

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201904009

· 下咽癌专栏 ·

GSK-3 β 和 MIF 蛋白在下咽癌组织中的表达及意义

岳文慧¹, 于铁莉², 项清华¹, 邹良玉¹, 李连贺¹

(1. 朝阳市中心医院耳鼻咽喉科, 辽宁 朝阳 122000; 2. 承德医学院附属医院麻醉科, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 研究糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 和巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 蛋白在下咽癌组织中的表达, 探讨二者在下咽癌发生、发展中的作用及二者相关性。**方法** 应用免疫组织化学方法检测 46 例下咽癌组织、癌旁组织及 20 例下咽正常黏膜组织中 GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达情况。**结果** ①GSK-3 β 蛋白在下咽癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织和正常下咽黏膜组织 ($P < 0.05$); ②MIF 蛋白在下咽癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织和正常下咽黏膜组织 ($P < 0.05$); ③GSK-3 β 蛋白在下咽癌组织中的表达与淋巴结转移、临床分期、病理分级有相关性 ($P < 0.05$); ④MIF 蛋白在下咽癌组织中的表达与淋巴结转移、临床分期有相关性 ($P < 0.05$); ⑤GSK-3 β 和 MIF 蛋白在下咽癌组织中表达无相关性。**结论** GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达与下咽癌的发生、发展可能有关。

关键词: 下咽癌; 糖原合成酶激酶-3 β ; 巨噬细胞移动抑制因子; 免疫组织化学
中图分类号: R739.63

Expression and significance of GSK-3 β and MIF in hypopharyngeal carcinoma

YUE Wen-hui¹, YU Tie-li², XIANG Qing-hua¹, ZOU Liang-yu¹, LI Lian-he¹

(1. Department of Otolaryngology, Chaoyang Center Hospital, Chaoyang 122000, China; 2. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expressions of glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) and macrophage migration inhibitory factor (MIF) in hypopharyngeal carcinoma and to discuss their relevance and the roles in carcinogenesis and development of this tumor. **Methods** Immunohistochemical technique was used to detect the protein expressions of GSK-3 β and MIF in specimens of 46 hypopharyngeal carcinoma tissues and corresponding para-carcinoma tissues as well as 20 normal hypopharyngeal mucosae. **Results** ①The expression of GSK-3 β protein in hypopharyngeal carcinoma tissues was significantly higher than those in the para-carcinoma tissues and normal mucosae (both $P < 0.05$). ②The expression of MIF protein in hypopharyngeal carcinoma tissues was also significantly higher than those in the para-carcinoma tissues and normal mucosae (both $P < 0.05$). ③The expression of GSK-3 β protein in hypopharyngeal carcinoma was correlated with lymph node metastasis, clinical stage and histological grade of the tumor respectively (all $P < 0.05$). ④The expression of MIF protein in hypopharyngeal carcinoma was correlated with lymph node metastasis and clinical stage of the tumor (both $P < 0.05$). ⑤There was no correlation between the expressions of GSK-3 β and MIF in hypopharyngeal carcinoma. **Conclusion** The expressions of GSK-3 β and MIF may contribute to the carcinogenesis and development of hypopharyngeal carcinoma.

Key words: Hypopharyngeal carcinoma; GSK-3 β ; MIF; Immunohistochemistry

下咽鳞状细胞癌 (hypopharyngeal squamous cell carcinoma, HSCC) 是一种恶性程度较高的肿瘤, 按发病部位可分为梨状窝区、咽后壁区及环后区, 发病率

约为 (0.17 ~ 0.8) / 10 万/年, 占头颈恶性肿瘤 3% ~ 5%, 占全身恶性肿瘤的 0.5%, 由于下咽癌早期无明显症状, 且易发生早期淋巴结转移, 一经发现, 肿瘤往往已是中晚期, 5 年生存率仅为 25% ~ 40%^[1-4]。糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 最早是作为一种能够磷酸化并抑制糖原合成酶 (glyco-

作者简介: 岳文慧, 男, 硕士, 副主任医师。
通信作者: 李连贺, Email: yuwenhuent@126.com

gen syntase,GS)活性的蛋白激酶而被发现^[5]。GSK-3包括GSK-3 α 和GSK-3 β 两种亚型,而后者活性的异常被证实参与了多种疾病的发生发展。很多研究表明GSK-3 β 在不同肿瘤中具有抑癌或促癌双重作用。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor,MIF)是一种具有多种生理功能的炎症因子,随着对MIF蛋白研究的逐渐深入,发现MIF蛋白不仅参与了炎症相关疾病的发生,而且在许多肿瘤的发生、发展和转移中发挥重要的作用^[6-7]。本研究采用免疫组织化学方法检测下咽癌组织中GSK-3 β 及MIF蛋白的表达情况,并结合临床病理特征,试图探讨这两种蛋白在下咽癌发生、发展及转移过程中的作用及相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集辽宁省朝阳市中心医院和河北省承德医学院附属医院2011年1月~2018年12月收治的46例下咽癌患者手术切除癌组织及46例相应癌旁组织(距肿瘤组织2.0 cm以上),另收集20例下咽囊肿、息肉、淋巴组织增生等良性病变。全部病例临床资料完整,经医院伦理委员会批准并征得患者及家属知情同意。所有肿瘤组织均经病理证实为鳞状细胞癌,癌旁组织及下咽部黏膜均经病理证实为正常黏膜。患者术前均未行放、化疗及其他辅助治疗。其中男45例,女1例;年龄 ≥ 60 岁24例, < 60 岁22例,平均年龄为58.5岁。下咽癌原发部位:梨状窝癌31例,咽后壁癌14例,环后癌1例;病理学分级:高中分化鳞状细胞癌26例,低分化鳞状细胞癌20例;按最新的WHO分类法及UICC TNM分类分期标准,临床I、II期15例,III、IV期31例;伴有淋巴结转移27例,无淋巴结转移19例;吸烟量(每天量 \times 年 $\times 365$) ≤ 20 万支者10例, > 20 万支者36例。术前所有患者均行电子喉镜、胃镜检查及颈部胸部增强CT扫描检查,以确定手术及后续的治疗方案。

1.2 主要试剂

兔抗人GSK-3 β 兔单克隆抗体、兔抗人MIF兔多克隆抗体均购自abcom(上海)贸易有限公司。即用型快捷免疫组化Max Vision试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司。DAB染色试剂盒购自深达生物制品技术(广州)有限公司。

1.3 免疫组织化学染色

新鲜组织取材后均在离体后立即用生理盐水冲洗干净,马上放入10%中性甲醛中固定,常规石蜡包埋,制成4 μm 厚切片。采用免疫组织化学(SP)三步法,实验步骤严格按照实验说明书进行。每批实验均参照abcom(上海)贸易有限公司提供的阳性对照片,以PBS代替一抗做阴性对照。一抗稀释比例为兔抗人GSK-3 β 兔单克隆抗体(1:100)、兔抗人MIF兔多克隆抗体(1:1500)。

1.4 结果判定

分别由两名经验丰富的高年资病理科医生独立阅片,根据其评分的平均值确定判定结果。使用半定量和主观分级系统记录免疫组化评分,该系统考虑了染色强度和具有明确阳性反应的肿瘤细胞的比例。GSK-3 β 阳性表达定位于细胞质,呈棕黄色;MIF阳性表达定位于细胞质和细胞核,呈棕黄色。按十三点评分法^[8]对免疫组化结果进行分析:100倍镜下随机选取5个互不重叠的视野,计数视野内细胞数及阳性细胞数,阳性细胞百分比评分:0分:无;1分: $< 10\%$;2分: $10\% \sim < 50\%$;3分: $50\% \sim < 80\%$;4分: $80\% \sim < 100\%$;细胞染色程度评分:无染色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,黄褐色为3分。两项评分相乘:0~4分为阴性,5~7分为弱阳性,8~12分为强阳性。弱阳性、强阳性均记为阳性。

1.5 统计学方法

所有数据经Microsoft Excel 2007软件整理,应用SPSS 22.0统计软件进行分析,分别采用 χ^2 检验、校正 χ^2 检验、确切概率计算方法及Spearman等级相关分析等统计学方法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GSK-3 β 和MIF蛋白在下咽鳞状细胞癌组织中的表达

GSK-3 β 阳性染色表达定位于细胞质中,阳性表达呈棕黄色。GSK-3 β 在下咽鳞状细胞癌组织、癌旁组织及正常下咽黏膜组织中均有表达,在下咽鳞状细胞癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织及正常下咽黏膜组织($\chi^2 = 23.970, P = 0.000$)(表1、图1)。MIF蛋白阳性染色主要定位在细胞质和细胞核中,阳性表达呈棕黄色。MIF蛋白在下咽鳞状细胞癌组织、癌旁组织及正常下咽黏膜组织中均有表达,

在下咽鳞状细胞癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁组织及正常下咽黏膜组织 ($\chi^2 = 33.688, P = 0.000$), 见表1、图2。

2.2 GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达与下咽鳞状细胞癌临床病理特征的关系

GSK-3 β 在下咽鳞状细胞癌组织中的表达与淋巴结转移、临床分期、病理分级有相关性 ($P < 0.05$); MIF 蛋白在下咽鳞状细胞癌组织中的表达与淋巴结转移、临床分期有相关性 ($P < 0.05$); GSK-3 β 蛋白表达与肿瘤原发部位、吸烟量、年龄和性别无关; MIF 蛋白表达与病例分级、肿瘤部位、吸烟量、年龄和性别无关。具体数据见表2。

表1 GSK-3 β 和 MIF 蛋白阳性表达率 (例, %)

组织来源	例数	GSK-3 β 阳性表达		P	MIF 蛋白阳性表达		P
		例数	阳性率		例数	阳性率	
癌组织	46	39	84.78	0.000	35	76.09	0.000
癌旁组织	46	20	43.48		19	41.30	
正常组织	20	6	30.00		5	25.00	

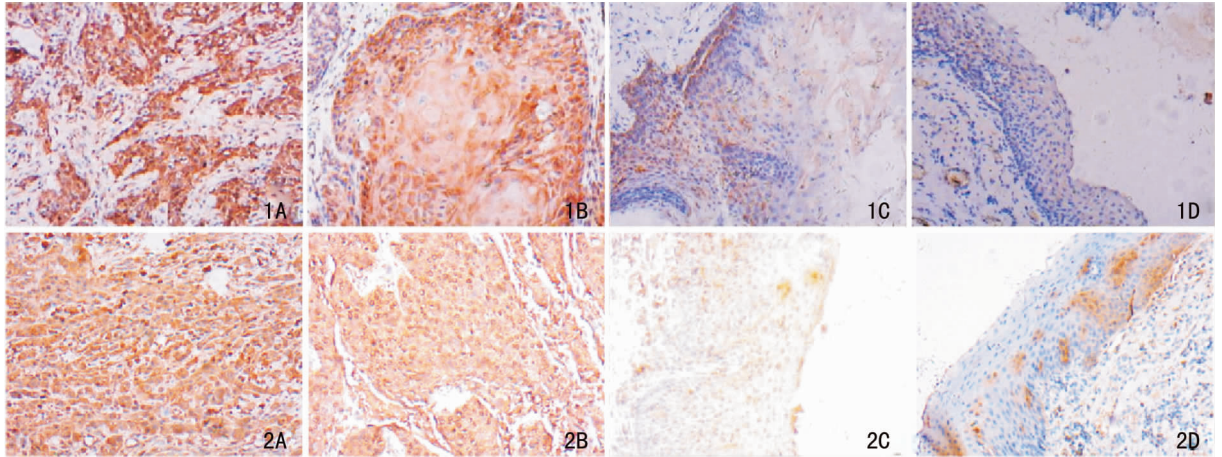


图1 GSK-3 β 在下咽低分化鳞癌组织(A)、高分化鳞癌组织(B)、癌旁组织(C)及下咽正常黏膜组织(D)中的表达 (SP $\times 100$) 图2 MIF 蛋白在下咽低分化鳞癌组织(A)、高分化鳞癌组织(B)、癌旁组织(C)及下咽正常黏膜组织(D)中的表达 (SP $\times 100$)

表2 GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达与临床病理特征的关系 (例, %)

临床病理因素	例数	GSK-3 β 阳性表达		P	MIF 蛋白阳性表达		P
		例数	阳性率		例数	阳性率	
性别							
男	45	38	84.44	0.668	35	77.78	0.071
女	1	1	100.00		0	0	
年龄(岁)							
<60	22	17	77.27	0.062	15	68.18	0.229
≥ 60	24	23	95.83		20	83.33	
吸烟量(万支)							
≤ 20	10	9	90.00	0.604	8	80.00	0.743
>20	36	30	83.33		27	75.00	
淋巴结转移							
无	19	13	68.42	0.010	8	42.11	0.000
有	27	26	96.30		27	100.00	
临床分期							
I、II期	15	10	66.67	0.017	8	53.33	0.012
III、IV期	31	29	93.55		27	87.10	
病理分级							
高中分化	26	19	73.08	0.012	19	73.08	0.585
低分化	20	20	100.00		16	80.00	
肿瘤原发部位							
梨状窝	31	25	80.65	0.522	24	77.42	0.196
咽后壁	14	13	92.86		11	78.57	
环后区	1	1	100.00		0	0	

2.3 下咽鳞状细胞癌中 GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达相关性分析

应用 Spearman 等级相关分析 ($r_s = -0.139, P = 0.358$), 在下咽鳞状细胞癌组织中 GSK-3 β 和 MIF 蛋白表达无相关性。具体数据见表 3。

表 3 下咽癌组织中 GSK-3 β 与 MIF 表达的相关性分析 (例)

MIF 表达	GSK-3 β 表达		合计
	阴性	阳性	
阴性	4	7	11
阳性	3	32	35
合计	7	39	46

3 讨论

糖原合成酶激酶-3(GSK3)是一种广泛表达的丝氨酸/苏氨酸家族激酶,包括 GSK-3 α 和 GSK-3 β 两种亚型。人类 GSK-3 β 基因包含 12 个外显子,ATG 为起始密码子,定位于 1 号外显子,TAG 为终止密码子,定位于末端外显子,基因产物为 46KD 蛋白质,包含 433 种氨基酸。GSK-3 β 的活性由特定位点的磷酸化调节,第 9 位丝氨酸 (Ser9) 磷酸化可以抑制 GSK-3 β 的活性,相反,第 216 位酪氨酸 (Tyr216) 磷酸化使其活化。GSK-3 β 在细胞分化、生长、增殖、凋亡、运动,细胞周期的连续性,胚胎发育及胰岛素反应等生理过程中都具有重要作用^[9]。很多研究表明 GSK-3 β 的活化抑制乳腺癌细胞、前列腺癌细胞的生存和增殖,相反,GSK-3 β 的活化可以促进结肠癌细胞、卵巢癌细胞、甲状腺髓样癌细胞的生存及增殖。作为一种复杂的多功能激酶,GSK-3 β 在不同类型、发展阶段、遗传背景的肿瘤中分别发挥着不同的功能。本研究发现 GSK-3 β 在下咽鳞状细胞癌组织中的阳性表达率 (84.78%) 显著高于癌旁组织 (43.48%) 及正常下咽部黏膜组织 (30.00%) 中的阳性表达率,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),提示 GSK-3 β 表达可能与下咽鳞状细胞癌的发生有关。Hoeflich 等^[10] 研究表明,去除 GSK-3 β 的小鼠在发育过程中因大量肝细胞凋亡而死亡,这是由核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 活性丧失导致的。并且在胰腺癌中,下调 GSK-3 β 表达具有抑制癌细胞存活的作用,这与其可以下调 NF- κ B 活性以及减少抗凋亡靶基因的表达密切相关。在表现 NF- κ B 高度活化的肿瘤患者中,GSK-3 β 抑制剂能增强肿瘤化疗和放疗的敏感性^[11]。这些

结果表明 GSK-3 β 对维持肿瘤细胞中 NF- κ B 的活性,促进肿瘤细胞生长具有重要作用。Kitano 等^[12] 通过检测正常和胰腺癌细胞株,非癌变和癌变的胰腺组织,发现 GSK-3 β 活性升高与胰腺肿瘤的发生有关。Lan 等^[13] 的研究认为抑制 GSK-3 β 活性可以抑制非小细胞肺癌细胞株 A549 的生长。众所周知,恶性细胞代谢旺盛,并需要大量的葡萄糖,因此肿瘤细胞中激活 GSK-3 β 可以通过抑制糖原合成酶而维持葡萄糖的高消耗,进而促进肿瘤的生长^[14]。因此我们推测 GSK-3 β 作为癌基因诱导下咽鳞状细胞癌的发生,促进癌细胞的生长。同时我们还发现,GSK-3 β 在下咽鳞状细胞癌组织中的表达与淋巴结转移、临床分期及病理分级有关,有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者,III-IV 期者高于 I-II 期,低分化者高于高中分化者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。魏金龙等^[15] 研究发现,GSK-3 β 作为 Wnt 通路的重要调节因素,参与了喉鳞状细胞癌的发生,且与肿瘤的分化程度、TNM 分期及淋巴结转移有关,其结果与本研究一致。石歆^[16] 研究表明,GSK-3 β 过表达促进胶质瘤细胞中配对盒基因 (paired box3, PAX3) 的水平。进一步研究发现,PAX3 沉默后 GSK-3 β 过表达诱导的细胞增殖能力明显下降,同时侵袭细胞的数目降低,提示 GSK-3 β 可能通过调控 PAX3 来影响胶质瘤细胞的增殖及侵袭进程。因此我们推断 GSK-3 β 过表达与下咽癌的侵袭和淋巴结转移有关。

巨噬细胞移动抑制因子 (migration inhibitory factor, MIF) 是一种具有多种生理功能的炎性因子。MIF 在多种器官和组织中广泛分布,其主要来源于活性 T 淋巴细胞。人 MIF 蛋白定位在 22 号染色体长臂区域,包含 2 个内含子和 3 个外显子。MIF 蛋白的一级结构由 115 个氨基酸序列组成,相对分子量为 12.5 KD。MIF 蛋白广泛参与细胞炎症反应及组织损伤修复,而且通过诱导炎性因子改变组织微环境促进细胞恶变发生和肿瘤细胞转移,在许多肿瘤的发生、发展和转移中发挥重要的作用^[17-18]。王锐秋等^[19] 研究表明,MIF 蛋白促进炎性细胞、成纤维细胞的旁分泌,与牙龈癌发生发展有关。有研究发现,miR-146a 可通过下调 MIF 蛋白的表达,抑制 A549 细胞株的增殖并诱导肺癌细胞的凋亡^[20]。国内王苗锋等^[21] 研究显示,MIF 蛋白过度表达与大肠癌的发生有关。Meyer-Siegler 等^[22] 在对前列腺癌的研究中发现,MIF 蛋白的表达在存在远处转移的前列腺癌组织中,明显高于无转移前列腺癌组织。

临床晚期患者的非小细胞肺癌组织中 MIF 蛋白表达显著高于临床早期患者, MIF 蛋白的表达与肿瘤的临床分期相关^[23]。本研究发现 MIF 蛋白在下咽鳞状细胞癌组织中的阳性表达率(76.09%)明显高于在癌旁(41.30%)及正常下咽部黏膜组织(25.00%)中阳性表达率,有淋巴结转移者高于无淋巴结转移者,Ⅲ、Ⅳ期者高于Ⅰ、Ⅱ期,有统计学意义。提示 MIF 作为癌基因诱导下咽癌细胞生长,随着 MIF 蛋白表达的增强,下咽癌细胞侵袭性和转移能力明显增强,表明 MIF 蛋白在下咽癌的发生、发展过程中起一定的作用,具体作用机制还有待进一步研究。肿瘤细胞的分化程度与肿瘤的恶性程度、肿瘤细胞侵袭、转移能力及预后均有一定关系。既往的研究显示, MIF 蛋白在胃癌组织中的表达与肿瘤的分化程度相关,低分化的肿瘤组织中 MIF 蛋白的表达较高分化者明显升高^[24]。王敬等^[25]研究发现,在牙龈癌组织中, MIF 蛋白表达显著高于癌旁正常牙龈组织,且与牙龈癌组织的分化程度及淋巴结转移密切相关。但本研究发现, MIF 蛋白在高中分化鳞癌及低分化鳞癌组织中表达无统计学意义。分析其可能原因为本研究中样本量较少,不同分化程度的病例数量不一, MIF 蛋白与下咽鳞状细胞分化程度的关系尚需更大规模的进一步实验研究予以阐明。

有研究表明,在肝癌组织中 MIF 基因沉默可促进促凋亡基因的表达,与 GSK-3 β 的磷酸化有关。MIF 基因沉默后,细胞中磷酸化细胞外信号调节激酶(phosphorylated extracellular-regulated kinase, p-ERK)水平下降,减少的 p-ERK 直接导致下游 RSK2 磷酸化水平的降低,同样, p-RSK2 水平下降影响了直接下游蛋白 GSK-3 β 的磷酸化, p-GSK-3 β 下调抑制了细胞的增殖与存活。这说明 MIF 基因沉默可以促进 GSK-3 β 的活化,并通过抑制 GSK-3 β 的磷酸化而发挥其抑制增殖的作用。其在肝癌增殖、凋亡中的作用可能是通过调节 ERK/RSK2 信号通路实现的^[26]。但本研究结果显示: GSK-3 β 表达和 MIF 蛋白表达无相关。可能与 GSK-3 β 和 MIF 蛋白在不同肿瘤中通过不同的信号通路发挥作用有关。

总而言之,下咽癌生物学行为恶劣,是预后最差的头颈部恶性肿瘤之一。虽然近年来下咽癌的治疗方法不断进步,但总体治疗效果仍不能令人满意。预期 GSK-3 β 和 MIF 蛋白有可能成为下咽癌诊断的潜在的肿瘤标志物,也有可能成为一个新的治疗靶点,为进一步揭示下咽癌的发生、发展机制及生物治疗提供理论基础。

参考文献:

- [1] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会头颈外科组,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会头颈外科学组. 下咽癌外科手术及综合治疗专家共识[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2017, 52(1): 16-24. Subspecialty Group of Head and Neck Surgery, Editorial Board of Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery; Subspecialty Group of Head and Neck Surgery, Society of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Chinese Medical Association. Expert consensus on surgery and comprehensive treatment of hypopharyngeal carcinoma[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2017, 52(1): 16-24.
- [2] Cooper JS, Porter K, Mallin K, et al. National Cancer Database report on cancer of the head and neck; 10-year update[J]. Head Neck, 2009, 31(6): 748-758.
- [3] Buckley JG, MacLennan K. Cervical node metastases in laryngeal and hypopharyngeal cancer: a prospective analysis of prevalence and distribution[J]. Head Neck, 2000, 22(4): 380-385.
- [4] 潘新良, 雷大鹏, 许风雷, 等. 下咽癌的外科治疗[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2007, 21(1): 1-7. Pan XL, Lei DP, Xu FL, et al. Surgical treatment of hypopharyngeal carcinoma[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2007, 21(1): 1-7.
- [5] Cohen P, Yellowlees D, Aitken A, et al. Separation and characterization of glycogen synthase kinase 3, glycogen synthase kinase 4 and glycogen synthase kinase 5 from rabbit skeletal muscle[J]. Eur J Biochem, 1982, 124(1): 21-35.
- [6] Denz A, Pilarsky C, Muth D, et al. Inhibition of MIF leads to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. J Surg Res, 2010, 160(1): 29-34.
- [7] Tas F, Karabulut S, Serilmez M, et al. Serum levels of macrophage migration-inhibitory factor (MIF) have diagnostic, predictive and prognostic roles in epithelial ovarian cancer patients[J]. Tumor Biol, 2014, 35(4): 3327-3331.
- [8] 何华. 如何正确地对免疫组化结果进行半定量评分[J]. 中外健康文摘(临床医师版), 2008, 5(7): 162. He H. How to correctly semi-quantitatively evaluate the immunohistochemical results[J]. World Health Digest(Clinical Physician Edition), 2008, 5(7): 162.
- [9] Forde JE, Dale TC. Glycogen synthase kinase 3: a key regulator of cellular fate[J]. Cell Mol Life Sci, 2007, 64(15): 1930-1944.
- [10] Hoeflich KP, Luo J, Rubie EA, et al. Requirement for glycogen synthase kinase-3 β in cell survival and NF- κ B activation[J]. Nature, 2000, 406(6791): 86-90.
- [11] Ougolkov AV, Billadeau DD. Targeting GSK-3: a promising approach for cancer therapy[J]. Future Oncol, 2006, 2(1): 91-100.
- [12] Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, et al. Aberrant glycogen synthase kinase 3 β is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55289.

- [13] Lan Y, Liu X, Zhang R, et al. Lithium enhances TRAIL-induced apoptosis in human lung carcinoma A549 cells [J]. *Biometals*, 2013, 26(2): 241–254.
- [14] Gatenby RA, Gawlinski ET. The glycolytic phenotype in carcinogenesis and tumor invasion; insights through mathematical models [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 3847–3854.
- [15] 魏金龙, 刘鸣, 王苏亮, 等. 喉癌组织糖原合成酶激酶3 β 、T细胞因子4表达及意义[J]. *山东医药*, 2016, 56(28): 60–62.
Wei JL, Liu M, Wang SL, et al. Expression and significance of glycogen synthase kinase 3 β and T cytokine 4 in laryngeal carcinoma tissues [J]. *Shandong Medical Journal*, 2016, 56(28): 60–62.
- [16] 石歆. GSK-3 β 过表达促进人胶质瘤细胞增殖及侵袭 [J]. *基础医学与临床*, 2015, 35(3): 371–376.
Shi X. Overexpression of GSK-3 β promotes the proliferation and invasion of human glioma cell [J]. *Basic and Clinical Medicine*, 2015, 35(3): 371–376.
- [17] 赵然, 姚伟娟. 巨噬细胞迁移抑制因子的功能及临床研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2014, 45(2): 93–99.
Zhao R, Yao WJ. The functions and clinical studies of macrophage migration inhibitory factor [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2014, 45(2): 93–99.
- [18] 付东梅, 李立方, 康玉华. 胃癌组织中巨噬细胞移动抑制因子和VEGF的表达及其临床意义 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21(4): 455–458.
Fu DM, Li LF, Kang YH. Expression and clinical significance of macrophage migration inhibitory factor and VEGF in human gastric carcinoma tissues [J]. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*, 2014, 21(4): 455–458.
- [19] 王秋锐, 杨健, 赵华平, 等. 雌激素受体及芳香化酶在牙龈癌组织中的表达和意义 [J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2015, 25(5): 304–307.
Wang QR, Yang J, Zhao HP, et al. Estrogen receptor and aromatase expression in gingival carcinoma tissue [J]. *Chinese Journal of Conservative Dentistry*, 2015, 25(5): 304–307.
- [20] Wang WM, Liu JC. Effect and molecular mechanism of mir-146a on proliferation of lung cancer cells by targeting and regulating MIF gene [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(8): 806–811.
- [21] 王苗锋, 熊茂明, 李火友, 等. 大肠癌组织中 VEGF、MIF 的表达及临床意义 [J]. *重庆医学*, 2015, 44(11): 1478–1480.
Wang MF, Xiong MM, Li HY, et al. Expression and significance of VEGF, MIF in colorectal cancer [J]. *Chongqing Medicine*, 2015, 44(11): 1478–1480.
- [22] Meyer-Siegler K, Hudson PB. Enhanced expression of macrophage migration inhibitory factor in prostatic adenocarcinoma metastases [J]. *Urology*, 1996, 48(3): 448–452.
- [23] 刘倩, 杨红, 张尚福. MIF 和 CD147 在非小细胞肺癌中的表达及意义 [J]. *四川大学学报(医学版)*, 2010, 41(1): 85–90.
Liu Q, Yang H, Zhang SF. The expression and significance of MIF and CD147 in non-small cell lung cancer [J]. *Journal of Sichuan University (Medical Science Edition)*, 2010, 41(1): 85–90.
- [24] 于海鹏, 于晓辉, 张双霞. 巨噬细胞移动抑制因子在不同分化程度胃腺癌组织中的表达及临床意义 [J]. *中华医学杂志*, 2010, 90(37): 2625–2628.
Yu HP, Yu XH, Zhang SX. Expression and significance of macrophage migration inhibitory factor in gastric adenocarcinoma [J]. *National Medical Journal of China*, 2010, 90(37): 2625–2628.
- [25] 王敬, 许莹莹, 霍峰, 等. MIF、Cyr61 在牙龈癌中的表达及其临床意义 [J]. *医学临床研究*, 2017, 34(10): 1933–1934, 1937.
Wang J, Xu YY, Huo F, et al. Expression of MIF and Cyr61 in gingival carcinoma and potential clinical application [J]. *Journal of Clinical Research*, 2017, 34(10): 1933–1934, 1937.
- [26] Clark CJ, McDade DM, O'Shaughnessy CT, et al. Contrasting roles of neuronal Msk1 and Rsk2 in Bad phosphorylation and feedback regulation of Erk signaling [J]. *J Neurochem*, 2007, 102(4): 1024–1034.

(收稿日期:2019-02-20)

本文引用格式:岳文慧, 于铁莉, 项清华, 等. GSK-3 β 和MIF蛋白在下咽癌组织中的表达及意义 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2019, 25(4): 372–377. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.201904009

Cite this article as: YUE Wen-hui, YU Tie-li, XIANG Qing-hua, et al. Expression and significance of GSK-3 β and MIF in hypopharyngeal carcinoma [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2019, 25(4): 372–377. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.201904009