基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003614

CMTM6靶向结合HER2促进胃癌细胞增殖、侵袭、迁移和抑制细胞凋亡

张 丹[1]，陈 静[2]

（1.锦州医科大学附属第一医院导管室，锦州 121000；2.锦州医科大学附属第一医院日间化疗中心，锦州 121000）

【摘 要】目的：探讨趋化素因子超家族6（CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing 6，CMTM6）靶向人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）对胃癌细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响及作用机制。**方法：**采用RT-qPCR和Western blot检测CMTM6在胃癌组织、癌旁正常组织和胃癌细胞中的表达水平；在AGS和BGC-823细胞中转染sh-NC和sh-CMTM6后，分别采用CCK8、Transwell和流式细胞术检测细胞增殖、侵袭和迁移，以及凋亡情况。免疫共沉淀（Co-Immunoprecipitation，Co-IP）检测CMTM6和HER2结合情况，放线菌酮（cycloheximide，CHX）检测低表达CMTM6对HER2蛋白稳定性的影响。**结果：**CMTM6 mRNA和蛋白在胃癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织，差异有统计学意义。低表达CMTM6能够明显抑制AGS和BGC-823细胞的增殖、侵袭和迁移，促进细胞凋亡，差异有统计学意义；过表达CMTM6能够显著促进AGS和BGC-823细胞的增殖、侵袭和迁移，抑制细胞凋亡，差异有统计学意义。Co-IP显示CMTM6和HER2存在结合，低表达CMTM6能够显著抑制HER2蛋白的表达，同时降低HER2蛋白稳定性，差异有统计学意义。在AGS和BGC-823细胞中共转染LV-CMTM6和sh-HER2后，能够逆转过表达CMTM6对AGS和BGC-823细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响。**结论：**CMTM6在胃癌组织和胃癌细胞中显著高表达，CMTM6能够靶向结合HER2，促进HER2蛋白的稳定性，进而促进胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，以及抑制胃癌细胞的凋亡。

【关键词】胃癌；趋化素因子超家族6；人表皮生长因子受体2；增殖；侵袭；迁移；凋亡

【中图分类号】R735.2 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2023-08-25

CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing 6 promotes the proliferation, invasion, and migration of gastric cancer cells and inhibits apoptosis through targeted binding to human epidermal growth factor receptor 2

Zhang Dan[1], *Chen Jing*[2]

(*1. Department of Catheterization, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University;*
2. Daytime Chemotherapy Center, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effect and mechanism of action of CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing6 (CMTM6) targeting human epidermal growth factor receptor 2(HER2) on the proliferation, invasion, migration, and apoptosis of gastric cancer cells. ***Methods*:** RT-qPCR and Western blot were used to measure the expression level of CMTM6 in gastric cancer tissue, normal paracancerous tissue, and gastric cancer cells. After AGS and BGC-823 cells were transfected with sh-NC and sh-CMTM6, CCK8 assay, Transwell assay, and flow cytometry were used to detect cell proliferation, invasion, migration, and apoptosis. Co-immunoprecipitation(Co-IP) was used to detect the binding between CMTM6 and HER2, and cycloheximide(CHX) was used to investigate the effect of low-expression CMTM6 on HER2 protein stability. ***Results*:** The mRNA and protein expression levels of CMTM6 in gastric cancer tissue were significantly higher than those in normal paracancerous tissue(P<0.05). The low expression of CMTM6 significantly inhibited the proliferation, invasion, and migration of AGS and BGC-823 cells and promoted cell apoptosis(P<0.05), while overexpression of CMTM6 significantly promoted the proliferation, invasion, and migration of AGS and BGC-823 cells and inhibited cell apoptosis. Co-IP showed the existence of binding between CMTM6 and HER2, and the low expression of CMTM6 significantly inhibited the expression of HER2 protein (P<0.05) and reduced

作者介绍：张 丹，Email：13464305370@163.com，研究方向：胃癌的基础研究。

通信作者：陈 静，Email：zhuiyil202@126.com。

基金项目：辽宁省科学技术基金自然基金资助项目（编号：2019-ZD-0835）。

优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241114.1819.008（2024-11-18）

HER2 protein stability（$P<0.05$）. Co-transfection of LV-CMTM6 and sh-HER2 in AGS and BGC-823 cells could reverse the effect of CMTM6 overexpression on the proliferation, invasion, migration, and apoptosis of AGS and BGC-823 cells. ***Conclusion***: CMTM6 is significantly highly expressed in gastric cancer tissue and cells. CMTM6 can promote HER2 protein stability through targeted binding to HER2, thereby promoting the proliferation, invasion, and migration of gastric cancer cells and inhibiting the apoptosis of gastric cancer cells.

【Key words】gastric cancer; CKLF-like MARVEL transmembrane domain-containing 6; human epidermal growth factor receptor 2; proliferation; invasion; migration; apoptosis

胃癌是全球常见的癌症之一，由于早期疾病症状不明显，且定期筛查率较低，大多数患者在晚期才被诊断[1]。近年来，胃癌的系统治疗，包括化疗、靶向治疗和免疫治疗，已经取得了明显进展。对于可切除的胃癌，围术期化疗已成为标准治疗[2]。对于转移性胃癌，近年来在免疫治疗和生物靶向治疗方面取得进步。目前，基于程序性死亡配体 1（programmed death-ligand 1, PD-L1）、微卫星不稳定性（microsatellite instability, MSI）和人表皮生长因子受体 2（human epidermal growth factor receptor 2, HER2）的靶向治疗为胃癌患者提供了更多的治疗选择[3]。鉴于胃癌患者的整体生存率仍然相对较低，理解并阐述胃癌发生和发展详细机制显得尤为重要。趋化素样因子（chemokine-like factor, CKLF）样 MARVEL 跨膜结构域（CKLF-like MARVEL transmembrane domain containing, CMTM）基因家族包括 CKLF 和 CMTM1-8，其中 CMTM6 的研究主要集中在其抗肿瘤免疫中的功能[4]。然而，关于 CMTM6 在肿瘤发生中的作用尚未完全明确。有报道称 CMTM6 促进颈部鳞状细胞癌（squamous cell carcinoma of neck, NSCC）细胞干性、上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition, EMT）和抑制 T 细胞功能[5]。此外，高表达的 CMTM6 与口腔鳞状细胞癌[6]和胶质瘤[7]的不良预后有关。CMTM6 被发现与非小细胞肺癌[8]和肺腺癌[9]的良好生存率相关。然而，在胃癌中，CMTM6 的表达和生物学特性仍不清楚。本研究拟探讨 CMTM6 对胃癌细胞增殖、侵袭、迁移和凋亡的影响及作用机制。

1 材料与方法

1.1 组织标本

选取锦州医科大学附属第一医院 2022 年 1 月至 2022 年 5 月行腹腔镜下毕Ⅱ式胃癌根除术后的 3 例胃癌患者，男 2 例，女 1 例，分别为 TNM Ⅱ期 2 例（T2N2M0 和 T2N1M0）、Ⅲ期 1 例（T3N2M0）。患者在术中切除胃癌及癌旁正常组织，标本冻存液氮罐中，用于进一步检测。所有患者术前均未接受放化疗和生物治疗等，并签署知情同意书。

1.2 主要试剂

DMEM 培养基、胎牛血清和胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司，CCK8 试剂盒、Trizol 和 RIPA 裂解液购自中国碧云天公司，BCA 蛋白浓度测定试剂盒和 PVDF 膜购自美国赛默飞公司，RNA 反转录和 qPCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司，Transwell 小室和 Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司，蛋白 A/G 磁珠、CHX、一抗和二抗购自美国 Sigma 公司，转染试剂购自美国 Invitrogen 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养与转染 胃正常细胞 GES-1 和胃癌细胞 AGS 和 BGC-823 购自中国科学院上海细胞生物研究所，采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养基在 37 ℃、5%CO_2 平衡湿度培养箱中培养。使用 Lipofectamine 2000 将 shRNA 针对 CMTM6（5'-CCCAAGACAGTGAAAGTAATT-3'）sh-CMTM6 或阴性对照 shRNA 转染到 AGS 和 BGC-823 细胞，其具体操作按照说明书进行。

1.3.2 qRT-PCR 使用 Trizol 试剂从细胞和组织样本中提取总 RNA，并按照生产厂家的指示使用 PrimeScript 反转录酶逆转录成互补 DNA。使用特定引物进行 qRT-PCR，以 GAPDH mRNA 转录本为对照，定量目标基因的相对水平。引物序列为：CMTM6：F：5'-TTTCCACACATGACAGGACTTC-3'，R：5'-GGCTTCAGCCCTAGTGGTAT-3'；GAPDH：F：5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'，R：5'-GAGATGGTGATGGGATTTC-3'。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析 CMTM6 相对表达水平。

1.3.3 CCK-8 方法检测细胞增殖 AGS 和 BGC-823 细胞（每孔 5 000 个细胞）接种到 96 孔板中培养，各组细胞分别培养 24、48、72 和 96 h 后，在最后 1 h 培养期间，向每个孔中加入 10 μL/well 的 CCK-8 试剂，通过测量每个孔的吸光度（450 nm）来确定细胞增殖情况。

1.3.4 侵袭和迁移实验 细胞侵袭实验在 24 孔 Transwell 板（8 μm 孔径）中进行，将 AGS 和 BGC-823 细胞在上层室中加入 FBS 无血清培养基中培养，上层室已涂有 Matrigel 基质胶，下层室加入完整培养基，培养 24 h。用棉球清除上层室上表面的细胞，已侵入上层室下的细胞用 0.5% 戊二醛固定并用 0.5% 甲苯胺蓝染色，然后在光学显微镜下进行拍照。在迁

移实验中上层室中不加入基质胶，在每个膜上的3个视野中对细胞计数。

1.3.5 流式细胞术 AGS和BGC-823细胞用预冷的PBS洗涤2次，加入10 μL Annexin V-FITC和5 μL碘化丙啶染色液（0.25 mg/mL），轻轻混匀，室温避光孵育20 min，用流式细胞仪进行检测。

1.3.6 Western blot法 收集转染24 h后的细胞，常规提取细胞总蛋白，BCA蛋白质测定试剂盒测量细胞裂解上清液中的蛋白质浓度，SDS-PAGE凝胶每孔加入40 μg的待测蛋白，110 V电泳，250 mA电转至PVDF膜，5%非脂肪奶粉的Tris缓冲盐溶液和0.1%Tween-20（TBST）阻断2 h，分别加入CMTM6、Cleaved-caspase-3和HER2一抗4 ℃孵育过夜，TBST洗膜3×10 min，二抗37 ℃孵育1 h，TBST洗膜3×30 min，ECL显影。使用Image J软件进行密度扫描分析蛋白质表达的相对水平。

1.3.7 免疫组化 胃癌组织和癌旁正常组织被固定并石蜡包埋。切片（4 μm）脱蜡和水化，然后在pH 6.0柠檬酸盐缓冲液中进行抗原修复，在微波中加热10 min。随后，在3%的过氧化氢溶液中孵育，并使用5%牛血清白蛋白进行阻断。切片在4 ℃下用HER2的一抗抗体孵育过夜。在被洗涤后，使用辣根过氧化物酶偶联的二抗抗体在室温下检测结合的抗体，并使用3,3'-二氨基联苯进行可视化，使用光学显微镜观察。

1.3.8 蛋白稳定性检测 各组细胞培养至70%~80%的密度，用PBS洗涤细胞3次，然后添加含有10 μmol/L CHX的培养基。在不同时间点（0、0.5、1和2 h）收集细胞，用PBS洗涤细胞3次，并制备细胞裂解液，然后就行Western blot检测HER2蛋白的表达水平。

1.3.9 免疫共沉淀 细胞在含有蛋白酶/磷酸酶抑制剂的RIPA裂解缓冲液中裂解。离心后，将细胞裂解液样品与抗CMTM6抗体、抗HER2抗体或对照免疫球蛋白IgG在4 ℃孵育4 h，然后与20 μL Dynabeads在4 ℃下轻轻摇晃过夜。经过3次用冰冷PBS洗涤以去除未结合的抗体，然后通过SDS-PAGE分离珠子上的结合免疫复合物，并分别使用抗HER2或抗CMTM6进行Western blot。

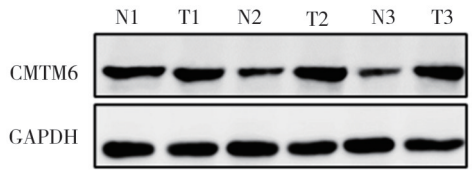
1.4 统计学方法

使用GraphPad Prism 9软件（GraphPad Software）进行统计分析，计量资料用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，2组间比较采用两独立样本t检验或配对t检验，多组间比较采用方差分析，检验水准α=0.05。

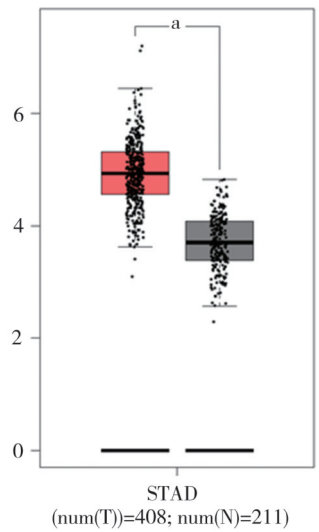
2 结 果

2.1 CMTM6在胃癌组织和细胞中高表达

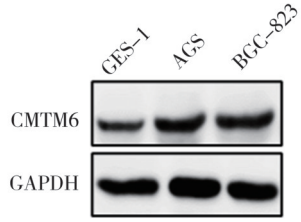
在3对胃癌组织和癌旁正常组织中检测CMTM6蛋白和mRNA的表达水平，与癌旁正常组织相比，CMTM6蛋白（1.00±0.08 vs. 2.21±0.15；t=12.328，P<0.001，图1A）和mRNA（1.00±0.11 vs. 1.82±0.13；t=8.432，P=0.001）的表达水平在胃癌组织中明显上调。同时，在GEPIA数据中CMTM6在胃癌组织中明显高表达（P<0.05，图1B），差异均有统计学意义。与胃正常细胞GES-1相比，CMTM6蛋白（3组间比较：F=93.376，P<0.001；两两比较：GES-1 vs. AGS，P<0.001，GES-1 vs. BGC-823，P<0.001，图1C）和mRNA（3组间比较：F=97.675，P<0.001；两两比较：GES-1 vs. AGS，P<0.001，GES-1 vs. BGC-823，P<0.001）在胃癌细胞AGS和BGC-823中的表达水平明显上调。CMTM6蛋白在GES-1、AGS和BGC-823细胞中的表达量分别为1.00±0.13，2.42±0.15和2.56±0.18；CMTM6 mRNA在GES-1、AGS和BGC-823细胞中的表达量分别为1.00±0.05，1.54±0.09和2.06±0.12。与转染sh-NC组相比，AGS（1.00±0.06 vs. 0.36±0.03，t=16.073，P<0.001）和BGC-823（1.00±0.08 vs. 0.27±0.02，t=14.909，P<0.001）细胞转染sh-CMTM6后，CMTM6的表达水平明显下降。



A. CMTM6蛋白在胃癌组织和癌旁正常组织的表达水平



B. GEPIA数据中CMTM6在胃癌中的表达水平



C. CMTM6蛋白的表达水平

注：a，P<0.05，T，胃癌组织；N，癌旁正常组织

图1 CMTM6在胃癌组织和细胞中的表达水平

2.2 低表达CMTM6抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移

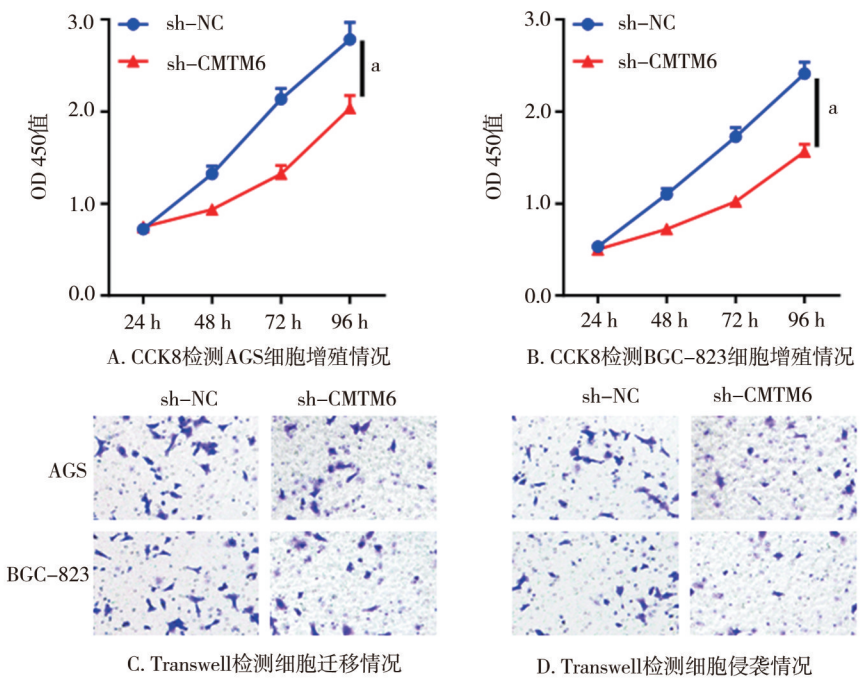
为进一步验证CMTM6对胃癌细胞生物学功能的影响，CCK-8增殖实验显示，与sh-NC组比较，sh-CMTM6组可明显降低AGS细胞（图2A）（时间：F=131.477，P<0.001；组别：F=303.501，P<0.001；时间组别交互：F=20.949，P<0.001）和BGC-823细胞（图2B）（时间：F=298.427，P<0.001；组别：F=497.095，P<0.001；时间组别交互：F=41.116，P<0.001）的增殖能力；Transwell实验显示，与sh-NC组相比，sh-CMTM6组可明显降低AGS和BGC-823细胞的迁移（AGS：25.00 ± 2.00 vs. 15.00 ± 3.00，t=4.804，P=0.009；BGC-823：24.00 ± 2.00 vs. 14.00 ± 1.00，t=7.746，P=0.002，图2C）和侵袭能力（AGS：17.00 ± 2.00 vs. 6.00 ± 1.00，t=8.521，P=0.001；BGC-823：15.00 ± 3.00 vs. 5.00 ± 2.00，t=4.804，P=0.009，图2D）。这提示低表达CMTM6能够明显抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移。

2.3 低表达CMTM6促进胃癌细胞凋亡

流式细胞凋亡实验显示，与sh-NC组相比，sh-CMTM6组可明显促进AGS和BGC-823细胞的凋亡（AGS：5.60 ± 0.42 vs. 12.30 ± 1.37，t=8.126，P=0.001；BGC-823：6.31 ± 0.61 vs. 13.45 ± 1.10，t=9.808，P=0.001，图3A）；Western blot实验显示，与sh-NC组相比，sh-CMTM6组可明显上调AGS和BGC-823细胞中Cleaved-caspase-3的表达水平（AGS：1.00 ± 0.12 vs. 1.95 ± 0.14，t=8.924，P=0.001；BGC-823：1.00 ± 0.08 vs. 2.63 ± 0.18，t=7.746，P<0.001，图3B）。这提示低表达CMTM6能够明显促进胃癌细胞凋亡。

2.4 CMTM6靶向结合HER2促进胃癌细胞增殖、侵袭和抑制细胞凋亡

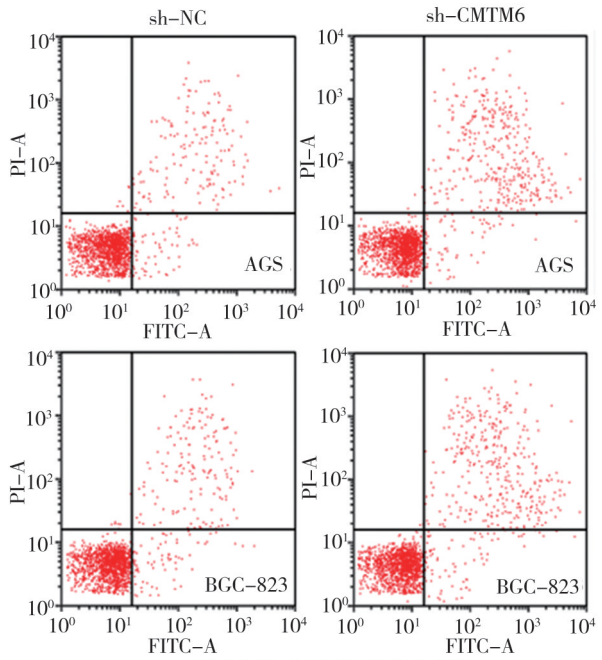
CMTM6能够通过HER2调控乳腺癌的发生发展[10]。在本研究中为验证CMTM6能否通过HER2调控胃癌细胞的生物学功能，在AGS和BGC-823细胞中转染sh-CMTM6后，与转染sh-NC组相比，AGS（1.00 ± 0.13 vs. 0.25 ± 0.03，t=9.737，P<0.001）和BGC-823（1.00 ± 0.09 vs. 0.23 ± 0.01，t=14.728，P<0.001）细胞中HER2蛋白的表达水平明显下调（图4A），Co-IP证实CMTM6和HER2结合情况（图4B），在低表达CMTM6后能够明显抑制HER2蛋白的稳定性，加速HER2蛋白降解（时间：F=62.132，P<0.001；组别：F=121.034，P<0.001；时间组别交互：F=12.602，P<0.001，图4C）。免疫组化显示HER2在胃癌组织中阳性表达（图4D）。Transwell侵袭实验结果显示：与sh-NC组相比，LV-CMTM6组可明显促进AGS和BGC-823细胞的侵袭能力，而同时转染LV-CMTM6和sh-HER2后，对AGS（3组间比较：F=22.071，P=0.002；两两比较：sh-NC，16.00 ± 3.00 vs. LV-CMTM6，27.00 ± 2.00，P=0.001，sh-NC，16.00 ± 3.00 vs. LV-CMTM6+sh-HER2，18.00 ± 1.00，P=0.460）和BGC-823（3组间比较：F=55.500，P<0.001；两两比较：sh-NC，14.00 ± 1.00 vs. LV-CMTM6，25.00 ± 2.00，P<0.001，sh-NC，14.00 ± 1.00 vs. LV-CMTM6+sh-HER2，15.00 ± 1.00，P=0.620）细胞的侵袭能力无影响。流式细胞凋亡实验显示，与sh-NC组相比，LV-CMTM6组可明显抑制AGS和BGC-823细胞的凋亡，而同时转染LV-CMTM6和sh-HER2后，对AGS（3组间比较：F=70.496，P<0.001；两两比较：sh-NC，6.20 ± 0.50 vs. LV-CMTM6，2.50 ± 0.18，P<0.001，sh-NC，6.20 ± 0.50 vs. LV-CMTM6+sh-HER2，6.00 ± 0.52，P=0.800）和BGC-823（3组间比较：F=65.408，P<0.001；两两比较：sh-NC，6.10 ± 0.45 vs. LV-CMTM6，2.80 ± 0.21，P<0.001，sh-NC，6.10 ± 0.45 vs. LV-CMTM6+sh-HER2，5.80 ± 0.46，P=



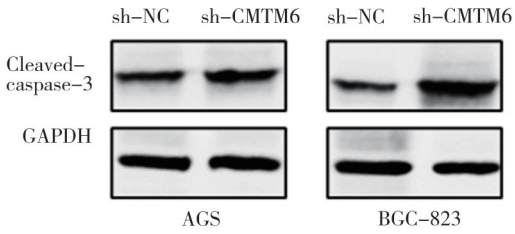
注：a，与sh-NC组比较，P<0.001

图2 低表达CMTM6抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移

0.570）细胞的凋亡率无影响。这提示CMTM6能够靶向结合HER2促进胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，以及抑制胃癌细胞的凋亡。



A. 流式细胞术检测细胞凋亡情况



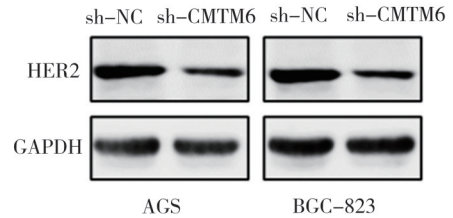
B. Western blot检测Cleaved-caspase-3蛋白的表达水平

图3 低表达CMTM6促进胃癌细胞凋亡

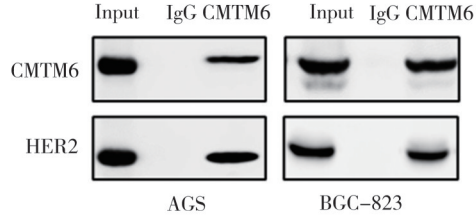
3 讨 论

HER2是一种跨膜酪氨酸激酶受体，属于HER受体家族。研究显示HER2在胃癌中显著高表达，尤其是在肠型和胃食管连接处[11]。HER2过表达与胃癌患者预后不良、侵袭性行为和耐药性有关[12]。曲妥珠单抗是一种针对HER2的单克隆抗体，已经获批用于与化疗联合治疗HER2阳性晚期胃癌，显示出显著的生存益处[7]。然而，曲妥珠单抗耐药是限制其临床疗效的主要挑战。CMTM6已被证明参与多种生物学过程，如免疫调节、细胞分化和肿瘤发生[13]。CMTM6已被确定为PD-L1的关键调节因子，PD-L1是PD-1的配体，介导癌细胞的免疫逃避[14]。CMTM6通过防止PD-L1的泛素化和降解来稳定PD-L1蛋白，从而增强其在细胞表面的表达[7]。CMTM6在多种人类癌症中高度表达，并与患者不良预后和免疫抑制相关。此外，CMTM6已被证明与HER2相互作用，并调节其在乳腺癌细胞中的表达和信号传递，导致曲妥珠单抗耐药[10]。

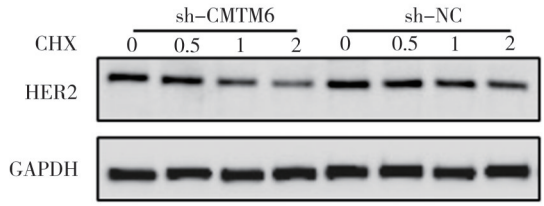
在本研究中纳入3对胃癌组织和癌旁正常组织，CMTM6蛋白和mRNA在胃癌组织中的表达水平显著高于癌旁正常组织，在GEPIA数据库中CMTM6在胃癌组织中显著高表达，同时在胃癌细胞AGS和BGC-823中的表达水平显著上调。在细胞功能验证中，低表达CMTM6能够显著抑制AGS和BGC-823细胞的增殖、侵袭和迁移，促进细胞凋亡；过表达CMTM6能够显著促进AGS和BGC-823细胞的增殖、侵袭和迁移，抑制细胞凋亡。研究显示



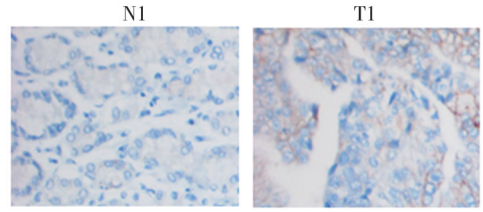
A. Western blot检测HER2蛋白的表达水平



B. Co-IP检测CMTM6和HER2结合情况



C. CHX检测HER2蛋白稳定性



D. 免疫组化检测HER2在胃癌组织和癌旁组织中的表达

图4 CMTM6靶向结合HER2

CMTM6在多种恶性肿瘤中过度表达，与脑胶质瘤、口腔鳞状细胞癌、头颈鳞状细胞癌、肺腺癌、非小细胞肺癌和肝癌的恶性程度相关，并与患者预后不良有关[7,15-16]。在本研究中CMTM6能够抑制胃癌的发生发展。

HER2是属于人表皮生长因子受体家族的跨膜酪氨酸激酶受体[17]，能够通过Ras-丝裂原活化蛋白激酶途径或磷脂酰肌醇3′-激酶（PI3K）/蛋白激酶B（Akt）/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mTOR）途径调控细胞生物学功能[18]。1项涉及多个中心的大规模研究[19]评估了1 148例接受胃切除手术的胃癌患者中HER-2表达的预后影响，结果提示HER2过表达是胃癌患者预后不良的危险因素。1项汇总5 290例胃癌患者的荟萃分析表明，HER-2过表达与患者的OS明显相关，同时HER-2表达水平与Bormann分型、Lauren分类、肿瘤分化程度、淋巴结状态、静脉侵犯和淋巴管侵犯密切相关[20]。在本研究中发现低表达CMTM6能够明显抑制HER-2表达水平，在低表达CMTM6后能够明显抑制HER2蛋白的稳定性，加速HER2蛋白降解。进一步实验证实CMTM6能够靶向结合HER2促进胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，以及抑制胃癌细胞的凋亡。

综上所述，CMTM6在胃癌组织和胃癌细胞中显著高表达，CMTM6能够靶向结合HER2，促进HER2蛋白的稳定性，进而促进胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移，以及抑制胃癌细胞的凋亡。CMTM6可能成为胃癌的治疗靶点。

参 考 文 献

[1] Thrift AP, El-Serag HB. Burden of gastric cancer[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2020, 18(3): 534-542.

[2] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer[J]. Lancet, 2020, 396(10251): 635-648.

[3] Tang SY, Zhou PJ, Meng Y, et al. Gastric cancer: an epigenetic view[J]. World J Gastrointest Oncol, 2022, 14(1): 90-109.

[4] Wang HF, Fan Y, Chen WH, et al. Loss of CMTM6 promotes DNA damage-induced cellular senescence and antitumor immunity[J]. Oncoimmunology, 2022, 11(1): 2011673.

[5] Chen L, Yang QC, Li YC, et al. Targeting CMTM6 suppresses stem cell-like properties and enhances antitumor immunity in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(2): 179-191.

[6] Zheng Y, Wang CD, Song A, et al. CMTM6 promotes cell proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma by interacting with NRP1[J]. Am J Cancer Res, 2020, 10(6): 1691-1709.

[7] Guan XD, Zhang CB, Zhao JY, et al. CMTM6 overexpression is associated with molecular and clinical characteristics of malignancy and predicts poor prognosis in gliomas[J]. EBioMedicine, 2018, 35: 233-243.

[8] Hou XY, He SS, Zhang DQ, et al. Expression and clinical significance of CMTM6 in nonsmall cell lung cancer[J]. DNA Cell Biol, 2020: 120-129.

[9] Wang H, Gao JP, Zhang RF, et al. Molecular and immune characteristics for lung adenocarcinoma patients with CMTM6 overexpression [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83: 106478.

[10] Xing F, Gao HL, Chen GL, et al. CMTM6 overexpression confers trastuzumab resistance in HER2-positive breast cancer[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 6.

[11] Zhao D, Klempner SJ, Chao J. Progress and challenges in HER2-positive gastroesophageal adenocarcinoma[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 50.

[12] Meric-Bernstam F, Johnson AM, Dumbrava EEI, et al. Advances in HER2-targeted therapy: novel agents and opportunities beyond breast and gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(7): 2033-2041.

[13] Zhao YB, Zhang MH, Pu HH, et al. Prognostic implications of pan-cancer CMTM6 expression and its relationship with the immune microenvironment[J]. Front Oncol, 2020, 10: 585961.

[14] Zugazagoitia J, Liu YT, Toki M, et al. Quantitative assessment of CMTM6 in the tumor microenvironment and association with response to PD-1 pathway blockade in advanced-stage non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(12): 2084-2096.

[15] Liu LL, Zhang SW, Chao X, et al. Coexpression of CMTM6 and PD-L1 as a predictor of poor prognosis in macrotrabecular-massive hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(2): 417-429.

[16] Mezzadra R, Sun C, Jae LT, et al. Identification of CMTM6 and CMTM4 as PD-L1 protein regulators[J]. Nature, 2017, 549(7670): 106-110.

[17] Singh K, Tantravahi U, Lomme MM, et al. Updated 2013 College of American Pathologists/American Society of Clinical Oncology (CAP/ASCO) guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) fluorescent *in situ* hybridization (FISH) testing increase HER2 positive and HER2 equivocal breast cancer cases; retrospective study of HER2 FISH results of 836 invasive breast cancers[J]. Breast Cancer Res Treat, 2016, 157(3): 405-411.

[18] Pattanayak B, Lameirinhas A, Torres-Ruiz S, et al. Role of SALL4 in HER2+ breast cancer progression: regulating PI3K/AKT pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(21): 13292.

[19] Kurokawa Y, Matsuura N, Kimura Y, et al. Multicenter large-scale study of prognostic impact of HER2 expression in patients with resectable gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2015, 18(4): 691-697.

[20] Liang JW, Zhang JJ, Zhang T, et al. Clinicopathological and prognostic significance of HER2 overexpression in gastric cancer: a meta-analysis of the literature[J]. Tumour Biol, 2014, 35(5): 4849-4858.

（责任编辑：周一青）