

FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌患者血浆中的表达及诊断价值

张思宇, 曹娜, 陈明凯, 张立达, 白阳秋, 杨玉秀

张思宇, 陈明凯, 张立达, 白阳秋, 杨玉秀, 郑州大学人民医院消化内科 河南省郑州市 450003

曹娜, 河南警察学院 河南省郑州市 450000

张思宇, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

河南省重点科技攻关基金资助项目, No. 132102310444

作者贡献分布: 此课题由杨玉秀、张思宇及白阳秋设计; 病例选取、样本取材和研究过程由张思宇、曹娜、陈明凯及张立达完成; 研究用试剂与分析工具由杨玉秀提供; 数据分析与文章写作由张思宇完成; 文章修改与审阅由杨玉秀完成。

通讯作者: 杨玉秀, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450003, 河南省郑州市纬五路7号, 郑州大学人民医院消化内科。
yangyuxiu55@126.com
电话: 0317-65580767

收稿日期: 2015-10-14

修回日期: 2015-11-08

接受日期: 2015-11-17

在线出版日期: 2015-12-28

Diagnostic value of plasma HLA-F adjacent transcript 10 mRNA expression in patients with hepatocellular carcinoma or colon cancer

Si-Yu Zhang, Na Cao, Ming-Kai Chen, Li-Da Zhang, Yang-Qiu Bai, Yu-Xiu Yang

Si-Yu Zhang, Ming-Kai Chen, Li-Da Zhang, Yang-Qiu Bai, Yu-Xiu Yang, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China

Na Cao, He'nan Police College, Zhengzhou 450000, He'nan Province, China

Supported by: Key Scientific and Technological Research Project of He'nan Province, No. 132102310444

Correspondence to: Yu-Xiu Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Zhengzhou University, 7 Weiwu Road, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China. yangyuxiu55@126.com

Received: 2015-10-14

Revised: 2015-11-08

Accepted: 2015-11-17

Published online: 2015-12-28

Abstract

AIM: To detect plasma levels of human leukocyte antigen (HLA)-F adjacent transcript 10 (FAT10) mRNA in patients with hepatocellular carcinoma (HCC) or colon cancer (CC), and to assess its diagnostic value.

METHODS: Blood samples were collected from 70 patients with HCC, 60 patients with cirrhosis, 64 patients with CC, and 64 healthy volunteers. The expression levels of plasma FAT10 mRNA and α -fetoprotein (AFP) protein were measured by RT-PCR and ELISA, respectively.

RESULTS: The positive rates of FAT10 mRNA in plasma of patients with HCC, those with cirrhosis and healthy controls were 72.85%, 28.3% and 12.5%, respectively, and there were significant differences in the three groups ($P < 0.05$). High expression levels of FAT10 mRNA in HCC were related to TNM stage and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The positive rate of FAT10 mRNA was also significantly higher in CC patients than in healthy controls ($P < 0.05$). The up-regulation of FAT10 mRNA in CC was closely related to Duke's stage and distance

■背景资料

肝癌和结肠癌均是世界上最常见的恶性肿瘤, 其早期诊断可提高手术预后, 以往研究表明FAT10 mRNA在肝癌组织和结肠癌组织中高表达, 与肿瘤的发生发展、侵袭转移和预后密切相关, 但是其在血浆水平对肝癌和结肠癌的诊断价值并不清楚。

■同行评议者

刘云鹏, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤内科; 李正荣, 副教授, 副主任医师, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区)

■ 研究前沿

人类白细胞抗原FAT10是类泛素(ubiquitin, Ub)蛋白家族成员,在人体组织中已有证据表明FAT10 mRNA表达水平与肿瘤细胞的发生及侵袭能力相关, *FAT10*基因可以作为肝癌治疗的潜在靶点。本课题主要检测FAT10在肝癌和结肠癌中的表达情况并初步探讨其表达同临床特点的关系及诊断价值。

metastasis. FAT10 mRNA had a sensitivity of 66.6% for diagnosis of AFP-negative HCC. Furthermore, the FAT10 mRNA had a sensitivity of 68.8% and specificity of 79.8% in distinguishing small HCC patients from non-HCC individuals (cirrhosis patients and healthy controls). Combined AFP and FAT10 mRNA detection could improve the sensitivity to 84.4%.

CONCLUSION: FAT10 mRNA is a promising serological marker for HCC and CC. Plasma FAT10 mRNA and AFP protein could be combined to improve the diagnosis of HCC.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Colon cancer; FAT10 mRNA; α -fetoprotein; Real time fluorescence quantitative PCR

Zhang SY, Cao N, Chen MK, Zhang LD, Bai YQ, Yang YX. Diagnostic value of HLA-F adjacent transcript 10 mRNA expression in patients with hepatic cellular carcinoma or colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(36): 5775-5783 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5775.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i36.5775>

摘要

目的: 探索血浆中人类白细胞抗原FAT10 (human leukocyte antigen -F adjacent transcript 10, HLA-FAT10) mRNA表达水平, 评估其对肝癌和结肠癌的诊断价值。

方法: 收集70例肝癌、60例肝硬化、64例结肠癌和64例健康对照者的血浆, 应用实时荧光定量PCR(RT-PCR)和酶联吸附试验(ELISA)法检测FAT10 mRNA和甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)蛋白的表达水平。采用SPSS21.0统计软件进行数据分析。

结果: FAT10 mRNA在肝癌、肝硬化、健康对照组中的阳性表达率分别为72.85%, 28.3%和12.5%, 三者之间差异显著($P<0.05$), 其高表达与肝癌TNM分期及淋巴结转移有关($P<0.05$)。FAT10 mRNA在结肠癌的阳性表达率明显高于健康对照组($P<0.05$), 其上调表达与结肠癌Duke's分期和远处转移相关($P<0.05$)。在AFP阴性肝癌中FAT10 mRNA的诊断灵敏度为66.6%。小肝癌与非肝癌组(肝硬化和健康组)比较时, FAT10 mRNA的灵敏度为68.8%, 特异度为79.8%, 联合AFP蛋白

后, 诊断灵敏度提高至84.4%。

结论: FAT10 mRNA有可能成为肝癌和结肠癌诊断中的一个新的血清学指标, 且可以应用于AFP阴性肝癌的辅助诊断, 联合FAT10 mRNA和AFP蛋白可以提高肝癌的诊断率。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝癌; 结肠癌; FAT10 mRNA; 甲胎蛋白; 实时荧光定量

核心提示: 本文应用RT-PCR方法和ELISA方法分别检测肝癌、结肠癌、肝硬化、健康对照组血浆中FAT10 mRNA和甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)的浓度。结果显示肝癌及结肠癌中FAT10 mRNA高表达。且FAT10 mRNA在小肝癌、AFP阴性肝癌也具有一定的诊断价值。因此, FAT10 mRNA的此种表达异常可能参与了肝癌和结肠癌的恶性生物学行为, 对临床肝癌和结肠癌的诊疗具有一定的价值。

张思宇, 曹娜, 陈明凯, 张立达, 白阳秋, 杨玉秀. FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌患者血浆中的表达及诊断价值. *世界华人消化杂志* 2015; 23(36): 5775-5783 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/5775.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i36.5775>

0 引言

肝癌和结肠癌都是目前世界最常见的恶性肿瘤。在中国, 肝癌和结肠癌的病死率在恶性肿瘤中分别排名第3位和第5位^[1,2], 且近年来结肠癌的患病率明显增加。肝癌起病隐匿, 早期缺乏典型症状, 出现临床症状者大多已进入中晚期, 极易漏诊或误诊。对肝癌患者进行早期诊断并及时采取有效治疗措施是提高肝癌预后的重要手段^[3-5]。迄今为止, 甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)在肝癌早期诊断中一直是个重要指标, 但他在相当一部分慢性肝炎、肝硬化等患者血清中均可呈现非特异性升高, 在早期肝癌中有40%的AFP为阴性^[6-8]。超声(ultrasonography, US)检查对<10 mm的肝癌诊断有一定的局限性^[4], 肝组织活检为有创检查且不为大多数疑似肝癌患者所接受。因此寻找新的特异性血清学肿瘤标志物, 提高肝癌和结肠癌的早期诊断率具有十分重要的临床意义。

人类白细胞抗原FAT10(human leukocyte

antigen-F adjacent transcript 10, HLA-FAT10) mRNA位于人类6号染色体上, I型主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)编码区域的末端, 紧挨HLA的F区, 由此而得名^[9,10]. FAT10 mRNA定位于真核生物细胞核, 通过非共轭结合人类纺锤体检查位点MAD2参与细胞循环管理, MAD2的异常调节和染色体不稳定性有关^[11,12]. 最近发现, FAT10 mRNA可通过诱导细胞循环和染色体不稳定性参与修饰肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)功能, 而染色体不稳定性可能会导致肿瘤形成^[13-15]. 在前期相关试验中我们应用含有19378个已知基因的寡核苷酸芯片筛选出肝癌组织差异基因表达谱, 发现FAT10 mRNA是一个明显高表达的基因^[16]. 同时我们还探讨了MCM6和CAP2等作为独立诊断标志物在肝癌诊断中的应用价值^[17,18]. 有研究^[19,20]证明, *FAT10*基因在炎症环境下的肝癌和结直肠癌组织中高表达. 但是, 血浆中FAT10 mRNA表达水平以及可否作为肝癌和结肠癌的一种血清学诊断标志目前还未有研究. 本实验目的是测定FAT10 mRNA在血浆中的表达水平, 评估其临床诊断价值.

1 材料和方法

1.1 材料 70例肝癌、64例结肠癌来自2014-06/2015-02河南省人民医院肝胆外科和消化内科住院患者, 另选同期住院肝硬化患者60例、健康体检者64例为对照. 70例肝癌中男51例、女19例, 年龄54.03岁 \pm 8.93岁. 将所有肝癌患者进行TNM分期, 另外使用Child-Pugh方法进行肝脏功能分级. 结肠癌患者男38例, 女26例, 年龄53.55岁 \pm 6.56岁, 使用Duke's方法进行分期. 肝癌及结肠癌血样本收集前均未行放疗或化疗, 且经术后病理证实. 所有患者均签署知情同意书, 本研究经医院伦理委员会批准. TRIzol试剂, 美国Invitrogen公司; 紫外分光光度计UV-2450型, 日本岛津公司; RT-PCR试剂盒, 日本TaKaRa公司; 目的基因*FAT10*扩增引物由合成; 内参基因*GAPDH*扩增引物购自日本TaKaRa公司; AFP-ELISA试剂盒, Novatein Biosciences, Cambridge, MA, 02138, USA; 96孔酶标仪BIO-RAD680, 美国Bio-Rad公司.

1.2 方法

1.2.1 样本采集: 手术前晨起空腹抽取5 mL外

周静脉血置于EDTA-抗凝管内, 立即常温下3500 r/min, 离心15 min, 分装入微型离心管内, -80 °C冰箱内备用.

1.2.2 实时荧光定量PCR: (1)提取总RNA: 用TRIzol试剂分别提取肝癌、结肠癌、肝硬化和正常对照组血浆中的总RNA; 紫外分光光度计检测总RNA吸光度, 若 $A_{260/280}$ 在1.8-2.0之间说明所提取的RNA纯度良好; (2)逆转录合成cDNA: 按照反转录试剂盒说明操作. 反应体系为10 μ L, 反应条件为42 °C 2 min; 随后, 在上述反应液基础上进行cDNA反转录合成, 反应体系共20 μ L, 反应条件为37 °C 15 min, 85 °C 5 s; (3)实时荧光定量PCR: 应用扩增仪SYBR Ex.Taq试剂混合染料进行RT-PCR反应, 按照RT-PCR试剂盒说明书操作. PCR反应体系为20 μ L, 包括2 μ L样本cDNA, 0.8 μ L正、反引物(表1), 0.4 μ L Rox reference dye (50 \times), 10 μ L SYBR premix Ex Taq he, 6 μ L无RNA酶水. PCR扩增条件为95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 31 s; 进行40个PCR循环; (4)扩增结果: PCR反应结束后出现熔解曲线. 以内参基因*GAPDH*为标准, 所有样本均设副孔, 并重复试验取平均值去除误差. 计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示样品中FAT10初始cDNA的相对表达量. ΔC_t = 样品 C_t -内参 C_t , $\Delta\Delta C_t$ = ΔC_t -(随机阴性对照样品 C_t 均值-该样品的内参 C_t 均值).

1.2.3 ELISA检测: 实验前规划空白孔、标准品孔、样本孔, 每孔均设置副孔, 严格按照AFP-ELISA试剂盒说明书进行操作. 实验结束后, 利用96孔酶标仪测出每孔相应的 A 值. 根据标准品绘制标准曲线, 通过已知标准品浓度值计算样品浓度值.

统计学处理 应用SPSS21.0统计学软件, 卡方检验方法分析各组之间FAT10 mRNA相对表达频率差异, 并使用平行诊断方法应用灵敏度分析FAT10 mRNA和AFP蛋白联合诊断价值. AFP蛋白计量资料以中位数(四分位数)表示, FAT10 mRNA相对表达量 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组间均数比较采用 t 检验、Wilcoxon秩和检验, 多组间比较采用方差分析, Kruskal-Wallis秩和检验, 双侧检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 实时荧光定量PCR 样本 C_t 值 < 32 时, FAT10 mRNA扩增曲线均为S型, 可见各样品扩增效率较一致, 样本重复性好, 熔解曲线为单峰, 熔

■ 相关报道

Ren等发现FAT10 mRNA和染色体不稳定性有关, 从而参与肿瘤形成. Liu等发现*FAT10*基因参与细胞循环周期的管理及修饰细胞循环相关蛋白, 并通过Akt/GSK3 β 途径促进肝癌细胞增殖、凋亡和入侵.

■ 创新点

本文拟通过实验提出血浆FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌中呈现高表达, 并且可以作为甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)的补充, 应用于AFP阴性肝癌和小肝癌, 联合FAT10 mRNA和AFP提高肝癌诊断灵敏度, 因此FAT10 mRNA可能成为肝癌和结肠癌新的分子标志物。

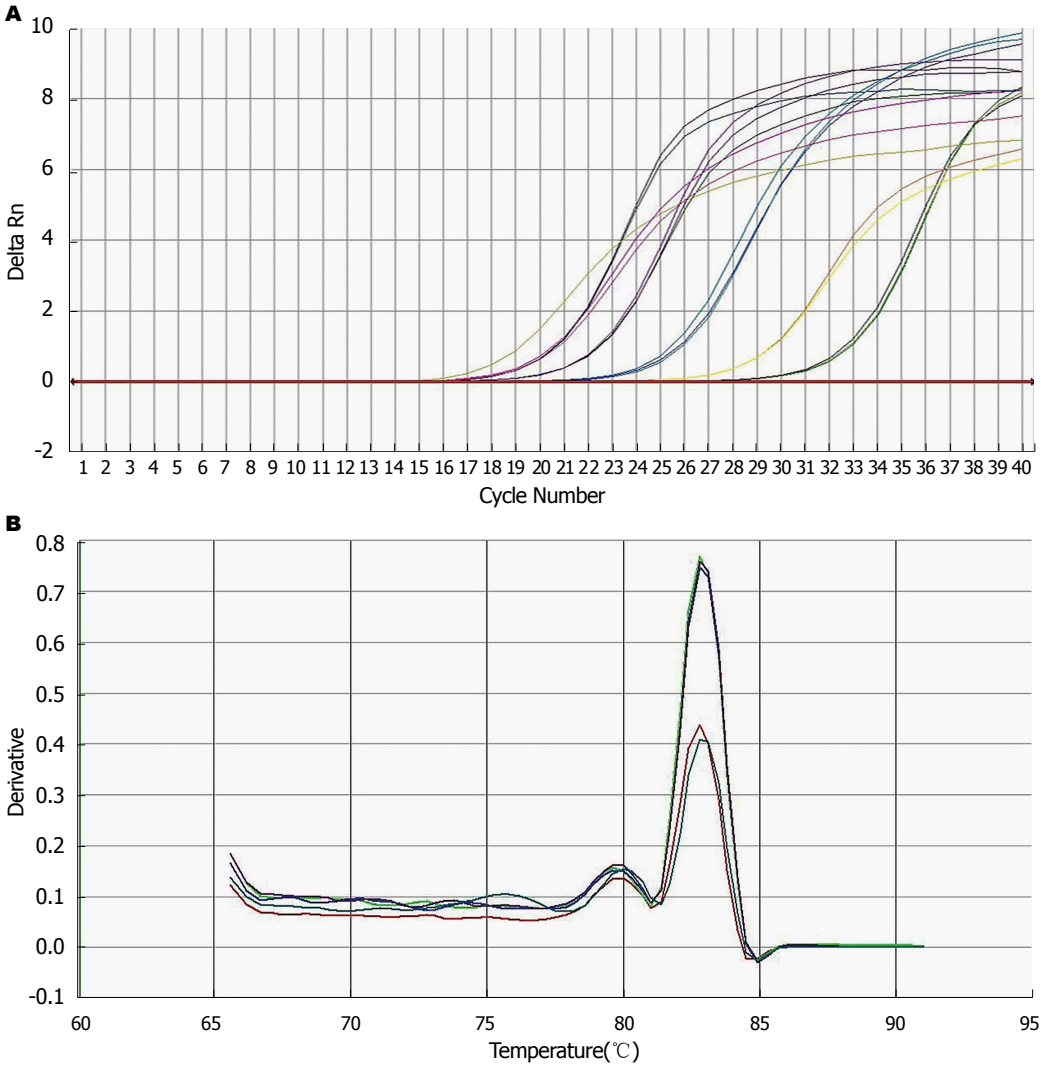


图 1 部分FAT10 mRNA扩增曲线和熔解曲线. A: 扩增曲线; B: 熔解曲线.

表 1 RT-PCR引物序列		
基因	序列	产物长度(bp)
FAT10 mRNA	上游引物: 5'-CAATGCTTCCTGCCTCTGTG-3'	297
	下游引物: 5'-TGCCTCTTTGCCTCATCACC-3'	
GAPDH	上游引物: 5'-ACCCAGAAGACTGTG GATGG-3'	138
	下游引物: 5'-TGCTGTAGCCAAATTCGTTG-3'	

GAPDH: 3-磷酸甘油醛脱氢酶.

解温度与目的基因产物相一致, 可排除二聚体及其他产物(图1). Ct>32时, 扩增曲线呈不规则波浪线, 为目的基因阴性表达.

2.2 肝癌患者血浆FAT10 mRNA及AFP蛋白表达水平 肝癌实验组血浆FAT10 mRNA的阳性表达率为72.85%(51/70), 肝硬化、健康组血浆FAT10 mRNA的阳性表达率分别为28.3%(17/60)和12.5%(8/64), 三者之间比较

差异具有统计学意义($P<0.01$); 肝癌组分别与肝硬化组($\chi^2 = 21.29, P<0.01$)和正常组($\chi^2 = 32.19, P<0.01$)比较均具有显著差异, 肝硬化组与健康组比较差异无明显统计学意义($\chi^2 = 2.42, P>0.05$). 3组中FAT10 mRNA的相对表达量分别为 6.83 ± 3.37 、 2.14 ± 0.70 、 1.08 ± 0.46 , 差异有统计学意义($F = 27.20, P<0.01$)(表2, 图2). AFP蛋白在肝癌、肝硬化、健康组的表

表 2 FAT10 mRNA和AFP蛋白在各组表达水平

分组	n	FAT10 mRNA		阳性率(%)	$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值	AFP浓度(ng/mL) M(QR)
		阳性	阴性			
肝癌组	70	51	19	72.8	6.83 ± 3.37	99.15(19.71-270.16)
肝硬化组	60	17	43	28.3	2.14 ± 0.70	29.08(15.57-51.24)
正常人组	64	8	56	12.5	1.08 ± 0.46	11.11(7.01-20.54)
结肠癌组	64	38	26	59.4	4.04 ± 3.33	-

AFP: 甲胎蛋白.

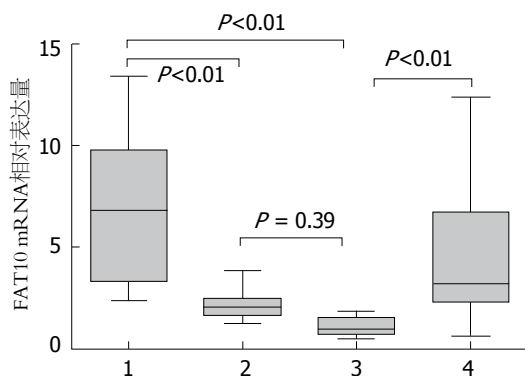


图 2 FAT10 mRNA在各组的相对表达水平. 1: 肝癌组; 2: 肝硬化组; 3: 健康组; 4: 结肠癌组.

达水平(ng/mL)分别是99.15(19.71-270.16)、29.08(15.57-51.24)、11.11(7.01-20.54), 三者之间差异具有统计学意义, 肝癌组明显高表达于肝硬化组和正常组($\chi^2 = 45.82$, $P < 0.001$)(表2).

2.3 肝癌患者血浆FAT10 mRNA表达水平与临床病理因素之间的关系 70例肝癌患者的详细资料及临床病理特点如表2. 资料显示, FAT10 mRNA的高表达与肝癌患者的年龄、性别、乙型肝炎病毒或丙型肝炎病毒感染情况、肿瘤大小、Child-Pugh分级、分化程度、有无血管侵犯无关($P > 0.05$), 而与肝癌TNM分期($\chi^2 = 8.47$, $P < 0.05$)、淋巴结转移显著相关($\chi^2 = 5.44$, $P < 0.05$)(表3).

2.4 FAT10 mRNA在结肠癌患者血浆中的表达及与临床病理特征的关系 结肠癌组FAT10 mRNA相对表达量为 4.04 ± 3.33 , 阳性表达率为59.4%(38/64), 与健康组比较差异具有显著的统计学意义($\chi^2 = 19.05$, $P < 0.01$). 相关因素分析显示, FAT10 mRNA表达水平与结肠癌患者的年龄、性别、肿瘤直径、肿瘤分化程度无显著相关($P > 0.05$), 而与肿瘤Duke's分期($\chi^2 = 5.63$, $P < 0.05$)及远处转移相关($\chi^2 = 6.05$, $P < 0.05$)(表2, 4).

2.5 FAT10 mRNA在AFP阴性肝癌和小肝癌的表达 70例肝癌中AFP阴性肝癌18例, 小肝癌16例, FAT10 mRNA在AFP阴性肝癌中和小肝癌中分别有12例和11例表达阳性. 表明FAT10 mRNA对AFP阴性肝癌和小肝癌具有明显诊断价值.

2.6 FAT10 mRNA与AFP联合检测对肝癌的诊断价值 鉴于肝癌早期诊断对肝癌预后的重要性, 本研究采取平行诊断试验以期提高灵敏度. 根据国际推荐标准选择25 ng/mL作为AFP临界值时, AFP对肝癌的诊断灵敏度为72.9%, FAT10 mRNA与AFP蛋白两者联合诊断肝癌可使诊断灵敏度提高至85.7%. 在小肝癌中AFP诊断灵敏度仅为37.5%, 联合FAT10 mRNA灵敏度提高至84.4%(表5).

3 讨论

泛素(ubiquitin, Ub)最先由Goldstein在1975年从胸腺中分离出来, 有76个氨基酸残基组成的高度保守的一种蛋白质, 在真核生物中普遍存在^[21]. Ub在调节细胞多种生物学过程如细胞周期循环、细胞凋亡、基因转录、DNA修复及免疫应激等过程中起着重要作用, 他的功能异常会导致恶性肿瘤的发生^[22,23]. 近年发现真核生物细胞中存在与Ub序列和功能相近的小分子蛋白质, 即类Ub家族, 其主要分为两个亚家族: Ub结构域蛋白家族(ubiquitin domain proteins, UDPs)和类Ub修饰蛋白家族(ubiquitin like modifiers, UBLs)^[23-25]. 其中UDPs代表成员RAD23、Dsk2、ElonginB、Bag1等, 可以与Ub及Ub修饰蛋白质发生非共价结合. UBLs代表成员有ISG15、NEDD8、SUMO等, 具有同Ub单体或二聚体同源的结构域, 在特异性E1、E2、E3酶的作用下, 可通过C末端的双甘氨酸基团与底物蛋白共价结合, 进而调控细胞

应用要点

应用分子生物学相关技术检测肝癌和结肠癌血浆FAT10 mRNA的表达情况, 评估其诊断价值. 以后有望成为常规的临床肿瘤筛查手段, 使其成为早期诊断标志物及潜在预后预测因子.

■名词解释

Ub: 一种高保守76氨基酸多肽, 在链接靶蛋白中起重要作用, 通过26S蛋白酶体途径标记蛋白使之降解. FAT10是一种18 kDa蛋白, 包含165个氨基酸残基及两个亚胺融合基团, 在正常人成熟B细胞和树突状细胞中表达并参与抗原呈递过程.

表 3 FAT10 mRNA表达与肝癌患者临床病理学特征的关系

临床病理因素	n	FAT10 mRNA		χ^2 值	P值
		阳性	阴性		
年龄(岁)				1.543	0.214 ¹
>50	45	35	10		
≤50	25	16	9		
性别				0.489	0.484 ¹
男	51	36	15		
女	19	15	4		
肿瘤直径(cm)					
>5	32	25	7	1.432	0.489 ²
>2及≤5	22	14	8		
≤2	16	12	4		
HBsAg				2.185	0.139 ¹
+	56	43	13		
-	14	8	6		
HCVAb				1.545	0.241 ¹
+	12	7	5		
-	58	44	14		
Child-Pugh分				1.802	0.406 ²
A级	36	26	10		
B级	20	13	7		
C级	14	12	2		
TNM分期				8.470	0.004 ¹
III+IV	48	40	8		
I + II	22	11	11		
分化程度				2.944	0.229 ²
高	15	12	3		
中	39	30	9		
低	16	9	7		
肿瘤有无血管侵犯				2.952	0.086 ¹
有	51	40	11		
无	19	11	8		
有无淋巴结转移				5.440	0.020 ¹
有	22	12	10		
无	48	39	9		

¹Mann-Whitney U test; ²Kruskal-Wallis test; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原; HCVAb: 丙型肝炎病毒抗体.

周期及信号, 在肿瘤发生发展过程中起着重要作用^[24-26]. FAT10作为类Ub家族的一员, 他在90%的肝癌组织中上调表达^[27,28]. 同时, FAT10 mRNA还被发现在胃肠道肿瘤和女性生殖系统肿瘤组织中有不同程度上调表达^[27-29]. 最近的研究^[30,31]表明, *FAT10*基因可以通过管理细胞循环周期和监控细胞循环相关性蛋白如CDK4、CDK6、PCNA和周期蛋白D1等促进肝癌细胞增殖, 认为*FAT10*基因可能通过Akt/GSK3 β 途径促进肝癌细胞增殖、凋亡和浸润. 本研究显示, FAT10 mRNA在肝癌患者血

浆中具有较高的阳性表达率, 在结肠癌患者血浆中也具有较高的表达水平. 据此, FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌诊断中可能会作为一个新的潜在的血清学诊断指标. 还发现FAT10 mRNA的高表达与肝癌的TNM分期、及淋巴结转移显著相关($P<0.05$), 有淋巴结转移者表达水平明显高于无淋巴结转移者. FAT10 mRNA在结肠癌中的表达水平与肿瘤Duke's分期及远处转移密切相关($P<0.05$), Duke's分期C、D期患者血浆FAT10 mRNA表达水平明显高于A、B期患者. 这些结果提示, FAT10

表 4 FAT10 mRNA表达与结肠癌患者临床病理学特征的关系

临床病理因素	n	FAT10 mRNA		χ^2 值	P值
		阳性	阴性		
年龄(岁)				0.925	0.567 ¹
>50	40	24	18		
≤50	24	14	10		
性别				0.656	0.418 ¹
男	38	21	17		
女	26	17	9		
肿瘤直径				0.367	0.545 ¹
≥5 cm	30	19	11		
<5 cm	34	19	15		
Duke's分级				5.630	0.018 ¹
A+B	28	12	16		
C+D	36	26	10		
分化程度				0.246	0.876 ²
高	30	20	10		
中	21	12	9		
低	13	6	7		
有无远处转移				6.050	0.014 ¹
有	15	13	2		
无	49	25	24		

¹Mann-Whitney *U* test; ²Kruskal-Wallis test.

表 5 FAT10 mRNA和AFP联合诊断肝癌灵敏度和特异度比较

分组	n	指标	临界值(ng/mL)	灵敏度(%)	特异度(%)
肝癌组	70	AFP	25.0	72.9	71.0
		FAT10 mRNA		72.8	79.8
		AFP+FAT10 mRNA		85.7	71.0
小肝癌组	16	AFP	25.0	37.5	71.0
		FAT10 mRNA		68.8	79.8
		AFP+FAT10 mRNA		84.4	68.5
AFP阴性肝癌组	18	FAT10 mRNA		66.6	79.8

AFP: 甲胎蛋白.

mRNA可能与肝癌和结肠癌的发生以及肿瘤细胞侵犯周围或远处组织器官有关,提示FAT10 mRNA可能成为判断肝癌和结肠癌预后的特异性指标,虽然这一结论尚需进一步研究术后血浆FAT10 mRNA的表达水平,并进行大量患者预后随访予以证实.由于AFP与FAT10 mRNA无相关性($Z = -1.136, P = 0.256$),FAT10 mRNA为独立于AFP的诊断指标,可与AFP联合应用于肝癌的诊断.在AFP阴性肝癌中,FAT10 mRNA有较高的阳性表达率(66.7%),表明FAT10 mRNA可作AFP阴性肝癌诊断的重

要指标.在肝癌包括小肝癌中联合检测FAT10 mRNA和AFP可使诊断灵敏度增加,提示了联合应用的前景.

总之,FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌诊断中,可以作为新的潜在血清学标志物,并且可应用于AFP阴性肝癌的辅助诊断,联合检测AFP和FAT10 mRNA有望提高肝癌的早期诊断正确率.

4 参考文献

- 1 Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, Ferlay J. Worldwide burden

同行评价

本文通过使用RT-PCR和ELISA方法发现,FAT10 mRNA在肝癌和结肠癌诊断中,可以作为新的潜在血清学标志物.同时联合AFP和FAT10 mRNA可以提高肝癌的早期诊断率.该文章思路清晰,研究内容合理,文章具有一定创新性,有一定的科学意义.

- of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol* 2011; 22: 2675-2686 [PMID: 21471563 DOI: 10.1093/annonc/mdr015]
- 2 Lagadec P, Griessinger E, Nawrot MP, Fenouille N, Colosetti P, Imbert V, Mari M, Hofman P, Czerucka D, Rousseau D, Berard E, Dreano M, Peyron JF. Pharmacological targeting of NF-kappaB potentiates the effect of the topoisomerase inhibitor CPT-11 on colon cancer cells. *Br J Cancer* 2008; 98: 335-344 [PMID: 18182997 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604082]
- 3 Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245-1255 [PMID: 22353262 DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0]
- 4 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011; 53: 1020-1022 [PMID: 21374666 DOI: 10.1002/hep.24199]
- 5 Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut* 2014; 63: 844-855 [PMID: 24531850 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306627]
- 6 Hu B, Tian X, Sun J, Meng X. Evaluation of individual and combined applications of serum biomarkers for diagnosis of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 23559-23580 [PMID: 24317431 DOI: 10.3390/ijms141223559]
- 7 Forner A, Reig M, Bruix J. Alpha-fetoprotein for hepatocellular carcinoma diagnosis: the demise of a brilliant star. *Gastroenterology* 2009; 137: 26-29 [PMID: 19482098 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.05.014]
- 8 Forner A, Vilana R, Ayuso C, Bianchi L, Solé M, Ayuso JR, Boix L, Sala M, Varela M, Llovet JM, Brú C, Bruix J. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: Prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 97-104 [PMID: 18069697]
- 9 Gruen JR, Nalabolu SR, Chu TW, Bowlus C, Fan WF, Goei VL, Wei H, Sivakamasundari R, Liu Y, Xu HX, Parimoo S, Nallur G, Ajioka R, Shukla H, Bray-Ward P, Pan J, Weissman SM. A transcription map of the major histocompatibility complex (MHC) class I region. *Genomics* 1996; 36: 70-85 [PMID: 8812418]
- 10 Fan W, Cai W, Parimoo S, Schwarz DC, Lennon GG, Weissman SM. Identification of seven new human MHC class I region genes around the HLA-F locus. *Immunogenetics* 1996; 44: 97-103 [PMID: 8662070]
- 11 Liu YC, Pan J, Zhang C, Fan W, Collinge M, Bender JR, Weissman SM. A MHC-encoded ubiquitin-like protein (FAT10) binds noncovalently to the spindle assembly checkpoint protein MAD2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4313-4318 [PMID: 10200259]
- 12 Liu H, Li J, Tillman B, French BA, French SW. Ufmylation and FATylation pathways are downregulated in human alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis, and mice fed DDC, where Mallory-Denk bodies (MDBs) form. *Exp Mol Pathol* 2014; 97: 81-88 [PMID: 24893112 DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.05.010]
- 13 Lim CB, Zhang D, Lee CG. FAT10, a gene up-regulated in various cancers, is cell-cycle regulated. *Cell Div* 2006; 1: 20 [PMID: 16959044]
- 14 Ren J, Kan A, Leong SH, Ooi LL, Jeang KT, Chong SS, Kon OL, Lee CG. FAT10 plays a role in the regulation of chromosomal stability. *J Biol Chem* 2006; 281: 11413-11421 [PMID: 16495226]
- 15 Ren J, Wang Y, Gao Y, Mehta SB, Lee CG. FAT10 mediates the effect of TNF- α in inducing chromosomal instability. *J Cell Sci* 2011; 124: 3665-3675 [PMID: 22025632 DOI: 10.1242/jcs.087403]
- 16 白阳秋, 丁光伟, 杨玉秀. 肝癌发生过程中的差异基因表达. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2537-2541
- 17 Chen M, Zheng T, Han S, Zhang L, Bai Y, Fang X, Ding SZ, Yang Y. A preliminary study of plasma cyclase-associated protein 2 as a novel biomarker for early stage and alpha-fetoprotein negative hepatocellular carcinoma patients. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2015; 39: 215-221 [PMID: 25312778 DOI: 10.1016/j.clinre.2014.08.006]
- 18 Zheng T, Chen M, Han S, Zhang L, Bai Y, Fang X, Ding SZ, Yang Y. Plasma minichromosome maintenance complex component 6 is a novel biomarker for hepatocellular carcinoma patients. *Hepatol Res* 2014; 44: 1347-1356 [PMID: 24451028 DOI: 10.1111/hepr.12303]
- 19 Lukasiak S, Schiller C, Oehlschlaeger P, Schmidtke G, Krause P, Legler DF, Autschbach F, Schirmacher P, Breuhahn K, Groettrup M. Proinflammatory cytokines cause FAT10 upregulation in cancers of liver and colon. *Oncogene* 2008; 27: 6068-6074 [PMID: 18574467 DOI: 10.1038/onc.2008.201]
- 20 Qing X, French BA, Oliva J, French SW. Increased expression of FAT10 in colon benign, premalignant and malignant epithelial neoplasms. *Exp Mol Pathol* 2011; 90: 51-54 [PMID: 20888811 DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.09.005]
- 21 Hoeller D, Hecker CM, Dikic I. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in cancer pathogenesis. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 776-788 [PMID: 16990855]
- 22 Kirkin V, Dikic I. Role of ubiquitin- and Ubl-binding proteins in cell signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19: 199-205 [PMID: 17303403]
- 23 Dikic I, Wakatsuki S, Walters KJ. Ubiquitin-binding domains - from structures to functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 659-671 [PMID: 19773779 DOI: 10.1038/nrm2767]
- 24 Hochstrasser M. Origin and function of ubiquitin-like proteins. *Nature* 2009; 458: 422-429 [PMID: 19325621 DOI: 10.1038/nature07958]
- 25 van der Veen AG, Ploegh HL. Ubiquitin-like proteins. *Annu Rev Biochem* 2012; 81: 323-357 [PMID: 22404627 DOI: 10.1146/annurev-biochem-093010-153308]
- 26 Bialas J, Groettrup M, Aichem A. Conjugation of the ubiquitin activating enzyme UBE1 with the ubiquitin-like modifier FAT10 targets it for proteasomal degradation. *PLoS One* 2015; 10: e0120329 [PMID: 25768649 DOI: 10.1371/journal.pone.0120329]
- 27 Lee CG, Ren J, Cheong IS, Ban KH, Ooi LL, Yong Tan S, Kan A, Nuchprayoon I, Jin R, Lee KH, Choti M, Lee LA. Expression of the FAT10 gene is highly upregulated in hepatocellular carcinoma and other gastrointestinal and gynecological cancers. *Oncogene* 2003; 22: 2592-2603 [PMID:

- 12730673]
- 28 Ji F, Jin X, Jiao CH, Xu QW, Wang ZW, Chen YL. FAT10 level in human gastric cancer and its relation with mutant p53 level, lymph node metastasis and TNM staging. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2228-2233 [PMID: 19437562 DOI: 10.3748/wjg.15.2228]
- 29 Yuan R, Jiang C, Hong K, Yu X, Wu L, Liu T, Liu X, Tang X, Cai H, Shao J. Genetic variation in the Fat10 gene is associated with risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 2117-2122 [PMID: 22292662]
- 30 Zhang DW, Jeang KT, Lee CG. p53 negatively regulates the expression of FAT10, a gene upregulated in various cancers. *Oncogene* 2006; 25: 2318-2327 [PMID: 16501612]
- 31 Liu L, Dong Z, Liang J, Cao C, Sun J, Ding Y, Wu D. As an independent prognostic factor, FAT10 promotes hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma progression via Akt/GSK3 β pathway. *Oncogene* 2014; 33: 909-920 [PMID: 23812429 DOI: 10.1038/onc.2013.236]

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。