

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201906014

· 论 著 ·

Fra-1 与 Fra-2 基因在喉鳞状细胞癌中的表达研究

张云龙¹,宋晓飞²,段云静³,赵辉明³,赵瑞力⁴

(1. 石家庄市第一医院 重症医学科三病区,河北 石家庄 050011; 2. 河北省人民医院 耳鼻咽喉科,河北 石家庄 050057; 3. 石家庄市第一医院 耳鼻咽喉科,河北 石家庄 050011; 4. 河北医科大学第四医院 耳鼻咽喉科,河北 石家庄 050011)

摘 要: **目的** 分别探讨 *Fra-1* (fos-related antigen-1)、*Fra-2* (fos-related antigen-2) 基因在喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous carcinoma cell, LSCC)中表达情况及两者的相关性。**方法** 采用免疫组化 SP 法及逆转录-多聚酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测手术切除标本 47 例 LSCC 组织和 21 例癌旁正常组织中的 *Fra-1* 和 *Fra-2* 基因在蛋白及 mRNA 水平的表达情况,在癌组织中分析两者的表达与各临床病理参数的关系,进一步探讨两基因表达的相关性。**结果** *Fra-1* 和 *Fra-2* 基因在 LSCC 中蛋白水平阳性表达率均高于癌旁正常组织(P 均 <0.05),LSCC 中两基因蛋白水平表达与临床分期、淋巴结转移、吸烟相关,与病理分级、年龄、解剖分区无关;两者 mRNA 水平表达量均高于癌旁正常组织(P 均 <0.01),*Fra-1* 基因表达情况受到临床分期、病理分级、淋巴结转移情况以及吸烟参数影响,与年龄、解剖分区参数不相关。而 *Fra-2* 的表达仅与病理分级相关,与临床分期、淋巴结转移以及吸烟、年龄、解剖分区等参数不相关。此外 *Fra-1*、*Fra-2* 基因在 mRNA 水平表达量数值行直线相关分析呈正相关($r=0.570$, $P<0.01$)。**结论** LSCC 组织中 *Fra-1*、*Fra-2* 基因在蛋白及 mRNA 水平表达均增高,两者的表达产物呈正相关。两基因之间可能相互活化表达促进喉癌的发生与发展。

关 键 词:喉鳞状细胞癌;免疫组化;逆转录-多聚酶链反应;*Fra-1*;*Fra-2*

中图分类号:R739.65

Expression of *Fra-1* and *Fra-2* in laryngeal squamous cell carcinoma

ZHANG Yun-long¹, SONG Xiao-fei², DUAN Yun-jing³, ZHAO Hui-ming³, ZHAO Rui-li⁴

(1. The Third Ward of Intensive Care Unit, the First Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050011, China; 2. Department of Otolaryngology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050057, China; 3. Department of Otolaryngology, the First Hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang 050011, China; 4. Department of Otolaryngology, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of *Fra-1* (Fos-related antigen-1) and *Fra-2* (Fos-related antigen-2) in laryngeal squamous carcinoma cell (LSCC), as well as their correlation. **Methods** Protein expression and mRNA expression of *Fra-1* and *Fra-2* were detected by SP immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in 47 LSCC tissues and 21 normal adjacent tissues. The relations between the expression of the two genes as well as those between them and clinicopathological parameters in tumor tissue were analyzed. **Results** The positive expression rates of *Fra-1* and *Fra-2* protein in LSCC were both higher than those in the normal adjacent tissues (both $P<0.05$). Their protein expression levels in LSCC were associated with clinical stage, lymph node metastasis and smoking, but not associated with pathological grade and anatomic site of tumor, or patients' age. The expression levels of mRNA of *Fra-1* and *Fra-2* in LSCC were higher than those in the normal adjacent tissues (both $P<0.01$). The mRNA expression of *Fra-1* was related to clinical stage, pathological grade, lymph node metastasis and smoking, but not related to patients' age and anatomic site of tumor. The mRNA expression of *Fra-2* was not associated with all the parameters except for pathological grade. In addition, linear correlation analysis revealed positive correlation between the mRNA expression of *Fra-1* and *Fra-2* ($r=0.570$, $P<0.01$). **Conclusions** The expression of *Fra-1* and *Fra-2* in LSCC is increased at both mRNA and protein levels, and the expression products of *Fra-1* and *Fra-2* are positively correlated. The two genes may

作者简介:张云龙,男,硕士,主治医师。Email: 290318841@qq.com

activate with each other to promote the development and progression of LSCC.

Keywords: Laryngeal squamous cell carcinoma; Immunohistochemistry; Reverse transcription-polymerase chain reaction; Fos-related antigen-1; Fos-related antigen-2

喉癌是耳鼻咽喉头颈外科最常见的恶性肿瘤之一,患病率最高的病理分型为喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)^[1]。喉癌的发生机理复杂,发病原因存在争议。现阶段分子生物学日益发展,人们在对喉癌致病原因进行的过程中,越来越多的关注点开始聚焦在癌基因激活以及抗癌基因失活当中^[2]。*Fra-1* (fos-related antigen-1)、*Fra-2* (fos-related antigen-2) 都是原癌基因的一种,在一些特定的条件下,这两种原癌基因都能够发展成为癌基因,从而导致细胞恶化。已有研究报道永久生化的恶性角质上皮细胞存在 *Fra-1* 以及 *Fra-2* 磷酸化高表达^[3]。近期研究中发现, *Fra-1*、*Fra-2* 在子宫内膜癌以及乳腺癌等多个系统肿瘤中均能够被检测到表达明显升高^[4],然而至今尚无此两基因在 LSCC 中的表达情况报道。在本次研究中,应用免疫组化以及 RT-PCR 方法对 LSCC 与癌旁正常组织中两基因表达状况进行对比,并选取多个临床病理参数探讨对每种基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

收集石家庄市第一医院 2012 年 6 月—2015 年 12 月行喉癌切除手术病理标本,均通过 HE 染色病理验证 LSCC 47 例、癌旁正常组织 21 例,本实验研究经医院医学伦理委员会批准。严格按照实验设计及评定标准分组:病理分级依据 2005 年 WHO 肿瘤分型标准^[5],临床分期主要基于(UICC)TNM 分类标准^[6];其中病理分级:高分化(G1、G2)37 例,低分化(G3)10 例;临床 TNM 分期:I、II 期 18 例,III、IV 期 29 例;淋巴结转移:N+26 例,N0 21 例;吸烟情况:参考 Zuo 等^[7]吸烟与喉癌风险关系,分为:吸烟阳性 38 例,〔烟龄(年)×每日(支)数〕>400,吸烟阴性 9 例,〔烟龄(年)×每日支数〕≤400;年龄:<60 岁 15 例,≥60 岁 32 例;解剖分区:声门上区 21 例,声门区 26 例。

1.2 试剂

免疫组化使用到的关键试剂: *Fra-1*、*Fra-2* 均为鼠抗人单克隆抗体(型号分别为 Sc-28310、Sc-166102), (批号分别为 Lot# B0416、Lot# B1914);均

为美国 Santa Cruz Biotechnology 生产。SP-9002 二抗免疫组化试剂盒以及 ZLI-9032 DAB 显色液生产厂家为北京中杉金桥生物公司。

RT-PCR 关键试剂:用于提取 RNA 的 TRIzol 为美国 SBS Co. ltd 生产,RT-PCR 试剂盒厂家为美国 Promega Co. ltd (批号为 Lot# CB9955741), DNA Marker DNA Maker 购自北京索来宝科技有限公司,PCR 引物: *Fra-1* 上游引物(5'→3') GCCTCTGAC-CTACCCTCACT, 下游引物(5'→3') AGTTTGT-CAGTCTCCGCCTG。 *Fra-2* 上游引物(5'→3') GAAGAGGAGGAGAAGCGTCG, 下游引物(5'→3') CTCGGGGCTAATCTTGCACA。GAPDH 内参:上游引物(5'→3') AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG, 下游引物(5'→3') AGGGGTCATTGATGGCAACA。均购自上海生工生物工程有限公司。

1.3 方法

免疫组化 SP 法:将收集组织标本制作蜡块并切片,经脱蜡、水化、抗原修复、除酶、血清封闭后孵育、冲洗、加一抗、再冲洗后滴加二抗、反复冲洗后滴加辣根酶工作液、再孵育冲洗后加 DAB 显色,后经复染、酚化、氨水返蓝,再次脱水、加二甲苯后封片观察;PBS 液做对照实验。

RT-PCR 方法:严格按照试剂盒说明书步骤进行,提取喉鳞癌组织中 RNA,随后按逆转录试剂盒说明书要求,对 RNA 实施逆转录成 cDNA。再进行 PCR 扩增:在 95℃ 行 8 min 的预变性处理,后分别按扩增步骤设置条件:95℃ 45 s, (*Fra-1* 60℃、*Fra-2* 59℃) 30 s, 72℃ 25 s, 共 35 次循环后,置 72℃ 延申 7 min。所得的产物放置 2% 琼脂糖凝胶进行电泳后观察并与 Marker 对照, *Fra-1* 以及 *Fra-2* 所获得的产物分别为 222、225 bp, GAPDH 是 104 bp。

1.4 结果判定

免疫组化结果参照 Fromowitz 评定方法^[8]:染色强度(intensity, I)分类,其中无染色为 0 级,弱染色(浅黄)为 1 级,中染色(棕黄)定为 2 级,强染色(棕褐)定为 3 级;阳性细胞百分率(percentage, P)分级,阳性细胞 $P < 5\%$ 为 0 级; $5\% \leq P < 25\%$ 为 1 级, $25\% \leq P \leq 50\%$ 为 2 级, $P > 50\%$ 为 3 级。组织学评分(histologiescore, H) = I × P。若同一标本不同区域存在差别,则取均值评分。当分值为 0 至 3 分记

阴性,为低表达;分值为 4 至 6 分记阳性,为中度表达;分值为 7 至 9 分记强阳性,为高表达。

RT-PCR 结果应用 Gel work-2ID 软件分析光亮
度值,相对表达量为两目的基因条带光密度值与对
应 GAPDH 光密度值的比值。

1.5 统计学方法

实验数据存储在 Excel 表格,通过 SPSS 13.0 软
件对其进行统计学分析。使用 χ^2 检验行免疫组化
结果检测, RT-PCR 的数据用 t 检验分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表
示,行双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义,
取 mRNA 表达数值绘制散点图行直线相关性分析。

2 结果

2.1 免疫组化结果

Fra-1 基因蛋白表达对应的颜色为棕褐色,主要
存在细胞质以及细胞核中(图 1)。在癌组织中,阳
性率 48.9% (23/47),在癌旁组织中,阳性率 19.0%
(4/21)。表明 *Fra-1* 基因在癌组织中的阳性表达率
高于癌旁组织,差异具有统计学意义($\chi^2 = 5.416$,
 $P < 0.05$),见表 1。*Fra-2* 基因阳性表达以棕色为
主,呈片状分布或弥漫散布在细胞核以及细胞浆中
(图 2)。在癌组织中有 70.2% (33/47) 的阳性表
达;在癌旁组织中有 33.3% (7/21) 的阳性表达。显
示 *Fra-2* 基因在癌组织中的阳性表达率高于癌旁组
织,差异具有统计学意义($\chi^2 = 8.150$, $P < 0.05$),见
表 1。LSCC 中 *Fra-1*、*Fra-2* 基因表达与多个临床病
理参数组内对比情况结果数据见表 2。*Fra-1* 基因
表达情况:临床分期组内对比分析差异具有统计
学意义($P < 0.01$),淋巴结转移及吸烟组内对比分
析差异具有统计学意义($P < 0.05$);但病理分级、年
龄及解剖分区组内对比,差异无统计学意义($P >$
 0.05)。*Fra-2* 基因表达在临床分期、淋巴结转移
组内对比分析,差异具有统计学意义($P < 0.05$),除
此之外吸烟组中阳性与阴性组内对比分析,差异具
有统计学意义($P < 0.01$);但年龄、病理分级及解剖分

区组内对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 RT-PCR 检测结果

LSCC 组织和癌旁组织中 *Fra-1* mRNA 水平表
达强度存在差异(图 3),其中检测到的表达量如下:
LSCC 组织中的 *Fra-1* mRNA 水平表达为 $0.63 \pm$
 0.19 ;癌旁组织中的 *Fra-1* mRNA 水平表达为 0.13
 ± 0.09 ,*Fra-1* mRNA 表达在癌组织中明显高于癌旁
组织,差异具有统计学意义($P = 0.000$),见表 1。
另 *Fra-2* 在两种组织中的表达强度差异明显(图
4),其中检测到的表达量如下:LSCC 组织中的 *Fra-*
2 水平表达为 0.42 ± 0.39 ;癌旁组织中的 *Fra-2* 水

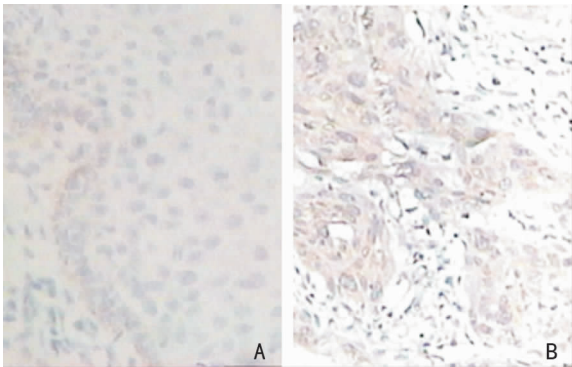


图 1 *Fra-1* 基因在癌旁正常组织和 LSCC 组织中的表达
(IHC $\times 400$) A:癌旁正常组织; B:LSCC 组织

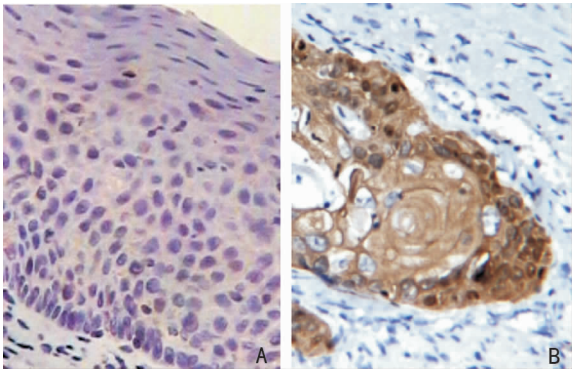


图 2 *Fra-2* 基因在癌旁正常组织和 LSCC 组织中的表达
(IHC $\times 400$) A:癌旁正常组织; B:LSCC 组织

表 1 喉鳞状细胞癌及癌旁正常组织中 *Fra-1*、*Fra-2* 和 mRNA 的表达 [例(%), $\bar{x} \pm s$]

组别	例数	<i>Fra-1</i>		<i>Fra-2</i>	
		蛋白	mRNA	蛋白	mRNA
喉鳞状细胞癌	47	23(48.9)	0.63 ± 0.19	33(70.2)	0.42 ± 0.39
癌旁正常组织	21	4(19.0)	0.13 ± 0.09	7(33.3)	0.07 ± 0.06
<i>P</i>		0.020	0.000	0.004	0.000

表 2 LSCC 组织中 *Fra-1*、*Fra-2* 和 mRNA 在各临床病理参数中的表达 [例(%), $\bar{x} \pm s$]

临床参数	例数	<i>Fra-1</i>			<i>Fra-2</i>			
		蛋白	<i>P</i>	mRNA	<i>P</i>	蛋白	<i>P</i>	mRNA
病理分级			0.168		0.025		0.700	
G1、G2	37	16(43.2)		0.59 ± 0.19		25(67.6)		0.33 ± 0.33
G3	10	7(70.0)		0.74 ± 0.16		8(80.0)		0.75 ± 0.41
临床分期			0.000		0.042		0.017	
I、II	18	3(16.7)		0.55 ± 0.19		9(50.0)		0.35 ± 0.39
III、IV	29	20(69.0)		0.67 ± 0.19		24(82.8)		0.46 ± 0.38
淋巴结转移			0.012		0.035		0.016	
N+	26	17(65.4)		0.68 ± 0.17		22(84.6)		0.51 ± 0.43
N0	21	6(28.6)		0.56 ± 0.21		11(52.4)		0.30 ± 0.30
吸烟			0.023		0.000		0.000	
阳性	38	22(57.9)		0.69 ± 0.13		32(84.2)		0.45 ± 0.41
阴性	9	1(11.1)		0.33 ± 0.12		1(11.1)		0.28 ± 0.23
年龄(岁)			0.143		0.055		0.324	
<60	15	5(33.3)		0.55 ± 0.18		9(60.0)		0.31 ± 0.33
≥60	32	18(56.3)		0.67 ± 0.19		24(75.0)		0.47 ± 0.41
解剖分区			0.671		0.740		0.148	
声门上区	21	11(52.4)		0.64 ± 0.18		17(81.0)		0.40 ± 0.41
声门区	26	12(46.2)		0.62 ± 0.21		16(61.5)		0.43 ± 0.38

平表达为 0.07 ± 0.06 , 结果提示 *Fra-2* mRNA 表达在癌组织中明显高于癌旁组织, 差异具有统计学意义($P = 0.000$), 见表 1。在 LSCC 组织当中, *Fra-1* 以及 *Fra-2* 基因 mRNA 表达在多个临床病理参数组内对比情况具体见表 2。

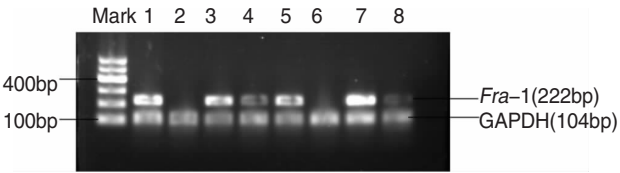


图 3 *Fra-1*mRNA 在 LSCC 组织以及癌旁组织中表达电泳图像,图中奇数表达的是 LSCC 电泳图,偶数表达的是癌旁正常组织电泳图,下图同

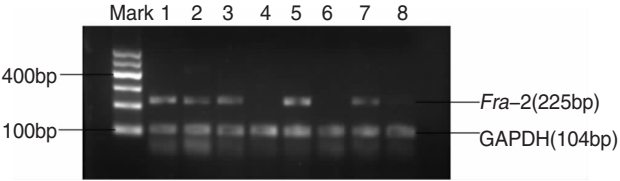


图 4 *Fra-2*mRNA 在 LSCC 组织以及癌旁组织中表达电泳图像

2.3 mRNA 水平表达 *Fra-1* 和 *Fra-2* 两者之间的直线相关性

Fra-1、*Fra-2* 在 LSCC 组织中 mRNA 表达量数值制作散点图呈现出直线趋势(图 5),随即行直线

相关性分析,结果显示 *Fra-1* 和 *Fra-2* 表达呈正相关($r = 0.570, P < 0.01$)。

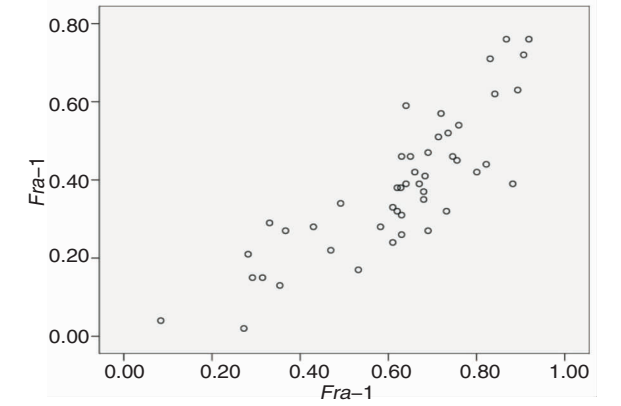


图 5 *Fra-1* 和 *Fra-2* 在 LSCC 组织中 mRNA 水平表达数值制作散点图

3 讨论

Fra-1、*Fra-2* 基因均存在于转录因子 AP-1 家族中 Fos 亚家族中^[4]。它们都对于 MAPK、PI3K、EGF-R 等信号通路都具有激活作用,通路活化后可调控细胞增殖、凋亡^[8]等途径促细胞恶性转化。

在本实验发现在 LSCC 组织中 *Fra-1*、*Fra-2* 和 mRNA 水平表达相比于癌旁组织均明显升高,经对比分析差异存在统计学意义。表明两者在肿瘤发生过程中均发挥了一定的作用。Kajanne 等^[9]研究针对前列腺癌中的 PC-3 以及 DU-145 细胞系分别实

施培养、辐射、增殖等处理,显示 *Fra-1*、*Fra-2* 均可通过多种途径激活 PI3K 通路,从而加快细胞的增殖速度。此外另有报道 *Fra-1* 以及 *Fra-2* 在 MAPK 磷酸化过程中也具有一定的促进作用,进而增加细胞转录促进表达增多^[10]。上述研究共同说明了 *Fra-1* 以及 *Fra-2* 对于细胞增殖均具有促进作用,并能够增强细胞的恶化能力。

LSCC 组织中 *Fra-1* 基因表达蛋白及 mRNA 水平与淋巴结转移、临床分期及吸烟相关。关于病理分级主要体现在 mRNA 水平上即相比于高分化组以及中分化组来说,低分化组显著增高。Annis 等^[11]对人类乳腺癌细胞系行刺激细胞外基质、侵袭检测及基因表达数据分析等试验,研究显示 uPA-SRC/RAF/MEK 信号通路激活可促进 *Fra-1* 磷酸化,进而增加乳腺癌细胞浸润和转移,并作为降低乳腺癌生存率的预后因素。而有学者^[12]将 IL-33 转染结肠癌细胞系后行 Western blot 检测,结果质粒转染组中 *Fra-1* 表达水平明显低于对照组,进一步行细胞 Wound healing 及 Transwell boyden 实验,显示 *Fra-1* 下降的实验组,细胞入侵和迁移数量出现明显下降。这两项研究结合本实验结果提示 *Fra-1* 在促进喉鳞癌浸润、转移中发挥作用,某种程度上促喉鳞状上皮进恶性转化。另外实验结果:吸烟阳性组高于阴性组,组间对比差异具有统计学意义($P < 0.05$)。相关文献 Zhang 等^[13]采用特异性免疫印迹法对分组的人类支气管上皮细胞全细胞裂解液行实验分析,结果:与未暴露吸烟烟雾中的对照组相比,实验组 *Fra-1* 表达水平显著升高。与本实验结果一致,提示吸烟烟雾可活化 *Fra-1* 表达增多。

Fra-2 基因表达的蛋白水平与淋巴结转移、临床分期及吸烟相关。mRNA 水平与病理分级有关,与淋巴结转移、吸烟以及年龄无明显相关($P > 0.05$)。Wang 等^[14]研究人肺癌 A549 细胞系,应用细胞转染、qRT-PCR 等技术对此细胞系进行相关实验,研究结果表明, *Fra-2* 与 Smad3 共同作用能够促进 TGF- β 1 激活,进而加速非小细胞肺癌细胞迁移。有学者^[15]研究验证了 *Fra-2*/*Jund* 异源二聚体能够与 SOX4 上的 AP-1 位点进行结合,发挥作用致成人 T 细胞淋巴瘤恶化。上述研究结果和笔者本次的研究结论一致。而 Zhang 等^[16]研究对肺腺癌细胞系应用质粒转染,表达产物行 Real-time quantitative PCR 与 Western blotting 分析,结论为肺腺癌转移水平提升的患者,其 MUC5A 表达强度也得到了一定的增加。通过综合研究的数据显示^[17]:吸烟而产生的烟

雾能够对 *Fra-2* 的上下游通路形成激活作用,从而加快恶性细胞的转移速度。Gupta 等^[18]研究采用 RT-PCR 技术和 Western blotting 技术分别针对舌癌组织、癌前病变组织、正常舌组织展开了相关的实验和研究,研究结果表明,和舌癌前病变组织和正常的舌组织相比,舌癌组织和舌癌细胞株在 *c-fos*/*Fra-2* 转录水平上明显更高,这一结果验证了这一异源二聚体的大量表达能够在一定程度上加快舌组织细胞异型性的增殖速度。这一研究结果与本次研究结果也相吻合。上述研究结果均表明, *Fra-2* 基因主要可以通过间接作用或形成异源二聚体直接作用方式来促进肿瘤的发生并加快肿瘤的发展速度。

取 *Fra-1* 与 *Fra-2* mRNA 表达量数值行相关性分析发现, *Fra-1* 和 *Fra-2* 符合线性趋势,故对两者进行直线相关分析。结果示 *Fra-1* 和 *Fra-2* 表达呈正相关($r = 0.570, P < 0.01$)。Adiseshaiah 等^[19]研究中发现, *Fra-2* 在表达过程中能够与 *Fra-1* 的启动子上包含 AP-1 的位点进行结合,从而对 *Fra-1* 基因转录产生激活功能。另 Adiseshaiah 等^[20]研究发现 *Fra-1* 激活后可使下游 ERK 通路活性增强,而 ERK 的激活是 *Fra-2* 激活的重要步骤^[21]。表明 *Fra-1* 可间接促进 *Fra-2* 激活。这些结论与本次实验结果一致。

人们在研究肿瘤的过程中逐渐意识到 *Fra-1*、*Fra-2* 这两种基因的重要性。本次研究结果显示, *Fra-1* 以及 *Fra-2* 在 LSCC 组织当中的基因发生了非常显著的表达升高,并且它们之间的激活也呈现出正相关性,表明此两种基因能够利用类似的方法并相互影响对 LSCC 发生、发展产生一定促进作用,对 *Fra-1*、*Fra-2* 表达水平的检测可以为喉癌的诊断、进展及预后提供重要参考价值,同时也可作为基因靶向治疗提供可参考靶点。

参考文献:

- [1] Aravind L, Landsman D. AT-hook motifs identified in a wide variety of DNA-binding proteins [J]. Nucleic Acids Res, 1998, 26 (19): 4413 - 4421.
- [2] 江培洲, 沈新明, 黄华. 癌基因与抑癌基因的表达研究进展 [J]. 国外医学(肿瘤学分册), 2001, 28(2): 89 - 92.
Jiang PZ, Shen XM, Huang H. Progresses in tumor oncogenes and suppressor oncogenes expression [J]. Foreign Medical Sciences (Cancer Section), 2001, 28(2): 89 - 92.
- [3] Zoumpouris V, Papassava P, Linardopoulos S, et al. High levels of phosphorylated c-Jun, Fra-1, Fra-2, and ATF-2 proteins correlate with malignant phenotypes in the multistage mouse skin carcinogenesis mode [J]. Oncogene, 2000, 19(35): 4011 - 4021.

- [4] Trop-Steinberg S, Azar Y. AP-1 expression and its clinical relevance in immune disorders and cancer[J]. Am J Med Sci, 2017, 353(5):474–483.
- [5] 胡艳萍, 刘洪刚. 喉癌前病变的病理诊断差异性及预后分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 49(12):979–985.
- Hu YP, Liu HG. Histopathological variability and the prognosis of laryngeal premalignant lesions[J]. Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2014, 49(12):979–985.
- [6] 杨成章. 实用耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010:489–490.
- Yang CZ. Practical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010:489–490.
- [7] Zuo JJ, Tao ZZ, Chen C, et al. Characteristics of cigarette smoking without alcohol consumption and laryngeal cancer: overall and time-risk relation. A meta-analysis of observational studies[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2017, 274(3):1617–1631.
- [8] Usui A, Hoshino I, Akutsu Y, et al. The molecular role of Fra-1 and its prognostic significance in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 2012, 118(13):3387–3396.
- [9] Kajanne R, Miettinen P, Tenhunen M, et al. Transcription factor AP-1 promotes growth and radioresistance in prostate cancer cells[J]. Int J Oncol, 2009, 35(5):1175–1182.
- [10] Eckert RL, Adhikary G, Young CA, et al. AP1 transcription factors in epidermal differentiation and skin cancer[J]. J Skin Cancer, 2013:537028.
- [11] Annis MG, Ouellet V, Rennhack JP, et al. Integrin-uPAR signaling leads to FRA-1 phosphorylation and enhanced breast cancer invasion[J]. Breast Cancer Res, 2018, 20(1):9.
- [12] W Feng, P Shi, B Lei, et al. IL-33 influenced the development of colorectal cancer via regulation Fra-1[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2017, 10(1):467–472.
- [13] Zhang Q, Adiseshaiah P, Sekhar P, et al. Matrix metalloproteinase/epidermal growth factor receptor/mitogen-activated protein kinase signaling regulate fra-1 Induction by cigarette smoke in lung epithelial cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005, 32(1):72–81.
- [14] Wang J, Sun D, Wang Y, et al. FOSL2 positively regulates TGF- β 1 signalling in non-small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2014, 9(11):e112150.
- [15] Higuchi T, Nakayama T, Arai T, et al. SOX4 is a direct target gene of FRA-2 and induces expression of HDAC8 in adult T-cell leukemia/lymphoma[J]. Blood, 2013, 121(18):3640–3649.
- [16] Zhang ZQ, Zhu ZX, Bai CX, et al. Aquaporin 5 expression increases mucin production in lung adenocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2011, 25(6):45–50.
- [17] Gensch E, Gallup M, Sucher A, et al. Tobacco smoke control of mucin production in lung cells requires oxygen radicals AP-1 and JNK[J]. J Biol Chem, 2004, 279(37):85–93.
- [18] Gupta S, Kumar P, Kaur H, et al. Selective participation of c-Jun with Fra-2/c-Fos promotes aggressive tumor phenotypes and poor prognosis in tongue cancer[J]. Sci Rep, 2015, 5:16811.
- [19] Adiseshaiah P, Papaiahgari SR, Vuong H, et al. Multiple cis-elements mediate the transcriptional activation of human fra-1 by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in bronchial epithelial cells[J]. J Biol Chem, 2003, 278(48):47423–47433.
- [20] Adiseshaiah P, Li J, Vaz M, et al. ERK signaling regulates tumor promoter induced c-Jun recruitment at the Fra-1 promoter [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 371(2):304–308.
- [21] Reich N, Maurer B, Akhmetshina A, et al. The transcription factor Fra-2 regulates the production of extracellular matrix in systemic sclerosis[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(1):280–290.

(收稿日期:2019-01-08)

本文引用格式:张云龙, 宋晓飞, 段云静, 等. *Fra-1* 与 *Fra-2* 基因在喉鳞状细胞癌中的表达研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019, 25(6):639–644. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.201906014

Cite this article as: ZHANG Yun-long, SONG Xiao-fei, DUAN Yun-jing, et al. Expression of *Fra-1* and *Fra-2* in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2019, 25(6):639–644. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.201906014