

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.07.004

· 专题报道(临床研究) ·

GRHL3和c-Myc在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其临床意义

韩晓楠, 邓佳, 安入征, 张翔宇, 刘丽华(河北医科大学第四医院 肿瘤免疫科, 河北 石家庄, 050035)

[摘要] **目的:** 研究食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者肿瘤组织及癌旁组织中GRHL3和c-Myc的表达情况及其临床意义。**方法:** 收集2015年4月至2016年7月在河北医科大学第四医院胸外科行肿瘤切除并经病理证实的64例ESCC患者的肿瘤组织、癌旁组织, 采用Real-time PCR法和免疫组化法检测GRHL3和c-Myc基因的mRNA和蛋白表达情况, 分析其与患者临床特征的关系。**结果:** 与癌旁组织相比, ESCC组织中GRHL3 mRNA表达水平和蛋白阳性表达水平均显著升高[(2.85±2.83) vs (2.06±2.02), $P<0.01$; 81.30% vs 25.00%, $P<0.01$], ESCC组织中c-Myc mRNA表达水平和蛋白阳性表达水平均显著升高[5.13±5.11 vs (2.03±2.00), $P<0.01$; 42.20% vs. 20.30%, $P<0.01$]. ESCC组织中GRHL3 mRNA的表达与c-Myc mRNA的表达呈显著正相关关系($P<0.05$), GRHL3蛋白表达和c-Myc蛋白表达也呈显著正相关($P<0.01$)。GRHL3蛋白表达和c-Myc蛋白表达与患者肿瘤浸润程度、淋巴结转移、临床分期、分化程度相关。**结论:** ESCC患者肿瘤组织中GRHL3与c-Myc表达水平显著提高, 两者表达呈正相关, 且两者与患者临床病理特征密切相关, 可能是影响ESCC病理进程的重要因素。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; c-Myc基因; GRHL3基因**[中图分类号]** R735.1; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)07-0716-05

Expression of GRHL3 and c-Myc in esophageal squamous cell carcinoma tissue and its clinical significance

HAN Xiaonan, DENG Jia, AN Ruzheng, ZHANG Xiangyu, LIU Lihua (Department of Tumor Immunology, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To study expression situation of GRHL3 and c-Myc in the neoplastic and para-carcinoma tissues of the patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and its clinical significance. **Methods:** Pathological confirmed neoplastic and para-carcinoma tissues of the 64 patients with ESCC who were hospitalized in Department of chest surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University for tumor resection during April 2015 to July 2016 were collected. Real-time PCR and immunohistochemistry assays were used to detect expressions of mRNA and proteins of GRHL3 and c-Myc genes. Relationship of the expressions of mRNA and proteins of GRHL3 and c-Myc genes with clinical features of the patients with ESCC were analyzed. **Results:** Comparing with the para-carcinoma tissues, positive expression levels of GRHL3mRNA and GRHL3 protein in the ESCC tissue were obviously raised (mRNA: 2.85±2.83 vs 2.06±2.02, protein: 81.30% vs 25.00%, all $P<0.01$), positive expression levels of cMyc mRNA and cMyc protein in the ESCC tissue also significantly risen (mRNA: 5.13±5.11 vs 2.03±2.00, protein: 42.20% vs 20.30%, all $P<0.01$). In the ESCC tissue, expression of GRHL3mRNA and expression of cMyc mRNA were positively correlated obviously ($P<0.05$), expression of GRHL3 protein and expression of cMyc protein were also positively correlated significantly ($P<0.01$). Expressions of GRHL3 and cMyc proteins were related to tumor infiltration range, lymph node metastasis, clinical staging and differentiation degree of the patients with ESCC (all $P<$

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(No.H2012206135), 河北省杰出青年基金资助项目(No. H2014206320)。Project supported by the Young Scientists Program of the National Natural Science Foundation of China (No.H2012206135), and the Natural Science Foundation of Hebei Province(No. H2014206320)

[作者简介] 韩晓楠(1989-), 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤生物治疗的临床与基础研究, E-mail: hanxn1990@163.com**[通信作者]** 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author), 博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤生物治疗、肿瘤免疫的基础与临床研究, E-mail: lihualiu567@hotmail.com**[优先发表]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170707.1519.008.html>

0.05). **Conclusion:** Expression levels of *GRHL3* and *cMyc* in the neoplastic tissues of the patients with ESCC were significantly raised, positive correlation was found between the both expressions, the both expressions were closely related to partial clinicopathological features of the patients with ESCC, which could be key factors that affecting pathological process of the ESCC.

[Key Words] esophageal squamous cell cancer; *c-Myc* gene; *GRHL3* gene

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(7): 716-720. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.07.004]

食管癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,约50%发生在中国。在我国,超过90%的食管癌患者病理类型为鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)^[1]。ESCC的治疗方法主要包括手术、放疗、化疗和免疫生物治疗,尽管近年来治疗方法不断进步,ESCC患者整体的治疗效果仍不乐观^[2]。作为一种高度恶性肿瘤,ESCC发生发展与原癌基因激活和抑癌基因异常表达有关,因此在基因水平研究ESCC有利于明确其生物学特征,以更好地指导临床治疗策略^[1]。转录因子GRHL3(grainyhead-like 3)在人类多种肿瘤中异常表达,尤其与肿瘤的增殖、转移和侵袭等密切相关,沉默GRHL3蛋白的表达可使细胞上皮极性丧失并获得间质特性,形成上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),目前尚无GRHL3在ESCC表达情况的报道。*c-Myc*是一种最先在Burkitt淋巴瘤中发现的原癌基因,随后发现其异常表达与细胞恶变密切相关,广泛存在于多种肿瘤中^[3]。本实验通过研究ESCC组织及癌旁组织内GRHL3和*c-Myc*的表达水平,探讨两者的相关性及其与患者临床病理特征的关系,旨在为深入研究GRHL3和*c-Myc*在ESCC侵袭转移中的作用奠定基础。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2015年4月至2016年7月于河北医科大学第四医院胸外科行手术切除术的ESCC患者64例,其中男性44例,女性20例,年龄48~71岁,平均年龄(63.7±6.7)岁。按UICC标准对患者TNM分期:I期6例,II期29例,III期29例;按WHO肿瘤病理学分级标准:高分化23例,中分化21例,低分化20例。每例患者取距离癌灶边缘3~5 cm的癌旁组织作为阴性对照。所有患者术前3个月内均未行任何抗肿瘤治疗。术中切除的样本一部分置于液氮冻存以提取RNA用于Real-time PCR检测,另一部分包埋蜡块并切片以备免疫组化检测。所有标本及临床资料的采集征得患者同意并签署知情同意书,并经医院医学伦理委员会批准。

1.2 主要试剂和仪器

总RNA提取试剂TRIzol购自美国Invitrogen公司,反转录试剂盒购自美国Promega公司,2×GoTaq Master Mix购自美国Promega公司,Real-time PCR引物由北京鼎国生物技术公司合成,引物序列及条件见表1。兔抗人GRHL3多克隆抗体为美国ThermoFisher公司产品,兔抗人*c-Myc*多克隆抗体为美国Santa Cruz公司产品,SP试剂盒和DAB试剂盒均为北京中山金桥公司产品。7500 Real-time PCR System仪为Applied Biosystems公司产品。

表1 *GRHL3*、*c-Myc*及*GAPDH*基因引物序列
Tab. 1 Primer sequences of *GRHL3*, *c-Myc* and *GAPDH* genes

Gene	Primer	Annealing temperature (t/°C)	Product size (bp)
<i>GRHL3</i>	F: 5'-GCAAGCGAGGAATCTTAGTCAA-3'	60	244
	R: 5'-ACGTGGTTGCTGTAATGCTGA-3'		
<i>c-Myc</i>	F: 5'-CGTCCTCGGATTCTCTGCTC-3'	60	296
	R: 5'-GCTGGTGCATTTTCGGTTGT-3'		
<i>GAPDH</i>	F: 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	57	154
	R: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'		

1.3 Real-time PCR检测GRHL3和c-Myc mRNA在ESCC组织和癌旁组织中的表达

按TRIzol试剂说明书提取ESCC组织和癌旁组织的总RNA,采用紫外分光光度计测量纯度及含量,

参照反转录试剂盒说明书加样,以 1 μg 总 RNA 作为模板,将 RNA 反转录为 cDNA。每份 cDNA 均稀释 5 倍后作为模板,加入 Real-time PCR 反应体系进行 PCR 扩增,同时扩增 *GAPDH* 作为内参照。总反应体系 10 μl : 2 \times GoTaq Master Mix 5 μl , 上下游引物各 0.4 μl , cDNA 模板 4.6 μl 。扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s、退火 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 共 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 min。使用 Real-time PCR 仪对 *GRHL3* 和 *c-Myc* mRNA 表达水平进行实时荧光定量分析,绘制溶解曲线。以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算 ESCC 组织与其癌旁组织基因 mRNA 的相对表达水平。随机选取 10% 标本,进行重复实验 5 次。

1.4 免疫组化法检测 GRHL3 和 c-Myc 蛋白表达

按照免疫组化 SP 法试剂盒说明书操作。将厚度为 4 μm 的标本石蜡切片常规脱蜡水化, pH 6.0 100 \times 抗原修复液修复 10 min, 3% H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶, 加入抗 GRHL3 (1:200) 或 c-Myc (1:100) 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 加入生物素化二抗和辣根过氧化物酶标记链霉卵白素工作液, DAB 显色, 苏木精复染, 脱水封片。阴性对照组以 PBS 替代一抗处理, 其余步骤同前。每个标本随机选择 5 个视野 ($\times 200$) 计算阳性细胞百分率: 阳性细胞率 $\leq 25\%$ 为 0 分, 26%~50% 为 1 分, 51%~75% 为 2 分, $> 75\%$ 为 3 分。同时按阳性细胞的染色强度计分: 无显色为 0 分, 浅棕黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。将上述 2 项得分相加: 0 分为“-”, 1~2 分为“+”, 3~4 分为“++”, 5~6 分为“+++”; 将“++”和“+++”判定为阳性表达, 将“-”和“+”判定为阴性表达。采用双盲法, 由 3 名有经验的临床病理医师阅片评分, 取均值判定结果。

1.5 统计学处理

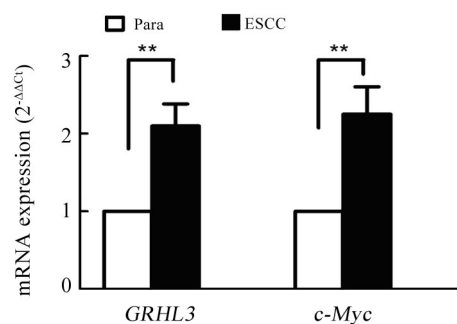
采用 SPSS 21.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 基因表达水平比较采用配对 *t* 检验和 Wilcoxon 符号秩检验, 不同基因 mRNA 表达水平相关性分析采用 Kappa 检验; 蛋白阳性表达率比较采用 χ^2 检验, 不同蛋白在同一种组织中表达关系分析采用 Spearman 相关性检验; McNemar 检验分析基因与蛋白表的达相关性。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCC 组织 GRHL3 和 c-Myc mRNA 高表达

Real-time PCR 检测结果(图 1)显示, 肿瘤组织中 *GRHL3* mRNA 的表达水平显著高于癌旁组织 ($P < 0.01$), 肿瘤组织中 *c-Myc* mRNA 的表达水平也显著高于癌旁组织 ($P < 0.01$)。 *GRHL3* mRNA 与 *c-Myc*

mRNA 的表达水平呈显著正相关 ($P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs Para group

Para: Para-carcinoma tissues

图 1 ESCC 组织和癌旁组织中 *GRHL3* 和 *c-Myc* mRNA 的表达

Fig. 1 Expressions of *GRHL3* and *c-Myc* mRNA in the tumor tissues and their para-carcinoma tissues of the patients with ESCC

2.2 ESCC 组织中 GRHL3 和 c-Myc 蛋白高表达

GRHL3 蛋白亚细胞定位于胞质, c-Myc 蛋白亚细胞定位于细胞核(图 2)。ESCC 肿瘤组织中 GRHL3 蛋白和 c-Myc 蛋白表达阳性率均显著高于癌旁组织[GRHL3 蛋白: 81.3%(52/64) vs 25.0%(16/64), $\chi^2 = 40.659$, $P < 0.01$; c-Myc 蛋白: 62.5%(40/64) vs 18.80%(12/64), $\chi^2 = 25.393$, $P < 0.01$]。在 ESCC 组织中, *c-Myc* mRNA 表达水平与蛋白表达阳性率一致 ($r = 0.688$), *GRHL3* mRNA 表达水平与蛋白表达阳性率存在一致性 ($r = 0.727$)。GRHL3 蛋白与 c-Myc 蛋白的表达也具有相关性 ($P < 0.01$, 表 2)。

2.3 ESCC 组织中 GRHL3 和 c-Myc 蛋白表达阳性与患者临床病理特征的关系

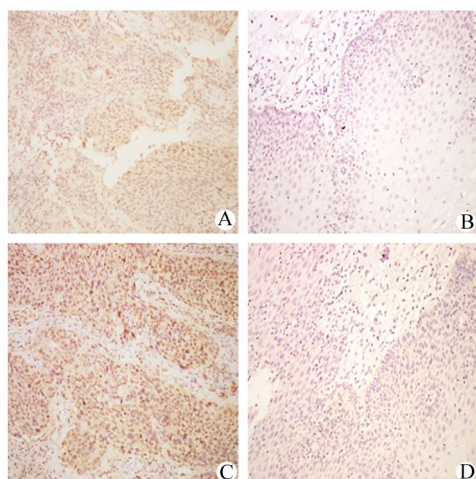
在 ESCC 组织中, GRHL3 和 c-Myc 蛋白表达阳性与肿瘤分化程度、侵袭深度、淋巴结转移、临床分期均呈正相关 ($P < 0.05$), 与患者年龄、性别无相关性 ($P > 0.05$)(表 3)。

3 讨论

食管鳞癌是一种恶性程度较高、易向周围组织侵袭和转移的肿瘤。ESCC 的进展与多种基因异常表达密切相关^[1]。研究 ESCC 患者相关基因与临床特征的关系, 有助于深入了解 ESCC 的侵袭转移过程。c-Myc 是原癌基因 Myc 家族的重要成员之一, 是一种和 DNA 结合的核转录因子, 调控 DNA 转录^[4]。通过调控基因表达影响细胞的生物学行为, 在细胞周期

调控、程序性细胞死亡和永生过程中发挥重要作用^[5-7]。*c-Myc* 基因在正常组织中不表达或只有低水平表达,而在淋巴瘤、乳腺癌、结肠癌、恶性黑色素瘤中呈异常高表达状态^[8],与恶性肿瘤的发生发展有十分密切的关系。本研究结果显示,ESCC 组织中 *c-Myc* mRNA 表达水平显著高于癌旁组织,同时 ESCC 组织中 *c-Myc* 蛋白表达阳性率也显著高于癌旁组织,并与其基因表达显著正相关,说明 *c-Myc* 在 ESCC 中高表达,且不存在转录后调控现象。

病理特征的关系,结果发现其与肿瘤的浸润程度、淋巴结转移、临床分期、肿瘤分化程度密切相关,而与患者性别、年龄无关,说明 *c-Myc* 基因在 ESCC 的侵袭与转移中可能发挥重要作用。*GRHL3* 是转录因子 GRHL 家族的成员之一,在人类多种疾病中异常表达,与肿瘤的增殖、转移和侵袭等密切相关。



A: Positive staining of GRHL3 protein in tumor tissues;
B: Negative staining of GRHL3 protein in para-carcinoma tissues;
C: Positive staining of c-Myc protein in tumor tissues;
D: Negative staining of c-Myc protein in para-carcinoma tissues

图2 ESCC组织和癌旁组织中GRHL3与c-Myc蛋白的表达(SP, ×200)

Fig. 2 Expressions of GRHL3 and c-Myc proteins in the ESCC tissue and the para-carcinoma tissue (SP, ×200)

表2 ESCC组织中GRHL3与c-Myc蛋白表达之间的相关性
Tab. 2 Correlation between expressions of GRHL3 and c-Myc proteins in the ESCC tissues

GRHL3 expression	c-Myc expression		n	r	P
	+	-			
+	36	16	52		
-	4	8	12	0.440	0.000
n	40	24	64		

为了明确 *c-Myc* 表达与 ESCC 临床病理特征的关系,本研究分析了 *c-Myc* 蛋白阳性表达与患者临床

表3 ESCC组织中GRHL3和c-Myc蛋白表达与患者临床病理特征的关系

Tab. 3 Correlations between the GRHL3 and c-Myc protein expression statuses and clinicalpathological features of the patients with ESCC

	N	GRHL3		c-Myc	
		n	P	n	P
Gender					
Male	44	35	0.604	26	0.403
Female	20	17		14	
Age					
≤60	33	27	0.904	20	0.747
>60	31	25		20	
Differentiation					
Well+Moderate	28	17	<0.01	13	0.019
Poor	36	35		27	
Stage					
I + II	35	25	0.027	12	<0.01
III	29	27		28	
Invasion range					
T1+T2	21	14	0.037	9	0.023
T3	43	38		31	
Lymph node metastasis					
N0	29	20	0.022	13	0.008
N1+N2+N3	35	32		27	

目前对 *GRHL3* 在肿瘤细胞中的表达及生物学功能研究较少,仅在乳腺癌^[9-11]、淋巴瘤^[12]、皮肤鳞癌^[13]、头颈部鳞癌^[14]、基底细胞癌^[15]中有少量研究,且其作用机制不清。皮肤鳞癌中抑癌基因 *PTEN* 是 *GRHL3* 直接靶基因,同样发现 *GRHL3* 表达缺失的表皮中 *PTEN* 表达水平减少;致癌基因 *miR-21* 同时导致 *GRHL3* 和 *PTEN* 表达水平降低,机制为导致 *PI3K/AKT/mTOR* 信号通路的激活^[13]。基底细胞癌中 *miR-21* 同样靶向 *GRHL3* 导致甲状腺激素的表达水平减少^[15]。头颈部鳞癌中 *GRHL3* 的表达缺失诱发 *GSK3B* 的表达减少,导致 *c-Myc* 表达水平的增加,促进鳞癌细胞侵袭和转移^[14]。有研究证明^[16]在胰腺癌

中, *PTEN* 基因在转录水平上抑制内源性和外源性 *c-Myc* 的表达, 并且将 *PTEN* 基因转染胰腺癌细胞系中将导致细胞凋亡, 抑制细胞生长和抑制裸鼠移植瘤的形成。GRHL3 可能通过 PTEN/PI3K/AKT/mTOR 信号通路调节 *c-Myc* 的表达水平, 此机制有待于进一步验证。目前国内外尚无 GRHL3 基因在 ESCC 中表达水平的报道。本研究应用 Real-time PCR 及免疫组化分析了 ESCC 组织和癌旁组织中 GRHL3 的 mRNA 及蛋白表达水平, 结果显示, 在 ESCC 组织中 GRHL3 mRNA 表达水平及蛋白阳性表达率均显著高于癌旁组织。为了探讨 GRHL3 与 ESCC 发生发展的关系, 笔者分析了 ESCC 组织中 GRHL3 表达水平与患者临床病理特征的关系, 结果发现 ESCC 组织中 GRHL3 蛋白阳性表达与肿瘤浸润程度、淋巴结转移、临床分期、肿瘤分化程度呈正相关, GRHL3 蛋白阳性表达率越高, 患者预后越差, 说明 GRHL3 可能影响 ESCC 的侵袭转移。进一步通过相关性分析发现, GRHL3 和 *c-Myc* 表达在 mRNA 水平和蛋白水平均呈显著正相关, 结合 Georgy 等^[14]的研究发现, GRHL3 的表达缺失导致了 *c-Myc* 表达水平的增加, 增加了鳞癌细胞侵袭和转移能力, 故推测 ESCC 中 GRHL3 可能通过 *c-Myc* 通路调控 ESCC 的恶性行为, 诱导 ESCC 侵袭转移。

综上所述, GRHL3 和 *c-Myc* 的表达与 ESCC 患者的临床病理特征密切相关, 在 ESCC 的进展过程中可能发挥重要作用。故推断 GRHL3 和 *c-Myc* 可能通过激活下游靶基因发挥作用, 可用于判断 ESCC 预后的分子标志物。本研究为进一步深入探讨其作用机制奠定一定基础, 为 ESCC 的治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] MOLITORIS J K, MCCOLL K S, DISTELHORST C W. Glucocorticoid-mediated repression of the oncogenic microRNA cluster mir-17-92 contributes to the induction of bim and initiation of apoptosis [J]. *Mol Endocrinol*, 2011, 25(3):409-420. DOI: 10.1210/me.2010-0402.
- [2] ZHU C M, LING Y H, XI S Y, et al. Prognostic significance of the pN classification supplemented by vascular invasion for esophageal squamous cell carcinoma [J/OL]. *PloS One*, 2014, 9(4): e96129 [2017-04-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096129>. DOI: 10.1371/journal.pone.0096129.
- [3] JOENSUU K, HAGSTROM J, LEIDENIUS M, et al. Bmi-1, *c-myc*, and Snail expression in primary breast cancers and their metastases-elevated Bmi-1 expression in late breast cancer relapses[J]. *Virchows Arch*, 2011, 495(1): 31-39. DOI: 10.1007/s00428-011-1096-8.
- [4] MARCU K B, BOSSONE S A, PATEL A J, et al. *myc* function and regulation[J]. *Annu Rev Biochem*, 1992, 61(1): 809-811. DOI: 10.1146/annurev.bi.61.070192.004113.5.
- [5] GEARHART J, PASHOS E E, PRASAD M K. Pluripotency redux-advances in stem-cell research[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(15): 1469-1472. DOI:10.1056/NEJMp078126.
- [6] MILLER D M, THOMAS S D, ISLAM A, et al. *c-Myc* and cancer metabolism[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(20): 5546-5553. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977.
- [7] KNIES-BAMFORTH U E, FOX S B, POULSOM R, et al. *c-Myc* interacts with hypoxia to induce angiogenesis in vivo by a vascular endothelial growth factor-dependent mechanism[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(18): 6563-6570. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-03-3176.
- [8] BEROUKHIM R, MERMEL C H, PORTER D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers [J]. *Nature*, 2010, 463(7283):899-905. DOI: 10.1038/nature08822.
- [9] KUMAR R, SELTH L A, SCHULZ R B, et al. Genomewide mapping of ZNF652 promoter binding sites in breast cancer cells[J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(10): 2742-2747. DOI: 10.1002/jcb.23214.
- [10] XU H, LIU C, ZHAO Z, et al. Clinical implications of GRHL3 protein expression in breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(3): 1827-1831. DOI: 10.1007/s13277-013-1244-7.
- [11] PANIS C, PIZZATTI L, HERRERA A C, et al. Putative circulating markers of the early and advanced stages of breast cancer identified by high-resolution label-free proteomics[J]. *Cancer Lett*, 2013, 330(1): 57-66. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.020.
- [12] LIU W, HA M, WANG X, et al. Clinical significance of GRHL3 expression in diffuse large B cell lymphoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7):9657-9661. DOI: 10.1007/s13277-015-4772-5.
- [13] DARIDO C, GEORGY S R, WILANOWSKI T, et al. Targeting of the tumor suppressor GRHL3 by a miR-21-dependent proto-oncogenic network results in PTEN loss and tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2011, 20(5): 635-648. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.10.014.
- [14] GEORGY S R, CANGKRAMA M, SRIVASTAVA S, et al. Identification of a novel proto-oncogenic network in head and neck squamous cell carcinoma[J/OL]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(9): 152 [2017-04-15]. <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djv152>. DOI: 10.1093/jnci/djv152.
- [15] DI GIROLAMO D, AMBROSIO R, DE STEFANO M A, et al. Reciprocal interplay between thyroid hormone and microRNA-21 regulates hedgehog pathway-driven skin tumorigenesis[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6):2308-2320. DOI: 10.1172/JCI84465.
- [16] ASANO T, YAO Y, ZHU J, et al. The PI3-kinase/Akt signaling pathway is activated due to aberrant Pten expression and targets transcription factors NF-kappaB and *c-Myc* in pancreatic cancer cells. [J]. *Oncogene*, 2004, 23(53): 8571-8580. DOI:10.1038/sj.onc.1207902.

[收稿日期] 2017-01-15

[修回日期] 2017-05-20

[本文编辑] 宋美鸿