

# 基于GEO数据库与R语言的喉鳞状细胞癌分子特征分析

王 斌, 胡 煜\*

安徽医科大学附属六安医院耳鼻咽喉头颈外科, 安徽 六安

收稿日期: 2026年5月25日; 录用日期: 2026年6月18日; 发布日期: 2026年6月26日

## 摘 要

目的: 基于GEO数据库与R语言生物信息学方法, 对公开LSCC表达谱数据集GSE59102进行再分析, 系统刻画其差异表达基因、GO功能和KEGG通路富集特征, 并从细胞周期、细胞外基质重塑和炎症微环境等角度归纳该数据集中LSCC的主要分子改变, 为后续可验证的机制研究提供线索。方法: 从GEO数据库下载LSCC表达谱数据集GSE59102作为主要分析队列, GSE10288作为辅助验证队列。采用R语言对表达矩阵进行预处理、标准化和差异表达分析, 以adjusted P value < 0.05且 $|\log_2FC| > 1$ 为筛选标准获得差异表达基因(DEGs), 并绘制火山图和热图。随后利用cluster Profiler包进行Gene Ontology (GO)和Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)富集分析, 并结合既往文献对主要差异基因及其可能涉及的生物学过程进行讨论。结果: GSE59102共纳入29例肿瘤样本和13例正常/安全边界样本。按照上述阈值共筛选出3439个显著差异表达基因, 包括1526个上调基因和1913个下调基因。上调基因中MMP12、HOXC13、LINC01980、CDC6、CASC9、HOXC13-AS、FGD6和MCM2等变化较为明显; 下调基因主要包括PLP1、CRISP2、NUCB2、VSX1、CAB39L、CRISP3和EHF等。前50个差异基因的热图能够较好地地区分肿瘤组和正常组。GO富集结果主要涉及nuclear division、chromosome segregation、extracellular matrix、basement membrane、integrin binding及cytokine activity等条目; KEGG富集主要涉及Cell cycle、DNA replication、Cytokine-cytokine receptor interaction和Complement and coagulation cascades等通路。由于GSE10288平台覆盖基因较少, 两个队列共同且同向变化的基因数量有限, 未进一步开展稳定性不足的联合富集分析。结论: 基于GSE59102数据集的分析结果提示, LSCC组织的转录组异常主要表现为细胞周期激活、细胞外基质重塑及炎症/细胞因子信号改变。MMP12、HOXC13、CASC9、CDC6和MCM2等基因可作为后续实验验证的候选分子。由于外部验证受平台覆盖范围限制, 本文结果仍主要反映单一公开数据集中的分子特征, 其稳定性和普适性有待更多独立队列及实验研究进一步确认。

## 关键词

喉鳞状细胞癌, 生物信息学, R语言, 差异表达基因, GO富集, KEGG通路

\*通讯作者。

# Analysis of Molecular Characterization of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Based on GEO Datasets and R Language

Bin Wang, Yu Hu\*

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Lu'an Hospital of Anhui Medical University, Lu'an Anhui

Received: May 25, 2026; accepted: June 18, 2026; published: June 26, 2026

## Abstract

**Objective:** To reanalyze the public LSCC expression dataset GSE59102 using GEO data and R-based bioinformatics methods, to systematically characterize differentially expressed genes and their GO/KEGG enrichment patterns, and to summarize the major molecular features of LSCC in this dataset from the perspectives of cell-cycle regulation, extracellular matrix remodeling and inflammatory microenvironment, providing clues for subsequent verifiable mechanistic studies. **Methods:** The LSCC expression profile dataset GSE59102 was downloaded from the GEO database as the main discovery cohort, and GSE10288 was used as an auxiliary validation cohort. R was employed to perform preprocessing, normalization, and differential expression analysis of the expression matrix. Differentially Expressed Genes (DEGs) were identified using adjusted P value  $< 0.05$  and  $|\log_2FC| > 1$  as the threshold, and volcano plots and heatmaps were generated. Subsequently, the cluster Profiler package was used to perform Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses. The representative differentially expressed genes and their potential biological processes were then discussed in the context of published studies. **Results:** In GSE59102, 29 tumor samples and 13 normal/safety-margin samples were included. A total of 3439 significant DEGs were identified, including 1526 upregulated genes and 1913 downregulated genes. MMP12, HOXC13, LINC01980, CDC6, CASC9, HOXC13-AS, FGD6 and MCM2 were among the representative upregulated genes, whereas PLP1, CRISP2, NUCB2, VSX1, CAB39L, CRISP3 and EHF were among the downregulated genes. The heatmap of the top 50 differentially expressed genes effectively distinguished the tumor group from the normal group. Go enrichment results primarily involved terms such as nuclear division, chromosome segregation, extracellular matrix, basement membrane, integrin binding and cytokine activity; KEGG enrichment primarily involved pathways such as Cell cycle, DNA replication, Cytokine-cytokine receptor interaction and Complement and coagulation cascades. Because of the limited gene coverage of GSE10288, the number of genes that were commonly and unidirectionally altered across the two cohorts was limited, no further joint enrichment analysis was conducted due to insufficient stability. **Conclusion:** The analysis based on GSE59102 suggests that LSCC tissues are characterized by abnormal activation of cell-cycle programs, extracellular matrix remodeling and inflammatory/cytokine signaling. MMP12, HOXC13, CASC9, CDC6 and MCM2 may be considered candidate molecules for further experimental validation. Because external validation was limited by platform gene coverage, the present findings should be interpreted as molecular features observed in a specific public dataset, and their stability and generalizability require confirmation in additional independent cohorts and experimental models.

## Keywords

Laryngeal Squamous Cell Carcinoma, Bioinformatics, R Language, Differentially Expressed Genes, GO Enrichment, KEGG Pathways



## 1. 引言

喉癌是头颈部常见恶性肿瘤之一, 其中喉鳞状细胞癌(Laryngeal Squamous Cell Carcinoma, LSCC)占主要比例。近年来, 全球癌症负担仍在增加, 头颈部鳞状细胞癌因局部侵袭性强、复发风险较高而受到持续关注[1][2]。在临床治疗中, LSCC 患者往往需要同时考虑肿瘤控制、发音和吞咽功能保留以及生活质量改善。对于中晚期病例而言, 局部复发、区域淋巴结转移和治疗抵抗仍是影响预后的主要问题[3][4]。因此, 仅依靠传统临床分期和病理形态学指标, 已难以充分解释患者之间的生物学差异。

LSCC 的发生发展通常不是单一基因改变所能解释的。吸烟、饮酒、HPV 感染、慢性黏膜刺激、炎症反应以及肿瘤微环境变化等因素可在不同阶段参与癌变过程[5][6]。这些因素一方面造成 DNA 损伤和上皮分化异常, 另一方面也可能推动细胞周期活化、免疫状态改变和局部基质重塑。近年来关于喉癌分子分型和基因表达标志物的研究显示, LSCC 在不同患者甚至同一肿瘤内部均存在一定的转录组和基因组异质性, 这提示有必要从系统生物学角度寻找相对稳定的候选分子[7][8]。

随着芯片、RNA 测序及多组学技术的发展, 公共数据库为肿瘤分子机制研究提供了较为丰富的资料来源。GEO (Gene Expression Omnibus) 数据库收录了大量肿瘤组织和正常组织的表达谱数据。通过对公开数据进行规范化处理、差异表达分析, 并结合 GO/KEGG 功能富集、蛋白互作网络或免疫相关分析, 可以在较低成本下初步筛选与疾病进展相关的基因和通路。近年 LSCC 相关研究也表明, 基于 GEO 数据和综合生物信息学策略, 可识别细胞因子-受体互作、免疫调控及预后相关分子, 为进一步研究提供方向[9][10]。

目前, LSCC 潜在生物标志物涵盖突变基因、非编码 RNA、炎症介质、免疫检查点、氧化应激及细胞外基质重塑等多个层面[3]-[5][7]。不过, 不同研究在样本来源、检测平台和筛选阈值上并不完全一致, 候选基因的稳定性和可重复性仍需进一步验证。在这种情况下, 先对单一质量较好的数据集进行深入分析, 再结合独立队列进行趋势性验证, 并把差异表达基因放入功能通路背景中解释, 能够提高结果的生物学可信度。

本研究以 GSE59102 为主要分析队列, 以 GSE10288 作为辅助验证队列, 采用 R 语言进行差异表达分析, 并通过火山图、热图、GO 和 KEGG 富集分析展示 LSCC 相关分子改变。研究重点在于对特定公开数据集中 LSCC 转录组特征进行系统性刻画, 并据此提出后续可通过组织学验证和功能实验检验的候选分子及通路假说。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 数据来源与纳入标准

本研究所用表达谱数据均来自 GEO 数据库。GSE59102 作为主要分析队列, GSE10288 作为辅助验证队列。数据集纳入标准为: (1) 研究对象包含 LSCC 组织及相应正常或非肿瘤喉组织; (2) 原始或标准化表达矩阵可获得; (3) 样本分组信息明确; (4) 平台注释能够用于探针与基因符号的对应转换。

### 2.2. 数据预处理与差异表达分析

采用 R 语言读取表达矩阵, 并完成数据预处理和标准化。分别对 GSE59102 和 GSE10288 进行样本分组, 使用 limma 包构建设计矩阵并进行差异表达分析。以 adjusted P value < 0.05 且  $|\log_2FC| > 1$  作为显著差异标准。差异分析结果导出后, 使用 ggplot2 绘制火山图, 使用 pheatmap 绘制热图。

### 2.3. 功能富集分析

以 GSE59102 中筛选得到的显著差异表达基因为基础, 使用 cluster Profiler 包进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析。GO 分析包括生物过程、细胞组分和分子功能三个部分。基因符号通过 org.Hs.eg.db 转换为 ENTREZID, 多重检验采用 Benjamini-Hochberg 方法校正,  $P. adjust < 0.05$  视为差异具有统计学意义。

### 2.4. 外部验证与分析策略说明

GSE10288 用于对主要分析结果进行辅助验证。由于该数据集采用自定义 cDNA 芯片平台, 覆盖基因数量有限, 本研究将其主要用于观察部分基因的表达趋势, 而不进行强行合并分析。当两个队列之间共同且同向变化的差异基因数量不足时, 不继续开展稳定性较差的联合 GO/KEGG 富集。基于此, 本文将 GSE59102 定位为发现队列, 对结果的解释侧重于该数据集所反映的 LSCC 分子特征。

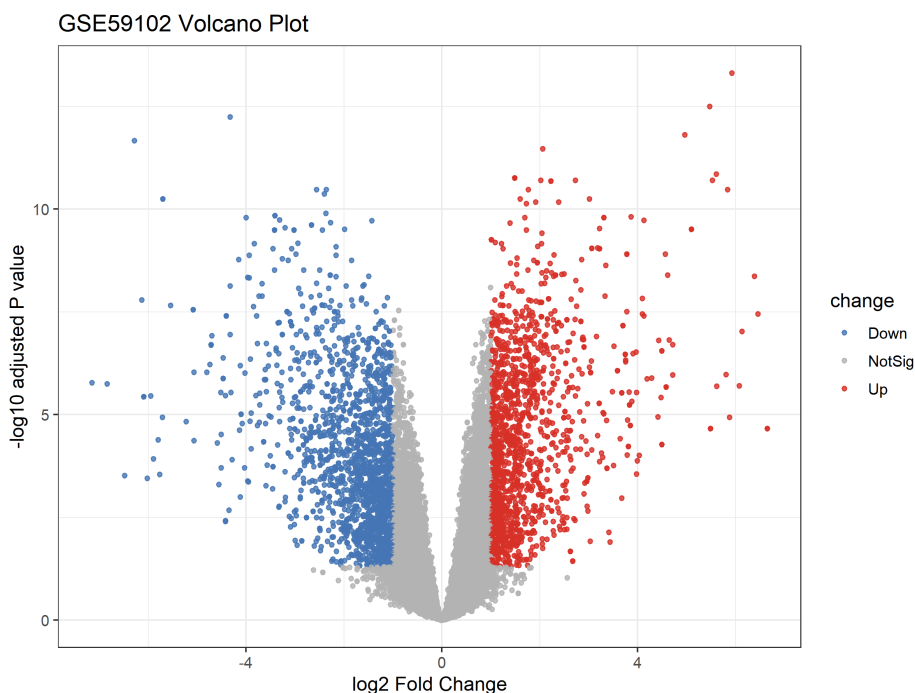
### 2.5. 统计学处理

所有分析均在 R 环境中完成。表达数据经  $\log_2$  转换后纳入差异分析, 多重比较采用 Benjamini-Hochberg 法进行校正。

## 3. 结果

### 3.1. 差异表达基因筛选结果

GSE59102 数据集共包括 29 例肿瘤样本和 13 例正常/安全边界样本。以  $adjusted\ P\ value < 0.05$  且  $|\log_2FC| > 1$  为阈值, 共筛选得到 3439 个显著差异表达基因, 其中 1526 个上调、1913 个下调。



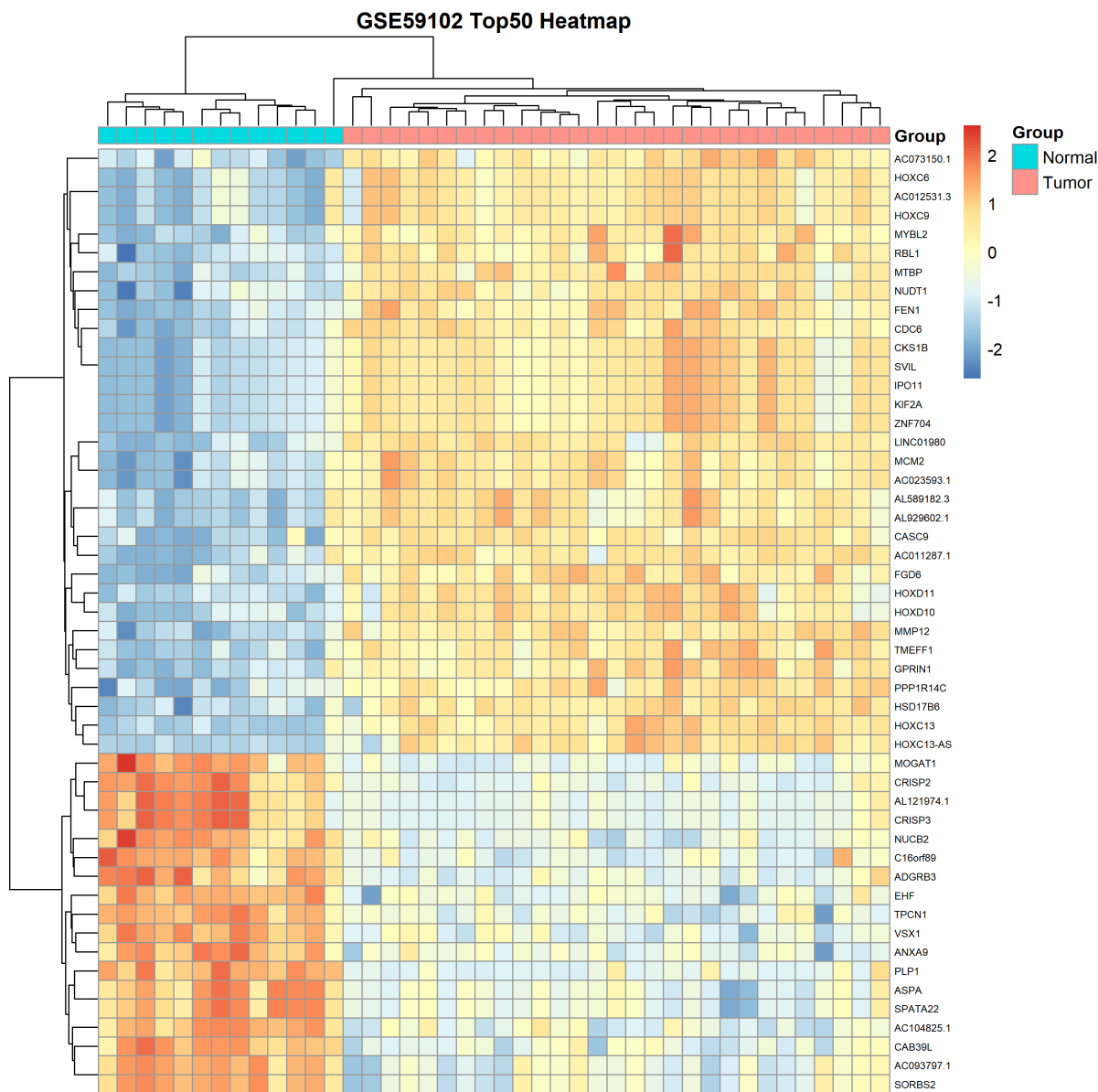
注: 红色表示显著上调基因, 蓝色表示显著下调基因, 灰色表示差异不显著基因。

Figure 1. GSE59102 volcano plot of differentially expressed genes

图 1. GSE59102 差异表达基因火山图

按照统计学显著性和表达变化幅度排序,上调较为明显的基因包括 MMP12、HOXC13、LINC01980、CDC6、CASC9、HOXC13-AS、FGD6、TMEFF1、MCM2 和 HOXC9 等;下调较为明显的基因包括 PLP1、CRISP2、NUCB2、VSX1、CAB39L、CRISP3、ADGRB3、TPCN1、EHF 和 ASPA 等(见图 1)。整体来看, LSCC 组织中既有增殖和侵袭相关基因的激活,也可见与正常上皮分化及组织稳态相关基因的降低。

### 3.2. 热图聚类分析结果



注: 顶部颜色条表示样本分组,青色为正常组,粉色为肿瘤组。

**Figure 2.** GSE59102 Top50 heatmap of differentially expressed genes

**图 2.** GSE59102 前 50 个差异表达基因热图

选取差异最显著的前 50 个基因进行聚类分析后,肿瘤组与正常组样本整体分离较为清楚。热图显示,多数上调基因在肿瘤样本中呈相对一致的高表达,而多数下调基因在正常组中表达较高(见图 2),说明筛

选出的差异基因具有一定的分组区分能力和生物学一致性。

### 3.3. GO 富集分析结果

GO 生物过程(BP)分析显示, 差异表达基因主要富集于 nuclear division、chromosome segregation、mitotic nuclear division、nuclear chromosome segregation 和 regulation of mitotic nuclear division 等条目, 同时涉及 epidermis development 和 gland development (见图 3)。该结果提示 LSCC 中存在细胞周期异常激活, 并伴随上皮分化程序改变。

GO 细胞组分(CC)分析显示, 差异表达基因主要富集于 external encapsulating structure、extracellular matrix、basement membrane、basal plasma membrane、basolateral plasma membrane 和 apical plasma membrane 等条目(见图 4)。此外, condensed chromosome 和 kinetochore 等与有丝分裂结构相关的组分也出现在富集结果中。

GO 分子功能(MF)分析显示, 差异表达基因主要富集于 glycosaminoglycan binding、heparin binding、integrin binding、extracellular matrix structural constituent、cytokine activity、peptidase regulator activity 和 peptidase inhibitor activity 等条目(见图 5)。上述结果提示, LSCC 可能同时存在细胞-基质黏附异常、炎症因子调控增强以及蛋白酶/抑制因子平衡改变。

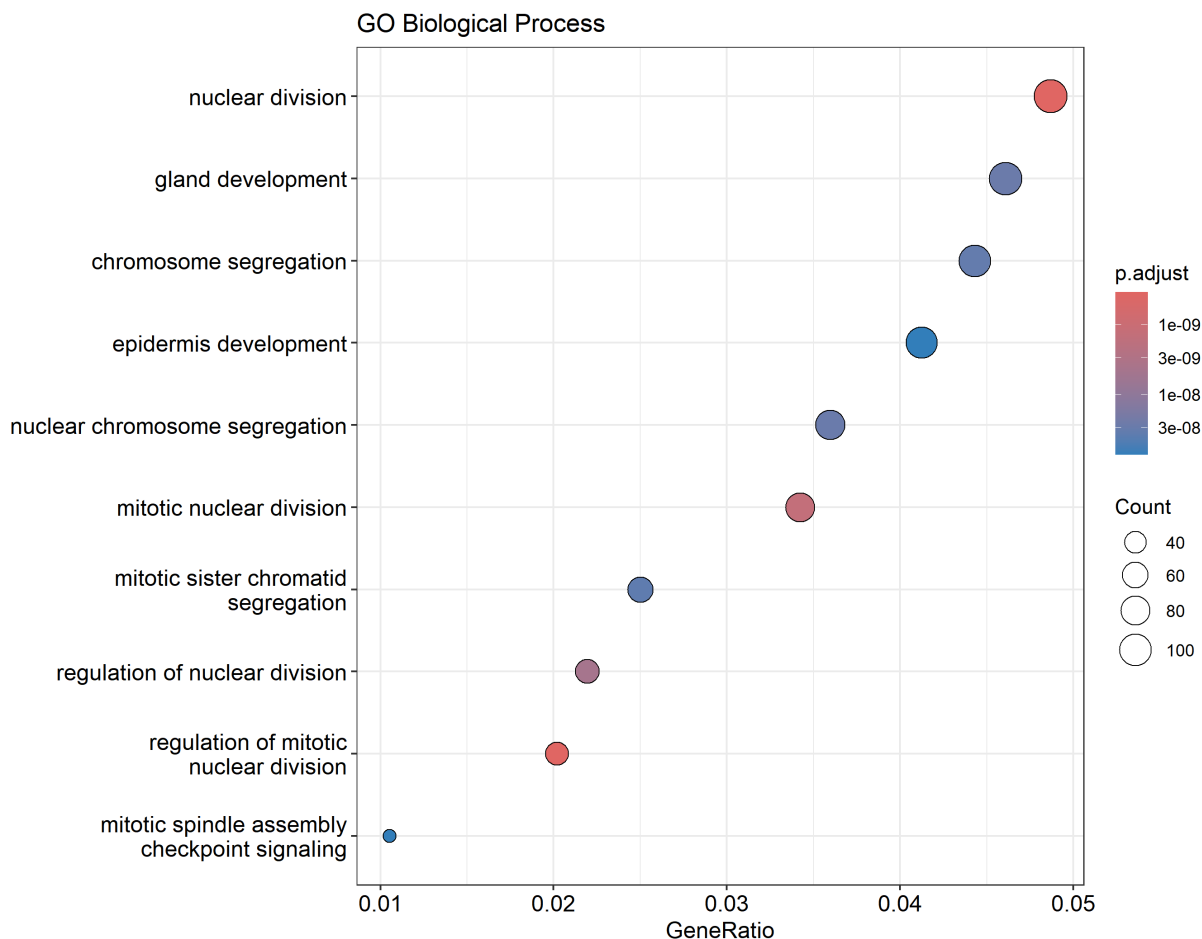
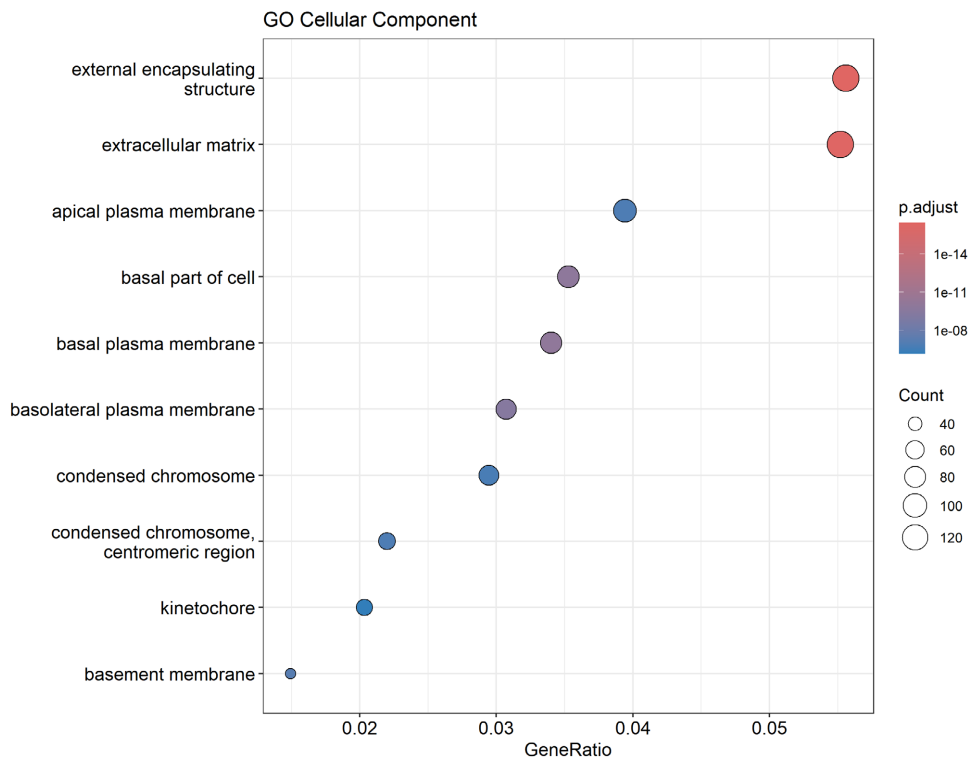


Figure 3. GO-BP enrichment analysis bubble chart

图 3. GO-BP 富集分析气泡图



**Figure 4.** GO-CC enrichment analysis bubble chart  
**图 4.** GO-CC 富集分析气泡图



**Figure 5.** GO-MF enrichment analysis bubble chart  
**图 5.** GO-MF 富集分析气泡图

### 3.4. KEGG 通路富集分析结果

KEGG 分析显示, 差异表达基因显著富集于 Cell cycle、DNA replication、Cytokine-cytokine receptor interaction、Complement and coagulation cascades、Integrin signaling、Retinol metabolism 和 Cornified envelope formation 等通路(见图 6)。其中, Cell cycle 和 DNA replication 提示肿瘤细胞增殖与复制活动增强; Cytokine-cytokine receptor interaction 及 Complement and coagulation cascades 则提示炎症反应和微环境调控可能参与 LSCC 进展。

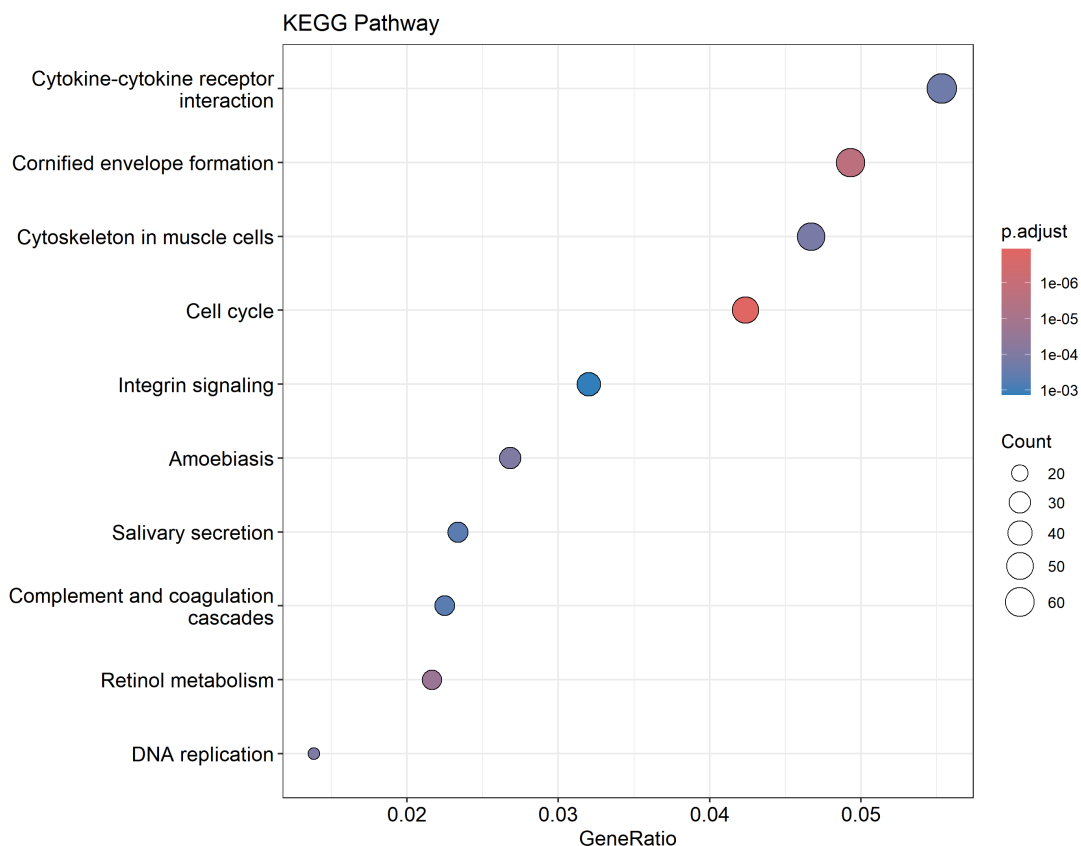


Figure 6. KEGG pathway enrichment analysis bubble chart

图 6. KEGG 通路富集分析气泡图

### 3.5. 辅助验证结果

GSE10288 原始研究采用自定义 cDNA 芯片平台, 覆盖基因数量有限。经平台注释和分组校正后, 该队列可用于趋势性验证; 但与其与主分析队列之间共同且同向变化的差异基因不足 10 个, 因此未继续进行共同基因的 GO/KEGG 富集分析。该结果提示, 本研究的主要发现尚未获得充分外部队列支持, 后续仍需采用基因覆盖更完整、样本信息更一致的独立 LSCC 队列进行验证。

## 4. 讨论

LSCC 是头颈部鳞状细胞癌的重要亚型, 其发生发展与遗传改变、外界致癌因素的暴露及局部微环境失衡密切相关。既往研究认为, 喉癌不仅具有较高的复发风险, 还可能造成明显的发音和吞咽功能损害; 因此, 从转录组层面梳理 LSCC 的分子异常特征, 对于理解其生物学行为和提出后续实验假说具有实际

意义[1][3][4][11]-[13]。本研究基于 GSE59102 数据集筛选出 3439 个显著差异表达基因, 并通过 GO 和 KEGG 富集分析发现, 该数据集中 LSCC 的主要分子改变集中在细胞周期激活、细胞外基质重塑和炎症微环境调控三个方面。

从结果看, 细胞周期相关条目是本研究最明确的富集方向之一。大量差异基因集中于 Cell cycle、DNA replication、nuclear division 和 chromosome segregation 等过程, 说明 LSCC 组织中可能存在持续的增殖信号和复制压力。既往 LSCC 表达谱研究同样提示, 肿瘤组织内存在一批与增殖和细胞周期推进相关的异常表达基因[14]-[16]。在本研究中, CDC6 和 MCM2 均为上调较明显的代表基因, 二者分别与 DNA 复制许可和复制起始密切相关, 其异常表达也被认为与鳞癌细胞增殖及不良生物学行为有关[17][18]。这一结果与本研究的富集分析具有较好的一致性。

除增殖程序外, 细胞外基质和基底膜相关改变也十分突出。GO-CC 结果中 extracellular matrix、external encapsulating structure 和 basement membrane 等条目显著富集, 提示 LSCC 的分子异常并不局限于癌细胞内部, 还涉及癌细胞与周围间质之间的相互作用。头颈部鳞癌中的基质重塑、癌相关成纤维细胞活化及胶原沉积增加, 被认为是推动局部浸润和远处转移的重要基础[19]-[21]。由于 LSCC 来源于上皮组织, 其浸润过程往往伴随基底膜降解和基质屏障破坏, 因此 ECM 相关富集结果具有较明确的病理学意义。

在具体基因层面, MMP12 值得关注。MMP 家族成员可参与细胞外基质和基底膜成分降解, 从而为肿瘤细胞向周围组织扩展创造条件。已有研究在口腔鳞癌及相关疾病模型中观察到 MMP12 异常表达, 并提示其可能与炎症、基质降解和肿瘤侵袭有关[22][23]。本研究中 MMP12 显著上调, 并与 ECM 和 basement membrane 等富集结果相互呼应, 提示其可能参与 LSCC 局部侵袭能力增强。由于目前 MMP12 在 LSCC 中的专门研究仍相对有限, 后续可通过免疫组化和细胞功能实验进一步验证其作用。

本研究还观察到 HOXC13、HOXC13-AS 和 CASC9 等发育调控及非编码 RNA 相关分子的上调。HOX 基因家族本身参与胚胎发育和组织模式形成, 其在肿瘤中的异常激活常与细胞分化状态改变和迁移侵袭能力增强有关。既往研究提示, HOX 相关基因及 HOXC13-AS 可能参与 LSCC 或头颈部鳞癌的进展[24]-[26]。CASC9 作为 lncRNA, 在多种鳞状细胞癌中被报道具有促增殖和促迁移作用, 并可能与 AKT/mTOR 等信号轴相关[27][28]。因此, HOXC13、HOXC13-AS 与 CASC9 的共同上调, 提示 LSCC 中可能存在发育程序重塑和非编码 RNA 介导的致癌调控。

炎症和细胞因子信号也是本研究中较为重要的结果。GO-MF 和 KEGG 分析均提示 cytokine activity 及 Cytokine-cytokine receptor interaction 富集。肿瘤微环境并不是肿瘤周围的静态背景, 而是会持续影响肿瘤细胞生长、血管生成、浸润转移和免疫逃逸的动态系统[9][29]-[31]。长期吸烟、慢性机械刺激和黏膜损伤可使喉部处于反复炎症状态, 从而为肿瘤发生和进展提供有利环境。因此, 细胞因子相关富集不仅具有统计学意义, 也与 LSCC 的临床危险因素和病理特点相吻合。

与上调基因相对应, EHF、PLP1、CRISP2 和 CRISP3 等下调基因提示 LSCC 中可能存在正常上皮分化和黏膜屏障维持能力下降。EHF 作为上皮相关转录因子, 通常与上皮稳态和分化调控有关, 其表达降低可能反映正常上皮程序受到抑制。CRISP 家族分子及部分膜蛋白相关分子的下降, 则可能与局部屏障功能减弱有关。虽然这些分子在 LSCC 中的特异性研究仍不多, 但它们与 epidermis development 等 GO 条目共同出现, 说明 LSCC 并非单纯表现为促癌通路增强, 同时也伴随正常组织功能的衰退。

本研究也存在一定局限。首先, 主要结果来自 GSE59102 单个芯片数据集, 虽然样本量相对可用, 但仍难以完全代表 LSCC 的全分子异质性。其次, GSE10288 平台覆盖范围较小, 未能提供足够数量的共同基因用于联合富集分析, 因此外部验证强度有限。再次, 本研究主要基于转录组数据进行筛选, 尚缺少 qRT-PCR、免疫组化、细胞功能实验和动物实验等验证。因此, 本文所得候选基因不宜直接等同于已被确认的诊断或预后标志物, 而应理解为基于特定数据集提出的、需要进一步验证的研究线索。

尽管存在上述不足, 本研究仍具有一定参考价值。一方面, 研究从 GSE59102 数据集中获得了一组具有生物学解释意义的 LSCC 候选差异基因, 可为后续实验验证提供优先选择; 另一方面, 富集结果提示 LSCC 的分子改变主要围绕细胞周期、基质重塑和炎症微环境展开, 为后续通路验证和功能实验设计提供了方向。基于这些结果, 后续可优先围绕 CDC6、MCM2、MMP12、HOXC13 和 CASC9 等分子开展组织样本验证, 并进一步评价其与 LSCC 增殖、侵袭及炎症微环境改变之间的关系。

关于锌指蛋白 ZPR1, 本文现有结果尚未提供其在 LSCC 中差异表达、预后价值或与核心差异基因稳定相关的直接证据, 因此不将其作为主要结果展开。考虑到 ZPR1 既往被报道与蛋白翻译稳态、应激反应及细胞存活有关, 其与 LSCC 中细胞周期激活、细胞外基质重塑或炎症信号之间是否存在间接联系, 仍可作为后续研究的探索方向。未来可在样本量更大的 LSCC 队列及 TCGA 相关数据中进一步检测 ZPR1 表达及其与 CDC6、MCM2、MMP12 等基因的相关性, 并结合细胞功能实验判断其是否参与 LSCC 进展。

## 5. 结论

本研究基于 GEO 数据库和 R 语言生物信息学分析, 对 GSE59102 数据集中 LSCC 组织与正常喉组织之间的差异表达基因进行了筛选和功能富集分析。GO 和 KEGG 结果提示, 该数据集中 LSCC 的主要分子异常与细胞周期激活、细胞外基质重塑以及炎症相关信号改变有关。

MMP12、HOXC13、HOXC13-AS、CASC9、CDC6 和 MCM2 等基因可能参与上述生物学过程, 可作为后续组织学验证和功能实验的候选分子。鉴于 GSE10288 外部验证受平台覆盖范围限制, 本文结论应理解为对特定公开数据集 LSCC 分子特征的系统性刻画, 其稳定性仍需更多独立队列和实验研究进一步确认。

## 参考文献

- [1] Johnson, D.E., Burtneß, B., Leemans, C.R., Lui, V.W.Y., Bauman, J.E. and Grandis, J.R. (2020) Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, **6**, Article No. 92. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00224-3>
- [2] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [3] Cavaliere, M., Bisogno, A., Scarpa, A., D'Urso, A., Marra, P., Colacurcio, V., *et al.* (2021) Biomarkers of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma: A Review. *Annals of Diagnostic Pathology*, **54**, Article ID: 151787. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2021.151787>
- [4] Verro, B., Saraniti, C., Carlisi, D., Chiesa-Estomba, C., Maniaci, A., Lechien, J.R., *et al.* (2023) Biomarkers in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma: The Literature Review. *Cancers*, **15**, Article 5096. <https://doi.org/10.3390/cancers15205096>
- [5] Falco, M., Tammamo, C., Takeuchi, T., Cossu, A.M., Scafuro, G., Zappavigna, S., *et al.* (2022) Overview on Molecular Biomarkers for Laryngeal Cancer: Looking for New Answers to an Old Problem. *Cancers*, **14**, Article 1716. <https://doi.org/10.3390/cancers14071716>
- [6] Guo, F., Li, S., Yan, S., Zhang, Y., Wang, G. and Ma, R. (2025) Bioinformatics Analysis of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Based on the High Infection Rate of HPV in Northwest China. *PeerJ*, **13**, e19851. <https://doi.org/10.7717/peerj.19851>
- [7] Maniaci, A., Giurdanella, G., Chiesa Estomba, C., Mauramati, S., Bertolin, A., Lionello, M., *et al.* (2024) Personalized Treatment Strategies via Integration of Gene Expression Biomarkers in Molecular Profiling of Laryngeal Cancer. *Journal of Personalized Medicine*, **14**, Article 1048. <https://doi.org/10.3390/jpm14101048>
- [8] Hsia, B., Bitar, G.A., Tran, N.S., Keenehan, K., Bonilla, P.S., Alshaka, S., *et al.* (2025) Genomic Profiling of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Reveals Novel Biomarkers for Precision Medicine. *Journal of Personalized Medicine*, **16**, Article 2. <https://doi.org/10.3390/jpm16010002>
- [9] Chen, Q., Wang, D., Chen, Z., Lin, L., Shao, Q., Zhang, H., *et al.* (2024) Predicting Biomarkers in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Based on the Cytokine-Cytokine Receptor Interaction Pathway. *Heliyon*, **10**, e37738. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37738>
- [10] Zhang, P., Chen, W., Chen, K., Ye, Y. and Wu, W. (2025) Identification of Biomarkers for Laryngeal Squamous Cell

- Carcinoma through Mendelian Randomization and Integrated Bioinformatics Analysis. *Discover Oncology*, **16**, Article No. 1364. <https://doi.org/10.1007/s12672-025-03114-w>
- [11] Curado, M.P. and Hashibe, M. (2009) Recent Changes in the Epidemiology of Head and Neck Cancer. *Current Opinion in Oncology*, **21**, 194-200. <https://doi.org/10.1097/coo.0b013e32832a68ca>
- [12] Wyss, A., Hashibe, M., Chuang, S., Lee, Y.A., Zhang, Z., Yu, G., *et al.* (2013) Cigarette, Cigar, and Pipe Smoking and the Risk of Head and Neck Cancers: Pooled Analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *American Journal of Epidemiology*, **178**, 679-690. <https://doi.org/10.1093/aje/kwt029>
- [13] Peterson, L.A., Bellile, E.L., Wolf, G.T., Virani, S., Shuman, A.G., Taylor, J.M.G., *et al.* (2016) Cigarette Use, Comorbidities, and Prognosis in a Prospective Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Population. *Head & Neck*, **38**, 1810-1820. <https://doi.org/10.1002/hed.24515>
- [14] Colombo, J., Fachel, A.A., De Freitas Calmon, M., *et al.* (2009) Gene Expression Profiling Reveals Molecular Marker Candidates of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Oncology Reports*, **21**, 649-663.
- [15] Liu, F., Du, J., Liu, J. and Wen, B. (2016) Identification of Key Target Genes and Pathways in Laryngeal Carcinoma. *Oncology Letters*, **12**, 1279-1286. <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4750>
- [16] Ma, L., Li, W., Zhang, X., Huang, D., Zhang, H., Xiao, J., *et al.* (2009) Differential Gene Expression Profiling of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma by Laser Capture Microdissection and Complementary DNA Microarrays. *Archives of Medical Research*, **40**, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2008.12.005>
- [17] Saloura, V., Vougiouklakis, T., Zewde, M., Kiyotani, K., Park, J., Gao, G., *et al.* (2016) WHSC1L1 Drives Cell Cycle Progression through Transcriptional Regulation of CDC6 and CDK2 in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Oncotarget*, **7**, 42527-42538. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9897>
- [18] Vivatvakin, S., Ratchataswan, T., Leesutipornchai, T., Ruangritchankul, K., Keelawat, S., Mahattanasakul, P., *et al.* (2021) MCM-2, Ki-67, and EGFR Downregulated Expression Levels in Advanced Stage Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 14607. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94077-9>
- [19] Saint, A. and Van Obberghen-Schilling, E. (2021) The Role of the Tumor Matrix Environment in Progression of Head and Neck Cancer. *Current Opinion in Oncology*, **33**, 168-174. <https://doi.org/10.1097/coo.0000000000000730>
- [20] Goh, K.Y., Lau, K.W., Cheng, T.Y.D., Tham, S.C., Lim, C.T., Iyer, N.G., *et al.* (2022) Matrisomal Genes in Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck Influence Tumor Cell Motility and Response to Cetuximab Treatment. *Cancer Communications*, **42**, 355-359. <https://doi.org/10.1002/cac2.12279>
- [21] Hu, C., Zhang, Y., Wu, C. and Huang, Q. (2023) Heterogeneity of Cancer-Associated Fibroblasts in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Opportunities and Challenges. *Cell Death Discovery*, **9**, Article No. 124. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01428-8>
- [22] Saleem, Z., Shaikh, A.H., Zaman, U., Ahmed, S., Majeed, M.M., Kazmi, A., *et al.* (2021) Estimation of Salivary Matrix Metalloproteinases- 12 (MMP- 12) Levels among Patients Presenting with Oral Submucous Fibrosis and Oral Squamous Cell Carcinoma. *BMC Oral Health*, **21**, Article No. 205. <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01571-7>
- [23] Chen, X., Lei, H., Cheng, Y.X., *et al.* (2024) CXCL8, MMP12, and MMP13 Are Common Biomarkers of Periodontitis and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Oral Diseases*, **30**, 390-407.
- [24] de Barros e Lima Bueno, R., Ramão, A., Pinheiro, D.G., Alves, C.P., Kannen, V., Jungbluth, A.A., *et al.* (2016) HOX Genes: Potential Candidates for the Progression of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Tumor Biology*, **37**, 15087-15096. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5356-8>
- [25] He, S., He, Y., Zhu, S., Wang, R., Liu, S., Wang, L., *et al.* (2024) M2 Macrophage Exosomal HOXC13-AS in Laryngeal Cancer Immunity via Targeting miR-485-5p/IGF2BP2/PD-L1. *International Immunopharmacology*, **140**, Article ID: 112742. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112742>
- [26] Xiong, D., Wu, W., Kan, L., Chen, D., Dou, X., Ji, X., *et al.* (2020) LINC00958 and HOXC13-AS as Key Candidate Biomarkers in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by Integrated Bioinformatics Analysis. *PeerJ*, **8**, e8557. <https://doi.org/10.7717/peerj.8557>
- [27] Sassenberg, M., Droop, J., Schulz, W.A., Dietrich, D., Loick, S.M., Wiek, C., *et al.* (2019) Upregulation of the Long Non-Coding RNA CASC9 as a Biomarker for Squamous Cell Carcinoma. *BMC Cancer*, **19**, Article No. 806. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6021-6>
- [28] Yang, Y., Chen, D., Liu, H. and Yang, K. (2019) Increased Expression of LncRNA CASC9 Promotes Tumor Progression by Suppressing Autophagy-Mediated Cell Apoptosis via the Akt/mTOR Pathway in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cell Death & Disease*, **10**, Article No. 41. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1280-8>
- [29] Denaro, N., Solinas, C., Garrone, O., Cauchi, C., Ruatta, F., Wekking, D., *et al.* (2022) The Role of Cytokinome in the HNSCC Tumor Microenvironment: A Narrative Review and Our Experience. *Diagnostics*, **12**, Article 2880. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112880>

- [30] Nisar, S., Yousuf, P., Masoodi, T., Wani, N.A., Hashem, S., Singh, M., *et al.* (2022) Chemokine-Cytokine Networks in the Head and Neck Tumor Microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 4584. <https://doi.org/10.3390/ijms22094584>
- [31] Tan, C.T., Chu, C.Y., Lu, Y.C., Chang, C.C., Lin, B.R., Wu, H.H., *et al.* (2008) CXCL12/CXCR4 Promotes Laryngeal and Hypopharyngeal Squamous Cell Carcinoma Metastasis through MMP-13-Dependent Invasion via the ERK1/2/AP-1 Pathway. *Carcinogenesis*, **29**, 1519-1527. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn108>