

- ΟΝΟΜΑ ΥΠΟΨΗΦΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ: ΝΤΟΥΡΑΚΗΣ ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ
- ΟΝΟΜΑΤΑ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:
 1. (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ) ΘΥΜΑΡΑ ΕΙΡΗΝΗ
 2. ΛΑΖΑΡΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ
 3. ΣΑΚΕΛΛΑΡΙΟΥ ΣΤΡΑΤΗΓΟΥΛΑ
- ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: «ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΔΕΝΟΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΟΙΣΟΦΑΓΟΥ ΜΕ ΤΗΝ Β-ΚΑΤΕΝΙΝΗ»

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.

Ο καρκίνος του οισοφάγου είναι ο όγδοος πιο κοινός τύπος καρκίνου παγκοσμίως. Ο καρκίνος του οισοφάγου σχετίζεται με πολύ κακή πρόγνωση, παρόλο που η τεχνολογία έχει εξελιχθεί για να βοηθά στη διάγνωση καθώς και στη θεραπεία (Short et al., 2017). Υπάρχουν δύο τύποι καρκινώματος οισοφάγου, το αδενοκαρκίνωμα που εντοπίζεται κυρίως στο κάτω μέρος και το πλακώδες καρκίνωμα που εντοπίζεται σε όλο το μήκος του οισοφάγου. Σε αυτό το προσχέδιο της διδακτορικής διατριβής, θα παρουσιαστεί η σχέση του καρκίνου του οισοφάγου με τη β-κατενίνη. Η Β-κατενίνη είναι το όνομα του μέλους της υπερικογενείας των Armadillo, μιας ομάδας πρωτεϊνών με κοινή κεντρική περιοχή που αποτελείται από 6 επαναλήψεις 42 αμινοξέων. Ο ρόλος του είναι σημαντικός στην ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος μέσω της οδού Wnt (El-Bahrawy et al., 2001). Η ποσότητα της διαλυτής β-κατενίνης δεν φαίνεται να συσχετίζεται με την κλινικοπαθολογική αξιολόγηση των όγκων, αλλά η συσσώρευση ελεύθερης διαλυτής β-κατενίνης στο κυτταρόπλασμα και τους πυρήνες συμβαίνει συχνά κατά τη διάρκεια της καρκινογένεσης του αδενοκαρκινώματος του επιθηλίου του οισοφάγου (Kimura et al. et al., 1999).

ΥΠΑΡΧΟΝΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η οδός σηματοδότησης WNT έχει αποδειχθεί ότι παίζει κρίσιμο ρόλο στην καρκινογένεση του καρκίνου του οισοφάγου (He et al., 2014; He et al., 2012; Mizushima et al., 2002; Kadowaki et al., 1994). Αρκετά στοιχεία οδού της οδού σηματοδότησης WNT μπορεί να υπερεκφράζονται στον καρκίνο του οισοφάγου, συμπεριλαμβανομένου του βασικού σηματοδοτικού παράγοντα β-κατενίνης (He et al., 2014; He et al., 2012; Mizushima et al., 2002; Kadowaki et al., 1994). Επιπλέον, η ανώμαλη ενεργοποίηση της

WNT/ β -κατενίνης φαίνεται να είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για την κακή πρόγνωση ασθενών με αυτόν τον τύπο καρκίνου (Kadowaki et al., 1994· Saeki et al., 2002· Roth et al., 2005). Από την άλλη πλευρά, η καταστολή της σηματοδότησης WNT φαίνεται να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και να μειώνει την κινητικότητα και την εισβολή των κυττάρων (Wang et al., 2012). Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η β -κατενίνη μπορεί να είναι μια κρίσιμη πρωτεΐνη-στόχος για αποτελεσματική θεραπεία EC. Επί του παρόντος, έχει διαπιστωθεί ότι τα MicroRNA (miRNAs) συμμετέχουν σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες στοχεύοντας τα αγγελιαφόρα RNA (mRNAs) και ρυθμίζοντας την έκφρασή τους (Iorio & Croce, 2012). Μέχρι σήμερα, τα miRNAs έχουν αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στην ανάπτυξη πολλών καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του οισοφάγου (Sharma, 2015). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι το miR-140 καταστέλλει την ανάπτυξη του όγκου στον καρκίνο του οισοφάγου (Zhang, et al., 2018). Ωστόσο, ο μοριακός μηχανισμός του miR -140 στη ρύθμιση της εξέλιξης του καρκίνου του οισοφάγου παραμένει άγνωστος. Σε αντίθεση με τη βραδέως φθίνουσα συχνότητα του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος, η συχνότητα του οισοφαγικού αδενοκαρκινώματος (EAC) έχει αυξηθεί πολύ τις τελευταίες δεκαετίες (Brown, Devesa and Chow, 2008· Pohl, Sirovich and Welch, 2010). Τα αδενοκαρκινώματα αναπτύσσονται, κυρίως, σε άτομα με μακρύ ιστορικό οισοφάγου Barrett, που προκύπτει από μακροχρόνια γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (Hvid-Jensen et al., 2011). Ωστόσο, λείπει ένας σε βάθος χαρακτηρισμός των υποδοχέων Wnt κατά μήκος των πιο προχωρημένων σταδίων αυτής της νόσου. Η οδός σηματοδότησης Wnt/ β -κατενίνης είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη, την κινητικότητα και τη διαφοροποίηση των κυττάρων κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης (Niehrs, 2012). Στα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, είναι γνωστά 19 μόρια Wnt. Ως συνέπεια μιας αδρανοποιημένης οδού σηματοδότησης, σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα ενδοκυτταρικής αποικοδόμησης που αποτελείται από κινάση συνθάσης γλυκογόνου (GSK3 β), αδενωματώδη πολυποδίαση coli (APC) και Axin2 και οδηγεί σε φωσφορυλίωση και ουβικιτινοποίηση β -κατενίνης (Staal, 2001). Ως αποτέλεσμα, η β -κατενίνη απομακρύνεται από το σύμπλεγμα πρωτεασωμικής αποικοδόμησης. Σε ενεργοποιημένη κατάσταση, τα εξωκυτταρικά μόρια Wnt συνδέονται με τον υποδοχέα της μεμβράνης με φριζάρισμα (FZD) και σε συνδυασμό με πρωτεΐνη που σχετίζεται με τον υποδοχέα λιποπρωτεΐνης (LRP),

ενεργοποιούν το ενδοκυτταρικό μόριο Disheveled (Dsh) (Kikuchi et al., 2011). Το ενεργοποιημένο Dsh αναστέλλει τον σχηματισμό του συμπλέγματος αποικοδόμησης. Στη συνέχεια, η β-κατενίνη συσσωρεύεται στο κυτταρόπλασμα και μετατοπίζεται στον πυρήνα, με αποτέλεσμα τη μεταγραφή (Niehrs, 2012). Σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου, η οδός σηματοδότησης Wnt-/ β -κατενίνης φαίνεται να παίζει βασικό ρόλο κατά την καρκινογένεση.

Ένα ενεργοποιημένο μονοπάτι σηματοδότησης Wnt-/ β -κατενίνης θα μπορούσε επίσης να είναι ένας πιθανός μηχανισμός για την εξέλιξη του αδενοκαρκινώματος του οισοφάγου (EAC). Οι Clément et al., (2006) παρατήρησαν μια μεθυλίωση του προαγωγέα APC, η οποία συνοδεύεται από έλλειψη έκφρασης APC στον οισοφάγο Barrett και στην EAC. Επιπλέον, μια μεθυλίωση προαγωγέα του εκκρινόμενου ανταγωνιστή Wnt υποδοχέα μεμβράνης frizzled 1 (SFRP1), η οποία σχετίζεται με απώλεια λειτουργίας του SFRP1, βρέθηκε στον οισοφάγο Barrett και στην EAC πιο συχνά από ό,τι στον κανονικό πλακώδη βλεννογόνο. Η ανάλυση κυτταρικής καλλιέργειας της μεταπλαστικής κυτταρικής σειράς CP-A και κυτταρικής σειράς καρκινώματος οισοφάγου OE33 έδειξε υψηλότερη έκφραση των γονιδίων στόχου Wnt Axin2 και CyclinD1 (Lyros et al., 2015). Επιπλέον, το CyclinD1 και το Axin2 εκφράζονται περισσότερο στον οισοφάγο Barrett παρά στο φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο από ανθρώπινες βιοψίες (Lyros et al., 2015). Επίσης, η ανάλυση της έκφρασης της β-κατενίνης έδειξε υψηλά κυτταροπλασματικά επίπεδα και πυρηνική συσσώρευση β-κατενίνης σε υψηλού βαθμού δυσπλασία. Βρέθηκε επίσης μια ταυτόχρονη μείωση στη μεμβρανώδη έκφραση της β-κατενίνης (Moyes et al., 2012). Συνολικά, αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν έντονα μια ενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης Wnt-/ β -κατενίνης κατά την ανάπτυξη EAC.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ

Η παρούσα έρευνα θα διεξαχθεί στο Α εργαστήριο παθολογικής ανατομικής Ιατρικής σχολής του ΕΚΠΑ. με στόχο τη μελέτη δειγμάτων οισοφαγεκτομής από ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο του οισοφάγου. Αυτή η έρευνα στοχεύει στην περαιτέρω μελέτη του ρόλου της οδού Wnt στον καρκίνο του οισοφάγου, με βάση έρευνες που έχουν ήδη διεξαχθεί. Θα βασιστεί πρώτα σε μια βιβλιογραφική ανασκόπηση και στη συνέχεια στα πειραματικά αποτελέσματα που έχουμε στη διάθεσή μας μετά από διαφραγματικές οισοφαγεκτομές.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η τεχνική της διαδιαφραγματικής οισοφαγεκτομής χρησιμοποιείται πλέον ως εναλλακτική και λιγότερο επώδυνη λύση, λόγω του ότι δεν γίνεται θωρακοτομή. Η μελέτη των δειγμάτων θα ολοκληρωθεί προκειμένου να μελετηθεί η συγκέντρωση και ο ρόλος της β-κατενίνης στη δημιουργία αδενοκαρκινώματος του οισοφάγου. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η β-κατενίνη φαίνεται να έχει πρωταρχικό ρόλο τόσο στην εμφάνιση του αρχικού καρκίνου όσο και στην εξέλιξή του. Τα αποτελέσματα της οισοφαγεκτομής θα συλλεχθούν από τους ιατρικούς φακέλους που αρχειοθετούνται στο εργαστήριο παθολογικής ανατομικής ιατρικής σχολής ΕΚΠΑ. Η συγκέντρωση της β-κατενίνης των δειγμάτων θα συσχετιστεί στατιστικά με διάφορες δημογραφικές και κλινικές παραμέτρους, όπως φύλο, ηλικία, εάν βρίσκεται στον οισοφάγο Barrett, προηγούμενη χημειοθεραπεία, ύπαρξη διηθημένων λεμφαδένων ή απομακρυσμένων μεταστάσεων.

References

Brown, L.M., Devesa, S.S. and Chow, W.-H. . (2008). Incidence of Adenocarcinoma of the Esophagus Among White Americans by Sex, Stage, and Age. JNCI Journal of the National Cancer Institute, 100(16), pp.1184–1187. doi:10.1093/jnci/djn211.

Clément, G., Braunschweig, R., Pasquier, N., Bosman, F.T. and Benhattar, J. (2006). Alterations of the Wnt signaling pathway during the neoplastic progression of Barrett's esophagus. Oncogene, 25(21), pp.3084–3092. doi:10.1038/sj.onc.1209338.

He H, Ding F, Li S, Chen H, Liu Z. Expression of migfilin is increased in esophageal cancer and represses the Akt-beta-catenin activation. Am J Cancer Res. 2014;4:270–278.

He H, Ding F, Li Y, Luo A, Chen H, Wu C, Liu Z. Migfilin regulates esophageal cancer cell motility through promoting GSK-3beta-mediated degradation of beta-catenin. Mol Cancer Res. 2012;10:273–281.

Hvid-Jensen, F., Pedersen, L., Drewes, A.M., Sørensen, H.T. and Funch-Jensen, P. (2011). Incidence of Adenocarcinoma among Patients with Barrett's Esophagus. New England Journal of Medicine, 365(15), pp.1375–1383. doi:10.1056/nejmoa1103042.

lorio, M. V., & Croce, C. M. (2012). microRNA involvement in human cancer. *Carcinogenesis*, 33(6), 1126–1133. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs140>

K. Zhang, J. Chen, H. Song, et al. SNHG16/miR-140-5p axis promotes esophagus cancer cell proliferation, migration and EMT formation through regulating ZEB1 Oncotarget, 9 (2018), pp. 1028-1040. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23178>

Kadowaki T, Shiozaki H, Inoue M, Tamura S, Oka H, Doki Y, Iihara K, Matsui S, Iwazawa T, Nagafuchi A, et al. E-cadherin and alpha-catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res.* 1994;54:291–6.

Kikuchi, A., Yamamoto, H., Sato, A. and Matsumoto, S. (2011). New Insights into the Mechanism of Wnt Signaling Pathway Activation. *International Review of Cell and Molecular Biology*, pp.21–71. doi:10.1016/b978-0-12-386035-4.00002-1.

Lyros, O., Rafiee, P., Nie, L., Medda, R., Jovanovic, N., Otterson, M.F., Behmaram, B., Gockel, I., Mackinnon, A. and Shaker, R. (2015). Wnt/ β -Catenin Signaling Activation beyond Robust Nuclear β -Catenin Accumulation in Nondysplastic Barrett's Esophagus: Regulation via Dickkopf-1. *Neoplasia*, 17(7), pp.598–611. doi:10.1016/j.neo.2015.07.006.

Mizushima T, Nakagawa H, Kamberov YG, Wilder EL, Klein PS, Rustgi AK. Wnt-1 but not epidermal growth factor induces beta-catenin/T-cell factor-dependent transcription in esophageal cancer cells. *Cancer Res.* 2002;62:277–282.

Moyes, L.H., McEwan, H., Radulescu, S., Pawlikowski, J., Lamm, C.G., Nixon, C., Sansom, O.J., Going, J.J., Fullarton, G.M. and Adams, P.D. (2012). Activation of Wnt signalling promotes development of dysplasia in Barrett's oesophagus. *The Journal of Pathology*, 228(1), pp.99–112. doi:10.1002/path.4058.

Niehrs, C. (2012). The complex world of WNT receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(12), pp.767–779. doi:10.1038/nrm3470.

Pohl, H., Sirovich, B. and Welch, H.G. (2010). Esophageal Adenocarcinoma Incidence: Are We Reaching the Peak? *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(6), pp.1468–1470. doi:10.1158/1055-9965.epi-10-0012.

Rajabi, P., Heydarpoor, M., Maghsoudi, A., Mohaghegh, F., & Dehghani Mobarakeh, M. (2019). The Study for Diagnostic Value of β -Catenin Immunohistochemistry Marker in Distinction of Aggressive and Non-Aggressive Basal Cell Carcinoma. Iranian journal of pathology, 14(1), 52–60. <https://doi.org/10.30699/IJP.14.1.52>

Short MW, Burgers KG, Fry VT. Esophageal Cancer. Am Fam Physician. 2017 Jan 1;95(1):22-28. PMID: 28075104.

Staal, F.J.T. (2001). Wnt signals are transmitted through N-terminally dephosphorylated beta-catenin. EMBO Reports, [online] 3(1), pp.63–68. doi:10.1093/embo-reports/kvf002.

• NAME OF DOCTORAL CANDIDATE: ALEXANDROS DURAKIS

• NAMES OF THREE-MEMBER ADVISORY COMMITTEE:

1. (SUPERVISORS) THYMARA EIRINI

2. LAZARIS ANDREAS

3. SAKELLARIOY STRATIGOYLA

• DISSERTATION TITLE: "RELATIONSHIP OF ESOPHAGEAL ADENOCARCINOMA WITH B-CATENIN"

INTRODUCTION

Esophageal cancer is the eighth most common type of cancer worldwide. Esophageal cancer is associated with a very poor prognosis even though technology has evolved to aid in diagnosis as well as treatment (Short et al., 2017). There are two types of esophageal carcinoma, adenocarcinoma, which is located mainly in the lower part, and squamous carcinoma, which is located along the entire length of the esophagus. In this draft of the doctoral thesis, the relationship between esophageal cancer and β -catenin, will be presented. B-catenin is the name of the member of the armadillo superfamily, a group of proteins with a common central region consisting of 6 repeats of 42 amino acids. Its role is important in intracellular signal transduction through the Wnt pathway (El-Bahrawy et al., 2001). The amount of soluble β -catenin does not seem to correlate with the clinicopathological evaluation of tumours, but the accumulation of free soluble β -catenin in the cytoplasm and nuclei frequently

occurs during the carcinogenesis of esophageal epithelial adenocarcinoma (Kimura et al. et al., 1999).

EXISTING DATA AND CURRENT LITERATURE

The WNT signalling pathway has been shown to play a critical role in the carcinogenesis of esophageal cancer (He et al., 2014; He et al., 2012; Mizushima et al., 2002; Kadowaki et al., 1994). Several pathway components of the WNT signalling pathway may be overexpressed in esophageal cancer, including the key signalling factor β -catenin (He et al., 2014; He et al., 2012; Mizushima et al., 2002; Kadowaki et al., 1994). Furthermore, aberrant WNT/ β -catenin activation appears to be a prognostic factor for the poor prognosis of patients with this type of cancer (Kadowaki et al., 1994; Saeki et al., 2002; Roth et al., 2005). On the other hand, suppression of WNT signalling appears to inhibit cancer cell proliferation and growth and reduce cell motility and invasion (Wang et al., 2012). These data suggest that β -catenin may be a critical target protein for effective EC therapy.

Currently, it is established that MicroRNAs (miRNAs) participate in various cellular processes by targeting messenger RNAs (mRNAs) and regulating their expression (Iorio & Croce, 2012). To date, miRNAs have been shown to be involved in the development of many cancers, including esophageal cancer (Sharma, 2015). Recent studies show that miR-140 suppresses tumour growth in esophageal cancer (Zhang, et al., 2018). However, the molecular mechanism of miR-140 in regulating esophageal cancer progression remains unknown.

In contrast to the slowly declining incidence of squamous cell carcinoma, the incidence of esophageal adenocarcinoma (EAC) has increased greatly in recent decades (Brown, Devesa and Chow, 2008; Pohl, Sirovich and Welch, 2010). Adenocarcinomas develop, primarily, in individuals with a long history of Barrett's esophagus, resulting from long-term gastroesophageal reflux (Hvid-Jensen et al., 2011). However, an in-depth characterization of Wnt receptors along the more advanced stages of this disease is lacking. The Wnt/ β -catenin

signalling pathway is responsible for cell growth, motility and differentiation during embryogenesis (Niehrs, 2012). In mammals, including humans, 19 Wnt molecules are known. As a consequence of an inactivated signalling pathway, an intracellular degradation complex consisting of glycogen synthase kinase (GSK3 β), adenomatous polyposis coli (APC) and Axin2 is formed and leads to β -catenin phosphorylation and ubiquitination (Staal, 2001). As a result, β -catenin is removed from the proteasomal degradation complex. In an activated state, extracellular Wnt molecules bind to membrane receptor frizzled (FZD) and in combination with lipoprotein receptor-related protein (LRP), activate the intracellular molecule Disheveled (Dsh) (Kikuchi et al., 2011). Activated Dsh inhibits the formation of the degradation complex. β -catenin then accumulates in the cytoplasm and translocates to the nucleus, resulting in transcription (Niehrs, 2012). In different cancer types, the Wnt-/ β -catenin signalling pathway appears to play a key role during carcinogenesis.

An activated Wnt-/ β -catenin signalling pathway could also be a potential mechanism for esophageal adenocarcinoma (EAC) progression. Clément et al., (2006) observed a methylation of the APC promoter, which is accompanied by a lack of APC expression in Barrett's esophagus and EAC. In addition, a promoter methylation of the Wnt antagonist secreted membrane receptor frizzled 1 (SFRP1), which is associated with loss of function of SFRP1, was found in Barrett's esophagus and EAC more frequently than in normal squamous mucosa. Cell culture analysis of the metaplastic CP-A cell line and OE33 esophageal carcinoma cell line showed higher expression of the Wnt target genes Axin2 and CyclinD1 (Lyros et al., 2015). Furthermore, CyclinD1 and Axin2 are more highly expressed in Barrett's esophagus than in normal squamous epithelium from human biopsies (Lyros et al., 2015). Also, analysis of β -catenin expression showed high cytoplasmic levels and nuclear accumulation of β -catenin in high-grade dysplasia. A concomitant decrease in membranous β -catenin expression was also found (Moyes et al., 2012). Taken together, these findings strongly indicate an activation of the Wnt-/ β -catenin signalling pathway during EAC development.

RESEARCH OBJECTIVE

The present research will be carried out in, a laboratory of pathology anatomy medical school in Athens with the aim of studying esophagectomy samples from patients diagnosed with esophageal cancer.

This research aims to further study the role of the Wnt pathway in esophageal cancer, based on research that has already been conducted. It will be based first on a literature review and then on the experimental results available to us after diaphragmatic esophagectomies.

Methodology

The transdiaphragmatic esophagectomy technique is now used as an alternative and less painful solution, due to the fact that a thoracotomy is not performed. The study of the samples will be completed in order to study the concentration and the role of β -catenin in the creation of esophageal adenocarcinoma. As already mentioned, β -catenin seems to have a primary role both in the appearance of initial cancer and in its progression. Esophagectomy results will be collected from the medical files archived in the a laboratory of pathology anatomy medical school in Athens. The concentration of β -catenin of the samples will be statistically correlated different demographical and clinical parameters, such as sex, age, if it is in located in Barrett's esophagus, previous chemotherapy treatment, existence of infiltrated lymph nodes or distant metastases.

References

Brown, L.M., Devesa, S.S. and Chow, W.-H. . (2008). Incidence of Adenocarcinoma of the Esophagus Among White Americans by Sex, Stage, and Age. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 100(16), pp.1184–1187. doi:10.1093/jnci/djn211.

Clément, G., Braunschweig, R., Pasquier, N., Bosman, F.T. and Benhattar, J. (2006). Alterations of the Wnt signaling pathway during the neoplastic progression of Barrett's esophagus. *Oncogene*, 25(21), pp.3084–3092. doi:10.1038/sj.onc.1209338.

He H, Ding F, Li S, Chen H, Liu Z. Expression of migfilin is increased in esophageal cancer and represses the Akt-beta-catenin activation. *Am J Cancer Res*. 2014;4:270–278.

He H, Ding F, Li Y, Luo A, Chen H, Wu C, Liu Z. Migfilin regulates esophageal cancer cell motility through promoting GSK-3 β -mediated degradation of β -catenin. *Mol Cancer Res*. 2012;10:273–281.

Hvid-Jensen, F., Pedersen, L., Drewes, A.M., Sørensen, H.T. and Funch-Jensen, P. (2011). Incidence of Adenocarcinoma among Patients with Barrett's Esophagus. *New England Journal of Medicine*, 365(15), pp.1375–1383. doi:10.1056/nejmoa1103042.

Iorio, M. V., & Croce, C. M. (2012). microRNA involvement in human cancer. *Carcinogenesis*, 33(6), 1126–1133. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs140>

K. Zhang, J. Chen, H. Song, et al. SNHG16/miR-140-5p axis promotes esophagus cancer cell proliferation, migration and EMT formation through regulating ZEB1 Oncotarget, 9 (2018), pp. 1028-1040. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23178>

Kadowaki T, Shiozaki H, Inoue M, Tamura S, Oka H, Doki Y, Iihara K, Matsui S, Iwazawa T, Nagafuchi A, et al. E-cadherin and α -catenin expression in human esophageal cancer. *Cancer Res*. 1994;54:291–6.

Kikuchi, A., Yamamoto, H., Sato, A. and Matsumoto, S. (2011). New Insights into the Mechanism of Wnt Signaling Pathway Activation. *International Review of Cell and Molecular Biology*, pp.21–71. doi:10.1016/b978-0-12-386035-4.00002-1.

Lyros, O., Rafiee, P., Nie, L., Medda, R., Jovanovic, N., Otterson, M.F., Behmaram, B., Gockel, I., Mackinnon, A. and Shaker, R. (2015). Wnt/ β -Catenin Signaling Activation beyond Robust Nuclear β -Catenin Accumulation in Nondysplastic Barrett's Esophagus: Regulation via Dickkopf-1. *Neoplasia*, 17(7), pp.598–611. doi:10.1016/j.neo.2015.07.006.

Mizushima T, Nakagawa H, Kamberov YG, Wilder EL, Klein PS, Rustgi AK. Wnt-1 but not epidermal growth factor induces β -catenin/T-cell factor-dependent transcription in esophageal cancer cells. *Cancer Res*. 2002;62:277–282.

Moyes, L.H., McEwan, H., Radulescu, S., Pawlikowski, J., Lamm, C.G., Nixon, C., Sansom, O.J., Going, J.J., Fullarton, G.M. and Adams, P.D. (2012). Activation of Wnt signalling promotes development of dysplasia in Barrett's oesophagus. *The Journal of Pathology*, 228(1), pp.99–112. doi:10.1002/path.4058.

Niehrs, C. (2012). The complex world of WNT receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(12), pp.767–779. doi:10.1038/nrm3470.

Pohl, H., Sirovich, B. and Welch, H.G. (2010). Esophageal Adenocarcinoma Incidence: Are We Reaching the Peak? *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 19(6), pp.1468–1470. doi:10.1158/1055-9965.epi-10-0012.

Rajabi, P., Heydarpoor, M., Maghsoudi, A., Mohaghegh, F., & Dehghani Mobarakeh, M. (2019). The Study for Diagnostic Value of β -Catenin Immunohistochemistry Marker in Distinction of Aggressive and Non-Aggressive Basal Cell Carcinoma. *Iranian journal of pathology*, 14(1), 52–60. <https://doi.org/10.30699/IJP.14.1.52>

Short MW, Burgers KG, Fry VT. Esophageal Cancer. *Am Fam Physician*. 2017 Jan 1;95(1):22-28. PMID: 28075104.

Staal, F.J.T. (2001). Wnt signals are transmitted through N-terminally dephosphorylated β -catenin. *EMBO Reports*, [online] 3(1), pp.63–68. doi:10.1093/embo-reports/kvf002.