

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.02.004

❖ 基础研究 ❖

# 喉鳞状细胞癌组织中 MUC13 的表达及临床意义

冯成敏, 朱鑫, 程瑶, 张震, 刘海

(川北医学院附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川 南充 637000)

**【摘要】目的:** 探讨喉鳞状细胞癌(喉鳞癌)组织中 MUC13 的表达及临床意义。**方法:** 收集行相关手术切除的喉鳞癌组织( $n=93$ )、含正常鳞状上皮的癌旁组织( $n=49$ )、喉鳞状上皮内瘤变组织( $n=19$ )、声带息肉组织( $n=39$ )标本进行 MUC13 免疫组化染色。比较 MUC13 在不同组织中的表达情况, 分析 MUC13 的表达水平与喉鳞癌临床和病理特征的关系及影响患者生存时间的因素。**结果:** MUC13 在含正常鳞状上皮的癌旁组织、声带息肉组织、喉鳞状上皮内瘤变组织、喉鳞癌组织中的表达依次升高( $P<0.05$ )。相关性分析显示, MUC13 的表达水平与喉鳞癌临床分期及分化程度正相关( $P<0.05$ )。单因素分析显示, MUC13 高表达为影响喉鳞癌患者生存时间的独立危险因素( $P<0.05$ ); 多因素回归分析显示, MUC13 高表达不能被判定为影响喉鳞癌患者生存时间的独立危险因素( $P>0.05$ )。**结论:** MUC13 在喉鳞癌组织中表达升高, 可作为早期诊断的新靶标, 但不能作为影响喉鳞癌患者生存时间的独立危险因素进行预后预测。

**【关键词】** 喉鳞状细胞癌; MUC13; 早期诊断

**【中图分类号】** R739.65 **【文献标志码】** A

## Expression and clinical significance of MUC13 in laryngeal squamous cell carcinoma

FENG Cheng-min, ZHU Xin, CHENG Yao, ZHANG Zhen, LIU Hai

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective:** To analyze the expressions clinical significance of mucin 13 (MUC13) in laryngeal squamous cell carcinoma. **Methods:** Samples of laryngeal carcinoma tissue ( $n=93$ ), normal squamous epithelium containing para-carcinoma tissue ( $n=49$ ), laryngeal intra squamous neoplasia tissue ( $n=19$ ) and vocal cord polyp tissue ( $n=39$ ) were collected. MUC13 immunohistochemical staining was performed on above tissues. The expression of MUC13 in different tissues was compared, the relationship between the expression level of MUC13 and the clinical and pathological characteristics of laryngeal squamous cell carcinoma, and the factors affecting the survival time of patients were analyzed. **Results:** The expression of MUC13 in normal squamous epithelium containing para-carcinoma tissue, vocal cord polyp tissue, laryngeal intra squamous neoplasia tissue and laryngeal carcinoma tissues increased progressively ( $P<0.05$ ). Correlation analysis showed that the expression of MUC13 was positively correlated with the clinical stage and differentiation degree of laryngeal carcinoma ( $P<0.05$ ). Univariate analysis showed that the high expression of MUC13 was an independent risk factor affecting the survival time of patients with laryngeal cancer ( $P<0.05$ ), but the results of multi-factor analysis showed that it could not be determined as an independent risk factor to affect the survival time of patients with laryngeal cancer ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** The increased expression of MUC13 in laryngeal squamous cell carcinoma can be used as a new target for early diagnosis, but it could not be used as an independent risk factor to predict the prognosis of patients with laryngeal cancer.

**【Key words】** Laryngeal squamous cell carcinoma; MUC13; Early diagnosis

喉癌是常见头颈部恶性肿瘤, 占肿瘤患者的 1% ~ 5%, 是耳鼻咽喉科、头颈外科第三常见恶性肿瘤<sup>[1-2]</sup>。约 90% 喉癌的病理类型为鳞状细胞癌(喉鳞癌)<sup>[3]</sup>, 治疗策略包括手术、放化疗等。但由于肿瘤的异质性, 喉鳞癌早期临床症状差异大, 因此寻找

和鉴别的新生物标记物对早期诊断和治疗有重要意义。黏蛋白(MUC)参与多种疾病的发生发展, MUC13 是其中一种。MUC13 主要表达于呼吸道及胃肠道上皮细胞, 在黏膜表面起保护和润滑作用<sup>[4]</sup>。MUC13 在多种恶性肿瘤中高表达<sup>[5-9]</sup>, 但在

**基金项目:** 四川省南充市 2019 年市校合作科研专项(川北医学院)基础研究课题(19SXHZ0072); 川北医学院 2021 年度校级科研发展计划项目(CBY21-QA16); 2019 年川北医学院附属医院院级科研项目(2019JC030)

**作者简介:** 冯成敏(1995-), 女, 硕士, 住院医师。E-mail: 1600669345@qq.com

**通讯作者:** 刘海, 博士, 教授, Email: liuhail00@sina.com

喉鳞癌组织中的表达及其对早期诊断及预后影响的相关研究尚未见报道。因此,本研究旨在探讨喉鳞癌组织中 MUC13 的表达及临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

1.1.1 病理标本 选取 2016 年 6 月至 2020 年 4 月川北医学院附属医院收治的行相关手术切除患者的喉鳞癌组织( $n=93$ )、含正常鳞状上皮的癌旁组织( $n=49$ )、喉鳞状上皮内瘤变组织( $n=19$ )、声带息肉组织( $n=39$ )。所有患者均经电子鼻咽喉镜检查、颈部 CT 和病理确诊,临床病历资料齐全。术前均未接受放疗、化疗及其它抗肿瘤治疗,无合并其他恶性肿瘤、心血管系统、免疫系统、急慢性感染、严重肝肾功能不全等疾病。

1.1.2 主要试剂 Anti-MUC13 抗体(ab235450, 1:200)购自英国 Abcam 公司;无水乙醇、二甲苯购自上海国药集团化学试剂有限公司;柠檬酸(pH6.0)抗原修复液、苏木素染液、伊红染液、苏木素分化液、苏木素返蓝液、HRP 标记山羊抗兔二抗(1:200)购自四维加生物科技(武汉)有限公司;PBS 缓冲液、3% 双氧水购自武汉博士德生物工程有限公司;BSA 购自北京索莱宝科技有限公司;中性树胶购自美国 Sigma 公司;组化 DAB 显色剂试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色 (1)石蜡切片脱蜡脱水:将切片放入二甲苯中脱蜡 15 min,重复操作 3 次,取出切片依次置于无水乙醇、85% 乙醇、75% 乙醇中各 5 min 进行梯度脱水,最后置于超纯水中 5 min。(2)石蜡切片抗原修复:将切片置于盛满柠檬酸抗原修复缓冲液(pH6.0)的修复盒中于微波炉内进行抗原修复。中火 8 min 至沸腾,停火 8 min 保温,再转中低火 7 min 自然冷却后将玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,5 min/次。将切片放入 3% 双氧水溶液中,室温避光孵育 25 min,将玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,5 min/次。(3)石蜡切片封闭脱色:在组化圈内滴加 3% BSA 均匀覆盖组织,室温封闭 30 min。轻轻甩掉封闭液,滴加 MUC13 一抗(1:200),切片平放于湿盒内 4 ℃ 孵育过夜。玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,5 min/次。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗 HRP 标记覆盖组织,室温孵育 50 min。玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,5 min/次。(4)石蜡切片染色:切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的

DAB 显色液,显微镜下控制显色时间,自来水冲洗切片终止显色。苏木素复染 3 min 左右,自来水洗,苏木素分化液分化数秒,自来水冲洗,苏木素返蓝液返蓝,流水冲洗。取出切片依次置于 75% 乙醇、85% 乙醇中各 5 min、置入无水乙醇中 15 min 重复两次、置入二甲苯中 15 min 脱水,中性树胶封片。石蜡切片免疫组化结果判读苏木素染细胞核为蓝色,DAB 显出的阳性表达为棕黄色。

1.2.2 免疫组化结果判断标准 所有组织标本的性质、肿瘤的分化程度由有经验的病理科医师确定。每张切片在显微镜(400×)下随机选取视野 5 个(双盲法拍照)。用 Image-Pro Plus 软件统计免疫组化着色强度及范围,以癌组织、癌旁、上皮内瘤变、或声带息肉上皮组织区域单位面积光密度值来表示(IOD/像素<sup>2</sup>);阳性区域的色彩值范围:H 为 10~30,S 为 0~255,I 为 0~230。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验或方差分析;生存曲线采用 Kaplan-Meier 法绘制,行 Log-rank 检验;影响因素采用 Cox 比例风险回归模型分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MUC13 在不同喉鳞状上皮病变组织中的表达水平比较

免疫组化结果显示,MUC13 阳性表达在正常上皮主要定位于细胞膜,少量存在于细胞质。MUC13 在含正常鳞状上皮的癌旁组织、声带息肉组织、喉鳞状上皮内瘤变组织、喉鳞癌组织中的表达依次升高( $P < 0.05$ );在含正常鳞状上皮的癌旁组织和声带息肉组织中的表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1、图 1 及图 2。

### 2.2 喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平与临床及病理特征的关系

喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平与患者性别、年龄、肿瘤部位及有无淋巴结转移无关( $P > 0.05$ );与患者 T 分期、临床分期和分化程度有关( $P < 0.05$ ),且高分化、T3~4 期和临床分期 III~IV 患者喉鳞癌组织中 MUC13 表达量高于中低分化、T1-2 和临床分期 I-II 期( $P < 0.05$ )。见表 2、图 3-图 6。

### 2.3 喉鳞癌组织 MUC13 表达与患者生存时间的关系

截至随访时间终点,93 例喉鳞癌患者中死亡 26 例,生存 67 例。Kaplan-Meier 生存分析及单因素 Log-Rank 检验提示,喉鳞癌组织中 MUC13 表达量(IOD/像素<sup>2</sup>) < 均值的患者死亡率为 18.75%;

MUC13 表达量 (IOD/像素<sup>2</sup>) > 均值的患者死亡率为 37.78%。Kaplan-Meier 生存曲线显示, MUC13 表达量 ≥ 均值患者 (n = 45) 的生存时间低于 MUC13 表达量 < 均值患者 (n = 48), 差异有统计学意义 (P < 0.05)。见图 7。

### 2.4 影响喉鳞癌患者生存时间的因素

单因素分析显示, 肿瘤部位、临床分期、T 分级、是否有颈部淋巴结转移及 MUC13 表达量与喉鳞癌患者生存时间有关 (P < 0.05)。enter 法筛选自变量, 以单因素中有统计意义的因素为变量赋值: 肿瘤部位 (0 = 声门上、下; 1 = 声门型); 临床分期 (0 = I ~ II 期; 1 = III ~ IV 期); T 分级 (0 = T1 ~ T2; 1 = T3 ~ T4); 是否有淋巴结转移 (0 = 无转移; 1 = 有转移); MUC13 表达 (0 = IOD/像素<sup>2</sup> < 均值; 1 = IOD/像素<sup>2</sup> ≥ 均值), Cox 比例风险回归分析显示, 声门上、下型、临床分期越高、T 分级越高、有淋巴结转移及 MUC13 表达含量高为影响喉鳞癌患者生存时间的危险因素, 但不能判定为影响患者生存时间的独立危险因素 (P > 0.05)。见表 3 及表 4。

表 1 MUC13 在不同喉鳞状上皮病变组织中的表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组织类型                  | IOD/像素 <sup>2</sup> | F 值    | P 值       |
|-----------------------|---------------------|--------|-----------|
| 喉鳞癌组织 (n = 93)        | 0.044 5 ± 0.025 4   | 53.489 | P < 0.001 |
| 喉鳞状上皮内瘤变组织 (n = 19)   | 0.021 4 ± 0.015 5   |        |           |
| 含正常鳞状上皮的癌旁组织 (n = 49) | 0.009 5 ± 0.010 7   |        |           |
| 声带息肉组织 (n = 39)       | 0.006 9 ± 0.008 5   |        |           |

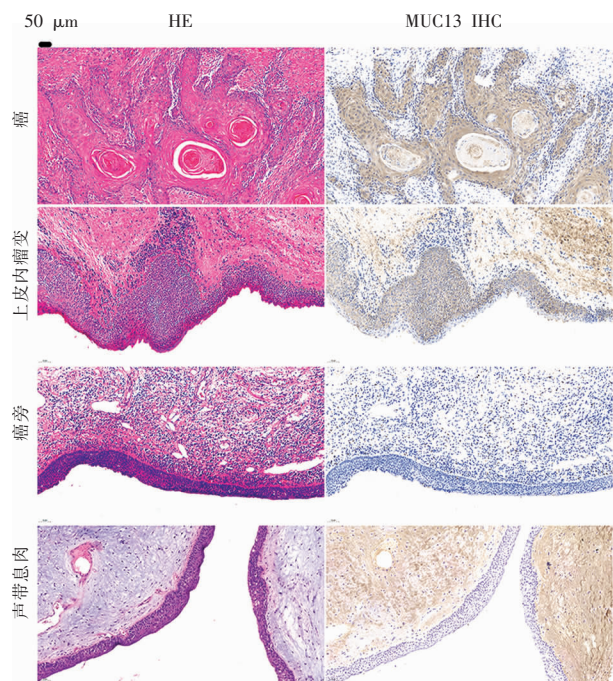


图 1 MUC13 在不同喉鳞状上皮病变组织中的表达 (200×)

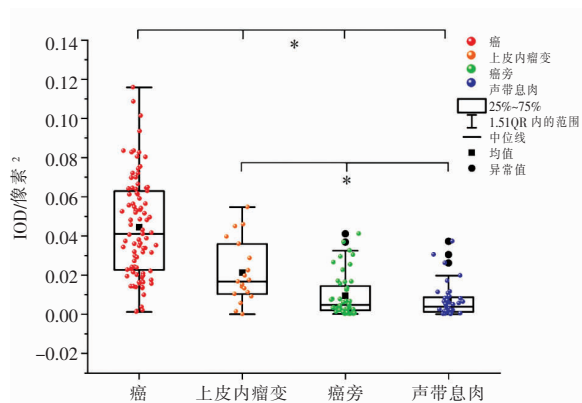


图 2 四种组织 MUC13 免疫组化染色 (IOD/像素<sup>2</sup>) 箱式图

表 2 喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平与临床及病理特征的关系 ( $\bar{x} \pm s, n = 93$ )

| 特征       | 例数 | IOD/像素 <sup>2</sup> | F 值   | P 值   |
|----------|----|---------------------|-------|-------|
| 性别       |    |                     | 0.238 | 0.626 |
| 男        | 88 | 0.044 2 ± 0.023 8   |       |       |
| 女        | 5  | 0.049 9 ± 0.045 0   |       |       |
| 年龄 (岁)   |    |                     | 1.751 | 0.189 |
| < 60     | 52 | 0.047 6 ± 0.025 4   |       |       |
| ≥ 60     | 41 | 0.040 5 ± 0.024 9   |       |       |
| 临床分期     |    |                     | 1.077 | 0.345 |
| 声门上型     | 35 | 0.039 8 ± 0.026 4   |       |       |
| 声门型      | 53 | 0.046 7 ± 0.024 3   |       |       |
| 声门下型     | 5  | 0.053 3 ± 0.025 0   |       |       |
| 临床分期     |    |                     | 4.795 | 0.031 |
| I ~ II   | 58 | 0.040 1 ± 0.023 2   |       |       |
| III ~ IV | 35 | 0.051 8 ± 0.0272 8  |       |       |
| T 分级     |    |                     | 7.069 | 0.009 |
| T1 ~ T2  | 61 | 0.039 5 ± 0.023 2   |       |       |
| T3 ~ T4  | 32 | 0.053 9 ± 0.026 8   |       |       |
| 淋巴结转移    |    |                     | 0.714 | 0.400 |
| 有        | 21 | 0.048 6 ± 0.024 5   |       |       |
| 无        | 72 | 0.043 3 ± 0.025 6   |       |       |
| 分化程度     |    |                     | 7.525 | 0.007 |
| 高分化      | 48 | 0.051 3 ± 0.024 2   |       |       |
| 中、低分化    | 45 | 0.037 2 ± 0.024 6   |       |       |

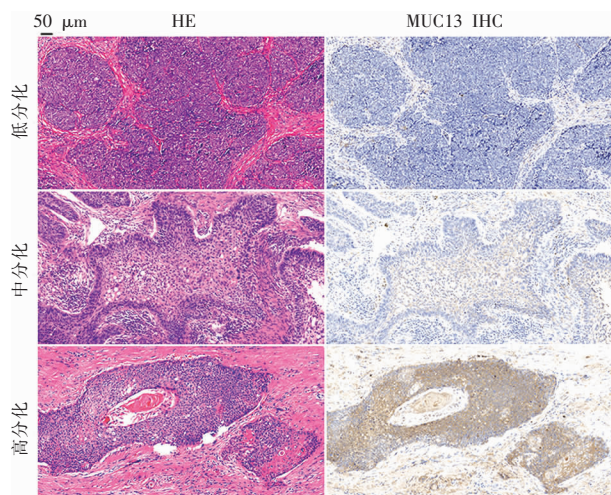


图 3 MUC13 在不同分化程度的喉鳞癌组织中表达水平 (200×)

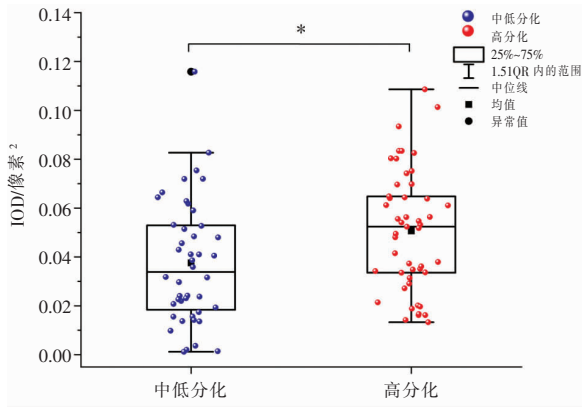


图4 中低分化与高分化喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平 (IOD/像素<sup>2</sup>) 箱式图

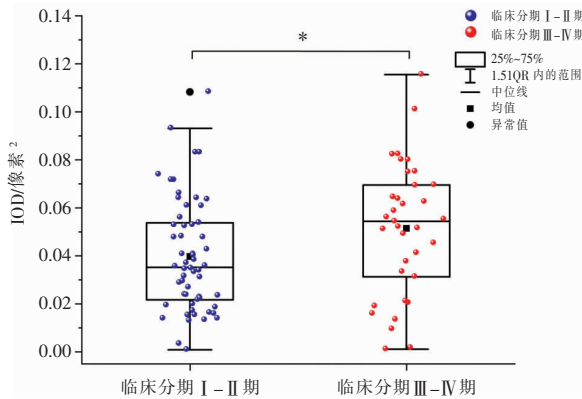


图5 临床分期 I~II 期与 III~IV 期喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平箱式图

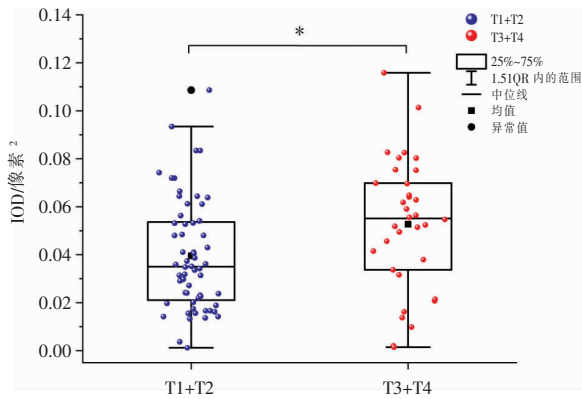


图6 TNM 分期中 T1~2 与 T3~4 期喉鳞癌组织中 MUC13 表达水平箱式图

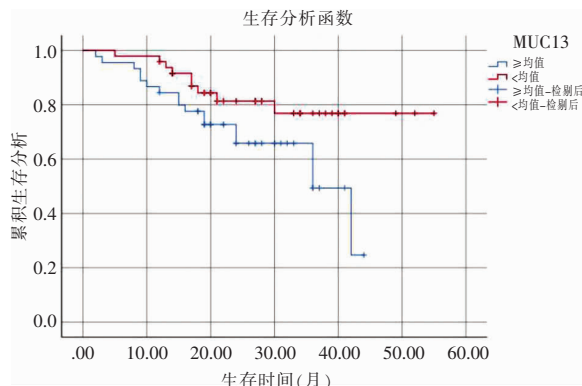


图7 喉鳞癌组织中 MUC13 不同表达量 (IOD/像素<sup>2</sup>) 患者的生存曲线

表3 影响喉鳞患者生存时间的单因素

| 因素       | $\chi^2/F$ 值 | P 值    |
|----------|--------------|--------|
| 性别       | 0.153        | 0.696  |
| 年龄       | 2.255        | 0.133  |
| 吸烟史      | 0.040        | 0.842  |
| 肿瘤部位     | 4.882        | 0.027  |
| 临床分期     | 14.564       | <0.001 |
| T 分级     | 14.752       | <0.001 |
| 颈部淋巴结转移  | 13.187       | <0.001 |
| 分化程度     | 0.380        | 0.538  |
| MUC13 表达 | 3.893        | 0.048  |

表4 影响喉鳞癌患者生存时间的多因素

| 变量       | $\beta$ 值 | SE 值  | Wald 值 | P 值   | Exp(B) 值 | 95% CI         |
|----------|-----------|-------|--------|-------|----------|----------------|
| 肿瘤部位     | -0.498    | 0.446 | 1.246  | 0.264 | 0.608    | 0.254 ~ 1.457  |
| 临床分期     | 0.142     | 1.194 | 0.014  | 0.905 | 1.153    | 0.111 ~ 11.959 |
| T 分级     | 0.729     | 1.054 | 0.479  | 0.489 | 2.073    | 0.263 ~ 16.346 |
| 淋巴结转移    | 0.583     | 0.513 | 1.292  | 0.256 | 1.792    | 0.656 ~ 4.897  |
| MUC13 表达 | 0.405     | 0.452 | 0.800  | 0.371 | 1.449    | 0.618 ~ 3.637  |

### 3 讨论

尽管目前早期喉鳞癌的治疗令人满意,但晚期患者预后并不理想,5 年总生存率约 64.2%。因此寻找新的敏感性分子标记物,单独或与经典诊断方法结合应用,在结合特异性的同时实现更好的敏感性,对喉鳞癌的早期诊断具有重要意义。黏蛋白 (MUC) 在正常生理状况下可为管腔上皮组织提供保护,但其表达的改变或糖基化模式的改变常与肿瘤的进展相关,影响细胞的生长、增殖、转化、粘附、侵袭、及免疫监视<sup>[10-14]</sup>。本研究表明,MUC13 在正常喉上皮及喉良性上皮病变中基本不表达 ( $P > 0.05$ );在喉上皮内瘤变及喉鳞癌中的表达依次升高 ( $P < 0.05$ ),表明 MUC13 与喉鳞癌的发生发展有关,可能参与了疾病的发病过程,有可能成为早期诊断的新靶标。

本研究发现,MUC13 在不同临床分期和分化程度的喉鳞癌组织中表达水平也不同,在临床 III~IV 期中的表达水平高于 I~II 期 ( $P < 0.05$ ),MUC13 可能参与介导了喉鳞癌的进展。Chauhan 等<sup>[15]</sup> 研究指出,MUC13 可通过介导 JNK2 (c-Jun 氨基末端激酶 2) 表达上调及激活 JNK 的磷酸化使细胞形态发生改变,呈现出散射状形态;MUC13 的高度磷酸化基团存在于细胞膜外及 MUC13 分子对细胞粘附分子的干扰作用导致细胞间的聚集作用减弱,结合 MUC13 于细胞基底区与基底膜部位的定位特点可

导致卵巢癌细胞脱离初始部位侵袭基底组织及发生转移。MUC13 碳端跨膜结构域包含三个表皮细胞生长因子(EGF)样结构域,可能为相关通路的信号分子<sup>[16-17]</sup>。由于 EGF 样结构域的存在,MUC13 可能与 EGF 受体如人表皮生长因子 2(HER2)发生相互作用来调控 EGFR 信号通路,并通过改变 EGFR 的蛋白酪氨酸磷酸化调控的信号通路促进卵巢癌细胞的增殖,从而促进卵巢癌的进展。基于此,本研究小组推测 MUC13 的表达可能对喉鳞癌有相似影响,可减弱癌细胞间的聚集与联系,促进增殖。MUC13 在高分化喉鳞癌组织中的表达水平高于中低分化者( $P < 0.05$ ),表明 MUC13 可能参与了喉鳞癌的分化过程。

喉鳞癌患者术后随访显示,MUC13 作为单因素对患者生存时间有影响( $P < 0.05$ ),MUC13 表达强度越高,患者术后生存时间越短。Cox 比例风险回归模型分析显示,肿瘤部位、临床分期、T 分级、是否有颈部淋巴结转移及 MUC13 表达量均与喉癌患者生存时间有关,但均不能作为同时影响患者生存时间的独立因素( $P > 0.05$ ),与既有文献<sup>[18]</sup>报道一致。声门型喉鳞癌的发展向下会受到弹力圆锥的限制,向上受到喉室的限制,而声门上、下型的限制较少,且声门上型患者因淋巴系统丰富易发生颈部淋巴结转移,故声门上、下型与声门型相比是影响患者生存率的危险因素,且差异可能是由淋巴结转移所致<sup>[19-20]</sup>。此外,肿瘤的临床分期与 T 分期及是否有淋巴结转移密切相关,而 MUC13 的表达又受到肿瘤临床分期的影响,因此,影响患者生存时间的因素都存在相互影响,对患者预后的影响作用相互重叠,掩盖了彼此的作用,进而导致这些因素均不是影响预后的独立因素。

综上,MUC13 对于喉鳞癌的预后预测有一定的参考意义,但由于其表达与临床分期密切相关,并不是影响喉鳞癌患者生存率的独立危险因素。

#### 参考文献

[1] Chow LQM. Head and Neck Cancer[J]. *New Engl J Med*,2020,382(1):60-72.  
[2] Moya-Garcia CR,Okuyama H,Sadeghi N, et al. In vitro models for head and neck cancer: Current status and future perspective[J]. *Front Oncol*,2022,12:960340.  
[3] 詹启敏,陈杰. 细胞周期与肿瘤转化医学[J]. *中国肿瘤临床*,2014,41(1):1-7.

[4] Williams SJ,Wreschner DH,Tran M, et al. Muc13, a novel human cell surface mucin expressed by epithelial and hemopoietic cells [J]. *J Biol Chem*,2001,276(21):18327-18336.  
[5] Walsh MD,Young JP,Leggett BA, et al. The MUC13 cell surface mucin is highly expressed by human colorectal carcinomas [J]. *Hum Pathol*,2007,38(6):883-892.  
[6] Chauhan SC,Vannatta K,Ebeling MC, et al. Expression and Functions of Transmembrane Mucin MUC13 in Ovarian Cancer [J]. *Cancer Res*,2009,69(3):765-774.  
[7] Gupta BK, Maher MD, Ebeling MC, et al. Functions and regulation of MUC13 mucin in colon cancer cells [J]. *J Gastroenterol*,2014,49(10):1378-1391.  
[8] Chauhan SC, Ebeling MC, Maher DM, et al. MUC13 mucin augments pancreatic tumorigenesis [J]. *Mol Cancer Ther*,2012,11(1):24-33.  
[9] Sheng YH,He Y,Hasnain SZ, et al. MUC13 protects colorectal cancer cells from death by activating the NF- $\kappa$ B pathway and is a potential therapeutic target [J]. *Oncogene*,2017,36(5):700-713.  
[10] Dhanisha SS,Guruvayoorappan C, Drishya S, et al. Mucins: Structural diversity, biosynthesis, its role in pathogenesis and as possible therapeutic targets [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*,2018,122:98-122.  
[11] Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes [J]. *Annu Rev Physiol*,1995,57(1):607-634.  
[12] Lee HL,Chien YC,Wang HL, et al. Analysis of MUC6 genetic variants on the clinicopathologic characteristics of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer*,2022,13(11):3251-3257.  
[13] Lee DH,Choi S,Park Y, et al. Mucin1 and mucin16; therapeutic targets for cancer therapy [J]. *Pharmaceuticals*,2021,14(10):1053.  
[14] Balague C, Audie JP, Porchet N, et al. In situ hybridization shows distinct patterns of mucin gene expression in normal, benign, and malignant pancreas tissues [J]. *Gastroenterology*,1995,109(3):953-964.  
[15] Chauhan SC,Vannatta K,Ebeling MC, et al. Expression and functions of transmembrane mucin MUC13 in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*,2009,69(3):765-774.  
[16] Williams SJ,Wreschner DH,Tran M, et al. Muc13, a novel human cell surface mucin expressed by epithelial and hemopoietic cells [J]. *J Biol Chem*,2001,276(21):18327-18336.  
[17] Parry S,Silverman HS,McDermott K, et al. Identification of MUC1 proteolytic cleavage sites in vivo [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2001,283:715-720.  
[18] 吴开良,蒋国梁,茅静芳,等. 51 例胸腺癌治疗结果及影响预后因素分析 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*,2006,15(1):19-22.  
[19] 夏良平,曾宗渊,魏茂文,等. 影响喉癌生存率的单因素和多因素分析 [J]. *中国肿瘤*,2002,11(11):655-657.  
[20] 宋晓霞,皇甫辉,李莉. 影响喉癌患者预后的多因素分析 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2020,26(3):306-311.

(收稿日期:2022-03-31 修回日期:2022-11-01)