

DNA 甲基转移酶 DNMT1 和 DNMT3A 对人胃癌细胞自噬的调控作用

李静 孔文钰 刘雨 李静

(青岛大学附属医院检验科, 山东 青岛 266075)

[摘要] **目的** 探讨 DNA 甲基转移酶 1(DNMT1)和 DNMT3A 对胃癌细胞自噬的调控作用。**方法** 采用 Western blot 方法检测人胃黏膜上皮 GES-1 细胞和人胃癌细胞 AGS-EBV 中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 蛋白的表达水平。按照实验要求将 AGS-EBV 细胞分为 A~D 组,将人胃癌细胞 GT38 细胞分为 a~d 组,A/a 组和 B/b 组细胞分别转染 siNC、siDNMT1,C/c 组和 D/d 组细胞分别转染 siNC、siDNMT3A。采用 Western blot 方法检测 A~D 组、a~d 组细胞中 DNMT1 或 DNMT3A、p62 表达水平及 LC3 II / I 比值;通过免疫荧光技术检测 A~D 组细胞中 LC3 自噬小体数量;通过透射电镜分析检测 A~D 组细胞中自噬溶酶体数量。**结果** Western blot 方法检测结果显示,AGS-EBV 细胞当中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 蛋白相对表达水平显著高于 GES-1 细胞($t=2.947\sim6.695,P<0.05$);B 组与 A 组、b 组与 a 组相比,细胞中 DNMT1 蛋白相对表达水平显著降低,p62 蛋白相对表达水平及 LC3 II / I 比值显著升高($t=2.828\sim126.800,P<0.05$);D 组与 C 组、d 组与 c 组相比,细胞中 DNMT3A 和 p62 蛋白相对表达水平显著降低,LC3 II / I 比值显著升高($t=3.215\sim96.110,P<0.05$)。免疫荧光及透射电子显微镜观察结果显示,B 组细胞中 LC3 自噬小体数量和自噬溶酶体数量均显著高于 A 组,D 组显著高于 C 组($t=3.200\sim5.701,P<0.05$)。**结论** 与 GES-1 细胞相比,胃癌细胞中 DNMT1 和 DNMT3A 的表达水平显著上调,胃癌细胞可能处于高甲基化状态;抑制胃癌细胞 DNMT1、DNMT3A 表达可增强细胞自噬水平。

[关键词] 胃肿瘤;DNA(胞嘧啶-5)-甲基转移酶 1;DNA 甲基转移酶 3A;自噬;基因表达调控,肿瘤

[中图分类号] R735.2;R394.2 **[文献标志码]** A

Regulatory effect of DNA methyltransferase 1 and DNA methyltransferase 3A on autophagy of human gastric cancer cells LI Jing, KONG Wenyu, LIU Yu, LI Jing (Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266075, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the regulatory effect of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) and DNA methyltransferase 3A (DNMT3A) on autophagy of gastric cancer cells. **Methods** Western blot was used to measure the protein expression levels of DNMT1, DNMT3A, and DNA methyltransferase 3B (DNMT3B) in human gastric mucosal epithelial cell line GES-1 and gastric cancer cell line AGS-EBV. According to experimental requirements, AGS-EBV cells were divided into groups A—D, and human gastric cancer GT38 cells were divided into groups a—d. The cells in groups A/a and groups B/b were transfected with siNC and siDNMT1, respectively, and those in groups C/c and groups D/d were transfected with siNC and siDNMT3A, respectively. Western blot was used to measure the expression levels of DNMT1/DNMT3A and p62 and LC3 II / I ratio in groups A—D and groups a—d; immunofluorescence assay was used to measure the number of LC3 autophagosomes in groups A—D; transmission electron microscopy was used to measure the number of autolysosomes in groups A—D. **Results** Western blot showed that the relative protein expression levels of DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B in AGS-EBV cells were significantly higher than those in GES-1 cells ($t=2.947-6.695,P<0.05$). Compared with groups A and a, groups B and b had a significant reduction in the relative protein expression level of DNMT1 and significant increases in the relative protein expression level of p62 protein and LC3 II / I ratio ($t=2.828-126.800,P<0.05$). Compared with groups C and c, groups D and d had significant reductions in the relative protein expression levels of DNMT3A and p62 and a significant increase in LC3 II / I ($t=3.215-96.110,P<0.05$). Immunofluorescence assay and transmission electron microscopy showed that group B had significantly higher numbers of LC3 autophagosomes and autolysosomes than group A, and group D had significantly higher numbers than group C ($t=3.200-5.701,P<0.05$). **Conclusion** The expression levels of DNMT1 and DNMT3A in gastric cancer cells are significantly upregulated compared with those in human gastric mucosal epithelial cell line GES-1, suggesting that gastric cancer cells may exhibit a hypermethylation state, and inhibition of DNMT1/DNMT3A expression in gastric cancer cells can enhance the level of autophagy.

[KEY WORDS] Stomach neoplasms; DNA (Cytosine-5)-methyltransferase 1; DNA methyltransferase 3A; Autophagy; Gene expression regulation, neoplastic

的主要原因^[1-3]。因此,阐明胃癌发生发展的分子机制,挖掘新的治疗靶点,对改善患者预后至关重要。自噬是细胞内的一种自我降解过程,可通过清除受损细胞器、降解异常蛋白质维持细胞内环境稳态,其功能紊乱与肿瘤的发生与发展密切相关^[4-6]。胃癌细胞的自噬具有双重作用,既可发挥抑癌作用,也可表现为促癌效应,两种作用的发挥与肿瘤类型及微环境密切相关^[7]。DNA 甲基化是表观遗传调控的重要方式之一^[8]。DNA 甲基转移酶(DNMTs)家族是调控 DNA 甲基化的关键酶类,在维持基因组稳定性、介导细胞表观遗传图谱重塑中发挥着重要作用^[9]。正常生理状态下,DNMTs 的表达与活性受到精准调控,以此维持基因组甲基化稳态;一旦该稳态失衡,将引发广泛的基因表达紊乱,进而诱发包括癌症在内的多种疾病,其中癌症是与 DNMTs 功能异常关联最为紧密的疾病类型之一^[10-12]。有研究发现,DNMTs 在胃癌组织中呈高表达状态,可通过沉默抑癌基因的表达加速肿瘤进展^[13]。然而,DNMT1 和 DNMT3A 在胃癌细胞自噬过程中的具体调控作用及其具体分子机制,目前尚缺乏系统性研究^[14]。基于上述背景,本研究通过探讨 DNMT1、DNMT3A 对胃癌细胞自噬的具体调控作用,旨在为胃癌的表观遗传学靶向治疗提供新的理论依据与潜在靶点。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂

siDNMT1、siDNMT3A 及 siNC 委托上海吉玛制药技术有限公司合成,其中 siDNMT1 的正义链为 5'-GGAUGAGUCCAUAAGGAATT-3',反义链为 5'-UUCUUGAUGGACUCAUCCTT-3'; siDNMT3A 的正义链为 5'-GAGGACAUCUUAUGGUGCACUGAAA-3',反义链为 5'-UUUCAGUGCACCAUAAGAUGUCCUC-3'; siNC 的正义链为 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3',反义链为 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。DNMT1、DNMT3A、 β -actin 抗体购自杭州华安生物技术有限公司,LC3 抗体和荧光标记二抗购自美国 CST 公司,p62 抗体购自上海优宁维生物科技股份有限公司,兔抗单克隆抗体、小鼠抗单克隆抗体、抗体稀释液、QuickBlock™ 封闭液(TBSTw)、抗荧光淬灭封片液(P0126)及 Hoechst33258 细胞染色液(C1017)购自南京碧云天生物技术有限公司,PVDF 膜购自德国 Merck Millipore 公司。

1.2 细胞的培养

人胃黏膜上皮细胞系 GES-1 细胞购买于武汉普诺赛生物科技有限公司,人胃癌细胞系 GT38 细胞由日本鸟取大学医学实验室惠赠,人胃癌细胞系 AGS-EBV 细胞由中山大学医学实验室惠赠。所有细胞均使用 DMEM 完全培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素混合液),置于 37 °C、含体积分数 0.05 CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中进行培养。

1.3 AGS-EBV、GT38 细胞的转染

选取生长状态良好的对数生长期 AGS-EBV、GT38 细胞接种于 6 孔板中,调整细胞密度,使转染时细胞汇合度达 60% 左右。将 AGS-EBV 细胞分为 A~D 组,将 GT38 细胞分为 a~d 组,A/a 组和 B/b 组细胞分别转染 siNC、siDNMT1、C/c 组和 D/d 组细胞分别转染 siNC、siDNMT3A。具体转染过程如下:取 100 μ L 无血清 DMEM 培养基与 5 μ L Lipofectamine 2000 转染试剂加入 EP 管(A 管)中混合;另取 100 μ L 无血清 DMEM 培养基分别与 5 μ L siNC、siDNMT1、siDNMT3A siRNA 加入 EP 管(B 管)中混合,室温静置 5 min,将 A 管液体加入对应 B 管混匀,室温静置 20 min,形成转染复合物。将转染复合物逐滴加入 AGS-EBV、GT38 细胞的 6 孔板中,转染 8 h 后,吸弃孔内培养基,加入 DMEM 完全培养基,再继续转染 48 h,收集转染成功后的两种细胞用于后续实验。

1.4 Western blot 方法检测细胞中 DNMT1、p62 蛋白表达水平及 LC3 II / I 比值

取生长状态良好的对数生长期 GES-1、AGS-EBV 细胞,以及处理结束的 A~D 组和 a~d 组细胞,加入细胞裂解液提取总蛋白。取等量蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,将蛋白转移至 PVDF 膜上。使用 QuickBlock™ 封闭液于室温封闭 20 min 后,分别于 GES-1、AGS-EBV 细胞当中加入稀释以后的 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 一抗,分别于 A~D 组和 a~d 组细胞中加入稀释后的 p62、LC3 一抗,分别于 A、B、a、b 组细胞中加入稀释后的 DNMT1 一抗,分别于 C、D、c、d 组细胞中加入稀释后的 DNMT3A 一抗,然后 4 °C 孵育过夜。次日,用 TBST 浸洗 PVDF 膜后,分别在相应组别中加入相应种属来源的 HRP 标记的二抗,置于室温下继续孵育 2 h;再次以 TBST 浸洗 PVDF 膜,使用 ECL 化学发光试剂盒显影。最后采用 ImageJ 软件分析目的条带的灰度值,并计算目的蛋白的相对表达水平以及 LC3 II / I 比值。

1.5 免疫荧光染色法检测 AGS-EBV 细胞中 LC3 自噬小体数量

将处理结束的 A~D 组细胞接种于预置细胞爬片的 24 孔板中,待细胞贴壁后,用 PBST 洗涤细胞,加入 100 μ L 预冷甲醇固定 10 min,PBST 浸洗后滴加 blocking buffer,室温孵育 1 h,弃去封闭液,直接滴加已稀释的 LC3 一抗,4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。次日 PBST 浸洗爬片,避光条件下滴加已稀释的荧光标记的二抗,室温避光孵育 1 h,PBST 浸洗后避光滴加 Hoechst33258 染液,室温孵育 5 min 进行核复染。PBST 浸洗后吸净多余的液体,滴加抗荧光淬灭剂进行封片,于共聚焦显微镜下观察并采集图像,采用 ImageJ 软件分析 LC3 荧光斑点数量,即 LC3 自噬小体数量。

1.6 透射电镜观察 AGS-EBV 细胞中的自噬溶酶体数量

取处理结束的 A~D 组细胞,PBS 洗涤 2 次后刮取至离心管,1 000 r/min 离心 5 min,PBS 重悬洗涤 1 次。弃上清后加 1 mL 2.5% 戊二醛,4 $^{\circ}$ C 固定过夜;次日经 0.1 mol/L 磷酸漂洗液漂洗 3 次(每次 15 min),1% 锇酸固定 1 h,再漂洗 3 次。梯度丙酮脱水:50%、70%、90% 丙酮各 15 min,100% 丙酮 20 min。环氧树脂梯度包埋:丙酮与包埋液 2 : 1 (室温 0.5 h)、1 : 2(37 $^{\circ}$ C 1.5 h)及纯包埋液(37 $^{\circ}$ C 2~3 h)。依次于 37 $^{\circ}$ C、45 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C 各固化 24 h 后,制备成 70 nm 厚的超薄切片,再使用醋酸铀和柠檬酸铅分别进行染色 15 min。采用日本电子 JEM1200 型透射电镜观察,采集自噬溶酶体典型区域图像并进行数量分析。

1.7 统计学处理

使用 GraphPad Prism 5 软件对数据进行统计学分析。所有实验均独立重复 3 次,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 Student's *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 GES-1、AGS-EBV 细胞中 DNMTs 蛋白表达水平比较

Western blot 方法检测结果显示,AGS-EBV 细胞当中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 蛋白的相对表达水平显著高于 GES-1 细胞($t = 2.947 \sim 6.695$, $P < 0.05$)。见图 1、表 1。

2.2 沉默 DNMT1 对胃癌细胞自噬的影响

Western blot 检测结果显示,B 组与 A 组、b 组

与 a 组相比,细胞中 DNMT1 蛋白的相对表达水平显著下降,p62 蛋白的相对表达水平及 LC3 II / I 比值显著上升($t = 2.828 \sim 126.800$, $P < 0.05$)。见图 2、表 2。免疫荧光及透射电子显微镜观察结果显示,A、B 组细胞中 LC3 自噬小体数量分别为 3.67 ± 0.94 、 9.00 ± 2.16 ,自噬溶酶体的数量分别为 0.67 ± 0.75 、 3.33 ± 0.75 ,与 A 组相比,B 组细胞中 LC3 自噬小体数量和自噬溶酶体数量显著增加($t = 3.200$ 、 5.657 , $P < 0.05$)。见图 3、4。

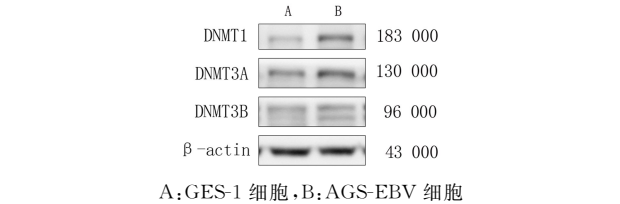


图 1 GES-1、AGS-EBV 细胞中 DNMTs 相关蛋白表达水平比较

表 1 GES-1、AGS-EBV 细胞中 DNMTs 蛋白的相对表达水平比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

细胞类型	DNMT1	DNMT3A	DNMT3B
GES-1 细胞	0.67 ± 0.23	1.12 ± 0.54	0.60 ± 0.17
AGS-EBV 细胞	1.42 ± 0.43	1.65 ± 0.56	1.18 ± 0.56

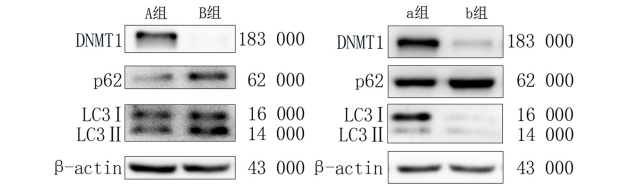


图 2 A、B 组及 a、b 组细胞中自噬相关蛋白表达水平比较

表 2 胃癌细胞中 DNMT1、p62 蛋白的相对表达水平及 LC3 II / I 比值比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

分组	DNMT1	p62	LC3 II / I 比值
A 组	1.59 ± 0.09	0.62 ± 0.05	1.07 ± 0.23
B 组	0.04 ± 0.00	0.94 ± 0.10	1.52 ± 0.36
a 组	1.79 ± 0.37	1.46 ± 0.39	0.47 ± 0.03
b 组	0.56 ± 0.13	1.83 ± 0.56	0.93 ± 0.29

2.3 沉默 DNMT3A 对胃癌细胞自噬的影响

Western blot 方法检测结果显示,D 组与 C 组、d 组与 c 组相比,细胞中 DNMT3A 和 p62 蛋白的相对表达水平显著下降,LC3 II / I 比值显著上调($t = 3.215 \sim 96.110$, $P < 0.05$)。见图 5、表 3。免疫荧光以及透射电子显微镜观察结果显示,C、D 组细胞中 LC3 自噬小体数量分别为 4.67 ± 0.47 、 10.67 ± 1.70 ,自噬溶酶体数量分别为 0.67 ± 0.75 、 5.00 ± 1.53 ,与 C 组相比,D 组细胞中 LC3 自噬小体数量和自噬溶酶体数量均显著增加($t = 4.811$ 、 5.701 , $P < 0.05$)。见图 6、7。

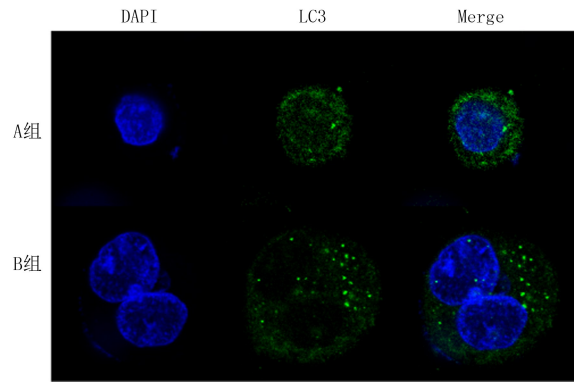
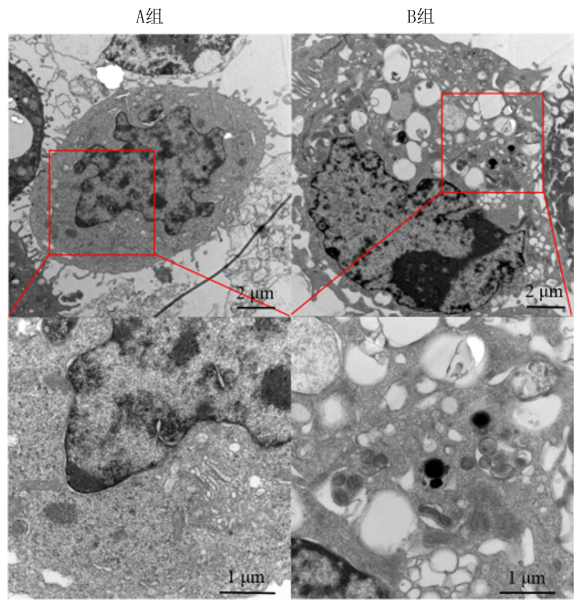


图 3 A、B 组细胞中 LC3 自噬小体数量比较(免疫荧光 LC3 单染,放大 630 倍)



钨铅双染色;下排为上排选中区域的局部放大,上排放大 10 000 倍,下图放大 30 000 倍

图 4 A、B 组细胞中自噬溶酶体数量比较

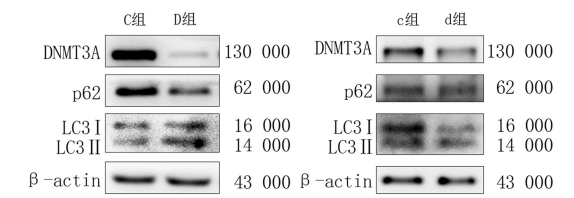


图 5 C、D 组及 c、d 组细胞中自噬相关蛋白表达水平比较

表 3 胃癌细胞中 DNMT3A、p62 蛋白的相对表达水平及 LC3 II / I 比值比较($n=3, \bar{x} \pm s$)

分组	DNMT3A	p62	LC3 II / I 比值
C 组	2.29 ± 0.41	1.81 ± 0.37	0.36 ± 0.06
D 组	0.18 ± 0.06	1.27 ± 0.27	0.54 ± 0.09
c 组	1.37 ± 0.35	1.77 ± 0.22	0.74 ± 0.12
d 组	1.11 ± 0.21	1.38 ± 0.06	1.10 ± 0.16

3 讨 论

胃癌是起源于胃黏膜上皮细胞的恶性肿瘤,全

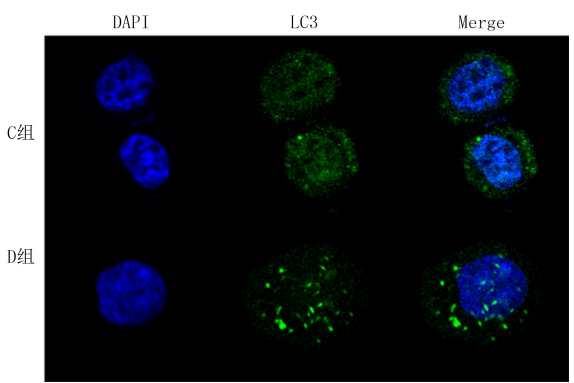
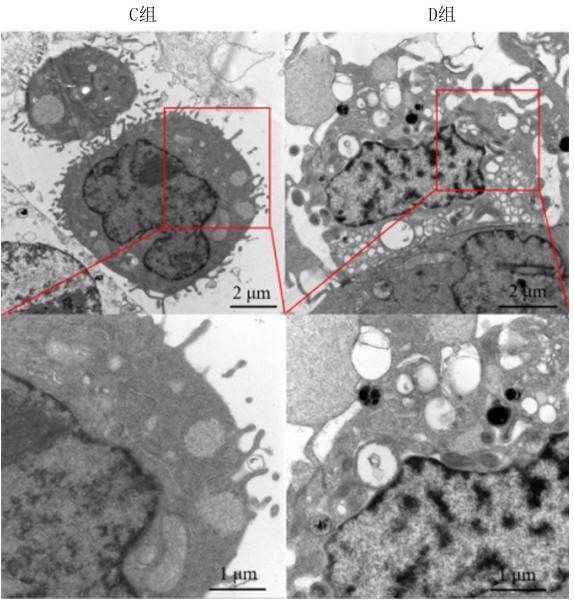


图 6 C、D 组细胞中 LC3 自噬小体数量比较(免疫荧光 LC3 单染,放大 630 倍)



钨铅双染色;下排为上排选中区域的局部放大,上排放大 10 000 倍,下排放大 30 000 倍

图 7 C、D 组细胞中自噬溶酶体数量比较

球范围内其发病率和死亡率均长期位居前列,对公众健康构成严重威胁。由于早期症状隐匿,多数患者确诊时已处于中晚期,肿瘤常伴有深部浸润或远处转移。尽管综合治疗手段不断进步,部分中晚期患者的生存时间得到了一定程度的延长,但胃癌固有的高侵袭性和高复发风险仍是临床治疗的重大挑战。因此,患者的总体预后仍不理想^[15-17]。

DNMTs 是 DNA 甲基化这一过程的关键酶类,主要包括 DNMT1、DNMT3A 和 DNMT3B^[18]。其中 DNMT1 的核心功能是维持 DNA 甲基化状态,在细胞分裂过程当中确保甲基化模式的稳定遗传;DNMT3A 和 DNMT3B 主要负责“从头甲基化”,即对未甲基化的 CpG 岛进行甲基化修饰^[18-20]。DNMTs 的表达异常可导致基因表达紊乱,诱发癌症等疾病^[10-12]。基于此,本研究选取人正常胃黏膜上皮细胞系 GES-1 细胞以及人胃癌细胞系 AGS-EBV、

GT38 细胞为研究对象,首先检测 GES-1 与 AGS-EBV 细胞中 DNMTs 家族蛋白的表达水平;随后在 AGS-EBV 和 GT38 细胞中转染 siRNA,分别抑制 DNMT1/DNMT3A 的表达以后,再观察 DNMT1/DNMT3A 对胃癌细胞自噬的具体调控作用。

本研究结果显示,胃癌细胞 AGS-EBV 中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 蛋白相对表达水平显著高于正常胃黏膜上皮细胞 GES-1,提示胃癌细胞可能处于高甲基化状态。

细胞自噬中,LC3 蛋白有两种形式,游离于细胞质的 LC3-I 和结合在自噬小体膜上的 LC3-II。自噬激活时,LC3-I 向 LC3-II 转化增多,LC3-II/I 比值升高,同时自噬小体大量形成,最终与溶酶体融合为自噬溶酶体,降解底物并循环利用^[21]。本研究结果显示,抑制胃癌细胞 AGS-EBV 的 DNMT1、DNMT3A 表达后,LC3 II/I 比值升高,自噬小体聚集增多,自噬溶酶体数量增加,表明干扰 DNMT1、DNMT3A 均能增强 AGS-EBV 细胞的自噬水平。抑制 GT38 细胞的 DNMT1、DNMT3A 表达以后,LC3 II/I 比值升高,与 AGS-EBV 细胞中 LC3 II/I 比值上升趋势一致,提示 DNMT1 或 DNMT3A 对自噬的调控在不同细胞系可能具有普遍性。

本研究结果显示,抑制 AGS-EBV、GT38 细胞中 DNMT1 表达后,细胞内自噬底物 p62 蛋白相对表达水平显著升高,而抑制 AGS-EBV、GT38 细胞中 DNMT3A 表达后,p62 蛋白相对表达水平则显著降低。已有研究表明,p62 积累通常与自噬流受阻密切相关,其表达下调可能提示细胞自噬水平增强^[22-24]。本研究中,沉默 AGS-EBV 细胞中 DNMT3A 表达后,细胞自噬小体与自噬溶酶体数量增加,自噬水平升高,p62 表达下降,与上述研究结论一致;而沉默 AGS-EBV 细胞中 DNMT1 表达后,自噬小体与自噬溶酶体数量同样增加,自噬水平升高,但 p62 表达却呈上升趋势。我们推测,这一差异可能与 DNMT1 的表观遗传调控功能有关:DNMT1 可维持 p62 基因启动子区的高甲基化状态,抑制其转录表达。当 DNMT1 表达受抑时,p62 基因启动子区高甲基化状态被解除,转录水平显著上升,这一效应抵消甚至超过了自噬增强导致的 p62 降解作用,最终导致 p62 蛋白积累。这一结果与 LEE 等^[25]在头颈癌中的研究结论一致:DNMT1 介导头颈癌细胞 HN9-R 中 p62 启动子区 CpG 岛高甲基化,导致 p62 表达沉默;使用 DNMT1 抑制剂处理后,p62 启动子区去甲基化,表达恢复,且该恢

复并非源于自噬降解受阻。综上,DNMT1 与 DNMT3A 可能在自噬调控中存在不同作用机制:DNMT3A 可能主要靶向自噬底物降解相关基因,干扰其表达可促进自噬流,导致 p62 降解增加^[26];而 DNMT1 则兼具双重作用,一方面通过甲基化 p62 启动子区直接调控其转录,另一方面可直接靶向自噬相关通路。沉默 DNMT1 表达后,p62 转录激活的效应强于自噬增强导致的降解效应,最终表现为 p62 蛋白表达升高^[27]。但两者调控自噬的具体下游靶点及分子通路,还仍需进一步实验验证。

综上所述,胃癌细胞当中 DNMT1、DNMT3A、DNMT3B 蛋白相对表达水平显著高于人胃黏膜上皮细胞,胃癌细胞可能处于高甲基化状态。在胃癌细胞中抑制 DNMT1、DNMT3A 的表达,可显著增强其自噬水平,DNMT1 和 DNMT3A 在胃癌细胞中可能为自噬的负向调控因子。本研究为胃癌治疗提供新方向:可通过特异性 DNMT1、DNMT3A 抑制剂恢复细胞自噬活性,促进肿瘤细胞凋亡,改善疗效。未来或可结合全基因组甲基化与转录组测序,筛选 DNMT1 和 DNMT3A 调控自噬的关键靶基因,探索其与其他表观遗传调控因子的协同作用。

作者声明:所有作者均参与了研究设计及论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024,74(3):229-263.
- [2] HARADA K, SAKAMOTO N, KITAOKA T, et al. PI3 expression predicts recurrence after chemotherapy with DNA-damaging drugs in gastric cancer[J]. J Pathol, 2025,265(4):472-485.
- [3] SHIN H S, CHOI J I, CHUNG H W, et al. Targeted inhibition of Ninjurin2 promotes chemosensitivity in chemoresistant gastric cancer by suppressing cancer-initiating cells[J]. Biomark Res, 2025,13(1):84.
- [4] DIKIC I, ELAZAR Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018,19(6):349-364.
- [5] HUANG H X, FANG L, ZHU C M, et al. YBX1 promotes 5-Fluorouracil resistance in gastric cancer via m5C-dependent ATG9A mRNA stabilization through autophagy[J]. Oncogene, 2025,44(28):2357-2371.
- [6] ZHU Z G, CHEN Q S, SONG S Y, et al. RNF128 promotes gastric cancer progression by inhibiting autophagy-dependent ferroptosis through Beclin1 ubiquitination[J]. Cell Death Dis-

cov, 2025,11(1):187.

[7] LEI L L, ZHANG J L, WEI R, et al. Deciphering the dual role of autophagy in gastric cancer and gastroesophageal junction cancer: From tumor suppression to cancer progression[J]. Discov Oncol, 2025,16(1):1013.

[8] MOORE L D, LE T, FAN G P. DNA methylation and its basic function[J]. Neuropsychopharmacology, 2013,38(1):23-38.

[9] TÓTH D M, SZERI F, ASHABER M, et al. Tissue-specific roles of *de novo* DNA methyltransferases [J]. Epigenetics Chromatin, 2025,18(1):5.

[10] TAHILIANI M, KOH K P, SHEN Y H, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1[J]. Science, 2009,324(5929):930-935.

[11] WILLIAMS K, CHRISTENSEN J, PEDERSEN M T, et al. TET1 and hydroxymethylcytosine in transcription and DNA methylation fidelity[J]. Nature, 2011,473(7347):343-348.

[12] GAUDET F, HODGSON J G, EDEN A, et al. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation [J]. Science, 2003,300(5618):489-492.

[13] WEI J, XUE S, DU X L, et al. DNMT1 blocks SOX21-repressed CKS2 transcription to promote gastric cancer progression[J]. BMC Cancer, 2025,25(1):1182.

[14] XIE H, WANG H, LI R H, et al. DNMT1 promotes the proliferation and migration of gastric cancer cells by inducing microRNA-125a-5p methylation to promote SERPINE1 protein [J]. World J Gastrointest Oncol, 2025,17(3):98703.

[15] JOSHI S S, BADGWELL B D. Current treatment and recent progress in gastric cancer[J]. CA A Cancer J Clin, 2021,71(3):264-279.

[16] LORDICK F, CARNEIRO F, CASCINU S, et al. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2022,33(10):1005-1020.

[17] CHINESE SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY CSCO DIAGNOSIS AND TREATMENT GUIDELINES FOR COLORECTAL CANCER WORKING GROUP. Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO) diagnosis and treatment guidelines for colorectal cancer 2018 (English version)[J]. Chin J Cancer Res, 2019,31(1):117-134.

[18] SONG J K. A role of protein conformational dynamics in mammalian DNA methylation [J]. Struct Dyn, 2026, 13 (2): 021302.

[19] CHAI G L, LI L, ZHOU W, et al. HDAC inhibitors act with 5-aza-2'-deoxycytidine to inhibit cell proliferation by suppressing removal of incorporated abases in lung cancer cells[J]. PLoS One, 2008,3(6):e2445.

[20] LYKO F. The DNA methyltransferase family: A versatile toolkit for epigenetic regulation[J]. Nat Rev Genet, 2018,19(2):81-92.

[21] KABEYA Y, MIZUSHIMA N, UENO T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing[J]. EMBO J, 2000,19(21):5720-5728.

[22] BJÖRKÖY G, LAMARK T, BRECH A, et al. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death[J]. J Cell Biol, 2005,171(4):603-614.

[23] KUMA A, HATANNO M, MATSUI M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period[J]. Nature, 2004,432(7020):1032-1036.

[24] KOMATSU M, WAGURI S, KOIKE M, et al. Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice[J]. Cell, 2007,131(6):1149-1163.

[25] LEE M, NAM H Y, KANG H B, et al. Epigenetic regulation of p62/SQSTM1 overcomes the radioresistance of head and neck cancer cells *via* autophagy-dependent senescence induction[J]. Cell Death Dis, 2021,12(3):250.

[26] YANG X J, HAN H, DE CARVALHO D D, et al. Gene body methylation can alter gene expression and is a therapeutic target in cancer[J]. Cancer Cell, 2014,26(4):577-590.

[27] ZHAO S L, ZHU S T, HAO X W, et al. Effects of DNA methyltransferase 1 inhibition on esophageal squamous cell carcinoma[J]. Dis Esophagus, 2011,24(8):601-610.

(本文编辑 耿波)

作者书写结构式摘要须知

为便于进行国际间的学术交流和计算机索引,本刊论著部分论文所附的中英文摘要,将采用国际通用的结构式摘要。中文摘要以 350 字左右为宜,英文摘要与中文摘要对应。结构式摘要的内容分为:①目的、②方法、③结果和④结论 4 部分,格式可连续书写不分段落,但要列出上述标题。现将各部分的撰写要求分述如下。①目的(Objective):简要说明研究的目的,说明提出问题的缘由,表明研究的范围和重要性。②方法(Methods):简要说明研究课题的基本设计,使用了什么材料和方法,如何分组对照,研究范围及精确程度,数据是如何取得的,经何种统计学方法处理。③结果(Results):简要列出研究的主要结果和数据,有什么新发现,说明其价值及局限。并给出结果的置信值,统计学显著性检验的确切值。④结论(Conclusion):简要说明经验、论证取得的正确观点及其理论价值或应用价值,是否可推荐或推广等。在英文摘要内容前必须附英文文题,作者署名与第 1 作者单位(包括邮政编码),与原文相同。