

胃癌相关新型肿瘤标志物的研究进展

郭娟, 王茂勋, 王赛琪, 陈小兵

(郑州大学附属肿瘤医院, 河南 郑州 450008)

摘要: 早诊早治是胃癌诊疗的关键。肿瘤标志物检测具有简便、快捷等优点, 是目前临床常用的筛查和诊断胃癌的手段。随着胃癌分子研究不断深入, 更多的胃癌相关肿瘤标志物被发现。全文对近年来胃癌相关肿瘤标志物研究进行概述, 总结了一部分新型肿瘤标志物的研究进展, 为胃癌的临床筛查、早期诊断提供参考。

关键词: 胃癌; 肿瘤标志物; 转移; 诊断

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2020)07-0638-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.07.B014

Advances on Tumor Markers Associated with Gastric Cancer

GUO Juan, WANG Mao-xun, WANG Sai-qi, CHEN Xiao-bing

(Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: Early diagnosis and treatment is the key issue for management of gastric cancer. Tumor markers with the advantages of being simple and rapid, are commonly used for screening and diagnosing gastric cancer at present. With the development of molecular studies, more relevant tumor markers of gastric cancer have been found. In order to provide a reference for clinical screening and early diagnosis of gastric cancer, this article summarizes the recent progress in the research of novel tumor markers of gastric cancer.

Subject words: gastric cancer; tumor markers; metastasis; diagnosis

胃癌是世界范围内常见恶性肿瘤。大多数患者被诊断时已处于晚期, 而且复发率高, 预后不令人满意^[1]。胃癌在进展到晚期之前大多是无症状的, 因此采用有效的筛查方法进行早期诊断对于降低胃癌死亡率非常重要。随着基因技术的发展, DNA、RNA、外泌体等各种肿瘤标志物被发现, 极大地促进了癌症的研究进展, 并有助于制定合适的治疗方案和有效的随访计划。现对临床应用或具有应用潜力的胃癌相关肿瘤标志物作一综述, 以便更好地指导临床。

1 新型肿瘤标志物

1.1 循环肿瘤细胞 DNA

循环无细胞 DNA (circulating free DNA, cfDNA) 是来源于血液中可识别的正常细胞和癌细胞的无

胞 DNA^[2]。来源于原发肿瘤、转移瘤或循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTCs) 的无细胞 DNA 称为循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)。与传统肿瘤标志物相比, ctDNA 具有取材方便、侵袭性小、重复性高等优点。最近的一项 Meta 分析研究表明, ctDNA 诊断胃癌特异性明显优于传统肿瘤标志物, 但在敏感性上无明显差异^[3]。多项研究表明, 定量检测胃癌患者的 ctDNA 具有潜在的预后价值。Yang 等^[4]研究发现术前 cfDNA 水平高的患者术后复发的风险增加, 总生存期 (overall survival, OS) 降低, 且术后持续高水平 ctDNA 是预测复发的重要指标。一些研究还评估了 DNA 拷贝数对预后的影响。Shoda 等^[5]的一项研究发现术后 cfDNA Her-2/tpPH1 比值随肿瘤复发而升高。另外, Shoda 等^[6]研究显示 EB 病毒 (EB virus, EBV) ctDNA 与 EBV 阳性胃癌的诊断及预后关系密切。因此, ctDNA 有极大的潜力成为新型肿瘤标志物, 可以通过分析 ctDNA 片段长度、DNA 拷贝数变异等特征, 对癌症进行早期诊断和预后预测, 但缺点是敏感度较低^[7]。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81472714); 河南省医学科技攻关联合共建项目 (2018020486)

通信作者: 陈小兵, 主任医师, 教授, 博士; 郑州大学附属肿瘤医院消化内科, 河南省郑州市金水区东明路 127 号 (450008); E-mail: zlychenxb0807@zzu.edu.cn

收稿日期: 2020-03-03; **修回日期:** 2020-05-15

1.2 循环肿瘤细胞

循环肿瘤细胞是存在于外周血中的各类肿瘤细胞的统称,因自发或诊疗操作从实体肿瘤病灶脱落。CTCs与临床上转移性疾病有关,可用来监测晚期疾病。CTCs可在转移发生之前的早期阶段被检测到,因此可作为预测肿瘤转移的标志物。此外,CTCs可作为靶向治疗的疗效反应预测指标^[8]。研究显示血清 lncRNA CTC-497E21.4 和 CEA、CA199 联检可提高诊断胃癌的敏感度,其表达水平与患者 OS 相关 ($P=0.0351$)^[9],结果表明 lncRNA CTC-497E21.4 可能是胃癌诊断和预后评估潜在的肿瘤标志物。总之,CTCs 与病理活检相比,具有无创性、重复性好的特点,可以准确地反映癌症的进展、治疗效果,实时监测癌症转移,是胃癌诊断和预后评估的潜在生物标志物。

1.3 长链非编码 RNA

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNAs) 是长度大于 200 个核苷酸序列的非编码 RNA,可作为致癌或抑癌基因发挥作用。lncRNAs 在转录调控、剪接调节、转录后处理、染色质重塑等方面起着重要作用。目前,人类基因组中已鉴定出 56 000 多个 lncRNA,这些 lncRNA 与肿瘤的发生、转移和预后密切相关,其中约 135 个 lncRNA 在胃癌中表达异常^[10]。Yoruker 等^[11]发现在胃癌患者中循环 H19 水平高于非胃癌者 ($P=0.027$)。另外,肿瘤较小的患者,H19 明显增高 ($P=0.04$)。术后患者血清 H19 水平显著性下降 ($P=0.03$)。越来越多的证据表明,lncRNAs 可作为胃癌预后的标志物。最近一项研究发现,lncRNA LINC00511 在胃癌组织和胃癌细胞中表达显著性增高,与胃癌肿瘤生长、转移及预后不良有关,并发现了一个新的 LINC00511/miR-124-3p/EZH2 信号轴,它可以促进胃癌患者和胃癌细胞系的增殖和侵袭,也许可作为治疗胃癌的潜在靶点^[12]。这些研究表明血清 lncRNAs 可作为诊断、预测预后的潜在肿瘤标志物。

1.4 微小 RNA

微小 RNA (microRNAs, miRNA) 是由 18~24 个核苷酸组成的非编码 RNA 片段,通过影响翻译来调节其表达,是调节细胞增殖、分化、迁移和侵袭的关键分子。肿瘤组织中 miRNA 表达水平与肿瘤大小、侵袭和转移有关,可用于早期癌症检测,然而获得组织样本需侵入性操作,因此并非临床诊断应用的理

想标志物。有研究显示肿瘤患者血液中的 miRNA 可作为肿瘤生物标志物。血清 miRNAs 也与胃癌的转移关系密切。Yang 等^[13]发现血清 miR-20a 水平与胃癌淋巴结转移有关。胃癌患者血清 miR-20a 水平明显低于健康对照组。Tsai 等^[14]研究显示胃癌患者的术前血清 miRNA-196a 和 miR-196b 水平显著性高于对照组。ROC 曲线分析显示,miRNA-196a、miRNA-196b 组合检测比 CEA 和 CA199 对于区分胃癌患者与对照组具有更高的敏感度和特异性。总之,血清 miRNA-196a/b 可以作为新型肿瘤标志物用于胃癌诊断。

血清 miRNAs 在胃癌的预后中也发挥重要的作用。有研究发现 miR-892a 高表达的胃癌患者总体生存率较低。miR-892a 过表达促进了胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭。因此 miR-892a 是胃癌预后不良的预测因子,可作为胃癌的预后指标和治疗靶点。一项 Meta 分析显示,miRNA-21 高表达组 OS 明显低于 miRNA-21 低表达组。在这项研究中,其他 miRNAs 也显示了重要的预后评估价值,其中 miRNA-20b、125a、137、141、146a、196a、206、218、486-5p、506 可作为评估胃癌患者预后的肿瘤标志物^[15]。

1.5 环状 RNA

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一类特殊的非编码 RNA 分子,大多数已发现的 circRNAs 来自基因编码区的外显子,其他的起源于 5'-UTR 或 3'-UTR、内含子和基因间区,以及来自反义 RNA。最近的研究表明,circRNAs 在胃癌风险评估、诊断、预后和监测治疗反应方面具有良好前景,甚至可能成为新的胃癌治疗靶点。Luo 等^[16]研究表明 circRNA CCDC9 表达与胃癌肿瘤大小、淋巴结浸润、临床分期和总生存期呈负相关,通过 miR-6792-3p/CAV1 轴抑制胃癌进展,有望成为胃癌生物标志物和治疗靶点。近来一项研究^[17]发现一种新的 circRNA,命名为 circMRPS35,其表达与胃癌患者的临床病理特征和预后有关。circMRPS35 直接与 FOXO1/3a 启动子区域特异性结合,激活 FOXO1/3a 转录,并触发其下游靶基因表达的后续反应,包括 p21、p27、Twist1 和 E-cadherin,从而抑制细胞增殖和侵袭。因此,circMRPS35 有望成为新的胃癌治疗靶点。随着人们对 circRNAs 与胃癌关系的研究加深,将会发现更多胃癌发生的分子机制,并将开发出新的治疗策略。

2 蛋白质及酶相关肿瘤标志物

2.1 人表皮生长因子受体-2

人表皮生长因子受体-2 (Her-2) 是原癌基因 *ERBB2* 编码的表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 家族中的一种受体酪氨酸激酶, 在细胞分化、生长和增殖中起重要作用。Her-2 在胃食管交界处肿瘤中的表达高于胃远端肿瘤, 且与肠型胃腺癌关系密切。近年来, Her-2 靶向药物治疗取得了巨大进展。一项 III 期临床试验首次显示抗 Her-2 单克隆抗体曲妥珠单抗联合铂类化疗与单纯化疗相比, 可以显著性提高 Her-2 阳性胃癌患者的 OS。Bang 等^[18] 研究显示 Her-2 高表达患者从曲妥珠单抗中获益更大, 中位 OS 分别为 16 个月和 11.8 个月 ($HR=0.65$, $95\%CI: 0.51\sim 0.83$, $P=0.036$)。根据此项研究的结果, 曲妥珠单抗联合铂类化疗已被批准用于 Her-2 过表达或 *ERBB2* 扩增的晚期胃癌患者的一线治疗, 对于可能接受 Her-2 靶向治疗的晚期胃癌患者, 建议在开始治疗前检测 Her-2。

2.2 E-钙黏蛋白

E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 是一种钙离子介导的膜分子, 在胃上皮细胞的黏附和分化过程中起重要作用, 是一种重要的肿瘤保护机制, 由 16 号染色体上的 *CDH1* 基因编码。*CDH1* 是胃癌中重要的抑癌基因, 其失活可以促进肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。E-cadherin 表达失调可能通过多种机制发生, 包括 *CDH1* 突变、表观遗传沉默、杂合性丢失 (loss of heterozygosity, LOH)、转录沉默等。E-cadherin 在胃癌的发生、发展以及转移中发挥重要作用。Tang 等^[19] 研究表明 E-cadherin 在 Lgr5 胃窦干细胞中具有重要作用。E-cadherin 缺失引起的 Lgr5 干细胞减少会损害胃窦上皮的稳态和生长。同时, p53 参与了 E-cadherin 缺失后 Lgr5 干细胞的凋亡。Lin 等^[20] 一项研究表明 lncRNA LOC554202 在 MGC-803 细胞系中的过表达增强了增殖和迁移能力, 但降低了 p21 和 E-cadherin 表达 ($P<0.01$)。相反, LOC554202 在 HGC-27 细胞系中的过表达降低了增殖和迁移能力, 但增加了 p21 和 E-cadherin 表达 ($P<0.01$)。结果显示, lncRNA LOC554202 在胃癌细胞中高表达, 并通过下调胃癌细胞中 p21 和 E-cadherin 表达水平来促进增殖和转移能力。常染色体组蛋白赖氨酸甲基

转移酶 1 (euchromatic histone lysine methyltransferase 1, EHMT1) 也同样通过调节 E-cadherin 表达在胃癌中发挥作用^[21]。同时, 有研究报道幽门螺旋杆菌通过激活基质金属蛋白酶 (matrix metalloprotein, MMP) 抑制 E-cadherin 功能, 从而诱导胃癌细胞的迁移和侵袭^[22]。E-cadherin 表达与胃癌患者临床病理之间关系密切。有研究显示 E-cadherin 异常表达与肿瘤分期和淋巴结转移密切相关。

2.3 MET

MET 是一种跨膜酪氨酸激酶受体, 配体为肝细胞生长因子 (hepatic growth factor, HGF)。MET 磷酸化激活信号转导级联, 促进癌细胞生长、血管生成、迁移和转移。HGF 活性的测定和评估对了解肿瘤转移和耐药的微环境起着至关重要的作用^[23]。最近的研究显示, MET 表达与胃癌的淋巴浸润和 OS 显著性相关, 提示 HGF/c-Met 通路的表达可能是胃癌转移和预后的预测因子^[24]。

3 基因相关肿瘤标志物

3.1 肿瘤蛋白 53 基因

肿瘤蛋白 53 基因 (TP53) 是一种重要的抑癌基因, 在诱导细胞凋亡、DNA 损伤和异常增殖等过程中起着重要的调节作用。胃癌中 TP53 突变位点广泛, TP53 突变发生率为 3.2%~65%^[25]。近年来, TP53 多态性研究取得了一定进展。有研究显示, TP53 第 72 位密码子的 Pro/Pro 多态性有助于区分出分期为 T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0 胃癌的相对高危人群^[26]。另外, 与 Arg/Arg 基因型相比, TP53 第 72 位密码子的 Pro/Pro 基因型与胃癌患者对卡培他滨加紫杉醇化疗的有效率显著性相关 (30.6% vs 63.2%, $P<0.05$)。多因素生存分析还显示, Pro/Pro 基因型患者的无进展生存期 (PFS) 和总生存期 (OS) 低于 Arg/Arg 基因型患者, 结果表明 TP53 密码子多态性可有效预测化疗疗效, 并与紫杉醇和卡培他滨联合治疗晚期胃癌患者的 PFS 和 OS 密切相关^[27]。因此, TP53 可用于预测疗效及预后。

3.2 肿瘤微卫星不稳定

肿瘤微卫星不稳定 (microsatellite instability, MSI) 通过调节错配修复 (DNA mismatch repair,

MMR)基因、肿瘤抑制基因和癌基因的表达来影响肿瘤的发生、发展。肿瘤抑制基因和癌基因通过控制肿瘤细胞的增殖、凋亡、免疫逃逸和血管生成而发挥作用。MMR 基因则负责纠正 DNA 复制和重组过程中引起的碱基错配和插入或缺失损伤。MMR 基因微卫星位点的遗传不稳定是由 DNA 聚合酶的滑移等过程引起的,从而导致靶基因突变。MSI 主要在位于靶抑癌基因或其他肿瘤相关基因编码区的微卫星位点上积累移码突变^[28]。

在胃癌中,15%~30%肿瘤显示 MSI,主要是由于表观遗传沉默导致 MLH1 启动子高甲基化^[29]。胃癌的 MSI 位点与肠型胃癌关系密切。一项临床试验显示,在仅行手术治疗的患者中,MSI-H 患者的预后好于 MSI-L 患者。相反,当患者接受手术治疗和围手术期化疗时,MSI-H 患者预后较差,这表明 MSI-H 患者不能从围手术期化疗中获益^[30]。近来有研究表明,MSI 与免疫治疗疗效有关,强大的免疫原性和免疫检查点配体的广泛表达使得 MSI 这一亚型更容易受到免疫治疗方法的影响,如抗 PD-1 抗体^[31-32]。因此对于适合接受免疫检查点抑制剂治疗的局部晚期、复发或存在远处转移的胃癌患者,应考虑进行 MSI 或错配修复缺陷 (different mismatch repair, dMMR)检测。

4 外泌体相关肿瘤标志物

外泌体是一种直径约为 30~100nm 细胞外囊性小泡,由含跨膜蛋白的脂质双分子组成,在生理条件下,外泌体中充满着各种生物分子,如蛋白质、脂质、DNA、mRNA、microRNAs 等信息物质,能够通过转运特定的物质来介导局部和远处的细胞通讯。外泌体不仅可以反映来源细胞的特性,而且由于脂质双分子层的保护,外泌体在各生物液体如血液、尿液、唾液和细胞培养液中稳定存在。上述独特的特性使外泌体成为一种可靠的肿瘤标志物。Yamamoto 等^[33]从 20 例胃癌患者和 10 例非胃癌对照者胃液中分离出外泌体,检测 BARHL2 基因甲基化状态,结果显示, BARHL2 基因甲基化水平在 ROC 曲线下面积为 0.923,区分胃癌和非胃癌患者的敏感度和特异性分别为 90%和 100%。因此,胃液来源的外泌体可能是未来诊断胃癌的一个可靠标志物。但是,仍需大量样

本进行进一步的研究。Yoon 等^[34]成功地从血清来源的外泌体中检测到了蛋白质 GKN1,并且胃癌患者血清 GKN1 水平明显低于正常人。血清 GKN1 水平可准确区分胃癌与慢性萎缩性胃炎,可作为胃癌特异性诊断标志物。Tokuhsa 等^[35]通过研究发现,在胃癌患者腹腔灌洗液中,胃癌外泌体来源的 miR-21 和 miR-1225-5p 表达显著性增高,可能可以作为治疗性胃癌切除术后腹膜复发的生物标志物,从而为胃癌腹膜转移提供一种新的早期诊断方法。

5 免疫相关肿瘤标志物

程序性死亡受体-1(programmed cell death protein 1,PD-1)是一种负性共刺激受体,主要表达于活化的 T 细胞上。PD-1 主要通过两个配体程序性死亡-配体 1(programmed death ligand 1,PD-L1)和程序性死亡-配体 2 (PD-L2)在肿瘤微环境中发挥作用。PD-L1 通常由巨噬细胞表达,在炎症性微环境中可由激活的淋巴细胞、内皮细胞和其他非恶性细胞诱导产生。同时,肿瘤细胞和相关的基质细胞也可以表达 PD-L1,从而抑制 T 细胞的激活,使肿瘤细胞的增殖不受控制。Holokai 等^[36]研究显示表达 PD-L1 的幽门螺杆菌感染的细胞可能获得免疫逃逸,导致癌前病变进展为胃癌。有研究报道 PD-L1 表达与 EBV 的关系。EBV 感染相关胃癌 PD-L1 表达阳性率明显高于一般胃癌患者,并且预后更好。PD-L1 表达的机制可能与 EB 病毒潜伏膜蛋白 1(LMP1)和 EBV 刺激产生的干扰素- γ 相关。EBV 可能成为抗 PD-L1 免疫治疗疗效的预测标志物^[37]。Kim 等^[38]研究报道了 MSI-H 与 PD-L1 过表达和患者预后较好密切相关。PD-L1 过表达的机制可能是由于 MSI-H 表型引起的新抗原数量增加吸引了大量的 T 淋巴细胞通过分泌 IFN- γ 刺激 PD-L1 的表达。

与此同时,针对 PD-1/PD-L1 免疫治疗药物也表现了良好的前景。最近发表的 ATTRACTION 02-III 期临床试验,将经过两种或两种以上化疗方案治疗的不能切除的进展期胃癌患者使用纳武单抗与安慰剂组进行对比,总体 OS 与对照组相比显著性增加,中位 OS 分别为 5.3 个月和 4.1 个月(HR=0.63,95% CI:0.51~0.78, $P<0.05$)。基于此临床试验,日本批准纳武单抗治疗化疗后不能切除的进展期胃癌或复发

性胃癌^[39]。Keynote-059 II期临床试验对3组进展期胃癌和胃食管结合部癌(GEJ)患者进行了评估。在队列1中,259例患者在三线或更晚的化疗中使用帕博丽珠单抗作为单药治疗,客观缓解率(ORR)和疾病控制率(DCR)分别为12%和27%,中位OS为5.6个月。其中,PD-L1阳性患者ORR高于PD-L1阴性患者(16% vs 6%)^[40]。一项I期临床试验研究了MSI甲基化水平在15种肿瘤中的作用,并取得了令人满意的结果。FDA基于此项临床研究批准了帕博丽珠单抗治疗MSI-H胃癌患者^[41]。目前两种PD-1抑制剂(Nivolumab和Pembrolizumab)在我国均已获批上市,2019年CSCO指南明确将免疫检查点抑制剂推荐作为晚期转移性胃癌的三线治疗^[42]。但PD-1抑制剂在胃癌的治疗中还有许多问题待解决,如获益人群未完全明确,目前还没有经过验证的预测性生物标志物来确定哪些患者对免疫治疗的反应最好;单药有效率较低,仅10%~15%;PD-L1表达筛选的标准,>1%是否可靠;化疗药物联合使用的安全性不明确以及缺乏对胃癌患者特殊不良事件的管理经验等。因此,免疫疗法在晚期胃癌中的应用还需进一步研究。

随着分子细胞学和表观遗传学的快速发展,胃癌的发生模式和所涉及的信号途径已经变得更加清晰,这些都为胃癌的早期诊断、监测复发转移提供了可靠的依据。新的肿瘤标志物(如MET、TP53及PD-1)和各种血清类指标(如CTCs、cfDNAs、miRNAs和exo-some)应用为诊断和监测胃癌提供了新的方法。

参考文献:

- [1] Natsume M, Shimura T, Iwasaki H, et al. Placental growth factor is a predictive biomarker for ramucirumab treatment in advanced gastric cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2019, 83(6): 1037–1046.
- [2] Liu X, Chu KM. Circulating cell-free DNAs and miRNAs as promising non-invasive biomarkers for early detection of gastric cancer[J]. *Neoplasma*, 2016, 63(1): 1–9.
- [3] Gao Y, Zhang K, Xi H, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating tumor DNA in gastric cancer: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(4): 6330–6340.
- [4] Yang J, Gong Y, Lam VK, et al. Deep sequencing of circulating tumor DNA detects molecular residual disease and predicts recurrence in gastric cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 346.
- [5] Shoda K, Ichikawa D, Fujita Y, et al. Monitoring the HER2 copy number status in circulating tumor DNA by droplet digital PCR in patients with gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2017, 20(1): 126–135.
- [6] Shoda K, Ichikawa D, Fujita Y, et al. Clinical utility of circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA in patients with gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28796–28804.
- [7] Cable L, Decraene C, Bieche I, et al. Limited sensitivity of circulating tumor DNA detection by droplet digital PCR in non-metastatic operable gastric cancer patients [J]. *Cancers*, 2019, 11(3): pii: E396.
- [8] Ito A, Nakanishi H, Yoshimura M, et al. EGFR dynamics of circulating tumor cells early after targeting therapy to human-mutated lung cancers and gene-amplified gastric cancers in mice[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(9): 4711–4720.
- [9] Chen X, Dai M, Zhu H, et al. Evaluation on the diagnostic and prognostic values of long non-coding RNA BLACAT1 in common types of human cancer[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 160.
- [10] Song H, Sun W, Ye G, et al. Long non-coding RNA expression profile in human gastric cancer and its clinical significances[J]. *J Transl Med*, 2013, 11(1): 225.
- [11] Yörüker EE, Keskin M, Külle C, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating lncRNA H19 in gastric cancer[J]. *Biomed Rep*, 2018, 9(2): 181–186.
- [12] Huang HG, Tang XL, Huang XS, et al. Long noncoding RNA LINC00511 promoted cell proliferation and invasion via regulating miR-124-3p/EZH2 pathway in gastric cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(8): 4232–4245.
- [13] Yang R, Fu Y, Zeng Y, et al. Serum miR-20a is a promising biomarker for gastric cancer [J]. *Biomed Rep*, 2017, 6(4): 429–434.
- [14] Tsai M, Wang C, Tsai C, et al. Circulating microRNA-196a/b are novel biomarkers associated with metastatic gastric cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 64: 137–148.
- [15] Zhang Y, Guan D, Bi R, et al. Prognostic value of microRNAs in gastric cancer: a meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(33): 55489–55510.
- [16] Luo Z, Reng Z, Zhang J, et al. Circular RNA circCCDC9 acts as a miR-6792-3p sponge to suppress the progression of gastric cancer through regulating CAV1 expression[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 86.
- [17] Jie M, Wu Y, Gao M, et al. CircMRPS35 suppresses gastric cancer progression via recruiting KAT7 to govern histone modification[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 56.
- [18] Bang Y, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy

- alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9742): 687–697.
- [19] Tang Y, Yang G, Zhang J, et al. E-cadherin is required for the homeostasis of Lgr5+ gastric antral stem cells[J]. *Int J Biol*, 2019, 15(1): 34–43.
 - [20] Lin Y, Zhang CS, Li SJ, et al. LncRNA LOC554202 promotes proliferation and migration of gastric cancer cells through regulating p21 and E-cadherin[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(24): 8690–8697.
 - [21] Yang Y, Shen J, Yan D, et al. Euchromatic histone lysine methyltransferase 1 regulates cancer development in human gastric cancer by regulating E-cadherin[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 9480–9486.
 - [22] Yang Y, Li X, Du J, et al. Involvement of microRNAs-MMPs-E-cadherin in the migration and invasion of gastric cancer cells infected with *Helicobacter pylori* [J]. *Experiment Cell Res*, 2018, 367(2): 196–204.
 - [23] Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, et al. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(3): 296–307.
 - [24] Huang X, Wang C, Sun J, et al. Clinical value of CagA, c-Met, PI3K and Beclin-1 expressed in gastric cancer and their association with prognosis [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(1): 947–955.
 - [25] Oki E, Zhao Y, Yoshida R, et al. The difference in p53 mutations between cancers of the upper and lower gastrointestinal Tract[J]. *Digestion*, 2009, 79(1): 33–39.
 - [26] Yukimi O, Takashi N, Norimasa F, et al. Recurrence risk evaluation in T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0 gastric cancer with TP53 codon 72 polymorphisms[J]. *J Surg Oncol*, 2019, 120(7): 1154–1161.
 - [27] Zha Y, Gan P, Liu Q, et al. TP53 Codon 72 polymorphism predicts efficacy of paclitaxel plus capecitabine chemotherapy in advanced gastric cancer patients[J]. *Arch Med Res*, 2016, 47(1): 13–18.
 - [28] Yuza K, Nagahashi M, Watanabe S, et al. Hypermutation and microsatellite instability in gastrointestinal cancers[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(67): 112103–112115.
 - [29] Pinto M, Oliveira C, Machado JC, et al. MSI-L gastric carcinomas share the hMLH1 methylation status of MSI-H carcinomas but not their clinicopathological profile[J]. *Lab Invest*, 2000, 80(12): 1915–1923.
 - [30] Smyth EC, Wotherspoon A, Peckitt C, et al. Mismatch repair deficiency, microsatellite instability, and survival [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(9): 1197.
 - [31] Kim ST, Cristescu R, Bass AJ, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer [J]. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1449–1458.
 - [32] Smyth EC, Cunningham D. Encouraging results for PD-1 inhibition in gastric cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6): 682–683.
 - [33] Yamamoto H, Watanabe Y, Oikawa R, et al. BARHL2 methylation using gastric wash DNA or gastric juice exosomal DNA is a useful marker for early detection of gastric cancer in an *H. pylori*-Independent manner[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2016, 7(7): e184.
 - [34] Yoon JH, Ham I, Kim O, et al. Gastrokine 1 protein is a potential theragnostic target for gastric cancer[J]. *Gastric Cancer*, 2018, 21(6): 956–967.
 - [35] Tokuhi M, Ichikawa Y, Kosaka N, et al. Exosomal miRNAs from peritoneum lavage fluid as potential prognostic biomarkers of peritoneal metastasis in gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e130472.
 - [36] Holokai L, Chakrabarti J, Broda T, et al. Increased programmed death-ligand 1 is an early epithelial cell response to *helicobacter pylori* infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2019, 15(1): e1007468.
 - [37] Fang W, Zhang J, Hong S, et al. EBV-driven LMP1 and IFN- γ up-regulate PD-L1 in nasopharyngeal carcinoma: Implications for oncotargeted therapy[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23): 12189–12202.
 - [38] Kim JH, Park HE, Cho N, et al. Characterisation of PD-L1-positive subsets of microsatellite-unstable colorectal cancers[J]. *Br J Cancer*, 2016, 115(4): 490–496.
 - [39] Kang YK, Boku N, Satoh T, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 390(10111): 2461–2471.
 - [40] Fuchs CS, Doi T, Jang RW, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(5): e180013.
 - [41] Cho J, Lee J, Bang H, et al. Programmed cell death-ligand 1 expression predicts survival in patients with gastric carcinoma with microsatellite instability[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(8): 13320–13328.
 - [42] Wang F, Shen L, Li J, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer[J]. *Cancer Commun*, 2019, 39(1): 10.