

A Review of Research Progress in Gene Diagnosis of Gastric Cancer

Han Zheng, Jiawen Dang, Yongfeng Liu*

Yan'an University Affiliated Hospital, Yan'an Shaanxi
Email: zhenghandoc@163.com, *liuyongfeng3583@163.com

Received: Jul. 29th, 2019; accepted: Aug. 9th, 2019; published: Aug. 16th, 2019

Abstract

Gastric cancer is a multi-gene disease. Under the action of environment, a variety of oncogenes and tumor suppressor genes cause early pathological changes of the gastric mucosa and eventually develop into gastric cancer. Despite the ongoing discovery of genes for gastric cancer under the efforts of scientists from various countries, new genes with oncogenic properties or potential tumor suppressor activity are still being defined. MEK1 and TEAD4 may be targets of the new miR-1271; Genetic variation in the PI3K/Akt/mTOR pathway gene leads to the development of gastric cancer; CD44 overexpression and MLH1 promoter methylation are closely related to the prognosis of gastric cancer patients. The novel oncogene URG4/URGCP may be a promising target for the treatment of gastric cancer. This review focuses on the research progress of newly discovered genes and related biomarkers of gastric cancer, combined with the new detection methods of tumor molecules and their clinical transformation, summarizing the route from theory to clinical treatment, and prospecting the prospect of precise treatment of gastric cancer.

Keywords

Gastric Cancer, Genomics, Targeted Therapy, Precision Medicine

胃癌基因诊断研究进展综述

郑寒, 党佳文, 刘勇峰*

延安大学附属医院, 陕西 延安
Email: zhenghandoc@163.com, *liuyongfeng3583@163.com

收稿日期: 2019年7月29日; 录用日期: 2019年8月9日; 发布日期: 2019年8月16日

摘要

胃癌是一种多基因疾病, 多种癌基因与抑癌基因在环境的作用下, 导致胃粘膜的早期病理变化, 最终发

*通讯作者。

展成胃癌。尽管在各国科学家的努力下胃癌的基因不断被发现,但是具有致癌特性的或潜在肿瘤抑制活性的新基因仍在被定义。MEK1和TEAD4可能作为新的miR-1271靶点;PI3K/Akt/mTOR途径基因中的遗传变异导致胃癌的发生;CD44蛋白的过表达和MLH1启动子甲基化与胃癌患者的预后密切相关。致癌基因URG4/URGCP可能是胃癌治疗有前途的靶点。本综述主要通过最新的胃癌的基因和相关标志物的研究进程,与最新的肿瘤分子检测方法相结合,展望胃癌的精准治疗的新道路。

关键词

胃癌,基因组学,靶向治疗,精准医疗

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胃癌(gastric cancer, GC)在我国是最常见的上消化道恶性肿瘤之一,早期缺少特异性症状与体征,并且患者不能充分重视,致使其早期检出率较低,尤其我国早期胃癌的检出率仅有10%左右,导致患者预后不佳[1]。目前,胃癌早期治疗仍以手术治疗为主,但是大部分患者明确诊断时已处于进展期从而失去最佳手术机会,所以胃癌相关基因的早期检测是我国降低胃癌发病率行之有效的方法之一,也是当前我国研究人员需要着力解决的问题。GC是一种异质性疾病,有两种不同的组织亚型,由劳伦分类为肠型和弥漫性的,这是由其不同的分子变化所决定的[2]。GC的组织学分型主要以腺癌为主,分化程度又分为高分化、中分化和低分化[3]。

现阶段,随着全基因组技术和高通量分析的不断更新与进步,使得实验方法更加简易化,从而早日实现对胃癌的精准治疗。基因组测序技术包括生物芯片和第二代测序技术,其中生物芯片技术是通过高通量微阵列技术把生物信息片段或探针固定在介质表面上再与荧光标记的DNA样品杂交。第二代测序(next-generation sequencing, NGS): NGS是癌症基因组图谱(TCGA)和国际癌症基因组联盟(ICGC)绘制人类癌症基因图的主要方法,但尚不能应用于临床实践[4]。近年来,用以曲妥珠单抗为代表的靶向药物来治疗胃癌就是一个治疗胃癌的新着手点。目前抗人表皮生长受体2抗体曲妥珠单抗联合化疗已成为针对HER2基因的扩增或过度表达阳性胃癌患者的首选治疗方法。HER2是参与细胞增殖调节的重要受体。这对我们有着很大的启发,同一基因对于不同疾病的产生可能有着相同的作用。

2. 关于胃癌发生的甲基化调控机制

2.1. 由于表观遗传失调沉默 miRNA-127 从而增强了胃癌中 MEK1 和 TEAD4 的表达

表观遗传机制包括DNA甲基化,组蛋白修饰,非编码RNA调控,染色质重塑。表观遗传在细胞发育分化过程中起着至关重要的作用。因此,表观遗传机制的失调是导致癌症发生的重要因素。DNA甲基化已经被广泛研究并发现在肿瘤发生的过程中产生改变,从而产生某些癌症的特异性DNA甲基化。因此,DNA甲基化在多种癌症类型的分子分类中具有重要意义,通常异常的DNA甲基化与通过DNA去甲基化过度表达的癌基因以及通过DNA超甲基化下调肿瘤抑制因子相关,异常的DNA甲基化参与肿瘤发生的所有步骤,包括癌症的发生,发展和转移[5]。因此,DNA甲基化模式的综合研究是找出癌症驱动因素的重要方法之一。

韩国釜山国立大学医院从胃癌组织获取了 EpCaM+/CD44 + GC 细胞, 发现其中 122 个差异甲基化的 miRNAs, 在 GC 上调 166 个, 下调 604 个, 为了验证这些差异甲基化的 miRNAs 的表达差异, 研究人员对 4 个候选 miRNAs (miR-1271、miR-9、miR-129-2 和 miR-451a)进行了 qRT-PCR 分析发现它们在 GC 中的表达水平同时降低。并且还发现 miR-1271 是 EpCAM+/CD44 + GC 细胞中 20 个超甲基化 miRNAs 之一[6]。

最近的几项研究表明, miR-1271 在包括 GC 在内的多种癌症类型中起抑瘤作用, 然而, 由于 miR-1271 表达调控的机制基本上不为人所知, 他们研究了 DNA 超甲基化是否是 miR-1271 表达调控的主导因素还需要进一步研究, 但是部分实验结果已表明 miR-1271 受到 GC 中 DNA 超甲基化的抑制[7]。也有学者通过建立 miR-1271 细胞系发现, 将 miR-1271 模拟物转染到 AGS 和 MK n74 细胞中后, 均证实了 miR-1271 在 GC 中具有肿瘤抑制作用。除此之外, 该研究进一步证实了 miR-1271 是通过 GC 中的靶向 MEK 1, 增强 ERK/MAPK 信号通路。此外, 包括 miR-451a [8], miR-15a [9]和 miR-363 [10]的肿瘤抑制性 miRNA 在 EpCAM+/CD44 + GC 细胞中下调。在高甲基化和下调的 miRNA 中, 本实验着重关注 miR-1271, 但其功能在被发现后尚未报道。也有学者发现印戒细胞癌似乎也与 miR-1271 有着联系, 印戒细胞癌似乎在女性和年轻患者中相对频繁, 并且预后比其他形式的 GC 更差[11]。笔者认为 miR-1271 的表观遗传沉默和 MEK1 的增强表达可能是促进印戒细胞的生长和转移的重要因素, 但还需要进一步的研究来确定。

综上所述, 本研究证明 miR-1271 的肿瘤抑制作用在 GC 中被 DNA 甲基化抑制。该研究将 MAP2K1 和 TEAD4 鉴定为分别参与 ERK/MAPK 和 YAP1 信号通路的 miR-1271 的靶基因。虽然需要进一步的研究来证明 miR-1271 的详细功能, 但此研究发现将 miR-1271 及其靶基因作为 GC 中的治疗靶点是具有很大研究潜力的。

2.2. PI3K/Akt/mTOR 途径基因中的遗传变异

全基因组关联研究(GWASs)已经确定了与 GC 易感性的各种遗传变异有关, 然而, 只有一小部分癌症遗传性可以通过 GWAS 识别的易感基因座来解释, 而已仍有大量易感基因座需要被发现, 此外, 大多数 GWAS 位点位于内含子或基因间区域, 并且很少知道这些与癌症发生有关的变体的生物学功能, 需要进一步研究 SNP 在潜在功能区域来为癌症的研究做贡献。最近, 相当多的研究表明, 通路分析可以增强 GWAS 的解释并发现额外的易感基因或基因座[12] [13]。

PI3K/Akt/mTOR 通路在多种肿瘤中均存在, 研究已表明在胃癌中也起着至关重要的作用, 并且对肿瘤的发生和发展至关重要。另外, 在现有研究中 PI3K/Akt/mTOR 途径参与细胞增殖, 凋亡和转移等生理过程, 其中 PI3K 参与抑制细胞凋亡和促进细胞增殖和存活。此外, Akt 或 mTOR 的磷酸化和过表达也在 GC 的进展中起关键作用。有证据表明, PI3K/Akt/mTOR 通路抑制剂可通过抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡和恢复对化疗的敏感性而起到 GC 的治疗作用[14]。鉴于 PI3K/Akt/mTOR 途径的重要性, 研究人员重点关注 PI3K/Akt/mTOR 途径中关键基因的 SNP, 以确定 GC 的其他易感性 SNP, 研究人员选择了四个候选 SNP (即 PIK3R1 中的 rs3730089 和 rs3756668, PIK3R3 中的 rs7536272 和 AKT1 中的 rs1130233), 结果表明 rs7536272 与 GC 在模型中的易感性显著相关。此外, 在其他遗传模型中也观察到了显著的关联, 在携带 AG/GG 基因型的个体显示出显著更高的 GC 风险[15]。然而, 除了 rs7536272 之外, 其他三个候选 SNP 显示与 GC 风险没有显著关联。进一步研究发现 PIK3R3 的高表达与患者的生存率有着重要的关系。

本实验(Matsuoka and Yashiro 2014) [14]评估了 PI3K/Akt/mTOR 途径中四种功能性 SNP 与 GC 易感性的关系, 并证明位于 PIK3R3 基因启动子区域的 SNP rs7536272 与 GC 的风险显著相关。而且认为 PIK3R3 的高表达可能是 GC 存活的重要因素。

3. 两种 CD44 基因与胃癌的关系

CD44 是一种重要的细胞黏附分子,在肿瘤细胞的生长、侵袭、增殖和转移中起着关键作用。以前的研究表明,蛋白质 CD44 的过度表达与结直肠癌和胃癌的弱识别有关。CD44 是由单个基因产生的;通过转录和选择性剪接后的调整产生各种剪接变体。当表达特定 CD44 时,具有促进包括 GC 在内的多种肿瘤中转移表型产生的潜力时,引起了极大的关注。但尚不清楚特定修饰是否直接影响 CD44 的结合亲和力,或通过其他形式增加 CD44 亲和力来促进寡聚化。

CD44 蛋白过表达与胃癌预后不良有关,既往研究表明 CD44 基因多态性可能影响生存和复发。研究人员发现与具有基因型 A/A 的患者相比,具有 CD44 rs187116 的 G/G 基因型的 GC 患者更容易暴露于死亡风险。此外,在目前的研究中,报道了两种 CD44 内含子-遗传变异(rs187116 和 rs7116423),这些变异与胃癌患者的单一标记物分析中的 OS 或 TTR 显著相关。虽然这些多态性的详细生物学和功能意义尚不清楚,但是 CD44 内含子多态性可能对基因剪接事件的调节具有直接影响。研究人员从组织中提取 DNA,用 RFLP PCR 和测序技术研究了这两个多态性位点 RS187116 和 RS7116432。研究表明 CD44 基因单核苷酸多态性(SNP)与肿瘤复发、总生存率呈显著正相关($P < 0.0001$)。这些结果提供了 CD44 基因多态性与 GC 患者的临床结果之间的关系证据,这一结果有助于识别具有高肿瘤复发风险的 GC 患者。总之,本研究的结果可以提供与该问题相关的第一个实质性证据,CD44 多态性单独或组合可预测患者胃癌肿瘤的早期复发。

4. MLH1 启动子的表观遗传沉默与胃癌的发展及其作为微卫星不稳定患者生物标志物的研究

共同的表观遗传修饰 DNA 甲基化在癌症的发生、发展和预后中起着至关重要的作用。幽门螺杆菌感染和微卫星不稳定性(MSI)与发生 GC 的风险增加有关[16] [17],人类 MLH1 基因位于染色体 3p21 上,其功能是编码 DNA 错配修复(MMR)蛋白。DNA MMR 在维持基因组稳定性方面具有重要作用。因此,MMR 功能的丧失导致 MSI,这可能是胃癌发展的重要因素。散发性肿瘤中的 MLH1 启动子甲基化可能主要引起 MSI,而在 GC 中的 MSI 最为常见,MLH1 启动子甲基化的存在 GC 中被广泛报道[18] [19] [20] [21],发现 MLH1 启动子甲基化使 MLH1 基因失活,MLH1 启动子甲基化在胃癌中表现出明显高于胃腺瘤、慢性胃炎、邻近组织、正常胃粘膜和正常健康血液样品的频率,但 GC 和肠化生和异型增生的速率相似。MLH1 基因启动子甲基化与胃癌患者的年龄、MSI 相关,但与幽门螺杆菌感染、性别、吸烟、饮酒行为、肿瘤组织学、临床分期、淋巴结状态、远处转移或胃癌患者生存率无关。笔者认为 MLH1 仅与患者的年龄及 MSI 相关,说明其有良好的特异性,从而避免了混杂因素的干扰,所以 MLH1 启动子甲基化可能是具有 MSI 的 GC 患者预后的潜在生物标志物。

5. 新型致癌基因 URG4/URGCP 及其在癌症中的作用

URG4/URGCP 基因是由肝炎病毒编码的 X 抗原(HBxAg)诱导的一种新基因。URG4/URGCP 位于 7 号染色体(7p13)的短臂上。有研究表明,与非肿瘤邻近组织相比,URG4/URGCP 在人胃癌细胞系中上调,并且 URG4/URGCP 的过度表达可以促进细胞增殖,而 URG4/URGCP 在胃癌细胞中下调抑制了细胞增殖和肿瘤形成潜力。此外,宋[22]等人实验结果表明,胃癌中检测到的过表达的 URG4/URGCP 比低表达的胃癌具有更高的 PCNA (增殖细胞核抗原)指数,其是评估细胞增殖的标记物。它们在五种胃癌细胞系和未成熟的胃粘膜上皮细胞(GES-1)中证实了 URG4/URGCP 的 mRNA 和蛋白质表达水平。他们发现 URG4/URGCP mRNA 在中度分化胃癌细胞系中表达较高,而在三个分化不良的胃细胞系 bgc 823、mkn 45 和 AGS 中较低,其中在 GES-1 中最低。URG4/URGCP 可能部分通过 cyclin D1 促进细胞生长,他们认为,

URG4/URGCP 可能是胃癌发生发展中的一个重要因素, 在细胞周期相关蛋白 cyclin D1 中发挥作用, 也是胃癌治疗中一个有前途的治疗靶点。

6. 问题与展望

尽管目前有大量研究都在胃癌的基因研究中, 但众多研究都只停留在实验室阶段, 在临床中对胃癌的诊断和治疗作用甚微, 随着各种测序技术的不断更新, 为胃癌的基因研究提供了大量数据, 并且需要进一步的研究验证基于新的基因组的胃癌分类以及新的胃癌驱动基因。更重要的是, 如何将基因组数据转化为胃癌治疗策略供临床参考是将来的主要挑战。

第一, 基于基因组的分类方案可以更好地分层胃癌, 以便能够使用更有效的治疗方案。随着 NGS 的不断发展, NGS 检测的成本越来越低, 更好的对肿瘤进行分层研究也是对肿瘤的精准治疗的一个阐述。精准治疗的新颖之处在于它们根据基因组特征对肿瘤进行分类, 而这不仅仅是以前的组织学表现。通过试验以确定这些肿瘤更为详细的信息是否能确定对各种治疗方案的反应, 这当然是肿瘤精准治疗发展的方向。例如, 已显示胃癌的 MSI 亚型中 MLH1 启动子甲基化致使 MLH1 的失活, 因此这可能是用 MLH1 阻断失活治疗的良好候选者。可以重新检查以往在治疗胃癌方面疗效不明确的治疗方案, 来检测它们是否真正对胃癌的特定分子亚型有效。

第二, 随着时间的推移, 通过 NGS 研究还有许多新的驱动突变基因将被发现, 尽管这些突变的频率许多都很低, 但是仍然需要确定是否存在特异性靶向突变基因。

第三, 鉴于与 NGS 相关的成本显著降低, 所有胃癌肿瘤样本的常规体细胞测序很可能就会成为现实。现在胃癌已经进行 HER2 测试并使用曲妥珠单抗的治疗方案, 在将来也可能存在胃癌特异性基因组体细胞序列, 这使得胃癌的个体化治疗更进一步。

随着生物大数据的发展, 和新技术的产生这使得我们对胃癌的未来治疗有了更好的期望: 1) 更深入的认识胃癌决定性基因的作用, 从源头对胃癌的决定性基因进行干预。2) 分析患者适合哪种疗法或者多种疗法的组合更为有效。3) 发现与胃癌进展相关的分子变化或标志物, 对治疗效果和预后进行评估。4) 正确评估药品的临床实验人群, 在药品实验中少走弯路。

整体而言, 胃癌的基因组研究相比其他癌症还相对滞后, 不断有新的胃癌突变基因陆续被发现, 但是针对胃癌的靶向药物的发展还停滞不前。相信在胃癌的研究不断深入的情况下, 通过基因组学的分析和药物的不断研发, 胃癌的精准治疗指日可待。

参考文献

- [1] 常敏, 张久聪, 周琴, 孙东辉, 汪泳. 胃癌流行病学研究进展[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2017, 26(9): 966-969.
- [2] Kim, S.T., Cristescu, R., Bass, A.J., Kim, K.-M., Odegaard, J.I., Kim, K., Liu, X.Q., Sher, X., Jung, H., Lee, M., Lee, S., Park, S.H., Park, J.O., Park, Y.S., Lim, H.Y., Lee, H., Choi, M., Talasz, A.A., Kang, P.S., Cheng, J., Loboda, A., Lee, J. and Kang, W.K. (2018) Comprehensive Molecular Characterization of Clinical Responses to PD-1 Inhibition in Metastatic Gastric Cancer. *Nature Medicine*, **24**, 1449-1458. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0101-z>
- [3] Katona, B.W. and Rustgi, A.K. (2017) Gastric Cancer Genomics: Advances and Future Directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, **3**, 211-217. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.01.003>
- [4] 杭渤, 束永前, 刘平, 魏光伟, 金健, 郝文山, 王培俊, 李斌, 毛建华. 肿瘤的精准医疗: 概念、技术和展望[J]. 科技导报, 2015, 33(15): 14-21.
- [5] Chik, F., Szyf, M. and Rabbani, S.A. (2011) Role of Epigenetics in Cancer Initiation and Progression. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **720**, 91-104.
- [6] Lim, B., Kim, H.-J., Heo, H., Huh, N., Baek, S.-J., Kim, J.-H., Bae, D.-H., Seo, E.-H., Lee, S.-I., Song, K.-S., Kim, S.-Y., Kim, Y.S. and Kim, M. (2018) Epigenetic Silencing of MiR-1271 Enhances MEK1 and TEAD4 Expression in Gastric Cancer. *Cancer Medicine*, **7**, 3411-3424. <https://doi.org/10.1002/cam4.1605>

- [7] Lim, B., Kim, J.-H., Kim, M. and Kim, S.-Y. (2016) Genomic and Epigenomic Heterogeneity in Molecular Subtypes of Gastric Cancer. *World Journal of Gastroenterology*, **22**, 1190-1201. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i3.1190>
- [8] Riquelme, I., Tapia, O., Leal, P., Sandoval, A., Varga, M.G., Letelier, P., Buchegger, K., Bizama, C., Espinoza, J.A., Peek, R.M., Araya, J.C. and Roa, J.C. (2016) MiR-101-2, MiR-125b-2 and MiR-451a Act as Potential Tumor Suppressors in Gastric Cancer through Regulation of the PI3K/AKT/mTOR Pathway. *Cellular Oncology*, **39**, 23-33. <https://doi.org/10.1007/s13402-015-0247-3>
- [9] Wu, C., Zheng, X., Li, X., et al. (2016) Reduction of Gastric Cancer Proliferation and Invasion by MiR-15a Mediated Suppression of Bmi-1 Translation. *Oncotarget*, **7**, 14522-14536. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7392>
- [10] Hsu, K.-W., Wang, A.-M., Ping, Y.-H., Huang, K.-H., Huang, T.-T., Lee, H.-C., Lo, S.-S., Chi, C.-W. and Yeh, T.-S. (2013) Downregulation of Tumor Suppressor MBP-1 by MicroRNA-363 in Gastric Carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **35**, 208-217. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt285>
- [11] Whiti, R.T., Gurvinder, T., Katharine, D., Craig, L., Kathryn, F., Rebecca, A., Alpha, T., Michael, B. and Michael, G. (2018) The 2016 Revision of the WHO Classification of Central Nervous System Tumours: Retrospective Application to a Cohort of Diffuse Gliomas. *Journal of Neuro-Oncology*, **137**, 181-189. <https://doi.org/10.1007/s11060-017-2710-7>
- [12] Del Corvo, M., Luini, M., Stella, A., Pagnacco, G., Ajmone-Marsan, P., Williams, J.L. and Minozzi, G. (2017) Identification of Additional Loci Associated with Antibody Response to *Mycobacterium avium* ssp. Paratuberculosis in Cattle by GSEA-SNP Analysis. *Mammalian Genome*, **28**, 520-527. <https://doi.org/10.1007/s00335-017-9714-7>
- [13] Hang, D., Yuan, H., Liu, L., Wang, L., Miao, L., Zhu, M., Du, J., Dai, J., Hu, Z., Chen, N., Shen, H. and Ma, H. (2017) KIT Polymorphisms Were Associated with the Risk for Head and Neck Squamous Carcinoma in Chinese Population. *Molecular Carcinogenesis*, **56**, 232-237. <https://doi.org/10.1002/mc.22487>
- [14] Matsuoka, T. and Yashiro, M. (2014) The Role of PI3K/Akt/mTOR Signaling in Gastric Carcinoma. *Cancers*, **6**, 1441-1463. <https://doi.org/10.3390/cancers6031441>
- [15] Ge, Y., Liu, H., Qiu, X., Ma, G., Wang, H., Du, M., Wang, M., Zhao, Q., Tao, G., Chu, H. and Zhang, Z. (2018) Genetic Variants in PI3K/Akt/mTOR Pathway Genes Contribute to Gastric Cancer risk. *Gene*, **670**, 130-135. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.093>
- [16] Graham, D.Y. (2015) Helicobacter Pylori Update: Gastric Cancer, Reliable Therapy, and Possible Benefits. *Gastroenterology*, **148**, 719-731.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.01.040>
- [17] McLean, M.H. and El-Omar, E.M. (2014) Genetics of Gastric Cancer. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, **11**, 664-674. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.143>
- [18] Dina, S., Rasha, A., Sayed, A., Wael, F., Ahmed, E. and Azza, E. (2017) Erratum to: Braf, Kras and Helicobacter Pylori Epigenetic Changes-Associated Chronic Gastritis in Egyptian Patients with and without Gastric Cancer. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **33**, 100. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2250-5>
- [19] Liu, L. and Yang, X. (2015) Implication of Reprimo and hMLH1 Gene Methylation in Early Diagnosis of Gastric Carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **8**, 14977-14982.
- [20] Jin, J., Xie, L., Xie, C.H. and Zhou, Y.F. (2014) Aberrant DNA Methylation of MGMT and hMLH1 Genes in Prediction of Gastric Cancer. *Genetics and Molecular Research*, **13**, 4140-4145. <https://doi.org/10.4238/2014.May.30.9>
- [21] Wang, M., Li, Y., Gao, J., Li, Y., Zhou, J., Gu, L., Shen, L. and Deng, D. (2014) p16 Methylation Is Associated with Chemosensitivity to Fluorouracil in Patients with Advanced Gastric Cancer. *Medical Oncology*, **31**, 988. <https://doi.org/10.1007/s12032-014-0988-2>
- [22] Song, J., Xie, H., Lian, Z., Yang, G., Du, R., Du, Y., Zou, X., Jin, H., Gao, J., Liu, J. and Fan, D. (2007) Enhanced Cell Survival of Gastric Cancer Cells by a Novel Gene URG4. *Neoplasia*, **8**, 995-1002. <https://doi.org/10.1593/neo.06592>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网首页：<http://cnki.net/>，点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”，跳转至：<http://scholar.cnki.net/new>，搜索框内直接输入文章标题，即可查询；
或点击“高级检索”，下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8712，即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版：<http://www.cnki.net/old/>，左侧选择“国际文献总库”进入，搜索框直接输入文章标题，即可查询。

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：acm@hanspub.org