

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423231

· 论著 ·

角蛋白4过表达对喉癌细胞生物学行为的影响

王靖淞¹, 余灿¹, 张西¹, 邓启成¹, 谢卓良¹, 赵锐¹, 温蓓², 刘海¹

(1. 川北医学院附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川南充 637000; 2. 四川省人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川成都 610031)

摘要: **目的** 探讨角蛋白4(KRT4)过表达对喉癌细胞活力、增殖、迁移、侵袭和凋亡能力的影响。**方法** 构建KRT4过表达质粒,转染TU177喉癌细胞。实验共分3组:CON组(空白对照组,未转染),Oe-NC组(阴性对照组,转染对照质粒空载体),Oe-KRT4组(目的基因实验组,转染KRT4过表达质粒)。通过RT-qPCR法及Western blot法验证转染效率,通过CCK-8法、平板克隆实验、细胞划痕实验、Transwell小室侵袭实验和流式细胞术检测KRT4过表达对喉癌细胞活力、增殖、迁移、侵袭和凋亡能力的影响。**结果** RT-qPCR法及Western blot法结果提示Oe-KRT4组KRT4 mRNA和KRT4蛋白表达水平较CON组与Oe-NC组显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。CCK-8法结果提示Oe-KRT4组细胞活力较CON组与Oe-NC组显著减弱,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。平板克隆实验结果提示Oe-KRT4组克隆数显著低于CON组与Oe-NC组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。细胞划痕实验结果提示Oe-KRT4组迁移率显著低于CON组与Oe-NC组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。Transwell小室侵袭实验结果提示Oe-KRT4组细胞穿膜数显著低于CON组与Oe-NC组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。流式细胞术结果提示Oe-KRT4组细胞凋亡率较CON组与Oe-NC组显著增加,差异具有统计学意义($P < 0.0001$)。**结论** KRT4过表达能显著抑制喉癌细胞的活力、增殖、迁移和侵袭,并促进喉癌细胞的凋亡,因此KRT4有望成为喉癌治疗的潜在生物标志物。

关键词: 喉癌;KRT4;活力;增殖;迁移;侵袭;凋亡

中图分类号: R739.65

Effects of keratin 4 overexpression on the biological behavior of laryngeal cancer cells

WANG Jingsong¹, YU Can¹, ZHANG Xi¹, DENG Qicheng¹, XIE Zhuoliang¹, ZHAO Rui¹, WEN Bei², LIU Hai¹

(1. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China; 2. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610031, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of keratin 4 (KRT4) overexpression on the viability, proliferation, migration, invasion and apoptosis of laryngeal cancer cells. **Methods** The overexpressed KRT4 plasmid was constructed and transfected into TU177 laryngeal cancer cells. The experiment was divided into three groups: CON group (blank control group, non transfected), Oe-NC group (negative control group, transfected empty vector of control plasmid), and Oe-KRT4 group (target gene experimental group, transfected KRT4 overexpression plasmid). The transfection efficiency was verified by RT-qPCR and Western blot. The effects of KRT4 overexpression on the viability, proliferation, migration, invasion, and apoptosis of laryngeal cancer cells were detected by CCK-8 assay, plate cloning experiment, cell scratch experiment, Transwell cell invasion experiment, and flow cytometry. **Results** The results of RT-qPCR and Western blot showed that the expression levels of KRT4 mRNA and KRT4 protein in the Oe-KRT4 group were significantly higher than those in the CON and Oe-NC groups, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The results of CCK-8 assay showed that the cell viability of the Oe-KRT4 group was significantly reduced compared with the CON group and Oe-

基金项目:四川省医学青年创新科研课题计划(S19055)。

第一作者简介:王靖淞,男,硕士,住院医师。

通信作者:刘海,Email:liuhai100@sina.com

NC group, with a statistically significant difference ($P < 0.0001$). The results of the plate cloning experiment showed that the number of clones in the Oe-KRT4 group was significantly lower than that in the CON group and Oe-NC group, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The results of the cell scratch experiment showed that the migration rate of the Oe-KRT4 group was significantly lower than that of the CON group and Oe-NC group, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The results of cell scratch test indicated that the mobility of Oe-KRT4 group was significantly lower than that of CON group and Oe-NC group, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The results of Transwell cell invasion experiment showed that the number of cell penetration in the Oe-KRT4 group was significantly lower than that in the CON and Oe-NC groups, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). The results of flow cytometry showed that the apoptosis rate of the Oe-KRT4 group was significantly increased compared with CON group and Oe-NC group, and the difference was statistically significant ($P < 0.0001$). **Conclusions** Overexpression of KRT4 can significantly inhibit the vitality, proliferation, migration, and invasion of laryngeal cancer cells, and promote apoptosis of laryngeal cancer cells. Therefore, KRT4 is expected to become a potential target for the treatment of laryngeal cancer.

Keywords: Laryngeal cancer; KRT4; Vitality; Proliferation; Migration; Invasion; Apoptosis

喉癌是最常见的头颈癌之一,也是全球头颈癌患者死亡的主要原因^[1]。近几十年来,由于使用了手术、放疗、化疗和免疫治疗等综合治疗方式,喉癌的5年生存率有所提高^[2-4]。喉癌的早期诊断对于长期生存至关重要,临床结果在很大程度上取决于诊断时的癌症分期^[5]。因此,研究喉癌发生、发展机制,寻找喉癌早期诊断、预后评估以及改善喉癌患者临床转归的新治疗靶点尤为重要。角蛋白(keratin, KRT)也称细胞角蛋白,是上皮细胞中的一种中间丝形成蛋白,参与多种重要的细胞功能,包括细胞运动、信号传导、生长和蛋白质合成^[6]。此外, KRT作为上皮细胞标志物,这使得它们在癌症进展、诊断和治疗中的作用成为研究的重要焦点^[7]。KRT4是KRT家族中重要成员之一,其已被证实多种人恶性肿瘤中低表达,其中包括食管鳞状细胞癌^[8]、口腔鳞状细胞癌^[9]、喉咽鳞状细胞癌^[10]、鼻腔鼻窦鳞状细胞癌^[11]、卵巢鳞状细胞癌^[12]等,但KRT4在喉癌发生、发展过程的作用尚未见报道。因此,此次实验通过研究KRT4在喉癌细胞中的生物学行为,以期对喉鳞状细胞癌找到新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要实验材料

人喉鳞状细胞癌TU177喉癌细胞株购自上海雅吉生物科技有限公司;KRT4与GAPDH上下游引物由上海生工设计合成;KRT4(*Homo*)NM_002272.4基因过表达质粒和对照质粒空载体pcDNA3.1(+)购于GenePharma公司;RPMI-1640、胎牛血清均购于武汉Procell公司;胰蛋白酶、青霉素/链霉素双

抗、RIPA裂解液均购于武汉博士德公司;KRT4一抗购于美国Abcam公司;Trizol、蛋白酶抑制剂、PVDF膜均购于上海碧云天公司;逆转录及qPCR相关试剂购于南京诺唯赞生物科技股份有限公司;Transwell小室购于Falcon公司;Matrigel基质胶购自美国Corning公司;结晶紫、4%多聚甲醛均购于北京索莱宝科技有限公司;细胞凋亡检测试剂盒江苏凯基生物公司;Lipofectamin 2000试剂购于美国Thermo Scientific公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞株及细胞培养 人喉鳞状细胞癌TU177细胞株接种在含有10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素双抗的RPMI-1640完全培养液中,并放置在37℃、5%CO₂培养箱内培养。

1.2.2 细胞分组及转染 设置实验分组:CON组(空白对照组,未转染),Oe-NC组(阴性对照组,转染对照质粒空载体),Oe-KRT4组(目的基因实验组,转染KRT4过表达质粒)。将对数生长期的TU177喉癌细胞(3×10^5 个细胞/mL)接种到6孔板中,在37℃ 5%CO₂恒温箱中培养24 h后,观察细胞融合至40%~70%,按照Lipofectamin 2000试剂说明书进行转染细胞。转染后,将细胞放置在37℃ 5%CO₂恒温箱中继续培养,转染48 h后,通过RT-qPCR法和Western blot法检测转染效果。

1.2.3 RT-qPCR法检测3组TU177喉癌细胞KRT4mRNA表达水平 同上1.2.2进行细胞分组及转染,使用Trizol等试剂提取3组细胞总RNA,测定3组总RNA浓度,按照Hiscript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂说明书步骤进行逆转录获得cDNA,并按照Taq pro Universal SYBR qPCR

Master Mix 试剂说明书步骤进行 qPCR 扩增反应,引物序列见表 1,反应条件:预变性:95 ℃ 10 s;循环反应:95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,共 40 个循环;溶解曲线:95 ℃ 15 s;60 ℃ 60 s,95 ℃ 15 s。分析 RT-qPCR 的扩增曲线和溶解曲线,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行相对定量分析。

表 1 引物序列	
基因	引物序列(5'-3')
KRT4	FORWARD:5'-AACGCACAGCAGCCGAGAATG-3'
	REVERSE:5'-GCCTCCAACCTCCACCTTGTCAG-3'
GAPDH	FORWARD:5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3'
	REVERSE:5'-CACCTGTGTCTGTAGCCAAA-3'

1.2.4 Western blot 法检测 3 组 TU177 喉癌细胞 KRT4 蛋白表达水平 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,使用裂解液(RIPA:PMSF=100:1)提取 3 组样品总蛋白,并通过 BCA 法检测 3 组总蛋白浓度,加入适量 Buffer 混匀后,65 ℃ 加热 15 min 获得样品,使用 SDS-PAGE(10%)进行电泳,并将其转染到 PVDF 膜上,将膜放置于快速封闭液中封闭 15 min,清洗后敷(1:2 000) KRT4 一抗,在 4 ℃ 冰箱内过夜,清洗后敷二抗 1 h,清洗后将目标条带放置于配制好的 ECL 反应液(A 液:B 液=1:1)中,使用全自动显影仪对目标条带显影拍照,对应图片存档,最后使用 Image J 软件分析其灰度值。

1.2.5 CCK-8 实验检测 3 组 TU177 喉癌细胞活力 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,按照 CCK-8 实验步骤操作,将 3 组细胞分别以 4×10^3 个/孔接种于 96 孔板,每组设置 6 个复孔,每孔含 RPMI-1640 完全培养液 100 μ L,3 组细胞分别在接种后 24、48、72 h,分别加入 CCK-8 试剂 10 μ L,并放置在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内培养 1.5 h,用酶标仪测定 3 组细胞 450 nm 波长处的吸光度(OD 值),再根据 OD 值分析 3 组细胞活力情况。

1.2.6 平板克隆实验检测 3 组 TU177 喉癌细胞增殖能力 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,将 3 组细胞分别以 500 个/孔接种于 6 孔板,每组设置 3 个复孔,每孔含 RPMI-1640 完全培养液 2 mL,放置于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中培养 2 周。2 周后 6 孔板中出现肉眼可见的细胞团后终止培养,PBS 浸洗 3 次,每次 5 min,每孔用 4% 多聚甲醛 700 μ L 固定 15 min,去除固定液后,PBS 浸洗 3 次,每孔 700 μ L 结晶紫染液染色 20 min,PBS 洗去结晶紫染液,放置于空气中干燥后拍照,使用 Image J 软件计数,并比

较 3 组克隆数。

1.2.7 细胞划痕试验检测 3 组 TU177 喉癌细胞迁移能力 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,将 3 组细胞分别以 5×10^5 个/孔接种于 6 孔板,每组设置 2 个复孔,每孔含 RPMI-1640 完全培养液 1 mL,放置于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中培养,待细胞密度至 90%时,对 3 组细胞均匀划线,PBS 清洗 3 次,加入无血清 RPMI-1640 培养液,于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中继续培养,于 0 h 和 24 h 分别拍照记录细胞情况。24 h 的迁移率=(0 h 划痕距离-24 h 划痕距离)/0 h 划痕距离。

1.2.8 Transwell 小室侵袭实验检测 3 组 TU177 喉癌细胞侵袭能力 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,3 组细胞使用无血清 RPMI-1640 培养基培养 12 h,再通过消化离心后加入无血清培养基并调整 3 组细胞悬液密度为 2.5×10^5 个/mL,在 24 孔板中放入处理后的小室(用无血清 RPMI-1640 培养基稀释基质胶至浓度为 300 μ g/mL,将基质胶以 100 μ L/孔包被 transwell 小室,放置在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱 3 h,然后把小室内培养基移除待用),每组 3 个复孔,每小室分别加入 200 μ L 细胞悬液,在小室外加入 600 μ L 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养液,使小室内外液面高度保持一致,并放置于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中培养 48 h,取出 Transwell 小室,4% 多聚甲醛固定 15 min,PBS 清洗 3 次,每次 2 min,结晶紫染色 20 min,PBS 清洗 3 次,每次 2 min,晾干后用倒置显微镜在 200 倍光镜下取上、下、左、右和中 5 个视野照相,经过计算所得的平均值即为每组迁移细胞数。

1.2.9 流式细胞术检测 3 组 TU177 喉癌细胞凋亡能力 同上 1.2.2 进行细胞分组及转染,将 3 组细胞分别以 3×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔板,每组设置 3 个复孔,放入 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中培养 24 h,使用不含 EDTA 的胰酶消化 3 组细胞,收集 3 组细胞,加入 500 μ L Binding Buffer,吹打混匀,加入 5 μ L Annexin V-APC 和 5 μ L 7-ADD 染液,混匀后放置于室温,避光 10 min,使用流式细胞仪检测 3 组细胞凋亡情况。

1.3 统计学分析

所有实验均重复 3 次。使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行数据统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-qPCR 法及 Western blot 法结果

以 CON 组 KRT4mRNA 和 KRT4 蛋白表达量为参照,RT-qPCR 法结果提示(图 1、表 2),Oe-KRT4 组的 KRT4mRNA 相对表达量显著高于 CON 组和 Oe-NC 组($F=205.4,P<0.0001$)。Western blot 法结果提示(图 2),Oe-KRT4 组的 KRT4 蛋白相对表达量显著高于 CON 组和 Oe-NC 组($F=139.2,P<0.0001$)。其结果表明构建 KRT4 过表达质粒成功转染 TU177 喉癌细胞。

2.2 CCK-8 实验结果

CCK-8 实验检测 3 组 TU177 喉癌细胞在 24、48、72 h 的 OD 值,其结果提示(图 3、表 3),Oe-

KRT4 组在 24、48、72 h 的 OD 值均显著低于 CON 组和 Oe-NC 组,这表明 KRT4 过表达能显著抑制 TU177 喉癌细胞的活力。

2.3 平板克隆形成实验结果

根据结果提示(图 4),Oe-KRT4 组克隆数 67.0 ± 10.82 显著低于 CON 组 247.70 ± 19.04 与 Oe-NC 组 235.00 ± 16.64 ($F=121.0,P<0.0001$)。由此可见,KRT4 过表达后 TU177 喉癌细胞增殖能力显著降低。

2.4 细胞划痕实验结果

细胞划痕实验结果提示(图 5),Oe-KRT4 组 24 h 迁移率 (26.43 ± 0.85)% 显著低于 CON 组 (52.73 ± 1.33)% 和 Oe-NC 组 (50.77 ± 1.68)% ($F=36.3,P<0.0001$)。这表明 KRT4 过表达能显著抑制 TU177 喉癌细胞的迁移能力。

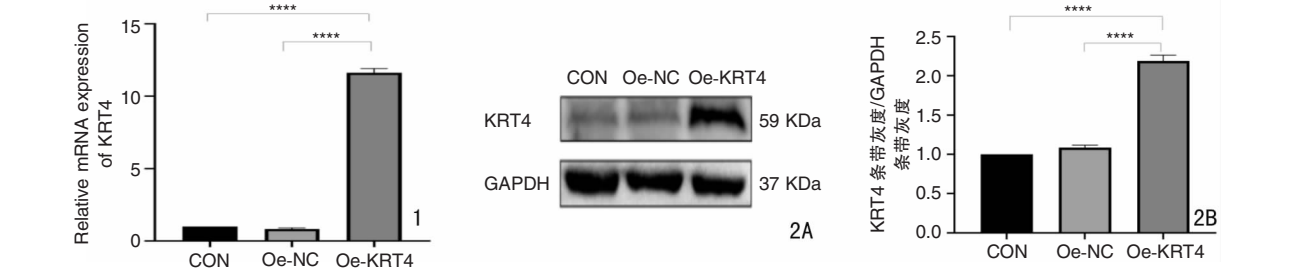


图1 RT-qPCR 法检测各组 TU177 喉癌细胞 KRT4mRNA 表达情况(**** $P<0.0001$) 图2 Western blot 法检测各组 TU177 喉癌细胞 KRT4 蛋白表达情况(**** $P<0.0001$) 2A:电泳图;2B:柱状图 注:KRT(角蛋白)。下同。

表2 各组 KRT4mRNA 与蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

类别	CON 组	Oe-NC 组	Oe-KRT4 组	<i>F</i>	<i>P</i>
KRT4mRNA	1	0.830 ± 0.127	11.630 ± 0.481	205.4	<0.0001
KRT4 蛋白	1	1.085 ± 0.054	2.190 ± 0.128	139.2	<0.0001

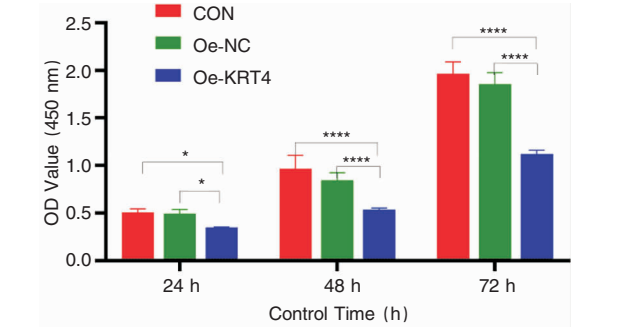


图3 CCK-8 实验检测不同组 TU177 喉癌细胞活力情况 (* $P<0.05$, **** $P<0.0001$)

表3 各组 450 nm OD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

时间点	CON 组	Oe-NC 组	Oe-KRT4 组	<i>F</i>	<i>P</i>
24 h	0.507 ± 0.038	0.497 ± 0.043	0.346 ± 0.006	21.91	0.0017
48 h	0.965 ± 0.143	0.845 ± 0.080	0.540 ± 0.013	16.13	0.0039
72 h	1.966 ± 0.123	1.856 ± 0.120	1.123 ± 0.038	61.04	0.0001

2.5 Transwell 细胞侵袭实验结果

根据 Transwell 细胞侵袭实验结果所示(图 6),以 CON 组细胞穿膜数为参照,Oe-KRT4 组的相对侵袭细胞穿膜数 0.303 ± 0.026 显著低于 CON 组和 Oe-NC 组 0.974 ± 0.025 ($F = 109.2, P < 0.0001$)。根据结果可知,KRT4 过表达后 TU177 喉癌细胞侵袭能力显著减弱。

2.6 流式细胞术实验结果

根据流式细胞术实验结果所示(图 7),Oe-KRT4 组的凋亡率(早期凋亡率 + 晚期凋亡率) (32.27 ± 1.25)% 显著高于 CON 组 (11.77 ± 0.41)% 和 Oe-NC 组 (10.98 ± 0.68)% ($F = 60.4, P < 0.0001$)。由此可以说明,KRT4 过表达可以促进 TU177 喉癌细胞凋亡。

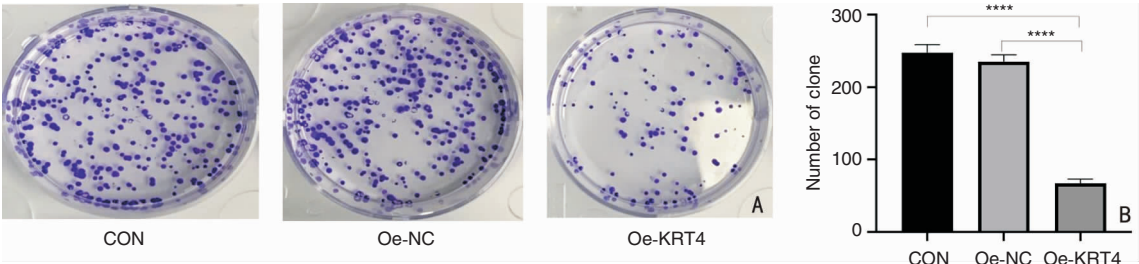


图 4 平板克隆实验检测各组 TU177 喉癌细胞的增殖能力 A:培养皿所见;B:柱状图(**** $P < 0.0001$)

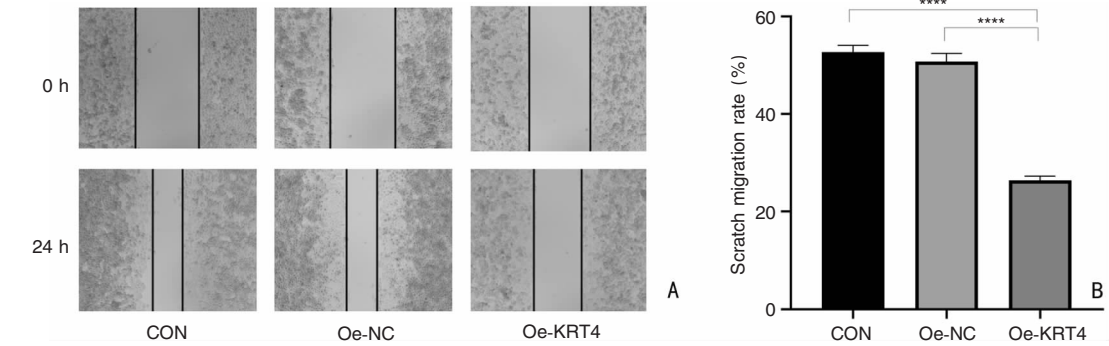


图 5 细胞划痕实验检测各组 TU177 喉癌细胞的迁移能力 A:拍照观察 0、24 h 细胞迁移情况 ($\times 100$);B:柱状图(**** $P < 0.0001$)

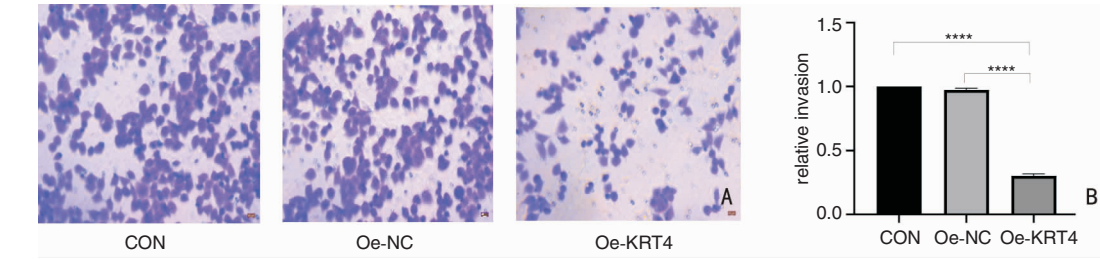


图 6 Transwell 细胞侵袭实验检测各组 TU177 喉癌细胞的侵袭能力 A:显微镜下观察 (结晶紫 $\times 200$);B:柱状图(**** $P < 0.0001$)

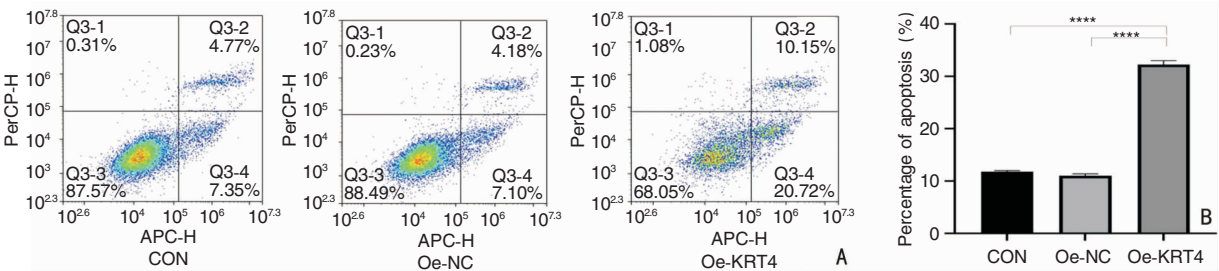


图 7 流式细胞术实验检测各组 TU177 喉癌细胞的凋亡能力 A:散点图;B:柱状图(**** $P < 0.0001$)

3 讨论

肿瘤的恶性生物学行为与多种特异性蛋白的激活和失活有关,这些特异性蛋白的表达以及功能的调节可能会影响肿瘤的恶性生物学行为^[13]。因此,探寻影响喉癌的恶性生物学行为的相关蛋白成为研究喉癌发生、发展机制的研究热点。KRT 是一种中间丝细胞骨架蛋白,它们包含一个二聚体中心 α -螺旋杆结构域,其两侧为非螺旋头和尾结构域,参与细胞质内蛋白质结构框架的形成,这在上皮细胞免受机械和非机械应激源的保护中发挥重要作用^[14-15]。KRT 分为 28 种 I 型(酸性)和 26 种 II 型(碱性或中性)KRT,并根据 KRT 类型的表达可以区分不同的上皮细胞类型^[16-17]。由于上皮性恶性肿瘤在很大程度上保持着与其各自来源细胞相关的特定 KRT 模式,因此 KRT 也被广泛用作诊断肿瘤标志物以及预后指标^[18]。此外,KRT 也能够与一系列蛋白质相互作用以调节与细胞死亡、存活、增殖、迁移、侵袭和转移相关的信号网络^[19]。KRT4,或 KRT4 属于 II 型 KRT,是非角化复层鳞状上皮细胞中最丰富的 KRT 之一^[14]。与正常鳞状上皮相比,KRT4 在食管鳞状细胞癌和头颈部鳞状细胞癌中低表达^[20-22]。其低表达与头颈部鳞状细胞癌的局部复发有关^[23]。相关文献表明,KRT4 过表达显著抑制口腔鳞状细胞癌细胞的活力与增殖,并促进口腔鳞状细胞癌细胞凋亡^[24]。由此可见,KRT4 在多种人恶性肿瘤中发挥着抑癌作用,并有望成为肿瘤诊断、预后评估及治疗靶点的潜在生物标志物。此次实验主要研究 KRT4 过表达对喉癌细胞生物学行为的影响,来探寻喉癌治疗的潜在靶标。

此次实验构建 KRT4 过表达质粒,转染 TU177 喉癌细胞,通过 RT-qPCR 法及 Western blot 法检测转染效率,其结果表明与 CON 组、Oe-NC 组相比,Oe-KRT4 组 KRT4 mRNA 和 KRT4 表达水平显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.0001$),而 CON 组与 Oe-NC 组 KRT4 mRNA 和 KRT4 表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$),这提示构建 KRT4 过表达质粒成功转染 TU177 喉癌细胞。通过 CCK-8 实验与细胞克隆实验检测到 Oe-KRT4 组 OD 值与克隆数显著低于 CON 组和 Oe-NC 组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$),而 CON 组与 Oe-NC 组 OD 值与克隆数差异无统计学意义($P > 0.05$),这表明 KRT4 过表达导致喉癌细胞活力和增殖受到显著抑制。通

过细胞划痕实验和 Transwell 细胞侵袭实验检测到 Oe-KRT4 组迁移率与细胞穿膜数显著低于 CON 组和 Oe-NC 组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$),而 CON 组与 Oe-NC 组迁移率与细胞穿膜数差异无统计学意义($P > 0.05$),这说明 KRT4 过表达显著抑制喉癌细胞的迁移和侵袭能力。通过流式细胞术实验检测到 Oe-KRT4 组凋亡率显著高于 CON 组和 Oe-NC 组,差异具有统计学意义($P < 0.0001$),而 CON 组与 Oe-NC 组凋亡率差异无统计学意义($P > 0.05$),这表明了 KRT4 过表达促进了喉癌细胞的凋亡。总的来说,KRT4 过表达抑制了喉癌细胞活力和增殖能力,促进了喉癌细胞凋亡,这与 KRT4 过表达在口腔鳞状细胞癌中的研究结果一致。值得一提的是,此次实验表明了 KRT4 过表达也显著抑制了喉癌细胞迁移和侵袭能力。因此,KRT4 有望成为治疗喉癌的潜在靶标,但此次实验并未进行体内实验,故需在之后实验中加以完善。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller D, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1):7-30.
- [2] Echanique KA, Evans LK, Han AY, et al. Cancer of the larynx and hypopharynx[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2021, 35(5):933-947.
- [3] McMullen CP, Smith RV. Treatment/comparative therapeutics: Cancer of the larynx and hypopharynx[J]. Surg Oncol Clin N Am, 2015, 24(3):521-545.
- [4] Obid R, Redlich M, Tomeh C. The treatment of laryngeal cancer[J]. Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2019, 31(1):1-11.
- [5] Baird BJ, Sung CK, Beadle BM, et al. Treatment of early-stage laryngeal cancer: A comparison of treatment options[J]. Oral Oncol, 2018, 87:8-16.
- [6] Pan X, Hobbs RP, Coulombe PA. The expanding significance of keratin intermediate filaments in normal and diseased epithelia[J]. Curr Opin Cell Biol, 2013, 25(1):47-56.
- [7] Karantz V. Keratins in health and cancer: more than mere epithelial cell markers[J]. Oncogene, 2011, 30(2):127-138.
- [8] Takikita M, Hu N, Shou JZ, et al. Fascin and CK4 as biomarkers for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2011, 31(3):945-952.
- [9] Sakamoto K, Aragaki T, Morita K, et al. Down-regulation of keratin 4 and keratin 13 expression in oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia: a clue for histopathogenesis[J]. Histopathology, 2011, 58(4):531-542.
- [10] 黄沂传,李鹏,徐艳丽,等. CK4 与 CK13 在喉咽鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2014, 28(12):874-877.
- [11] 尹文华,刘素琴,陈志凌,等. 细胞角蛋白4 和细胞角蛋白13

在鼻腔-鼻窦鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2016, 23(2):98-101.

[12] Zahra A, Dong Q, Hall M, et al. Identification of potential bisphenol A (BPA) exposure biomarkers in ovarian cancer[J]. J Clin Med, 2021, 10(9):1979.

[13] 王爽, 杨新明, 魏明辉, 等. Tiam1 过表达调控喉癌生长及侵袭转移的体内外实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2022, 28(4):73-80.

[14] Moll R, Divo M, Langbein L. The human keratins:biology and pathology[J]. Histochem Cell Biol, 2008, 129(6):705-733.

[15] Bragulla HH, Homberger DG. Structure and functions of keratin proteins in simple, stratified, keratinized and cornified epithelia[J]. J Anat, 2009, 214(4):516-559.

[16] Sharma P, Alsharif S, Fallatah A, et al. Intermediate filaments as effectors of cancer development and metastasis: A focus on keratins, vimentin, and nestin[J]. Cells, 2019, 8(5):497.

[17] Karantza V. Keratins in health and cancer:more than mere epithelial cell markers[J]. Oncogene, 2011, 30(2):127-138.

[18] Toivola DM, Boor P, Alam C, et al. Keratins in health and disease[J]. Curr Opin Cell Biol, 2015, 32:73-81.

[19] Loschke F, Seltmann K, Bouameur JE, et al. Regulation of keratin network organization[J]. Curr Opin Cell Biol, 2015, 32:56-64.

[20] Chung JY, Braunschweig T, Hu N, et al. A multiplex tissue immunoblotting assay for proteomic profiling;a pilot study of the normal to tumor transition of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15(7):1403-1408.

[21] Sakamoto K, Aragaki T, Morita K, et al. Down-regulation of keratin 4 and keratin 13 expression in oral squamous cell carcinoma and epithelial dysplasia;a clue for histopathogenesis[J]. Histopathology, 2011, 58(4):531-542.

[22] Li CY, Cai JH, Tsai J, et al. Identification of hub genes associated with development of head and neck squamous cell carcinoma by integrated bioinformatics analysis[J]. Front Oncol, 2020, 10:681.

[23] Schaaij-Visser TB, Graveland AP, Gauci S, et al. Differential proteomics identifies protein biomarkers that predict local relapse of head and neck squamous cell carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(24):7666-7675.

[24] Wang L, Ma X, Yu J, et al. Negative regulation of miR-1288-3p/KRT4 axis through a circular RNA in oral cancer[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2022, 36(8):e23118.

(收稿日期:2023-07-21)

本文引用格式:王靖淞,余灿,张西,等. 角蛋白 4 过表达对喉癌细胞生物学行为的影响[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2024,30(2):90-96. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423231

Cite this article as: WANG Jingsong, YU Can, ZHANG Xi, et al. Effects of keratin 4 overexpression on the biological behavior of laryngeal cancer cells[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2024,30(2):90-96. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423231