

UFC1 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及意义*

田祖国,高 陆,翁春岚,刘水玉

遵义医科大学附属医院血液内科,贵州遵义 563003

摘要:目的 研究 UFC1 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)患者中的表达情况,分析 UFC1 表达与 DLBCL 患者的临床特征及预后的相关性。方法 利用在线数据库 GEPIA 及 Oncomine 研究 UFC1 在恶性肿瘤和淋巴瘤中的表达;收集 40 例 DLBCL 患者组织标本作为 DLBCL 组,以 20 例反应性淋巴结炎患者组织标本为对照组,采用免疫组化法检测其 UFC1 的表达,分析 UFC1 表达与 DLBCL 患者的临床病理特征相关性,并应用 GEO 数据集分析 UFC1 表达与 DLBCL 生存预后关系;应用通路数据库检测 UFC1 相互作用基因。结果 数据库分析显示,UFC1 在 DLBCL 等多种肿瘤中异常高表达;免疫组化结果显示,UFC1 表达阳性率在 DLBCL 患者中明显高于反应性淋巴结炎患者($P < 0.001$),进展期 DLBCL 患者 UFC1 表达阳性率明显高于局限期患者($P = 0.047$);高表达 UFC1 的 DLBCL 患者总生存期较短($P = 0.009$),UFC1 与多种肿瘤基因存在相互作用。结论 UFC1 在 DLBCL 中异常高表达,并与 DLBCL 患者预后不良相关。

关键词:UFC1; 弥漫大 B 细胞淋巴瘤; 免疫组化; 数据库

中图分类号:R733.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)13-1836-04

弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)是非霍奇金淋巴瘤最常见的类型,占有非霍奇金淋巴瘤的 35%~40%,由于 DLBCL 在临床、分子遗传学及免疫表型等方面具有高度异质性,现阶段临床上主要行化疗,虽然化疗的有效性较高,但化疗的敏感性会影响总体效果,远期预后不佳^[1-2]。寻找与 DLBCL 发生、发展有关的生物标志物对 DLBCL 的早期诊断及治疗具有重要意义。研究发现,类泛素蛋白与恶性肿瘤,包括血液系统恶性肿瘤的发生、发展密切相关^[3]。UFC1 是一个新鉴定的类似泛素结合酶 E2,属于类泛素 Ufm1 修饰系统(Ufm1)^[4-5]。而 UFC1 在 DLBCL 中的表达情况鲜见相关研究报道。本研究拟研究 UFC1 在 DLBCL 中的表达情况,探讨其在 DLBCL 诊疗中可能的价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 1 月至 2015 年 1 月于遵义医科大学附属医院 40 例 DLBCL 患者石蜡标本作为 DLBCL 组,以 20 例反应性淋巴结炎患者石蜡标本作为对照组。收集 40 例 DLBCL 患者的临床特征资料,包括患者年龄、性别、国际预后指数(IPI)评分、Ann Arbor 分期、美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分、结外受累数目、B 症状、血清乳酸脱氢酶(LDH)、BCL-2 蛋白、Ki-67 水平等。

1.2 方法 采用 En Vision 法进行免疫组化染色[试剂:Anti-UFC1 抗体(Abcam 公司,货号 ab189252);免疫显色试剂盒 EnVision™FLEX+、Mouse、High-pH(DAKO K800211)等]。结果判定标准采用免疫

风险得分(IRS)评分方法,对阳性细胞的数量及染色强度进行综合评分,以两者相加后的总分进行结果判定,>4 分为阳性,≤4 分为阴性。结果由 2 名病理科医师双盲法读片判断。

1.3 在线数据库分析 UFC1 在肿瘤中的表达 GEPIA 数据库^[6](<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>)是由北京大学基于 TCGA 和 GTEx 数据库建立的在线分析数据库,包含 9 736 份肿瘤组织标本和 8 587 份正常组织标本。Oncomine 数据库^[7](<https://www.oncomine.org/resource/main.html>)已经收集了 715 个数据集的 86 733 份标本的基因表达数据,整合了 GEO、TCGA 和已发表的文献等来源的 RNA 和 DNA-seq 数据。两个数据库均可用于分析基因表达差异、预测共表达基因等,本研究利用 GEPIA 及 Oncomine 数据库分析 UFC1 在多种类型肿瘤及 DLBCL 中的表达。

1.4 GEO 数据库 GEO 数据库^[8](<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)是一个国际公共数据库,用于存储高通量和二代测序基因组数据集,可提供一些基于网络的工具和策略来帮助用户查询、分析和可视化数据。GSE10846^[7]数据集中收录了 181 例采用 CHOP 方案化疗的 DLBCL 患者基因表达谱及 DLBCL 患者随访、生存时间等临床信息。本研究根据这 181 例患者的 UFC1 表达均值将其分为高表达组和低表达组,分析 UFC1 基因表达与 DLBCL 患者生存的关系。

1.5 Pathway Commons 数据库 Pathway Com-

* 基金项目:贵州省遵义市科技局基金项目[遵汇科合(2016)20 号];北京医卫健康公益基金会基金项目(B17484)。

本文引用格式:田祖国,高陆,翁春岚,等. UFC1 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及意义[J]. 检验医学与临床,2021,18(13):1836-1838.

mons 数据库^[9] (<http://www.pathwaycommons.org>)是公开应用的通路数据库,能够浏览并搜索来自多个来源的基因通路信息。当前包含了来自 9 个数据库(超过 1 400 个通路和 687 000 个相互作用的数据),本研究利用 Pathway Commons 数据库研究与 UFC1 具有相互作用的相关基因。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行处理及统计分析,组间比较采用 χ^2 检验;GEO 数据生存数据应用 Gramphpadprism 8.1 进行生存分析,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

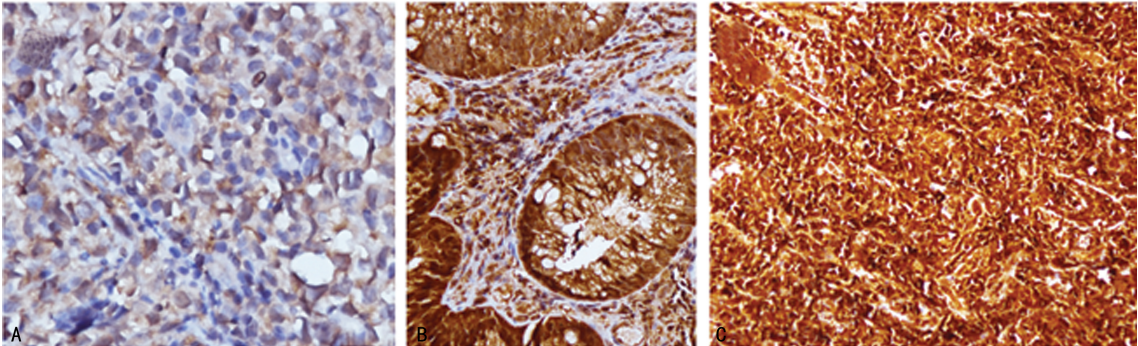
2 结 果

2.1 肿瘤数据库中 UFC1 的表达 GEPIA 数据库分析显示,UFC1 在 DLBCL、肝细胞癌(LIHC)、胸腺

瘤(THYM)及胆管癌(CHOL)中均呈高表达($P<0.01$),而在肾嫌色细胞癌(KICH)中呈低表达;Onco-mine 数据库显示,UFC1 在 DLBCL、膀胱癌、乳腺癌、肝癌、黑色素瘤及白血病中存在明显高表达;而 Onco-mine 数据库进一步分析显示,UFC1 在 DLBCL 中表达明显升高,其中以活化 B 细胞型 DLBCL 中 UFC1 高表达更明显。

2.2 UFC1 的染色表现 在反应性淋巴结炎组织中 UFC1 染色强度镜下表现见图 1。

2.3 UFC1 的组织表达 40 例 DLBCL 组织中有 37 例 UFC1 表达阳性,20 例反应性淋巴结炎组织中有 5 例 UFC1 蛋白表达阳性,差异有统计学意义($P<0.001$)。



注:A为 UFC1 1 分;B为 UFC1 2 分;C为 UFC1 3 分。

图 1 UFC1 在反应性淋巴结炎组织中的表达($\times 200$)

2.4 UFC1 表达与 DLBCL 患者临床特征的关系 对纳入的 DLBCL 患者的 UFC1 表达与其临床特征进行分析,发现进展期(Ⅲ、Ⅳ期)DLBCL 患者 UFC1 蛋白表达阳性率明显高于局限期(Ⅰ、Ⅱ期)患者($P=0.047$);而 UFC1 表达阳性率在不同年龄、性别、IPI 评分、ECOG 评分、结外受累数目、B 症状、LDH、BCL-2 蛋白、Ki-67 水平患者间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 UFC1 表达与 DLBCL 患者临床特征的关系[n(%)]				
临床特征	n	UFC1 表达		P
		阴性	阳性	
年龄(岁)				0.170
≥60	19	3(7.5)	16(40.0)	
<60	21	0(0.0)	21(52.5)	
性别				0.314
男	27	3(7.5)	24(60.0)	
女	13	0(0.0)	13(32.5)	
Ann Arbor 分期				0.047
Ⅰ、Ⅱ期	9	2(5.0)	7(17.5)	
Ⅲ、Ⅳ期	31	1(2.5)	30(75)	
B 症状				0.820
有	17	2(5.0)	15(37.5)	
无	23	1(2.5)	22(55.0)	
ECOG 评分(分)				

续表 1 UFC1 表达与 DLBCL 患者临床特征的关系[n(%)]				
临床特征	n	UFC1 表达		P
		阴性	阳性	
<2	26	2(5.0)	24(60.0)	0.630
≥2	14	1(2.5)	13(32.5)	
IPI 评分				0.320
低危	10	0(0.0)	10(25.0)	
低中危	15	1(2.5)	14(35.0)	
中高危	13	1(2.5)	12(30.0)	
高危	2	0(0.0)	2(5.0)	
LDH(U/L)				0.700
<271	25	1(2.5)	24(60.0)	
≥271	15	2(5.0)	13(32.5)	
结外器官受累				0.760
有	22	2(5.0)	14(35.0)	
无	18	1(2.5)	23(57.5)	
BCL-6 表达				0.880
阳性	22	1(2.5)	21(52.5)	
阴性	18	2(5.0)	16(40.0)	
BCL-2 表达				0.460
阳性	10	2(5.0)	9(22.5)	
阴性	30	1(2.5)	28(70.0)	
Ki-67(%)				0.090
<60	15	1(2.5)	14(35.0)	
≥60	25	2(5.0)	23(57.5)	

2.5 UFC1 表达与 DLBCL 生存预后关系 根据 GEO 数据库资料分析显示,UFC1 高表达的 DLBCL 患者总生存期更短($P=0.009$),见图 2。

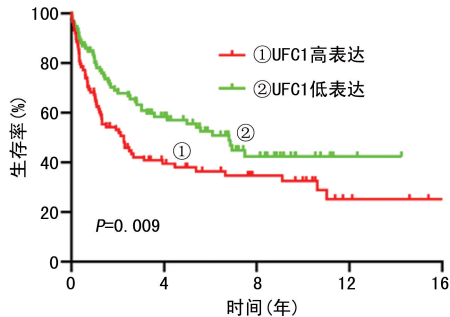


图2 UFC1 表达与 DLBCL 患者生存预后关系

2.6 UFC1 调控网络分析 Pathway Commons 数据库分析显示,UFC1 与 24 种其他基因存在相互作用关系,包括 AR、ATP6V1F、CLNS1A、KIRREL3、LDHB、LYPLA2、NEDD8、OGA、RPS27A、STAT 1、TCF3、TYMS、UBA3、UBA5、UBA52、UBB、UBC、UNK、USP9X、VCL、VHL、WDYHV1、YKT6、ZFYVE19。

3 讨论

DLBCL 是非霍奇金淋巴瘤中最常见的类型,无论在形态学还是临床特征上,DLBCL 都具有明显的异质性,有相当一部分 DLBCL 患者治疗效果不佳,患者的生存期存在明显差异。研究 DLBCL 可能的发病机制对于 DLBCL 的诊断、治疗及预后判断均有积极的临床意义。泛素-蛋白酶体系统(UPS)介导细胞内泛素化的蛋白质经蛋白酶体降解,可高效并高选择性地降解细胞内蛋白质,如细胞周期调节蛋白、癌基因和抑癌基因产物及变性变构蛋白等^[10]。继泛素在 20 世纪 70 年代中期被发现后,与泛素类似的小蛋白家族不断被报道,并被称为泛素样蛋白(UBLs),其成员不断增加。目前已经鉴定出 9 大类 17 种的类泛素蛋白,包括 NEDD8、SUMO、ISG15、FUB1、FAT10、Atg8、Atg12、Urm1 和 UFM1^[4]。

UFC1 是一个新鉴定的类似泛素结合酶 E2,在人体定位于 1 号染色体上。Ufm1 首先被 Uba5(E1)激活,然后被转移给 Ufc1(E2),再被转移给 Ufl1(E3),最后共价结合到靶蛋白上。目前发现的靶蛋白有 C20orf116^[11]、CDK5RAP3/LZAP^[12]。有研究发现,与正常组织和细胞系相比,UFC1 在乳腺癌组织和细胞系中呈高表达^[13]。沉默的 UFC1 抑制了乳腺癌细胞的多种生物学活性,而乳腺癌细胞也起着 miR-34a 海绵的作用 LncRNA, UFC1 通过 miR-34a/CXCL10 轴调控乳腺癌的生物学活性,为乳腺癌提供了新的诊断标志物和潜在的治疗靶标^[14]。有研究以 UFC1 基因为对象,结果显示,在正常的 HBL100 乳腺细胞系中的 mRNA 表达最低,而在乳腺癌细胞系 MCF7、MDA-MB231、MDA-MB-453 中的表达明显增强,并

且在乳腺癌细胞系 MDA-MB-453 中的表达最强;Western-blot 检测结果也显示,在乳腺癌组织中 UFC1 基因的表达明显高于正常乳腺组织,其表达量的不同,提示 UFC1 基因与乳腺癌的发生和发展有着密切关系^[15-17]。

本研究首先应用在线数据库分析 UFC1 的表达,显示其在多种恶性肿瘤中均有异常的高表达,其与肿瘤有较为密切的关系。并且两个数据库均证实 UFC1 在 DLBCL 中也呈明显的高表达,提示其与 DLBCL 的发病可能存在相关性。进一步将纳入的标本采用免疫组化检测,证实在 DLBCL 患者标本中 UFC1 表达明显高于反应性淋巴结炎患者标本。将 DLBCL 患者的临床特征进行分析,发现进展期(Ⅲ、Ⅳ期)DLBCL 患者 UFC1 表达明显高于局限期(Ⅰ、Ⅱ期)DLBCL 患者,而 DLBCL 患者的临床分期可能影响患者的临床预后。因本研究队列病例数较少,随访脱落数据偏多,笔者选择 GEO 数据库中包含 DLBCL 长期随访数据的 GSE10846 数据集分析 UFC1 表达与 DLBCL 生存预后关系,结果显示,UFC1 高表达的 DLBCL 患者总生存期更短。在 Pathway Commons 数据库中检索 UFC1 基因,发现其与多种肿瘤基因均存在相互作用关系,比如 NEDD8 与淋巴瘤密切相关,其作为淋巴瘤治疗靶点已初步取得了临床效果^[18]。由此推测 UFC1 可能与多种肿瘤机制相关。

综上所述,UFC1 在 DLBCL 患者中呈异常高表达,UFC1 的异常高表达与 DLBCL 较晚分期等存在相关性,并提示 UFC1 高表达的 DLBCL 患者可能存在不良预后。UFC1 在多种肿瘤中异常表达,并且与多种肿瘤基因存在相互作用的可能,其深入的作用机制有待未来的进一步研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 淋巴瘤诊疗规范(2018 年版)[J/CD]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2019, 5(4): 50-71.
- [2] CROMBIE J L, ARMAND P. Diffuse large B-Cell lymphoma and high-grade B-Cell lymphoma: genetic classification and its implications for prognosis and treatment [J]. Surg Oncol Clin N Am, 2020, 29(1): 115-125.
- [3] 黄禾晋, 侯健. SUMO 化修饰与血液系统疾病[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(1): 218-221.
- [4] ZHANG X, LIANG W, LIU J, et al. Long non-coding RNA UFC1 promotes gastric cancer progression by regulating miR-498/Lin28b[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 134-142.
- [5] 贺爱兰, 彭东海, 吴小玲, 等. 泛素结合酶 UFC1 基因的荧光表达载体构建[J]. 现代农业科技, 2011, 40(8): 23-24.
- [6] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene (下转第 1842 页)

- 958.
- [3] WANG X D, ZHENG M, LOU H F, et al. An increased prevalence of self-reported allergic rhinitis in major Chinese cities from 2005 to 2011[J]. *Allergy*, 2016, 71(8): 1170-1180.
 - [4] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会鼻科组, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会鼻科学组. 变应性鼻炎诊断和治疗指南(2015 年, 天津)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 51(1): 6-24.
 - [5] SEIDMAN M D, GURGEL R K, LIN S Y, et al. Clinical practice guideline: allergic rhinitis[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2015, 152(S1): S1-S43.
 - [6] 叶惠英, 韩珊珊, 柯琴剑. 1 252 例过敏性疾病患者血清过敏原检测与分析[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(4): 462-464.
 - [7] LOU H, MA S, ZHAO Y, et al. Sensitization patterns and minimum screening panels for aeroallergens in self-reported allergic rhinitis in China[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9286.
 - [8] BOUSQUET J, SCHÜNEMANN H J, SAMOLINSKI B, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA): achievements in 10 years and future needs[J]. *J Allerg Clin Immunol*, 2012, 130(5): 1049-1062.
 - [9] CINGI C, CAKLI H, MIMAN O, et al. Correlation of environmental mite levels and the symptoms of allergic rhinitis regarding the efficacy of preventive education[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2007, 35(6): 243-247.
 - [10] 秦晓燕, 郭广宏, 康慧媛, 等. 北京地区变应性鼻炎患者血清总 IgE 及 sIgE 结果分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(5): 741-745.
 - [11] 王洁, 王蓓, 朱晶, 等. 西北地区 1 270 例儿童变应原检测结果分析[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(6): 699-703.
 - [12] 孟亚萍, 雒红霞, 韩海阳, 等. 太原地区 1 827 例变应性鼻炎患者变应原检测分析[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2020, 27(4): 196.
 - [13] 杨蕊, 邹游, 谯月龙, 等. 武汉地区 1 507 例变应性鼻炎患者吸入性变应原特征分析[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2019, 33(3): 267-271.
 - [14] 邵婵, 何雪梅, 魏庆宇. 艾蒿花粉过敏患者呼出一氧化氮及肺功能相关性研究[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2019, 26(1): 45.
 - [15] 李欣, 孙璐, 李同丽, 等. 太原地区变应性鼻炎患者吸入性变应原分布特点[J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2018, 25(10): 550-552.
 - [16] 李伟, 江晶. 安庆地区变应性鼻炎变应原调查分析[J]. *中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志*, 2020, 28(1): 29-32.
 - [17] 邓月, 张健, 程寅, 等. 上海地区变应性鼻炎患者变应原特征分析[J]. *第二军医大学学报*, 2020, 41(10): 1062-1067.
 - [18] ERIKSSON J, BJERG A, LÖTVALL J, et al. Rhinitis phenotypes correlate with different symptom presentation and risk factor patterns of asthma[J]. *Respir Med*, 2011, 105(11): 1611-1621.

(收稿日期: 2020-08-26 修回日期: 2021-02-15)

(上接第 1838 页)

- expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W98-W102.
- [7] RHODES D R, YU J, SHANKER K, et al. ONCOMINE: a cancer microarray database and integrated data-mining platform[J]. *Neoplasia*, 2004, 6(1): 1-6.
 - [8] BARRETT T, WILHITE S E, LEDOUX P A, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets-update[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(D1): D991-D995.
 - [9] RODCHENKOV I, BABUR O, LUNA A, et al. Pathway Commons 2019 Update: integration, analysis and exploration of pathway data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D489-D497.
 - [10] RUIZ-VELA A, AGGARWAL M, DE LA CUEVA P, et al. Lentiviral (HIV)-based RNA interference screen in human B-cell receptor regulatory networks reveals MCL1-induced oncogenic pathways[J]. *Blood*, 2008, 111(3): 1665-1676.
 - [11] 倪晓光, 赵平. 泛素-蛋白酶体途径与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2007, 14(19): 1512-1515.
 - [12] TATSUMI K, SOU Y S, TADA N, et al. A novel type of E3 ligase for the Ufm1 conjugation system[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(8): 5417-5427.
 - [13] LEMAIRE K, MOURA R F, GRANVIK M, et al. Ubiquitin fold modifier 1 (UFM1) and its target UFBP1 protect pancreatic beta cells from ER stress-induced apoptosis[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18517.
 - [14] XIE R, WANG M, ZHOU W T, et al. Long Non-Coding RNA (LncRNA) UFC1/miR-34a contributes to proliferation and migration in breast cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25(25): 7149-7157.
 - [15] 贺爱兰, 吴小玲, 张波. UFC1 基因在乳腺癌细胞中的表达及意义[J]. *长沙大学学报*, 2011, 25(2): 75-77.
 - [16] 贺爱兰, 张梦成, 彭东海. UFC1 基因在乳腺细胞系中的表达分析[J]. *湖南人文科技学院学报*, 2011, 28(2): 79-81.
 - [17] 贺爱兰, 张波, 刘如石. UFC1 基因在乳腺癌和正常乳腺组织中的表达[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2011, 34(3): 69-72.
 - [18] ASSUMPCÃO A, LU Z, MARLOWE K W, et al. Targeting NEDD8-activating enzyme is a new approach to treat canine diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Vet Comp Oncol*, 2018, 16(4): 606-615.

(收稿日期: 2020-10-16 修回日期: 2021-03-09)