

## 食管鳞状细胞癌癌前病变的分子改变

常晨 王明荣

国家癌症中心 国家肿瘤临床医学研究中心 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院  
分子肿瘤学国家重点实验室, 北京 100021

通信作者: 王明荣, Email: wangmr2015@126.com

**【摘要】** 食管鳞状细胞癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其发生具有较典型的癌前病变阶段。目前关于标志物的研究主要集中在核酸和蛋白水平, DNA 水平包括基因组水平的遗传学改变、基因扩增、缺失、突变、断裂、融合, RNA 水平包括 mRNA、微小 RNA (miRNA)、长非编码 RNA (lncRNA) 等的表达改变, 蛋白水平包括表达水平、亚细胞定位以及翻译后的修饰等变化。鉴定早期食管鳞状细胞癌和癌前病变的分子改变, 对于探索该病早期诊断的生物标志物和早期干预靶点均具有重要的意义。

**【关键词】** 食管肿瘤; 肿瘤, 鳞状细胞; DNA; RNA; 蛋白质类; 癌前病变

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.07.009

### Molecular alterations in precancerous lesions of esophageal squamous cell carcinoma

Chang Chen, Wang Mingrong

National Cancer Center, National Clinical Research Center for Cancer, State Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

Corresponding author: Wang Mingrong, Email: wangmr2015@126.com

**【Abstract】** Esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) is one of the most predominant malignancies worldwide. ESCC develops gradually from the precancerous lesions. The researches about biomarkers mainly concentrate in the nucleic acid and protein, including cytogenetic abnormalities, amplifications, deletions, mutations, breakage and fusions of genomic DNA, expression changes of mRNA, microRNA (miRNA) and long non-coding RNA (lncRNA) in RNA level, and expression level, subcellular localization, and post-translational modifications of proteins. Studies on the molecular alterations in precancerous lesions and early cancer of the esophagus will contribute to the exploration of biomarkers for early diagnosis and intervention targets for this disease.

**【Key words】** Esophageal neoplasms; Neoplasms, squamous cell; DNA; RNA; Proteins; Precancerous lesions

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.07.009

食管癌是世界范围内常见的恶性肿瘤之一, 主要有两种组织学亚型, 分别为鳞状细胞癌和腺癌。食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 是食管癌的主要亚型, 占全世界食管癌的 70%, 而且 50% 以上发生于中国<sup>[1]</sup>。据统计, ESCC 的发病率在我国居第 6 位, 死亡率居第 4 位<sup>[2]</sup>。ESCC 由癌前病变发展为癌需要数年时间。超过 10 年的长期随访研究证实, 鳞状细胞异型增生是 ESCC 唯一的癌前病变改变<sup>[3]</sup>。针对食管癌前病变分子改变的研究主要集中在核酸和蛋白水平。

### 1 染色体和基因组 DNA 水平改变

染色体和基因组 DNA 是细胞核内载有遗传信息

的物质, 其异常改变是导致肿瘤发生的重要因素。TP53 突变作为 ESCC 中最常见的突变, 在低级别上皮内瘤变期即已发生<sup>[4]</sup>。Liu 等<sup>[5]</sup>运用全基因组、外显子以及靶向测序方法, 对入组标本包括正常对照组织、食管上皮单纯增生、异型增生以及 ESCC 组织共 227 个标本, 分析追踪了 ESCC 发展过程中各阶段的遗传学改变, 发现上皮内瘤变和 ESCC 组织在遗传学改变数量 (突变和拷贝数改变等) 以及改变特点方面差异均无统计学意义, 二者均表现出基因组不稳定的特点, 而与之不同的是单纯增生组织中存在较少的遗传学异常。进一步通过克隆以及进化树分析, 发现单纯增生可能是组织的适应性增生, 而肿瘤克隆在异型

增生阶段就已经形成。驱动早期肿瘤克隆进一步发展的分子变化,涉及 DNA 损伤修复、细胞增殖以及黏附等通路中 TP53、NOTCH1、CDKN2A、EP300 和 MLL2 的突变,CDKN2A 的功能缺失以及 CCND1、SOX2、NFE2L2 等基因的扩增,这些改变可能成为早期诊断的候选标志物。Chen 等<sup>[6]</sup>通过对来自同一患者多个部位的异型增生和浸润癌标本进行全外显子测序,绘制了食管鳞状上皮异型增生的突变图谱。同时,该研究也对非癌患者的异型增生标本进行了全外显子测序,寻找 ESCC 发生恶性转化起始的分子事件,发现来自同一患者的食管鳞状上皮异型增生组织和 ESCC 组织的突变密度均较高,轻度、重度异型增生和鳞状细胞癌组织的突变密度分别为 3.3 个/Mb、3.9 个/Mb 和 4.1 个/Mb,但来自非癌患者的异型增生标本仅为 0.13 个/Mb。多数 ESCC 相关的高频驱动性分子事件在癌前病变阶段就已经广泛存在,其中最高频的突变发生于 TP53 基因(95.6% 的异型增生与 97.8% 的浸润癌含有 TP53 突变)。异型增生含有较多的亚克隆突变,提示异型增生处于多个亚克隆共存阶段,为癌前病变在早期发展阶段应对外界环境压力提供了更多的选择。Shi 等<sup>[7]</sup>通过微阵列比较基因组杂交芯片对染色体的扩增和缺失进行检测发现,在食管异型增生组织中存在 7p11.2、11q13.2-11q13.3(CCND1)的扩增和 9p21.3(CDKN2A)的纯合子缺失。Liu 等<sup>[5]</sup>通过全基因组测序发现异型增生组织中存在 11q13.2-q13.3(CCND1)、3q26.32-q26.33(SOX2)、2q(NFE2L2)的扩增以及 9p21.3(CDKN2A)的纯合子缺失。另一高通量测序结果显示,ESCC 在癌前病变阶段就具有与肿瘤相似的基因拷贝数改变事件,而来自非肿瘤患者的异型增生组织的拷贝数改变事件较少,提示非肿瘤患者的异型增生组织在基因组层面上依然处于病变早期阶段。在所有拷贝数改变中,3q 的扩增发生在病变最早期阶段。此外,与轻度异型增生相比,浸润癌具有较多的“基因组加倍”事件,也提示在食管上皮细胞的恶性转化过程中,细胞基因组的不稳定性逐渐增强<sup>[6]</sup>。在异型增生组织中检测到的其他基因组 DNA 改变还包括肿瘤抑制基因启动子的高甲基化(CDKN2A、CLDN3、MT1G、p16INK4a、MGMT 等)、微卫星不稳定以及杂合性丢失等。

## 2 RNA 水平改变

Yang 等<sup>[8]</sup>研究结果显示,鳞状细胞癌抗原 2 mRNA 的表达与病变阶段相关,随着病变级别的升高其表达逐渐增强。Shi 等<sup>[7]</sup>通过微阵列比较基因组杂交研究发现,11q13.2-13.3 在食管异型增生和肿瘤

中均频繁扩增;通过 RT-PCR 检测发现,此扩增区段中的 CCND1、ANO1 和 FADD mRNA 在中度异型增生标本中的表达明显高于正常食管上皮,但在正常上皮与食管炎标本之间表达差异无统计学意义。Hu 等<sup>[9]</sup>应用长非编码 RNA(lncRNA)微阵列芯片对 ESCC 患者和健康对照者的血浆标本进行标志物筛选,发现 11 个表达差异的 lncRNA;随后,此研究又在 210 例健康对照者、82 例异型增生患者、205 例 ESCC 患者的标本中进行验证,发现 Linc00152、CFLAR-AS1 和 POU3F3 可能为预测癌前病变进展的潜在生物标志物。Liu 等<sup>[10]</sup>对 142 例健康对照者、92 例轻度异型增生、55 例重度异型增生和 142 例 ESCC 患者的研究发现,lncRNA BANCR 的表达与病变程度呈正相关,随着病程进展,其表达逐渐增强,BANCR 可能是一种可用于早期预警的标志物。

## 3 蛋白水平改变

由于蛋白质是基因表达的最终产物,也是细胞活性及功能的最终执行者,关注肿瘤发生发展中异常表达的蛋白,可能为肿瘤早期检测和癌前病变风险预警提供重要的候选分子标志物。

有免疫组织化学研究结果显示,前纤维蛋白 2 在正常食管上皮、癌前病变和 ESCC 中均有不同程度的表达,随着肿瘤级别的升高其表达逐渐增强<sup>[11]</sup>。Choy 等<sup>[12]</sup>发现,MCM4、MCM7 和 Ki67 这 3 种蛋白的表达强度随着异型增生级别的升高而增强。Peng 等<sup>[13]</sup>检测了正常食管上皮组织、异型增生以及 ESCC 组织中 USP9X 蛋白的表达情况,发现其在不同病理级别之间的表达差异有统计学意义,此蛋白在低级别上皮内瘤变期即有表达,随着级别的升高其表达也随之升高。另一项研究发现,在 143 个 ESCC、121 个匹配的正常切缘组织、96 个低级别异型增生和 53 个高级别异型增生标本中检测 ORAOV1 蛋白的表达,结果显示,随着病变级别升高,该蛋白的表达逐渐增强<sup>[14]</sup>。还有一些蛋白只在高级别异型增生及癌中表达,如 SLC39A6 和 PDPN 蛋白等<sup>[15-16]</sup>。

探索癌前病变向 ESCC 进展过程的长期随访队列研究较少,目前只发现了少数能预警癌前病变不同级别变化的蛋白标志物。Shang 等<sup>[17]</sup>在 ESCC 中发现了 ANO1 蛋白呈高表达,其在手术切缘组织中完全不表达,是较好的 ESCC 诊断标志物。此研究进一步在 499 例内镜活检染色异常的队列标本中检测其表达情况,发现 72 例病理学正常的上皮黏膜均呈阴性,8 例阳性异型增生的患者中有 7 例在 6~7 年后内镜随访时发现了病变进展;另一个独立队列分析显示,ANO1 的表达也与癌前病变的进展相关,75% 阳



性表达 ANO1 的上皮内瘤变患者在初次内镜检查后 4~9 年内即可发生 ESCC。除了单个蛋白以外,标志物组合也可预测食管癌前病变恶性进展。Yu 等<sup>[18]</sup>报道显示,包含 PLCE1、IKB $\alpha$  和 P53 的三者组合可以预测 ESCC 的预后,此研究还进一步在 1 922 例内镜筛查队列中的 28 例食管上皮内瘤变进展的标本中检测了该蛋白组合,结果显示此 3 种蛋白的阳性例数分别为 12、16 和 16 例,其中 8 例患者 3 种蛋白均呈阳性,包括 4 例低级别和 4 例高级别上皮内瘤变,随访 10 年发现 7 例均进展为癌,另 1 例低级别上皮内瘤变进展为高级别上皮内瘤变。这些结果表明 PLCE1、IKB $\alpha$  和 P53 三者组合有可能作为预测食管癌前病变恶性进展的标志物。

另有关于食管癌前病变患者血清蛋白标志物研究的报道。Zhang 等<sup>[19]</sup>收集了健康对照者、食管上皮单纯增生、异型增生以及 ESCC 患者的血清,检测了 3 个血清标志物 P53、CEA 和 CA19-9 的表达,发现此标志物组合的阳性率会随着病变级别的升高而升高,可鉴别高危癌前病变患者。另一项研究则关注血清中自身抗体含量在癌前的变化情况,研究选用 P53、IMP1、P16、cyclin B1、P62 和 c-myc 6 种标志物组合,发现此自身抗体组合的阳性率在 ESCC、食管癌前病变患者与正常个体中不同,随着病程的进展,阳性率也会随之升高<sup>[20]</sup>。

#### 4 其他分子改变

除了核酸和蛋白改变之外,一项肯尼亚高危人群的研究发现,食管异型增生患者血清中硒的浓度高于正常人群<sup>[21]</sup>。另一项中国林县高危人群的研究表明,血液中维生素 D 的浓度越高,异型增生的风险则越高<sup>[22]</sup>。此外,食管的黏膜表面积较大,且位于微生物种类丰富的口咽和胃之间,通过吞咽和反流作用微生物很容易进入食管中,进而定植和存活甚至引起疾病。有研究利用人体口腔微生物鉴定芯片发现,异型增生患者的食管菌群丰度降低<sup>[23]</sup>。另有研究证实,口腔菌群丰度在正常食管-食管异型增生-ESCC 中逐步降低<sup>[24]</sup>。

#### 5 结语

早期发现和早期治疗可能延长食管癌患者的生存时间。近些年随着基因组学、表观基因组学和蛋白质组学技术的不断发展,对食管癌发病机制的研究逐渐增多,发现了多个癌前病变候选分子标志物。然而,关于这些癌前病变标志物的发现,绝大多数是单中心、小样本分析的报告,尚需多中心、大样本尤其是前瞻性研究加以验证。期待更多、更有潜力的新的癌前病变标志物。相信随着研究的进一步深入,在不久

的将来一定能够筛选出最佳的可用于食管癌前预警的分子标志物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参 考 文 献

- [1] Smyth EC, Lagergren J, Fitzgerald RC, et al. Oesophageal cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17048. DOI: 10.1038/nrdp.2017.48.
- [2] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2019.01.005.
- [3] Wei WQ, Chen ZF, He YT, et al. Long-term follow-up of a community assignment, one-time endoscopic screening study of esophageal cancer in China [J]. J Clin Oncol, 2015, 33(17): 1951-1957. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.0423.
- [4] Singhi AD, Arnold CA, Lam-Himlin DM, et al. Targeted next-generation sequencing supports epidermoid metaplasia of the esophagus as a precursor to esophageal squamous neoplasia [J]. Mod Pathol, 2017, 30(11): 1613-1621. DOI: 10.1038/modpathol.2017.73.
- [5] Liu X, Zhang M, Ying S, et al. Genetic alterations in esophageal tissues from squamous dysplasia to carcinoma [J]. Gastroenterology, 2017, 153(1): 166-177. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.03.033.
- [6] Chen XX, Zhong Q, Liu Y, et al. Genomic comparison of esophageal squamous cell carcinoma and its precursor lesions by multi-region whole-exome sequencing [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 524. DOI: 10.1038/s41467-017-00650-0.
- [7] Shi ZZ, Shang L, Jiang YY, et al. Consistent and differential genetic aberrations between esophageal dysplasia and squamous cell carcinoma detected by array comparative genomic hybridization [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(21): 5867-5878. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3753.
- [8] Yang YF, Li H, Xu XQ, et al. An expression of squamous cell carcinoma antigen 2 in peripheral blood within the different stages of esophageal carcinogenesis [J]. Dis Esophagus, 2008, 21(5): 395-401. DOI: 10.1111/j.1442-2050.2007.00789.x.
- [9] Hu HB, Jie HY, Zheng XX. Three circulating lncRNA predict early progress of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(1-2): 117-125. DOI: 10.1159/000452529.
- [10] Liu Z, Yang T, Xu Z, et al. Upregulation of the long non-coding RNA BANCR correlates with tumor progression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 82: 406-412. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.05.014.
- [11] Cui XB, Zhang SM, Xu YX, et al. PFN2, a novel marker of unfavorable prognosis, is a potential therapeutic target involved in esophageal squamous cell carcinoma [J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 137. DOI: 10.1186/s12967-016-0884-y.
- [12] Choy B, LaLonde A, Que J, et al. MCM4 and MCM7, potential novel proliferation markers, significantly correlated with Ki-67, Bmi1, and cyclin E expression in esophageal adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and precancerous lesions [J]. Hum Pathol, 2016, 57: 126-135. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.07.013.
- [13] Peng J, Hu Q, Liu W, et al. USP9X expression correlates with tumor progression and poor prognosis in esophageal squamous cell

- carcinoma[J]. *Diagn Pathol*, 2013, 8; 177. DOI: 10.1186/1746-1596-8-177.
- [14] Li M, Cui X, Shen Y, et al. ORO1 overexpression in esophageal squamous cell carcinoma and esophageal dysplasia: a possible biomarker of progression and poor prognosis in esophageal carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2015, 46(5): 707-715. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.01.009.
- [15] Cui XB, Shen YY, Jin TT, et al. SLC39A6: a potential target for diagnosis and therapy of esophageal carcinoma [J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 321. DOI: 10.1186/s12967-015-0681-z.
- [16] Chen G, Xu R, Yue B, et al. The expression of podoplanin protein is a diagnostic marker to distinguish the early infiltration of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19013-19020. DOI: 10.18632/oncotarget.14596.
- [17] Shang L, Hao JJ, Zhao XK, et al. ANO1 protein as a potential biomarker for esophageal cancer prognosis and precancerous lesion development prediction [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 24374-24382. DOI: 10.18632/oncotarget.8223.
- [18] Yu J, Zheng Y, Han XP, et al. Three-gene immunohistochemical panel predicts progression and unfavorable prognosis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2018. pii: S0046-8177(18)30482-9. DOI: 10.1016/j.humpath.2018.11.027.
- [19] Zhang H, Li H, Ma Q, et al. Predicting malignant transformation of esophageal squamous cell lesions by combined biomarkers in an endoscopic screening program [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(39): 8770-8778. DOI: 10.3748/wjg.v22.i39.8770.
- [20] Zhou SL, Yue WB, Fan ZM, et al. Autoantibody detection to tumor-associated antigens of P53, IMP1, P16, cyclin B1, P62, C-myc, Survivin, and Koc for the screening of high-risk subjects and early detection of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Dis Esophagus*, 2014, 27(8): 790-797. DOI: 10.1111/dote.12145.
- [21] Pritchett NR, Burgert SL, Murphy GA, et al. Cross sectional study of serum selenium concentration and esophageal squamous dysplasia in western Kenya [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 835. DOI: 10.1186/s12885-017-3837-9.
- [22] Abnet CC, Chen W, Dawsey SM, et al. Serum 25(OH)-vitamin D concentration and risk of esophageal squamous dysplasia [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(9): 1889-1893. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0461.
- [23] Yu G, Gail MH, Shi J, et al. Association between upper digestive tract microbiota and cancer-predisposing states in the esophagus and stomach [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(5): 735-741. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0855.
- [24] Chen X, Winckler B, Lu M, et al. Oral microbiota and risk for esophageal squamous cell carcinoma in a high-risk area of China [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0143603. DOI: 10.1371/journal.pone.0143603.

(收稿日期:2019-04-25 修回日期:2019-05-07)

(本文编辑:孔春燕)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 关于一稿两投和重复发表问题的处理原则

中华医学会系列期刊作为我国重要的医学信息源期刊,原则上不接受一稿两投或重复发表的论文,读者在这些期刊上所阅读的论文基本上都是原始的、首发的,除非声明是按作者和编辑的意图重新发表的。这一立场符合中国和国际版权法、道德规范及资源使用的成本效益原则。但这一政策并不妨碍下列论文向中华医学会系列期刊投稿:①已经被其他刊物退稿的论文;②发表初步报告后再发表完整的论文,如已在其他刊物或专业学术会议的论文汇编上发表过摘要;③在专业学术会议上宣读过,但并未在其他刊物或会议汇编上全文发表或准备全文发表。因此,作者在向中华医学会系列期刊投稿时,必须就以前是否投寄过或发表过同样或类似的文稿向编辑部作充分的说明,以免造成一稿两投或重复发表。如果文稿中部分内容已经发表,作者应在新的文稿中明确指出有关内容并列出相应的参考文献,同时将以前发表的文稿寄给编辑部,以便编辑部决定如何处理新的文稿。

如果一旦出现一稿两投现象,且作者在投稿时没有作这方面的说明,编辑部将立即退稿;如果编辑部在发表前没有了解一稿两投的情况而造成重复发表,编辑部将在本刊发表有关该文稿系重复发表的声明。对于一稿两投或重复发表的情况,编辑部将向作者所在单位和该领域的其他科技期刊进行通报,同时,中华医学会系列期刊两年内将拒绝接受该论文第一作者所撰写的其他文稿。作者向中华医学会系列期刊投稿并收到编辑部回执后3个月未接到退稿,则表明该稿件仍在处理中,如果作者欲投寄其他刊物,应事先与编辑部联系并征得编辑部的同意。

本刊编辑部