

喉鳞癌患者外周血T淋巴细胞AgNORs 表达与临床相关因素的分析

门倩倩¹ 欧阳电¹ 丁卫泉² 苏旋¹ 杨安奎¹

1. 中山大学肿瘤防治中心头颈科, 华南肿瘤学国家重点实验室, 广东 广州 510060;
2. 广州市番禺区中心医院耳鼻喉科, 广州 番禺 511400

[摘要] **背景与目的:** T淋巴细胞核仁形成区嗜银蛋白(argyrophilic nucleolar organizer regions, AgNORs)检测已在恶性肿瘤诊断、预后判断中得到广泛的研究和应用, 检测T淋巴细胞的AgNORs含量可用于反映恶性肿瘤的预后及复发。研究发现AgNORs定量分析是咽癌、多发性骨髓瘤、男性乳腺癌和前列腺癌独立的预后因素。本研究检测喉鳞癌患者外周血AgNORs的表达, 分析其与年龄、性别、临床分期、T分期、N分期、解剖分区、病理分级、切缘和复发等的相关性。**方法:** 收集中山大学肿瘤防治中心头颈科2001年2月—2004年6月初治的喉鳞癌患者的临床资料, 利用KL型图像分析系统测定喉鳞癌患者外周血T淋巴细胞AgNORs的含量; 统计学分析采用SPSS 16.0软件, 采用Kaplan-Meier法进行生存分析并进行Log-rank检验, 因素间的相关关系采用 χ^2 检验, 多因素分析采用Cox模型。**结果:** AgNORs表达阳性组5年生存率(58%)较阴性组(76%)低, 差异有统计学意义($P=0.048$)。年龄、解剖分区、临床病理分期、T分期、N分期、切缘、复发和AgNORs阳性表达是影响喉癌预后的重要因素($P<0.05$); AgNORs阳性表达与临床病理分期、T分期、复发和切缘相关($P<0.05$); 声门上型喉鳞癌AgNORs阳性表达与淋巴结转移相关($P=0.038$), 切缘阴性患者中AgNORs阳性表达与复发相关($P=0.046$); 年龄和复发是影响喉癌预后的独立因素。**结论:** 术后切缘阴性的喉鳞癌患者AgNORs表达阳性推荐术后行积极治疗, 声门上型喉癌中AgNORs表达阳性提示淋巴结转移的可能性大, 可考虑行选择性淋巴结清扫术。

[关键词] 喉鳞癌; 核仁形成区嗜银蛋白; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.05.003

中图分类号: R739.65 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)05-0334-07

Argyrophilic nucleolar organizer regions expression in laryngeal squamous cell carcinoma and its relationship with clinical factors MEN Qian-qian, OUYANG Dian, DING Wei-quan, SU Xuan, YANG An-kui (1.Department of Head and Neck Surgery, Cancer Center, Sun Yat-sen University, State Key Laboratory of Oncology in Southern China, Guangzhou Guangdong 510060, China; 2.Department of Otorhinolaryngology, Guangzhou Panyu Central Hospital, Guangzhou Guangdong 511400, China)

Correspondence to: YANG An-kui E-mail: yangak@sysucc.org.cn

[Abstract] **Background and purpose:** Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) has been widely used in diagnosis and prognostic in malignant tumor, AgNORs content can be used to reflect prognosis and recurrence of the malignant tumors. Studies found that AgNORs is an independent prognostic factor in pharynx cancer, multiple myeloma, male breast cancer and prostate cancer. This study aimed to examine the expression of AgNORs in laryngeal squamous cell carcinoma and analyze the relationship between the expression of AgNORs and clinical factors including age, gender, clinical stage, T stage, N stage, classification, histology grade, recurrence and incisal edge. **Methods:** Clinical information and the AgNORs count of 122 cases laryngeal squamous cell carcinoma patients, who were initially treated by surgery between 2001 and 2004, were collected. SPSS 16.0 software was used. Kaplan-Meier method was used for survival analysis, and log-rank test was used for data analysis; multivariate analysis was carried out using Cox proportional hazard model. **Results:** The positive AgNORs expression group (5-year overall survival rate: 58%) had a worse prognosis than that of negative group (5-year overall survival rate: 76%) ($P<0.05$). Age, clinical

stage, T stage, N stage, classification, recurrence, incisal edge and AgNORs expression were the most important prognostic factors ($P < 0.05$). The expression of AgNORs was correlated with clinical stage, T stage, recurrence and incisal edge ($P < 0.05$). AgNORs expression was statistically significant differences on judging lymph node metastasis in the supraglottic laryngeal carcinoma, and it was related with recurrence in the patients of negative incisal edge. Age and recurrence were independent prognosis factors on survival in laryngeal squamous cell carcinoma patients. **Conclusion:** Postoperative active treatment may should be recommended for cases with AgNORs positively expressed and the incisal edge negative; and selective lymph node dissections may should be performed on supraglottic laryngeal squamous cell carcinoma with AgNORs positive patients.

[Key words] Laryngeal squamous cell carcinoma; Argrophilic nucleolar organizer regions; AgNORs

核仁组成区(nucleolar organizer regions, NORs)是一系列能被银染法选择性染色的嗜银性蛋白的核仁组成成分,银染之后,NORs呈黑色斑点,定位于细胞核仁区的特定部位,很容易被识别,称之为核仁形成区嗜银蛋白(argrophilic nucleolar organizer regions, AgNORs)。AgNORs的本质是RNA聚合酶的亚单位,是核糖体基因(rRNA)转录的调节蛋白,目前已广泛用于肿瘤研究。AgNORs的含量通常用银染核仁面积与细胞核面积的比值(I.S%)表示,用于反映细胞rRNA转录活性的高低。该比值升高,rRNA转录活性增高;反之,表明转录活性降低。T淋巴细胞AgNORs代表着T淋巴细胞内核仁形成区的DNA转录活性即T淋巴细胞的免疫活性,间接反应喉癌患者的免疫状态。本研究利用KL型图像分析系统,测定了喉鳞癌患者外周血T淋巴细胞AgNORs的含量并分析其与年龄、性别、临床病理分期、T分期、N分期、解剖分区、病理分级、切缘和复发等因素的相关性。

1 资料和方法

1.1 临床资料

2001年2月—2004年6月中山大学肿瘤防治中心头颈科122例初治喉鳞癌手术患者作为研究对象,其中男性115例,女性7例;年龄最小32岁,最大80岁,中位年龄58岁;声门上型喉癌39例,声门型喉癌83例;临床病理分期(UICC 2002) I + II期为75例, III + IV期为47例; T分期中T₁+T₂ 80例, T₃+T₄ 42例; N分期中N₀ 104例, N₊ 18例;病理分级中, G1 61例, G2 34例,

G3 16例,其他11例;切缘阳性21例,阴性101例;复发36例,未复发86例,所有患者均手术治疗;无免疫系统疾病;术前未用影响机体免疫功能的药物;无严重心、肝、肾和肺等重要脏器疾病;未曾接受放疗、化疗;无合并感染和严重创伤;随访资料完整。所有对照者均来自同期本院体检的健康医务人员,在检查者休息好、安静和无菌条件下,清晨抽取外周静脉血检测外周血T淋巴细胞,共19人,其中男性15人,女性4人,年龄最小26岁,最大69岁,中位年龄40岁。

1.2 方法

仪器为KL型图像分析系统。5%硝酸银及相应的印染试剂和RPMI-1640培养液等试剂由北京健尔康公司提供。采用国际AgNORs计量委员会制定的染色和计算机辅助形态测量法进行检测。检测流程:细胞培养→细胞分离→制片→银染→封片→上机进行读片分析。计算30个T淋巴细胞核仁银染面积与细胞核面积比值(I.S%)。具体检测方法参见文献[1]。健康人I.S%为6~10,>10多见于急性炎症反应,而<6提示免疫功能低下,故业界多以I.S%=6为临界值[2]。本研究参考数值I.S%≤6为阳性组,>6为阴性组。本组资料中阳性组65例,阴性组57例。

1.3 统计学处理

采用SPSS 16.0统计软件包进行数据整理和统计分析;生存时间按月计算,死亡患者,生存时间为手术日至死亡之日;生存患者的生存时间为手术日至最后随访日(2011年12月31)。生存分析采用Kaplan-Meier法,单因素分析采用Log-rank检验,两个相关因素分析采用 χ^2 检验,

预后分析采用Cox模型, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 生存率分析

本组喉癌患者总的5年生存率为67%。AgNORs阳性组5年生存率为58%，阴性组为76%，两组差异有统计学意义($P=0.048$, 图1)。

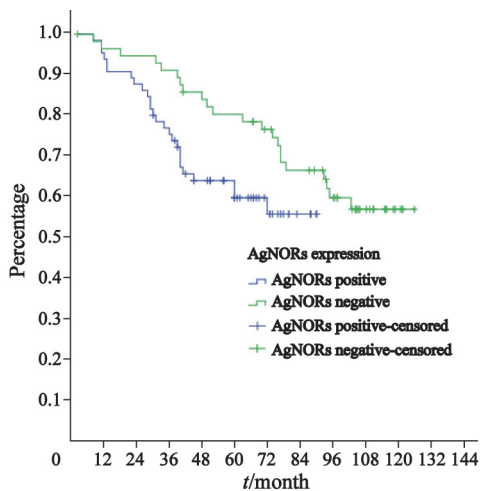


图1 AgNORs表达阳性组和阴性组生存曲线的比较

Fig. 1 Comparison of survival curves in 122 laryngeal squamous cell carcinoma

2.2 AgNORs表达情况分析

AgNORs在喉癌患者和健康人中的表达阳性率分别为53.3%和26.3%，差异有统计学意义($P=0.029$, 表1, 图2、3)。AgNORs阳性表达与临床病理分期、T分期、复发和切缘相关($P < 0.05$), 与性别、年龄、解剖分区、N分期和病理分级无关($P > 0.05$, 表2)。

表1 AgNORs在健康人及喉癌患者中的表达

Tab. 1 AgNORs expression in healthy people and laryngeal carcinoma patients

Variable	AgNORs expression (I.S%)		χ^2	P
	<6	>6		
Healthy people	5	14	4.781	0.029
Laryngeal carcinoma Patients	65	57		

在分层分析中, 39例声门上型喉鳞癌患者有14例发生淋巴结转移, 其中6例AgNORs表达阳性, 表达阳性率为42.9%, 差异有统计学意义($P=0.038$), 并且AgNORs表达与声门上型喉癌淋巴结转移呈正相关($r=0.331$)。在101例切缘阴性患者中, 复发26例, 未复发75例; AgNORs表达阳性者49例, 阴性者52例, 经统计学分析, AgNORs表达在切缘阴性患者复发方面差异有统计学意义($P=0.046$, 表2)。



图2 喉癌患者T淋巴细胞中AgNORs阳性表达

Fig. 2 AgNORs positive expression in laryngeal carcinoma patients

I.S(%)=4.06.

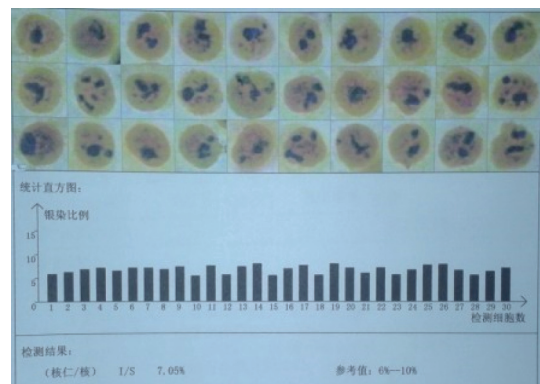


图3 喉癌患者T淋巴细胞中AgNORs阴性表达

Fig.3 AgNORs negative expression in laryngeal carcinoma patients

I.S(%)=7.05.

表2 AgNORs表达与临床相关因素分析

Tab. 2 The relationship between AgNORs expression and clinical factors in laryngeal carcinoma patients

Clinical character	AgNORs expression (I.S%)		Pearson's coefficient	P
	<6	>6		
Gender				
Male	60	55	-0.090	0.115
Female	5	2		
Age/year				
≤60	33	37	-0.143	0.136
>60	32	20		
Classification				
Supraglottic carcinoma	25	14	0.149	0.100
Glottic carcinoma	40	43		
Clinical stage				
I + II	33	42	-0.235	0.009
III + IV	32	15		
T stage				
T ₁ +T ₂	35	45	-0.264	0.004
T ₃ +T ₄	30	12		
N stage				
N ₀	55	49	-0.019	0.834
N ₊	10	8		
Histology grade				
G1	31	30	-0.013	0.555
G2	21	13		
G3	8	8		
Incisal edge				
Positive	16	5	0.209	0.021
Negative	49	52		
Recurrence				
Yes	29	10	0.290	0.001
No	36	47		
Lymph node metastasis in the supraglottic carcinoma				
Yes	6	8	0.331	0.038
No	19	6		
Recurrence in the supraglottic carcinoma				
Yes	17	9	0.199	0.046
No	32	43		

2.3 单因素分析结果

单因素分析结果显示, 年龄、解剖分区、临床病理分期、T分期、N分期和复发是影响喉癌预后的重要因素(表3)。

2.4 Cox多因素分析结果

将通过单因素分析筛选出的有意义的影

响因素(年龄、解剖分区、临床病理分期、T分期、N分期、切缘、复发和AgNORs表达)进入Cox回归模型, 前进法分析, 经检验发现: 模型总体有意义, 其中年龄和复发是影响喉癌预后的独立因素(表4)。

表3 122例喉鳞癌患者单因素分析

Tab.3 Univariate survival analysis results of 122 patients with laryngeal squamous cell carcinoma

Variable	n	5-OS(%)	P	χ^2
AgNORs (I.S%)				
≤6	65	58	0.048	3.920
>6	57	76		
Gender				
Male	115	73	0.313	0.313
Female	7	57		
Age/year				
≤60	70	81	0.004	8.214
>60	52	61		
Classification				
Supraglottic carcinoma	39	59	0.024	5.069
Glottic carcinoma	83	79		
Clinical stage				
I + II	75	85	<0.001	14.171
III+IV	47	53		
T stage				
T ₁ +T ₂	80	83	<0.001	15.024
T ₃ +T ₄	42	52		
N stage				
N ₀	104	77	<0.001	12.643
N ₊	18	44		
Histology grade				
G1	61	76	0.288	2.492
G2	34	65		
G3	16	69		
Incisal edge				
Positive	21	52	0.014	6.064
Negative	101	77		
Recurrence				
Yes	39	35	<0.001	21.21
No	83	79		

表4 喉鳞癌患者预后多因素分析结果

Tab.4 Result of Cox regression model for analysis of patients with laryngeal squamous cell carcinoma

Item	P	Exp(B)	95.0%CI for Exp(B)	
			Lower	Upper
Incisal edge	0.383	1.398	0.659	2.967
Recurrence	0.003	3.146	1.469	6.738
T stage	0.862	1.146	0.247	5.330
N stage	0.395	0.687	0.289	1.633
Clinical stage	0.204	0.319	0.055	1.858
Classification	0.118	0.524	0.233	1.177
Age	0.001	0.370	0.203	0.675
AgNORs expression	0.637	1.191	0.577	2.458

3 讨 论

恶性肿瘤多发生在机体免疫功能低下或相对低下时,而恶性肿瘤发生后,又可释放免疫抑制因子,造成机体免疫力进一步降低,使肿

瘤得以迅速发展。T淋巴细胞不仅是机体抗肿瘤免疫应答的主要免疫活性细胞,也是免疫调节细胞。近年来,T淋巴细胞AgNORs检测已在恶性肿瘤诊断、预后判断中得到广泛的研究和应用。林其燧等^[3]应用肿瘤免疫图像分析系统检测了100例恶性肿瘤外周血T淋巴细胞AgNORs表达水平。结果发现除恶性肿瘤以外的患者其I.S%均值为13.99%,健康人I.S%均值为6~10,恶性肿瘤患者的I.S%均值<6。恶性肿瘤患者I.S%值明显低于健康人及非肿瘤患者,表明外周血T淋巴细胞AgNORs表达水平对恶性肿瘤的诊断与鉴别诊断有意义。因T淋巴细胞AgNORs在恶性肿瘤患者为低表达,所以检测T淋巴细胞的AgNORs含量可用于反映恶性肿瘤的预后及复发。国内外不少学者将AgNORs用于肿瘤研究,发现肿瘤进展时T淋巴细胞AgNORs含量下降,肿瘤得到控制时T淋巴细胞AgNORs含量上升^[3-4]。

AgNORs可用于全身恶性肿瘤患者的预后观察和复发风险预测,陈巧伦等^[1]对鼻咽癌患者AgNORs进行了分析,揭示AgNORs含量变化对预后的观察有一定的意义。Pich等^[5]报道分裂间期的AgNORs定量分析是咽癌、多发性骨髓瘤、男性乳腺癌和前列腺癌独立的预后因素。国内文献报道,AgNORs计数对喉良恶性肿瘤的鉴别、检测癌前病变及观察肿瘤生物学行为均有意义^[6-8]。进而熊新高等^[9]认为AgNORs不仅能用于喉部肿瘤的鉴别,也可用于喉癌预后的预测。

AgNORs表达与年龄、性别的关系:本组资料中年龄≤60岁与>60岁的患者5年生存率分别为81%和61%,差异有统计学意义(P=0.004),但是AgNORs表达与年龄差异无统计学意义(P=0.136)。单因素分析结果显示,AgNORs表达与性别无关,与Shvero等^[10]及国内部分文献报道相符^[11-13]。

AgNORs表达与喉鳞癌淋巴结转移的关系:Cappiello等^[14]分析喉癌资料中,AgNORs表达与淋巴结转移状态无关。Yamamoto等^[15]认为,AgNORs表达在预测声门上型喉

癌淋巴结转移方面有一定的临床价值。在本组资料中,喉鳞癌患者发生淋巴结转移率约为14.8%(18/122)。喉癌转移患者中AgNORs表达阳性率(55.6%)与未发生淋巴结转移的患者(52.9%)差异无统计学意义($P=0.834$)。但在39例声门上型喉鳞癌中,淋巴结转移患者AgNORs表达阳性率(42.9%)与未发生淋巴结转移的患者(76.0%)差异有统计学意义($P=0.038$)。表明AgNORs表达与声门上型喉癌淋巴结转移密切相关($r=0.331$),因此,对于声门上型喉癌,若AgNORs表达阳性说明淋巴结转移的可能性大,建议行选择性淋巴结清扫术。

AgNORs表达与临床病理分期、病理分级和解剖分区的关系: Bockmuhl等^[16]和Xie等^[17]在研究喉鳞癌中发现, AgNORs染色与肿瘤分期相关。在本组资料中,临床III+IV期喉癌患者AgNORs表达阳性率(68.0%)高于I+II期患者(44.0%),差异具有统计学意义($P=0.009$),且AgNORs表达与临床病理分期呈负相关($r=-0.235$)。AgNORs表达在喉癌患者 T_1+T_2 及 T_3+T_4 中,差异也具有统计学意义($P=0.004$)。但在病理分级G1、G2、G3中,差异无统计学意义($P=0.555$),与Yamamoto等^[15]及Hirsch等^[18]的研究报道一致。在声门上型喉癌AgNORs表达阳性率(64.1%)较声门型(48.2%)高,但差异无统计学意义($P=0.100$),说明AgNORs表达与肿瘤本身的分化程度及肿瘤部位无关。

AgNORs表达与复发和切缘的关系: 研究发现AgNORs表达与肿瘤复发相关, Komeyev等^[19]对62例膀胱癌进行研究发现, AgNORs表达提示高度恶性,并对膀胱癌局部复发有一定的预测价值。本组资料中,喉癌复发率为29.5%,复发者AgNORs表达阳性率(72.2%)明显高于未复发者(45.3%),表明AgNORs阳性表达者易发生复发,因此对AgNORs表达阳性的患者进行密切随访和适当的辅助治疗是有意义的。本组资料显示切缘阳性患者5年累积生存率(52%)明显低于切缘阴性者(77%),两组生存率差异有统计学意义($P=0.014$)。AgNORs表达在切缘阳性者中表达阳性率(76.2%)也明显高于切缘阴性

者(48.5%)。田文栋等^[20]认为只有肿瘤残留和切缘阳性才有必要放疗,其他病例不必术后放疗。但是本组资料进一步分析发现,在切缘阴性患者中, AgNORs阳性表达在切缘阴性患者更易复发($P=0.046$)。因此,我们认为除了术后切缘阳性的患者行放疗外,对于术后切缘阴性及AgNORs表达阳性的患者应考虑进行积极的治疗,预防复发。

在本组资料,将8个因素(年龄、解剖分区、临床病理分期、T分期、N分期、切缘、复发和AgNORs表达)纳入Cox回归模型,经检验发现模型总体有意义,其中年龄和复发是影响喉癌预后的独立因素,而AgNORs表达不是影响喉癌预后的独立因素。国外多项研究发现AgNORs表达与喉癌预后无相关性^[21-24]。Pich等^[25]研究结果显示,增殖细胞核抗原作为鼻咽癌独立的预后因素($\chi^2=13.56$, $P<0.001$, $r=8.16$),当增殖细胞核抗原排除后, AgNORs表达对鼻咽癌预后有部分意义。Pich等^[26]报道,在膀胱癌及喉咽癌中AgNORs与增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)呈正相关,其不仅在增殖细胞中检测到,而且在 G_0 期细胞中也可检测到。因此, AgNORs表达可能在预测喉癌预后方面还与细胞的增殖活性及检测的细胞周期有关。

总之,声门上型喉癌中AgNORs表达可能与淋巴结转移相关, AgNORs表达阳性提示淋巴结转移的可能性大,应考虑行选择性淋巴结清扫术;对于术后切缘阴性及AgNORs表达阳性者建议行积极治疗,以预防复发。AgNORs计数方法相对简单、价格低廉,对喉癌的诊断、治疗及预后方面有一定的临床参考意义。

[参 考 文 献]

- [1] 陈巧伦, 梁伊仁, 何丽容, 等. T淋巴细胞核仁形成区嗜银蛋白(AgNORs)检测对恶性肿瘤临床意义的探讨[J]. 肿瘤, 2002, 22(6): 506-508.
- [2] 蔡绍京, 刘德生. 肿瘤患者间期和分裂期T淋巴细胞AgNORs的相关性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 28(10):1254-1257.
- [3] 林其燧, 陈立奇, 吴卫, 等. 外周淋巴细胞脱氧核糖核酸核蛋白体转录活性分析[J]. 中华医学检验杂志, 1996,

- 19(4): 25-27.
- [4] YOKOYAMA Y, TAKAHASHI Y, SERDA D, et al. Silver-stained nucleolar organizer regions in adenocarcinoma of the cervix—a light and electron microscopic study [J] . *Pathol Res Pract*, 1997, 193(4): 275-281.
- [5] PICH A, CHIUSA L, MARGARIA E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology [J] . *Micron*, 2000, 31(2):133-141.
- [6] 朱洪海, 高冬玲, 张云汉, 等. 声带息肉、喉乳头状瘤及喉癌组织内核仁组成区相关嗜银蛋白的定量学研究 [J] . *河南肿瘤学杂志*, 1995, 8(3): 165-167.
- [7] 王植平, 郭秀婵, 王卫华, 等. 喉良性及恶性病变的Ag-NORs定量研究 [J] . *首都医学院学报*, 1994, 15(3): 209-211.
- [8] 许平, 许伟, 魏永昆, 等. 人喉部肿瘤PCNA表达及AgNORs计数的研究 [J] . *河南医科大学学报*, 1998, 14(3): 117-119.
- [9] 汪广平, 熊新高. 喉部肿瘤AgNOR定量研究 [J] . *临床耳鼻咽喉科杂志*, 1995, 9(1): 10-12.
- [10] SHVERO J, HADER T, FEINMESSER R, et al. Laryngeal carcinoma in females [J] . *Eur J Surg Oncol*, 1996, 22(1):61-64.
- [11] 陈艳峰, 陈福进, 杨安奎, 等. 复发性喉癌患者的临床特点和影响预后因素的分析 [J] . *癌症*, 2004, 23(5): 584-588.
- [12] 张振新, 邱晓霞, 达鹏, 等. 喉癌全喉与部分喉切除后生存率相关因素分析 [J] . *中国临床医生*, 2007, 35(1): 41-42.
- [13] 石洪金, 李贵泽, 李树华. 影响喉癌患者预后因素的多元逐步回归分析 [J] . *中国临床康复*, 2005, 9(22): 139-141.
- [14] CAPPIELLO J, NICOLAI P, ANTONELLI A, et al. DNA index, cellular proliferative activity and nucleolar organizer regions in cancers of the larynx [J] . *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1995, 252(6): 353-358.
- [15] YAMAMOTO Y, ITOH T, SAKA T, et al. Prognostic value of nucleolar organizer regions in supraglottic carcinoma [J] . *Auris Nasus Larynx*, 1997, 24(1): 85-90.
- [16] BOCKMUHL U, BOCKMUHL F, DIMMER V, et al. ["Nucleolar organizer regions" as a factor for the prognosis of laryngeal cancer?] [J] . *Laryngorhinootologie*, 1992, 71(3):137-141.
- [17] XIE X, CLAUSEN O, DE ANGELIS P, et al. Bax expression has prognostic significance that is enhanced when combined with AgNOR counts in glottic carcinomas [J] . *Br J Cancer*, 1998, 78(1): 100-105.
- [18] HIRSCH S M, DUCANTO J, CALDARELLI D , et al. Nucleolar organizer regions in squamous cell carcinoma of the head and neck [J] . *Laryngoscope*, 1992, 102(1): 39-44.
- [19] KOMAYEV I A, MAMAIEV N N, KOZLOV V V, et al. Interphase argyrophilic nucleolar organiser regions and nucleolar counts in transitional cell bladder tumours [J] . *Mol Pathol*, 2000, 53(3): 129-132.
- [20] 田文栋, 曾宗渊, 陈福进, 等. 202例Ⅲ~Ⅳ期喉鳞癌治疗方法评价及生存分析 [J] . *癌症*, 2006, 25(1): 80-84.
- [21] KLATKA J, SKOMRA D. Nucleolar organizer regions in laryngeal cancer [J] . *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med*, 2001, 56: 417-421.
- [22] PULKKINEN J O, KLEMI P, MARTIKAINEN P, et al. Apoptosis in situ, p53, bcl-2 and AgNOR counts as prognostic factors in laryngeal carcinoma [J] . *Anticancer Res*, 1999, 19(1B): 703-707.
- [23] YAMAMOTO Y, ITOH T, SAKA T, et al. Nucleolar organizer regions in glottic carcinomas: comparison of DNA cytofluorometry and clinicopathological analysis [J] . *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1995, 252(8): 499-503.
- [24] BAMES P, SAGAR S, LAYBOLT K, et al. Quantitation of nucleolar organizer regions by image analysis in glottic squamous cell carcinoma [J] . *Clin Invest Med*, 1999, 22(2): 36-43.
- [25] PICH A, CHIUSA L, NAVONE R. Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors [J] . *Ann Oncol*, 2004, 15(9):1319-1329.
- [26] PICH A, CHIUSA L, MARGARIA E. Role of the argyrophilic nucleolar organizer regions in tumor detection and prognosis [J] . *Cancer Detect Prev*, 1995, 19(3): 282-291.

(收稿日期: 2013-01-17 修回日期: 2013-04-20)

《抗癌》杂志2013年征订启事

《抗癌》杂志于1988年创刊, 主管单位为上海市科学技术协会, 主办单位为上海市抗癌协会。《抗癌》杂志是供癌症患者及其家属阅读的公益性科普期刊, 树立了为科研服务的思想意识, 坚持以读者为导向, 架起读者和医院之间的桥梁。杂志刊号: CN31-1664/R ISSN 1008-3065。欢迎广大读者订阅。

杂志为季刊, 每期48页。本刊季末出版, 每期5元, 全年共20元整。征订方式请通过邮局汇款。

通讯地址: 上海市东安路270号6号楼3楼《抗癌》杂志社收。

邮 编: 200032

电 话: 021-64043766

传 真: 021-64043766

电子邮件: anti-cancer@163.com