



expression of FAT1. There was 5 projects of HCC studies, including 5 data sets and 769 samples, and the FAT1 expression were all higher in the 5 projects. The expression levels of FAT1 in HCC tissue were significantly higher than that in normal tissue ( $P < 0.05$ ). Four hundreds and nineteen samples were selected from the GEPIA database, including 369 cases of HCC and 50 cases of normal liver tissue, and the expression of FAT1 in HCC tissue was significantly higher than that in normal tissue ( $P < 0.05$ ). There was no correlation of FAT1 with the overall survival rate and disease-free survival rate in HCC patients ( $P > 0.05$ ). The proteins interacting with FAT1 included recombinant peroxisome proliferator activated receptor Alpha, recombinant V-REL reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A, specific protein 1, JUN, NF-kappa-B inhibitor alpha, proto-oncogene protein, tumor necrosis factor, retinoid X receptor alpha, nitric oxide synthase, COUP transcription factor 1, and so on. **Conclusion** The expression of FAT1 increased in HCC tissues, and it is not correlated with the prognosis of patients with HCC.

**Key words:** hepatocellular carcinoma; adipose atypical cadherin 1; gene; prognosis

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝癌的主要组织学亚型, 占原发性肝癌的 90%, 是当前亚洲各国常见的癌症和癌症相关死亡的重要原因之一<sup>[1]</sup>。HCC 患者早期缺少典型的临床症状, 且确诊主要依赖于医学影像学 and 病理检查, 因而多数患者确诊时已是中晚期, 这严重影响 HCC 患者的生存期<sup>[2-4]</sup>。近年来, 随着医疗技术的飞速发展, 虽然在 HCC 的诊疗方面已取得了较大进展, 但仍缺少特异性的肿瘤标志物来早期发现并诊断 HCC 或作为监测其预后的指标。脂肪非典型钙黏蛋白 1 (atypical cadherin 1, FAT1) 是脂肪基因家族的一种跨膜蛋白, 由 34 个钙黏蛋白重复序列、5 个表皮生长因子样结构域重复序列、胞外区的层粘连蛋白 A-G 结构域和一个细胞质尾部组成<sup>[5]</sup>。FAT1 是钙黏蛋白超家族中极其重要的一员, 而钙黏蛋白超家族是以钙黏蛋白为重复系列存在的一组完整膜蛋白<sup>[6]</sup>。据报道, 在许多肿瘤中, FAT1 作为一种肿瘤抑制因子或致癌因子发挥作用, 如在口腔癌、星形胶质细胞瘤中 FAT1 呈低表达, 在导管原位癌中 FAT1 的表达显著高于浸润性乳腺癌, 且 FAT1 基因敲除促进了导管原位癌向浸润性乳腺癌的进展<sup>[7-9]</sup>。研究表明, FAT1 在一些类型白血病如急性髓系白血病和急性淋巴细胞白血病中表达上调, 并与患者的生存期存在一定联系<sup>[10]</sup>。另外, 有研究表明, FAT1 基因被敲除后促进了丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路和细胞黏附过程的发生<sup>[11]</sup>。然而, 关于 FAT1 在 HCC 中表达的研究报道较少, 因此, 本研究应用 Oncomine 数据库和基因表达谱数据动态分析 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis, GEPIA) 数据库检索 FAT1 表达的相关信息, 通过大数据挖掘的方法研究 FAT1 在 HCC 中的表达及临床意义, 为今后 HCC 的研究提供新的思路与方法。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 Oncomine 数据库、GEPIA 数据库和 STRING 数据库。Oncomine 数据库作为一

个生物信息学研究平台, 可设定提取数据的条件提取关于 HCC 中 FAT1 表达研究数据; GEPIA 数据库中的癌症基因图谱 (the Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据信息可用来研究 FAT1 在 HCC 中的表达; STRING 数据库用来预测与 FAT1 相互作用的蛋白网络。

### 1.2 检索方法

**1.2.1 Oncomine 数据库检索** 筛选条件包括 (1) Cancer type: HCC; (2) Gene: FAT1; (3) Data type: mRNA; (4) Analysis type: cancer vs. normal analysis; (5) Preferences:  $P$ -value  $< 1E-4$ , Fold change  $\geq 2$ , Gene rank = top10%。

**1.2.2 GEPIA 数据库检索** 差异分析条件设置包括 (1) Expression DIY: expression on Box Plots; (2) Gene: FAT1; (3) Datasets selection: LIHC (liver hepatocellular carcinoma); (4) Matched normal data: TCGA。生存分析条件设置包括 (1) Datasets selection: LIHC; (2) Methods: overall survival and disease free survival; (3) Group cutoff: median; (4) Hazards ratio: yes; (5) 95% Confidence Interval: Yes; (6) Axis Units: months。

**1.2.3 STRING 数据库检索** 条件设置包括 protein name: FAT1; Organism: homosapiens。

**1.3 统计学处理** 所有数据应用数据库在线分析, 荟萃分析应用 Oncomine 数据库在线分析功能进行分析, HCC 组织与正常肝组织中的 FAT1 基因差异表达采用  $t$  检验, FAT1 基因表达与患者预后关系采用 Kaplan-Meier 模型中的 Log-rank 检验进行生存分析;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 FAT1 在所有肿瘤类型中的表达** 结果见图 1。Oncomine 数据库共收集了 463 项不同类型癌症研究结果, 包括胃癌、头颈癌、肾癌、胰腺癌、白血病、淋巴瘤等相关癌症。FAT1 在不同种类癌症中表达有统计学意义的研究共 35 项, 其中 FAT1 表达水平显著增高 28 项, FAT1 表达水平显著降低 7 项。

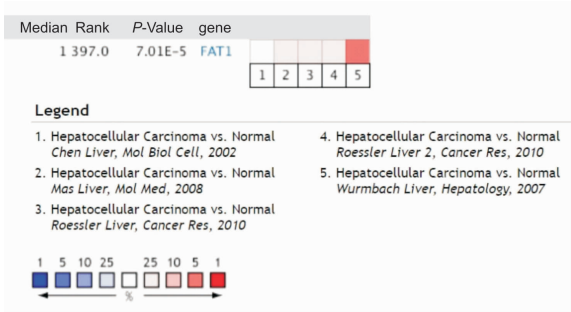


红色表示上调,蓝色表示下调,颜色越深表示显著性越高。

图 1 基于 Oncomine 数据库 FAT1 在所有类型肿瘤中的表达

Fig.1 Expression of FAT1 in all types of tumor based on Oncomine database

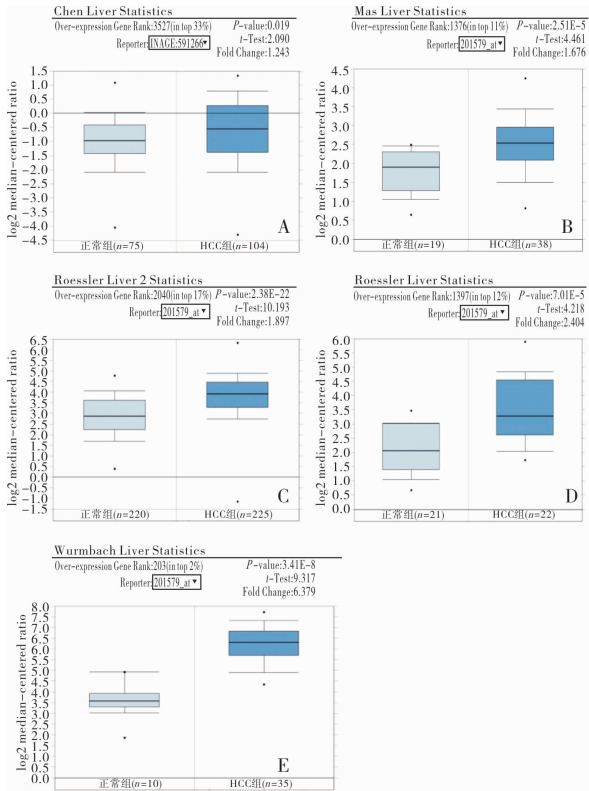
**2.2 FAT1 在 HCC 患者中的表达** 结果见图 2。通过挖掘 Oncomine 数据库发现,2002 年至 2019 年共 5 项关于在 HCC 组织和正常组织之间 FAT1 表达比较的研究,包含 5 个数据集、769 个样本,文章分别发表在 *Mol Biol Cell* (2002)、*Mol Med* (2008)、*Cancer Res* (2010)、*Hepatology* (2007) 等杂志,对 5 个数据集进行荟萃分析显示,FAT1 在所有差异表达基因中的中位数值排名为 1 397.0, $P=7.01E-5$ ,提示 FAT1 在 HCC 组织呈高表达。



1~5 代表 5 项不同研究,红色强度与 FAT1 基因表达强度呈正相关。  
图 2 基于 Oncomine 数据库 HCC 中 FAT1 基因表达情况

Fig.2 Expression of FAT1 gene in HCC based on Oncomine database

**2.3 FAT1 在不同 HCC 数据集中的表达情况** 结果见图 3。从 Oncomine 数据库中,获取 FAT1 基因在不同 HCC 数据集中表达情况的箱式图,结果显示在各个数据集中的  $P$  值分别为 0.019、 $2.51E-5$ 、 $2.38E-22$ 、 $7.01E-5$ 、 $3.41E-8$ 。



A: FAT1 在 Chen Liver 数据集中的表达;B: FAT1 在 Mas Liver 数据集中的表达;C: FAT1 在 Roessler2 数据集中的表达;D: FAT1 在 Roessler 数据集中的表达;E: FAT1 在 Wurmbach 数据集中的表达。

图 3 基于 Oncomine 数据库中 FAT1 在不同 HCC 数据集中的表达

Fig. 3 Expression of FAT1 in different HCC database based on Oncomine database

**2.4 GEPIA 数据库验证 HCC 组织中 FAT1 的表达** 结果见图 4。为验证 FAT1 在 HCC 中呈高表达,通过 GEPIA 数据库挖掘了来自 TCGA 数据库的 419 例样本,其中 HCC 组织 369 例,正常肝组织 50 例,FAT1 在 HCC 组织中的表达显著高于正常组织 ( $P<0.05$ ),与 Oncomine 数据库得到的结果相符合。

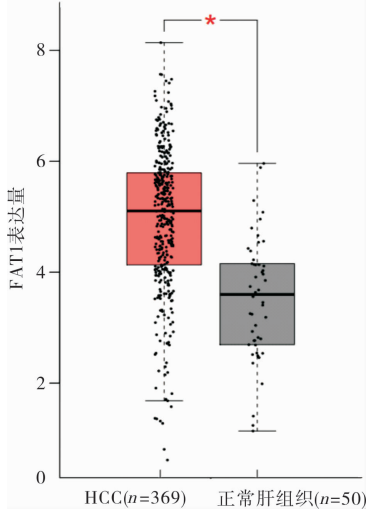


图 4 TCGA 数据库中 FAT1 在正常肝组织与 HCC 组织中的差异表达

Fig.4 Differential expression of FAT1 in normal liver tissue and HCC tissue in TCGA database

**2.5 FAT1 表达水平与 HCC 患者预后关系** 结果见图 5 和图 6。128 例 FAT1 高表达患者与 128 例低表达患者总体生存(overall survival, OS)率和无病生存(disease free survival, DFS)率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

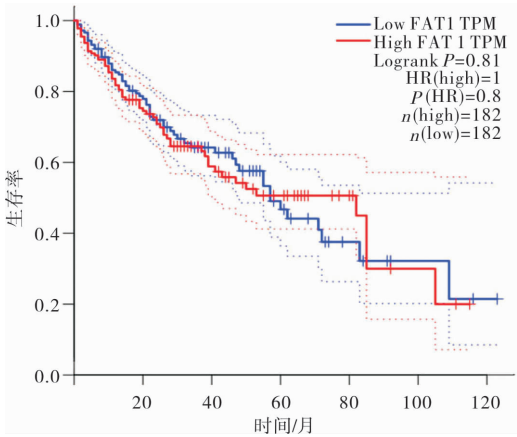


图 5 HCC 患者 OS 率与 FAT1 表达的关系  
Fig.5 Relationship between FAT1 expression and OS rate in patients

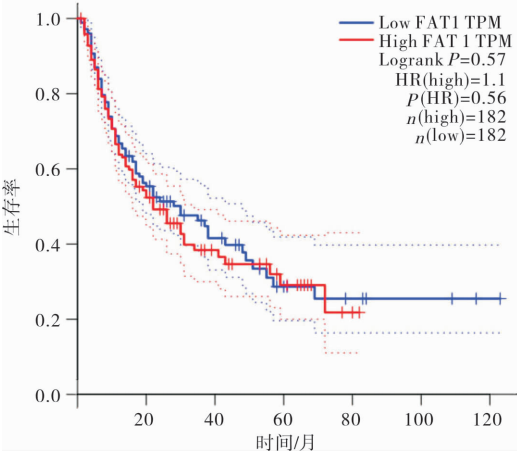


图 6 FAT1 表达与 HCC 患者 DFS 率的关系  
Fig.6 Relationship between FAT1 expression and DFS rate of HCC patients

**2.6 FAT1 相互作用蛋白网络** 结果见图 7。以 FAT1 蛋白为核心,有多个相互作用的蛋白,如过氧化物酶体增殖物激活受体 A 重组蛋白(recombinant peroxisome proliferator activated receptor alpha, PPARA)、V-REL 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A 重组蛋白(recombinant V-REL eticuloendotheliosis viral oncogene homolog A, RELA)、特异性蛋白 1(specific protein 1, SP1)、JUN、核因子- $\kappa$ B 抑制剂  $\alpha$ (NF-kappa-B inhibitor alpha, NFKBIN)、原癌基因蛋白(proto-oncogene protein, MYC)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、类视黄醇 X 受体 A(retinoid X receptor alpha, RXRA)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS<sub>2</sub>)、COUP 转录因子 1(COUP transcription factor 1, NR2F1)。

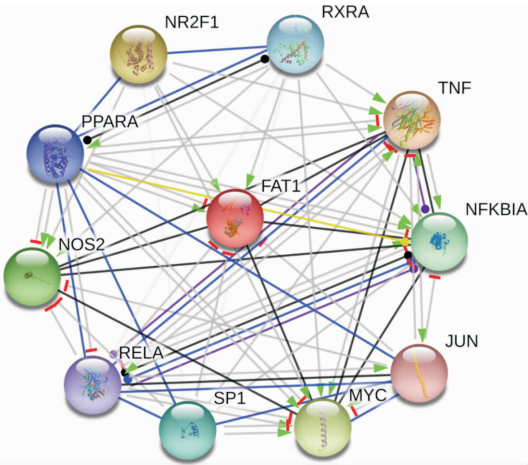


图 7 与 FAT1 蛋白相关作用蛋白网络图  
Fig.7 Network diagram of proteins associated with FAT1 protein

3 讨论

肝癌被认为是全球第四大致命癌症,HCC 占肝癌的 80% 左右<sup>[12]</sup>。作为亚洲最常见的恶性肿瘤之一,HCC 除病死率高之外,其预后和治疗均不理想,大多数肝癌患者在初诊后极短时间内发生肿瘤细胞转移。有研究指出,HCC 病死率高的原因主要是肿瘤细胞的侵袭和转移失控<sup>[13]</sup>。美国癌症协会的生存统计数据表明,肝癌患者的总体 5 a 生存率为 18%,但出现远处转移的肝癌患者的 5 a 生存率仅为 2%。在发生肝外转移前诊断并治疗的早期肝癌患者,5 a 生存率可出现较大幅度的提高<sup>[14]</sup>。因此,为提高 HCC 的早期诊断率,需要具有较高敏感度和特异性的肿瘤标志物,同时也可 为 HCC 患者提供更好的预后判断方法。

FAT1 基因属于脂肪基因家族的重要一员,位于染色体 4q34-35<sup>[15]</sup>。FAT1 在蛋白水解酶的作用下释放一个胞内结构域(intracellular domain, ICD),该结构域不仅能移位到细胞核中,而且还能与  $\beta$ -连锁蛋白相互作用来阻止其向细胞核内移位;ICD 与可溶性抗原/血管扩张剂刺激的磷蛋白(extractable nuclear antigen/vasodilator-stimulated phosphoprotein, Ena/VAPS)家族(即细胞骨架的调节因子)通过蛋白交互作用,推动肌动蛋白介导的细胞迁移来抑制 Yes 相关蛋白 1(Yes-associated protein 1, YAP1)癌基因介导的细胞增殖<sup>[16-18]</sup>。已有研究表明,FAT1 在不同的肿瘤中既可以有致癌作用又可发挥肿瘤抑制作用<sup>[19]</sup>。

MORRISL 等<sup>[17]</sup>研究表明,FAT1 功能缺失或突变可导致 Wnt 信号通路激活和肿瘤形成,并影响包括胶质细胞瘤和卵巢癌在内的几种癌症患者的预后,这也恰恰表明 FAT1 是一种肿瘤抑制基因。

DE BOCK等<sup>[10]</sup>研究表明,在急性髓系白血病、B 前急性淋巴细胞白血病和急性 T 淋巴细胞白血病中,FAT1 可作为一种肿瘤促进剂影响肿瘤的发生发展。然而,关于 FAT1 在 HCC 中表达水平及其在 HCC 发生发展中的作用的报道较少。

随着信息时代的发展,大数据的挖掘和研究在生物科学研究和临床研究中所起到的作用愈来愈不可或缺。Oncomine 数据库为当今世界上最大数据挖掘平台,该平台的数据来源主要为 GEO、TCGA 和已公开发表文献资料来源的 RNA 和 DNA-seq 数据,可用于挖掘癌症基因组学信息和找寻新的生物标志物或新的靶标<sup>[20]</sup>。GEPIA 数据库整合了源于 TCGA 和 GTEx 数据库源的数据信息,可用来完成恶性肿瘤的基因差异表达研究,并依据恶性肿瘤的类别或者分期、分级等指标完成预后生存分析、相关性分析等研究<sup>[20-22]</sup>。STRING 数据库作为蛋白质研究数据库,主要应用于分析到目前为止已知蛋白质彼此间的相互作用关系,而且还常被应用于预测未知蛋白质彼此之间的相互作用关系,该数据库在肿瘤细胞蛋白质层面的研究中显得愈发重要<sup>[23]</sup>。因此,本研究应用这些相关肿瘤数据库进行大样本数据挖掘和分析,进一步探索 FAT1 在 HCC 中的表达,及其与预后生存的关系和蛋白质相互作用网络关系。

本研究通过 Oncomine 数据库分析结果提示,FAT1 在 HCC 中呈高表达;应用 GEPIA 数据库进一步分析结果表明,FAT1 在 HCC 组织中的表达水平显著高于正常组织,与 Oncomine 数据库得到的结果相符合。但在 GEPIA 数据库进行生存预后分析发现,FAT1 在 HCC 患者中的 OS 和 DFS 的 *P* 值分别为 0.81、0.57,这表明 FAT1 表达水平与 HCC 患者的预后无相关性。分析其可能原因:(1)上述的研究结论仅仅是在转录水平上得出来的,普遍存在着一定的局限性;(2)多数 HCC 患者在发病初期不具备特异性的临床表现和体征,早期漏诊率较高,多数患者在确诊时已处于中晚期,因此治疗手段存在一定的局限性;(3)FAT1 作为脂肪基因家族的一员,可被蛋白水解酶水解,并且释放的 ICD 与相关蛋白相互作用阻止了 FAT1 发挥作用;(4)HCC 作为恶性程度较高且进展较快的肿瘤之一,其预后受多种因素的共同调节,并非某一个基因能起到决定性作用,FAT1 的作用可能被别的拮抗因子所影响。本研究通过 STRING 数据库发现,FAT1 相互作用的蛋白主要是核受体超家族和核受体亚族等,其相互调节的作用机制可能与 FAT1 参加 RNA 代谢过程、核酸模板转录的调控、对脂质代谢的调节、促进炎症反应

等生理过程存在一定的关系,而具体机制仍有待于进一步的研究验证。

综上所述,本研究通过对肿瘤数据库 FAT1 在 HCC 中的表达进行深入挖掘发现,FAT1 在 HCC 组织中呈高表达,但是,FAT1 与 HCC 患者的 OS 和 DFS 无相关性,但这并不影响对 FAT1 与 HCC 的研究,相反在后续的研究中可以通过验证 FAT1 与相关作用蛋白的作用机制,进一步探索 FAT1 在 HCC 发生发展过程中的作用。另外,本研究通过对数据库信息进行二次整理来进行生物科学研究或临床研究,也为今后探索肿瘤新标志物或靶标提供了新的研究思路。

参考文献:

[1] CHEN T Y,LI Y C,LIU Y F,et al. Role of MMP14 gene polymorphisms in susceptibility and pathological development to hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*,2011,18(8):2348-2356.

[2] JIANG J F,LAO Y C,YUAN B H,et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus:advances and challenges[J]. *Oncotarget*,2017,8(20):33911-33921.

[3] BOSCH F X,RIHES J,DIAZ M,et al. Primary liver cancer:worldwide incidence and trends[J]. *Gastroenterology*,2004,127(5 Suppl 1):S5-S16.

[4] LAI E C,LAU W Y. The continuing challenge of hepatic cancer in Asia[J]. *Surgeon*,2005,3(3):210-215.

[5] DUNNE J,HANBY A M,POULSOM R,et al. Molecular cloning and tissue expression of FAT, the human homologue of the Drosophila fat gene that is located on chromosome 4q34-q35 and encodes a putative adhesion molecule [J]. *Genomics*,1995,30(2):207-223.

[6] TANOUE T,TAKEICHI M. New insights into fat cadherins[J]. *J Cell Sci*,2005,118(Pt 11):2347-53.

[7] NAKAYA K,YAMAGATA H D,ARITA N,et al. Identification of homozygous deletions of tumor suppressor gene FAT in oral cancer using CGH-array[J]. *Oncogene*,2004,26(36):5300-5308.

[8] CHOSDOL K,MISRA A,PURI S,et al. Frequent loss of heterozygosity and altered expression of the candidate tumor suppressor gene FAT in human astrocytic tumors[J]. *BMC Cancer*,2009,9:5.

[9] LEE S,STEWART S,NAGTEGAAL I,et al. Differentially expressed genes regulating the progression of ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer[J]. *Cancer Res*,2012,72(17):4574-4586.

[10] DE BOCK C E,ARDJMAND A,MOLLO Y,et al. The Fat1 cadherin is overexpressed and an independent prognostic factor for survival in paired diagnosis-relapse samples of precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*,2012,26(5):918-926.

[11] WANG Y,WANG G,MA Y,et al. FAT1, a direct transcriptional target of E2F1, suppresses cell proliferation, migration and invasion in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Chin J Cancer Res*,2019,31(4):609-619.