

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201604005

· 论著 ·

WT1 基因在头颈部鳞状细胞癌中的表达及临床意义

潘晓李¹, 谢景华¹, 孟庆翔¹, 任基浩²

(1. 广州市第一人民医院耳鼻咽喉科, 广东 广州 510180; 2. 中南大学湘雅二医院耳鼻咽喉头颈外科, 湖南 长沙 410011)

摘要: **目的** 检测头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)组织中的 Wilms' tumor gene 1(WT1)基因在 mRNA 及蛋白水平的表达情况,分析其与各临床病理特征的关系。**方法** 应用实时荧光定量 PCR 法检测 46 例 HNSCC 组织及 20 例正常咽部黏膜组织中的 WT1 mRNA 表达情况,同时应用免疫组织化学法检测两组石蜡切片中的 WT1 蛋白表达情况。**结果** ① 46 例 HNSCC 组织 WT1mRNA 表达均值为 9.61×10^{-3} ,较正常咽部黏膜组均值 1.18×10^{-4} 显著增高($P < 0.05$);② WT1mRNA 表达与肿瘤的分化程度显著相关,分化越差表达越高($P < 0.05$),且 WT1 表达在下咽癌组织及嗜酒人群中表达亦显著增高($P < 0.05$);③ WT1 蛋白在 HNSCC 组织中阳性率为 76.09%,而正常咽部黏膜组织无表达,两者差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** HNSCC 组织中 WT1 在 mRNA 及蛋白水平均有异常过表达,可能扮演癌基因的角色,参与了肿瘤的发生和发展。

关键词: WT1 基因;头颈部鳞状细胞癌;实时荧光定量 PCR;免疫组织化学

中图分类号:R739.91 文献标识码:A 文章编号:1007-1520(2016)04-0273-06

Expression and clinical significance of WT1 gene in head and neck squamous cell carcinoma

PAN Xiao-li, XIE Jing-hua, MENG Qing-xiang, REN Ji-hao

(Department of Otolaryngology, the First People's Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 510180, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of Wilms' tumor gene 1(WT1) in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) at mRNA and protein level, and to analyze their relationships with clinicopathological characteristics of this tumor. **Methods** The expression of WT1 mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative PCR method in 46 specimens of HNSCC tissues and 20 of normal pharyngeal mucosa tissues. The expression of WT1 protein in paraffin sections of two groups was detected by immunohistochemical technology. **Results** ① The mean expression level of WT1 mRNA was 9.61×10^{-3} in HNSCC, which was significantly higher than that of normal pharyngeal mucosa tissues (1.19×10^{-4}) ($P < 0.05$). ② High WT1 expression level in HNSCC significantly correlated with poor differentiation of tumor ($P < 0.05$). Furthermore, high expression level of WT1 mRNA was observed in specimens of hypolaryngeal carcinoma ($P < 0.05$) and heavy drinkers ($P < 0.05$) compared with tumors of other locations. ③ WT1 was positively expressed at protein level in 35 of 46 HNSCC specimens (76.09%), which was significantly higher than that of specimens of normal pharyngeal mucosa (0/20,0%). The difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** WT1 gene is over-expressed at both mRNA and protein level in HNSCC, which suggests its important role in pathogenesis of HNSCC.

Key words: Wilms' tumor gene 1(WT1); Head and neck squamous cell carcinoma(HNSCC); Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR); Immunohistochemistry

头颈部癌症为人类第七大癌症,年新发病例约为 68 万^[1],其最常见的病理学类型为鳞状细胞癌。

由于针对如吸烟、嗜酒、嚼槟榔等传统危险因素的有效防控,头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC),尤其是喉癌以及下咽癌的发病在近二十年明显下降^[2]。随着手术技术以及放化疗等手段的发展进步,HNSCC 的治疗也发展成为以手术为中心的综合治疗。然而,诸如隐匿性淋

基金项目:广州市卫生局项目(20132A011003)。
作者简介:潘晓李,女,硕士,主治医师。
通信作者:任基浩,Email:jihao5114@sina.com

巴结转移未被发现等原因,也显著地影响着头颈部鳞状细胞癌患者的预后^[3],近30年喉癌等头颈部癌症患者术后5年生存率仍没有明显提高,此类癌症的发生发展却仍然严重威胁着人类的健康,且其发生机制仍不甚清楚,有着广阔的研究前景。

HNSCC是一种上皮性肿瘤,细胞之间存在广泛的紧密连接,其发生、发展及转移是一个复杂且有多个步骤参与的过程。HNSCC具有侵袭性,可打破细胞间的连接方式,从原发部位游离出来,从而启动肿瘤的侵袭转移模式。有研究表明,AEG-1表达上调可显著提高头颈部鳞癌Tu686细胞的体外侵袭能力,可能与HNSCC转移有关^[4]。WT1基因最初以肿瘤抑制因子于儿童肾母细胞瘤中被分离出来,尽管如此,人们在后续的研究中发现,野生型的WT1基因在乳腺癌^[5-6]、白血病细胞^[7]、肺癌^[8]以及一些骨及软组织肉瘤^[9]中均有过表达;且WT1 mRNA的过表达与乳腺癌、白血病的不良预后相关^[3-5];早在上世纪90年代,就有学者发现含有WT1的反义寡核苷酸能抑制表达WT1的肿瘤细胞的生长^[10-12]。基于这些发现,人们有理由相信,WT1基因在许多肿瘤中也可能扮演着癌基因的角色。

Mikami Toshinari等^[13]研究以实时荧光定量PCR、原位杂交等方法检测6株口咽部鳞状细胞癌(oropharyngeal squamous cell carcinoma, OSCC)细胞株发现其中1株细胞株有过表达WT1基因,认为WT1基因在OSCC的发生,尤其是增殖上起重要的作用。国内有关WT1与实体瘤的关系研究文献报道主要涉及的是卵巢癌,研究结果倾向认为WT1扮演癌基因角色^[12,14]。国内WT1基因在HNSCC中的表达相关研究未见明确报道,其在肿瘤发生发展中的作用尚不十分明确,本实验旨在研究WT1 mRNA在人类HNSCC组织中的表达情况,探索其在此癌症发生发展中的可能作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

46例HNSCC组织为我科2013年3月~2015年2月手术切除或活检取得并经病理确诊为鳞状细胞癌的标本,其中鼻咽癌5例,口咽癌6例,喉癌26例,下咽癌9例。患者年龄在32~78岁,中位年龄62岁,均为初诊患者,之前未接受放化疗,临床资料完整。其中临床分期I期者3例,II期者7例,III期者14例,IV期患者22例。收集20例同期因睡

眠呼吸暂停低通气综合征行腭咽成形术的患者咽部黏膜组织作为正常对照。所有标本离体后立即保存于液氮中。

1.2 实验仪器与材料

K562白血病细胞,购自上海赛齐生物制品有限公司。胎牛血清和RPMI 1640培养液购自Sigma公司,鼠抗人WT1单克隆抗体、EnVision两步法免疫组化试剂盒购自DAKO公司。ToTALLY RNA试剂盒, DNA free试剂盒和RETROscript试剂盒,购于Ambion公司;TaqMan PCR Master Mix II试剂盒,购于Roche Molecular Systems公司;Applied Biosystems PCR仪和ABI 7300 real time system为美国Applied Biosystems公司产品。

1.3 总RNA的提取和逆转录反应

取液氮中冻存的组织/细胞,均浆后用Trizol方法提取总RNA,紫外分光光度计(Beckman)定量, -80℃冻存。逆转录采用反应25 μl体系,包括1 μl总RNA, 5 × RT缓冲液5 μl, 2 mmol/L dNTP 1 μl, RNasin 1 μl, Random primer 1 μl, MMLV 1 μl, 水15 μl。反应条件:25℃ 10 min, 42℃ 60 min, 75℃ 10 min, -20℃保存备用。作为对照的标准品选取K562白血病细胞,经标准步骤进行细胞培养后收集细胞,离心后按上述步骤提取总RNA并逆转录为cDNA备用。

1.4 实时荧光定量PCR

测定标本中WT1 mRNA表达水平,具体方法参考Mikami T的研究^[13],以K562细胞的WT1 mRNA表达水平为标准值1.0, β-actin作为内参照物。取K562细胞cDNA原液进行梯度稀释为1、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶作为标准品构建标准曲线。待测癌组织样本进行同样浓度梯度稀释,与K562细胞cDNA进行同步实验,WT1及β-actin各取5.0、2.0 μl加入PCR缓冲液(100 mmol/L Tris-HCl, PH 8.3; 500 mmol/L KCl; 3 mmol/L MgCl₂)中,反应体系含200 μmol/L dNTP, 1.25 U AmpliTaq Gold, 0.5 μmol/L正向及反向引物, 200 nmol/L TaqMan探针,总体积为50 μl。反应条件为42℃ 30 min,反转录后95℃ 3 min, 95℃变性10 s, 55℃退火30 s, 72℃延伸60 s, 5个循环后95℃变性5 s, 60℃ 30 s, 30个循环。反应结束后软件自动计算出β-actin, WT1 mRNA的表达水平, WT1 mRNA/β-actin比值即为WT1 mRNA的相对表达水平。所有引物见表1。

表1 WT1 实时荧光定量相关引物列表

引物名称	序列
WT1 正向引物	5'GATAACCACACAACGCCCATC3'
WT1 反向引物	5'CACACGTGGCACATCCTGAAT3'
探针	5' FAM-ACACCGTGCGTGTATTCTGTATTGG-TAMRA3'
β-actin 正向引物	5'CCCAGCACAATGAAGATCAAGATCAT3'
β-actin 反向引物	5'ATCTGCTGGAAGGTGGACACGGA3'
探针	5'FAM-TGAGCGCAAGTACTCCGTGTGGATCGCGC-TAMRA3'.

1.5 免疫组织化学测定 WT1 蛋白表达

采用免疫组化 EnVision 两步法检测 46 例 HNSCC 组织及 20 例正常黏膜组织的 WT1 蛋白表达情况,操作步骤严格按照说明书进行,并用肾母细胞瘤作为已知的阳性对照,以 PBS 代替一抗进行阴性对照。每次试验均设置阳性对照及阴性对照。WT1 染色判断标准^[14]:以胞浆/胞核染色细胞的比例和强度分别计分为 PS(proportion score)和 IS(intensity score)。PS:无阳性细胞为 0 分,阳性细胞比例 <1/100 为 1 分,1/100 ~ 1/10 为 2 分,1/10 ~ 1/3 为 3 分,1/3 ~ 2/3 为 4 分,>2/3 为 5 分;IS:无着色为 0 分,轻度着色为 1 分,中度着色为 2 分,重度着色为 3 分。记两者得分之和:1 ~ 2 分为阴性(-),3 ~ 4 分为弱阳性(+),5 ~ 6 分为中等阳性(++),7 ~ 8 分为强阳性(+++)。

1.6 统计学处理

所有数据均由 SPSS 20.0 软件处理,WT1 与各临床病理特征之间的关系用独立样本 t 检验或单因素方差分析,WT1 蛋白在 HNSCC 组织及正常咽部黏膜组织中表达阳性率的比较用卡方检验,以 P < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 WT1 mRNA 在头颈部鳞状细胞癌中过表达

以实时荧光定量 PCR 检测样本中 WT1 mRNA 的表达情况,20 例正常黏膜组织中的 WT1 mRNA 表达水平在 $1.08 \times 10^{-5} \sim 3.91 \times 10^{-4}$, (mean ± SD: $1.18 \times 10^{-4} \pm 9.53 \times 10^{-5}$)。取 mean + 2SD(3.09×10^{-4})为阳性临界值^[15-16],基于此判断标准,正常组中仅 1 例稍高于临界值。46 例 HNSCC 组织 WT1mRNA 均值为 9.61×10^{-3} ,与正常组均值相比差异具有统计学意义(P = 0.000)。

如图 1 及表 2 所示,所有的 3 例鼻咽癌组织(100%)均过表达 WT1 基因,均值为 5.18×10^{-3} ;

12 例口咽癌组织中 10 例(83.3%)过表达 WT1 基因,均值为 6.49×10^{-3} ;10 例下咽癌组织中 9 例(90%)过表达 WT1 基因,均值为 2.10×10^{-2} ;14 例喉癌组织中 13 例(92.9%)过表达 WT1 基因,均值为 3.61×10^{-3} ;7 例口腔癌组织中 5 例(71.4%)过表达 WT1 基因,均值为 3.34×10^{-3} 。综上所述,46 例标本中,42 例(91.3%)均过表达 WT1 基因,均值为 9.61×10^{-3} 。

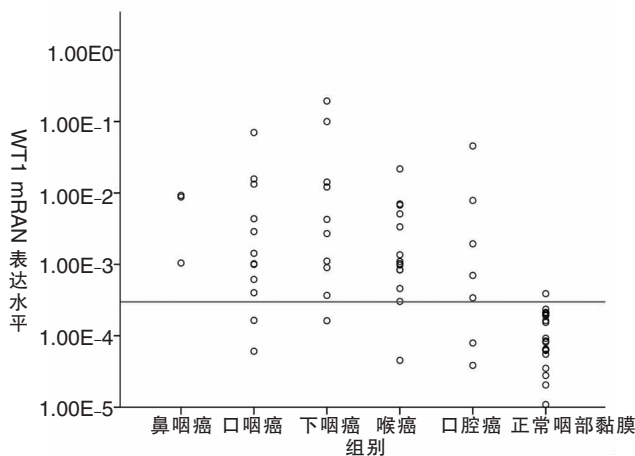


图1 WT1mRNA 表达水平与肿瘤部位之间的关系散点图(波浪线代表阳性临界值)

2.2 WT1 mRNA 表达与各临床病理特征之间的关系

如表 2 所示,WT1 mRNA 表达与肿瘤细胞的低分化显著相关(P = 0.009);在嗜酒人群(每日饮酒量大于相当于 50 g 乙醇)中表达明显增高(P = 0.018);WT1 mRNA 在不同部位鳞状细胞癌组织中表达有显著差异(P = 0.012),其中在下咽癌组织中表达较其他部位显著增高(P = 0.000)。反之,WT1mRNA 表达与性别、年龄、吸烟情况、T 分级、N 分级、临床分期无显著相关性。

2.3 WT1 蛋白在头颈部鳞状细胞癌中表达

免疫组化法检测 WT1 蛋白表达显示,46 例 HNSCC 组织中,35 例呈阳性表达(图 1),11 例呈阴性表达,阳性率 76.09%,20 例正常咽部黏膜均呈阴性表达。二者阳性率有显著差别(P = 0.000,卡方检验)。WT1 蛋白主要在 HNSCC 肿瘤细胞的胞核和/或胞浆着色,呈棕色-深棕色,癌旁组织及基质细胞不着色(图 2)。在正常咽部黏膜组织中,WT1 蛋白阳性表达仅见于少数基底细胞或棘细胞,且染色深度较肿瘤细胞者弱(图 3)。

表2 WT1 mRNA 表达与各临床病理特征之间的关系($n=46$)

临床病理特征	例数(%)	WT1 mRNA 均值	P
性别			
男	39(84.8)	1.14×10^{-2}	0.477
女	7(15.2)	5.69×10^{-3}	
年龄(岁)			
≤50	6(13.0)	1.14×10^{-2}	0.432
>50	40(87.0)	4.78×10^{-3}	
吸烟(支) ^①			
≤400	14(30.4)	6.86×10^{-3}	0.389
>400	32(69.6)	1.13×10^{-2}	
饮酒(g) ^②			
≤50	21(45.7)	2.79×10^{-3}	0.018
>50	25(54.3)	1.38×10^{-2}	
T 分级			
T1	3(6.5)	1.76×10^{-2}	0.833
T2	17(37.0)	4.49×10^{-3}	
T3	14(30.4)	1.63×10^{-2}	
T4	12(26.1)	7.21×10^{-3}	
N 分级			
N0、N1	24(52.2)	1.21×10^{-2}	-
N2、N3	22(47.8)	7.50×10^{-3}	
临床分期			
I、II	10(21.7)	1.22×10^{-2}	0.130
III、IV	36(78.3)	3.19×10^{-3}	
分化程度			
高分化	20(43.5)	1.23×10^{-3}	0.009
中分化	19(41.3)	8.52×10^{-3}	
低分化	7(15.2)	8.39×10^{-2}	
肿瘤部位			
鼻咽癌	3(6.5)	5.18×10^{-3}	0.012
口咽癌	12(26.1)	6.49×10^{-3}	
下咽癌	10(21.7)	2.10×10^{-2}	
喉癌	14(30.4)	3.61×10^{-3}	
口腔癌	7(15.2)	3.34×10^{-3}	

注:①Brinkman 指数:日吸烟支数×6年;②少量饮酒人群≤50g乙醇/d,嗜酒人群>50g乙醇/d^[2,17]

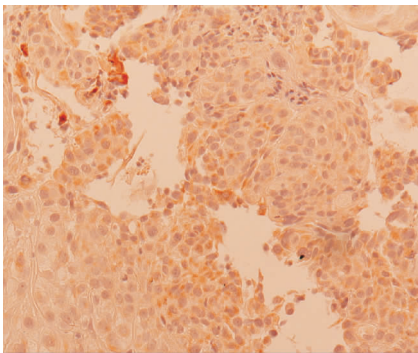


图2 WT1 在 HNSCC 组织中阳性表达 (EnVision 两步法 ×200)

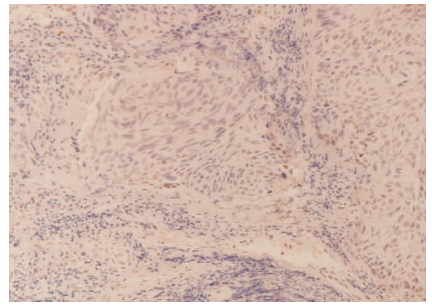


图3 WT1 在 HNSCC 中阴性表达 (EnVision 两步法 ×200)

末端含有4个锌指样结构,通过有选择性的剪接可以产生4种同源异构体。许多研究表明,这4种同源异构体不仅仅是在转录和剪接中的不同,在细胞的增殖、生长、分化凋亡中也发生着不同的作用^[18]。

正常生理情况下,WT1 主要在胚胎发生过程中表达,通过调控多种生长因子及受体的基因启动子活性,影响这些基因的转录表达,参与心脏、肾脏和脾脏等器官的形成^[19-20]。本研究结果显示,HNSCC 组织中 WT1 基因在 mRNA 及蛋白水平均表达显著增高,且 WT1 mRNA 表达与癌组织的分化程度显著相关,分化程度越差者表达越高,而分化差的肿瘤预后也较差,这也进一步提示 WT1 基因在 HNSCC 中扮演癌基因的角色。

WT1 在正常成体组织中表达部位局限且表达强度极低,研究显示其仅在肾小球足细胞、卵巢颗粒细胞、子宫内膜、睾丸细胞、间皮细胞、脾脏及骨髓的早期未成熟的造血细胞中有极其微量表达^[21-22]。本研究也显示,WT1 mRNA 在正常咽部黏膜组织中表达水平相对非常低,多数位于正常临界值以下,免疫组织化学法检测均呈阴性表达。

WT1 在成体组织中的异常表达与多种恶性肿瘤的发生密切相关,但根据细胞特征不同,其可发挥癌基因或抑癌基因作用^[4-7]。一方面,在 Wilms 瘤等儿童恶性肿瘤中,WT1 通过干扰细胞增殖信号等途径抑制细胞生长,发挥抑癌基因作用;另一方面,WT1 可增强肿瘤细胞的抗凋亡能力^[23],并通过调控原癌基因 K-ras 增强细胞的增殖能力^[24],提示 WT1 亦可发挥癌基因作用。本研究还发现,WT1 在下咽癌组织中表达较其他部位尤高,且嗜酒人群较从不饮酒或少量饮酒人群者 WT1 mRNA 表达显著增高,而较多研究发现有酒精嗜好的患者较易罹患下咽癌,提示 WT1 基因在下咽癌组织中的显著过表达可能与患者的酒精嗜好有关。

WT1 基因本身为一抑癌基因,调控细胞生长,

WT1 基因编码十个外显子,mRNA 为长约 3kb,

3 讨论

抑制其过度增殖,对肿瘤的生长起负调节作用。但是在上述的研究中,WT1 基因却扮演了癌基因的角色。有学者研究认为 WT1 基因正常功能的失调是 WT1 基因突变引起的,WT1 的常见突变类型有缺失、插入、无义突变、错义突变等,其中以缺失最为常见,并且主要涉及染色体 11P13 的缺失^[25]。Lee 和 Haber 和 Kim 等^[26]检测了 62 例 Wilms 瘤,15% WT1 基因发生突变,遗传密码子发生改变,结果其蛋白表达异常。WT1 基因对其下游的靶基因的转录具有抑制或激活作用,如抑制 bcl-2、c-myc 及 HER-2 的转录,WT1 基因不仅作为转录因子参与下游基因的表达调控,同时也接受其上游基因的调控,以 WT1 介导的转录调控通路在消化系统细胞的增殖分化及凋亡中发挥重要作用。WT1 基因突变调节功能受损,细胞过度增殖,分化成熟障碍,凋亡缺陷,最终可能成为肿瘤发生的原因之一。

综上所述,本研究通过实施荧光定量 PCR 及免疫组织化学的方法从 mRNA 及蛋白水平证实了 WT1 基因在 HNSCC 中的过表达,在下咽癌患者中表达尤其高,且与嗜酒有关,并发现 WT1 mRNA 表达与肿瘤组织分化程度显著相关,提示 WT1 在 HNSCC 中发挥癌基因功能。WT1 有望成为 HNSCC 的肿瘤标志物,用于肿瘤的诊断及预后判断,并且也有望在肿瘤的靶向治疗中展示其独特的优越性。

参考文献:

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics,2012 [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2015,65(2):87-108.

[2] Deng Z, Uehara T, Maeda H, et al. Epstein-Barr Virus and Human Papillomavirus Infections and Genotype Distribution in Head and Neck Cancers[J]. *PLoS ONE J*, 2014, 9(11): e113702.

[3] 张欣,黄东海. 隐匿性淋巴结转移—头颈鳞癌研究中一个值得关注的问题[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2015,21(4):267-270.

[4] 余长云,刘勇,谭浩蕾. AEG-1 介导上皮-间质转化调控头颈部鳞癌的侵袭转移[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*,2013,19(3):183-187.

[5] Qi XM, Zheng XD, Zong BG, et al. Association between WT1 polymorphisms and susceptibility to breast cancer: results from a case-control study in a southwestern Chinese population[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(3):1234-1250.

[6] Camcl C, Kalender ME, Paydaş S, et al. Prognostic significance of Wilms Tumor 1 (WT1) protein expression in breast cancer[J]. *Gaziantep Med J*, 2011, 17(2): 67-72.

[7] Park SH, Lee HJ, Kim IS, et al. Incidences and Prognostic Impact of c-KIT, WT1, CEBPA, and CBL Mutations, and Mutations

Associated With Epigenetic Modification in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia; A Multicenter Study in a Korean Population[J]. *Ann Lab Med*, 2015, 35(3):288-297.

[8] Wang X, Gao P, Lin F, et al. Wilms' tumour suppressor gene 1 (WT1) is involved in the carcinogenesis of Lung cancer through interaction with PI3K/Akt pathway[J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 14,13(1):114.

[9] Kim A, Park EY, Kim K, et al. Prognostic significance of WT1 expression in soft tissue sarcoma[J]. *World J Surg Oncol*, 2014, 12:214.

[10] Oji Y, Ogawa H, Tamaki H, et al. Expression of the Wilms' tumor gene WT1 in solid tumors and its involvement in tumor cell growth[J]. *Jpn J Cancer Res*, 1999, 90(2): 194-204.

[11] Algar EM, Khromykh T, Smith SI, et al. A WT1 antisense oligonucleotide inhibits proliferation and induces apoptosis in myeloid leukaemia cell lines[J]. *Oncogene*, 1996, 12(5): 1005-1014.

[12] 万英红,刘侃,谢斌,等. WT1、Bcl-2、ki-67 蛋白在上皮性卵巢癌中的表达及其相关性研究[J]. 2015,50(1):16-20.

[13] Mikami T, Hada T, Chosa N, et al. Expression of Wilms' tumor 1 (WT1) in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2013, 42(2):133-139.

[14] 吴伟强,彭真年,杨杰斌,等. EGFR、WT-1、CD10 和 OTR 在子宫内膜间质肉瘤中表达研究[J]. *重庆医科大学学报*,2009,34(7):837-840.

[15] Sun B1, Wang H, Wang X, et al. A proliferation-inducing ligand: a new biomarker for non-small cell lung cancer[J]. *Exp Lung Res*, 2009, 35(6):486-500.

[16] Izawa A, Kobayashi D, Nasu S, et al. Relevance of c-erbB2, PLU-1 and surviving mRNA expression to diagnostic assessment of breast cancer[J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(5): 2965-2969.

[17] Deng ZY, Hasegawa M, Matayoshi S, et al. Prevalence and clinical features of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in Okinawa, southern Japan [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2011,268(11):1625-1631.

[18] Toska E,Roberts SG. Mechanisms of transcriptional regulation by WT1 (Wilms' tumour 1) [J]. *Biochem J*, 2014, 461(1):15-32.

[19] Martínez-Estrada OM, Lettice LA, Essafi A, et al. Wt1 is required for cardiovascular progenitor cell formation through transcriptional control of Snail and E-cadherin[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(1):89-93.

[20] Huang B, Pi L, Chen C, et al. WT1 and Pax2 re-expression is required for epithelial-mesenchymal transition in 5/6 nephrectomized rats and cultured kidney tubular epithelial cells[J]. *Cells Tissues Organs*,2012,195(4):296-312.

[21] Scharnhorts V, van der Eb A, Jochemsen AG. WT1 proteins: functions in growth and differentiation[J]. *Gene*, 2001, 273(2): 141-161.

[22] Hylander B, Repasky E, Shrikant P, et al. Expression of Wilms' tumor gene (WT1) in epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2006,101(1):12-17.

[23] Essafi A,Hastie ND. WT1 the oncogene: a tale of death and Htr A

[J]. Mol Cell, 2010, 37(2):153-155.

- [24] Vicent S, Chen R, Sayles LC, et al. Wilms' tumor 1 (WT1) regulates KRAS-driven oncogenesis and senescence in mouse and human models[J]. Clin Invest, 2010, 120(11):3940-3952.
- [25] Brown KM, Power F, Moore B, et al. Frequency and timing of loss of imprinting at 11P3 and 11P5 in Wilms' tumor development

[J]. Mol Cancer Res, 2008, 6(7):1114-1123.

- [26] Kim HS, Kim MS, Lee SB, et al. Identification of novel Wilms' tumor suppressor gene target genes implicated in kidney development[J]. J Biol Chem, 2007, 282(22):16278-16287.

(收稿日期:2016-04-01)

(上接第272页)

the management of squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx[J]. Brachytherapy, 2014, 13(4):405-412.

- [9] 蔡德江,李平,郑志坚,等.放射性金粒经软颗种植治疗残存及复发鼻咽癌71例临床报道[J].中华放射肿瘤学杂志,1997,6(2):80-83.
- [10] 黄新辉,彭江涛,袁宏伟,等.下咽癌淋巴结转移区域探讨[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2011,17(6):434-437.
- [11] 李磊,李晓江,杨洁,等.放射性碘125粒子植入治疗晚期下咽癌的近中期疗效观察[J].现代肿瘤医学,2013,21(9):48-

51.

- [12] 陈梅英,许可葵,史百高,等.鼻咽癌住院病例生存分析[J].实用预防医学,2012,19(10):1465-1469.
- [13] 陈杰,黄文孝,魏威,等.鼻咽癌放射治疗后颈部部残留或复发病变的手术治疗[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2012,47(3):180-184.
- [14] 刘树铭,孙艳,郑磊,等.外放疗联合碘125粒子植入治疗头颈癌的临床应用[J].北京大学学报,2011,43(1):102-105.

(收稿日期:2016-03-29)

· 消息 ·

远程投稿、查稿系统启事

本刊采用远程稿件采编系统进行投稿、查稿等,现就有关问题说明如下。

1. 作者投稿:登陆在线投稿系统(中文版),按操作提示投稿。第一次需先注册,原则上不再受理邮寄稿件和 Email 稿件。

2. 稿件查询:使用作者注册用户名和密码,可查询作者稿件审理进程和费用信息等。

有关投稿要求,请登陆本刊网站浏览。

网站登陆:<http://www.xyosbs.com/index.htm>