

# 胃癌患者的 CD1D 基因甲基化异化及其临床意义

宋 健 袁桂红 陈昭伟 黎 萍 王发保 胡飞翔 张荣琳 王俞雅

**【摘要】** 目的 研究 CD1D 基因在胃癌组织及胃液中的甲基化异化情况,探讨其对胃癌诊断及患者预后评估的价值。方法 选择 2017 年 1 月至 2018 年 8 月海南省肿瘤医院内镜中心诊治的 77 例胃癌及慢性胃炎患者。胃癌组 37 例,包含早期胃癌 15 例和进展期胃癌 22 例。胃炎患者 40 例,分为慢性非萎缩性胃炎组(20 例)和慢性萎缩性胃炎组(20 例)。所有研究对象在行胃镜检查时收集胃液并取病理组织标本[胃癌患者取胃癌组织及癌旁组织(距离肿瘤边缘 >5 cm)]。通过甲基化特异性 PCR(MSP)法检测各组的 CD1D 基因甲基化水平,并分析 CD1D 基因甲基化异化与胃癌患者临床病理特征的关系。结果 胃癌组的胃癌组织中 CD1D 基因甲基化异化率为 86.5%,与慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组及癌旁组(25.0%、35.0%、56.8%)相比,差异均有统计学意义( $P$  均 < 0.01)。胃癌患者胃液中 CD1D 基因甲基化异化率为 54.1%,与慢性非萎缩性胃炎组及慢性萎缩性胃炎组(0、5.0%)相比,差异均有统计学意义( $P$  均 < 0.01)。早期胃癌和进展期胃癌患者的胃癌组织中 CD1D 基因甲基化异化率分别为 66.7%、100.0%,两者胃液中 CD1D 基因甲基化异化率分别为 33.3%、68.2%,差异均有统计学意义( $P$  均 < 0.05)。CD1D 基因甲基化异化与胃癌患者的临床分期显著相关( $P$  < 0.05)。结论 CD1D 基因甲基化异化在胃癌早期即有发生,可作为潜在的胃癌分子诊断靶标及预后评估指标。胃液可用作 CD1D 基因甲基化异化检测标本。

**【关键词】** CD1D 基因;甲基化;胃癌;胃液;诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2021.04.010

**Aberrant methylation of CD1D gene in patients with gastric cancer and its clinical significance** SONG Jian, Department of Endoscopy Center, Southern University of Science and Technology Hospital, Shenzhen 518000, China; YUAN Guihong, CHEN Zhaowei, LI Ping, ZHANG Ronglin, WANG Yuya, Department of Endoscopy Center, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, China; WANG Fabao, Department of Pathology, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, China; HU Feixiang, Department of Gastrointestinal Surgery, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, China

**【Abstract】 Objective** This paper intends to study the aberrant methylation of CD1D gene in gastric cancer tissue and gastric juice, and to explore its value in the diagnosis and prognosis of gastric cancer. **Methods** Seventy-seven patients with gastric cancer and chronic gastritis who were diagnosed and treated in the Endoscopy Center of Hainan Cancer Hospital from January 2017 to August 2018 were selected. There were 37 cases in the gastric cancer group, including 15 cases of early gastric cancer and 22 cases of advanced gastric cancer. Forty patients with gastritis were divided into the chronic non-atrophic gastritis group (20 cases) and the chronic atrophic gastritis group (20 cases). The gastric juice and pathological tissue specimens of all subjects were collected during gastroscopy (Patients with gastric cancer need to take gastric cancer tissue and adjacent tissues (>5 cm from the edge of the tumor)). The

基金项目:海南省社会发展重点研发计划及海南省重大科技计划项目(ZDYF2017118;ZDKJ202005)

作者单位:518000, 广东深圳,南方科技大学第三附属医院消化内镜中心(宋健);570123 海南海口,海南省肿瘤医院内镜中心(袁桂红、陈昭伟、黎萍、张荣琳、王俞雅),病理科(王发保),胃肠外科(胡飞翔)

methylation-specific PCR (MSP) method was used to detect the levels of *CD1D* gene methylation in each group, and the relationship between *CD1D* gene aberrant methylation and clinicopathological characteristics of gastric cancer patients was analyzed. **Results** The *CD1D* gene aberrant methylation rate in the gastric cancer tissue of the gastric cancer group is 86.5%, which was significantly different from the chronic non-atrophic gastritis group, the chronic atrophic gastritis group, and the paracancerous group (25.0%, 35.0%, 56.8%) (all  $P < 0.01$ ). The *CD1D* gene aberrant methylation rate in gastric juice of patients with gastric cancer is 54.1%, which is significantly different from the chronic non-atrophic gastritis group and the chronic atrophic gastritis group (0, 5.0%) (all  $P < 0.01$ ). The *CD1D* gene aberrant methylation rates in the gastric cancer tissues of patients with early gastric cancer and advanced gastric cancer are 66.7% and 100.0%, respectively, and the *CD1D* gene aberrant methylation rates in gastric juice of the two are 33.3% and 68.2%, respectively, with statistically significant differences (all  $P < 0.05$ ). The *CD1D* gene aberrant methylation is significantly related to the clinical stage of gastric cancer patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The *CD1D* gene aberrant methylation occurs in the early stage of gastric cancer, and can be used as a potential molecular diagnostic target and prognostic evaluation index for gastric cancer. Gastric juice can be used as a specimen for *CD1D* gene methylation detection.

**【Key words】** *CD1D* gene; Methylation; Gastric carcinoma; Gastric juice; Diagnosis

胃癌在中国恶性肿瘤发病率中居第 2 位,病死率居第 1 位<sup>[1]</sup>。目前尚无有效的早期诊断方法,诊断金标准仍是胃镜检查,由于胃镜检查的依从性、可行性及社会经济效益比不理想,故不能作为胃癌筛查及早期诊断的有效方法<sup>[2]</sup>。目前亟需寻找到新的无创性且敏感度和特异度较高的胃癌诊断方法。近年来肿瘤特异的 DNA 甲基化分子靶标成为研究的热点,美国 FDA 在 2014 年已批准结肠癌特异性的甲基化诊断试剂盒应用于临床,取得了较好的诊断效果<sup>[3]</sup>。然而,胃癌特异性的甲基化分子靶标方面的研究不多,尚未发现可用于临床的甲基化分子靶标<sup>[4-5]</sup>,近年来研究通过甲基化基因芯片筛查发现,*CD1D* 基因在胃癌患者中呈高甲基化状态<sup>[6]</sup>,但其能否作为胃癌诊断的分子靶标尚未见文献报道。本文针对胃癌、慢性非萎缩性胃炎及慢性萎缩性胃炎患者的病理组织及胃液中 *CD1D* 基因甲基化水平进行研究,旨在探讨 *CD1D* 基因甲基化异化作为胃癌诊断分子靶标的可能性,以及胃液能否作为其检测标本,以期为胃癌的早期诊断及预后评估提供策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 病例入组及标本取材 本研究选择 2017 年 1 月至 2018 年 8 月海南省肿瘤医院内镜中心诊治的 77 例胃癌及慢性胃炎患者,其中男性 40 例,女性 37 例,年龄 35~75 岁,平均年龄(56.28±13.85)岁。胃癌组 37 例,包含早期胃癌 15 例和进展期胃癌 22 例。慢性胃炎患者 40 例,分为慢性非萎缩性胃炎组(20 例)和慢性萎缩性胃炎组(20 例)。胃癌的诊断标准参照《中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性胃癌诊疗指南(2017. V1)》<sup>[7]</sup>,胃炎的诊断标准参照《中国慢性胃炎共识意见(2017 年,上海)》<sup>[8]</sup>。所有患者在入组前均未接受放射治疗、化学治疗及生物免疫治疗,并排除患有其他系统肿瘤、其他胃肠疾病及其他器官衰竭的患者。入组患者胃镜活检组织检查标本及胃液标本的留取及保存参照既往文献<sup>[9]</sup>,胃癌患者取胃癌组织及癌旁组织标本(距离肿瘤边缘>5 cm)。本研究经医院医学伦理委员会批准,患者均知情同意。患者的一般资料见表 1,各组年龄、性别之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 患者的一般情况比较

项目	慢性非萎缩性胃炎	慢性萎缩性胃炎	早期胃癌	进展期胃癌
男性/例	10	10	8	12
女性/例	10	10	7	10
平均年龄/岁	55.2±13.5	57.7±14.7	56.5±13.6	55.7±14.6

1.1.2 仪器和试剂 LG16-WA 型离心机(北京京立离心机有限公司), DYY-6C 型凝胶电泳仪(北京六一仪器厂), MG96+ 型 PCR 扩增仪(杭州郎基科学仪器有限公司), SC805 型凝胶成像仪(上海山富科学仪器有限公司)。DNA 甲基化亚硫酸盐修饰试剂盒: EZ DNA Methylation-Gold™ Kit(美国 Zymo Research 公司, Catalog Nos. D5005); DNA 甲基化 PCR 扩增试剂盒: ZymoTaq PreMix(美国 Zymo Research 公司, Catalog Nos. E2003); 快速 DNA 提取试剂盒: Quick-DNA™ Universal Kit(美国 Zymo Research 公司, Catalog Nos. D4068)。

1.2 方法

1.2.1 各组胃组织及胃液 DNA 的提取 将各组胃活组织样本保存在 DNA 保护剂中, 提取 DNA。将各组胃液于 4 °C 离心 10 min(1 000 r/min), 取上清液再次于 4 °C 离心 20 min(10 000 r/min), 留取沉淀物用于 DNA 抽提。采用快速 DNA 提取试剂盒, 操作步骤严格按照说明书进行。DNA 纯度分析采用核酸蛋白分析仪, 采用凝胶电泳进行质量检测。

1.2.2 DNA 的亚硫酸盐修饰 将各组胃组织及胃液 DNA 进行亚硫酸盐修饰, 采用 DNA 甲基化亚硫酸盐修饰试剂盒, 操作步骤严格按照说明书进行。针对修饰前后的序列差异, 采用 MethPrimer 软件设计甲基化及非甲基化 PCR 扩增引物, 引物序列见表 2。

1.2.3 甲基化特异性 PCR 将修饰后的各组 DNA 进行甲基化特异性 PCR(MSP) 扩增。PCR 反应采用 DNA 甲基化 PCR 扩增试剂盒, 反应体系为 25 μL, 反应条件为: 95 °C, 预变性 5 min, 循环体系 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共

进行 40 个循环, 之后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。采用双蒸水作为空白对照。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测。

表 2 引物序列

引物名称	序列
CD1D-M	正向: 5'-GAAGTGAGCGGCGCGTTAGGA-3'
	反向: 5'-GCGGCGGTAGCGGCGTTTCGCGAG-3'
CD1D-U	正向: 5'-GAAGTGAGTGGTGGTGTAGGA-3'
	反向: 5'-GTGGTGTGTAGTGGTGTTTTGTGA-3'

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 ± 标准差表示, 采用 *t* 检验; 计数资料以例(%)表示, 采用卡方检验、Mann-Whitney U 检验及 Fisher's 精确检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组病理组织中 CD1D 基因甲基化水平比较

各组病理组织中 CD1D 基因 MSP 电泳结果见图 1。慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组、胃癌组及癌旁组 CD1D 基因甲基化异化率分别为 25.0%(5/20)、35.0%(7/20)、86.5%(32/37)、56.8%(21/37)。胃癌组的病理组织中 CD1D 基因甲基化异化率与慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组、癌旁组之间的差异有统计学意义 (*P* < 0.01), 慢性非萎缩性胃炎组与萎缩性胃炎组之间差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。早期胃癌与进展期胃癌患者的胃癌组织中 CD1D 基因甲基化异化率分别为 66.7%(10/15)、100.0%(22/22), 两者之间的差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。

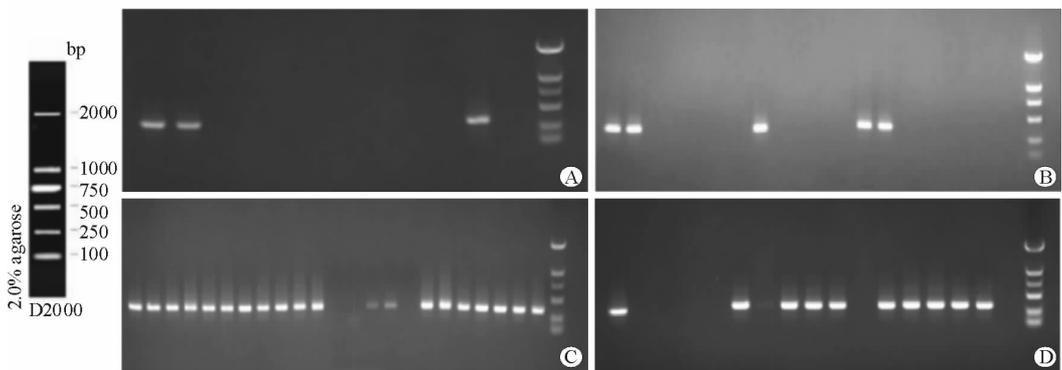


图 1 各组胃组织中 CD1D 基因 MSP 电泳结果 A 慢性非萎缩性胃炎组 B 慢性萎缩性胃炎组 C 胃癌组 D 癌旁组

2.2 各组胃液中 CD1D 基因甲基化水平比较

各组胃液中 CD1D 基因 MSP 电泳结果见图 2。

慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组、胃癌组的胃液 DNA 中 CD1D 基因甲基化异化率分别为

0(0/20)、5.0%(1/20)、54.1%(20/37)，胃癌组较前两者升高，差异有统计学意义( $P < 0.01$ )，慢性非萎缩性胃炎组与慢性萎缩性胃炎组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。早期胃癌与进展期胃癌患者

的胃液中 *CD1D* 基因甲基化异化率分别为 33.3%(5/15)、68.2%(15/22)，两者之间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

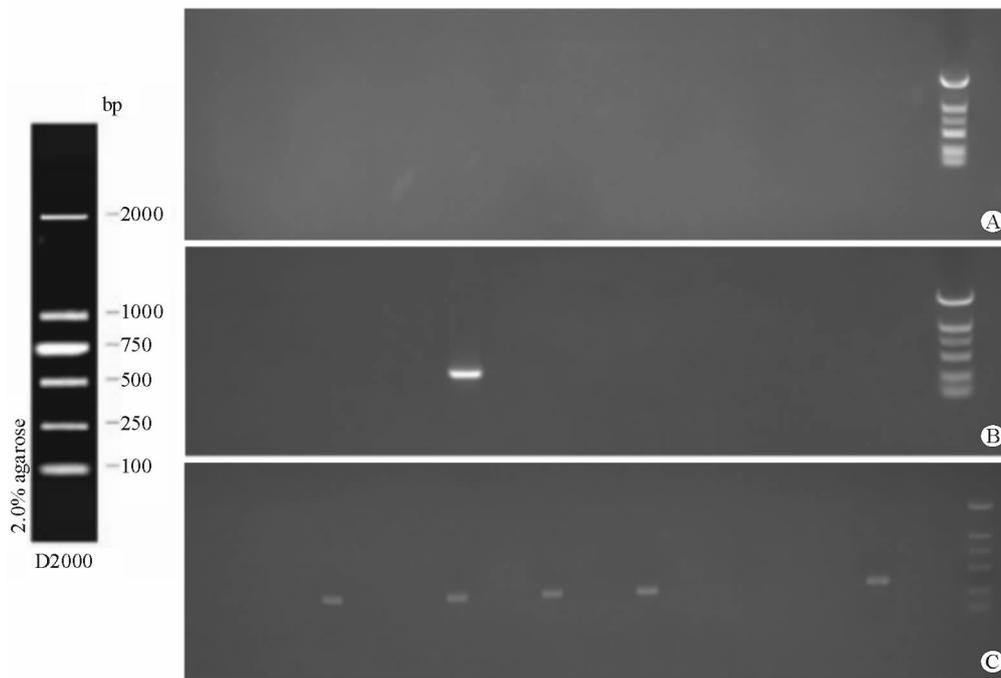


图 2 各组胃液中 *CD1D* 基因 MSP 电泳结果 A 慢性非萎缩性胃炎组 B 慢性萎缩性胃炎组 C 胃癌组

### 2.3 胃癌组织中 *CD1D* 基因甲基化异化与临床病理特征的关系

相关性分析显示，胃癌患者的胃癌组织中

*CD1D* 基因甲基化异化与胃癌临床分期显著相关 ( $P < 0.05$ )，与胃癌患者的年龄、性别、肿瘤发生部位及淋巴结转移无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 胃癌组织中 *CD1D* 基因甲基化异化与临床病理特征的关系

项目	例数 ( $n = 37$ )	<i>CD1D</i> 基因		P 值
		高甲基化 ( $n = 32$ )	非甲基化 ( $n = 5$ )	
平均年龄/岁	56.3 ± 14.1	57.5 ± 13.7	52.6 ± 13.6	0.895
性别/例(%)				
男	20(54.1)	17(53.1)	3(60.0)	0.675
女	17(45.9)	15(46.9)	2(40.0)	
肿瘤分期				0.015
早期胃癌	15(40.5)	10(31.3)	5(100.0)	
进展期胃癌	22(59.5)	22(68.7)	0	
肿瘤发生部位				1.000
胃窦	20(54.1)	17(53.1)	3(60.0)	
胃体	17(45.9)	15(46.9)	2(40.0)	
淋巴结转移				0.079
有	27(73.0)	23(71.9)	4(80.0)	
无	10(27.0)	9(28.1)	1(20.0)	

### 3 讨论

DNA 甲基化异化在肿瘤的发生、发展中起着重要作用,目前在部分肿瘤的诊断及预后评估中具有较高的临床价值<sup>[10]</sup>。DNA 甲基化在胃癌中的相关研究较多<sup>[11-14]</sup>,但目前尚未见明确可靠的甲基化分子靶标用于胃癌诊断的文献报道。*CD1D* 基因是 CD1 家族中的成员,在 B 细胞亚群、胸腺细胞、树突状细胞亚群中表达丰富,CD1 分子是独立于主要组织相容性复合体(MHC)分子之外的一类特殊的抗原递呈分子<sup>[15]</sup>,它递呈的抗原主要为脂质分子,供 NKT 细胞识别,在免疫调节、NKT 细胞发育、感染性疾病、自身免疫性疾病及肿瘤的发生、发展中起着重要作用<sup>[16-20]</sup>。2018 年 Anderson 等<sup>[6]</sup>的研究通过两个中心全基因组甲基化基因芯片筛查及胃癌蜡块组织验证,发现 *CD1D* 基因在胃癌中呈高甲基化状态,两个中心诊断胃癌的 AUC 分别为 0.94 (95% CI: 0.88~0.99)、0.91 (95% CI: 0.84~0.98),敏感度分别为 89% (95% CI: 0.73~0.97)、86% (95% CI: 0.73~0.94)。但因其验证的病理组织样本量较小,两个中心的胃癌蜡块组织分别为 35 例、36 例,未在真实病例中进行研究,故该研究结果仍需进一步研究证实。此外,*CD1D* 基因在食管癌中的甲基化异化情况尚未见文献报道<sup>[21]</sup>,其是否具有胃癌特异性仍需进一步研究明确。

胃液中含有大量胃黏膜脱落细胞及其 DNA,易于获取,是进行胃癌分子诊断的良好标本,通过胃管法获取胃液进行胃癌分子靶标的检测,对于人群的胃癌筛查具有更高的依从性和社会经济效益比。2016 年 Yamamoto 等<sup>[22]</sup>的研究显示,胃液可用作胃癌甲基化异化分子靶标的检测标本。

本研究探讨了 *CD1D* 基因在胃癌患者的胃癌和癌旁组织,慢性非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎患者的病理组织,以及 3 类患者的胃液中的甲基化异化情况,并分析了 *CD1D* 基因甲基化异化与胃癌患者临床病理特征的关系。本研究结果表明,胃癌患者的胃癌组织及胃液 DNA 中 *CD1D* 基因启动子区均呈高甲基化状态,有较高的一致性,*CD1D* 基因甲基化异化在胃癌早期即有发生。在慢性非萎缩性和慢性萎缩性胃炎患者中有少量 *CD1D* 基因甲基化异化发生,两组均与胃癌组差异显著。在胃癌组织中 *CD1D* 基因甲基化异化率高达 86.5%,癌旁组织中的甲基化异化率也较高(56.8%),发生甲基化异化的机制尚不清

楚。本研究结果提示 *CD1D* 基因甲基化异化具有潜在的作为胃癌诊断的分子靶标的可能。*CD1D* 基因在萎缩性胃炎患者病理组织中的甲基化异化率为 35%,提示 *CD1D* 甲基化异化可能对胃癌的发生有一定的预警作用。本研究的相关性分析显示,胃癌患者胃癌组织中 *CD1D* 基因启动子区甲基化异化与肿瘤的分期相关,分期越晚则甲基化异化率越高,而与年龄、性别、肿瘤发生部位及淋巴结转移等无显著相关性。

综上所述,*CD1D* 基因在胃癌组织中呈高甲基化状态,并且在早癌胃癌中即有较高的甲基化异化率,检测胃液中 *CD1D* 基因甲基化异化情况有助于胃癌风险的预测及早期诊断,*CD1D* 基因甲基化异化具有潜在的成为胃癌诊断分子靶标的可能,但仍需进一步研究验证并建立特异性的高效检测方法。

### 参 考 文 献

- 1 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- 2 Miyamoto A, Kuriyama S, Nishino Y, et al. Lower risk of death from gastric cancer among participants of gastric cancer screening in Japan: a population-based cohort study [J]. Prev Med, 2007, 44(1): 12-19.
- 3 US Preventive Services Task Force, Bibbins-Domingo K, Grossman DC, et al. Screening for colorectal cancer: US preventive services task force recommendation statement [J]. JAMA, 2016, 315(23): 2564-2575.
- 4 Muhammad JS, Eladl MA, Khoder G. *Helicobacter pylori*-induced DNA methylation as an epigenetic modulator of gastric cancer: Recent outcomes and future direction [J]. Pathogens, 2019, 8(1): 23.
- 5 Saluja H, Karapetis CS, Pedersen SK, et al. The use of circulating tumor DNA for prognosis of gastrointestinal cancers [J]. Front Oncol, 2018, 8: 275.
- 6 Anderson BW, Suh YS, Choi B, et al. Detection of gastric cancer with novel methylated DNA markers: discovery, tissue validation, and pilot testing in plasma [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(22): 5724-5734.
- 7 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性胃癌诊疗指南(2017. V1) [M]. 人民卫生出版社, 2017: 1-83.
- 8 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年,上海) [J]. 中华消化杂志, 2017, 37(11): 721-738.
- 9 宋健, 黎萍, 袁桂红, 等. ELMO1 基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值 [J]. 世界华人消化杂志, 2019, 27(17): 1055-1061.

- relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(10): 1894-1899.
- 17 蒋丽琳, 肖南平, 杨兴平, 等. CTGF mRNA 在溃疡性结肠炎组织中的表达及与病情和预后的关系[J]. *国际消化病杂志*, 2020, 40(2): 125-129.
- 18 刘丽, 柳云恩. 溃疡性结肠炎患者血清 miR-15 表达水平与炎症反应状态及预后的关系[J]. *国际消化病杂志*, 2020, 40(1): 41-46.
- 19 Carrillo-Jimenez A, Deniz Ö, Niklison-Chirou MV, et al. TET2 regulates the neuroinflammatory response in microglia[J]. *Cell Rep*, 2019, 29(3): 697-713. e8.
- 20 Feng Y, Li X, Cassady K, et al. TET2 function in hematopoietic malignancies, immune regulation, and DNA repair[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 210.
- 21 王帆, 马敏星, 潘华勤, 等. 溃疡性结肠炎患者首次糖皮质激素治疗后 1 年内复发预测因子分析[J]. *临床消化病杂志*, 2014, 26(3): 142-145.
- 22 吴娜, 李多, 高会斌, 等. ATG16L1、Gal-9、IL-1 $\beta$ 、IL-33 在溃疡性结肠炎静息期和发病期的表达差异及临床意义[J]. *河北医科大学学报*, 2019, 40(9): 1013-1016.

(收稿日期:2020-12-10)

(本文编辑:周骏)

(上接第 276 页)

- 10 Constância V, Nunes SP, Henrique R, et al. DNA methylation-based testing in liquid biopsies as detection and prognostic biomarkers for the four major cancer types[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 624.
- 11 杜迎新. DNA 甲基化在胃癌中的研究进展[J]. *天津医科大学学报*, 2019, 25(2): 189-193.
- 12 Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, et al. Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36275.
- 13 高哈尔, 张阳, 周静, 等. p16 基因甲基化与胃黏膜异型增生恶性转化的关系[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(7): 431-436.
- 14 王崇宇. RUNX3 与 CHFR 基因甲基化提示胃癌癌前病变的研究[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(4): 1301-1306.
- 15 Rossjohn J, Pellicci DG, Patel O, et al. Recognition of CD1d-restricted antigens by natural killer T cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(12): 845-857.
- 16 Chang DH, Osman K, Connolly J, et al. Sustained expansion of NKT cells and antigen-specific T cells after injection of alpha-galactosyl-ceramide loaded mature dendritic cells in cancer patients[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(9): 1503-1517.
- 17 Macho Fernandez E, Chang J, Fontaine J, et al. Activation of invariant Natural Killer T lymphocytes in response to the  $\alpha$ -galactosylceramide analogue KRN7000 encapsulated in PLGA-based nanoparticles and microparticles[J]. *Int J Pharm*, 2012, 423(1): 45-54.
- 18 Kuylenstierna C, Snyder-Cappione JE, Loo CP, et al. NK cells and CD1d-restricted NKT cells respond in different ways with divergent kinetics to IL-2 treatment in primary HIV-1 infection [J]. *Scand J Immunol*, 2011, 73(2): 141-146.
- 19 Raghuraman G, Geng Y, Wang CR. IFN-beta-mediated up-regulation of CD1d in bacteria-infected APCs [J]. *J Immunol*, 2006, 177(11): 7841-7848.
- 20 师义, 王昆华, 刘为军, 等. CD1d 分子研究进展[J]. *广东医学*, 2012, 33(11): 1678-1680.
- 21 郑伟慧, 凌志强, 毛伟敏. 食管癌表观遗传调控机制研究进展[J]. *国际消化病杂志*, 2013, 33(1): 12-16.
- 22 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.

(收稿日期:2020-05-13)

(本文编辑:林磊)