



## YTHDF1通过增强肝癌细胞肿瘤干性及激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进肝癌进展

谭坚, 王月帆, 戴智慧, 尹昊瓚, 杨富

引用本文:

谭坚,王月帆,戴智慧,尹昊瓚,杨富. YTHDF1通过增强肝癌细胞肿瘤干性及激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进肝癌进展[J]. 中国临床医学, 2022, 29(5): 738-744.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20220128>

### 您可能感兴趣的其他文章

#### Articles you may be interested in

#### Radil在肝癌组织中的表达及对肝癌发展的影响

Expression of Ras association and DIL domains (Radil) and its effect on hepatocellular carcinoma

中国临床医学. 2020, 27(4): 624-627 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201091>

#### 钠钙交换器1对肝细胞肝癌增殖与侵袭的影响

The role and mechanisms of NCX1 on proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma

中国临床医学. 2017, 24(6): 873-878 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170291>

#### 长链非编码RNA DBH-AS1通过下调AKT1表达抑制胰腺癌进展

Long non-coding RNA DBH-AS1 inhibits pancreatic cancer progression via down-regulation of AKT1 expression

中国临床医学. 2022, 29(2): 234-240 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20210070>

#### FK506结合蛋白65在肝细胞肝癌组织间质细胞中的表达及临床意义

Expression of FK506 binding protein 65 in stroma cells of hepatocellular carcinoma tissues and its clinical significances

中国临床医学. 2019, 26(1): 98-102 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181045>

#### 原发性肝细胞肝癌中核不均一核糖核蛋白A1的定位及临床意义

The location and significance of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A 1 in hepatocellular carcinoma

中国临床医学. 2016, 23(6): 720-724 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160996>

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20220128

· 论 著 ·

## YTHDF1 通过增强肝癌细胞肿瘤干性及激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肝癌进展



谭 坚, 王月帆, 戴智慧, 尹昊瓚, 杨 富\*

海军军医大学基础医学院医学遗传学教研室, 上海 200433

引用本文 谭 坚, 王月帆, 戴智慧, 等. YTHDF1 通过增强肝癌细胞肿瘤干性及激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肝癌进展 [J]. 中国临床医学, 2022, 29(5): 738-744. TAN J, WANG Y F, DAI Z H, et al. YTHDF1 promotes hepatocellular carcinoma progression by increasing the stemness of HCC cells and activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(5): 738-744.

**[摘要]** **目的** 探讨 m6A 甲基化修饰识别蛋白 YTH 家族蛋白 1(YTH domain family protein 1, YTHDF1) 促进肝癌细胞肿瘤干性及激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肝癌进展的机制。**方法** 采用 Western 印迹法检测 6 组肝癌组织和癌旁肝组织中 YTHDF1 蛋白的表达情况。采用 Western 印迹法、RIP-PCR、qRT-PCR 等检测  $\beta$ -catenin 及其下游分子的表达。qRT-PCR、成球实验、克隆形成实验、CCK8 等检测 YTHDF1 对肝癌细胞干性的影响。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 YTHDF1 表达与肝癌患者临床预后的关系。**结果** 肝癌组织中 YTHDF1 的表达水平明显高于癌旁组织 ( $P < 0.001$ )；过表达 YTHDF1 后,  $\beta$ -catenin 及其下游分子的表达增加；过表达 YTHDF1 后, 肝癌细胞的肿瘤干性明显上调、增殖能力显著增强；Kaplan-Meier 生存曲线表明 YTHDF1 高表达的肝癌患者预后更差。**结论** YTHDF1 在肝癌组织中高表达, 促进了  $\beta$ -catenin 及其下游分子的表达, 增强了肝癌细胞的干性, 对肝癌患者的预后产生了不良影响。

**[关键词]** YTHDF1; 肝癌; Wnt/ $\beta$ -catenin; 肿瘤干性; m6A

**[中图分类号]** R 735.7 **[文献标志码]** A

### YTHDF1 promotes hepatocellular carcinoma progression by increasing the stemness of HCC cells and activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

TAN Jian, WANG Yue-fan, DAI Zhi-hui, YIN Hao-zan, YANG Fu\*

Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism of YTH domain family protein 1(YTHDF1) promoting tumor stemness of hepatocellular carcinoma (HCC) cells and activating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway to promote hepatocellular carcinoma progression. **Methods** Western blotting was used to detect the expression of YTHDF1 protein in 6 pairs of liver cancer tissues and adjacent liver tissues. Western-blotting, RIP-PCR, and qRT-PCR were used to detect the expression of  $\beta$ -catenin and its downstream molecules. qRT-PCR, sphere-forming assay, cell proliferation, and colony formation assays, and CCK8 assay were used to detect the carcinogenic effect of YTHDF1 in HCC cells. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the relationship between YTHDF1 and the clinical prognosis of HCC. **Results** The expression of YTHDF1 protein in HCC tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.001$ ). The expression of  $\beta$ -catenin and its downstream molecules increased. The stemness markers of HCC cells were significantly up-regulated and the proliferation ability was significantly enhanced. Kaplan-Meier survival curve showed that patients with high expression of YTHDF1 had a poor prognosis. **Conclusions** The high expression of YTHDF1 in HCC tissue promotes the expression of  $\beta$ -catenin and its downstream molecules, the stemness of HCC cells, and adversely affects the prognosis of HCC patients.

**[Key Words]** YTHDF1; hepatocellular carcinoma; Wnt/ $\beta$ -catenin; stemness; m6A

**[收稿日期]** 2022-01-20 **[接受日期]** 2022-06-23

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81972657, 81672345). Supported by National Natural Science Foundation of China (81972657, 81672345).

**[作者简介]** 谭 坚, 硕士生. E-mail: tanjianmu@163.com

\*通信作者(Corresponding author). Tel:021-81871058, E-mail: yangfusq1997@smmu.edu.cn

YTH 家族蛋白 1(YTH domain family protein 1, YTHDF1)在结构上含有一段高度保守的 YTH 结构域(YT521-B homology domain),是 N6-methyladenosine (m6A)修饰最重要的识别蛋白之一,可通过与终止密码子周围的 m6A 位点结合,增加 mRNA 转录复合体的传递,并且可联合翻译启动机制,促进翻译起始及蛋白质合成<sup>[1]</sup>。越来越多的研究<sup>[2-3]</sup>表明, YTHDF1 对肝癌的发生、发展产生重要作用。有研究<sup>[4]</sup>发现 YTHDF1 可参与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肝癌的进展, Wnt/ $\beta$ -catenin 通路是经典的 Wnt 信号通路,该通路通过对多功能蛋白  $\beta$ -catenin 的调节,在肝癌增殖、分化、恶变、转移、凋亡等各个生长阶段都发挥着重要作用,但 YTHDF1 参与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的作用机制并不明确。此外,目前关于 YTHDF1 促进肝癌细胞肿瘤干性的研究鲜有报道,肿瘤干性是指肿瘤细胞自我更新的能力,与肿瘤的生长、进展和复发密切相关<sup>[5-6]</sup>。本研究旨在探讨 YTHDF1 促进肝癌细胞肿瘤干性及激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肝癌进展的机制,为肝癌的诊断、治疗和预后提供思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 肝癌组织和癌旁肝组织临床样本 6 组肝癌及癌旁肝组织临床样本取自上海东方肝胆医院国家肝癌样本库,所有临床样本均经过病理检查诊断定性,在取样前均通过患者或家属的知情同意以及上海东方肝胆医院伦理委员会的审查批准(EHBHKY-K-022)。

1.1.2 细胞系 Hep3B、HepG2、Huh7 细胞系购自中国科学院上海细胞库,由本实验室保存。

1.1.3 试验试剂 RIPA 裂解液(强)、BCA 定量试剂盒、5 $\times$  上样缓冲液、抗体稀释液、细胞核和细胞浆蛋白提取试剂盒购自碧云天公司。SDS-PAGE 电泳胶试剂购自雅酶公司。PVDF 膜购自 Millipore 公司。蛋白质印迹分析所需平衡液、封闭液、转膜液等试剂购自上海博光生物科技有限公司。ACTB 抗体购自英国 Abcam 公司; $\beta$ -catenin、YTHDF1、HistoneH3 抗体购自 CST 公

司; GAPDH 抗体购自 SantaCruz 公司。TRIzol 试剂盒购自 TaKaRa 公司,反转录试剂购自 Invitrogen 公司。Magna RIP 试剂盒购自 Millipore。胎牛血清购自 Gibco 公司、培养基购自 Hyclone 公司。YTHDF1 过表达慢病毒、YTHDF1 干扰慢病毒及对照慢病毒均购自上海吉玛制药技术有限公司。嘌呤霉素购自 ThermoFisher Scientific 公司。CCK8 试剂盒购自同仁公司。

### 1.2 试验方法及步骤

1.2.1 Western 印迹法 收集细胞或组织,置于冰上,加入适量 RIPA 蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂 PMSF,4 $^{\circ}$ C 摇床放置 5 min 后,弃沉淀,收集细胞悬液,4 $^{\circ}$ C 14 000 r/min 离心 5 min,取上清 BCA 法检测蛋白浓度。加入适量上样缓冲液,100 $^{\circ}$ C 煮 15 min。取等量蛋白上样,行 SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭液室温封闭 1 h 后分别加入一抗(1 : 1 000 YTHDF1 和 1 : 2 000 ACTB 抗体)于 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。用 PBST 洗涤后加入相应二抗(羊抗鼠及羊抗兔 1 : 10 000),室温避光孵育 1 h 后用 PBST 洗 3 次。利用 Odyssey 红外荧光扫描成像系统检测蛋白荧光强度,并对目的蛋白的表达水平进行半定量分析。

1.2.2 qRT-PCR 用 TRIzol 试剂盒提取总 RNA 后,按照反转录试剂盒操作说明反转录合成 cDNA,以 cDNA 为模板,加入相应引物(表 1),使用 SYBR Realtime PCR 试剂盒在 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 系统(Applied Biosystems 公司)中进行扩增。每个样本重复 3 次。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法对目标基因表达水平进行相对定量分析。

1.2.3 RNA 免疫共沉淀(RNA immunoprecipitation, RIP)实验 按照试剂盒说明书的操作步骤,先在裂解缓冲液裂解 RIP 实验所需细胞,加入 A/G 磁珠、免疫沉淀抗体与目的 RNA 结合蛋白共同孵育,再用磁力架固定磁珠结合复合物,洗去未结合的物质,提取 RNA,最后采用 qRT-PCR 进行分析。

1.2.4 细胞培养及慢病毒感染 用含 10% FBS 的 DMEM 培养液培养细胞,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养。在感染病毒前 1 d,将约  $3 \times 10^5$  个细胞接种至 6 孔板,保证感染时细胞融合度为 50%~70% 并处于对数生长期。感染时更换

新鲜培养液,根据滴度计算所需加入的病毒量,向每孔细胞中加入病毒和病毒增强剂,24 h后换液,

感染病毒3 d后加入嘌呤霉素,及时更换培养液,去除死细胞并传代。

表1 qRT-PCR 所用引物

基因名称	序列	基因名称	序列
hum-YTHDF1-F	ACCTGTCCAGCTATTACCCG	hum-PPARD-F	CAGGGCTGACTGCAAACGA
hum-YTHDF1-R	TGGTGAGGTATGGAATCGGAG	hum-PPARD-R	CTGCCACAATGTCTCGATGTC
hum-18s-F	GGAGAGGGAGCCTGAGAAACG	hum-CD44-F	CTGCCGCTTTGCAGGTGTA
hum-18s-R	TTACAGGGCCTCGAAAGAGTCC	hum-CD44-R	CATTGTGGGCAAGGTGTATT
hum-MYC-F	GGTCCTGGCAAAGGTCA	hum-CD24-F	CTCCTACCCACGCAGATTATTC
hum-MYC-R	CTGCGTAGTTGTGCTGATGT	hum-CD24-R	AGAGTGAGACCACGAAGAGAC
hum-CCND1-F	GCTGCGAAGTGGAAACCATC	hum-EPCAM-F1	AATCGTCAATGCCAGTGTACTT
hum-CCND1-R	CCTCCTTCTGCACACATTTGAA	hum-EPCAM-R1	TCTCATCGCAGTCAGGATCATAA
hum-CTNNB1-F	AAAGCGGCTGTTAGTCACTGG	hum-ANPEP-F1	GACCAAAGTAAAGCGTGGAAATCG
hum-CTNNB1-R	CGAGTCATTGCATACTGTCCAT	hum-ANPEP-R1	TCTCAGCGTCACCCGGTAG
hum-TCF7-F	CTGGCTTCTACTCCCTGACCT	hum-CD47-F1	AGAAGGTGAAACGATCATCGAGC
hum-TCF7-R	ACCAGAACCTAGCATCAAGGA	hum-CD47-R1	CTCATCCATAACCACCGATCT
hum-MMP7-F	GAGTGAGCTACAGTGGGAACA	hum-THY1-F1	ATCGCTCTCTGCTAACAGTC
hum-MMP7-R	CTATGACGCGGGAGTTAACAT	hum-THY1-R1	CTCGTACTGGATGGGTGAAC
hum-AXIN2-F	CAACACCAGGCGGAACGAA	hum-PROM1-F1	AGTCGGAAACTGGCAGATAGC
hum-AXIN2-R	GCCCAATAAGGAGTGTAAAGACT	hum-PROM1-R1	GGTAGTGTGTACTGGGCCAAT

1.2.5 亚细胞蛋白质组提取 使用细胞核和细胞浆蛋白提取试剂盒,根据说明书步骤分别提取细胞核和胞质蛋白质。

1.2.6 细胞悬浮成球实验 用胰酶将细胞消化后重悬,进行细胞计数,在低黏附6孔板铺 $5 \times 10^3$ 个细胞,设置3个复孔。培养10 d后,显微镜下拍照,随机选取5个高倍镜视野计算成球数量。

1.2.7 克隆形成实验 用胰酶将细胞消化后重悬,进行细胞计数,在6孔板铺 $5 \times 10^3$ 个细胞,设置3个复孔。细胞培养箱中培养10 d后,去除培养基,漂洗、固定、染色后再漂洗,再对每个孔板上的集落进行计数和拍照。

1.2.8 CCK8 细胞增殖实验 用胰酶将细胞消化后重悬,进行细胞计数,在96孔板铺 $5 \times 10^3$ 个细胞,每个时间点设置5个复孔。细胞培养箱中培养过夜后,加入CCK8试剂,孵育2 h后检测光密度。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0.1 软

件进行数据分析和绘图。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验组和对照组比较采用配对或独立样本 *t* 检验, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

## 2 结果

2.1 YTHDF1 蛋白在人肝癌组织中表达升高 采用 Western 印迹法对6组肝癌组织和癌旁肝组织检测 YTHDF1 蛋白水平的表达情况发现,肝癌组织中 YTHDF1 的蛋白表达水平显著高于癌旁组织,差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ , 图1)。该结果表明,YTHDF1 在人肝癌组织中蛋白水平表达升高。

2.2 YTHDF1 通过直接结合  $\beta$ -catenin mRNA 调控其表达 构建 YTHDF1 过表达和 YTHDF1 干扰的 Hep3B 稳转细胞系,提取蛋白进行 Western 印迹法实验发现,过表达 YTHDF1 后, $\beta$ -catenin 的表达增加(图2A);干扰 YTHDF1 后, $\beta$ -catenin 表达下调表达(图2B)。该结果表明 YTHDF1 可能以

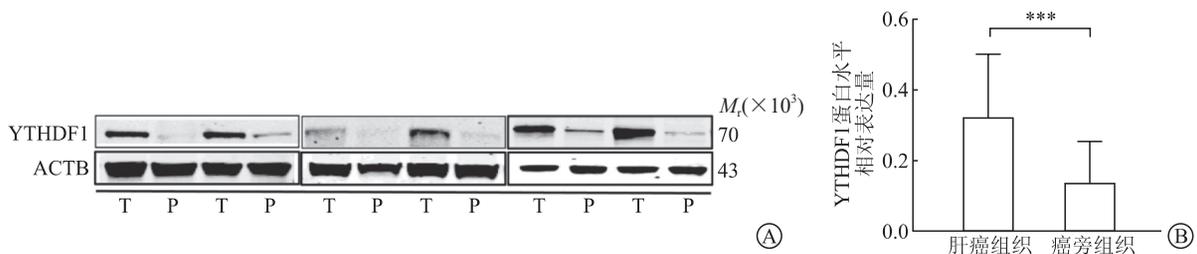


图1 YTHDF1 在人肝癌组织中蛋白水平表达升高

T:肝癌组织;P:癌旁组织。A:肝癌组织和癌旁肝组织的Western印迹结果;B:肝癌组织和癌旁肝组织Western印迹法的定量结果。\*\*\* $P < 0.001$ 。

某种方式调控  $\beta$ -catenin 的表达。

为了进一步探究 YTHDF1 以何种方式调控  $\beta$ -catenin 的表达, 在过表达 YTHDF1 的 Huh7 细胞系中进行了 RIP-PCR 实验 (图 2C), 结果显示 YTHDF1 和  $\beta$ -catenin mRNA 可直接发生相互作用。另外, 细胞核和细胞质的 Western 印迹 (图 2D) 及细胞免疫荧光结果 (图 2F) 显示, 过表达 YTHDF1 的 HepG2 细胞系核内  $\beta$ -catenin 的蛋白水平显著高于对照组 ( $P < 0.05$ , 图 2E)。可

见, YTHDF1 可能促使  $\beta$ -catenin 入核增加。在过表达 YTHDF1 的 Huh7 和 HepG2 细胞系中, 对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的下游分子进行了检测, qRT-PCR 结果显示, 过表达 YTHDF1 后, TCF7、AXIN2、CCND1、MYC、PPARD 上调表达 (图 2H)。以上实验结果表明, YTHDF1 可能直接与  $\beta$ -catenin mRNA 结合调控  $\beta$ -catenin 及其下游分子的表达。

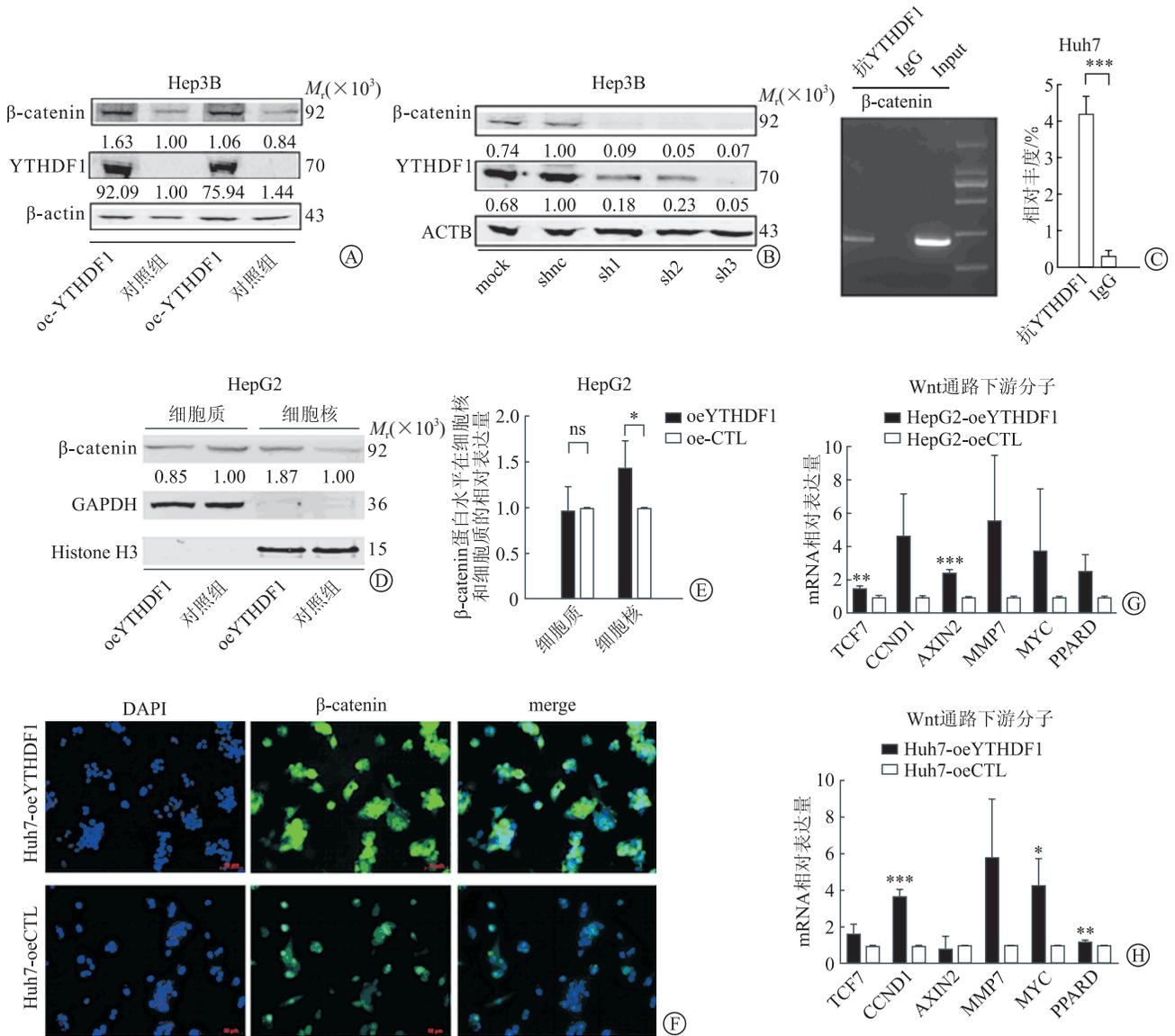


图 2 YTHDF1 调控  $\beta$ -catenin 及其下游分子的表达

A: 过表达 YTHDF1 Hep3B 细胞 Western 印迹结果; B: 敲低 YTHDF1 Hep3B 细胞 Western 印迹结果; C: 过表达 YTHDF1 Huh7 细胞 RIP-PCR 定性及定量结果; D: 过表达 YTHDF1 HepG2 细胞胞核质分离 Western 印迹结果; E: 过表达 YTHDF1 HepG2 细胞胞核质分离 Western 印迹定量结果; F: 过表达 YTHDF1 HepG2 细胞免疫荧光结果; G: 过表达 YTHDF1 HepG2 细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路下游分子 qRT-PCR 结果; H: 过表达 YTHDF1 Huh7 细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路下游分子 qRT-PCR 结果。ns:  $P > 0.05$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

2.3 YTHDF1 增强肝癌细胞的增殖能力及肿瘤干性 构建过表达 YTHDF1 和干扰 YTHDF1 的 Hep3B 稳转细胞系,运用 qRT-PCR 技术在 mRNA 水平检测肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 分子标志物 CD24、ANPEP、EPCAM、CD44、CD47、THY1、PROM1 等。结果显示,在过表达 YTHDF1 的 Hep3B 细胞系中,CD24 ( $P<0.01$ )、ANPEP ( $P<0.001$ )、CD44 ( $P<0.0001$ )、CD47 ( $P<0.01$ )、THY1 ( $P<0.001$ )、PROM1 ( $P<0.05$ ) 等明显上调 (图 3A),在干扰 YTHDF1 的 Hep3B 细胞系中,EPCAM ( $P<0.0001$ )、THY1 ( $P<$

0.0001)、PROM1 ( $P<0.0001$ ) 等明显下调 (图 3B)。并且 HepG2 细胞成球实验结果表明,过表达 YTHDF1 组细胞球体体积明显大于对照组 (图 3C),细胞球体数量明显多于对照组 (图 3D)。另外,平板克隆形成实验 (图 3E) 结果显示,过表达 YTHDF1 后,HepG2 细胞形成的克隆数显著高于对照组 ( $P<0.0001$ ,图 3F),CCK8 实验结果 (图 3G) 表明,过表达 YTHDF1 的 HepG2 细胞增殖能力显著高于对照组。以上结果均表明,YTHDF1 的上调表达可增强肝癌细胞的肿瘤干性并促进肝癌细胞的增殖。

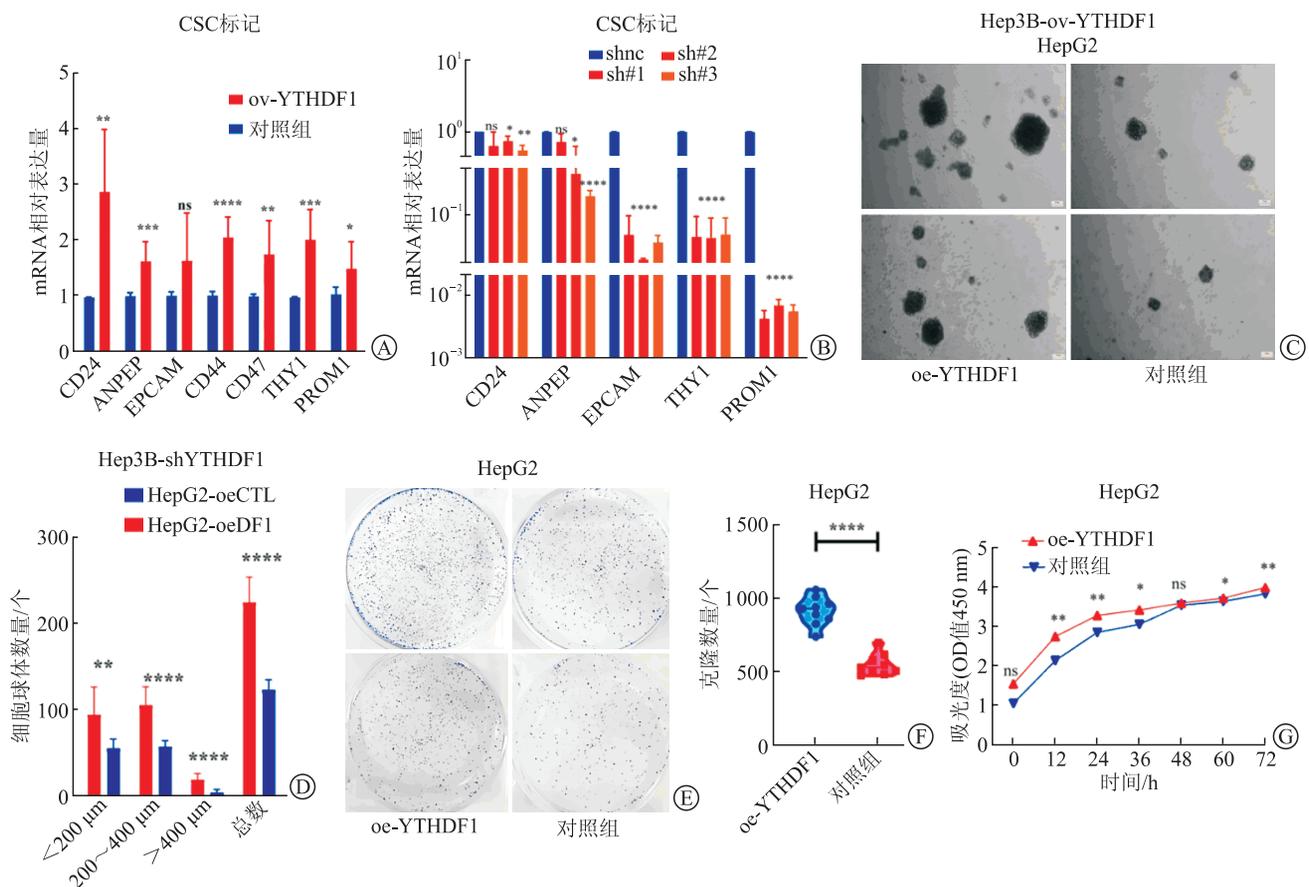


图3 YTHDF1 增强肝癌细胞的肿瘤干性及增殖能力

A: oe-YTHDF1 Hep3B 细胞肿瘤干性标志物的 qRT-PCR 结果; B: sh-YTHDF1 Hep3B 细胞肿瘤干性标志物 qRT-PCR 结果; C: oe-YTHDF1 HepG2 细胞成球实验结果; D: oe-YTHDF1 HepG2 细胞成球实验定量结果; E: oe-YTHDF1 HepG2 细胞平板克隆形成实验结果; F: oe-YTHDF1 HepG2 细胞平板克隆形成实验定量结果; G: oe-YTHDF1 HepG2 细胞 CCK8 实验吸光度结果。ns:  $P>0.05$ , \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ 。

2.4 YTHDF1 高表达预示肝癌患者预后差 利用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 YTHDF1 蛋白水平高表达与肝癌患者临床预后的关系发现, YTHDF1 蛋白水平高表达的患者总体生存期 ( $P=0.0013$ )

和无病生存期 ( $P=0.0017$ ) 均低于 YTHDF1 蛋白水平低表达患者。这表明, YTHDF1 蛋白水平高表达的患者临床预后较 YTHDF1 蛋白水平低表达患者更差。

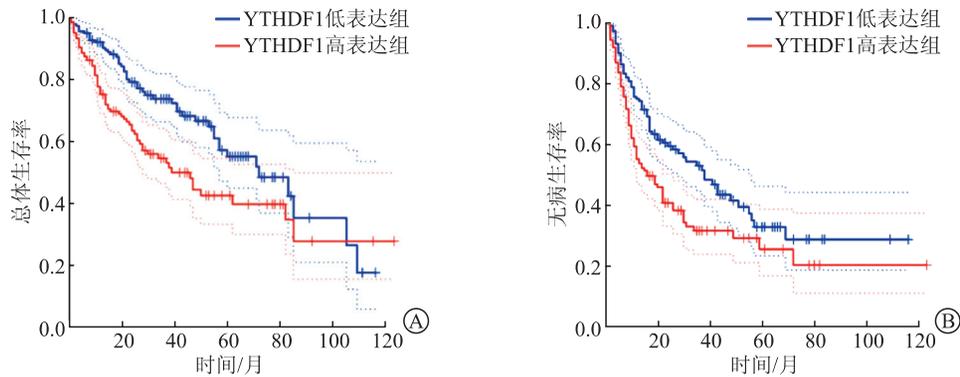


图4 YTHDF1与肝癌患者临床预后的关系

### 3 讨论

肝癌是全世界癌症相关死亡的最主要原因之一，在我国，肝癌的发病率（9.2%）在所有恶性肿瘤中排名第4，致死率（12.9%）排名第2<sup>[7]</sup>。近年来，虽然肝癌的治疗取得了长足的进步，目前针对肝细胞癌的治疗方式也有很多，但肝癌发病的隐匿性强、恶性程度高，大多数肝癌患者的临床结局仍然很差，最终能接受手术治疗的患者占比不足30%<sup>[3]</sup>。因此，研究肝癌发生发展的分子生物学机制，为肝癌的诊断、治疗提供新的策略，改善肝癌患者的临床预后具有重要意义。

越来越多的研究<sup>[8-11]</sup>表明，m6A甲基化修饰识别蛋白YTHDF1可通过多种机制参与调控肝癌的发生发展。m6A甲基化修饰是指将甲基转移至核酸中腺苷的N-6位置，此过程受甲基转移酶(m6A writers)和去甲基化酶(m6A erasers)及识别蛋白(m6A readers)的调控，而YTHDF1是m6A修饰最重要的识别蛋白之一<sup>[12]</sup>。

目前，关于YTHDF1参与Wnt通路促进肝癌进展的机制有很多不同的意见，比如Liu等<sup>[8]</sup>发现，在肝癌细胞中，YTHDF1以m6A依赖的方式促进Wnt信号通路跨膜受体FZD5 (Frizzled-5) mRNA的翻译输出，并通过FZD5/Wnt/ $\beta$ -catenin通路发挥促癌作用，通过RIP等实验证明了FZD5 mRNA与YTHDF1的结合。而本研究发现，YTHDF1可能直接与 $\beta$ -catenin mRNA结合促进肝癌的发生发展。另外，Li等<sup>[13]</sup>发现，YTHDF1过表达可降低肝癌中CD3<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞浸润，推测这可能是由YTHDF1激活TGF- $\beta$ 和Wnt通路

诱导产生免疫抑制所导致的。上述YTHDF1调控Wnt通路促进肝癌进展的机制虽然各不相同，但它们之间并不矛盾，正如Luo等<sup>[9]</sup>研究发现，多种YTHDF1作用机制在肝癌进展中可发挥协同作用。另外，本研究通过Kaplan-Meier生存曲线分析发现，YTHDF1高表达的患者临床预后较YTHDF1低表达患者差，这与目前很多研究的结论一致，如Zhao等<sup>[14]</sup>发现，与肝癌I期和II期相比，III/IV期的YTHDF1表达显著上调，多变量分析还发现，YTHDF1是总体生存期的独立预后变量。因此，很多研究<sup>[15-19]</sup>都认为YTHDF1是肝癌潜在的治疗及预后靶点。本研究探讨YTHDF1促进肝癌细胞肿瘤干性的作用，此前关于YTHDF1促进肝癌细胞肿瘤干性的研究未有明确报道，而本研究发现过表达YTHDF1后，肝癌细胞肿瘤干性指标明显上调，增殖能力显著增强，可见，YTHDF1的上调表达增强了肝癌细胞的肿瘤干性。

本研究也存在很多不足之处，虽然证明了YTHDF1可以直接结合 $\beta$ -catenin mRNA影响Wnt/ $\beta$ -catenin通路，但没有应用信号通路的研究方法对YTHDF1参与Wnt/ $\beta$ -catenin通路的潜在机制进行深入探究，此外，YTHDF1影响 $\beta$ -catenin表达的作用方式及促进肝癌细胞肿瘤干性的内在机理也还需要进一步验证。

综上所述，YTHDF1在肝癌发生发展中的复杂机制仍需要更加全面深入的研究。

**利益冲突：**所有作者声明不存在利益冲突。

### 参考文献

[1] LAN Q, LIU P Y, HAASE J, et al. The critical role of

- RNA m(6)A methylation in cancer[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1285-1292.
- [2] 金松, 朱小年, 谭盛葵. m6A 甲基化修饰在肝癌中的研究进展. *世界华人消化杂志*, 2021, 29(13): 720-725. JIN S, ZHU X N, TAN S K. Advances in research of m6A methylation in hepatocellular carcinoma[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2021, 29(13): 720-725.
- [3] QI L W, JIA J H, JIANG C H, et al. Contributions and prognostic values of N6-methyladenosine RNA methylation regulators in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Genet*, 2020, 11: 614566.
- [4] 倪彩菊, 覃小珊, 黄赞松. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与肝癌发生发展的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2021, 29(4): 190-196. NI C J, QIN X S, HUANG Z S. Role of WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway in occurrence and development of hepatocellular carcinoma[J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2021, 29(4): 190-196.
- [5] LEE T K W, GUAN X Y, MA S. Cancer stem cells in hepatocellular carcinoma-from origin to clinical implications[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(1): 26-44.
- [6] KRESO A, DICK J E. Evolution of the cancer stem cell model[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(3): 275-291.
- [7] FENG R M, ZONG Y N, CAO S M, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics?[J]. *Cancer Commun (London, England)*, 2019, 39(1): 22.
- [8] LIU X, QIN J, GAO T, et al. YTHDF1 facilitates the progression of hepatocellular carcinoma by promoting FZD5 mRNA translation in an m6A-dependent manner [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 750-765.
- [9] LUO X, CAO M, GAO F, et al. YTHDF1 promotes hepatocellular carcinoma progression via activating PI3K/AKT/mTOR signaling pathway and inducing epithelial-mesenchymal transition[J]. *Exp Hematol Oncol*, 2021, 10(1): 35.
- [10] SU T, HUANG M, LIAO J, et al. Insufficient radiofrequency ablation promotes hepatocellular carcinoma metastasis through N6-methyladenosine mRNA methylation-dependent mechanism[J]. *Hepatology*, 2021, 74(3): 1339-1356.
- [11] LI Q, NI Y, ZHANG L, et al. HIF-1 $\alpha$ -induced expression of m6A reader YTHDF1 drives hypoxia-induced autophagy and malignancy of hepatocellular carcinoma by promoting ATG2A and ATG14 translation [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 76.
- [12] WANG Y F, GE C M, YIN H Z, et al. Dysregulated N6-methyladenosine (m6A) processing in hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Hepatol*, 2021, 25: 100538.
- [13] LI J, WANG W, ZHOU Y, et al. m6A regulator-associated modification patterns and immune infiltration of the tumor microenvironment in hepatocarcinoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 687756.
- [14] ZHAO X, CHEN Y, MAO Q, et al. Overexpression of YTHDF1 is associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 21(4): 859-868.
- [15] BIAN S, NI W, ZHU M, et al. Identification and validation of the N6-methyladenosine RNA methylation regulator YTHDF1 as a novel prognostic marker and potential target for hepatocellular carcinoma[J]. *Front Mol Biosci*, 2020, 7: 604766.
- [16] HUANG H, BAI Y, LU X, et al. N6-methyladenosine associated prognostic model in hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(10): 633.
- [17] KONG W, LI X, XU H, et al. Development and validation of an m(6)A-related gene signature for predicting the prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Biomark Med*, 2020, 14(13): 1217-1228.
- [18] LIU J, SUN G, PAN S, et al. The Cancer Genome Atlas (TCGA) based m(6)A methylation-related genes predict prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Bioengineered*, 2020, 11(1): 759-768.
- [19] WU X, ZHANG X, TAO L, et al. Prognostic value of an m6A RNA methylation regulator-based signature in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 2053902.
- [20] QU N, QIN S, ZHANG X, et al. Multiple m(6)A RNA methylation modulators promote the malignant progression of hepatocellular carcinoma and affect its clinical prognosis[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 165.
- [21] XU C, XU Z, ZHANG Y, et al.  $\beta$ -Catenin signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(4): e154515.
- [22] ZACCARA S, JAFFREY S R. A unified model for the function of YTHDF proteins in regulating m(6)A-modified mRNA[J]. *Cell*, 2020, 181(7): 1582-1595.

[本文编辑] 王迪