

miR-196b-5p 在食管鳞癌组织中的表达及作用机制

尹周亮 张波 张健 徐建峰

【摘要】目的 探讨 miR-196b-5p 在食管鳞癌组织中的表达情况,评估 miR-196b-5p 作为食管鳞癌潜在生物标志物的可能性,并进一步分析其作用机制。**方法** 收集 2015 至 2019 年浙江省台州医院收治的病理学检查确诊为食管鳞癌的 24 例患者的癌组织及相应癌旁(距离肿瘤 ≥ 2 cm)正常组织标本。采用 qRT-PCR 法检测 miR-196b-5p 表达水平。ROC 曲线评估 miR-196b-5p 诊断食管鳞癌的效能,并收集癌症基因组图谱(TCGA)和基因表达汇编(GEO)数据进行验证。进一步比较不同临床特征食管鳞癌患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平。基于 TCGA 数据库,通过京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集方法初步分析 miR-196b-5p 的相关信号通路。**结果** qRT-PCR 检测结果、TCGA 数据库和 GEO 数据库中食管鳞癌患者癌组织 miR-196b-5p 表达水平均明显高于癌旁正常组织(均 $P < 0.01$)。miR-196b-5p 水平诊断食管鳞癌的灵敏度为 0.79,特异度为 0.92,最佳截断值为 1.542, AUC 为 0.891(95% CI: 0.767~0.962)($P < 0.01$);根据 TCGA 数据计算,灵敏度为 0.86,特异度为 0.85,最佳截断值为 5.310, AUC 为 0.832(95% CI: 0.748~0.897)($P < 0.01$);根据 GEO 数据计算,灵敏度为 0.89,特异度为 0.96,最佳截断值为 0.012, AUC 为 0.946(95% CI: 0.900~0.975)($P < 0.01$)。T₃₋₄ 期食管鳞癌患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平高于 T₁₋₂ 期食管鳞癌患者($P < 0.05$)。食管鳞癌组织 miR-196b-5p 低表达(≤ 1.898)患者 3 年生存率为 55.3%,明显高于 miR-196b-5p 高表达(> 1.898)患者的 0.0%($P < 0.05$)。KEGG 富集结果提示差异基因显著富集于有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Wnt、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)等多条通路(均 $P < 0.05$)。**结论** 食管鳞癌组织中 miR-196b-5p 表达水平明显高于癌旁正常组织,或可作为食管鳞癌筛选的潜在生物标志物。miR-196b-5p 可能通过参与调控多条信号通路,在食管鳞癌中起致癌作用。

【关键词】 miR-196b-5p 食管鳞癌 生物标志物 信号通路

Expression of miR-196b-5p in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance YIN Zhouliang, ZHANG Bo, ZHANG Jian, XU Jianfeng. Department of Emergency Medicine, Taizhou Hospital of Zhejiang Province (Taizhou Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University), Taizhou 317000, China

Corresponding author: XU Jianfeng, E-mail: 1614390824@qq.com

【Abstract】Objective To study the expression of miR-196b-5p in esophageal squamous cell carcinoma tissues and its clinical significance. **Methods** Twenty-four cancer specimens and 24 corresponding paracancerous normal tissues samples were taken from patients with esophageal squamous cell carcinoma from 2015 to 2019. The expression level of miR-196b-5p in cancer tissues and adjacent normal tissues was detected by qRT-PCR. ROC curve was used to analyze the sensitivity and specificity of miR-196b-5p for diagnosis of esophageal cancer. TCGA and GEO database data were collected for validation. The association of miR-196b-5p expression with clinicopathological features of cancer were analyzed. Based on TCGA database, the signal pathway of miR-196b-5p was analyzed by KEGG enrichment. **Results** The qRT-PCR testing and the TCGA and GEO data analysis showed that the expression level of miR-196b-5p in esophageal squamous cell carcinoma was significantly higher than that in normal tissues (all $P < 0.01$). The sensitivity of miR-196b-5p in the diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma was 0.79, specificity was 0.92, best cut-off value was 1.542, AUC was 0.891 (95% CI: 0.767~0.962)($P < 0.01$). According to TCGA data, the sensitivity was 0.86, specificity was 0.85, best cut-off value was 5.310,

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2021.43.3.2020-343

基金项目:台州市科技计划项目(162yw01);绍兴市人民医院院级青年科研基金项目(2020YB27)

作者单位:317000 浙江省台州医院(温州医科大学附属台州医院)急诊科(尹周亮),心胸外科(张波、张健);绍兴市人民医院心胸外科(徐建峰)

通信作者:徐建峰, E-mail: 1614390824@qq.com

AUC was 0.832 (95%CI: 0.748–0.897) ($P < 0.01$). According to GEO data, the sensitivity was 0.89, specificity was 0.96, best cut-off value was 0.012, AUC was 0.946 (95%CI: 0.900–0.975) ($P < 0.01$). The expression level of miR-196b-5p in cancer tissues of patients with stage T₃₋₄ was higher than that with stage T₁₋₂ ($P < 0.05$). The 3-year survival rate of patients with low expression of miR-196b-5p was significantly higher than that with low expression of miR-196b-5p ($P < 0.05$). KEGG enrichment results showed that the differential genes were significantly enriched in MAPK, Wnt, PI3K / Akt and other pathways (all $P < 0.05$).

Conclusion The expression level of miR-196b-5p is up-regulated in esophageal squamous cell carcinoma tissue, which may be used as a potential biomarker for screening esophageal squamous cell carcinoma. miR-196b-5p may play a carcinogenic role in esophageal squamous cell carcinoma by regulating multiple signaling pathways.

【Key words】 miR-196b-5p Esophageal squamous cell carcinoma Biomarker Signaling pathway

食管癌是世界第六大常见恶性肿瘤,也是癌症相关死亡的第四大常见原因^[1],其中超过 90%为食管鳞状细胞癌^[2-3]。目前食管癌患者的预后仍不理想,中位生存时间仅为 1.5 年,5 年生存率不到 10%^[4]。寻找食管癌的生物标志物和开发新的基因治疗,对降低食管癌患者死亡率具有重要意义。miRNA 作为一种转录后调控因子,可通过特异性结合靶 mRNA 减少 mRNA 翻译或降低靶 mRNA 表达^[5-7]。目前,miRNA 已被证实存在肿瘤中存在差异表达,且参与肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。研究发现,miR-196b-5p 参与某些肿瘤的发生、发展,或可作为肿瘤生物标志物^[8-9]。Shao 等^[9]发现 miR-196b-5p 在胃癌组织中高表达,且调控胃癌细胞的增殖和侵袭。另一研究显示,在胃癌患者的血清中,miR-196b-5p 同样存在高表达,且对胃癌诊断及预测淋巴结转移均具有一定的价值^[10]。然而,目前关于 miR-196b-5p 与食管癌的关系鲜有报道。基于此,本研究探讨 miR-196b-5p 在食管鳞癌组织中的表达情况,评估 miR-196b-5p 作为食管鳞癌潜在生物标志物的可能性,并进一步分析其作用机制,以期 miR-196b-5p 作为食管鳞癌生物标志物和治疗靶点提供理论支持。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2015 至 2019 年浙江省台州医院收治的病理学检查确诊为食管鳞癌的 24 例患者的癌组织及相应癌旁(距离肿瘤 ≥ 2 cm)正常组织标本,组织标本均由中心实验室规范保存。24 例食管鳞癌组织标本中男 19 例,女 5 例;年龄 < 60 岁 17 例, ≥ 60 岁 7 例;肿瘤位置:食管近段~中段 15 例,远段 9 例;T 分期:T₁₋₂ 期 12 例,T₃₋₄ 期 12 例;N 分期:N₀ 期 14 例,N_x 期 10 例。本研究经医院医学伦理委员会审批通过。

1.2 组织标本 miR-196b-5p 表达水平检测 采用 qRT-PCR 法。取适量的组织放入无酶 EP 管后上机研

磨,在研磨后的组织中加入 1 ml Trizol(美国赛默飞公司),严格按照反转录试剂盒(美国赛默飞公司)说明书要求提取总 RNA。将 2×Master Mix、50×ROX Reference Dye、引物(上海生物工程公司)、模板完全溶解,依照 PCR 试剂(上海吉玛公司)说明书配制反应体系,设置 3 个复孔进行 PCR 扩增,结果采用 2^{-ΔΔCt} 法进行相对定量分析。所有 miRNA 表达数据采用 log₂(x)进行标准化处理。miR-196b-5p 上游引物:3'-TAG-GTAGTTTCCTGTTGTTGGG-5',下游引物:3'-GCCAG-CACAGAATTAATACGAC-5';内参 U6 上游引物:3'-CTCGCTTCGGCAGCACA-5',下游引物:3'-AACGCT-TCACGAATTTGCGT-5'。

1.3 癌症基因组图谱(the cancer genome atlas,TCGA)和基因表达汇编(gene expression omnibus,GEO)数据验证 从 TCGA 数据库(<https://cancergenome.nih.gov/>)中下载食管鳞癌高通量基因测序数据和临床数据集,共 95 例食管鳞癌组织和 13 例癌旁正常组织的 miRNA 表达数据纳入本研究。所有 miRNA 表达数据采用 log₂(x)进行标准化处理。从 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中下载 GSE43732 数据集,共 115 例食管鳞癌组织和 45 例癌旁正常组织的 miRNA 表达数据纳入本研究。所有 miRNA 表达数据采用 2ⁿ 进行标准化处理。以上所有数据均来自有效信息,不包括遗失的数据。

1.4 患者分组定义 基于 24 例食管鳞癌患者的 miRNA 数据,定义癌组织中 miR-196b-5p 表达水平高于截断值的患者为高表达患者,反之定义为低表达患者,以进行后续生存分析。另基于 TCGA 完整的 RNA、miRNA 和临床数据,按食管鳞癌组织中 miR-196b-5p 表达水平从低到高对食管鳞癌患者进行排序,定义前 1/3 患者为 miR-196b-5p 低表达患者,后 1/3 患者为 miR-196b-5p 高表达患者,以进行后续差异基因的富集分析。

1.5 京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG) 富集分析 利用 R 包“limma”对 miR-196b-5p 高表达和低表达患者进行差异基因筛选,设置阈值 log 倍数变化(fold change, FC) >0.5 且错误发现率(false discovery rate, FDR) <0.1。利用 DAVID 在线生物信息分析软件(<https://david.ncifcrf.gov/>)对 miR-196b-5p 相关差异基因进行 KEGG 通路分析, $P < 0.05$ 被认为富集显著。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用 GraphPad 软件绘制 ROC 曲线;生存分析的最佳截断值来自 X-tile 软件^[11]分析结果;通过 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,预后比较采用 log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞癌患者癌组织与癌旁正常组织 miR-196b-5p 表达水平比较 qRT-PCR 检测结果、TCGA 数据库和 GEO 数据库中食管鳞癌患者癌组织 miR-196b-5p 表达水平均明显高于癌旁正常组织,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),见表 1。

2.2 miR-196b-5p 诊断食管鳞癌的效能 根据本研究 24 例食管鳞癌癌组织标本 qRT-PCR 检测结果计算,miR-196b-5p 水平诊断食管鳞癌的灵敏度为 0.79,特异度为 0.92,最佳截断值为 1.542, AUC 为 0.891 (95%CI:0.767~0.962) ($P < 0.01$);根据 TCGA 数据计算,灵敏度为 0.86,特异度为 0.85,最佳截断值为 5.310, AUC 为 0.832 (95%CI:0.748~0.897) ($P < 0.01$);根据 GEO 数据计算,灵敏度为 0.89,特异度为 0.96,最佳截断值为 0.012, AUC 为 0.946 (95%CI:0.900~0.975) ($P < 0.01$),见图 1。

2.3 不同临床特征食管鳞癌患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平比较 本研究 24 例食管鳞癌患者

中, T_{3-4} 期患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平高于 T_{1-2} 期患者,差异有统计学意义($P < 0.05$);但不同性别、年龄、肿瘤位置和 N 分期患者癌组织 miR-196b-5p 表达水平比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 2。

2.4 食管鳞癌癌组织 miR-196b-5p 高表达与低表达患者生存情况比较 X-tile 软件显示进行生存分析时 miR-196b-5p 表达水平的最佳截断值为 1.898。本研究 24 例食管鳞癌患者中,13 例 miR-196b-5p 低表达(≤ 1.898)患者 3 年生存率为 55.3%,明显高于 11 例 miR-196b-5p 高表达(> 1.898)患者的 0.0%,差异有统计学意义($\chi^2=4.412, P=0.036$),见图 2。

2.5 KEGG 富集分析 miR-196b-5p 在食管鳞癌中的信号通路 通过 R 包“limma”共筛选出 173 个差异基因,对这些差异基因进行 KEGG 富集分析显示,差异基因显著富集于有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Wnt、磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)等多条通路(均 $P < 0.05$)。前 10 项通路富集见表 3。

3 讨论

食管癌患者无论是局部转移还是远处转移,其预后通常较差。因此,早期筛选食管癌患者并进行有效的治疗对于预后具有重要意义。本研究中,笔者探讨了 miR-196b-5p 在食管鳞癌癌组织中的表达情况,并进一步分析其可能参与的信号通路。

本研究结果显示,miR-196b-5p 与食管鳞癌的发生关系密切。与癌旁正常组织相比,食管鳞癌患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平明显上调,ROC 曲线分析结果显示 miR-196b-5p 预测食管鳞癌的 AUC 值为 0.891,具备较高的灵敏度和特异度。这一结论得到 TCGA 和 GEO 数据分析结果的支持。同时,本研究结果还显示 T_{3-4} 期食管鳞癌患者癌组织中 miR-196b-5p 表达水平高于 T_{1-2} 期患者,提示 miR-196b-5p 与食管鳞癌进展有关。生存分析结果显示食管鳞癌癌组织中 miR-196b-5p 高表达患者的预后较低表达患者差。

表 1 食管鳞癌患者癌组织与癌旁正常组织 miR-196b-5p 表达水平比较

组织	qRT-PCR 检测结果	TCGA 数据库	GEO 数据库
食管鳞癌癌组织	2.02 ± 0.78($n=24$)	13.6369(6.1245, 28.3924)($n=95$)	0.0354(0.0219, 0.0545)($n=115$)
癌旁正常组织	1.00 ± 0.51($n=24$)	0.2448(0.0974, 2.2153)($n=13$)	0.0046(0.0030, 0.0064)($n=45$)
t/Z 值	5.383	-9.037	-5.050
P 值	0.000	0.000	0.000

注:TCGA 为癌症基因组图谱;GEO 为基因表达汇编

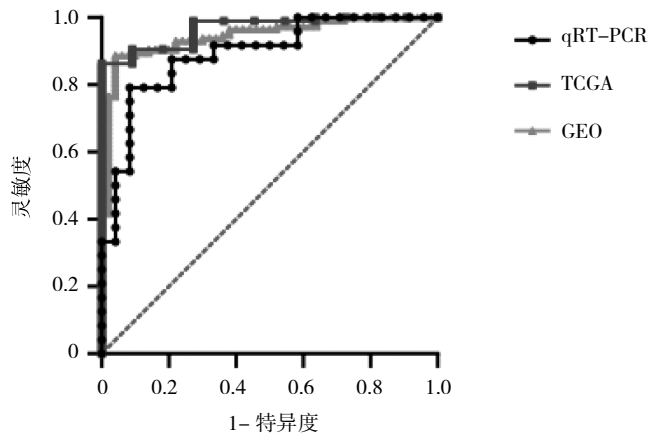


图 1 miR-196b-5p 诊断食管鳞癌的 ROC 曲线(TCGA 为癌症基因组图谱;GEO 为基因表达汇编)

表 2 不同临床特征食管鳞癌患者癌组织 miR-196b-5p 表达水平比较

临床特征	n	miR-196b-5p 表达水平	t 值	P 值
性别				
男	19	1.96 ± 0.76	-0.764	0.453
女	5	2.26 ± 0.89		
年龄				
<60 岁	17	2.16 ± 0.85	1.369	0.185
≥60 岁	7	1.69 ± 0.48		
肿瘤位置				
近段 ~ 中段	15	2.03 ± 0.79	0.077	0.939
远段	9	2.01 ± 0.81		
T 分期				
T ₁₋₂ 期	12	1.71 ± 0.46	-2.089	0.048
T ₃₋₄ 期	12	2.33 ± 0.92		
N 分期				
N ₀ 期	14	1.85 ± 0.45	-1.193	0.257
N _x 期	10	2.27 ± 1.07		

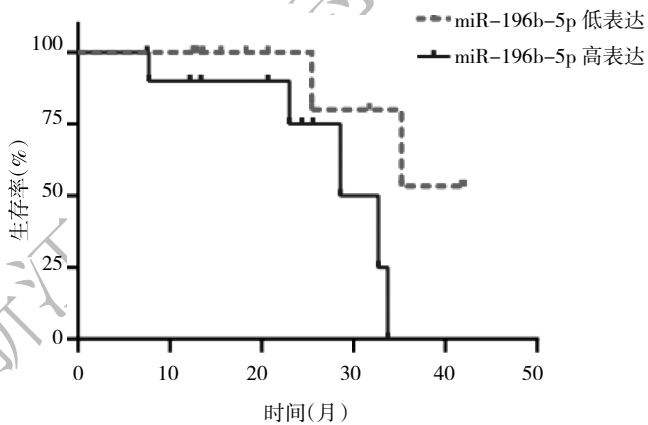


图 2 食管鳞癌组织 miR-196b-5p 高表达与低表达患者生存曲线比较

表 3 前 10 项 KEGG 通路富集结果

富集通路	基因数目	P 值	富集倍数
破骨细胞分化	7	0.0012	5.72
MAPK 信号通路	8	0.0077	3.43
肌动蛋白细胞骨架的调节	7	0.0118	3.61
甲状腺激素信号通路	5	0.0186	4.84
Wnt 信号通路	5	0.0346	3.99
PI3K/Akt 信号通路	8	0.0357	2.52
转化生长因子 β 信号通路	4	0.0385	5.27
扩张型心肌病	4	0.0421	5.09
ECM 受体相互作用	4	0.0433	5.03
细胞因子受体相互作用	6	0.0460	3.01

注:KEGG 为京都基因与基因组百科全书;MAPK 为有丝分裂活化蛋白激酶;PI3K 为磷脂酰肌醇 3-激酶;Akt 为蛋白激酶 B

另外,本研究显示 miR-196b-5p 可能通过参与 MAPK、Wnt、PI3K/Akt 等多条信号通路的调控,从而影响食管鳞癌的发生和发展。

研究显示 miR-196b-5p 在胃癌^[9]、结直肠癌^[8]、非小细胞癌^[12]和乳腺癌^[13]等多种肿瘤中表达失调。已有研究表明,miR-196b-5p 在胃癌患者癌组织和外周血清中均显著上调,可作为胃癌诊断的潜在生物标志物和淋巴结转移的预测因子,具有重要的临床价值^[9-10]。与此同时,Ren 等^[8]和 Xu 等^[14]发现 miR-196b-5p 在结直肠癌患者癌组织和外周血清中均存在高表达,在结直肠癌诊断中具有一定的临床价值,且高表达的 miR-196b-5p 与淋巴结浸润、分化程度及淋巴结转移有关。上述研究显示,miR-196b-5p 可作为某些特定肿瘤诊断的潜在生物标志物。

研究发现 miR-196b-5p 可通过调节靶基因从而调控胃癌^[9]、结直肠癌^[15]、口腔癌^[16]等多种肿瘤细胞的迁移和侵袭。尽管如此,miR-196b-5p 对信号通路的调控作用却鲜有研究。Li 等^[17]研究表明,miR-196b-5p 可通过 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路调控胃癌细胞的增殖和侵袭。PI3K/Akt 信号通路在过去被发现参与包括食管鳞癌在内的多种肿瘤细胞的凋亡、增殖和转移^[18-19]。笔者过去的一项研究表明,miR-30b-5p 可通过 PI3K/Akt 信号通路调控食管鳞癌细胞的迁移和侵袭^[20]。另外,MAPK 和 Wnt 等信号通路也被证实与食管鳞癌关系密切^[21-22]。

综上所述,miR-196b-5p 在食管鳞癌的发生中起着重要作用。食管鳞癌癌组织中 miR-196b-5p 表达水平明显高于癌旁正常组织,或可作为食管鳞癌筛选的潜在生物标志物。miR-196b-5p 可能通过参与调控多

条信号通路,在食管鳞癌发生中起致癌作用。本研究也存在一些不足,如缺少食管鳞癌患者外周血的检测以进一步明确 miR-196b-5p 作为筛选因子的潜能;信号通路方面仍需细胞、动物实验进一步验证。

4 参考文献

- [1] McGuire S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015[J]. Adv Nutr, 2016, 7(2):418-419. DOI: 10.3945/an.116.012211.
- [2] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90. DOI:10.3322/caac.21262.
- [3] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Report of cancer incidence and mortality in China, 2010[J]. Ann Transl Med, 2014, 2(7):61. DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.04.05.
- [4] Kim T, Grobmyer SR, Smith R, et al. Esophageal cancer--the five year survivors[J]. J Surg Oncol, 2011, 103(2):179-183. DOI:10.1002/jso.21784.
- [5] Li M, Zhang S, Wu N, et al. Overexpression of miR-499-5p inhibits non-small cell lung cancer proliferation and metastasis by targeting VAV3[J]. Sci Rep, 2016, 6:23100. DOI:10.1038/srep23100.
- [6] Lin C, Huang F, Li QZ, et al. miR-101 suppresses tumor proliferation and migration, and induces apoptosis by targeting EZH2 in esophageal cancer cells[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(10):6543-6550.
- [7] Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. Cell, 2005, 120(1):15-20. DOI:10.1016/j.cell.2004.12.035.
- [8] Ren D, Lin B, Zhang X, et al. Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(30):49807-49823. DOI:10.18632/oncotarget.17971.
- [9] Shao L, Chen Z, Peng D, et al. Methylation of the HOXA10 promoter directs miR-196b-5p-dependent cell proliferation and invasion of gastric cancer cells[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(4):696-706. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-17-0655.
- [10] 王文尖, 罗琼, 覃世运, 等. 三种 microRNA 在胃癌患者中的表达及临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(11):1363-1367, 1372.
- [11] Camp RL, Dolled-Filhart M, Rimm DL. X-tile: a new bio-informatics tool for biomarker assessment and outcome-based cut-point optimization[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(21):7252-7259. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-0713.
- [12] Son JW, Yu SL, Lee DC, et al. Abstract 4353: microRNA-196b induces epithelial-to-mesenchymal transition through targeting HOXA9 in non-small cell lung cancer cells[J]. Cancer Res, 2014, 74(19Supplement):4353. DOI:10.1158/1538-7445.AM2014-4353.
- [13] Marquez RT, Smith AR, Tsao B, et al. Abstract 5240: Epigenetic dysregulation of miR-196b in breast cancer[J]. Cancer Res, 2014, 74(19 Supplement):5240. DOI:10.1158/1538-7445.AM2014-5240.
- [14] Xu C, Gu L. The diagnostic effect of serum miR-196b as biomarker in colorectal cancer[J]. Biomed Rep, 2017, 6(1):39-45. DOI:10.3892/br.2016.815.
- [15] Stiegelbauer V, Vychytilova-Faltejskova P, Karbiener M, et al. MicroRNA-196b-5p regulates colorectal cancer cell migration and metastases through interaction of HOXB7 and GALNT5[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(17):5255. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-0023.
- [16] Hou YY, You JJ, Yang CM, et al. Aberrant DNA hypomethylation of miR-196b contributes to migration and invasion of oral cancer [J]. Oncol Lett, 2016, 11(6):4013-4021. DOI:10.3892/ol.2016.4491.
- [17] Li NA, Wang W, Xu B, et al. miR-196b regulates gastric cancer cell proliferation and invasion via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Oncol Lett, 2016, 11(3):1745-1749. DOI:10.3892/ol.2016.4141.
- [18] Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, et al. PI3K/Akt signalling pathway and cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2004, 30(2):200-204. DOI: 10.1016/j.ctrv.2003.07.007.
- [19] Qiao G, Shi J, Wu B, et al. MiR-214 promotes cell metastasis and inhibits apoptosis of esophageal squamous cell carcinoma via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105:350-361. DOI:10.1016/j.biopha.2018.05.149.
- [20] Xu JF, Lv HY, Zhang B, et al. miR-30b-5p acts as a tumor suppressor microRNA in esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Thorac Dis, 2019, 11: 3015-3029. DOI:10.21037/jtd.2019.07.50.
- [21] Zheng ST, Huo Q, Tuerxun A, et al. The expression and activation of ERK/MAPK pathway in human esophageal cancer cell line EC9706[J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(2):865-872. DOI:10.1007/s11033-010-0178-z.
- [22] Jia Y, Yang Y, Zhan Q, et al. Inhibition of SOX17 by microRNA 141 and methylation activates the WNT signaling pathway in esophageal cancer[J]. J Mol Diagn, 2012, 14(6):577-585. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2012.06.004.

(收稿日期:2020-02-16)

(本文编辑:陈丽)