

MicroRNA与食管癌的研究进展

蔡晓波 李庆 郭俊明 徐进* 季林丹*

(宁波大学医学院, 宁波 315211)

摘要 我国是食管癌高发的国家, 发病人数超过全球的一半。研究者已经从流行病学、分子生物学、病理生理学和临床诊疗等多个方面对其进行了广泛的研究, 但发病机制尚不明确。最近的大量研究发现, microRNA表达水平的改变与食管癌的发生发展、诊断、治疗和预后密切相关。该文就microRNA与食管癌的关系进行综述, 帮助读者了解microRNA在该病发生过程中的重要作用, 为食管癌的综合防治提供线索。

关键词 microRNA; 食管癌; 临床

MicroRNA and Esophageal Cancer

Cai Xiaobo, Li Qing, Guo Junming, Xu Jin*, Ji Lindan*

(Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China)

Abstract The incidence of esophageal cancer is very high in China, and more than half of the global patients are Chinese. Epidemiological, biochemical, pathophysiological, and clinical studies have been performed. However, the mechanisms are still unclear. A wealth of recent studies find that the expression levels of microRNA are associated with the development, diagnosis, treatment and prognosis of esophageal cancer. To help the readers understand the importance of microRNA in the development of esophageal cancer, this review introduces current state of knowledge about the association between microRNA and esophageal cancer, and the underlying mechanisms.

Keywords microRNA; esophageal cancer; clinical

1 食管癌概述

食管癌(esophageal cancer)系指由食管鳞状上皮或腺上皮的异常增生所形成的恶性病变, 其发展一般经过上皮不典型增生、原位癌、浸润癌等阶段。食管鳞状上皮不典型增生是食管癌的重要癌前病变, 由不典型增生到癌变一般需要几年甚至十几年。食管癌的预后相对较差, 即使在发病早期手术切除病灶后, 患者的五年生存率仍低于20%^[1-2]。正因为如此, 对于吞咽不畅或有异物感的患者应尽早行胃镜检查以便发现早期食管癌或癌前病变。

食管癌是人类常见的消化道肿瘤, 发病率居全球第八位(年龄标化发病率发达国家为6.5/10万, 发展中国家为11.8/10万); 在世界癌症死亡率排序中, 食管癌位居第六(年龄标化死亡率发达国家为5.3/10万, 发展中国家为10.1/10万)^[3-4]。根据1990-1992年中国恶性肿瘤死因回顾调查结果, 我国食管癌的死亡率为17.38/10万, 占癌症死亡率的16.05%, 位于恶性肿瘤死亡率的第四位^[5]。食管癌的发病率随着年龄增长而升高, 以50~70岁年龄段最为高发^[6], 大部分患者的确诊年龄超过60岁^[3]。男性食管癌的发

收稿日期: 2013-04-09 接受日期: 2013-05-16

国家自然科学基金(批准号: 30901216)、浙江省教育厅科研基金(批准号: Y201224146)和宁波市科技创新团队(批准号: 2011B82014)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn; Tel: 0574-87609951, E-mail: jilindan@nbu.edu.cn

Received: April 9, 2013 Accepted: May 16, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.30901216), Zhejiang Provincial Education Department (Grant No.Y201224146) and the Scientific Innovation Team Project of Ningbo (Grant No.2011B82014)

*Corresponding authors. Tel: +86-574-87609603, E-mail: xujin1@nbu.edu.cn; Tel: +86-574-87609951, E-mail: jilindan@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2013-07-29 11:24 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130729.1124.001.html>

病率高于女性, 男性罹患食管癌的终生风险大约为0.8%, 而女性约为0.3%; 在中国华北地区食管癌男女发病率之比大约为1.6:1。食管癌的发生具有明显的地理分布特征(图1)——高发地区主要包括南非、

东亚和东非地区^[4]; 高发国家或地区有中国、日本、南非和美国东北部等。全世界食管癌患者的一半以上在中国, 尤其太行山一带, 如河南、河北、山东、山西和陕西省, 食管癌发病率在各种肿瘤中高居首

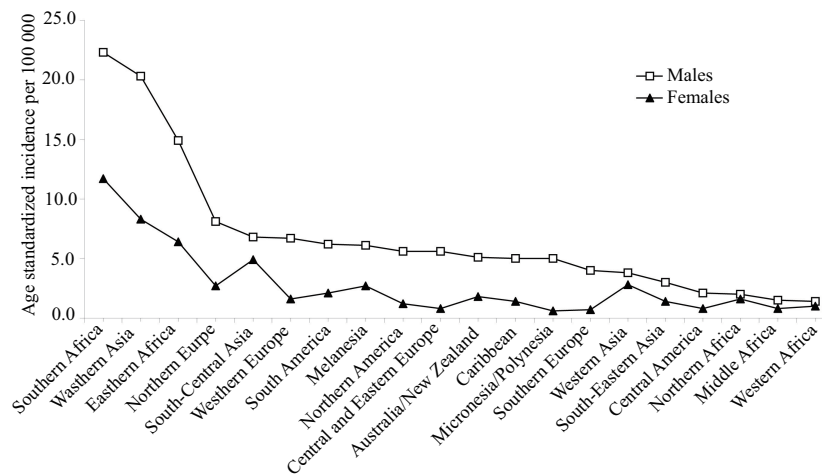


图1 不同地区食管癌年龄标准化发病率(根据参考文献[4]数据绘制)

Fig.1 Age-standardized esophageal cancer incidence by world area (data from reference [4])

位; 此外, 江苏扬中、广东南澳、福建晋江和四川北部等地也是食管癌高发的地区。

2 microRNA与食管癌的发生、发展

食管癌的具体发生、发展机制尚未完全明确, 目前的分子生物学研究主要集中在细胞凋亡相关通路及其基因上。超过50%的microRNA编码基因位于与肿瘤或在复制过程中不稳定的脆性位点相关的基因区间^[7], 提示microRNA与肿瘤的发生、发展密切相关。microRNA表达谱与肿瘤类型、预后和疗效等密切相关, 异常的microRNA也与肿瘤的发生、发展密切相关。microRNA在食管癌发生、发展过程的作用大致可以分为促生长抗凋亡与抑生长促凋亡2大类。

2.1 促进食管癌细胞增殖、进展的microRNA

2.1.1 microRNA表达谱的改变与食管癌的发生密切相关 研究发现, miR-17-92簇(miR-17-5p、miR-18a、miR-19a、miR-20a、miR-19b-1和miR-92-1)在食管鳞癌中高表达, 其中miR-19a与肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) mRNA的3'-UTR作用靶向抑制其表达从而抑制肿瘤细胞凋亡^[8]。miR-141与Yes相关蛋白1(Yes-associated protein 1, YAP1)基因的3'-UTR相互作用可以靶向抑制该基因的表达, 从而抑制肿瘤细胞凋亡^[9]。miR-34a通过抑

制c-Met和细胞周期蛋白D1(cyclin D1)表达促进食管细胞增殖, 而miR-16-2通过抑制RAR- β (2)表达促进食管细胞增殖^[10]。食管腺癌中miR-196a表达上调, 通过与膜联蛋白(annexin)A1的作用起着抗凋亡的作用, 而miR-106b-25多顺反子的激活通过抑制两个促凋亡基因p21和Bim与食管癌的进展和肿瘤细胞的增殖密切相关^[11]。

2.1.2 microRNA表达谱的改变与食管癌的组织分化密切相关 有研究发现, miR-31与miR-142-3p与食管癌的组织分化密切相关^[12]。分子机制研究证实, miR-31通过靶向抑制表皮膜蛋白1编码基因EMPI、Ras激酶抑制剂2编码基因KSR2和G-蛋白信号转导调节子4编码基因RGS4等3个肿瘤抑制基因, 与不良预后及患者的存活率密切相关^[13]。另外, miR-148a的表达水平与食管腺癌的分化程度负相关^[14]。

2.1.3 microRNA表达谱的改变与食管癌的进展以及侵袭和转移密切相关 上皮钙黏素(E-cadherin)能够抑制食管鳞癌的侵袭和转移, miR-25表达上调则能抑制上皮钙黏素的抗肿瘤作用而与食管鳞癌的淋巴结转移以及TNM分期相关^[15]。miR-92a也可以与上皮钙黏素mRNA的3'-UTR相互作用降低其表达, 与食管癌的淋巴结转移相关^[16]。miR-205可以靶向抑制上皮钙黏素的两个抑制剂(ZEB1和ZEB2), 从而调控表皮细胞的表皮-间充质转变并促进癌变; miR-

10a可以与同源基因的靶向作用来控制细胞侵袭和转移^[17]。此外, miR-21与miR-205表达升高与淋巴结转移相关, miR-143与miR-145高表达与食管癌的复发、转移相关^[18]。miR-21在食管鳞癌患者中的表达升高,与肿瘤分期及复发概率密切相关,在术后患者中miR-21的水平下降^[19]。miR-21还可以通过转录后调控降低PTEN蛋白水平,促进细胞增殖^[20]。miR-99b、miR-199a-3p与miR-199-5p^[21]、miR-205^[22]高表达与淋巴结转移相关。miR-10b可以直接抑制肿瘤抑制基因KLF4的表达而与食管癌细胞的运动和侵袭能力密切相关^[23]。

2.2 抑制食管癌细胞增殖、进展的microRNA

microRNA对食管癌的抑制作用主要是通过抑制相关癌基因或肿瘤进展相关基因的作用进行的。miR-375编码基因启动子区的高甲基将导致其表达下降,从而不能抑制下游*IGF1R*基因表达,因此与食管癌的TNM分期和远处转移密切相关^[24]。Li等^[25]发现,miR-375基因沉默也可以上调它下游的3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1(PDK-1)的表达,且在食管癌中miR-375表达与PDK1的表达存在负相关。miR-203可以在转录后水平下调内源*ΔNp63*基因的表达而抑制食管鳞癌细胞的增殖^[26]。miR-145、miR-30a-3p和miR-133a/b在食管鳞癌中起着肿瘤抑制的作用。miR-145和miR-133a/b直接与致癌基因纤维束蛋白同源物1(fascin homolog 1, FSCN1)作用而抑制肿瘤细胞的增殖与侵袭^[27]。

此外, microRNA也可以通过诱导细胞周期停滞而抑制肿瘤进展。miR-29c通过抑制细胞周期蛋白E(cyclin E)的表达诱导细胞周期停滞于G₀/G₁期,从而抑制肿瘤细胞增殖^[28]。miR-210通过靶向抑制成纤维细胞生长因子受体样因子1(FGFR1)调节癌细胞的增殖,诱导细胞死亡并使细胞周期停滞在G₀/G₁期和G₂/M期^[29]。

2.3 microRNA与食管癌相关的重要信号通路

食管上皮癌变可能是由遗传与环境因素通过影响人体细胞信号通路导致的。现有研究表明,与食管癌发生、发展有关的信号转导通路主要包括:丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、转化生长因子β(TGFβ)信号通路、JAK-STAT信号通路、核因子-κB(NF-κB)信号通路及Wnt/β-catenin信号通路^[30]。国内外多个研究小组已开始从microRNA入手分别对上述信号通路与食管癌的发生、发展及预后进

行了研究,但主要以单个microRNA为主,如:针对NF-κB信号通路设计的小干扰RNA可以通过特异性阻断该通路并下调下游细胞周期蛋白cyclin D1等蛋白表达从而抑制食管癌的进展^[31]; miR-141可以下调*SOX17*基因表达从而激活Wnt信号通路使得食管癌进展加快^[32]。近期,陈鑫等^[33]通过激活食管癌Eca-109细胞系的Wnt/β-catenin信号通路系统地研究了该通路相关的microRNA与食管癌的关联性,结果也提示该通路的功能很可能是通过调控相关microRNA,如miR-21、miR-16等的表达实现的。随着研究的深入, microRNA参与食管癌发生和发展的信号通路将得到进一步的阐释,并将为临床诊疗提供更多有效的信息。

3 microRNA与食管癌的诊断

3.1 食管癌相关的microRNA

Feber等^[34]通过对10份食管腺癌、10份食管鳞癌及9份正常食管上皮的组织样品进行microRNA芯片分析发现,食管腺癌和食管鳞癌中miR-21和miR-93的表达均上调,而miR-205和miR-203的表达均下调;另外食管腺癌中miR-194、miR-192和miR-200c的表达水平上调,食管鳞癌中miR-342的表达水平下调^[34]。Mathé等^[35]分析了100对食管腺癌及癌旁正常组织、70对食管鳞癌和癌旁正常组织,发现食管腺癌中miR-21、miR-223、miR-192和miR-194的表达上调而miR-203的表达下调,食管鳞癌中miR-21表达上调而miR-375的水平下调^[35]。Wijnhoven等^[36]研究了正常食管鳞状上皮、正常胃黏膜上皮、具有肠上皮化生的Barrett食管和食管腺癌样本,发现miR-21、miR-143、miR-145、miR-194和miR-215在柱状上皮中的表达水平较正常鳞状上皮表达上调,miR-203和miR-205在正常鳞状上皮中的表达水平要高于柱状上皮;miR-143、miR-145和miR-215在食管腺癌中的表达水平要低于Barrett食管上皮,miR-205的表达水平在胃黏膜上皮中要显著低于Barrett食管和食管腺癌上皮细胞^[36]。又有研究者发现,在食管腺癌中,所有被检测的miR-200家族成员的表达均下调;并且在高度增生细胞系中的表达水平要低于良性Barrett食管上皮细胞^[37]。因此, microRNA家族成员(miR-141、miR-200a、miR-200b、miR-200c和miR-429)的表达可能有助于Barrett食管上皮细胞的抗凋亡和增殖表型,调控这些上皮细胞的关键增生过程^[37]。上述研

究发现的microRNA标志物, 比如miR-21、miR-145、miR-200c等也在其他学者的研究者中得到重复验证, 并有更多与食管癌发生、发展相关的microRNA被发现^[9,18-20,38]。

3.2 microRNA表达谱与食管癌临床分型

Mathé等^[35]评估了食管癌组织microRNA表达谱对疾病的预测能力, 他们发现食管腺癌的microRNA表达谱在Barrett食管腺癌患者中的预测率达到77%; 食管鳞癌的microRNA表达谱在比较肿瘤与正常食管鳞状上皮时的预测率可以达到82%。Yang等^[39]对伴有低度不典型增生、高度不典型增生的Barrett食管样品、食管腺癌和正常食管鳞癌上皮样品进行分析后发现, 相对于正常食管鳞状上皮, 特异microRNA表达谱在低度不典型增生Barrett食管、高度不典型增生Barrett食管和食管腺癌中的预测率分别达到60%、90%和100%。

3.3 microRNA谱与食管癌的TNM分期

Ogawa等^[40]研究了食管鳞癌中原发肿瘤(T)、淋巴结转移(N)、血管浸润(VI)和淋巴管浸润(LI)与特异microRNA表达谱之间的关联, 发现它们分别与12种、17种、2种和2种microRNA相关。另外, Guo等^[41]也比较了microRNA表达谱与食管癌患者的首诊年龄、性别、病理类型、肿瘤分化程度, 发现有5种和2种microRNA分别与病理类型和肿瘤细胞分化程度(低、中和高分化)密切相关; 但是与食管鳞癌的2个独立风险因素(吸烟和饮酒)无关。

3.4 外周血microRNA检测与食管癌诊断

胃镜活检结合和病理检查是食管癌诊断的标准方法, 但是存在着不可避免的缺陷, 比如具有侵入性、易引起感染、导致患者的不适感、容易漏诊以及对内镜医师诊断经验的高要求等。在某种程度上, 上述缺陷也妨碍了内镜活检在大规模群体里的筛查应用^[42]。早期肿瘤诊断中内镜活检的灵敏度和特异性都比较低, 在无症状的35岁及以上人群中只有1%~2%的早期肿瘤和15%~20%的癌前病变能通过内镜活检被发现^[43]。microRNA在人体的血清和血浆中稳定存在^[44-45], microRNA具有组织特异性^[46-48], 在同一物种的不同个体之间具有相对稳定性、复现性和一致性^[49-51]。目前, 检测microRNA的高通量实验技术操作简易、可行, 成本较低、灵敏度增加^[52]。Zhang等^[53]通过Solexa测序和定量逆转录RT-PCR发现了一组由7种microRNA(miR-10a、miR-

22、miR-100、miR-148b、miR-223、miR-133a和miR-127-3p)组成的诊断I/II期食管鳞癌的生物标志物。这组microRNA的受试者操作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线下面积要远高于传统的癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的面积^[53]。因此, 依据上述研究结果, microRNA表达谱有望成为食管癌诊断的一类新的生物标志物。

4 microRNA与食管癌的治疗

4.1 食管癌化疗与多药耐药

化疗是食管癌治疗的重要方案, 通过化疗可以使患者术前的病理分期下降, 并能杀死迁移肿瘤细胞和减少术后肿瘤复发^[54]。临床上广泛应用术前新辅助化疗和术后辅助化疗, 但是患者的存活率仍旧没有得到很有效的改善。Pouliquen等^[55]学者发现, 姑息手术治疗后应用顺铂和5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)化疗与单纯肿瘤手术完全切除治疗的患者的总体存活率无显著差异。在新辅助治疗中, 患者对化疗的全程应答率较低(在19%~58%之间), 并不能显著改善患者的存活率, 反而可能具有相当大的副作用且化疗患者术后死亡率升高^[56-57]。食管癌预后较差, 部分原因可能是由于肿瘤细胞缺乏对药物的应答反应。肿瘤学家观察到食管鳞癌对抗肿瘤药物存在耐药并且可发展为多药耐药(multiple-drug resistance, MDR), 从而导致治疗失败。

Wen等^[58]在将人类食管鳞癌EC109细胞系暴露于顺铂建立了多药耐药食管鳞癌细胞系EC109/CDDP。EC109/CDDP细胞系对顺铂、卡铂、5-FU、紫杉醇、诺维、伊立替康和依托泊甘等抗肿瘤药物均存在很强的耐药性, 且该细胞系在细胞形态、肿瘤倍增时间和细胞周期分布等特征上已与原来的EC109细胞系发生了很大的改变。食管鳞癌和食管腺癌对新辅助化疗的应答率也存在较大的差异(鳞癌: 腺癌, 61%: 20%)^[59-60], 食管鳞癌对抗肿瘤药物的敏感性要高于食管腺癌(鳞癌, 74%; 腺癌, 30%)^[61]。目前, 已观察到食管癌的多药耐药现象、多药耐药基因-1(MDR-1)以及其编码的细胞膜P-糖蛋白(P-glycoprotein)三者之间存在显著关联^[58-61], 但仍需要进一步研究MDR的分子机制以发现减缓或逆转食管癌多药耐药的有效策略。

4.2 microRNA与食管癌化疗

最新研究提示, 异常表达的microRNA可能通过

调控MDR相关基因的表达从而在MDR的发生、发展中起着重要的作用^[62-63]。在食管鳞癌中, miR-27a表达下调可以显著降低凋亡抑制蛋白Bcl-2的表达以及MDR-1基因的转录和翻译, 提高促凋亡蛋白Bax的表达, 从而可以逆转治疗过程中的多药耐药现象^[64]。因此, 通过降低miR-27a表达水平可能增强食管鳞癌对抗肿瘤药物的应答性以及药物不良反应相关的肿瘤细胞凋亡^[65]。Hong等^[65]学者也发现, 降低miR-296表达也可以通过增加肿瘤细胞凋亡、减少MDR-1基因表达来促进肿瘤细胞对抗癌药物的应答。

化疗后食管癌的microRNA表达谱也发生改变。食管腺癌和食管鳞癌的2种细胞系在给予顺铂或5-FU 24 h或72 h后, 有13种microRNA在两者当中的表达均下调, 这些microRNA可能与化疗后细胞的生存密切相关^[44]。食管癌中的多药耐药现象涉及到很多耐药相关基因和细胞内信号通路, 通过重塑肿瘤细胞的microRNA表达谱可能是抗肿瘤治疗的一种比较有前景的新的策略。

5 microRNA与食管癌的预后

食管癌患者在确诊后普遍进行根除手术与化疗, 但是患者的总体预后仍比较差^[66-69]。早期诊断并制定合适的治疗方案可以更好地延长患者的生存时间。通过肿瘤预后标志物的分析可以有效地预测患者的生存和治疗效果, 并随访检测肿瘤的复发情况。目前, 学者已经提出了很多检测食管癌预后的标志物, 如细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、Her-2/Neu、活化蛋白C、转化生长因子- β (Transforming growth factor-beta, TGF- β)、结缔组织生长因子、p53、Bcl-2、NF- κ B、Cox-2、上皮钙黏素、 β -链蛋白(β -catenin)、尿激酶(uPA)、基质金属蛋白酶-1,3,7,9、金属蛋白酶组织抑制剂、Th1/Th2平衡、C-反应蛋白和甲状旁腺激素相关肽等^[70]。但是, 这些标志物缺乏特异性和敏感性, 尚不能很好地预期患者的预后情况。研究发现, 特定microRNA表达谱可以作为评估患者预后的生物标志物。Mathé等^[35]研究发现, 伴有Barrett食管的食管腺癌患者中若miR-375和miR-223低表达则患者的预后相对较差, 提示microRNA除可以用于诊断食管癌的分类和分期外, 也可以用于评估患者的预后^[35]。食管鳞癌患者的癌旁组织中若高表达miR-21、miR-146b、miR-155和

miR-181b, 癌组织中低表达miR-223则预后较差^[35]。Kurashige等^[71]确认了miR-223高表达的食管鳞癌患者其预后相对较差, 并且, 这种相关性是通过miR-223抑制相关的肿瘤抑制基因(F-box and WD repeat domain-containing 7, FBXW7)表达蛋白的功能进行的^[71]。miR-31在很多肿瘤当中的表达水平会发生改变, 在食管鳞癌中它的表达水平上调。食管鳞癌患者中若miR-31的表达升高, 则他们在无复发性生存和肿瘤特异生存中的预后相对较差^[13]。Hamano等^[38]发现, 术后化疗的食管癌患者中若miR-200c、miR-21的表达升高以及miR-145表达降低则生存期较短^[38]。Chen等^[6]也发现, 在食管鳞癌患者中miR-92a高表达, 并且miR-92a高表达与食管鳞癌的淋巴结转移情况和TNM分析显著相关, 并且高表达患者的预后较差^[6]。Ogawa等^[40]研究者发现, miR-23a、miR-26a、miR-27b、miR-96、miR-128b和miR-129高表达的食管鳞癌术后患者的预后相对较差。其中, miR-129高表达可能是术后患者预后评估的一个独立影响因素; 相反, 食管鳞癌中miR-103和miR-107低表达则患者术后的生存时间较长^[40]。因此, microRNA的表达谱可能是未来食管癌预后评估的一种新的并行之有效的生物标志物。

6 展望

我国是食管癌的高发国家, 且发病率依旧呈现快速增长的态势。食管癌的治疗手段仍为常规的手术、放疗和化疗, 因此预后较差, 手术患者术后5年生存率仅为25%, 不宜治疗性手术的患者则更低。鼓舞人心的是, 目前发现microRNA几乎参与食管癌发生发展和治疗反应的全过程。深入探索microRNA调控网络将不仅可以帮助我们明确食管癌的发病机理, 并有可能找到新的治疗方法。为此, 国外部分生物医药公司已开始系统分析microRNA的靶基因以及相互作用机制, 逐步探索microRNA用于治疗食管癌在内的消化道肿瘤的可能性。

参考文献 (References)

- 1 Sant M, Aareleid T, Berrino F, Bielska Lasota M, Carli PM, Faivre J, et al. EURO-CARE-3: Survival of cancer patients diagnosed 1990-94—results and commentary. *Ann Oncol* 2003; 14 Suppl 5: v61-118.
- 2 Fang Y, Fang D, Hu J. MicroRNA and its roles in esophageal cancer. *Med Sci Monit* 2012; 18(3): RA22-30.
- 3 Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349(23): 2241-52.

- 4 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2): 69-90.
- 5 李连弟, 鲁凤珠, 张思维. 1990-1992年中国恶性肿瘤死亡流行分布情况分析. *中华肿瘤杂志*(Li Liandi, Lu Fengzhu, Zhang Siwei. Analysis of cancer modality and distribution in China from year 1990 through 1992—an epidemiologic study. *Chinese Journal of Oncology* 1996; 18(6): 403-7.
- 6 Kollarova H, Machova L, Horakova D, Janoutova G, Janout V. Epidemiology of esophageal cancer—an overview article. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2007; 151(1): 17-20.
- 7 Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, *et al.* Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 2999-3004.
- 8 Liu M, Wang Z, Yang S, Zhang W, He S, Hu C, *et al.* TNF-alpha is a novel target of miR-19a. *Int J Oncol* 2011; 38(4): 1013-22.
- 9 Imanaka Y, Tsuchiya S, Sato F, Shimada Y, Shimizu K, Tsujimoto G. MicroRNA-141 confers resistance to cisplatin-induced apoptosis by targeting YAP1 in human esophageal squamous cell carcinoma. *J Hum Genet* 2011; 56(4): 270-6.
- 10 Hu Y, Correa AM, Hoque A, Guan B, Ye F, Huang J, *et al.* Prognostic significance of differentially expressed miRNAs in esophageal cancer. *Int J Cancer* 2011; 128(1): 132-43.
- 11 Kan T, Meltzer SJ. MicroRNAs in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9(6): 727-32.
- 12 Lin RJ, Xiao DW, Liao LD, Chen T, Xie ZF, Huang WZ, *et al.* MiR-142-3p as a potential prognostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2012; 105(2): 175-82.
- 13 Zhang T, Wang Q, Zhao D, Cui Y, Cao B, Guo L, *et al.* The oncogenic role of microRNA-31 as a potential biomarker in oesophageal squamous cell carcinoma. *Clin Sci (Lond)* 2011; 121(10): 437-47.
- 14 Hummel R, Wang T, Watson DI, Michael MZ, Van der Hoek M, Haier J, *et al.* Chemotherapy-induced modification of microRNA expression in esophageal cancer. *Oncol Rep* 2011; 26(4): 1011-7.
- 15 Xu X, Chen Z, Zhao X, Wang J, Ding D, Wang Z, *et al.* MicroRNA-25 promotes cell migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 421(4): 640-5.
- 16 Chen ZL, Zhao XH, Wang JW, Li BZ, Wang Z, Sun J, *et al.* microRNA-92a promotes lymph node metastasis of human esophageal squamous cell carcinoma via E-cadherin. *J Biol Chem* 2011; 286(12): 10725-34.
- 17 Matsushima K, Isomoto H, Kohno S, Nakao K. MicroRNAs and esophageal squamous cell carcinoma. *Digestion* 2010; 82(3): 138-44.
- 18 Akagi I, Miyashita M, Ishibashi O, Mishima T, Kikuchi K, Makino H, *et al.* Relationship between altered expression levels of MIR21, MIR143, MIR145, and MIR205 and clinicopathologic features of esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2011; 24(7): 523-30.
- 19 Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Tsujiura M, Morimura R, Nagata H, *et al.* Circulating microRNAs in plasma of patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2011; 105(1): 104-11.
- 20 Ma WJ, Lv GD, Tuersun A, Liu Q, Liu H, Zheng ST, *et al.* Role of microRNA-21 and effect on PTEN in Kazakh's esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Biol Rep* 2011; 38(5): 3253-60.
- 21 Feber A, Xi L, Pennathur A, Gooding WE, Bandla S, Wu M, *et al.* MicroRNA prognostic signature for nodal metastases and survival in esophageal adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2011; 91(5): 1523-30.
- 22 Matsushima K, Isomoto H, Yamaguchi N, Inoue N, Machida H, Nakayama T, *et al.* MiRNA-205 modulates cellular invasion and migration via regulating zinc finger E-box binding homeobox 2 expression in esophageal squamous cell carcinoma cells. *J Transl Med* 2011; 9: 30.
- 23 Tian Y, Luo A, Cai Y, Su Q, Ding F, Chen H, *et al.* MicroRNA-10b promotes migration and invasion through KLF4 in human esophageal cancer cell lines. *J Biol Chem* 2010; 285(11): 7986-94.
- 24 Kong KL, Kwong DL, Chan TH, Law SY, Chen L, Li Y, *et al.* MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like growth factor I receptor. *Gut* 2012; 61(1): 33-42.
- 25 Li X, Lin R, Li J. Epigenetic silencing of microRNA-375 regulates PDK1 expression in esophageal cancer. *Dig Dis Sci* 2011; 56(10): 2849-56.
- 26 Yuan Y, Zeng ZY, Liu XH, Gong DJ, Tao J, Cheng HZ, *et al.* MicroRNA-203 inhibits cell proliferation by repressing DeltaNp63 expression in human esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2011; 11: 57.
- 27 Kano M, Seki N, Kikkawa N, Fujimura L, Hoshino I, Akutsu Y, *et al.* miR-145, miR-133a and miR-133b: Tumor-suppressive miRNAs target FSCN1 in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 127(12): 2804-14.
- 28 Ding DP, Chen ZL, Zhao XH, Wang JW, Sun J, Wang Z, *et al.* miR-29c induces cell cycle arrest in esophageal squamous cell carcinoma by modulating cyclin E expression. *Carcinogenesis* 2011; 32(7): 1025-32.
- 29 Tsuchiya S, Fujiwara T, Sato F, Shimada Y, Tanaka E, Sakai Y, *et al.* MicroRNA-210 regulates cancer cell proliferation through targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 (FGFR1). *J Biol Chem* 2011; 286(1): 420-8.
- 30 李珊珊. 信号转导通路与食管癌. *中华病理学杂志*(Li Shanshan. Signal transduction pathways and esophageal carcinoma. *Chinese Journal of Pathology*) 2007; 36(6): 366-9.
- 31 Tian F, Zang WD, Hou WH, Liu HT, Xue LX. Nuclear factor- κ B signaling pathway constitutively activated in esophageal squamous cell carcinoma cell lines and inhibition of growth of cells by small interfering RNA. *Acta Biochim Biophys Sinica (Shanghai)* 2006; 38(5): 318-26.
- 32 Jia Y, Yang Y, Zhan Q, Brock MV, Zheng X, Yu Y, *et al.* Inhibition of SOX17 by microRNA 141 and methylation activates the WNT signaling pathway in esophageal cancer. *J Mol Diagn* 2012; 14(6): 577-85.
- 33 陈鑫, 车少敏, 易子寒, 张晓智. Wnt/ β -catenin信号通路激活诱导食管癌 Eca-109细胞miRNA表达谱的研究. *现代肿瘤医学*(Chen Xin, Che Shaomin, Yi Zihan, Zhang Xiaozhi. Wnt/ β -catenin pathway activation induce miRNAs expression in oesophageal cancer cell Eca-109. *Modern Oncology*) 2013; 21(1): 5-9.
- 34 Feber A, Xi L, Luketich JD, Pennathur A, Landreneau RJ, Wu M, *et al.* MicroRNA expression profiles of esophageal cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135(2): 255-60.
- 35 Mathe EA, Nguyen GH, Bowman ED, Zhao Y, Budhu A, Schetter AJ, *et al.* MicroRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: Associations with survival. *Clin Cancer Res* 2009; 15(19): 6192-200.
- 36 Wijnhoven BP, Hussey DJ, Watson DI, Tsykin A, Smith CM,

- Michael MZ. MicroRNA profiling of Barrett's oesophagus and oesophageal adenocarcinoma. *Br J Surg* 2010; 97(6): 853-61.
- 37 Smith CM, Watson DI, Leong MP, Mayne GC, Michael MZ, Wijnhoven BP, *et al.* miR-200 family expression is downregulated upon neoplastic progression of Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2011; 17(8): 1036-44.
- 38 Hamano R, Miyata H, Yamasaki M, Kurokawa Y, Hara J, Moon JH, *et al.* Overexpression of miR-200c induces chemoresistance in esophageal cancers mediated through activation of the Akt signaling pathway. *Clin Cancer Res* 2011; 17(9): 3029-38.
- 39 Yang H, Gu J, Wang KK, Zhang W, Xing J, Chen Z, *et al.* MicroRNA expression signatures in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2009; 15(18): 5744-52.
- 40 Ogawa R, Ishiguro H, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Katada T, *et al.* Expression profiling of micro-RNAs in human esophageal squamous cell carcinoma using RT-PCR. *Med Mol Morphol* 2009; 42(2): 102-9.
- 41 Guo Y, Chen Z, Zhang L, Zhou F, Shi S, Feng X, *et al.* Distinctive microRNA profiles relating to patient survival in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68(1): 26-33.
- 42 Zhou SL, Wang LD. Circulating microRNAs: Novel biomarkers for esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16(19): 2348-54.
- 43 Wang LD, Zhou Q, Feng CW, Liu B, Qi YJ, Zhang YR, *et al.* Intervention and follow-up on human esophageal precancerous lesions in Henan, northern China, a high-incidence area for esophageal cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 2002; 29 Suppl 1: 159-72.
- 44 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, *et al.* Characterization of microRNAs in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18(10): 997-1006.
- 45 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanian EL, *et al.* Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(30): 10513-8.
- 46 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(11): 857-66.
- 47 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(4): 259-69.
- 48 Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, *et al.* MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435(7043): 834-8.
- 49 Lo YM, Tsui NB, Chiu RW, Lau TK, Leung TN, Heung MM, *et al.* Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat Med* 2007; 13(2): 218-23.
- 50 Swarup V, Rajeswari MR. Circulating (cell-free) nucleic acids—a promising, non-invasive tool for early detection of several human diseases. *FEBS Lett* 2007; 581(5): 795-9.
- 51 Tsui NB, Ng EK, Lo YM. Stability of endogenous and added RNA in blood specimens, serum, and plasma. *Clin Chem* 2002; 48(10): 1647-53.
- 52 Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ, Zhou Z, Lee DH, Nguyen JT, *et al.* Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(20): e179.
- 53 Zhang C, Wang C, Chen X, Yang C, Li K, Wang J, *et al.* Expression profile of microRNAs in serum: A fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Chem* 2010; 56(12): 1871-9.
- 54 Campbell NP, Villaflor VM. Neoadjuvant treatment of esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16(30): 3793-803.
- 55 Poulouen X, Levard H, Hay JM, McGee K, Fingerhut A, Langlois-Zantin O. 5-Fluorouracil and cisplatin therapy after palliative surgical resection of squamous cell carcinoma of the esophagus. A multicenter randomized trial. *French Associations for Surgical Research. Ann Surg* 1996; 223(2): 127-33.
- 56 Maipang T, Vasinanukorn P, Petpichetchian C, Chamroonkul S, Geater A, Chansawwaang S, *et al.* Induction chemotherapy in the treatment of patients with carcinoma of the esophagus. *J Surg Oncol* 1994; 56(3): 191-7.
- 57 Schlag PM. Randomized trial of preoperative chemotherapy for squamous cell cancer of the esophagus. The Chirurgische Arbeitsgemeinschaft Fuer Onkologie der Deutschen Gesellschaft Fuer Chirurgie Study Group. *Arch Surg* 1992; 127(12): 1446-50.
- 58 Wen J, Zheng B, Hu Y, Zhang X, Yang H, Luo KJ, *et al.* Establishment and biological analysis of the EC109/CDDP multidrug-resistant esophageal squamous cell carcinoma cell line. *Oncol Rep* 2009; 22(1): 65-71.
- 59 Allen SM, Duffy JP, Darnton SJ, Cullen MH, Matthews HR. Phase II study of mitomycin, ifosfamide and cisplatin in adenocarcinoma of the oesophagus. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 37(5): 496-8.
- 60 Allen SM, Duffy JP, Walker SJ, Darnton SJ, Cullen MH, Matthews HR. A phase II study of mitomycin, ifosfamide and cisplatin in operable and inoperable squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 1994; 6(2): 91-5.
- 61 Darnton SJ, Jenner K, Steyn RS, Ferry DR, Matthews HR. Lack of correlation of P-glycoprotein expression with response to MIC chemotherapy in oesophageal cancer. *J Clin Pathol* 1995; 48(11): 1064-6.
- 62 Cordes KR, Srivastava D. MicroRNA regulation of cardiovascular development. *Circ Res* 2009; 104(6): 724-32.
- 63 Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, *et al.* MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49(5): 1571-82.
- 64 Zhang H, Li M, Han Y, Hong L, Gong T, Sun L, *et al.* Down-regulation of miR-27a might reverse multidrug resistance of esophageal squamous cell carcinoma. *Dig Dis Sci* 2010; 55(9): 2545-51.
- 65 Hong L, Han Y, Zhang H, Li M, Gong T, Sun L, *et al.* The prognostic and chemotherapeutic value of miR-296 in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg* 2010; 251(6): 1056-63.
- 66 Lagergren J, Lagergren P. Oesophageal cancer. *BMJ* 2010; 341: c6280.
- 67 Prasad GA, Wu TT, Wigle DA, Buttar NS, Wongkeesong LM, Dunagan KT, *et al.* Endoscopic and surgical treatment of mucosal (T1a) esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2009; 137(3): 815-23.
- 68 Rouvelas I, Zeng W, Lindblad M, Viklund P, Ye W, Lagergren J. Survival after surgery for oesophageal cancer: A population-based study. *Lancet Oncol* 2005; 6(11): 864-70.
- 69 Shaheen NJ, Sharma P, Overholt BF, Wolfsen HC, Sampliner RE, Wang KK, *et al.* Radiofrequency ablation in Barrett's esophagus with dysplasia. *N Engl J Med* 2009; 360(22): 2277-88.
- 70 Lagarde SM, ten Kate FJ, Richel DJ, Offerhaus GJ, van Lanschot JJ. Molecular prognostic factors in adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(2): 977-91.
- 71 Kurashige J, Watanabe M, Iwatsuki M, Kinoshita K, Saito S, Hiyoshi Y, *et al.* Overexpression of microRNA-223 regulates the ubiquitin ligase FBXW7 in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2012; 106(1): 182-8.