

## $\beta$ -catenin拮抗因子Chibby在鼻咽癌中的表达及意义

蔡成福<sup>1</sup>, 赵德安<sup>1</sup>, 任刚<sup>1</sup>, 李博安<sup>2</sup>, 方建林<sup>3</sup>

(1 厦门大学附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 福建 厦门 361003; 2 厦门大学生命科学院, 福建 厦门 361003; 3 厦门市中山医院耳鼻咽喉头颈外科, 福建 厦门 361003)

**[摘要]** **目的** 研究 $\beta$ -catenin拮抗因子Chibby在鼻咽癌组织中的表达情况, 并探讨其与鼻咽癌临床病理因素的相关性。**方法** 分别采用Real time PCR及免疫组织化学(SABC法)检测45例鼻咽癌及癌旁正常鼻咽黏膜组织中Chibby mRNA及蛋白的表达情况, 统计Chibby的表达与鼻咽癌患者临床病理因素的关系。**结果** Chibby mRNA在癌旁正常鼻咽黏膜及鼻咽癌组织中平均相对表达量分别为 $0.0835 \pm 0.0056$ 和 $0.0776 \pm 0.0059$ , Chibby蛋白在癌旁正常鼻咽黏膜及鼻咽癌组织中的阳性表达率分别为91.1% (41/45) 和42.2% (19/45)。鼻咽癌组织中Chibby的表达与T分期及临床分期有相关性, 与性别、年龄、颈淋巴结转移及病理分型无明显相关性。**结论** 与癌旁正常鼻咽黏膜组织相比, 鼻咽癌组织中Chibby mRNA及蛋白的表达均降低, Chibby的表达与肿瘤T分期及临床分期相关, 与性别、年龄、颈淋巴结转移及病理分型无明显相关性, Chibby可能参与了鼻咽癌的发生过程, 有望成为鼻咽癌基因治疗新的作用靶点。

**[关键词]** 鼻咽肿瘤; Wnt蛋白质类; 免疫组织化学; 逆转录聚合酶链反应; 信号通路; Chibby

### Expression and significance of $\beta$ -catenin inhibitor Chibby in Nasopharyngeal Carcinoma

CAI Chengfu<sup>1</sup>, ZHAO De'an<sup>1</sup>, REN Gang<sup>1</sup>, LI Bo'an<sup>2</sup>, FANG Jianlin<sup>3</sup>

(1 Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, the First Affiliated Hospital, Xiamen University, Xiamen, Fujian, 361003, China; 2 Department of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian, 361003, China; 3 Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Zhongshan Hospital, Xiamen, Fujian, 361003, China)

Corresponding author: ZHAO De'an (Email: dyy\_cc@126.com)

**[ABSTRACT]** **OBJECTIVE** To investigate the expression of Chibby a new  $\beta$ -catenin inhibitor in

nasopharyngeal carcinoma, and to explore the relationship between Chibby and clinicopathological features of nasopharyngeal carcinoma. **METHODS** Real time PCR and SABC immunohistochemical staining were used to detect the expression of Chibby mRNA and protein in nasopharyngeal carcinoma tissues and nasopharyngeal normal tissues of 45 cases, respectively. The relationships between Chibby expression and clinicopathological features the gender, age, T stages, lymph node metastasis, clinical stages and pathological grade were analyzed by statistics. **RESULTS** The expressions of Chibby mRNA were  $0.0835 \pm 0.0056$  and  $0.0776 \pm 0.0059$  in nasopharyngeal normal tissues and nasopharyngeal carcinoma tissues, respectively. The positive expressive rates of chibby protein were 91.1% (41/45) and 42.2% (19/45) in nasopharyngeal normal tissues and nasopharyngeal carcinoma tissues, respectively. There were eminent relation between the lower expression of Chibby in nasopharyngeal carcinoma and T stages and clinical stages, but no relation with the sex, age, metastasis of lymph and pathological grades. **CONCLUSION** Compare with normal nasopharyngeal tissues, the expressions of Chibby mRNA and protein were reduced in nasopharyngeal carcinoma tissues. The lower expressive levels of Chibby were associated with the T stages and clinical stages of carcinoma, but no relation with the sex, age, metastasis of lymph and pathological grades. Chibby may be involved in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma, and be expected to become a new target of gene therapy of it.

**[Key words]** Nasopharyngeal Neoplasms; Wnt Proteins; Immunohistochemistry; Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction; signaling pathway; Chibby

第一作者简介及通讯: 蔡成福, 男, 福建人, 医学硕士, 副主任医师, 主要研究方向为头颈肿瘤的临床工作。

Email: dyy\_cc@126.com

通讯作者: 赵德安 (Email: dyy\_cc@126.com)

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的异常激活与多种人类恶性肿瘤的发生发展密切相关<sup>[1]</sup>。Chibby作为该信号通路新的拮抗因子,既能与核转录因子TCF/LEF竞争结合于 $\beta$ -catenin,抑制 $\beta$ -catenin活性<sup>[2]</sup>,又能介导 $\beta$ -catenin由细胞核向细胞质的转运,从而拮抗Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路活性<sup>[3]</sup>,影响靶基因的表达,有望成为新的肿瘤抑制因子。已有研究表明,Chibby在结肠癌细胞系<sup>[4]</sup>及小儿室管膜瘤中表达降低<sup>[5]</sup>。本研究分别采用Real time PCR及免疫组织化学(SABC法)检测Chibby在鼻咽癌组织及癌旁正常鼻咽黏膜组织的表达差异,探讨鼻咽癌中Chibby的表达与患者临床病理因素间的关系,为进一步研究Chibby对鼻咽癌的作用及作用机制奠定基础。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料。**收集2010年4月~2011年1月于我院耳鼻咽喉头颈外科就诊取活检的鼻咽癌患者的鼻咽部病变组织45例,活检前均未接受放、化疗。其中男性32例,女性13例;年龄23~68岁,中位年龄53岁;按照2002年国际抗癌联盟(UICC)和美国癌症分期联合委员会(AJCC)制定的TNM分期标准,T1~T2级24例,T3~T4级21例;无淋巴结转移者18例,有淋巴结转移者27例;临床分期,I~II期19例,III~IV期26例;WHO分型I型9例,II型20例,III型16例。同时选取同一患者距病变边缘1.0 cm外鼻咽黏膜组织。所有组织标本在离体30 min内分成2份,一份于10%中性福尔马林固定液后,常规石蜡包埋,另一份迅速冻存于液氮中备用。所有标本常规HE染色后经病理科2位专业技术人员确诊,病变处鼻咽组织为鼻咽癌组织,癌旁鼻咽黏膜为正常鼻咽黏膜。所有病例均有完整的病案资料,本研究获我院伦理委员会批准,检查前均明确告知患者,并签署知情同意书。

**1.2 利用Real-time PCR方法检测Chibby mRNA在鼻咽癌组织中的表达。**

**1.2.1 Real-time PCR操作。**采用Trizol (Invitrogen, 美国)同时提取鼻咽癌组织及癌旁正常鼻咽黏膜组织的总RNA,运用逆转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA。Real-time PCR采用SYBR Green Real-time PCR Master Mix (TOYOBO, 日本)试剂盒,以18 sRNA为内参进行PCR扩增。Chibby上游引物,5'-TTTGGGAATACGTTTCAGTCCG-3';下游引物,5'-TCAGCCGCAAGAGATTGTTTC-3';18 sRNA上游引物,5'-GTCTGTGATGCCCTTAGATG-3';下游引物,5'-AGCTTATGACCCGCACTTAC-3'。PCR反应体系共20  $\mu$ l: cDNA 2  $\mu$ l, 灭菌双蒸馏水6.8  $\mu$ l, 上下游引物(10  $\mu$ mol/L)各0.6  $\mu$ l, PCR Master Mix 10  $\mu$ l。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性30 s,90 $^{\circ}$ C变性30 s,60 $^{\circ}$ C退火复性20 s,72 $^{\circ}$ C延伸25 s,45个循环,终末72 $^{\circ}$ C 5 min。

**1.2.2 Real-time PCR结果计算与判定。**根据扩增曲线确

定每个样品平均CT值( $CT_{平均}$ ),样品Chibby的 $CT_{平均}$ 减去该样品内参18 sRNA的 $CT_{平均}$ 得到该样品Chibby扩增的相对循环次数( $\Delta CT$ ), $2^{-\Delta CT}$ 反映了Chibby mRNA的相对拷贝数,将 $2^{-\Delta CT}$ 转换为 $-\log_2 2^{-\Delta CT}$ 进行统计计算,同一患者癌组织的 $\Delta CT$ 减去癌旁正常鼻咽黏膜的 $\Delta CT$ 得到该患者癌组织与癌旁正常鼻咽黏膜组织中Chibby扩增循环次数的差异( $\Delta \Delta CT$ ), $2^{-\Delta \Delta CT}$ 反映了同一患者癌组织Chibby的表达相对于该患者癌旁正常鼻咽黏膜中表达的倍数:即 $2^{-\Delta \Delta CT} = 2^{(CT_{Chibby-CT_{18sRNA}} - (CT_{Chibby-CT_{18sRNA}} - CT_{正常鼻咽黏膜}))}$ 。当 $2^{-\Delta \Delta CT} \leq 0.66$ 时,表明鼻咽癌组织中Chibby mRNA的表达降低;当 $0.66 < 2^{-\Delta \Delta CT} \leq 1.5$ 时,表明鼻咽癌组织中Chibby mRNA的表达相似;当 $2^{-\Delta \Delta CT} > 1.5$ 时,表明鼻咽癌组织中Chibby mRNA的表达升高<sup>[6]</sup>。

**1.3 免疫组织化学方法(SABC法)检测Chibby蛋白在鼻咽癌组织中的表达。**

**1.3.1 操作方法。**将包埋好的蜡块连续4  $\mu$ m切片,室温晾干后于100%的二甲苯中脱蜡2次 $\times$ 10 min;脱蜡后依次在100%、95%及70%梯度乙醇及双蒸水中水化各2次 $\times$ 2 min,经常规脱蜡、水化后,用蒸馏水新配置的3% $H_2O_2$ 室温封闭10 min,双蒸水中冲洗3次 $\times$ 2min;然后浸入0.01 mol, pH6.0, 95 $^{\circ}$ C以上的枸橼酸钠缓冲液中20 min,冷却1 h后,滴加封闭液室温封闭20 min;滴加1:500稀释的兔抗PGEA1多克隆抗体(Santa Cruz Biotechnology, 美国),室温1 h,10% PBS洗3次 $\times$ 2 min;滴加生物素化二抗,室温20 min,10% PBS洗3次 $\times$ 2 min;滴加SABC(武汉博士德生物工程有限公司,中国)工作液,室温20 min,10% PBS洗4次 $\times$ 5 min;使用DAB试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,中国),室温显色,镜下控制反应时间,一般6 min,蒸馏水洗涤;苏木精复染、脱水、透明、封片、显微镜下观察及拍照。用预实验中已证实的阳性切片作为阳性对照;以PBS替代兔抗PGEA1的切片作为阴性对照。

**1.3.2 免疫组化结果计算与判定。**Chibby蛋白以细胞质和/或细胞核中有棕红色颗粒为阳性染色。阳性和阴性根据细胞染色强度与染色细胞所占面积积分之和来判断。染色强度积分:不染色=0,轻度染色=1,中度染色=2,强染色=3。在高倍镜下(400 $\times$ ),每片选择5个高倍视野,每个视野计数100个细胞,共500个细胞,染色面积计分为:<10%细胞染色=0,10%~25%细胞染色=1,25%~50%细胞染色=2,>50%细胞染色=3。若两分之之和 $\leq 2$ 分为阴性表达,>2为阳性表达,=3为弱阳性表达(+),4~5分为中等阳性表达(++),分为强阳性表达(+++) [7]。

**1.4 统计学方法。**采用SPSS17.0统计软件分析,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,结果以例数(%)表示。计量资料符合正态分布且方差齐,两组间比较运用配对t检验,方差不齐,运用近似t检验,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示;不符合正态分

布, 两组间比较运用Mann-Whitney U秩和检验, 结果以M (QR) 表示,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Real time PCR结果。**通过比较 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 与0.66、1.5的大小发现, 与癌旁正常鼻咽黏膜相比, 68.9% (31/45) 鼻咽癌患者组织中Chibby mRNA表达降低, 15.6% (7/45) Chibby mRNA表达相似, 15.5% (7/45) Chibby mRNA表达稍升高 (图1)。癌旁正常鼻咽黏膜组织与鼻咽癌组织均来自同一患者, 属配对资料, 分析发现数据呈正态分布, 两组间比较采用配对t检验, Chibby mRNA在鼻咽癌和癌旁正常鼻咽黏膜组织中平均相对表达量分别为 $0.0776 \pm 0.0059$ 和 $0.0835 \pm 0.0056$ , 差异有统计学意义 ( $t=6.051, P < 0.01$ )。

**2.2 免疫组化结果。**Chibby免疫组织化学阳性为棕红色

细小颗粒, 既可表达于细胞核, 也可在细胞质表达。根据细胞染色强度与染色细胞所占面积积分之和发现, 与癌旁正常鼻咽黏膜组织相比, 73.3% (33/45) 鼻咽癌患者癌组织中Chibby蛋白表达降低 (图2)。Chibby蛋白在鼻咽癌组织中的阳性表达率是42.2% (19/45), 而癌旁正常鼻咽黏膜组织中的阳性表达率是91.1% (41/45), 差异有统计学意义 ( $\chi^2=24.2, P < 0.01$ )。

**2.3 鼻咽癌组织中Chibby的表达与患者临床病理因素间的相关性。**

**2.3.1 Chibby mRNA的表达与患者临床病理因素的相关性。**不同临床病理因素组内 $-\log_2^{-\Delta\Delta CT}$ 值呈非正态分布, Chibby mRNA在T1~T2级及T3~T4级患者鼻咽癌组织中的相对表达量分别为0.0803及0.0775, 差异有统计学意义, Chibby mRNA在I~II期及III~IV期患者鼻咽癌组织中的相对表达量分别为0.0810及0.0771, 差异有统计学意义

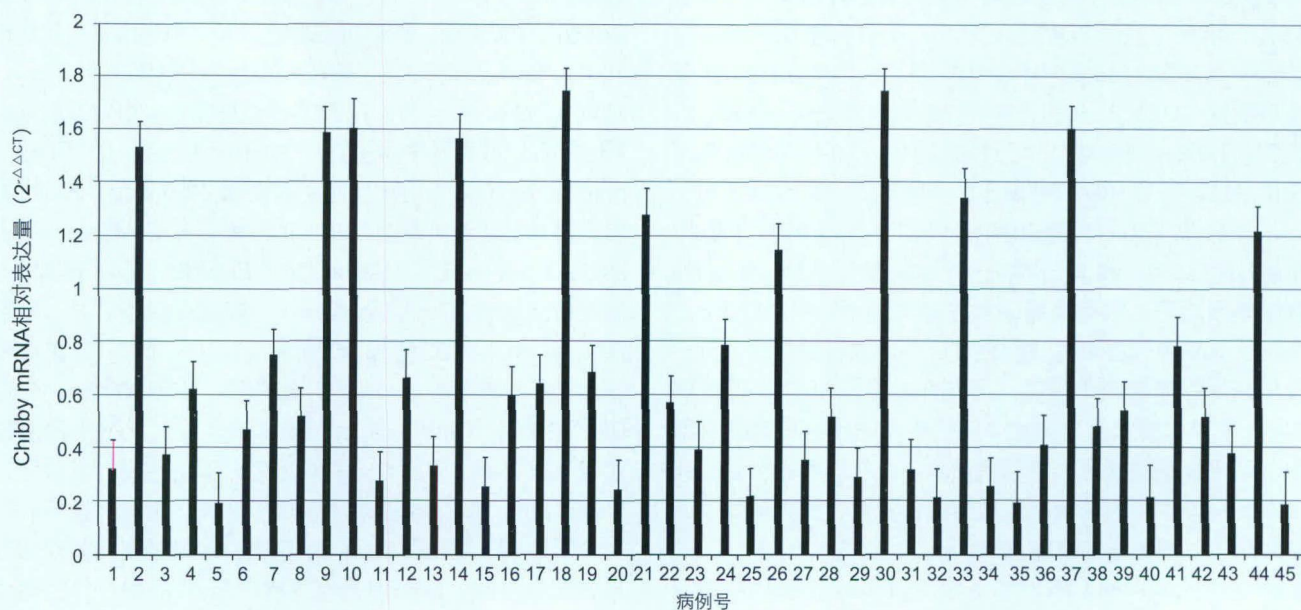


图1 鼻咽癌组织中Chibby mRNA的相对表达量

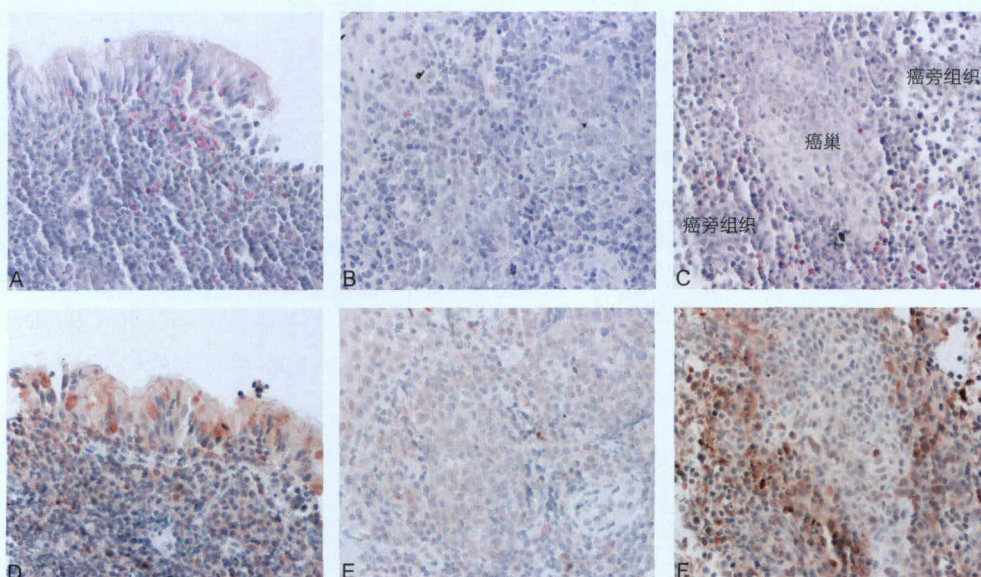


图2 Chibby蛋白表达情况。A 癌旁正常鼻咽黏膜组织, B 鼻咽癌组织, C 鼻咽癌巢及癌旁组织, HE×400; D 癌旁正常鼻咽黏膜组织, E 鼻咽癌组织, F 鼻咽癌巢及癌旁组织, SABC×400

义。Chibby mRNA的表达与患者的性别、年龄、颈部淋巴结转移及分型无相关性,差异无统计学意义(表1)。

**2.3.2 Chibby蛋白表达与患者临床病理因素间的相关性。**Chibby蛋白在T1~T2级与T3~T4级鼻咽癌患者中阳性表达率分别为70.8%及9.5%,差异有统计学意义,Chibby蛋白在I~II期与III~IV期鼻咽癌患者中阳性表达率分别为89.5%及7.7%,差异有统计学意义。而与患者性别、年龄、颈部淋巴结转移及分型无关(表2)。

表1 Chibby mRNA在鼻咽癌组织中的表达情况

临床病理因素	例数	相对表达量	U	P
性别				
男	32	0.0779 (0.0697, 0.0833)	190.5	>0.05
女	13	0.0775 (0.0770, 0.0803)		
年龄				
≤50	27	0.0777 (0.0696, 0.0825)	236.5	>0.05
>50	18	0.0781 (0.0752, 0.0808)		
T分级				
T1~T2	24	0.0803 (0.0770, 0.0836)	143.0	<0.01
T3~T4	21	0.0775 (0.0685, 0.0797)		
颈淋巴结转移				
N0	18	0.0801 (0.0752, 0.0836)	176.0	>0.05
N1~3	27	0.0775 (0.0696, 0.0805)		
临床分期				
I~II	19	0.0810 (0.0775, 0.0836)	99.0	<0.01
III~IV	26	0.0771 (0.0687, 0.0794)		
分型				
I	9	0.0803 (0.0728, 0.0836)	149	>0.05
II	20	0.0773 (0.0760, 0.0821)		
III	16	0.0776 (0.0696, 0.0805)		

### 3 讨论

近年来大量研究表明,Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中多个成员与鼻咽癌的发生、发展存在密切关系<sup>[8~10]</sup>,表明该信号通路在鼻咽癌的发生及发展中的重要作用。Chibby作为该通路的拮抗因子<sup>[2, 11]</sup>,通过与 $\beta$ -catenin相互作用,拮抗Wnt靶基因的表达。已有研究表明Chibby在结肠癌细胞系、小儿室管膜瘤中表达降低<sup>[4, 5]</sup>,但Chibby与鼻咽癌的关系仍不清楚。我们的研究在于检测Chibby在癌旁正常鼻咽黏膜及鼻咽癌组织中的表达情况,探索Chibby表达与鼻咽癌患者临床病理因素间的关系。

首先通过Real-time PCR检测Chibby mRNA的表达情况。Chibby mRNA在鼻咽癌组织中的相对表达量是 $0.0776 \pm 0.0059$ ,在正常鼻咽黏膜中的相对表达量为 $0.0835 \pm 0.0056$ ,68.9%鼻咽癌患者癌组织中Chibby mRNA表达降低。Schuierer等<sup>[4]</sup>研究发现,与正常结肠黏膜细胞系相比,Chibby mRNA在结肠癌细胞系中表达降低。Karakoula等<sup>[5]</sup>通过Real-time PCR检测小儿室管膜瘤患者肿瘤中位于染色体22q12-q13区域

表2 Chibby蛋白在鼻咽癌组织的表达情况

分组	例数	阳性表达率	$\chi^2$	P
性别				
男	32	50.0% (16/32)	2.747	>0.05
女	13	23.1% (3/13)		
年龄(岁)				
≤50	27	44.4% (12/27)	0.137	>0.05
>50	18	38.9% (7/18)		
T分级				
T1~T2	24	70.8% (17/24)	17.257	<0.01
T3~T4	21	9.5% (2/21)		
颈淋巴结转移				
N0	18	55.6% (10/18)	2.186	>0.05
N1~3	27	33.3% (9/27)		
临床分期				
I~II	19	89.5% (17/19)	30.097	<0.01
III~IV	26	7.7% (2/26)		
分型				
I	9	44.4% (4/9)	0.228	>0.05
II	20	45.0% (9/20)		
III	16	37.5% (6/16)		

的Chibby基因后发现,47例小儿室管膜瘤患者中,有39例患儿染色体22q12-q13区域的存在Chibby基因丢失,均表明Chibby mRNA在肿瘤中表达降低。其次采用了免疫组织化学方法检测Chibby蛋白在鼻咽癌组织中的表达,Chibby蛋白在鼻咽癌组织中阳性表达率是42.2% (19/45),在正常鼻咽部的黏膜中阳性表达率是91.1% (41/45),73.3% (33/45)例患者鼻咽癌组织中Chibby蛋白表达降低。因此无论是mRNA水平,还是蛋白水平,均表明Chibby在鼻咽癌中的表达明显降低,但关于Chibby在肿瘤中表达降低的原因,目前尚未完全明了。学者们通过对肾母性细胞瘤组织中全长Chibby mRNA序列分析未发现任何序列突变<sup>[12]</sup>。学者们也对结肠癌组织中全长Chibby mRNA序列进行了分析,36例患者中有11例患者Chibby基因C22orf2区域存在杂合性丢失。另外,部分Chibby基因启动子发生异常甲基化<sup>[4, 6]</sup>。因此,Chibby在鼻咽癌组织中表达降低的原因有待进一步的研究。

我们进一步从基因及蛋白水平分析了鼻咽癌组织中Chibby低表达与患者不同临床病理因素间的关系。结果表明,鼻咽癌组织中Chibby mRNA及蛋白的低表达与肿瘤的T分级及临床分期相关,未发现Chibby的低表达与患者性别、年龄、是否发生颈部淋巴结转移及分型存在相关关系,提示Chibby可能参与了鼻咽癌的发生过程。学者们研究发现不同生物学行为的肾母细胞瘤患者间,Chibby mRNA的表达均无差异<sup>[12]</sup>。随后Schuierer等<sup>[4]</sup>的研究也得到了同样的结论。因此,Chibby在肿瘤发生发展中的具体作用及其机制有待进一步的研究。

综上所述, 本研究首次发现, 与癌旁正常鼻咽黏膜比较, 鼻咽癌组织中Chibby mRNA及蛋白表达均降低, 鼻咽癌组织中Chibby的低表达与肿瘤T分期及临床分期相

关, 未发现其低表达与患者性别、年龄、颈淋巴结转移及WHO分型相关, Chibby可能参与了鼻咽癌的发生过程, 有望成为鼻咽癌基因治疗新的作用靶点。

#### 参考文献

1. Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8: 387-398.
2. Takemaru K, Yamaguchi S, Lee YS, et al. Chibby, a nuclear beta-catenin associated antagonist of the Wnt/Wingless pathway. *Nature*, 2003, 422: 905-909.
3. Li FQ, Mofunanya A, Harris K, et al. Chibby cooperates with 14-3-3 to regulate beta-catenin subcellular distribution and signaling activity. *J Cell Biol*, 2008, 181: 1141-1154.
4. Schuierer MM, Graf E, Takemaru K, et al. Reduced expression of beta-catenin inhibitor Chibby in colon carcinoma cell lines. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 1529-1535.
5. Karakoula K, Suarez-Merino B, Ward S, et al. Real-time quantitative PCR analysis of pediatric ependymomas identifies novel candidate genes including TPR at 1q25 and CHIBBY at 22q12-q13. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47: 1005-1022.
6. Gad S, Teboul D, Lièvre A, et al. Is the gene encoding Chibby implicated as a tumour suppressor in colorectal cancer? *BMC Cancer*, 2004, 4: 31.
7. Mattern J, Koomägi R, Volm M. Biological characterization of subgroups of squamous cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 1459-1463.
8. Zeng ZY, Zhou YH, Zhang WL, et al. Gene expression profiling of nasopharyngeal carcinoma reveals the abnormally regulated Wnt signaling pathway. *Hum Pathol*, 2007, 38: 120-133.
9. Shi W, Bastianutto C, Li A, et al. Multiple dysregulated pathways in nasopharyngeal carcinoma revealed by gene expression profiling. *Cancer*, 2006, 119: 2467-2475.
10. Chen HC, Chen GH, Chen YH, et al. MicroRNA deregulation and pathway alterations in nasopharyngeal carcinoma. *Br J Cancer*, 2009, 100: 1002-1011.
11. Xing Y, Takemaru K, Liu J, et al. Crystal structure of a full-length beta-catenin. *Structure*, 2008, 16: 478-487.
12. Zirn B, Wittmann S, Graf N, et al. Chibby, a novel antagonist of the Wnt pathway, is not involved in Wilms tumor development. *Cancer Lett*, 2005, 220: 115-120.

(收稿日期: 2012-04-18)

编辑 卢曦

消息

## 《中国医学文摘耳鼻咽喉科学》2013年征订启事

《中国医学文摘耳鼻咽喉科学》由中华人民共和国卫生部主管, 中国医疗保健国际交流促进会主办, 是中国医师协会耳鼻咽喉科医师分会官方杂志, 在保持期刊原有检索性质的同时, 本刊更注重对本学科新闻、信息、研究进展的报道, 设有专题论坛、人物访谈、学科巡礼、临床前沿、研究聚焦、图片新闻、学者风采、摘要与导读、新书介绍、会议与学习班等栏目, 内容更加充实, 可读性及实用性强, 便于读者了解国内、外本学科的最新进展和学术动态。本刊邮发代号: 82-397, 双月刊, 每期定价为10.00元, 全年价60.00元, 欢迎广大读者踊跃订购。订购方式: 全国各地邮局均可订阅, 也可直接通过邮政汇款从杂志社订阅。收款人: 《中国医学文摘耳鼻咽喉科学》杂志社; 地址: 北京市朝阳区广渠路21号金海商富中心B座1415室; 邮编: 100124; 联系电话: 010-59693660-801; 联系人: 薛惠文; Email: entnews@yahoo.cn。