

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201904011

· 论著 ·

# 头颈鳞状细胞癌相关致病基因的筛选和临床分析

黄巧,尹时华,廖行伟,翟思佳

(广西医科大学第二附属医院耳鼻咽喉头颈外科,广西 南宁 530007)

**摘要:** **目的** 筛选头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),进一步探究其潜在分子机制。**方法** 从 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库下载 HNSCC 基因芯片数据集,通过 GEO2R 鉴定 HNSCC 与正常样本间的 DEGs,并对 DEGs 进行基因本体(gene ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路分析,应用 Cytoscape 进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建,最后通过 UALCAN 数据库进行生存分析。**结果** 筛选出 143 个 DEGs,其中上调基因 50 个,下调基因 93 个。GO 分析显著富集在胶原分解代谢过程、细胞粘附及蛋白水解等生物过程,KEGG 通路分析显著富集在药物代谢、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路、ECM-受体相互作用、补体和凝血级联等通路。PPI 网络构建筛选出 15 个 HNSCC 相关核心基因,其中 PLAU、SPPI、TIMP1 被鉴定为临床相关基因。**结论** SPPI 是抗癌治疗的良好靶标,也是指导放射治疗的标志物。PLAU 和 TIMP1 可能是 HNSCC 的关键基因,有望成为分子靶向治疗的新靶点,PLAU 和 SPPI 可能通过 NF- $\kappa$ B 信号通路调节 HNSCC 发展。

**关键词:** 头颈鳞状细胞癌;差异表达基因;生物信息学;生存分析

中图分类号:R739.91

## Screening and clinical analysis of pathogenic genes associated with head and neck squamous cell carcinoma

HUANG Qiao, YIN Shi-hua, LIAO Xing-wei, ZHAI Si-jia

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, the Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, China)

**Abstract:** **Objective** To screen the differentially expressed genes (DEGs) of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and to further explore their underlying molecular mechanisms. **Methods** The HNSCC Gene Chip Datasets, downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, were identified by GEO2R and analyzed by gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway. The protein-protein interaction (PPI) networks of these DEGs were constructed using Cytoscape software. Furthermore, UALCAN database was used to perform survival analysis. **Results** A total of 143 DEGs were screened out. Of them, 50 were up-regulated and 93 down-regulated. The DEGs were significantly enriched in GO terms of collagen catabolic process, cell adhesion and proteolysis. The pathways were enriched in drug metabolism, NF- $\kappa$ B signaling pathway, ECM receptor interaction, complement and coagulation cascades. Thus 15 hub genes related to HNSCC were obtained by PPI analysis. Among them, PLAU, SPPI and TIMP1 were identified as clinically relevant genes. **Conclusion** SPPI is a good target for cancer therapy and a marker for guiding radiotherapy. PLAU and TIMP1 may be key genes and potential therapeutic target genes for HNSCC. PLAU and SPPI may regulate the development of HNSCC through the NF- $\kappa$ B signaling pathway and IL-17 signaling pathway.

**Key words:** Head and neck squamous cell carcinoma; Differentially expressed gene; Bioinformatics analysis; Survival analysis

鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)是头颈部黏膜最常见的恶性肿瘤,也是第二常见的皮肤癌<sup>[1]</sup>。头颈鳞状细胞癌(head and neck squamous cell

作者简介:黄巧,女,在读硕士研究生。  
通信作者:尹时华,Email: shihuayin@126.com

carcinoma, HNSCC) 包括鼻窦、鼻腔、口腔、咽和喉中出现的上皮恶性肿瘤, 是全球发病率居第 6 位的主要癌症, 也是癌症死亡的第八大常见原因<sup>[2]</sup>。尽管不断改善的治疗方案(包括手术切除以及化疗和放疗组合)提高 HNSCC 患者生活质量, 但患者的 5 年生存率仍然很低, 仅有 40% ~ 50%<sup>[3]</sup>。为了提高生存率, 靶向药物的发现和预后因素的评估仍需不断深入研究, 本研究利用生物信息学分析获取 HNSCC 差异表达基因及其生存分析, 进一步探讨 HNSCC 分子机制, 为 HNSCC 的发病机制、靶向治疗和评估预后提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料来源

从美国国立生物技术信息中心(NCBI)的 Gene Expression Omnibus(GEO)数据库下载 2010 年~2018 年的 HNSCC 基因芯片数据。数据集入选条件: ①数据集来自的全基因组 RNA 表达芯片; ②实验使用人类 HNSCC 患者组织与正常或癌旁组织对照。

### 1.2 方法

1.2.1 筛选差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs) 利用 GEO 数据库 GEO2R (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r1>) 在线分析工具, 根据差异基因的条件为  $P \leq 0.05$ ,  $|\text{LogFC}| \geq 1.5$  筛选出 DEGs。

1.2.2 富集分析 对 DEGs 利用 DAVID6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 和 Cytoscape 3.6.1 插件 ClueGO 和 CluePedia 进行基因本体(gene ontology, GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路分析。其中 GO 分析包括 3 个功能组: 生物途径(biology process, BP), 细胞组成(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)。

1.2.3 PPI 网络分析 将 DEGs 导入 STRING 数据库 (<http://string-db.org/>), 获得 DEGs 编码蛋白质的蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)数据, 最后应用 Cytoscape3.6.1 对 PPI 数据进行网络构建, 运用插件 CentiScaPe 计算节点度筛选出核心基因。

1.2.4 生存分析 通过 UALCAN 数据库 (<http://uaican.path.uab.edu/index.html>) 使用 HNSCC 患者的 TCGA 数据对核心基因进行生存分析, 根据基因表达的高低获得总体生存的 Kaplan-Meier 曲线, 通过对数秩检验比较基因高表达组和低/中等表达组,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 芯片数据

经过检索, 共有 6 套 HNSCC 基因芯片数据纳入研究, 基本信息见表 1。

表 1 6 套 HNSCC 基因芯片基本信息

GSE 登记号	正常组织数	癌组织数	检测平台	设计类型
GSE33232	25	44	GPL15175	非匹配, 组织
GSE33205	25	50	GPL15175	非匹配, 组织
GSE75538	14	14	GPL18281	匹配, 组织
GSE75539	8	7	GPL10904	非匹配, 组织
GSE107591	24	23	GPL6244	非匹配, 组织
GSE23036	5	63	GPL571	非匹配, 组织

### 2.2 HNSCC 差异表达基因

根据设定差异基因的条件:  $P \leq 0.05$ ,  $|\text{LogFC}| \geq 1.5$ 。6 套 HNSCC 基因芯片数据共得差异表达基因 1405 个, 其中上调基因 487 个, 下调基因 918 个。取在  $\geq 3$  个数据集有交集的差异表达基因 143 个, 其中上调基因 50 个, 下调基因 93 个, 进行生物信息学分析(图 1)。

### 2.3 对 DEGs 进行富集功能分析

对 143 个 DEGs 采用 DAVID 在线分析工具和 Cytoscape3.6.1 分别进行 GO 功能注释和 KEGG 通路分析。GO 富集分析结果显示 DEGs 富集在胶原分解代谢过程细胞外基质组织、细胞外基质拆解、胶原纤维组织、细胞粘附、表皮发育、蛋白水解、丝氨酸型内肽酶活性、金属内肽酶活性、肝素结合等生物过程, 细胞定位在胞外(表 2)。运用 Cytoscape3.6.1 插件 ClueGO 和 CluePedia 对 143 个 DEGs 进行 KEGG 通路分析, 结果显示 DEGs 显著富集在花生四烯酸代谢、药物代谢、NF- $\kappa$ B 信号通路、ECM-受体相互作用、补体和凝血级联、RIG-I 样受体信号通路、阿米巴病等通路(图 2)。

### 2.4 PPI 网络分析

向 STRING 网站上传 143 个 DEGs, 获得 DEGs 编码的 PPI 数据, 利用 Cytoscape3.6.1 对 DEGs 编码的 PPI 数据得分  $\geq 0.4$  的样本进行网络构建, 结果显示, 该网络由 90 个节点和 226 个边缘组成(图 3A)。应用插件 CentiScaPe 计算节点度, 根据节点度  $\geq 10$  为标准, PPI 网络中的 15 个基因被鉴定为核心基因(表 3、图 3B)。分别为白介素 8(IL8)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)、基质金属蛋白酶 7(MMP7)、基质金属蛋白酶组织抑制因子 1(TIMPI)、分泌性磷蛋白 1(SPP1)、基质金属蛋白酶

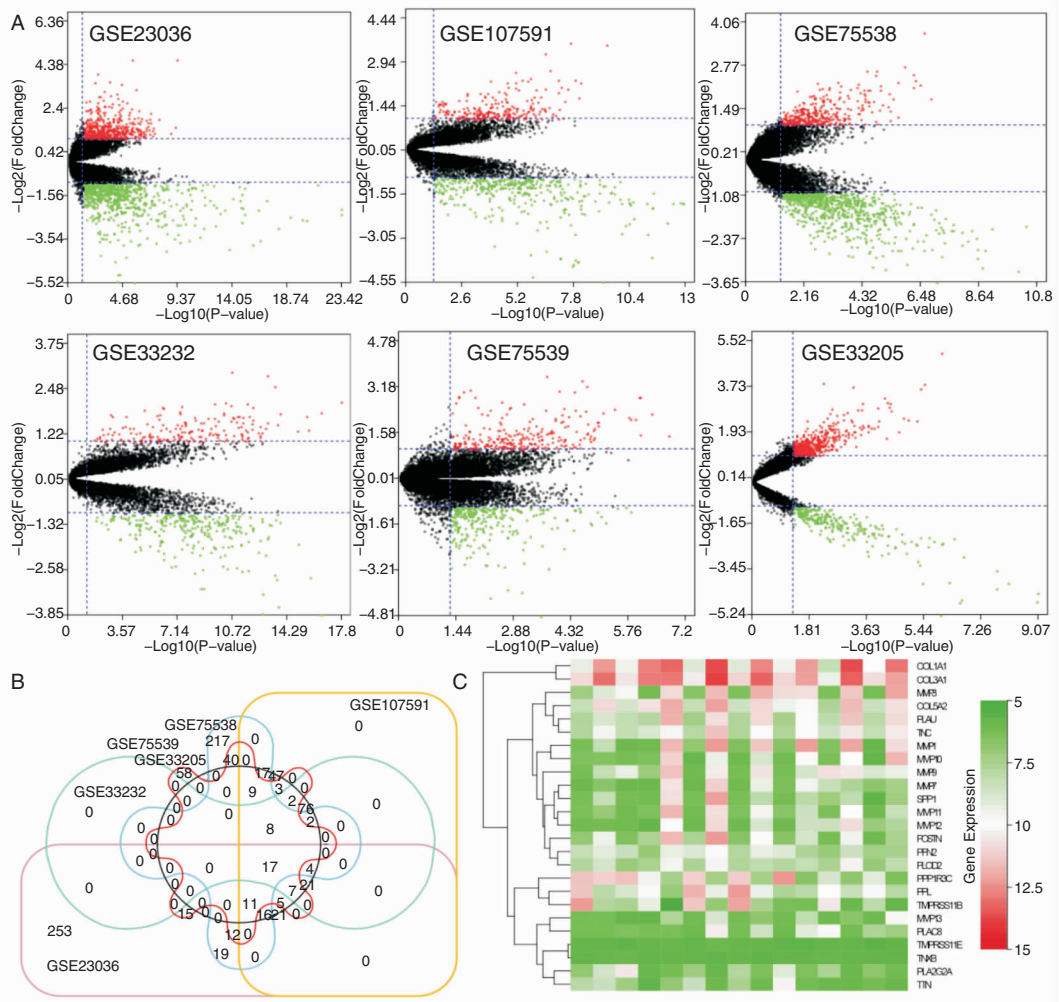


图1 差异表达基因的火山图与聚类图 A:差异表达基因在 HNSCC 组织和正常组织的火山图; B:GSE33205、GSE33232、GSE75538、GSE75539、GSE107591、GSE23036 数据集之间的交集; C:部分差异表达基因在 GSE75539 中的聚类图

表2 GO 富集分析结果

类别	GOID	GO 名称	基因数	P	FDR
BP	GO:0030574	collagen catabolic process	14	<0.001	<0.001
BP	GO:0030198	extracellular matrix organization	16	<0.001	<0.001
BP	GO:0022617	extracellular matrix disassembly	11	<0.001	<0.001
BP	GO:0030199	collagen fibril organization	8	<0.001	<0.001
BP	GO:0007155	cell adhesion	19	<0.001	<0.001
BP	GO:0008544	epidermis development	9	<0.001	<0.001
BP	GO:0006508	proteolysis	17	<0.001	0.0034
CC	GO:0005576	extracellular region	56	<0.001	<0.001
CC	GO:0005615	extracellular space	46	<0.001	<0.001
CC	GO:0070062	extracellular exosome	65	<0.001	<0.001
CC	GO:0005578	proteinaceous extracellular matrix	21	<0.001	<0.001
CC	GO:0031012	extracellular matrix	19	<0.001	<0.001
CC	GO:0005581	collagen trimer	8	<0.001	0.0076
MF	GO:0004252	serine-type endopeptidase activity	16	<0.001	<0.001
MF	GO:0004222	metalloendopeptidase activity	10	<0.001	<0.001
MF	GO:0008201	heparin binding	10	<0.001	0.0058
MF	GO:0005201	extracellular matrix structural constituent	7	<0.001	0.0175

注:FDR:错误发生率

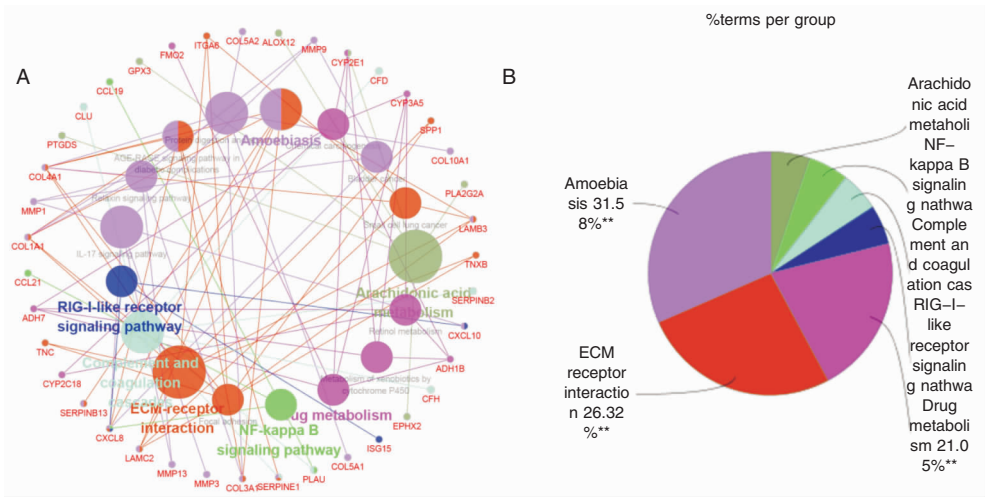


图 2 差异表达基因的 KEGG 分析 A:143 个差异表达基因显著富集的 KEGG 途径 ( $P < 0.05$ ) ; B:显著富集的 KEGG 途径包含相关基因数的百分比

13(MMP13)、基质金属蛋白酶 1(MMP1)、I 型胶原  $\alpha 1$  链(COL1A1)、III 型胶原  $\alpha 1$  链(COL3A1)、V 型胶原  $\alpha 2$  链(COL5A2)、纤溶酶原激活物抑制因子 1(SERPINE1)、肌腱蛋白 C(TNC)、基质金属蛋白酶 3(MMP3)、尿纤溶酶原激活剂(PLAU)、骨膜蛋白(POSTN)。对 15 个基因采用 Cytoscape3.6.1 进行 GO 功能注释和 KEGG 通路分析。GO 富集分析结果富集在金属内肽酶活性、细胞-基质粘附的负调节、平滑肌细胞迁移、细胞外基质拆解、胶原分解代谢过程、多细胞生物代谢过程、细胞对氨基酸刺激的反应等生物过程(图 4A)。KEGG 通路分析结果显著富集在 IL-17 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、膀胱癌等通路(图 4B)。

表 3 蛋白相互作用网络中节点度  $\geq 10$  的 15 个核心基因

序号	基因名称	节点度	调节
1	MMP9	20	Up-regulated
2	COL1A1	18	Up-regulated
3	MMP13	18	Up-regulated
4	SPP1	18	Up-regulated
5	TIMP1	18	No-regulated
6	IL8	17	No-regulated
7	MMP3	16	Up-regulated
8	MMP7	14	Up-regulated
9	SERPINE1	14	Up-regulated
10	MMP1	14	Up-regulated
11	COL3A1	13	Up-regulated
12	TNC	12	Up-regulated
13	PLAU	11	Up-regulated
14	COL5A2	10	Up-regulated
15	POSTN	10	Up-regulated

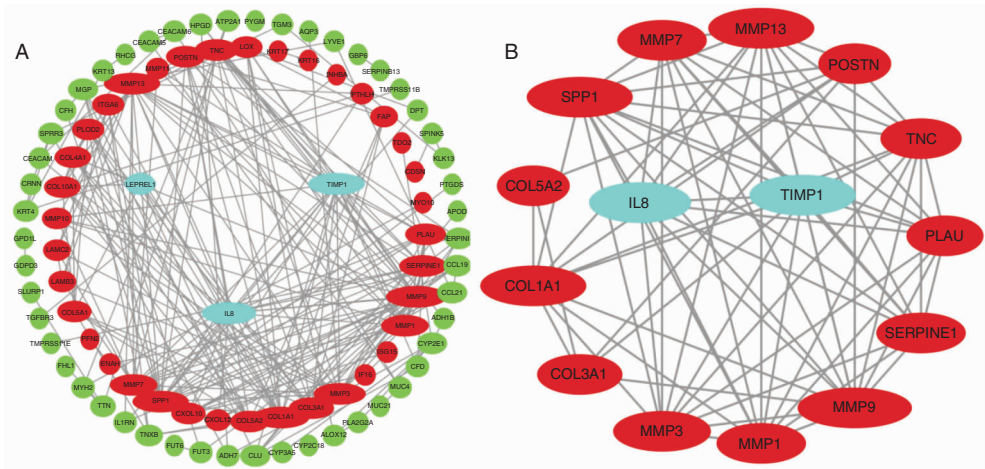


图 3 差异表达基因的 PPI 网络分析 A:143 个差异表达基因的 PPI 网络; B:蛋白相互作用网络中节点度  $\geq 10$  的 15 个核心基因(红色节点代表上调差异基因,绿色节点代表下调差异基因,蓝色节点代表没有变化;节点大小随节点度变化,节点度越大节点形状越大)

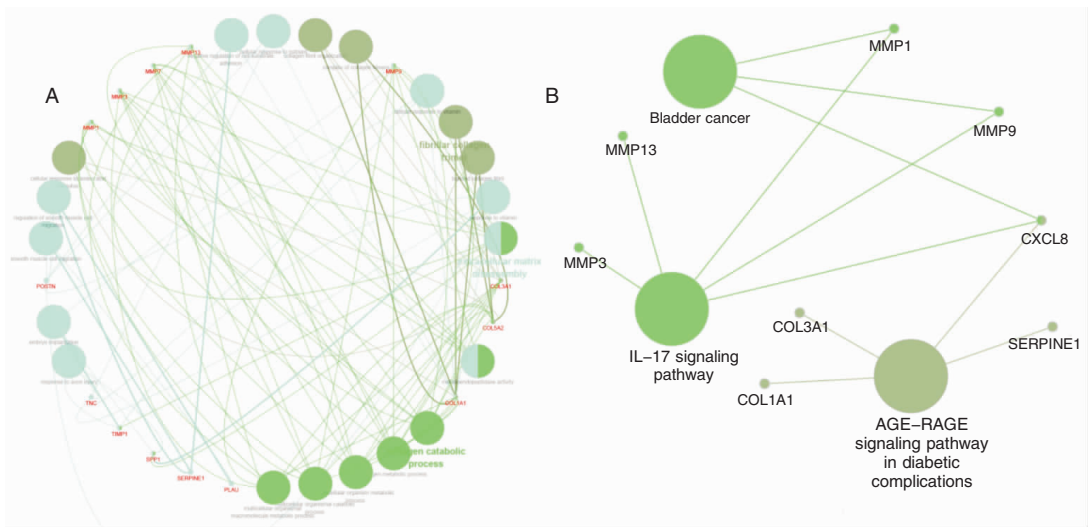


图4 15个核心基因GO分析(A)和显著富集的KEGG途径(B)

### 2.5 生存分析

通过UALCAN数据库使用HNSCC患者的TCGA数据进行生存分析,Kaplan-Meier生存分析显示PLAU、SPP1、TIMP1高表达组的生存率低于低/中等表达组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(图5A)。

且在TCGA数据PLAU、SPP1、TIMP1在HNSCC组织中表达均比正常组织升高( $P < 0.05$ ),PLAU、SPP1、TIMP1在HPV-的HNSCC组织表达均比正常组或HPV+的HNSCC组织升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(图5B、C)。

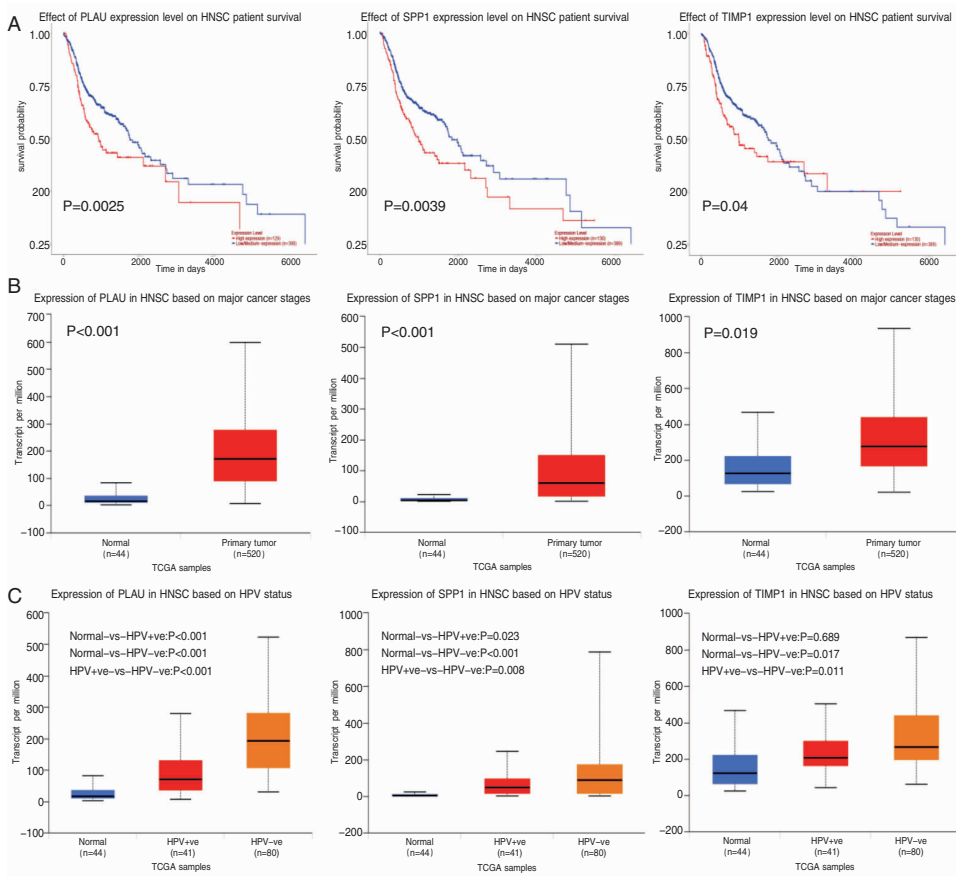


图5 生存分析 A:具有较高PLAU、SPP1、TIMP1表达的患者与表达较低的患者相比总生存期显著缩短( $P < 0.05$ )；B:在TCGA数据中HNSCC患者PLAU、SPP1、TIMP1较正常组高表达( $P < 0.05$ )；C:在TCGA数据中HNSCC患者PLAU、SPP1、TIMP1的表达与HPV感染的关系

### 3 讨论

HNSCC 具有复杂的异质性,致癌作用由多基因和多通路参与,受多元素影响的复杂过程,其机制仍不清楚。本研究利用生物信息学方法对 GEO 上传的 HNSCC 的表达谱进行分析,并通过 UALCAN 数据库使用 HNSCC 患者的 TCGA 数据进行生存分析,从而验证核心基因与 HNSCC 预后的关联性,增强说服力。研究发现 PLAU、SPP1、TIMP1 在 HPV- 的 HNSCC 组织表达均比正常组或 HPV + 的 HNSCC 组织升高,据报道 HPV + 的 HNSCC 患者预后较好,因此 PLAU、SPP1、TIMP1 是 HNSCC 不良预后因素可能与 HPV 感染有关,而这方面研究尚未有报道,仍需进一步研究。

PLAU 编码尿激酶型纤溶酶原激活蛋白,其促进纤维蛋白溶解和细胞外基质的降解,并积极参与细胞迁移、侵袭和血管生成过程<sup>[4]</sup>。PLAU 在许多癌细胞中过表达,包括 HNSCC,其在转移过程中起关键作用。Sepiashvili 等<sup>[5]</sup>利用多维蛋白质鉴定技术检测发现 PLAU 在复发性 HNSCC 患者比非复发性患者具有更高表达,并且它们表达量与疾病进展风险增加相关。高水平 PLAU 和相应的蛋白质 u-PA 与预测辅助化疗结果的好坏有关<sup>[6]</sup>。舒尼替尼治疗甲状腺髓样癌的研究发现促进癌症转移的 PLAU 和内源性蛋白酶抑制剂(PAI-1)被舒尼替尼抑制<sup>[7]</sup>,可以推断 PLAU 是癌症治疗的靶点,其在 HNSCC 治疗中的应用需进一步研究。

SPP1 又称骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种分泌性钙结合磷酸化蛋白,其能激活多条信号通路,调节各种致癌和血管生成分子的表达,以促进肿瘤生长、转移和血管生成。越来越多研究表明 SPP1 与恶性肿瘤的迁徙转移有密切关系,多种恶性肿瘤如胃癌、食管癌、乳腺癌等组织均可检测 SPP1 呈现显著高表达,且恶性程度较高的肿瘤中 SPP1 表达水平也较恶性程度相对低的肿瘤显著升高<sup>[8-9]</sup>。Chen 等<sup>[10]</sup>通过 PCR 检测 SPP1 潜在功能性标记单核苷酸多态性(tagSNP),发现胃癌中 SPP1 rs4754 的基因型频率与对照组有显著差异,rs4754 TT 基因型导致胃癌风险增加。本研究通过生物信息学得出 SPP1 在 HNSCC 患者高表达,且与不良预后有关;与本研究结果相同。Qin 等<sup>[11]</sup>通过荧光定量 PCR 和免疫沉淀证实 OPN 在头颈癌患者的肿瘤组织和血浆中上调,且头颈癌组织中 OPN 的过表达或血浆 OPN 水平

升高与高度恶性肿瘤相关,且分别与不良预后相关,进一步研究表明,肿瘤性 OPN 通过与整合素  $\alpha v \beta 3$  结合直接加速 NF- $\kappa B$  活性,并通过上调头颈肿瘤细胞中 MMPs、uPA 和 ICAM-1 的表达间接调节促进头颈癌进展的肿瘤促进微环境。OPN 是局部晚期鼻咽癌患者骨转移和生存的预后生物标志物,可用于鉴定癌症进展风险增加的患者和指导定制治疗的骨转移,细胞外 ATP 通过 OPN 抑制鼻咽癌细胞的生长,可作为鼻咽癌治疗的佐剂<sup>[12-13]</sup>。而与本研究结果相反,在甲状腺髓样癌中,Pradhan-Palikhe 等<sup>[14]</sup>通过免疫组织化学和 qPCR 表明 SPP1 是滤泡旁细胞的分化标志物,其表达与甲状腺髓样癌的良好预后相关,有助于预防肿瘤进展。OPN 已被确定为血浆生物标志物,用于预测许多癌症类型的预后和转移,包括头颈癌。在头颈部鳞状细胞癌中,血浆 SPP1 高水平与预后不良无关<sup>[15]</sup>。Overgaard 等<sup>[16]</sup>通过 DAHANCA5 试验结果表明血浆中 SPP1 的浓度与肿瘤缺氧有关,缺氧放射增敏剂尼莫拉唑显著改善头颈癌患者的放疗效果,而对 SPP1 或中等浓度的患者无效。癌症是多因素影响的过程,本研究还发现 SPP1 表达在 HPV 感染存在差异性,血浆中 SPP1 的浓度与头颈癌的预后关系可能受癌组织的病理类型、部位、大小、分期、HPV 感染等多方面影响,因此 SPP1 与头颈癌的预后关系仍需进一步分组、扩大样本数研究。

TIMP1 是 MMP 抑制剂,也可作为生长因子直接作用促进癌症进展。其水平升高与乳腺癌、结直肠癌、肺癌、卵巢癌和 HNSCC 的预后不良有关,原因可能是 TIMP1 的促生长活性是独立的,翻译后修饰可能会将 TIMP1 变为效率相对较低的分子抑制 MMPs,但仍有促进生长活动,这种差异可以解释为什么 TIMP1 在某些实验环境中上调据报道,在其他情况下,可抑制癌症进展增强肿瘤生长<sup>[14,17]</sup>。

据报道,NF- $\kappa B$  参与 SPP1 表达的调控,本研究发现 PLAU 通路富集 NF- $\kappa B$  信号通路。NF- $\kappa B$  是参与调节多种生理和病理细胞过程的转录因子,如炎症、细胞存活、增殖和癌细胞转移等。Wang 等<sup>[18]</sup>通过蛋白质印迹和实时 PCR 验证 G 蛋白偶联受体 GPR87 通过激活 NF- $\kappa B$  信号通路增强胰腺癌侵袭性。Song 等<sup>[19]</sup>通过研究表明 miR-486 的上调通过激活 NF- $\kappa B$  信号传导途径在体外和体内促进胶质瘤侵袭性。Jiao 等<sup>[20]</sup>通过荧光素酶检测和染色质免疫沉淀等实验方法研究表明支架附着因子 B(SAFB)通过靶向转化生长因子- $\beta$ -活化激酶 1(TAK1)调节直肠癌中 NF- $\kappa B$  信号传导的活性,并

且 SAFB-TAK1-NF- $\kappa$ B 轴是直肠癌进展早期治疗干预的潜在靶点。Gu 等<sup>[21]</sup>研究表明 IL-17 诱导的上皮-间质转化通过 NF- $\kappa$ B 介导的转录抑制因子 ZEB1 上调促进肺癌细胞迁移和侵袭。这些结果表明 PLAU 和 SPP1 可能通过 NF- $\kappa$ B 信号通路调节 HNSCC 的发展,该途径可能是 HNSCC 早期治疗干预的潜在靶点。

这些研究表明 PLAU、SPP1 和 TIMP1 对肿瘤的发生、发展具有重要作用。本研究通过 GO 和 KEGG 分析,PLAU 主要参与蛋白水解、细胞外区域、细胞外空间、细胞外分泌体、丝氨酸型内肽酶活性等生物过程,以及膀胱癌、NF- $\kappa$ B 信号通路、补体和凝血级联等信号通路。SPP1 主要参与细胞外基质组织、细胞外基质拆解、细胞粘附、细胞外区域、细胞外空间、细胞外分泌体等和侵袭转移相关的生物过程,以及 ECM-受体相互作用、花生四烯酸代谢等信号通路。生存分析提示:具有较高 PLAU、SPP1、TIMP1 表达的患者与表达较低的患者相比总生存期显著缩短。细胞外基质(ECM)维持细胞、组织结构和功能起关键作用,并参与细胞信号转导、生长、分化和迁移<sup>[22]</sup>; ECM-受体相互作用可通过改变信号通路导致肿瘤细胞增殖、分化、侵袭、转移;如前所述,NF- $\kappa$ B 信号通路介导肿瘤细胞侵袭与转移。由此推测 PLAU、SPP1、TIMP1 可能在 HNSCC 中具有促癌作用,上述信号传导通路可能参与 HNSCC 的发生、进展及复发转移。

综上所述,SPP1 不仅是一个独立的 HNSCC 的预后标志物,抑制其在 HNSCC 中的活性是抗癌治疗的良好靶标,也是指导放射治疗的标志物。PLAU 和 TIMP1 可能是 HNSCC 的关键基因,有望成为分子靶向治疗的新靶点。PLAU 和 SPP1 可能通过 NF- $\kappa$ B 信号通路调节 HNSCC 发展,该途径可能是 HNSCC 早期治疗干预的潜在靶点。确定 PLAU 和 TIMP1 是否可作为监测疾病反应的生物标志物,或作为疾病复发的早期指标,进行前瞻性纵向研究很重要。

#### 参考文献:

[1] Chen D, Wu M, Li Y, et al. Targeting BMH<sup>+</sup> cancer stem cells overcomes chemoresistance and inhibits metastases in squamous cell carcinoma[J]. *Cell Stem Cell*,2017,20(5):621-634.

[2] Verduci L, Ferraiuolo M, Sacconi A, et al. The oncogenic role of circPVT1 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated through the mutant p53/YAP/TEAD transcription-competent complex[J]. *Genome Biol*,2017,18(1):237.

[3] Kuang J, Zhao M, Li H, et al. Identification of potential therapeutic target genes and mechanisms in head and neck squamous cell carcinoma by bioinformatics analysis[J]. *Oncol Lett*,2016,11(5):3009-3014.

[4] Moquet-Torcy G, Tolza C, Piechaczyk M, et al. Transcriptional complexity and roles of Fra-1/AP-1 at the uPA/Plau locus in aggressive breast cancer[J]. *Nucleic Acids Res*,2014,42(17):11011-11024.

[5] Sepiashvili L, Hui A, Ignatchenko V, et al. Potentially novel candidate biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma identified using an integrated cell line-based discovery strategy[J]. *Mol Cell Proteomics*,2012,11(11):1404-1415.

[6] Klintman M, Buus R, Cheang M, et al. Changes in expression of genes representing key biologic processes after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer, and prognostic implications in residual disease[J]. *Clin Cancer Res*,2016,22(10):2405-2416.

[7] Broutin S, Ameur N, Lacroix L, et al. Identification of soluble candidate biomarkers of therapeutic response to sunitinib in medullary thyroid carcinoma in preclinical models[J]. *Clin Cancer Res*,2011,17(7):2044-2054.

[8] 赵慎安,梅馨予,乔晓京,等.肝癌细胞中骨桥蛋白基因表达调控的分子机制研究[J].*中国细胞生物学学报*,2015,37(8):1074-1080.

Zhao SA, Mei XY, Qiao XJ, et al. Transcriptional regulation of human osteopontin in hepatocellular carcinoma cells[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*,2015,37(8):1074-1080.

[9] 韦宝斌,陈华泰,覃海媚,等.SPP1 基因多态性与广西壮族人群鼻咽癌易感相关性研究[J].*中华肿瘤防治杂志*,2017,24(20):1405-1409.

Wei BB, Chen HT, Qin HM, et al. Association between SPP1 gene polymorphism and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma in Guangxi Zhuang population[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*,2017,24(20):1405-1409.

[10] Chen LZ, He CY, Su X, et al. SPP1 rs4754 and its epistatic interactions with SPARC polymorphisms in gastric cancer susceptibility[J]. *Gene*,2018,640:43-50.

[11] Qin X, Yan M, Wang X, et al. Cancer-associated fibroblast-derived IL-6 promotes head and neck cancer progression via the osteopontin-NF-kappa B signaling pathway[J]. *Theranostics*,2018,8(4):921-940.

[12] Hou X, Wu X, Huang P, et al. Osteopontin is a useful predictor of bone metastasis and survival in patients with locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Cancer*,2015,137(7):1672-1678.

[13] Yang G, Zhang S, Zhang Y, et al. The inhibitory effects of extracellular ATP on the growth of nasopharyngeal carcinoma cells via P2Y2 receptor and osteopontin[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2014,33:53.

[14] Pradhan-Palikhe P, Vesterinen T, Tarkkanen J, et al. Plasma level of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 but not that of matrix metalloproteinase-8 predicts survival in head and neck squamous cell cancer[J]. *Oral Oncol*,2010,46(7):514-518.

- [15] Lim AM, Rischin D, Fisher R, et al. Prognostic significance of plasma osteopontin in patients with locoregionally advanced head and neck squamous cell carcinoma treated on TROG 02.02 phase III trial[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(1):301-307.
- [16] Overgaard J, Eriksen JG, Nordmark M, et al. Plasma osteopontin, hypoxia, and response to the hypoxia sensitizer nimorazole in radiotherapy of head and neck cancer: results from the DAHANCA 5 randomised double-blind placebo-controlled trial[J]. Lancet Oncol, 2005, 6(10):757-764.
- [17] Ferreira LB, Eloy C, Pestana A, et al. Osteopontin expression is correlated with differentiation and good prognosis in medullary thyroid carcinoma[J]. Eur J Endocrinol, 2016, 174(4):551-561.
- [18] Wang L, Zhou W, Zhong Y, et al. Overexpression of G protein-coupled receptor GPR87 promotes pancreatic cancer aggressiveness and activates NF-kappa B signaling pathway [J]. Mol Cancer, 2017, 16(1):61.
- [19] Song L, Lin C, Gong H, et al. miR-486 sustains NF-kappa B activity by disrupting multiple NF-kappa B-negative feedback loops [J]. Cell Res, 2013, 23(2):274-289.
- [20] Jiao HL, Ye YP, Yang RW, et al. Downregulation of SAFB sustains the NF-kappa B pathway by targeting TAK1 during the progression of colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(22):7108-7118.
- [21] Gu K, Li MM, Shen J, et al. Interleukin-17-induced EMT promotes lung cancer cell migration and invasion via NF-kappa B/ZEB1 signal pathway[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(3):1169-1179.
- [22] 王婷, 许冰, 张静, 等. 结直肠癌相关差异表达基因的生物信息学分析[J]. 胃肠病学, 2018, 23(11):652-657.
- Wang T, Xu B, Zhang J, et al. Bioinformatics analysis of differentially expressed genes in colorectal cancer[J]. Chinese Journal of Gastroenterology, 2018, 23(11):652-657.

(收稿日期:2018-11-13)

本文引用格式:黄巧, 尹时华, 廖行伟, 等. 头颈鳞状细胞癌相关致病基因的筛选和临床分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019, 25(4):385-392. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.201904011

Cite this article as: HUANG Qiao, YIN Shi-hua, LIAO Xing-wei, et al. Screening and clinical analysis of pathogenic genes associated with head and neck squamous cell carcinoma[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2019, 25(4):385-392. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201904011

(上接第384页)

- [25] Hou X, Zhang Y, Qiao H. CCL18 promotes the invasion and migration of gastric cancer cells via ERK1/2/NF-kappaB signaling pathway[J]. Tumour Biol, 2016, 37(1):641-651.
- [26] Yu C, Liu Y, Tan H, et al. Metadherin regulates metastasis of squamous cell carcinoma of the head and neck via AKT signalling pathway-mediated epithelial-mesenchymal transition [J]. Cancer Lett, 2014, 343(2):258-267.
- [27] Zhu G, Liu L, She L, et al. Elevated expression of histone demethylase PHF8 associates with adverse prognosis in patients of laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinoma [J]. Epigenomics, 2015, 7(2):143-153.
- [28] Zhu GC, Yu CY, She L, et al. Metadherin regulation of vascular endothelial growth factor expression is dependent upon the PI3K/Akt pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. Medicine, 2015, 94(6):e502.
- [29] Tan H, Zhu G, She L, et al. MiR-98 inhibits malignant progression via targeting MTDH in squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(12):2554-2565.
- [30] Chen G, Liang YX, Zhu JG, et al. CC chemokine ligand 18 correlates with malignant progression of prostate cancer[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014:230183.
- [31] Su Y, Zhou Y, Sun YJ, et al. Macrophage-derived CCL18 promotes osteosarcoma proliferation and migration by upregulating the expression of UCA1[J]. J Mol Med (Berl), 2019, 97(1):49-61.
- [32] Miyagaki T, Sugaya M, Suga H, et al. Increased CCL18 expression in patients with cutaneous T-cell lymphoma: association with disease severity and prognosis[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2013, 27(1):e60-e67.

(收稿日期:2019-06-01)

本文引用格式:覃岳香, 刘勇, 汪俊程, 等. CCL18-PITPNM3 配体受体轴在头颈鳞状细胞癌侵袭转移中的作用及分子机制研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019, 25(4):378-384, 392. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201904010

Cite this article as: QIN Yue-xiang, LIU Yong, WANG Jun-cheng, et al. The role and molecular mechanism of CCL18-PTPNM3 ligand receptor axis in the invasion and metastasis of squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2019, 25(4):378-384, 392. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201904010