

褪黑素在甲状腺乳头状癌转移中的作用评估^{*}范立¹ 熊园平¹ 刘海涛¹ 闵翔¹ 汤燕琴¹ 张志远¹

[摘要] 目的:评估甲状腺乳头状癌患者中褪黑素(MT)水平及 MT 在甲状腺乳头状癌转移中的作用。方法:采用 ELISA 法检测 81 例甲状腺乳头状癌(PTC)患者和 20 例多结节性甲状腺肿(MNG)患者和 20 例健康成人血清 MT 水平,并分析其与 PTC 临床病理特征的关系;应用免疫组织化学检测 81 例甲状腺乳头状癌及癌旁组织中 MT 受体 2 个亚型 MT1、MT2 表达情况,并通过 Image Pro Plusversion 6.0 图像分析软件测量计算其平均光密度值(MOD)。结果:PTC 患者的血清 MT 水平显著高于 MNG 患者和正常人($P<0.05$);原发肿瘤 $T\geq 2$ cm 组 MT 水平显著高于 $T<2$ cm 组,颈部淋巴结阳性的患者($N\geq 1$)的 MT 水平显著高于淋巴结阴性($N=0$)($P<0.05$)。MT1、MT2 受体在 PTC 组织和癌旁组织中均有表达,主要定位于细胞膜和细胞质中,其中 MT1 受体在 2 组中呈低表达,差异无统计学意义;MT2 受体在 PTC 组织中表达量显著高于癌旁组织($P<0.05$),进一步分析显示,MT2 受体在 PTC 组织中的表达量与颈部淋巴结转移相关,MT2 受体在伴颈部淋巴结转移的 PTC 组织表达量显著低于无转移的($P<0.05$)。结论:PTC 患者血清 MT 水平较 MNG 和对照组高,可能与 PTC 呈低度恶性有关;MT 可抑制 PTC 转移,其主要通过 MT2 受体发挥抗 PTC 转移作用。

[关键词] 甲状腺肿瘤;MT;MT 受体;淋巴转移

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2019.11.013

[中图分类号] R736.1 **[文献标志码]** A

Evaluation of the role of melatonin in the metastasis of
papillary thyroid carcinomaFAN Li XIONG Yuanping LIU Haitao MIN Xiang
TANG Yanqin ZHANG Zhiyuan

(Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, 330006, China)

Corresponding author: ZHANG Zhiyuan, E-mail: zzyent@126.com

Abstract Objective: To evaluate the level of melatonin and the role of melatonin in the metastasis of papillary thyroid carcinoma in patients with papillary thyroid carcinoma. **Method:** We measured serum melatonin levels in 81 patients with papillary thyroid carcinoma(PTC), 20 patients with multinodular goiter(MNG) and 20 healthy adults using ELISA. The relationship between melatonin and clinicopathological features of PTC were analyzed. The expression of MT1 and MT2 in two subtypes of melatonin receptor in 81 cases of papillary thyroid carcinoma and adjacent tissues were detected by immunohistochemical SP method, and its the mean optical density(MOD) image was analyzed by Image Pro Plusversion(IPP) image processing software. **Result:** Serum melatonin concentration in patients with PTC was significantly higher than that in MNG patients and normal controls($P<0.05$). The level of melatonin in the primary tumor $T\geq 2$ cm group was significantly higher than that in the $T<2$ cm group. Patients with positive cervical lymph nodes($N\geq 1$) had significantly higher melatonin levels than lymph node negatives($N=0$)($P<0.05$). The MT1 and MT2 receptors were expressed in both PTC and paracancerous tissues, mainly in the cell membrane and cytoplasm. The expression of MT1 receptor was low in the two groups, and there was no statistical difference. The expression of MT2 receptor in PTC tissues Significantly higher than the adjacent tissues($P<0.05$), further studies showed that the expression of MT2 receptor in PTC tissues was associated with cervical lymph node metastasis, and the expression of MT2 receptor in PTC tissues with cervical lymph node metastasis was significantly lower than that without metastasis ($P<0.05$). **Conclusion:** Serum melatonin levels in PTC patients were higher than those in MNG and control groups, which may be associated with low malignancy of PTC; melatonin inhibits PTC metastasis, which exerts anti-PTC metastasis mainly through MT2 receptors.

Key words papillary thyroid cancer; melatonin; melatonin receptor; lymphatic metastasis

甲状腺癌是最常见的内分泌恶性肿瘤,发病率

约占恶性肿瘤的 1%,且年发病率迅速增加^[1]。2015 年,中国约有 90 000 例新增病例和 6 800 例死亡病例^[2]。甲状腺乳头状癌(papillary thyroid cancer,PTC)是最常见的亚型,总体预后良好。虽

^{*}基金项目:江西省教育厅科学技术研究项目(No:180017,180055)

¹南昌大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科(南昌,330006)
通信作者:张志远,E-mail:zzyent@126.com

然 PTC 患者手术及补充放射碘治疗治愈率高,但是肿瘤局部复发、淋巴结转移、肿瘤远处转移是影响 PTC 预后的重要风险因素。PTC 复发和转移、有限替代方案成为改善 PTC 患者存活的主要挑战。因此迫切需要找到 PTC 复发转移新思路。

褪黑素(melatonin, MT)主要是由松果体分泌的吲哚胺,具有广泛而重要的生理学和药理学功能,包括调节生殖系统、免疫系统、神经系统、心血管系统的功能,还能影响原发或继发肿瘤的生长,对多种实体肿瘤具有抑制作用。在抗肿瘤作用方面,MT 主要通过修复 DNA、抑制细胞增殖、促进细胞凋亡、抑制血管生成和肿瘤细胞侵袭转移来抑制肿瘤的发生、发展、侵袭性和转移^[3]。研究认为,MT 主要通过 MT 受体 MT1、MT2 结合发挥抗肿瘤作用^[4]。基于既往研究结果,我们为进一步探索 MT 在 PTC 进展中的作用,本研究通过 ELISA 法检测 PTC 患者血清 MT 水平及免疫组织化学技术检测 PTC 组织中 MT1、MT2 表达量,并进一步分析 MT 在 PTC 发展、转移中的作用,为 PTC 诊疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 血清标本 收集 2018-06—2018-11 就诊于南昌大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科及普外科 81 例 PTC 患者及 20 例多结节性甲状腺肿(multinodular goiter, MNG)患者,在上午 7:00 至 9:00 之间采取患者的血液 3 ml,将血液在 4℃ 以 2 500 g 离心 10 min(低温高速离心机 Sorvall ST 16R),分离血清并立即储存在 -80℃ 冰箱。此外,对照组由 20 名健康体检者血清组成。肿瘤病理类型,包括 TNM 信息(肿瘤大小、淋巴结受累和转移)在南昌大学第一附属医院病理科收集。该项目得到了南昌大学第一附属医院伦理委员会的批准。所有受试者均签署知情同意书。

1.1.2 组织标本 来源于南昌大学第一附属医院 81 例手术切除的甲状腺乳头状癌及癌旁组织(距癌组织 1 cm 以外的正常甲状腺组织)石蜡标本,所有病例均由病理科常规病理确诊,均 4 μm 厚连续切片 2 张,用于免疫组织化学染色。

1.1.3 PTC 及 MNG 组纳入标准 年龄 20~65 岁;均在南昌大学第一附属医院行甲状腺手术治疗及术后病理科病理确诊;首次行甲状腺手术;无其他恶性肿瘤病史。

1.2 主要实验试剂

人 MTELISA 试剂盒(华美生物工程有限公司),兔抗人 MT1 抗体(Bs-0027R)购自北京博奥森公司,兔抗人 MT2 抗体(Bs-0963R)购自北京博奥森公司,SP 二步法检测试剂盒、DAB 试剂盒购自武汉赛尔维亚有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 ELISA 法 将收集好的血清室温融化,按照 ELISA 试剂盒要求倍比稀释标准品。待测样品每孔加样 100 μl,分别设标准孔、待测样品孔和空白孔,用封板膜封板后置 37℃ 孵育 1.5 h,洗涤液洗板 4 次,向孔中加入对 MT 特异的生物素化抗体,封板膜封板,37℃ 温育 1 h,洗板同前。每孔加入酶结合物工作液 100 μl,封板膜封板,37℃ 避光孵育 30 min、洗板同前,每孔加入 TMB 底物溶液,37℃ 避光反应 10~20 min,观察标准孔,根据标准空颜色出现明显梯度变化每孔加入 2 mol/L 硫酸 100 μl 终止反应。并立即在酶标仪上测量 450 nm 的 A 值,记录。

1.3.2 免疫组织化学染色 链霉素抗生物蛋白-过氧化酶法(SP 法)检测甲状腺组织中 MT1、MT2 的表达情况,石蜡切片,甲状腺组织切片的厚度为 4 μm,二甲苯脱蜡后梯度乙醇水化,将组织切片置于盛满 EDTA 抗原修复缓冲液(pH 9.0)的修复盒中于微波炉内进行抗原修复,中火 8 min 至沸,停火 8 min 保温再转中低火 7 min。自然冷却后将玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。切片放入 3% 过氧化氢溶液,室温避光孵育 25 min,将玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。在组化圈内滴加 3% BSA 均匀覆盖组织,室温封闭 30 min。轻轻甩掉封闭液,在切片上滴加 PBS 按 1:800 比例配好的一抗 MT1、MT2,切片平放于湿盒内 4℃ 孵育过夜。玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗(HRP 标记)覆盖组织,室温孵育 50 min。玻片置于 PBS(pH 7.4)中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次,每次 5 min。DBA 显色,苏木精复染,自来水反复,冲洗,苏木精返蓝液返蓝,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。显微镜镜检,图像采集分析。

1.4 实验结果判定及半定量计算

MT 受体阳性染色均为棕黄色颗粒,定位于细胞膜和细胞质。在 100× 视野下观察切片的整体表达情况,在 200× 视野下,将相机的光源、光圈、色彩饱和度、亮度、对比度等指标统一,并关闭自动白平衡功能,每张切片随机选 5 个阳性染色区域(200×)进行拍照,采用 tif 格式存储。利用 Image-ProPlus 6.0(IPP)专业图像分析系统测量阳性细胞 MOD,进行半定量统计分析。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 19.0 统计学软件对结果进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用曼-惠特尼 U 检验或 t 检验,3 组间分析采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA 结果

2.1.1 临床资料参数与 MT 水平关系 各分组年龄、病例数、血清 MT 水平,见表 1。

2.1.2 甲状腺乳头状癌患者 MT 水平 与 MNG 患者组、对照组进行比较及组间比较,PTC 患者 MT 水平均高于 MNG 患者及对照组,差异有统计学意义(118.94 ± 31.64 和 92.46 ± 31.46 和 89.34 ± 29.64 , $F = 10.62$, $P < 0.001$),MNG 组与对照组 MT 水平差异无统计学意义(92.46 ± 31.46 和 89.34 ± 29.64 , $q = 0.52$, $P = 0.947$)(图 1)。

2.1.3 PTC 无颈部淋巴结转移的患者(N0)与 PTC 有淋巴结转移($N \geq 1$)比较 转移患者血清 MT 水平也显著增高(111.04 ± 28.29 和 125.58 ± 33.07 , $Z = 2.16$, $P = 0.030$)(图 2)。再进一步分析中发现,中央区和侧颈淋巴结转移 2 组中 MT 水平无统计学差异(121.70 ± 36.58 和 129.13 ± 29.89 , $Z = 0.86$, $P = 0.40$)(图 3)。

2.1.4 肿瘤大小与 MT 水平 与原发肿瘤 $T < 2$ cm 组的比较 $T \geq 2$ cm 组 MT 水平显著升高(111.41 ± 29.83 和 134.87 ± 28.87 , $Z = 3.09$, $P = 0.002$)。见图 4。

表 1 临床资料参数与 MT 水平关系 $\bar{x} \pm s$

	例数(%)	年龄/岁	MT/(pg · ml ⁻¹)
组别			
对照组	20(16.5)	43.65 ± 9.41	89.34 ± 29.64
MNG 组	20(16.5)	45.95 ± 11.11	92.46 ± 31.46
PTC 组	81(66.9)	43.14 ± 9.55	118.94 ± 31.64
F 值		0.66	10.62
P		0.518	<0.001
颈部淋巴结转移			
N=0	37(45.7)	44.49 ± 8.86	111.04 ± 28.29
N ≥ 1	44(54.3)	42.00 ± 10.06	125.58 ± 33.07
Z 值		-1.28	-2.16
P		0.200	0.030
颈部淋巴结转移部位			
中央区	21(47.7)	42.81 ± 8.72	121.70 ± 36.58
颈侧区	23(52.3)	41.26 ± 11.30	129.13 ± 29.89
Z 值		-0.37	-0.86
P		0.71	0.400
肿瘤大小/cm			
T < 2	55(67.9)	43.89 ± 9.11	111.41 ± 29.83
T ≥ 2	26(32.1)	41.54 ± 10.43	134.87 ± 28.87
Z 值		-1.04	-3.09
P		0.299	0.002

2.2 免疫组织化学结果

MT1、MT2 在甲状腺癌及癌旁组织中均有表达,主要在细胞膜和细胞质中表达(图 5~6)。MT1 在 PTC 及癌旁组织表达量低,结果显示 2 组 MOD 差异无统计学意义(0.116 ± 0.008 和 0.115 ± 0.006 , $t = 1.39$, $P = 0.17$),且 MT1 在 PTC 组织中的表达与淋巴结转移无关(0.115 ± 0.006 , 0.117 ± 0.010 , $Z = 0.42$, $P = 0.67$)。MT2 在 PTC 组织中的表达高于癌旁组织,结果显示 PTC 组织中 MOD 显著大于癌旁组织(0.127 ± 0.010 , 0.116 ± 0.009 , $t = 10.31$, $P \leq 0.0001$),且 MT2 在 PTC 组织中的表达与淋巴结转移有关,在伴淋巴结转移的 PTC 组织中表达低,结果显示伴淋巴结转移的 PTC 组织中 MOD 显著低于无转移的(0.132 ± 0.010 , 0.123 ± 0.007 , $Z = 4.39$, $P \leq 0.0001$)。

3 讨论

PTC 约占甲状腺癌的 75%,其发病隐匿,发生颈部淋巴结转移较早,颈部淋巴结转移率为 20%~90%。PTC 淋巴结转移率高,此类患者术后复发、转移及再次手术的风险增大,淋巴结转移是影响预后的独立危险因素^[5]。

既往研究显示,血清 MT 水平与乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌发病风险呈负相关,在乳腺癌的研究中,与血清 MT 水平较高的受试者相比,血清 MT 水平 ≤ 39.5 pg/ml 罹患乳腺癌风险增加 15 倍;此外,在男性中高血清 MT 水平与低前列腺癌发病率相关,在女性中,卵巢癌也观察到类似的相关性^[7]。

MT 是一种重要的生理性肿瘤抑制剂,和在其他恶性肿瘤中作用一样,MT 同样可以抑制甲状腺癌细胞系的增殖和迁移,并且可以诱导甲状腺癌细胞系凋亡^[6]。此外,研究表明 MT 抑制甲状腺细胞增殖和抑制甲状腺激素合成以及 MT 对甲状腺氧化损伤的保护作用^[8,9]。然而,在我们的研究中发现,PTC 患者血清 MT 水平较正常人高,虽然和 MT 在其他恶性肿瘤中低血清水平结果不一致,但该结果和国内李岚团队研究发现甲状腺癌组织匀浆中 MT 水平高于正常甲状腺组织匀浆类似^[4]。我们认为,这和松果体-下丘脑-垂体-甲状腺轴之间的调节有关^[10]。Vriend 等^[11]通过给大鼠和仓鼠腹腔注射 MT 后,发现血浆甲状腺激素和促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone TSH)水平降低。另一方面,Baltaci 等^[12]给大鼠腹腔注射甲状腺激素 4 周后,发现血浆 MT 水平显著升高。由此可以认为松果体和下丘脑-垂体-甲状腺轴之间很可能存在双向反馈调节。Andrzej Lewinski 等^[13]研究结果也支持这一结论,他们研究发现 MT 抑制体内和体外培养中甲状腺滤泡细胞的增殖以及甲状腺激素可增加体外培养中松果体细胞的增殖。TSH 是甲状腺滤泡细胞的主要生长因子,TSH 抑

制是临床 PTC 管理的主要支柱,一项荟萃分析显示,较高的 TSH 水平与 PTC 发病风险增加有

关^[14]。因此,PTC 患者中 MT 高水平可能与这种双向反馈调节有关。

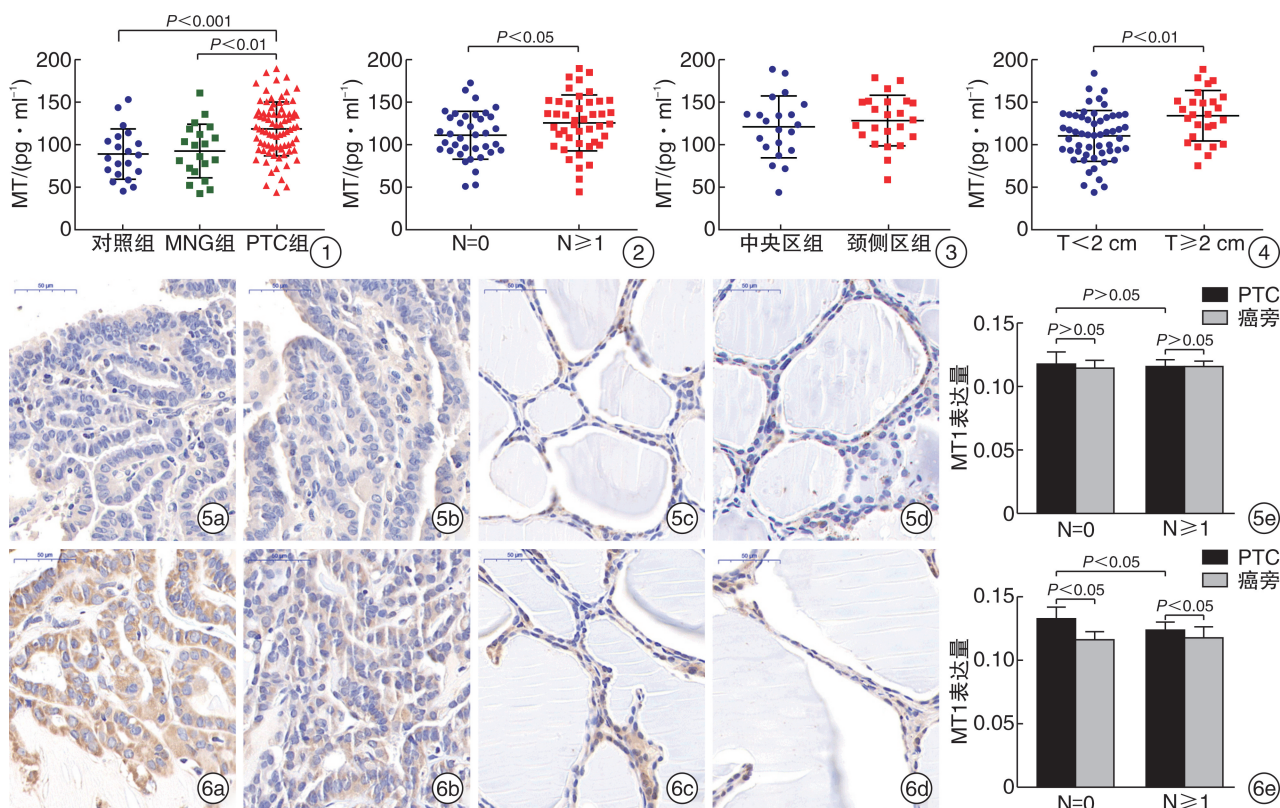


图 1 对照组、MNG 组及 PTC 组患者 MT 水平的比较; 图 2 PTC 患者中颈部淋巴结阳性组 ($N \geq 1$) 与淋巴结阴性组 ($N=0$); 图 3 颈部淋巴结阳性组中颈侧区组与中央区组 MT 水平的比较; 图 4 PTC 患者中原发肿瘤 $T \geq 2$ cm 组与 $T < 2$ cm 组 MT 水平的比较; 图 5 MT1 在不同组织中的表达 5a: MT1 在无转移的 PTC 组织中的表达; 5b: MT1 在伴淋巴结转移的 PTC 组织中的表达; 5c: MT1 在与 A 配对的癌旁组织中的表达; 5d: MT1 在与 B 配对的癌旁组织的表达; 5e: 无转移 ($N=0$) 癌组织及配对癌旁组织、伴转移 ($N \geq 1$) 癌组织及配对癌旁组织 MT1 表达量的 MOD; 图 6 MT2 在不同组织中的表达 6a: MT2 在无转移的 PTC 组织中的表达; 6b: MT2 在伴淋巴结转移的 PTC 组织中的表达; 6c: MT2 在与 A 配对的癌旁组织中的表达; 6d: MT2 在与 B 配对的癌旁组织的表达; 6e: 无转移 ($N=0$) 癌组织及配对癌旁组织、伴转移 ($N \geq 1$) 癌组织及配对癌旁组织 MT2 表达量的 MOD。

再进一步分析中,我们发现 PTC 伴颈部淋巴结转移患者的血清 MT 较正常人群水平高,我们考虑其原因可能为肿瘤侵犯淋巴结,增加了局部免疫应答,刺激 T 淋巴细胞产生合成 MT,并增加转移淋巴结细胞分泌 MT^[15]。结合既往研究 MT 明确的抗肿瘤作用,因此我们推测 PTC 呈低度恶性特性可能跟 PTC 患者血清中高水平的 MT 的抗癌作用有关,即血清中高水平的 MT 可在一定程度上抑制甲状腺癌进展。高 MT 水平通过抑制 TSH,从而达到抑制甲状腺癌肿瘤增殖作用。

研究认为,MT 的抗癌作用主要通过 G 蛋白偶联受体 MT1、MT2 相结合来介导^[16]。与其在其他肿瘤组织中表达情况不同^[17-18],我们实验研究结果显示,MT1 在 PTC 与癌旁均呈低表达,差异无统计学意义(图 5);MT2 在 PTC 及癌旁组织中呈相对高表达,且在癌组织中高于癌旁正常组织(图 6),这与李岚等^[4]研究结果一致,提示 MT 受体表

达具有组织特异性。为进一步探究 MT 与 PTC 侵袭转移关系,我们进一步分析发现,伴颈部淋巴结转移组 PTC 组织 MT2 表达量低于无转移组。转移组 MT 水平虽然高于无转移组,但是其 MT2 表达水平较无转移组低,提示 MT 主要通过 MT2 受体作用,抑制肿瘤进展及转移。

综上所述,PTC 患者血清中 MT 水平高及 PTC 组织中 MT2 受体高表达,PTC 的呈低度恶性可能和 MT 抗癌作用有关。PTC 组织中 MT2 受体的表达与颈部淋巴结转移有关($P < 0.05$),MT2 受体低表达有利于 PTC 颈部淋巴结转移。因此,MT 及 MT 受体激动剂是 PTC 发展、转移的潜在抑制剂。但是 MT 抗 PTC 发展、转移的具体作用机制尚需更深入的研究。

参考文献

- [1] KILFOY B A, ZHENG T, HOLFORD T R, et al. International patterns and trends in thyroid cancer inci-

- dence, 1973—2002[J]. *Cancer Causes Control*, 2009, 20:525—531.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66: 115—132.
- [3] REITER R J, ROSALES-CORRAL S A, TAN D X, et al. Melatonin, a Full Service Anti-Cancer Agent: Inhibition of Initiation, Progression and Metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18. pii: E843.
- [4] 李岚, 徐尔理, 张征, 等. MT 与 MT 受体在成人甲状腺肿瘤中的表达及其意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2007, 12(11): 843—846.
- [5] NIX P, NICOLAIDES A, COATESWORTH A P. Thyroid cancer review 1: presentation and investigation of thyroid cancer[J]. *Int J Clin Pract*, 2005, 59: 1340—1344.
- [6] ZOU Z W, LIU T, LI Y, et al. Melatonin suppresses thyroid cancer growth and overcomes radioresistance via inhibition of p65 phosphorylation and induction of ROS[J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 226—236.
- [7] TALIB W H. Melatonin and Cancer Hallmarks[J]. *Molecules*, 2018, 23: E518.
- [8] WRIGHT M L, CUTHBERT K L, DONOHUE M J, et al. Direct influence of melatonin on the thyroid and comparison with prolactin[J]. *J Exp Zool*, 2000, 286: 625—631.
- [9] ZASADA K, KARBOWNIK-LEWINSKA M. Comparison of potential protective effects of melatonin and propylthiouracil against lipidperoxidation caused by nitrobenzene in the thyroid gland[J]. *Toxicol Ind Health*, 2015, 31: 1195—1201.
- [10] CREIGHTON J A, RUDEEN P K. Effects of melatonin and thyroxine treatment on reproductive organs and thyroid hormone levels in male hamsters[J]. *J Pineal Res*, 1989, 6: 317—323.
- [11] VRIEND J. Evidence for pineal gland modulation of the neuroendocrine-thyroid axis[J]. *Neuroendocrinology*, 1983, 36: 68—78.
- [12] BALTACI AK, MOGULKOC R. Leptin, neuropeptide Y (NPY), melatonin and zinc levels in experimental hypothyroidism and hyperthyroidism: relation with melatonin and the pineal gland[J]. *Horm Mol Biol Clin Invest*, 2018, 34—34.
- [13] LEWINSKI A, SEWERYNEK E. Melatonin inhibits the basal and TSH-stimulated mitotic activity of thyroid follicular cells in vivo and in organ culture[J]. *J Pineal Res*, 1986, 3: 291—299.
- [14] MCLEOD D S, WATTERS K F, CARPENTER A D, et al. Thyrotropin and thyroid cancer diagnosis: a systematic review and dose-response meta-analysis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 2682—2692.
- [15] REN W, LIU G, CHEN S, et al. Melatonin signaling in T cells: Functions and applications[J]. *J Pineal Res*, 2017, 62—62.
- [16] LIU J, CLOUGH S J, HUTCHINSON A J, et al. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic Perspective[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 56: 361—383.
- [17] 亢晓彬, 马勇, 魏伟. 成人肝癌组织 MT 受体的表达和结合特性[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(2): 174—177.
- [18] LAI L, YUAN L, CHENG Q, et al. Alteration of the MT1 melatonin receptor gene and its expression in primary human breast tumors and breast cancer cell lines[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 118: 293—305.

(收稿日期: 2019-03-05)

(上接第 1059 页)

- [9] 查洋, 吕威, 高雅丽, 等. 以鼻窦引流通道为关注点的断面解剖模型设计[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(9): 46—49.
- [10] HUNG C C, LI Y T, CHOU Y C, et al. Conventional plate fixation method versus pre-operative virtual simulation and three-dimensional printing-assisted contoured plate fixation method in the treatment of anterior pelvic ring fracture[J]. *Int Orthop*, 2019, 43: 425—431.
- [11] 刘洋, 马湘乔, 孙晓慧, 等. 基于 CT 数据的 3D 重建技术在研究额窦引流通道中的应用价值[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2018, 32(3): 171—176.

(收稿日期: 2019-02-18)