

• 论 著 •

Ras 鸟苷酸释放蛋白 1、垂体同源框 1、消皮素 D 在皮肤黑色素瘤中的表达及相关性研究*

徐 妍¹, 张晓莉², 孙 屏³, 陈许蕾³, 陈暑波¹, 杭 猛¹, 徐 伟^{1△}

南京医科大学附属无锡第二医院: 1. 肿瘤科; 2. 皮肤科; 3. 病理科, 江苏无锡 214000

摘 要:目的 探讨 Ras 鸟苷酸释放蛋白 1(RASGRP1)、垂体同源框 1(PITX1)、消皮素 D(GSDMD)在皮肤黑色素瘤中的表达及诊断价值。方法 选取 2013 年 1 月至 2019 年 12 月在该院诊治的 72 例皮肤黑色素瘤患者为研究组, 对其癌组织、癌旁组织标本进行免疫组化染色, 同时选取同期在该院进行整形手术的皮肤正常者 40 例为对照组。对待测标本中 RASGRP1、PITX1、GSDMD 表达进行检测, 对比、分析 RASGRP1、PITX1、GSDMD 在不同临床特征皮肤黑色素瘤中的表达, 探讨三者间的相关性及对皮肤黑色素瘤的诊断价值。结果 与对照组比较, 研究组癌组织中 RASGRP1、PITX1 表达降低, GSDMD 表达升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。RASGRP1、PITX1、GSDMD 的表达与皮肤黑色素瘤患者性别、年龄无关($P > 0.05$), 与肿瘤最大径、浸润深度、分化程度、淋巴结转移、其他部位转移、预后情况、临床分期有关($P < 0.05$), 且肿瘤最大径 ≥ 2 cm、Clark III ~ V 期、低分化、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、IV 期皮肤黑色素瘤患者 RASGRP1、PITX1 表达较低, GSDMD 表达较高($P < 0.05$)。Pearson 相关分析显示, RASGRP1 与 PITX1 呈正相关($r = 0.523$, $P = 0.001$), RASGRP1 与 GSDMD 呈负相关($r = -0.612$, $P = 0.001$), PITX1 与 GSDMD 呈负相关($r = -0.569$, $P = 0.001$)。RASGRP1、PITX1、GSDMD 联合检测对皮肤黑色素瘤的诊断价值优于单项检测($P < 0.05$)。结论 RASGRP1、PITX1 在皮肤黑色素瘤组织中低表达, GSDMD 呈高表达, RASGRP1、PITX1、GSDMD 可作为皮肤黑色素瘤的检测指标。

关键词: Ras 鸟苷酸释放蛋白 1; 垂体同源框 1; 消皮素 D; 皮肤黑色素瘤

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.04.018

中图法分类号: R739.5

文章编号: 1673-4130(2022)04-0465-06

文献标志码: A

Expression and correlation of Ras guanylate releasing protein 1, pituitary homeobox 1 and gasdermin D in skin melanoma*

XU Yan¹, ZHANG Xiaoli², SUN Ping³, CHEN Xulei³, CHEN Shubo¹, HANG Meng¹, XU Wei^{1△}

1. Department of Oncology; 2. Department of Dermatology; 3. Department of Pathology,

Affiliated Wuxi Second People's Hospital, Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu 214000, China

Abstract: Objective To explore the expressions and diagnostic value of Ras guanylate releasing protein 1 (RASGRP1), pituitary homeobox 1 (PITX1) and gasdermin D (GSDMD) in skin melanoma. **Methods** A total of 72 patients with skin melanoma diagnosed and treated in this hospital from January 2013 to December 2019 were selected as the study group. The immunohistochemical staining was performed on the samples of cancer tissues and paracancerous tissues, meanwhile 40 patients with normal skin undergoing plastic surgery in this hospital during the same period were selected as the control group. The expressions of RASGRP1, PITX1 and GSDMD in the samples under test were detected. The expressions of RASGRP1, PITX1 and GSDMD were compared among the different clinical characteristics of skin melanoma and analyzed to investigate the correlation among the three and their diagnostic value for skin melanoma. **Results** Compared with the control group, the expressions of RASGRP1 and PITX1 in the cancer tissue of the study group were decreased, the expression of GSDMD was increased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The expressions of RSGRP1, PITX1 and GSDMD had no relation with the gender and age of the patients with skin melanoma ($P > 0.05$), but had the relation with the maximum tumor diameter, invasion depth, degree of differenti-

* 基金项目: 江苏省无锡市医学重点人才培养项目(ZDRC016)。

作者简介: 徐妍, 女, 副主任医师, 主要从事实体瘤化疗、靶向及免疫治疗研究。△ 通信作者, E-mail: ge06276@21cn.com。

本文引用格式: 徐妍, 张晓莉, 孙屏, 等. Ras 鸟苷酸释放蛋白 1、垂体同源框 1、消皮素 D 在皮肤黑色素瘤中的表达及相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(4): 465-469.

ation, lymph node metastasis, metastasis to other sites, prognosis and clinical stage ($P < 0.05$). The expressions of RASGRP1 and PITX1 in the patients with the maximum tumor diameter ≥ 2 cm, stage of Clark III ~ V, low differentiation, lymph node metastasis and metastasis to other sites, poor prognosis and stage IV skin melanoma were lower and the GSDMD expression was higher ($P < 0.05$). The Pearson correlation analysis showed that RASGRP1 was positively correlated with PITX1 ($r = 0.523, P = 0.001$), RASGRP1 was negatively correlated with GSDMD ($r = -0.612, P = 0.001$), PITX1 was negatively correlated with GSDMD ($r = -0.569, P = 0.001$). The diagnostic value of RASGRP1, PITX1 and GSDMD combined detection was better than that of single detection ($P < 0.05$). **Conclusion** RASGRP1 and PITX1 are lowly expressed in the tissues of the patients with skin melanoma, while GSDMD is highly expressed. RASGRP1, PITX1 and GSDMD could be used as the detection indicators in skin melanoma.

Key words: Ras guanotide releasing protein 1; pituitary homobox 1; gasdermin D; skin melanoma

皮肤黑色素瘤是一种皮肤黑色素细胞来源的高度恶性肿瘤,其多发于足跖、手指、下肢、会阴部和脚指甲下等部位,发展迅速、预后差、病死率较高^[1]。皮肤黑色素瘤患者早期可出现淋巴结、肝、肺、脑等转移,后期治疗较棘手。其中侵袭、转移是导致患者死亡的主要原因^[2]。Ras 鸟苷酸释放蛋白 1(RASGRP1)在乳腺癌中阳性表达降低,且对乳腺癌细胞增殖、迁移具有一定影响;垂体同源框 1(PITX1)在肺腺癌组织中的水平变化与患者的 TNM 分期、淋巴结转移情况和肿瘤大小显著相关;消皮素 D(GSDMD)表达与上皮性卵巢癌患者淋巴结转移及不良预后发生密切相关,为不良预后的独立危险因素^[3-5]。既往研究显示,GSDMD 低表达是上皮性卵巢癌患者不良预后发生的独立危险因素^[3-5]。目前临床上关于 RASGRP1、PITX1、GSDMD 三者联合检测在皮肤黑色素瘤中的报道较少,故本文进行了相关研究,旨在探讨以上指标在皮肤黑色素瘤中的表达及相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2019 年 12 月于本院就诊的 72 例皮肤黑色素瘤患者纳入研究组,包括男 38 例、女 34 例,年龄 30~78 岁、平均(56.84±20.23)岁。其中有淋巴结转移 31 例,无淋巴结转移 41 例;浸润程度:Clark I~II 期(浅浸润)44 例,Clark III~V 期(深浸润)28 例;临床分期:I~II 期 44 例,III 期 18 例,IV 期 10 例。选取同期在本院进行整形手术的皮肤正常者 40 例为对照组。按照美国癌症分期联合会制定的第 7 版 TNM 分期系统对皮肤黑色素瘤病理结果进行分期^[6]。所有研究对象及家属均知情同意本研究,且本研究符合《赫尔辛基宣言》伦理学要求。

纳入标准:研究组患者符合《中国黑色素瘤规范化病理诊断专家共识(2017 年版)》^[7]中皮肤黑色素瘤诊断标准;所有患者术前未进行放化疗及靶向治疗;病历资料完整;所有标本均经病理科组织病理学确诊;预计寿命超过 3 个月。对照组所取标本经病理组织学确诊为良性痣,无恶变。**排除标准:**严重营养不

良、患有精神疾病或合并恶性肿瘤者;心、肝、肺、肾等脏器严重疾病者;妊娠期或哺乳期女性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 取研究组患者 6 μ m 厚度癌组织、癌旁组织标本以及对照组良性痣组织进行固定、石蜡包埋、连续切片处理,脱蜡、水化后清洗 3 次,3 分钟/次,之后使用 95 $^{\circ}$ C 枸橼酸盐缓冲液(pH6.0)加热,30 min 后取出冷却,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗。滴加 0.3%过氧化氢阻断剂、4%脱脂奶粉,恒温孵育 30 min,添加一抗 CD63 蛋白的兔单克隆抗体,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,滴加二抗 GB,再次孵育 30 min,再与抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物孵育 30 min,使用 PBS 清洗,3,3'-二氨基联苯胺(DAB)溶液显色处理 8 min,苏木精染核,反蓝、脱水处理后封片。

1.2.2 免疫组化法检测 将准备好的切片放置 60 $^{\circ}$ C 烤箱,烤片 2 h,使用二甲苯反复脱蜡 3 次,10 分钟/次,梯度乙醇水化,用蒸馏水冲洗 5 min。将切片放置于塑料染色架上,放入 0.01 mol/L pH 6.0 枸橼酸组织抗原缓冲液中,加热 15~20 min,冷却。蒸馏水冲玻片洗 2 次,PBS 冲洗 3 次,3 分钟/次。组织切片滴加过氧化物酶阻断剂,恒温孵育 10 min,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min。去除 PBS,滴加 1 滴一抗,放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存;次日取出放置 30 min,PBS 冲洗 3 次,3 分钟/次。除去 PBS,切片滴加 50 μ L MaxVisionTM 试剂,恒温孵育 15 min,PBS 冲洗 3 次,3 分钟/次。除去 PBS,切片滴加 DAB 显色试剂显色。3~5 min 后冲洗终止显色。苏木精复染细胞核 1 min,冲洗、反蓝。梯度乙醇脱水,二甲苯透明 10 min,风干,封片。

1.2.3 反转录 PCR(RT-PCR)检测 RASGRP1、PITX1、GSDMD 表达 提取细胞总 RNA 并对纯度、水平进行检测,反转录处理,反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 20 s,56 $^{\circ}$ C 20 s;72 $^{\circ}$ C 1 min,40 个循环;72 $^{\circ}$ C 终末延伸 6 min,Ct 值($2^{-\Delta\Delta Ct}$)法表示 RASGRP1、PITX1、GSDMD 相对表达量。各引物序列:RASGRP 上游引物 5'-TCCTTCTGTGTGATGGA-

CAAAGAC-3', RASGRP 下游引物 5'-CTGTGG-GAGCTACTGGGTTCTT-3'; PITX1 上游引物 5'-GGCTACTCCTACAACAACCTGGG-3', PITX1 下游引物 5'-AACATGGACTGCGACGACA-3'; GSDMD 上游引物 5'-GGACCTAACACCTGGCAGACT-3', GSDMD 下游引物 5'-TTGTGGGTGCGCGTGA CTT-3'; 内参磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)上游引物 5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', 下游引物 5'-CAAAGTTGTCATGGATGHACC-3'。

1.2.4 随访 对研究组研究对象进行 1 年随访, 通过住院复查、电话询问等方式获得患者客观生存情况及皮肤黑色素瘤切除后有无复发、增大。入选病例随访至病例死亡或截至 2020 年 12 月。随访结束后, 根据研究组患者死亡情况评估预后情况, 其中预后良好(非死亡)39 例、预后不良(死亡)33 例。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件进行处理和分析。应用 Kolmogorov-Smirnov 检验判断数据是否符合正态分布, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用 *F* 检验, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验; RASGRP1、PITX1、GSDMD 之间的相关性采用 Pearson 相关进行分析; 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 RASGRP1、PITX1、GSDMD 对皮肤黑色素瘤的诊断价值。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RASGRP1、PITX1、GSDMD 在不同组织中的表达 如表 1 所示, 与对照组相比, 研究组癌组织及癌旁组织中 RASGRP1、PITX1 表达降低, GSDMD 表达升高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。与癌旁组织相比, 癌组织中 RASGRP1、PITX1 表达降低, GSDMD 表达升高, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。

表 1 RASGRP1、PITX1、GSDMD 在不同组织中的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	RASGRP1	PITX1	GSDMD
对照组	40	3.56±0.26	3.17±0.35	0.43±0.10
研究组				
癌旁组织	72	2.98±0.46 ^a	2.86±0.55 ^a	0.56±0.11 ^a
癌组织	72	1.02±0.11 ^{ab}	0.43±0.05 ^{ab}	1.04±0.17 ^{ab}
<i>F</i>		7.340	3.218	6.186
<i>P</i>		0.001	0.002	0.001

注: 与对照组比较, ^a*P* < 0.05; 与癌旁组织比较, ^b*P* < 0.05。

2.2 RASGRP1、PITX1、GSDMD 与皮肤黑色素瘤患者病理特征的相关性分析 如表 2 所示, RASGRP1、PITX1、GSDMD 的表达与皮肤黑色素瘤患者性别、年龄无关 (*P* > 0.05), 与肿瘤最大径、浸润深度、分化程度、淋巴结转移、其他部位转移、预后情况、临床分期有关 (*P* < 0.05), 且肿瘤最大径 ≥ 2 cm、Clark Ⅲ ~ V 期、低分化、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、Ⅳ期皮肤黑色素瘤患者 RASGRP1、PITX1 表达较低, GSDMD 表达较高 (*P* < 0.05)。

2.3 RASGRP1、PITX1、GSDMD 之间的相关性分析 如图 1 所示, Pearson 相关分析结果显示, RASGRP1 与 PITX1 呈正相关 (*r* = 0.523, *P* = 0.001), RASGRP1 与 GSDMD 呈负相关 (*r* = -0.612, *P* = 0.001), PITX1 与 GSDMD 呈负相关 (*r* = -0.569, *P* = 0.001)。

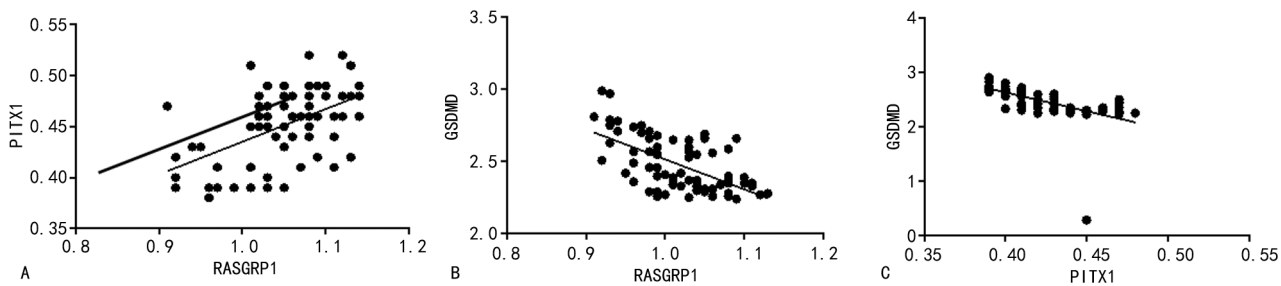
2.4 RASGRP1、PITX1、GSDMD 单项及联合检测对皮肤黑色素瘤的诊断价值 如表 3、图 2 所示, RASGRP1、PITX1、GSDMD 联合检测对皮肤黑色素瘤的诊断价值优于单项检测, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。

表 2 RASGRP1、PITX1、GSDMD 与皮肤黑色素瘤患者病理特征的相关性分析($\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	RASGRP1	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	PITX1	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	GSDMD	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
性别			0.902	0.370		1.060	0.293		0.999	0.321
男	38	1.49±0.15			2.19±0.22			1.98±0.23		
女	34	1.52±0.13			2.13±0.26			2.03±0.19		
年龄(岁)			1.245	0.217		0.488	0.627		0.361	0.719
<60	40	1.09±0.11			2.34±0.25			2.11±0.22		
≥60	32	1.12±0.09			2.31±0.27			2.09±0.25		
肿瘤最大径(cm)			23.800	0.001		8.640	0.001		6.445	0.001
<2	37	1.43±0.15			2.45±0.26			1.99±0.21		
≥2	35	0.75±0.08			1.97±0.21			2.34±0.25		
浸润深度			13.080	0.001		10.210	0.001		8.219	0.001
Clark Ⅰ ~ Ⅱ 期	44	1.48±0.15			2.38±0.24			1.85±0.19		
Clark Ⅲ ~ V 期	28	1.05±0.11			1.86±0.19			2.26±0.23		

表 2 RASGRP1、PITX1、GSDMD 与皮肤黑色素瘤患者病理特征的相关性分析($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	RASGRP1	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	PITX1	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>	GSDMD	<i>t</i> / <i>F</i>	<i>P</i>
分化程度			3.345	0.001		5.682	0.001		78.240	0.001
高	46	1.39±0.15			2.46±0.25			1.73±0.18		
中	17	1.13±0.13			2.11±0.21			2.04±0.21		
低	9	0.96±0.08			1.94±0.18			2.53±0.26		
淋巴结转移			14.260	0.001		9.167	0.001		8.490	0.001
无	41	1.56±0.17			2.67±0.28			1.87±0.19		
有	31	1.06±0.11			2.13±0.22			2.31±0.25		
其他部位转移			11.200	0.001		8.950	0.001		8.658	0.001
无	45	1.46±0.18			2.59±0.27			1.93±0.18		
有	27	1.03±0.11			2.08±0.21			2.37±0.25		
预后情况			21.690	0.001		10.540	0.001		9.075	0.001
良好	39	1.69±0.17			2.51±0.26			1.85±0.19		
不良	33	0.99±0.08			1.95±0.19			2.31±0.24		
临床分期			12.069	0.001		6.698	0.001		5.901	0.001
Ⅰ～Ⅱ期	44	1.78±0.19			2.58±0.27			1.65±0.18		
Ⅲ期	18	1.34±0.15			2.16±0.22			2.01±0.19		
Ⅳ期	10	0.92±0.09			1.73±0.18			2.34±0.25		



注:A为 RASGRP1 与 PITX1 的相关性;B为 RASGRP1 与 GSDMD 的相关性;C为 PITX1 与 GSDMD 相关性。

图 1 RASGRP1、PITX1、GSDMD 之间关系的散点图

表 3 RASGRP1、PITX1、GSDMD 单项及联合检测对皮肤黑色素瘤的诊断价值

项目	曲线下面积	95%CI	<i>P</i>	标准误	灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)
RASGRP1	0.742	0.604～0.881	0.003	0.071	78.46	83.49	81.36
PITX1	0.774	0.641～0.908	0.001	0.068	80.46	81.26	79.63
GSDMD	0.739	0.602～0.877	0.004	0.070	76.13	85.91	77.21
3 项联合	0.861	0.757～0.965	0.001	0.053	86.49	75.12	88.63

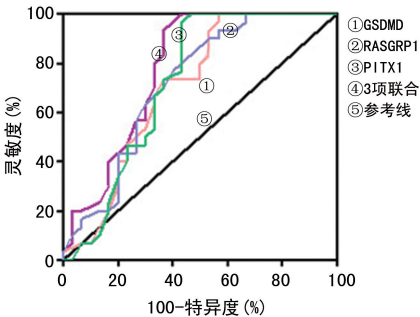


图 2 RASGRP1、PITX1、GSDMD 诊断皮肤黑色素瘤的 ROC 曲线

3 讨 论

临床研究显示,MAPK/ERK 信号通路在黑色素瘤的发生、发展中起着重要作用,可通过遗传和表观遗传事件重新激活 MAPK 信号,是肿瘤获得靶向治疗耐药性的主要机制。RASGRP1 是 Ras 鸟嘌呤核苷酸交换因子的重要成员之一,可通过将 T 细胞受体与 Ras-促丝裂原-激活的蛋白激酶信号通路偶联,调控细胞的增殖和存活,将 GDP 交换为 GTP 进而促进 Ras 活化,进一步活化 RAF1-MEK1/2-ERK1/2 途径^[7-9]。RASGRP1 与 Ras 信号通路蛋白在大肠癌、非

小细胞肺癌中表达异常,可作为药物抗癌的重要靶点。RASGRP1 通过参与细胞新陈代谢及清除损伤基因的外源性化合物,抑制和缓解 DNA 损伤和癌变,可为研究肿瘤发生、发展机制提供重要线索^[10]。本研究中皮肤黑色素瘤组织中 RASGRP1 表达低于良性痣组织、癌旁组织,说明 RASGRP1 在皮肤黑色素瘤中呈低表达,且随着肿瘤最大径增大、浸润程度加深、分化程度加剧、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、临床分期加剧,其表达逐渐降低。其原因可能是 RASGRP1 为 Ras 的促凋亡作用因子,可通过调控 Ras 蛋白信号转导、T 细胞受体信号通路影响皮肤黑色素瘤的发生、发展。

PITX1 属于抑癌基因,可通过直接结合启动子进而抑制端粒酶发挥作用,研究显示,PITX1 在人黑色素瘤细胞株中呈低表达,是人类皮肤肿瘤的预后指标^[11]。PITX1 是同源盒基因家族主要成员之一,在人体组织以及肿瘤的发生、发展中起关键作用。有研究发现,PITX1 在非小细胞肺癌组织中表达水平明显升高,且高于正常组织^[12];PITX1 在胃癌组织中呈低表达且与胃癌患者不良预后密切相关^[13],但关于 PITX1 在皮肤黑色素瘤中报道较少。既往研究显示,PITX1 在人子宫颈鳞状细胞癌、胃癌、子宫内膜癌中表达异常,可作为新兴的生物标志物,并且可作为人子宫颈鳞状细胞癌化学药物治疗敏感性的生物标志物^[14]。在本研究中,PITX1 在黑色素瘤组织中表达明显低于癌旁组织,且随着肿瘤最大径增大、浸润程度加深、分化程度加剧、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、临床分期加剧,其表达逐渐降低。其原因可能为 PITX1 可通过 RASAL1 影响 RAS 途径,抑制致癌性发展。RASAL1 是 RAS-GAP 基因家族成员(控制 Ras 蛋白活性的是 GTP 酶激活蛋白),抑制 RAS/MAKP 途径的激活有助于抑制人黑色素瘤细胞的增殖。

GSDMD 是 Gsdmerin 家族主要成员之一,是细胞凋亡过程中的效应蛋白,在食管鳞癌中,高表达 GSDMD 可介导并激活半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)依赖的细胞凋亡,导致食管鳞癌患者病情进展受到抑制,可作为放化疗替代治疗手段^[15]。有研究显示,GSDMD 表达与上皮性卵巢癌患者淋巴结转移及患者不良预后密切相关,为不良预后的独立危险因素;GSDMD 是细胞凋亡的关键蛋白酶,是细胞凋亡过程中炎性半胱氨酸蛋白酶的共同效应蛋白,受炎性半胱氨酸蛋白酶刺激,释放一些炎症因子,进而激活 T 细胞介导的抗肿瘤免疫反应^[16-18]。在本研究中,GSDMD 在黑色素瘤组织中表达明显高于癌旁组织、良性痣组织,提示其在皮肤黑色素瘤中呈高表达。GSDMD 随

着肿瘤最大径增大、浸润程度加深、分化程度加剧、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、临床分期加剧,其表达增加。其原因可能为高表达 GSDMD 可能与其诱导细胞凋亡的能力减弱有关。

综上所述,本研究结果显示,RASGRP1、PITX1 在皮肤黑色素瘤中低表达,GSDMD 在皮肤黑色素瘤中高表达。RASGRP1、PITX1、GSDMD 两两之间呈线性相关且与病理特征有着明显关联,随着肿瘤最大径增大、浸润程度加深、分化程度加剧、淋巴结转移、其他部位转移、预后不良、临床分期加剧,RASGRP1、PITX1 表达越低,GSDMD 表达越高。此外,本研究存在样本量小、病例来源局限等不足,研究结果仍需大样本、多中心试验验证。

参考文献

- [1] DAVIS L E,SHALIN S C,TACKETT A J. Current state of melanoma diagnosis and treatment[J]. Cancer Biol Ther,2019,20(11):1366-1379.
- [2] NAMIKAWA K,YAMAZAKI N. Targeted therapy and immunotherapy for melanoma in Japan[J]. Curr Treat Options Oncol,2019,20(1):7.
- [3] 戴素华,朱正秋. GSTP1 和 RasGRP1 在乳腺癌中的表达及对 MCF-7 细胞增殖迁移能力的影响[J]. 中国现代医学杂志,2021,31(5):1-7.
- [4] 张卫东. PITX1 基因在肺腺癌中的表达及临床预后意义[J]. 临床与病理杂志,2021,41(4):742-747.
- [5] 王丹,尹燕娜,裴燕,等. GSDMD、Caspase-4 在上皮性卵巢癌组织中的表达及临床意义[J]. 中国计划生育学杂志,2021,29(4):743-747.
- [6] 齐曼丽,冯俊明,任勇,等. 47 例皮肤黑色素瘤的临床与病理分析[J]. 肿瘤防治研究,2013,40(12):1174-1178.
- [7] 《中国黑色素瘤规范化病理诊断专家共识(2017 年版)》编写组. 中国黑色素瘤规范化病理诊断专家共识(2017 年版)[J]. 中华病理学杂志,2018,47(1):7-13.
- [8] WADA-OHNO M,ITO T,FURUE M. Adjuvant therapy for melanoma[J]. Curr Treat Options Oncol,2019,20(8):63.
- [9] BAARS M J D,DOUMA T,SIMEONOV D R,et al. Dys-regulated RASGRP1 expression through RUNX1 mediated transcription promotes autoimmunity[J]. Eur J Immunol,2021,51(2):471-482.
- [10] 杨柳,陶娟,涂亚庭. Ras 鸟苷酸释放蛋白家族的功能研究新进展[J]. 实用医院临床杂志,2015,41(2):8-12.
- [11] 赵滨,阴亚坤. 皮肤黑色素瘤中 PITX1 表达及其与临床病理特征和预后的关系[J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志,2020,19(1):20-24.
- [12] JIANG W,HE Y,SHI Y,et al. MicroRNA-1204 promotes cell proliferation by regulating PITX1 in non-small-cell lung cancer[J]. Cell Biol Int,2019,43(3):253-264.

(下转第 474 页)

99-114.

- [4] XU W G, QIAN Y F, WU J. The effect of prediabetes on hepatocellular carcinoma risk: a systematic review and meta-analysis[J]. *Minerva Med*, 2017, 108(2): 185-190.
- [5] LÓPEZ-PASTOR A R, INFANTE-MENÉNDEZ J, ESCRIBANO Ó, et al. MiRNA dysregulation in the development of non-alcoholic fatty liver disease and the related disorders type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 527059.
- [6] BANERJEE J, ROY S, DHAS Y, et al. Senescence-associated miR-34a and miR-126 in middle-aged Indians with type 2 diabetes[J]. *Clin Exp Med*, 2020, 20(1): 149-158.
- [7] TORRES J L, NOVO-VELEIRO I, MANZANEDO L, et al. Role of microRNAs in alcohol-induced liver disorders and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(36): 4104-4118.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292-344.
- [9] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 非酒精性脂肪性肝病防治指南 (2018 更新版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2018, 26(3): 195-203.
- [10] XIA M F, YAN H M, HE W Y, et al. Standardized ultrasound hepatic/renal ratio and hepatic attenuation rate to quantify liver fat content: an improvement method[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2012, 20(2): 444-452.
- [11] SAEEDI P, PETERSOHN I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2019, 157: 107843.
- [12] 中国研究型医院学会肝病专业委员会, 中国医师协会脂肪性肝病专家委员会, 中华医学会肝病学会脂肪肝与酒精性肝病学组, 等. 中国脂肪性肝病诊疗规范化的专家建议 (2019 年修订版) [J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(10): 748-753.
- [13] SLABÁKOVÁ E, CULIG Z, REMŠÍK J, et al. Alternative mechanisms of miR-34a regulation in cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3100.
- [14] LIN X, GUAN H, HUANG Z, et al. Downregulation of Bcl-2 expression by miR-34a mediates palmitate-induced Min6 cells apoptosis [J]. *J Diabetes Res*, 2014, 2014: 258695.
- [15] LEE J, PARK J S, ROH Y S. Molecular insights into the role of mitochondria in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(11): 935-946.
- [16] WEN F, AN C, WU X, et al. MiR-34a regulates mitochondrial content and fat ectopic deposition induced by resistin through the AMPK/PPAR α pathway in HepG2 cells[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 94: 133-145.
- [17] WANG Y S, YE J, CAO Y H, et al. Increased serum/plasma fibroblast growth factor 21 in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis[J]. *Postgrad Med J*, 2019, 95(1121): 134-139.
- [18] HAN H S, CHOI B H, KIM J S, et al. Hepatic Crtc2 controls whole body energy metabolism via a miR-34a-Fgf21 axis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1878.
- [19] 党树伟, 李国东, 刘明. 沉默信息调节因子 1 在肝细胞癌中的研究进展 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(11): 781-785.
- [20] 黄焱, 郑卫东, 尤加慧, 等. 抑制 miR-34a 减少高糖代谢记忆所致视网膜色素上皮细胞 SIRT1 下调和凋亡 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2017, 26(5): 462-467.
- [21] KARIMI-SALES E, JEDDI S, EBRAHIMI-KALAN A, et al. Trans-chalcone prevents insulin resistance and hepatic inflammation and also promotes hepatic cholesterol efflux in high-fat diet-fed rats: modulation of miR-34a, miR-451, and miR-33a-related pathways [J]. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4292-4298.

(收稿日期: 2021-04-02 修回日期: 2021-09-23)

(上接第 469 页)

- [13] CHEN Y N, CHEN H, XU Y, et al. Expression of pituitary homeobox 1 gene in human gastric carcinogenesis and its clinicopathological significance[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(2): 292-297.
- [14] GUNATHILAKE M N, LEE J, CHO Y A, et al. Interaction between physical activity, PITX1 rs647161 genetic polymorphism and colorectal cancer risk in a Korean population: a case-control study[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(7): 7590-7603.
- [15] 彭巍, 江榕, 李勇, 等. 人诱导多能间充质干细胞来源外泌体对肺泡巨噬细胞焦亡的抑制作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2021, 33(1): 43-48.
- [16] QIAO L, WU X, ZHANG J, et al. α -NETA induces pyroptosis of epithelial ovarian cancer cells through the GS-DMD/caspase-4 pathway [J]. *FASEB J*, 2019, 33(11): 12760-12767.
- [17] TENG J F, MEI Q B, ZHOU X G, et al. Polyphyllin VI induces caspase-1-mediated pyroptosis via the induction of ROS/NF- κ B/NLRP3/GSDMD signal axis in non-small cell lung cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(1): 193.
- [18] WANG Y, GAO W, SHI X, et al. Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99-103.

(收稿日期: 2021-04-17 修回日期: 2021-09-16)