

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.003

BRCA1 相关蛋白 1 对肾癌增殖和侵袭的实验研究 *

李明梓¹ 邓 铮¹ 陈暮霖¹ 王一州² 凡 杰^{1Δ}

(1 上海交通大学附属第一人民医院 上海 200080; 2 南京医科大学 江苏 南京 211166)

摘要 目的:研究 BRCA1 相关蛋白(BRCA1-associated protein-1, BAP1)对肾癌细胞增殖和侵袭的影响。**方法:**通过含有不同 BAP1 和 HAT1 载体的慢病毒感染后用嘌呤霉素筛选的方法在肾癌细胞系中构建 BAP1 稳定低表达、HAT1 稳定高表达、HAT1 稳定低表达以及 BAP1 低表达且 HAT1 低表达的慢病毒细胞稳转株。通过 WB 和 PCR 验证 BAP1 在肾癌细胞系中对于 HAT1 的调控。使用 CCK-8 细胞增殖和 TRANSWELL 侵袭实验检测对于肾癌细胞增殖和侵袭能力的影响。利用免疫组化和临床随访数据分析其临床意义。**结果:**肾癌细胞系中 BAP1 表达降低后 HAT1 表达升高。BAP1 低表达部分通过了 HAT1 表达升高促进肾癌的增殖和侵袭能力。在肾癌组织中 BAP1 的表达与 HAT1 表达具有相关性($P<0.05$)。**结论:**BAP1 敲低的肾癌细胞中 HAT1 特异性的高表达可能是导致肾癌细胞增殖和侵袭能力增强的原因。BAP1 与 HAT1 在肾癌组织中的表达具有显著相关性。

关键词:肾癌;BAP1;HAT1;细胞增殖;细胞侵袭

中图分类号:R-33;R737.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)24-4612-05

Experimental Study of BRCA1-related Protein 1 on Proliferation and Invasion of Renal Cell Carcinoma*

LI Ming-zhi¹, DENG Zheng¹, CHEN Mu-lin¹, WANG Yi-zhou², FAN Jie^{1Δ}

(1 Department of Urology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China;

2 Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 211166, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of BRCA1-associated protein-1 (BAP1) on proliferation and invasion of renal cell carcinoma cells. **Methods:** The lentivirus containing BAP1 and HAT1 vectors was infected and screened with puromycin. The BAP1 stably expressed low in the renal cancer cell line, the HAT1 stably expressed high and low, and the BAP1 low expression and the HAT1 low expression of the lentiviral cells were stable Transfer strain. The regulation of HAT1 by BAP1 in renal cancer cell lines was verified by WB and PCR. The effect on proliferation and invasion of renal cancer cells was examined using CCK-8 cell proliferation and TRANSWELL invasion assays. The clinical significance was analyzed by immunohistochemistry and clinical return visit data. **Results:** HAT1 expression is increased after decreased expression of BAP1 in renal cancer cell lines. The low expression of BAP1 partially promotes the proliferation and invasion of renal cancer by increasing the expression of HAT1. BAP1 expression is correlated with HAT1 expression in renal cell carcinoma ($P<0.05$). **Conclusion:** High expression of HAT1 specificity in BAP1 knockdown renal cancer cells may be responsible for the enhancement of renal cancer cell proliferation and invasion. There was a significant correlation between the expression of BAP1 and HAT1 in renal cell carcinoma.

Key words: Renal cell carcinoma; BAP1; HAT1; Cell proliferation; Cell invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)24-4612-05

前言

肾透明细胞癌(Clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是最常见的肾细胞癌类型, 占所有肾细胞癌的 70%-80%。尽管手术方法可以切除肾透明细胞癌的病灶, 但是患者往往在较短的时间内复发和转移。现在通过全外显子测序, BRCA1 相关蛋白(BAP1)被确定为肾透明细胞癌最常见的突变之一, 已有研究发现 BAP1 表达的缺失是肾细胞癌预后不良的标志^[1]。然而对

于 BAP1 的缺乏是如何导致肾细胞癌增殖和迁移的原理尚不清楚。本课题组前期实验通过在肾癌细胞系 786-O 中构建 BAP1 低表达的细胞稳转株进行 mRNA 测序后意外的发现 BAP1 低表达之后 HAT1 的表达升高, 目前 HAT1 已在食管癌、肝癌等癌症中发现其对于肿瘤增殖及耐药方面发挥作用^[2,3]。本实验拟通过 BAP1 低表达的肾癌细胞模型来探讨 BAP1 对 HAT1 的调控, 为进一步探究肾癌的增殖侵袭提供依据。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81372753)

作者简介: 李明梓(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 泌尿系肿瘤, 电话: 18701868550, E-mail: jli0723@163.com

Δ 通讯作者: 凡杰, 电话: 13386259652, E-mail: jie67@sina.com

(收稿日期: 2019-05-07 接受日期: 2019-05-30)

1 材料与方法

1.1 实验材料

786-O, 769-P, caki-1 细胞系均由本实验室保存。Sh-BAP1 慢病毒, OE-HAT1 慢病毒, Sh-HAT1 慢病毒均购于上海吉凯生物公司。胎牛血清, 1640 培养基, 胰蛋白酶购于 Gibco 公司。兔抗 BAP1, HAT1, Actin 抗体均购于 CST 公司。本实验引物由上海生工合成。CCK-8 试剂盒购于 sigma 公司, 8 μm 孔径的 transwell 小室购于 millipore 公司。组织样本来自于 2012 年 8 月至 2013 年 12 月在上海市第一人民医院泌尿外科接受根治性肾切除的先期未治疗的非转移性肾癌患者。所有患者都被告知并且获得同意。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人肾癌细胞系 786-O, 769-P, caki-1 均生长于含 10% 胎牛血清 +50 U/mL 青霉素 +50 U/mL 链霉素的 1640 培养基中。细胞培养箱的培养条件为 37℃、体积分数为 5% 的 CO₂ 的饱和湿度。之后用于构建慢病毒细胞稳转株用于分子机制和功能学实验。

1.2.2 慢病毒感染 慢病毒构建及包装由吉凯公司完成。病毒感染前一天在 6 孔板铺细胞 15 万个/孔。感染 MOI 值为 10:1。病毒感染 6 小时后弃掉含病毒培养液, 改为普通培养液。72 小时后荧光显微镜下观察荧光强度, 并使用嘌呤霉素进一步筛选阳性细胞。筛选时间持续 5 天。在 786-O, 769-P 以及 caki-1 细胞中构建 Sh-control 组, Sh-BAP1 组收样后用于 WB 以及 PCR 检测 HAT1 在蛋白和转录水平的表达变化。在 786-O 细胞中构建 sh-control 组, sh-BAP1 组, OE-HAT1 组以及 sh-BAP1+sh-HAT1 组用于 CCK-8 细胞增殖实验和 TRANSWELL 细胞侵袭实验。

1.2.3 Western blot 和实时定量 PCR 实验步骤 使用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, BCA 试剂盒测定浓度, 以每孔 15 μg 的蛋白上样量进行 SDS 电泳, 其中上层浓缩胶浓度为 5%, 下层分离胶浓度为 12%, 先用 100 V 跑浓缩胶, 然后用 120 V 跑分离胶。湿转转膜, 220 V, 90 min。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 一抗 4℃ 过夜, 二抗室温孵育 2 h, 然后加曝光底物曝光。q-PCR 步骤: 使用 Trizol 试剂提细胞总 RNA, 然后使用 promega 的反转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA, 用 q-PCR mix 加好反应体系, 上机完成实验。所有 q-PCR 引物序列信息均来自 primer bank, BAP1 引物为上游 5'-AGGAGCTGCTGGCACTGCTGA-3' 和下游 5'-TTGTGGAGCCGCGCCGATGCT-3', HAT1 的上游为 5'-CTACAATGTGGCCTGCATCC-3', 下游为 5'-TTGATGTGTGATCTGGCCT-3', GAPDH 引物上游 5'-GGAGCGA-GATCCCTCCAAAT-3' 和下游 5'-GGCTGTTGTCAT-ACTTCTCATGG-3'。分别检测 sh-control 组, sh-BAP1 组 BAP1 的蛋白表达以及 HAT1 的蛋白表达和转录表达情况。

1.2.4 CCK-8 细胞增殖实验 CCK-8 细胞体外增殖实验将肾癌细胞球消化、重悬后制成单细胞悬液, 以每孔 3×10^3 /100 μL 细胞量种植于 96 孔板内, 每种细胞设 4 个复孔, 37℃ 细胞培养箱培养过夜。第 2 天开始每天同一时间每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 37℃ 孵育后 3 h 后在酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(A)值, 连续测量 6 天。并使用 graph prism 5.0 作图软件绘制生长

曲线。分别检测 sh-control 组, sh-BAP1 组, OE-HAT1 组以及 sh-BAP1+sh-HAT1 组细胞的增殖能力。

1.2.5 TRANSWELL 细胞侵袭实验 在无血清培养基中取 5×10^5 个/mL 786-O 细胞 100 μL 接种于 TRANSWELL 小室内, 然后将小室移入 6 孔板内, 在小室下层孔中添加含有 10% 胎牛血清的培养液 1 mL, 置入 37℃, 5% 的 CO₂ 培养箱培养 48 h, 棉签拭去上室表面细胞及 matrigal 基质胶, 使用甲醛固定后结晶紫染色。在显微镜下计数 5 个单独视野的染色细胞数, 去平均值作为评价其侵袭能力的指标。实验重复三次。分别检测 sh-control 组, sh-BAP1 组, OE-HAT1 组以及 sh-BAP1+sh-HAT1 组细胞的侵袭能力。

1.2.6 免疫组化 所有标本在手术后立即在福尔马林中固定长达 24 小时, 然后脱水, 石蜡化并包埋在石蜡块中。将组织切片切成 3-4 μm 并空气干燥过夜。将切片脱石蜡, 再水化, 并用柠檬酸钠缓冲液 (10 mM 柠檬酸钠, 0.05% Tween-20 (pH6.0)) 进行热诱导的抗原修复, 然后用 3% 过氧化氢孵育 5 分钟。阻断内源性过氧化物酶活性。然后将切片与合适的第一抗体一起温育, 并依次与生物素化的山羊抗小鼠 IgG 一起温育。用于信号检测, 根据制造商的说明使用 VECTASTAIN ABC 试剂盒 (Vector Laboratories)。将载玻片用苏木精进一步复染。每次免疫染色试验使用适当的阳性和阴性对照。

1.2.7 统计学分析 除非另有说明, 实验用三次或更多次重复进行。所有统计测试都是双面的, 并使用 GraphPad Prism (Graphpad 软件) 和 spss 软件进行。对于大多数研究, 通过 Student's t 检验进行统计学分析。P<0.05 的值被认为具有统计学意义(图中用 * 标注)。

2 结果

2.1 在肾癌细胞系中敲低 BAP1 后 HAT1 表达升高

将构建好的 Sh-control, Sh-BAP1#1, Sh-BAP1#2 以及 Sh-BAP1#3 四组病毒转染至 786-O 细胞中通过嘌呤霉素筛选后得到 BAP1 稳定敲低的细胞稳转株。通过 Western Blot 以及 Qpcr 实验验证 HAT1 在蛋白水平和转录水平的表达情况, 如图 1A 所示, 当 BAP1 表达降低时, HAT1 在蛋白水平和转录水平表达升高。Sh-BAP1#3 的敲低效率最好, 蛋白表达约降低 80%。之后我们用 Sh-control 以及 Sh-BAP1#3 两组病毒转染至 769-P 以及 caki-1 肾癌细胞株中, 通过 WB 以及 Qpcr 验证 HAT1 的表达情况。如图 1B, C 所示, BAP1 表达降低之后, HAT1 同样在蛋白水平和转录水平表达升高, 769-P 和 caki-1 中在 BAP1 敲低效率约为 80% 的前提下转录水平以及蛋白水平表达分别约为对照组 140% 和 220%。据此得出, 在肾癌细胞系中在 BAP1 突变之后表达降低的情况下, HAT1 在蛋白水平和转录水平表达升高。

2.2 BAP1 低表达后部分通过 HAT1 促进肾癌细胞的增殖和侵袭能力

为了验证 BAP1 调控 HAT1 是否与 BAP1 的抑癌作用相关。将 sh-control 慢病毒, sh-BAP1 慢病毒, OE-HAT1 慢病毒转染至 786-O 细胞中构建稳转株并将 sh-BAP1 及 sh-HAT1 慢病毒共同转染的 786-O 稳转株共同进行细胞增殖和侵袭实验。如图 2A 所示, 通过 Western blot 验证慢病毒的转染效率。在此之

后我们将四组稳转株进行 CCK-8 细胞增殖和 transwell 侵袭实验。如图 2B,C 所示。BAP1 低表达组 786-O 细胞的增殖和侵袭能力最强,增殖能力约为对照组的 3.2 倍,侵袭能力约为对照组的 3.5 倍。过表达 HAT1 组增殖和侵袭能力次之,增殖能力约为对照组的 3 倍,侵袭能力约为对照组的 2.5 倍,而在 BAP1 低表达且 HAT1 低表达的 786-O 细胞增殖和侵袭能力较前两组明显减弱,增殖和侵袭能力约为对照组的 2 倍。说明 BAP1 低表达后细胞增殖和侵袭能力增强部分因为 HAT1 表达的升高。即 BAP1 表达降低后部分通过 HAT1 表达的升高促进了肾癌细胞的增殖和侵袭能力。

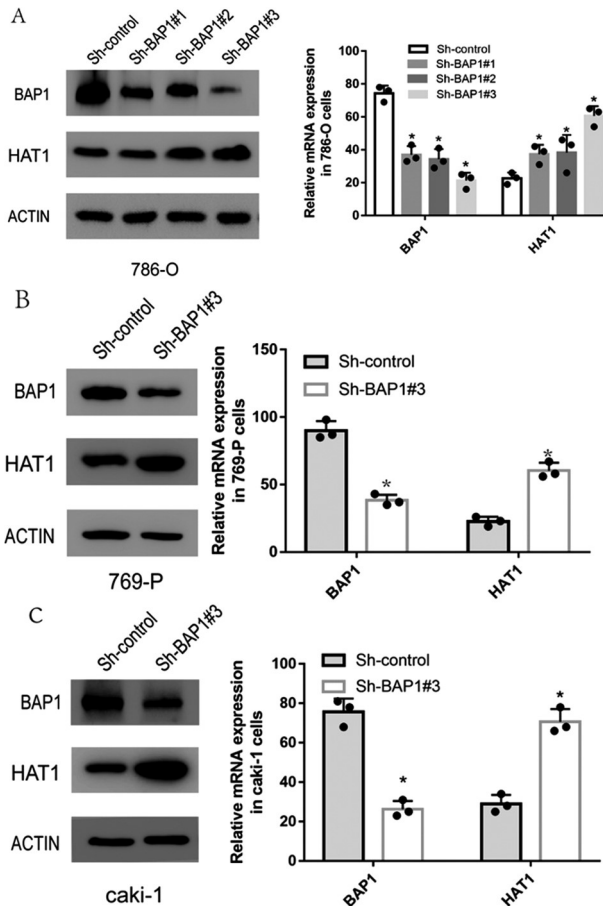


图 1 A Western blot,Qpcr 检测 BAP1 低表达稳转株 786-O 中 HAT1 的蛋白和 RNA 表达,B Western blot,Qpcr 检测 BAP1 低表达稳转株 769-P 中 HAT1 的蛋白和 RNA 表达,C Western blot,Qpcr 检测 BAP1 低表达稳转株 caki-1 中 HAT1 的蛋白和 RNA 表达

Fig.1 A Western blot and Qpcr were used to detect the expression of HAT1 in BAP1 low expression stably transformed strains 786-O, B Western blot and Qpcr were used to detect the expression of HAT1 in BAP1 low expression stably transformed strains 769-P, C Western blot and Qpcr were used to detect the expression of HAT1 in BAP1 low expression stably transformed strains caki-1

2.3 肾癌组织中 BAP1 与 HAT1 表达具有相关性

为了明确 BAP1 调控 HAT1 在肾癌组织中表达是否具有相关性以及其临床意义。对 60 例肾癌病人的临床资料进行收集回访,对肾癌病人的组织进行免疫组化染色。如表 1 所示,在肾癌组织中 BAP1 和 HAT1 的表达在 furhman 分级 ($P<0.05$)

以及晚期 PT 分期 ($P<0.05$)病理参数上具有显著相关性。说明 BAP1 低表达且 HAT1 高表达的患者临床预后更差。免疫组化代表性图像如图 3C 所示。此外在 60 例肾癌组织中,有 4 例 bap1 弱染色,但 HAT1 却也为弱染色,表明可能存在如表观遗传沉没等其他机制下调 HAT1。

3 讨论

BAP1 是泛素 c 端水解酶亚家族去泛素化酶的成员之一^[4]。组蛋白 H2A(Lys119)是第一个鉴定的 BAP1 底物^[5]。目前,已经报道了许多其他靶标,包括转录因子 KLF5,细胞骨架蛋白 γ -微管蛋白和受体蛋白 IP3R3^[6-8]。Calypso 是 BAP1 的果蝇直系同源,已被证实与额外梳性蛋白相互作用,形成 PR-DUB 复合物 (Polycomb-Repressive Deubiquitinase complex),参与胚胎发育过程中 HOX 基因的抑制^[9]。研究发现 BAP1 与几种转录因子和表观遗传修饰因子都有相互作用^[9],表明它在转录调节中起重要作用。此外,目前还已知 BAP1 参与多种细胞过程,例如细胞周期进展,内质网应激反应和 DNA 修复^[10-13]。BAP1 与正常肾功能的作用相关,并且在肾肿瘤的发生过程中与 VHL 协同作用^[14]。而在乳腺癌^[15],结直肠癌^[16],非小细胞肺癌^[17]等许多癌症中很少表现出 BAP1 表达量的下调,但是在肝内胆管癌中 BAP1 的表达缺失较为常见^[18],体现出 BAP1 在恶性间皮细胞瘤的诊断中具有重要意义^[19-21]。这也为肾透明细胞癌恶性程度较高提供了病理学的依据。在肾细胞癌模型中 BAP1 缺失所致 HAT1 特异性的上调与肿瘤的增殖和侵袭能力增强相关。HAT1 是最早发现的组蛋白乙酰转移酶,也是唯一已知的 B 型组蛋白乙酰转移酶^[22]。RNAi 筛查证实 HAT1 可能是食管鳞状细胞癌的潜在药物靶点^[23]。有研究证明 HAT1 可以促进细胞的增殖和诱导肝癌细胞对顺铂耐药^[24]。HAT1 的敲低降低了体内和体外胰腺癌细胞的增殖,HAT1 转录调节 PD-L1,这一过程主要由胰腺癌中的 BRD4 介导,HAT1 的敲低通过降低 PD-L1 改善了免疫检查点阻断的功效^[23]。因此通过维持 BAP1 的表达从而稳定 HAT1 的表达显得十分有意义。

作为去泛素化酶,BAP1 通过将底物蛋白上的泛素化去除从而减少底物被蛋白酶体降解。在这种前提下并不能解释 BAP1 缺乏的情况下 HAT1 的表达升高,因为 HAT1 是在蛋白水平和转录水平都发生了表达升高。目前已有研究证实 BAP1 可以通过在转录水平调控下游蛋白的表达^[24]。所以我们在此推测 BAP1 是通过去泛素化作用在转录水平调控 HAT1 的表达。而 HAT1 具体如何调控肾癌细胞的增殖和侵袭能力尚未研究。BAP1 是否从转录水平调控 HAT1 以及 BAP1 通过 HAT1 促进肾癌增殖和侵袭下游具体的分子机制有待进一步研究阐明。

综上,本研究表明在肾细胞癌中 BAP1 表达的降低会导致 HAT1 表达的升高,会进一步促使肾癌细胞增殖与侵袭。作为一个抑癌基因,BAP1 有望成为肾癌诊断和治疗的一个分子标志。靶向已知 HAT1 的高表达也可以作为肾癌的一个潜在的治疗方式。此外 BAP1 究竟通过何种途径间接调控 HAT1 仍值得进一步研究。

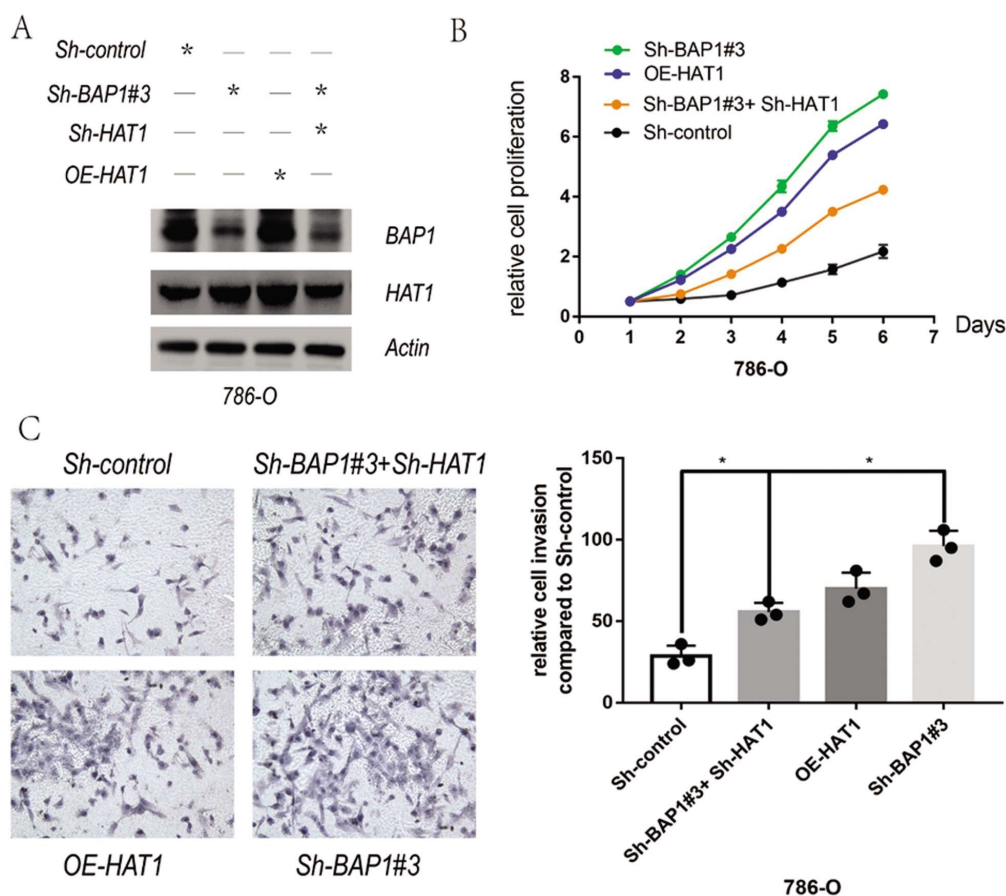


图 2 A 慢病毒转染细胞 786-O 后 WB 验证慢病毒的转染效率, B 四组慢病毒细胞稳转株进行 CCK-8 细胞增殖实验 6 天数据分析, C 四组慢病毒稳转株进行 TRANSWELL 侵袭实验图像以及细胞计数分析(重复三次)

Fig. 2 A WB verified the transfection efficiency of lentivirus after lentivirus transfected cells 786-O, B group four lentiviral cell stable transfectants were subjected to CCK-8 cell proliferation experiment for 6 days data analysis, C Four groups of lentiviral stable strains were subjected to TRANSWELL invasion test images and cell count analysis (repeated three times).

表 1 BAP1 和 HAT1 不同表达量下的患者特征和临床病理因素

Table 1 Patient characteristics and clinicopathological factors by BAP1 and HAT1 expression in RCC

	BAP1 neg	BAP1 pos	P value	HAT1 neg	HAT1 pos	P value
No.of patients	9	51		48	12	
Median age(years)	60.3	61.6		61.5	54.2	
Sex						
Male	7	40	1.000	41	8	1.000
Female	2	11		7	4	
Furhman grade						
Low(G1/G2)	3	38	0.007	8	9	0.003
High(G3/G4)	6	13		40	3	
Primary T stage						
Low (pT1/pT2)	3	43	0.016	18	8	0.023
High(pT3/pT4)	6	8		30	4	

参考文献(References)

- [1] Minardi D, Lucarini G, Milanese G, et al. Loss of nuclear BAP1 protein expression is a marker of poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. Urol Oncol, 2016, 34(8): 338 e11-8
- [2] Xue L, Hou J, Wang Q, et al. RNAi screening identifies HAT1 as a potential drug target in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(7): 3898-907
- [3] Jin X, Tian S, Li P. Histone Acetyltransferase 1 Promotes Cell Proliferation and Induces Cisplatin Resistance in Hepatocellular Carcinoma [J]. Oncol Res, 2017, 25(6): 939-946
- [4] Jensen D E, Proctor M, Marquis S T, et al. BAP1: a novel ubiquitin hydrolase which binds to the BRCA1 RING finger and enhances BR-

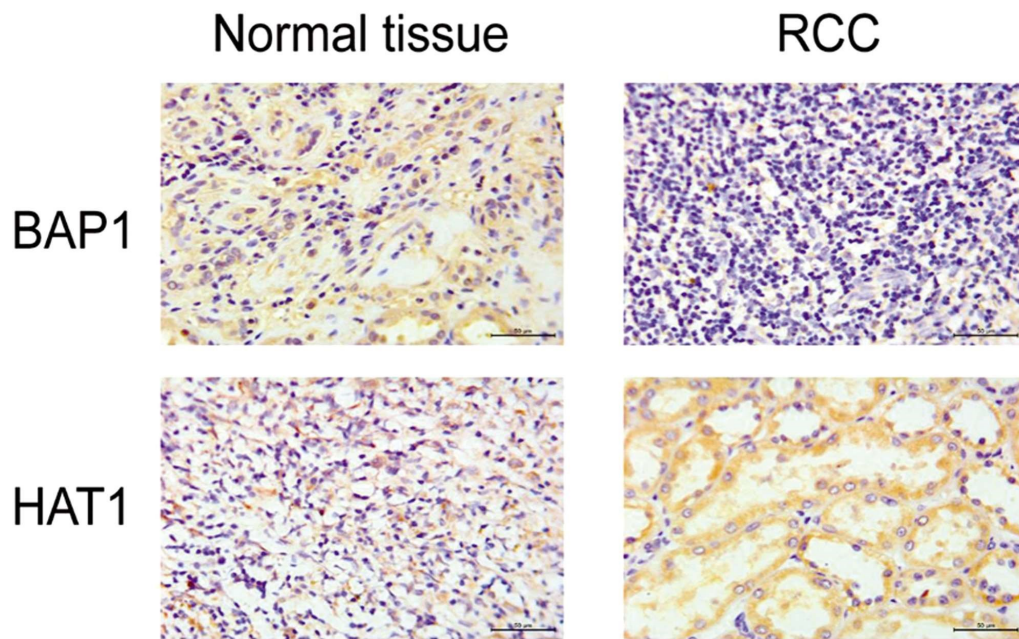


图3 BAP1 与 HAT1 免疫组化实验的代表性图像

Fig. 3 Representative images of BAP1 and HAT1 immunohistochemistry experiments

- CA1-mediated cell growth suppression [J]. *Oncogene*, 1998, 16(9): 1097-112
- [5] Scheuermann J C, De Ayala Alonso A G, Oktaba K, et al. Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB[J]. *Nature*, 2010, 465(7295): 243-247
- [6] Qin J, Zhou Z, Chen W, et al. BAP1 promotes breast cancer cell proliferation and metastasis by deubiquitinating KLF5 [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8471
- [7] Bononi A, Giorgi C, Patergnani S, et al. BAP1 regulates IP3R3-mediated Ca²⁺ flux to mitochondria suppressing cell transformation[J]. *Nature*, 2017, 546(7659): 549-553
- [8] Zarri R, Menard J A, Belting M, et al. Deubiquitination of gamma-tubulin by BAP1 prevents chromosome instability in breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(22): 6499-508
- [9] Carbone M, Yang H, Pass H I, et al. BAP1 and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(3): 153-159
- [10] Eletr Z M, Wilkinson K D. An emerging model for BAP1's role in regulating cell cycle progression[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2011, 60 (1-2): 3-11
- [11] Ismail I H, Davidson R, Gagne J P, et al. Germline mutations in BAP1 impair its function in DNA double-strand break repair[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(16): 4282-4294
- [12] Yu H, Pak H, Hammond-Martel I, et al. Tumor suppressor and deubiquitinase BAP1 promotes DNA double-strand break repair[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(1): 285-290
- [13] Dai F, Lee H, Zhang Y, et al. BAP1 inhibits the ER stress gene regulatory network and modulates metabolic stress response[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(12): 3192-3197
- [14] Wang S S, Gu Y F, Wolff N, et al. Bap1 is essential for kidney function and cooperates with Vhl in renal tumorigenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(46): 16538-16543
- [15] Chui J, Singh A, Gill A J. Loss of BAP1 expression is very rare in breast carcinoma[J]. *Pathology*, 2017, 49(5): 557-560
- [16] Chui J, Verdonk B, Gill A J. Loss of BAP1 Expression Occurs Rarely to Never in Colorectal Adenocarcinoma [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2018, 26(9): e91-e92
- [17] Andrici J, Parkhill T R, Jung J, et al. Loss of expression of BAP1 is very rare in non-small cell lung carcinoma[J]. *Pathology*, 2016, 48(4): 336-340
- [18] Andrici J, Goepfert B, Sioson L, et al. Loss of BAP1 Expression Occurs Frequently in Intrahepatic Cholangiocarcinoma [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(2): e2491
- [19] Cozzi I, Oprescu F A, Rullo E, et al. Loss of BRCA1-associated protein 1 (BAP1) expression is useful in diagnostic cytopathology of malignant mesothelioma in effusions[J]. *Diagn Cytopathol*, 2018, 46(1): 9-14
- [20] Cheung M, Testa J R. BAP1, a tumor suppressor gene driving malignant mesothelioma[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2017, 6(3): 270-278
- [21] Andrici J, Jung J, Sheen A, et al. Loss of BAP1 expression is very rare in peritoneal and gynecologic serous adenocarcinomas and can be useful in the differential diagnosis with abdominal mesothelioma[J]. *Hum Pathol*, 2016, 51: 9-15
- [22] Lebel E A, Boukamp P, Tafrov S T. Irradiation with heavy-ion particles changes the cellular distribution of human histone acetyltransferase HAT1[J]. *Mol Cell Biochem*, 2010, 339(1-2): 271-284
- [23] Fan P, Zhao J, Meng Z, et al. Overexpressed histone acetyltransferase 1 regulates cancer immunity by increasing programmed death-ligand 1 expression in pancreatic cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38 (1): 47
- [24] Zhang Y, Shi J, Liu X, et al. BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumour suppression [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20 (10): 1181-1192