

# GPR133 基因甲基化在早期胃癌 淋巴结转移预测中的作用

张洁<sup>1</sup>, 赵颖慧<sup>2</sup>, 董雅琪<sup>1</sup>, 李娟<sup>1</sup>, 李培龙<sup>1</sup>, 杜鲁涛<sup>1,2</sup>

(1. 山东大学第二医院检验医学中心, 山东 济南 250033; 2. 山东大学齐鲁医院检验医学中心, 山东 济南 250012)

**摘要:** **目的** 通过定量检测 GPR133 基因甲基化位点, 探讨其在早期胃癌淋巴结转移 (lymph node metastasis, LNM) 预测中的临床价值。 **方法** 回顾性选取 2023 年 1 月至 2024 年 5 月山东大学第二医院消化内科收治的 100 例 T1 期胃癌患者为研究对象; 采用 MethylationEPIC 芯片分析 T1 期胃癌 LNM 阳性和阴性患者的手术组织样本, 评估全基因组甲基化状态并识别差异甲基化位点 (differentially methylated positions, DMPs); 基于基因富集和功能预测确定候选 DMPs; 选用 20 例 LNM 阳性及 80 例阴性患者的福尔马林固定石蜡包埋 (formalin-fixed and paraffin-embedded, FFPE) 切片通过焦磷酸测序验证候选 DMPs 的甲基化水平; 采用受试者操作特征曲线下面积 (area under curve, AUC) 评估 DMPs 在早期胃癌 LNM 诊断中的临床价值。 **结果** MethylationEPIC 芯片分析显示, T1 期胃癌 LNM 阳性样本具有特异性甲基化图谱; 以  $|\Delta\beta| \geq 0.1$  且  $P < 0.01$  为筛选标准, 共初步筛选出 1 794 个 DMPs; 根据基因匹配、TCGA 数据库分析及 cAMP binding 途径的富集结果, 明确 GPR133 基因上的 cg00633768 为候选位点; 焦磷酸测序结果显示, cg00633768 位点甲基化水平能够显著区分 LNM 阳性和阴性样本 (AUC = 0.869, 敏感性 64.3%, 特异性 100%, 截断值 0.618 9)。 **结论** 与 LNM 阴性患者相比, GPR133 基因的 cg00633768 位点在 LNM 阳性患者中呈显著高甲基化状态, 对预测早期胃癌 LNM 具有重要的临床价值。

**关键词:** 早期胃癌; 淋巴结转移; 甲基化; G 蛋白偶联受体; GPR133

中图分类号: R735.2

文献标志码: A

## Role of GPR133 gene methylation in predicting lymph node metastasis in early gastric cancer

ZHANG Jie<sup>1</sup>, ZHAO Yinghui<sup>2</sup>, DONG Yaqi<sup>1</sup>, LI Juan<sup>1</sup>, LI Peilong<sup>1</sup>, DU Lutao<sup>1,2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, Shandong, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the clinical value of quantitatively detecting methylation sites in the GPR133 gene for predicting lymph node metastasis (LNM) in early gastric cancer. **Methods** This retrospective study included 100 patients with T1 stage gastric cancer treated at the Department of Gastroenterology, Second Hospital of Shandong University, from January 2023 to May 2024. The MethylationEPIC array was used to analyze the whole-genome methylation status of surgical tissue samples from LNM-positive and LNM-negative patients, so as to identify differentially methylated positions (DMPs). Candidate DMPs were determined based on gene enrichment analysis and functional prediction. Pyrosequencing was performed on FFPE sections from 20 LNM-positive and 80 LNM-negative patients to validate the methylation levels of candidate DMPs. The clinical value of DMPs in diagnosing early gastric cancer lymph

node metastasis was assessed using the area under the receiver operating characteristic curve (AUC). **Results** MethylationEPIC array analysis revealed a specific methylation pattern in T1 stage gastric cancer LNM-positive samples. Using a threshold of  $|\Delta\beta| \geq 0.1$  and  $P < 0.01$ , a total of 1,794 DMPs were initially identified. According to the results of gene matching and TCGA database analysis and cAMP binding pathway enrichment, cg00633768 on GPR133 gene was identified as a candidate site. Pyrosequencing results showed that cg00633768 methylation level could significantly distinguish between LNMS positive and negative samples (AUC = 0.869, sensitivity = 64.3%, specificity = 100%, cut-off value = 0.6189). **Conclusion** The methylation level of cg00633768 in the GPR133 gene is significantly higher in LNM-positive patients compared to LNM-negative patients. This site has substantial clinical value for predicting lymph node metastasis in early gastric cancer.

**Key words:** Early gastric cancer; Lymph node metastasis; Methylation; G-protein coupled receptor; GPR133

胃癌是我国发病率排名第一的消化道恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)的统计数据显示,2020年我国首次被诊断为胃癌的病例约为47.9万,死亡病例约为37.4万,严重危害人类生命健康<sup>[2]</sup>。随着内镜诊断技术的不断进步,越来越多的胃癌患者在早期阶段即被诊断,约占所有胃癌患者的20%<sup>[3]</sup>。早期胃癌治疗方法的选择也越来越受到重视。G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptors, GPCR)家族是目前已知最大的细胞表面信号受体家族,通过激活多条信号通路影响细胞的异常增殖,并通过改变细胞骨架和激活 Rho GTPases以促进肿瘤侵袭和转移<sup>[4-6]</sup>。多项研究已揭示 GPR133 与肿瘤侵袭和转移之间的密切关联<sup>[4,6-10]</sup>。

对于淋巴结转移(lymph node metastasis, LNM)阴性的早期胃癌患者,内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)提供了一种安全、有效且微创的治疗选择,不仅能完全切除病变组织,降低复发风险,还能显著减少手术创伤,缩短恢复时间,保留胃功能<sup>[11-13]</sup>。而对于存在较高 LNM 风险的患者,微创手术可能无法彻底清除癌细胞,需要进行胃大部切除术及区域淋巴结清扫以确保全面去除病变组织及可能转移的淋巴结,从而降低复发风险<sup>[14-15]</sup>。因此,在治疗前准确评估淋巴结的转移状态,有助于辅助临床决策,选择合适的治疗方案,从而显著改善患者的预后,提高患者的生活质量。本研究通过探究早期胃癌患者的全基因组甲基化状态,选择异常高甲基化的 GPR133 基因 cg00633768 位点作为研究对象,旨在为早期胃癌 LNM 提供无创诊断的新型标志物。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

#### 1.1.1 样本收集

纳入标准:①首次确诊为胃癌,癌组织仅限于黏膜层及黏膜下层;②手术前未接受放疗或化疗治疗等手段;③患者临床病例资料完整。排除标准:①同时患有其他癌症;②患有自身免疫性疾病、传染病等疾病。本研究已获得山东大学第二医院伦理委员会批准(KYLL-2023-439),所有患者均知情同意。

选取2023年1月至2024年5月期间在山东大学第二医院就诊的100例早期胃癌患者福尔马林固定石蜡包埋(formalin-fixed and paraffin-embedded, FFPE)样本,其中男82例、女18例;34~85岁,平均(64±9.8)岁;根据术后病理组织诊断结果,LNM阳性20例[LNM(+)],LNM阴性80例[LNM(-)]。

#### 1.1.2 主要试剂与仪器

QIAamp DNA FFPE Tissue Kit 购自德国 Qiagen 公司、EZ DNA Methylation-Gold Kit 购自美国 Zymo Research 公司、DNA 甲基化芯片(Illumina Infinium® Human Methylation850BeadChip)购自美国 Illumina 公司;Pyrosequencing 检测仪(PyroMark 096 ID)购自德国 QIAGEN 公司;实时荧光定量 PCR 仪(CFX-96 real-time PCR System)、凝胶成像分析及电泳仪/水平电泳槽均购自上海 Bio-Rad 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取及亚硫酸盐转化

严格按照试剂盒说明书进行组织基因组 DNA 的提取;使用 Qubit® 荧光剂法测定 DNA 浓度;严格按照 DNA Methylation-Gold 试剂说明书对基因组 DNA 样本进行重亚硫酸氢盐转化。转化完成的 DNA 放入-80℃冰箱储存备用。

### 1.2.2 Infinium MethylationEPIC BeadChip 分析

采用 Illumina Infinium MethylationEPIC Bead-Chip 对 3 例早期胃癌 LNM(+) 患者和 10 例早期胃癌 LNM(-) 患者的全基因组 DNA 甲基化水平进行检测,使用 R 语言中的 ChAMP 包对测序数据进行分析。 $\beta$  值表示 DNA 甲基化水平, $\Delta\beta$  = 早期胃癌 LNM(+) 组平均甲基化水平 - 早期胃癌 LNM(-) 组平均甲基化水平。将  $|\Delta\beta| \geq 0.1$  且  $P < 0.01$  的 CpG 定义为差异甲基化位点 (differential methylation

positions, DMPs)。

### 1.2.3 焦磷酸测序

使用 PyroMark Assay Design 2.0 软件进行候选 DMPs 的引物设计,4 个位点的扩增引物和测序引物序列信息见表 1。取亚硫酸氢盐转化后的 DNA 样本按照①95 °C, 30 s;②95 °C, 5 s;③60 °C, 30 s;④步骤②、③重复 40 个循环程序进行 PCR 扩增。取扩增完成的 DNA 样本,使用 Pyrosequencing 检测仪进行 4 个位点甲基化水平的检测。

表 1 4 个候选 CpG 位点的 PCR 扩增引物及焦磷酸测序引物序列

Table 1 Sequence of PCR amplification primers and pyrosequencing primers for the four candidate CpG sites

CpG	引物序列(5'-3')	5'端修饰
cg00633768	Forward: GTTTTGGTTAATGGTATAGTTTTAAGTG Reverse: CTACAAAACCTCCATAAACTCAAC Sequencing: GTATAGTTTTAAGTGTGTAGTAA	5'-Biotin
cg02153041	Forward: GTGGTTAGATTGTAGGGTTGAG Reverse: AACTTCCCTCTATCTACTAAT Sequencing: GTTTTGTTTTTGTGTGGA	5'-Biotin
cg13857921	Forward: AGGTAGAGTTTGGGTTGTTAG Reverse: CACAACATCCTCACTACCAAAT Sequencing: GGGTTGTTTAGGTAGTATT	5'-Biotin
cg12519783	Forward: AATTGAGTTTGAATGATAGAAAAGTAAG Reverse: AAATCACCACCACCATTCTACCT Sequencing: CCCACCCCTACCCAAAAC	5'-Biotin

### 1.2.4 生物信息学分析

从癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA) 数据库 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 下载获取 404 例胃癌患者的 mRNA 测序数据以及相应临床病理和预后资料,其中早期胃癌共 23 例,通过对数转换将数据进行归一化处理,并提取 GPR133 基因转录水平数据,使用“survival” R 包对胃癌患者进行生存分析。使用 R 包的基因本体 (gene ontology, GO) 分析对 DMPs 所在基因进行富集分析。

### 1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 8.0、Med-Calc 20.010 软件进行统计学分析。两组间计量资料的比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验,两组间分类资料的比较采用  $\chi^2$  检验;使用 Kaplan-Meier 方法评估胃癌患者中 GPR133 表达水平与总生存率 (overall survival, OS) 的关系,使用 Log-rank 检验比较两组的生存曲线差异。通过绘制受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线以及计算曲线下面积

(area under the curve, AUC) 评估候选甲基化位点的诊断效能,并根据约登指数 ( $J = \text{灵敏度} + \text{特异度} - 1$ ) 确定最佳临界值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 T1 期胃癌 LNM(+) 患者的全基因组 DNA 甲基化分析

表 2 统计了入组患者的性别、年龄、肿瘤大小、溃疡形成、分化程度等临床及病理特征。对 T1 期胃癌样本进行 MethylationEPIC 芯片分析,检测结果覆盖了全基因组的 719 570 个胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸 (cytosine-guanine dinucleotides, CpG) 位点。LNM(+) 患者在转录起始位点 (transcription start site, TSS) 上下游 5 kb 区域的甲基化水平显著高于 LNM(-) 患者 (图 1A)。设定筛选标准为  $|\Delta\beta| \geq 0.1$  且  $P < 0.01$ ,筛选出 1 794 个 DMPs,约 55% DMPs 位于基因 Body 区域,约 40% 的 DMPs 分布在启动子区域 (TSS200、TSS1500、1st Exon 和 5' UTR) (图 1B)。对筛选出的 DMPs 进行基因匹配分析,获得

与 DMPs 对应的基因共 20 个,利用TCGA数据库,基于差异分析和 Kaplan-Meier 生存分析筛选得到 GPR133 区域的 DMPs 作为下一步研究目标(表 3)。4 个差异甲基化位点 cg00633768、cg02153041、

cg13857921、cg12519783 位于 GPR133 基因区域,其在 LNM(+)患者中呈现显著高甲基化( $P<0.05$ ,图 1C)。

表 2 患者临床信息与 LNM 的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between clinical information of patients and LNM

参数	LNM(+) ( $n=20$ )	LNM(-) ( $n=80$ )	$P$
性别			0.794 6
男	16	66	
女	4	14	
年龄/岁	64±9	64±10	0.193 0
肿瘤大小/cm	4.38±2.1	2.54±1.5	0.000 2
溃疡形成			0.029 1
有	10	60	
无	10	20	
分化程度			0.039 3
低分化	5	18	
中分化	14	41	
高分化	0	21	
NA	1	0	

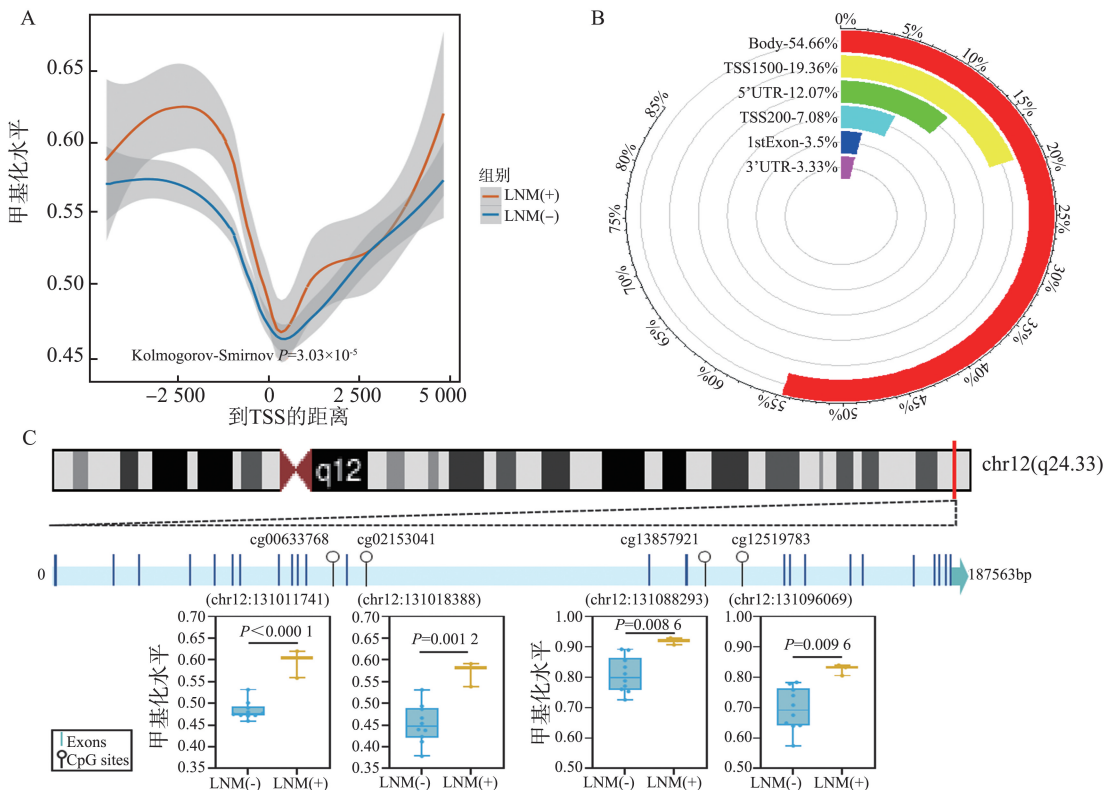


图 1 T1 期胃癌 LNM(+)患者的全基因组 DNA 甲基化分析

A: TSS 上下游 5 kb 区域甲基化水平; B: DMPs 的基因区域分布情况; C: 甲基化位点 cg00633768、cg02153041、cg13857921、cg12519783 在基因组的位置信息。

Figure 1 Genome-wide DNA methylation analysis of LNM positive T1 gastric cancer

A: Methylation level of the upstream and downstream 5 kb region of TSS; B: DMPs genetic regions distribution; C: Genome location information of methylation site cg00633768, cg02153041, cg13857921, cg12519783.

表3 基于TCGA数据库对20个相关基因进行差异基因分析和Kaplan-Meier生存分析

Table 3 The difference gene analysis and Kaplan-Meier survival analysis in 20 related genes based on the TCGA database

基因名称	baseMean	log <sub>2</sub> FC	差异分析 P值	Kaplan-Meier 分析 P值
GPR133	129.982 6	1.848 7	0.002 8	0.005 6
NXN	1 160.064 0	-1.666 7	0.016 0	0.180 0
CPLX2	25.681 8	-2.022 1	0.022 2	0.330 0
CACNA1E	93.362 2	-1.941 5	0.0249	0.240 0
ABCB5	5.925 2	-1.884 4	0.060 3	0.015 0
C3orf52	1 020.648 0	0.539 1	0.121 3	0.840 0
PCDHA10	19.464 9	-1.076 0	0.181 0	0.012 0
GNE	2 685.059 0	-0.766 5	0.197 5	0.560 0
PDE8A	3 399.722 0	0.356 8	0.200 4	0.760 0
DMPK	1 098.351 0	-0.438 4	0.252 2	0.230 0
METTL8	1 590.180 0	-0.407 0	0.274 9	0.970 0
SOX5	133.045 2	0.649 0	0.364 9	0.042 0
PSORS1C1	291.718 8	0.264 2	0.583 8	0.490 0
KCNIP4	7.763 4	-0.277 5	0.595 5	0.800 0
PTPRN2	2 766.454 0	0.315 0	0.724 6	>0.999 9
SDK2	494.682 6	-0.292 9	0.725 4	0.320 0
DPP6	14.112 9	-0.202 6	0.767 2	0.520 0
DOCK1	3 510.001 0	-0.045 3	0.863 3	0.910 0
TMEM144	1 394.335 0	0.032 6	0.929 9	0.980 0
RBFOX1	21.168 0	1.284 6	>0.999 9	0.570 0

## 2.2 GPR133 在胃癌中的表达特征及与胃癌预后的关系

根据第8版TNM分期,从TCGA数据库中获取T1期胃癌患者的转录组数据,其中包括5例LNM(+)患者和16例LNM(-)患者。在LNM(+)患者中,GPR133基因的表达水平显著高于

LNM(-)患者( $P = 0.007 8$ ) (图2A)。Kaplan-Meier曲线显示GPR133高表达组的患者生存率显著低于低表达组( $P = 0.005 6$ ),说明GPR133可能是一个与患者生存预后相关的重要指标(图2B)。GO分析显示,DMPs所在基因可富集于cAMP binding通路(图3)。

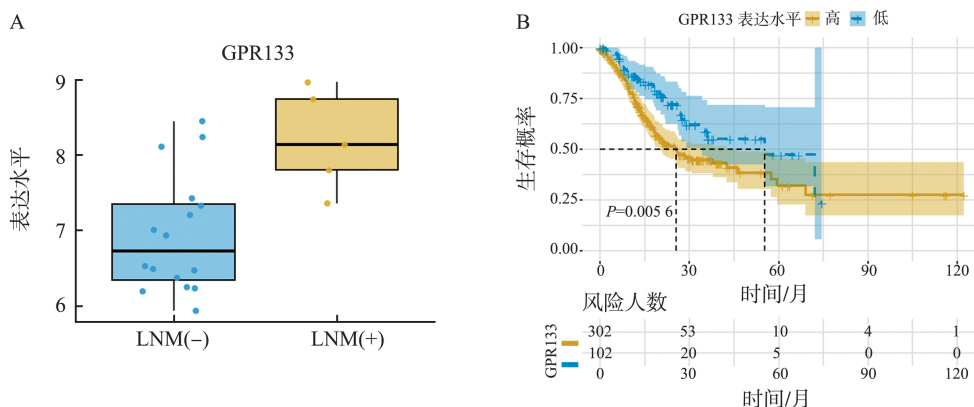


图2 GPR133在早期胃癌中的表达特征及与患者预后的关系

A: GPR133在T1期胃癌LNM(-)患者与LNM(+)患者中的表达情况; B: GPR133表达水平与患者生存率的Kaplan-Meier分析。

Figure 2 GPR133 expression characteristics in early gastric cancer and its relationship with the prognosis of patients

A: GPR133 expression in T1 stage gastric cancer LNM(-) and LNM(+) patients; B: Kaplan-Meier analysis of GPR133 expression levels and patient survival rates.

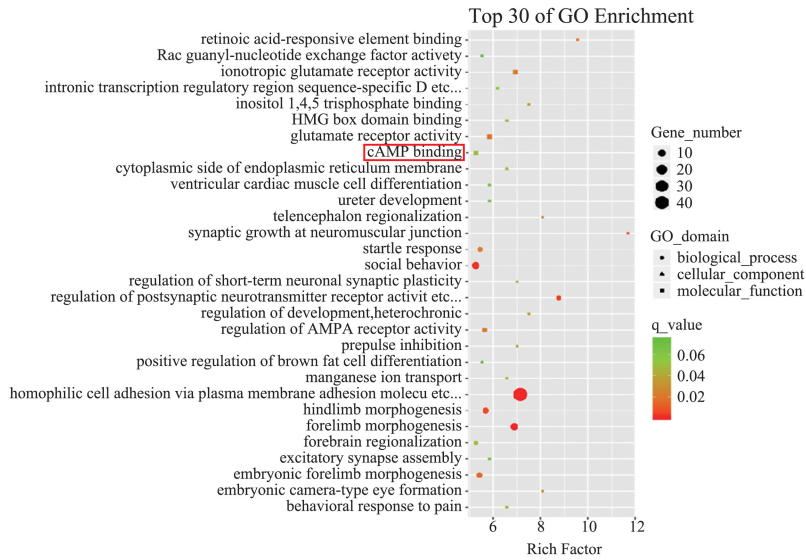


图3 DMPs 所在基因的 GO 富集分析

Figure 3 GO enrichment analysis of genes containing DMPs

### 2.3 cg00633768 位点的筛选

针对筛选获得的位点 cg00633768、cg12519783、cg13857921、cg02153041 设计焦磷酸测序引物,根据分层抽样的原则将入组患者分为训练集 70 例,其中 LNM(+) 患者 14 例, LNM(-) 患者 56 例;验证集 30 例,其中 LNM(+) 患者 6 例, LNM(-) 患者 24 例。对训练集患者进行焦磷酸测序,检测候选位点的甲基化水平,结果显示,位点 cg00633768 在早期胃癌

LNM(+) 患者中的甲基化水平显著高于 LNM(-) 患者,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),其他 3 个位点甲基化水平均无统计学意义(图 4)。ROC 曲线结果表明, cg00633768 区分早期胃癌 LNM(+) 和 LNM(-) 患者的 AUC 为 0.869, 95% CI: 0.767 ~ 0.938, 敏感性为 64.3%, 特异性为 100%,  $P < 0.001$  (图 5)。

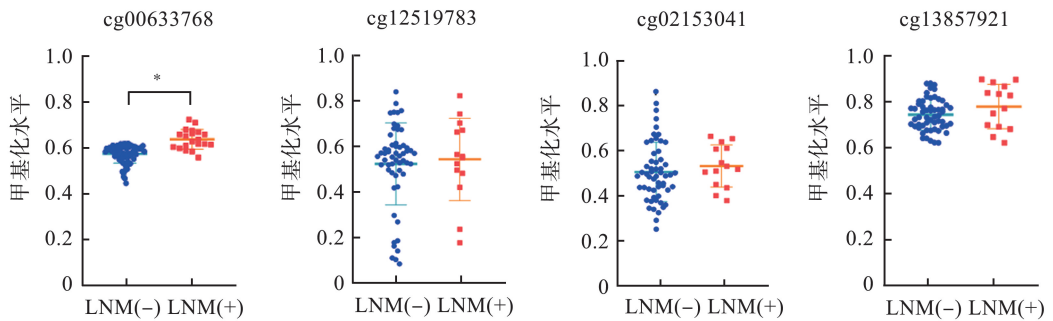
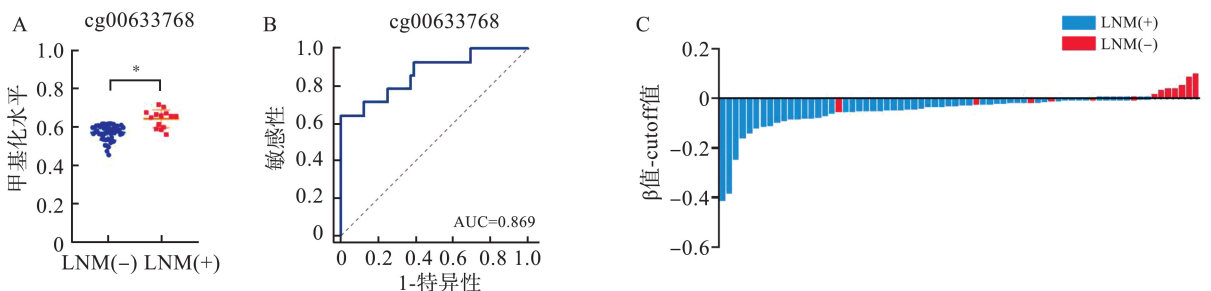


图4 cg00633768、cg12519783、cg13857921、cg02153041 位点在训练集 LNM(+) 和 LNM(-) 患者中的甲基化水平 (\* $P < 0.05$ )  
Figure 4 Methylation levels of cg00633768, cg12519783, cg13857921, and cg02153041 in LNM(+) and LNM(-) patients in the training set (\* $P < 0.05$ )

图5 cg00633768 位点在训练集中的诊断效能 (\* $P < 0.05$ )

A: 散点图; B: ROC 曲线; C: 瀑布图。

Figure 5 Diagnostic efficacy of cg00633768 locus in the training set (\* $P < 0.05$ )

A: Scatter plot; B: ROC curve; C: Waterfall plot.

## 2.4 cg00633768 位点的验证

对验证集的 6 例早期胃癌 LNM(+) 和 24 例早期胃癌 LNM(-) 患者进行焦磷酸测序进一步评估 cg00633768 位点用于 LNM 的诊断效能。ROC 曲线分析显示, cg00633768 在验证集中的 AUC 为 0.931(95% CI: 0.775~0.991, 敏感性 100%, 特异性 70.8%,  $P<0.05$ ), cg00633768 对 LNM 预测情况与

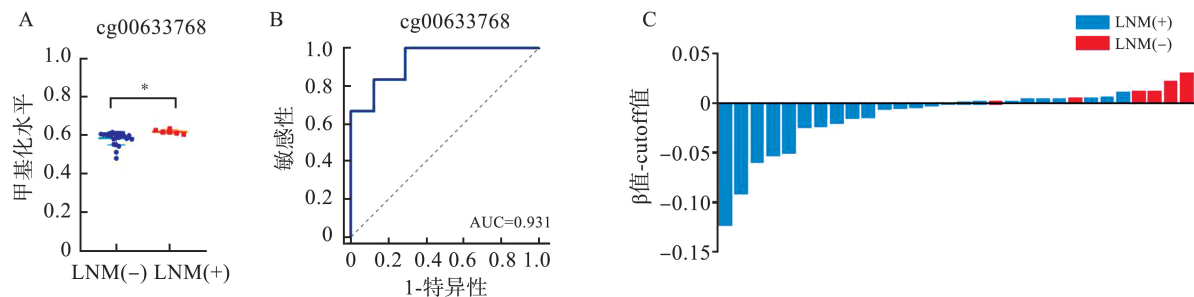


图6 位点 cg00633768 的验证

A: 散点图; B: ROC 曲线; C: 瀑布图。

Figure 6 Validation of cg00633768 site

A: Scatter plot; B: ROC curve; C: Waterfall plot.

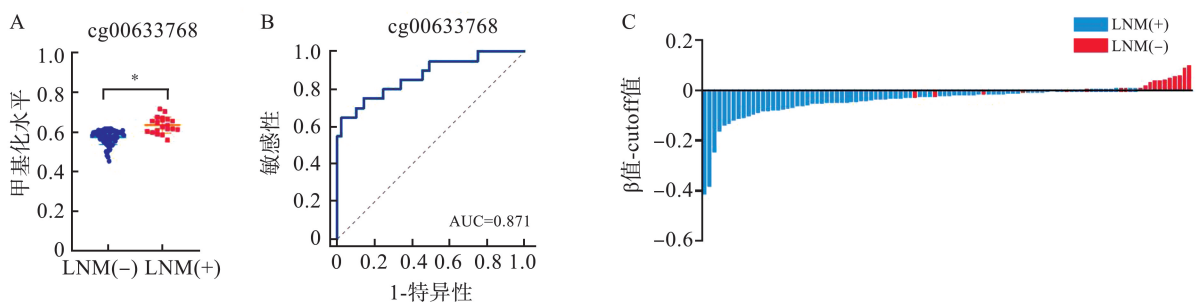


图7 位点 cg00633768 对入组患者的诊断效能验证(\* $P<0.05$ )

A: 散点图; B: ROC 曲线; C: 瀑布图。

Figure 7 Diagnostic efficacy of cg00633768 locus in the enrolled patients (\* $P<0.05$ )

A: Scatter plot; B: ROC curve; C: Waterfall plot.

## 3 讨论

在早期胃癌的治疗中, LNM 是决定治疗方案选择的关键因素。根据日本《胃癌治疗指南》和中国《胃癌诊疗指南(2022)》的相关内容, LNM 的风险评估对治疗决策起着至关重要的作用<sup>[14,16-17]</sup>。目前 LNM 的诊断依赖于影像学方法, 如超声内镜、CT 和 PET-CT, 以及内镜活检后的病理评估, 但这些传统方法在准确性和可靠性上的局限性显著, 导致了許多患者接受了不必要的手术治疗。因此, 本研究提出一种新的诊断方法来评估 LNM 状态, 辅助优化治疗策略, 提高患者的生活质量并避免过度医疗。

DNA 甲基化异常在肿瘤的早期阶段就能够发生, 并且随着肿瘤的发展持续存在, 因此 DNA 甲基化标志物在肿瘤的早期诊断和评估中具有显著的优

势。相较于传统肿瘤标志物, DNA 甲基化标志物能够提供更高的肿瘤特异性和早期检测能力, 且可以通过非侵入性样本(如血液、尿液)进行检测<sup>[18-20]</sup>。Tseng 等<sup>[21]</sup>利用该技术对痛风患者和非痛风患者的外周血进行检测, 发现了 9 个与痛风炎症转录因子调节相关的甲基化位点, 有利于痛风的诊断及预后评价。Iqbal 等<sup>[22]</sup>通过该技术揭示了甲状腺癌的全基因组 DNA 甲基化模式和基因表达谱, 为探寻甲状腺肿瘤的发生机制提供了新的线索。本研究通过 MethylationEPIC 芯片, 筛选出 1 794 个差异甲基化位点, 并进一步通过基因匹配和功能富集分析, 发现 GPR133 基因的 cg00633768 位点在 LNM(+) 早期胃癌患者中表现出显著的高甲基化状态, 且该位点具有较高的诊断价值。通过焦磷酸测序技术对训练集和验证集的验证结果进一步证实了这一发现, 表明 GPR133 基因的甲基化状态可以作为 LNM 诊断

的有效指标,为早期胃癌的个体化治疗提供了重要参考。

GPR133 基因属于黏附类 G 蛋白偶联受体家族,这类受体在肿瘤的生物过程中扮演着重要角色<sup>[4]</sup>。此外,GPCR 还可以通过促进肿瘤血管的生成来为肿瘤生长和转移提供营养。研究发现,血管紧张素 II 类型 I 受体(angiotensin II type I receptor, ATIR)拮抗剂坎地沙坦可降低血管生成相关基因的表达,并显著抑制肿瘤生长、血管形成和肺转移<sup>[6,22-24]</sup>。GPR133 通过其经典的鸟苷酸结合蛋白  $\alpha$  亚单位 s/环磷酸腺苷信号通路参与肿瘤的生长和转移机制,GPR133 的激活对于胶质母细胞瘤等恶性肿瘤的生长至关重要<sup>[10,25-26]</sup>。因此,探索 GPR133 基因区域的甲基化位点不仅有助于理解其在肿瘤转移中的作用,也为早期胃癌的 LNM 诊断提供了新的潜在生物标志物。

本研究存在以下不足:①cg00633768 位点异常甲基化在早期胃癌 LNM 筛查中具有一定价值,但是由于早期胃癌发生 LNM 的患者较少,需要进行多中心大批量样本的收集,对 cg00633768 位点进行进一步的验证。②只纳入了手术组织样本,为了促进研究结果的临床转化还需要纳入早期胃癌患者的术前活检本来验证 cg00633768 位点对于 T1 期胃癌 LNM 诊断的有效性。③关于 GPR133 基因与胃癌 LNM 发生发展关系的研究鲜有报道,需要探究 GPR133 基因甲基化改变在早期胃癌 LNM 中的作用机制问题。

综上所述,本研究构建了早期胃癌 LNM 的特异性 DNA 甲基化图谱,发现 GPR133 基因区域的高甲基化位点 cg00633768 具有良好的诊断效能,有望成为早期胃癌 LNM 鉴别诊断的新型分子标志物。

## 参考文献:

- [1] Thrift AP, Wenker TN, El-Serag HB. Global burden of gastric cancer: epidemiological trends, risk factors, screening and prevention[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(5): 338-349.
- [2] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020; an overview[J]. *Int J Cancer*, 2021. doi:10.1002/ijc.33588
- [3] 陈平,徐莹,吴云林. 消化内镜在早期胃癌诊断中的应用进展[J]. *诊断学理论与实践*, 2022, 21(5): 551-554. CHEN Ping, XU Ying, WU Yunlin. Application of digestive endoscopy in the diagnosis of early gastric cancer[J]. *Journal of Diagnostics Concepts & Practice*, 2022, 21(5): 551-554.
- [4] Ping YQ, Xiao P, Yang F, et al. Structural basis for the tethered peptide activation of adhesion GPCRs [J]. *Nature*, 2022, 604(7907): 763-770.
- [5] Yang DH, Zhou QT, Labroska V, et al. G protein-coupled receptors: structure- and function-based drug discovery[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 7. doi:10.1038/s41392-020-00435-w
- [6] Liebscher I, Cevheroğlu O, Hsiao CC, et al. A guide to adhesion GPCR research[J]. *FEBS J*, 2022, 289(24): 7610-7630.
- [7] Stephan G, Frenster JD, Liebscher I, et al. Activation of the adhesion G protein-coupled receptor GPR133 by antibodies targeting its N-terminus[J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(6): 101949. doi:10.1016/j.jbc.2022.101949
- [8] Araújo D, Ribeiro E, Amorim I, et al. Repurposed drugs in gastric cancer[J]. *Molecules*, 2022, 28(1): 319. doi:10.3390/molecules28010319
- [9] Lee KG, Shin CI, Kim SG, et al. Can endoscopic ultrasonography (EUS) improve the accuracy of clinical T staging by computed tomography (CT) for gastric cancer? [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2021, 47(8): 1969-1975.
- [10] Stephan G, Haddock S, Wang S, et al. Modulation of GPR133 (ADGRD1) signaling by its intracellular interaction partner extended synaptotagmin 1 [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(5): 114229. doi:10.1016/j.celrep.2024.114229
- [11] Noh CK, Jung MW, Shin SJ, et al. Analysis of endoscopic features for histologic discrepancies between biopsy and endoscopic submucosal dissection in gastric neoplasms: 10-year results [J]. *Dig Liver Dis*, 2019, 51(1): 79-85.
- [12] 徐惠绵,王鑫. 我国胃癌诊治临床研究现状与展望[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2020, 23(2): 109-114. XU Huimian, WANG Xin. Current status and prospects of clinical research on diagnosis and treatment of gastric cancer in China [J]. *Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2020, 23(2): 109-114.
- [13] Zhang YF, Shi FZ, Fan YX, et al. Comparison of prognostic outcomes between endoscopic submucosal dissection and surgical treatment for early gastric cancer: a retrospective cohort study [J]. *BMC Gastroenterol*, 2024, 24(1): 98. doi:10.1186/s12876-024-03186-y
- [14] Association JGC. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2021 (6th edition) [J]. *Gastric Cancer*, 2023, 26(1): 1-25.
- [15] Ono H, Yao KS, Fujishiro M, et al. Guidelines for endoscopic submucosal dissection and endoscopic mucosal resection for early gastric cancer (second edition) [J]. *Dig Endosc*, 2021, 33(1): 4-20.

- [16] 赫捷, 陈万青, 李兆申, 等. 中国胃癌筛查与早诊早治指南(2022,北京)[J]. 中华肿瘤杂志, 2022, 31(7): 643-666.  
HE Jie, CHEN Wanqing, LI Zhaoshen, et al. China guideline for the screening, early detection and early treatment of gastric cancer (2022, Beijing)[J]. Chinese Journal of Oncology, 2022, 44(7): 634-666.
- [17] 杜婉莹, 徐洪雨. 内镜黏膜下剥离术治疗早期胃癌的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2019, 39(4): 247-251.  
DU Wanying, XU Hongyu. Advances in endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer[J]. International Journal of Digestive Diseases, 2019, 39(4): 247-251.
- [18] Lissa D, Robles AI. Methylation analyses in liquid biopsy [J]. Transl Lung Cancer Res, 2016, 5(5): 492-504.
- [19] Luo HY, Wei W, Ye ZY, et al. Liquid biopsy of methylation biomarkers in cell-free DNA [J]. Trends Mol Med, 2021, 27(5): 482-500.
- [20] Marrugo-Ramírez J, Mir M, Samitier J. Blood-based cancer biomarkers in liquid biopsy: a promising non-invasive alternative to tissue biopsy[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 2877. doi:10.3390/ijms19102877
- [21] Tseng CC, Liao WT, Wong MC, et al. Cell lineage-specific methylome and genome alterations in gout [J]. Aging, 2021, 13(3): 3843-3865.
- [22] Iqbal MA, Li MY, Lin J, et al. Preliminary study on the sequencing of whole genomic methylation and transcriptome-related genes in thyroid carcinoma [J]. Cancers, 2022, 14(5): 1163. doi:10.3390/cancers14051163
- [23] Hassani B, Attar Z, Firouzabadi N. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) signaling pathways and cancer: foes versus allies [J]. Cancer Cell Int, 2023, 23(1): 254. doi:10.1186/s12935-023-03080-9
- [24] Luo JQ, Yu FX. GPCR-hippo signaling in cancer [J]. Cells, 2019, 8(5): 426. doi:10.3390/cells8050426
- [25] Bayin NS, Frenster JD, Kane JR, et al. GPR133 (ADGRD1), an adhesion G-protein-coupled receptor, is necessary for glioblastoma growth [J]. Oncogenesis, 2016, 5(10): e263. doi:10.1038/oncis.2016.63
- [26] Monk KR, Hamann J, Langenhan T, et al. Adhesion G protein-coupled receptors: from in vitro pharmacology to in vivo mechanisms [J]. Mol Pharmacol, 2015, 88(3): 617-623.

(编辑:房红娟)

(上接第75页)

- [21] Medina JL, Brooks EG, Chaparro A, et al. *Mycoplasma pneumoniae* CARDS toxin elicits a functional IgE response in Balb/c mice [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172447. doi:10.1371/journal.pone.0172447
- [22] Tsai TA, Tsai CK, Kuo KC, et al. Rational stepwise approach for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(4): 557-565.
- [23] Yin SS, Ma FL, Gao X. Association of *Mycoplasma pneumoniae* infection with increased risk of asthma in children [J]. Exp Ther Med, 2017, 13(5): 1813-1819.
- [24] 王英媛, 蔡栩栩, 尚云晓, 等. 肺炎支原体感染对哮喘儿童呼出气一氧化氮及肺功能影响的研究 [J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(7): 491-494.  
WANG Yingyuan, CAI Xuxu, SHANG Yunxiao, et al. The effects of *Mycoplasma pneumoniae* infection on the exhaled nitric oxide level and lung function in asthma children [J]. International Journal of Pediatrics, 2017, 44(7): 491-494.
- [25] 韩红, 安红, 高超, 等. 呼出气一氧化氮与血清 hs-CRP、sB7-H3 联合检测在儿童肺炎支原体肺炎中的诊断价值 [J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(7): 838-840.
- [26] Hagman K, Nilsson AC, Hedenstierna M, et al. Outcomes of adjunctive corticosteroid treatment on hypoxic adults hospitalised for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: a retrospective cohort study [J]. Clin Infect Dis, 2024: ciae451. doi:10.1093/cid/ciae451

(编辑:相峰)