

喉癌微环境及代谢特征的研究进展

王皓月^{1,2,3} 陈建^{1,2,3} 罗彦波³ 陈欢³ 侯宏卫³ 计敏^{1*} 胡清源^{3*}

(¹中国科学院合肥物质科学研究院, 安徽光学精密机械研究所, 合肥 230031; ²中国科学技术大学, 合肥 230026;

³国家烟草质量监督检验中心, 郑州 450001)

摘要 喉癌是一种常见的头颈部恶性肿瘤,但其具体的发病机制尚不明确,是少有的五年生存率呈现下降趋势的一类癌症。越来越多的研究表明,肿瘤微环境中细胞与基质成分的变化、免疫逃逸和代谢重编程等过程对癌症的发生发展具有重要的推动作用。了解喉癌微环境可以为喉癌的发病机制和早期诊断提供新思路,从而制定更好的治疗和预后策略。因此,该文结合喉癌的流行病学现状,对喉癌微环境的组成、在病情发生发展中的作用以及喉癌代谢重编程的具体特征进行了综述。

关键词 喉癌; 肿瘤微环境; 免疫抑制; 代谢特征

Research Progresses on Tumor Microenvironment and Metabolic Characteristics of Laryngeal Carcinoma

WANG Haoyue^{1,2,3}, CHEN Jian^{1,2,3}, LUO Yanbo³, CHEN Huan³, HOU Hongwei³, JI Min^{1*}, HU Qingyuan^{3*}

(¹Institute of Optics and Fine Mechanics, Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

²University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

³China National Tobacco Quality Supervision & Test Center, Zhengzhou 450001, China)

Abstract Laryngeal carcinoma is a common kind of head and neck cancer of which pathogenesis is not explicit, and it is one of the few cancers where the five-year survival rate has declined. More and more researches have shown that the changes of cells and stromal components, metabolic reprogramming and immune escape in the tumor microenvironment contribute to the development of cancer. Studying the laryngeal carcinoma microenvironment can add new understanding for the pathogenesis and early diagnosis of laryngeal carcinoma, and develop better treatment and prognosis strategies. Therefore, combined with the epidemiological status of laryngeal carcinoma, this review briefly summarized the composition of tumor microenvironment and its role in the development of laryngeal carcinoma and the specific characteristics of tumor metabolic reprogramming in tumor microenvironment.

Keywords laryngeal carcinoma; tumor microenvironment; immunosuppression; metabolic characteristics

喉癌是一种常见的头颈部恶性肿瘤,2018年世界癌症报告显示,全球范围内预计喉癌新增发病患者17.7万人,新增死亡人数达9.48万人,其标化发病率和死亡率分别是2.0/10万人和1.0/10万人^[1]。喉癌中98%的组织学类型为喉鳞状细胞癌,而腺癌、未

分化癌、淋巴肉瘤和纤维肉瘤则较为少见^[2]。喉癌的发病具有明显的性别差异,多发病于男性,其风险因素包括吸烟、饮酒、空气污染、人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染和性激素水平失调等。高危HPV感染与喉癌患病风险有显著的相

收稿日期: 2020-10-29 接受日期: 2020-12-15

国家自然科学基金(批准号: 21277174)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0551-65595677, E-mail: jimmin@aiofm.ac.cn; Tel: 0371-67672601, E-mail: huqy1965@163.com

Received: October 29, 2020 Accepted: December 15, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.21277174)

*Corresponding authors. Tel: +86-551-65595677, E-mail: jimmin@aiofm.ac.cn; Tel: +86-371-67672601, E-mail: huqy1965@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5469>

关性, 其中HPV16和HPV18是两种最为常见的致癌HPV类型。GUO等^[3]对2 896例头颈癌病例的荟萃分析表明, 中国喉癌患者中由高危HPV16感染所致的患病率为28.5%; YANG等^[4]对1 881例头颈癌病例的荟萃分析表明, 中国喉癌患者中由高危HPV18感染所致的患病率为31.2%。

喉癌的初始诊断包括病史检查、喉镜检查以及通过对异常区域进行活组织检查以确定是否癌变, 病理学诊断结合计算机断层扫描、磁共振、正电子发射断层扫描等影像学手段可以确定癌症分期^[5]。由于发病部位不同, 声门上型和声门下型喉癌常无症状, 缺乏简便可靠的生物标志物帮助其实现早期诊断。实施外科手术是喉癌的主要治疗方法, 但是即使通过喉部手术、放疗、化疗和基因治疗等综合治疗措施, 喉癌仍是少有的五年生存率呈现下降趋势的一类癌症, 2018年国家癌症中心发布的报告表明, 2012至2015年我国喉癌患者的五年生存率为57.7%^[6]。喉癌组织解剖位置的不确定性、异常复杂的生物学特性及肿瘤的浸润性, 造成了喉癌早期诊断困难和预后差, 治疗过程中的死亡率和术后复发率不断提高。因此, 需要进一步探索喉癌的起源、侵袭和转移机制, 为设计新的治疗方法提供思路。近年来, 越来越多的研究表明, 喉癌微环境及微环境下肿瘤的代谢重编程促进了喉癌的发生发展, 在揭示喉癌发病机制过程中发挥着重要作用。因此, 本文针对喉癌微环境(tumor microenvironment, TME)的组成, 其在喉癌发生发展中的作用以及肿瘤微环境代谢特征的相关研究进展进行了综述。

1 喉癌微环境

1.1 喉癌微环境的组成

TME是肿瘤在发生发展过程中, 肿瘤细胞、肿瘤干细胞与血管周围多种基质细胞及基质成分彼此相互作用形成的复杂环境^[7], 此过程伴随着代谢重编程, 对基因表达、细胞分化和肿瘤细胞的特征功能有深远的影响。

TME中的肿瘤干细胞是肿瘤细胞中占比较少的一类具有无限自我更新能力的细胞^[8], 在肿瘤复发和转移扩散中发挥着重要作用。基质细胞主要包括成纤维细胞、血管内皮细胞、血管周皮细胞等非免疫细胞和淋巴细胞、巨噬细胞等免疫细胞^[7]。其中肿瘤相关成纤维细胞的相关研究最为广泛, 其功

能主要与胞外基质的生成相关, 能有效地支持原代培养的喉癌鳞状细胞的生长。非免疫细胞为肿瘤细胞提供支持和营养, 而免疫细胞可以通过抑制免疫反应和产生免疫耐受来促进肿瘤细胞的免疫逃逸, 主要包括树突状细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)和肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs), 其中TILs包括T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤细胞、调节性T细胞(T regulatory cells, Tregs)等^[9]。

TME中的基质成分主要包括细胞外基质蛋白、细胞因子、趋化因子、生长因子、相关蛋白酶和非编码RNA等^[10]。细胞外基质蛋白在肿瘤细胞的动力学功能方面发挥着重要作用, 为癌细胞存活分化、入侵提供支持力; 各种蛋白因子可以帮助构建促血管生成的微环境, 介导免疫抑制信号; 非编码RNA会降低喉癌细胞的辐射敏感性, 其下调将抑制细胞的增殖和转移, 也可以作为喉癌诊断、预后的生物标志物。

1.2 微环境与喉癌的发生发展

癌症是一个逐步发展的过程, 遗传物质的改变如癌基因过表达或者抑癌基因沉默会造成上皮细胞发生细胞学和结构改变, 进而造成组织异常增生, 发生癌前病变。TME的低氧、低pH、持续性血管发生等特征^[11]将促进组织侵袭与转移, 发生免疫逃逸, 最终导致恶性转化。

近年来, 诸多研究揭示微环境组分参与喉癌病程进展, 可以作为潜在的调控靶点, 表1对此进行了汇总。在癌前病变方面, 基因组学技术帮助发现SOX2(SRY-related HMG-box 2)基因^[12]、皮质蛋白(cortactin, CTTN)基因和黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)基因^[13]的过度表达与喉癌患病风险均有显著相关性。WEI等^[14]利用微滴式数字PCR和实时荧光定量PCR对癌前病变和喉鳞癌患者的组织和血浆样本进行检测, 发现循环miR-21参与了正常组织向癌前病变及鳞状细胞癌进展的过程; SU等^[15]运用免疫组化技术检测喉异常增生分级的标志物, 认为CD163⁺TAMs浸润上皮细胞和基底核蛋白Ki-67发生对称增殖可作为生物标志物区分不同级别的喉部异型增生, 其中核蛋白Ki-67是细胞增殖标记物, 能够促进球体结构形成。这些研究为喉癌患病风险提供了新的独立预测因子和病情评估工具。

促进组织侵袭与转移的因素是多方面的,

TANG等^[16]发现, DiGeorge综合征关键区基因5(Di-George syndrome critical region gene 5, *DGCR5*)可以通过激活细胞中的Wnt信号通路下调miR-506, 进而诱导抗辐射的喉癌细胞产生类干细胞的特性, 增强迁移、浸润和转移能力。蛋白在组织侵袭与转移中也发挥着重要作用, KAIGORODOVA等^[17]利用免疫组化技术研究磷酸化和非磷酸化两种形式的Hsp27伴侣蛋白在喉癌鳞状细胞内定位, 认为Hsp27伴侣蛋白两种功能状态的核表达是喉鳞状细胞瘤局部淋巴转移的分子标记; KLOBUCAR等^[18]利用质谱技术对原发肿瘤和邻近非肿瘤组织进行了定量蛋白质组学分析, 并通过免疫印迹在转移性喉癌组织进行了验证, 首次揭示了基底膜蛋白laminin-1可以激活MIF(macrophage migration inhibitory factor)-CD44- β 1整合素信号转导通路和下游信号活化, 导致喉癌细胞的能动性 and 侵袭性增加。另外, TME中含有大量的分泌因子和囊泡可通过淋巴管流入局部淋巴结, TOPF研究小组^[19]指出在引流淋巴结中, 喉鳞状细胞癌衍生因子会驱动CD163⁺TAMs占主导, 使淋巴结存在更高的转移风险。

免疫系统时刻监控细胞和组织, 以识别和消除早期癌细胞和新生肿瘤。免疫逃逸意味着免疫监控的失败, 是肿瘤的主要特征之一。喉癌患者外周血中的Tregs亚群比健康人群多, 激活的Tregs介导免疫抑制, 使得CD4⁺T细胞和CD25⁺T细胞增殖减少^[20]。WEN等^[21]发现, IL-33(interleukin-33)是通

过诱导IL-10(interleukin-10)和TGF β -1(transforming growth factor beta-1)的表达, 增加Foxp3⁺GATA3⁺Tregs的比例, 降低应答T细胞的增殖, 而阻断IL-33受体ST2可以解除IL-33的免疫抑制作用, 表明IL-33是喉癌治疗的潜在靶点。程序性死亡配体1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)在TME中的高表达代表了一种癌症的免疫逃逸机制, 它与受体PD1结合, 使效应T细胞转化为非反应细胞或发生程序性死亡。YU等^[22]利用免疫组化检测了PD-L1、CD8、CD16和CD206在喉癌、癌旁组织和声带白斑组织中的表达, 发现PD-L1在喉癌中高度表达, 并与CD8⁺TILs和CD16⁺M1型(促炎型)TAMs数量呈负相关, 与CD206⁺M2型(抗炎型)TAMs数量呈正相关。

在喉癌预后效果的判断方面, KARPATHIOU等^[23]指出, 头颈部肿瘤CD3、CD8、CD57和基质蛋白S100表达上调的患者预后较好, 抗原CTLA-4表达上调是不良预后因素; 此外, 该小组发现基质与肿瘤巢的相互作用也具有重要的预后价值^[24], 基质丰富的肿瘤、肿瘤出芽、肿瘤核区及前部中枢神经系统偏小和成纤维细胞的间质类型是四种不良预后因素。TAO等^[25]通过转录组学和蛋白组学技术检测了喉癌组织和邻近正常黏膜组织的mRNA和蛋白水平, 指出肿瘤分化程度与TILs中IL-12R β 2(interleukin-12R β 2)的表达相关, 高比率的IL-12R β 2⁺TILs提示喉癌预后良好; VASSILAKOPOULOU小组^[26]检测了喉鳞状细胞癌组织和癌旁组织的*PD-L1* mRNA和PD-L1蛋白表达水平,

表1 微环境参与喉癌进展的相关研究

Table 1 Study on microenvironment involved in the progression of laryngeal carcinoma

喉癌进展阶段	调控靶点	表达水平的变化	参考文献
The progression of laryngeal carcinoma	Regulatory targets	The change of expression level	Reference
Precancerous growths	<i>SOX2, CTIN, FAK</i>	↑	[12-13]
	miRNA-21	↑	[14]
	CD163, Ki-67	↑	[15]
Tissue invasion and metastasis	DGCR5	↑	[16]
	Phosphorylated Hsp27	↑	[17]
	Ladinin-1	↑	[18]
	Derived factor	↑	[19]
Immune escape	IL-33	↑	[21]
	PD-L1	↑	[22]
Improvement of prognosis	CD3, CD8, CD57, S100	↑	[23]
	CTLA4	↓	[23]
	IL-12R β 2	↑	[25]
	PD-L1	↑	[26]
	CD31, VEGF	↓	[27]

发现PD-L1水平和TILs密度一致, 且与喉癌预后的改善有关; SCHULTER等^[27]发现, 在早期喉鳞状细胞癌亚组中, CD31阳性血管增多以及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的高表达与存活率降低和复发率增加有关, 有助于识别易复发的高危患者。

2 喉癌微环境的代谢特征

微环境下各类细胞及细胞外基质成分的变化会促进喉癌的发生发展, 并在此过程中导致碳水化合物、脂类、氨基酸和核苷酸相关代谢物的差异表达即发生代谢重编程, 这是肿瘤恶性转变的核心^[28]。代谢组学是检测和注释生物化学过程中小分子代谢物变化的一类新的组学方法, 通过质谱或核磁共振技术检测体液(唾液、血液、尿液、血清、粪便)或组织(癌症的组织样本或穿刺)中的代谢物, 以筛选生物标志物, 揭示疾病代谢特征和病理机制。

SOMASHEKAR等^[29]基于高分辨魔角旋转核磁共振技术对喉癌组织进行分析, 发现乳酸、氨基酸、胆碱化合物、肌酸、牛磺酸、谷胱甘肽水平升高, 甘油三酯水平下降。费梦嘉等^[30]利用气相色谱-飞行时间质谱和超高效液相色谱-飞行时间质谱对喉肿瘤组织与邻近非肿瘤组织的代谢物进行了鉴定与筛选, 确定了41个差异表达代谢物, 发现肿瘤组织中三羧酸循环产物和乳酸水平显著升高, 嘌呤和嘧啶产物增多, 脂肪酸产物减少。本课题组采用液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用的方法对喉癌患者和健康个体进行了血清代谢组学研究, 发现LysoPC 16:0(1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphocholine)、PAF(1-o-hexadecyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、EPC 16:0(1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-ethylphosphocholine)是显著的差异代谢物^[31]; 针对喉癌患者与健康人群尿液样品进行分析, 发现泛酸、棕榈酸、肉豆蔻酸、油酰胺、鞘氨酸和植物甘氨酸是显著的差异代谢物, 可作为喉癌的潜在生物标志物^[32], 表明喉癌微环境发生脂代谢重编程, 以满足生物膜合成需求, 促进癌细胞增殖。目前代谢组学的研究表明, 在喉癌代谢重编程过程中主要的代谢特征为糖酵解、脂质代谢和氨基酸合成增强, 这与基因组学和蛋白组学通路分析的注释相一致^[33]。

2.1 糖代谢

Warburg效应是癌细胞的一个异常特征, 即在

肿瘤组织中, 部分癌细胞在有氧条件下依靠的是糖酵解而不是氧化磷酸化来实现能量代谢^[34], 该效应促进了包括喉癌在内的各种恶性肿瘤的辐射抵抗和恶性增殖。糖酵解途径中, 葡萄糖经葡萄糖转运载体-1(glucose transporter-1, Glut-1)进入到细胞中, 通过己糖激酶-II(hexokinase-II, HK-II)完成葡萄糖代谢的第一个步骤, 经系列途径降解为丙酮酸, 再通过乳酸脱氢酶生成乳酸, 由单羧酸转运体-4(monocarboxylate transporter-4, MCT-4)外排至胞间, 以避免酸性环境造成的细胞凋亡。Warburg效应在代谢物层面上主要表现为葡萄糖的浓度降低和乳酸产量增多。

Glut-1是Warburg效应起始的关键, 也是著名的肿瘤缺氧标记物。WANG等^[35]通过RNA干扰和转染过表达载体技术分别沉默和上调人喉部鳞状癌细胞系Hep-2中Wnt1诱导的信号蛋白1(Wnt1 inducible signaling pathway protein 1, WISP1)的表达, 发现异常的WISP1表达会增强葡萄糖的摄取量和乳酸产量, 将Hep-2细胞暴露于顺铂中检测其化学抗性, 并通过免疫共沉淀技术揭示了WISP1提高了Yes相关蛋白1(Yes associated protein 1, YAP1)和TEA结构域转录因子1(TEA domain transcription factor 1, TEAD1)在Hep-2细胞中的表达和相互作用, 进而促进了Glut-1表达, 增强细胞糖酵解并产生顺铂耐药。LU^[36]利用CRISPR/Cas9技术设计了低氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)和Glut-1双基因敲除的Hep-2细胞模型, 发现其葡萄糖摄取减少, 细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显下降。为了研究缺氧对喉癌的影响, HU等^[37]对缺氧和常氧状态下的喉癌SCC10A细胞系分别进行了蛋白组学分析, 并选择差异表达蛋白磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶2(phosphoenolpyruvate carboxylase 2, PCK2)进行验证, 发现下调PCK2可以有效抑制喉癌细胞的侵袭、迁移和增殖, PCK2和Glut-1在喉癌中表达水平的变化具有一致性, 可能共同参与了缺氧通路。

己糖激酶2是糖酵解中的关键酶, 研究证实, lncRNA loc285194^[38]、miR-125a^[39]和miR-125b-5p^[40]通过抑制HK-II的表达下调糖酵解, 进而有效抑制喉部鳞状癌细胞的肿瘤生长。丙酮酸脱氢酶能够调节丙酮酸脱氢酶复合体活性并催化丙酮酸脱羧氧化, 将糖酵解与三羧酸循环联系在一起, 调节能量代谢。XU等^[41]发现, 喉部肿瘤组织中lncRNA PCAT19

的表达水平升高,丙酮酸脱氢酶激酶4(pyruvate dehydrogenase kinase 4, PDK4)的表达降低,敲除lncRNA PCAT19会抑制细胞增殖,增加线粒体呼吸而抑制糖酵解,进一步研究表明,lncRNA PCAT19是通过调节miR-182/PDK4轴和代谢平衡来促进细胞增殖和肿瘤发生。叉头盒蛋白(forkhead box protein, FOX)是一个大型转录因子家族,在调控细胞周期、细胞分化、增殖和发育等多种生物过程中具有复杂而重要的功能。FOXJ1是FOX家族的一员,LIU等^[42]利用FOXJ1-siRNA下调FOXJ1的表达,发现可以抑制喉癌鳞状细胞的糖酵解途径以及细胞的增殖、迁移和侵袭能力,通过检测通路关键蛋白表达证明了FOXJ1敲除还可以抑制Wnt/ β -catenin通路的激活。

细胞利用MCT-4可将乳酸输出胞外,单羧酸转运体-1(monocarboxylate transporter 1, MCT-1)将乳酸运入氧气含量丰富的细胞中,低氧细胞和富氧细胞可以形成代谢耦合^[43]。CURRY等^[44]发现,肿瘤内部细胞和成纤维细胞高表达MCT-4,低表达MCT-1,具有明显的糖酵解增强和乳酸外排的特点,开发新的抗氧化剂和MCT-4抑制剂可以靶向头颈癌的代谢耦合。CAII、CAXII和CAIX是碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)的三种同工酶,可以催化二氧化碳的可逆水化,参与癌细胞周围细胞外环境的酸化,创造有利于肿瘤生长和扩散的微环境。王亚波等^[45]发现,Glut-1、MCT-4和CAIX的阳性表达与病理分级密切相关,联合应用MCT-4与CAIX抑制剂可以降低糖酵解速率,抑制肿瘤细胞的增殖。LIU等^[33]通过对GEO数据库的12份喉部乳头状瘤标本和12份喉部正常上皮对照标本进行差异表达基因分析,确定了67个差异基因,其中RASSF1(Ras association domain family member 1)、PGK1(phosphoglycerate kinase 1)、CAII和CAXII被认为在喉癌中起关键作用。

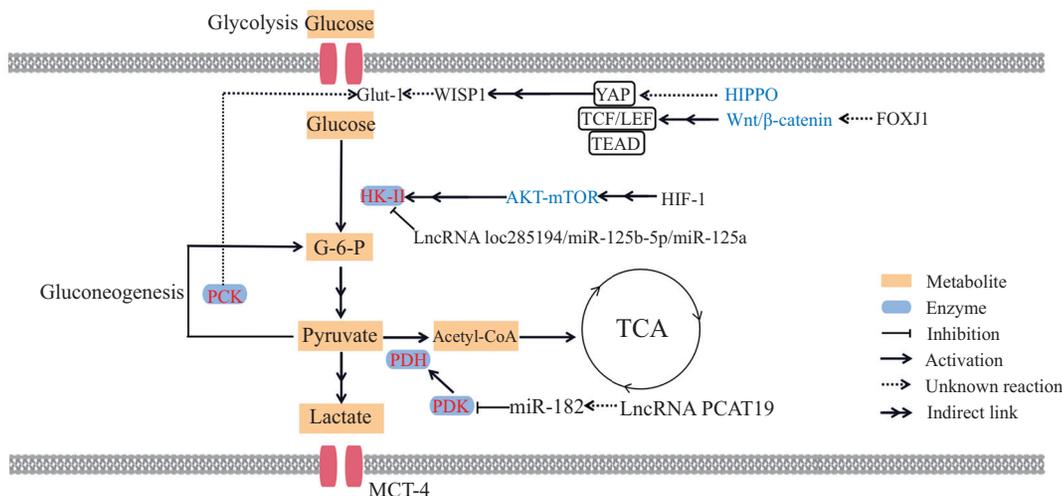
上述研究表明,Glut-1、WISP1、HIF-1、FOXJ1、HK-II、PCK2、PDK4、MCT-4与CAIX是调节喉癌糖酵解代谢的关键因素,可能是喉癌潜在的治疗靶点;Hippo、Wnt/ β -catenin和Akt/mTOR相关信号传导途径参与了糖酵解调节,能够促进糖酵解途径的启动和细胞恶性转化,对喉癌糖酵解代谢途径的研究及相关机制汇总于图1。

2.2 脂质代谢

脂质驱动的信号通路是喉癌发展的主要原因,癌细胞会上调脂肪酸合成途径和磷脂合成途径,以

产生大量的中间代谢产物为生物膜中的脂质和蛋白质组分提供脂酰修饰,并作为信号分子参与肿瘤的生长调控。脂肪酸的合成起始于柠檬酸盐从线粒体输出到细胞质中,在ATP柠檬酸裂解酶作用下产生乙酰辅酶A,由乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)催化乙酰辅酶A转化为丙二酸单酰辅酶A,再经脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)催化通过系列反应生成软脂酸,后经延长或去饱和途径合成其他脂肪酸。研究表明,FAS^[46]和ACC^[47]会在口腔癌和喉癌组织中高表达以促进脂肪酸合成,可以作为预后标志物。脂肪酸去饱和酶1(fatty acid desaturase 1, FADS1)是合成多不饱和脂肪酸的关键限速酶,可以催化必需脂肪酸亚油酸生成花生四烯酸(arachidonic acid, AA),ZHAO等^[48]通过代谢组学分析发现喉鳞癌患者组织中FADS1的表达上调,功能实验表明,FADS1敲低会抑制喉部鳞状癌细胞的增殖、迁移和侵袭,推测FADS1通过激活Akt/mTOR信号通路促进喉癌发展。

AA代谢途径与炎症反应密切相关,AA主要存在于膜磷脂复合物中,通过磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)水解膜磷脂被释放出来,环氧合酶(cyclooxygenase, COX)和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)可以催化AA衍生为类花生酸,包括前列腺素、血栓素、白细胞三烯等^[49]。磷脂酶C(phospholipase C, PLC)也参与了AA的生成,王嘉等^[50]发现,PLC γ -2和LOX-12在喉癌组织中高表达,与LSCC患者的临床分期、病理分化以及淋巴结转移显著相关。KOURELIS等^[51]发现,COX-2与喉癌患者肿瘤组织和边缘组织区分、肿瘤分化程度以及术后复发相关。此外,在低侵袭性的早期LSCC中,LA、AA和饱和脂肪酸会增强LOX和COX-2活性,导致氧化应激、炎症、血管生成和免疫抑制,从而增强NF- κ B活性和抗凋亡Bcl-2表达,促进喉癌发生发展^[52]。10号染色体上缺失与张力蛋白同源的磷酸酶基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten, PTEN)是参与脂质代谢调控的重要基因,能阻断Akt/mTOR信号通路,影响FAS、ACC等酶类的表达,抑制脂质生成^[53]。研究表明,与癌旁组织相比,喉癌前病变组织和癌组织中PTEN表达下调,可以作为有效的预后指标^[54]。ZHU等^[55]利用RNA干扰技术探究帕金森相关基因(Parkinson gene 7, DJ-1)对喉癌细胞PTEN表达的影响,发现靶向DJ-1的siRNA可有效上调PTEN表达,导致喉癌细



葡萄糖经Glut-1(葡萄糖转运载体1)转运至细胞内部进行糖酵解,通过HK-II(己糖激酶-II)生成G-6-P(葡萄糖-6-磷酸),经系列途径降解为乳酸,由MCT-4(单羧酸转运体-4)外排至胞间。Hippo和Wnt/ β -catenin信号传导途径可以增强YAP1(Yes相关蛋白1)和TEAD1(TEA结构域转录因子)的相互作用,进而促进WISP1(Wnt1诱导信号蛋白1)和Glut-1的表达,FOXJ1(叉头盒蛋白J1)可以抑制Wnt/ β -catenin通路的激活。HIF-1(低氧诱导因子-1)通过Akt/mTOR信号传导途径参与糖酵解调节。糖酵解产生的中间代谢物会参与糖异生及TCA(三羧酸循环),PDK(丙酮酸脱氢酶激酶)能够调节PDH(丙酮酸脱氢酶复合体)活性并催化丙酮酸脱羧氧化,将糖酵解与TCA联系在一起,调节能量代谢。诸多非编码RNA通过调节酶的活性下调糖酵解。

Glucose is transported to the cell by Glut-1 for glycolysis, and G-6-P (glucose-6-phosphate) is generated through HK-II (hexokinase-II), which is degraded into lactic acid finally and exported by the MCT-4 (lactic acid transporter-4) to the cell. Hippo and Wnt/ β -catenin signaling pathways can enhance the interaction between YAP1 (Yes associated protein 1) and TEAD1 (TEA domain transcription factor 1), thereby promoting the expression of WISP1 (Wnt1-induced signaling protein 1) and Glut-1, and FOXJ1 (forkhead box J1) can inhibit the activation of Wnt/ β -catenin pathway. HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) participates in the regulation of glycolysis through the Akt/mTOR signaling pathway. The intermediate metabolites are involved in tricarboxylic acid cycle and gluconeogenesis, PDK (pyruvate dehydrogenase kinase) can regulate the activity of PDH (pyruvate dehydrogenase complex) and catalyze the decarboxylation and oxidation of pyruvate, linking glycolysis with the TCA (tricarboxylic acid cycle) to regulate energy metabolism. Many non-coding RNAs down-regulate glycolysis by regulating the activity of enzymes.

图1 喉癌糖酵解代谢的调控

Fig.1 Regulation of glycolysis in laryngeal carcinoma

胞的增殖和侵袭能力下降。

综上,FAS、ACC、iNOS、LOX-12、COX-2和PTEN是调节喉癌脂质代谢的关键因素,可能是喉癌潜在的治疗靶点;脂肪酸合成、花生四烯酸代谢以及PTEN/PI3K/Akt/mTOR信号传导途径是脂质代谢的关键^[56],对喉癌脂质代谢途径的研究及相关机制汇总于图2。

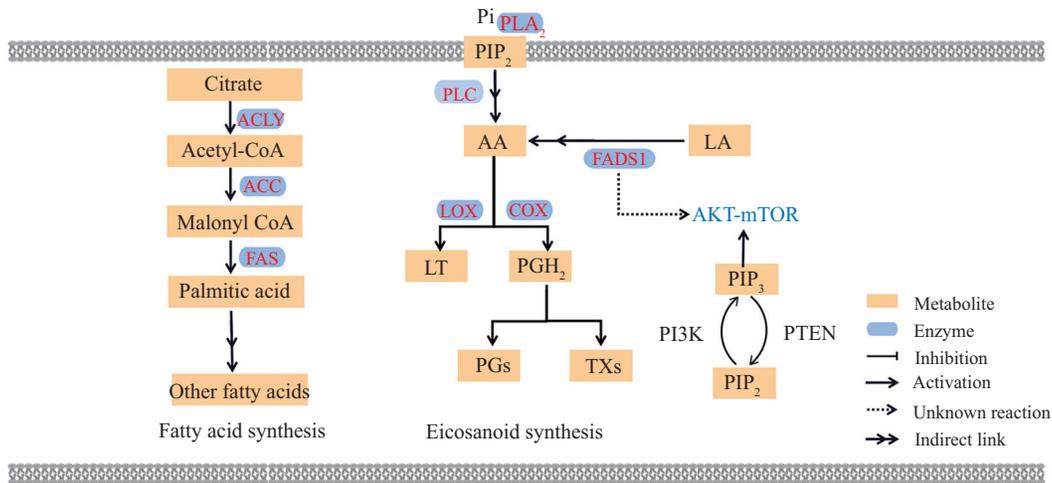
2.3 氮代谢

氮是人体所有蛋白质、DNA和RNA的基本组成元素,人体利用氮合成尿素,并在肝脏中通过系列生化反应即尿素循环将其排入血液,随后随尿液排出体外。尿素循环失调是肿瘤的一个共同特征,指由氨氮向尿素的转运发生失调,尿素循环的大多数酶会发生特异性的改变,上调嘧啶合成和氨基酸合成^[57]。

赖氨酸氧化酶家族是赖氨酸代谢途径中的一种胺氧化酶,通过共价氧化脱胺作用,稳定细胞外

基质中的胶原纤维和弹性纤维,参与调控上皮-间充质转化、上皮细胞极性和转录抑制机制介导的细胞分化,影响多种肿瘤的进展和转移^[58]。研究表明,LSCC患者中赖氨酸氧化酶的高表达与不良预后和术后转移有关^[59]。另外,肿瘤细胞会增强色氨酸的摄取和代谢,通过吲哚-2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase,IDO)促进色氨酸分解代谢为犬尿氨酸,犬尿氨酸可作为免疫抑制代谢物激活CD4⁺T细胞中的犬尿氨酸-芳基羟受体信号轴,调节T细胞分化。ENGIN等^[60]发现,晚期喉癌患者术前的IDO活性明显高于健康对照组和早期癌症患者,并且肿瘤切除后血清中新蝶呤水平持续升高可能提示预后不良。

腺苷是一种发挥重要作用的信号分子,它可以直接激活肿瘤细胞上的腺苷受体影响肿瘤的发生。腺苷信号通过A1型、A2A型、A2B型和A3型四种G蛋白偶联受体介导,WILKAT^[61]通过体外和体内实



脂肪酸的合成起始于柠檬酸盐从线粒体输出到细胞质中,在ACLY(ATP柠檬酸裂解酶)作用下产生乙酰辅酶A,由ACC(乙酰辅酶A羧化酶)催化乙酰辅酶A转化为丙二酸单酰辅酶A,再经FAS(脂肪酸合酶)催化通过系列反应生成软脂酸,后经延长或去饱和途径合成其他脂肪酸。FADS1(脂肪酸去饱和酶1)是合成多不饱和脂肪酸的关键限速酶,可以催化LA(亚油酸)生成AA(花生四烯酸)。AA的主要来源是通过PLA2(磷脂酶A2)水解膜磷脂复合物中的PIP2(磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸)被释放出来,COX(环氧合酶)和LOX(脂氧合酶)可以催化AA衍生为类花生酸,包括PG(前列腺素)、TX(血栓素)、LT(白细胞三烯)等;此外,PLC(磷脂酶C)能够催化PIP2生成DAG(二酰甘油),DAG通过系列反应生成AA和其他产物。

The synthesis of fatty acids starts from the export of citrate from mitochondria to the cytoplasm. Acetyl-CoA is produced under the action of ACLY (ATP citrate lyase). ACC (acetyl-CoA carboxylase) catalyzes the conversion of acetyl-CoA to malonyl-CoA, which is catalyzed by FAS (fatty acid synthase) to generate palmitic acid through a series of reactions, and other fatty acids are synthesized through the extension or desaturation pathway. FADS1 (fatty acid desaturase 1) is the key rate-limiting enzyme for the synthesis of polyunsaturated fatty acids, which can catalyze LA (linoleic acid) to AA (arachidonic acid). The major source of AA is through its release from membrane phospholipids that PIP₂ (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) by PLA₂ (phospholipase A2), COX (cyclooxygenase) and LOX (lipoxygenase) can catalyze the derivatization of AA into eicosanoids, including PG (prostaglandin), TX (thromboxane), LT (leukotriene) and others; in addition, PLC (Phospholipase C) can catalyze PIP₂ to generate diacylglycerol, then DAG generates AA and other products through a series of reactions.

图2 喉癌脂质代谢的调控

Fig.2 Regulation of lipid metabolism in laryngeal carcinoma

验证明,抑制腺苷受体A2B的活性可以减缓肿瘤生长,降低肿瘤血管化程度。缺氧和炎症可增加TME中腺苷的生成,实体瘤通过腺苷积累抑制免疫监视。CD39和CD73是合成腺苷的两种关键酶,与正常对照组相比,头颈癌患者CD4⁺T细胞和Tregs中的CD39与CD73表达增高,Tregs以更高的速率水解ATP并产生更高水平的腺苷,使TME中免疫抑制显著增强^[62]。

3 结论与展望

肿瘤通过逃避免疫监视,创造免疫抑制的微环境促进疾病发展,并通过代谢重编程表现出其独有的代谢特征。微环境中的肿瘤干细胞会促进喉癌的复转移扩散和复发,非免疫细胞如肿瘤相关成纤维细胞为肿瘤细胞提供支持和营养,免疫细胞通过抑制免疫反应促进肿瘤细胞的免疫逃逸。其中,CD163⁺TAMs浸润上皮细胞是癌前病变和免疫逃逸的关键,活化的Tregs以及PD-L1等抑制性受体的高表达能够介导免疫抑制,TILs表面的多种蛋白以及

诸多小分子代谢物有潜力作为喉癌早期诊断及预后评估的生物标志物。

诸多研究从基因、代谢关键酶、代谢产物等不同水平解析了喉癌微环境的代谢网络,其中糖代谢、脂代谢与氮代谢在疾病发展中发挥着关键作用。基于系统生物学的多组学整合为喉癌微环境及其代谢的相关研究提供了关键技术,助力于新药物靶点的筛选。

尽管对喉癌致病机制的研究取得了一定的进展,获取了一些潜在的治疗靶点,但是其发生发展过程的相关通路并未被完全解析清楚,各通路间的交流以及代谢与免疫间的关联也尚待深入探讨;在喉癌早期诊断与预后方面,目前还未有明确的生物标志物被应用于临床,现有的研究缺乏对患者发病家族史、职业、生活习惯等方面的调查以及规范统一的检测标准,需要在大队列样本中完成进一步的验证以便检验标志物的特异性与准确性。随着多组学技术以及大数据平台的不断发展,整合临床数据并

基于系统生物学对喉癌致病机制进行深入、全面的探究, 将为喉癌的早期诊断、治疗与预后提供更多参考。

参考文献 (References)

- [1] FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(8): 1941-53.
- [2] 陈文杰, 王斌全, 高伟, 等. 喉癌流行病学特征及影响因素分析 [J]. *中国当代医药* (CHEN W J, WANG B Q, GAO W, et al. Analysis of epidemiologic features and influence factors of carcinoma of larynx [J]. *China Modern Medicine*), 2015, 22(12): 43-6.
- [3] GUO L W, YANG F N, YIN Y L, et al. Prevalence of human papillomavirus type-16 in head and neck cancer among the Chinese population: a meta-analysis [J]. *Front Oncol*, 2018, 6(19): 1-9.
- [4] YANG F N, YIN Y L, LI P, et al. Prevalence of human papillomavirus type-18 in head and neck cancer among the Chinese population A PRISMA-compliant meta-analysis [J]. *Medicine*, 2019, 98(8): 1-7.
- [5] STEUER C E, EL-DEIRY M, PARKS J R, et al. An update on larynx cancer [J]. *CA-Cancer J Clin*, 2016, 67(1): 32-50.
- [6] ZENG H, CHEN W, ZHENG R, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries [J]. *Lancet Glob Health*, 2018, 6(5): e555-67.
- [7] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-74.
- [8] GRECO A, RIZZO M I, DE VIRGILIO A, et al. Cancer stem cells in laryngeal cancer: what we know [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2015, 273(11): 3487-95.
- [9] 白素杭, 杨晓悦, 张楠, 等. 肿瘤浸润淋巴细胞在实体肿瘤中作用的研究进展 [J]. *生物工程学报* (BAI S H, ZHANG X Y, ZHANG N, et al. Function of tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors—a review [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*), 2019, 35(12): 2308-25.
- [10] BALKWILL F R, CAPASSO M, HAGEMANN T. The tumor microenvironment at a glance [M]. *Histon: The Company of Biologists Ltd Press*, 2012, 5591-6.
- [11] HANAHAN D, WEINBERG R A. The hallmarks of cancer [J]. *Cell*, 2000, 100(1): 57-70.
- [12] GRANDA-DIAZ R, MENENDEZ S T, PEDREGAL MALLO D, et al. The novel role of SOX2 as an early predictor of cancer risk in patients with laryngeal precancerous lesions [J]. *Cancers*, 2019, 11(3): 286-96.
- [13] ANGELES VILLARONGA M, HERMIDA-PRADO F, GRANDA-DIAZ R, et al. Immunohistochemical expression of cortactin and focal adhesion kinase predicts recurrence risk and laryngeal cancer risk beyond histologic grading [J]. *Cancer Epidem Biomar*, 2018, 27(7): 805-13.
- [14] WEI L, MAO M, LIU H. Droplet digital PCR and qRT-PCR to detect circulating miR-21 in laryngeal squamous cell carcinoma and pre-malignant laryngeal lesions [J]. *Acta Oto-Laryngol*, 2016, 136(9): 923-32.
- [15] SU C L, JIA S S, LIU H G. Immunolocalization of CD163⁺ tumor-associated macrophages and symmetric proliferation of Ki-67 as biomarkers to differentiate new different grades of laryngeal dysplasia [J]. *Am J Clin Pathol*, 2018, 149(1): 8-16.
- [16] TANG T, SHAN G. DGCR5 promotes cancer stem cell-like properties of radioresistant laryngeal carcinoma cells by sponging miR-506 via Wnt pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18423-31.
- [17] KAIGORODOVA E V, ZAVYALOVA M V, BYCHKOV V A, et al. Functional state of the Hsp27 chaperone as a molecular marker of an unfavorable course of larynx cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(2): 145-53.
- [18] KLOBUCAR M, SEDIC M, GEHRIG P, et al. Basement membrane protein laminin-1 and the MIF-CD44-beta 1 integrin signaling axis are implicated in laryngeal cancer metastasis [J]. *Bba-Mol Basis Dis*, 2016, 1862(10): 1938-54.
- [19] TOPF M C, TULUC M, HARSHYNE L A, et al. Macrophage type 2 differentiation in a patient with laryngeal squamous cell carcinoma and metastatic prostate adenocarcinoma to the cervical lymph nodes [J]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5(1): 1-5.
- [20] SUN W, LI W J, FU Q L, et al. Functionally distinct subsets of CD4(+) regulatory T cells in patients with laryngeal squamous cell carcinoma are indicative of immune deregulation and disease progression [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(1): 354-62.
- [21] WEN Y H, LIN H Q, LI H, et al. Stromal interleukin-33 promotes regulatory T cell-mediated immunosuppression in head and neck squamous cell carcinoma and correlates with poor prognosis [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2019, 68(2): 221-32.
- [22] YU D, CHENG J Z, XUE K, et al. Expression of programmed death-ligand 1 in laryngeal carcinoma and its effects on immune cell subgroup infiltration [J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(4): 1437-43.
- [23] KARPATHIU G, CASTEILLO F, GIROULT J B, et al. Prognostic impact of immune microenvironment in laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinoma: Immune cell subtypes, immuno-suppressive pathways and clinicopathologic characteristics [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19310-22.
- [24] KARPATHIU G, VIEVILLE M, GAVID M, et al. Prognostic significance of tumor budding, tumor-stroma ratio, cell nests size, and stroma type in laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinomas [J]. *Head Neck-J Sci Spec*, 2019, 41(6): 1918-27.
- [25] TAO Y, GROSS N, LIU Y H, et al. A high ratio of IL-12R beta 2-positive tumor-infiltrating lymphocytes indicates favorable prognosis in laryngeal cancer [J]. *Oral Oncol*, 2017, 74: 148-56.
- [26] VASSILAKOPOULOU M, AVGERIS M, VELCHETI V, et al. Evaluation of PD-L1 expression and associated tumor-infiltrating lymphocytes in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(3): 704-13.
- [27] SCHULTER A, WELLER P, KANAAN O, et al. CD31 and VEGF are prognostic biomarkers in early-stage, but not in late-stage, laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Bmc Cancer*, 2018(1): 272-9.
- [28] WILKIE M D, LAU A S, VLATKOVIC N, et al. Metabolic signature of squamous cell carcinoma of the head and neck: consequences of TP53 mutation and therapeutic perspectives [J]. *Oral Oncol*, 2018, 83: 1-10.
- [29] SOMASHEKAR B S, KAMARAJAN P, DANCIU T, et al.

- Magic angle spinning NMR-based metabolic profiling of head and neck squamous cell carcinoma tissues [J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(11): 5232-41.
- [30] 费梦嘉, 徐雅男, 王家东. 甲状腺乳头状癌与喉鳞状细胞癌代谢组学初步研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(FEI M J, XU Y N, WANG J D, et al. Preliminary findings for metabolite profiles of papillary thyroid carcinoma and laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*), 2017, 31(20): 1561-5.
- [31] ZHANG X T, HOU H W, CHEN H, et al. Serum metabolomics of laryngeal cancer based on liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(5): e4181-7.
- [32] CHEN J, HOU H W, CHEN H, et al. Urinary metabolomics for discovering metabolic biomarkers of laryngeal cancer using UPLC-QTOF/MS [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2019, 167(1): 83-9.
- [33] LIU F, DU J, LIU J, et al. Identification of key target genes and pathways in laryngeal carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2): 1279-86.
- [34] TRIPATHI P, KAMARAJAN P, SOMASHEKAR B S, et al. Delineating metabolic signatures of head and neck squamous cell carcinoma: phospholipase A(2), a potential therapeutic target [J]. *Int J Biochem Cell B*, 2012, 44(11): 1852-61.
- [35] WANG L, SUN J, GAO P, et al. Wnt1-inducible signaling protein 1 regulates laryngeal squamous cell carcinoma glycolysis and chemoresistance via the YAP1/TEAD1/GLUT1 pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(9): 15941-50.
- [36] LU Z J, YU Q, ZHOU S H, et al. Construction of a GLUT-1 and HIF-1 alpha gene knockout cell model in Hep-2 cells using the CRISPR/Cas9 technique [J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(1): 2087-96.
- [37] HU Y, DENG K, PAN M, et al. Down-regulation of PCK2 inhibits the invasion and metastasis of laryngeal carcinoma cells [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(7): 3842-57.
- [38] GAO Y, WANG Z Q, TONG J, et al. LncRNA loc285194 inhibits tumor growth of laryngeal squamous cell carcinoma cells by downregulating hexokinase 2 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 2378-84.
- [39] SUN Z W, ZHANG W Q, LI Q. miR-125a suppresses viability and glycolysis and induces apoptosis by targeting hexokinase 2 in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Cell Biosci*, 2017, 7: 51-61.
- [40] HUI L, ZHANG J R, GUO X. MiR-125b-5p suppressed the glycolysis of laryngeal squamous cell carcinoma by down-regulating hexokinase-2 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 1194-201.
- [41] XU S, GUO J, ZHANG W. LncRNA PCAT19 promotes the proliferation of laryngocarcinoma cells via modulation of the miR-182/PDK4 axis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12810-21.
- [42] LIU L F, ZHANG P F, SHAO Y, et al. Knockdown of FOXJ1 inhibits the proliferation, migration, invasion, and glycolysis in laryngeal squamous cell carcinoma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15874-82.
- [43] LI F, SIMON M C. Cancer cells don't live alone: metabolic communication within tumor microenvironments [J]. *Dev Cell*, 2020, 3: 1194-201.
- [44] CURRY J M, TULUC M, WHITAKER-MENEZES D, et al. Cancer metabolism, stemness and tumor recurrence: MCT1 and MCT4 are functional biomarkers of metabolic symbiosis in head and neck cancer [J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(9): 1371-84.
- [45] 王亚波, 徐鸥, 张瑞敬, 等. GLUT-1和MCT-4与CAIX在喉鳞状细胞癌中的初步研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(WANG Y B, XU O, ZHANG R J, et al. A preliminary study on the relationship between GLUT-1, MCT-4 and CA IX in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*), 2017, 31(7): 510-4,9.
- [46] DE VINCENTIIS M, DI CELLO P, CENSI F, et al. Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx [J]. *Int J Biol Markers*, 2008, 23(3): 176-81.
- [47] LI K, ZHANG C C, CHEN L, et al. The role of acetyl-coA carboxylase2 in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Peerj*, 2019, 7: e7037-52.
- [48] ZHAO R, TIAN L, ZHAO B, et al. FADS1 promotes the progression of laryngeal squamous cell carcinoma through activating AKT/mTOR signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(4): 272-85.
- [49] LOUW L, CLAASSEN J. Rationale for adjuvant fatty acid therapy to prevent radiotherapy failure and tumor recurrence during early laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Prostag Leukotr Ess*, 2008, 78(1): 21-6.
- [50] 王嘉, 李晓明, 徐鸥, 等. 磷脂酶参与的花生四烯酸12-LOX代谢通路在喉鳞状细胞癌中的作用及临床意义[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*(WANG J, LI X M, XU O, et al. The role and clinical significance of 12-LOX passway in arachidonic acid metabolism induced by phospholipase C γ -2 in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*), 2013, 27(24): 1355-9.
- [51] KOURELIS K, VANDOROS G, KOURELIS T, et al. Low COX2 in tumor and upregulation in stroma mark laryngeal squamous cell carcinoma progression [J]. *Laryngoscope*, 2009, 119(9): 1723-9.
- [52] KOURELIS K, SOTIROPOULOU-BONIKOU G, VANDOROS G, et al. Coordinated upregulation of COX-2 and NF-kappaB is a steady feature of laryngeal carcinogenesis [J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2007, 69(3): 181-9.
- [53] MASTRONIKOLIS N S, TSIAMBAS E, PAPADAS T A, et al. Deregulation of PTEN expression in laryngeal squamous cell carcinoma based on tissue microarray digital analysis [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(10): 5521-4.
- [54] SULLU Y, GUN S, ATMACA S, et al. Poor prognostic clinicopathologic features correlate with VEGF expression but not with PTEN expression in squamous cell carcinoma of the larynx [J]. *Diagn Pathol*, 2010, 5(1): 35-40.
- [55] ZHU X L, SUN W, LEI W B, et al. DJ-1-induced phosphatase and tensin homologue downregulation is associated with proliferative and invasive activity of laryngeal cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2003-8.
- [56] BUTLER L M, PERONE Y, DEHAIRS J, et al. Lipids and cancer: emerging roles in pathogenesis, diagnosis and therapeutic intervention [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, doi: 10.1016/j.addr.2020.07.013.
- [57] SANG L J, LITAL A, HIREN K, et al. Urea cycle dysregulation generates clinically relevant genomic and biochemical signatures

- [J]. *Cell*, 2018, 174(6): 1559-70.
- [58] CANO A, SANTAMARIA P G, MORENO-BUENO G. LOXL2 in epithelial cell plasticity and tumor progression [J]. *Future Oncol*, 2012, 8(9): 1095-108.
- [59] PEINADO H, MORENO-BUENO G, HARDISSON D, et al. Lysyl oxidase-like 2 as a new poor prognosis marker of squamous cell carcinomas [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4541-50.
- [60] ENGIN A B, GUNAYDIN R O, KESIKLI S A, et al. Serum neopterin concentrations and tryptophan degradation pattern in patients with late stage larynx carcinoma [J]. *Pteridines*, 2017, 28(2): 91-5.
- [61] WILKAT M, BAST H, DREES R, et al. Adenosine receptor 2B activity promotes autonomous growth, migration as well as vascularization of head and neck squamous cell carcinoma cells [J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(1): 202-17.
- [62] MANDAPATHIL M, SZCZEPANSKI M J, SZAJNIK M, et al. Increased ectonucleotidase expression and activity in regulatory T cells of patients with head and neck Cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(20): 6348-57.