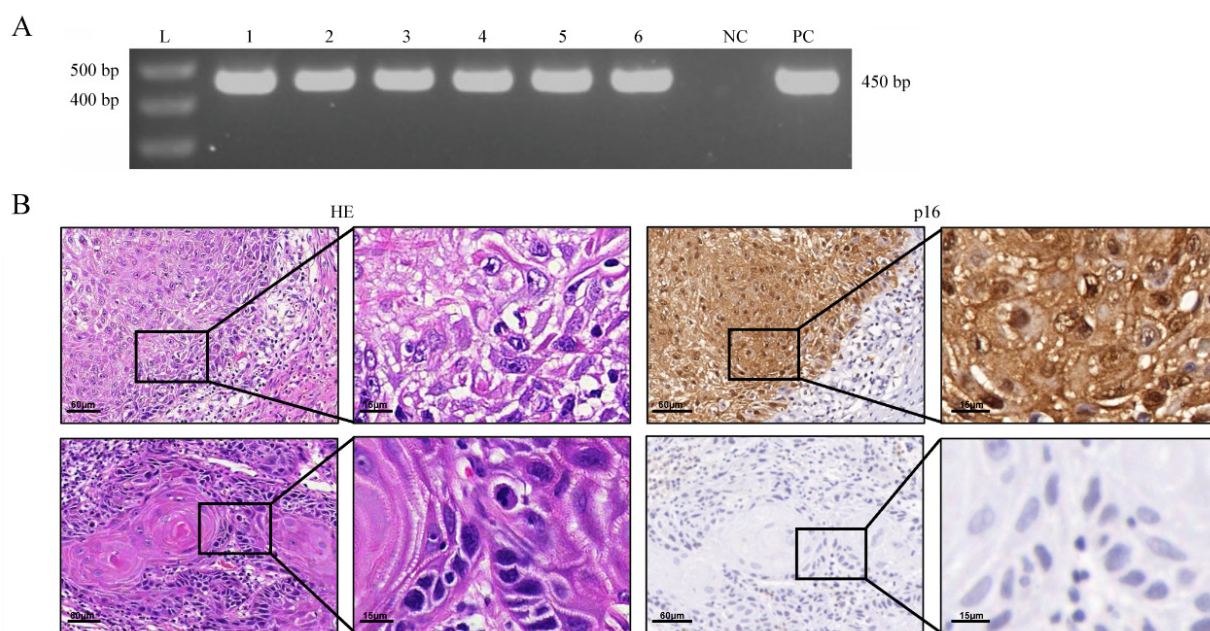
在 304 例 OSCC 标本中, HPV DNA 的检出率为 2.6% (8/304), 见图 2。HPV-PCR 阳性 OSCC 患者 8 例, 包括 6 例男性和 2 例女性, 年龄 37~78 岁, 肿瘤原发部位涵盖牙龈、舌部和颊黏膜。值得注意的是, 仅 2 例患者 (病例 3 和病例 7) 发生淋巴结转移, 所有病例病理类型均为高分化 OSCC, 见表 4。由于样本量有限, 无法进一步行统计分析。

在 HPV-PCR 阳性 OSCC 标本中, 仅 2 例 (2/8) 同时为 p16-IHC 阳性, 归类为 HPV 相关 OSCC, 见图 2。其中 1 例同时为 EBV-PCR、HPV-PCR 和 p16-IHC 阳性, 提示 EBV 与 HPV 共同感染。该病例 (病例 2) 为 37 岁女性, 肿瘤原发于舌部, 无淋巴结转移, TNM 分期为 I 期, 病理类型为高分化 OSCC, 见表 4。此外, 该标本 EBER-ISH 检测阳性, 并表达 EBNA-2、LMP-1 及 EBNA-2, 提示为 EBV 的 III 型潜伏感染。

表4 HPV-PCR 阳性 OSCC 的临床病理特征

Table 4 Clinicopathological features and test results for HPV-PCR positivity OSCC

项目	1	2	3	4	5	6	7	8
性别	男	女	男	男	女	男	男	男
年龄/岁	45	37	53	78	71	50	55	68
部位	牙龈	舌	舌	颊黏膜	颊黏膜	牙龈	颊黏膜	舌
淋巴结转移	无	无	有	无	无	无	有	无
TNM 分期	I	I	IV <sub>a</sub>	IV <sub>a</sub>	IV <sub>a</sub>	I	III	II
组织学类型	高分化	高分化	高分化	高分化	高分化	高分化	高分化	高分化
HPV-PCR	+	+	+	+	+	+	+	+
p16-IHC	-	+	-	+	-	-	-	-
EBV-PCR	-	+	-	-	-	-	-	+



注: A 为 OSCC 标本中 HPV L1 片段的 PCR 扩增结果, 显示 HPV L1 片段在阳性对照及 OSCC 标本中成功扩增, 产物大小为 450 bp (L 为 500 bp DNA 分子量 ladder; NC 为阴性对照; PC 为阳性对照)。B 为 IHC 显示 HPV-PCR 阳性 OSCC 标本中 p16 的表达。上排为高分化 OSCC, 肿瘤细胞核及胞质内 p16 弥漫强阳性, 提示 HPV 相关 OSCC ( $\times 100$ , 标尺为 60  $\mu\text{m}$ ); 下排为另一例高分化 OSCC, p16 表达缺失, 提示非 HPV 相关 OSCC ( $\times 400$ , 标尺为 15  $\mu\text{m}$ )。

图2 OSCC 中 HPV 的检测

Figure 2 Detection of HPV in OSCC

### 3 讨论

OSCC 是最常见的口腔恶性肿瘤, 其发生发展与病毒感染, 尤其是 EBV 和 HPV 的作用尚不明确。本研究中广州 2 家医院 26.3% (80/304) 的 OSCC 标本存在 EBV DNA 扩增, 并显示 EBV-PCR 阳性与阴性患者在肿瘤分期方面差异具有统计学意义。与传统认知不同, 本研究显示 EBER 主要定位于 OSCC 肿瘤细胞的胞质, 而非细胞核。进一步分析

表明, EBV-PCR 阳性 OSCC 主要为 EBV III 型潜伏感染。此外, HPV 相关 OSCC 仅占 0.7% (2/304), 而 EBV-HPV 共同感染病例仅 0.3% (1/304)。这可在一定程度上反映广州地区 OSCC 患者中 EBV、HPV 及其共同感染的情况和临床病理特征。

本研究检测到 26.3% (80/304) 的 OSCC 标本存在 EBV DNA 扩增, 结果与既往研究相似<sup>[16-17]</sup>。然而, OSCC 中 EBV DNA 检出率在不同研究中差异较大。例如, Al-Thawadi 等<sup>[18]</sup>报道在 78.1% 的

OSCC 标本中检测到 EBV DNA, 而 Dayyani 等<sup>[5]</sup>的研究则未检出 EBV DNA。这种差异可能与地理区域、样本类型、标本采集方式及检测方法的不同有关<sup>[7]</sup>。为降低 EBV-PCR 在 OSCC 检测中的假阴性率, 本研究采用多 EBV 基因片段 PCR 扩增策略, 以提高检测灵敏度。

EBV-PCR 阳性 OSCC 患者的临床病理特征分析显示 EBV-PCR 阳性和阴性患者在肿瘤分期方面差异有统计学意义。大多数 EBV-PCR 阳性 OSCC 病例确诊于早期阶段, 且未发生淋巴结转移。这些数据提示, EBV 相关 OSCC 患者可能具有更好的预后。这一结果与 EBV 相关胃癌的研究相似, 即 EBV 阳性胃癌患者的淋巴结转移率低于阴性患者, 且预后更佳<sup>[19-20]</sup>。然而, 考虑到不同癌症类型的异质性、潜在混杂因素的影响以及当前研究数据的局限性, 相关结论仍需谨慎解读。未来研究需在更严格的控制下进一步阐明 EBV 在 OSCC 发生和发展中的作用。

一般而言, EBER 在 EBV 感染的所有潜伏期均可检测到, 因此 EBER-ISH 通常被视为 EBV 感染的金标准<sup>[21]</sup>。然而, 在本研究中, 仅 33.8% 的 EBV-PCR 阳性 OSCC 显示 EBER-ISH 阳性。这一现象在先前研究中亦有报道, 即部分 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本表现为 EBER-ISH 阴性<sup>[22]</sup>。这一现象可由“hit and run”假说解释, 即病毒感染的肿瘤细胞在获得遗传稳定性后, 可能会逐渐丢失病毒基因组<sup>[23]</sup>。类似地, 一些 EBER-ISH 阴性的胃癌标本仍可通过数字 PCR 检测到 EBV DNA, 或通过 RNA scope 检测到 EBNA-1 mRNA, 并可能伴随病毒介导的表观遗传学改变<sup>[24]</sup>。本研究结果提示, OSCC 组织中的 EBER 表达可能随时间逐渐降低, 最终导致 EBER-ISH 阴性, 而 PCR 仍可检测到残存的 EBV 基因片段, 并可能继续发挥生物学作用。此外, IHC 结果显示, 即使 EBER-ISH 阴性, 部分 OSCC 标本仍表达 EBV 编码蛋白。因此, 尽管 EBER-ISH 被广泛认为是 EBV 感染的检测标准, 其在 EBV 相关 OSCC 检测中的可靠性仍需进一步确认。对于 EBER-ISH 阴性的 OSCC 标本, 可能需结合如本研究所用的多靶点 PCR 方法, 以提高 EBV 检测的敏感性和准确性。

值得注意的是, 在 EBER-ISH 阳性标本中, 92.6% 的标本主要表现为肿瘤细胞的胞质阳性染色, 而仅 7.4% (2/27) 的标本呈现细胞核阳性染色。这一发现提示 EBER 可能在细胞质中发挥作

用。Ahmed 等<sup>[25]</sup>结合分子生物技术和电子显微技术, 观察到 EBER 在 EBV 感染的 B 细胞系中同时定位于细胞核和细胞质。此外, Cheng 等<sup>[26]</sup>的研究表明, EBER 可存在于细胞囊泡内, 并通过外泌体途径发挥作用。另外, EBER 在细胞质中的分布与双链 RNA 依赖性蛋白激酶密切相关, 可能通过与其相互作用参与蛋白调控<sup>[27]</sup>。本研究显示, 大多数 EBER-ISH 阳性 OSCC 标本以细胞质定位为主, 提示 EBER 在细胞质中的分布可能在 OSCC 的发生发展中发挥关键作用。

EBV 编码蛋白在 EBV 相关肿瘤的发生和进展过程中起关键作用。EBNA-1 是 EBV 复制和致病过程中必不可少的蛋白, 参与维持病毒基因组稳定性, 并介导宿主细胞转化<sup>[28]</sup>。LMP-1 促进细胞增殖、迁移和侵袭, 在上皮细胞恶性转化过程中发挥关键作用<sup>[29]</sup>。在本研究中, EBNA-1 和 LMP-1 分别在 83.8% 和 81.3% 的 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中表达, 提示其可能在 OSCC 的发生和进展中发挥重要作用。

不同类型肿瘤中 EBV 感染模式的差异, 凸显了 EBV 与宿主细胞间的复杂相互作用。在 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本中, 以 III 型潜伏感染为主, 该类型通常见于免疫抑制相关疾病, 如移植后淋巴增生性疾病和 HIV 相关淋巴瘤<sup>[30]</sup>。本研究纳入的 OSCC 患者均为未接受治疗的初诊病例, 提示观察到的 EBV III 型潜伏感染可能与肿瘤微环境中的局部免疫抑制密切相关。相比之下, Heawchaiyaphum 等<sup>[31]</sup>在 OSCC 细胞系中主要检测到 I 型或 II 型潜伏感染, 反映出临床标本与体外培养细胞模型在 EBV 感染类型上的差异, 提示宿主-肿瘤相互作用可能影响 EBV 的潜伏机制。此外, 部分 EBV-PCR 阳性 OSCC 标本表现出 II 型、0 型及其他尚未明确的潜伏感染类型。需要注意的是, 检测方法灵敏度可能影响 EBV 潜伏蛋白的实际表达水平, 进而影响 EBV 感染类型分布的准确评估。

本研究同时分析了 OSCC 标本中 HPV 的感染状态。尽管 E6/E7 mRNA 检测被公认为 HPV 诊断的金标准, 但因其依赖于新鲜冻存组织且操作复杂, 限制了其在临床中的应用<sup>[32]</sup>。有研究表明, HPV-PCR 联合 p16-IHC 在检测 mRNA 阳性的口咽鳞状细胞癌样本时, 具有 93% 的灵敏度和 96% 的特异性<sup>[33]</sup>。因此, 本研究采取了 HPV L1-PCR 结合 p16-IHC 联合检测, 以识别 HPV 相关的 OSCC

标本。结果显示,仅0.7%的标本同时呈现2项检测阳性,提示HPV在OSCC中的致病作用可能较为有限。该结果可能受到多种因素的影响,包括HPV L1区域在病毒整合过程中的丢失<sup>[34]</sup>、FFPE组织中病毒DNA降解的可能<sup>[35]</sup>,以及口腔上皮组织中p16表达的变异性<sup>[36]</sup>。

本研究存在一定的局限性。首先,本研究采用多EBV基因片段PCR扩增策略以提高检测灵敏度,但可能带来假阳性风险。通过IHC及ISH证实,在EBV-PCR阳性OSCC标本中,95.0%(76/80)的肿瘤细胞至少表达一种EBV编码蛋白或EBER,验证了本研究EBV-PCR检测的可靠性。其次,本研究主要采用HPV-PCR和p16-IHC检测高危型HPV,因其与恶性肿瘤的发生密切相关。然而,有研究表明,低危型HPV的E6和E7蛋白与EBV的LMP-1蛋白共同作用,诱发DNA损伤,并与口腔癌前病变相关<sup>[37]</sup>。低危型HPV相关肿瘤通常不表现出显著的p16过表达<sup>[38]</sup>,因此本研究有可能低估了低危型HPV在EBV共同感染OSCC发展中的潜在作用。未来研究需进一步探讨OSCC中低危型HPV与EBV的共同感染情况,以更全面地阐明不同类型HPV在OSCC发病机制中的作用。最后,本研究仅收集广州地区两家三甲医院的标本,仍需扩大大中心样本量以进一步提升结果的代表性与可靠性。

综上所述,以中山大学附属医院的标本为例,广州地区OSCC中EBV检出率为26.3%,EBER主要定位于肿瘤细胞胞质,且以Ⅲ型潜伏感染为主,提示EBV可能在部分OSCC的发生发展中发挥作用。相比之下,HPV相关OSCC少见,表明HPV感染在OSCC发病机制中的作用可能较为有限。

**利益冲突声明:** 本研究未受到企业、公司等第三方资助,不存在潜在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] RICH B J, SAMUELS S E, AZZAM G A, et al. Oral cavity squamous cell carcinoma: review of pathology, diagnosis, and management[J]. Crit Rev Oncog, 2024, 29(3): 5-24. DOI: 10.1615/critrevoncog.2023050055.
- [2] GUPTA I, BADRZADEH F, TSENTALOVICH Y, et al. Connecting the dots: investigating the link between environmental, genetic, and epigenetic influences in metabolomic alterations in oral squamous cell carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2024, 43(1): 239. DOI: 10.1186/s13046-024-03141-5.
- [3] 林寒潇, 邓颖勋, 洪磊, et al. 口腔癌根治术后早期营养支持达标状况及其影响因素研究[J]. 新医学, 2025, 56(1): 27-33. DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0296.
- [4] LIN H X, DENG Y X, HONG L, et al. Incidence and influencing factors of nutritional deficit in oral cancer patients during the immediate postoperative period after radical resection surgery[J]. J New Med, 2025, 56(1): 27-33. DOI: 10.12464/j.issn.0253-9802.2024-0296.
- [5] MENDITTI D, SANTAGATA M, GUIDA D, et al. State of the art in the diagnosis and assessment of oral malignant and potentially malignant disorders: present insights and future outlook-an overview[J]. Bioengineering(Basel), 2024, 11(3): 228. DOI: 10.3390/bioengineering11030228.
- [6] DAYYANI F, TAVAKOLIAN S, GOUDARZI H, et al. Prevalence of HSV, varicella-zoster, CMV, EBV and HPV in the oral cavity and the larynx carcinoma in Iran[J]. Future Virol, 2021, 16(2): 141-151. DOI: 10.2217/fvl-2020-0049.
- [7] RAHMAN R, GOPINATH D, BUJEEB W, et al. Potential role of Epstein-Barr virus in oral potentially malignant disorders and oral squamous cell carcinoma: a scoping review[J]. Viruses, 2022, 14(4): 801. DOI: 10.3390/v14040801.
- [8] KATIRACHI S K, GRØNLUND M P, JAKOBSEN K K, et al. The prevalence of HPV in oral cavity squamous cell carcinoma[J]. Viruses, 2023, 15(2): 451. DOI: 10.3390/v15020451.
- [9] PÉREZ-ISLAS E, GARCÍA-CARRANCÁ A, ACOSTA-GIO E, et al. Prognostic importance of DNA from human papillomavirus in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, 2022, 27(2): e150-e158. DOI: 10.4317/medoral.25092.
- [9] 丁学强, 朱振宇, 王安训, 等. EB病毒感染与口腔鳞状细胞癌的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 1997, 18(2): 64-65. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).1997.0046.
- [10] DING X Q, ZHU Z Y, WANG A X, et al. Relationship of Epstein-Barr virus infection with squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 1997, 18(2): 64-65. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).1997.0046.
- [10] HUANG K, NI G, MA B, et al. Importance of human papillomavirus infection in squamous cell carcinomas of the tongue in Guangdong Province, China[J]. J Int Med Res, 2020, 48(1): 300060519897187. DOI: 10.1177/0300060519897187.
- [11] GIULIANI E, ROLLO F, DONÀ M G, et al. Human papillomavirus oral infection: review of methodological aspects and epidemiology[J]. Pathogens, 2021, 10(11): 1411. DOI: 10.3390/pathogens10111411.
- [12] LUPO J, TRUFFOT A, ANDREANI J, et al. Virological markers in Epstein-Barr virus-associated diseases[J]. Viruses, 2023, 15(3): 656. DOI: 10.3390/v15030656.
- [13] TURUNEN A, RAUTAVA J, GRÉNMAN R, et al. Epstein-

- Barr virus (EBV)-encoded small RNAs (EBERs) associated with poor prognosis of head and neck carcinomas [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (16): 27328-27338. DOI: 10.18632/oncotarget.16033.
- [14] ZHANG L, WANG R, XIE Z. The roles of DNA methylation on the promotor of the Epstein-Barr virus (EBV) gene and the genome in patients with EBV-associated diseases [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2022, 106 (12): 4413-4426. DOI: 10.1007/s00253-022-12029-3.
- [15] KLEIN E, NAGY N, RASUL A E. EBV genome carrying B lymphocytes that express the nuclear protein EBNA-2 but not LMP-1: Type IIb latency [J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2 (2): e23035. DOI: 10.4161/onci.23035.
- [16] NAQVI S U, KHAN S, AHMED A, et al. Prevalence of EBV, CMV, and HPV in oral squamous cell carcinoma patients in the Pakistani population [J]. *J Med Virol*, 2020, 92 (12): 3880-3883. DOI: 10.1002/jmv.25791.
- [17] VANSHIKA S, PREETI A, SUMAIRA Q, et al. Incidence OF HPV and EBV in oral cancer and their clinico-pathological correlation-a pilot study of 108 cases [J]. *J Oral Biol Craniofacial Res*, 2021, 11 (2): 180-184. DOI: 10.1016/j.jobcr.2021.01.007.
- [18] AL-THAWADI H, GUPTA I, JABEEN A, et al. Co-presence of human papillomaviruses and Epstein-Barr virus is linked with advanced tumor stage: a tissue microarray study in head and neck cancer patients [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 361. DOI: 10.1186/s12935-020-01348-y.
- [19] AWERKIEW S, ZUR HAUSEN A, BALDUS S E, et al. Presence of Epstein-Barr virus in esophageal cancer is restricted to tumor infiltrating lymphocytes [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2005, 194 (4): 187-191. DOI: 10.1007/s00430-004-0233-2.
- [20] XIE R Z, HUANG Z N, ZHANG X Q, et al. Long-term survival analysis after radical gastrectomy for Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: a multicenter study [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2025, 51 (6): 109737. DOI: 10.1016/j.ejso.2025.109737.
- [21] ZEBARDAST A, YAHYAPOUR Y, MAJIDI M S, et al. Detection of Epstein-Barr virus encoded small RNA genes in oral squamous cell carcinoma and non-cancerous oral cavity samples [J]. *BMC Oral Health*, 2021, 21 (1): 502. DOI: 10.1186/s12903-021-01867-8.
- [22] RUNGRAUNGRAYABKUL D, LAPTHANASUPKUL P, KITKUMTHORN N, et al. Epstein-Barr virus detection and LMP-1 expression in Thai patients with oral squamous cell carcinoma [J]. *Head Neck Pathol*, 2023, 17 (1): 210-217. DOI: 10.1007/s12105-022-01501-1.
- [23] TODOROVIĆ N, AMBROSIO M R, AMEDEI A. Immune modulation by Epstein-Barr virus lytic cycle: relevance and implication in oncogenesis [J]. *Pathogens*, 2024, 13 (10): 876. DOI: 10.3390/pathogens13100876.
- [24] SICILIANO M C, TORNAMBÈ S, CEVENINI G, et al. EBV persistence in gastric cancer cases conventionally classified as EBER-ISH negative [J]. *Infect Agents Cancer*, 2022, 17 (1): 57. DOI: 10.1186/s13027-022-00469-5.
- [25] AHMED W, TARIQ S, KHAN G. Tracking EBV-encoded RNAs (EBERs) from the nucleus to the excreted exosomes of B-lymphocytes [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 15438. DOI: 10.1038/s41598-018-33758-4.
- [26] CHENG S, LI Z, HE J, et al. Epstein-Barr virus noncoding RNAs from the extracellular vesicles of nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells promote angiogenesis via TLR3/RIG-I-mediated VCAM-1 expression [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2019, 1865 (6): 1201-1213. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.01.015.
- [27] SCHWEMMLE M, CLEMENS M J, HILSE K, et al. Localization of Epstein-Barr virus-encoded RNAs EBER-1 and EBER-2 in interphase and mitotic Burkitt lymphoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89 (21): 10292-10296. DOI: 10.1073/pnas.89.21.10292.
- [28] LI J S Z, ABBASI A, KIM D H, et al. Chromosomal fragile site breakage by EBV-encoded EBNA1 at clustered repeats [J]. *Nature*, 2023, 616 (7957): 504-509. DOI: 10.1038/s41586-023-05923-x.
- [29] LIAO C, LI M, CHEN X, et al. Anoikis resistance and immune escape mediated by Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1-induced stabilization of PGC-1 $\alpha$  promotes invasion and metastasis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42 (1): 261. DOI: 10.1186/s13046-023-02835-6.
- [30] VOLARIC A K, SALEEM A, YOUNES S F, et al. Epstein-Barr virus latency patterns in polymorphic lymphoproliferative disorders and lymphomas in immunodeficiency settings: Diagnostic implications [J]. *Ann Diagn Pathol*, 2024, 70: 152286. DOI: 10.1016/j.anndiagpath.2024.152286.
- [31] HEAWCHAIYAPHUM C, IIZASA H, EKALAKSANANAN T, et al. Epstein-Barr virus infection of oral squamous cells [J]. *Microorganisms*, 2020, 8 (3): E419. DOI: 10.3390/microorganisms8030419.
- [32] CHANNIR H I, BENDTSEN S K, MELCHIOR L C, et al. Validation of the VisionArray<sup>®</sup> chip assay for HPV DNA testing in histology specimens of oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Head Neck Pathol*, 2024, 18 (1): 27. DOI: 10.1007/s12105-024-01628-3.
- [33] DICKINSON A, SARASWAT M, SYRJÄNEN S, et al. Comparing serum protein levels can aid in differentiating HPV-negative and-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma patients [J]. *PLoS One*, 2020, 15 (6): e0233974. DOI: 10.1371/journal.pone.0233974.
- [34] QIN L, LI D, WANG Z, et al. Comparison of multiplex PCR capillary electrophoresis assay and PCR-reverse dot blot assay for human papillomavirus DNA genotyping detection in cervical cancer tissue specimens [J]. *Front Public Health*, 2024, 12: 1421774. DOI: 10.3389/fpubh.2024.1421774.
- [35] GERASIMOVA Y, ALI H, NADEEM U. Challenges for pathologists in implementing clinical microbiome diagnostic testing [J]. *J Pathol Clin Res*, 2024, 10 (5): e70002. DOI:

- 10.1002/2056-4538.70002.
- [36] HENDAWI N, NIKLANDER S, ALLSOBROOK O, et al. Human papillomavirus (HPV) can establish productive infection in dysplastic oral mucosa, but HPV status is poorly predicted by histological features and p16 expression [J]. *Histopathology*, 2020, 76 (4): 592-602. DOI: 10.1111/his.14019.
- [37] UEHARA K, TANABE Y, HIROTA S, et al. Co-expression of low-risk HPV E6/E7 and EBV LMP-1 leads to precancerous lesions by DNA damage [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21 (1): 688. DOI: 10.1186/s12885-021-08397-0.
- [38] SAINI K S, SOMARA S, KO H C, et al. Biomarkers in head and neck squamous cell carcinoma: unraveling the path to precision immunotherapy [J]. *Front Oncol*, 2024, 14 : 1473706. DOI: 10.3389/fonc.2024.1473706.

(责任编辑: 洪悦民)

