

• 临床经验与技术交流 •

节律基因 *Per1* 在咽喉部鳞癌中的表达及与临床病理和预后的相关研究*王苗, 金风[△], 李媛媛[△], 吴伟莉, 龙金华, 罗秀玲, 龚修云, 陈潇潇

550001 贵阳, 贵州医科大学临床医学院 肿瘤学教研室(王苗、金风、李媛媛); 550000 贵阳, 贵州医科大学附属医院·贵州省肿瘤医院 头颈肿瘤科(金风、李媛媛、吴伟莉、龙金华、罗秀玲、龚修云、陈潇潇)

[摘要] 目的: 探索节律基因 *Per1* 在咽喉部鳞癌中的表达及与临床病理和预后的相关性。方法: 收集 2015 年 10 月至 2016 年 9 月贵州省肿瘤医院头颈肿瘤科咽喉部鳞癌患者的术后病理标本 15 例及 13 例咽喉部活检患者病理标本证实为非肿瘤的正常组织标本, 采用 RT-qPCR 法检测两组标本中 *Per1* mRNA 的表达水平; 收集 2013 年 1 月至 2017 年 3 月 60 例经病理确诊为咽喉部鳞癌患者的存档蜡块及其中的 20 例癌旁组织蜡块, 同时收集对应患者的临床病理资料, 采用免疫组化法检测两组标本中 *Per1* 蛋白的表达情况, 并分析 *Per1* 蛋白表达水平与患者临床病理发展及预后相关性。结果: *Per1* mRNA 在咽喉部鳞癌组织中的表达水平显著低于咽喉部正常组织中的表达水平 ($P < 0.05$), 且局部晚期咽喉部鳞癌患者标本中的 *Per1* mRNA 表达水平明显低于早期咽喉部鳞癌患者标本中的表达水平 ($P < 0.05$)。 *Per1* 在咽喉部鳞癌组织中的蛋白表达水平明显低于癌旁组织中的表达水平 ($P < 0.05$)。通过 Kaplan-Meier 统计学分析, *Per1* 蛋白阳性表达组 3 年总生存率和无进展生存率明显高于阴性组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 节律基因 *Per1* 在咽喉部鳞癌组织中的表达显著下调, 且其表达水平与咽喉部鳞癌患者的生存呈正相关, 可能成为咽喉部鳞癌患者预后的重要标志物。

[关键词] 头颈部鳞癌; 生物钟基因; *Per1*; RT-qPCR; 免疫组化

[中图分类号] R739.91 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2021.06.008

引文格式: Wang M, Jin F, Li YY, et al. Expression of rhythm gene *Per1* in pharynx/larynx squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathology and prognosis[J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(6): 531–537. [王苗, 金风, 李媛媛, 等. 节律基因 *Per1* 在咽喉部鳞癌中的表达及与临床病理和预后的相关研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(6): 531–537.]

Expression of Rhythm Gene *Per1* in Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma and Its Correlation with Clinicopathology and Prognosis

Wang Miao, Jin Feng, Li Yuanyuan, Wu Weili, Long Jinhua, Luo Xiuling, Gong Xiuyun, Chen Xiaoxiao
Department of Oncology, College of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550001, Guizhou, China (Wang Miao, Jin Feng, Li Yuanyuan); Department of Head and Neck Oncology, the Affiliated Cancer Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550000, Guizhou, China (Jin Feng, Li Yuanyuan, Wu Weili, Long Jinhua, Luo Xiuling, Gong Xiuyun, Chen Xiaoxiao)

Corresponding author: Jin Feng, E-mail: jinf8865@yeah.net; Li Yuanyuan, E-mail: 1244028717@qq.com

This study was supported by grants from Education Department of Guizhou Province (No. KY[2017]038).

[Abstract] **Objective:** To explore the expression of rhythm gene *Per1* in pharynx/larynx squamous cell carcinoma and its correlation with clinicopathology and prognosis. **Methods:** From October 2015 to September 2016, 15 postoperative pathological specimens of pharynx/larynx squamous cell carcinoma, as well as 13 samples of normal tissues from pharynx/larynx confirmed by biopsies were collected from the department of head and neck oncology of the Affiliated Cancer Hospital of Guizhou Medical University. The expression levels of *Per1* mRNA in two groups were detected by RT-qPCR. The ar-

[收稿日期] 2020-12-28 **[修回日期]** 2021-05-04

[基金项目] * 贵州省教育厅创新群体重大项目(编号: 黔教合 KY 字[2017]038)

[通讯作者] [△] 金风, E-mail: jinf8865@yeah.net; 李媛媛, E-mail: 1244028717@qq.com

logical specimens of pharynx/larynx squamous cell carcinoma, as well as 13 samples of normal tissues from pharynx/larynx confirmed by biopsies were collected from the department of head and neck oncology of the Affiliated Cancer Hospital of Guizhou Medical University. The expression levels of *Per1* mRNA in two groups were detected by RT-qPCR. The ar-

chived wax blocks of 60 cases of pharynx/laryngeal squamous cell carcinoma and 20 cases of paracancerous tissues were collected from January 2013 to March 2017, and the clinicopathological data of those patients were collected. The expression levels of *Per1* protein in two groups were detected by immunohistochemical method, and the correlation between the expression level of *Per1* protein and the clinicopathological development and prognosis of the patients was analyzed. **Results:** The expression levels of *Per1* mRNA in pharynx/larynx squamous cell carcinoma were significantly lower than those in normal pharynx/larynx tissues, and those in locally advanced larynx squamous cell carcinoma was significantly lower than those in early pharynx/larynx squamous cell carcinoma ($P < 0.05$). The expression levels of *Per1* protein in pharynx/larynx squamous cell carcinoma were significantly lower than those in paracancerous tissues. Kaplan-Meier analysis showed that both the 3-year overall survival and progression-free survival in the *Per1* + group were significantly higher than those in the *Per1* - group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of rhythm gene *Per1* in pharynx/larynx squamous cell carcinoma is relatively low, and its expression level is positively correlated to the survival of patients. It may become an important marker for the prognosis of patients with pharynx/larynx squamous cell carcinoma.

[Key words] Head and neck squamous cell carcinoma; Circadian clock gene; *Per1*; RT-qPCR; Immunohistochemistry

头颈部肿瘤是常见的恶性肿瘤之一,其发病率及死亡率分别占全球的第六位和第八位^[1-2],90%以上的病理类型为鳞癌,咽喉部鳞癌在头颈部肿瘤中的发病呈逐年上升趋势,尽管目前的诊疗技术不断进步,但多数患者在确诊时已属晚期或伴晚期转移,患者的预后较差^[3]。*Period-1* (*Per1*) 基因是机体内生理节奏调节的核心基因,在机体内参与调节机体生理节奏、调控细胞周期以及促进 DNA 损伤修复^[4,5]等一系列的生理病理过程,并与肿瘤的发生、发展密切相关。研究表明,*Per1* 基因广泛参与食管癌^[6]、胆管癌^[7]、子宫内膜癌^[8]、胰腺癌^[9]、肾上腺癌^[10]和口腔癌^[11]等多种恶性肿瘤的增殖、迁移和侵袭过程,并发挥抑癌基因的作用,但相关研究多停留在分子机制层面,结合临床数据相关的分析较少,本研究旨在探索节律基因 *Per1* 在咽喉部鳞癌中的表达及与临床病理和预后的关系,以期对咽喉部鳞癌的生存预后寻找新的生物标记物提供依据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集 2015 年 10 月至 2016 年 9 月贵州省肿瘤医院头颈肿瘤科咽喉部鳞癌患者的术后病理标本 15 例及 13 例咽喉部活检患者病理证实为非肿瘤的正常组织标本;同时收集了 2013 年 1 月至 2017 年 3 月 60 例经病理确诊为咽喉部鳞癌患者的存档蜡块及其中的 20 例癌旁组织蜡块,并收集对应患者的临床病理资料,包括:年龄、性别、临床分期(AJCC 第七版)、是否手术、是否化疗等。通过病历阅读和电话咨询进行随访,根据《赫尔辛基宣言》伦理原则告知患者或其家属切除的组织将用于病理学研究,所有操作规程均通过贵州省肿瘤医院伦理委员会审批。

1.2 试剂

UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 提取试剂盒、PCR 试剂盒、*Per1* 及 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)引物购自生工生物工程(上海)股份有限公司;RevertAid™ 第一链 cDNA 合成试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司;兔抗 *Per1* 多克隆抗体、GAPDH 抗体购自美国 Abcam 公司;辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;DAB 显色试剂盒、苏木精购自上海康朗生物科技有限公司;三羟甲基氨基甲烷缓冲液(triethanolamine buffered saline, TBS)购自青岛捷世康生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)均购自美国 Gibco 公司。

1.3 实时逆转录聚合酶链反应

1) 使用 UNIQ-10 柱式 Trizol 总 RNA 提取试剂盒,分别提取 15 例咽喉部鳞癌患者的术后病理标本及 13 例咽喉部活检患者正常组织标本中的总 RNA;2) 按照 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书将提取的两组总 RNA 分别逆转录成 cDNA;3) 取逆转录产物 cDNA 为模板,利用 PCR 蛋白定量试剂盒以及 *Per1* 和内参照 GAPDH 的特异性引物进行实时定量 PCR 反应(表 1),所有反应均设置 3 个复孔,反应条件为 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火延伸 60 s, 扩增 40 个循环。采用 NANODROP2000 实时定量 PCR 仪进行检测,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算两组标本中 *Per1* 基因的 mRNA 表达量。

1.4 免疫组化染色及判读标准

将 60 例经病理确诊为咽喉部鳞癌患者的存档蜡块及其中的 20 例癌旁组织蜡块切片,常规脱蜡、水化和 PBS 冲洗后,加入枸橼酸盐修复液放入微波

炉中行抗原修复 2 次,每次 3 min,修复后冷却至室温,加入血清放入恒温箱中封闭半小时,然后加入兔抗 Per1 一抗(1:225 稀释)4 ℃ 过夜。TBS 漂洗 3 次,每次 5 min,加入 HRP 标记山羊抗兔二抗,37 ℃ 孵育 30 min,TBS 漂洗 3 次,每次 5 min,DAB 显色液染色、苏木精复染、梯度酒精脱水、封片,光镜下观察,每例切片随机选取 5 个高倍镜视野进行结果判定。Per1 蛋白主要表达于细胞质,阳性染色为棕褐色、棕黄色或淡黄色。

评分采用二级计分法:1)着色阳性细胞占视野总细胞百分率(阳性细胞数 \leq 5%计0分,6%~25%计1分,26%~50%计2分, \geq 51%计3分);2)按染色程度分级(无染色计为0分,淡黄色计1分,黄或棕黄色为2分,棕褐色为3分)。将两者计分相乘,将 \geq 2分和0~2分分别定义为阳性表达组和阴性表达组。病理诊断结果由两名病理医师确认。

表 1 实时荧光定量 PCR 各基因引物序列

Table 1. Primer Sequence of Each Gene by Real-Time Fluorescent Quantitative PCR

Gene	Forward primer (5' -3')	Reverse primer (5' -3')
<i>Per1</i>	CACCCTGACCCACTCTT	GCTAAGGCTGGACTGGATGA
<i>GAPDH</i>	AGGCCGGTGCTGAGTATGTC	TGCCTGCTTCACCACCTTCA

1.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。*Per1* 基因 mRNA 表达水平组间比较采用独立样本 *t* 检验。*Per1* 基因蛋白表达与临床病理特征的关系分析采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法,生存分析采用 Kaplan-Meier 法并行 Log-rank 检验,Cox 风险比率回归模型进行多变量生存分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常组织中 Per1 mRNA 和蛋白表达水平高于咽喉部鳞癌组织

15 例咽喉部鳞癌组织和 13 例咽喉部正常组织的 PCR 检测结果(图 1)显示,与正常组织相比,咽喉部鳞癌组织中 *Per1* mRNA 表达水平相对较低,差异有统计学意义($P = 0.001$)。从表 2 可知,Per1 蛋白在咽喉部鳞癌组织的阳性表达率为 40% (24/60),在癌旁组织中的阳性表达率为 95% (19/20),癌旁组织的 Per1 蛋白表达水平显著高于癌组织($P < 0.001$)。Per1 蛋白在癌旁组织中主要表达于细

胞核和细胞质,而在咽喉部鳞癌组织中主要表达于细胞质(图 2)。

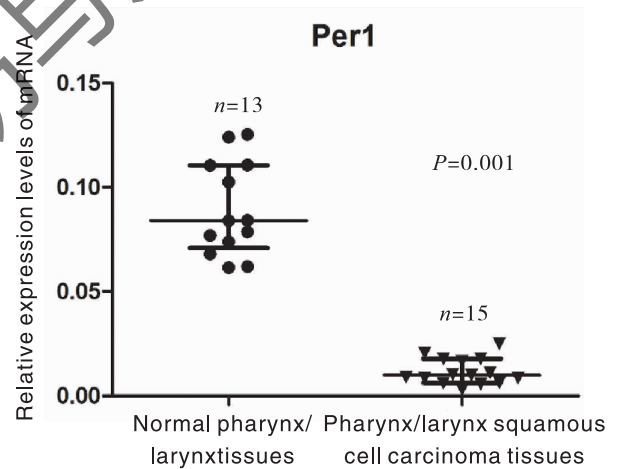


图 1 *Per1* 基因在咽喉部正常组织和咽喉部鳞癌组织中的 mRNA 表达水平

Figure 1. Expression Levels of *Per1* mRNA in Normal Pharynx/Larynx Tissues and Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma Tissues

表 2 咽喉部鳞癌组织与癌旁组织 Per1 蛋白表达水平

Table 2. Expression Levels of Per1 Protein in Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma and Adjacent Tissues

Type of tissue	N	Expression of Per1 [n (%)]		P
		+	-	
Pharynx/larynx squamous cell carcinoma	60	24 (40)	36 (60)	< 0.001
Paracancerous tissue	20	19 (95)	1 (5)	

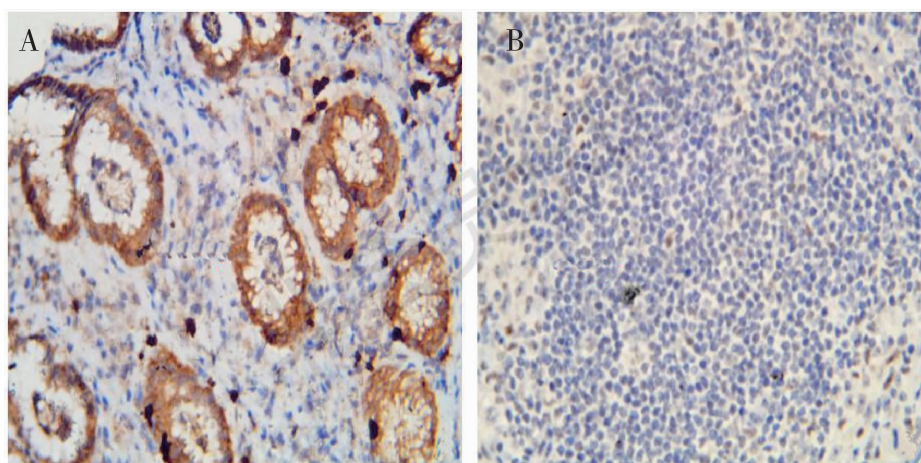


图2 Per1 蛋白在咽喉部鳞癌组织和癌旁组织中免疫组化染色(×200)

Figure 2. Per1 Protein Expression in Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma and Adjacent Tissues (Immunohistochemical Staining, ×200)

A. Positive expression of Per1 in paracancerous tissues; B. Negative expression of Per1 in pharynx/larynx squamous cell carcinoma.

2.2 咽喉部鳞癌组织中 Per1 蛋白及 mRNA 表达水平与患者临床病理特征的关系

60 例咽喉部鳞癌组织蜡块均有完整的临床病理数据,其中男性 49 例,女性 11 例;患者中位年龄 56 岁;临床分期 I~II 期 9 例,III~IV 期 51 例;口咽癌 1 例,喉癌 35 例,下咽癌 24 例;患者均行放射治

疗,其中手术 20 例。表 3 显示,60 例咽喉部鳞癌组织 Per1 蛋白表达与患者性别、年龄、临床分期、是否手术、是否化疗无相关性($P > 0.05$)。但图 3 显示,15 例咽喉部鳞癌患者 *Per1* 的 mRNA 表达水平与肿瘤分期相关,早期患者的 *Per1* mRNA 表达水平高于晚期患者($P = 0.042$)。

表 3 60 例咽喉部鳞癌组织中 Per1 蛋白表达与临床病理特征的关系

Table 3. Relationship between the Expression of Per1 Protein and Clinicopathological Characteristics in 60 Cases of Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma

Clinicopathological characteristic	Per1 + [$n = 24$ (%)]	Per1 - [$n = 36$ (%)]	P^*
Gender			0.321
Male	18 (75)	31 (86)	
Female	6 (25)	5 (14)	
Age (year)			0.500
≥56	21 (87.5)	28 (77.8)	
<56	3 (12.5)	8 (22.2)	
Stage			1.000
I + II	4 (16.7)	5 (13.9)	
III + IV	20 (83.3)	31 (86.1)	
Surgery			0.402
Yes	6 (25)	14 (38.9)	
No	18 (75)	22 (61.1)	
Chemotherapy			0.535
Yes	17 (70.8)	29 (80.6)	
No	7 (29.2)	7 (19.4)	

* Fisher's exact test.

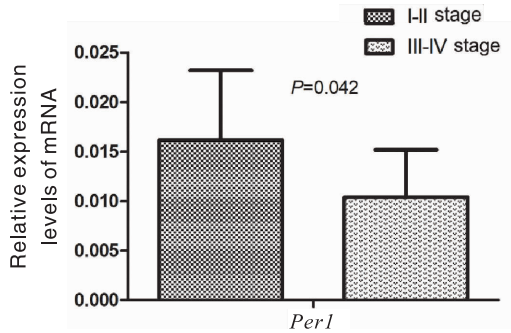


图3 早期和晚期咽喉部鳞癌患者 Per1 的 mRNA 表达水平
Figure 3. Expression Levels of *Per1* mRNA in Patients with Early and Advanced Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma

2.3 Per1 蛋白表达与咽喉部鳞癌患者预后的关系

60 例咽喉部鳞癌组织蜡块均有完整的随访信

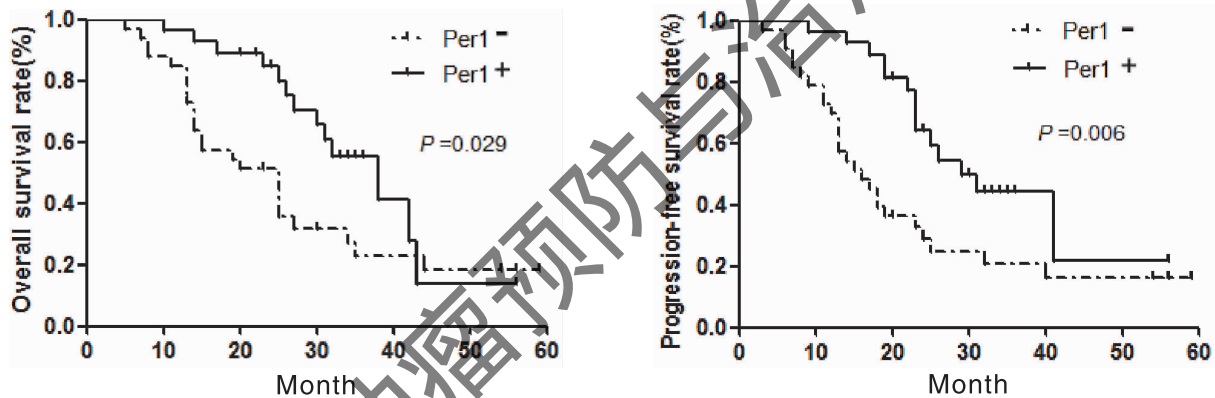


图4 Per1 蛋白阳性组和阴性组咽喉部鳞癌患者的生存曲线
Figure 4. Survival of Per1+ and Per1- Patients with Pharynx/Larynx Squamous Cell carcinoma

表4 咽喉部鳞癌患者影响总生存的预后多影响因素分析

Table 4. Factors Affecting Overall Survival in Patients with Pharynx/Larynx Squamous Cell Carcinoma

Variable	β	Wald	HR	95.0% CI	P
Age (< 56 vs \geq 56)	0.295	0.881	0.744	0.401 ~ 1.379	0.348
Gender (male vs female)	0.174	0.298	0.840	0.450 ~ 1.568	0.585
Clinical stage (I ~ II vs III ~ IV)	1.249	6.619	0.287	0.111 ~ 0.743	0.010
Surgery (yes vs no)	0.829	3.601	0.437	0.186 ~ 1.028	0.058
Chemotherapy (yes vs no)	0.625	1.642	1.868	0.718 ~ 4.855	0.200
Per1 expression (+ vs -)	0.720	4.956	2.054	1.090 ~ 3.870	0.026

3 讨论

咽喉部鳞癌是头颈部常见的恶性肿瘤,属于高侵袭性实体肿瘤,目前,关于头颈部肿瘤的治疗仍以手术、化疗、放疗相结合的综合治疗为主,尽管随着

息,中位随访时间 42 个月(17 ~ 61 个月),随访时间截止到 2019 年 6 月 30 日。统计学分析 60 例咽喉部鳞癌患者 Per1 蛋白阳性组和阴性组的生存率,由于部分患者存活时间不足 5 年,故计算 3 年总生存率(overall survival, OS)和无进展生存率(progression-free survival, PFS),并用 Kaplan-Meier 生存曲线表示(图 4)。截至 2019 年 6 月 30 日,共有 27 例患者存活,33 例患者死亡,其中 31 例死亡与肿瘤有关,1 例死于突发性脑出血,1 例死于心肌梗死。Per1 蛋白阳性组和阴性组患者的 3 年 OS 分别为 55.2% 和 24.3%,PFS 分别为 44.1% 和 20.7%,差异均有统计学意义($P=0.029$, $P=0.006$)。Cox 多因素回归分析显示,临床分期及 Per1 蛋白表达是 OS 的独立预后因素($P=0.010$, $P=0.026$)(表 4)。

当前诊疗手段及技术的不断进步,该类肿瘤的生存率较前有所改善,但晚期复发率及病死率仍较高^[12],因此,积极探索影响咽喉部鳞癌患者的发病及预后因素,有望改善咽喉部鳞癌患者的预后,为咽喉部鳞癌的检测及治疗提供新的思路。Per 家族基

因是机体生理节奏调节的核心基因,在机体内参与了细胞周期调控、DNA 损伤修复、细胞凋亡等一系列生理病理过程^[13]。相关研究发现, *Per* 基因还广泛参与了多种肿瘤的增殖、迁移和侵袭过程^[6-11]。Han 等^[7]用 qPCR 法检测了胆管癌细胞及非胆管癌细胞中 *Per1* 基因的表达情况,结果发现 *Per1* 在胆管癌细胞中的表达显著降低;在细胞实验中发现, *Per1* 过表达细胞表现为细胞增殖能力显著降低;进一步在动物体内研究发现,过表达 *Per1* 后,肿瘤的生长减少,增殖、血管生成和转移减少。Orhan 等^[14]对 16 例结直肠癌手术患者的癌组织及配对的正常肠黏膜中的 *Per1* 表达水平进行了分析,结果发现,癌组织中的 *Per1* 表达水平显著低于正常肠黏膜。我们的研究同样证实了咽喉部鳞癌组织中 *Per1* 基因的表达水平较正常组织降低,并且我们发现,在局部晚期咽喉部鳞癌组织中 *Per1* 的表达水平显著低于早期,这一点与之前的 *Per1* 基因在口腔鳞癌中的研究相似,该研究表明,与早期口腔鳞癌相比,局部进展期患者的 *Per1* 基因表达水平下调,且 *Per1* 基因表达的下调可显著增加淋巴结转移的风险^[15]。这在另一个学者的研究中也得到了证实,该研究表明,在 SCC15 口腔鳞癌细胞中过表达 *Per1* 可显著促进细胞的自噬和凋亡,同时抑制细胞的增殖和 AKT/mTOR 通路;而沉默 *Per1* 基因,则细胞自噬和凋亡减少,并以 AKT/mTOR 通路依赖的方式促进细胞增殖,从而促进口腔鳞癌的进展^[16]。以上结果表明, *Per1* 基因在咽喉部鳞癌中可能是抑癌基因,具有抑制肿瘤生成的作用。

本研究研究了 *Per1* 基因与咽喉部鳞癌患者临床病理及预后的关系,完整随访收集了 60 例患者的临床病理资料,采用免疫组化检测了癌及癌旁组织中 *Per1* 蛋白的表达水平,结果表明, *Per1* 蛋白表达与患者性别、年龄、临床分期、是否手术、是否化疗无相关性($P > 0.05$); *Per1* 蛋白阳性表达组和阴性表达组患者的 3 年 OS 分别为 55.2% 和 24.3%, 3 年 PFS 分别为 44.1% 和 20.7%, 差异均有统计学意义($P = 0.029$, $P = 0.006$);在多因素分析中显示,临床分期及 *Per1* 表达是影响患者 OS 的独立预后危险因素。在此次生存分析中,我们研究的 OS 及 PFS 均低于以往大多数研究^[17-19],这可能与我们本次研究纳入的样本量较少,且患者多数以局部晚期患者为主,而且我们将未治疗完成的患者也列入了分析,最终导致分析结果有所偏差所致。

综上所述,咽喉部鳞癌是常见的恶性肿瘤,多数

患者在确诊时已属晚期,临床分期及 *Per1* 表达是影响其生存预后的独立危险因素,所以早诊断、早治疗显得尤为重要,本研究显示 *Per1* 在咽喉部鳞癌组织中表达较正常组织显著降低,且 *Per1* 阳性表达组较阴性组表达生存预后更好, *Per1* 可能成为临床咽喉部鳞癌患者预后的一个预测指标,但这仍需要扩大样本量去进一步验证。

作者声明: 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议: 经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权: 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Wang HC, Chan LP, Cho SF. Targeting the immune microenvironment in the treatment of head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2019, 9 : 1084.
- [2] Yu SS, Cirillo N. The molecular markers of cancer stem cells in head and neck tumors [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235 (1) : 65-73.
- [3] Jou A, Hess J. Epidemiology and molecular biology of head and neck cancer [J]. *Oncol Res Treat*, 2017, 40 (6) : 328-332.
- [4] Papagiannakopoulos T, Bauer M, Davidson S, et al. Circadian rhythm disruption promotes lung tumorigenesis [J]. *Cell Metab*, 2016, 24 (2) : 324-331.
- [5] Li HX. The role of circadian clock genes in tumors [J]. *Oncotargets Ther*, 2019, 12 : 3645-3660.
- [6] Deng X, Li G, Hu X. Daily rhythmic variations of VEGF in esophageal Squamous cell carcinoma patients: A correlation study of clock gene PER1, PER2 and VEGF expression [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10 (2) : 1008-1018.
- [7] Han Y, Meng F, Venter J, et al. miR-34a-dependent overexpression of *Per1* decreases cholangiocarcinoma growth [J]. *J Hepatol*, 2016, 64 (6) : 1295-1304.
- [8] Wang Z, Wang H, Wang Z, et al. Associated analysis of PER1/TUBB2B with endometrial cancer development caused by circadian rhythm disorders [J]. *Med Oncol*, 2020, 37 (10) : 90.
- [9] Guo X, Li K, Jiang W, et al. RNA demethylase ALKBH5 prevents pancreatic cancer progression by posttranscriptional activation of PER1 in an m6A-YTHDF2-dependent manner [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19 (1) : 91.

- [10] Angelousi A, Nasiri-Ansari N, Karapanagioti A, *et al.* Expression of clock-related genes in benign and malignant adrenal tumors[J]. *Endocrine*, 2020, 68(3): 650-659.
- [11] Zhao Q, Zheng G, Yang K, *et al.* The clock gene PER1 plays an important role in regulating the clock gene network in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 70290-70302.
- [12] Lewis CM, Weber RS. Performance improvement in head and neck cancer[J]. *Curr Oncol Rep*, 2018, 20(1): 1.
- [13] Astone M, Santoro MM. Time to fight: Targeting the circadian clock molecular machinery in cancer therapy[J]. *Drug Discov Today*, 2021. doi: 10.1016/j.drudis.2021.01.023.
- [14] Orhan T, Nielsen PB, Hviid TVF, *et al.* Expression of circadian clock genes in human colorectal cancer tissues using droplet digital PCR[J]. *Cancer Invest*, 2019, 37(2): 90-98.
- [15] Li HX, Fu XJ, Yang K, *et al.* The clock gene PER1 suppresses expression of tumor-related genes in human oral squamous cell carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 20574-20583.
- [16] Yang G, Yang Y, Tang H, *et al.* Loss of the clock gene Per1 promotes oral squamous cell carcinoma progression via the AKT/mTOR pathway[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(5): 1542-1554.
- [17] Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: Which platforms are ready for "prime time"? [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2014, 2014(1): 222-233.
- [18] Guan J, Zhang Y, Li Q, *et al.* A meta-analysis of weekly cisplatin versus three weekly cisplatin chemotherapy plus concurrent radiotherapy (CRT) for advanced head and neck cancer (HNC)[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 70185-70193.
- [19] Szturcz P, Wouters K, Kiyota N, *et al.* Low-dose vs. high-dose cisplatin: Lessons learned from 59 chemoradiotherapy trials in head and neck cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 86.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于研究生毕业论文投稿版权问题的声明

依照教育部门相关规定,研究生在读期间所撰写的学位论文,版权归属于所就读院校。据此,本刊规定凡研究生发表的与其学位论文密切相关的学术文章,均应在文章中明确写明版权单位,如作者同时具有其他单位的,可以一并列出。欢迎广大研究生将学位论文以论著、综述等形式投稿本刊,原则上稿件第一作者与学位论文完成人一致,稿件与学位论文重复率不能超过 20%。对于优秀研究生稿件,本刊将开通绿色通道,减免部分版面费,优先发表。

本刊编辑部