

食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达的临床病理意义及其与上皮间质转化的关系

陈应凯, 严明, 杨清

(重庆荣昌区人民医院, 重庆 402460)

摘要: [目的] 探讨食管鳞状细胞癌组织中长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) HOTAIR 表达的临床病理意义及其与上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的关系。 [方法] 选择 2015 年 1 月至 2019 年 12 月在重庆荣昌区人民医院手术治疗的 85 例食管鳞状细胞癌患者, 收集食管鳞状细胞癌组织及对应的癌旁组织, 检测 lncRNA HOTAIR 的表达水平以及 EMT 标志基因 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、N-钙黏蛋白 (N-cadherin) 及波形蛋白 (Vimentin) 的 mRNA 表达水平及蛋白高表达率。采用 Pearson 检验及 Spearman 检验分析 lncRNA HOTAIR 与 EMT 标志基因表达的相关性。随访食管鳞状细胞癌患者的总生存期、无进展生存期, 采用 Kaplan-Meier 曲线分析 lncRNA HOTAIR 表达水平与总生存期、无进展生存期的关系。 [结果] 食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 的表达水平、N-cadherin 及 Vimentin 的 mRNA 表达水平及蛋白高表达率均高于癌旁组织 (1.58 ± 0.38 vs 1.00 ± 0.28 , 1.39 ± 0.40 vs 1.00 ± 0.29 , 1.29 ± 0.37 vs 1.00 ± 0.30 , 81.18% vs 40.00% , 68.24% vs 36.47% , P 均 < 0.001), E-cadherin 的 mRNA 表达水平及蛋白高表达率均低于癌旁组织 (0.72 ± 0.19 vs 1.00 ± 0.21 , 23.53% vs 55.29% , P 均 < 0.001)。lncRNA HOTAIR 的表达水平与 E-cadherin 的 mRNA 表达水平及蛋白高表达率呈负相关, 与 N-cadherin、Vimentin 的 mRNA 表达水平及蛋白高表达率呈正相关 ($P < 0.05$)。食管鳞状细胞癌组织中病灶最大径 > 4.5 cm、 T_3 期、 N_{1-2} 期组的 lncRNA HOTAIR 的表达水平高于病灶最大径 ≤ 4.5 cm、 T_{1-2} 期、 N_0 期组 (1.71 ± 0.49 vs 1.48 ± 0.44 , 1.67 ± 0.44 vs 1.43 ± 0.52 , 1.68 ± 0.40 vs 1.44 ± 0.54 , P 均 < 0.05)。食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达水平 $\geq$ 中位数 (1.57) 患者的总生存率、无进展生存率均较 lncRNA HOTAIR 表达水平 $<$ 中位数的患者短 (P 均 < 0.05)。 [结论] 食管鳞状细胞癌中 lncRNA HOTAIR 表达增加与病理进展、预后不良有关, 促进 EMT 可能是高表达的 lncRNA HOTAIR 参与食管鳞状细胞癌发病的相关分子机制。

主题词: 食管鳞状细胞癌; 长链非编码 RNA; HOTAIR; 上皮间质转化; 预后

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2024)02-0111-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2024.02.B004

Clinicopathological Significance of lncRNA HOTAIR Expression in Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Its Relationship with Epithelial-Mesenchymal Transition

CHEN Yingkai, YAN Ming, YANG Qing

(Rongchang District People's Hospital, Chongqing 402460)

Abstract: [Objective] To investigate the clinicopathological significance of long non-coding RNA (lncRNA) HOTAIR expression in esophageal squamous cell carcinoma and its relationship with epithelial-mesenchymal transition (EMT). [Methods] Eighty-five patients with esophageal squamous cell carcinoma who underwent surgical treatment in Chongqing Rongchang District People's Hospital from January 2015 to December 2019 were enrolled. The expression level of lncRNA HOTAIR and EMT marker genes E-cadherin, N-cadherin and Vimentin were detected in cancer tissue and corresponding adjacent tissue samples. Pearson test and Spearman test were used to analyze the correlation between lncRNA HOTAIR and EMT marker genes. The relationship of lncRNA HOTAIR expression with overall survival (OS) and progression free generation (PFS) of patients was analyzed. [Results] The expression level of lncRNA HOTAIR, the mRNA expression level and the high expression rate of N-cadherin and Vimentin in esophageal squamous cell carcinoma were higher than those in adjacent tissues (1.58 ± 0.38 vs 1.00 ± 0.28 , 1.39 ± 0.40 vs 1.00 ± 0.29 , 1.29 ± 0.37 vs 1.00 ± 0.30 , 81.18% vs 40.00% , 68.24% vs 36.47% , respectively, all $P < 0.05$), and the mRNA expression level and high expression rate of E-cadherin were lower than those in adjacent tissues (0.72 ± 0.19 vs 1.00 ± 0.21 , 23.53% vs 55.29% , all $P < 0.001$). The expression level of lncRNA HOTAIR was negatively correlated with the mRNA expression level and high expression rate of E-cadherin, and positively correlated with the mRNA expression level and high expression rate of N-cadherin and Vimentin (all $P < 0.05$). The expression level of lncRNA HOTAIR in esophageal squamous cell carcinoma with maximum diameter > 4.5 cm, T_3 stage and N_{1-2} stage were higher than those in esophageal squamous cell carcinoma with maximum diameter ≤ 4.5 cm, T_{1-2} stage and N_0 stage (1.71 ± 0.49 vs 1.48 ± 0.44 , 1.67 ± 0.44 vs 1.43 ± 0.52 , 1.68 ± 0.40 vs 1.44 ± 0.54 , all $P < 0.05$). The OS and DFS of patients with lncRNA HOTAIR expression level ≥ 1.57 (median level) in esophageal squamous cell carcinoma were shorter than those with lncRNA HOTAIR expression level < 1.57 ($P < 0.05$). [Conclusion]

通信作者: 严明, E-mail: 1297484460@qq.com

收稿日期: 2023-09-25; **修改日期:** 2023-12-18

The increased expression of lncRNA HOTAIR in esophageal squamous cell carcinoma relates to pathological progress and poor prognosis. Promoting EMT may be the molecular mechanism responsible for high expression of lncRNA HOTAIR involved in the pathogenesis of esophageal squamous cell carcinoma.

Subject words: esophageal squamous cell carcinoma; long non-coding RNA; HOTAIR; epithelial-mesenchymal transition; prognosis

食管癌是全球范围内常见的消化系统恶性肿瘤,我国是食管癌的高发国家,每年食管癌的新发病例数约占全球一半。我国食管癌的特征是发病率和死亡率居高不下,早期诊断难度大、手术后复发转移是影响患者预后、造成死亡率高的主要原因^[1-2]。鳞癌是食管癌的主要病理类型,多项研究证实癌细胞异常的上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是与食管鳞状细胞癌复发及转移密切相关的生物学环节,上皮标志基因 E-钙黏蛋白(*E-cadherin*)表达缺失与食管鳞状细胞癌发病及预后不良有关^[3-4]。因此,阐明食管鳞状细胞癌 EMT 的调控机制有助于深入认识疾病的发病机制,进而有助于寻找新的食管鳞状细胞癌诊疗靶点。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是近年备受关注的一类非编码 RNA, 具有广泛的生物学活性, 通过调控不同靶基因的表达在食管鳞状细胞癌的发病中起促癌或抑癌作用^[5-6]。lncRNA HOX 转录物反义 RNA (HOTAIR) 具有促癌作用, 尹璿等^[7] 的细胞实验研究证实稳定高表达 lncRNA HOTAIR 的食管癌细胞系具有较强的 EMT 特征, 如上皮标志基因 *E-cadherin* 的表达下调、间质标志基因波形蛋白 (*Vimentin*) 的表达上调。基于此, 本研究以 lncRNA HOTAIR 与 EMT 的相关性为切入点, 对食管鳞状细胞癌组织及癌旁组织中 lncRNA HOTAIR 进行对比, 并对食管鳞状细胞癌手术患者进行随访, 以期深入认识 lncRNA HOTAIR 在食管鳞状细胞癌发病中的作用及机制提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2015 年 1 月至 2019 年 12 月期间在重庆荣昌区人民医院进行手术治疗的食管鳞状细胞癌患

者, 留取液氮冷冻及石蜡包埋的食管鳞状细胞癌及癌旁组织样本。纳入标准: ①接受手术切除, 经术后病理确诊为食管鳞状细胞癌; ②术前未接受过放疗或其他抗肿瘤治疗; ③临床病理信息完整。排除标准: ①既往有其他恶性肿瘤病史; ②术后随访中发生失访。共纳入 85 例食管鳞状细胞癌患者, 平均年龄 (60.19 ± 11.32) 岁; 男性 52 例, 女性 33 例; 肿瘤 T₁₋₂ 期 39 例, T₃ 期 46 例; N₀ 期 26 例, N₁₋₂ 期 49 例; 低分化 51 例, 高分化 34 例。本研究获得重庆荣昌区人民医院伦理委员会批准, 取得入组患者知情同意并签署知情同意书。

1.2 试剂及仪器

动物组织总 RNA 提取试剂盒 (DP431)、lncRNA cDNA 第一链合成试剂盒、lncRNA 荧光定量检测试剂盒、cDNA 第一链合成预混试剂盒 (KR118)、荧光定量检测试剂盒 (SYBR Green, FP209) 均来自北京天根公司, 通用型免疫组化染色 SP 试剂盒来自北京中杉金桥公司, *E-cadherin*、*N-cadherin*、*Vimentin* 的一抗来自 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 荧光定量 PCR 检测 lncRNA HOTAIR 的表达

采用动物组织总 RNA 提取试剂盒对液氮冷冻的食管鳞状细胞癌组织和癌旁组织进行实验, 提取 RNA 后采用 lncRNA cDNA 第一链合成试剂盒进行反转录、合成 cDNA, 然后按照 lncRNA 荧光定量检测试剂盒配置荧光定量 PCR 反应体系: cDNA 2 μ L、lncRNA 荧光定量检测试剂盒内的预混液 10 μ L, 上游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ L, 下游引物 (10 μ mol/L) 0.4 μ L, 去离子水补足至 20.0 μ L。在 PCR 仪中进行荧光定量 PCR 反应, 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min 后 95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 15 s 并循环 40 次, 得到 PCR 循环曲线及循环阈值 (Ct), 以 β -actin 为内参基因, 以 lncRNA HOTAIR 为目的基因, 按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的表

达水平。

1.3.2 EMT 标志基因 mRNA 表达水平检测

采用动物组织总 RNA 提取试剂盒对液氮冷冻的食管鳞状细胞癌组织和癌旁组织进行实验,提取 RNA 后采用 cDNA 第一链合成预混试剂盒进行反转录,合成 cDNA,然后配置荧光定量 PCR 反应体系,按照荧光定量检测试剂盒配置荧光定量 PCR 反应体系;cDNA 2 μL,预混液 10 μL,上游引物(10 μmol/L) 0.4 μL,下游引物(10 μmol/L)0.4 μL,去离子水补足至 20.0 μL。PCR 仪中进行荧光定量 PCR 反应,95 ℃ 预变性 10 min 后 95 ℃ 5 s,60 ℃ 15 s 并循环 40 次,得到 PCR 循环曲线及循环阈值(Ct),以 β-actin 为内参基因、以 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 为目的基因,按照公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算目的基因的表达水平。

1.3.3 EMT 标志基因蛋白表达水平的检测

取石蜡包埋的食管鳞状细胞癌及癌旁组织样本,制作厚度 4 μm 的病理切片,按照 SP 法进行免疫组化染色,在显微镜下观察并由病理科 2 位主任医师进行盲法阅片,E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 均定位于细胞浆,观察染色强度及阳性细胞比例。染色强度评分如下:无染色为 0 分,浅黄色为 1 分,黄色或棕黄色为 2 分,深褐色为 3 分;阳性细胞比例评分如下:无阳性细胞为 0 分,1%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~100%为 3 分。两项得分相乘为免疫组化染色积分,≥2 分为高表达,<2 分为低表达。

1.3.4 临床病理资料的收集

收集食管鳞状细胞癌患者的临床病理资料:性别、年龄、肿瘤部位、分化程度、病灶直径、T 分期、N 分

期。参照 2002 年国际抗癌联盟 (Union for International Cancer Control,UICC)第 6 版^[8]进行 T 分期和 N 分期。

1.3.5 预后随访

随访患者的总生存期(overall survival,OS)和无进展生存期(progression-free survival,PFS),随访方式为电话回访、家访、门诊复诊等,截止日期为 2021 年 7 月 31 日。OS 定义为手术日至随访截止日期或死亡的时间,PFS 定义为手术日至发生复发或转移的时间至随访止日期时间。

1.4 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用配对样本 t 检验,相关性分析采用 Pearson 检验;计数资料以率表示,组间比较采用卡方检验,相关性分析采用 Spearman 检验。OS 和 PFS 以 Kaplan-Meier 曲线表示,组间比较采用 Log-rank 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 食管鳞状细胞癌组织及癌旁组织中 lncRNA HOTAIR 及 EMT 标志基因 mRNA 和蛋白表达水平

与癌旁组织比较,食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR、N-cadherin 及 Vimentin 的 mRNA 表达水平均明显增加,E-cadherin mRNA 的表达水平明显降低(P 均<0.05)(Table 1)。

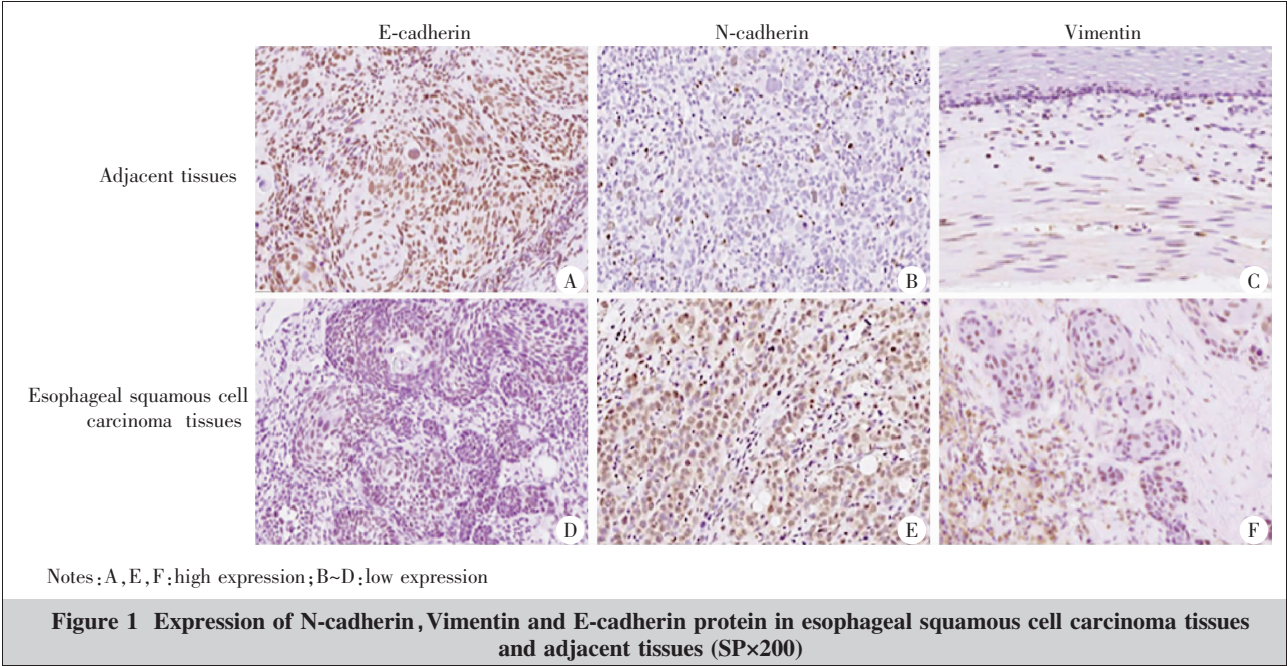
与癌旁组织比较,食管鳞状细胞癌组织中 N-

Table 1 Comparison of lncRNA HOTAIR and EMT marker gene expression levels between esophageal squamous cell carcinoma tissues and adjacent tissues

Group	N	lncRNA HOTAIR	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
Esophageal squamous cell carcinoma tissues	85	1.58±0.38	0.72±0.19	1.39±0.40	1.29±0.37
Adjacent tissues	85	1.00±0.28	1.00±0.21	1.00±0.29	1.00±0.30
<i>t</i>		11.329	9.115	7.289	5.613
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Table 2 Comparison of protein high expression rate of EMT marker gene between esophageal squamous cell carcinoma tissues and adjacent tissues[n(%)]

Group	N	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin
Esophageal squamous cell carcinoma tissues	85	20(23.53)	69(81.18)	58(68.24)
Adjacent tissues	85	47(55.29)	34(40.00)	31(36.47)
χ^2		17.958	30.177	17.191
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001



cadherin 及 Vimentin 蛋白高表达率均明显增加, E-cadherin 蛋白高表达率明显降低(P 均 <0.05)(Figure 1, Table 2)。

2.2 食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 与 EMT 标志基因表达水平的相关性

Pearson 相关性分析结果显示, lncRNA HOTAIR 表达水平与 E-cadherin mRNA 表达水平呈负相关($r=-0.477, P<0.001$), 与 N-cadherin 及 Vimentin mRNA 表达水平呈正相关($r=0.328, 0.577, P=0.022, <0.001$)(Figure 2)。

Spearman 相关性分析结果显示: lncRNA HOTAIR 表达水平与 E-cadherin 蛋白表达水平呈负相关($r=-0.448, P<0.05$), 与 N-cadherin 及 Vimentin 蛋

白表达水平的呈正相关($r=0.511, 0.619, P<0.05$)。

2.3 不同临床病理特征的食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达水平的比较

食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 的表达水平与年龄、性别、肿瘤部位、分化程度均无明显相关性($P>0.05$); 病灶最大径 >4.5 cm 的食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 的表达水平高于病灶最大径 ≤ 4.5 cm 的食管鳞状细胞癌组织, T_3 期食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 的表达水平高于 T_{1-2} 期食管鳞状细胞癌组织, N_{1-2} 期食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 的表达水平高于 N_0 期食管鳞状细胞癌组织, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$) (Table 3)。

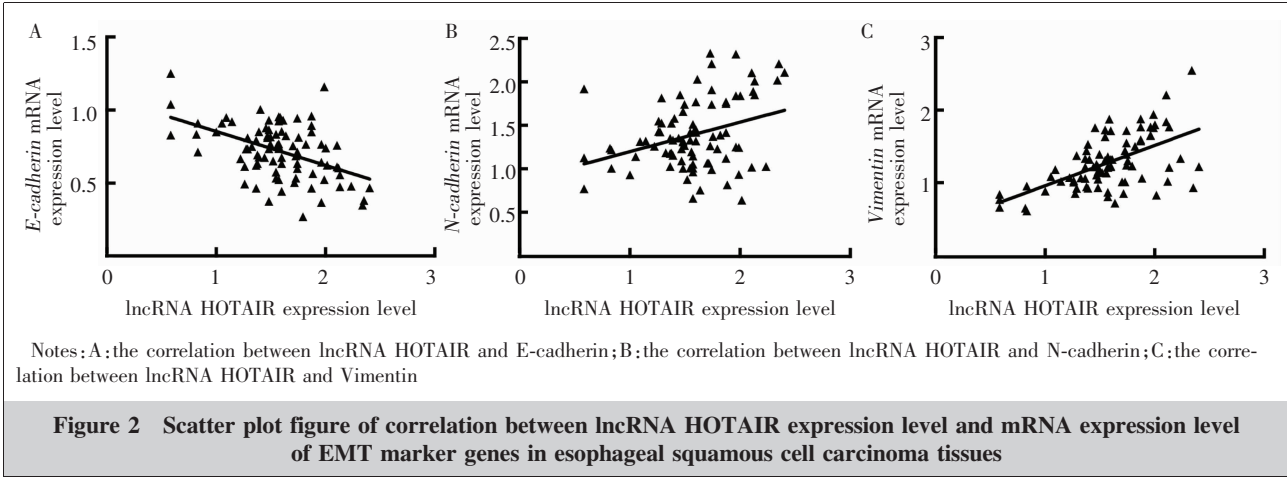


Table 3 Comparison of lncRNA HOTAIR expression levels with clinicopathological characteristics in esophageal squamous cell carcinoma tissues

Clinicopathological feature	N	lncRNA HOTAIR expression level	t/F	P
Gender				
Male	52	1.60±0.40	0.530	0.598
Female	33	1.55±0.46		
Age(years old)				
<60	38	1.54±0.48	0.703	0.484
≥60	47	1.61±0.39		
Tumor site				
Cervical segment	17	1.55±0.57	0.397	0.612
Segmenta thoracica superior	9	1.59±0.68		
Middle chest segment	43	1.62±0.41		
Segmenta thoracica inferior	16	1.56±0.65		
Maximum diameter(cm)				
≤4.5	52	1.48±0.44	2.247	0.027
>4.5	33	1.71±0.49		
Differentiation degree				
Poorly differentiation	51	1.60±0.42	0.503	0.603
well differentiation	34	1.55±0.45		
T stage				
T ₁₋₂	39	1.43±0.52	2.209	0.030
T ₃	46	1.67±0.44		
N stage				
N ₀	36	1.44±0.54	2.355	0.021
N ₁₋₂	49	1.68±0.40		

2.4 食管鳞状细胞癌组织中 lncRNA HOTAIR 表达水平与患者预后的关系

随访截止日期为 2021 年 7 月 31 日,入组患者随访时间 9~61 个月。根据食管鳞状细胞癌中 lncRNA HOTAIR 表达水平的中位数 1.57 将患者分为 lncRNA HOTAIR 表达水平≥1.57、<1.57 两组。与 lncRNA HOTAIR 表达水平<1.57 的食管鳞状细胞癌患者比较,lncRNA HOTAIR 表达水平≥1.57 患者的累积无进展生存率和总生存率均明显更低($P<0.05$)(Figure 3)。

以无进展生存率和总生存率为因变量,以肿瘤部位、肿瘤最大径、分化程度、T 分期、N 分期、lncRNA HOTAIR 表达为自变量进行 Cox 多因素分析,结果显示:N 分期、lncRNA HOTAIR 表达是无进展生存率和总生存率的独立影响因素($P<0.05$)(Table 4)。

3 讨论

食管鳞状细胞癌是最常见的食管癌

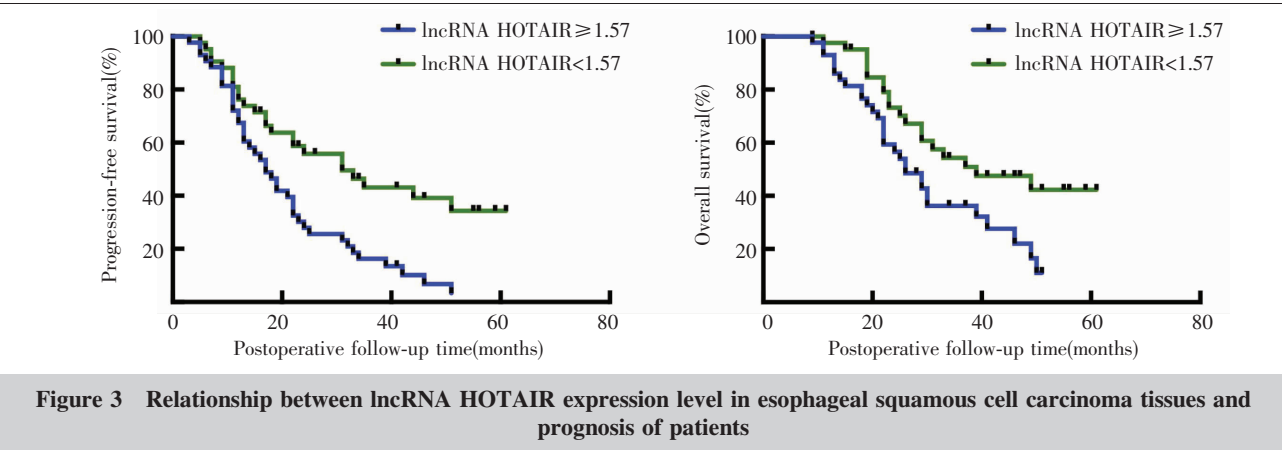


Table 4 Cox analysis of influencing factors of progression-free survival and overall survival

Variable	Progression-free survival			Overall survival		
	B	P	HR(95%CI)	B	P	HR(95%CI)
Tumor site	0.412	0.202	1.510(0.901~2.312)	0.472	0.285	1.603(0.874~2.862)
Maximum diameter	0.344	0.132	1.411(0.814~1.852)	0.361	0.141	1.438(0.843~3.551)
Differentiation degree	0.252	0.187	1.287(0.852~2.103)	0.273	0.193	1.313(0.912~3.258)
T stage	0.409	0.093	1.505(0.931~1.877)	0.441	0.101	1.554(0.945~1.471)
N stage	0.571	0.011	1.772(1.312~2.241)	0.584	0.015	1.793(1.412~2.352)
lncRNA HOTAIR	0.712	0.009	2.038(1.412~6.581)	0.725	0.007	2.065(1.501~6.193)

Notes: HR:hazard ratio, CI:confidence interval

病理类型,早期临床症状不典型、诊断难度大,多数患者确诊时已为进展期,癌细胞已发生食管肌层及纤维膜的浸润、区域淋巴结转移。虽然,通过手术切除结合辅助放化疗能够有效清除病灶、杀灭癌细胞,但受到肿瘤复发及转移等因素的影响,患者手术预后不佳,5年生存率不足50%^[1-2]。近年越来越多的学者致力于研究食管鳞状细胞癌的发病机制,旨在发现在食管鳞状细胞癌发病中起关键作用的分子,进而为食管鳞状细胞癌诊断分子标志物、靶向治疗提供依据。

EMT是恶性肿瘤细胞获得迁移、侵袭能力的重要生物学环节,其特征是细胞失去上皮特征,E-cadherin表达降低,获得间充质特征,N-cadherin及Vimentin表达增加。当发生EMT时,癌细胞从上皮层解离,细胞间黏附减弱,进而造成细胞获得较强的迁移和侵袭能力,这也被认为是恶性肿瘤发生转移的第一步^[9]。已有多项食管鳞状细胞癌相关的研究证实,食管鳞状细胞癌病灶内存在过度激活的EMT,E-cadherin的表达水平降低、N-cadherin及Vimentin的表达水平增加,且EMT标志基因表达的变化与食管鳞状细胞癌病理特征恶化、预后不良有关^[3-4,10-11]。本研究同时在mRNA水平和蛋白水平检测了EMT标志基因的表达,实验结果与既往其他学者的报道一致,即与癌旁组织比较,食管鳞状细胞癌组织中E-cadherin的mRNA表达水平及蛋白高表达率降低,N-cadherin及Vimentin的mRNA表达水平及蛋白高表达率增加。

EMT与食管鳞状细胞癌的迁移、侵袭、浸润、转移密切相关,因此阐明EMT的调控机制及关键调控分子有助于深入认识食管鳞状细胞癌的发病机制,进而有助于发现食管鳞状细胞癌新的诊疗靶点。lncRNA HOTAIR是一类具有促癌作用的lncRNA,已经被证实在结直肠癌、肺癌、甲状腺癌、乳腺癌等恶性肿瘤病灶内表达增加^[12-15]。本研究在食管鳞状细胞癌组织中检测到lncRNA HOTAIR的表达水平高于对应的癌旁组织。Wang等的基础研究证实过表达和敲低lncRNA HOTAIR分别起到促进食管鳞状细胞癌细胞迁移、侵袭和抑制食管鳞状细胞癌细胞迁移、侵袭的作用^[16-17];根据尹琰等^[7]的细胞实验结果,过表达lncRNA HOTAIR促进食管鳞状细胞癌细胞迁移、侵袭的作用与促进EMT有关。本研究在食管鳞状细胞癌组织中通过相关性分析验证了

lncRNA HOTAIR与EMT的关系,结果显示lncRNA HOTAIR与E-cadherin呈负相关,与N-cadherin及Vimentin呈正相关;进一步分析lncRNA HOTAIR与病理特征的关系可知:病灶直径、T分期及N分期增加与lncRNA HOTAIR表达增加有关,与之相关的可能分子机制是高表达的lncRNA HOTAIR促进了癌细胞的迁移和侵袭,进而造成了癌细胞的浸润及转移。

食管鳞状细胞癌的预后不佳,5年生存率不足50%^[1-2],多项EMT与食管鳞状细胞癌相关的临床队列研究证实,E-cadherin表达降低及N-cadherin、Vimentin表达增加是食管鳞状细胞癌预后不良、生存期缩短的危险因素^[3-4,10-11]。本研究证实食管鳞状细胞癌病灶中lncRNA HOTAIR表达增加与EMT有关,进一步分析lncRNA HOTAIR与预后的关系,通过随访食管鳞状细胞癌患者手术后OS和PFS可知:以lncRNA HOTAIR表达水平的中位数为界值,表达较高的患者OS及PFS均明显缩短,表明lncRNA HOTAIR表达增加与食管鳞状细胞癌手术后OS、PFS缩短有关,是造成预后不良的独立影响因素。

综上所述,食管鳞状细胞癌中lncRNA HOTAIR表达增加与病理进展、预后不良有关,促进EMT可能是高表达的lncRNA HOTAIR参与食管鳞状细胞癌发病的相关分子机制。这为今后研究食管鳞状细胞癌的发病机制、靶向治疗手段提供了新思路及新分子靶点,后续可以通过更多的细胞实验、动物实验来研究lncRNA HOTAIR对食管鳞状细胞癌生长、浸润、转移的调控作用。

参考文献:

- [1] 陈茹,郑荣寿,张思维,等. 2015年中国食管癌发病和死亡情况分析[J]. 中华预防医学杂志, 2019, 53(11): 1094-1097.
CHEN R, ZHENG R S, ZHANG S W, et al. Analysis of incidence and mortality of esophageal cancer in China, 2015[J]. Chin J Prev Med, 2019, 53(11): 1094-1097.
- [2] 陈飞,王悠清. 1990—2019年中国食管癌疾病负担及其变化趋势分析[J]. 中国肿瘤, 2021, 30(6): 401-407.
CHEN F, WANG Y Q. Disease burden and trends of esophageal cancer in China during 1990—2019[J]. China Cancer, 2021, 30(6): 401-407.
- [3] MA L, YANG R, GU J, et al. The expression of AGGF1, FOXC2, and E-cadherin in esophageal carcinoma and

- their clinical significance [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(37):e22173.
- [4] 韩少华, 万里新, 李秀敏, 等. 食管鳞癌组织中 E-cadherin 蛋白表达及对术后预后的影响 [J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2019, 54(2):182–186.
- HAN S H, WAN L X, LI X M, et al. Impact of E-cadherin protein expression in esophageal squamous cell carcinoma tissue on postoperation prognosis[J]. *Journal of Zhengzhou University(Medical Sciences)*, 2019, 54(2):182–186.
- [5] CHEN Y, ZHOU H, WANG Z, et al. Integrated analysis of ceRNA network and tumor-infiltrating immune cells in esophageal cancer[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(5):BSR20203804.
- [6] ZHANG Y, WANG H, ZHOU F, et al. Identification of crucial long non-coding RNAs and mRNAs along with related regulatory networks through microarray analysis in esophageal carcinoma[J]. *Funct Integr Genomics*, 2021, 21(3–4):377–391.
- [7] 尹璉, 吴晓伟, 樊晓武. HOTAIR 对食管癌细胞 EC109 侵袭能力的影响[J]. *武汉大学学报 (医学版)*, 2020, 41(6):933–937.
- YIN J, WU X W, FAN X W. Effect of HOTAIR on invasion ability of esophageal cancer cell line EC109[J]. *Medical Journal of Wuhan University*, 2020, 41(6):933–937.
- [8] SOBIN L H, WITTEKIND C H. TNM classification of malignant tumours[M]. New York: Wildy-Liss, 2002:60–64.
- [9] LV W, WANG J, ZHANG S. Effects of cisatracurium on epithelial-to-mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(5):5325–5331.
- [10] MASUIKE Y, TANAKA K, MAKINO T, et al. Esophageal squamous cell carcinoma with low mitochondrial copy number has mesenchymal and stem-like characteristics, and contributes to poor prognosis [J]. *PLoS One*, 2018, 13(2):e0193159.
- [11] QIN Y, ZHAO W, CHENG L, et al. Evaluation of the correlativity of gender determining region Y-box 4, N-cadherin, CD44 and E-cadherin expression in the prognosis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(5):1745–1756.
- [12] LIU S, CAO Q, AN G, et al. Identification of the 3-lncRNA signature as a prognostic biomarker for colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24):9359.
- [13] CHEN L, HUANG S, HUANG J, et al. Role and mechanism of exosome-derived long noncoding RNA HOTAIR in lung cancer[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(27):17217–17227.
- [14] GUO R, NING Y, MA Y, et al. Long non-coding RNA HOTAIR/microRNA-761 sponge regulates PPME1 and further influences cell biological functions in thyroid carcinoma[J]. *Laryngoscope Invest Otolaryngol*, 2021, 6(3):438–445.
- [15] SHI Y, HUANG Q, KONG X, et al. Current knowledge of long non-coding RNA HOTAIR in breast cancer progression and its application[J]. *Life (Basel)*, 2021, 11(6):483.
- [16] WANG W, WU D, HE X, et al. CCL18-induced HOTAIR upregulation promotes malignant progression in esophageal squamous cell carcinoma through the miR-130a-5p-ZEB1 axis[J]. *Cancer Lett*, 2019, 28(460):18–28.
- [17] WANG A H, TAN P, ZHUANG Y, et al. Down-regulation of long non-coding RNA HOTAIR inhibits invasion and migration of oesophageal cancer cells via up-regulation of microRNA-204[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(10):6595–6610.