

全血核黄素水平与食管鳞癌发生发展的关联研究

李珊珊¹ 谭华珍² 许溢洳² 吴志勇³ 吴健谊² 赵学科⁴ 王立东⁴ 龙琳²
李恩民² 许丽艳² 张建军⁵

¹四川护理职业学院医疗技术系预防医学教研室,成都 610000;²汕头大学医学院 广东沿海潮汕地区癌症高发区分子生物学重点实验室 515041;³中山大学附属汕头医院 汕头中心医院肿瘤外科 515041;⁴郑州大学第一附属医院河南省食管癌研究重点实验室 450052;⁵汕头大学医学院公共卫生与预防医学教研室 515041

通信作者:张建军,Email:zhangjj@stu.edu.cn,电话:0754-88900307

【摘要】 目的 探讨全血核黄素水平与食管鳞癌(ESCC)发生发展的关联。方法 采用病例对照的研究方法,于2014年3月至2018年9月,选取在南方潮汕地区的汕头大学医学院附属医院、汕头市中心医院和北方太行山地区的郑州大学第一附属医院就诊的ESCC患者为病例组;在该医院体检的非ESCC患者为对照组,对照组按照年龄(± 5 岁)、性别进行1:1匹配。最终共纳入1 528例研究对象,病例组和对照组各764例。采集研究对象的静脉血3~5 ml,检测红细胞谷胱甘肽还原酶活性系数(GRAC)代表血核黄素水平。采用多因素条件logistics回归模型分析GRAC与ESCC患病风险的关联;以生存资料完整的288例患者为研究对象,根据总生存期、生存结局与GRAC的关联最强点(GRAC=7.87)将研究对象分为两组:高谷胱甘肽还原酶组(GRAC ≥ 7.87)和低GRAC组(GRAC < 7.87),采用Cox比例风险回归模型分析GRAC与ESCC预后的关联。**结果** 1 528例研究对象中,南方潮汕地区958例,病例组和对照组分别有479例,年龄分别为(59.90 \pm 9.34)、(59.55 \pm 8.77)岁;北方太行山地区共570例,病例组和对照组分别有285例,年龄分别为(58.39 \pm 5.19)、(58.74 \pm 4.57)岁。多因素条件logistic回归模型分析结果显示,GRAC与ESCC患病风险OR(95%CI)值为1.009(0.998~1.019);Cox比例风险回归模型分析结果显示,50~70岁年龄组中,与低GRAC组相比,高GRAC组的死亡风险HR(95%CI)值为1.712(1.034~2.824)。**结论** 全血核黄素水平与ESCC的发生可能没有关联;高全血核黄素水平利于50~70岁ESCC患者的预后。

【关键词】 食管肿瘤; 核黄素; 病例对照研究

基金项目:国家自然科学基金-广东联合基金重点项目(U1301227)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.11.010

The association between the whole blood riboflavin level and the occurrence, development and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma

Li Shanshan¹, Tan Huazhen², Xu Yiwei², Wu Zhiyong³, Wu Jianyi², Zhao Xueke⁴, Wang Lidong⁴, Long Lin², Li Enmin², Xu Liyan², Zhang Jianjun⁵

¹Department of Preventive Medicine, Sichuan Nursing Vocational College, Chengdu 610000, China; ²Shantou University Medical College/Key Laboratory of Molecular Biology in High Cancer Incidence Coastal Chaoshan Area of Guangdong Higher Education Institutes, Shantou 515041, China; ³Department of Oncologic Surgery, Shantou Central Hospital / Affiliated Shantou Hospital of Sun Yat-Sen University, Shantou 515041, China; ⁴Henan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research of The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; ⁵Department of Public Health, Shantou University Medical College, Shantou 515041, China

Corresponding author: Zhang Jianjun, Email: zhangjj@stu.edu.cn, Tel: 0086-754-88900307

【Abstract】 Objective To investigate the association between the whole blood riboflavin level and the occurrence, development and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in China.

Methods From March 2014 to September 2018, ESCC patients from three hospitals (the Affiliated Hospital of Medical College of Shantou University, Shantou Central Hospital in Southern Chaoshan area and First Affiliated Hospital of Zhengzhou University in Northern Taihang Mountain) were selected as a case group; non-esophageal patients who had a physical examination were selected as a control group. The case and control group were paired by age (± 5 years) and a 1:1 ration. A total of 1 528 subjects were enrolled including 764 patients in the case group and 764 patients in the control group. About 3–5 ml venous blood samples were collected, and the erythrocyte glutathione reductase activity coefficient (GRAC) was measured to assess the whole blood riboflavin level. A multivariate conditional logistic regression model was used to analyze the association between the GRAC and the risk of ESCC. The association between the GRAC and the prognosis of ESCC was analyzed by using Cox proportional risk regression model based on 288 patients with complete survival data. They were divided into two groups, the high GRAC group ($\text{GRAC} \geq 7.87$) group and the low GRAC group ($\text{GRAC} < 7.87$) according to the strongest correlation between the total survival time, survival outcome and GRAC ($\text{GRAC} = 7.87$). **Results** Among the 1 528 patients, 958 patients were from Southern Chaoshan area, including 479 patients in the case group with an average age about (59.90 ± 9.34) years and 479 patients in the control group with an average age about (59.55 ± 8.77) years. Other 570 patients were from Northern Taihang Mountain area, including 285 patients in the case group with an average age (58.39 ± 5.19) years and 285 patients in the control group with an average age about (58.74 ± 4.57) years. The multivariate conditional logistic regression showed that the *OR* (95%*CI*) of the GRAC and the risk of ESCC was 1.009 (0.998–1.019). The Cox proportional hazard regression model analysis showed that the *HR* (95%*CI*) of the high GRAC group was 1.712 (1.034–2.824) compared with the low GRAC group in the 50–70 years group. **Conclusion** The whole blood riboflavin level might not be associated with the occurrence of ESCC. The high whole blood riboflavin level would be more beneficial to the prognosis of ESCC patients aged 50–70 years.

【Key words】 Esophageal neoplasms; Riboflavin; Case-control studies

Fund program: Natural Science Foundation of China Guangdong Joint Fund (U1301227)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.11.010

食管癌是全球排名死亡率第六位的致死性癌症,可分为食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)两种组织学亚型^[1-2]。食管癌的发病率和死亡率较高^[3],其中90%的亚型为ESCC^[3-7]。食管癌的危险因素包括饮食因素、心理因素、遗传因素、消化系统因素和环境因素等^[8-9],其中饮食因素包括营养素的作用逐渐引起人们的重视^[10-11],如核黄素(维生素B2)缺乏^[12-13]。但核黄素水平与ESCC关系的流行病学调查结果不尽相同:有多项研究发现ESCC高发区的居民普遍缺乏核黄素,如伊朗^[14],非洲^[15],中国的盐亭^[16]、磁县^[13]等太行山一带高发区^[17]。此外,我国一些研究人员发现补充核黄素可以显著降低食管癌发病率^[13]。然而,也有研究者认为核黄素与食管癌之间不存在关联,如在中国河南林县进行的营养干预调查和病例对照研究中,并未发现核黄素与食管癌发病率之间存在关联^[18-19]。因此,开展核黄素与ESCC的关联研究十分必要。

中国食管癌发病情况较为严峻,全球食管癌病例近70%在中国^[1]。ESCC患者一般预后较差,5年生存率为8%~41%^[20-21],因此,探索ESCC患者预后的影响因素,改善患者预后具有重要的临床意义。

大多数学者对我国ESCC高发的北方地区太行山一带的研究较多,但对南方研究较少。广东省潮汕地区是华南地区ESCC特有的沿海高风险地区^[22]。然而,在沿海地区关于核黄素水平与ESCC发病及预后的关系尚不清楚。因此,本研究开展了以多中心人群为基础的大型病例对照研究,探讨了潮汕地区和华北地区核黄素水平与ESCC发生发展的关联。

对象与方法

1. 样本量计算:采用病例对照研究的样本量计算方法,通过查阅相关文献^[19,23],设定核黄素不足或缺乏在对照组中的估计暴露率 $P_0=0.683$,病例组的估计暴露率 $P_1=0.894$, $\alpha=0.05$, $\beta=0.1$,得出每组最小样本量均为86例。

2. 对象:采用病例对照的研究方法,于2014年3月至2018年9月,选取在南方潮汕地区的汕头大学医学院附属医院、汕头市中心医院和北方太行山地区的郑州大学第一附属医院就诊的ESCC患者为病例组,病例组纳入标准为经病理诊断或影像学证实为ESCC患者^[1,24],年龄为30~85岁。对照组为在该医院体检的非ESCC患者,按照年龄(± 5 岁)、性别进行1:1匹配。最终共纳入1 528例研究对象,

病例组和对照组各 764 例。本研究经汕头市中心医院、汕头大学医学院和郑州大学伦理委员会审查通过(批号:SUMC2013XM-0002),所有研究对象均签署知情同意书。

3. 血核黄素水平测定:采集静脉血 3~5 ml, 2 000×g 在 25~26 °C 下离心 5 min, 取下层全血细胞并加入等体积生理盐水,混匀后于-80 °C 冰箱中冷冻保存。根据前期研究,以红细胞谷胱甘肽还原酶活性系数(glutathione reductase activity coefficient, GRAC)代表血核黄素水平,GRAC 值越高,核黄素水平越低^[12-16]。根据参考文献^[25-26],采用南京建成生物工程学院 A104 试剂盒检测血液的 GRAC 值。对于 GRAC 值超过 30 或 GRAC 为负数的离群值进行重复检测,保证数据质量,避免系统误差。

4. 统计学分析:采用 EXCEL 2013 录入数据,采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。GRAC 符合近似正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;分类资料采用构成比或率表示。采用 X-tile plot 软件,根据总生存期、生存结局与 GRAC 的关联,得出关联最强点 GRAC=7.87 ($\chi^2=3.35, P=0.039$)^[27-28],据此将研究对象分为两组:高谷胱甘肽还原酶组(GRAC \geq 7.87)和低 GR 组(GRAC<7.87)组。采用独立样本 *t* 检验分析不同地区、性别以及病例和对照组间 GRAC 的差异,采用单因素方差分析不同年龄组间 GRAC 的差异,采用 Spearman 秩相关分别分析 GRAC 与 ESCC 患者临床参数间的相关性。以 GRAC 值作为自变量,ESCC 为因变量,调整年龄和性别后,采用条件 logistic 回归模型分析 GRAC 与 ESCC 的关联性。采用 Kaplan-Meier 方法计算不同 GRAC 组的生存率和无瘤生存率;采用 Log Rank 检验法分析不同年龄、GRAC 组生存曲线的差异。以生存期资料完整的 288 例患者的年龄、性别、GRAC 值、TNM 分期为自变量,以总生存期为因变量,根据年龄分层后(<50 岁, 50~70 岁, >70 岁),采用 Cox 比例风险模型分析 GRAC 与 ESCC 预后的关联;双侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. 基本情况:1 528 例研究对象中,南方潮汕地区 958 例,男性占 77.45%(742 例),病例组和对照组分别有 479 例,年龄分别为(59.90 \pm 9.34)、(59.55 \pm 8.77)岁;北方太行山地区共 570 例,男性占 65.61%(374 例),病例组和对照组分别有 285 例,年龄分别

为(58.39 \pm 5.19)、(58.74 \pm 4.57)岁。

2. ESCC 病例组和对照组 GRAC 水平的比较:南方潮汕地区病例组和对照组的 GRAC 值分别为 11.55 \pm 15.00 和 11.76 \pm 9.95,北方太行山地区病例组和对照组 GRAC 值分别为 11.53 \pm 12.13 和 11.15 \pm 11.09,差异均无统计学意义(*P* 值均 >0.05)。见表 1。

表 1 不同特征 ESCC 病例组和对照组的 GRAC 水平比较

特征	病例组	对照组	<i>t</i> / <i>F</i> 值	<i>P</i> 值
南方潮汕地区	11.55 \pm 15.00	11.76 \pm 9.95	0.57	0.554
性别			0.65	0.502
男性	10.71 \pm 12.22	12.55 \pm 12.73		
女性	13.01 \pm 12.65	11.32 \pm 13.43		
年龄(岁)			0.59	0.550
<50	10.46 \pm 10.36	11.21 \pm 9.25		
50~70	12.19 \pm 10.97	11.51 \pm 12.22		
>70	11.54 \pm 8.76	11.18 \pm 8.31		
北方太行山地区	11.53 \pm 12.13	11.15 \pm 11.09	0.57	0.554
性别			0.65	0.704
男性	12.33 \pm 10.13	11.53 \pm 11.13		
女性	11.05 \pm 9.09	10.95 \pm 11.33		
年龄(岁)			1.79	0.180
<50	9.58 \pm 8.24	10.33 \pm 7.22		
50~70	11.79 \pm 10.18	11.43 \pm 10.22		
>70	10.23 \pm 11.20	11.42 \pm 4.33		

注:GRAC 为谷胱甘肽还原酶活性系数;ESCC 为食管鳞癌

3. ESCC 相关因素的 logistic 回归模型分析:调整年龄、性别后,GRAC 与 ESCC 的患病风险无关联,详见表 2。

表 2 GRAC 与食管鳞癌患病风险的多因素条件 logistic 回归模型分析

因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	OR(95%CI) 值
性别					
男					1.00
女	0.079	0.240	0.110	0.740	1.083(0.677~1.732)
GRAC	0.001	0.007	0.031	0.861	1.009(0.998~1.019)
年龄(岁)					
<50					1.00
50~70	-0.657	0.468	1.684	0.156	0.432(0.207~1.246)
>70	-0.188	0.459	0.201	0.509	0.798(0.338~1.709)

注:GRAC 为谷胱甘肽还原酶活性系数

4. 不同 GRAC 水平的 ESCC 患者生存曲线比较:高、低 GR 组患者的 5 年生存率分别为 50% 和 53%, 5 年无瘤生存率分别为 52% 和 54%, 差异均没

有统计学意义,详见图1。进一步将患者按照年龄分层分析发现,50~70 岁年龄组中,GRAC<7.87 组 ESCC 患者 5 年存活率(60%)大于 GRAC≥7.87 组(40%)($P=0.027$)。详见图2。

5. ESCC 相关因素的 Cox 比例风险回归模型分析:调整年龄、性别后,与 TNM- I 期患者相比, II 期、 III 期患者的预后较差, HR(95%CI) 值分别为 4.72 (1.44~15.46)、14.89(4.69~47.28)。进一步按照年龄分层后发现,50~70 岁年龄组中,与低 GARC 组相比,高 GARC 组的预后较差,死亡风险 HR(95%CI) 值为 1.712(1.034~2.824)($P<0.05$)。见表3。

表3 潮汕和太行山地区 ESCC 患者的核黄素水平对预后的影响(288 例)

因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	HR(95%CI) 值
年龄(岁)					
<50					1.000
50~70	-0.656	0.392	2.909	0.091	0.523(0.242~1.101)
>70	0.062	0.293	0.052	0.832	1.073(0.601~1.882)
性别					
男					1.000
女	0.142	0.231	0.382	0.542	1.151(0.731~1.813)
GRAC					
高	-0.011	0.013	0.642	0.419	0.992(0.981~1.012)
低	0.474	0.863	0.292	0.031	1.712(1.034~2.824)
TNM-分期					
I 期					1.000
II 期	-2.081	0.771	7.262	0.014	4.719(1.443~15.462)
III 期	-0.522	0.477	1.191	0.012	14.893(4.692~47.284)

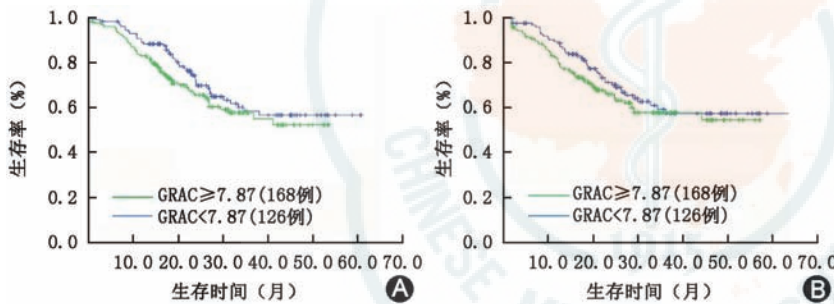
注:GRAC 为谷胱甘肽还原酶活性系数; GRAC<7.87 为低 GARC 组, GRAC≥7.87 为高 GARC 组

讨论

核黄素是维持正常细胞功能所必需的微量营养素^[29],核黄素缺乏可导致多种临床异常症状,如

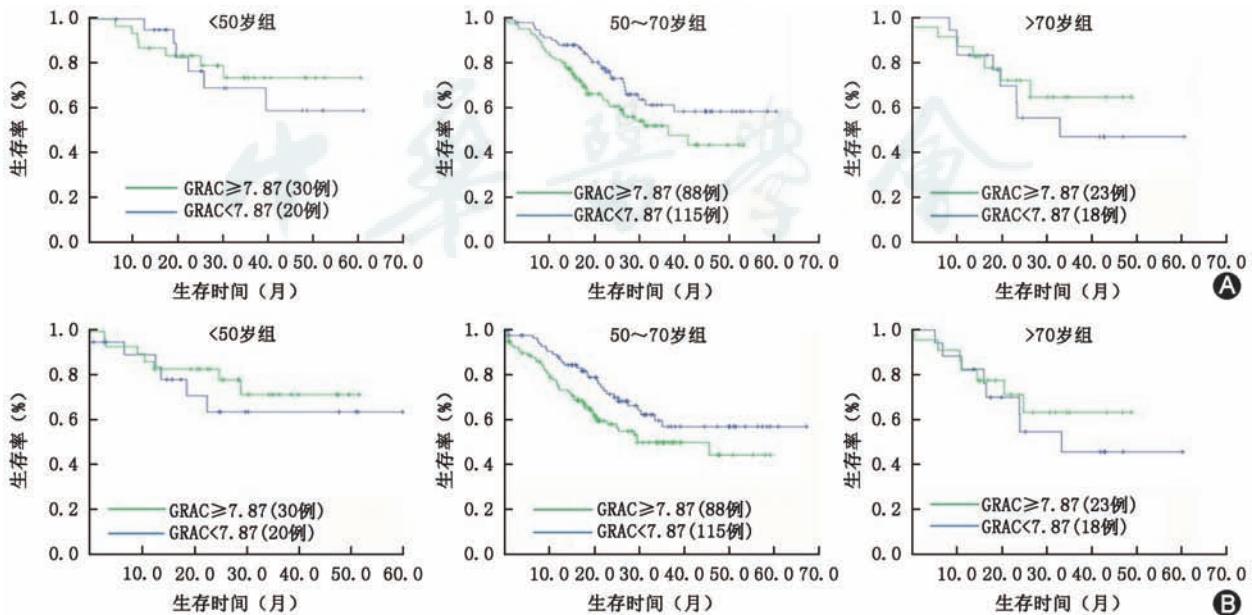
神经系统退行性变、周围神经病变等^[30-32]。有研究发现核黄素缺乏可能与癌症的发生有关,可使致癌物的敏感性增加^[33],也可导致 DNA 修复酶活性过度增高,使 DNA 修复出现异常,从而诱发癌变^[34]。

本研究结果显示,ESCC 病例组与健康对照组核黄素水平差异无统计学意义,且核黄素与 ESCC 的发生



GRAC: 谷胱甘肽还原酶活性系数

图1 2014—2018 年潮汕地区不同谷胱甘肽还原酶活性系数食管鳞癌患者的生存曲线 图A、B 分别为总生存期、无瘤生存期的生存率



GRAC: 谷胱甘肽还原酶活性系数

图2 2014—2018 年潮汕地区分年龄组不同谷胱甘肽还原酶活性系数食管鳞癌患者的生存曲线 图A 为总生存期生存率;图B 为无瘤生存期生存率

没有关联。可能的原因如下:首先,研究采用 GRAC 来反映体内核黄素水平^[13,16,18,24],但酶活性是间接指标,可能无法准确反映体内核黄素水平,以后的研究可采用直接指标来反映体内核黄素水平,如高效液相色谱^[35]和 ELISA 试剂盒^[36]检测血浆核黄素水平和 4 h 尿负荷核黄素^[37];其次,有文献指出,GRAC>1.5 则定为核黄素缺乏^[13],若按此标准分析,则收集到的样本中病例组和对照组均存在广泛缺乏核黄素的情况(病例组和对照组核黄素缺乏比例分别占 99.35%、97.91%),这也可能是导致病例组和对照组 GRAC 值没有差异的原因之一。

进一步对核黄素水平与 ESCC 患者预后进行生存分析发现,50~70 岁年龄段,全血核黄素水平较高的患者可能拥有较好的预后。50~70 岁为食管癌的高发年龄^[38],低于 50 岁年龄段食管癌患者机体机能及消化功能较好,对营养素吸收及利用较好,此年龄段患者身体各项素质较好,预后较好;而高于 70 岁年龄段患者身体各项机能下降较快,且为多器官多系统的综合性作用,共同影响患者预后,以上可能导致核黄素水平与患者预后没有关联的原因之一。另外,由于本研究中收集到的低于 50 岁及高于 70 岁年龄段患者人数较少,下阶段的研究可增加这两个年龄段的样本人数,进一步探索两者之间的关联性。

核黄素可能通过影响转录和蛋白组水平调控基因的表达,从而影响食管癌患者的预后^[39]。在一项小鼠肿瘤实验研究中发现,核黄素转运蛋白 RFT2 的过表达可以增加肿瘤细胞的数量,并轻度增加黄酮依赖通路的活性^[40],这提示核黄素缺乏可能与其转运障碍有关。另外,一项对 ESCC 患者全基因组的研究表明,位于染色体 20p13 的食管癌易感基因 C20orf54 与核黄素的转运密切相关,C20orf54 上的某些 SNP 位点(如 rs13042395 和 rs3746803)是 ESCC 易感性位点,对 ESCC 的风险有显著影响^[41-42],由此可推断 C20orf54 的不同 SNP 位点可能通过影响核黄素的摄取从而影响体内核黄素水平。

综上,本研究发现 50~70 岁年龄段 ESCC 患者的核黄素水平可能与预后存在关联,这在临床上具有一定的指导意义,提示 50~70 岁年龄段 ESCC 患者应注意增强营养及核黄素等维生素的补充,以改善预后状况。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] 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 Cancer J Clin*, 2018,68(6):394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [3] 刘曙正,于亮,李变云,等. 林州市食管癌筛查病例与非筛查病例生存情况比较[J]. *中华预防医学杂志*, 2018,52(3):238-242. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2018.03.005.
- [4] Wang KJ, Yang JX, Shi JC, et al. Genetic epidemiological analysis of esophageal cancer in high-incidence areas of China [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014,15(22):9859-9863.
- [5] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Esophageal cancer incidence and mortality in China, 2010[J]. *Thorac Cancer*, 2014,5(4):343-348. DOI:10.1111/1759-7714.12100.
- [6] Tran GD, Sun XD, Abnet CC, et al. Prospective study of risk factors for esophageal and gastric cancers in the Linxian general population trial cohort in China[J]. *Int J Cancer*, 2005, 113(3):456-463.
- [7] Prabhu A, Obi KO, Rubenstein JH. 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.
- [8] Gao YT, McLaughlin JK, Gridley G, et al. Risk factors for esophageal cancer in Shanghai, China. II. Role of diet and nutrients[J]. *Int J Cancer*, 1994,58(2):197-202.
- [9] Fan Y, Yuan JM, Wang R, et al. Alcohol, tobacco, and diet in relation to esophageal cancer: the Shanghai Cohort Study[J]. *Nutr Cancer*, 2008, 60(3): 354-363. DOI: 10.1080 / 01635580701883011.
- [10] Hajizadeh B, Jessri M, Akhondan M, et al. Nutrient patterns and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control study[J]. *Dis Esophagus*, 2012, 25(5): 442-448. DOI:10.1111/j.1442-2050.2011.01272.x.
- [11] Tang L, Lee AH, Xu F, et al. Fruit and vegetable consumption and risk of esophageal cancer: a case-control study in north-west China[J]. *Dis Esophagus*, 2014, 27(8): 777-782. DOI: 10.1111/dote.12157.
- [12] Chen H, Tucker KL, Graubard BI, et al. Nutrient intakes and adenocarcinoma of the esophagus and distal stomach[J]. *Nutr Cancer*, 2002, 42(1): 33-40. DOI: 10.1207 / S15327914NC421_5.
- [13] He Y, Ye L, Shan B, et al. Effect of riboflavin-fortified salt nutrition intervention on esophageal squamous cell carcinoma in a high incidence area, China[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2009,10(4):619-622.
- [14] Siassi F, Ghadirian P. Riboflavin deficiency and esophageal cancer: a case control-household study in the Caspian Littoral of Iran[J]. *Cancer Detect Prev*, 2005, 29(5): 464-469. DOI: 10.1016/j.cdp.2005.08.001.
- [15] van Rensburg SJ. Epidemiologic and dietary evidence for a specific nutritional predisposition to esophageal cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1981,67(2):243-251.
- [16] 李纪宾,邹小农,王华余,等. 盐亭县核黄素强化盐干干预试验人群食管癌前病变与转归的研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2009,16(5):325-328.
- [17] 周脉耕,王晓风,胡建平,等. 2004—2005 年中国主要恶性

- 肿瘤死亡的地理分布特点[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 44(4): 303-308. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2010.04.006.
- [18] Blot WJ, Li JY, Taylor PR, et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1993,85(18):1483-1492.
- [19] Yang CS, Miao J, Yang W, et al. Diet and vitamin nutrition of the high esophageal cancer risk population in Linxian, China [J]. *Nutr Cancer*, 1982,4(2):154-164.
- [20] 李学民, 汤萨, 彭秀青, 等. 1973—2005 年手术治疗食管癌患者 5 年生存率变化分析[J]. 肿瘤防治研究, 2014, (3): 237-242. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2014.03.009.
- [21] Sun LL, Wu JY, Wu ZY, et al. A three-gene signature and clinical outcome in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2015,136(6):E569-577. DOI: 10.1002/ijc.29211.
- [22] Min S, Dong PT, Xiao YL, et al. Four case reports of families with esophageal cancer in a high-risk region on the Guangdong Chaoshan coast of China [J]. *Dis Esophagus*, 2002, 15(3):257-261.
- [23] Thurnham DI, Zheng SF, Munoz N, et al. Comparison of riboflavin, vitamin A, and zinc status of Chinese populations at high and low risk for esophageal cancer [J]. *Nutr Cancer*, 1985,7(3):131-143.
- [24] 马丹, 杨帆, 廖专, 王洛伟. 中国早期食管癌筛查及内镜诊治专家共识意见[J]. 胃肠病学, 2015,20(4):220-240.
- [25] 顾景范, 陈玉珍, 王宗印. 全血谷胱甘肽还原酶活性系数评价实验性核黄素缺乏的研究[J]. 营养学报, 1981(4):251-260.
- [26] 徐琪寿, 韦京豫, 杨继军, 等. 核黄素缺乏大鼠血浆与红细胞核黄素及衍生物浓度的变化[J]. 营养学报, 2005(5):40-43.
- [27] Li LY, Li EM, Wu ZY, et al. Overexpression of GRB2 is correlated with lymph node metastasis and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014,7(6):3132-40.
- [28] Camp RL, Dolled-Filhart M, Rimm DL. X-tile: a new bio-informatics tool for biomarker assessment and outcome-based cut-point optimization [J]. *Clin Cancer Res*, 2004,10(21):7252-7259.
- [29] Subramanian VS, Subramanya SB, Rapp L, et al. Differential expression of human riboflavin transporters -1, -2, and -3 in polarized epithelia: a key role for hRFT-2 in intestinal riboflavin uptake[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1808(12): 3016-3021.
- [30] Yao Y, Yonezawa A, Yoshimatsu H, et al. Identification and comparative functional characterization of a new human riboflavin transporter hRFT3 expressed in the brain [J]. *J Nutr*, 2010,140(7):1220-1226.
- [31] Nabokina SM, Subramanian VS, Said HM. Effect of clinical mutations on functionality of the human riboflavin transporter-2 (hRFT-2) [J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 105(4): 652-657. DOI: 10.1016/j.ymgme.2011.12.021.
- [32] Subramanian VS, Rapp L, Marchant JS, et al. Role of cysteine residues in cell surface expression of the human riboflavin transporter-2 (hRFT2) in intestinal epithelial cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 301(1): G100-109. DOI: 10.1152/ajpgi.00120.2011.
- [33] Pangrekar J, Krishnaswamy K, Jagadeesan V. Effects of riboflavin deficiency and riboflavin administration on carcinogen-DNA binding[J]. *Food Chem Toxicol*, 1993,31(10): 745-750.
- [34] Webster RP, Gawde MD, Bhattacharya RK. Modulation of carcinogen-induced DNA damage and repair enzyme activity by dietary riboflavin [J]. *Cancer Lett*, 1996,98(2):129-135.
- [35] Ainiwaer J, Tuerhong A, Hasim A, et al. Association of the plasma riboflavin levels and riboflavin transporter (C20orf54) gene statuses in Kazak esophageal squamous cell carcinoma patients [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(5): 3769-3775. DOI: 10.1007/s11033-012-2453-7.
- [36] Persson C, Sasazuki S, Inoue M, et al. Plasma levels of carotenoids, retinol and tocopherol and the risk of gastric cancer in Japan: a nested case-control study [J]. *Carcinogenesis*, 2008,29(5):1042-1048. DOI: 10.1093/carcin/bgn072.
- [37] 吕全军, 王华丽, 胡同宇, 等. 林州市食管癌高发区人群维生素营养状况的动态变化研究[J]. 卫生研究, 2007, 36(6): 719-721.
- [38] 陈志国, 张朋, 黄静, 等. 2005 年和 2010 年食管癌高/低发区慢性食管炎与食管癌流行特征对比分析[J]. 河南大学学报(医学版), 2012,31(3):219-222.
- [39] Powers HJ, Corfe BM, Nakano E. Riboflavin in development and cell fate[J]. *Subcell Biochem*, 2012, 56: 229-245. DOI: 10.1007/978-94-007-2199-9_12.
- [40] Jiang XR, Yu XY, Fan JH, et al. RFT2 is overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma and promotes tumorigenesis by sustaining cell proliferation and protecting against cell death [J]. *Cancer Lett*, 2014, 353(1): 78-86. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.07.013.
- [41] Wang LD, Zhou FY, Li XM, et al. Genome-wide association study of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese subjects identifies susceptibility loci at PLCE1 and C20orf54 [J]. *Nat Genet*, 2010,42(9):759-763. DOI: 10.1038/ng.648.
- [42] Tan HZ, Wu ZY, Wu JY, et al. Single nucleotide polymorphism rs13042395 in the SLC52A3 gene as a biomarker for regional lymph node metastasis and relapse-free survival of esophageal squamous cell carcinoma patients [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 560. DOI: 10.1186/s12885-016-2588-3.

(收稿日期:2019-03-28)

(本文编辑:张振伟)