

YTHDF1和WTAP基因在丽水市结直肠癌中的m6A甲基化修饰对肿瘤分化的影响研究

吴 珺¹, 廖旭慧¹, 毛新武¹, 潘莉妃¹, 张 强², 杨 浩^{3*}

¹丽水市人民医院病理科, 浙江 丽水

²丽水市人民医院检验科, 浙江 丽水

³浙江省人民医院(杭州医学院附属人民医院)临床研究中心, 浙江 杭州

收稿日期: 2025年3月1日; 录用日期: 2025年3月25日; 发布日期: 2025年4月2日

摘 要

目的: 目前尚不清楚m6A甲基化基因在结直肠癌分化中的作用。本研究结合生物信息学分析与实验验证, 探讨这些基因在结直肠癌中的表达特征及其潜在机制。方法: 利用生物信息学, 我们发现YTHDF1、YTHDF2、ALKBH5、WTAP与结直肠癌表达异常显著($p < 0.05$)。在现实世界中, 我们使用定量PCR (Q-PCR)来测量这四个基因在丽水地区结直肠癌及癌旁中的mRNA表达。应用SPSS软件进行多变量逻辑回归分析, 我们发现YTHDF1和WTAP基因mRNA表达水平与结直肠癌分化进程相关。通过免疫组化, 我们检查了相应的蛋白表达, 并使用Image J进行量化, 结果显示, YTHDF1蛋白的表达水平与结直肠癌分化进程呈显著负相关; WTAP蛋白表达水平与结直肠癌分化进程呈显著正相关。此外, 我们进行了多变量Cox回归分析, 以识别与结直肠癌发生相关的潜在影响因素。结果: 在中国丽水地区, YTHDF1蛋白表达与结直肠癌的分化水平呈负相关; WTAP的蛋白表达与结直肠癌的分化水平呈正相关。年龄和饮酒史是结直肠癌发病的关键因素, 与性别吸烟无显著关联。GO富集分析表明, YTHDF1和WTAP可能通过参与mRNA修饰、翻译调控和RNA稳定性等机制, 进而调控结直肠癌的分化过程。此外, 三年内低分化组观察到疾病进展率(TTP)100%和总生存期率(OS)达到0%。结论: 在丽水市, YTHDF1和WTAP蛋白影响结直肠癌分化, 可能是结直肠癌患者的重要治疗靶点和生物诊断标志物。

关键词

丽水市, m6A, 结直肠癌癌症分化, YTHDF1, WTAP, TTP OS

*通讯作者。

Investigation of the Impact of m6A Methylation Modifications of YTHDF1 and WTAP Genes on Tumor Differentiation in Colorectal Cancer in Lishui City

Jun Wu¹, Xuhui Liao¹, Xinwu Mao¹, Lifei Pan¹, Qiang Zhang², Hao Yang^{3*}

¹Department of Pathology, Lishui City People's Hospital, Lishui Zhejiang

²Department of Laboratory Medicine, Lishui City People's Hospital, Lishui Zhejiang

³Clinical Research Institute, Zhejiang Provincial People's Hospital (People's Hospital of Hangzhou Medical College), Hangzhou Zhejiang

Received: Mar. 1st, 2025; accepted: Mar. 25th, 2025; published: Apr. 2nd, 2025

Abstract

Background: The role of m6A methylation genes in the differentiation of colorectal cancer is currently unclear. This study combines bioinformatics analysis and experimental validation to explore the expression patterns of these genes in colorectal cancer and their potential mechanisms. **Methods:** Using bioinformatics, we found that YTHDF1, YTHDF2, ALKBH5, and WTAP are significantly aberrantly expressed in colorectal cancer ($p < 0.05$). In a real-world cohort from Lishui, quantitative PCR (qPCR) was used to measure mRNA expression of these four genes in CRC tissues and adjacent normal tissues. Multivariable logistic regression analysis with SPSS identified YTHDF1 and WTAP mRNA expression levels as being associated with CRC differentiation. Immunohistochemistry (IHC) was performed to examine corresponding protein levels, quantified using ImageJ. Results showed that YTHDF1 protein expression negatively correlated with CRC differentiation, whereas WTAP protein expression positively correlated. Additionally, multivariable Cox regression analysis was conducted to identify potential factors influencing CRC development. **Results:** In Lishui, YTHDF1 protein expression was negatively associated with CRC differentiation, while WTAP protein expression was positively associated. Age and alcohol consumption were key risk factors for CRC development, while no significant associations were found with sex or smoking. GO enrichment analysis suggests that YTHDF1 and WTAP may regulate the differentiation process of colorectal cancer by participating in mechanisms such as mRNA modification, translation regulation, and RNA stability. For the poorly differentiated CRC group, time to progression rate (TTP) was 100% and overall survival rate (OS) was 0% within three years. **Conclusions:** In Lishui City, the YTHDF1 and WTAP genes influence the differentiation of colorectal cancer and may serve as important therapeutic targets and biomarkers for the diagnosis of patients with colorectal cancer.

Keywords

Lishui City, m6A, Colorectal Cancer Differentiation, YTHDF1, WTAP, TTP OS

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

结直肠癌是全球范围内发病率和死亡率排名第三和第二的恶性肿瘤[1]。在中国，结直肠癌位居第二大常见癌症，也是癌症相关死亡的第五大原因，且呈现上升趋势，严重威胁居民健康[2]。低分化结直肠癌通常伴随更具侵袭性的病理特征、较差的治疗反应和不良的预后，而高分化结直肠癌则往往预后较好[3]。因此，在临床实践中，准确评估结直肠癌的分化程度对优化治疗方案和改善预后至关重要。

目前的研究表明，结直肠癌的分化受多种因素的影响。例如，DNA 错配修复系统(MMR)缺陷导致的微卫星不稳定性(MSI)通常与分化良好的肿瘤相关，预示着较好的预后[4]。高水平的 MSI (MSI-H)通常伴随较好的肿瘤分化[5]。此外，KRAS 基因的特定突变与结直肠癌的分化水平密切相关，且可能影响肿瘤对某些治疗的反应[6]。BRAF V600E 突变在结直肠癌中常见，通常与较差的分化和预后相关[7]。CpG 岛的广泛甲基化常常导致肿瘤抑制基因的沉默，可能促使结直肠癌细胞的分化受限[8]。TP53 基因突变与结直肠癌的分化程度相关，通常预示较差的预后[9]。此外，APC 突变可能对癌细胞的分化产生影响[10]，而 PIK3CA 突变则可能与结直肠癌的分化水平及治疗反应相关[11]。

除了 DNA 甲基化之外，组蛋白修饰的变化以及非编码 RNA 的表达(如微 RNA)也与结直肠癌的分化密切相关[12]。m6A 甲基化作为真核 mRNA 中最常见的内部修饰，指的是腺苷残基在氮-6 位置的甲基化，这一动态且可逆的过程在 RNA 代谢中发挥着重要作用，调控 RNA 的剪接、输出、稳定性及翻译[13]。在结直肠癌中，m6A 甲基化已被证实是肿瘤发生和进展的关键因素，但其在结直肠癌分化中的具体作用尚不明确[14]。总的来说，深入理解 m6A 甲基化在结直肠癌中的复杂作用，不仅为肿瘤生物学提供了新的见解，也为靶向癌症治疗开辟了新的可能性。

2. 材料与方法

2.1. TCGA 数据库分析

通过癌症基因组图谱计划(TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov/>)获取了结直肠癌中 13 个与 m6A 相关的基因的表达数据。使用 R 语言和 Perl 语言处理这些数据，生成这些基因的差异表达热图。

2.2. 荧光定量 PCR 分析

主要试剂: Reverse Transcriptase M-MLV (Takara), 2 × SYBR Green pro TaqHS Premix (艾科瑞), 10mM dNTP (TIANGEN), RNase Inhibitor (Thermo Fisher Scientific), RNase-free Water (TIANGEN)。

主要仪器: 离心机(Thermo Fisher Scientific), 微量紫外分光光度计(Nanodrop 2000), 普通 PCR 仪(ABI), 荧光定量 PCR 仪(ABI 7900HT)。

Table 1. Primer design
表 1. 引物设计

No.	Target genes	Primer	Sequences	Annealing temp (°C)	Size (bp)
1	YTHDF1	YTHDF1-F2	TCTGAAAAGCGGGCGTGT	60	161
		YTHDF1-R2	TGAAGAGCAGGTAGACGGGC		
2	YTHDF2	YTHDF2-F2	CTCACACTATGAGAAACGCCAAG	60	350
		YTHDF2-R2	CATTATGCTCTGAAATCACAACCA		

续表

3	ALKBH5	ALKBH5-F2	GAGATGGACAAGGAAGAGAACCG	60	223
		ALKBH5-R2	AAAGGAGGGGCAACTACGTAAG		
4	WTAP	WTAP-F1	GTAGACCCAGCG ATCAACTTGT3	60	109
		WTAP-F2	GCGTAAACTTCCAGGCACTC		
5	GAPDH	Homo GAPDH-For	CTCTCTGCTCCTCCTGTTTCGAC	60	121
		Homo GAPDH-Rev	GCCCAATACGACCAAATCCG		

实验过程, 参考[15]。

根据临床病理结果, 随机选择高分化、中分化和低分化各 20 名患者石蜡切片, 260/280 和 260/230 都在有效范围内, 使用荧光定量 PCR 技术, 测量癌组织和相邻非癌组织中 YTHDF1、ALKBH5、YTHDF2 和 WTAP 的 mRNA 表达水平, 引物信息详见表 1, 各基因溶解曲线和扩增曲线均符合标准, 结果计算参考 $\Delta\Delta CT$ 法, $\Delta CT = \text{目的基因 CT 值} - \text{内参基因 CT 值}$, 内参基因为 GAPDH。 $\Delta\Delta CT = (\text{未知样本 } \Delta CT) - (\text{对照样本 } \Delta CT)$, $\text{Fold Change} = 2^{(-\Delta\Delta CT)}$, Fold Change 大于 2 显著上调, Fold Change 小于 0.5 显著下调。红色标记为显著上调。以每组样本的癌旁组织为对照组, 同组样本的癌组织与之比较; 所有样本按高、中、低分为三组, 以每组样本的癌旁组织为对照组, 同组的癌组织与之比较。

2.3. 多变量 Logistics 回归分析

使用 IBM SPSS Statistics 27 软件进行多变量逻辑回归分析, 评估正常、高分化、中分化和低分化阶段与四个基因的 mRNA 表达水平之间的相关性。

2.4. 免疫组化分析

我们选用了 Abcam 公司的抗体: Anti-WTAP 抗体(EPR18744), Anti-YTHDF2 抗体(EPR23544-19), Anti-WTAP 抗体(EPR22349-16), 和 Anti-ALKBH5 抗体(EPR18958)。详细方法可参考<https://www.abcam.cn/ab195377>。检测上述样本的癌组织和癌旁组织中对对应蛋白表达。利用 Image J 和 IHC_Toolbox 软件计算平均光密度(AOD)(打开免疫组化图后, 先将其转为 8-bit 灰度图, 灰度值范围从 0 (黑)到 255 (白), 通过图中颜色深浅赋值。光密度值(OD 值)与图像灰度值呈对数关系, DAB 染色越深, OD 值越高, 蛋白表达量越多。操作步骤为: 点击 Analyze>Calibrate, 选择 Uncalibrated OD 校准; 设置测量参数(Area、Integrated Density 等); 调整阈值使红色区域为阳性区域; 点击 Analyze>Measure 导出数据, IntDen 即为累积光密度值(IOD), 与蛋白总量成正比。通过 AOD 值进行统计学分析, 比较实验组与对照组蛋白表达差异。ImageJ 的下载地址: <https://imagej./ij/download>。

2.5. 多变量 Cox 回归分析

随机选择 60 名结直肠癌患者和 50 名健康个体, 年龄、饮酒史、吸烟史和性别作为自变量, 结直肠癌的有无作为因变量(无 = 0, 有 = 1)。(该病例报道已获得伦理审批及免签知情同意书, 伦理号: LLW-FO-401)通过 IBM SPSS statistics 27 进行多变量 Cox 回归分析(进入标准 0.05, 排除标准 0.10), 以识别与结直肠癌发生相关的因素, 基线数据如表 2。

2.6. 结直肠癌分化程度与 OS、TTP 的关系

我们跟踪了这 60 名结直肠癌不同分化程度的患者超过三年, 统计追踪了总生存率(OS)和疾病进展率

(TTP)。

Table 2. Clinical baseline data of colorectal cancer patients and healthy individuals
表 2. 结直肠癌患者和健康人临床基线数据

参数	高分化	中分化	低分化	健康组
年龄	61 ± 16.19	70.2 ± 16.76	77.6 ± 9.44	66 ± 15.58
性别				
男	14	13	14	30
女	6	7	6	20
肿瘤位置				
直肠	8	10	6	0
乙状结肠	4	2	4	0
右半结肠	8	6	2	0
左半结肠	0	0	2	0
直肠肛管处	0	2	2	0
回盲部	0	0	2	0
饮酒史	15	16	15	5
吸烟史	10	9	11	8
术后放化疗	6	10	19	0

3. 结果

3.1. TCGA 数据库的结直肠癌癌症中 m6A 相关基因的表达谱

从 TCGA 数据库下载数据，并应用 R 和 Perl 语言编程来处理 m6A 相关基因的 mRNA 差异表达谱，结果如热图(图 1)。

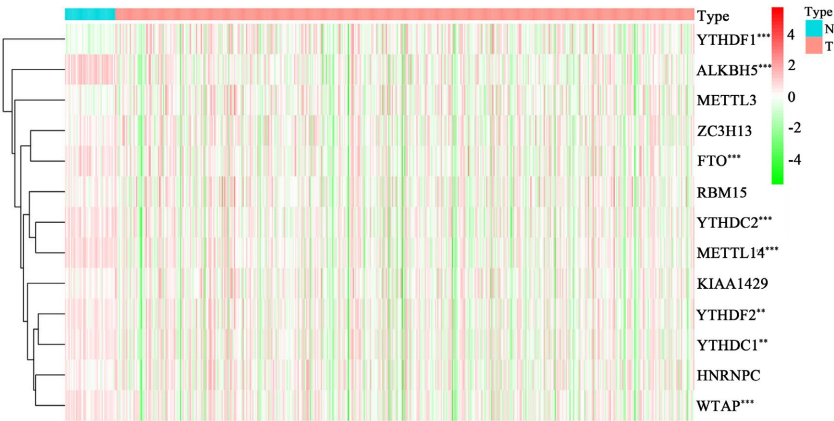


Figure 1. Analysis from the TCGA database reveals the differential expression heatmap of 13 m6A-related genes
图 1. 来自 TCGA 数据库的分析揭示了 13 个 m6A 相关基因的差异表达热图

3.2. 结直肠癌不同分化阶段候选基因 mRNA 的表达

本研究采用荧光定量 PCR 方法, 评估了四个候选基因 YTHDF1、YTHDF2、ALKBH5 和 WTAP 在以高、中、差分化为特征的组织样本中的 mRNA 表达水平。据观察, 较低程度的分化与这些候选基因的 mRNA 表达增加相关(图 2)。SPSS 多变量 Logistics 分析显示 YTHDF1、WTAP 相关基因 mRNA 的表达水平与高、中、低分化进展之间存在相关性(表 3)。

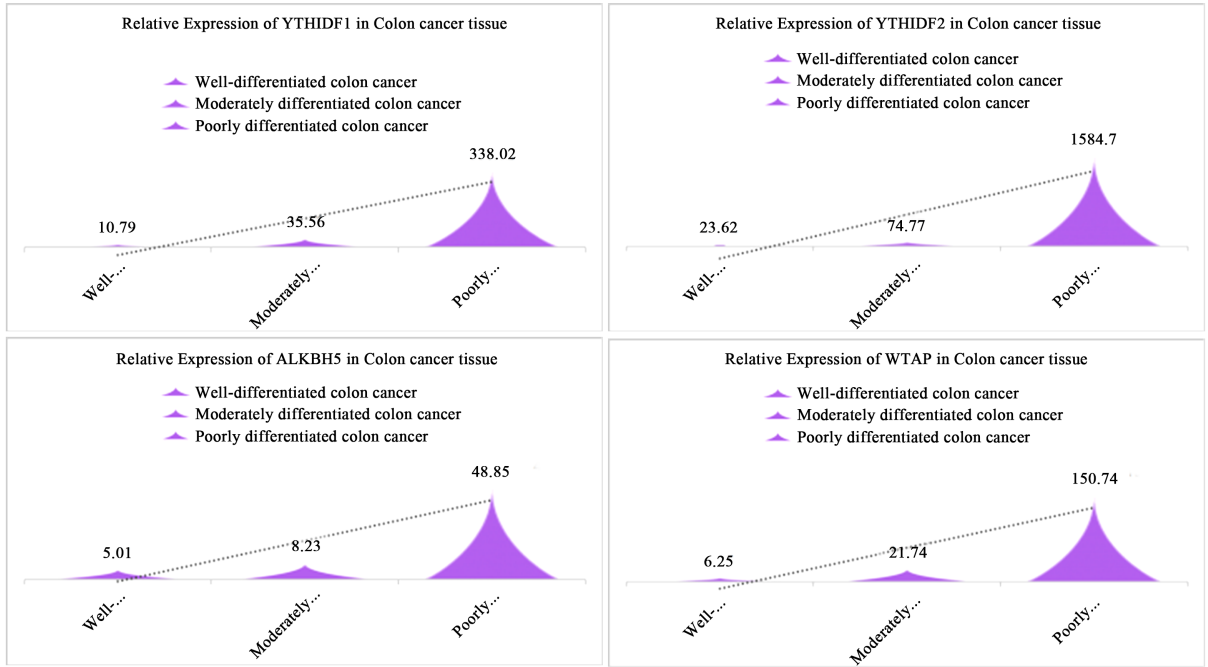


Figure 2. Quantitative real-time PCR analysis of YTHDF1, YTHDF2, ALKBH5, and WTAP expression in cancerous and adjacent normal tissues of colorectal cancer patients

图 2. 荧光定量 PCR 分析结直肠癌患者癌症组织及癌旁组织中 YTHDF1、YTHDF2、ALKBH5 和 WTAP 的表达

Table 3. Multivariate logistic analysis of the correlation between the expression levels of related genes' mRNA and the progression of low, medium, and high differentiation

表 3. 多元 Logistics 分析相关基因 mRNA 的表达水平与低、中、高分化的进展相关性

指标	B	S.E.	Wald	D.F.	Sig.	95% C.I for EXP(B)	
						Lower	Upper
高分化	−0.754	0.552	1.865	1	0.172	−1.836	0.328
中分化	0.228	0.535	0.182	1	0.67	−0.82	1.276
低分化	0.94	0.548	2.943	1	0.086	−0.134	2.014
YTHDF1	1.174	0.153	1.279	1	0.0058	−0.127	0.474
YTHDF2	0.007	0.139	0.002	1	0.962	−0.265	0.278
ALKBH5	0.057	0.117	0.24	1	0.624	−0.173	0.288
WTAP	−0.024	0.279	0.007	1	0.033	−0.571	0.524

3.3. YTHDF1 和 YTHDF2 蛋白在癌症大肠癌组织中表达的免疫组织化学分析

随后，我们随机选择具有不同分化程度的结直肠癌癌症组织样本进行免疫组织化学染色，以检测 YTHDF1 和 YTHDF2 蛋白在肿瘤周围和癌组织中的表达(图 3(A)和图 3(B))。定量分析得出结论，YTHDF2 蛋白表达水平反而是中分化程度中最高，高分化表达次之，低分化表达最低；随着分化程度由低到高，YTHDF1 蛋白表达水平成反向趋势(图 3(A)和图 3(B))。

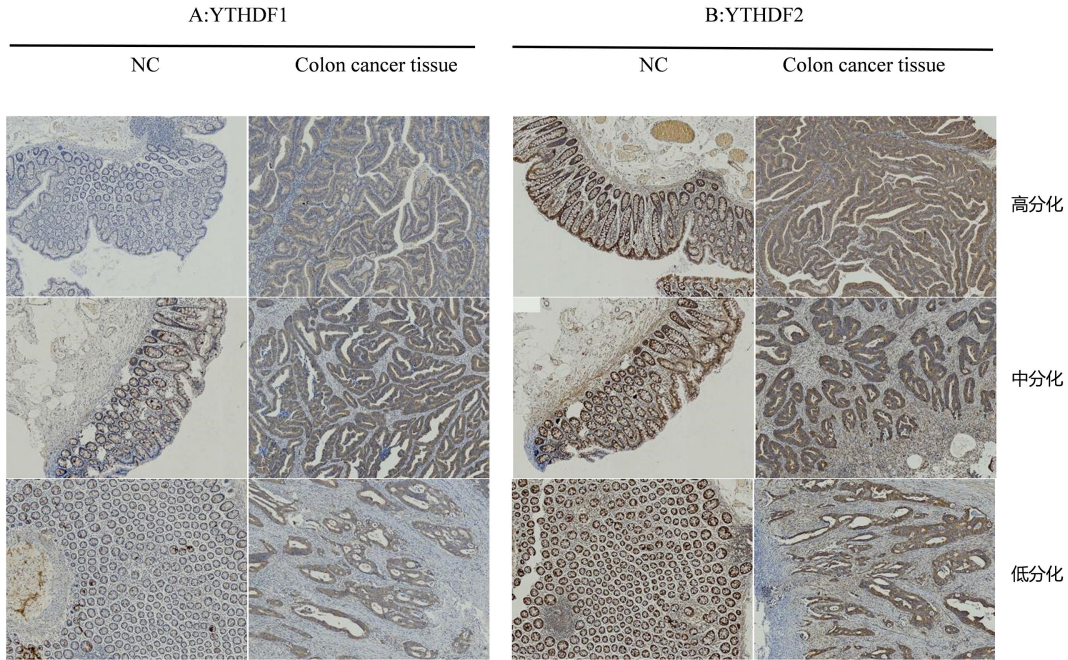


Figure 3. Immunohistochemical results of YTHDF1 and YTHDF2. Note: The immunohistochemical results of YTHDF1 are shown in Figure (A). The left side represents adjacent normal tissue, while the right side corresponds to colorectal cancer tissue. From top to bottom, the samples are from patients with highly differentiated, moderately differentiated, and poorly differentiated colorectal cancer. The immunohistochemical results of YTHDF2 are shown in Figure (B). Similarly, the left side represents adjacent normal tissue, and the right side corresponds to colorectal cancer tissue. From top to bottom, patients are classified as highly differentiated, moderately differentiated, and poorly differentiated. (NC: Adjacent normal tissue of colorectal cancer)

图 3. YTHDF1 和 YTHDF2 免疫组织化学结果。注：YTHDF1 免疫组织化学结果如图(A)所示。左侧表示癌旁组织，右侧对应于结肠癌癌症组织。从上到下依次为高分化、中分化和低分化结肠癌癌症患者。YTHDF2 免疫组织化学结果如图(B)所示。左侧表示癌旁组织，右侧对应于结肠癌癌症组织。从上到下，癌症患者分为高分化、中分化和低分化。(NC：结肠癌症癌旁组织)

3.4. 结直肠癌组织中 ALKBH5 和 WTAP 蛋白表达的免疫组织化学分析

同时，我们随机选择不同分化水平的人类癌症组织样本进行免疫组织化学染色，以评估 ALKBH5 和 WTAP 蛋白在肿瘤周围和癌组织中的表达(图 4(A)和图 4(B))。定量分析显示，随着分化水平的降低，WTAP 蛋白表达水平降低，但 ALKBH5 蛋白表达在中分化最高，高分化和低分化表达量基本一致(图 4(A)和图 4(B))。

3.5. 免疫组织化学结果

使用 Image J 软件分析不同分化程度的病理切片的免疫组织化学结果(癌组织蛋白表达/癌旁组织蛋白表达)，研究发现 YTHDF1 蛋白表达水平与结直肠癌高、中、低分化等级之间存在显著负相关；WTAP 蛋白的表达水平与结直肠癌高、中、低分化等级之间存在显著的正相关(表 4 和图 5)。

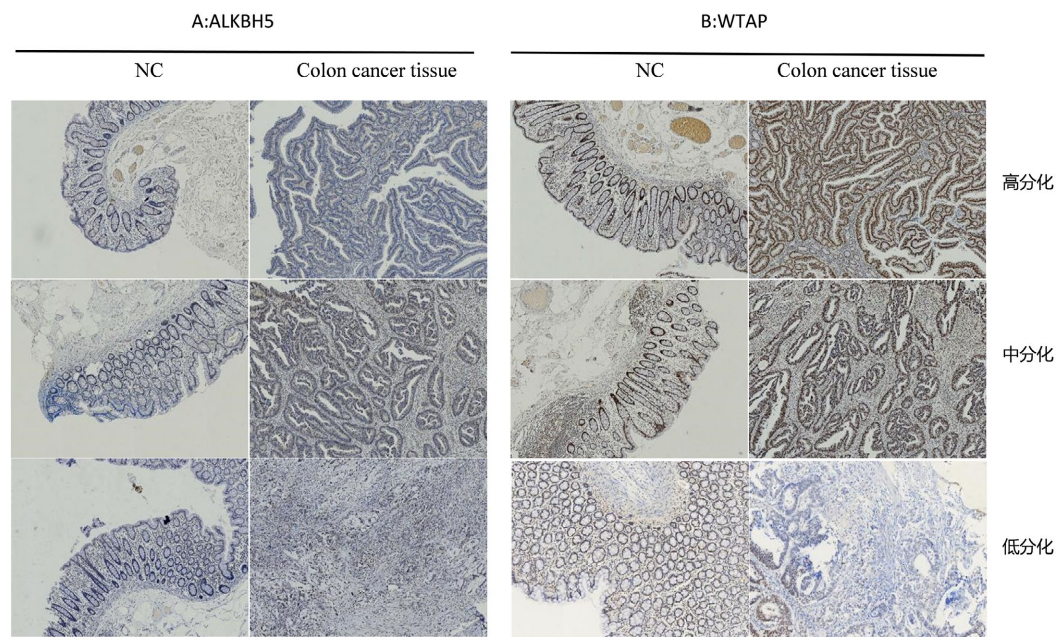


Figure 4. Immunohistochemical results of ALKBH5 and WTAP. Note: The immunohistochemical results of ALKBH5 are shown in Figure (A). The left side represents adjacent normal tissue, while the right side corresponds to colorectal cancer tissue. From top to bottom, the samples are from patients with highly differentiated, moderately differentiated, and poorly differentiated colorectal cancer. The immunohistochemical results of WTAP are shown in Figure (B). Similarly, the left side represents adjacent normal tissue, and the right side corresponds to colorectal cancer tissue. From top to bottom, patients are classified as highly differentiated, moderately differentiated, and poorly differentiated. (NC: Adjacent normal tissue of colorectal cancer)

图 4. ALKBH5 和 WTAP 免疫组织化学结果。注：ALKBH5 免疫组织化学结果如图(A)所示。左侧表示癌旁组织，右侧对应于结肠癌癌症组织。从上到下依次为高分化、中分化和低分化结肠癌癌症患者。WTAP 免疫组织化学结果如图(B)所示。左侧表示癌旁组织，右侧对应结肠癌癌症组织。从上到下，癌症患者分为高分化、中分化和低分化。(NC：结肠癌癌旁组织)

Table 4. Quantitative analysis of immunohistochemical protein results

表 4. 定量分析免疫组化蛋白结果

基因	高分化(H)	中分化(M)	低分化(L)
YTHDF1	1.159 ± 0.161	1.209 ± 0.013*	1.406 ± 0.161*
YTHDF2	0.895 ± 0.010	1.036 ± 0.131	0.744 ± 0.010
ALKBH5	1.043 ± 0.159	1.413 ± 0.155	1.045 ± 0.181
WTAP	1.900 ± 0.184*a	1.423 ± 0.045*a	1.135 ± 0.090

注：YTHDF1 中与高分化组对比，* $p < 0.05$ ，WTAP 中与高分化对比*a $p < 0.05$ 。

3.6. YTHDF1 和 WTAP Go 富集分析

将与结肠直肠癌分化相关的 YTHDF1 和 WTAP 基因输入 Enrichr (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/enrich>)，Go 富集分析 BP (Biological Process)、CC (Cellular Component)、MF (Molecular Function)。查阅文献我们猜测可能原因是参与以下生物信号转导：Regulation of mRNA metabolic process: mRNA 的代谢过程，包括转录后的修饰和稳定性调控，直接影响结肠癌细胞的增殖、分化和转移。异常的 mRNA 代谢会导致基因表达的不正常调控，进而影响肿瘤细胞的分化。mRNA methylation: mRNA 甲基化(如 m6A 甲基化)在结肠直肠癌中起着重要作用，影响基因的翻译、稳定性及降解过程。m6A 修饰与癌症相关的基因的表达密切相关，

并可能影响癌细胞的分化状态。**mRNA modification:** mRNA 的各种修饰(包括甲基化、假尿嘧啶化等)对基因表达有重要影响。这些修饰可能调节癌细胞的分化和肿瘤进展。**Positive regulation of translational initiation:** 翻译起始的正向调节对于肿瘤细胞的增殖和分化非常重要。在结直肠癌中, 翻译起始的调节可能影响肿瘤相关蛋白的表达, 从而影响癌细胞的分化状态。**mRNA destabilization:** mRNA 的不稳定性(如通过 RNA 降解途径)可以影响癌细胞内特定基因的表达, 进而影响癌症的分化。例如, 某些癌基因通过增加 mRNA 的不稳定性被过度表达, 促进癌细胞的去分化。**RNA destabilization:** RNA 的不稳定性同样影响 mRNA 的半衰期和转录后的调控, 这可能导致癌症相关基因的失调, 从而影响结直肠癌的分化。**Positive regulation of mRNA catabolic process:** 正向调节 mRNA 的降解过程可以在特定情况下通过调控癌基因表达来影响细胞分化。过度的 mRNA 降解可能会干扰正常的基因表达, 促使癌细胞去分化。**Methyltransferase complex:** 甲基转移酶复合物(如参与 m6A 甲基化的复合物)直接影响 RNA 的修饰, 这对于肿瘤细胞的增殖和分化至关重要。其在结直肠癌中的调控作用可能影响癌细胞的分化特征。上述调控主要涉及 mRNA 修饰、翻译调控及 RNA 稳定性等方面参与结直肠癌分化。

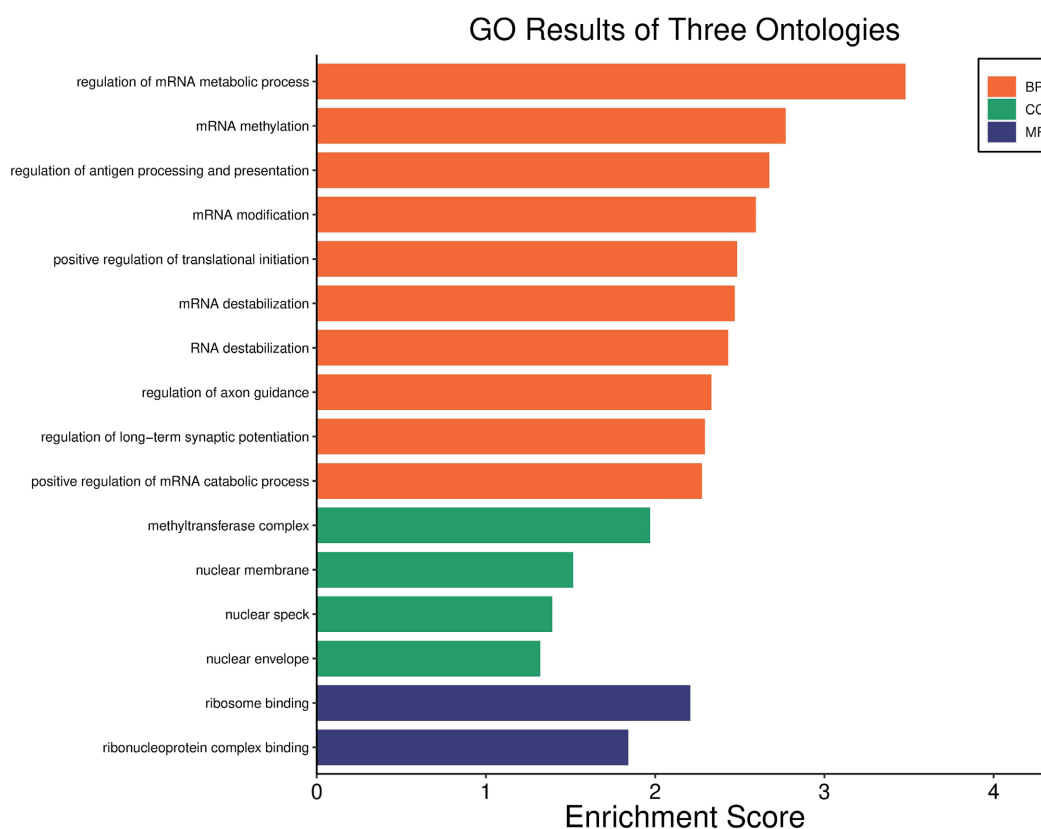


Figure 5. GO enrichment analysis of YTHDF1 and WTAP

图 5. YTHDF1 和 WTAP GO 富集分析

3.7. 多变量 Cox 回归分析

随机选择 60 名结直肠癌患者和 50 名健康人, 以年龄、饮酒史、吸烟史和性别为自变量, 以是否患有结直肠癌为因变量(否 = 0, 是 = 1)。进行多变量 Cox 回归分析(进入标准为 0.05, 排除标准为 0.10), 以确定与结直肠癌癌症发生相关的因素。分析表明, 年龄和饮酒史可能是影响癌症发病率的重要因素, 而性别、吸烟史似乎无关(表 5)。

Table 5. Multivariate cox regression analysis of the correlation between age, gender, alcohol consumption, smoking, and colorectal cancer incidence

表 5. 年龄、性别、饮酒、吸烟与结直肠癌发病率相关性的多因素 Cox 回归分析

指标	B	S.E.	Wald	D.F.	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
年龄	0.117	0.034	11.495	1	0.001	1.124	1.051	1.202
饮酒史	20.945	10889.329	0	1	0.008	1,248,174,098	0	0
吸烟史	20.218	9867.036	0	1	0.998	603607783.3	0	0
性别	1.035	0.797	1.687	1	0.194	2.815	0.591	13.42

3.8. 肠癌分化程度与 OS、TTP 的关系

回顾性分析 60 名不同分化程度的结直肠癌患者超过三年时间，追踪了 OS 和 TTP。观察结果显示，低分化结直肠癌患者 OS 率达到 0%，高分化和低分化 OS 率为 100%；高分化组 TTP 发生率为 10%，而中分化癌症患者的 TTP 为 0%，低分化组发生率 100% (见表 6)。

Table 6. Statistical analysis of OS and TTP incidence based on the differentiation degree of colorectal cancer

表 6. 基于结直肠癌分化程度 OS 和 TTP 发生率的统计分析

指标	死亡/总数(死亡率%)	TTP (%)
高分化	0/20 (0)	2/20 (10)
中分化	0/20 (0)	0/20 (0)
低分化	20/20 (100)	20/20 (100)

4. 讨论

本研究深入探讨了 RNA 甲基化相关关键基因(YTHDF1、YTHDF2、ALKBH5 和 WTAP)在不同人群中对结直肠癌(CRC)的作用。结果表明，这些基因在 CRC 的西方人群中 mRNA 水平差异化显著，提示 RNA 甲基化可能是 CRC 发病和进展中的关键机制，并可能影响患者的生存预后。然而，在中国丽水市人群的研究中，YTHDF1 和 WTAP 的 mRNA 水平仅与 CRC 的分化程度呈显著相关性，而 YTHDF2 和 ALKBH5 未显示相关性。这种差异可能反映了区域性或种族特异性差异，突出了遗传多样性和环境因素在癌症生物学中的重要性。

进一步分析发现，在丽水队列中，YTHDF1 和 WTAP 蛋白的表达水平与 CRC 分化程度分别呈负相关和正相关，提示其在转录调控和蛋白翻译调控中的表达水平可能具有一致性。特别是这两个基因在不同分化程度的肿瘤中的差异表达，表明它们可能作为 CRC 侵袭性和预后的潜在生物标志物。这一发现为 CRC 患者分化程度的精准评估提供了新的分子依据，并可能为个性化治疗方案的制定提供指导。同时我们 GO 富集分析表明，YTHDF1 和 WTAP 可能通过参与 mRNA 修饰[16]、翻译调控[17]和 RNA 稳定性[18]等机制，进而调控结直肠癌的分化过程。

此外，我们的研究还强调了年龄和饮酒史作为 CRC 发病的关键风险因素，这与既往研究基本一致。饮酒已被广泛认为是 CRC 的高风险因素之一[19]，而年龄作为癌症发展的重要风险因素也再次得到验证[20][21]。相较之下，性别和吸烟习惯在本研究中并未显示显著关联。这些结果促使我们进一步探索 CRC

中与年龄和饮酒相关的遗传及表观遗传改变。

值得注意的是,我们观察到疫情期间免疫系统损伤和并发症加重可能影响分化差的 CRC 患者的 TTP 和 OS,其三年内 OS 发生率 0%,TTP 发生率 100%。这表明疫情的特殊背景可能加剧了疾病进程,强调了在类似情境下关注分化差 CRC 患者的特殊需求以及量身定制治疗策略的重要性。

尽管本研究为 RNA 甲基化在 CRC 分化和预后中的作用提供了重要见解,但仍存在一些局限性。首先,本研究为单中心、小样本研究,可能存在样本偏倚。其次,疫情期间的特殊影响可能对患者的免疫状态和疾病进程产生干扰。因此,未来研究需要联合多中心和更大样本量,以验证这些发现的普适性。此外,还应深入探索 YTHDF1 和 WTAP 在 CRC 分化中的具体分子机制,进一步评估其作为生物标志物在多样化人群中的临床应用潜力。

综上所述,本研究揭示了 RNA 甲基化基因 YTHDF1 和 WTAP 在 CRC 中的潜在作用,并为不同人群中基于遗传变异的个性化医疗提供了新的视角。这些发现为 CRC 的早期诊断和治疗策略优化提供了重要线索,同时也为未来的深入研究奠定了基础。

基金项目

丽水市公益性技术应用研究项目(2022GYX25)。

参考文献

- [1] Obafemi, F.A. and Umahi-Ottah G. (2023) A Review of Global Cancer Prevalence and Therapy. *Journal of Cancer Research, Treatment & Prevention*, **1**, 128-147. [https://doi.org/10.37191/maps-ci-jcrtp-1\(3\)-011](https://doi.org/10.37191/maps-ci-jcrtp-1(3)-011)
- [2] Li, J., Han, Y., Zhou, M., Liu, N., Li, H., Huang, G., *et al.* (2023) Electroacupuncture Ameliorates AOM/DSS-Induced Mice Colorectal Cancer by Inhibiting Inflammation and Promoting Autophagy via the SIRT1/miR-215/Atg14 Axis. *Ageing*, **15**, 13194-13212. <https://doi.org/10.18632/aging.205236>
- [3] Brown, I., Zammit, A.P., Bettington, M., Cooper, C., Gill, A.J., Agoston, A., *et al.* (2023) Pathological Features Associated with Metastasis in Patients with Early Invasive (pT1) Colorectal Carcinoma in Colorectal Polyps. *Histopathology*, **83**, 591-606. <https://doi.org/10.1111/his.14970>
- [4] Baretti, M. and Le, D.T. (2018) DNA Mismatch Repair in Cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, **189**, 45-62. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.04.004>
- [5] Heregger, R., Huemer, F., Steiner, M., Gonzalez-Martinez, A., Greil, R. and Weiss, L. (2023) Unraveling Resistance to Immunotherapy in MSI-High Colorectal Cancer. *Cancers*, **15**, Article 5090. <https://doi.org/10.3390/cancers15205090>
- [6] Sakshaug, B.C., Folkesson, E., Haukaas, T.H., Visnes, T. and Flobak, Å. (2023) Systematic Review: Predictive Value of Organoids in Colorectal Cancer. *Scientific Reports*, **13**, Article No. 18124. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45297-8>
- [7] Zeng, J., Fan, W., Li, J., Wu, G. and Wu, H. (2023) KRAS/NRAS Mutations Associated with Distant Metastasis and BRAF/PIK3CA Mutations Associated with Poor Tumor Differentiation in Colorectal Cancer. *International Journal of General Medicine*, **16**, 4109-4120. <https://doi.org/10.2147/ijgm.s428580>
- [8] Lim, S., Joe, S., Kim, H., Lee, J.L., Park, I.J., Yoon, Y.S., *et al.* (2023) Deciphering the DNA Methylation Landscape of Colorectal Cancer in a Korean Cohort. *BMB Reports*, **56**, 569-574. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2023-0106>
- [9] Ciobanu, A.E., Pîrvu, D., Mărginean, C.M., Dijmărescu, A.L., Muñoz-Groza, A., Meșină, C., *et al.* (2023) Molecular Prognostic Factors in Colorectal Cancer: 5-Year Follow-up. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, **64**, 65-71. <https://doi.org/10.47162/rjme.64.1.08>
- [10] Sell, T., Klotz, C., Fischer, M.M., Astaburuaga-García, R., Krug, S., Drost, J., *et al.* (2023) Oncogenic Signaling Is Coupled to Colorectal Cancer Cell Differentiation State. *Journal of Cell Biology*, **222**, e202204001. <https://doi.org/10.1083/jcb.202204001>
- [11] Mirzapoor Abbasabadi, Z., Hamed Asl, D., Rahmani, B., Shahbadori, R., Karami, S., Peymani, A., *et al.* (2023) KRAS, NRAS, BRAF, and PIK3CA Mutation Rates, Clinicopathological Association, and Their Prognostic Value in Iranian Colorectal Cancer Patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **37**, e24868. <https://doi.org/10.1002/jcla.24868>
- [12] Wen, T., Li, T., Xu, Y., Zhang, Y., Pan, H. and Wang, Y. (2023) The Role of M6a Epigenetic Modifications in Tumor Coding and Non-Coding RNA Processing. *Cell Communication and Signaling*, **21**, Article No. 355.

- <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01385-w>
- [13] Shen, L. (2023) Functional Interdependence of N^6 -Methyladenosine Methyltransferase Complex Subunits in Arabidopsis. *The Plant Cell*, **35**, 1901-1916. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad070>
- [14] Lin, Y., Shi, H., Wu, L., Ge, L. and Ma, Z. (2023) Research Progress of N^6 -Methyladenosine in Colorectal Cancer: A Review. *Medicine*, **102**, e36394. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000036394>
- [15] Hu, R., Cao, Y., Wang, Y., Zhao, T., Yang, K., Fan, M., *et al.* (2024) TMEM120B Strengthens Breast Cancer Cell Stemness and Accelerates Chemotherapy Resistance via β 1-Integrin/FAK-TAZ-mTOR Signaling Axis by Binding to MYH9. *Breast Cancer Research*, **26**, Article No. 48. <https://doi.org/10.1186/s13058-024-01802-z>
- [16] Tang, W., Kong, X., He, S., Deng, J., Mao, M., Peng, S., *et al.* (2024) WTAP Regulates SOX1 Expression to Affect the Tumorigenicity of Colorectal Cancer via an m^6A -YTHDF2-Dependent Manner. *Digestive Diseases and Sciences*, **70**, 598-611. <https://doi.org/10.1007/s10620-024-08780-4>
- [17] Zou, Z. and He, C. (2024) The YTHDF Proteins Display Distinct Cellular Functions on m^6A -Modified RNA. *Trends in Biochemical Sciences*, **49**, 611-621. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2024.04.001>
- [18] Liu, W., Zheng, S., Li, T., Fei, Y., Wang, C., Zhang, S., *et al.* (2024) RNA Modifications in Cellular Metabolism: Implications for Metabolism-Targeted Therapy and Immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **9**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01777-5>
- [19] Chen, J., Zhang, I.L., Terry, M.B. and Yang, W. (2022) Dietary Factors and Early-Onset Colorectal Cancer in the United States—An Ecologic Analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **32**, 217-225. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-22-0442>
- [20] Obeagu, E.I. and Obeagu, G.U. (2024) Breast Cancer: A Review of Risk Factors and Diagnosis. *Medicine*, **103**, e36905. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000036905>
- [21] Ferreira, M.L., De Luca, K., Haile, L.M., *et al.* (2023) Global, Regional, and National Burden of Low Back Pain, 1990-2020, Its Attributable Risk Factors, and Projections to 2050: A Systematic Analysis of the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Rheumatology*, **5**, e316-e329.