

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.03.004

· 基础研究 ·

PTPN6 基因对人食管鳞状细胞癌 Eca109 和 Yes-2 细胞恶性生物学行为的影响

刘磊^a, 杨柳^b, 牛云峰^b, 梁佳^b, 沈素朋^b(河北医科大学 第四医院 a. 胸外科; b. 肿瘤研究所, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 探讨非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 6(non-receptor protein tyrosine phosphatase 6, PTPN6) 基因在不同食管鳞状细胞癌细胞株中的表达及其对 Eca109、Yes-2 细胞恶性生物学行为的影响。**方法:** 应用 qPCR 法检测不同食管鳞癌细胞株(TE1、Eca109、Kyse150、Kyse170、Yes-2)中 PTPN6 mRNA 的表达水平, 以 pcDNA3.1-PTPN6 质粒分别瞬时转染食管鳞癌细胞株 Eca109 和 Yes-2, 应用 qPCR 和 Wb 法检测 PTPN6 mRNA 和蛋白的表达水平, 并应用 MTS、克隆形成实验、划痕实验和 Transwell 法检测过表达 PTPN6 基因对食管鳞癌细胞恶性生物学行为的影响。**结果:** PTPN6 基因在 5 种食管鳞癌细胞株中表达均明显下调(均 $P < 0.05$)。与转染空载体的对照组相比, 经 pcDNA3.1-PTPN6 转染后, Eca109 和 Yes-2 细胞均高水平表达 PTPN6($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 过表达 PTPN6 基因后, Eca109 和 Yes-2 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均明显被抑制(均 $P < 0.05$)。**结论:** PTPN6 基因高表达能抑制食管鳞癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 其可能是影响食管鳞癌细胞生物学特性的一个重要因素。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; 非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 6 基因; Eca109 细胞; Yes-2 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R735.1; R392.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)03-0273-07

Effects of PTPN6 on malignant biological behaviors of human esophageal squamous cancer Eca109 and Yes-2 cells

LIU Lei^a, YANG Liu^b, NIU Yunfeng^b, LIANG Jia^b, SHEN Supeng^b(a. Department of Thoracic Surgery; b. Cancer Institute, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To detect the expression of non-receptor protein tyrosine phosphatase 6 (PTPN6) in different esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cell lines, and to investigate its effect on proliferation, migration and invasion ability of Eca109 and Yes-2 cell lines. **Methods:** qPCR was applied to detect the mRNA expression of PTPN6 in different ESCC cell lines (TE1, Eca109, Kyse150, Kyse170 and Yes-2). pcDNA3.1-PTPN6 plasmid was transiently transfected into Eca109 and Yes-2 cells respectively. The expression of PTPN6 was detected by real-time PCR and Wb. The effects of PTPN6 over-expression on the biological behaviors of ESCC cells were detected by MTS, colony formation assay, wound healing assay and Transwell assay, respectively. **Results:** The mRNA expression of PTPN6 was remarkably reduced in ESCC cell lines (TE1, Eca109, Kyse150, Kyse170 and Yes-2) compared to normal esophageal epithelial cells (HEEPiC) ($P < 0.05$). Compared to the mock cells, significant up-regulation of PTPN6 was detected in pcDNA3.1-PTPN6 transfected Eca109 and Yes-2 cells (all $P < 0.05$ or $P < 0.01$); PTPN6 over-expression led to a significant inhibition in migration and invasion ability of Eca109 and Yes-2 cells (all $P < 0.05$). **Conclusions:** Over-expression of PTPN6 may inhibit the proliferation, migration and invasion of ESCC cells, which might be an important factor influencing the biological characteristics of ESCC cells.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma; non-receptor protein tyrosine phosphatase 6 (PTPN6) gene; Eca109 cell; Yes-2 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(3): 273-279. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.03.004]

食管癌细胞的侵袭性是造成其不良预后的重要原因, 抑制食管癌细胞的侵袭及转移, 可有效提高食管癌患者的手术治疗效果及放疗敏感性^[1]。非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶 6(non-receptor protein tyrosine phosphatase 6, PTPN6) 基因位于染色体 12p13 上, 编码蛋白的相对分子质量为 68 000^[2]; 其在多种肿瘤中发挥抑癌基因作用, 在不同肿瘤细胞系中亦存在表达差异^[3-4]; 并且在多种类型的肿瘤中对调节细胞周

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81572441); 河北省医学科学研究重点课题资助项目(No.20170700)。Project supported by National Natural Science Foundation of China(No.81572441), and the Subsidized Project of Key Subjects of Medical Science Research in Hebei Province (No.20170700)

[作者简介] 刘磊(1978-), 男, 博士, 主治医师, 主要从事上消化道肿瘤病因学的研究, E-mail: abchbmu525@163.com

[通信作者] 沈素朋(SHEN Supeng, corresponding author), 博士, 助理研究员, 主要从事肿瘤病因学及肿瘤发生机制的研究, E-mail: shsyssp2012@163.com

期及细胞增殖等生物学活动发挥重要调节作用,其中在肝癌细胞和乳腺癌细胞中过表达 PTPN6 可明显抑制肿瘤细胞的体外增殖及侵袭能力^[5-6]。然而,目前关于 PTPN6 在食管鳞癌细胞系中的表达及其与食管鳞癌恶性表型的相关性尚未见相关报道。因此,本研究检测了 PTPN6 在不同食管鳞癌细胞系的表达情况,并构建 PTPN6 过表达载体 pcDNA3.1-PTPN6,分别瞬时转染人食管鳞癌细胞 Eca109、Yes-2,探讨 PTPN6 基因过表达对食管鳞癌细胞体外增殖、迁移、侵袭的影响,旨在为食管鳞癌的治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞系及主要试剂

人食管鳞癌细胞株 TE1、Eca109、Kyse150、Kyse170、Yes-2,以及人正常食管上皮细胞株 HEEpiC 均来自于河北医科大学第四医院生物标本库。TRIzol(美国 SBS 公司),蛋白提取试剂(康为世纪生物科技有限公司),逆转录试剂盒(瑞士 Roche 公司),ACTB 鼠抗人单克隆抗体及 PTPN6 兔抗人单克隆抗体(美国 Abcam 公司),RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清(德国 PAN 公司),pcDNA3.1-PTPN6 质粒(上海生工公司),Lipofectamine™ 2000(美国 invitrogen 公司),MTS 试剂(美国 Promega 公司),Transwell 小室(美国 Corning 公司),Matrigel 胶(美国 BD 公司)。

1.2 qPCR 检测食管鳞癌细胞株中 PTPN6 mRNA 的表达水平

实验用细胞系用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液置于 37 °C、5% CO₂ 的条件下常规培养。按照 TRIzol 试剂说明书提取细胞中总 RNA,之后将以提取的总 RNA 为模板,逆转录成 cDNA,储存备用。按照 qPCR 试剂盒说明进行加样,以 GAPDH 作为内参,其引物序列及产物大小见表 1。反应条件:94 °C 预变性 30 s、94 °C 10 s、60 °C 30 s 扩增 40 个循环,检测溶解曲线,每个样本设 3 个复孔,以 2^{-ΔΔCt} 来计算 PTPN6 基因的相对表达量。实验重复 3 次。

1.3 Wb 检测人食管鳞癌细胞株中 PTPN6 蛋白的表达水平

按照蛋白提取试剂盒操作流程抽提细胞总蛋白。按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书测定蛋白浓度。取适量蛋白样品进行 10%SDS-PAGE,以 80 V 为起始电压进行电泳,分离胶电压至 120 V,电泳约 90 min。将分离后的蛋白转至 PVDF 膜上,取出后放入 3%BSA 封闭液室温孵育 1 h,加入稀释后的一抗(兔抗人 PTPN6 和鼠抗人 ACTB 单克隆

抗体),在摇床上室温孵育 1 h 并 4 °C 过夜后,用 TBST 清洗 3 次、每次 5 min。加入按 1:2 000 比例稀释的二抗,室温孵育 1 h 后,用 TBST 清洗,在 PVDF 膜上滴入 ECL 发光剂,迅速曝光,凝胶成像显影。

表 1 qPCR 引物序列及产物大小
Tab.1 Primer sequences and product size of qPCR

Gene	Sequence of primer	Product size(bp)
PTPN6	F:5'-GGCCTGGACTGTGACATTGA-3'	188
	R:5'-ATGTTCCCGTACTCCGACTC-3'	
GAPDH	F:5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3'	104
	R:5'-AGGGTTCATTGATGGCAACA-3'	

1.4 PTPN6 过表达重组质粒的转染

取对数生长期食管鳞癌细胞 Eca109、Yes-2,胰酶消化接种于 6 孔板中,待板中细胞汇合度至 80% 时,按照 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书转染质粒 pcDNA3.1-PTPN6 和质粒 pcDNA3.1。质粒与 Lipofectamine™ 2000 配制比例为 100:150。6 孔板中一孔只加入质粒作为对照,一孔为常规培养的细胞。转染细胞 24 h 后,采用 qPCR 法检测 PTPN6 mRNA 以鉴定转染效率;转染 48 h 后采用 Wb 实验检测 PTPN6 蛋白的表达水平以鉴定转染效率。

1.5 MTS 法检测转染 pcDNA3.1-PTPN6 对 Eca-109 和 Yes-2 细胞增殖能力的影响

将上述实验组、空质粒对照组和常规细胞培养对照组的 Eca109 和 Yes-2 细胞培养 24 h 后用胰酶消化悬浮于含 10% 胎牛血清的培养基中,调整细胞密度接种于 96 孔板,每组设 6 个复孔,每孔 100 μl 培养基含有 1 000 个细胞。分别在细胞贴壁后 0、24、48、72 h 后每孔中加入 MTS 试剂 20 μl(500 μg/ml)。培养箱中孵育 4~6 h 后,酶标仪测定 492 nm 处的光密度(D)值,根据检测值绘制细胞生长曲线,分析细胞增殖情况。实验重复 3 次。

1.6 克隆形成实验检测转染 pcDNA3.1-PTPN6 对 Eca109 和 Yes-2 细胞增殖的影响

将上述实验组、空质粒对照组和常规细胞培养对照组的 Eca109 和 Yes-2 细胞培养 24 h 后用胰酶消化并用含 10% 胎牛血清的培养基中调整细胞密度至 2×10⁴/ml,每孔接种 5 000 个细胞,接种于 6 孔板中,常规培养 1 周。用 PBS 洗 2 遍后,4% 的多聚甲醛固定 15 min,PBS 漂洗,室温晾干。使用结晶紫染液染色 15 min,PBS 洗 3 次,室温晾干。倒置显微镜下观察,以大于 50 个细胞计为 1 个

克隆,计算细胞克隆数。

1.7 划痕愈合实验检测转染 pcDNA3.1-PTPN6 对 Eca109 和 Yes-2 细胞迁移的影响

将上述实验组、空质粒对照组和常规细胞培养对照组的 Eca109 和 Yes-2 细胞培养 24 h 后用胰酶消化,并用含 10% 胎牛血清的培养基中调整细胞密度至 $2 \times 10^4/\text{ml}$,按 2 ml 体系接种于背面均匀划好横线的 6 孔板中培养 24 h。待细胞汇合度达到 90% 以上时,用 200 μl 加样枪头垂直于横线划一条平直线。使用 PBS 冲洗 2 遍去除划落细胞,倒置显微镜下标记拍照位置并测量轨道宽度。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 环境中继续培养,分别于划痕后的 0、12、24 h 在倒置显微镜下观察划痕的间距并计算细胞迁移的百分率。细胞迁移率(%)=(测量间距-划痕间距)/测量间距 $\times 100\%$ 。

1.8 Transwell 实验检测转染 pcDNA3.1-PTPN6 对 Eca109 和 Yes-2 细胞侵袭的影响

将上述实验组、空质粒对照组和常规细胞培养对照组的 Eca109 和 Yes-2 细胞培养 24 h 后用无血清培养基饥饿培养 4 h,胰酶消化悬浮于无血清培养基中,调整细胞密度,每室中加入细胞悬液(含有 1×10^5 个细胞),小室上层 20 μl Matrigel 胶,下层加入 600 μl 完全培养基。常规培养 24 h 后取出小室,用棉签轻轻擦拭,小室放入 4% 多聚甲醛中固定 10 min, PBS 洗 3 次,室温晾干。用结晶紫染液染色 20 min, PBS 清洗后室温晾干。于显微镜下计数 10 个视野内的细胞数,计算平均值,比较实验组和对照组的差异。

1.9 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间的均数比较采用独立样本 t 检验和近似 t 检验,多组间的均数比较采用单因素方差分析,组内的两两比较采用 SNK- q 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞癌细胞株中 PTPN6 mRNA 和蛋白低水平表达

qPCR 法检测结果显示,PTPN6 mRNA 在 TE1、Eca109、Kyse150、Kyse170、Yes-2 等 5 种食管鳞癌细胞中的相对表达量分别为 0.402 ± 0.028 、 0.067 ± 0.003 、 0.289 ± 0.028 、 0.183 ± 0.021 、 0.111 ± 0.006 ,显著低于对照组细胞的相对表达量(1.000 ± 0.001) ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 1A),并且在 Eca109 和 Yes-2 细胞中表达低于其他 4 株细胞。

Wb 检测结果显示,PTPN6 蛋白在 5 株食管鳞癌细胞系中的表达与 PTPN6 mRNA 表达趋势相一致,

PTPN6 蛋白在 5 株食管鳞癌细胞系中的表达明显降低(图 1B)。最终选取 Eca109 和 Yes-2 细胞系进行后续过表达 PTPN6 基因实验。

2.2 转染过表达重组质粒后细胞中 PTPN6 mRNA 和蛋白表达水平明显升高

qPCR 结果(图 1C)显示,与未处理的 Eca109 细胞(1.000 ± 0.001)和转染了空载体的对照组(0.941 ± 0.065)相比,pcDNA3.1-PTPN6 组的 mRNA 相对表达量(111.946 ± 10.973)明显升高(均 $P < 0.01$),而转染空载体的对照组与未处理组 Eca109 比较差异不明显($P > 0.05$);与未处理组 Yes-2 细胞(1.000 ± 0.001)和转染了空载体的对照组(0.913 ± 0.095)相比,pcDNA3.1-PTPN6 组的 mRNA 相对表达量(78.783 ± 9.564)明显升高(均 $P < 0.05$),而转染空载体的对照组与未处理组 Yes-2 比较差异不明显($P > 0.05$)。

Wb 检测结果(图 1D)显示,与对照组相对蛋白表达水平相比,转染 pcDNA3.1-PTPN6 后,PTPN6 基因蛋白水平均明显升高。

2.3 过表达 PTPN6 后 Eca109 和 Yes-2 细胞增殖能力明显降低

MTS 实验结果(图 2A)显示,过表达 PTPN6 基因的 Eca109 细胞 D 值明显低于其他两组,并且在 24 h 开始有统计学意义($P < 0.05$),而转染空载体组与未处理组 Eca109 细胞差异无统计学意义($P > 0.05$);过表达 PTPN6 的 Yes-2 细胞 D 值明显减小,于 48 h 开始有统计学意义($P < 0.05$),而转染空载体组与未处理组 Yes-2 组无统计学意义($P > 0.05$)。

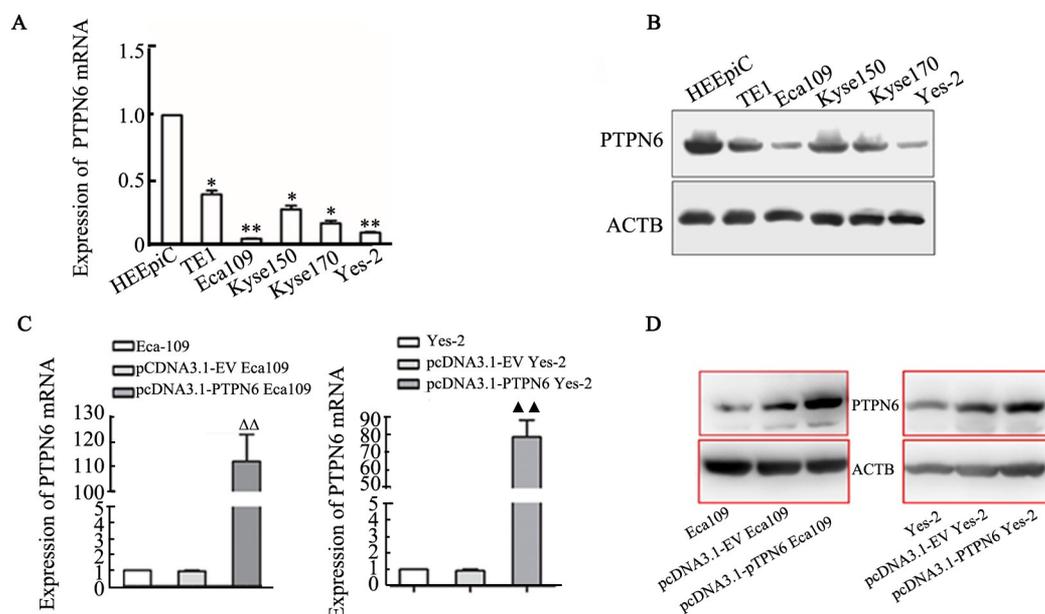
克隆形成实验结果(图 2B)显示,过表达 PTPN6 基因的 Eca109 细胞的克隆形成率显著低于转染空载体组[(13.33 ± 1.15)% vs (27.33 ± 3.21)%, $P < 0.05$],而转染空载体组与未处理组 Eca109 细胞相比不具有统计学差异($P > 0.05$);过表达 PTPN6 基因的 Yes-2 细胞的克隆形成率显著低于转染空载体组[(12.33 ± 2.52)% vs (30.00 ± 1.73)%, $P < 0.05$],转染空载体组与未处理组 Yes-2 细胞相比不具有统计学差异($P > 0.05$)。上述结果表明,过表达 PTPN6 基因导致 Eca109 和 Yes-2 细胞的增殖能力下降。

2.4 过表达 PTPN6 基因抑制 Eca109 和 Yes-2 细胞迁移能力

划痕愈合实验结果(图 3)显示,过表达 PTPN6 基因的 Eca109 细胞的 24 h 划痕愈合率显著低于转染空载体的对照组[(9.8 ± 1.1)% vs (39.4 ± 2.6)%, $P < 0.01$],而转染空载体和未处理的 Eca109 细胞的 24 h 划痕愈合率比较差异不明显($P > 0.05$),过表达 PTPN6 基因的 Yes-2 细胞的 24 h 划痕愈合率显著低于转染空载体对照组[(12.9 ± 1.2)% vs (46.2 ± 2.0)%, $P < 0.05$],而转

染空载体和未处理的 Yes-2 细胞的 24 h 划痕愈合率比较差异明显 ($P>0.05$), 上述结果表明, 过表达

PTPN6 基因抑制食管鳞癌细胞 Eca109 和 Yes-2 的体外迁移能力。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs HEEpic group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs Eca109 or pcDNA3.1-EVEca109 group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs Yes-2 or pcDNA3.1-EVYes-2 group
A-B: The expression of PTPN6 mRNA(A) and protein(B) in ESCC cell lines; C-D: The expression of PTPN6 mRNA(C) and protein(D) in Eca109 and Yes-2 cells after pcDNA3.1-PTPN6 transfection

图1 qPCR和Wb实验检测食管癌细胞转染pcDNA3.1后PTPN6 mRNA和蛋白的表达水平
Fig.1 The expression level of PTPN6 mRNA and protein detected by qPCR and Wb in ESCC cell lines transfected with pcDNA3.1-PTPN6

2.5 过表达 PTPN6 基因抑制 Eca109 和 Yes-2 细胞的侵袭能力

Transwell 小室侵袭实验结果(图4)表明, 过表达 PTPN6 基因的 Eca109 细胞组穿过人工基底膜的细胞数显著低于转染空载体细胞的对照组[(115.67±6.51) vs (207.00±9.17)个, $P<0.05$], 而对照组与未处理 Eca109 细胞组的差异不明显 ($P>0.05$); 过表达 PTPN6 基因的 Yes-2 细胞通过人工基底膜的细胞数与转染空载体的对照组相比明显减少[(104.67±8.33) vs (186.67±17.04)个, $P<0.01$], 而对照组与未处理 Yes-2 细胞组的差异不明显 ($P>0.05$)。上述结果表明, 过表达 PTPN6 基因能够抑制 Eca109 和 Yes-2 细胞在体外的侵袭能力。

3 讨论

食管癌细胞增殖速度快, 侵袭和转移能力强, 是影响其术后治疗效果的重要因素, 也是恶性肿瘤细胞的生物学特性^[7-8]。恶性肿瘤的侵袭和转移是一个多基因参与、多步骤调节的复杂过程^[9]。肿瘤抑制磷酸酶的失活是肿瘤发生中的重要分子事件之一^[10]。PTPN6 作为定位于细胞质的磷酸酶, 主要在造血细

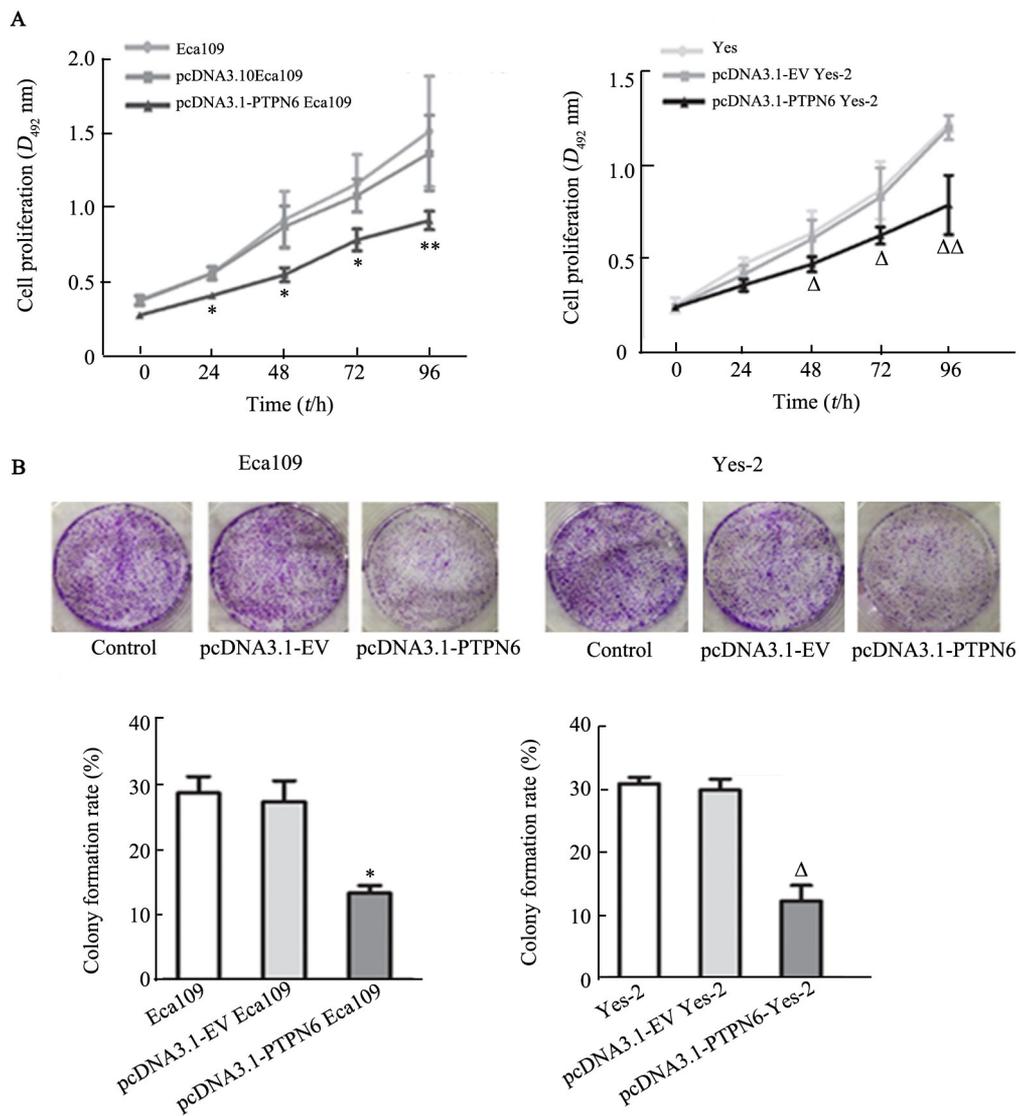
胞和上皮细胞中表达, 是多种信号通路的负调节因子^[11-12]。因此, PTPN6 在不同类型肿瘤中的细胞周期和细胞增殖的调节中具有不同的作用和机制。PLUTZKY 等^[13]首先观察到 PTPN6 存在于儿童白血病中经常受损的染色体区域。OKA 等^[14]观察到自然杀伤性 T 细胞淋巴瘤和 95% 的其他几种类型的恶性淋巴瘤中 PTPN6 基因的 mRNA 和蛋白质表达均下调。因此, PTPN6 表达缺失可能导致恶性转化和增加侵袭性。在晚期慢性粒细胞白血病、乳腺癌和肝癌等肿瘤中, PTPN6 基因表达下调, 并且与这些肿瘤的恶性程度及侵袭转移等恶性表型有关, 在肿瘤的发生发展过程中发挥肿瘤抑制基因的作用^[15-6]。

本研究中首先通过实验证实 PTPN6 基因在食管鳞癌细胞系中表达较低, 然后基于 PTPN6 基因转录本 1 的序列合成 pcDNA3.1-PTPN6 表达载体, 对人食管癌 Eca109、Yes-2 细胞进行瞬时转染, MTS 和克隆形成实验结果显示转染后的 Eca109、Yes-2 细胞的体外增殖能力明显降低, 划痕愈合和 Transwell 侵袭实验结果发现, 转染后的 Eca109、Yes-2 细胞体外迁移及侵袭能力也显著降低。

这些实验结果表明,PTPN6基因可能对食管鳞癌细胞的体外增殖能力及侵袭能力具有调节作用,这与研究初期发现PTPN6基因在食管鳞癌组织中表达下调,及其表达下调与食管鳞癌患者TNM分期、病理分级及淋巴结转移等恶性表型有关的结论相一致。据报道^[15-16],骨髓增生性肿瘤和K562细胞中PTPN6的表观遗传沉默导致JAK/STAT信号传导的组成型激活。JAK/STAT信号通路是调节各种细胞生物活性的最重要的信号级联之一,包括免疫应答,细胞生长和分化等过程。PTPN6的沉默可能导致癌细胞中的JAK或STAT活化^[17]。然而,PTPN6在食管鳞癌中的

作用尚未阐明。本研究发现PTPN6的上调可抑制食管鳞癌细胞的体外增殖和侵袭,这表明PTPN6可能在抑制癌细胞增殖和侵袭中起抑癌基因的作用,但需要进一步研究PTPN6在食管鳞癌中的特异性调节途径。

综上所述,PTPN6可作为食管鳞癌中的肿瘤抑制基因并抑制食管癌细胞的增殖和侵袭,提示PTPN6基因可能在食管鳞癌中是一种抑癌基因,同时在食管鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭过程中发挥重要的调控作用,有望成为食管鳞癌基因治疗提供的分子靶点。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Eca109 or pcDNA3.1-EVEca109 group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Yes-2 or pcDNA3.1-EVYes-2 group;

图2 MTS(A)和克隆形成实验(B)检测PTPN6过表达对Eca109和Yes-2细胞增殖的影响

Fig.2 The proliferation activity of Eca109 and Yes-2 cells transfected with recombinant plasmid pcDNA3.1-PTPN6 were detected by MTS (A) and colony formation assay (B)

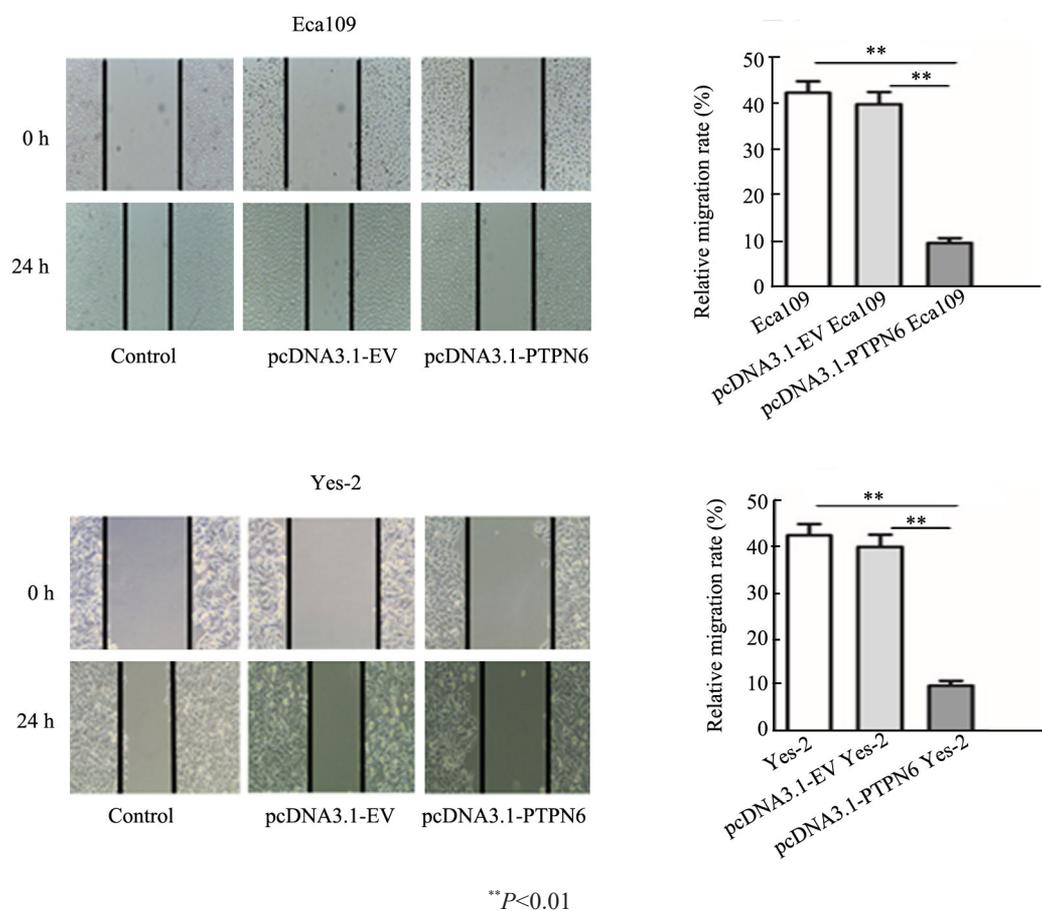


图3 划痕愈合实验检测PTPN6过表达对Eca109和Yes-2细胞迁移能力的影响(×40)

Fig.3 Effect of PTPN6 over-expression on migration of Eca109 and Yes-2 cells detected by scratch healing test (×40)

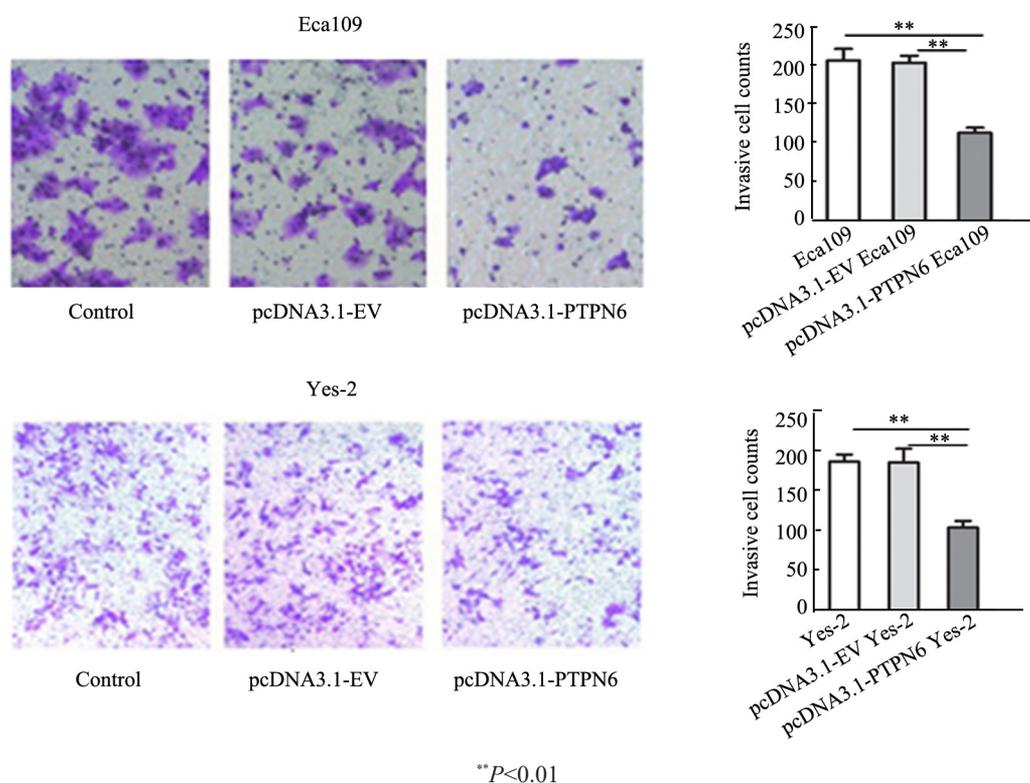


图4 Transwell法检测PTPN6过表达对Eca109和Yes-2细胞侵袭能力的影响(×100)

Fig. 4 Effect of PTPN6 over-expression on invasive ability of Eca109 and Yes-2 cells detected by Transwell cell assay(×100)

[参 考 文 献]

- [1] SALEHI M, MORADI-LAKEH M, SALEHI M H, et al. Meat, fish, and esophageal cancer risk: a systematic review and dose-response meta-analysis[J]. *Nutr Rev*, 2013, 71 (5): 257-267. DOI: 10.1111/nure.12028.
- [2] LAM A K. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2000, 33(2): 71-90. DOI: 10.1016/S1040-8428(99)00054-2.
- [3] KANG X, KIM J, DENG M, et al. Inhibitory leukocyte immunoglobulin-like receptors: Immune checkpoint proteins and tumor sustaining factors[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(1): 25-40. DOI: 10.1080/15384101.2015.112132.
- [4] JIANG H, DONG L, GONG F, et al. Inflammatory genes are novel prognostic biomarkers for colorectal cancer[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(1): 368-380. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3631.
- [5] WEN L Z, DING K, WANG Z R, et al. SHP-1 acts as a tumor suppressor in hepatocarcinogenesis and HCC progression[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(16): 4680-4691. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-3896.
- [6] CHEN Z, SHOJAEE S, BUCHNER M, et al. Signalling thresholds and negative B-cell selection in acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Nature*, 2015, 534(7605): 138-145. DOI: 10.1038/nature14231.
- [7] WANG J, ZHANG L, CHEN G, et al. Small molecule 1'-acetoxychavicol acetate suppresses breast tumor metastasis by regulating the SHP-1/STAT3/MMPs signaling pathway[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 148(2): 279-289. DOI: 10.1007/s10549-014-3165-6.
- [8] KAZ A M, GRADY W M. Epigenetic biomarkers in esophageal cancer[J]. *Cancer Lett*, 2014, 342 (2): 193-199. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.02.036.
- [9] PRABHU A, OBI K O, RUBENSTEIN J H. The synergistic effects of alcohol and tobacco consumption on the risk of esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2014, 109(6): 822-827. DOI: 10.1038/ajg.2014.71.
- [10] RITZWOLLER D P, HASSETT M J, UNO H, et al. Development, validation, and dissemination of a breast cancer recurrence detection and timing informatics algorithm[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(3): 273-281. DOI: 10.1093/jnci/djx200.
- [11] DE IGLESIA N, KONOPKA G, LIM K L, et al. Deregulation of a STAT3-interleukin 8 signaling pathway promotes human glioblastoma cell proliferation and invasiveness[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(23): 5870-5878. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5385-07.2008.
- [12] JIA W Q, WANG Z T, ZOU M M, et al. verbascoside inhibits glioblastoma cell proliferation, migration and invasion while promoting apoptosis through upregulation of protein tyrosine phosphatase SHP-1 and inhibition of STAT3 phosphorylation[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(5): 1871-1882. DOI: 10.1007/s00210-009-0466-0.
- [13] PLUTZKY J, NEEL B G, ROSENBERG R D, et al. Chromosomal localization of an SH2-containing tyrosine phosphatase (PTPN6) [J]. *Genomics*, 13(3): 869-872. DOI: 10.1016/0888-7543(92)90172-O.
- [14] OKA T, YOSHINO T, HAYASHI K, et al. Reduction of hematopoietic cell-specific tyrosine phosphatase SHP-1 gene expression in natural killer cell lymphoma and various types of lymphomas/leukemias: combination analysis with cDNA expression array and tissue microarray[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(4): 1495-1505. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62535.
- [15] EVREN S, WAN S, MA X Z, et al. Characterization of SHP-1 protein tyrosine phosphatase transcripts, protein isoforms and phosphatase activity in epithelial cancer cells[J]. *Genomics*, 2013, 102(5/6): 491-499. DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.10.001.
- [16] 梁佳, 吴璇, 邝钢, 等. lncRNA NUP50-AS1 在食管鳞癌组织中的表达及其对 Eca109 细胞恶性生物学行为的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1290-1295. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.12.013.
- [17] CHIM C S, WONG K Y, LOONG F, et al. SOCS1 and SHP1 hypermethylation in mantle cell lymphoma and follicular lymphoma: implications for epigenetic activation of the Jak / STAT pathway[J]. *Leukemia*, 2004, 18(2): 356-358. DOI: 10.1038/sj.leu.2403216.

[收稿日期] 2018-12-27

[修回日期] 2019-02-12

[本文编辑] 王映红