

下咽鳞状细胞癌 Δ Np63 与上皮间质转化分子标志物的相关性及其临床意义

周梦燕, 朱敏辉, 闵密克, 耿志洋, 黄汝施, 郑宏良*

第二军医大学长海医院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200433

【摘要】 目的 探讨下咽鳞状细胞癌(hypopharyngeal squamous cell carcinoma, HSCC)中 Δ Np63 和上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关分子标志物表达的相关性及临床意义。**方法** 收集第二军医大学长海医院耳鼻咽喉头颈外科 2013 年 1 月至 2016 年 11 月收治的 98 例 HSCC 患者的肿瘤组织及癌旁正常组织标本。采用免疫组织化学法检测肿瘤组织、癌旁正常组织以及肿瘤不同区域中 Δ Np63、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(vimentin)的表达,采用 Spearman 等级相关检验分析各蛋白表达强度的相关性,采用秩和检验比较各蛋白表达强度与患者临床病理特征的关系。**结果** 在 HSCC 组织中 Δ Np63、vimentin 的表达强度高于癌旁正常上皮组织($P < 0.01$),而 E-cadherin 的表达强度低于癌旁正常上皮组织($P < 0.01$)。与肿瘤中央区相比,肿瘤边缘区可见 Δ Np63、E-cadherin 的阳性表达强度下降, vimentin 的阳性表达强度上升(P 均 < 0.05)。在 HSCC 组织中, Δ Np63 与 E-cadherin 的表达强度呈正相关($r_s = 0.409, P < 0.01$),与 vimentin 的表达强度呈负相关($r_s = -0.333, P < 0.05$)。 Δ Np63 的表达强度与肿瘤 T 分期、有无淋巴结转移、病理分化程度及临床分期等临床病理特征均无关。E-cadherin 和 vimentin 的表达强度与病理分化程度及有无淋巴结转移有关($P < 0.05$)。**结论** Δ Np63 的异常表达与 HSCC 的发生、发展有关,其对 EMT 可能具有抑制作用。

【关键词】 下咽鳞状细胞癌; Δ Np63; 上皮间质转化; E-钙黏蛋白; 波形蛋白; 免疫组织化学

【中图分类号】 R 739.91 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 0258-879X(2017)05-0664-06

Correlation between Δ Np63 and molecular markers of epithelial-mesenchymal transition in hypopharyngeal squamous cell carcinoma and its clinical significance

ZHOU Meng-yan, ZHU Min-hui, MIN Mi-ke, GENG Zhi-yang, HUANG Ru-shi, ZHENG Hong-liang*

Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the expression of Δ Np63 and epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related molecular markers and its clinical significance in hypopharyngeal squamous cell carcinoma (HSCC). **Methods** The tumor and adjacent normal epithelium tissues of 98 patients with HSCC were collected from Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Changhai Hospital, Second Military Medical University from Jan. 2013 to Nov. 2016. The expression of Δ Np63, E-cadherin and vimentin protein in HSCC tissues, adjacent normal epithelium tissues and different regions of HSCC tissues was detected by immunohistochemistry. The correlation between the expression of Δ Np63, E-cadherin and vimentin proteins was examined by test of Spearman's rank-correlation coefficient. The correlation between the expression of proteins and clinicopathological features was evaluated by rank sum test. **Results** The expression of Δ Np63 and vimentin in the HSCC tissues was significantly higher than that in the adjacent normal epithelium tissues ($P < 0.01$), while the expression of E-cadherin in the HSCC tissues was significantly lower ($P < 0.01$). Compared with the central region of HSCC tissues, the positive expression of Δ Np63 and E-cadherin in the border region was significantly decreased, and the positive expression of vimentin was significantly increased ($P < 0.05$). The expression of Δ Np63 was positively correlated with the expression of E-cadherin ($r_s = 0.409, P < 0.01$) and was negatively correlated with the expression of vimentin ($r_s = -0.333, P < 0.05$) in HSCC tissues. There was no significant correlation between Δ Np63 and T stage, lymph node metastasis, degree of pathological differentiation

【收稿日期】 2017-03-30 **【接受日期】** 2017-04-25

【基金项目】 国家自然科学基金(81572668, 81402253). Supported by National Natural Science Foundation of China (81572668, 81402253).

【作者简介】 周梦燕, 硕士生. E-mail: zhoumy0901@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31162013, E-mail: zheng_hl2004@163.com

or other clinicopathological features. The expression of E-cadherin and vimentin was correlated with the degree of pathological differentiation and lymph node metastasis ($P < 0.05$). **Conclusion** Abnormal expression of Δ Np63 is associated with the occurrence and development of HSCC and the expression of EMT-related markers, indicating that Δ Np63 may inhibit EMT in HSCC.

[**Key words**] hypopharyngeal squamous cell carcinoma; Δ Np63; epithelial-mesenchymal transition; E-cadherin; vimentin; immunohistochemistry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(5): 664-669]

下咽恶性肿瘤是头颈部常见肿瘤之一,约94.9%的病理类型为鳞状细胞癌^[1],局部复发和远处转移是其极为常见的现象,且伴有转移的患者一般预后较差^[2-3]。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞的迁移和运动能力增加,从而转化成易发生侵袭和迁移的具有间质细胞特性的细胞,它是肿瘤发生转移的重要早期事件之一。EMT进程受多种蛋白的调控,包括E-钙黏蛋白(E-cadherin)等上皮细胞标志蛋白和波形蛋白(vimentin)等间质细胞标志蛋白^[4-5]。E-cadherin和vimentin是肿瘤EMT最重要的指示蛋白,在EMT进程中,E-cadherin表达下调、vimentin表达上调,提示肿瘤细胞向间质表型转换,肿瘤发生了转移^[6-7]。

已知p63是p53家族成员之一,与p53在序列和结构上具有高度同源性^[8]。在头颈鳞癌细胞中,p63主要分布亚型为 Δ Np63^[9],其在调控细胞分化、肿瘤发生等方面具有重要作用^[9-10]。但下咽鳞状细胞癌(hypopharyngeal squamous cell carcinoma, HSCC)中 Δ Np63与EMT的关系目前尚未有深入研究。本研究用免疫组织化学方法检测了HSCC中 Δ Np63及EMT标志蛋白E-cadherin、vimentin的表达情况,探讨了HSCC中 Δ Np63的表达与E-cadherin、vimentin的相关性及其对HSCC临床病理特征的影响,为研究HSCC的局部复发和远处转移机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料来源 选取第二军医大学长海医院耳鼻咽喉头颈外科2013年1月至2016年11月收治的98例HSCC患者的HSCC组织及相应癌旁正常组织。所有患者均经病理诊断确诊为HSCC。患者术前均未接受化疗、放疗及其他辅助治疗,且临床病例资料完整。所有患者的临床诊断均由2名具有高级

职称的耳鼻咽喉头颈外科专科医师根据2010年美国癌症联合会(AJCC)第7版分期标准^[11]进行临床分期。本研究经长海医院伦理委员会批准,并获得患者或家属知情及签署同意书。

1.2 主要试剂 兔抗人p63(recognizes Δ N-isoforms)单克隆抗体购自美国BioLegend公司(批号619002,工作浓度1:400),兔抗人E-cadherin(批号3195)、vimentin(批号5741)单克隆抗体购自美国CTS公司(工作浓度1:100),DAB染色液试剂盒(K5007)购自美国Dako公司,正常山羊血清购自武汉博士德生物工程有限公司(AR1009),其他免疫组化试剂均购自湖北百奥斯生物科技有限公司。

1.3 免疫组织化学法染色 采用即用型(EnVision)快速酶免疫组化二步法染色。标本用10%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,5 μ m厚连续切片。石蜡切片经脱蜡、梯度水化后,置pH 6.0枸橼酸缓冲液中,高温修复2 min后冷却。加入3%过氧化氢室温放置20 min以阻断内源性过氧化物酶,Tris-HCl缓冲盐溶液(TBS)冲洗3次,10%山羊血清孵育30 min。去除血清,滴加适当稀释至工作浓度的一抗,4 $^{\circ}$ C反应过夜,TBS冲洗。每张片子滴加50 μ L Dako二抗,室温孵育25 min,TBS冲洗后每张切片滴加50 μ L DAB显色。苏木精复染,1%盐酸乙醇分化1~2 s后返蓝液返蓝,自来水冲洗。梯度乙醇脱水后二甲苯透明,中性树胶封片。以PBS代替一抗作阴性对照。

1.4 染色结果判定标准 在显微镜下观察组织染色情况,选择组织结构清晰、无明显背景的视野进行观察,使用二级计分法^[12-13]判定表达强度。400倍视野下随机选取5个含有肿瘤细胞的区域,每个区域计数100个细胞。二级计分法具体操作:(1)按照显色强度差异计分。细胞不着色记为0分,浅黄色记1分,棕黄色记2分,棕褐色记3分。(2)按照阳

性细胞所占比例计分。<5%记0分,5%~25%记1分,26%~50%记2分,51%~75%记3分,>75%记4分。将上述两项得分相乘,所得分数即为每例病例标本的最终得分,以此进行标本病例分组:0分为阴性(-),1~4分为弱阳性(+),5~8分为阳性(++),9~12分为强阳性(+++)。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行数据处理及分析。采用秩和检验比较肿瘤组织与癌旁正常上皮组织中 Δ Np63、E-cadherin、vimentin 蛋白表达的差异和各蛋白表达强度与临床病理特征的关系,以及肿瘤中央区和边缘区各蛋白表达的差异。采用 Spearman 等级相关检验分析各蛋白之间的相关性。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 HSCC 组织及其癌旁正常上皮组织中 Δ Np63、E-cadherin 及 vimentin 蛋白的表达 Δ Np63 的阳性产物主要定位于细胞核,呈棕黄色或棕褐色颗粒状。HSCC 组织中 Δ Np63 阳性细胞排列紊乱,胞核大小

各异(图 1A);癌旁正常上皮组织中 Δ Np63 阳性细胞主要位于上皮基底细胞层,多为棕褐色,在上层角质形成细胞中表达较弱,其在间质细胞中并无表达(图 1D)。HSCC 组织中 Δ Np63 的表达强度较癌旁正常上皮组织升高,差异有统计学意义($P < 0.01$,表 1)。HSCC 组织中 E-cadherin 的阳性产物主要定位于胞膜,呈线性棕黄色分布;其在胞质中也有少量分布,呈弥漫性黄色(图 1B、1E)。98 例 HSCC 组织标本均检测到 E-cadherin 的表达,但其表达强度较癌旁正常上皮组织降低($P < 0.01$,表 1)。Vimentin 呈棕黄色或者棕褐色染色,在已发生 EMT 的 HSCC 组织中主要定位于胞质(图 1C),其在癌旁正常上皮组织中未见表达(图 1F)。在 94 例已发生 EMT 的 HSCC 组织中检测到 vimentin 的表达,而癌旁正常上皮组织中均未检测到 vimentin 表达,差异有统计学意义($P < 0.01$,表 1)。

与肿瘤中央区相比,肿瘤边缘区 Δ Np63、E-cadherin 的阳性表达强度下降,vimentin 的阳性表达强度上升,差异具有统计学意义(P 均 < 0.05 ,表 2)。

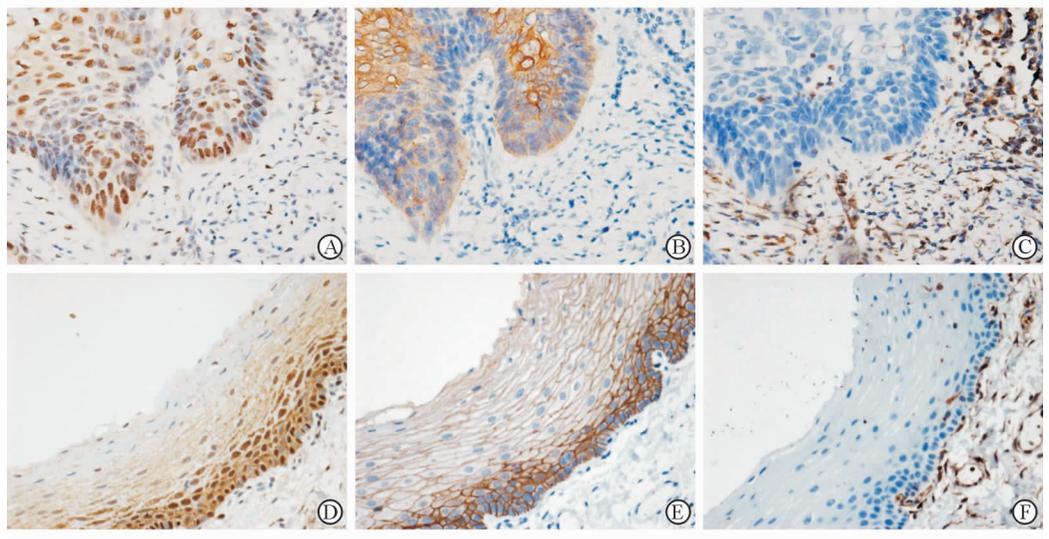


图 1 Δ Np63、E-cadherin、vimentin 在 HSCC 组织及癌旁正常上皮组织中的表达(免疫组化 EnVision 二步法染色)

A~C: Δ Np63 (A)、E-cadherin (B)、vimentin (C)在 HSCC 组织中的表达; D~F: Δ Np63 (D)、E-cadherin (E)、vimentin (F)在癌旁正常上皮组织中的表达。E-cadherin: E-钙黏蛋白; Vimentin: 波形蛋白; HSCC: 下咽鳞状细胞癌。Original magnification: $\times 400$

表 1 Δ Np63、E-cadherin 和 vimentin 在 HSCC 组织及癌旁正常上皮组织中的表达

N=98, n

组织来源	Δ Np63					E-cadherin					Vimentin				
	-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值	-	+	++	+++	P 值
HSCC	0	26	43	29	0.002	0	14	56	28	0.000	4	41	42	11	0.000
癌旁正常上皮	0	50	28	20		0	0	13	85		98	0	0	0	

E-cadherin: E-钙黏蛋白; Vimentin: 波形蛋白; HSCC: 下咽鳞状细胞癌

表 2 HSCC 组织不同区域中 Δ Np63、E-cadherin 和 vimentin 的表达

N=98, n

组织区域	Δ Np63				P 值	E-cadherin				P 值	Vimentin				P 值
	-	+	++	+++		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
中央区	0	26	43	29	0.016	0	14	56	28	0.000	4	41	42	11	0.011
边缘区	5	39	31	23		0	51	33	14		0	31	46	21	

E-cadherin: E-钙黏蛋白; Vimentin: 波形蛋白; HSCC: 下咽鳞状细胞癌

2.2 EMT 标志蛋白 E-cadherin、vimentin 的表达强度与 Δ Np63 的相关性 经 Spearman 等级相关检验分析结果显示, 在 HSCC 组织中 Δ Np63 与 E-cadherin 的表达呈正相关($r_s = 0.409, P < 0.01$; 表 3), 随着 Δ Np63 表达的增强, E-cadherin 表达亦增强。而 Δ Np63 与 vimentin 的表达呈负相关($r_s = -0.333, P < 0.05$; 表 3), vimentin 随着 Δ Np63 表达的增强而降低。

2.3 HSCC 组织中 Δ Np63、E-cadherin 及 vimentin 表达强度与临床病理特征的关系 见表 4。 Δ Np63 蛋白在 HSCC 组织中的表达强度与年龄、性别、病理分化程度、T 分期、有无淋巴结转移、临床分期等临床病理特征均无关(P 均 > 0.05)。E-cadherin 的表达强度随病理分化程度降低而降低, 且与有无淋巴结转移有关($P < 0.05$), vimentin 的表达强度随病理分化程度降低而升高, 且与有无淋巴结转移有

关($P < 0.05$)。E-cadherin 及 vimentin 与年龄、性别、T 分期、临床分期等无关(P 均 > 0.05)。

表 3 Δ Np63 与 E-cadherin 及 vimentin 在 HSCC 组织中表达的相关分析

N	Δ Np63				r_s 值	P 值	
	-	+	++	+++			
E-cadherin						0.409	0.000
-	0	0	0	0			
+	14	0	8	6			
++	56	0	14	28			
+++	28	0	4	9			
Vimentin						-0.333	0.019
-	4	0	4	0			
+	41	0	6	11			
++	42	0	8	29			
+++	11	0	8	3			

E-cadherin: E-钙黏蛋白; Vimentin: 波形蛋白; HSCC: 下咽鳞状细胞癌

表 4 HSCC 组织中 Δ Np63 与 E-cadherin 及 vimentin 表达与临床病理特征的关系

n

临床特征	N	Δ Np63				P 值	E-cadherin				P 值	Vimentin				P 值
		+	++	+++	-		+	++	+++	-		+	++	+++		
年龄(岁)					0.089					0.138					0.354	
<60	33	14	10	9		8	17	8			2	17	8	6		
≥ 60	65	12	33	20		6	39	20			2	24	34	5		
性别					0.25					0.634					0.646	
男性	94	26	41	27		14	52	28			4	40	39	11		
女性	4	0	2	2		0	4	0			0	1	3	0		
病理分化程度					0.25					0.016					0.000	
高分化	14	4	8	2		2	3	9			4	9	1	0		
中分化	72	20	31	21		10	49	13			0	30	31	11		
低分化	12	2	4	6		2	4	6			0	2	10	0		
T 分期					0.22					0.184					0.129	
T1	10	6	0	4		2	2	6			0	4	6	0		
T2	32	4	16	12		6	21	5			2	17	12	1		
T3	38	10	19	9		4	23	11			2	14	16	6		
T4	18	6	8	4		2	10	6			0	6	8	4		
淋巴结转移					0.503					0.03					0.012	
无	28	9	7	12		3	12	13			4	13	10	1		
有	70	17	36	17		11	44	15			0	28	32	10		
临床分期					0.257					0.164					0.25	
I~II	20	4	8	8		6	9	5			2	8	10	0		
III~IV	78	22	35	21		8	47	23			2	33	32	11		

HSCC: 下咽鳞状细胞癌; E-cadherin: E-钙黏蛋白; Vimentin: 波形蛋白

3 讨论

Δ Np63 作为转录因子具有广泛的转录调控作用,参与调控细胞的分化、干性、死亡、衰老、迁移以及扩散^[14]。目前研究认为 Δ Np63 是头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)中 p63 的主要存在形式,可能是 p63 影响 HNSCC 预后的主要因素^[9]。 Δ Np63 在 HNSCC 中可以调控肿瘤细胞的增殖,增加肿瘤细胞对顺铂的耐药性,是 HNSCC 的重要预后标志物之一^[15-16]。本研究检测了 98 例 HSCC 标本中 Δ Np63 蛋白的表达,结果显示 Δ Np63 主要定位于细胞核,与文献^[15-17]所报道的 Δ Np63 的分布情况一致。同时本研究还发现, Δ Np63 在肿瘤组织及癌旁正常组织中呈差异性表达,提示 Δ Np63 与 HSCC 的发生、发展有密切关系。本研究结果表明 Δ Np63 与患者的临床分期以及病理分化程度无关,这可能与 HSCC 的早期诊断率低、本组数据中 III~IV 期患者数量较多(79.59%)有关,需进一步增加早期患者的样本量来获得更准确的结果。

EMT 是影响肿瘤转移的重要早期事件,早在 2002 年,Thiery^[18]就提出恶性肿瘤细胞发生转移前通过 EMT 获得侵袭和转移能力,自此 EMT 成为解释肿瘤转移的重要理论。恶性肿瘤可以通过 EMT 获得活动性间质表型及迁移侵袭能力,且能导致细胞迁移到不相邻的靶位点^[19-20]。目前研究认为,EMT 在 HNSCC 的转移过程中发挥了重要作用^[21],其中 E-cadherin 和 vimentin 可作为 HNSCC 肿瘤 EMT 进程的可靠标志物^[6-7,22]。本研究发现 E-cadherin 和 vimentin 的表达强度与 HSCC 的病理分化程度及有无淋巴结转移有关,表明这两种蛋白在肿瘤的发展、转移过程中具有重要作用,可作为 HSCC 转移的生物标志物。

目前研究认为, Δ Np63 在多种肿瘤中可以调控恶性细胞的 EMT 进程。研究发现在宫颈鳞癌中 Δ Np63 可上调 miR-205 的表达,而 miR-205 可抑制 Zeb1 和 vimentin 的表达,肿瘤组织中 Δ Np63 表达的降低增加了肿瘤细胞的迁移和侵袭能力^[23],提示 Δ Np63 具有抑制 EMT 的作用。在乳腺癌中, Δ Np63 通过提高 EMT 相关蛋白 Slug 和 Axl 的表达诱导迁移,同时上调 miR-205 的表达,从而抑制由

EMT 诱导引起的上皮特性的丧失^[24]。提示 Δ Np63 调控 EMT 的作用可能具有组织特异性,而关于 Δ Np63 在 HSCC EMT 中的作用目前尚未见报道。

为明确 Δ Np63 在 HSCC 中对 EMT 的调控作用,本研究采用免疫组织化学方法检测了 EMT 标志蛋白 E-cadherin、vimentin 的表达,并分析其与 Δ Np63 蛋白表达的相关性。结果发现在肿瘤组织中, Δ Np63 蛋白的表达强度与 E-cadherin 呈正相关,与 vimentin 呈负相关。相较中央区肿瘤组织,边缘区呈侵袭性生长的肿瘤组织中 Δ Np63 的表达下降,同时伴随 E-cadherin 表达减少及 vimentin 表达升高。结果提示 Δ Np63 在 HSCC 肿瘤组织中可能具有抑制 EMT 进程的作用。

综上, Δ Np63 在 HSCC 早期的生物学进程调控中可能具有重要作用,其作用可能具有高度的组织特异性,并在肿瘤发展的不同阶段不尽相同。在 HSCC 早期, Δ Np63 可促进细胞增殖,但当肿瘤发展到中晚期时, Δ Np63 可抑制细胞 EMT 进程,局部肿瘤组织可下调 Δ Np63 表达从而增强肿瘤的侵袭性。因此, Δ Np63 可能与 HSCC 的发生、发展有关,且具有抑制 EMT 的作用,但具体作用机制仍有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] COOPER J S, PORTER K, MALLIN K, HOFFMAN H T, WEBER R S, ANG K K, et al. National Cancer Database report on cancer of the head and neck: 10-year update[J]. *Head Neck*, 2009, 31: 748-758.
- [2] TINHOFFER I, KONSCHAK R, STROMBERGER C, RAGUSE J D, DREYER J H, JOHRENS K, et al. Detection of circulating tumor cells for prediction of recurrence after adjuvant chemoradiation in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25: 2042-2047.
- [3] SMITH R B. Surgery in the management of laryngeal and hypopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 69(2 Suppl): S28-S30.
- [4] KONG D, LI Y, WANG Z, SARKAR F H. Cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-phenotypic cells: are they cousins or twins? [J]. *Cancer (Basel)*, 2011, 3: 716-729.
- [5] LIU L K, JIANG X Y, ZHOU X X, WANG D M, SONG X L, JIANG H B. Upregulation of vimentin and aberrant expression of E-cadherin/beta-catenin

- complex in oral squamous cell carcinomas: correlation with the clinicopathological features and patient outcome[J]. *Mod Pathol*, 2010, 23: 213-224.
- [6] NIJKAMP M M, SPAN P N, HOOGSTEN I J, VAN DER KOGEL A J, KAANDERS J H, BUSSINK J. Expression of E-cadherin and vimentin correlates with metastasis formation in head and neck squamous cell carcinoma patients[J]. *Radiother Oncol*, 2011, 99: 344-348.
- [7] KIM K H, KIM L, CHOI S J, HAN J Y, KIM J M, CHU Y C, et al. The clinicopathological significance of epithelial mesenchymal transition associated protein expression in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Korean J Pathol*, 2014, 48: 263-269.
- [8] SCHMALE H, BAMBERGER C. A novel protein with strong homology to the tumor suppressor p53[J]. *Oncogene*, 1997, 15: 1363-1367.
- [9] SNIEZEK J C, MATHENY K E, WESTFALL M D, PIETENPOL J A. Dominant negative p63 isoform expression in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Laryngoscope*, 2004, 114: 2063-2072.
- [10] CANDI E, SMIRNOV A, PANATTA E, LENA A M, NOVELLI F, MANCINI M, et al. Metabolic pathways regulated by p63[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482: 440-444.
- [11] EDGE S, BYRD D R, COMPTON C C, FRITZ A G, GREENE F L, TROTTI A. *AJCC cancer staging manual*[M]. 7th ed. New York: Springer, 2010: 4-5.
- [12] DOHADWALA M, WANG G, HEINRICH E, LUO J, LAU O, SHIH H, et al. The role of ZEB1 in the inflammation-induced promotion of EMT in HNSCC [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 142: 753-759.
- [13] ZHU M, YIN F, FAN X, JING W, CHEN R, LIU L, et al. Decreased TIP30 promotes Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition and tumor-initiating properties in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncogene*, 2015, 34: 1420-1431.
- [14] ROMANO R A, ORTT K, BIRKAYA B, SMALLEY K, SINHA S. An active role of the Delta N isoform of p63 in regulating basal keratin genes K5 and K14 and directing epidermal cell fate[J/OL]. *PLoS One*, 2009, 4: e5623. doi: 10.1371/journal.pone.0005623.
- [15] BRETZ A C, GITTNER M P, CHARLES J P, GREMKE N, ECKHARDT I, MERNBERGER M, et al. Δ Np63 activates the Fanconi anemia DNA repair pathway and limits the efficacy of cisplatin treatment in squamous cell carcinoma[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: 3204-3218.
- [16] SUAREZ C M, HUBERT P, GONZALEZ A, DURAY A, RONCARATI P, ERPICUM C, et al. Delta Np63 isoform-mediated β -defensin family up-regulation is associated with (lymph)angiogenesis and poor prognosis in patients with squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2014, 5: 1856-1868.
- [17] 林树春, 林国经, 黄建民. 下咽鳞状细胞癌组织中 Δ Np63 和 TAp63 蛋白的表达及临床意义[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2013, 20: 1061-1066.
- [18] THIERY J P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumor progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2: 442-454.
- [19] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 178-196.
- [20] VOULGARI A, PINTZAS A. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: mechanisms, markers and strategies to overcome drug resistance in the clinic [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1796: 75-90.
- [21] LIN Y, MALLEEN-CLAIR J, LUO J, SHARMA S, DUBINETT S, ST JOHN M. p53 modulates NF- κ B mediated epithelial-to-mesenchymal transition in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Oral Oncol*, 2015, 51: 921-928.
- [22] HU Z, QIAN G, MULLER S, XU J, SABA N F, KIM S, et al. Biomarker quantification by multiplexed quantum dot technology for predicting lymph node metastasis and prognosis in head and neck cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 44676-44685.
- [23] ZHAO W D, WANG H Y, HAN H X, MA J, ZHOU Y Y, CHEN Z Z, et al. Δ Np63 α attenuates tumor aggressiveness by suppressing miR-205/ZEB1-mediated epithelial-mesenchymal transition in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37: 10621-10632.
- [24] DANG T T, ESPARZA M A, MAINE E A, WESTCOTT J M, PEARSON G W. Δ Np63 α promotes breast cancer cell motility through the selective activation of components of the epithelial-to-mesenchymal transition program [J]. *Cancer Res*, 2015, 75: 3925-3935.