

食管癌早期诊断的分子生物学标志物

黄 潇, 戴益民

黄潇, 中国人民解放军第二军医大学长征医院临床医学院 上海市 200001
戴益民, 中国人民解放军第二军医大学长海医院病理科 上海市 200433
项目负责人: 黄潇, 200001, 上海市黄浦区汉口路 515 号汇金大厦 1906 室, 中国人民解放军第二军医大学长征医院临床医学院. sophia_xiaoer@hotmail.com
电话: 021-25070766
收稿日期: 2003-10-14 接受日期: 2004-01-15

摘要

肿瘤相关基因产物及肿瘤标志物的检测用于食管癌的早期诊断, 已显示出可喜前景. 核抗原 Ki67、P53、P21、p27、c-myc 蛋白和 Bcl-2 蛋白过量表达, cyclin D1 基因蛋白表达及 DNA 倍体的定量检测, 抑癌基因 FHIT 缺失、P16 基因点突变, 血清癌胚抗原(CEA)、鳞状上皮细胞癌相关抗原(SCC)、P53 抗体的联合检测, 微卫星不稳定性与 D3S4513、D5S2501 等标志物, iNOS, Cox-2 蛋白, TSGF, 端粒酶, Egr-1 mRNA 和蛋白, 脂肪酸合酶, TGFβ1 和 TGFβR II, 维甲酸受体 RAR β 等在食管癌的早期诊断中均不同程度的显示出自身的价值, 对食管癌早期诊断的研究有重要作用.

黄潇, 戴益民. 食管癌早期诊断的分子生物学标志物. 世界华人消化杂志 2004; 12(5):1168-1171

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1168.asp>

0 引言

我国食管癌发病率很高, 仅次于胃癌^[1]. 在我国农村, 食管癌是发病率最高的肿瘤^[2]. 现已证实食管癌早期发现手术治疗切除率可达 100%, 5a 生存率可达 90% 以上. 但目前就诊患者多数已达中、晚期, 远期疗效尚欠满意^[1]. 因此, 治疗食管癌的关键在于早期发现、早期诊断、早期治疗. 早期诊断主要依靠健康普查. 目前食管癌的普查方法主要是食管拉网细胞学检查和复方碘溶液内镜下黏膜染色检查^[3]. 其灵敏度、特异性都不理想, 因此人们十分关心肿瘤标志物的研究和开发, 寻找灵敏度高、特异性强、能早期发现的肿瘤标志物. 近年来国内外学者对有关食管癌早期诊断的分子生物学标志物作了大量有益的研究. 有些已应用于临床实践, 现将食管癌早期诊断的分子生物学标志物研究进展综述如下.

1 核抗原 Ki67 过表达与早期食管癌

Ki67 是在细胞 G₁ 中晚期、S 期、M 期、G₂ 期出现的核抗原, 其表达程度高低反映了细胞增生状态. 研究表明, Ki67 异常表达与食管癌癌变过程显著相关^[4-7]. 靳玉兰 et al^[4] 用免疫组化染色方法在正常组织中未发现 Ki67

的表达; 在轻度不典型增生的细胞中 Ki67 的阳性表达率为 40.5%, 多分布在内基底层和外基底层; 在原位癌细胞中其阳性表达率已上升到 90%, 且阳性表达 Ki67 的细胞逐渐增多并延伸到上皮的中层及浅层. Ki67 在正常黏膜中的表达与其在不典型增生及原位癌组织中的表达有显著性差异 ($P < 0.001$). 等级相关分析结果显示, Ki67 表达程度与组织学分级之间呈正相关. 提示细胞增生活性的改变在轻度不典型增生阶段就已发生, 且增生活性的改变与癌变过程相关. Ki67 表达改变的时相分布, 有可能成为在食管癌癌前人群中确立高危个体和选择重点化学预防个体的分子生物学标志.

2 基因异常表达与食管癌早期诊断

2.1 抑癌基因 P53 的异常表达 P53 异常表达与食管癌癌变过程显著相关, 并且与食管上皮的早期癌变有关^[4, 8-22]. 靳玉兰 et al^[4] 的研究表明, P53 异常表达的阳性率在正常黏膜、轻度、中度、重度不典型增生及原位癌组织中分别为 4%、39.1%、57.5%、52.9% 和 67.9%, 其中异常表达程度在中度以上者分别占 0、10.1%、24.5%、39.2% 和 48.7%. P53 在正常黏膜中的表达与其在不典型增生及原位癌组织中的表达均有显著性差异 ($P < 0.001$).

P53 突变可促使上皮细胞增生. P53 的突变在食管癌的癌变过程中起重要作用. P53 阳性细胞的分布情况与增生细胞分布相似: 轻度不典型增生中, P53 阳性细胞多在增生的基底层; 随着不典型增生程度的加重, 阳性表达 P53 的细胞逐渐增多并延伸到上皮的中层及浅层. 提示基底层细胞可能是食管癌变的最早期位点. P53 与 Ki67 的表达间有很强的正相关性 ($r = 0.5432$, $P < 0.001$), 这与 Sasano et al^[23] 的报道结果一致. 表明异常增生的细胞中有 P53 的突变, 并可作为食管癌癌前人群中筛选高危个体的标志物.

李姗姗 et al^[8] 研究提示, 在食管癌前病变期特别是良性增生阶段就存在 P53 的表达, 这可能由于损伤诱导了的细胞内野生型 P53 的表达. 所以, 不能认为所有表达 P53 的细胞都已经恶性转化.

食管黏膜内 P53 的沉积不但是食管癌早期诊断的标志物之一, 而且其可以诱发体内 P53 抗体的产生. 血清中 P53 抗体可以通过放射免疫的方法检测到, 可作为食管癌早期诊断的指标^[19-21].

2.2 癌基因 P21 的过表达 P21 是 ras 癌基因家族成员一种共同蛋白质表达产物, 在进化上具有高度保守性, 有类似 G 蛋白的作用. 已有研究表明在肺癌^[24-28]、前

列腺癌^[29]及胃肠道癌^[30-36]细胞中存在 P21 过量表达. 有学者^[9-10, 37-38]认为 P21 在食管癌前病变及癌变组织恶性程度区分过程中扮演了重要的角色. 赵振林 et al^[39]对食管石蜡切片常规 HE 染色和免疫组化染色, 用 S-P 法检测发现, 食管肿瘤分化程度越低, P21 表达的阳性率越高; RAS-P21 在正常组织中无表达, 在良性增生性病变中阳性率为 33.33%, 在食管癌组织中阳性率为 85%, 由此表明 P21 的表达水平反映食管病变的严重程度. 通过检测 RAS-P21 的表达水平, 不仅可以了解食管癌组织的分化程度, 指导临床治疗和判断预后, 而且 P21 可以作为一种可靠的标志物, 对食管癌的早期诊断具有重要价值.

2.3 细胞周期蛋白 cyclin D1 的过表达及 DNA 倍体的定量检测 左连富 et al^[40]应用流式细胞术(FCM)对 952 例样品进行了 DNA 倍体检测, 并对其中 100 例样品进行了 P16 及原癌基因 CCND1 蛋白产物 cyclin D1 蛋白表达的检测. 其中 cyclin D1 的表达在正常组为阴性, 在重度不典型增生组有 59.2% 阳性表达, $FI = 1.21 \pm 0.22$; 在食管癌组 100% 阳性表达, $FI = 1.84 \pm 0.18$; 组间差异非常显著($P < 0.001$). 对 952 例 DNA 含量及倍体分析发现, 在可疑癌变组和癌变组 DI 分别为 1.24 ± 0.14 和 1.26 ± 0.16 , 异倍体率分别为 92.9%(13/14)和 84.2%(16/19), 与正常组及轻度不典型增生组比较, 差异非常显著($P < 0.01$). 他们认为 cyclin D1 蛋白及 DNA 倍体是食管癌早期诊断的敏感指标. 牛韵韵 et al^[41]、Zuo et al^[42]、Shamma et al^[43]、刘丽萍 et al^[44]、战雪梅 et al^[45]、Kohmura et al^[46]的研究也支持上述观点.

2.4 P27 的异常表达 P27 是一种周期素依赖性蛋白激酶抑制剂, 调控细胞从 G1 期到 S 期的转变. Ohashi et al^[47]认为 P27 的表达减少与食管鳞状细胞癌的生物行为之间有关, 并且很可能在癌变的早期阶段扮演重要角色. 魏俊飞 et al^[48]报道 P27 基因表达异常在豫北地区食管鳞癌发生、发展过程中具有重要意义, 并与食管鳞癌的转移等恶性行为相关, 可用免疫组化染色, 采用 S-P 法检测, 作为食管鳞癌早期诊断和判断预后的重要分子指标.

2.5 c-myc 基因的过表达 王成裕 et al^[49]研究报告, c-myc 在食管鳞状上皮单纯增生阶段就存在过度表达, c-myc 基因的过表达可能作为食管癌癌变的原因之一, 而非癌变的结果; c-myc 表达与食管鳞状细胞癌的组织学分级有关, c-myc 基因可能在食管癌组织的分化中具有一定作用. 李淳 et al^[50]的研究支持上述观点.

2.6 凋亡相关基因 Bcl-2 的异常表达 刘丽萍 et al^[51]赵志毅 et al^[52]认为 Bcl-2 的异常表达在食管癌发生和发展中起重要作用.

3 基因突变与食管癌早期诊断

3.1 抑癌基因 FHIT 缺失 抑癌基因 FHIT 是脆性组氨酸三联体. 郭惠琴 et al^[53]应用内窥镜 Lugol's 液双重染色

活检技术^[54]发现食管癌细胞 cDNA 中 FHIT 基因缺失率为 64.2%, 在癌旁细胞中为 20%. 食管上皮高度不典型增生和 FHIT 基因在食管癌及其癌旁细胞中的缺失分别是早期食管癌诊断的病理学及分子生物学指标^[55-56], 后者也可作为食管癌切除范围的指标之一.

3.2 抑癌基因 P16 点突变 P16 是 1994 年发现的一种抑癌基因, 位于人染色体 9P21 区域, 有 3 个外显子和 2 个内含子. 其外显子编码的 P16 可与细胞周期蛋白 D 竞争性结合 CDK4, 抑制 Rb 蛋白的磷酸化, 使其不能释放延伸因子, 导致细胞分裂不能通过 G1 → S 调控点而被阻滞于 G1 晚期. P16 的任何变化都会使上述环路无限制的进行, 因而诱发癌症发生. 孙海军 et al^[57]采用 PCR-SSCP 分析测序法发现食管癌中 P16 突变位点为 12、125、373、441, 突变频率为 16%, 且突变比率与性别、年龄以及肿瘤位置、肿瘤分期、组织分化程度及有无淋巴结转移无相关性. 这对食管癌早期诊断有一定帮助. 王柏春 et al^[58]和 Kato et al^[59]的研究支持上述观点.

4 早期食管癌的微卫星不稳定性分析

食管鳞癌的发生过程与基因的不稳定性有关, 而这种不稳定性可以在肿瘤转移之前用内镜活检发现^[22, 60-62]. Lu et al^[60]认为在癌前病变中微卫星不稳定的发生频率增加, D3S4513, D5S2501, D8S1106, D9S118, D9S910, D13S1493, D13S894, D13S796, D15S655 和 D17S1303 等 10 个标志高表达, 在低度不典型增生、高度不典型增生和鳞状上皮癌中表达频率分别为 22%、33%、59%. 这 10 个标志可用于食管鳞癌的早期诊断.

5 食管癌早期诊断的血清学标志物

目前已发现可用于食管癌诊断的血清标志物有癌胚抗原(CEA)、鳞状上皮细胞癌相关抗原(SCC)和 P53 抗体等. 用放射免疫的方法检测这些标志物, 对于食管癌的早期诊断和判断术后有无转移、复发有一定的临床意义^[19, 63-65].

6 食管癌早期诊断的其他分子生物学标志物

靳玉兰 et al^[66]研究表明, 可激发的一氧化氮合酶(iNOS)可能与食管腺癌的发生有关, 而与鳞癌的发生、发展无关. van der Woude et al^[67]、Wilson^[68]支持其观点. Matsumoto et al^[17]、Tanaka et al^[69]则认为 iNOS 可能与食管鳞癌的发生有关. 王立峰 et al^[70]认为环氧合酶 2 蛋白(Cox-2 蛋白)表达可能与食管腺癌的发生有关, 而与鳞状细胞癌的发生发展无关. Wilson^[68]的研究支持其结论. Shamma et al^[71]则报告 Cox-2 蛋白表达可能与食管鳞状细胞癌的形成有关. Kase et al^[72]认为 Cox-2 在食管鳞癌早期与新血管发生和凋亡程序的启动相关. 彭世云 et al^[73]报道, 恶性肿瘤相关物质(TSGF)是与恶性肿瘤生长相关的糖类物质和代谢物的统称, 其与肿瘤的生长、转

移有密切关系,可作为检测恶性肿瘤的基础标志物与CEA、SA、Scc-Ag联合使用应用于食管癌的早期诊断。端粒酶^[7,74-79],生长早期应答基因1(Egr-1)mRNA和蛋白^[80],脂肪酸合酶^[81],肿瘤生长因子TGFβ₁及其受体TGFβ_R II^[82],维甲酸受体RARβ^[83]都在食管癌的发生中起重要作用,可望成为检测食管癌发生和早期诊断的良好指标。

总之,食管癌的早期诊断是胸外科工作者面临的重要课题,是降低食管癌死亡率、提高患者生活质量的关键所在。Ki67、P53、P21等分子生物学标志的应用为食管癌的早期诊断开辟了新的途径,具有重要价值。但是,食管癌发生的机制尚未阐明,食管癌特异性基因和抗原也尚未发现,以上众标记物的敏感性、特异性还有待提高;而且,多数标记物的检测均需内镜活检才可进行,患者检查痛苦大、费用高。尚未发现行之有效的血清学标记物,不适用于普查。所以,在早期食管癌分子生物学标志物这方面,我们还有很多工作要做,以便更好的服务于患者。

7 参考文献

- 1 吴孟超,李家顺. 外科学及野战外科学. 第1版. 上海: 第二军医大学出版社, 2002:1190
- 2 李连弟,饶克勤. 中国11市县肿瘤发病和死亡登记资料统计分析(1988年-1992年). 中国肿瘤 2000;9:435-447
- 3 蒋耀光. 食管癌的诊断及外科治疗现状. 中国胸心血管外科临床杂志 2001;8:147-149
- 4 靳玉兰,张伟,刘伯齐,王洪平,韩志楷,韩双廷,曲平,李茉,丁镇伟,林培中. 食管癌前病变及原位癌组织中Ki67、P53、iNOS的异常表达. 中华肿瘤杂志 2001;23:129-131
- 5 靳玉兰,张伟,刘伯齐,王洪平,韩志楷,金玉生,刘义,曲平,丁镇伟,王立峰,李茉,林培中. 食管原位癌及癌前病变组织中Ki67、P53蛋白异常表达的研究. 中华病理学杂志 2000;29:222-223
- 6 van Sandick JW, Baak JP, van Lanschot JJ, Polkowski W, ten Kate FJ, Obertop H, Offerhaus GJ. Computerized quantitative pathology for the grading of dysplasia in surveillance biopsies of Barrett's oesophagus. *J Pathol* 2000;190:177-183
- 7 Hiyama T, Yokozaki H, Kitadai Y, Haruma K, Yasui W, Kajiyama G, Tahara E. Overexpression of human telomerase RNA is an early event in oesophageal carcinogenesis. *Virchows Arch* 1999;434:483-487
- 8 李珊珊,杨观瑞,张聚真,孙豫,赵立群,裴宋良. P53蛋白在食管癌前疾患及食管癌组织中的表达. 河南肿瘤学杂志 2000;13:313-314
- 9 张允清,谢立. P53、P21在食管癌和鼻咽癌中的表达及意义. 河南肿瘤学杂志 2002;15:287-288
- 10 牛韵韵,高巍,张云汉,晏梅,高冬玲. P53、P21与细胞周期调节蛋白在食管癌中的表达及意义. 中国民政医学杂志 2000;12:339-341
- 11 蓝斌,李木泉,沈金辉. P53蛋白与增生细胞核抗原在食管、贲门癌中的表达及临床意义. 中国胸心血管外科临床杂志 2000;7:71-72
- 12 陶仪声,宗永生. 食管癌旁上皮及原位癌中P53蛋白的表达及意义. 临床肿瘤学杂志 2002;7:168-169
- 13 张式暖,王亚利,王艳华,吕世军,魏志新,姜红心. 食管癌及癌前病变组织中癌基因的表达. 中国现代医学杂志 2000;10:8-9
- 14 廖琼,杨霞,孙维纲,廖乘风. 食管鳞癌P53、c-erbB-2蛋白表达研究. 中国组织化学与细胞化学杂志 2000;9:175-177
- 15 Chatelain D, Flejou JF. High-grade dysplasia and superficial adenocarcinoma in Barrett's esophagus: histological mapping and expression of P53, P21 and Bcl-2 oncoproteins. *Virchows Arch* 2003;442:18-24
- 16 Sowa M, Nakata B. Genome analyses for precancerous lesions in the gastrointestinal tract. *Gan To Kagaku Ryoho* 2000;27:335-340
- 17 Matsumoto M, Furihata M, Kurabayashi A, Araki K, Sasaguri S, Ohtsuki Y. Association between inducible nitric oxide synthase expression and P53 status in human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2003;64:90-96
- 18 Chen H, Wang LD, Guo M, Gao SG, Guo HQ, Fan ZM, Li JL. Alterations of P53 and PCNA in cancer and adjacent tissues from concurrent carcinomas of the esophagus and gastric cardia in the same patient in Linzhou, a high incidence area for esophageal cancer in northern China. *World J Gastroenterol* 2003;9:16-21
- 19 毛友生,赵晓航,张德超,汪良俊. 食管癌肿瘤标志物研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:1321-1323
- 20 Shimada H, Okazumi S, Takeda A, Nabeya Y, Matsubara H, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Suzuki T, Ochiai T. Presence of serum P53 antibodies is associated with decreased in vitro hemolysis in patients with esophageal cancer. *Surg Today* 2001;31:591-596
- 21 Shimada H, Takeda A, Arima M, Okazumi S, Matsubara H, Nabeya Y, Funami Y, Hayashi H, Gunji Y, Suzuki T, Kobayashi S, Ochiai T. Serum P53 antibody is a useful tumor marker in superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2000;89:1677-1683
- 22 Fujiki T, Haraoka S, Yoshioka S, Ohshima K, Iwashita A, Kikuchi M. P53 Gene mutation and genetic instability in superficial multifocal esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2002;20:669-679
- 23 Sasano H, Miyaxaki S, Goukoun Y, Nishihira T, Sawai T, Nagura H. Expression of P53 in human esophageal carcinoma: an immunohistochemical study with correlation to proliferating cell nuclear antigen expression. *Hum Pathol* 1992;23:1238-1243
- 24 王小闯,李秀霞,孙润芹,赵世平. 细胞周期素D1和P21^{WAF1/CIP1}蛋白在肺癌组织中的表达. 西安医科大学学报 2002;23:220-222
- 25 周俊,杨文铎,袁建华. 周围型肺腺癌、鳞癌CT表现与ras P21蛋白异常表达的关系. 实用医学影像杂志 2002;3:1-3
- 26 丁续红,杨炯,张旗,彭燕,吴小军,李清泉. P21^{WAF1}、P53和PCNA在肺癌组织中的表达. 肿瘤 2001;21:363-366
- 27 丁续红,田素梅,李清泉,吴小军,杨炯,张旗. 肺癌组织P21waf1蛋白表达与细胞增生的关系. 武汉大学学报(医学版) 2001;22:14-17
- 28 丁续红,杨炯,胡苏萍,吴小军,李清泉. P53、P21waf1和增生细胞核抗原诊断肺癌的评估. 中华流行病学杂志 2001;22:54-57
- 29 杨力军,邵国兴,刘荣福,王禾,陈宝琦. 人前列腺癌中P21^{CIP1/WAF1}、Rb的表达意义. 第四军医大学学报 2001;22:1108-1110
- 30 杜少陵,黄文斌,李树仁,陈斌. P27^{KIP1}和P53及P21^{WAF1/CIP1}表达与胃癌临床病理及预后的关系. 中华胃肠外科杂志 2002;5:41-44
- 31 苏琦,谢海龙,凌晖,梁晓秋,周建国,李一琴. P21^{WAF1}基因在胃癌及癌前病变中表达的病理意义. 肿瘤防治研究 2002;29:43-45
- 32 张运贵,张钢锋,王桂荣,黄咏梅,薛强,宗传贞,姚桂芹. rasP21、GST-π在胃癌及癌前病变组织表达的研究. 临床消化病杂志 2001;13:264-266
- 33 孙哲,高鹤立. P21^{ras}、P16在大肠癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2001;9:1399-1403
- 34 王锡山,薛英威,董新舒,刘明,徐海涛,王艳颖,程慧,赵玉兰,赵家宏,刘立人. 结肠癌P21、nm23基因表达联合检测的意义. 实用肿瘤学杂志 2001;15:264-265
- 35 叶龙珍,董淑兰,杨玲芳,殷梅英,费绍华,黄照源,耿志坚,孙宏夫. 胃癌中生长抑素、P21基因蛋白的表达及意义. 青海医药杂志 2001;31:3-6
- 36 戴文斌,任占平,阮伶,陈蔚麟,石哲,唐德艳. 胃癌及癌前病变中P16、P21^{WAF1}、CDK4、cyclin D1蛋白的表达及其意义. 癌症 2001;20:1074-1077
- 37 Shirakawa Y, Naomoto Y, Kimura M, Kawashima R, Yamatsuji T, Tamaki T, Hamada M, Haisa M, Tanaka N. Topological analysis of P21WAF1/CIP1 expression in esophageal squamous dysplasia. *Clin Cancer Res* 2000;6:541-550
- 38 Hanas JS, Lerner MR, Lightfoot SA, Raczkowski C, Kastens DJ, Brackett DJ, Postier RG. Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor P21(WAF1/CIP1) and P53 tumor suppressor in dysplastic progression and adenocarcinoma in Barrett esophagus. *Cancer* 1999;86:756-763
- 39 赵振林,李家成,唐进,马捷,王子林,李华瑞. P21蛋白在食管癌及食管良性增生性病变中的表达. 山西临床医药 2002;11:329-331
- 40 左连富,林培中,齐凤英,张林西,郭建文,刘江惠. 食管癌前细胞DNA含量及多基因表达的定量检测. 中华肿瘤杂志 2002;24:30-33
- 41 牛韵韵,李靖若,高巍,张蕾,高冬玲,张云汉. 食管鳞癌组织中P16、cyclinD1、CDK4的表达. 河南医科大学学报 2001;36:539-541
- 42 Zuo L, Ling P, Qi F, Wang J, Ding Z, Guo J, Liu J. Flow

- cytometric DNA analyses of epithelial dysplasia of the esophagus. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:175-177
- 43 Shamma A, Doki Y, Shiozaki H, Tsujinaka T, Yamamoto M, Inoue M, Yano M, Monden M. Cyclin D1 overexpression in esophageal dysplasia: a possible biomarker for carcinogenesis of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2000; 16:261-266
- 44 刘丽萍, 涂响安, 赵志毅, 张明, 左连富. 食管癌 Fas、bcl-2 蛋白和 DNA 含量的流式细胞定量研究. *中国医师杂志* 2002;4:621-623
- 45 战雪梅, 王国新, 孙崇伟, 王家银, 李玲. 食管癌组织中 P16、P21、P53cyclinD1 表达及其意义. *实用癌症杂志* 2001;16:36-38
- 46 Kohmura T, Hasegawa Y, Ogawa T, Matsuura H, Takahashi M, Yanagita N, Nakashima T. Cyclin D1 and P53 overexpression predicts multiple primary malignant neoplasms of the hypopharynx and esophagus. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;125:1351-1354
- 47 Ohashi Y, Sasano H, Yamaki H, Shizawa S, Shineha R, Akaishi T, Satomi S, Nagura H. Cell cycle inhibitory protein p27 in esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1999; 19:1843-1848
- 48 魏俊飞, 许春雷, 李盛磊. p27 基因在豫北地区食管鳞癌发生发展过程中的表达及意义. *河北医学* 2002;8:677-679
- 49 王成裕, 付保进, 张云汉. 食管癌发生发展过程中 c-myc 蛋白与 GST- π 的表达. *郑州大学学报(医学版)* 2002;37:341-343
- 50 李淳, 吴名耀, 吴贤英. 食管鳞癌变过程中 c-myc 蛋白表达的研究. *汕头大学医学院学报* 2001;14:169-171
- 51 刘丽萍, 涂响安, 赵志毅, 张明, 左连富. 食管癌 bax 和 bcl-2 蛋白的定性和定量研究. *中国基层医药* 2002;9:198-199
- 52 赵志毅, 张明, 涂响安, 刘丽萍, 黄春南, 骆学全, 张文, 冼国杰. 细胞凋亡、增生、DNA 倍体和相关基因 Fas、bax 和 Bcl-2 在食管癌中的表达和临床意义. *中国肿瘤临床与康复* 2001;8:6-9
- 53 郭惠琴, 李泽坚, 张志庸, 孙成孚, 徐乐天, 李卫东, 王秀琴, 吴旻. 北京协和医院食管恶性肿瘤的外科治疗. *中国医学科学院学报* 2000;22:548-550
- 54 王国清, 周美宏, 丛庆文, 崔红海. 碘染色在早期食管癌内镜诊断中的应用. *中华医学杂志* 1995;75:417-418
- 55 Shimada Y, Sato F, Watanabe G, Yamasaki S, Kato M, Maeda M, Imamura M. Loss of fragile histidine triad gene expression is associated with progression of esophageal squamous cell carcinoma, but not with the patient's prognosis and smoking history. *Cancer* 2000;89:5-11
- 56 Mori M, Mimori K, Shiraiishi T, Alder H, Inoue H, Tanaka Y, Sugimachi K, Huebner K, Croce CM. Altered expression of Fhit in carcinoma and precarcinomatous lesions of the esophagus. *Cancer Res* 2000;60:1177-1182
- 57 孙海军, 林乐岷, 薛东波, 宋纯, 许评, 宋春芳. 上消化道恶性肿瘤中 P16 基因突变的研究. *中国肿瘤临床与康复* 2002;9:10-11
- 58 王柏春, 王胜发, 王巨, 王凯. 食管癌 P16 基因变异分析. *中国胸心血管外科临床杂志* 2000;7:35-37
- 59 Kato H, Yoshikawa M, Fukai Y, Tajima K, Masuda N, Tsukada K, Kuwano H, Nakajima T. An immunohistochemical study of P16, pRb, P21 and P53 proteins in human esophageal cancers. *Anticancer Res* 2000;20:345-349
- 60 Lu N, Hu N, Li WJ, Roth MJ, Wang C, Su H, Wang QH, Taylor PR, Dawsey SM. Microsatellite alterations in esophageal dysplasia and squamous cell carcinoma from laser capture microdissected endoscopic biopsies. *Cancer Lett* 2003;189:137-145
- 61 赵雍凡, 张军航, 陈国弟, 辛军平. 中国人原发性食管癌微卫星 DNA 序列的不稳定性研究. *中国胸心血管外科临床杂志* 2000; 7:32-34
- 62 Kagawa Y, Yoshida K, Hirai T, Toge T, Yokozaki H, Yasui W, Tahara E. Microsatellite instability in squamous cell carcinomas and dysplasias of the esophagus. *Anticancer Res* 2000; 20:213-217
- 63 Brockmann JG, St Nottberg H, Glodny B, Heinecke A, Senninger NJ. CYFRA 21-1 serum analysis in patients with esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:4249-4252
- 64 Ychou M, Khemissa-Akouf F, Kramar A, Sennesse P, Grenier J. A comparison of serum Cyfra 21-1 and SCC AG in the diagnosis of squamous cell esophageal carcinoma. *Bull Cancer* 2001;88:1023-1027
- 65 Kawaguchi H, Ohno A, Miyazake M, Hashimoto K, Egashira A, Saeki H, Watanabe M, Sugimachi K. CYFRA 21-1 determination in patients with esophageal squamous cell carcinoma: clinical utility for detection of recurrences. *Cancer* 2000;89: 1413-1417
- 66 靳玉兰, 张伟, 刘伯齐, 王洪平, 韩志楷, 王立峰, 刘义, 金玉生, 曲平, 李莱, 丁镇伟, 林培中. 食管癌及癌前病变组织中可激发的一氧化氮合成酶的表达. *中国医学科学院学报* 2000;22:570-572
- 67 van der Woude CJ, Jansen PL, Tiebosch AT, Beuving A, Homan M, Kleibeuker JH, Moshage H. Expression of apoptosis-related proteins in Barrett's metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence: a switch to a more resistant phenotype. *Hum Pathol* 2002;33:686-692
- 68 Wilson KT. Angiogenic markers, neovascularization and malignant deformation of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus* 2002;15:16-21
- 69 Tanaka H, Kijima H, Tokunaga T, Tajima T, Himeno S, Kenmochi T, Oshiba G, Kise Y, Nishi T, Chino O, Shimada H, Machimura T, Tanaka M, Makuuchi H. Frequent expression of inducible nitric oxide synthase in esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Oncol* 1999;14:1069-1073
- 70 王立峰, 张伟, 王吾如, 王洪平, 韩双廷, 曲平, 刘义, 李莱, 刘伯齐, 林培中. 食管癌发生发展过程中环氧合酶-2 蛋白表达的研究. *中华肿瘤杂志* 2001;23:14-16
- 71 Shamma A, Yamamoto H, Doki Y, Okami J, Kondo M, Fujiwara Y, Yano M, Inoue M, Matsuura N, Shiozaki H, Monden M. Up-regulation of cyclooxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2000;6:1229-1238
- 72 Kase S, Osaki M, Honjo S, Adachi H, Tsujitani S, Kaibara N, Ito H. Expression of cyclo-oxygenase-2 is correlated with high intratumoral microvessel density and low apoptotic index in human esophageal squamous cell carcinomas. *Virchows Arch* 2003;442:129-135
- 73 彭世云, 王梅, 杨虹, 宋非, 宋晓时. 恶性肿瘤相关物质的检测在肺癌及食管癌中的临床应用. *中华临床杂志* 2002;2:12-13
- 74 张蕾, 温洪涛, 张云汉, 宋一民, 李靖若, 马冰. 食管黏膜不典型增生组织中端粒酶活性的定量及定性检测. *河南医科大学学报* 2001;36:531-532
- 75 张蕾, 张云汉. 端粒、端粒酶与食管癌. *河南医科大学学报* 2001; 36:533-535
- 76 于会生, 郑国升, 孙金珍, 郜群熬, 许迎霞, 刘红凌, 李华, 任冬霞, 李素敏, 黄明周. 食管癌前病变中端粒酶的检测及意义. *世界华人消化杂志* 2003;11:342-343
- 77 李淳, 吴名耀, 梁英锐. 食管鳞癌端粒酶活性、端粒酶逆转录酶及 Bcl-X/L 表达的研究. *实用癌症杂志* 2002;17:266-268
- 78 Lord RV, Salonga D, Danenberg KD, Peters JH, DeMeester TR, Park JM, Johansson J, Skinner KA, Chandrasoma P, DeMeester SR, Bremner CG, Tsai PI, Danenberg PV. Telomerase reverse transcriptase expression is increased early in the Barrett's metaplasia, dysplasia, adenocarcinoma sequence. *J Gastrointest Surg* 2000;4:135-142
- 79 Li C, Wu M, Liang Y, Xu L, Cai W. Analysis of telomerase activity in esophageal carcinoma using microdissection telomeric repeat amplification protocol assay. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2002;82:39-42
- 80 Wu MY, Liang YR, Wu XY, Zhuang CX. Relationship between Egr-1 gene expression and apoptosis in esophageal carcinoma and precancerous lesions. *World J Gastroenterol* 2002;8:971-975
- 81 Nemoto T, Terashima S, Kogure M, Hoshino Y, Kusakabe T, Suzuki T, Gotoh M. Overexpression of fatty acid synthase in oesophageal squamous cell dysplasia and carcinoma. *Pathobiology* 2001;69:297-303
- 82 Zhou Q, Dong Wang L, Du F, Zhou Y, Rui ZY, Liu B, Wei Feng C, Gao SS, Fan ZM, Yang CS, Zheng S. Changes of TGFbeta1 and TGFbetaRII expression in esophageal precancerous and cancerous lesions: a study of a high-risk population in Henan, northern China. *Dis Esophagus* 2002;15:74-79
- 83 Zhang W, Rashid A, Wu H, Xu XC. Differential expression of retinoic acid receptors and P53 protein in normal, premalignant, and malignant esophageal tissues. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001;127:237-242