DOI:10.16016/j.2097-0927.202408113

胃黏膜高级别上皮内瘤变组织的增强子重塑及其对增殖相关基因*CD24*表达的影响

薛 锐[1,2]，潘雨薇[1]，谭玉婷[1]，储召乐[3]，刘碧颖[3]，李先锋[3]，王 涛[3]，王 斌[1,3]，张 璇[4]，沈 艾[2] [1]重庆大学医学院，重庆；[2]重庆大学附属肿瘤医院肝胆胰肿瘤中心，重庆；[3]陆军特色医学中心(第三军医大学大坪医院)消化内科，消化系统肿瘤精准防治重庆市重点实验室，重庆；[4]重庆市中医院肿瘤科，重庆

［**摘要**］ **目的** 通过绘制胃黏膜高级别上皮内瘤变(high-grade intraepithelial neoplasia，HGIN)组织中组蛋白H3K27ac修饰标记的增强子图谱，探究表观调控对HGIN发生发展的影响。**方法** 收集2022年6月至2023年6月来自陆军特色医学中心消化内科的14例正常胃黏膜组织(Nor组)、31例胃黏膜高级别上皮内瘤变组织(HGIN组)和17例胃癌(gastric cancer，GC)组织(GC组)，利用染色质靶向捕获测序(cleavage under targets and tagmentation，CUT&Tag)技术捕获组蛋白H3K27ac修饰的增强子区域；联合多组学分析筛选HGIN组织特异的活性增强子及其潜在调控的基因；采用免疫组化染色观察目的基因在不同类型临床样本中的表达差异，并通过CRISPR-dCas9基因编辑技术沉默活性增强子，观察目的基因的表达水平，并验证潜在调控关系。**结果** 表观多组学测序数据质量较好，3组样本组间H3K27ac修饰的全基因组分布特征无显著差异，但H3K27ac增强子在HGIN、GC组织中发生明显重塑($P<0.05$)。联合转录组数据分析发现，增强子重塑可能上调HGIN组织增殖相关靶基因*CD24*表达；抑制增强子活性，则*CD24*表达水平显著降低($P<0.05$)。免疫组化结果显示，*CD24*表达与*Ki-67*呈正相关($P<0.001$)。**结论** H3K27ac标记的增强子重塑是HGIN的重要表观遗传学特征，H3K27ac标记的活性增强子上调*CD24*表达，可能促进HGIN增殖。

［**关键词**］ 胃癌；高级别上皮内瘤变；表观遗传；增强子；肿瘤增殖
［**中图法分类号**］ R394.3；R730.23；R735.2 ［**文献标志码**］ A

Remodeling of enhancers in high-grade epithelial dysplasia of gastric mucosa and its effect on expression of proliferation-related gene *CD24*

XUE Rui[1,2], PAN Yuwei[1], TAN Yuting[1], CHU Zhaole[3], LIU Biying[3], LI Xianfeng[3], WANG Tao[3], WANG Bin[1,3], ZHANG Xuan[4], SHEN Ai[2] [1]Medical College of Chongqing University, Chongqing, 400044; [2]Hepatobiliary and Pancreatic Tumor Center, Affiliated Cancer Hospital of Chongqing University, Chongqing; [3]Department of Gastroenterology, Chongqing Key Laboratory of Precise Prevention and Treatment of Digestive Malignancies, Army Medical Center of PLA/Daping Hospital of Third Military Medical University, Chongqing; [4]Department of Oncology, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing, China

［**Abstract**］ Objective To identify the enhancer profile marked by histone H3K27ac modification in high-grade intraepithelial neoplasia (HGIN) in order to reveal the novel regulatory mechanism of HGIN pathogensis. Methods Gastric tissue samples were collected from Department of Gastroenterology of Army Medical Center of PLA between June 2022 and June 2023, including 14 normal gastric tissues (Nor group), 31 HGIN tissues (HGIN group) and 17 gastric cancer tissues (GC group). Cleavage under targets and

［**基金项目**］ 国家自然科学基金优秀青年科学基金(81822032)；重庆市自然科学基金杰出青年基金(CSTC2019JCYJJQX0027)
［**通信作者**］ 沈 艾，E-mail：shenai200808@163.com
张 璇，E-mail：zhangxuan52210@126.com

2097-0927/Copyright © 2025，陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
引用格式：薛锐，潘雨薇，谭玉婷，等. 胃黏膜高级别上皮内瘤变组织的增强子重塑及其对增殖相关基因CD24表达的影响[J]. 陆军军医大学学报，2025，47(05)：426-434. DOI：10.16016/j.2097-0927.202408113.
Citation：XUE R，PAN Y W，TAN Y T，*et al*. Remodeling of enhancers in high-grade epithelial dysplasia of gastric mucosa and its effect on expression of proliferation-related gene *CD24*[J]. J Army Med Univ，2025，47(05)：426-434. DOI：10.16016/j.2097-0927.202408113.

tagmentation (CUT&Tag) technique was employed to capture enhancer regions modified by histone H3K27ac. Multi-omics analysis was performed to identify HGIN-specific active enhancers and their potentially regulated genes. Immunohistochemical profiling was performed to assess differential expression of the gene of interest across clinically stratified specimens, combined with CRISPR-dCas9-mediated ablation of active enhancers to monitor the gene of interest transcriptional dynamics and validate enhancer-mediated regulatory mechanisms. **Results** Epigenomic sequencing obtained the data with excellent quality, and indicated that obvious remodeling was observed in H3K27ac enhancers in HGIN and GC groups ($P<0.05$), though no significant difference in the genome-wide distribution of H3K27ac modification among the 3 groups. Combining transcriptome data revealed that enhancer remodeling may up-regulate the expression of the proliferation-related target gene, *CD24*, in the HGIN tissue; while, inhibiting enhancer activity can notably reduce *CD24* expression level ($P<0.05$). Immunohistochemical assay displayed a positive correlation between the expression levels of *CD24* and *Ki-67* ($P<0.001$). **Conclusion** The remodeling of H3K27ac enhancer represents a significant epigenetic feature of the transformation from normal condition to HGIN. Remodeling of H3K27ac enhancer up-regulates *CD24*, which may facilitate the abnormal proliferation of gastric epithelial cells.

[**Key words**] gastric cancer; high-grade intraepithelial neoplasia; epigenetics; enhancer; tumor proliferation

Supported by the National Natural Science Foundation for Excellent Young Scientists of China (81822032) and the Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholars of Chongqing (CSTC2019JCYJJQX0027). Corresponding author: SHEN Ai, E-mail: shenai200808@163.com; ZHANG Xuan, E-mail: zhangxuan52210@126.com

胃癌(gastric cancer,GC)是我国高发恶性肿瘤之一,是癌症相关死亡的第3大病因[1]。肠型胃癌是胃癌主要亚型,发生过程分为多个阶段,包括慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生(intestinal metaplasia,IM)、上皮内瘤变、胃癌等[2]。胃黏膜上皮内瘤变,即异型增生,是指胃黏膜内肿瘤性改变,细胞形态特征具有异型性。根据细胞形态异常程度,胃黏膜上皮内瘤变又可分为低级别上皮内瘤变(low-grade intraepithelial neoplasia,LGIN)和高级别上皮内瘤变(high-grade intraepithelial neoplasia,HGIN)。HGIN病理特征包括立方状的肿瘤细胞、核质比增高、有明显的嗜双色性核仁、多而显著的结构紊乱、细胞核上升至管腔侧且极性消失[3-4]。60%~81%的HGIN在4~48个月中位期内会进展为胃癌,临床将HGIN定义为早期胃癌[5-6]。

表观重塑是恶性肿瘤发生发展的重要特征。在胃癌发生早期病理阶段(即HGIN期),转录组明显异常但基因组突变负荷较低,提示表观遗传调控机制可能发挥重要作用[7]。表观遗传是指在基因的DNA序列没有发生改变的情况下,基因功能发生了可遗传的变化,包括多种调控方式,如DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA等[8]。其中,组蛋白修饰在表观调控过程中扮演重要角色,以组蛋白H3第27位赖氨酸乙酰化修饰(H3K27ac)为标记的增强子是其调控的重要方式之一[9-10]。增强子是一类位于基因组远端的顺式作用元件,增强子区域可结合谱系特异性转录因子、辅因子以及染色质重塑复合物,提高特定基因的启动子活性,上调基因转录水平,从而调控细胞命运、器官发育和疾病发生[11-12]。既往研究表明表观调控可能在进展期胃癌转录重塑中发挥关键作用,但H3K27ac修饰状态及增强子元件活性如何调控HGIN鲜少报道。

HGIN组织量少,传统染色质免疫共沉淀技术(chromatin immunoprecipitation assay, ChIP)所需样本量较大,难以实现少量样本检测。本研究采用具有低起始量、高信噪比等优势的染色质靶向捕获测序技术(cleavage under targets and tagmentation,CUT & Tag),检测HGIN全基因组H3K27ac修饰状态,并结合转录组测序系统绘制HGIN增强子重塑图谱,初步探讨HGIN增强子重塑对基因表达的影响,揭示GC发生发展的表观遗传新机制,为胃癌的早期筛查与治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 样本来源

本研究收集2022年6月至2023年6月来自陆军特色医学中心消化内科的14例正常胃黏膜组织(Nor组),31例HGIN组织(HGIN组),17例GC组织(GC组)。其中,男性患者样本41例,女性患者样本21例。纳入标准:①原发性胃癌患者;②HE染色结果符合HGIN和GC诊断标准。排除标准:①有肿瘤史患者;②有胃部手术史患者;③合并其他重大疾病患者。HGIN组织判断标准:HE染色病理图像显示胃黏膜内腺体结构和细胞核高度异型性,核浆比增高,可见核分裂象、细胞极性消失。经陆军特色医学中心病理科2名医师确诊后的样本采用液氮保存于陆军特色医学中心消化内科实验室。另收集来自基因表达综合数

据库(Gene Expression Omnibus, GEO)的5例正常胃黏膜组织和8例HGIN组织的单细胞测序数据(GEO号:GSE150290)临床样本采集方案经陆军特色医学中心伦理委员会审批通过[医研伦审(2021)第260号],纳入研究患者均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 冻存组织细胞核提取 取冻存组织,采用全能转录活性与染色质可及性检测(Omni-assay for transcriptional activity and chromatin accessibility,Omni-ATAC)实验技术进行细胞核提取[13],经台盼蓝染色后,镜下观察细胞核形态并计数,根据计数结果取1×10^5个完整细胞核用于后续CUT&Tag建库。

1.2.2 CUT&Tag文库构建及测序 采用TD903试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)进行建库。向提取到的细胞核中加入靶向H3K27ac的一抗,4 ℃孵育过夜,二抗常温旋转孵育1 h放大信号,在PA/G-Tn5酶作用下,目的蛋白周围的DNA片段化并迅速连接接头。通过PCR扩增得到目的片段并检测扩增产物浓度完成文库构建,采用Illumina HiSeq X仪器进行测序。

1.2.3 RNA文库构建及测序 提取样本总RNA并检测RNA产物是否降解(RIN值≥7),获得足够量(1~4 μg)合格RNA,并利用带有oligo-dT的引物特异性捕获含poly(A)的mRNA并进行反转录,再添加cDNA接头、打断、扩增,最后纯化PCR扩增产物并检测其浓度,完成文库构建,对合格文库进行测序。

1.3 数据处理

1.3.1 CUT&Tag数据 使用FastQC工具评估单个样本测序得到fastq文件并从中筛选合格数据,使用Fastp与Cutadpat工具联合去除接头;使用Bowtie2工具将去接头后的测序数据比对到人类参考基因组,从而得到sam文件用于计算样本片段数、比对率、重复率等;使用Sambamba工具完成sam文件到bam文件的转换,利用Picard工具进一步对PCR扩增中的重复序列进行过滤,得到唯一读数片段用于后续分析;对过滤后的bam文件进行排序并构建索引,使用MACS2工具进行峰值识别,ChIPseeker工具进行信号峰注释并可视化信号峰在全基因组的位置分布,并利用plotAnnoBar和plotAnnoPie 2个命令进行可视化;使用Ngsplot工具计算信号峰到转录起始位点(transcription start site,TSS)的距离、信号峰数、全基因区域的信号富集丰度,并绘制峰线图。

1.3.2 预测增强子重塑调控靶基因 使用MAnorm2_utils生成H3K27ac信号的计数矩阵,同时过滤启动子(TSS上下游2 kb)区域以及测序深度普遍高的基因组区域,对Nor、HGIN、GC这3组样本进行排列组合并差异分析,通过差异倍数(fold change,FC)筛选差异增强子($|Log_2FC|>1$,$P<0.05$),使用ClusterGVis工具对差异增强子进行聚类,筛选在HGIN和GC组获得信号的增强子,并使用Peak2Gene工具注释基因。使用相同策略筛选HGIN和GC组过表达基因,并与增强子注释得到的基因取交集,并使用ClusterProfiler工具基于cancerSEA数据集进行基因富集。结合R包Seurat 4.0对公共单细胞转录组数据的分群注释结果,筛选在HGIN上皮细胞中过表达的基因。

1.3.3 增强子信号沉默 利用CRISPR技术,每个增强子设计多条gRNA(表1),并将gRNA的DNA模版分别克隆到Lenti-dCas9-KRAB-puro载体中。将重组质粒转染到SNU719细胞,通过RT-qPCR检测目的基因的表达。

表1 引物序列

名称	序列(5′→3′)
增强子1-A	上游:CACCGTATTCAACACGGAACCCACA
	下游:AAACTGTGGGTTCCGTGTTGAATAC
增强子1-B	上游:CACCGGCTCGGGCTTATCTTTCAGA
	下游:AAACTCTGAAAGATAAGCCCGAGCC
增强子1-C	上游:CACCGACCTCAAATTGCTCCTTGGC
	下游:AAACGCCAAGGAGCAATTTGAGGTC
增强子1-D	上游:CACCGCCCAGGAACTACACATATTG
	下游:AAACCAATATGTGTAGTTCCTGGGC
增强子1-E	上游:CACCGTGGGGAAAGGTGAACGTCTA
	下游:AAACTAGACGTTCACCTTTCCCCAC
增强子1-F	上游:CACCGAACAAGAGATCGACTGACTC
	下游:AAACGAGTCAGTCGATCTCTTGTTC
增强子2-A	上游:CACCGAGACTCAAAGGCTTTATATG
	下游:AAACCATATAAAGCCTTTGAGTCTC
增强子2-B	上游:CACCGCTCAGCTGTTGGGCTGCACT
	下游:AAACAGTGCAGCCCAACAGCTGAGC
增强子2-C	上游:CACCGGGCCCAGGCTTAGGTTGAAC
	下游:AAACGTTCAACCTAAGCCTGGGCCC
增强子2-D	上游:CACCGGGACCTGGGCTCAGTAAATT
	下游:AAACAATTTACTGAGCCCAGGTCCC

1.3.4 免疫组化检测CD24表达 将石蜡切片置于65 ℃烘箱中烘烤1~2 h,待石蜡完全融化后分别置于二甲苯、梯度乙醇中进行脱蜡处理。采用抗原修复液(pH=9.0)对组织进行抗原修复,高温高压加热3 min后自然冷却至室温,3%过氧化氢溶液中浸泡15 min(避光)取出过氧化物酶,山羊血清封闭液37 ℃下封闭30 min,滴加一抗CD24(杭州华安生物技术有限公司,稀释比为1∶100),并于4 ℃冰箱过夜孵育。次日滴加二抗MaxVision-HRP鼠/兔(福州迈新生物技术开发有限公司,KIT5020)常温孵育15 min,随后DAB显色,苏木精染细胞核,梯度乙醇脱水并风干后,盖玻片封片,结果使用Image J软件定量分析。

1.4 统计学分析

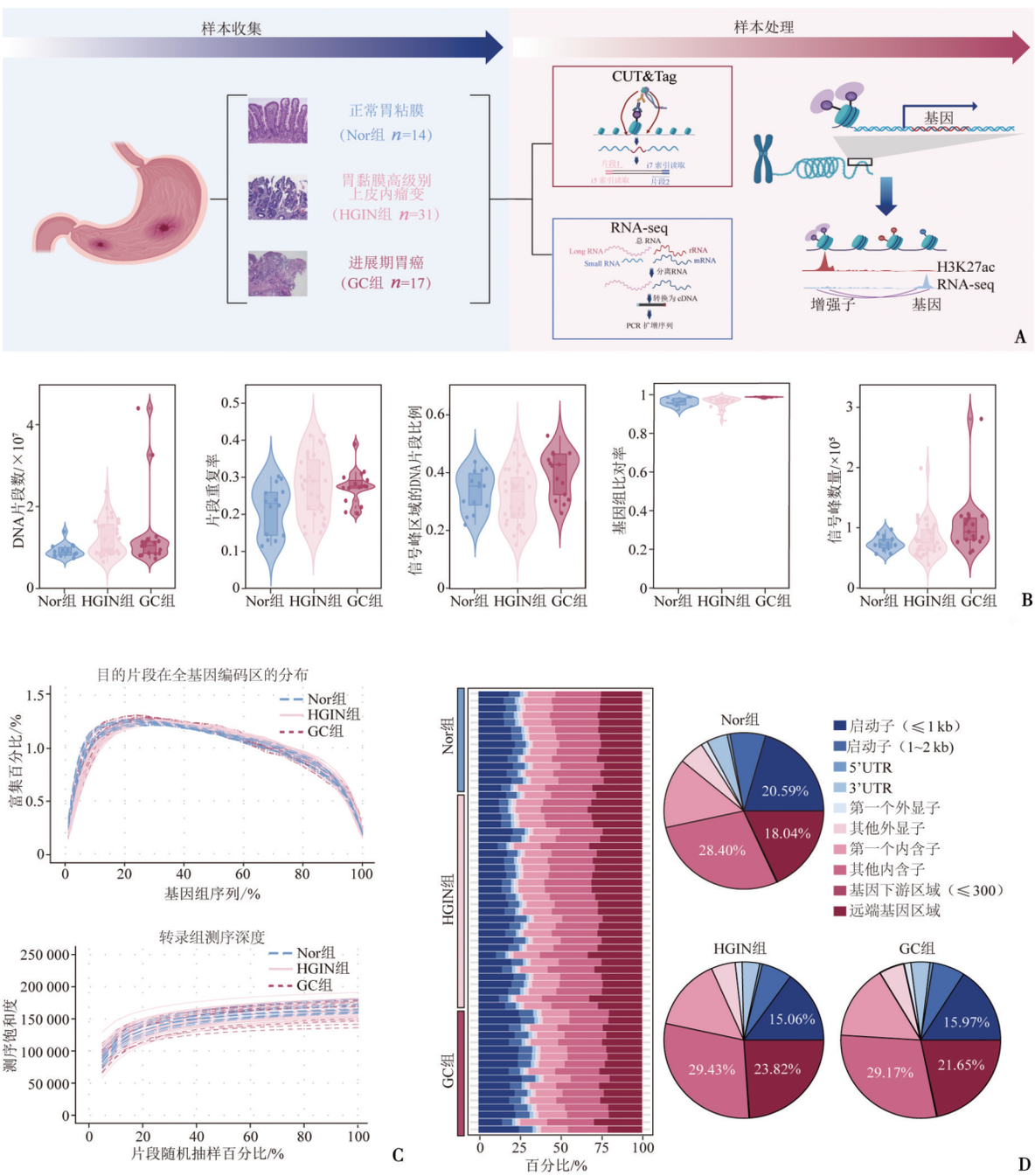
实验数据均采用GraphPad Prism 9.0进行统计分析,*CD24*的表达水平、免疫组化定量结果等符合正态分布的计量资料均以$\bar{x}\pm s$表示,使用Shapiro Wilk对数据进行

正态检验,使用Bartlett进行方差齐性检验,采用配对样本t检验分析组间差异,P<0.05为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　绘制正常胃黏膜和HGIN组织H3K27ac修饰的全基因组分布图谱

为描述HGIN组织的组蛋白H3K27ac修饰特征,对正常胃黏膜、HGIN、GC组织进行H3K27ac标记的CUT&Tag以及RNA-seq建库和测序(图1A)。对H3K27ac标记的CUT&Tag测序数据进行的质控分析结果显示,DNA片段数均>5×10^6;片段重复率<40%,信号峰区域DNA片段比例>10%,基因比对率>90%,信号峰数量>5×10^4,提示文库复杂,能够较好地反映组织多样性(图1B)。转录组质控分析结果显示,目标



A:不同阶段组织数量以及测序信息的模型图;B:H3K27ac标记的CUT&Tag文库质控结果;C:RNA测序数据的质控结果;D:3组样本单个与整体H3K27ac信号峰的全基因组位置分布

图1　正常胃黏膜和HGIN组织H3K27ac修饰的全基因组分布图谱

片段主要在非基因编码区域富集且测序深度达到要求(图1C)。因此，3种组织的表观组和转录组数据均达到质控标准，数据质量均一，差异无统计学意义，满足下游分析要求。

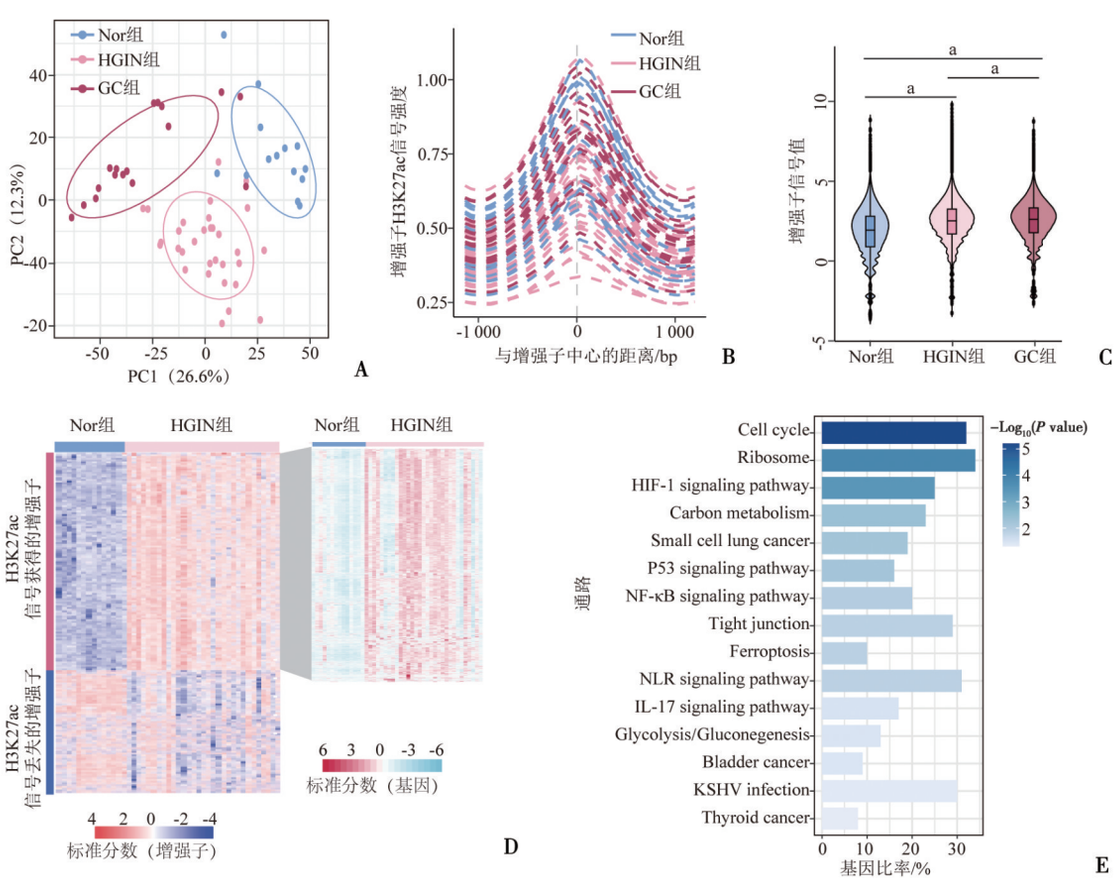
通过对H3K27ac修饰的基因组分布情况进行分析，发现H3K27ac信号主要分布在启动子、内含子及基因下游区域，且3组样本H3K27ac信号分布特征相似(图1D)。

2.2　HGIN组织具有H3K27ac增强子重塑特征

对3组样本H3K27ac信号进行主成分分析，结果显示，3组样本的H3K27ac修饰信号差异显著(图2A、B)，HGIN和GC组织的增强子信号强度显著高于正常胃黏膜组织(P<0.05，图2C)。使用MAnorm2工具对胃黏膜组织和HGIN组织的H3K27ac信号标准化处理并进行差异分析，结果显示，HGIN组织获得大量H3K27ac增强子信号。通过Peak2Gene工具整合表观组和转录组数据，预测HGIN组织中激活的H3K27ac增强子潜在调控的基因，结果显示，这些基因的表达水平在HGIN组织中显著上调(P<0.05，图2D)。京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG)分析显示，这些受增强子潜在调控的基因在细胞周期、HIF-1信号通路、碳代谢等促肿瘤发生的通路富集(图2E)。上述结果表明，HGIN组织中发生了广泛的H3K27ac增强子重塑。

2.3　H3K27ac增强子重塑可能调控HGIN的增殖、侵袭等恶性生物学行为

筛选潜在发挥调控作用的增强子时，为避免遗漏差异H3K27ac增强子，使用MAnorm2工具对3组样本H3K27ac增强子信号标准化处理后，将3组样本进行排列组合并差异分析，结果显示，H3K27ac信号获得与信号丢失的增强子($|Log_2FC|>1$，P<0.05)共9 796个(图3A)。使用ClusterGVis工具对候选增强子进行H3K27ac信号变化趋势聚类并可视化，其中3 377个H3K27ac信号在HGIN与GC组织均显著增强(图3B)，将其注释后得到2 607个潜在靶基因(图3E)。相同地，使用DEseq2工具对3组样本转录组数据进行差异



A：3组样本H3K27ac信号的主成分分析；B：3组样本H3K27ac信号强度峰图；C：3组样本增强子信号小提琴图　a：P<0.05；D：HGIN与Nor 2组样本信号热图　左：2组样本H3K27ac差异信号热图，右：H3K27ac信号获得增强子注释到的基因热图；E：H3K27ac信号获得增强子注释到基因后的KEGG富集结果

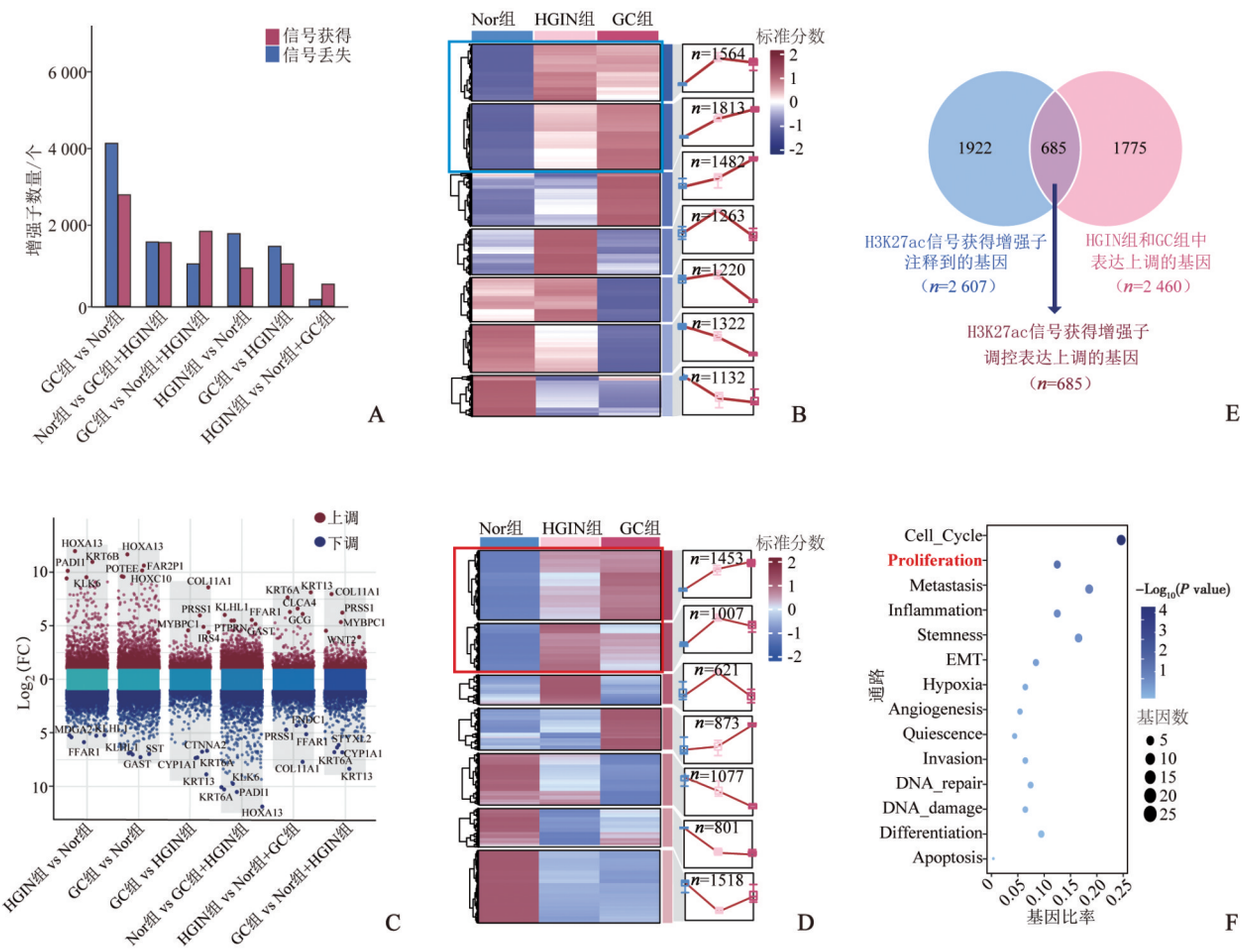
图2　HGIN组织中的H3K27ac增强子重塑

分析,共获得7 350个差异基因(|Log_2FC|>1,P<0.05,图3C)。使用ClusterGVis工具对差异基因的表达趋势聚类并可视化,其中2 460个基因的表达水平在HGIN和GC组织中上调(图3D)。整合表观组和转录组数据,将增强子注释到的潜在靶基因与HGIN和GC中表达上调的基因取交集,共得到685个由增强子潜在调控且与HGIN恶性生物学行为相关的候选基因(图3E)。为探究候选基因参与的生物学过程,基于cancerSEA数据集对上述基因进行富集分析,发现这些基因与细胞增殖、侵袭密切相关(图3F)。

2.4　增强子重塑上调CD24表达

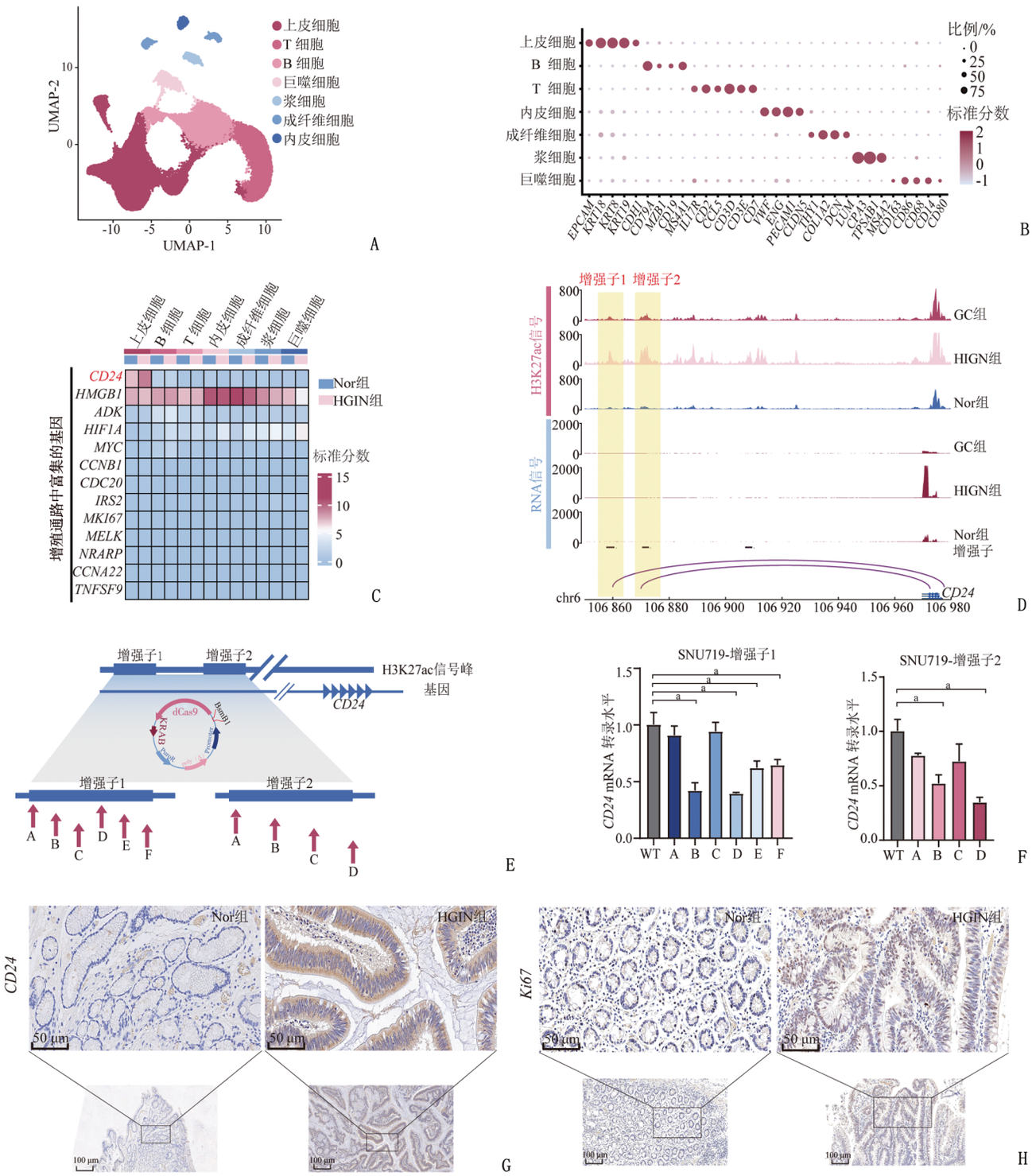
为进一步鉴定与肿瘤恶性增殖相关的靶基因,对5例正常以及8例HGIN组织的公共单细胞数据进行UMAP分群聚类,共得到7个细胞亚群(图4A、B)。对正常和HGIN组织不同细胞亚群与基因表达水平进行差异分析,发现*CD24*主要在HGIN上皮细胞中显著高表达(图4C)。整合表观组学和转录组学测序数据并进行IGV可视化,结果显示有2个候选增强子对*CD24*存在调控作用(图4D)。

根据候选增强子序列设计多个沉默位点(图4E、表1),在胃癌细胞系(SNU719)中对候选增强子进行沉默。使用qRT-PCR检测*CD24*表达水平,发现多个增强子位点沉默后可抑制*CD24*转录(P<0.05,图4F)。对收集的7例正常和7例HGIN石蜡切片样本进行免疫组化染色,结果显示*CD24*以及增殖相关抗原*Ki-67*在HGIN样本中表达显著上调(图4G~J),且*CD24*与*Ki-67*的表达呈正相关(P<0.001,图4)。表明增强子重塑可能通过上调*CD24*表达,促进胃黏膜上皮细胞增殖和HGIN形成。



A:3组样本H3K27ac信号差异分析结果;B:3组样本H3K27ac差异信号聚类热图　蓝色框:在HGIN和GC组获得H3K27ac信号的信号峰;C:3组样本转录组差异分析结果;D:3组样本H3K27ac差异信号聚类热图　红色框:在HGIN和GC组过表达基因;E:H3K27ac信号获得的信号峰注释基因与过表达基因取交集;F:H3K27ac信号获得Peaks调控基因基于cancerSEA数据集的通路富集

图3　H3K27ac增强子重塑可能调控细胞增殖、侵袭相关基因表达

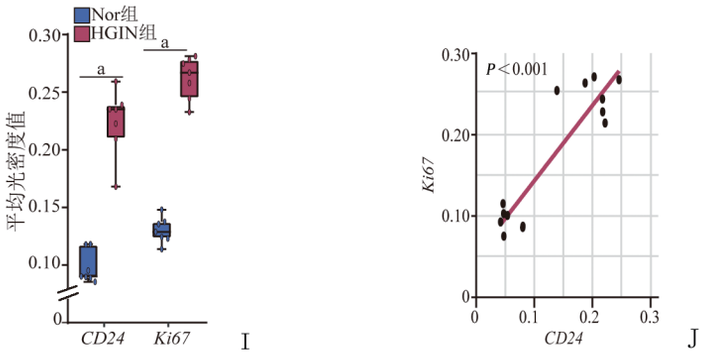


a: $P<0.05$

A:公共单细胞转录组数据UMAP聚类图;B:不同细胞类型Marker基因的气泡图;C:增殖通路相关基因在不同细胞群的表达热图;D:增强子对*CD24*调控的IGV可视化　黄色:示增强子区域;E:增强子沉默的模式图;F:增强子沉默后的qRT-PCR结果;G:Nor和HGIN 2组临床样本的*CD24*免疫组化染色结果;H:Nor和HGIN 2组临床样本的*Ki-67*免疫组化染色结果

图4　增强子重塑对*CD24*表达水平的影响

(图4I~J续下页)



a: $P<0.05$

I:Nor和HGIN 2组临床样本*CD24*与*Ki-67*免疫组化染色量化统计结果;J:*CD24*与*Ki-67*在临床样本的表达相关性分析

续图4　增强子重塑对*CD24*表达水平的影响

3　讨论

HGIN是胃癌发生过程(Correa级联步骤)中的关键阶段[14]。既往研究表明,相较于其他癌前阶段,HGIN发展为胃癌的风险更高[15],因此早期发现并及时正确处理HGIN病变对改善胃癌发病率和死亡率至关重要。深入探究HGIN发生机制,寻找关键分子,可以为胃癌的早期诊疗提供重要科学依据。组蛋白修饰可以使染色质结构及功能发生变化,引起基因的异常转录和激活,在肿瘤的发生、进展过程中起重要作用,但其在HGIN发生过程中的调控机制尚未完全阐明。本研究系统描绘了HGIN组织的H3K27ac标注的增强子图谱,发现报道H3K27ac标注的增强子重塑可能调控与上皮细胞癌变相关的恶性基因。这一发现为理解HGIN的发生机制提供了新的视角,并为后续的临床应用奠定了基础。

表观组学分析结果显示,HGIN组织发生显著的增强子重塑现象,激活的H3K27ac增强子可能在细胞周期、HIF-1信号通路、碳代谢等促肿瘤发生通路中发挥重要作用。这些结果提示增强子重塑不仅是HGIN发生的重要特征,还可能赋予胃黏膜细胞恶性生物学特征,在HGIN发生发展中具有重要作用。进一步强调表观遗传学在肿瘤生物学中的重要性,为今后的研究提供方向。

联合分析多组学测序数据发现,增强子重塑上调HGIN患者胃黏膜上皮*CD24*的表达水平。沉默增强子后*CD24*表达水平显著下降,表明HGIN增强子重塑可能通过影响肿瘤恶性相关基因的表达,推动HGIN的癌变进程。CD24作为一种糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol,GPI)锚定的膜蛋白,在乳腺癌、卵巢癌、肺癌等多种肿瘤中高表达[16-18],与肿瘤生物学行为息息相关。有研究表明,*CD24*在生理状态下可以抑制组织生长,但在病理状态下,*CD24*会通过激活Src家族激酶促进细胞的增殖、迁移[19-20]。在胆管癌、尿路上皮癌、卵巢癌等多个癌症中证明,*CD*24过表达患者转移率、肿瘤分级均较高、总生存期短[21],表明*CD24*的过表达与肿瘤预后不良显著相关[22]。结合本研究结果,发现HGIN患者中*CD24*的表达水平与细胞增殖标记物*Ki-67*呈正相关,进一步验证了*CD24*在早期胃癌阶段可能与促进胃黏膜上皮细胞的恶性增殖相关。因此*CD24*有望为早期胃癌诊断、预后评估和治疗策略的制定提供新的靶点。

综上所述,本研究发现胃癌发生早期,HGIN增强子重塑可能通过上调*CD24*表达,发挥促进肿瘤细胞恶性增殖的作用,该发现为胃癌早期预防和综合治疗提供新思路。

利益冲突　本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] AJANI J A, D'AMICO T A, BENTREM D J, *et al*. Gastric cancer, version 2.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(2): 167-192. DOI: 10.6004/jnccn.2022.0008.

[2] 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,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和癌前病变的处理策略专家共识(2020年)[J]. 中华消化杂志, 2020, 40(11): 731-741. DOI: 10.3760/cma.j.cn311367-20200915-00554.
National Clinical Research Center for Digestive Disease (Shanghai), National Early Gastrointestinal Center Prevention& Treatment Center Alliance, Helicobacter Pylori Group of Chinese Society of Gastroenterology from Chinese Medical Association, *et al*. Chinese consensus on management of gastric epithelial precancerous conditions and lesions (2020)[J]. Chin J Dig, 2020, 40(11): 731-741. DOI: 10.3760/

cma.j.cn311367-20200915-00554.

[3] 于颖彦, 朱正纲. 第5版WHO消化道肿瘤分类与分期解读: 胃肿瘤[J]. 外科理论与实践, 2020, 25(3): 207-210. DOI: 10.16139/j.1007-9610.2020.03.007.
YU Y Y, ZHU Z G. Interpretation of the 5th edition WHO classificaion and staging of tumors of digestive system: gastric tumors[J]. J Surg Concepts Pract, 2020, 25(3): 207-210. DOI: 10.16139/j.1007-9610.2020.03.007.

[4] JEON J W, KIM S J, JANG J Y, *et al*. Clinical outcomes of endoscopic resection for low-grade dysplasia and high-grade dysplasia on gastric pretreatment biopsy: Korea ESD study group[J]. Gut Liver, 2021, 15(2): 225-231. DOI: 10.5009/gnl19275.

[5] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, *et al*. Gastric cancer[J].Lancet,2020,396(10251):635-648.DOI:10.1016/S0140-6736(20)31288-5.

[6] 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. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20220726-00432.
Bureau of Medical Administration of National Health Commission of the People's Republic of China. Standardization for diagnosis and treatment of gastric cancer (2022 edition)[J]. Chin J Dig Surg, 2022, 21(9): 1137-1164. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20220726-00432.

[7] 刘文康, 吴林育, 喻博, 等. 胃黏膜肠上皮化生的H3K27ac增强子重编程特征及转录调控机制[J]. 陆军军医大学学报, 2023, 45(6): 500-509. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202210071.
LIU W K, WU L Y, YU B, *et al*. Reprogramming characteristics of H3K27ac-marked enhancer in gastric intestinal metaplasia and its transcriptional regulatory mechanism[J]. J Army Med Univ, 2023, 45(6): 500-509. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202210071.

[8] 吴林育. 胃黏膜肠化的H3K27me3沉默子重塑特征及肠化调控因子ATOH1的初步功能鉴定[D]. 重庆:陆军军医大学, 2023. DOI: 10.27001/d.cnki.gtjyu.2023.000311.
WU L Y. Remodeling characteristics of H3K27me3 silencing in intestinal metaplasia of gastric mucosa and preliminary functional identification of ATOH1, a regulator of intestinal metaplasia[D]. Chongqing: Army Medical University, 2023. DOI: 10.27001/d.cnki.gtjyu.2023.000311.

[9] YAO J, CHEN J, LI L Y, *et al*. Epigenetic plasticity of enhancers in cancer[J]. Transcription, 2020, 11(1): 26-36. DOI: 10.1080/21541264.2020.1713682.

[10] CALO E, WYSOCKA J. Modification of enhancer chromatin: what, how, and why?[J]. Mol Cell, 2013, 49(5): 825-837. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.01.038.

[11] FURLONG E E M, LEVINE M. Developmental enhancers and chromosome topology[J]. Science, 2018, 361(6409): 1341-1345. DOI: 10.1126/science.aau0320.

[12] SCHOENFELDER S, FRASER P. Long-range enhancer-promoter contacts in gene expression control[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(8): 437-455. DOI: 10.1038/s41576-019-0128-0.

[13] CORCES M R, TREVINO A E, HAMILTON E G, *et al*. An improved ATAC-seq protocol reduces background and enables interrogation of frozen tissues[J]. Nat Methods, 2017, 14(10): 959-962. DOI: 10.1038/nmeth.4396.

[14] CORREA P. A human model of gastric carcinogenesis[J]. Cancer Res. 1988 Jul 1;48(13):3554-3560.

[15] 秦苾珺, 谭玉婷, 储召乐, 等. 组蛋白H3K27me3沉默子重塑上调胃黏膜高级别上皮内瘤变磷酸甘油醛激酶1表达[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(6): 597-607. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202310001.
QIN B J, TAN Y T, CHU Z L, *et al*. Remodeling of histone H3K27me3-associated silencers upregulates PGK1 expression in gastric high-grade intraepithelial neoplasia[J]. J Army Med Univ, 2024, 46(6): 597-607. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202310001.

[16] YANG Y, ZHU G M, YANG L, *et al*. Targeting CD24 as a novel immunotherapy for solid cancers[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 312. DOI: 10.1186/s12964-023-01315-w.

[17] KRISTIANSEN G, SAMMAR M, ALTEVOGT P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule[J]. J Mol Histol, 2004, 35(3): 255-262. DOI: 10.1023/b:hijo.0000032357.16261.c5.

[18] ZHAO K, WU C F, LI X J, *et al*. From mechanism to therapy: the journey of CD24 in cancer[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1401528. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1401528.

[19] TARHRIZ V, BANDEHPOUR M, DASTMALCHI S, *et al*. Overview of CD24 as a new molecular marker in ovarian cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2134-2142. DOI: 10.1002/jcp.27581.

[20] SAGIV E, ARBER N. The novel oncogene CD24 and its arising role in the carcinogenesis of the GI tract: from research to therapy[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2008, 2(1): 125-133. DOI: 10.1586/17474124.2.1.125.

[21] SANO A, KATO H, SAKURAI S, *et al*. CD24 expression is a novel prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(2): 506-514. DOI: 10.1245/s10434-008-0252-0.

[22] ATHANASSIADOU P, GRAPSA D, GONIDI M, *et al*. CD24 expression has a prognostic impact in breast carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2009, 205(8): 524-533. DOI: 10.1016/j.prp.2009.01.008.

(**收稿**:2024-08-26;**修回**:2024-10-09)
(编辑 李 玥)