

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.11.015

· 综述 ·

食管鳞癌基因组学研究进展

Research progress in genomics of esophageal squamous cell carcinoma

贾怡萌^{ab} 综述; 左静^b 审阅(河北医科大学 a. 研究生学院; b. 第四医院 肿瘤内科, 河北 石家庄 050000)

[摘要] 食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是世界上发病率和致死率较高的肿瘤之一,近79%的ESCC发生在亚洲国家。近年来,几项大规模研究应用二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术确定了ESCC的体细胞突变图谱,并进一步解析常见的突变特征及与吸烟、饮酒、预后等相关的突变特征,识别潜在的驱动基因,分析拷贝数变异(copy number variation, CNV),富集分析基于基因组数据的信号通路,为精准靶向治疗和精准免疫治疗提供了理论基础,有助于了解ESCC的分子机制和发生发展过程。本文总结了近期在ESCC基因组学领域取得的研究进展,尤其是研究中发现新的治疗靶标以及诊断和预后的生物标志物,为制定更加精准的治疗方案提供了可能。

[关键词] 食管鳞癌;二代测序;基因组学

[中图分类号] R735.1;R730 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)11-1299-05

食管癌(esophageal cancer, EC)是一种高度侵袭性并且缺乏有效治疗方法的恶性肿瘤,2018年新诊断572 034例、死亡508 585例^[1]。EC的两个主要病理学类型是食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC),全球近79%的ESCC发生在亚洲国家^[2],其危险因素包括吸烟和饮酒等。随着对肿瘤分子生物学和免疫逃逸机制的深入研究,一些靶向及免疫药物已应用于ESCC中,如西妥昔单抗(EGFR抑制剂)、安罗替尼(VEGFR抑制剂)、阿帕替尼(VEGFR抑制剂)、帕博利珠单抗(PD-1抑制剂)、纳武利尤单抗(PD-1抑制剂)和特瑞普利单抗(PD-1抑制剂)等,然而只有少部分患者受益于这些治疗。近年来,相关领域研究者利用二代测序(next-generation sequencing, NGS)检测大量基因,构建了ESCC的体细胞突变图谱,通过生物信息学方法筛选赋予细胞选择或进化优势的驱动突变(driver mutation)。识别潜在驱动基因,也称为显著性突变基因(significantly mutated gene, SMG),可以帮助研究者确定致病机制和用药靶点。本篇综述主要阐述ESCC在基因组学领域取得的研究进展,这些发现使研究者能够进一步理解体细胞突变和拷贝数变异(copy number variation, CNV)的生物学意义,为制定有效的ESCC诊断和治疗方法提供新思路。

1 ESCC的突变特征

内源性(如5-甲基胞嘧啶的自发脱氨基)和外源性(如吸烟、饮酒)因素导致DNA损伤并诱导DNA修复的过程,会产生肿瘤基因组中的体细胞突变,留下突变特征。目前,在体细胞突变目录(catalogue of somatic mutations in cancer, COSMIC)数据库中公布

了30个不同的突变特征(下文中使用“CS”代指COSMIC数据库中公布的突变特征)^[3]。ESCC中最常见的突变类型是C>T转换,其次是C>A和C>G颠换。为了进一步了解ESCC中的突变过程,应用非负矩阵分解(non-negative matrix factorization, NMF)来解读ESCC的突变特征。CS-2是在TpCpW三核苷酸位点处C>T转换,CS-13是C>G颠换,CS-2和CS-13均与载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽(apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide, APOBEC)家族的过度激活以及DNA复制和碱基切除修复机制有关^[4]。LIN等^[5]发现, APOBEC介导的突变特征阳性的患者有更多的靶向驱动基因,包括锌指蛋白750(zinc finger protein 750, ZNF750)、磷脂酰肌醇激酶3催化亚单位(phosphatidylinositol 3-kinase catalytic alpha polypeptide, PIK3CA)、髓性/淋巴或混合系白血病2(myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2, MLL2)、髓性/淋巴或混合系白血病3(myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 3, MLL3)和成视网膜细胞瘤基因(retinoblastoma, RB1)。CS-1是在XpCpG三核苷酸位点处C>T转换,与5-甲基胞嘧啶的自发脱氨基有关,该特征与年龄密切相关^[6]。APOBEC介导的突变特征和CS-1在ESCC及人类其它癌症中普遍存在。

细胞色素P450 2A6(cytochrome P450 2A6, CYP2A6)参与烟草致癌物的代谢活化,SAWADA等^[7]分析144例日本人ESCC样本,发现具有功能性

[作者简介] 贾怡萌(1991-),女,硕士生,主要从事消化系统恶性肿瘤相关研究, E-mail:1845924065@qq.com

[通信作者] 左静(ZUO Jing, corresponding author),博士,主任医师,博士生导师,主要从事消化系统恶性肿瘤相关研究, E-mail:wdh970916@163.com

CYP2A6 等位基因的吸烟者显著富集在 APOBEC 介导的突变特征。CHANG 等^[8]分析 94 例中国人 ESCC 样本, 确定了 6 个突变特征(E1~E6), 其中突变特征 E2 与 CS-4(C>A 颠换的转录链偏移)高度相似, 突变特征 E2 与吸烟状况显著相关, 而其他队列研究中并没有发现这个突变特征; 突变特征 E4 与 CS-16(转录链中 T>C 转换)高度相似, 且与患者的饮酒状态和乙醛脱氢酶 2 (aldehyde dehydrogenase 2, ALDH2)、酒精脱氢酶 1B (alcohol dehydrogenase 1B, ADH1B) 基因相关。酒精摄入与 ALDH2 和 ADH 多态性的相互作用增加 ESCC 的发生风险^[9]。LI 等^[10]发现, CS-16 的突变活性增加与 ZNF750, 肿瘤蛋白 P53 (tumor protein 53, TP53) 和 E1A 结合蛋白 P300 (E1A binding protein p300, EP300) 突变有关。酒精组中 TP53 的 T>C 转换率显著高于非酒精组, 表明 TP53 突变状态与饮酒相关的突变特征(如 CS-16)显著相关。

LIN 等^[5]用 Cox 多因素风险模型分析 602 例 ESCC 样本, 显示 CS-16 是影响 ESCC 患者预后的独立危险因素($HR=1.536, 95\%CI=1.103\sim 2.137, P=0.011$); 而 CS-1 对 ESCC 患者表现出保护作用, 尽管在 Cox 多因素风险模型下并不显著($HR=0.863, 95\%CI=0.614\sim 1.212, P=0.395$)。DU 等^[11]利用既往数据对 490 例 ESCC 样本进行重新分析, Kaplan-Meier 生存分析表明 CS-4 与患者生存时间较短显著相关($HR=1.73, 95\%CI=1.23\sim 2.45, P=0.001$)。CUI 等^[12]分析 508 例 ESCC 样本发现, APOBEC 介导的突变特征与淋巴结转移情况($P=0.004$)和临床分期($P=0.001$)显著相关, Kaplan-Meier 生存分析表明 APOBEC 介导的突变特征与患者生存时间较短显著相关($HR=0.71, 95\%CI=1.007\sim 1.746, P=0.029$)。APOBEC 介导的突变特征可能是 ESCC 转移和预后不良的临床预测指标。解析突变特征的分子机制并将其与预测预后相结合, 可能有望用于肿瘤分子诊断和分子分型, 迎来分子亚型代替解剖学 TNM 分期的新时代。

2 ESCC 的 SMG

既往研究使用 MutSig 算法鉴定 SMG, 目前共鉴定了 ADAM29、AJUBA、ATF5B、AP1、C6orf223、CASP8、CDH10、CDKN2A、CREBBP、CSMD3、CUL3、DCDC1、EP300、FAM135B、FAM90A1、FAT1、FAT2、FBXW7、JUB、KDM6A、KMT2C、KMT2D、KRT5、LILRB3、LRP1B、LRP2、MYH15、NAV3、NFE2L2、NOTCH1、NOTCH3、NUFIP2、PBRM1、PIK3CA、PRDM9、PTCH1、PTEN、RB1、RBPJ、RIPK4、RP1、SUFU、TENM3、TET2、TGFB2、TNRC6A、TP53、TTN、USP8、YEATS2、ZFP36L2、

ZNF492、ZNF716 和 ZNF750 等 54 个 SMG^[6-8, 10-16, 19-21, 29, 32] (图 1)。ESCC 与肺鳞癌 (squamous cell carcinoma of the lung, LUSC)^[17] 和头颈部鳞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)^[18] 享有多个相同的 SMG, 这个结果表明, 起源相似的肿瘤有相似的基因谱和细胞分化程序, 也可能有相似的致癌潜能, 因此可能有相似的生物标志物和治疗靶标, 这一概念具有重要的临床意义。

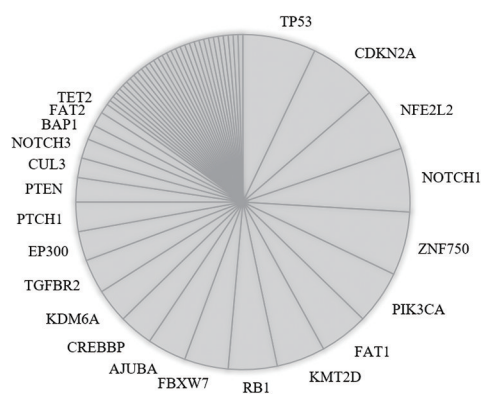


图 1 各个队列鉴定的 SMG

QIN 等^[19]对 10 个 ESCC 样本进行全基因组测序 (whole-genome sequencing, WGS)、对 57 个 ESCC 样本进行全外显子测序 (whole-exome sequencing, WES), 生存分析显示 NOTCH1 突变型比野生型预后好。利用大样本 ($n=321$) 进一步研究 NOTCH1 基因表达和 ESCC 生存时间的相关性, 结果显示, NOTCH1 低表达患者和高表达的 5 年总生存率分别为 54.6% 和 39.7%; 单变量 Cox 回归分析显示, NOTCH1 表达与总生存期 (overall survival, OS) 显著相关 ($HR=1.60, 95\%CI=1.14\sim 2.25, P=0.007$); Cox 多因素风险模型显示, 在调整年龄、性别、肿瘤分期、吸烟和饮酒因素后, NOTCH1 表达与 OS 仍显著相关 ($HR=1.51, 95\%CI=1.06\sim 2.15, P=0.022$)。可见 NOTCH1 由于突变或表达下调而丧失功能, 延长了 ESCC 患者的生存时间。

DAI 等^[20]对 41 个 ESCC 的原发灶和 15 个转移性淋巴结样本进行全外显子组测序, 结合既往数据综合分析发现, 发生淋巴结转移的样本中的 ZNF750 突变频率高于无转移的 (14% vs 3.4%, $n=629, P=1.78\times 10^{-5}$)。分析 TCGA 数据库中的 184 例 EC 样本发现, ZNF750 基因变异 (包括点突变和拷贝数变异) 的患者无病生存期更短 ($P=0.0006$)。体外实验结果显示, 敲低 ZNF750 可促进 ESCC 细胞的增殖, 迁移和侵袭, 这些结果表明 ZNF750 与 ESCC 早期复发有关, 是转移抑制因子。

SONG等^[21]分析88个ESCC样本发现,FAM135B与ESCC预后不良有关($P<0.026$)。与正常细胞相比,FAM135B在ESCC细胞系中高表达,敲低FAM135B能够减弱细胞的增殖、迁移和侵袭能力,且突变型FAM135B促进细胞增殖能力比野生型的更强。这些发现表明,FAM135B能促进ESCC的发展,可以作为ESCC评估预后的生物标志物,或可作为治疗靶标。

3 ESCC的CNV

CNV即染色体片段的扩增及缺失,ESCC最常见的扩增和缺失区域分别为11q13.2-11q13.4(FGFs-FADD-SHANK2)和9p21.3(MTAP-CDKN2A/2B-CDKN2B-AS1)。拷贝数扩增区域一般包含原癌基因,其拷贝数增多导致蛋白质产物异常活化。位于11q13的基因中,80%以上基因的拷贝数扩增与RNA表达增加显著相关,这些癌基因包括CPT1A、ORAOV1、CTTN、CCND1、FGF3、FGF4、FGF19、MIR548K和ANO1,均与ESCC细胞的恶性增殖密切相关^[22-28]。集中拷贝数变异(focal copy number variation)中包含位于普通型脆性位点(common fragile site)的基因,提示肿瘤内部DNA复制压力(DNA replication stress, DRS)很强,更有可能包含具有克隆优势的驱动基因。ZHANG等^[29]使用整合基因组学查看器(Integrative Genomics Viewer, IGV)确定了集中CNV,包括含有CBX4和CBX8扩增的染色体片段,并通过实验分析发现这些基因在ESCC中可能作为癌基因发挥作用。肿瘤基因组计划(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库应用GISTIC算法定义ESCC中反复发生的扩增和缺失区域^[30],成功定位了SOX2(3q26.33)、TERT(5p15.33)、FGFR1(8p11.23)、MDM2(12q14.3)、NKX2-1(14q13.2)扩增和RB1缺失(13q14.2)等与肿瘤发生发展相关的候选基因。

SANFORD等^[31]分析TCGA数据库发现,在ESCC中,男性的中位CNV高于女性(727 vs 214个, $P=0.0008$); 幸存患者中位随访13个月,分析发现男性性别与ESCC的OS恶化有关($AHR=5.72$, $95\%CI=1.34\sim 27.32$, $P=0.019$); CDKN2A缺失的患者中,男性多于女性(73% vs 33%, $P=0.01$); CNV升高可能增加肿瘤生物学侵袭性。

2019年ASCO大会上报道了关于探索晚期ESCC染色体11q13扩增与免疫检查点抑制剂疗效的关系,数据截至2018年12月31日,评估了59例接受特瑞普利单抗治疗的患者,对47例患者进行WES评估染色体11q13扩增状态,患者客观缓解率(objective response rate, ORR)和疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为18.6%和47.5%,未合并

11q13扩增($n=26$)的患者相比于11q13扩增者($n=24$),具有更高的ORR(30.8% vs 4.2%, $P=0.024$)和更长的无进展生存期(progression free survival, PFS)(mPFS: 3.7 vs 2个月, $HR=0.47$, $95\%CI=0.24\sim 0.91$, $P=0.025$)。这一研究提示染色体11q13扩增可能可以作为转移性ESCC接受抗PD-1单抗治疗疗效的负性预测因子^[32]。

4 ESCC相关信号通路

ESCC细胞周期信号通路相关的基因变异中,TP53突变频率最高(85%~93%)^[7,13,21]。CDKN2A和RB1常表现为缺失,细胞周期蛋白CCNE1、CCND1、CCND2和CDK4常表现为扩增。由CCND1编码的蛋白可与CDK4、CDK6形成复合物,可能导致RB蛋白磷酸化,进而导致细胞周期阻滞、基因组不稳定和肿瘤发生^[33]。ESCC人源肿瘤异种移植(patient-derived xenografts, PDX)模型证实,CDKN2A/2B缺失是预测CDK4/6抑制剂敏感性的生物标志物^[34]。Palbociclib和abemaciclib(CDK4和CDK6的小分子抑制剂)治疗LUSC患者的临床试验正在开展(NCT02785939和NCT02450539),这些试验的阳性结果也将会为ESCC患者带来新的治疗思路。

RTK-MAPK-PI3K通路是一种重要的细胞内调节细胞增殖的信号通路。EGFR家族的受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)参与上皮肿瘤的发生发展,是酪氨酸激酶抑制剂或人源化单克隆抗体抑制肿瘤的治疗靶点。通路上游的RTK、EGFR、ERBB2、ERBB4、MET以及G蛋白偶联受体与生长因子配体结合后可激活PI3K。在ESCC队列中,HER2和VEGFR扩增或突变低于5%^[30],ERBB4突变频率为12.8%^[35],EGFR扩增频率6.1%^[12]。研究^[36]表明,第二代EGFR-TKI阿法替尼通过抑制EGFR下游通路以及诱导G1的凋亡和细胞周期阻滞发挥其抗肿瘤作用。Src家族激酶(Src family kinases, SFK)的磷酸化导致阿法替尼获得性耐药,EGFR和SFK的双重阻断可以克服阿法替尼的耐药性。

除上述通路外,在ESCC中,NOTCH基因家族(NOTCH1、NOTCH2和NOTCH3)^[7,21],Wnt信号通路(AXIN2、MYC、TCF7、YAP1、APC和CTNNB1)^[7,21],Hippo通路(AJUBA、FAT1、FAT2、FAT3和FAT4)^[13],染色体重塑通路(EP300、CREBBP和BAP1)^[29]也发挥着重要作用。

5 小结

基因组学领域的研究发现新的ESCC治疗靶标以及诊断和预后的生物标志物,使ESCC诊疗模式有

望从临床病理指导下的传统治疗演变为分子分型指导下的综合治疗,为ESCC患者制定更加精准的治疗方案提供了可能。很多关于靶向和免疫治疗的临床试验正在开展,但是由于肿瘤异质性、耐药性以及药物的不良反应,只有少数患者能够获益。因此,加快基础实验研究向临床研究的转化,将基因组学研究纳入临床试验中,验证基因突变对药物代谢和效应的作用,继续寻找新型药物,是未来的研究方向。

[参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [2] ARNOLD M, SOERJOMATARAM I, FERLAY J, et al. Global incidence of oesophageal cancer by histological subtype in 2012[J]. *Gut*, 2015, 64(3): 381-387. DOI:10.1136/gutjnl-2014-308124.
- [3] NIK-ZAINAL S, DAVIES H, STAAF J, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences [J]. *Nature*, 2016, 534(7605): 47-54. DOI: 10.1038/nature17676.
- [4] PETLJAK M, ALEXANDROV L B, BRAMMELD J S, et al. Characterizing mutational signatures in human cancer cell lines reveals episodic APOBEC mutagenesis[J]. *Cell*, 2019, 176(6): 1282-1294. DOI:10.1016/j.cell.2019.02.012.
- [5] LIN D C, DINH H Q, XIE J J, et al. Identification of distinct mutational patterns and new driver genes in oesophageal squamous cell carcinomas and adenocarcinomas[J]. *Gut*, 2018, 67(10): 1769-1779. DOI:10.1136/gutjnl-2017-314607.
- [6] ALEXANDROV L B, NIK-ZAINAL S, WEDGE D C, et al. Signatures of mutational processes in human cancer [J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 415-421. DOI: 10.1038/nature12477.
- [7] SAWADA G, NIIDA A, UCHI R, et al. Genomic landscape of esophageal squamous cell carcinoma in a Japanese population[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(5): 1171-1182. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.01.035.
- [8] CHANG J, TAN W L, LING Z Q, et al. Genomic analysis of oesophageal squamous-cell carcinoma identifies alcohol drinking-related mutation signature and genomic alterations[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15290. DOI:10.1038/ncomms15290.
- [9] SUO C, YANG Y J, YUAN Z Y, et al. Alcohol intake interacts with functional genetic polymorphisms of aldehyde dehydrogenase (ALDH2) and alcohol dehydrogenase (ADH) to increase esophageal squamous cell cancer risk[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(4): 712-725. DOI:10.1016/j.jtho.2018.12.023.
- [10] LI X C, WANG M Y, YANG M, et al. A mutational signature associated with alcohol consumption and prognostically significantly mutated driver genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(4): 938-944. DOI: 10.1093/annonc/mdy011.
- [11] DU P N, HUANG P D, HUANG X L, et al. Comprehensive genomic analysis of Oesophageal Squamous Cell Carcinoma reveals clinical relevance[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 15324. DOI:10.1038/s41598-017-14909-5.
- [12] CUI Y P, CHEN H Y, XI R B, et al. Whole-genome sequencing of 508 patients identifies key molecular features associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cell Res*, 2020, 30(10): 902-913. DOI:10.1038/s41422-020-0333-6.
- [13] GAO Y B, CHEN Z L, LI J G, et al. Genetic landscape of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(10): 1097-1102. DOI:10.1038/ng.3076.
- [14] QING T, ZHU S B, SUO C, et al. Somatic mutations in ZFH4 gene are associated with poor overall survival of Chinese esophageal squamous cell carcinoma patients[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 4951. DOI:10.1038/s41598-017-04221-7.
- [15] GUO J T, HUANG J K, ZHOU Y, et al. Germline and somatic variations influence the somatic mutational signatures of esophageal squamous cell carcinomas in a Chinese population[J]. *BMC Genom*, 2018, 19: 538. DOI:10.1186/s12864-018-4906-4.
- [16] LIN D C, HAO J J, NAGATA Y, et al. Genomic and molecular characterization of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(5): 467-473. DOI: 10.1038/ng.2935.
- [17] YANG Y, WANG M, LIU B. Exploring and comparing of the gene expression and methylation differences between lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4454-4459. DOI:10.1002/jcp.27240.
- [18] DUBOT C, BERNARD V, SABLIN M P, et al. Comprehensive genomic profiling of head and neck squamous cell carcinoma reveals FGFR1 amplifications and tumour genomic alterations burden as prognostic biomarkers of survival[J]. *Eur J Cancer*, 2018, 91: 47-55. DOI:10.1016/j.ejca.2017.12.016.
- [19] QIN H D, LIAO X Y, CHEN Y B, et al. Genomic characterization of esophageal squamous cell carcinoma reveals critical genes underlying tumorigenesis and poor prognosis[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(4): 709-727. DOI:10.1016/j.ajhg.2016.02.021.
- [20] DAI W, KO J M Y, CHOI S S A, et al. Whole-exome sequencing reveals critical genes underlying metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Pathol*, 2017, 242(4): 500-510. DOI: 10.1002/path.4925.
- [21] SONG Y, LI L, OU Y, et al. Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer[J]. *Nature*, 2014, 509(7498): 91-95. DOI: 10.1038/nature13176.
- [22] BROWN J, STEPIEN A J, WILLEM P. Landscape of copy number aberrations in esophageal squamous cell carcinoma from a high endemic region of South Africa[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20: 281. DOI:10.1186/s12885-020-06788-3.
- [23] SHI Z Z, LIANG J W, ZHAN T, et al. Genomic alterations with impact on survival in esophageal squamous cell carcinoma identified by array comparative genomic hybridization[J]. *Genes Chromosom Cancer*, 2011, 50(7): 518-526. DOI: 10.1002/gcc.20875.
- [24] LI M, CUI X B, SHEN Y Y, et al. OROAV1 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.humphath.2015.01.009.
- [25] HU X X, MOON J W, LI S B, et al. Amplification and overexpression of CTTN and CCND1 at chromosome 11q13 in Esophagus squamous cell carcinoma (ESCC) of North Eastern

- Chinese Population[J]. *Int J Med Sci*, 2016, 13(11): 868-874. DOI: 10.7150/ijms.16845.
- [26] WANG P J, SHAN L, XUE L Y, et al. Genome wide copy number analyses of superficial esophageal squamous cell carcinoma with and without metastasis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 5069-5080. DOI: 10.18632/oncotarget.13847.
- [27] ZHANG W M, HONG R X, LI L, et al. The chromosome 11q13.3 amplification associated lymph node metastasis is driven by miR-548k through modulating tumor microenvironment[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17: 125. DOI:10.1186/s12943-018-0871-4.
- [28] YU Y, CAO J, WU W B, et al. Genome-wide copy number variation analysis identified ANO1 as a novel oncogene and prognostic biomarker in esophageal squamous cell cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(10): 1198-1208. DOI:10.1093/carcin/bgz077.
- [29] ZHANG L, ZHOU Y, CHENG C, et al. Genomic analyses reveal mutational signatures and frequently altered genes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Am J Hum Genet*, 2015, 96(4): 597-611. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.02.017.
- [30] The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma[J]. *Nature*, 2017, 541(7636): 169-175. DOI:10.1038/nature20805.
- [31] SANFORD N N, MAHAL B A, ROYCE T J, et al. Sex disparity and copy number alterations in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2019, 17(6): 1207-1209. DOI: 10.1016/j.cgh.2018.08.026.
- [32] WANG F, REN C, ZHAO Q, et al. Association of frequent amplification of chromosome 11q13 in esophageal squamous cell cancer with clinical benefit to immune check point blockade[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15_suppl): 4036. DOI: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.4036.
- [33] GAO X L, LEONE G W, WANG H Z. Cyclin D-CDK4/6 functions in cancer[M]//*Advances in Cancer Research*. Amsterdam: Elsevier, 2020: 147-169. DOI:10.1016/bs.acr.2020.02.002
- [34] SU D, ZHANG D D, JIN J Y, et al. Identification of predictors of drug sensitivity using patient-derived models of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 5076. DOI:10.1038/s41467-019-12846-7.
- [35] YAN T, CUI H Y, ZHOU Y, et al. Multi-region sequencing unveils novel actionable targets and spatial heterogeneity in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 1670. DOI: 10.1038/s41467-019-09255-1.
- [36] LIU Z T, CHEN Z H, WANG J Y, et al. Mouse avatar models of esophageal squamous cell carcinoma proved the potential for EGFR-TKI afatinib and uncovered Src family kinases involved in acquired resistance[J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11: 109. DOI: 10.1186/s13045-018-0651-z.

[收稿日期] 2020-05-19

[修回日期] 2020-09-12

[本文编辑] 黄静怡