

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.015

· 综述 ·

## 食管鳞状细胞癌研究模型：细胞系、动物移植模型和 3D 培养模型

### Esophageal squamous cell carcinoma models: cell lines, xenografts and 3D culture models

刘董剑<sup>1,2a</sup> 综述; 杨凌<sup>2</sup> 审阅 (1. 内蒙古医科大学 研究生院, 呼和浩特市土默特左旗 010110; 2. 内蒙古医科大学附属医院 a. 内蒙古自治区医学细胞生物学重点实验室; b. 临床医学研究中心, 呼和浩特市回民区 010050)

**[摘要]** 食管癌是常见的消化道恶性肿瘤, 易转移及复发的性质常常导致病人呈现出明显的致死性风险。国内一些地区食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的发病率相对较高, 严重威胁着人类的健康和生命而成为肿瘤研究的重要方向。食管鳞状细胞癌的发生发展是一系列因素累积及相互作用的复杂过程, 其克隆性增殖会造成肿瘤细胞内微观水平的表达异常和信号传导通路级联反应效应的改变, 形成具有不同性质的细胞亚群。肿瘤细胞间不同细胞亚群在细胞分子水平甚至基因表达层面呈现出比较明显的异质性, 由此引发肿瘤细胞对药物的敏感性下降及抗药性现象的出现。很多食管癌移植模型被用于了解肿瘤的性质和病理生理学特点, 有助于探索肿瘤细胞内的发生机制, 为推动肿瘤研究和治疗提供了重要的价值。随着肿瘤类器官培养技术获得突破性进展, 肿瘤细胞的 3D 培养模型能够重现亲代肿瘤细胞的生物学性质, 成为探索肿瘤发生机制和基因序列异常表达的工具, 为肿瘤的研究提供了重要的平台, 并推动肿瘤研究和治疗向前迈进及取得重要进展。本文对常用的 ESCC 的研究模型作一综述。

**[关键词]** 食管鳞状细胞癌; 类器官; 3D 培养; 异质性; 异种移植模型

**[中图分类号]** R735.1; R73-35 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)02-0199-12

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的发病率约占中国全部肿瘤发病率的 10%, 居第六位, 是威胁居民健康的常见恶性肿瘤。ESCC 早期往往缺乏典型的症状, 很多患者就诊时已进展到晚期阶段, 导致患者五年生存率低。ESCC 的治疗方式主要有手术治疗、放疗及化疗等治疗手段。随着对 ESCC 发生的分子机制的研究进展, 一系列靶向药物被用于治疗食管癌患者。不论是综合治疗还是新辅助治疗, 这些治疗方法初期对食管癌病人具有一定疗效, 但随着治疗时间延长和治疗次数的增加, 食管肿瘤易发生转移和复发, 甚至造成患者死亡。由于 ESCC 的发生机制非常复杂, 涉及许多遗传和环境因素, 是多个环节相互作用的最终结果。肿瘤细胞内常有微观分子水平表达的异常, 最多见的是原癌基因的激活、抑癌基因的失活、生长有关的信号分子以及信号转导通路的调控异常。因此, ESCC 患者目前治疗的效果不是很理想。

ESCC 的研究和探索是一项艰巨的任务。早期, 肿瘤研究面临很多困难, 很难近距离观察肿瘤发生发展过程及研究肿瘤病理生理学特点。研究者尝试将肿瘤细胞接种到免疫缺陷的小鼠皮下, 成功地形成了移植瘤。因动物移植瘤模型可以构建近似人体的肿瘤生长环境, 能够反应肿瘤细胞间的差异性, 有利于研究肿瘤细胞的性质和特征, 被广泛用

于肿瘤的基础研究和药物筛查。通过动物移植模型发现, 很多肿瘤细胞内存在 Rb、p53 抑癌基因失活<sup>[1-2]</sup>。原癌基因 RAS、c-Myc 和 DGK $\alpha$  的激活也会导致肿瘤的发生, DGK $\alpha$  的表达与各种炎症性 ESCC 的恶性程度及 AKT/NF- $\kappa$ B 的活性密切相关<sup>[3]</sup>。动物移植模型可以作为探索 ESCC 的分子机理, 并可以从其中找到用于治疗肿瘤细胞的靶点。肿瘤研究过程中会使用多种模型, 包括细胞系模型、原位移植模型和异种移植模型。许多肿瘤细胞系移植模型在培养过程中会产生异质性或药物抗性, 表现出多样性和差异性, 有利于推动肿瘤的研究进展。

近十年新出现的肿瘤干细胞培养技术获得突破性进展, 肿瘤细胞 3D 培养成为了研究肿瘤的有力工具。肿瘤细胞 3D 模型具有很多优点, 可以反应肿瘤细胞间或与微环境的影响因素和特点, 对肿瘤的研究具有广阔的前景。

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 31960153); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(No. 2018MS08076)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31960153) and the Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2018ms08076)

**[作者简介]** 刘董剑(1987-), 硕士生, 主要从事食管癌发生发展的机制研究, E-mail: 3196796279@qq.com

**[通信作者]** 杨凌(YANG Ling, corresponding author), 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事食管癌相关的基础与临床研究, E-mail: yanglingshmily@126.com

## 1 ESCC 细胞系模型

ESCC 主要包括 ECA、TE 和 KYSE 细胞系, 分为高分化、中分化和低分化三型。很多 ESCC 细胞系来自原发型、转移性和异种移植模型的肿瘤, 肿瘤细胞间存在不同程度的形态和结构的差异。自

HeLa 细胞系开发以来, 肿瘤细胞系已经开发并用于确定肿瘤发生背后的机制和确定治疗反应的标记物<sup>[4]</sup>。很多 ESCC 细胞系常被用于基础研究, 同时也会导致衍生而来的化疗和放疗抗性细胞系的产生。表 1、2 总结了常见 ESCC 细胞系及亚型的特点及性质。

表 1 ESCC 细胞系及亚型

名称	病理学性质	起源	分化程度	参考文献
ECA109	鳞癌	原位	高分化	[5-14]
TE-1	鳞癌	原位	高分化	[15-20]
TE-3	鳞癌	原位	高分化	[21-22]
KYSE-30	鳞癌	转移	高分化	[23-27]
KYSE-180	鳞癌	转移	高分化	[23]
KYSE-190	鳞癌	转移	高分化	[23]
KYSE-270	鳞癌	转移	高分化	[23]
KYSE-450	鳞癌	原位	高分化	[23]
KYSE-510	鳞癌	转移	高分化	[23]
TE-8	鳞癌	转移	中分化	[28-31]
TE-12	鳞癌	转移	中分化	[32-35]
KYSE-140	鳞癌	转移	中分化	[23, 36-39]
KYSE-170	鳞癌	转移	中分化	[23]
KYSE-220	鳞癌	转移	中分化	[23]
KYSE-280	鳞癌	转移	中分化	[23]
KYSE-350	鳞癌	转移	中分化	[23]
KYSE-360	鳞癌	转移	中分化	[23]
KYSE-520	鳞癌	转移	中分化	[23]
TE-2	鳞癌	转移	低分化	[40-43]
TE-13	鳞癌	转移	低分化	[44-47]
TE-7	鳞癌	转移	低分化	[48-51]
EC9706	鳞癌	转移	低分化	[52-54]
KYSE-50	鳞癌	转移	低分化	[23, 34, 55-57]
KYSE-70	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-110	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-150	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-200	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-240	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-390	鳞癌	转移	低分化	[23]
KYSE-410	鳞癌	转移	低分化	[23]

表 2 ESCC 放化疗抗性细胞系

名称	特征	母细胞	治疗	参考文献
Eca109/DDP	化疗抗性	ECA109	顺铂	[57-58]
TE-1/DDP	化疗抗性	TE-1	顺铂	[57-58]
SLMT-1/ CDDP1R	化疗抗性	SLMT-1	顺铂	[59]
TE1-GEF	化疗抗性	TE-1	吉非替尼	[60]
KYSE-450GEF	化疗抗性	KYSE-450	吉非替尼	[60]
ECA109R	放疗抗性	ECA109	放疗	[61]
TE-1R	放疗抗性	TE-1	放疗	[62]
TE13R120	放疗抗性	TE-13	放疗	[63]
ECA109R60	放疗抗性	ECA109	放疗	[63]
KYSE-150R	放疗抗性	KYSE-150	放疗	[64-65]

### 1.1 高分化 ESCC 细胞系

研究常用的高分化 ESCC 细胞系主要包括 ECA109、TE-1、TE-3 及 6 种 KYSE 细胞系。

ECA109 细胞系是高度分化的肿瘤细胞, 具有较强的增殖能力。研究<sup>[5]</sup>发现, Eca109 细胞基因组中整合了 HPV 基因, 而我国食管癌高发区的食管癌和食管上皮增生的患者中 HPV 的感染显著高于正常人群<sup>[6-7]</sup>。整合到肿瘤细胞内 DNA 的病毒癌基因会造成原癌基因的激活和基因异常表达。肿瘤细胞内 HPV16E6 的高表达显示出了更高的增殖和迁移的能力<sup>[8]</sup>。Eca109 细胞内存在基因组点突变、插入或缺失, 以至于导致肿瘤细胞内 DNA 发生结构变异和拷贝数异常。肿瘤细胞内 mtDNA 的突变会影响核编码的线粒体内运输蛋白、ATP 能量产生相关蛋白及线粒体电子呼吸链蛋白等线粒体相关蛋白<sup>[9]</sup>。因此, 食管鳞状细胞内基因突变与基因组表达的产物异常密切相关。通过基因表达谱分析发现, ECA109 细胞与正常食管上皮细胞的基因序列存在明显差异, 有助于深入了解肿瘤癌变的分子机制<sup>[10]</sup>。此外, 低氧条件下 Eca109 细胞内 HIF-1 $\alpha$  蛋白表达增多, 可能通过下调 E-钙黏蛋白和上调 MMP-2 的表达, 影响相应肿瘤细胞遗传物质的转入和表达, 能明显促进 ESCC 在体内外的侵袭及迁移<sup>[11]</sup>。miR-455-5p 作为结合于细核内 3'-非翻译区并调节表达的细胞调节因子, 可以调节 ESCC 中 Rab31 蛋白的表达, Rab31 的过表达会促进 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[12]</sup>。所以, ECA109 细胞的增殖分化受到细胞内小分子物质的影响。ECA109 细胞信号通路的异常激活会导致肿瘤细胞的恶变, 而葡萄籽原花青素提取物 (GSPE) 会激活肿瘤细胞内 caspase-3, 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路的激活, 通过减少炎症细胞因子的分泌, 诱导 ECA109 细胞凋亡并抑制其增殖<sup>[13]</sup>。组蛋白去乙酰化酶 6 基因 (HOXC6) 作为细胞内

miR-30b-5p 的靶基因, 过度表达会促使肿瘤细胞的侵袭、转移和增殖<sup>[14]</sup>。抑制肿瘤相关靶基因可以成为治疗肿瘤的重要途径, 对肿瘤的临床治疗具有重要前景。

TE-1 细胞系是高度分化的肿瘤细胞, 细胞内小分子物质 (小干扰 RNA、miRNA、piRNA 以及长链非编码 RNA) 呈现高表达。最近几年, 通过 RT-PCR 技术检测到了 TE-1 细胞内更多的 circ RNA 表达<sup>[15-16]</sup>。肿瘤细胞内一些 circRNA 的表达明显高于邻近正常组织<sup>[17]</sup>。肿瘤细胞内 CircRNA hsa-circ-0000337 表达上调, 会通过调节肿瘤增殖和侵袭来影响疾病的进展<sup>[17]</sup>。ESCC 内 siRNA 是一个长 20 到 25 个核苷酸的小干扰 RNA, 可以通过调节基因的表达而影响肿瘤的生长。TE-1 细胞内 DUXAP8 可以通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号途径引起 ESCC 的启动和进展<sup>[18]</sup>。肿瘤细胞内 DUXAP8 在 siRNA 干扰下表达减少, 会抑制肿瘤细胞的克隆及侵袭能力。TE-1 细胞内 ECRG4 基因表达下调, 明显抑制了肿瘤细胞的恶变。NF- $\kappa$ B 作为细胞内具有调节作用的核因子, 可以通过抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸酯而抑制 NF- $\kappa$ B p65 核移位和泛素结合酶 E2 (UBE2C) 的表达, UBE2C 基因敲除会显著抑制肿瘤细胞增殖并诱导细胞凋亡。因此, ECRG4 可以通过细胞内 NF- $\kappa$ B 信号而下调 UBE2C 的表达, ECRG4 基因的沉默或敲除会促进肿瘤细胞增殖并抑制细胞凋亡<sup>[19]</sup>。此外, 敲除 TE-1 细胞 VEGFC、CTTN 基因导致肿瘤细胞增殖率下降且凋亡率明显增高<sup>[20]</sup>。

TE-3 细胞系是高度分化的肿瘤细胞, 具有较强的侵袭外周基质的倾向。肿瘤细胞内几乎均表达过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ )。通过单克隆抗体检测发现, ESCC 细胞内均呈现 PPAR- $\gamma$  mRNA 及相关蛋白的表达, 而 troglitazone 会诱导肿瘤细胞发生明显凋亡。PPAR- $\gamma$  可以诱导细胞凋亡, 因而成为

治疗 ESCC 的靶点<sup>[21]</sup>。细胞因子表达异常会影响肿瘤细胞的增殖凋亡, 甚至促进肿瘤的进展。miRNA 参与细胞内基因的表达调控。TE-3 细胞内 miR-10a 表达显著降低, 过表达的 miR-10a 会显著抑制肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭, 并促进肿瘤细胞凋亡。T 淋巴瘤侵袭转移诱导蛋白-1 (TIAM1) 是 miR-10a 的直接靶基因, 沉默 TIAM1 会导致 ESCC 细胞生长和侵袭能力下降, 同时可促进肿瘤细胞凋亡, 引起 G0/G1 峰的积累。此外, miR-10a 可以 TIAM1 为靶点发挥新的抗癌作用<sup>[22]</sup>。

KYSE-30、180、190、270、450 和 510 是分化程度高的肿瘤细胞, 通过培养可以形成贴壁细胞<sup>[23]</sup>。KYSE-30 细胞可以在免疫缺陷小鼠皮下移植成瘤。通过测序 (RNA-seq) 分析细胞基因的图谱发现, ESCC 细胞内基因 (miR-21, miR-134, miR-205, miR-495) 与肿瘤相关基因 (MET、MMP-9、PDGFA、SERPINE1) 的表达密切相关, 从而影响肿瘤细胞的增殖和侵袭。miR-134 与 MMP9 的表达呈现相关性<sup>[24]</sup>, ESCC 细胞内 MMP-9 呈高表达<sup>[25]</sup>。髓样嗜热病毒整合位点 1 (MEIS1) 作为细胞内同位序列转录因子, 对肿瘤细胞的影响具有双重作用。KYSE-30 细胞内 MEIS1 基因沉默会增加上皮标志物的表达, 降低 EMT 标志物 TWIST1 的表达。MEIS1 基因沉默会促进 ESCC 细胞株 KYSE-30 的分化, 降低 EMT 能力<sup>[26]</sup>。KYSE-30 细胞内肿瘤信号通路的异常调节会影响 ESCC 的转移。人乙醚相关基因 1 (HERG1) 基因的表达增加会促进肿瘤的恶变。ESCC 组织中 HERG1 表达高于癌旁组织, HHERG1 基因敲除会降低 ESCC 的生长和转移, HERG1 表达变化会影响肿瘤细胞周期及 EMT 相关蛋白表达, 而含有蛋白质 5 的硫氧环蛋白结构域 (TXNDC5) 的表达会逆转此效应。此外, HERG1 的表达会改变 PI3K 和 AKT 磷酸化, 从而影响 TXNDC5 的表达<sup>[27]</sup>。所以, HERG1 作为肿瘤治疗的靶点具有重要临床研究价值。

## 1.2 中分化 ESCC 细胞系

研究常用的中分化 ESCC 细胞系包括 TE-8、TE-12 及 7 种 KYSE 细胞。

TE-8 细胞具有较强的侵袭能力。TE-8 细胞内剪切蛋白 (DBHS) 如 p54nrb、PSF、PSPC1 呈现过表达, 导致肿瘤细胞侵袭和迁移能力增强<sup>[28-29]</sup>。TE-8 细胞内 miR-574-3p 的表达降低, 抑制肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移, 促进肿瘤细胞凋亡, 并具有 FAM3C 相似性的序列和有丝分裂原活化蛋白 (MAPK1) 靶点。miR-574-3p 通过 FAM3C 和 MAPK1 信号途径的调节会抑制 PI3K/AKT、Raf/MEK 或 ERK 信号通路。因此, miR-574-3p 通过调控 FAM3C 和

MAPK1 抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭, 为 ESCC 的治疗提供了新的生物标志物<sup>[30]</sup>。Snail-1 是一种转录因子, 参与肿瘤侵袭和进展有关的过程。沉默 Snail-1 基因能明显降低 TE-8 细胞内波形蛋白 (vimentin)、CXCR4 和 MMP-9 的 mRNA 表达, 同时 miR-34a 和 let-7a 的转录水平表达, 诱导肿瘤细胞凋亡及抑制细胞迁移<sup>[31]</sup>。

TE-12 细胞具有较强的增殖能力, 细胞内 P63 表达上调, 参与细胞内 (HB)-EGF 和 EGFR 基因的转录调控<sup>[32]</sup>。通过基因编辑敲除肿瘤细胞内单核苷酸链中的 P63 基因, 导致 TE-12 细胞呈现侵袭性降低, vimentin、twist、SUSD2 及 uPA 的 mRNA 和蛋白表达水平降低, 同时显著降低  $\beta$ -catenin 和 c-Myc 表达水平, 通过激活  $\beta$ -catenin/c-Myc 途径调节肿瘤细胞的侵袭和迁移<sup>[33]</sup>。TE-12 细胞内 PIK3C3 表达明显降低, 而 PIK3C3 高表达会抑制肿瘤细胞的增殖, 并提高肿瘤细胞对放疗的敏感性。miR-340-5p 可直接结合并负调控 PIK3C3 的表达, 而阻断 miR-340-5p 的表达会促进 ESCC 细胞增殖, 但解除 PIK3C3 的表达会逆转此作用<sup>[34]</sup>。DOK7 的强表达会抑制 TE-12 细胞的增殖, DNA 甲基化抑制剂 5-AzaC 会诱导细胞内 DOK7 启动子去甲基化及 DOK7 表达。DNMT3A 基因沉默可降低 DOK7 的甲基化, 增加 DOK7 的表达, 进而抑制 ESCC 细胞的增殖和侵袭<sup>[35]</sup>。

KYSE-360、140、170、220、280、350 和 520 细胞具有较强的侵袭和体外移植成瘤能力。KYSE-360 在胶原蛋白涂层的培养皿中不会呈单层生长, 能够观察到细胞悬浮呈聚集物<sup>[23]</sup>。BNIP3 是一种介导肿瘤细胞凋亡、坏死和自噬的促凋亡蛋白<sup>[36]</sup>。通过 MSP 技术分析发现, KYSE-140 细胞基因组内 BNIP3 启动子区发生了明显的甲基化, 常表现为组蛋白 H3-K9 甲基化、DNA 甲基化及 BNIP3 低表达。缺氧时, HIF-1 $\alpha$  的表达下调会导致 BNIP3 基因表达受到明显抑制, 而肿瘤细胞 DNA 甲基化可以抑制 BNIP3 的表达, 从而抑制肿瘤细胞凋亡<sup>[37]</sup>。外界理化因素会导致肿瘤细胞内基因结构的变化, 从而影响肿瘤细胞的侵袭性质。KYSE-140 细胞内 DNMT3OS 表达水平较高, 通过调节 DNA 损伤反应 (DDR) 表现为具有显著放疗抗性作用。CAF 以 PDGF $\beta$ /PDGFR $\beta$ /FOXO1 信号通路依赖的方式促进 DNMT3OS 的表达, PDGF $\beta$ /PDGFR $\beta$  信号通路下游的转录因子 FOXO1 通过与 DNMT3OS 启动子结合会启动 DNMT3OS 的转录表达<sup>[38]</sup>。KYSE-140 细胞内 cinobufagin (华蟾蜍苷) 通过上调 p21、Wee1 的表达, 并下调细胞周期蛋白 B1 和 Cdc2 在 mRNA 和蛋白水平上的表达, 导致 G2/M 期阻滞。同时, 细胞内 caspase-3、Puma、

Noxa 基因的表达上调和 Bax/Bcl-2 比值增加, 可诱导 KYSE-140 细胞凋亡; 此外, 细胞内 cinobufagin 会促进 p73 的表达增加, 并降低 Mdm2 的表达, 但 p53 的表达没有发生明显变化<sup>[39]</sup>。表明, cinobufagin 对食管癌细胞的生长抑制作用可能通过 p73 途径及其下游分子发挥作用。

### 1.3 低分化鳞癌细胞系

研究常用的低分化 ESCC 细胞系包括 TE-2、TE-13、TE-7 及 8 种 KYSE 细胞。

TE-2 细胞具有高度的侵袭、转移能力, 敲低细胞中 miR-30b 的表达导致 CBX3 表达上调。CBX3 是 miR-30b 的直接靶点, miR-30b 的过度表达显著降低了 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/JAK3 的表达水平, 而 CBX3 的高表达会明显逆转这种效应。因此, miR-30b 的下调可能通过激活 CBX3 靶点和 JAK2/STAT3 信号通路, 促进肿瘤细胞增殖、迁移及抑制凋亡<sup>[40-41]</sup>。TE-2 细胞内 microRNA-429 具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞周期停滞及促进细胞凋亡的作用。TE-2 细胞中 miR-429 表达下调、RAB23 表达上调。RAB23 是 miR-429 的直接靶基因, 其表达受 miR-429 调控, 且 miR-429 通过 NF- $\kappa$ B 途径抑制细胞的增殖、迁移并介导肿瘤细胞 EMT<sup>[42]</sup>。肿瘤细胞内 H4R 呈现过度表达, 而 H4R 的激活会显著抑制肿瘤细胞增殖、侵袭, 并导致细胞周期停滞及抑制肿瘤细胞的生长。此外, 肿瘤细胞内代谢和非代谢相关途径涉及 H4R 抑制肿瘤增殖和侵袭作用的活性, 表明 H4R 可能是 ESCC 治疗的新靶点<sup>[43]</sup>。

TE-13 细胞具有明显的侵袭能力。N-myc 下游调节基因 2 (NDRG2) 是抑癌基因, ESCC 组织中 NDRG2 呈低表达、p-AKT 和 XIAP 高表达。TE-13 细胞中, NDRG2 的过表达会抑制 AKT/XIAP 信号通路及 EMT 相关蛋白的表达, 并抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭<sup>[44-45]</sup>。TE-13 细胞内 S1PR1 呈高水平表达, 通过激活 p-STAT3 途径而促进细胞增殖。因此, 肿瘤细胞内 S1PR1 的表达产物可作为临床应用的预后标志物<sup>[46]</sup>。肿瘤细胞表面 CD44 分子与细胞和细胞基质的黏附有关, 异质性黏附会促进肿瘤细胞的侵袭转移。TE-13 细胞内 CD44 表达上调, 而 miR-34a 表达下调, 两者的表达水平呈负相关, 且 miR-34a 会与 CD44 3'UTR 中一个特定的结合位点相互作用, 负调控 CD44 的表达。过表达 miR-34a 抑制 TE-2 细胞的侵袭和迁移, 而 miR-34a 基因敲除则相反<sup>[47]</sup>。

TE-7 细胞具有很强的增殖和转移能力。研究<sup>[48]</sup>表明, TE-7 是鳞癌细胞而不是腺癌细胞, 与 TE-2、TE-13 拥有相同的基因型。调节蛋白 KSRP 是一种 RNA 结合蛋白, 可调节许多编码免疫相关蛋

白的 mRNA 的稳定性。TE-7 细胞内 KHSRP 表达水平显著降低, 导致肿瘤细胞停滞在 G0/G1 期, 且细胞增殖和侵袭能力降低<sup>[49]</sup>。Msi1 是肿瘤干细胞相关标志物, 在 TE-7 细胞内出现高表达。敲低 Msi1 会抑制细胞的增殖、迁移, 并诱发肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞球的形成能力<sup>[50]</sup>。TE-7 细胞内 miR-31 具有抑癌作用, 而 P21 很少在其肿瘤细胞中表达。与此同时, miR-31 仅在细胞内 p21 表达水平较低时下调靶癌基因的表达。miR-31 具有 p21 依赖性的抑癌作用, 可以为 p21 缺陷性肿瘤的鳞状细胞癌患者的个体化治疗提供潜在的治疗靶点<sup>[51]</sup>。

EC9706 细胞具有高度的侵袭和转移能力。低氧条件下, EC9706 细胞周期阻滞于 S 期, 改变肿瘤细胞的组织形态, 并抑制细胞生长和增殖, 且细胞对顺铂的敏感性降低<sup>[52]</sup>。miR-486 是维持细胞功能及基因正常表达的调节因子, 在 ESCC 细胞内的表达明显低于正常食管鳞状细胞组织。miR-486 过表达会显著抑制 EC9706 细胞的集落形成能力, 诱导细胞 G0/G1 期阻滞及凋亡, 并抑制肿瘤细胞迁移及侵袭能力; 敲除 CDK4/BCAS2 基因具有与 miR-486 过表达一样的作用, 且细胞内凋亡信号分子 p21、caspase-3 表达上调。因此, miR-486 可能通过靶向 CDK4/BCAS2 抑制食管癌细胞生长和转移<sup>[53]</sup>。PSMD7 是 19S 蛋白酶体亚单位, 在大多数癌细胞中过度表达。EC9706 细胞内 PSMD7 出现高表达, 慢病毒介导 shRNA 的 PSMD7 的下调会导致肿瘤细胞增殖减少及细胞凋亡增加, 蛋白酶体功能降低。同时, EC9706 细胞内 mTOR 和 p70S6K 表达下降, 抑制 mTOR/p70S6K 信号途径的活性<sup>[54]</sup>。所以, PSMD7 和 mTOR/p70S6K 通路可能是开发 ESCC 治疗方法的一个有前途的治疗靶点。

KYSE-50、70、110、150、200、240、390 和 410 细胞具有显著的增殖和侵袭能力<sup>[23]</sup>。KYSE-50 和 KYSE-70 可以在无胸腺小鼠皮下接种成瘤, 其它细胞系可通过原代培养形成贴壁细胞。KYSE50 在培养皿会生长成悬浮聚集物, 其他细胞系是单层生长并形成表皮形态特征。miR-340-5p 是细胞内重要的 microRNA 调节分子, PIK3C3 是细胞自噬的早期关键分子。ESCC 组织中 PIK3C3 呈低表达, miR-340-5p 会下调 PIK3C3 的表达。敲降 miR-340-5p 会促进 KYSE-150 细胞增殖, 而 PIK3C3 会逆转此现象<sup>[34]</sup>。因此, miR-340-5p 通过直接结合和抑制 PIK3C3 的表达, 可以作为治疗肿瘤癌基因靶点发挥作用。KYSE-150 肿瘤细胞内 miR-124-3p 表达下调, 与肿瘤细胞增殖、迁移和 TNM 分期高度相关。miR-124-3p 直接以 BCAT1 的 mRNA 3'UTR 区为靶点, 其表达会导致细胞内 BCAT1 表达上调; 同时 miR-124-3p

的上游调控机制涉及 DNA 甲基转移酶 1 (DNMT1) 介导的高甲基化沉默调控, 因此 KYSE-150 细胞内 DNMT1 呈高表达。因此, 敲除 DNMT1 基因或抑制 DNMT1 功能会导致 miR-124-3p 和 BCAT1 表达下调, DNMT1/miR-124/BCAT1 轴向调控阐明 ESCC 发生发展的新机制<sup>[55]</sup>。PI3K/AKT、MAPK 和 p53/p21 信号通路参与了肿瘤的启动和发展, 对肿瘤的增殖具有重要作用。KYSE-150 细胞内 crocetin 会抑制 PI3K/AKT 信号途径, 导致细胞外信号调节激酶-1/2 (ERK1/2) 和 p38 的激活, 并上调 p53/p21 的表达, 最终会触发线粒体介导的凋亡途径和导致 MMP 的破坏, 引发 Bax 和 caspase-3 水平的升高及 Bcl-2 水平的降低<sup>[56]</sup>。

#### 1.4 ESCC 化疗抗性细胞系

食管鳞状细胞在化疗药物的作用下, 会产生具有药物抗性的细胞系。肿瘤细胞对化疗药物产生的耐药分子机制非常复杂, 导致了肿瘤患者的治疗效果不理想, 甚至产生不断累积的副作用。Eca109/DDP 和 TE-1/DDP 是具有抗性的 ESCC 细胞系。Integrin  $\alpha 5$  在肿瘤细胞内的表达是顺铂耐药性所必需的, 其可以通过促进 FAK/PI3K/AKT/BARD1 信号传导来阻止细胞凋亡并增强 DNA 损伤修复能力<sup>[57]</sup>。通过 TE-1/DDP 细胞系的研究<sup>[58]</sup>发现, TUG1 在 TE-1/DDP 细胞中的表达高于 TE-1 细胞, 而 TUG1 高表达会促进肿瘤细胞增殖, 抑制肿瘤细胞凋亡。与此同时, 可以通过促进多种抗药性蛋白的表达而提高 TE-1/DDP 对顺铂的抗药性。cDNA array 分析显示, 与亲代 SLMT-1 细胞相比, IGFBP5 在 SLMT-1/CDDP1R 细胞中显示出最高水平的下调。亲本 SLMT-1 细胞内 siRNA 介导靶向 IGFBP5 的抑制, 会诱导 CDDP 抗性。肿瘤细胞内 IGFBP5 表达载体上调的 IGFBP5 可使 SLMT-1/CDDP1R 细胞中的顺铂耐药性降低 41%<sup>[59]</sup>。

与亲代 ESCC 细胞相比, 在对吉非替尼耐药的 TE1 和 KYSE-450 细胞中 lncRNA PART1 出现上调。STAT1 可以结合至 lncRNA PART1 的启动子区域, 导致其活化。敲除 lncRNA PART1 可以有效地促进吉非替尼诱导的细胞死亡, PART1 的升高会通过竞争性结合 miR-129 而促进肿瘤细胞内 Bcl-2 的表达, 导致吉非替尼耐药性的产生。与此同时, 细胞外 PART1 可以掺入外泌体而增加吉非替尼的耐药性。因此, 血清外泌体内高水平 lncRNA PART1 与 ESCC 患者吉西替尼抗性密切相关<sup>[60]</sup>。

#### 1.5 ESCC 放疗抗性细胞系

ESCC 在放射治疗下, 会产生具有放疗抗性的细胞系。放射治疗是 ESCC 的辅助治疗方法, 会导

致肿瘤细胞产生放疗抗性。随着治疗时间的延长, 肿瘤放疗抗性变得更加明显。肿瘤细胞内 eEF2K 会诱导肿瘤的进展和放疗抗性的产生, 可能成为提高放射敏感性治疗的 ESCC 潜在的新靶点<sup>[61]</sup>。因此, 肿瘤放疗抗性的研究可能会推动肿瘤的研究进展和给肿瘤临床治疗带来新的前景。

ECA109R 和 TE-1R 是具有放疗抗性的 ESCC 细胞系, 对放疗不敏感。肿瘤细胞的放疗抗性会导致肿瘤的侵袭及远处转移, 与患者的生存几率密切相关。ECA109R 和 TE-1R 细胞内 miR-136 的表达低于癌旁正常组织, 而 MUC1 的 mRNA 和蛋白表达呈现相反的现象。肿瘤细胞内 MUC1 呈现高表达, 而 MIR136 表达降低。因此, 细胞内 MIR136 表达的上调会促进肿瘤细胞凋亡, 并可以提高肿瘤放疗的敏感性<sup>[62]</sup>。E13R120 和 ECA109R60 是一类具有放疗抗性的细胞, 且 NRAGE 表达较高。NRAGE siRNA 转染入 TE13R120 细胞后, 能够显著提高肿瘤细胞的放射敏感性。因此, NRAGE 通过介导的  $\beta$ -catenin 核转位可能是食管癌细胞放疗抗性的原因之一<sup>[63]</sup>。KYSE-150R 细胞对放射治疗具有明显的抗性, 可能与 EMT 的获得及 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径的激活相关。因此, 通过 FH535 抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径, 可以减少 EMT 表型, 并增强 ESCC 细胞的放射敏感性<sup>[64]</sup>。此外, 组蛋白脱乙酰基酶抑制剂 (HDI) 可以增加 KYSE-150R 放射敏感性, 放射诱导 ROS 的生成和 G2/M 阻滞。与放射治疗结合时, HDI 会抑制 KYSE-150R 细胞内 Bmi-1 的表达, 并修复 DNA 损伤的能力<sup>[65]</sup>。因此, HDI 在增强放疗的功效中具有潜在的实用价值。

## 2 小鼠移植瘤模型

ESCC 的启动和进展机制很复杂, 很多模型被用于肿瘤的研究。异种移植模型是较常用的研究肿瘤细胞模型, 在肿瘤机制的研究中具有很多优势。应用异种移植模型的研究可以重现肿瘤细胞的异质性和抗性, 有利于肿瘤标志物的形成。自从高度免疫缺陷小鼠的建立提高了整合率和异种移植模型的成功率<sup>[66]</sup>, 异种植物模型广泛地用于科学研究和药物实验, 极大地推动了肿瘤治疗的进展 (表 3)。

表 3 ESCC 异种移植瘤模型

类型	移植细胞	起源	宿主小鼠	参考文献
皮下移植	TE-1	原位	NOD/SCID	[67-68]
同位移植	ESCC	原位	NOD/SCID	[69-71]
组织来源移植	ESCC	原位/转移	NOD/SCID	[72-77]

## 2.1 皮下移植模型

皮下移植模型是将食管鳞状细胞在免疫缺陷小鼠皮下接种成瘤的移植模型, 广泛被用于临床研究和药物实验。皮下异种移植模型能为 ESCC 的恶变和转移提供研究平台, 有利于观察和了解肿瘤对机体的反应及探索其发病机制。构建皮下异种模型的操作较简单、易于观察的优点使其成为了研究肿瘤特性的有利工具。由于人体微环境环境的复杂性和差异性, 皮下移植模型不能提供接近于机体相似的内环境而具有一定的局限性, 可能更易导致肿瘤细胞间差异性的产生。但是, 尽管皮下移植模型有些不足之处, 但其对 ESCC 的研究进展和治疗具有重要推动作用。

在 TE-1 细胞异种移植模型内发现, 移植瘤组织中 HDAC1 的阳性表达率明显高于癌旁组织, 而且 AR-42 能够通过抑制细胞增殖和诱导凋亡而抑制 ESCC 细胞生长。AR-42 具有抑制肿瘤细胞血管生成的作用, 并通过上调 p21 的表达阻断肿瘤生长相关的多个信号转导途径, 尤其是 Stat3 介导的信号转导途径来发挥抗肿瘤作用<sup>[67]</sup>。因此, 肿瘤细胞信号分子和血管的形成与肿瘤的生长和转移密切相关, 对肿瘤的治疗有很大的启发作用。TE-1 细胞移植瘤组织内 HERG1 的表达总体上高于癌旁组织, 与肿瘤恶化和高死亡率相关, HERG1 基因敲除会降低 TE-1 细胞的生长和转移。HERG1 表达的改变会影响细胞周期、EMT 相关蛋白的表达, 导致磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K) 和 AKT 磷酸化, 并影响 TXNDC5 的表达<sup>[68]</sup>。所以, 将 HERG1 作为靶点的 ESCC 治疗具有潜在的医疗价值。

## 2.2 同位移植模型

ESCC 同位移植模型是将源于患者的 ESCC 细胞或组织接种于免疫缺陷的小鼠食管内膜下形成肿瘤的模式<sup>[69-70]</sup>。由于更接近肿瘤形成的真实环境, ESCC 同位移植模型能够形成与机体肿瘤相似的组织结构和细胞形态, 可以模拟食管癌细胞的特征和性质。ESCC 同位移植模型的构建方法较皮下接种的异种移植模型复杂, 而且成瘤率低。同时, 建立 ESCC 同位移植模型所需时间长, 费用高。相对于同位移植模型常用于其他肿瘤 (肝癌, 子宫癌等) 的研究, ESCC 同位移植模型在实验研究方面很少使用。

ESCC 同位移植模型能更好地模拟肿瘤的生长过程和研究肿瘤发生的演化机制。通过构建同位移植模型, 可以了解影响肿瘤恶变的因素和选择肿瘤的治疗药物。研究<sup>[71]</sup>发现, curcumin 及其类似物

SSC-5 具有抗肿瘤作用, SSC-5 对体外培养的 ESCC 细胞具有诱导凋亡和细胞周期阻滞作用。此外, SSC-5 对同位移植小鼠的治疗会抑制肿瘤的生长和侵袭。所以, ESCC 同位移植模型可以作为筛选肿瘤中新的抗肿瘤化合物的工具。

## 2.3 患者组织来源的移植模型

ESCC 组织来源的移植模型是将源于患者肿瘤活检组织、手术切除标本分离的细胞移植到免疫缺陷小鼠皮下成瘤而构建的移植模型。ESCC 组织来源的移植模型能反应肿瘤的异质性和病理生理学特点, 但构建过程较细胞模型复杂, 生长速度缓慢。1981 年报道了第一个 ESCC PDX 模型<sup>[72]</sup>。研究表明, ESCC PDX 的移植的成功率为 32%~40%, 且组织分化差的肿瘤移植成功率高。大多数 ESCC PDX 肿瘤在病理和遗传上都与其原始肿瘤组织相似, 并且在多次传代后仍能保留此特性<sup>[73]</sup>。有研究<sup>[74-75]</sup>使用 ESCC PDX 模型检测了化疗药物和抗体的治疗效果, 结果说明可以使用 PDX 肿瘤模型进行临床前药物测试和肿瘤生物学的研究。

PDX 模型保留了肿瘤细胞的病理生理特征, 可以有效地反映肿瘤的生物特征和异质性。移植肿瘤具有不同的生长速度和侵袭转移能力, 且具有不同强弱的信号传导途径。PDX 模型是了解 ESCC 潜在分子机制和筛选肿瘤患者新治疗方式的一种较好的策略<sup>[76]</sup>。PDX 模型操作过程稍复杂, 技术要求相对较高。ESCC PDX 模型可以通过将 ESCC 细胞从原发性肿瘤 EG2、EG37、EG60 和 EG84 中分离并进行原代培养, 再接种在 SCID 小鼠皮下构建移植模型。研究<sup>[77]</sup>证明, 在 ESCC-PDX 模型中, 姜黄素能够抑制肿瘤生长、抑制 STAT3 磷酸化和诱导肿瘤细胞凋亡。

肿瘤异种移植动物模型是 ESCC 生物医学研究必不可少的工具, 并为临床前药物筛选提供了重要平台。以上总结的三种异种移植模型都有独特的优点和缺点 (图 1)。除上述应用外, 肿瘤异种移植模型也可用于生物医学成像方面的研究, 特别是对于光学相干断层扫描, 掺入造影剂可以增强对 ESCC 的检测能力, 甚至可以检测早期肿瘤。免疫缺陷小鼠的肿瘤异种移植模型已被广泛使用, 由于其缺乏免疫力, 因此在需要完整免疫系统的研究中用途有限, 目前可以通过使用人源化小鼠解决这种局限性。另一种广泛使用的动物模型是通过转基因技术生成的基因工程小鼠模型。这两种动物模型可与肿瘤异种移植模型并行使用, 以进一步增强研究的临床相关性。

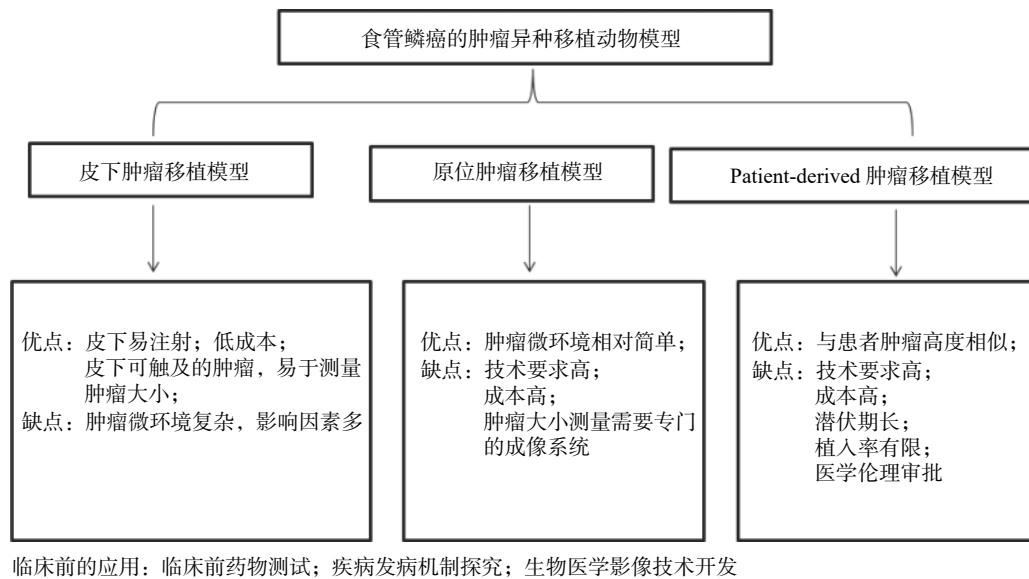


图 1 各种 ESCC 移植模型的特点

### 3 ESCC 的 3D 培养

3D 培养在肿瘤发生机制的研究和微环境对肿瘤细胞生长及恶变影响等研究具有重要的应用, 能更好地反应和探查肿瘤细胞的异质性及药物作用的微观水平变化下的反应。肿瘤微环境对于肿瘤的特性有重要的影响, 而 3D 培养模型能够为肿瘤细胞的培养和传代提供适合的生长环境和维持的营养成分。自从人们发现正常的肠道干细胞可以在基质胶中形成肠道隐窝, 并随着时间的推移保持其形态和基因组正常, 体外 3D 类器官培养物被大量建立起来。最早建立的 3D 培养模型是结直肠癌类器官培养。随后, 此模型在多种肿瘤研究中得到应用和发展, 包括 ESCC<sup>[78]</sup>。3D 模型广泛应用于肿瘤的科学研究及药物实验, 发展成为了研究肿瘤细胞性质的理想培养模型。

OTC 3D 培养是一种有助于研究和探索肿瘤性质的平台, 被广泛应用于研究肿瘤细胞的生物学特点和发生机制。OTC 3D 培养可以观察肿瘤生长的特点及相关因素的影响。与此同时, 其也能够推动肿瘤研究和治疗的进步, 但不利于研究肿瘤间多因素的相互作用。此外, 通过 OTC 的 3D 培养发现, 食管鳞状细胞癌内会出现 EGFR 的过表达和 TP53 突变, 以及 WNT10A 的表达显著上调, 而肿瘤细胞内 WNT10A 的过表达会促进 EPC2-hTERT 肿瘤细胞的迁移、侵袭和增殖, 可能与肿瘤细胞亚群的自我更新有关<sup>[79]</sup>。在 OTC 中, cyclin D1 过表达会诱导 EPC2-hTERT 肿瘤细胞增生, 而侵袭性细胞表现出细胞周期蛋白 D1 和 Wnt 信号的 Notch 独立激活。Notch 信号调节鳞状细胞分化以维持其完整性, 因此可能通过阻止肿瘤促进炎症微环境的发展而起到抑癌的作用<sup>[80]</sup>。

类器官 3D 培养能够研究肿瘤细胞的发生机制和微观水平的信号变化, 为研究肿瘤细胞的病理生理学机制特性提供了潜在的工具。类器官培养可以用于揭示肿瘤细胞与微环境的相互作用及关键因素。3D 类器官培养作为一个强大的基础研究工具, 具有促进个性化医疗的潜力<sup>[81]</sup>。肿瘤细胞抗 CKAP4 抗体可抑制 DKK3 与 CKAP4 的结合, 并诱导肿瘤细胞的异种移植瘤形成。肿瘤细胞内 DKK3、DKK1 或 DNP63a 的表达会促进类器官的生长, 而抗 CKAP4 pAb 会抑制类器官的生长。因此, 评价抗 CKAP4 抗体、抗 CKAP4 抗体对 DKK3 和 CKAP4 均阳性的食管癌类器官的疗效是有意义的<sup>[82]</sup>。在 MPV17-/- 类器官中, 伴随着线粒体分裂蛋白、DRP1 的升高和 mDivi-1 对线粒体分裂抑制作用诱导的细胞转化, 会逆转正常 EEC 类器官的表型。与此同时, mtDNA 拷贝数减少, 激活线粒体逆行反应, 并会增强端粒缺陷及肿瘤细胞的易感性。所以, mtDNA 耗竭的细胞可塑性是通过改变线粒体裂变融合动态介导的<sup>[83]</sup>。

### 4 小结

在过去的几十年中, 基于 ESCC 细胞系及其放化疗抗性细胞系开展了大量的研究。但是, 从癌症组织中建立的少数细胞系, 由于它们的特性通常与原始肿瘤不同, 因此在临床前研究中的应用受到很大限制, 而且基于细胞系的一些结果不能在动物模型和临床实验中得到重复。体外培养技术和移植瘤模型的发展使得源自患者的肿瘤 3D 培养和移植瘤模型成功的建立, 这些方法和模型保留了原始肿瘤的特征和肿瘤异质性, 并且在大规模药物筛选中具有优势。结合当前肿瘤的诊疗向精准医疗发展的趋势, 患者肿瘤组织衍生的培养模型将有利于研究临



床病理生理学表征的和确定最有效的治疗方案。

## 【参 考 文 献】

- [1] YAO J, ZHANG H, LI H, et al. P53-regulated lncRNA uc061hsf.1 inhibits cell proliferation and metastasis in human esophageal squamous cell cancer[J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(3): 401-412. DOI: 10.1002/iub.2196.
- [2] HUANG Y, MELTZER S J, YIN J, et al. Altered messenger RNA and unique mutational profiles of p53 and Rb in human esophageal carcinomas[J]. *Cancer Res*, 1993, 53(8): 1889-1894.
- [3] CHEN J, ZHANG W M, WANG Y, et al. The diacylglycerol kinase  $\alpha$  (DGK $\alpha$ )/Akt/NF- $\kappa$ B feedforward loop promotes esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) progression via FAK-dependent and FAK-independent manner[J]. *Oncogene*, 2019, 38(14): 2533-2550. DOI: 10.1038/s41388-018-0604-6.
- [4] MASTERS J R. HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(4): 315-319. DOI: 10.1038/nrc775.
- [5] 项芸岩,常福聚,王东煜,等.食管癌细胞株Eca109中人乳头瘤病毒(HPV)DNA的检测[J]. *河南肿瘤学杂志*, 1992, 5(2): 8-9, 65.
- [6] LI S Y, SHEN H E, LI J, et al. Prevalence of the integration status for human papillomavirus 16 in esophageal carcinoma samples[J]. *Turkish J Gastroenterol*, 2018, 29(2): 157-163. DOI: 10.5152/tjg.2018.17568.
- [7] LI S Y, LIU Z J, YAN J H, et al. Integration sites of human papillomavirus 18 in esophageal cancer samples[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 7438-7442[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5920840/>. DOI: 10.3892/ol.2018.8191.
- [8] KANG X D, ZHENG Y, CHEN W G, et al. Effects of HPV16E6 transfection on the biological behavior of Eca109 and Eca9706 cells[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 1646-1654[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5776922/>. DOI: 10.3892/ol.2017.7469.
- [9] LIU Z W, CHAI T, ZHANG Y, et al. Identification of abnormal nuclear and mitochondrial genes in esophageal cancer cells[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2817-2826[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5783496/>. DOI: 10.3892/mmr.2017.8228.
- [10] 李沛,凌志强,赵继敏,等.建立cDNA微矩阵基因芯片技术并分析食管癌细胞系Eca109基因表达谱[J]. *生物医学工程学杂志*, 2008, 25(2): 413-418. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5515.2008.02.038.
- [11] 景绍武.低氧对食管癌Eca109细胞体内外侵袭转移的影响及机制研究[D].石家庄:河北医科大学,2012.
- [12] LIU Y, TANG Y P, LI P. Inhibitory effect of microRNA-455-5p on biological functions of esophageal squamous cell carcinoma Eca109 cells via Rab31[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4959-4966. DOI: 10.3892/etm.2018.6820.
- [13] GUO F M, HU Y H, NIU Q, et al. Grape seed proanthocyanidin extract inhibits human esophageal squamous cancerous cell line ECA109 via the NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Mediat Inflamm*, 2018, 2018: 1-12. DOI: 10.1155/2018/3403972.
- [14] LIU C, TIAN X, SUN H B, et al. MiR-601 inhibits the proliferation and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) by targeting HDAC6[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(3): 1069-1076. DOI: 10.26355/eurrev\_201902\_16995.
- [15] ZHENG Q P, BAO C Y, GUO W J, et al. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs[J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11215[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4823868/>. DOI: 10.1038/ncomms11215.
- [16] HE J, XIE Q, XU H, et al. Circular RNAs and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017, 396: 138-144. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.027.
- [17] SONG H, XU D, SHI P Y, et al. Upregulated circ RNA hsa\_circ\_0000337 promotes cell proliferation, migration, and invasion of esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 1997-2006[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6407512/>. DOI: 10.2147/CMAR.S195546.
- [18] XU L J, YU X J, WEI B, et al. Long non-coding RNA DUXAP8 regulates proliferation and invasion of esophageal squamous cell cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(9): 2646-2652. DOI: 10.26355/eurrev\_201805\_14959.
- [19] LI L W, LI X Y, WANG W, et al. UBE2C is involved in the functions of ECRG4 on esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 201-206. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.12.066.
- [20] 杨阳.干扰VEGFC、CTTN表达对食管鳞癌细胞生长的影响[D].邯郸:河北工程大学,2019.
- [21] TAKASHIMA T, FUJIWARA Y, HAMAGUCHI M, et al. Relationship between peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression and differentiation of human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2005, 13(4): 601-606. DOI: 10.3892/or.13.4.601.
- [22] LIU Y T, WANG X J, JIANG X S, et al. Tumor-suppressive microRNA-10a inhibits cell proliferation and metastasis by targeting Tiam1 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(5): 7845-7857. DOI: 10.1002/jcb.28059.
- [23] SHIMADA Y, IMAMURA M, WAGATA T, et al. Characterization of 21 newly established esophageal cancer cell lines[J]. *Cancer*, 1992, 69(2): 277-284. DOI: 10.1002/1097-0142(19920115)69:2<277::aid-cnrc2820690202>3.0.co;2-c.
- [24] KLIMCZAK-BITNER A A, KORDEK R, BITNER J, et al. Expression of MMP9, SERPINE1 and miR-134 as prognostic factors in esophageal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(5): 4133-4138. DOI: 10.3892/ol.2016.5211.
- [25] LI J F, XIE Y F, WANG X L, et al. Overexpression of VEGF-C and MMP-9 predicts poor prognosis in Kazakh patients with esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *PeerJ*, 2019, 7: e8182[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6896941/>. DOI: 10.7717/peerj.8182.
- [26] MAHMOUDIAN R A, BAHADORI B, RAD A, et al. MEIS1 knockdown may promote differentiation of esophageal squamous carcinoma cell line KYSE-30[J/OL]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(7): e00746 [2020-06-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31090196/>. DOI: 10.1002/mgg3.746.
- [27] WANG H Q, YANG X C, GUO Y, et al. HERG1 promotes

- esophageal squamous cell carcinoma growth and metastasis through TXNDC5 by activating the PI3K/AKT pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 324. DOI: 10.1186/s13046-019-1284-y.
- [28] KNOTT G J, BOND C S, FOX A H. The DBHS proteins SFPQ, NONO and PSPC1: a multipurpose molecular scaffold[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(9): 3989-4004. DOI: 10.1093/nar/gkw271.
- [29] 程芮, 朱圣韬, 郭水龙, 等. 过表达DBHS家族基因可促进食管鳞癌细胞的迁移侵袭[J]. *首都医科大学学报*, 2016, 37(1): 6-11. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2016.01.002.
- [30] JIN L L, ZHANG S J, LU G X, et al. miR-574-3p inhibits proliferation and invasion in esophageal cancer by targeting FAM3C and MAPK1[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36(5): 318-327. DOI: 10.1002/kjm2.12176.
- [31] HEMMATZADEH M, MOHAMMADI H, BABAIE F, et al. Snail-1 silencing by siRNA inhibits migration of TE-8 esophageal cancer cells through downregulation of metastasis-related genes[J/OL]. *Adv Pharm Bull*, 2018, 8(3): 437-445[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6156482/>. DOI: 10.15171/apb.2018.051.
- [32] SUNDQVIST A, VASILAKI E, VOYTYUK O, et al. TGFβ and EGF signaling orchestrates the AP-1- and p63 transcriptional regulation of breast cancer invasiveness[J]. *Oncogene*, 2020, 39(22): 4436-4449. DOI: 10.1038/s41388-020-1299-z.
- [33] LEE K B, YE S, PARK M H, et al. p63-Mediated activation of the β-catenin/c-Myc signaling pathway stimulates esophageal squamous carcinoma cell invasion and metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2014, 353(1): 124-132. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.07.016.
- [34] WANG X B, GU M, JU Y J, et al. PIK3C3 Acts as a tumor suppressor in esophageal squamous cell carcinoma and was regulated by MiR-340-5p[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e920642[2020-06-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32207410/>. DOI: 10.12659/MSM.920642.
- [35] YANG S M, LI S Y, YU H B, et al. Repression of DOK7 mediated by DNMT3A promotes the proliferation and invasion of KYSE410 and TE-12 ESCC cells[J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2017, 90: 93-99. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.02.111.
- [36] JIA J H, YANG X X, ZHAO Q, et al. BNIP3 contributes to cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells[J/OL]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10(8): 1463-1473[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7396446/>. DOI: 10.1002/2211-5463.12881.
- [37] 张洪典. 异常甲基化和乏氧对食管鳞癌细胞中BNIP3表达的影响[D]. 天津: 天津医科大学, 2014.
- [38] ZHANG H F, HUA Y H, JIANG Z Z, et al. Cancer-associated fibroblast-promoted lncRNA DNM3OS confers radioresistance by regulating DNA damage response in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1989-2000. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0773.
- [39] DENG X, SHENG J X, LIU H, et al. Cinobufagin promotes cell cycle arrest and apoptosis to block human esophageal squamous cell carcinoma cells growth via the p73 signalling pathway[J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(9): 1500-1509. DOI: 10.1248/bpb.b19-00174.
- [40] FREISCHMIDT A, MÜLLER K, ZONDLER L, et al. Serum microRNAs in sporadic amyotrophic lateral sclerosis[J/OL]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(9): 2660.e15-2660.e20 [2020-06-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26142125/>. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.06.003.
- [41] MENG L, WANG F, SUN S, et al. MicroRNA-30b targets CBX3 and regulates cell proliferation, apoptosis, and migration in esophageal squamous cell carcinoma via the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10(12): 11828-11837.
- [42] WANG Y, YU X J, ZHOU W, et al. MicroRNA-429 inhibits the proliferation and migration of esophageal squamous cell carcinoma cells by targeting RAB23 through the NF-κB pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(3): 1202-1210. DOI: 10.26355/eurrev\_202002\_20172.
- [43] HE G H, DING J Q, ZHANG X, et al. Activation of histamine H4 receptor suppresses the proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma via both metabolism and non-metabolism signaling pathways[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2018, 96(9): 951-964. DOI: 10.1007/s00109-018-1676-z.
- [44] KANG F, WANG Y, LUO Y, et al. NDRG2 gene expression pattern in ovarian cancer and its specific roles in inhibiting cancer cell proliferation and suppressing cancer cell apoptosis[J]. *J Ovarian Res*, 2020, 13(1): 48. DOI: 10.1186/s13048-020-00649-0.
- [45] YANG C L, ZHENG X L, YE K, et al. NDRG2 suppresses proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of esophageal cancer cells through regulating the AKT/XIAP signaling pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 99: 43-51. DOI: 10.1016/j.biocel.2018.03.003.
- [46] LIU Y, ZHI Y R, SONG H Z, et al. S1PR1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of esophageal squamous cell carcinoma through activating STAT3 pathway[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 369[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6706905/>. DOI: 10.1186/s13046-019-1369-7.
- [47] ZUO J H, ZHU K C, WANG Y H, et al. MicroRNA-34a suppresses invasion and metastatic in esophageal squamous cell carcinoma by regulating CD44[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 443(1/2): 139-149. DOI: 10.1007/s11010-017-3218-3.
- [48] BOONSTRA J J, VAN DER VELDEN A W, BEERENS E C, et al. Mistaken identity of widely used esophageal adenocarcinoma cell line TE-7[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(17): 7996-8001. DOI: 10.1158/0008-5472.can-07-2064.
- [49] 王乐. KHSRP在食管鳞癌中表达的临床意义及其作用机制研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [50] QIN G, LIAN J, YUE D, et al. Musashi1, a potential prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(3): 1724-1732. DOI: 10.3892/or.2017.5809.
- [51] NING Z F, ZHU H, LI F F, et al. Tumor suppression by miR-31 in esophageal carcinoma is p21-dependent[J/OL]. *Genes Cancer*, 2014,5(11/12):436-444[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4279440/>. DOI: 10.18632/genesandcancer.38.
- [52] 杨联河, 赵雪艳, 牛春玲, 等. 低氧对食管癌ECa9706细胞生长及顺铂敏感性的影响[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2015, 43(5): 107-111. DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2015.

- 05.020.
- [53] LANG B P, ZHAO S. miR-486 functions as a tumor suppressor in esophageal cancer by targeting CDK4/BCAS2[J/OL]. *Oncol Rep*, 2018, 39(1): 71-80[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5783606/>. DOI: 10.3892/or.2017.6064.
- [54] SHI K, ZHANG J Z, ZHAO R L, et al. PSMD7 downregulation induces apoptosis and suppresses tumorigenesis of esophageal squamous cell carcinoma via the mTOR/p70S6K pathway[J/OL]. *FEBS Open Bio*, 2018, 8(4): 533-543[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5881544/>. DOI: 10.1002/2211-5463.12394.
- [55] ZENG B, ZHANG X, ZHAO J L, et al. The role of DNMT1/hsa-miR-124-3p/BCAT1 pathway in regulating growth and invasion of esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):609[2020-06-18].<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6588861/>. DOI: 10.1186/s12885-019-5815-x.
- [56] LI S, QU Y, SHEN X Y, et al. Multiple signal pathways involved in crocetin-induced apoptosis in KYSE-150 cells[J]. *Pharmacology*, 2019, 103(5/6): 263-272. DOI: 10.1159/000487956.
- [57] HOU S C, JIN W G, XIAO W M, et al. Integrin  $\alpha 5$  promotes migration and cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma cells[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(12): 2774-2788[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6943361/>.
- [58] ZHANG Z H, XIONG R, LI C W, et al. LncRNA TUG1 promotes cisplatin resistance in esophageal squamous cell carcinoma cells by regulating Nrf2[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(8): 826-833. DOI: 10.1093/abbs/gmz069.
- [59] CHAN D, ZHOU Y Y, CHUI C, et al. Expression of insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP5) reverses cisplatin-resistance in esophageal carcinoma[J]. *Cells*, 2018, 7(10): 143. DOI: 10.3390/cells7100143.
- [60] KANG M, REN M P, LI Y, et al. Exosome-mediated transfer of lncRNA PART1 induces gefitinib resistance in esophageal squamous cell carcinoma via functioning as a competing endogenous RNA[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 171[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6063009/>. DOI: 10.1186/s13046-018-0845-9.
- [61] ZHU H C, SONG H M, CHEN G Z, et al. eEF2K promotes progression and radioresistance of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Radiother Oncol*, 2017, 124(3): 439-447. DOI: 10.1016/j.radonc.2017.04.001.
- [62] HUANG H Z, YIN Y F, WAN W J, et al. Up-regulation of microRNA-136 induces apoptosis and radiosensitivity of esophageal squamous cell carcinoma cells by inhibiting the expression of MUC1[J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 110: 104278. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.104278.
- [63] ZHOU H D, ZHANG G, XUE X Y, et al. Identification of novel NRAGE involved in the radioresistance of esophageal cancer cells[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(7): 8741-8752. DOI: 10.1007/s13277-015-4747-6.
- [64] SU H, JIN X, ZHANG X, et al. FH535 increases the radiosensitivity and reverses epithelial-to-mesenchymal transition of radioresistant esophageal cancer cell line KYSE-150R[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 104. DOI: 10.1186/s12967-015-0464-6.
- [65] DONG Q, SHARMA S, LIU H, et al. HDAC inhibitors reverse acquired radio resistance of KYSE-150R esophageal carcinoma cells by modulating Bmi-1 expression[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 224(1): 121-129. DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.10.014.
- [66] OKADA S, VAETEEWOOTTACHARN K, KARIYA R. Establishment of a patient-derived tumor xenograft model and application for precision cancer medicine[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2018, 66(3): 225-230. DOI: 10.1248/cpb.c17-00789.
- [67] ZHU Y, YUAN T, ZHANG Y, et al. AR-42: a Pan-HDAC inhibitor with antitumor and antiangiogenic activities in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 4321-4330. DOI: 10.2147/dddt.s211665.
- [68] WANG H Q, YANG X C, GUO Y, et al. HERG1 promotes esophageal squamous cell carcinoma growth and metastasis through TXNDC5 by activating the PI3K/AKT pathway[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 324[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6647263/>. DOI: 10.1186/s13046-019-1284-y.
- [69] SATO T, STANGE D E, FERRANTE M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium[J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1762-1772. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.
- [70] IP J C, KO J M, YU V Z, et al. A versatile orthotopic nude mouse model for study of esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 910715[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4365327/>. DOI: 10.1155/2015/910715.
- [71] TUNG L N, SONG S C, CHAN K T, et al. Preclinical study of novel curcumin analogue SSC-5 using orthotopic tumor xenograft model for esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res Treat*, 2018, 50(4): 1362-1377. DOI: 10.4143/crt.2017.353.
- [72] NISHIKAWA T, TAKAOKA M, OHARA T, et al. Antiproliferative effect of a novel mTOR inhibitor temsirolimus contributes to the prolonged survival of orthotopic esophageal cancer-bearing mice[J/OL]. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(3): 230-236[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3595305/>. DOI: 10.4161/cbt.23294.
- [73] KITAMURA M, SUDA M, NISHIHARA T, et al. Heterotransplantation of human esophageal carcinoma to nude mice[J]. *Tohoku J Exp Med*, 1981, 135(3): 259-264. DOI: 10.1620/tjem.135.259.
- [74] ZHANG J C, JIANG D X, LI X J, et al. Establishment and characterization of esophageal squamous cell carcinoma patient-derived xenograft mouse models for preclinical drug discovery[J]. *Lab Invest*, 2014, 94(8): 917-926. DOI: 10.1038/labinvest.2014.77.
- [75] MIZUMOTO A, OHASHI S, KAMADA M, et al. Combination treatment with highly bioavailable curcumin and NQO1 inhibitor exhibits potent antitumor effects on esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2019, 54(8): 687-698. DOI: 10.1007/s00535-019-01549-x.
- [76] LEE N P, CHAN C M, TUNG L N, et al. Tumor xenograft animal

- models for esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25(1): 66. DOI: 10.1186/s12929-018-0468-7.
- [77] LIU Y, WANG X, ZENG S, et al. The natural polyphenol curcumin induces apoptosis by suppressing STAT3 signaling in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 303. DOI: 10.1186/s13046-018-0959-0.
- [78] KARAKASHEVA T A, LIN E W, TANG Q S, et al. IL-6 mediates cross-talk between tumor cells and activated fibroblasts in the tumor microenvironment[J/OL]. *Cancer Res*, 2018, 78(17): 4957-4970[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6125177/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2268.
- [79] LONG A, GIROUX V, WHELAN K A, et al. WNT10A promotes an invasive and self-renewing phenotype in esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(5): 598-606[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4498148/>. DOI: 10.1093/carcin/bgv025.
- [80] NAGANUMA S, WHELAN K A, NATSUIZAKA M, et al. Notch receptor inhibition reveals the importance of cyclin D1 and Wnt signaling in invasive esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2012, 2(4): 459-475[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3410579/>.
- [81] WHELAN K A, MUIR A B, NAKAGAWA H. Esophageal 3D culture systems as modeling tools in esophageal epithelial pathobiology and personalized medicine[J/OL]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 5(4): 461-478[2020-06-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5924738/>. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.01.011.
- [82] KAJIWARA C, FUMOTO K, KIMURA H, et al. p63-dependent Dickkopf3 expression promotes esophageal cancer cell proliferation via CKAP4[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(21): 6107-6120. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1749.
- [83] GUHA M T, SRINIVASAN S, SHEEHAN M M, et al. Esophageal 3D organoids of MPV17<sup>-/-</sup> mouse model of mitochondrial DNA depletion show epithelial cell plasticity and telomere attrition[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(58): 6245-6259. DOI: 10.18632/oncotarget.27264.
- [收稿日期] 2020-06-19 [修回日期] 2020-12-03  
[本文编辑] 黄静怡