



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.009
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.009
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(7):849-856.

· 基础研究 ·

Bcl-2 转录抑制因子 1 在肝癌组织中的表达及意义

刘佳玲^{1,3}, 黄林生², 张朔^{1,3}, 祁莎莎^{1,3}, 鲍阳^{1,3}, 李飞^{1,3}

(1. 湖北医药学院药学院 药理学系, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北省十堰市太和医院 肝胆胰外科, 湖北 十堰 442000; 3. 武当特色中药研究湖北省重点实验室, 湖北 十堰 442000)

摘要

背景与目的: 已有研究显示, Bcl-2 转录抑制因子 1 (Bit1) 在多种肿瘤中异常表达并在肿瘤进展中发挥重要作用, Bit1 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达水平及临床意义值得探讨。本研究通过检测 Bit1 在 HCC 组织中的表达, 分析其与 HCC 患者临床病理特征及预后的关系, 从而探讨 Bit1 在 HCC 中的临床意义。

方法: 采用 qRT-PCR、Western blot 检测 34 例 HCC 患者手术切除癌组织及对应癌旁组织 Bit1 mRNA 及蛋白表达情况, 用免疫组化法检测组织芯片中 90 例 HCC 患者癌组织与对应癌旁组织 Bit1 蛋白表达情况并分析其表达与 HCC 患者临床病理参数及预后的关系。

结果: qRT-PCR 与 Western blot 检测结果显示, 与癌旁组织比较, Bit1 在 HCC 组织中的 mRNA 及蛋白表达水平均明显上调 ($P < 0.05$)。免疫组化结果显示, Bit1 蛋白定位于细胞质, 其在癌组织中的高表达率明显高于癌旁组织 ($P < 0.05$), 且 Bit1 在 HCC 组织中的表达与 HCC 患者肿瘤的复发及病理分级明显有关 (均 $P < 0.05$), Kaplan-Meier 分析显示, Bit1 蛋白高表达患者总生存率和无病生存率低于 Bit1 蛋白低表达患者, 但差异均未达统计学意义 ($P = 0.547, 0.414$)。

结论: Bit1 在 HCC 组织中高表达, 且 Bit1 表达与肿瘤的复发及病理分级密切相关, 提示 Bit1 可能是影响肿瘤进展的重要分子, 其有望成为 HCC 患者个体化治疗靶点。

关键词

癌, 肝细胞; Bcl-2 转录抑制因子 1; 生物标记, 肿瘤
中图分类号: R735.7

Expression of Bcl-2 inhibitor of transcription 1 in hepatocellular carcinoma and its significance

LIU Jialing^{1,3}, HUANG Linsheng², ZHANG Shuo^{1,3}, QI Shasha^{1,3}, BAO Yang^{1,3}, LI Fei^{1,3}

(1. Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 2. Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China; 3. Hubei Key Laboratory of Wudang Local Chinese Medicine Research, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract

Background and Aims: Previous studies have shown that Bcl-2 inhibitor of transcription 1 (Bit1) is abnormally expressed in a variety of tumors and plays an important role in tumor progression. However, The expression level and clinical significance of Bit1 in hepatocellular carcinoma (HCC) are worthy to be investigated. Therefore, this study was aimed to investigate the clinical significance of Bit1 in HCC by determining the

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划重点基金资助项目 (D20192101); 湖北医药学院生物医药研究院 PI 基金资助项目 (HBMUPI201805)。

收稿日期: 2020-03-28; **修订日期:** 2020-06-20。

作者简介: 刘佳玲, 湖北医药学院药学院硕士研究生, 主要从事肝癌相关肿瘤生物学、药理学方面的研究。

通信作者: 李飞, Email: piaopodexinlifei@163.com

Bit1 expression in HCC tissue and its relationship with the clinicopathologic parameters and prognosis of HCC patients.

Methods: The mRNA and protein expressions of Bit1 in surgical specimens of HCC tissue and corresponding adjacent tissues from HCC patients were determined by qRT-PCR and Western blot, respectively. The protein expressions of Bit1 in 90 pairs of HCC tumor tissue and corresponding adjacent tissue in HCC tissue chip were determined by immunohistochemical staining, and the relations of Bit1 expression with the clinicopathologic variables and the prognosis of HCC patients were analyzed.

Results: The results of qRT-PCR and Western blot showed that both Bit1 mRNA and protein expressions in HCC tissue were significantly upregulated compared with tumor adjacent tissue (both $P < 0.05$). The results of immunohistochemical staining showed that Bit1 protein was localized in the cytoplasm and its high expression rate in HCC tissue was significantly higher than that in tumor adjacent tissue ($P < 0.05$), and the expression of Bit1 in HCC tissue was significantly related to tumor recurrence and pathological grade of HCC patients (both $P < 0.05$). Kaplan-Meier survival analysis showed that the overall survival rate and disease-free survival rate in patients with high Bit1 protein expression were lower than those in patients with low Bit1 protein expression, but both did not reach a statistical significance ($P = 0.547, 0.414$).

Conclusion: Bit1 presents a high expression in HCC tissues, and is closely related to tumor recurrence and pathological grade, suggesting that Bit1 may be an important molecule that affects tumor progression, and it is expected to become a target for individualized treatment of HCC patients.

Key words

Carcinoma, Hepatocellular; Bcl-2 Inhibitor of Transcription 1; Biomarkers, Tumor

CLC number: R735.7

原发性肝癌是指肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤, 包括肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC)、肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 和混合型 (HCC-ICC) 3种不同病理类型, 其中HCC占85%~90%以上^[1]。

《临床肿瘤杂志》^[1]最新全球癌症数据显示: 肝癌发病率位居世界第6位, 病死率位居第4位, 其5年生存率位居第4位, 大约在5%~30%左右^[2]。流行病学研究指出, 慢性乙型肝炎、慢性丙型肝炎、大量饮酒、食用被黄曲霉污染的食物、肥胖、吸烟和2型糖尿病是导致HCC的主要危险因素^[3]。HCC早期治疗方法包括手术切除、射频消融或肝移植, 经导管化疗栓塞是中晚期的治疗方法^[4-7]。尽管化疗介入、分子靶向治疗等为肝癌治疗带来显著改善, 但由于大部分患者就诊时已是晚期且肝内和远端转移率高发, 导致患者预后情况不容乐观^[8-9]。因此, 进一步探究HCC发生发展相关分子机制, 以寻求新的HCC肿瘤标志物, 早诊早治改善患者预后^[10]。

Bcl-2转录抑制因子1 (Bcl-2 inhibitor of transcription 1, Bit1) 是2004年发现的一种与失巢凋亡相关的新蛋白^[11]。Bit1基因PTRH2, 位于17q23.2, mRNA长约1 kb, 编码179个氨基酸, Bit1

蛋白定位于线粒体外膜^[12], 分子量约为27 kD。Bit1是一种失巢凋亡效应分子, 其可能影响肿瘤发生发展。近年, 只在部分肿瘤中对Bit1进行了相关研究, 且表达情况呈肿瘤特异性, 目前尚无学者研究Bit1与HCC的关系。本课题采用qRT-PCR、Western blot、IHC法检测HCC患者癌组织及对应癌旁组织Bit1 mRNA及蛋白水平, 首次探究Bit1在HCC组织中的表达情况及临床意义, 为Bit1可望成为HCC患者诊断预后标志物或个体化治疗作用靶点奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 标本来源

收集2016年6月—2018年6月十堰市太和医院34例HCC患者术后肿瘤组织及对应癌旁组织 (距病灶边缘5 cm)。患者手术前均未接受放化疗治疗, 年龄36~73岁。本研究通过湖北医药学院伦理审查委员会批准, 所有患者均签署知情同意书。该样品用于Western blot及qRT-PCR实验, 初步探究Bit1在HCC组织中的表达水平。

180点HCC组织芯片 (购自上海芯超生物科技

有限公司, 芯片号: HLivH180Su07) 收录了2006年2月—2007年5月期间接受正规手术治疗的90例患者资料, 术后随访至2012年2月, 随访5~6年。所有患者术前均未接受过任何治疗, 具有完整的随访资料。该样品用于免疫组化实验, 进一步探究Bit1表达与HCC患者临床病理参数及预后生存情况的关系。

1.2 主要试剂

反转录试剂盒iScript gDNA Clear cDNA Synthesis Kit、iTaq Universal SYBR Green Supermix购自Bio-rad; TRIzol购自Invitrogen; RIPA Buffer (CST, #9806); Cocktail (CST, #5871); BCA试剂盒 (Thermo Scientific, PL212739); Anti-PTRH2 antibody (Abcam, ab36990); β -actin (13E5) Rabbit mAb (CST, #4970); 细胞色素C氧化酶IV (COX IV) antibody (CST, #4850S); Goat anti-Rabbit IgG H&L (HRP) (Abcam, ab97051); 免疫组化试剂盒EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (Link) 购自Dako; 苏木素 (Sigma aldrich, SLBT4555)。

1.3 方法

1.3.1 qRT-PCR 检测 Bit1 mRNA 表达水平 引物由上海英骏生物技术有限公司合成, PTHR2 上游: 5'-TGA CTT AAA GAT GGG AAA AGG G-3', 下游: 5'-CCA ATA ATG CAA TCA GGG TT-3'; GAPDH 上游: 5'-TGA CTT CAA CAG CGA CAC CCA-3', 下游: 5'-CAC CCT GTT GCT GTA GCC AAA-3'。总 RNA 的提取: 取 30 mg 组织, 加入 1 mL TRIzol 试剂, 冰上剪碎匀浆, 按常规 TRIzol 法提取总 RNA。NanoDrop2000c 分光光度计 (Thermo Scientific) 测定 A_{260}/A_{280} 的比值及总 RNA 浓度。qRT-PCR: 使用反转录试剂盒 iScript gDNA Clear cDNA Synthesis Kit 合成 cDNA。以 cDNA 样品为模板、GAPDH 为内参基因, 按照 iTaq universal SYBR Green Supermix 说明书配置 10 μ L 反应体系, 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 再进行 95 $^{\circ}$ C、3 s 变性, PTHR2 52.5 $^{\circ}$ C、1 min 退火延伸, GAPDH 59.2 $^{\circ}$ C、1 min 退火延伸, 重复 40 个循环, 荧光定量 PCR 仪进行 qRT-PCR, 每个样品设置 3 个复孔, 采用 Bio-Rad CFX manager 软件分析, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 PTHR2 的 mRNA 相对表达量。

1.3.2 Western blot 检测 Bit1 蛋白表达水平 总

蛋白提取: 取 30 mg 组织, 加入 300 μ L \times RIPA 裂解液 (含 cocktail)。冰上剪碎、匀浆超声后, 裂解 30 min。12 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C 离心 20 min, 获取组织总蛋白。BCA 试剂盒进行蛋白浓度测定, ddH₂O 将样品稀释至同一浓度, 加入 2 \times loading buffer 混匀, 沸水煮 10 min 后, 冰浴 5 min, 于 -80 $^{\circ}$ C 储存。SDS-PAGE: 每孔加入约 30 μ g 蛋白样品, 进行 10%/12.5% SDS-PAGE 电泳分离后, 将蛋白转印到 0.22 或 0.45 μ m PVDF 上, 冰浴中 300 mA 恒流转膜 90 min, 将 PVDF 膜移至 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h 后, 转移至相应一抗 (β -actin 1:2 000, Bit1 1:500, COX IV 1:10 000) 孵育 2 h, Goat Anti-Rabbit IgG H&L 二抗 (1:10 000) 室温孵育 1.5 h 后, ImageQuant LAS4000 凝胶成像仪拍照并进行光密度值分析。

1.3.3 免疫组化检测 Bit1 蛋白表达水平 将组织芯片放入烘箱, 63 $^{\circ}$ C, 烘蜡 1 h。二甲苯脱蜡、梯度酒精水化和 ddH₂O 洗涤后, 置于柠檬酸修复液, 加热进行抗原修复, 自然冷却至室温, 使用商品化的即用阻断剂阻断内源性过氧化物酶。PBS 洗涤 3 次, 山羊血清封闭后, 滴加 Bit1 一抗 (1:200), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第二天 PBS 洗涤 3 次后, 加反应增强剂, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 滴加二抗, 室温孵育 30 min。DAB 显色、苏木素复染、0.25% 的盐酸酒精中浸没后, 用自来水洗涤, 室温晾干后封片。结果判定标准: 根据染色阳性率评分, 0 分 (阴性)、1 分 (1%~25%)、2 分 (26%~50%)、3 分 (51%~75%)、4 分 (76%~100%) 根据染色强度评分, 0 分 (阴性)、1 分 (1+)、2 分 (2+)、3 分 (3+), 以“染色阳性率评分”和“染色强度评分”的乘积为总评分进行分组, 0~5 分为低表达, 6~12 分为高表达。

1.4 统计学处理

所有资料采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 计量资料采用均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 癌组织与对应癌旁组织蛋白灰度扫描值与 mRNA 相对表达量的比较采用配对 t 检验, 计数资料的比较采用 χ^2 检验, 分析 Bit1 的表达与性别、年龄、肿瘤大小、分化程度、TNM 分期等临床病理参数的关系。Kaplan-Meier 生存曲线分析 Bit1 不同表达的 HCC 患者术后 5 年生存率。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 34例HCC组织及其对应癌旁组织中Bit1 mRNA表达水平

PTRH2、*GAPDH*溶解曲线均为特异性单峰，表

明引物特异性较好(图1A-B)。qRT-PCR结果显示: Bit1 mRNA在HCC组织中的相对表达水平为 2.24 ± 0.28 , 对应癌旁组织中的相对表达水平为 1.00 ± 0.09 , 其差异具有统计学意义($P=0.007$) (图1C)。

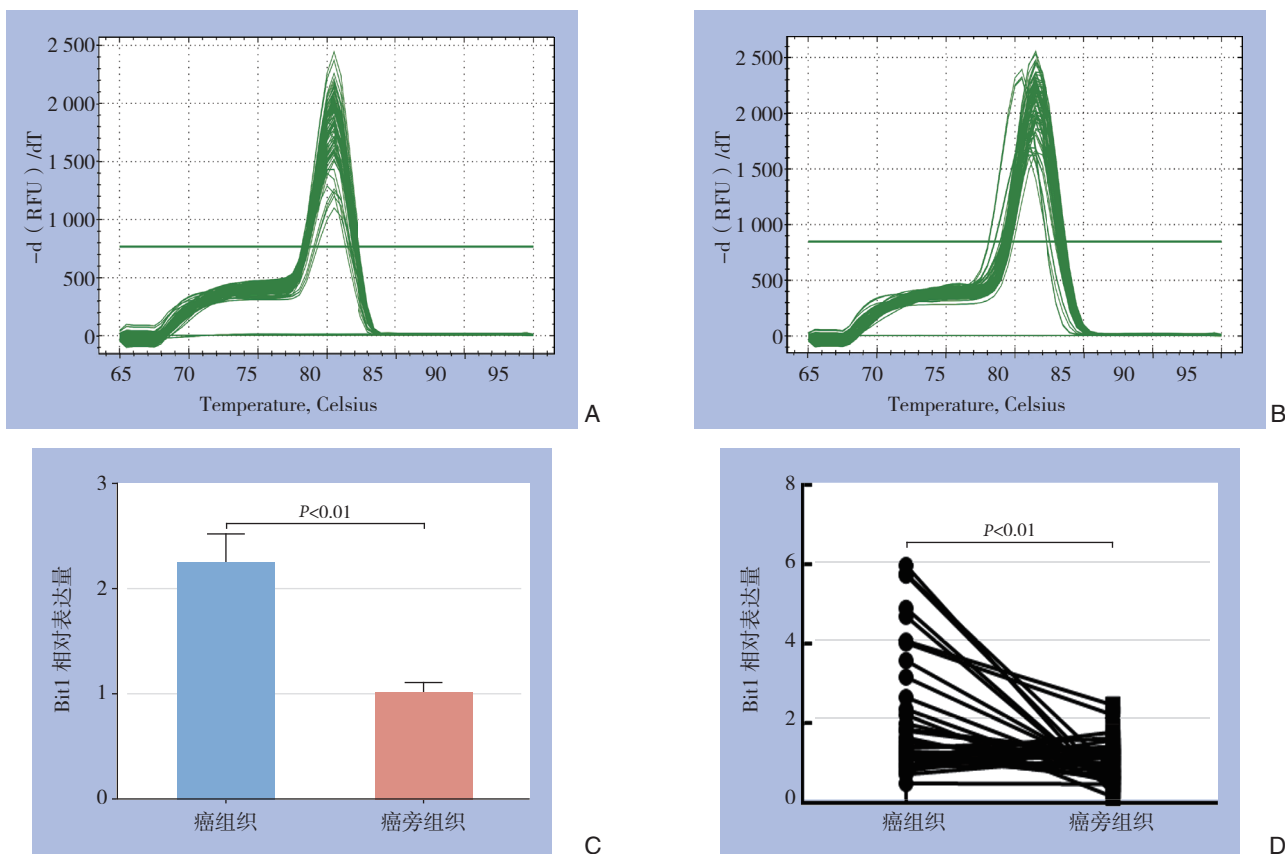


图1 qRT-PCR法检测Bit1 mRNA表达 A: *PTRH2*溶解曲线; B: *GAPDH*溶解曲线; C-D: HCC组织与癌旁组织Bit1 mRNA相对表达量

Figure 1 Expressions of Bit1 mRNA detected by qRT-PCR A: The melting curve of *PTRH2*; B: The melting curve of *GAPDH*; C-D: The relative expression levels of Bit1 mRNA in HCC tissues and adjacent tissues

2.2 34例HCC患者癌组织及其对应癌旁组织中Bit1蛋白表达水平

COX IV是线粒体内膜上的跨膜蛋白复合体,在线粒体蛋白的检测中,COX IV可用作线粒体蛋白上样内参。Western blot结果显示,HCC组织中Bit1蛋白表达水平显著高于癌旁组织(图2A):8例样品为代表图。其灰度扫描值的统计结果为:以 β -actin为内参,Bit1在HCC组织中的灰度值为 3.46 ± 0.40 ,癌旁组织为 1.00 ± 0.20 (图2B);以COX IV为内参,Bit1在HCC组织中的灰度值为 3.75 ± 0.45 ,癌旁组织为 1.00 ± 0.22

(图2C),其差异均有统计学意义($P=0.000$)。

2.3 免疫组化检测组织芯片中Bit1蛋白表达水平

2.3.1 Bit1在HCC及癌旁组织中的表达

Bit1蛋白定位于细胞质,镜下阳性细胞呈棕黄色,与癌旁组织比较,Bit1在癌组织中的染色阳性率、染色强度明显高于癌旁组织(图3);且在90例HCC组织中,74例(82.2%)Bit1蛋白高表达,在90例癌旁组织中50例(55.6%)Bit1蛋白高表达,Bit1蛋白在HCC组织中的高表达率明显高于癌旁组织($P<0.001$)(表1)。

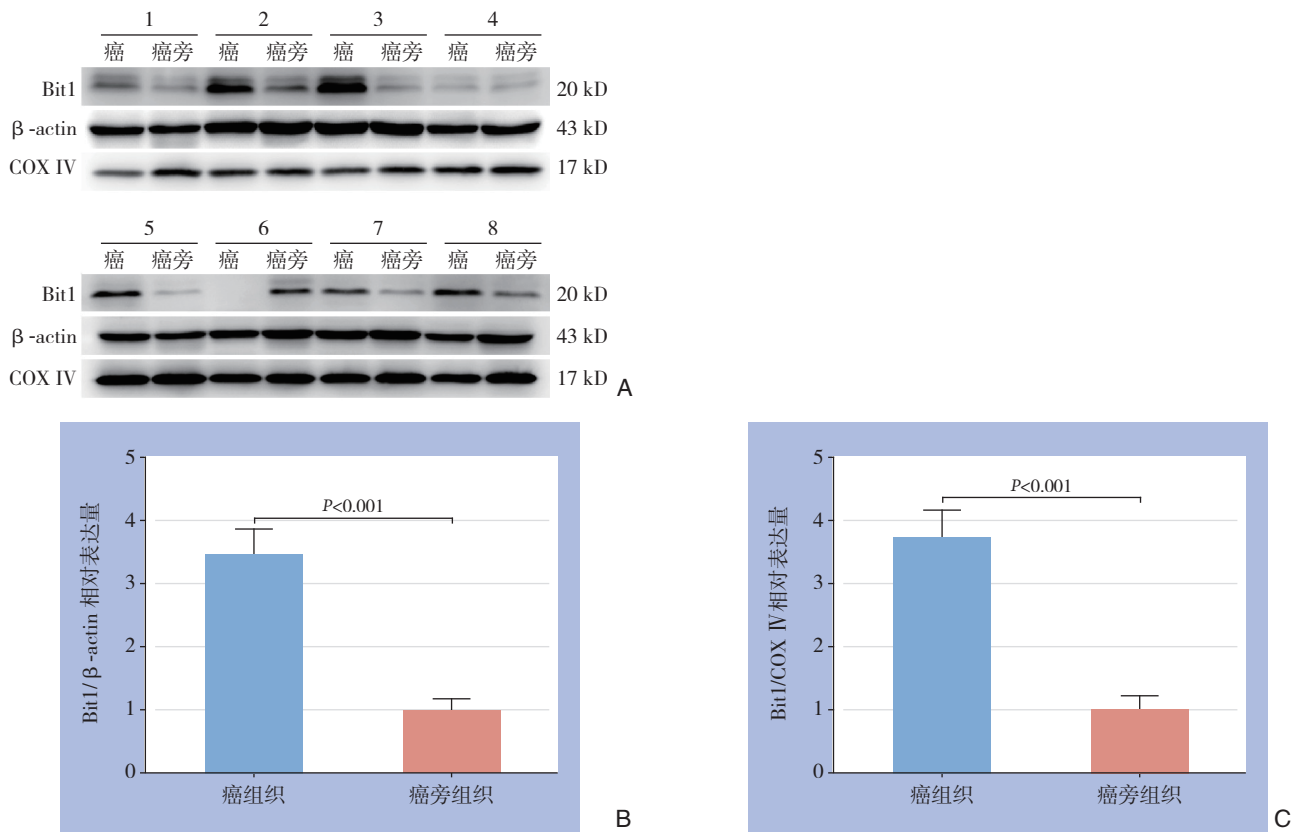


图 2 Western blot 检测 Bit1 蛋白表达 A: Western blot 结果; B-C: HCC 组织与癌旁组织 Bit1 蛋白相对表达量
 Figure 2 Expressions of Bit1 protein detected by Western blot A: Results of Western blot; B-C: The relative expression levels of Bit1 protein in HCC tissues and adjacent tissues

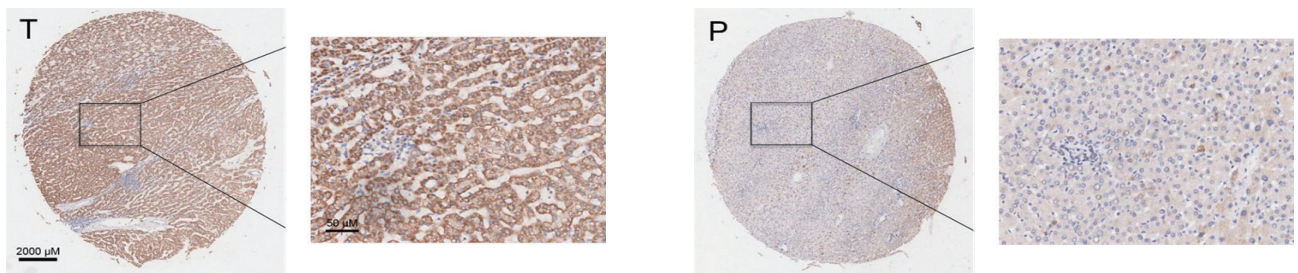


图 3 免疫组化法检测组织芯片中 Bit1 蛋白表达 (左: $\times 20$, 右: $\times 200$)
 Figure 3 Expressions of Bit1 protein in tissue chip detected by immunohistochemical staining (left: $\times 20$, right: $\times 200$)

表 1 在 HCC 组织及癌旁组织中 Bit1 蛋白表达率比较 [n (%)]
 Table 1 Comparison of expression rates of Bit1 protein in HCC tissues and adjacent tissues [n (%)]

组织	低表达	高表达
HCC 组织	16 (17.8)	74 (82.2)
癌旁组织	40 (44.4)	50 (55.6)
P	<0.001	

2.3.2 Bit1 在 HCC 组织中的表达水平与临床病理参数的关系 结果显示 Bit1 蛋白表达与肿瘤复发,

病理分级均有关 (均 $P < 0.05$), 与性别、年龄、肿瘤大小、数量、是否患乙肝、是否肝硬化、肝硬化结节大小、AFP 水平、肿瘤是否有包膜、TNM 分期均无明显关系 (均 $P > 0.05$) (表 2)。

2.3.3 Bit1 蛋白表达水平与 HCC 患者生存期的关系 经 Kaplan-Meier 生存分析及 Log-rank 检验显示, Bit1 蛋白高表达患者总生存率和无病生存率缩短, 可能由于样本例数较少, 差异无统计学意义 ($P = 0.547, 0.414$) (图 4)。

表2 Bit1 在 HCC 组织中的表达与临床病理参数的关系 [n (%)]

Table 2 Association of Bit1 levels with clinical parameters of HCC patients [n (%)]

临床病理参数	低表达 (n=16)	高表达 (n=74)	P	临床病理参数	低表达 (n=16)	高表达 (n=74)	P
性别				肝硬化			
男	12 (75.0)	62 (83.8)	0.636	有	13 (81.3)	65 (87.8)	0.766
女	4 (25.0)	12 (16.2)		无	3 (18.7)	9 (12.2)	
年龄 (岁)				AFP 水平 ($\mu\text{g/L}$)			
≥ 50	10 (62.5)	42 (56.8)	0.673	≥ 20	12 (75.0)	51 (68.9)	0.63
< 50	6 (37.5)	32 (43.2)		< 20	4 (25.0)	23 (31.3)	
HBV 抗原				肿瘤包膜			
阳性	13 (81.3)	64 (86.5)	0.882	有	10 (62.5)	37 (50.0)	0.528
阴性	3 (18.7)	10 (13.5)		无	6 (37.5)	37 (50.0)	
肿瘤直径 (cm)				复发			
≥ 5	5 (31.3)	41 (55.4)	0.08	有	11 (68.8)	42 (56.8)	0.001
< 5	11 (68.7)	33 (44.6)		无	5 (31.2)	32 (43.2)	
肝硬化结节大小 (mm)				病理分化			
> 3	9 (56.3)	31 (41.9)	0.295	I~II	6 (37.5)	52 (70.3)	0.013
≤ 3	7 (43.7)	43 (58.1)		III	10 (62.5)	22 (29.3)	
肿瘤数量				TNM 分期			
单个	13 (81.3)	61 (82.4)	0.911	T ₁	10 (62.5)	51 (68.9)	0.618
多个	3 (18.7)	13 (17.6)		T ₂	6 (37.5)	23 (31.1)	

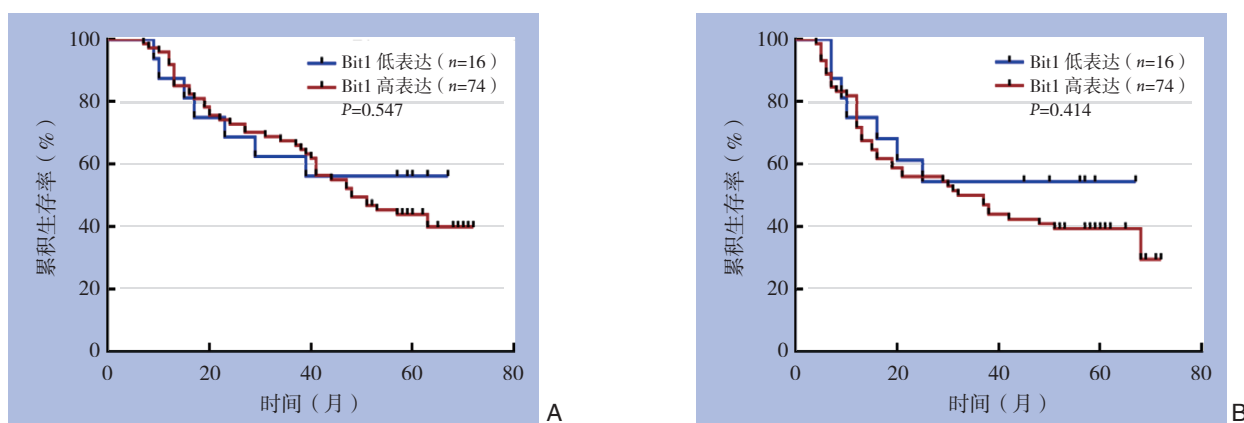


图4 Kaplan-Meier 分析 Bit1 表达水平对 HCC 患者术后总生存的影响 A: 总生存曲线; B: 无病生存曲线

Figure 4 Influence of Bit1 expression level on postoperative survival of the HCC patients analyzed by Kaplan-Meier method

A: Overall survival curves; B: Disease-free survival curves

3 讨论

目前为止, 与HCC相关的主要基因有p53、细胞色素P450 1A1 (CYP1A1)、醌氧化还原酶 (NQO1)、环氧化物水解酶 (EPHX1)、乙醛脱氢酶2 (ALDH2) 基因等, 这些基因的异常表达导致相关信号通路的调控紊乱而影响HCC的发生与发展^[13-19]。常见的HCC标志物有甲胎蛋白 (AFP)、 α -L岩藻糖苷酶 (AFU)、去饱和- γ -羧基-凝血酶原 (DCP)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC-3)^[20-24]等, 其中AFP是目前推荐在临床上常规使用筛查HCC高危人群的标志物, 但多数肿瘤标志物在疾病早期处于正常值, 而到中晚期才出现异常升高, 因此探究HCC早期肿瘤标志物对疾

病的早发现、早治疗及改善患者预后至关重要。

研究发现Bit1是一种失巢凋亡效应分子, 在肿瘤发展过程中, 肿瘤细胞通过抵抗失巢凋亡得以生存, 因而, Bit1可能参与多种肿瘤发生发展, 有望成为肿瘤患者的诊断、预后标志物或个体化治疗靶点。目前, 已有的研究结果显示Bit1表达情况呈肿瘤特异性, 与癌旁组织比较, Bit1在食管癌、口腔癌、卵巢癌、胃癌等组织中高表达^[25-28], 而在肺癌、胰腺癌、乳腺癌等组织中低表达^[29-31]。同时发现, 在食管鳞状细胞癌组织 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 中, 伴淋巴结转移、TNM III和IV期ESCC组织中Bit1 mRNA及蛋白水平显著高于未淋巴结转移、TNM I和II期ESCC组织Bit1表达水平, 且低分化癌组织中的

Bit1 mRNA水平明显高于高分化和中分化癌组织,因此研究^[27, 32]认为Bit1在ESCC中可能作为一种癌基因,促进癌细胞转移,加速癌症进展。然而, Bit1在胰腺癌组织中低表达,且表达水平与患者血清CEA水平及神经浸润程度相关, Bit1可能作为一种抑癌基因阻碍胰腺癌进一步恶化^[33]。Bit1可通过影响肿瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭等能力从而在不同肿瘤中发挥促癌和抑癌两种截然相反的作用。Bit1可能通过激活FAK-PI3K-Akt-NF- κ B或FAK-paxillin等通路发挥促癌作用^[34],或负性调节Erk通路及抑制EMT发生发挥抑癌作用^[35]。

至今尚未见Bit1与HCC之间关系的研究。本研究通过qRT-PCR、Western blot实验检测34例HCC患者手切切除的癌组织及对应癌旁组织中的Bit1 mRNA及蛋白表达水平,免疫组化法检测组织芯片中90例对应匹配的癌组织及癌旁组织中Bit1的蛋白表达水平,结果均显示:与癌旁组织比较, Bit1在HCC组织中的mRNA及蛋白表达水平显著上调,提示Bit1可能在HCC中作为一种癌基因影响肿瘤发生发展,根据患者相关的临床病理信息及术后随访资料,统计分析显示: Bit1表达与HCC患者的肿瘤复发及病理分级密切相关,且Bit1蛋白高表达患者总生存时间和无病生存时间均低于低表达患者,这一结果提示Bit1高表达预示患者术后预后不良,故其可能对HCC患者的诊断、治疗、预后产生重要影响,以上结果为更进一步研究Bit1在HCC中的生物学功能及具体作用机制奠定理论基础。目前,本课题组其他成员通过慢病毒转染技术沉默HCC细胞株内源性Bit1表达水平,利用细胞划痕实验及Transwell实验检测其对癌细胞迁移和侵袭能力的影响, CCK-8实验、流式细胞术及TUNEL实验检测其对细胞增殖和凋亡的影响,结果显示:沉默Bit1可明显抑制HCC细胞增殖、迁移、侵袭,而促进HCC细胞凋亡,印证了本文Bit1在HCC中作为一种癌基因影响肿瘤发展这一观点。

综上所述,本课题组首次发现Bit1在HCC组织中高表达,其可能作为一种癌基因,成为HCC患者诊断及预后的生物标志物或个体化治疗靶点,但其具体作用机制、应用价值还有待于进一步研究。

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. doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018, 391(10125):1023–1075. doi: 10.1016/s0140-6736(17)33326-3.
- [3] McGlynn KA, Petrick JL, London WT. Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability[J]. *Clin Liver Dis*, 2015, 19(2):223–238. doi: 10.1016/j.cld.2015.01.001.
- [4] El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(7):2557–2576. doi: 10.1053/j.gastro.2007.04.061.
- [5] 黄志勇, 陈孝平. 肝硬化与肝癌肝切除的科学决策[J]. *临床外科杂志*, 2019, 27(8):631–633. doi: 10.3969/j.issn.1005-6483.2019.08.001.
- [6] 李民, 熊俊. 《原发性肝癌诊疗规范(2017年版)》解读[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(7):785–789. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2019.07.003.
- [7] 陈世发, 赵礼金. 肝癌发生发展机制的研究进展及其治疗现状[J]. *中国普通外科杂志*, 2018, 27(7):910–923. doi: 10.3978/j.issn.1005-6947.2018.07.016.
- [8] 陈世发, 赵礼金. Research progress on mechanisms for occurrence of liver cancer and its treatment status[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2018, 27(7):910–923. doi: 10.3978/j.issn.1005-6947.2018.07.016.
- [9] 任一彬, 王红阳. 肝细胞癌诊断标志物的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2010, 26(4):358–360.
- [10] Maluccio M, Covey A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(6):394–399. doi: 10.3322/caac.21161.
- [11] Jan Y, Matter M, Pai JT, et al. A mitochondrial protein, Bit1, mediates apoptosis regulated by integrins and Groucho/TLE corepressors[J]. *Cell*, 2004, 116(5):751–762. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00204-1.
- [12] Stupack DG, Cheresh DA. A Bit-role for integrins in apoptosis[J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(5):388–389. doi: 10.1038/ncb0504-388.

- [13] Duan CY, Liu MY, Li SB, et al. Lack of association of EPHX1 gene polymorphisms with risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1):659–666. doi: 10.1007/s13277-013-1090-7.
- [14] Yu BW, Zhang LQ, Teng XL, et al. Association between the CYP1A1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(1):1076–1084. doi: 10.4238/2015.February.6.11.
- [15] Abo-Hashem EM, El-Emshaty WM, Farag Rel S, et al. Genetic Polymorphisms of Cytochrome P4501A1 (CYP1A1) and Glutathione S-Transferase P1 (GSTP1) and Risk of Hepatocellular Carcinoma Among Chronic Hepatitis C Patients in Egypt[J]. *Biochem Genet*, 2016, 54(5):696–713. doi: 10.1007/s10528-016-9749-6.
- [16] Hou G, Chen L, Liu G, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) opposes hepatocellular carcinoma progression by regulating AMP-activated protein kinase signaling in mice[J]. *Hepatology*, 2017, 65(5):1628–1644. doi: 10.1002/hep.29006.
- [17] Lin L, Sun J, Tan Y, et al. Prognostic implication of NQO1 overexpression in hepatocellular carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2017, 69:31–37. doi: 10.1016/j.humpath.2017.09.002.
- [18] Rebouissou S, Nault JC. Advances in molecular classification and precision oncology in hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(2):215–229. doi: 10.1016/j.jhep.2019.08.017.
- [19] Zhu L, Dai L, Yang N, et al. Transcription factor IRX5 promotes hepatocellular carcinoma proliferation and inhibits apoptosis by regulating the p53 signaling pathway[J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, doi: 10.1002/cbf.3517. [Online ahead of print]
- [20] Sengupta S, Parikh ND. Biomarker development for hepatocellular carcinoma early detection: current and future perspectives[J]. *Hepat Oncol*, 2017, 4(4):111–122. doi: 10.2217/hep-2017-0019.
- [21] West CA, Black AP, Mehta AS. Analysis of Hepatocellular Carcinoma Tissue for Biomarker Discovery[A]//Hoshida Y, editor. *Hepatocellular Carcinoma: Translational Precision Medicine Approaches* [M]. Cham (CH): Humana Press, 2019:93–107. doi: 10.1007/978-3-030-21540-8_5.
- [22] Lai Q, Iesari S, Levi Sandri GB, et al. Des-gamma-carboxy prothrombin in hepatocellular cancer patients waiting for liver transplant: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Biol Markers*, 2017, 32(4):e370–e374. doi: 10.5301/ijbm.5000276.
- [23] Montalbano M, Georgiadis J, Masterson AL, et al. Biology and function of glypican-3 as a candidate for early cancerous transformation of hepatocytes in hepatocellular carcinoma (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3):1291–1300. doi: 10.3892/or.2017.5387.
- [24] Gan Y, Liang Q, Song X. Diagnostic value of alpha-L-fucosidase for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(5):3953–3960. doi: 10.1007/s13277-013-1563-8.
- [25] Hua W, Miao S, Zou W, et al. Pathological implication and function of Bcl2-inhibitor of transcription in ovarian serous papillary adenocarcinomas[J]. *Neoplasma*, 2013, 60(2):143–150. doi: 10.4149/neo_2013_019.
- [26] 王小兰. AIF、Bit1在胃癌中的表达及意义[D]. 泸州: 西南医科大学, 2013.
Wang XL. The Correlations Between the Expressions of AIF and Bit1 and the Clinical Biological Behavior in Gastric Carcinoma[D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2013.
- [27] Fan T, Tian F, Yi S, et al. Implications of Bit1 and AIF overexpressions in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1):519–527. doi: 10.1007/s13277-013-1073-8.
- [28] Xiao Y, Yang Y, Wang J, et al. Bit1 Regulates Cell Migration and Survival in Oral Squamous Cell Carcinoma[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2017, S0278–2391(17)30345–2. doi: 10.1016/j.joms.2017.03.027.
- [29] Karmali PP, Brunquell C, Tram H, et al. Metastasis of tumor cells is enhanced by downregulation of Bit1[J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23840. doi: 10.1371/journal.pone.0023840.
- [30] Leleux K, Pham T, Davis M, et al. Induction of Apoptosis and Anoikis by Bit1 in Pancreatic Cancer Cells[J]. *J Cancer Ther*, 2013, 4(4):815–824. doi: 10.4236/jct.2013.44093.
- [31] Yao X, Jennings S, Ireland SK, et al. The anoikis effector Bit1 displays tumor suppressive function in lung cancer cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e101564. doi: 10.1371/journal.pone.0101564.
- [32] Chen J, Liu H, Gao P, et al. Preliminary evaluation for Bit1 as a potential biomarker for squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of esophagus[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(5). doi: 10.1177/1010428317708267.
- [33] 黄帅. Bit1蛋白对胰腺癌恶性表型调控作用及机制研究[D]. 北京: 中国医学科学院北京协和医学院, 2016.
Huang S. The effects of Bit1 on the biological behaviors of pancreatic cancer and related mechanism[D]. Beijing: Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, 2016.
- [34] Fan T, Chen J, Zhang L, et al. Bit1 knockdown contributes to growth suppression as well as the decreases of migration and invasion abilities in esophageal squamous cell carcinoma via suppressing FAK-paxillin pathway[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15:23. doi: 10.1186/s12943-016-0507-5.
- [35] Kairouz-Wahbe R, Biliran H, Luo X, et al. Anoikis effector Bit1 negatively regulates Erk activity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(5):1528–1532. doi: 10.1073/pnas.0711357105.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 刘佳玲, 黄林生, 张朔, 等. Bcl-2转录抑制因子1在肝癌组织中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(7):849–856. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.009

Cite this article as: Liu JL, Huang LS, Zhang S, et al. Expression of Bcl-2 inhibitor of transcription 1 in hepatocellular carcinoma and its significance[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(7):849–856. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.07.009