

KRT4 在喉癌及癌旁正常黏膜组织中的表达及临床意义

王靖淞¹, 余灿¹, 张西¹, 邓启成¹, 谢卓良¹, 赵锐¹, 温蓓², 刘海¹

1. 川北医学院附属医院 耳鼻咽喉头颈外科, 四川 南充 637000

2. 四川省人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 四川 成都 610031

摘要: **目的** 探讨角蛋白 4 (keratin 4, KRT4) 在喉癌患者中的表达水平与临床病理特征及预后之间的关系。 **方法** 收集喉癌组织标本 70 例、对应癌旁正常黏膜组织标本 70 例和声带息肉组织标本 40 例, 采用免疫组化 SP 法和统计学分析 KRT4 表达与喉癌的临床病理特征及预后之间的关系。 **结果** 免疫组化 SP 法显示, KRT4 在喉癌组织的表达水平明显低于癌旁正常黏膜组织、声带息肉组织, 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 51.511, P < 0.001$)。 KRT4 的表达水平与患者的临床分期 ($\chi^2 = 5.741, P = 0.017$)、分化程度 ($\chi^2 = 6.713, P = 0.010$) 以及颈部淋巴结转移 ($\chi^2 = 4.639, P = 0.031$) 之间存在显著的相关性。 单因素 Log-rank 检验分析显示, KRT4 表达 ($\chi^2 = 23.962, P < 0.001$)、临床分期 ($\chi^2 = 4.621, P = 0.032$)、颈部淋巴结转移 ($\chi^2 = 7.549, P = 0.006$) 与喉癌预后相关, Kaplan-Meier 生存曲线提示 KRT4 阳性表达组的存活率明显高于 KRT4 阴性表达组。 Cox 回归模型研究发现 KRT4 表达是影响喉癌预后的独立危险因素。 **结论** KRT4 在喉癌组织中的表达水平明显低于癌旁正常黏膜组织、声带息肉组织, 且 KRT4 表达与患者的临床分期、分化程度及颈部淋巴结的转移有关, KRT4 阳性表达的喉癌患者预后更好。 因此, KRT4 有望成为一种重要的生物学指标, 用以指导喉癌的诊断、治疗以及预后评估。

关键词: 喉癌; 角蛋白 4; 免疫组化; 颈部淋巴结转移; Cox 回归模型; Kaplan-Meier 生存曲线

中图分类号: R739.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3770(2024)03-0012-06

引用格式: 王靖淞, 余灿, 张西, 等. KRT4 在喉癌及癌旁正常黏膜组织中的表达及临床意义[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(3): 12-17. WANG Jingsong, YU Can, ZHANG Xi, et al. Expression and clinical significance of KRT4 in laryngeal carcinoma and adjacent normal mucosal tissues[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(3): 12-17.

Expression and clinical significance of KRT4 in laryngeal carcinoma and adjacent normal mucosal tissues

WANG Jingsong¹, YU Can¹, ZHANG Xi¹, DENG Qicheng¹, XIE Zhuoliang¹, ZHAO Rui¹, WEN Bei², LIU Hai¹

1. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China

2. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610031, Sichuan, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between the expression level of keratin 4 (KRT4) in laryngeal cancer patients and the clinicopathological characteristics and prognosis of the patients. **Methods** 70 specimens of laryngeal cancer tissue, 70 specimens of normal mucosa tissue adjacent to cancer, and 40 specimens of vocal cord polyp tissue were collected. Immunohistochemical SP method was used, and the relationship between KRT4 expression and clinical pathological characteristics and prognosis of laryngeal cancer was analyzed statistically. **Results** The immunohistochemical SP method showed that the expression level of KRT4 in laryngeal cancer tissue was significantly lower than that in adjacent normal mucosal tissue and vocal cord polyp tissue, and the difference was statistically significant ($\chi^2 = 51.511, P < 0.001$). There were significant correlation between the expression level of KRT4 and the clinical stage ($\chi^2 = 5.741, P = 0.017$), degree of differentiation ($\chi^2 = 6.713, P = 0.010$), and cervical lymph node metastasis of patients ($\chi^2 = 4.639, P = 0.031$). Single factor Log rank test analysis showed that KRT4 expression ($\chi^2 = 23.962, P < 0.001$), clinical stage ($\chi^2 = 4.621, P = 0.032$), cervical lymph node metastasis ($\chi^2 = 7.549, P = 0.006$), and prognosis of laryngeal cancer were correlated. The Kaplan Meier survival curve showed that the survival rate of the KRT4 positive expression group was significantly higher than that of the KRT4 negative expression group. Further research using Cox regression models revealed that KRT4 expression is an independent risk factor affecting the prognosis of laryngeal cancer. **Conclusion** The expression level of KRT4 in laryngeal

收稿日期: 2023-03-17

基金课题: 四川省医学青年创新科研课题计划 (S19055)

通信作者: 刘海. E-mail: liuhai100@sina.com

al cancer tissue is significantly lower than that in normal mucosa tissue and vocal cord polyp tissue adjacent to the cancer, and the expression of KRT4 is related to the clinical stage, differentiation degree, and cervical lymph node metastasis of patients. Laryngeal cancer patients with positive expression of KRT4 have a better prognosis. Therefore, KRT4 is expected to become an important biological indicator to guide the diagnosis, treatment, and prognosis evaluation of laryngeal cancer.

Key words: Laryngeal cancer; Keratin 4; Immunohistochemistry; Cervical lymph node metastasis; Cox regression models; Kaplan-Meier survival curve

大部分喉癌患者缺少特异性症状,其诊断多处于晚期,而晚期喉癌多以全喉切除术为主,但患者术后不仅并发症多,还永久性丧失喉功能,这对患者生活质量及身心健康带来严重的负面影响^[1-2]。因此,研究喉癌发生、发展机制,发现有效的生物学标志物,对于喉鳞状细胞癌的早期诊断、治疗及预后评估具有重大意义。角蛋白(keratin, KRT)被广泛用于国内外研究中^[3]。KRT是构成细胞骨架中间丝的关键成分,不仅能维持细胞稳定性及完整性,保护细胞免受多种形式的压力,包括机械、细胞毒性、氧化和代谢损伤,也参与调节细胞生长、凋亡、运动及信号传导等过程,此外还提供了对肿瘤诊断、治疗、预后评估有用的生物标志物^[4-6]。KRT4是KRT家族中重要成员之一,其已被证实在食管鳞状细胞癌^[7]、口腔鳞状细胞癌^[8]、喉咽鳞状细胞癌^[9]、鼻腔-鼻窦鳞状细胞癌^[10]、宫颈鳞状细胞癌^[11]、外阴鳞状细胞癌^[12]、卵巢鳞状细胞癌^[13]等多种恶性肿瘤中低表达,并参与了某些肿瘤生物学行为的调控。但KRT4在喉癌中的表达与其对喉癌早期诊断及预后评估的研究尚未见报道。因此,探讨KRT4在喉癌组织、对应癌旁正常黏膜组织与声带息肉组织的表达及其与喉癌的临床病理特征和预后之间的相关性具有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 组织标本

纳入2016年1月至2021年12月期间川北医学院附属医院病理科收集的喉癌组织标本70例、对应的癌旁正常黏膜组织标本70例和声带息肉组织标本40例,并通过HE染色确定为喉鳞状细胞癌,而癌旁正常黏膜组织则没有发现任何癌组织。所有患者术前均未曾接受过任何类型的化疗、放疗及其他任何抗肿瘤治疗。所有患者中男64例、女6例;45~83岁,≤60岁的患者27例,>60岁的患者43例,中位年龄62岁。根据WHO 1998年的病理学分级分为低分化6例、中分化15例、高分化49例。根据原发部位的不同分型:声门上型喉癌24例、声门型喉癌43例、声门下型喉癌3例。按照国际抗癌协会的TNM(2002)标准喉癌的临床分期:I期15例、

II期26例、III期16例、IV期13例。

1.1.2 随访资料

随访终点以患者死亡、失访或最后一次随访时间为准。随访时间为3~60个月。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色

免疫组化操作严格按照试剂盒说明书进行。通过脱蜡和水化处理,将切片浸泡在EDTA缓冲溶液(pH值为9)中,以便进行高温抗原修复。再滴加3% H₂O₂封闭内源性过氧化物酶,按KRT4一抗:抗体稀释液=1:150比例滴加KRT4一抗(兔抗人单克隆抗体,由美国Abcam公司提供),随后将其放置4℃的冰箱里孵育过夜(时间超过8h),次日,将其放置37℃的恒温箱里复温1h,滴加反应增强液,孵育20min,再滴加增强酶标的山羊抗兔IgG聚合物,孵育20min。将DAB显色液滴加到样品上,然后进行苏木素复染,并进行反蓝处理。接着,使用多级乙醇进行脱水,最终使用二甲苯进行透明,并用中性树脂封片。

1.2.2 免疫组织化学结果判定

两位具备丰富经验的病理科医师以Formowitz综合计分法对双盲条件下的切片染色进行评估并计分,10×10倍镜下对每张切片的总体染色状态进行检测,而且从中随机抽取5个包含肿瘤细胞的视野,以10×40倍镜进行检测,每个区域计数200个细胞。根据染色情况:未经染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分。根据阳性细胞的比例情况:<5%为0分,≥5%~<25%为1分,≥25%~<50%为2分,≥50%~<75%为3分,≥75%为4分。根据两项评分的乘积情况:0分为阴性(-),1~3分为弱阳性(+),4~6分为中阳性(++),>6分为强阳性(+++)。为了有利于统计,此次试验将阴性与弱阳性定义为阴性(-),将中阳性与强阳性定义为阳性(+)

1.3 统计学处理

使用SPSS 22.0软件。 χ^2 检验与Fisher精确检验分析KRT4表达与喉癌临床特征的关系。Kaplan-Meier法和单因素Log-rank检验分析KRT4表达与患者预后的关系。通过使用Cox风险比例

回归模型进行多因素分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 KRT4 在喉癌组织与癌旁正常黏膜组织、声带息肉组织的表达情况

KRT4 表达主要定位于细胞胞浆,少量定位于细胞膜。如图 1、图 2 所示,KRT4 在喉癌组织的阳性表达率为 37.14% (26/70),明显低于 KRT4 在喉癌旁正常黏膜组织的阳性表达率 88.57% (62/70) 和 KRT4 在声带息肉组织的阳性表达率 87.50% (35/40),差异具有统计学意义($\chi^2=51.511, P<0.001$)。

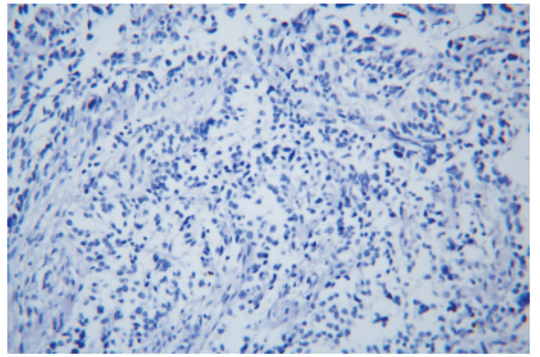


图 1 KRT4 在喉癌组织中的表达($\times 400$)
Figure 1 Expression of KRT4 in laryngeal carcinoma($\times 400$)

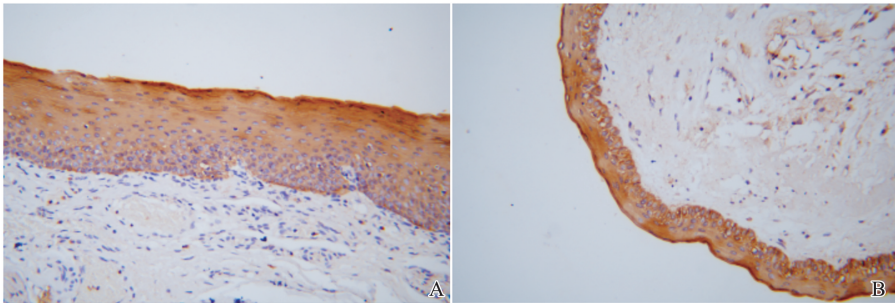


图 2 KRT4 在喉癌旁正常黏膜组织(A)、声带息肉组织(B)中的表达($\times 400$)
Figure 2 Expression of KRT4 in normal mucosal tissue (A) and vocal cord polyp tissue (B) adjacent to laryngeal cancer ($\times 400$)

2.2 KRT4 表达与喉癌病理特征的关系

分析喉癌患者的 KRT4 表达水平与临床病理特征,结果显示 KRT4 表达与喉癌患者临床分期、分化程度及颈部淋巴结转移存在显著相关($P<0.05$),而与其他临床特征如性别、年龄、吸烟史、饮酒史、原发部位、复发无明显相关($P>0.05$),见表 1。

表 1 喉癌患者的 KRT4 表达水平与临床病理特征的关系分析
Table 1 Analysis of the relationship between KRT4 expression level and clinicopathological characteristics in patients with laryngeal cancer

临床特征	KRT4 表达		χ^2	P
	-	+		
性别/例			0.058	0.810
男	41	23		
女	3	3		
年龄/岁			0.273	0.601
≤60	18	9		
>60	26	17		
吸烟史/例			0.414	0.520
有	39	25		
无	5	1		
饮酒史/例			1.568	0.211
有	22	17		
无	22	9		
分化程度/例			6.713	0.010
高分化	26	23		
低中分化	18	3		

续表

临床特征	KRT4 表达		χ^2	P
	-	+		
临床分期/例			5.741	0.017
I ~ II	21	20		
III ~ IV	23	6		
颈部淋巴结转移/例			4.639	0.031
有	13	2		
无	31	24		
原发部位/例			2.701	0.250
声门上型	12	12		
声门型	30	13		
声门下型	2	1		
复发/例			0.156	0.692
是	10	7		
否	34	19		

2.3 KRT4 表达与喉癌预后的关系

截至随访终点,有 23 例患者死亡,8 例患者失访,39 例患者生存。单因素 Log-rank 检验分析发现 KRT4 表达、临床分期及颈部淋巴结转移与患者预后存在密切联系($P<0.05$)(见表 2),Kaplan-Meier 生存曲线提示 KRT4 阳性表达组的生存率明显高于 KRT4 阴性表达组(见图 3)。进一步通过 Cox 风险比例回归模型分析发现 KRT4 阳性表达 B 值为 -3.202,风险比 $Exp(B)$ 为 0.041,提示 KRT4 阳性表达患者与 KRT4 阴性表达患者相比,生存风险下降 95.9%,且 KRT4 表达是影响喉癌患者预后的独立

危险因素,见表 3。

表 2 单因素 Log-rank 分析影响喉癌患者预后的因素
Table 2 Single factor Log-rank analysis of factors affecting the prognosis of patients with laryngeal cancer

临床特征	χ^2	P
性别	0.001	0.981
年龄	0.947	0.330
吸烟史	0.094	0.759
饮酒史	0.023	0.879
分化程度	0.393	0.531
临床分期	4.621	0.032
原发部位	0.917	0.632
颈部淋巴结转移	7.549	0.006
KRT4 表达	23.962	<0.001

表 3 Cox 回归模型分析影响喉癌患者预后的因素

Table 3 Cox regression model analysis of factors affecting the prognosis of patients with laryngeal cancer

临床特征	B	SE	Wald	P	Exp(B)	95% CI
颈部淋巴结转移	-1.377	0.569	5.860	0.015	0.252	0.083~0.770
临床分期	1.185	0.544	4.748	0.029	3.271	1.126~9.498
KRT4 表达	-3.202	1.081	8.774	0.003	0.041	0.005~0.338

3 讨论

喉鳞状细胞癌是喉癌中最常见的恶性肿瘤,尽管喉鳞状细胞癌的全面治疗方面取得了相当大的进展,但晚期喉鳞状细胞癌患者的 5 年生存率仍不理想^[14-15]。喉鳞状细胞癌容易发生局部和远处浸润以及淋巴结转移,这是其预后不良的主要原因^[16]。目前尚没有喉鳞状细胞癌特异性肿瘤标志物,患者的临床诊断、治疗和预后是根据 TNM 分期制定和确定的^[14,17]。因此,探寻喉癌有效的早期诊断和预后评估的生物学标志物及治疗靶点具有深远意义。KRT 在上皮细胞内广泛存在且性质稳定,通常以细胞类型、分化和功能状态依赖性方式表达^[18]。KRT 根据其相对分子量和等电点的不同分为 I 型(酸性)和 II 型(中性或碱性),不同 KRT 亚型可以促进细胞分型和鉴定^[19]。KRT 常在上皮癌细胞内异常表达,且很大程度保持了与其各自细胞类型起源相关的 KRT 表达特征^[20]。因此,KRT 亚型可以作为肿瘤诊断和预后的生物学标志物^[21]。KRT4 属于 II 型 KRT,主要非角化复层鳞状上皮(包括食管、口腔、喉、咽及宫颈等黏膜)细胞中表达^[22]。KRT4 已被证实多种人恶性肿瘤中表达降低。Chung 等^[23]发现 KRT4 表达水平在从正常食管上皮向复层鳞状上皮浸润肿瘤的过渡过程中降低。Xue 等^[24]通过免疫组化发现 KRT4 在食管鳞状细胞癌中表达降低,并首次报道 KRT4 也在食管发育异常

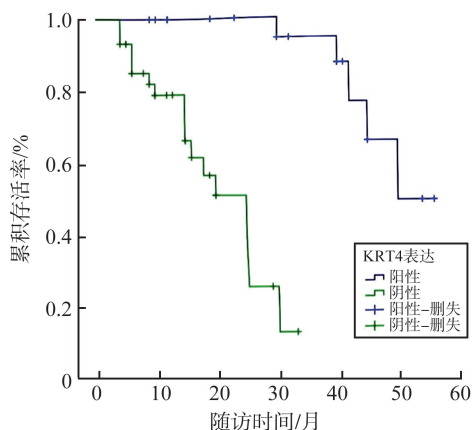


图 3 KRT4 不同表达组的 Kaplan-Meier 生存曲线
Figure 3 Kaplan-Meier survival curve of different KRT4 expression groups

的结构中表达不足。Takikita 等^[7]发现与正常组织或异型增生相比,食管鳞状细胞癌中的 KRT4 表达降低,并且 KRT4 表达增加与食管鳞状细胞癌风险降低有关。因此,KRT4 可以作为食管鳞状细胞癌早期诊断和预后评估的生物学标志物。Ye 等^[25]发现 KRT4 在口腔鳞状细胞癌中表达降低。Wang 等^[26]研究报道,KRT4 在口腔鳞状细胞癌中被下调,其过表达明显抑制口腔鳞状细胞癌细胞的活力和增殖,促进细胞凋亡。这表明 KRT4 可以作为口腔鳞状细胞癌治疗的潜在靶标。KRT4 发挥着抑癌基因作用,可作为肿瘤重要的生物学标志物,但目前尚未发现 KRT4 在喉癌中表达及其与喉癌临床病理特征和预后之间关系的报道。因此,本研究通过免疫组化 SP 法检测 KRT4 在喉癌组织、对应的癌旁正常黏膜组织和声带息肉组织中的表达情况,分析其与临床病理特征及预后的关系,以期为喉鳞状细胞癌的早期诊断、靶向治疗及预后判断提供新思路。

免疫组化 SP 法结果显示,与癌旁正常黏膜组织和声带息肉组织相比,KRT4 在喉鳞状细胞癌组织中的表达水平明显降低,差异具有统计学意义,这与 KRT4 在其他肿瘤表达的报道一致^[7-13]。且 KRT4 表达与喉癌分化程度呈正相关,喉癌分化程度越高,KRT4 表达越强,差异具有统计学意义,这表明 KRT4 参与了喉癌的分化过程,而分化程度决定肿瘤的恶性程度,因此 KRT4 可以作为判断喉癌恶性度的生物学标志物,这与 KRT4 在食管鳞状细

胞癌、喉咽鳞状细胞癌等报道基本一致^[7,9]。此外,本研究还发现在临床分期中 I ~ II 期的 KRT4 阳性表达率明显高于 III ~ IV 期,在无颈部淋巴结转移的喉鳞状细胞癌中 KRT 阳性表达率也明显高于有颈部淋巴结转移的喉鳞状细胞癌,差异具有统计学意义,这表明随着喉癌恶性程度进展的加强,KRT4 表达逐渐降低,提示 KRT4 表达与喉癌的恶性进展相关。经过单因素 Log-rank 检验分析发现,KRT4 表达、临床分期、颈部淋巴结转移均与喉癌预后相关,Kaplan-Meier 曲线提示 KRT4 阳性表达组的存活率显著高于 KRT4 阴性表达组,这表明 KRT4 阳性表达是喉癌预后的良好因素。Cox 回归模型进一步发现,KRT4 表达是影响喉癌预后的独立危险因素。

综上所述,KRT4 在喉癌组织中的表达水平明显低于癌旁正常黏膜组织、声带息肉组织,且 KRT4 表达与患者的临床分期、分化程度及颈部淋巴结的转移有关,KRT4 阳性表达组的喉癌患者较 KRT4 阴性表达组的患者预后更好,且 KRT4 表达是影响喉癌预后的独立危险因素。由此可以推测,KRT4 蛋白的异常表达可能参与了喉癌发生、发展过程中的重要分子事件,KRT4 有望成为喉癌早期诊断及预后评估的生物学标志物及潜在治疗靶点。本研究首次探讨了 KRT4 在喉癌组织、癌旁正常黏膜组织和声带息肉组织的表达情况,并分析了 KRT4 表达与喉癌临床病理特征及预后关系,但未探索 KRT4 在喉癌发生、发展过程中上下游分子调控机制,今后应予以深入研究。

参考文献:

[1] Baird BJ, Sung CK, Beadle BM, et al. Treatment of early-stage laryngeal cancer: a comparison of treatment options[J]. *Oral Oncol*, 2018, 87: 8-16. doi:10.1016/j.oraloncology.2018.09.012

[2] Obid R, Redlich M, Tomeh C. The treatment of laryngeal cancer[J]. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 2019, 31(1): 1-11. doi:10.1016/j.coms.2018.09.001

[3] 曾晶, 陈东妮, 徐进. 角蛋白与肿瘤[J]. *中国细胞生物学学报*, 2012, 34(5): 485-492

[4] Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins: biology and pathology[J]. *Histochem Cell Biol*, 2008, 129(6): 705-733. doi:10.1007/s00418-008-0435-6

[5] Pan XO, Hobbs RP, Coulombe PA. The expanding significance of keratin intermediate filaments in normal and diseased epithelia[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2013, 25(1): 47-56. doi:10.1016/j.ceb.2012.10.018

[6] Toivola DM, Strnad P, Habtezion A, et al. Intermediate filaments take the heat as stress proteins[J]. *Trends Cell*

Biol, 2010, 20(2): 79-91. doi:10.1016/j.tcb.2009.11.004

[7] Takikita M, Hu N, Shou JZ, et al. Fascin and CK4 as biomarkers for esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(3): 945-952

[8] Sakamoto K, Aragaki T, Morita KI, et al. Down-regulation of keratin 4 and keratin 13 expression in oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia: a clue for histopathogenesis[J]. *Histopathology*, 2011, 58(4): 531-542. doi:10.1111/j.1365-2559.2011.03759.x

[9] 黄沂传, 李鹏, 徐艳丽, 等. CK4 与 CK13 在喉咽鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014(12): 874-877. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.12.012

HUANG Yichuan, LI Peng, XU Yanli, et al. The expression of CK4, CK13 in hypopharyngeal squamous cell carcinomas and its clinical significance[J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2014(12): 874-877. doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2014.12.012

[10] 尹文华, 刘素琴, 陈志凌, 等. 细胞角蛋白 4 和细胞角蛋白 13 在鼻腔-鼻窦鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2016, 23(2): 98-101. doi:10.16066/j.1672-7002.2016.02.010

YIN Wenhua, LIU Suqin, CHEN Zhiling, et al. Expression and clinical significance of CK4, CK13 in sinonasal squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 2016, 23(2): 98-101. doi:10.16066/j.1672-7002.2016.02.010

[11] Escobar-Hoyos LF, Yang J, Zhu JW, et al. Keratin 17 in premalignant and malignant squamous lesions of the cervix: proteomic discovery and immunohistochemical validation as a diagnostic and prognostic biomarker[J]. *Mod Pathol*, 2014, 27(4): 621-630. doi:10.1038/modpathol.2013.166

[12] Micci F, Panagopoulos I, Haugom L, et al. Genomic aberration patterns and expression profiles of squamous cell carcinomas of the vulva[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, 52(6): 551-563. doi:10.1002/gcc.22053

[13] Zahra A, Dong QD, Hall M, et al. Identification of potential bisphenol A (BPA) exposure biomarkers in ovarian cancer[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(9): 1979. doi:10.3390/jcm10091979

[14] Wang N, Huang XY, Cheng JS. BIRC5 promotes cancer progression and predicts prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e12871. doi:10.7717/peerj.12871

[15] Steuer CE, El-Deiry M, Parks JR, et al. An update on larynx cancer[J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 31-50. doi:10.3322/caac.21386

- [16] Gao W, Zhang YL, Niu M, et al. Identification of miR-145-5p-centered competing endogenous RNA network in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Proteomics*, 2019, 19(21/22): e1900020. doi:10.1002/pmic.201900020
- [17] 王媚, 李志海. 喉癌干细胞: 克服多药耐药性的潜在治疗靶点[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36(4): 120-128. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.388
WANG Mei, LI Zhihai. Laryngeal cancer stem cells: potential therapeutic targets for overcoming multidrug resistance[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2022, 36(4): 120-128. doi: 10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.388
- [18] Karantza V. Keratins in health and cancer; more than mere epithelial cell markers[J]. *Oncogene*, 2011, 30(2): 127-138. doi:10.1038/onc.2010.456
- [19] Bragulla HH, Homberger DG. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia[J]. *J Anat*, 2009, 214(4): 516-559. doi:10.1111/j.1469-7580.2009.01066.x
- [20] Toivola DM, Boor P, Alam C, et al. Keratins in health and disease[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 32: 73-81. doi:10.1016/j.ceb.2014.12.008
- [21] Sharma P, Alsharif S, Fallatah A, et al. Intermediate filaments as effectors of cancer development and metastasis: a focus on keratins, vimentin, and nestin[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 497. doi:10.3390/cells8050497
- [22] Zhang JM, Quan JJ, Ren YY, et al. Keratin 4 regulates the development of human white sponge nevus[J]. *J Oral Pathol Med*, 2018, 47(6): 598-605. doi: 10.1111/jop.12728
- [23] Chung JY, Braunschweig T, Hu N, et al. A multiplex tissue immunoblotting assay for proteomic profiling: a pilot study of the normal to tumor transition of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(7): 1403-1408. doi:10.1158/1055-9965.EPI-05-0651
- [24] Xue LY, Hu N, Song YM, et al. Tissue microarray analysis reveals a tight correlation between protein expression pattern and progression of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2006, 6: 296. doi: 10.1186/1471-2407-6-296
- [25] Ye H, Yu TW, Temam S, et al. Transcriptomic dissection of tongue squamous cell carcinoma[J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 69. doi:10.1186/1471-2164-9-69
- [26] Wang L, Ma X, Yu J, et al. Negative regulation of miR-1288-3p/KRT4 axis through a circular RNA in oral cancer[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(8): e23118. doi:10.1002/jbt.23118

(编辑:曾婕)