

· 食管癌与结直肠癌 ·

## 食管鳞癌、贲门腺癌和 结肠腺癌高频突变基因谱比较

宋 昕<sup>1</sup>, 韩文莉<sup>1</sup>, 王盼盼<sup>1</sup>, 胡景峰<sup>1</sup>, 吉佳佳<sup>1</sup>,  
杨媛喷<sup>1</sup>, 孙 琳<sup>1</sup>, 葛维挺<sup>2</sup>, 郑 树<sup>2\*</sup>, 王立东<sup>1\*</sup>

(1. 郑州大学第一附属医院省部共建食管癌防治国家重点实验室, 河南 郑州 450052;  
2. 浙江大学第二附属医院恶性肿瘤预警与干预教育部重点实验室, 浙江 杭州 310009)

**摘要:** 目的 通过对比分析食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌高频突变基因, 确定 3 种肿瘤间主要变异基因。  
方法 采用全基因组外显子测序方法对 98 例结肠腺癌检测分析, 将结肠腺癌中的高频突变基因在 109 例食管鳞癌和 112 例贲门腺癌中进行靶向测序, 确定食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌三者共同存在或者特异的基因改变。  
结果 黏蛋白 16 (mucin16, MUC16)、丝聚蛋白 (filaggrin, FLG)、SMAD 家族 4 (SMAD family member 4, Smad4) 和 VI 型胶原蛋白  $\alpha 3$  (collagen type VI alpha 3 chain, COL6A3) 在食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌组织中均存在不同程度的突变, 突变类型均以错义突变为主。其中, MUC16 和 COL6A3 基因在 3 种肿瘤组织中的突变频率非常相似, MUC16 基因突变率分别为 21.1%、27.7% 和 18.4%, COL6A3 基因突变率分别为 4.6%、10.7% 和 10.2%。而 SMAD4 基因在食管鳞癌和贲门腺癌的突变频率低于结肠腺癌 (0.9% vs 4.5% vs 14.3%,  $P < 0.05$ ), FLG 基因在食管鳞癌中的突变频率高于贲门腺癌和结肠腺癌 (22.9% vs 9.8% vs 6.1%,  $P < 0.05$ )。  
结论 MUC16 和 COL6A3 基因突变可能是食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌 3 种不同组织来源肿瘤共同存在的分子改变, 而 FLG 和 SMAD4 基因突变则分别与食管鳞癌和结肠腺癌的发生密切相关。

**关键词:** 食管鳞癌; 贲门腺癌; 结肠腺癌; 全基因组外显子测序; 靶向测序; 突变基因

中图分类号: R735 文献标志码: A 文章编号: 1001-1692 (2020) 05-0401-07

收稿日期: 2020-09-03

DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2020.05.004

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFC0901403); 国家自然科学基金项目 (81872032, U1804262); 中央引导地方科技发展专项 (20200715)

作者简介: 宋昕 (1981-), 女, 湖北荆州人, 博士生, 从事食管 / 贲门癌变机制和防治研究

\* 通信作者 王立东, E-mail: ldwang2007@126.com; 郑树, E-mail: zhengshu@zju.edu.cn

- 系的研究进展 [J]. 四川医学, 2020, 41(2): 193-197.
- [19] Mori T, Sumii M, Fujishima F, et al. Somatic alteration and depleted nuclear expression of BAP1 in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. Cancer Sci, 2015, 106(9):1118-1129.
- [20] Offermans NS, Vermeulen R, Burdorf A, et al. Occupational asbestos exposure and risk of esophageal, gastric and colorectal cancer in the prospective Netherlands Cohort Study [J]. Int J Cancer, 2014, 135(8): 1970-1977.
- [21] 彭 垒, 贺建华. 微生物感染与食管癌的相关性研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(6): 66-67, 72.
- [22] 靳大川, 周 涛, 郭宝强, 等. 人乳头瘤病毒与结直肠癌关系的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2018, 47(1): 1-4.
- [23] Chen W, Sun K, Zheng R, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014 [J]. 中国癌症研究: 英文版, 2018, 30(1): 1-12.
- [24] 李 钢, 余 敏, 蒋迎九. 维生素 D 与食管癌 [J]. 实用肿瘤杂志, 2014, 29(5): 478-482.
- [25] 郑 树, 黄彦钦. 结直肠癌早诊筛查 [J]. 中华内科杂志, 2014, 53(7): 505-507.
- [26] 杨 姣, 傅健飞, 谭伊诺, 等. 老年结直肠癌的临床病理特征和预后 [J]. 实用肿瘤杂志, 2018, 33(3): 228-233.
- [27] 申芳芳, 杨杰智, 李江曼, 等. 同一个体先后发生食管鳞状细胞癌和结肠腺癌 1 例 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(2): 230-231.

## Comparison of high-frequency mutation gene profiles in esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma

Song Xin<sup>1</sup>, Han Wenli<sup>1</sup>, Wang Panpan<sup>1</sup>, Hu Jingfeng<sup>1</sup>, Ji Jiajia<sup>1</sup>,  
Yang Yuanze<sup>1</sup>, Sun Lin<sup>1</sup>, Ge Weiting<sup>2</sup>, Zheng Shu<sup>2</sup>, Wang Lidong<sup>1</sup>

[1.State Key Laboratory of Esophageal Cancer Prevention and Treatment and Henan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research of The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Cancer Institute (Key Laboratory of Cancer Prevention and Intervention, China National Ministry of Education), The Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310009, China]

Corresponding to: Wang Lidong, E-mail: ldwang2007@126.com; Zheng Shu, E-mail: zhengshu@zju.edu.cn

**Abstract: Objective** To compare the high-frequency mutation gene profiles of esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma, and to identify the major variant genes among the three tumors. **Methods** The whole genome exon sequencing method was applied on 98 cases of colon adenocarcinoma to detect the mutation profile. The high-frequency mutation genes in colon adenocarcinoma were sequenced in 109 cases of esophageal squamous cancer and 112 cases of gastric cardia adenocarcinoma, and the genetic changes that existed or were specific to esophageal squamous cancer, gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma were determined. **Results** Mucin 16 (MUC16), filaggrin (FLG), SMAD family member 4 (SMAD4) and collagen type VI alpha 3 chain (COL6A3) were mutated in esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma, and the main mutation types were missense mutations. Among them, the mutation frequencies of MUC16 (21.1% vs 27.7% vs 18.4%) and COL6A3 (4.6% vs 10.7% vs 10.2%) were similar in the three kinds of tumor tissues, while the mutation frequencies of SMAD4 in esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardia adenocarcinoma were lower than that in colon adenocarcinoma (0.9% vs 4.5% vs 14.3%,  $P < 0.05$ ). The mutation frequency of FLG in esophageal squamous cell carcinoma was significantly higher than those in gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma (22.9% vs 9.8% vs 6.1%,  $P < 0.05$ ). **Conclusions** It is suggested that MUC16 and COL6A3 gene mutations may be the common molecular changes of esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardia adenocarcinoma and colon adenocarcinoma, while SMAD4 and FLG gene mutations are closely related to the occurrence of esophageal squamous cell carcinoma and colon adenocarcinoma.

**Key words:** esophageal squamous cell carcinoma; gastric cardia adenocarcinoma; colon adenocarcinoma; whole exon sequencing; target sequencing; mutation genes

本团队师徒三代在过去 60 年的食管癌研究过程中已建立 50 万例跨度 47 年（1973 年至 2019 年）食管癌和贲门癌患者随访的临床诊疗、病理信息大数据库和大样本库，发现 73 例患者在确诊为食管癌的同时或继发结直肠肿瘤<sup>[1]</sup>。近年，越来越多的研究报道食管癌和结直肠癌存在共同的高危因素。过度饮酒、蔬菜和水果摄入不足以及人类乳头瘤病毒 16（human papilloma virus 16, HPV16）感染等既是食管癌的高风险因素，也与结直肠癌的发生密切相关<sup>[2-5]</sup>。食管癌高危因素吸烟也可通过引起肠黏膜中异常启动子甲基化，进而导致结直肠癌的发生<sup>[6]</sup>。对 60 例食管鳞癌患者的研究发现，食管鳞癌可能会增加这些患者继发结直肠癌的风险<sup>[7]</sup>。一项 meta 分析结果发现，Barrett's 食管可使结直肠息肉和结直肠癌的风险提高 1 倍<sup>[8]</sup>。本研究旨在采用全基因组外显子测序

和靶向测序的方法对结直肠癌、食管鳞癌和贲门腺癌的高频基因进行对比分析，揭示这 3 种不同组织来源肿瘤的分子分型，进一步阐明其发生的分子机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

98 例结肠腺癌患者来自浙江大学第二附属医院恶性肿瘤预警与干预教育部重点实验室。109 例食管鳞癌和 112 例贲门腺癌患者来自郑州大学第一附属医院省部共建食管癌防治国家重点实验室已建立的 50 万例跨度 47 年（1973 年至 2019 年）食管癌和贲门癌临床诊疗、病理和随访大资料库。98 例结肠腺癌中男性 59 例，年龄 32~89 岁，中位年龄 62 岁；女性 39 例，年龄 33~85 岁，中位年龄 66 岁。109 例食管鳞癌患者中男性 85 例，年

龄 36~77 岁, 中位年龄 58 岁; 女性 24 例, 年龄 41~75 岁, 中位年龄 60 岁。112 例贲门腺癌患者中男性 90 例, 年龄 37~84 岁, 中位年龄 62 岁; 女性 22 例, 年龄 53~75 岁, 中位年龄 64 岁。

纳入标准:(1) 患者均行根治性手术治疗;(2) 术后病理确诊为食管鳞癌、贲门腺癌或结肠腺癌;(3) 未接受任何术前放、化疗或其他治疗;(4) 所有样品均为手术切除标本。

## 1.2 诊断标准

食管鳞癌和贲门腺癌诊断标准符合第 6 版美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) 指南<sup>[9]</sup>。结肠腺癌诊断标准符合第 7 版 AJCC 指南<sup>[10]</sup>。

## 1.3 方法

1.3.1 DNA 提取及质控 采用 QIAGEN 试剂盒 (QIAGEN, 德国) 进行石蜡包埋组织基因组 DNA 提取, 通过琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 降解程度以及 RNA 污染情况, 用 Nanodrop2000 (Thermo, 美国) 检测 DNA 的纯度, 用 Qubit (Qubit 2.0 Fluorometer, Invitrogen, 美国) 对 DNA 浓度进行精确定量, 其中吸光度 (absorbance,  $A$ ) 值在 1.8~2.0 之间和含量  $>1.5 \mu\text{g}$  的 DNA 样品被用来建库。

1.3.2 全基因组外显子测序 采用 Agilent 的液相芯片捕获系统 (Agilent Technologies, 美国), 对人的全外显子区域 DNA 进行富集, 将基因组 DNA 经 Covaris 破碎仪 (Massachusetts, 美国) 随机打断成长度为 180~280 bp 的片段, 经末端修复和加 A 尾后在片段两端分别连接上接头制备 DNA 文库。带有特异 index 的文库与多达 543 872 个生物素标记的探针进行液相杂交, 再使用带链霉素的磁珠将 20 965 个基因的 334 378 个外显子捕获下来, 经 PCR 线性扩增后进行文库质检, 合格后在 Illumina HiSeq 平台 (Illumina, 美国) 上进行高通量和高深度测序。建库和捕获实验采用 Agilent SureSelect Human All Exon V5 试剂盒 (Agilent Technologies, 美国)。

1.3.3 靶向测序 采用 Agilent 的液相芯片捕获系统, 对患者的特定目标区域 DNA 进行高效富集, 将基因组 DNA 经 Covaris 破碎仪随机打断成长度为 180~280 bp 的片段, 末端修复和加 A 尾后在片段两端分别连接上接头制备 DNA 文库。带有特异 index 的文库与多达 500 000 个生物素标记的探针进行液相杂交, 再使用带链霉素的磁珠将目标基因的目的片段捕获下来, 经 PCR 线性扩增

后进行文库质检, 合格后在 Illumina HiSeq 平台上进行高通量和高深度测序。建库和捕获实验采用 Agilent Sure Select XT Custom 试剂盒 (Agilent Technologies, 美国)。

1.3.4 数据处理和生物信息学分析 对测序获得的原始序列进行质量评估和过滤, 将有效测序数据通过 BWA 和 Samblaster 与参考基因组 (B37) 进行比对, 并用 Samblaster 进行标记重复等处理, 从而得到 BAM 格式的最终比对结果。用 MuSiC 软件进行高频突变基因分析。

## 1.4 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析。计数资料采用频数 (百分比) 表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 全基因组外显子测序结果

98 例结肠腺癌中黏蛋白 16 (mucin16, MUC16)、丝聚蛋白 (filaggrin, FLG)、SMAD 家族 4 (SMAD family member 4, Smad4) 和 VI 型胶原蛋白  $\alpha 3$  (collagen type VI alpha 3 chain, COL6A3) 的基因突变频率分别为 18.4% (18/98)、6.1% (6/98)、14.3% (14/98) 和 10.2% (10/98), 均以错义突变为主, 错义突变在这 4 个基因突变中占比分别为 83.3%、66.7%、50.0% 和 90.0% (图 1)。

## 2.2 靶向测序结果

MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因在 109 例食管鳞癌和 112 例贲门腺癌中均发生突变。在食管鳞癌中这 4 个基因的突变频率分别为 21.1% (23/109)、22.9% (25/109)、0.9% (1/109) 和 4.6% (5/109), 突变类型以错义突变为主 (图 2)。在贲门腺癌中这 4 个基因的突变频率分别为 27.7% (31/112)、9.8% (11/112)、4.5% (5/112) 和 10.7% (12/112), 错义突变为主要突变类型 (图 3)。

## 2.3 食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌中 MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因突变频率比较

MUC16 基因在食管鳞癌和贲门腺癌中的突变频率均有高于结肠腺癌的趋势, 分别为 21.1%、27.7% 和 18.4%, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。COL6A3 基因在结肠腺癌中的突变频率有低于贲门腺癌和高于食管鳞癌的趋势, 分别为 10.2%、10.7% 和 4.6%, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

SMAD4 基因在结肠腺癌中的突变频率高于食管鳞癌和贲门腺癌, 分别为 14.3%、0.9% 和 4.5%,



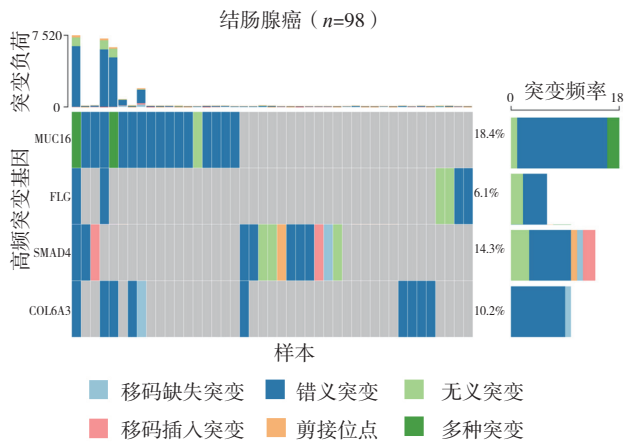


图1 98例结肠腺癌中MUC16、FLG、SMAD4和COL6A3基因突变图谱

Fig.1 The landscape of MUC16, FLG, SMAD4, and COL6A3 gene mutations in 98 cases of colon adenocarcinoma

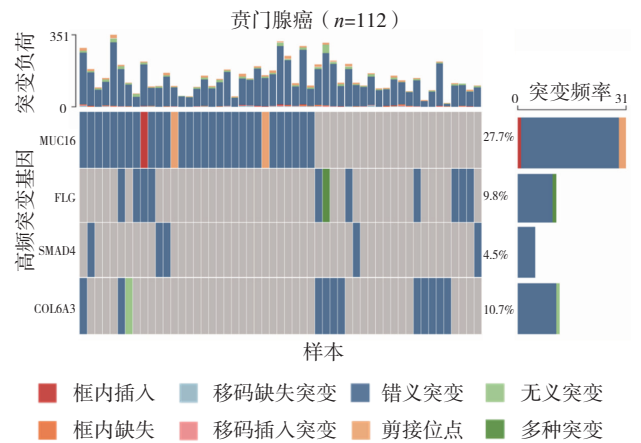


图3 112例贲门腺癌中MUC16、FLG、SMAD4和COL6A3基因突变图谱

Fig.3 The landscape of MUC16, FLG, SMAD4, and COL6A3 gene mutations in 112 cases of gastric cardia adenocarcinoma

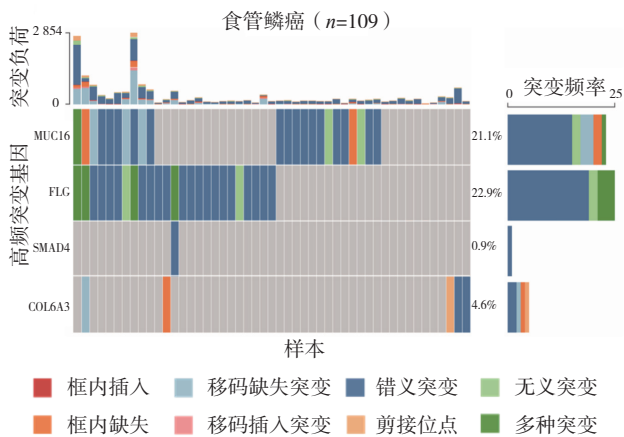


图2 109例食管鳞癌中MUC16、FLG、SMAD4和COL6A3基因突变图谱

Fig.2 The landscape of MUC16, FLG, SMAD4, and COL6A3 gene mutations in 109 cases of esophageal squamous cell carcinoma

差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。FLG 基因在食管鳞癌中的突变频率高于贲门腺癌和结肠腺癌, 分别为 22.9%、9.8% 和 6.1%, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4 食管鳞癌和贲门腺癌患者 MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因突变与不同临床表型对比分析

MUC16、FLG 和 COL6A3 基因突变频率在食管鳞癌患者性别、年龄、高低发区、吸烟、饮酒、浸润程度和淋巴结转移等各临床表型方面比较, 差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ , 表 1)。SMAD4 基因突变在 T1 期食管鳞癌患者中频率高于其他期别, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而贲门腺癌患者

中, 这 4 个基因突变频率在各临床表型方面比较, 差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ , 表 2)。

## 3 讨论

本研究发现, MUC16 基因在食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌中均存在高频突变。该基因又称糖类抗原 125 (carbohydrate antigen 125, CA125)。其编码的黏蛋白 16 属于黏蛋白家族成员。黏蛋白是上皮的重要保护因子。CA125 目前已被公认为卵巢癌的标志物 [11]。MUC16 基因突变已被广泛报道与胃癌、胰腺癌和子宫颈癌等密切相关 [12-14]。

本研究中 COL6A3 基因在结肠腺癌和贲门腺癌中的突变频率稍高于食管鳞癌, 该基因编码的  $\alpha$ -3 链是多数结缔组织中发现的珠状细丝胶原蛋白 VI 型胶原蛋白的 3 个  $\alpha$  链之一。COL6A3 基因 3 号外显子与结肠腺癌发生有关 [15]。其编码的 COL6A3 蛋白在结肠癌患者血清中表达升高, 表达量与结肠癌的分化程度密切相关 [16]。研究发现, COL6A3 基因通过参与 PI3K-Akt 信号通路而影响胃腺癌细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡 [17]。对该基因进行的目标区域测序结果提示, COL6A3 基因上的 rs6720283 可能是食管癌的易感位点 [18]。

SMAD4 基因, 又被称为 JNK 相互作用蛋白 (JNK interacting protein, JIP) 或胰腺癌抑癌基因 (deleted in pancreatic cancer locus 4, DPC4), 是一种抑癌基因。该基因存在于转化生长因子 (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号传导通路。当 SMAD4 基因

表 1 109 例食管鳞癌患者 MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因突变频率与不同临床表型特征分析

Table 1 The frequency of MUC16, FLG, SMAD4 and COL6A3 gene mutations and different clinical type characteristics in 109 patients with esophageal squamous cell carcinoma

临床特征	例数	MUC16 基因		FLG 基因		SMAD4 基因		COL6A3 基因	
		突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值
性别			0.785		0.271		1.000		0.202
男性	85	19 (22.4)		19 (22.4)		1 (1.2)		5 (5.9)	
女性	24	6 (25.0)		8 (33.3)		0 (0.0)		4 (16.7)	
年龄			0.475		0.051		1.000		0.683
<55 岁	37	7 (18.9)		5 (13.5)		0 (0.0)		2 (5.4)	
≥55 岁	72	18 (25.0)		22 (30.6)		1 (1.4)		7 (9.7)	
高低发区			0.258		0.859		1.000		1.000
低发区	46	13 (28.3)		11 (23.9)		0 (0.0)		4 (8.7)	
高发区	63	12 (19.0)		16 (25.4)		1 (1.6)		5 (7.9)	
吸烟史			0.643		0.066		1.000		0.075
有	61	15 (24.6)		11 (18.0)		1 (1.6)		2 (3.3)	
无	48	10 (20.8)		16 (33.3)		0 (0.0)		7 (14.6)	
饮酒史			0.182		0.085		0.477		0.580
有	52	9 (17.3)		9 (17.3)		1 (1.9)		3 (5.8)	
无	57	16 (28.1)		18 (31.6)		0 (0.0)		6 (10.5)	
T 分期			0.913		0.323		0.043		0.667
T1	12	2 (16.7)		5 (41.7)		1 (8.3)		0 (0.0)	
T2	32	7 (21.9)		6 (18.8)		0 (0.0)		3 (9.4)	
T3	62	15 (24.2)		16 (25.8)		0 (0.0)		6 (9.7)	
T4	3	1 (33.3)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)	
淋巴结转移			0.528		0.292		1.000		0.173
N0	54	11 (20.4)		11 (20.4)		0 (0.0)		2 (3.7)	
N1	55	14 (25.5)		16 (29.1)		1 (1.8)		7 (12.7)	

注 MUC16 : 黏蛋白 16 基因 (mucin16) ; FLG : 丝聚蛋白 (filaggrin) ; SMAD4 : SMAD 家庭成员 4 (SMAD family member 4) ; COL6A3 : VI 型胶原蛋白 α3 (collagen type VI alpha 3 chain)

发生突变时, TGF-β 信号通路受到抑制, 并促使血管生成, 从而促进肿瘤生长和转移<sup>[19]</sup>。不仅结肠癌和胰腺癌中会出现 SMAD4 的缺失, 在食管腺癌、胃腺癌、甲状腺癌和乳腺癌中也发现存在这一现象<sup>[20-25]</sup>。本研究发现, SMAD4 基因突变对结肠腺癌的影响远高于食管鳞癌和贲门腺癌。并且, 本研究小组前期与郑树教授课题组合作研究发现, SMAD4 基因与Ⅲ期结肠腺癌的复发及结肠癌肝转移密切相关<sup>[26]</sup>。本研究结果中, SMAD4 基因在 T1 期的食管鳞癌患者中突变频率较高, 提示该基因突变可能出现在早期食管鳞癌中, 但由于样本较少, 尚需进一步扩大样品量以明确 SMAD4 基因突变对食管鳞癌的影响。

FLG 基因能够编码一种聚集在哺乳动物表皮角蛋白中间丝的相关蛋白。该基因的突变与寻常性鱼鳞病和特异性皮炎相关<sup>[27-28]</sup>。研究表明, FLG

基因可以通过不依赖血管生成的途径参与黑色素瘤细胞增殖<sup>[29]</sup>。本研究发现, 食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌中都有 FLG 基因突变, 提示 FLG 基因突变与消化道肿瘤的发生可能有一定关系, 并且对鳞癌的影响更大。有研究发现, FLG 基因是参与细胞外基质受体相互作用和细胞色素 P450 代谢途径的重要基因<sup>[30]</sup>。

本研究小组与郑树教授团队前期合作研究结果提示, MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因与Ⅲ期结肠癌的复发和转移有关。然而, 在本研究中并未发现这 4 个基因与食管鳞癌和贲门腺癌的不同临床表型间的关系。这一结果提示, 这 3 种肿瘤患者预后影响因素不尽相同, 食管鳞癌和贲门腺癌可能具有特异的分子机制, 尚需深入研究, 进一步确定食管鳞癌和贲门腺癌复发和转移相关的候选分子, 为临床个体化治疗提供理论基础。

表 2 112 例贲门腺癌患者 MUC16、FLG、SMAD4 和 COL6A3 基因突变频率与不同临床表型特征分析

Table 2 The frequency of MUC16, FLG, SMAD4 and COL6A3 gene mutations and different clinical type characteristics in 112 patients with gastric cardia adenocarcinoma

临床特征	例数	MUC16 基因		FLG 基因		SMAD4 基因		COL6A3 基因	
		突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值	突变例数 (%)	P 值
性别			0.754		1.000		0.581		0.662
男性	90	36 (40.0)		11 (12.2)		5 (5.6)		14 (15.6)	
女性	22	8 (36.4)		3 (13.6)		0 (0.0)		2 (9.1)	
年龄			1.000		1.000		0.439		0.852
<55 岁	12	5 (41.7)		2 (16.7)		1 (8.3)		1 (8.3)	
≥55 岁	100	39 (39.0)		12 (12.0)		4 (4.0)		15 (15.0)	
高低发区			0.859		0.559		1.000		0.685
低发区	27	11 (40.7)		2 (7.4)		1 (3.7)		5 (18.5)	
高发区	85	33 (38.8)		12 (14.1)		4 (4.7)		11 (12.9)	
吸烟史			0.445		0.830		1.000		0.877
有	61	22 (36.1)		8 (13.1)		3 (4.9)		9 (14.8)	
无	51	22 (43.1)		6 (11.8)		2 (3.9)		7 (13.7)	
饮酒史			0.205		0.614		0.773		1.000
有	49	16 (32.7)		7 (14.3)		3 (6.1)		7 (14.3)	
无	63	28 (44.4)		7 (11.1)		2 (3.2)		9 (14.3)	
T 分期			0.594		0.781		0.836		0.297
T1	3	1 (33.3)		0 (0.0)		0 (0.0)		0 (0.0)	
T2	4	2 (50.0)		0 (0.0)		0 (0.0)		1 (25.0)	
T3	36	11 (30.6)		5 (13.9)		1 (2.8)		8 (22.2)	
T4	69	30 (43.5)		9 (13.0)		4 (5.8)		7 (10.1)	
淋巴结转移			0.435		1.000		1.000		0.177
N0	30	10 (33.3)		4 (13.3)		1 (3.3)		7 (23.3)	
N1	82	34 (41.5)		10 (12.2)		4 (4.9)		9 (11.0)	

注 MUC16 : 黏蛋白 16 基因 (mucin16); FLG : 丝聚蛋白 (filaggrin); SMAD4 : SMAD 家庭成员 4 (SMAD family member 4); COL6A3 : VI 型胶原蛋白 α3 (collagen type VI alpha 3 chain)

综上所述, 本研究通过全基因组外显子测序和靶向测序发现 MUC16 和 COL6A3 基因错义突变与食管鳞癌、贲门腺癌和结肠腺癌均有关, SMAD4 基因突变与消化道腺癌的发生密切相关, FLG 基因突变对食管鳞癌的影响更大。

参考文献 :

[1] 王立东, 宋 昕, 赵学科, 等. 河南省食管癌高发发现场防治和实验室研究 60 年回顾与展望 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2019, 54(2): 149-160.

[2] Steevens J, Schouten LJ, Goldbohm RA, et al. Alcohol consumption, cigarette smoking and risk of subtypes of oesophageal and gastric cancer: a prospective cohort study [J]. Gut, 2010, 59(1): 39-48.

[3] Ishiguro S, Sasazuki S, Inoue M, et al. Effect of alcohol consumption, cigarette smoking and flushing response on

esophageal cancer risk: a population-based cohort study (JPHC study) [J]. Cancer Lett, 2009, 275(2): 240-246.

[4] Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, et al. Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies [J]. Ann Intern Med, 2004, 140(8): 603-613.

[5] Ding GC, Ren JL, Chang FB, et al. Human papillomavirus DNA and P16INK4A expression in concurrent esophageal and gastric cardiacancers [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(47): 5901-5906.

[6] Noreen F, Rööslä M, Gaj P, et al. Modulation of age- and cancer-associated DNA methylation change in the healthy colon by aspirin and lifestyle [J]. J Natl Cancer Inst, 2014, 106(7): dju161.

[7] Baeg MK, Choi MG, Jung YD, et al. Esophageal squamous cell carcinoma patients have an increased risk of coexisting colorectal neoplasms [J]. Gut Liver, 2016, 10(1): 76-82.

[8] Yoshida N, Tamaoki Y, Baba Y, et al. Incidence and risk

- factors of synchronous colorectal cancer in patients with esophageal cancer: an analysis of 480 consecutive colonoscopies before surgery[J]. *Int J Clin Oncol*, 2016, 21(6): 1079–1084.
- [9] Houette A, Gilain L, Mulliez A, et al. Prognostic value of two tumour staging classifications in patients with sinonasal mucosal melanoma[J]. *Eur ann otorhinolaryngol head neck dis*, 2016, 133(5): 313–317.
- [10] Mayo E, Llanos AA, Yi X, et al. Prognostic value of tumour deposit and perineural invasion status in colorectal cancer patients: a SEER-based population study[J]. *Histopathology*, 2016, 69(2): 230–238.
- [11] 李娟, 顾笑梅. 血清 HE-4 和 CA125 检测在卵巢癌术后转归中的特点[J]. *实用肿瘤杂志*, 2017, 32(4): 356–358.
- [12] Zhang L, Han X, Shi Y. Association of MUC16 mutation with response to immune checkpoint inhibitors in solid tumors[J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(8): e2013201.
- [13] Abe T, Koi C, Kohi S, et al. Gene variants that affect levels of circulating tumor markers increase identification of patients with pancreatic cancer[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(5): 1161–1169.
- [14] Shen H, Guo M, Wang L, et al. MUC16 facilitates cervical cancer progression via JAK2/STAT3 phosphorylation-mediated cyclooxygenase-2 expression[J]. *Genes Genomics*, 2020, 42(2): 127–133.
- [15] Aigner T, Hambach L, Söder S, et al. The C5 domain of Col6A3 is cleaved off from the Col6 fibrils immediately after secretion[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290(2): 743–748.
- [16] 谢春英. COL6A3 在结直肠癌中的表达及相关临床意义[D]. 吉林: 吉林大学医学院, 2018.
- [17] Ao R, Guan L, Wang Y, et al. Silencing of COL1A2, COL6A3, and THBS2 inhibits gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion while promoting apoptosis through the PI3k-Akt signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(6): 4420–4434.
- [18] Li Y, Sun Y, Yang Q, et al. Variants in COL6A3 gene influence susceptibility to esophageal cancer in the Chinese population[J]. *Cancer Genet*, 2019, 238: 23–30.
- [19] 黄晓丹, 张发明, 季国忠. Smad4 在肿瘤侵袭和转移中的作用[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(9): 849–853.
- [20] Wasserman I, Lee LH, Ogino S, et al. SMAD4 loss in colorectal cancer patients correlates with recurrence, loss of immune infiltrate, and chemoresistance[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(6): 1948–1956.
- [21] Wang F, Xia X, Yang C, et al. SMAD4 gene mutation renders pancreatic cancer resistance to radiotherapy through promotion of autophagy[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(13): 3176–3185.
- [22] Yatagai N, Saito T, Akazawa Y, et al. Frequent loss of heterozygosity of SMAD4 locus and prognostic impacts of SMAD4 immunohistochemistry in gastric adenocarcinoma with enteroblastic differentiation[J]. *Hum Pathol*, 2019, 88: 18–26.
- [23] Ritterhouse LL, Wu EY, Kim WG, et al. Loss of SMAD4 protein expression in gastrointestinal and extra-gastrointestinal carcinomas[J]. *Histopathology*, 2019, 75(4): 546–551.
- [24] Nikolic A, Ristanovic M, Zivaljevic V, et al. SMAD4 gene promoter mutations in patients with thyroid tumors[J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 99(1): 100–103.
- [25] Rohini M, Arumugam B, Vairamani M, et al. Stimulation of ATF3 interaction with Smad4 via TGF- $\beta$  1 for matrix metalloproteinase 13 gene activation in human breast cancer cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 134: 954–961.
- [26] Ge W, Hu H, Cai W, et al. High-risk stage III colon cancer patients identified by a novel five-gene mutational signature are characterized by upregulation of IL-23A and gut bacterial translocation of the tumor microenvironment[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(7): 2027–2035.
- [27] 马捷, 张学军. 丝聚蛋白代谢的相关研究进展[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2018, 9: 1081–1083.
- [28] Mlitz V, Latreille J, Gardinier S, et al. Impact of filaggrin mutations on Raman spectra and biophysical properties of the stratum corneum in mild to moderate atopic dermatitis[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012, 26(8): 983–990.
- [29] Leick KM, Rodriguez AB, Melssen MM, et al. The barrier molecules junction plakoglobin, filaggrin, and dystonin play roles in melanoma growth and angiogenesis[J]. *Ann Surg*, 2019, 270(4): 712–722.
- [30] Baeg MK, Choi MG, Jung YD, et al. Esophageal squamous cell carcinoma patients have an increased risk of coexisting colorectal neoplasms[J]. *Gut Liver*, 2016, 10(1): 76–82.