

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.08.005

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.08.005>

喉癌组织中 RECK, MMP-2 及 C-FOS 的表达变化 及与临床病理特征的关系

左文娜, 朱虹, 李立萍, 金爱燕, 王强, 王洪琴

(沧州市中心医院耳鼻喉科, 河北 沧州 061001)

[摘要] 目的: 观察 RECK, MMP-2, C-FOS 基因在喉癌组织、癌旁组织及正常黏膜组织中的表达情况, 探讨其与临床病理特征之间的相关性。方法: 选取 2015 年 1 月至 2017 年 7 月在沧州市中心医院收集的 45 例患者中的喉癌组织、34 例癌旁组织及 10 例正常黏膜组织, 采用 PCR 和蛋白质印迹检测各组织中 RECK, MMP-2 及 C-FOS mRNA 和蛋白的表达情况并分析其与临床病理特征之间的相关性。结果: 喉癌组 RECK, MMP-2 及 C-FOS mRNA 和蛋白的表达分别为 0.67 ± 0.24 , 3.05 ± 0.14 , 2.79 ± 0.16 , 4.15 ± 2.33 , 5.87 ± 2.41 , 3.25 ± 2.63 , 与正常组比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 喉癌组 MMP-2 mRNA 和蛋白的表达分别为 1.26 ± 0.18 , 3.57 ± 1.74 , 与癌旁组比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。病理分级及临床分期不同的喉癌组织 RECK, MMP-2, C-FOS 阳性率的差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 淋巴转移的喉癌组织中 RECK, MMP-2 阳性率的差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论: RECK, MMP-2 及 C-FOS 在喉癌组织、癌旁组织及正常喉黏膜组织中均有不同程度表达; 在喉癌组织中 RECK 呈低表达趋势, MMP-2 及 C-FOS 呈高表达趋势。

[关键词] 喉癌; RECK; MMP-2; C-FOS; 临床病理特征

Expression of RECK, MMP-2 and C-FOS in laryngocarcinoma and its relationship with clinicopathological characteristics

ZUO Wenna, ZHU Hong, LI Liping, JIN Aiyan, WANG Qiang, WANG Hongqin

(Department of Ear-Nose-Throat, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou Hebei 061001, China)

Abstract **Objective:** To observe the expressions of RECK, MMP-2 and C-FOS genes in laryngeal carcinoma tissues, adjacent normal tissues and normal mucosa tissues, and explore the correlation between them and clinicopathological features. **Methods:** A total of 45 cases of laryngeal carcinoma, 34 paraneoplastic tissues, and 10 normal mucosal tissues were collected in our hospital from January 2015 to July 2017. The expressions of RECK, MMP-2 and C-FOS mRNA and protein in each tissue were detected by PCR and Western blot, and their correlation with clinicopathological features was analyzed. **Results:** The expressions of RECK, MMP-2 and C-FOS mRNA and protein in laryngeal cancer group were 0.67 ± 0.24 , 3.05 ± 0.14 , 2.79 ± 0.16 , 4.15 ± 2.33 , 5.87 ± 2.41 , 3.25 ± 2.63 , respectively, compared with the normal group, the difference was statistically significant (all

收稿日期 (Date of reception): 2019-02-12

通信作者 (Corresponding author): 王洪琴, Email: yigeyisheng99@126.com

$P < 0.05$). The expression of MMP-2 mRNA and protein in the laryngeal cancer group were 1.26 ± 0.18 , 3.57 ± 1.74 , compared with the paracancerous group, the difference was statistically significant (all $P < 0.05$). The positive rates of RECK, MMP-2 and C-FOS in laryngeal cancer tissues with different pathological grades and clinical stages were statistically significant (all $P < 0.05$). The positive rates of RECK and MMP-2 in laryngeal carcinoma with lymph node metastasis were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion:** RECK, MMP-2 and C-FOS are expressed in different degrees in laryngeal carcinoma tissues, adjacent normal tissues and normal laryngeal mucosa tissues. RECK shows a low expression trend and high expression of MMP-2 and C-FOS in laryngeal carcinoma tissues.

Keywords laryngocarcinoma; RECK; MMP-2; C-FOS; clinicopathological characteristics

喉癌是临床发病率较高的恶性肿瘤, 其发生与原癌基因激活、病毒感染、环境污染、吸烟及饮酒等有关, 喉癌在耳鼻喉科的恶性肿瘤中约占13.9%, 其中以喉鳞状细胞癌(squamous carcinoma of larynx, LSCC)最常见^[1]。目前, 研究^[2-3]已证实RECK, MMP-2及C-FOS癌基因在喉癌细胞的浸润、转移过程中起关键作用。流式细胞技术检测结果^[4-5]表明: RECK蛋白在喉癌组织中呈低表达, MMP-14蛋白呈高表达, 且RECK与MMP-2之间存在负相关线性关系($r = -0.084$, $P < 0.05$)。本研究在前期的基础上采用PCR和蛋白质印迹检测了RECK, MMP-2及C-FOS mRNA和蛋白在各组织中的表达情况, 并探讨其与临床病理特征之间的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2015年1月至2017年7月在沧州市中心医院收集的45例经病理学确诊为喉鳞状细胞癌患者的喉癌组织(喉癌组)、34例癌旁组织(癌旁组)及10例非喉癌患者喉部正常黏膜组织(正常组)。喉癌组中男25例, 女20例, 年龄37~69(51.8 ± 4.2)岁; 病理学分级: G₁组12例, G₂组22例, G₃组11例;

喉癌分型: 声门型16例, 声门上型22例, 声门下型4例, 跨声门型3例; 根据2001年国际抗癌协会(UICC)公布的TNM临床分类分期标准, 其中I~II期19例, III~IV期26例; 术后检测颈部淋巴结转移者13例, 无淋巴结转移者32例; 癌肿直径 ≤ 3 cm者32例, > 3 cm者13例。癌旁组中男15例, 女19例, 年龄39~70(53.1 ± 3.6)岁; 对照组中男4例, 女6例, 年龄35~65(50.5 ± 2.4)岁。三组患者性别、年龄等一般资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有纳入的研究对象术前均未接受放疗、化疗及其他免疫治疗, 且签署知情同意书, 并获得沧州市中心医院医学伦理委员会审批。

1.2 主要试剂与仪器

RECK鼠抗人单克隆抗体(批号: SC-28918)购于美国Santa Cruz公司; MMP-2兔抗人多克隆抗体(批号: ZA-0331)、山羊抗兔IgG/辣根酶标记(批号: 122107)购于北京中杉金桥生物技术有限公司; C-FOS兔抗人多克隆抗(批号: 28793)购于武汉博士德生物有限公司。ECL显色试剂(批号: 1515601)购于美国Millipore公司。RECK, MMP-2, C-FOS引物均由上海生物工程有限公司合成(表1); ABI 7500 PCR仪购于美国ABI公司, 电泳仪及凝胶成像系统均购于美国BIO-RID公司。

表1 引物名称及序列

Table 1 Primer names and sequences

引物名称	上游引物	下游引物
GAPDH	5'-AACGGATTGGTTCGTATTG-3'	5'-GGAAGATGGTGATGGGATT-3'
RECK	5'-AACGGAGGTGCTATTGGT-3'	5'-AGTCACTGAGGGACGAAA-3'
MMP-2	5'-TCTGGTCCCTGTCAGCTAGT-3'	5'-TGGGACAAGAACCAGATCAC-3'
C-FOS	5'-CTACTACCATCCCCAGCCG-3'	5'-CTCCCGCTCTGGCGTAAG-3'

1.3 样本的采集

喉癌组织取材于瘤体的实质部位, 癌旁组织取材距肿瘤切缘>0.5 cm, 以上各组标本均为术中获取的新鲜标本, 分离后立即置于液氮中保存, 术后经病理学确诊每个样本的准确性方可使用。

1.4 RECK, MMP-2 及 C-FOS mRNA 的检测

严格按照说明书使用TRIzol法提取组织总RNA, 按100 mg/mL加入TRIzol, 各组取16 μ L总RNA, 反转录总体积40 μ L体系, 以反转录后的cDNA为模板, 按照试剂盒说明书加入相关试剂(蒸馏水6.4 μ L, PCR预混液10 μ L, 上游引物0.8 μ L, 下游引物0.8 μ L, 样品溶液2 μ L), 终体积为20 μ L, 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C预变性10 min, 95 $^{\circ}$ C变性5 s, 60 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸60 s, 共35个循环, 将正常组设定为1, 以7500型PCR热循环仪分析软件, 相对定量RQ值用于统计分析。

1.5 RECK, MMP-2 及 C-FOS 蛋白的检测

按照BCA法蛋白质浓度测定试剂盒说明书严格提取各组组织蛋白, 每个泳道蛋白上样总量为50 μ g。严格按照试剂盒说明书制备SDS-PAGE凝胶, 行120 V, 60 min电泳, 200 mA转膜100 min, 5%脱脂奶粉封闭90 min, 分别加入RECK一抗(稀释度为1:600)、MMP-2一抗(稀释度为1:400)、C-FOS一抗(稀释度为1:400)和GAPDH一抗(稀释度为1:2 000), 冰箱4 $^{\circ}$ C过夜, TBST洗膜3次, 每次10 min, 加入二抗室温孵育90 min(稀释度为1:5 000), TBST洗膜3次, 每次10 min, 加入ECL发光液显影, 凝胶成像分析仪采集信号, 将各组

整合灰度值与内参比较(目的蛋白ID/内参ID)即得RECK, MMP-2, C-FOS的相对表达量。

1.6 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件分析实验数据, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 单因素方差分析比较多组间差异, 两两比较采用LSD-*t*检验, 临床病理特征之间的关系采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RECK, MMP-2 及 C-FOS mRNA 的表达结果

与正常组比较, 喉癌组RECK, MMP-2及C-FOS mRNA的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); 与癌旁组比较, 喉癌组MMP-2差异有统计学意义($P<0.05$, 表2)。

2.2 RECK, MMP-2 及 C-FOS 蛋白的表达结果

与正常组比较, 喉癌组RECK, MMP-2及C-FOS蛋白的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); 与癌旁组比较, 喉癌组MMP-2, C-FOS蛋白的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$, 图1)。

2.3 RECK, MMP-2 及 C-FOS 蛋白的表达与喉癌临床病理参数的关系

病理分级及临床分期不同的喉癌组织RECK, MMP-2, C-FOS阳性率的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$); 淋巴转移的喉癌组织中RECK, MMP-2阳性率的差异均有统计学意义(均 $P<0.05$, 表3)。

表2 各组RECK, MMP-2及C-FOS mRNA表达结果的比较

Table 2 Comparison of mRNA expression levels of RECK, MMP-2 and C-FOS in each group

组别	<i>n</i>	RECK	<i>P</i>	MMP-2	<i>P</i>	C-FOS	<i>P</i>
正常组	10	1.00 \pm 0.00	—	1.00 \pm 0.00	—	1.00 \pm 0.00	—
癌旁组	34	0.95 \pm 0.33	2.73	1.26 \pm 0.18	3.58	1.14 \pm 0.25	3.05
喉癌组	45	0.67 \pm 0.24*	0.02	3.05 \pm 0.14* [#]	<0.001	2.79 \pm 0.16*	<0.001

与正常组比较, * $P<0.05$; 与癌旁组比较, [#] $P<0.05$ 。

Compared with the normal group, * $P<0.05$; Compared with the paracancerous group, [#] $P<0.05$.

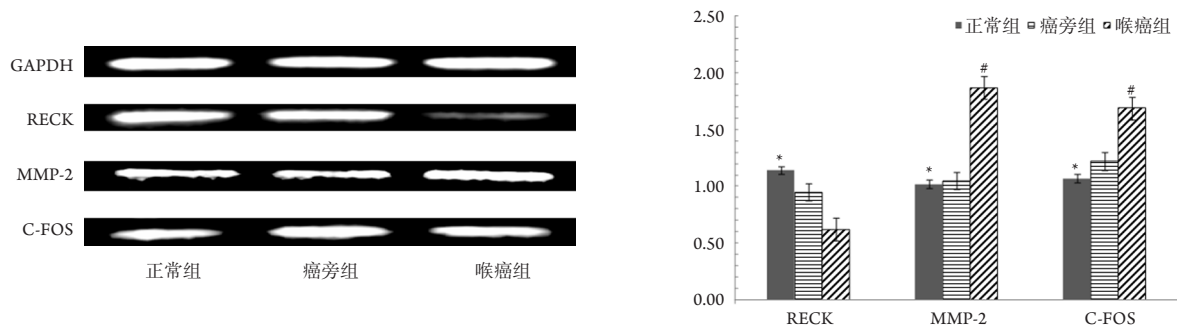


图1 各组RECK, MMP-2及C-FOS蛋白表达结果的比较

Figure 1 Comparison of the expression of RECK, MMP-2 and C-FOS proteins in each group

与正常组比较, * $P < 0.05$; 与癌旁组比较, # $P < 0.05$ 。

Compared with the normal group, * $P < 0.05$; Compared with the paracancerous group, # $P < 0.05$.

表3 喉癌组织中RECK, MMP-2及C-FOS阳性表达与临床病理特征之间的关系

Table 3 Relationship between positive expression of RECK, MMP-2 and C-FOS and clinicopathological features in laryngeal carcinoma

临床病理特征	n	RECK/例		MMP-2/例		C-FOS/例	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
性别							
男	25	19	6	20	5	18	7
女	20	15	5	15	5	13	7
χ^2		3.375		3.126		3.226	
P		0.244		0.231		0.205	
年龄/岁							
≥ 60	29	20	9	21	8	18	11
< 60	16	14	2	14	2	13	3
χ^2		4.634		5.852		3.401	
P		0.372		0.126		0.224	
吸烟							
是	18	15	3	16	2	14	4
否	27	19	8	19	8	17	10
χ^2		3.546		5.571		2.883	
P		0.274		0.192		0.413	
淋巴转移							
有	13	12	1	10	3	12	2
无	32	22	10	25	7	19	12
χ^2		12.545		15.274		7.264	
P		0.007		< 0.001		0.105	

续表3

临床病理特征	n	RECK/例		MMP-2/例		C-FOS/例	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
临床分型							
声门	16	14	2	13	3	11	5
声门上	22	18	4	16	6	17	5
声门下	4	1	3	3	1	2	2
跨声门	3	1	2	3	0	1	2
χ^2		5.572		4.273		6.155	
P		0.411		0.485		0.246	
病理分级							
G ₁	12	8	4	9	3	8	4
G ₂	22	17	5	18	4	16	6
G ₃	11	9	2	8	3	7	4
χ^2		9.183		9.674		8.375	
P		0.021		0.019		0.033	
临床分期							
I+II	19	13	6	13	6	12	7
III+IV	26	21	5	22	4	19	7
χ^2		11.076		11.471		10.723	
P		0.015		0.012		0.018	

3 讨论

喉癌是头颈外科常见的恶性肿瘤之一, 包括原发性和继发性两种, 临床症状主要表现为喉部异物感、声嘶、咳嗽、颈部肿块、呼吸及吞咽困难等, 其治疗则需要综合考虑患者全身状况, 综合运用手术、放疗、化疗、免疫治疗等多种手段, 在根治肿瘤, 保证或提高生存率的前提下尽可能保留喉功能, 提高患者的生活质量^[6]。目前, 对于喉癌的发病机制尚未完全清楚。近些年, 随着分子生物学和现代实验技术的发展, 众多学者从细胞分子的角度探索了其发生发展过程, 并发现在喉癌的进展中, RECK, MMP-2及C-FOS基因存在异常表达, 其有望为喉癌的治疗提供新的靶点。

RECK是日本学者Takahashi等^[7-8]在1998年通过基因转染技术克隆并分离出的新的肿瘤抑制基因和基质金属蛋白酶抑制剂, RECK不仅能抑制肿瘤细胞的浸润、转移及血管生成, 同时能够特异性

的抑制基质金属蛋白酶的表达与活性。肿瘤的恶性程度越高, RECK的表达量越低, RECK在癌组织中的表达也显著低于周围的喉息肉组织或正常组织, 此外, 其表达与肿瘤分级呈负相关性^[9-10]。崔静等^[11]检测了70例喉鳞状细胞癌组织中RECK基因的甲基化状态, 放疗6个周期后, 47例(67.14%)显示敏感性, 23例(32.86%)显示放疗耐受, RECK基因的甲基化水平在缓解组中低于非缓解组, 与患者放疗敏感性相关。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)是一类与肿瘤侵袭、转移相关的内源性蛋白酶家族, 其中MMP-2是MMP家族中的主要成员之一^[12]。有研究^[13]指出: MMP-2通过降解细胞外基质和基底膜中的主要成分IV型胶原蛋白, 进而破坏基膜的完整性, 促进喉癌细胞的侵袭与转移。邓碧凡等^[14]研究发现: 在缺氧条件下, 喉癌细胞系Hep-2细胞中MMP-2 mRNA和蛋白的表达水平随时间逐渐升高, 进而增强其增殖、侵袭、转移的能力, 促进喉癌的发展。另有研究^[15-16]表明: MMP-2表达与喉癌病理分级及临

床分期呈正相关, 随着肿瘤浸润范围的扩大, 其活性也随之增加。原癌基因是脑部受到缺氧、光线、疼痛等刺激后诱导表达的一组基因的统称, 其中C-FOS基因是最重要的早期转录基因之一^[17], 1982年由Curran在成骨肉瘤病毒FBJ-MSV中首次发现, 随后在正常人体细胞中被发现与病毒基因同源的DNA序列, 称为C-FOS^[18]。C-FOS作为核内原癌基因能与C-JUN形成二聚体, 其异常表达能诱导激活转录基因, 在细胞分化和肿瘤生成中发挥重要作用。罗锐等^[19]通过免疫组织化学法分别检测了口腔鳞状细胞癌和正常口腔黏膜组织标本中的C-FOS, 结果表明C-FOS能通过P16/CyclinD1信号途径促进口腔鳞状细胞癌增殖和迁移。

本研究显示: RECK mRNA和蛋白在喉癌组织中呈低表达, 在癌旁组织和正常黏膜组织中呈高表达; MMP-2, C-FOS mRNA和蛋白在喉癌组织中呈高表达, 在癌旁组织和正常黏膜组织中呈低表达; 与正常组比较, 喉癌组RECK, MMP-2, C-FOS mRNA和蛋白的差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$); 与癌旁组比较, 喉癌组MMP-2 mRNA和蛋白的差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。可见RECK, MMP-2, C-FOS不仅存在于喉癌组织中, 其与喉癌的发生、发展密切相关。此外, 在喉癌组织中RECK, MMP-2的表达与淋巴转移、病理分级及临床分期密切相关。C-FOS的表达病理分级及临床分期相关。由此可见, RECK, MMP-2及C-FOS不仅作为癌细胞因子参与疾病的发展过程, 同时在喉癌疾病的发展过程中发挥重要的调控作用, 本研究虽然从细胞分子角度和临床对其进行了研究, 但对其通过哪种途径或者哪条信号通路发挥调控作用, 以及三者之间具有怎样的相互作用等还需进一步研究。

参考文献

- 黄选兆. 实用耳鼻咽喉头颈外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 488.
HUANG Xuanzhao. Practical otolaryngology head and neck surgery[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 488.
- Turpeenniemi-Hujanen T. Gelatinases (MMP-2 and -9) and their natural inhibitors as prognostic indicators in solid cancers[J]. *Biochimie*, 2005, 87(3/4): 287-297.
- 周彬, 侯学东, 时胜武. MMP-2在喉鳞状细胞癌组织中的表达及其与预后的关系[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2015, 29(23): 2067-2071.
ZHOU Bin, HOU Xuedong, SHI Shengwu. Expression of MMP-2 in laryngeal squamous cell carcinoma and its relationship with prognosis[J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2015, 29(23): 2067-2071.
- 左文娜, 王洪琴, 吴干勋, 等. RECK、MMP-14及MMP-2在喉癌中的表达与相关性研究[J]. *河北医药*, 2014, 36(20): 3077-3079.
ZUO Wenna, WANG Hongqin, WU Ganxun, et al. Expression and correlation of RECK, MMP-14 and MMP-2 in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Hebei Medicine*, 2014, 36(20): 3077-3079.
- 左文娜, 吴干勋, 李霞, 等. RECK、MMP-14及C-fos的表达与喉癌的相关性[J]. *成都医学院学报*, 2012, 7(3z): 23-25.
ZUO Wenna, WU Ganxun, LI Xia, et al. The relationship between the expression of RECK, MMP-14 and C-fos and laryngeal cancer[J]. *Journal of Chengdu Medical College*, 2012, 7(3z): 23-25.
- 刘红兵, 刘月辉, 罗英, 等. 喉癌的手术方式选择及远期疗效的分析[J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(2): 145-149.
LIU Hongbing, LIU Yuehui, LUO Ying, et al. Surgical choice of laryngeal cancer and analysis of long-term efficacy[J]. *Chinese Journal of Cancer*, 2015, 25(2): 145-149.
- Takahashi C, Sheng Z, Horan TP, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-9 and inhibition of tumor invasion by the membrane-anchored glycoprotein RECK[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(22): 11322-13221.
- 张驰, 杜锦朵, 赵雷, 等. RECK、MMP-14及VEGF在喉癌组织中的表达及临床意义[J]. *陕西医学杂志*, 2015, 44(3): 281-283.
ZHANG Chi, DU Jinduo, ZHAO Lei, et al. Expression and clinical significance of RECK, MMP-14 and VEGF in laryngeal carcinoma tissues[J]. *Shaanxi Medical Journal*, 2015, 44(3): 281-283.
- 高浩然, 佟德惠, 黄泽清, 等. RECK、MMP-14及VEGF在喉癌中的表达及临床意义[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(2): 85-88.
GAO Haoran, TONG Dehui, HUANG Zeqing, et al. Expression and clinical significance of RECK, MMP-14 and VEGF in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *China Medical Herald*, 2016, 13(2): 85-88.
- Clark JC, Thomas DM, Choong PF, et al. RECK--a newly discovered inhibitor of metastasis with prognostic significance in multiple forms of cancer[J]. *Cancer Metastasis REV*, 2007, 26(3/4): 675-683.
- 崔静, 李辉, 卢琳琳. 喉鳞状细胞癌RECK基因甲基化状态与放疗敏感性的关系[J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(5): 315-318.
CUI Jing, LI Hui, LU Linlin, et al. Correlation between RECK gene methylation status and radiosensitivity in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2014, 41(5): 315-318.
- Riggins KS, Mernaugh G, Su Y, et al. MT1-MMP-mediated basement membrane remodeling modulates renal development[J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(17): 2993-3005.

13. Lotfi A, Mohammadi G, Saniee L, et al. Serum level of matrix Metalloproteinase-2 and -9 in patients with laryngeal squamous cell carcinoma and clinical significance[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(15): 6749-6751.
14. 邓碧凡, 廖敏, 邱荣敏, 等. 缺氧对喉癌Hep-2细胞HIF-1 α 、GLUT-1、MMP-2表达的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2016, 43(8): 663-667.
DENG Bifan, LIAO Min, QIU Rongmin, et al. Effect of hypoxia on the expression of HIF-1 α , GLUT-1 and MMP-2 in laryngeal carcinoma Hep-2 cells[J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2016, 43(8): 663-667.
15. 吴庆莲, 舒畅. MMP-2、MMP-9含量表达与喉癌侵袭转移的相关性[J]. *中国老年学*, 2014, 34(11): 2930-2931, 2932.
WU Qinglian, SHU Chang. Correlation between MMP-2 and MMP-9 expression and invasion and metastasis of laryngeal carcinoma[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2014, 34(11): 2930-2931.
16. Virgilijus U, Vykintas L, Daliap, et al. Characteristics of expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in glottic squamous cell carcinoma and benign vocal fold lesions[J]. *Clin Exp Otorhinolaryngol*, 2015, 8(1): 57-64.
17. 张婷卓, 杜小正, 王金海, 等. c-fos基因表达在脑缺血中的研究进展[J]. *甘肃中医药大学学报*, 2017, 34(5): 78-81.
ZHANG Tingzhuo, DU Xiaozheng, WANG Jinhai, et al. Research progress of c-fos gene expression in cerebral ischemia[J]. *Journal of Gansu University of Traditional Chinese Medicine*, 2017, 34(5): 78-81.
18. Denaro N, Russi EG, Lefebvre JL, et al. A systematic review of current and emerging approaches in the field of larynx preservation[J]. *Radiother Oncol*, 2014, 110(1): 16-24.
19. 罗锐, 张睿智, 龚正林, 等. c-fos调控p16/CyclinD1信号途径并促进口腔鳞状细胞癌增殖和迁移[J]. *实用口腔医学杂志*, 2017, 33(1): 100-104.
LUO Rui, ZHANG Ruizhi, GONG Zhenglin, et al. C-fos regulates p16/cyclinD1 signaling pathway and promotes proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma[J]. *Journal of Practical Stomatology*, 2017, 33(1): 100-104.

本文引用: 左文娜, 朱虹, 李立萍, 金爱燕, 王强, 王洪琴. 喉癌组织中RECK, MMP-2及C-FOS的表达变化及与临床病理特征的关系[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(8): 1641-1647. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.08.005

Cite this article as: ZUO Wenna, ZHU Hong, LI Liping, JIN Aiyan, WANG Qiang, WANG Hongqin. Expression of RECK, MMP-2 and C-FOS in laryngocarcinoma and its relationship with clinicopathological characteristics[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(8): 1641-1647. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.08.005