

[文章编号] 1671-587X(2024)05-1365-07

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240521

## EHD2、miR-let-7c和lncRNA FOXD2-AS1在人喉鳞状细胞癌组织中的表达及其关联性分析

宫美恒<sup>1</sup>, 陈沫<sup>1</sup>, 韩慧<sup>2</sup>, 于婷婷<sup>1</sup>

(1. 吉林大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第一医院甲状腺外科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** **目的:** 探讨Eps15同源结构域蛋白2 (EHD2)、微小RNA let-7c (miR-let-7c) 和长链非编码RNA (lncRNA) FOXD2-AS1在喉鳞状细胞癌 (LSCC) 组织中的表达水平, 阐明EHD2/miR-let-7c/FOXD2-AS1信号轴与LSCC发生的关联性。**方法:** 收集40例LSCC患者的癌组织标本, 按照病理类型分为低级别组 (中或高分化, 32例) 和高级别组 (低分化, 8例), 按照肿瘤淋巴结转移 (TNM) 临床分期分为TNM早期组 (I-II期, 13例) 和TNM晚期组 (III-IV期, 27例), 按照有无淋巴结转移分为转移组 (21例) 和无转移组 (19例)。另取40例对应癌旁正常组织标本作为对照组。采用免疫组织化学法检测各组标本中EHD2表达情况, 分析其与LSCC患者临床病理参数之间的关系, 采用生物信息学方法筛选出miR-let-7c作为候选微小RNA (miRNA), 与其启动子区域存在结合位点的FOXD2-AS1作为候选lncRNA。取10对新鲜的LSCC组织标本和癌旁正常组织标本, 采用实时荧光定量PCR (RT-qPCR) 法检测2组样本中EHD2 mRNA、miRNA-let-7c和FOXD2-AS1表达水平, 并验证其关联性。**结果:** 与癌旁正常组织比较, LSCC组织中EHD2表达水平明显降低 ( $P < 0.01$ ), 且TNM早期组患者LSCC组织中EHD2阳性表达率明显高于TNM晚期组 ( $P < 0.05$ ), 病理类别和有无淋巴结转移与EHD2表达无明显关联 ( $P > 0.05$ )。与癌旁正常组织比较, LSCC组织中miR-let-7c表达水平明显降低 ( $P < 0.01$ ), FOXD2-AS1表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ )。LSCC组织中FOXD2-AS1与miR-let-7c表达水平呈负相关关系 ( $r = -0.67, P < 0.05$ ), miR-let-7c与EHD2 mRNA表达水平呈负相关关系 ( $r = -0.83, P < 0.01$ )。**结论:** EHD2和miR-let-7c在LSCC组织中呈低表达, 可能是新的抑癌基因; FOXD2-AS1在LSCC组织中高表达, 可能是新的原癌基因; FOXD2-AS1/miR-let-7c/EHD2信号轴可能参与了LSCC的发生发展。

**[关键词]** Eps15同源结构域蛋白2; 微小RNA let-7c; 喉鳞状细胞癌; 长链非编码核糖核酸; 原癌基因  
**[中图分类号]** R767.19 **[文献标志码]** A

## Expressions of EHD2, miRNA let-7c, and lncRNA FOXD2-AS1 in human laryngeal squamous cell carcinoma tissue and their relationship analyses

GONG Meiheng<sup>1</sup>, CHEN Mo<sup>1</sup>, HAN Hui<sup>2</sup>, YU Tingting<sup>1</sup>

(1. Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Department of Thyroid Surgery, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

[收稿日期] 2023-11-03

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目 (YDZJ202301ZYTS030); 吉林大学第一医院第十二届院青年基金项目 (JDYY11202132); 吉林省天华健康公益基金会科研项目 (Z60425018903102816)

[作者简介] 宫美恒 (1992-), 女, 吉林省长春市人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事耳鼻咽喉头颈疾病方面的研究。

[通信作者] 于婷婷, 副主任医师, 医学博士 (E-mail: yutt2009@jlu.edu.cn)

**ABSTRACT Objective:** To discuss the expression levels of Eps15 homology domain-containing protein 2 (EHD2), microRNA let-7c (miR-let-7c), and long non-coding RNA (lncRNA) FOXD2-AS1 in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) tissue, and to clarify the association between EHD2/miR-let-7c/FOXD2-AS1 signaling axis and occurrence of LSCC. **Methods:** Forty LSCC tissue samples were collected and classified into low grade group (moderately or high differentiated, 32 cases) and high grade group (poorly differentiated, 8 cases) according to the pathology results; according to the tumor node metastasis (TNM) clinical staging results, the samples were divided into TNM early stage group (stages I-II, 13 cases) and TNM late stage group (stages III-IV, 27 cases); based on the lymph node metastasis results, the samples were divided into metastasis group (21 cases) and non-metastasis group (19 cases). Additionally, 40 corresponding normal adjacent tissue samples were collected as control group. Immunohistochemistry method was used to detect the expressions of EHD2 in various groups and its relationships with clinical pathoparameters of the LSCC patients were analyzed; bioinformatics method was used to confirm that the miR-let-7c was the candidate microRNA (miRNA) and FOXD2-AS1, which had binding sites in its promoter region, was a candidate lncRNA. Ten pairs of fresh LSCC tissue samples and adjacent normal tissue samples were collected. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method was used to detect the expression levels of EHD2 mRNA, miR-let-7c, and FOXD2-AS1 in the samples in two groups, and their associations were verified. **Results:** Compared with adjacent normal tissue, the expression level of EHD2 in LSCC tissue was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The positive expression rate of EHD2 in LSCC tissue of the patients in TNM early stage group was significantly higher than that in TNM late stage group ( $P < 0.05$ ). There was no significant association between EHD2 expression and pathological type or lymph node metastasis ( $P > 0.05$ ). Compared with control group, the expression level of miR-let-7c in LSCC tissue was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while the expression level of FOXD2-AS1 was significantly increased ( $P < 0.05$ ). In LSCC tissue, the expression level of FOXD2-AS1 was negatively correlated with the expression level of miR-let-7c ( $r = -0.67, P < 0.05$ ), and the expression level of miR-let-7c was negatively correlated with the expression level of EHD2 mRNA ( $r = -0.83, P < 0.01$ ). **Conclusion:** EHD2 and miR-let-7c both express at low levels in LSCC tissue and may be new tumor suppressor genes; FOXD2-AS1 is highly expressed in LSCC tissue and may be a new oncogene. FOXD2-AS1/miR-let-7c/EHD2 signaling axis may be involved in the occurrence and development of LSCC.

**KEYWORDS** Eps15 homologous domain protein 2; MicroRNA-let-7c; Laryngeal squamous cell carcinoma; Long-chain non-coding RNA; Proto-oncogene

喉癌的全球发病率约为2.4/10万<sup>[1]</sup>,是常见的头颈部恶性肿瘤之一,93%~99%的喉癌病理类型属于喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)<sup>[2]</sup>,探讨LSCC的发生机制和发展规律十分重要。Eps15同源结构域蛋白2(Eps15 homologous domain protein 2, EHD2)是EHD蛋白家族成员之一,作为近年来新发现的一种膜转运调控蛋白,具有参与和调节细胞受体内吞的功能<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>显示:EHD2可能是喉癌潜在的抑癌基因,但其分子机制尚未见报道。分析美国癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)-头颈部鳞状细胞癌(Head and Neck Squamous Cell Carcinoma, HNSCC)数据库(<http://www.cancer.gov/tcga>)发现:微小RNA let-7c (microRNA-let-7c, miR-let-7c)与EHD2表达呈负相关关系,长链非编码核糖核酸(long non-coding RNA, lncRNA) FOXD2-AS1在人LSCC组织中明显高表达,且与miR-let-7c启动子区域存在结合位点。目前,关于EHD2、miR-let-7c和FOXD2-AS1与LSCC发生发展的关联性未见报道。本研究通过分子生物学实验探讨EHD2、miR-let-7c和FOXD2-AS1与LSCC发生发展的关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月—2019年12月在吉林大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科接受手术的

40例LSCC患者的癌组织标本,另取与其配对的癌旁正常组织标本作为对照组。所有患者均诊断明确,肿瘤淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期按照国际抗癌联盟和美国癌症联合委员会共同制定的第8版头颈部肿瘤分期标准。纳入标准:①经临床病理确诊为LSCC;②术前未行化疗、放疗或靶向治疗等;③无重大免疫系统疾病;④同意参与本研究并签署《知情同意书》。排除标准:①既往有LSCC或其他肿瘤病史;②既往手术史且为术后复发;③伴随严重的心、肺和肾等疾病;④未达到肿瘤完整切除标准;⑤术前行中医治疗、新辅助化疗或生物靶向治疗等。纳入本研究的LSCC患者中,女性13例,男性27例,年龄42~82岁,平均年龄为(60.3±8.4)岁,按照病理类别分为低级别组(中或高分化,32例)和高级别组(低分化,8例),按照TNM临床分期分为TNM早期组(I-II期,13例)和晚期组(III-IV期,27例),按照是否淋巴结转移分为转移组(21例)和无转移组(19例)。本研究方案经吉林大学第一医院医学伦理委员会批准,伦理审批号:2022416。

**1.2 主要试剂和仪器** 即用型免疫组织化学UltraSensitive™链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶连结法(streptavidin-peroxidase, SP)试剂盒、3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB)显色剂和EHD2抗体购于北京博奥森生物技术有限公司,TRIzol试剂购于美国赛默飞世尔科技公司,All-in-One™微小RNA(micro RNA, miRNA)和实时荧光定量PCR(real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)试剂盒和验证引物HsnRNA U6 primer购于广州复能基因有限公司,MonAmp™ ChemoHS qPCR Mix试剂盒购于莫纳生物科技有限公司,引物由吉林省库美生物科技有限公司合成。RT-qPCR仪购于瑞士罗氏公司。

**1.3 免疫组织化学法检测LSCC组织中EHD2蛋白阳性表达率** 按照SP说明书染色程序操作。将石蜡冰冻切片从-80℃冰箱中取出,置于-20℃冰箱过夜,次日置于4℃冰箱1h。采用75%乙醇溶液固定1h,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤3次,每次5min,蛋白酶K(protease K, PK)(20 mg·L<sup>-1</sup>)消化10~15min, PBS缓冲液洗涤后,SP试剂盒阻断30min,封闭

30min,一抗37℃孵育1h或4℃过夜。滴加二抗,DAB显色,苏木素复染,脱水,透明,(中性)树脂封片,镜下观察LSCC组织中EHD2表达情况。

由2名病理科医生采用双盲法阅片。EHD2蛋白在细胞膜或细胞质中呈弥漫分布的黄色或黄褐色为EHD2蛋白阳性表达。每张组织切片随机观察10个高倍视野(×400),采用免疫反应评分进行半定量分析,参照朱红珍等<sup>[5]</sup>的分级及评分标准计算EHD蛋白阳性表达率,EHD蛋白阳性表达率=阳性细胞数/细胞总数×100%,EHD蛋白阳性表达率分为4个等级,细胞染色强度分为4个等级。每张切片阳性表达率与染色强度得分乘积0~1分为阴性表达,≥2分为阳性表达。

**1.4 RT-qPCR法检测LSCC组织中EHD2 mRNA、miR-let-7c和FOXD2-AS1表达水平** TRIzol法提取组织标本中的总RNA。采用罗氏LC-96 RT-qPCR仪进行扩增,miRNA qPCR按照All-in-One™ cDNA第一链合成试剂盒进行逆转录,采用All-in-One™ miRNA qPCR试剂盒进行扩增,以U6作为内参基因。扩增体系:qPCR Mix 10 μL, cDNA 2 μL, miRNA-let-7c引物(上游引物:5'-TGAGGTAGTAGGTTGTATGGTT-3',下游引物采用试剂盒中通用引物)各2 μL,通用适配器PCR引物2 μL,无酶水4 μL。扩增条件为:95℃预变性10min,95℃、20s,60℃、30s,72℃、10s,共35个循环。FOXD2-AS1和EHD2采用MonAmp™ ChemoHS qPCR Mix试剂盒,反应体系:qPCR Mix 10 μL,上、下游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>) 0.4 μL, cDNA模板2 μL,无菌超净水7.2 μL,共20 μL。反应条件:预变性95℃、10min。首次变性95℃、15s,55℃退火20s,72℃延伸10s,共40个循环。采用2<sup>-ΔΔCT</sup>法进行定量计算,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参,检测FOXD2-AS1和EHD2 mRNA表达水平。引物序列:GAPDH上游引物GGTCGGAGTCAACGGATTTG, GAPDH下游引物GGAAGATGGTGATG GGATTTTC; FOXD2-AS1上游引物TGGACCTAGCAGCTCCA, FOXD2-AS1下游引物AGTTGAAGGTGCACA CTG; EHD2上游引物TTTGCGAAGATTTCAG CTGGAACAT, EHD2下游引物GGCTTCAG CGAGTGAACTTGGT。

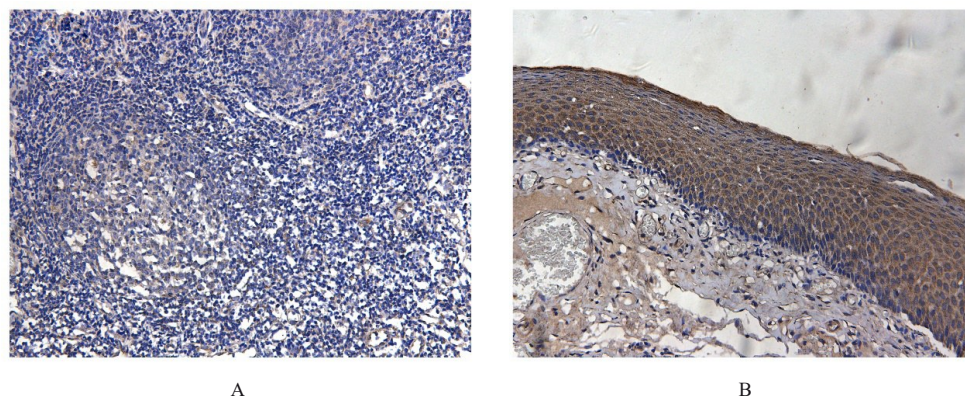
**1.5 统计学分析** 采用GrahPad Prism5.0统计软

件进行统计学分析和图表绘制。免疫组织化学结果为半定量资料,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。LSCC组织中EHD2 mRNA、miR-let-7c和FOXD2-AS1表达水平为配对计量资料,符合正态分布,组间比较采用Mann Whitney *t*检验。LSCC组织中EHD2 mRNA、miR-let-7c和FOXD2-AS1表达水平的相关性分析采用Spearman相关性检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 LSCC组织中EHD2蛋白阳性表达率、EHD2 mRNA表达水平及EHD2蛋白阳性表达率与患者临床病理参数的关系** 免疫组织化学分析结果显示:LSCC组织中EHD2蛋白呈低表达或不表达,

在癌旁正常组织中EHD2蛋白呈高表达,见图1。癌旁正常组织中EHD2蛋白阳性表达率(67.5%, 27/40)明显高于LSCC组织(30%, 12/40),组间比较差异有统计学意义( $\chi^2=10.1$ ,  $P < 0.01$ ),见表1。RT-qPCR结果显示:癌旁正常组织中EHD2 mRNA表达水平高于LSCC组织( $P < 0.05$ ),见图2。TNM早期组患者中EHD2蛋白阳性表达率为54%,明显高于TNM晚期组(19%)( $P < 0.05$ ),表明EHD2表达与TNM分期有明显关联,随着TNM分期的进展,EHD2蛋白阳性表达率降低。EHD2蛋白阳性表达率与患者病理类别和有无淋巴结转移无明显关联( $P > 0.05$ )。见表2。



A:LSCC tissue ; B:Adjacent normal tissue.

图1 免疫组织化学法检测LSCC组织和癌旁正常组织中EHD2蛋白表达情况( $\times 400$ )

Fig. 1 Expressions of EHD2 protein in LSCC tissue and adjacent normal tissue detected by immunohistochemistry method( $\times 400$ )

表1 LSCC和癌旁正常组织中EHD2蛋白阳性表达率

Tab. 1 Positive expression rates of EHD2 protein in LSCC tissue and adjacent normal tissue [n=40, n( $\eta$ /%)]

Group	EHD2(+)	EHD2(-)	$\chi^2$	P
LSCC tissue	12(30.0)	28(70.0)	10.1	<0.01
Adjacent normal tissue	27(67.5)	13(32.5)		

**2.2 LSCC组织中FOXD2-AS1和miR-let-7c表达水平** 与癌旁正常组织比较,LSCC组织中FOXD2-AS1表达水平明显升高( $P < 0.05$ ),miR-let-7c表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。见图3和4。

**2.3 LSCC组织中FOXD2-AS1与miR-let-7c、EHD2 mRNA与miRNA-let-7c表达水平的相关性** 相关性分析显示:LSCC组织中FOXD2-AS1与

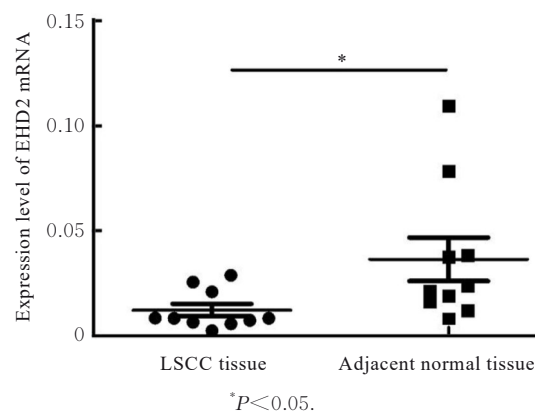


图2 RT-qPCR法检测在LSCC组织和癌旁正常组织中EHD2 mRNA表达水平

Fig. 2 Expression levels of EHD2 mRNA in LSCC tissue and adjacent normal tissue detected by RT-qPCR method

表2 不同临床病理参数LSCC患者LSCC组织中EHD2蛋白表达情况

Tab. 2 Expressions of EHD2 protein in LSCC tissue of LSCC patients with different clinical pathological parameters on pathological

Clinicopathological parameter	n	Number of EHD2 expression		Positive rate (η/%)	P
		Positive	Negative		
Pathological grade					
Low grade	32	10	22	31	0.730 1
High grade	8	2	6	25	
TNM stage					
I - II	13	7	6	54	0.032 3
III - IV	27	5	22	19	
Lymph node metastasis					
Yes	21	5	16	24	0.494 5
No	19	7	12	37	

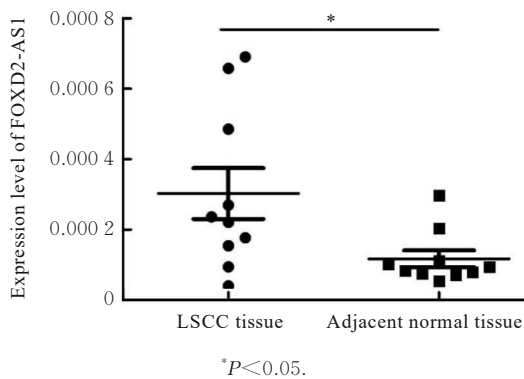


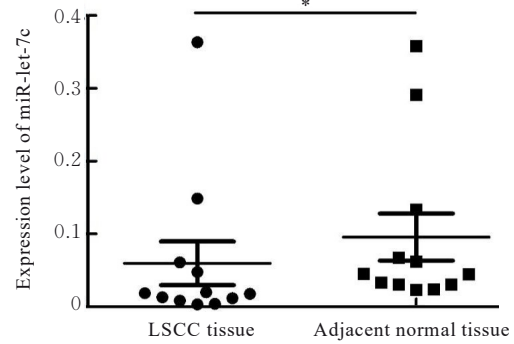
图3 LSCC组织和癌旁正常组织中FOXD2-AS1表达水平

Fig. 3 Expression levels of FOXD2-AS1 in LSCC tissue and adjacent normal tissue

miR-let-7c 表达水平呈负相关关系 ( $r = -0.67$ ,  $P < 0.05$ ), 提示FOXD2-AS1可负向调控miR-let-7c表达, 见图5。miR-let-7c与EHD2 mRNA表达水平呈负相关关系 ( $r = -0.83$ ,  $P < 0.01$ ), 提示miR-let-7c可负向调控EHD2 mRNA表达, 见图6。FOXD2-AS1、miR-let-7c和EHD2相互作用机制见图7。

### 3 讨论

2018年全球约有95 000例患者死于喉癌<sup>[6]</sup>。尽管治疗手段不断进步, LSCC患者的5年生存率并未提高<sup>[7]</sup>。手术是LSCC的主要的治疗手段<sup>[8]</sup>, 但患者术后存在言语功能和吞咽功能丧失的风险。



\* $P < 0.05$  vs adjacent normal tissue.

图4 LSCC组织和癌旁正常组织中miR-let-7c表达水平

Fig. 4 Expression level of miR-let-7c in LSCC tissue and adjacent normal tissue

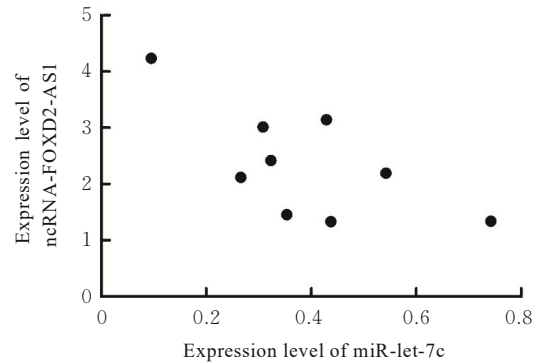


图5 LSCC组织中FOXD2-AS1与miR-let-7c表达水平的相关性分析

Fig. 5 Correlation analysis on expression levels of FOXD2-AS1 and miR-let-7c in LSCC tissue

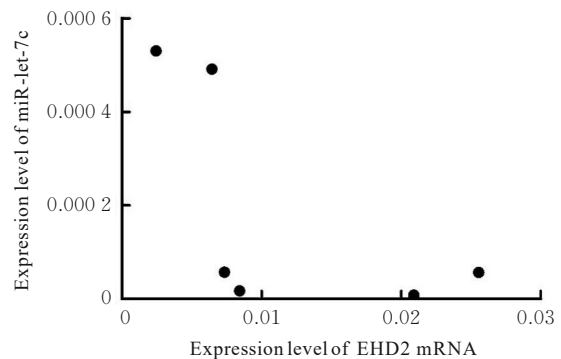


图6 LSCC组织中miR-let-7c与EHD2 mRNA表达水平相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis on expression levels of miR-let-7c and EHD2 mRNA in LSCC tissue

此外, LSCC细胞对大部分化疗药物并不敏感, 因此, 深入探讨影响LSCC发生发展的驱动基因及潜

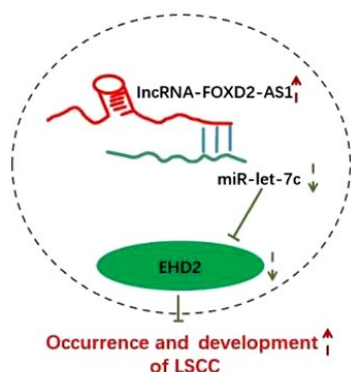


图7 FOXD2-AS1、miR-let-7c和EHD2作用机制图

Fig. 7 Mechanism diagram of FOXD2-AS1, miR-let-7c, and EHD2

在分子机制和寻找治疗靶点非常重要。

本研究结果显示：LSCC组织中EHD2阳性表达率明显降低，与既往报道<sup>[5]</sup>的食管鳞癌组织中EHD2阳性表达率明显降低一致，提示EHD2可能是LSCC潜在的抑癌基因。本研究结果显示：EHD2在LSCC组织中呈低表达，在癌旁正常组织中呈高表达；EHD2表达与TNM分期存在明显关联，随着分期进展，EHD2阳性表达率降低，与鲁科利等<sup>[4]</sup>的研究结果一致。吕丽婷等<sup>[9]</sup>发现：EHD2表达水平可能与非小细胞肺癌的恶性程度有关，EHD2高表达的非小细胞肺癌患者预后较好。鲁科利等<sup>[4]</sup>认为：EHD2阳性表达率与喉癌患者的病理类别和淋巴结转移情况有密切关联，但本研究结果表明EHD2蛋白阳性表达率与淋巴结转移及病理类别无明显关联，因此需要进一步扩大样本量明确EHD2表达水平与LSCC临床病理参数之间的关系。EHD2还在多种肿瘤进展中起作用，如结肠腺癌<sup>[10]</sup>、甲状腺乳头状癌<sup>[11]</sup>和肝癌<sup>[12]</sup>等，提示EHD2可能可以作为评价包括LSCC在内的多种肿瘤预后的客观指标之一。

miRNA是一类长度为18~25个核苷酸的单链RNA<sup>[13]</sup>，可与特定mRNA结合或者调节特定mRNA的翻译过程来调控基因表达。王莘等<sup>[14]</sup>证实：多个miRNA在喉癌组织中呈差异表达，推测部分miRNA可能参与喉癌发生。本研究结果显示：癌旁正常组织中miR-let-7c表达水平明显高于LSCC组织，其可能发挥抑癌作用。WU等<sup>[15]</sup>发现：circCORO1C通过竞争性结合miR-let-7c，降低前B细胞白血病转录因子3表达水平，促进LSCC发生。研究<sup>[16-17]</sup>显示：miR-let-7c在多种癌

组织中表达水平降低，可能发挥抑癌作用，如miR-let-7c靶向高迁移率蛋白抑制膀胱癌细胞侵袭和迁移，靶向胸苷激酶1影响肝癌细胞增殖、迁移和侵袭等，miR-let-7c有望作为肿瘤生物标志物。

lncRNA分布于细胞核和细胞质，在转录、转录后和表观异常等多个水平调控基因表达。FOXD2-AS1是一类常见的lncRNA，位于染色体1p33上，含2527个核苷酸，与癌症的发生和恶化关系密切<sup>[7]</sup>。本研究结果显示：LSCC组织中FOXD2-AS1表达水平明显高于癌旁正常组织，与陈伟等<sup>[18]</sup>的研究结果一致。LI等<sup>[19]</sup>发现：FOXD2-AS1主要位于LSCC细胞核中，可以作为蛋白支架提高信号转导因子和转录激活因子3的转录活性，调控喉癌干细胞特性和促进喉癌化疗耐药。研究<sup>[20-23]</sup>显示：FOXD2-AS1在直肠癌、甲状腺癌、胶质瘤和食管癌中呈异常高表达，是一种促癌基因，影响癌症进展。FOXD2-AS1在包括LSCC在内的多种恶性肿瘤中可能是原癌基因，有望成为新型的肿瘤标志物和治疗靶点。

本研究结果显示：EHD2和miR-let-7c在LSCC组织中存在明显负相关关系，尽管miR-let-7c在LSCC组织中与癌旁正常组织中的表达趋势与EHD2相同，但仍可能通过负向调控EHD2抑制LSCC的发生发展；另外，FOXD2-AS1与miR-let-7c呈明显负相关关系。研究<sup>[24]</sup>显示：miRNA是lncRNA发挥作用的重要环节。lncRNA竞争性结合目标miRNA，从而降低其对下游基因的转录抑制<sup>[25]</sup>。本文作者推测FOXD2-AS1可能竞争性结合miR-let-7c，从而对LSCC的发生发展产生影响。

综上所述，EHD2、miR-let-7c和FOXD2-AS1在LSCC组织和癌旁正常组织中的表达存在差异性，且FOXD2-AS1表达与miR-let-7c表达呈负相关关系，EHD2表达与miR-let-7c表达呈负相关关系，提示EHD2/miR-let-7c/FOXD2-AS1信号轴可能参与调控LSCC的发生，本课题组将在后续实验中进一步深入研究其具体调控机制。

#### 利益冲突声明：

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明：

宫美恒参与实验设计、实验操作、数据整理和论文撰写，陈沫参与实验操作和病理制片，韩慧参与实验设计和病理阅片，于婷婷参与实验设计、数据分析和论文审校。

## [参考文献]

- [1] HARRIS A T, TANYI A, HART R D, et al. Transoral laser surgery for laryngeal carcinoma: has Steiner achieved a genuine paradigm shift in oncological surgery?[J]. *Ann R Coll Surg Engl*, 2018, 100(1): 2-5.
- [2] 吴东宁. 喉鳞状细胞癌的遗传学研究概况[J]. *国际遗传学杂志*, 1998, 3:134-138.
- [3] LI Z P, SCHULZE R J, WELLER S G, et al. A novel Rab10-EHBP1-EHD2 complex essential for the autophagic engulfment of lipid droplets [J]. *Sci Adv*, 2016, 2(12): e1601470.
- [4] 鲁科利, 江青山, 刘志锋, 等. EHD2在喉鳞状细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中南医学科学杂志*, 2018, 46(6): 653-656.
- [5] 朱红珍, 施公胜, 茅国新, 等. EHD2蛋白在食管鳞状细胞癌组织中的表达及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(7): 950-953.
- [6] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [7] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016;66: 7-30.
- [8] ANG K K, ZHANG Q, ROSENTHAL D I, et al. Randomized phase III trial of concurrent accelerated radiation plus cisplatin with or without cetuximab for stage III to IV head and neck carcinoma: RTOG 0522[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(27): 2940-2950.
- [9] 吕丽婷, 刘益飞, 刘军, 等. EHD2在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(22): 3769-3772.
- [10] 管程齐. EHD2对结肠癌增殖、迁移和侵袭生物学行为的影响及机制的初步研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2021.
- [11] KIM Y, KIM M H, JEON S, et al. Prognostic implication of histological features associated with EHD2 expression in papillary thyroid carcinoma [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174737.
- [12] LIU J X, NI W K, QU L S, et al. Decreased expression of EHD2 promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(9): 2554-2567.
- [13] WANG Y, ZHOU S Y, FAN K F, et al. MicroRNA-21 and its impact on signaling pathways in cervical cancer [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3): 3066-3070.
- [14] 王 苹, 付 涛, 王绪锐, 等. 应用微阵列芯片分析喉鳞状细胞癌miRNA与正常黏膜表达差异的初步研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2010, 24(12): 535-538.
- [15] WU Y Y, ZHANG Y L, ZHENG X W, et al. Circular RNA circCORO1C promotes laryngeal squamous cell carcinoma progression by modulating the let-7c-5p/PBX3 axis [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 99.
- [16] 姚 越. MiR-let-7c-5p靶向HMGA2抑制膀胱癌细胞侵袭和迁移[D]. 蚌埠: 蚌埠医学院, 2022.
- [17] 雷林翰. MicroRNA has-let-7c-5p 靶向 TK1 影响肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2022.
- [18] 陈 伟, 孙苏光, 江梦贤, 等. FOXD2-AS1与喉鳞状细胞癌临床病理参数的关系及其对喉癌细胞增殖的作用[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 33(5): 436-440.
- [19] LI R, CHEN S W, ZHAN J D, et al. Long noncoding RNA FOXD2-AS1 enhances chemotherapeutic resistance of laryngeal squamous cell carcinoma via STAT3 activation [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1): 41.
- [20] CANTELLI G, CROSAS-MOLIST E, GEORGOULI M, et al. TGF $\beta$ -induced transcription in cancer [J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 42: 60-69.
- [21] HUANG T, HUANG W, LU H, et al. Identification and validation a TGF- $\beta$ -associated long non-coding RNA of head and neck squamous cell carcinoma by bioinformatics method [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 46.
- [22] LIU M, GAO X, LIU C L. Increased expression of lncRNA FTH1P3 promotes oral squamous cell carcinoma cells migration and invasion by enhancing PI3K/Akt/GSK3 $\beta$ /Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(23): 8306-8314.
- [23] SUN S G, GONG C, YUAN K. LncRNA UCA1 promotes cell proliferation, invasion and migration of laryngeal squamous cell carcinoma cells by activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(2): 1182-1189.
- [24] LAI X J, CHENG H F. LncRNA colon cancer-associated transcript 1 (CCAT1) promotes proliferation and metastasis of ovarian cancer via miR-1290 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(2): 322-328.
- [25] HUANG G Z, WU Q Q, ZHENG Z N, et al. Identification of candidate biomarkers and analysis of prognostic values in oral squamous cell carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1054.