

基于机器学习及分子对接筛选胃“炎-癌”特征基因及干预中药组方

杨志城¹, 叶亮², 孙彩虹¹, 叶冠^{1*}

1. 上海医药集团中央研究院中药研究所, 上海 201203

2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 211198

摘要: **目的** 探索胃“炎-癌”转化中的潜在作用靶点及其发病机制, 并采用生物信息学技术预测潜在干预“炎-癌”进展的中药并验证。**方法** 从 GEO 数据库下载胃癌及慢性胃炎基因芯片, 分为训练组及验证组, 采用 sva 包及 ComBat 函数移除批次效应并整合。采用 R 包 Limma、ClusterProfiler、DOSE、ggplot2 等包筛选显著差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 并进行基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析、京都基因与基因百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。采用机器学习筛选特征基因并验证, 分析特征基因表达与胃癌风险。采用 R 包 E1071、PreProcessCore 等进行免疫浸润及相关性。特征基因基于数据库映射潜在天然活性成分及对应中药, 预测结果采用分子对接及细胞实验验证。**结果** 筛选出 62 个 DEGs, DEGs 主要参与粒细胞迁移、髓性白细胞迁移、顶端质膜构成等生物功能, 参与代谢途径、细胞黏附分子、糖酵解/糖元生成等信号通路。经机器学习筛选并验证得到特征基因 ATP 结合盒转运体 C5 (ATP binding cassette transporter C5, ABCC5)、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 1 (phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PCK1)、碳酸酐酶 IX (carbonic anhydrase IX, CA9)、甲酰胺受体 1 (formyl peptide receptor 1, FPR1)、磷酸肌醇 3-激酶 2 类 γ 亚基 (phosphoinositide-3-kinase class 2 gamma polypeptide, PIK3C2G)、前列腺干细胞抗原 (prostate stem cell antigen, PSCA)、果糖-1,6-二磷酸酶 2 (fructose-bisphosphatase 2, FBP2), 列线图分析显示特征基因异常表达群体存在高度转化风险; 免疫浸润分析显示, 胃癌患者浆细胞、CD8⁺T 细胞、调节性 T 细胞、未活化 NK 细胞、M0 巨噬细胞显著下降, 滤泡辅助性 T 细胞、活化 NK 细胞、单核细胞、M1 巨噬细胞、未活化树突状细胞、活化树突状细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞显著上调。靶点-成分筛选得活性成分姜黄素、杨梅素、槲皮素、查耳酮等, 预测中药组方为姜黄、侧柏叶、草豆蔻、艾叶、枳实, 对接显示成分、靶点间对接活性良好, 细胞实验表明特征基因 CA9、FBP2、ABCC5、PCK1、FPR1 在胃“炎-癌”转化过程中表达显著, 中药组方可显著调节其表达。**结论** 胃“炎-癌”转化机制复杂, 预测所得中药组方可通过多途径发挥作用, 研究可为胃癌发生机制及早期干预药物开发提供参考。

关键词: 慢性胃炎; 胃癌; 机器学习; 免疫浸润; 生物信息学; 姜黄素; 杨梅素; 槲皮素; 查耳酮; 姜黄; 侧柏叶; 草豆蔻; 艾叶; 枳实

中图分类号: Q811.4; TP18; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)10-3599-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.018

Screening of characteristic genes for gastric “inflammation-cancer” and intervention traditional Chinese medicine formula based on machine learning and molecular docking

YANG Zhicheng¹, YE Liang², SUN Caihong¹, YE Guan¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, Central Research Institute of Shanghai Pharmaceutical Group, Shanghai 201203, China

2. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract: Objective To explore potential targets and pathogenesis in the “inflammation-cancer” transformation of the stomach and predict traditional Chinese medicine (TCM) interventions for modulating this progression using bioinformatics, with experimental validation. **Methods** Gene microarray data for gastric cancer (GC) and chronic gastritis were downloaded from the GEO database,

收稿日期: 2025-02-17

基金项目: 上海医药中药传承和创新平台能力建设 (2020006)

作者简介: 杨志城 (1996—), 男, 硕士, 从事中药和天然药物的研发工作。Tel: 15657995175 E-mail: yangzhicheng@sphchina.com

*通信作者: 叶冠 (1974—), 男, 教授级高级工程师, 博士, 从事中药和天然药物的研发工作。

Tel: (021)61871700-8088 E-mail: yeg@sphchina.com

which were divided into training and validation sets. The *sva* package and *ComBat* function were used to remove batch effects and integrate data. Differentially expressed genes (DEGs) were screened using R packages (*Limma*, *ClusterProfiler*, *DOSE*, *ggplot2*), followed by gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analyses. Machine learning was used to screen and verify characteristic genes, and the expression of characteristic genes and the risk of GC were analyzed. Immune infiltration and correlation were performed using R packages (*E1071*, *PreProcessCore*). The characteristic genes are mapped based on the database to potential natural active ingredients and corresponding TCMs. The prediction results are verified by molecular docking and cell experiments. **Results** A total of 62 DEGs were identified, enriched in biological processes such as granulocyte migration, myeloid leukocyte migration, and apical plasma membrane composition, as well as signal pathways including metabolic pathways, cell adhesion molecules, and glycolysis/gluconeogenesis. The characteristic genes ATP binding cassette transporter C5 (*ABCC5*) and phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (*PCK1*), carbonic anhydrase IX (*CA9*), formyl peptide receptor 1 (*FPR1*), phosphoinositide-3-kinase class 2 gamma polypeptide (*PIK3C2G*), prostate stem cell antigen (*PSCA*), fructose-1, 6-bisphosphatase 2 (*FBP2*) were obtained through machine learning screening and verification. The nomogram indicated high transformation risk in groups with abnormal feature gene expression. Immune infiltration analysis showed that plasma cells, CD8⁺ T cells, regulatory T cells, unactivated NK cells, and M0 macrophages in patients with gastric cancer decreased significantly, while follicular helper T cells, activated NK cells, monocytes, M1 macrophages, unactivated dendritic cells, activated dendritic cells, eosinophils, and neutrophils were significantly upregulated. Target-component screening yielded active ingredients such as curcumin, myricetin, quercetin, and chalcone. It was predicted that the TCM formula would include *Jianghuang* (*Curcumae Longae Rhizoma*), *Cebaiye* (*Platycladi Cacumen*), *Caodoukou* (*Alpiniae Katsumadai Semen*), *Aiye* (*Artemisiae Argyi Folium*), and *Zhishi* (*Aurantii Fructus Immaturus*). The docking indicated that the docking activity between the components and the targets was good. Cell experiments indicated that the characteristic genes *CA9*, *FBP2*, *ABCC5*, *PCK1*, and *FPR1* were significantly expressed during the “inflammation-cancer” transformation process of the stomach, and the TCM formula could significantly regulate their expressions. **Conclusion** The “inflammation-cancer” transformation involves complex mechanisms. The predicted TCM formula may act through multiple pathways. This research can provide a reference for the GC pathogenesis and the development of early intervention drugs.

Key words: chronic gastritis; gastric cancer; machine learning; immune infiltration; bioinformatics; curcumin; myricetin; quercetin; chalcone; *Curcumae Longae Rhizoma*; *Platycladi Cacumen*; *Alpiniae Katsumadai Semen*; *Artemisiae Argyi Folium*; *Aurantii Fructus Immaturus*

胃癌是指原发于胃的上皮源性恶性肿瘤，全球发病率第 5 位、致死率第 3 位，目前已是国内最常见的消化道肿瘤。流行病学统计显示，每年我国新发胃癌达 41 万例^[1]。胃“炎-癌”转化是消化系统肿瘤发生的重要病理过程，其机制涉及慢性炎症微环境驱动下多阶段分子事件的级联反应。Correa 最早提出肠型胃癌（占胃癌 80% 以上）的发生模式为“正常胃黏膜→慢性炎症→萎缩性胃炎→肠化生→上皮内瘤变→胃癌（Correa 模式）”，而慢性胃炎为我国最常见的消化系统疾病，基于内镜诊断的慢性胃炎患病率接近 90%^[1]。促炎细胞因子方面，核因子-κB（nuclear factor-κB, NF-κB）和信号转导子与转录激活子 3（signal transducer and activator of transcription 3, STAT3）是驱动胃癌炎症微环境的核心转录因子。NF-κB 通过 Toll 样受体（Toll-like receptor, TLR）-髓样分化因子 88、缺氧诱导因子-1α（hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α）及肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α, TNF-α）等通路

激活，诱导多种炎症细胞因子如 TNF-α、白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）、黏附分子和环氧合酶 2 的表达，形成慢性炎症微环境^[2]。STAT3 依赖糖蛋白 130（glycoprotein 130, Gp130）受体、IL-6 等刺激引发其磷酸化促进表达。Gp130 信号失调（如受体突变）会导致 STAT3 持续激活，显著增加幽门螺杆菌感染后炎症恶变风险，其高表达与胃癌不良预后密切相关。STAT3 维持 NF-κB 活性，而 NF-κB 诱导 IL-6 等 STAT3 激活因子，构成炎症-肿瘤恶性循环。TLR4 激活后，胃上皮细胞通过 NF-κB/STAT3 轴自主分泌促炎因子，揭示肿瘤细胞可不依赖免疫细胞直接驱动炎症。STAT3 的氧化还原敏感位点使其成为炎症向肿瘤转化的分子开关。持续激活导致的高含量 STAT3 和 STAT3 磷酸化与胃癌的不良预后相关^[3-4]。转录因子可以直接调节组织炎症和肿瘤发生，而无需免疫细胞参与^[5]。约 50% 胃癌病例存在 STAT3 过度激活，而 NF-κB 在多数实体瘤中持续活跃，二者共同调控超过 200 个与炎症、血管生成和

转移相关的基因^[6-7]。此外,持续性炎症通过激活 NF- κ B/STAT3 信号通路导致基因组不稳定性增加,同时诱导线粒体功能障碍和活性氧累积,抑制肿瘤蛋白 p53、钙黏蛋白 1 等抑癌基因表达^[8]。宿主细胞因子可通过调控炎症反应的强度与类型抑制肿瘤活性;反之,当细胞因子被肿瘤细胞转化后,亦可促进肿瘤生长与侵袭。在胃癌相关炎症通路中,炎性细胞因子可分为 3 类:促进肿瘤进展的细胞因子、激活抗肿瘤活性的细胞因子以及抑制抗肿瘤活性的细胞因子。胃癌相关炎症的细胞因子包括 IL-1、IL-6、IL-18、TNF- α 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)。正常情况下,主要由巨噬细胞产生的 IL-1 具有抗肿瘤作用,但在慢性炎症环境中可促进肿瘤发生。IL-1 通过激活 NF- κ B 及其亚型 (IL-1 α /IL-1 β) 发挥促癌效应:IL-1 α 诱导血管内皮细胞增殖和血管生成,促进转移;IL-1 β 通过酪氨酸激酶通路刺激胃癌细胞增殖,并通过激活髓源性抑制细胞的 NF- κ B 信号,增加 IL-6/TNF- α 分泌。此外,IL-1 通过上调血管细胞黏附分子-1 的表达来促进肿瘤的黏附和转移;IL-1 β 激活血管内皮生长因子增加血管生成的血流量,从而促进肿瘤细胞生长^[9-11]。因此,深入探究胃癌“炎-癌”转化过程中特征基因和生物途径对早期胃炎患者实现胃癌的预防、早期干预及靶向治疗具有重要意义。生物信息学技术是利用应用数学、信息学、统计学和计算机科学的方法研究生物学的问题,可以在高通量处理数据的同时筛选潜在的生物标志物、靶标等,为新药研发和精准医疗等提供了重要的工具和技术支持^[12]。目前已有的文献报道胃癌干预基因均基于单个芯片数据或基于数据库靶点展开研究,未考虑到数据集类型、大小、取样时间等因素带来的差异。因此,本研究整合目前 GEO 数据库已有的胃炎、胃癌全部数据集,将差异表达基因进行免疫浸润分析,以探讨“炎-癌”转化进展中的生物过程及通路,采用生物信息学预测潜在靶向干预特征基因的中药组合并进行验证,旨在为胃癌潜在风险患者早期发现、诊断和治疗提供参考。

1 材料、数据库及分析软件

人胃上皮细胞细胞 GES-1 (中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库);细胞培养液 RPMI1640 (北京四季青生物材料研究所);CCK-8 细胞活力检测试剂盒 [赛信通 (上海) 生物试剂有限公司];胎牛血清 (Invitrogen 公司);AnnexinV/PI 细胞凋

亡检测试剂盒 [翌圣生物科技 (上海) 有限公司];细胞质蛋白抽提试剂盒 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司];1-甲基-3-硝基-1-亚硝基胍 (MNNG) [吉至生化 (上海) 科技有限公司];青霉素-链霉素双抗溶液 (碧云天生物技术股份有限公司)。

288 Boxes 超低温冰箱 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司];XS105DU 型梅特勒电子天平 (梅特勒仪器有限公司);Chameleon 多功能酶标仪 (芬兰 Hidex 公司);Eppendorf-5418 型高速离心机 (深圳市赛亚泰科仪器设备有限公司);美谱达 UV-3000PC 型紫外可见分光光度计 (杭州俊升科学器材有限公司);DYY-6D 型三恒电泳仪 (北京市六一仪器厂);SQ-80N 型细胞培养箱 (上海幕斯实验设备有限公司);BD FACSCanto II 流式细胞仪 (上海碧迪医疗器械有限公司);HY-8B 型恒速大容量振荡器 (常州市亿能实验仪器厂);LDZM-40L 型上海申安 40 立升立式高压蒸汽灭菌器 (杭州俊升科学器材有限公司)。

基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)、Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm>)、Herbal Ingredients' Targets Platform (<http://www.badd-cao.net:2345/>)、RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>)、R 4.1.0、ClusterProfiler 4.10.3、DOSE 3.26.2、Limma 3.58.1、ggplot 2.3.3.0、enrichplot 1.6.1、Cytoscape 3.7.2 等。

2 方法

2.1 数据下载及整理

从基因表达综合数据库中以胃癌“gastric cancer”、慢性胃炎“chronic gastritis”为检索词检索并下载表达芯片数据集 (GSE2669、GSE111762、GSE116312、GSE130823、GSE55696)。将 GSE55696 作为验证数据集来源,其余数据集采用 SVA 包标准化移除批次效应、矫正、合并作为训练数据集。训练数据集包括组织 147 例,其中胃癌组织 58 例,胃炎组织 89 例。验证数据集包括组织 38 例,其中胃癌、胃炎组织各占 19 例。

2.2 差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 及富集分析

采用 limma 包分析训练数据集,以 $|\log_2FC| > 1$ [FC 表示差异倍数 (fold change)], $P < 0.05$ 为筛选标准,筛选胃炎和胃癌组织中 DEGs,并以热图及火山图进行可视化。以 $P < 0.05$ 、 $q < 0.05$ 为筛选标

准, 采用 ClusterProfiler 包分析胃“炎-癌”转化过程中涉及的分子功能 (molecular function, MF)、生物过程 (biological process, BP)、细胞成分 (cell component, CC) 以及通路 (pathways)。

2.3 机器学习筛选特征基因

基因芯片数据在临床诊断中正在占据越来越重要的地位, 特征基因筛选是依据生物学相关性原则, 识别与特定生物学问题或疾病直接相关的基因, 有助于揭示在特定生物学过程中的关键机制, 为进一步的研究和潜在的治疗策略提供重要信息。

最小绝对收缩和选择算子 (least absolute shrinkage and selection operator, Lasso) 回归是机器学习的方法之一, 通过寻找分类错误最小时的 λ 来确定变量, 目前主要用于筛选特征变量, 构建最佳分类模型^[13]。采用 glmnet 包, 设置回归参数为 $\alpha=1$ 、type.measure=deviance、nfolds=10, 分析各变量变化轨迹及筛选交叉验证后最小 λ 惩罚系数的对数, 并输出对应特征基因。

支持向量机-递归特征消除 (support vector machine-recursive feature elimination, SVM-RFE) 是基于支持向量的机器学习方法, 通过删减 SVM 产生的特征向量来寻找最佳变量^[14]。采用 e1071、kernlab、caret 包, 设置参数为 functions=caretFuncs, method=cv, 分析交叉验证后最小点并输出对应基因。

将 Lasso 回归及随机森林法筛选所得特征基因取交集为最终特征基因, 并在验证数据集中进行表达量验证, $P<0.05$ 表示差异显著。

2.4 模型评估及验证

列线图是一种将多个预测因素综合起来, 用于预测疾病风险或患者预后的工具。以特征基因表达量为影响因素, 评估个体由胃炎进展为胃癌的发生概率, 采用 rms、rmda 包分析并绘制列线图。受试者特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线可直观分析指标各取值对结局指标的诊断或预测能力^[15]。采用 pROC 包在训练数据集及验证数据集中进行 ROC 曲线预测, 计算曲线下面积 (area under curve, AUC) 和 95% 置信区间 (confidence interval, CI), 以评估机器学习筛选出的特征基因作为疾病诊断基因的准确性, ROC 曲线 AUC 介于 0.5~1, 面积越大说明该基因作为疾病诊断基因的准确性越高。

2.5 免疫浸润与特征基因相关性分析

使用 R 软件包 e1071、preprocessCore 将所获得的 DEGs 基于 CIBERSORT 算法^[16], 以阈值 $P<0.05$ 对 22 种免疫细胞进行浸润分析, 其中包括调节性 T 细胞、M0 巨噬细胞、活化 NK 细胞等免疫细胞, 使用 R 软件包 corrplot、vioplot 将免疫细胞浸润的结果进行可视化及相关性分析。使用 R 软件包 limma、reshape2、ggpubr、ggExtra 进行特征基因与免疫细胞相关性分析, $P<0.05$ 表明该免疫细胞与基因存在显著相关性。

2.6 活性成分预测及分子对接验证

特征基因输入 BATMAN-TCM, 设置 confidence score cutoff=0.84, 选择 known associated TCM ingredients, 并于 HIT2.0 数据库中进一步确认化合物与靶点之间的关联。在 PubChem 数据库中检索化学成分的 3D 结构, 保存为 sdf 文件, 在分子对接软件中加全氢离子、平衡电荷, 设置扭转键等进行活化。通过 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org>) 数据库及文献的查阅确定靶点的结构信息及 PDB 编号, 在 PDB 数据库对靶点的 PDB 格式文件进行下载, 去除水分子及配体, 生成活性空腔, 使用 CDOCKER 模块进行精准分子对接。最后基于 HIT2.0 确认成分来源中药, 并通过中药系统药理学数据库 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology, TCMSP) 及文献检索确认成分相关来源中药。

2.7 中药组方药效学验证

2.7.1 中药组方供试品制备 将预测所得中药按照《中国药典》推荐用量组方, 参考《医疗机构中药煎药室管理规范》提取, 饮片混合均匀后, 浸泡 30 min, 煎煮开始时的用水量一般浸过药面 2~5 cm, 煮沸后改微沸煎煮 30 min, 煎煮 2 次, 合并提取液, 适当浓缩后真空冷冻干燥制备得组方干粉, 备用。临用时, 加无菌纯化水适量复溶混合均匀, 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.7.2 细胞培养与胃“炎-癌”转化细胞模型的建立 将人胃上皮细胞株 GES-1 培养于含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的 RPMI 1640 培养液中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 细胞培养箱内。待细胞生长至密度达 80%~90% 时, 在培养基中加入 10 $\mu\text{mol/L}$ MNNG, 与细胞共孵育 48 h, 用以建立胃“炎-癌”转化细胞模型, 用于后续实验。

2.7.3 细胞总 RNA 的提取及实时荧光定量聚合酶链

式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR) 分析 细胞处理结束后, 加入 Trizol 试剂冰上裂解, 随后加入适量氯仿, 离心后取上层 RNA 清液, 异丙醇沉淀后, 用 75%乙醇洗涤 RNA 沉淀, 离心后用 DEPC 水溶解总 RNA。测定 RNA 浓度后, 按照试剂盒说明书进行操作, 采用 RT-PCR 技术测定正常 GES-1 细胞和 MNNG 处理后的 GES-1 细胞中特征基因的表达情况, 试验平行重复 3 次, 每个样本重复检测 3 次。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
ABCC5	正向: ATCATGGCTTGAGTGCTCTGA 反向: AGACCACACGTCCTCCATTGA
PCK1	正向: TTGAGAAAGCGTTCAATGCCA 反向: CACGTAGGGTGAATCCGTCAG
CA9	正向: CTGTCTCGCTTGGAAGAAATCG 反向: GCAGGAGTGCAGATATGTCCAG
FPR1	正向: TGGGAGGACATTGGCCTTTC 反向: GGATGCAGGACGCAAACAC
PIK3C2G	正向: ATCAACCCCATCTTCTAGCCA 反向: CCAGGAGAGTTCACGGCTTTT
PSCA	正向: TGCTGCTTGCCCTGTTGAT 反向: CCTGTGAGTCATCCACGCA
FBP2	正向: TCAACATGGTCCAATCCTCCT 反向: CATCCAGTGGTCAAAGCAGA

2.7.4 中药组方干预胃“炎-癌”转化特征基因表达研究 通过 MTT 法检测得到的中药组方供试品溶液 (ZYZF) 作用 GES-1 细胞 48 h 后的 20%抑制浓度 (IC₂₀), 确定最大无毒剂量。取对数生长期的 GES-1 细胞, 分为对照组 (RPMI 1640 培养液)、模型组 (MNNG)、ZYZF 组, ZYZF 组给予 MNNG 造模的同时, 加入最大无毒剂量的 ZYZF, 共孵育 48 h 后, 采用“2.7.3”项方法检测各组细胞中特征基因的表达情况。

2.8 统计学分析

运用 SPSS25.0 软件进行统计分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析处理数据, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 DEGs 及富集分析

训练数据集 GSE2669 (慢性胃炎 26 例、胃癌 35 例), GSE111762 (慢性胃炎 6 例、胃癌 4 例), GSE116312 (慢性胃炎 10 例、胃癌 3 例), GSE130823 (慢性胃炎 47 例、胃癌 16 例) 下载、合并, 差异分

析结果显示, “炎-癌”转化过程中有 62 个基因表达存在显著差异, 其中上调基因 24 个, 下调基因 38 个。热图及火山图如图 1 所示。

将 DEGs 采用 ClusterProfiler 包进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 见图 2。“炎-癌”转换过程中, GO 分析显示 DEGs 主要参与粒细胞迁移 (granulocyte migration)、髓性白细胞迁移 (myeloid leukocyte migration)、中性粒细胞迁移 (neutrophil migration)、顶端质膜 (apical plasma membrane)、膜上锚定成分 (anchored component of membrane)、G 蛋白偶联受体结合 (G protein-coupled receptor binding)、底物特异性通道活性 (substrate-specific channel activity)、阳离子配体门控通道活性 (ligand-gated cation channel activity) 等生物功能; KEGG 分析显示 DEGs 主要参与代谢途径 (metabolic pathways)、氮代谢 (nitrogen metabolism)、细胞黏附分子 (cell adhesion molecules)、紧密连接 (tight junction)、糖酵解/糖元生成 (glycolysis/gluconeogenesis) 等通路。

3.2 特征基因筛选

Lasso 回归结果如图 3-A 所示, λ 最小值为 0.021 817 44, 交叉验证误差最小值时特征基因数目为 13; SVM-RFE 分析结果如图 3-B 所示, 交叉验证误差最小值时特征基因数目为 25 个。2 种机器学习分析结果交集基因为 ATP 结合盒转运体 C5 (ATP binding cassette transporter C5, ABCC5)、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 1 (phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PCK1)、碳酸酐酶 IX (carbonic anhydrase IX, CA9)、甲酰胺受体 1 (formyl peptide receptor 1, FPR1)、磷酸肌醇 3-激酶 2 类 γ 亚基 (phosphoinositide-3-kinase class 2 gamma polypeptide, PIK3C2G)、前列腺干细胞抗原 (prostate stem cell antigen, PSCA)、果糖-1,6-二磷酸酶 2 (fructose-bisphosphatase 2, FBP2)。

3.3 验证特征基因表达

特征基因在验证数据 GSE55696 中表达如图 4 所示, 各特征基因在胃“炎-癌”分组中表达存在显著差异 ($P < 0.05$)。

3.4 模型评估

pROC 包分析特征基因在训练和验证数据集中预测的准确度, 结果如图 5、6 所示, 特征基因 CA9、

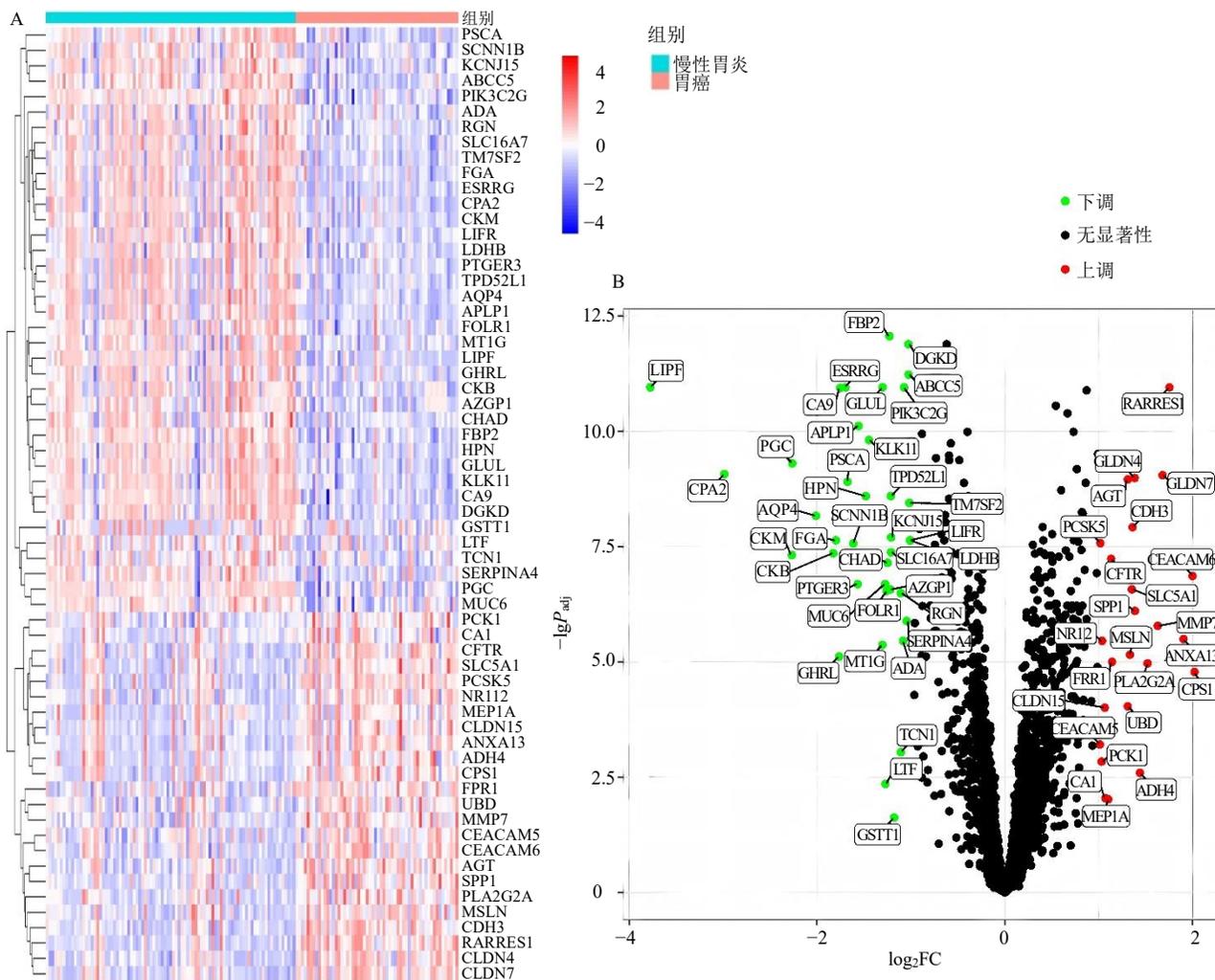


图1 DEGs 热图 (A) 及火山图 (B)

Fig. 1 DEGs heatmap (A) and volcano map (B)

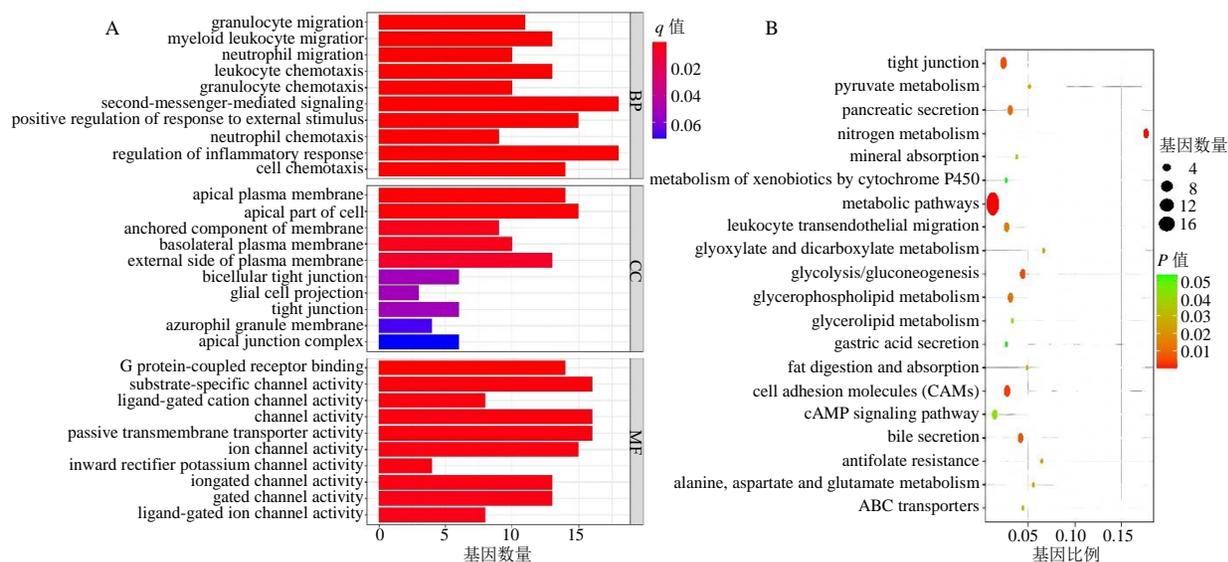


图2 GO 功能 (A) 与 KEGG 通路 (B) 富集分析

Fig. 2 Enrichment analysis of GO function (A) and KEGG pathway (B)

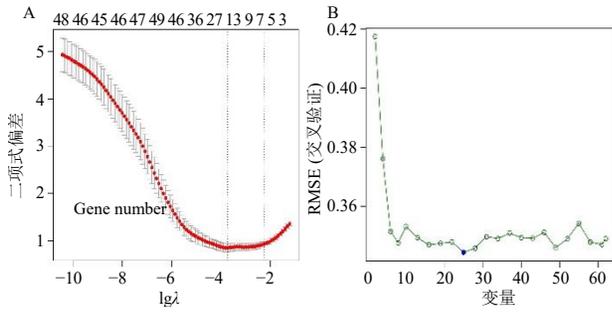


图3 Lasso (A) 与 SVM-RFE (B) 交叉验证
Fig. 3 Lasso (A) and SVM-RFE (B) cross-validation

PCK1、FBP2、ABCC5、PIK3C2G 等表达量预测胃癌均有一定的准确性。采用 Logistic 回归分析并绘制列线图, 见图 5-B, ABCC5、PIK3C2G、CA9 低表达, PCK1、FPR1 高表达患者由胃炎转化为胃癌风险程度高。机器学习筛选出的特征基因具有一定临床诊断价值, 可以区别胃炎与胃癌患者, 特征基因表达与癌症风险相关。

3.5 免疫细胞浸润

采用 preprocessCore 包对训练集数据进行在线免疫浸润分析并绘制小提琴图, 如图 7-A 所示。与

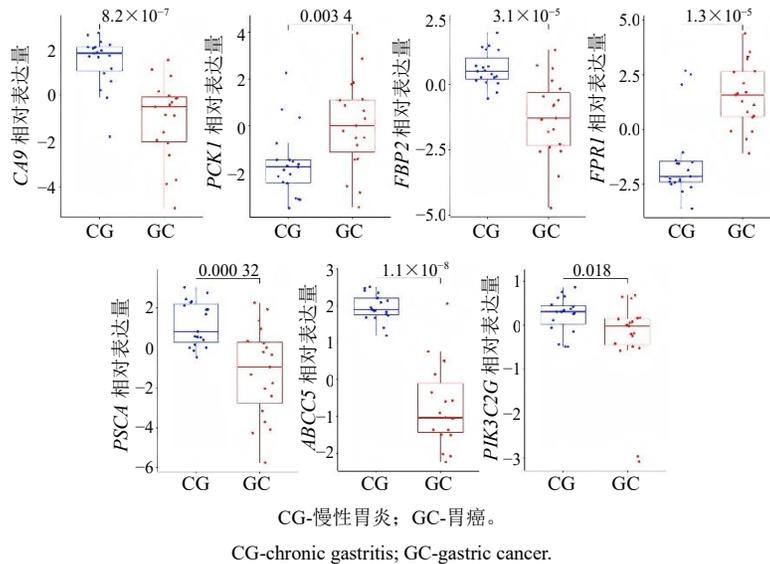


图4 特征基因在验证数据集中的表达

Fig. 4 Expression of characteristic genes in validation dataset

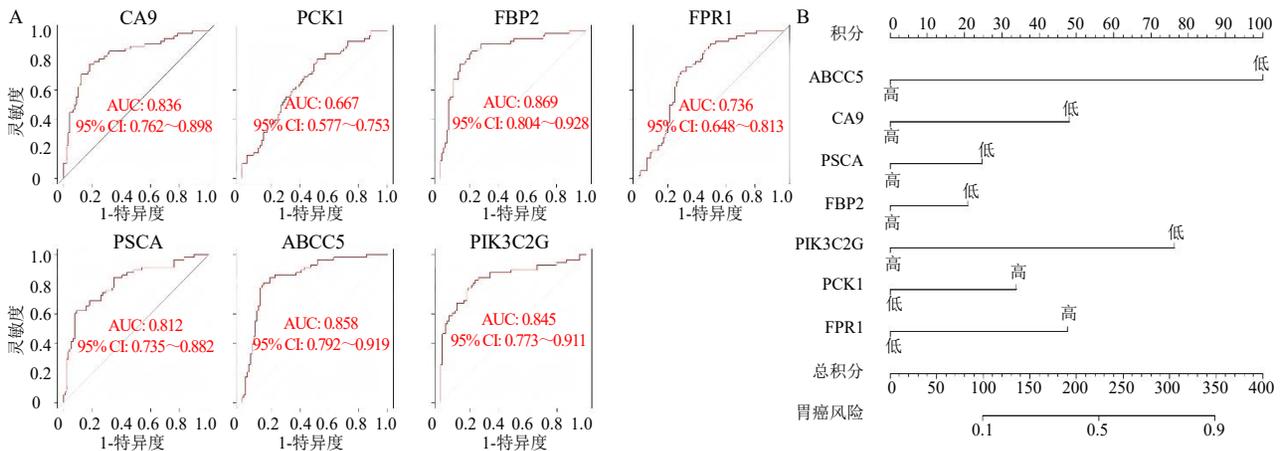


图5 训练数据集特征基因 ROC 曲线 (A) 及列线图 (B)

Fig. 5 ROC curve (A) and nomogram (B) of characteristic genes in training dataset

胃炎患者相比, 胃癌患者浆细胞、CD8⁺ T 细胞、调节性 T 细胞 (Tregs)、未活化 NK 细胞、M0 巨噬细胞显著偏低 ($P < 0.05$), 滤泡辅助性 T 细胞、

活化 NK 细胞、单核细胞、M1 巨噬细胞、未活化树突状细胞、活化树突状细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞显著偏高 ($P < 0.05$)。其余免疫细胞浸润

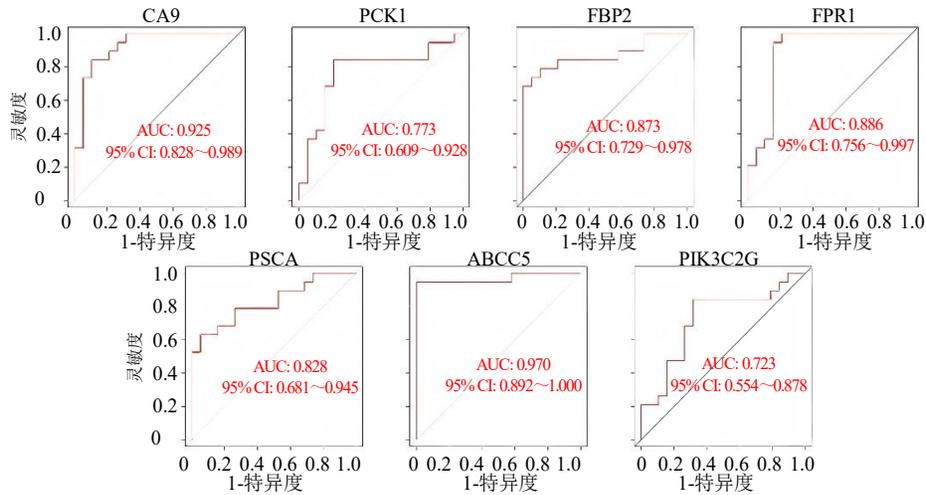


图6 验证数据集特征基因 ROC 曲线

Fig. 6 ROC curve of characteristic genes in validation dataset

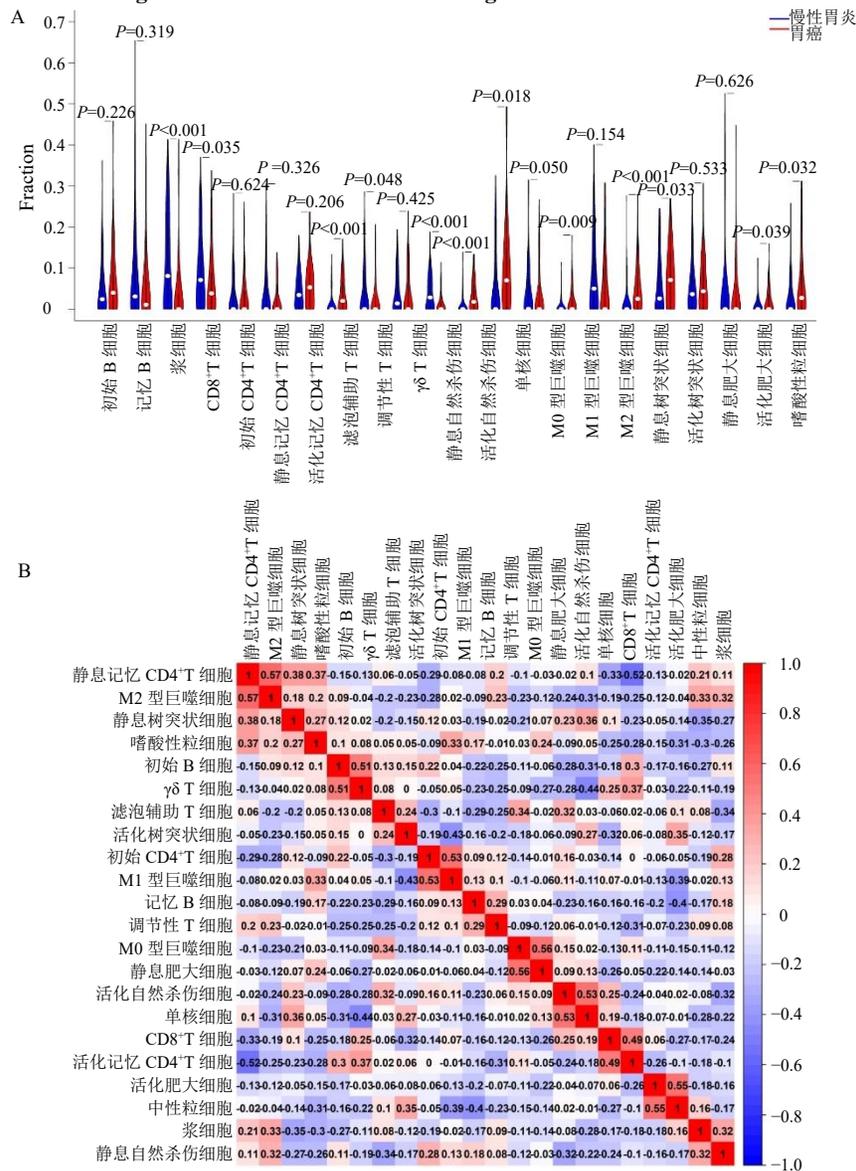


图7 免疫细胞浸润 (A) 及相关性分析 (B)

Fig. 7 Infiltration (A) and correlation analysis (B) of immune cell

浸润水平显著正相关 ($P < 0.05$); FPR1 与调节性 T 细胞、M2 巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞等浸润水平显著负相关 ($P < 0.05$), 与滤泡辅助 T 细胞、活化树突状细胞、中性粒细胞等浸润水平显著正相关 ($P < 0.05$); ABCC5 与 M1 期巨噬细胞、活化 NK 细胞、静息树突状细胞等浸润水平显著负相关 ($P < 0.05$), 与浆细胞、CD8⁺ T 细胞、静息 NK 细胞浸润水平显著正相关 ($P < 0.05$); PSCA 与静息树突状细胞、M1 巨噬细胞、活化 NK 细胞等浸润水平显著负相关 ($P < 0.05$), 与静息 NK 细胞浸润水平显著正相关 ($P < 0.05$); PIK3C2G 与活化 NK 细胞、滤泡辅助 T 细胞、静息树突状细胞等浸润水平显著负相关 ($P < 0.05$), 与 M2 巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞、浆细胞浸润水平显著正相关 ($P < 0.05$)。

3.6 潜在天然药物组合预测

将靶点键入 HIT 2.0 数据库中, 筛选靶点对应

“related ingredient 化合物, 筛选得到化合物 19 个。采用分子对接对“成分-靶点”映射结果进行验证, 结果见表 2, 13 个成分与靶点结合活性良好 (结合能 < 0 kcal/mol), 对接位点及作用形式可视化见图 9。基于 BATMAN-TCM 等数据库进行“靶点-成分”映射, 特征基因可由姜黄素、毛喉素、红景天苷、杨梅素、白屈菜红碱、查耳酮、槲皮素等天然来源成分调控。按照结合能大小排序, 选择结合活性最佳的靶点-成分组合, 将成分名称输入 HIT2.0 数据库中进行检索, 根据 Related Herbs 中排名第 1 的本草作为相关中药, 主要有姜黄、毛喉鞘蕊花、红景天、侧柏叶、白屈菜、草豆蔻等。此外, 检索现有文献验证成分与中药之间的关联, 如含有该成分 (如姜黄素-姜黄) 或间接影响该成分 (雌二醇-苦杏仁)。不同靶点对应的成分一致时, 相关中药相同, 因此选择合并, 最终得到中药组合为姜黄、侧柏叶、草豆蔻、艾叶、枳实。

表 2 成分-靶点分子对接能量
Table 2 Molecular docking energy of component-target

靶点	蛋白晶型	CID	英文名	中文名	相关中药	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
ABCC5	8CKI	969516	curcumin	姜黄素	姜黄	-37.691 3
PCK1	4OX2	47936	forskolin	毛喉素	毛喉鞘蕊花	27.787 3
		159278	salidroside	红景天苷	红景天	-24.226 5
		5281672	myricetin	杨梅素	侧柏叶	-57.102 9
		969516	curcumin	姜黄素	姜黄	-42.709 4
CA9	8Q18	2703	chelerythrine	白屈菜红碱	白屈菜	27.052 6
		637760	chalcone	查耳酮	草豆蔻	-21.340 4
FPR1	7T6T	6478017	oleandrin	欧夹竹桃苷	夹竹桃	37.645 9
		442138	absinthin	苦艾素	苦艾	117.128 1
		323	coumarin	香豆素	艾叶	-16.997 2
		5281316	cucurbitacin B	葫芦素	白木香	37.658 6
PIK3C2G	AF-O75747	5281672	myricetin	杨梅素	侧柏叶	-26.124 8
		5280343	quercetin	槲皮素	侧柏叶	-23.881 2
PSCA	7VZG	5757	estradiol	雌二醇	苦杏仁	5.203 7
		5280443	apigenin	芹菜素	洋甘菊	-25.196 4
		5281672	myricetin	杨梅素	侧柏叶	-38.086 3
		5280863	kaempferol	山柰酚	艾叶	-37.653 8
FBP2	4HE2	311	citric acid	柠檬酸	枳实	-46.132 0
		445154	resveratrol	白藜芦醇	虎杖	-26.305 0

1 kcal = 4.2 kJ.

3.7 中药组方药效验证

预测得到胃“炎-癌”转化特征基因以及中药组方, 为了确保结果的可靠性, 采用 MNNG 诱导 GES-1 细胞恶性转化模型及 RT-PCR 法进行验证。查阅《中国药典》2020 年版及《中华本草》确定各药味

日生药量, 并以日最大生药量姜黄 (10 g)-侧柏叶 (12 g)-草豆蔻 (6 g)-艾叶 (9 g)-枳实 (10 g) = 1 : 1 : 1 : 1 : 1 称取饮片, 按照“2.7.1”项下方法煎煮制备供试样品, 干膏收率为 14.89%。MTT 法检测得到 ZYZF 最大无毒剂量为 450 μg/mL。与正

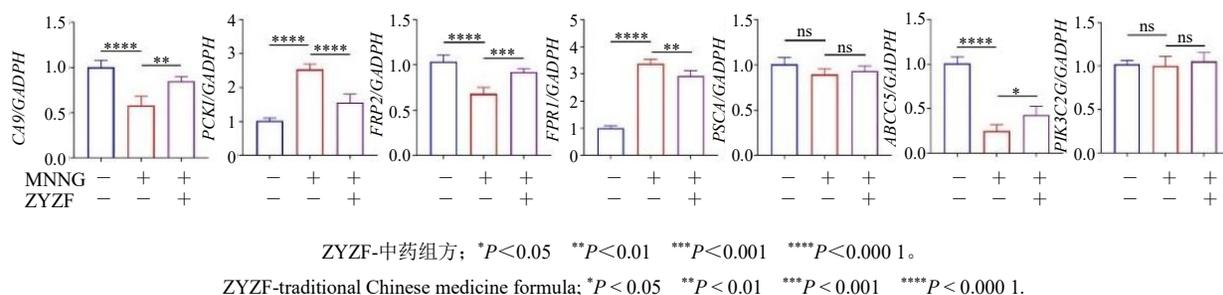


图 10 特征基因及中药组方验证

Fig. 10 Verification of characteristic genes and traditional Chinese medicine formulae

上调基因。GO 生物功能富集分析显示, DEGs 主要参与免疫细胞迁移的迁移和趋化性、炎症等过程。肿瘤细胞通过多种机制逃避宿主免疫反应, 如通过免疫抑制检查点如程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 和细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 介导的共抑制信号通路在肿瘤诱导的免疫抑制中发挥重要作用。PD-1 在 T、B 细胞及髓系细胞表面表达, 其与配体 PD-L1 结合后激活免疫抑制通路, 从而形成免疫逃逸^[20]。免疫浸润分析提示在胃炎和胃癌患者组织中浆细胞、CD8⁺T 细胞、滤泡辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞等多种免疫细胞含量存在显著性差异, 进一步表明早期干预免疫细胞丰度有潜在价值。

KEGG 通路富集分析显示 DEGs 主要参与代谢途径、氮代谢、细胞黏附分子、紧密连接、糖酵解、甘油磷脂代谢等通路调节。研究表明, 胃癌患者常发生能量代谢异常, 糖脂代谢失衡也被认为是胃癌的独立危险因素^[21], 癌细胞通过有氧糖酵解途径促进肿瘤的生长、转移、凋亡等过程, 靶向糖酵解途径可能成为癌症治疗的新策略^[22]。细胞黏附是肿瘤侵袭转移过程中的重要环节, 细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 是介导该过程的重要细胞活性分子, 不仅参与机体免疫过程及炎症反应, 而且还通过与其相应配体的结合, 介导癌细胞与不同细胞、基质的黏附, 最终使癌细胞逃避免疫监视, 利于侵袭转移^[23], 目前上皮细胞黏附分子已被用作胃癌嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法 (chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T) 治疗的靶点。

采用 2 种机器学习筛选“炎-癌”转换过程中特征基因, 三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 是转运蛋白家

族一类跨膜蛋白, 其主要功能是利用 ATP 水解产生的能量将与其结合的底物转出质膜, 其中 ABCC5 可影响细胞中药物外运, 导致细胞产生耐药性, 因而也被称为多药耐药蛋白^[24]。He 等^[25]研究表明, 环状 RNA-0007031 (circ_0007031) 通过竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 机制靶向作用 miR-133b/ABCC5 轴, 促进癌细胞的恶性行为, 诱导癌细胞对 5-氟尿嘧啶的耐药性。Yu 等^[26]使用来自组织样本的微阵列和 RNA 测序数据最终筛选得 lnc-ABCC5-2: 1 等可用于区分胃癌患者并且还可用于预测胃癌患者的预后。肿瘤细胞与正常细胞相比, 其糖代谢模式上发生了重大改变, 在有氧充足的条件下, 正常细胞通过氧化磷酸化进行葡萄糖代谢, 而肿瘤细胞主要通过糖酵解方式进行供能。FBP2 是糖异生过程中的关键酶, 它可以果糖-1,6-双磷酸水解为 6-磷酸果糖和无机磷, 多因素生存分析显示 FBP2 低表达是胃癌预后的独立危险因素之一, 细胞及动物实验证明 FBP2 与细胞生长速度、裸鼠体内成瘤能力、乳酸及 ATP 代谢、ROS 生成等密切相关, 通过对胃癌细胞增殖、凋亡等过程调控, 影响肿瘤生长^[27]。也有研究指出胃癌组织中 FBP2 低表达与胃癌患者生存不良相关 ($P=0.019$), 在胃癌细胞中 FBP2 的异位表达激活腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) 信号传导, 抑制蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) -哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路, 抑制葡萄糖代谢、增强凋亡并减少细胞增殖, FBP2 负调控细胞生长, 低表达有利于胃癌发生^[28]。磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PIK3) 家族包括 I、II、III 型, PIK3C2G 属于 II 型 PIK3 基因, 参与调节细胞增殖、致癌性转化、细胞存活、细胞迁移和细胞内蛋白质运输等细胞信号传导途

径。在胆道癌、肠癌和皮肤癌等癌症中观察到错义突变、无义突变、沉默突变以及移码缺失和插入。PIK3C2G 在所有癌症中突变概率为 3%，其中肺癌、皮肤黑色素瘤、结肠腺癌、子宫内膜样腺癌和前列腺腺癌发生率最高。目前 PIK3C2G 在胃癌中的研究鲜有报道，其同家族 PIK3CA、PI3KCB、PI3KCD 等报道较多^[29]，本研究发现 PIK3C2G 显著下调与肿瘤抑制作用相关^[30]。PSCA 为细胞表面抗原，与标记早期造血干细胞的细胞表面蛋白相似，参与各种细胞功能，如信号传导、细胞与细胞间黏附等，也有研究报道 PSCA 基因多态性与弥漫型胃癌易感性相关，其作用机制可能为参与调节胃上皮细胞组成^[31]。体外 MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] 细胞增殖实验和克隆形成实验以及体内裸鼠皮下肿瘤发生实验均证明 PSCA 基因的敲除可以提高胃癌细胞的增殖能力^[32]。抗 PSCA CAR-T 细胞在 2 种不同的异种移植胃癌小鼠模型实验也证实出现上调的激活标志物，并以抗原依赖性方式增加与 T 细胞细胞毒性相关的细胞因子产生谱。此外，抗 PSCA CAR-T 细胞在体外表现出强大的抗肿瘤细胞毒性^[33]。秦思远等^[34]通过 Meta 分析显示 PSCA 基因 rs2976392 多态位点与中国人胃癌发病风险升高有关，且以纯合 AA 基因型汉族人群的胃癌发病风险最高。PCK1 不仅为糖异生限速酶，也参与甘油合成、丝氨酸合成、氨基酸代谢等代谢过程调节，胃癌组织中 PCK1 的高表达和较差的预后相关，并且是患者的独立预后因素。PCK1 在胃癌进展中通过丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase, MAPK）/细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）通路介导上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition, EMT）的发生进而促进了胃癌的增殖、迁移、侵袭^[35-37]。CA9 与酸碱平衡以及二氧化碳和碳酸氢盐的转运有关，调节细胞内和细胞外 pH 值平衡，与缺氧和酸性肿瘤微环境形成相关。细胞外微环境（缺氧和 pH 值）的影响已被认为是癌症进展的一个关键标志。此外，CA9 通过降解细胞外基质和激活基质金属蛋白酶来酸化胞外环境，从而促进癌细胞的转移。CA9 作为关键的缺氧诱导标记物，在极少健康组织中表达，而在绝大多数缺氧实体肿瘤细胞表面特异性超量表达，因此 CA9 高表达也作为实体瘤的不良预后标志物，CA9 表达增加可

促进胃癌细胞增殖、侵袭和浸润^[38-39]。FPR1 高表达与晚期肿瘤阶段和较差的总生存率相关，其次与 FPR1 活性降低相关的 FPR1 多态性与人类胃癌风险增加有关。长期的炎症是包括癌症在内的各种疾病的发病机制的基础，而慢性炎症的发生不仅与炎症物质长期存在相关，也与降解路径不畅相关。FPR1 可识别外源性和内源性信号，并触发炎症和免疫应答，通过促进炎症消除路径抑制其炎症/血管生成，进而抑制胃癌进展^[40-41]。综上，特征基因与胃癌形成过程的机制密切相关，具有作为早期干预“炎-癌”进展的靶标的潜力。

细胞外基质、免疫细胞、炎症因子等多途径参与“炎-癌”转化过程，目前现代医学针对“炎-癌”转化尚无有效干预手段，而中医药在慢性病领域治疗早已证实其优越性。基于特征基因预测及分子对接得到姜黄素、红景天苷、杨梅素、槲皮素、香豆素、查耳酮、芹菜素、柠檬酸、山柰酚、白藜芦醇等物质为潜在活性物质基础，根据靶点蛋白与化合物结合活性强度筛选最佳活性成分及相关中药，最终组方为姜黄、侧柏叶、草豆蔻、艾叶、枳实。现代药理学研究显示，该组方药味有抗炎、抗感染、抗氧化、抗肿瘤、抗纤维化、调节免疫、调节代谢紊乱等药理作用。MNNG 诱导 GES-1 细胞恶性转化模型实验中 CA9、FBP2、ABCC5、PCK1、FPR1 表达得到了验证，准确率为 71.4%，表明研究用的方法筛选所得特征基因有一定的准确性。此外，中药组方对 GES-1 细胞特征基因 CA9、FBP2、ABCC5、PCK1、FPR1 表达有显著调节作用，筛选所得中药组方有潜在临床价值。

5 结论

本研究可为胃“炎-癌”转化高风险者早期发现、早期干预的中医药治疗提供依据，然而本研究仍存在一些局限。首先，尽管本研究已经对几个数据集进行了批量校正，但受限于不同平台，系统误差可能依旧存在；其次，本研究采用机器学习筛选特征基因并进行验证芯片组、GES-1 体外实验验证，但却缺乏体内实验验证；最后，靶点-成分-药味预测时，某些成分文献报道对靶点具有调节作用，然而分子对接时其结合活性不佳，在组方筛选中未纳入；组方中各药味均参考《中国药典》日最大生药量而未进行调整。后续研究中可扩展筛选各药味用量，构建“炎-癌”转化动物模型并验证特征基因表达及中药组合有效性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家消化系疾病临床医学研究中心 (上海), 国家消化道早癌防治中心联盟 (GECA), 中华医学会消化病学分会幽门螺杆菌学组, 等. 中国胃黏膜癌前状态及病变的处理策略专家共识 (2020) [J]. 中华消化内镜杂志, 2020, 37(11): 769-780.
- [2] Zhou Y J, Xia L Z, Liu Q, *et al.* Induction of pro-inflammatory response via activated macrophage-mediated NF- κ B and STAT3 pathways in gastric cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1399-1410.
- [3] Kim D Y, Cha S T, Ahn D H, *et al.* STAT3 expression in gastric cancer indicates a poor prognosis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(4): 646-651.
- [4] Pan Y M, Wang C G, Zhu M, *et al.* STAT3 signaling drives EZH2 transcriptional activation and mediates poor prognosis in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 79.
- [5] Jaroenlapnopparat A, Bhatia K, Coban S. Inflammation and gastric cancer [J]. *Diseases*, 2022, 10(3): 35.
- [6] Sokolova O, Naumann M. NF- κ B signaling in gastric cancer [J]. *Toxins*, 2017, 9(4): 119.
- [7] Chaithongyot S, Jantaree P, Sokolova O, *et al.* NF- κ B in gastric cancer development and therapy [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(8): 870.
- [8] Soutto M, Chen Z, Bhat A A, *et al.* Activation of STAT3 signaling is mediated by TFF1 silencing in gastric neoplasia [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3039.
- [9] Zhang H, Liu L, Liu J B, *et al.* Roles of tumor-associated macrophages in anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy for solid cancers [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 58.
- [10] Habanjar O, Bingula R, Decombat C, *et al.* Crosstalk of inflammatory cytokines within the breast tumor microenvironment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 4002.
- [11] Mantsounga C S, Lee C, Neverson J, *et al.* Macrophage IL-1 β promotes arteriogenesis by autocrine STAT3- and NF- κ B-mediated transcription of pro-angiogenic VEGF-A [J]. *Cell Rep*, 2022, 38(5): 110309.
- [12] 张凡忠, 相长君, 张骊驊. 进化与大数据导向生物信息学在天然产物研究中的发展及应用 [J]. 合成生物学, 2023, 4(4): 629.
- [13] 杜也, 米热阿依·阿布都热孜克, 左冉, 等. 基于LASSO 回归筛选影响肺腺癌患者预后的糖酵解相关基因 [J]. 中国肿瘤临床, 2023, 50(1): 16-21.
- [14] Jiang Y C, Wang Y, Chen S, *et al.* Screening of biomarkers in liver tissue after bariatric surgery based on WGCNA and SVM-RFE algorithms [J]. *Dis Markers*, 2023, 2023: 2970429.
- [15] Li B, Gatsonis C, Dahabreh I J, *et al.* Estimating the area under the ROC curve when transporting a prediction model to a target population [J]. *Biometrics*, 2023, 79(3): 2382-2393.
- [16] Chen B B, Khodadoust M S, Liu C L, *et al.* Profiling tumor infiltrating immune cells with CIBERSORT [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1711: 243-259.
- [17] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 胃癌诊疗指南(2022年版) [J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(9): 1137-1164.
- [18] 肖祥, 吴宣谕. 胰腺癌“炎-癌”转化关键基因筛选及干预中药的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4795-4806.
- [19] Nigam M, Mishra A P, Deb V K, *et al.* Evaluation of the association of chronic inflammation and cancer: Insights and implications [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164: 115015.
- [20] Sun Y T, Li G X. Ferroptosis and chronic gastritis and gastric cancer [J]. *World Chin J Dig*, 2022, 30(19): 859-864.
- [21] 姜可伟, 武子镇. 胃癌免疫治疗研究现状及进展 [J]. 中华普通外科杂志, 2023, 38(4): 245-248.
- [22] 张婷, 崔戈, 冯文明, 等. 胃癌患者糖脂代谢指标与临床病理学特征的相关性分析 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96(32): 3.
- [23] 牟时斌, 高峰. 胃癌中细胞间黏附分子1的表达及其临床意义 [J]. 临床荟萃, 2015, 30(2): 206-209.
- [24] 陈霁晖, 张健, 林志燕, 等. 转运体 ABCC4 和 ABCC5 介导的肿瘤多药耐药研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(19): 3761-3765.
- [25] He X W, Ma J, Zhang M M, *et al.* Circ_0007031 enhances tumor progression and promotes 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer through regulating miR-133b/ABCC5 axis [J]. *Cancer Biomark*, 2020, 29(4): 531-542.
- [26] Yu Z L, Rong Z Y, Sheng J X, *et al.* Aberrant non-coding RNA expressed in gastric cancer and its diagnostic value [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 606764.
- [27] 李鹤. 胃癌中糖代谢酶 FBP2 异常表达的生物学作用与机制 [A] // 第8届全国胃癌学术会议暨首届阳光长城肿瘤学术会议论文集 [C]. 北京: 中国抗癌协会, 2013: 94-96.
- [28] Consortium A P G. AACR project GENIE: Powering precision medicine through an international consortium [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(8): 818-831.
- [29] Sexton R E, Hallak M N A, Uddin M H, *et al.* Gastric cancer heterogeneity and clinical outcomes [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2020, 19: 1533033820935477.

- [30] Cui W L, Cai Y, Wang W G, *et al.* Frequent copy number variations of PI3K/AKT pathway and aberrant protein expressions of PI3K subunits are associated with inferior survival in diffuse large B cell lymphoma [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 10.
- [31] 赵久达, 耿排力, 赵君慧, 等. 中国藏族 PSCA 基因 rs2294008 多态性与胃癌遗传易感性的关系 [J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(5): 418-421.
- [32] Xu L P, Qiu H B, Yuan S Q, *et al.* Downregulation of PSCA promotes gastric cancer proliferation and is related to poor prognosis [J]. *J Cancer*, 2020, 11(9): 2708-2715.
- [33] Wu D, Lv J, Zhao R C, *et al.* PSCA is a target of chimeric antigen receptor T cells in gastric cancer [J]. *Biomark Res*, 2020, 8: 3.
- [34] 秦思远, 李成浩. 中国人群 PSCA 基因 rs2976392 多态位点与胃癌易感性 Meta 分析 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(4): 457-462.
- [35] Xiang J, Wang K, Tang N. PCK1 dysregulation in cancer: Metabolic reprogramming, oncogenic activation, and therapeutic opportunities [J]. *Genes Dis*, 2023, 10(1): 101-112.
- [36] 沈昕草. 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 1 (PCK1) 在胃癌中的表达及作用机制 [D]. 镇江: 江苏大学, 2022.
- [37] 赵术涛. PCK1 在胃癌进展中的作用及分子机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [38] Chen J, Röcken C, Hoffmann J, *et al.* Expression of carbonic anhydrase 9 at the invasion front of gastric cancers [J]. *Gut*, 2005, 54(7): 920-927.
- [39] Nakamura J, Kitajima Y, Kai K, *et al.* Expression of hypoxic marker CA IX is regulated by site-specific DNA methylation and is associated with the histology of gastric cancer [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(2): 515-524.
- [40] Prevete N, Liotti F, Illiano A, *et al.* Formyl peptide receptor 1 suppresses gastric cancer angiogenesis and growth by exploiting inflammation resolution pathways [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(4): e1293213.
- [41] Prevete N, Liotti F, Visciano C, *et al.* The formyl peptide receptor 1 exerts a tumor suppressor function in human gastric cancer by inhibiting angiogenesis [J]. *Oncogene*, 2015, 34(29): 3826-3838.

[责任编辑 潘明佳]