

网络出版时间:2023-09-06 08:32:42 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20230905.1537.003

TRIM32 在皮肤黑色素瘤中的表达及预后相关性分析

赵丹阳¹, 曹东升¹, 徐结苟², 谢娟¹

摘要 目的 探讨 TRIM32 在皮肤黑色素瘤(CMM)中的表达及其临床病理价值。方法 应用实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(RT-PCR)检测 TRIM32 在人黑色素瘤细胞系(A375, MV3)以及人正常皮肤细胞系(HACAT)中的表达情况;回顾性分析 31 例 CMM 患者,应用免疫组化方法检测 TRIM32 在 CMM 患者癌组织和癌旁组织中的表达,统计患者的临床资料,分析 TRIM32 表达与临床特征的相关性,采用 Kaplan-Meier 生存分析和 Cox 回归模型进行预后分析。结果 与 HACAT 正常皮肤细胞相比,TRIM32 mRNA 表达水平在 A375 黑色素瘤细胞中明显升高($P < 0.001$),在 MV3 黑色素瘤细胞中无明显差异($P > 0.05$)。CMM 癌组织中 TRIM32 蛋白表达高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.001$)。CMM 患者中 TRIM32 的表达水平与肿瘤 Breslow 厚度($r = 0.771, P < 0.001$)、Clark 分级呈显著的正相关($r = 0.635, P < 0.001$),与患者的性别、有无溃疡、年龄、肿瘤原发部位均无明显相关性($P > 0.05$)。TRIM32 表达水平、肿瘤 Breslow 厚度、Clark 分级与 CMM 患者生存时间相关($P < 0.01$),建立 COX 回归模型,TRIM32 表达水平与 CMM 患者预后关联显著($P < 0.05$)。结论 TRIM32 在 A375 黑色素瘤细胞和 CMM 患者癌组织中呈高表达。TRIM32 表达水平是影响 CMM 患者预后的独立风险因素,TRIM32 可作为 CMM 预后判断的参考指标。

关键词 TRIM32;皮肤黑色素瘤;免疫组化;预后

中图分类号 R 739.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)09-1551-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.09.019

黑色素瘤是由黑色素细胞恶性转化导致的恶性肿瘤,通常发生在皮肤,极少数也可以出现在口腔、肠道、眼睛等非皮肤部位。黑色素瘤为全球第五大高发癌症^[1],黑色素瘤在中国发病率较低,然而其致死率较高,且近年来发病率有上升趋势,估计中国 2015 年皮肤黑色素瘤(cutaneous malignant melano-

ma, CMM)新增患者约 8 千人,死亡患者约有 3 千余人^[2]。目前 CMM 治疗仍以手术为主,然而晚期 CMM 患者常常难以耐受手术或手术疗效欠佳,因此,寻找新的分子靶点对于提高晚期 CMM 患者的预后水平至关重要。TRIM32 在各种肿瘤中呈现高表达,与肿瘤发生发展密切相关,然而它在 CMM 中的具体作用鲜有报道。本课题组前期通过基因芯片技术发现了 TRIM32 在黑色素瘤中差异表达且与患者的不良预后显著相关^[3]。该研究在此基础上,研究 TRIM32 在黑色素瘤细胞和组织中的表达以及预后相关性,探讨 TRIM32 在 CMM 中的临床意义。

1 材料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 细胞 人黑色素瘤细胞系(A375, MV3)以及人正常皮肤细胞系(HACAT)来源于安徽医科大学第二附属医院实验室保藏的细胞株。

1.1.2 样本来源 选取安徽医科大学第二附属医院 2019 年 6 月~2022 年 2 月收治的 CMM 患者 31 例。纳入排除标准:①患者于安徽医科大学第二附属医院诊疗,已签署手术知情同意书,行手术治疗;②患者术中或术后行病理检查,病理科留存患者癌组织及癌旁正常组织蜡块标本;③术后组织病理检查证实为原发性 CMM;④术前未经过黑色素瘤相关治疗(激光、放化疗、冷冻等)的患者;⑤病例资料较完整且预后分析未失访的患者。随访截止日期为 2023 年 2 月,共纳入 31 例 CMM 患者。所有病例的病理切片均由两位病理学专家复诊,按照第八版 AJCC 黑色素瘤组织学标准进行分期,诊断意见统一。

1.1.3 主要试剂 TRIM32 兔多克隆抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司,免疫组化试剂盒购自武汉赛维尔生物科技有限公司,引物由通用生物(安徽)股份有限公司合成,胎牛血清、DMEM 培养基、RP-MI-1640 培养基等试剂购自维森特生物技术(南京)有限公司。

1.2 研究方法

1.2.1 Real-time PCR 提取各细胞(A375, MV3,

2023-08-10 接收

基金项目:安徽医科大学校科研基金(编号:2020xkj201);安徽省重点研究与开发计划项目(编号:202004a07020036)

作者单位:¹安徽医科大学第二附属医院整形外科,合肥 230601

²安徽医科大学基础医学院免疫学教研室,合肥 230032

作者简介:赵丹阳,女,硕士研究生;

谢娟,女,博士,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: 3259649830@qq.com

HACAT)RNA, mRNA 逆转录为 cDNA, TRIM32 基因引物序列为 F: 5'-CCGGGAAGTGCTAGAATGCC-3'; R: 5'-CAGCGGACACCATTGATGCT-3', 以 GAPDH 为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析基因表达的相对变化。

1.2.2 免疫组化 免疫组化染色步骤按试剂盒说明进行。TRIM32 蛋白的阳性着色主要定位于细胞质, 呈淡黄色~棕黄色的细/粗颗粒。染色结果采用 3DHISTECH 数字病理切片扫描仪扫描分析, 扫描后导入 CaseViewer 软件, 随机选取 3 张图片。使用 ImageJ 图像分析软件测量每张免疫组化图像阳性的累积光密度 IOD 值、阳性面积及阳性面积率(% Area), 计算阳性部位平均光密度 AOD (AOD = IOD/阳性面积)。AOD 即阳性信号的平均深浅, % Area 即阳性区域占比, AOD 和 % Area 均可反映目标蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理 所得数据应用 SPSS 27.0 统计软件包, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 两组间比较采用两独立样本 t 检验, 多组间方差齐者比较采用单因素方差分析, 方差不齐者采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。计数资料应用卡方检验。年龄、T 分期、Clark 分级与免疫组化表达结果相关性分析采用 Spearman 相关分析, 性别、有无溃疡等无序分类变量与免疫组化表达结果相关性分析采用 t 检验或单因素方差分析。生存分析使用 Cox 回归模型。所有检验均采用双侧检验, 检验水准 = 0.05, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 9.0 对实验数据进行绘图。

2 结果

2.1 TRIM32 在黑色素瘤细胞中的表达 为研究 TRIM32 对于 CMM 患者的预后意义, 首先在细胞水平验证 TRIM32 在黑色素瘤细胞和正常皮肤细胞中的表达是否存在差异。采用 Real-time PCR 的方法检测了 TRIM32 在人黑色素瘤细胞系 (A375, MV3) 以及人正常皮肤细胞系 (HACAT) 中的表达情况, 结果表明, 与 HACAT 正常皮肤细胞相比, TRIM32 mRNA 表达水平在 A375 黑色素瘤细胞中明显升高 ($P < 0.001$), 在 MV3 黑色素瘤细胞中无明显差异 ($P > 0.05$), 如图 1 所示。

2.2 病例资料 31 例原发性 CMM 患者男 16 例, 女 15 例; 年龄 50 岁~82 岁、平均 (65.3 ± 1.8) 岁。CMM 患者以肢端雀斑型黑色素瘤最多见 (20/31 例), 结节型 8 例, 浅表扩散型 2 例, 恶性雀斑型 1 例。4 例伴淋巴结转移, 1 例出现远处转移, 17 例就

诊时病变部位出现溃疡。CMM 患者 T 分期: T1 期 4 例、T2 期 5 例、T3 期 6 例、T4 期 16 例; Clark 分级 1 级 0 例, 2 级 8 例, 3 级 3 例, 4 级 10 例, 5 级 10 例。

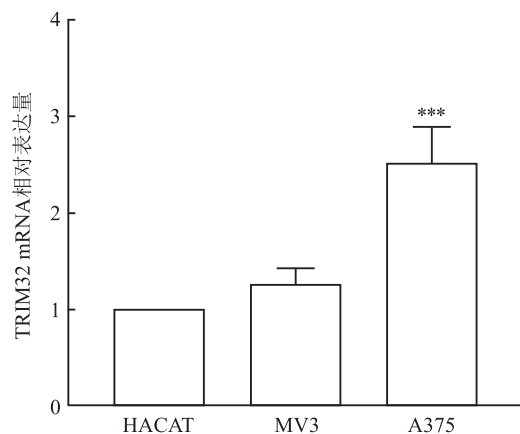


图 1 TRIM32 在黑色素瘤细胞及正常皮肤细胞中的表达 ($n=5$)
与 HACAT 组比较: *** $P < 0.001$

2.3 TRIM32 在皮肤黑色素瘤组织中的表达 细胞实验已表明 TRIM32 mRNA 在 A375 黑色素瘤细胞中显著增高, 为进一步验证 TRIM32 在皮肤黑色素瘤中的表达, 对 CMM 患者癌旁组织及癌组织病理切片进行免疫组化, 结果如图 2、表 1 所示, TRIM32 蛋白的阳性着色主要定位于细胞质, 呈淡黄色~棕黄色的细/粗颗粒。CMM 癌旁组织 TRIM32 呈弱阳性表达 (AOD 值为 0.10 ± 0.05 、% Area 值为 9.56 ± 7.76), CMM 癌组织 TRIM32 阳性表达升高 (AOD 值为 0.33 ± 0.30 、% Area 值为 26.16 ± 17.06), 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

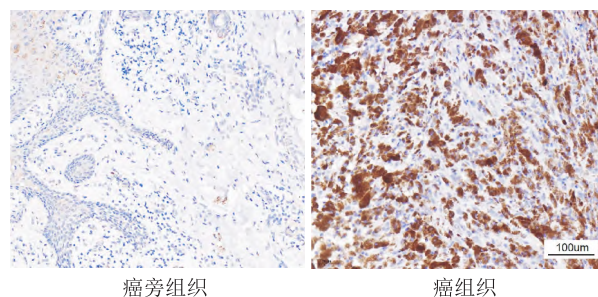


图 2 TRIM32 在 CMM 癌旁组织和癌组织
中的免疫组化染色 $\times 20$

2.4 不同临床特征皮肤黑色素瘤患者癌组织中 TRIM32 的表达差异 CMM 患者按照 T 分期 (肿瘤 Breslow 厚度) 分组, T1 期 4 例、T2 期 5 例、T3 期 6 例、T4 期 16 例; TRIM32 表达量分别为 0.13 ± 0.05 、 0.16 ± 0.04 、 0.20 ± 0.07 、 0.49 ± 0.36 , $P = 0.021$, 不

同 T 分期患者 TRIM32 表达量存在统计学差异 ($P < 0.05$)。

表 1 CMM 癌旁组织和癌组织中 TRIM32 表达情况的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	平均值	例数	标准差	t 值	P 值
AOD(癌旁组织)	0.10	31	0.05	4.532	<0.001
AOD(癌组织)	0.33	31	0.30		
% Area(癌旁组织)	9.56	31	7.76	5.742	<0.001
% Area(癌组织)	26.16	31	17.06		

CMM 患者按照 Clark 分级分组,Clark 分级 1 级 0 例,2 级 8 例,3 级 3 例,4 级 10 例,5 级 10 例。对 各 组 进 行 方 差 齐 性 检 验,得 出 $P < 0.05$,说 明 方 差 不 齐,采 用 Kruskal-Wallis 秩和检验,TRIM32 表达量中位数分别为 0.15、0.16、0.27、0.36, $P = 0.005$,不同 Clark 分级患者 TRIM32 表达量存在统计学差异 ($P < 0.05$)。

CMM 患者按照临床病理分型分组:肢端雀斑型 20 例,结节型 8 例,表浅扩散型 2 例,恶性雀斑型 1 例。不同临床病理分型患者 TRIM32 表达量存在统计学差异 (0.28 ± 0.22 、 0.33 ± 0.38 、 0.51 ± 0.34 、 1.14 , $P = 0.032$)。肢端雀斑型黑色素瘤 TRIM32 表达量最低,恶性雀斑型表达量最高。

按照性别、有无溃疡、年龄、原发肿瘤所在部位分组的 CMM 患者中 TRIM32 表达量均无明显统计学差异 ($P > 0.05$)。详见表 2。

2.5 TRIM32 表达水平与临床特征的相关性

CMM 患者癌组织中 TRIM32 蛋白表达的平均吸光度 AOD 值与 T 分期(肿瘤 Breslow 厚度)呈显著的正相关 ($r = 0.771$, $P < 0.001$),即随着肿瘤 Breslow 厚度的增加,CMM 患者癌组织中 TRIM32 蛋白的表达增加,如图 3A 所示。同样,TRIM32 蛋白表达与 Clark 分级呈显著的正相关 ($r = 0.635$, $P < 0.001$),

如图 3B 所示。年龄、性别、有无溃疡、肿瘤位置与 TRIM32 表达水平平均无关 ($P > 0.05$),临床病理分型与 TRIM32 表达水平相关 ($P < 0.05$),详见表 2。

表 2 不同临床特征皮肤黑色素瘤患者的 TRIM32 表达 (AOD 值) [$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

临床特征	例数	平均值/ 中位数	标准差/ 四分位距	t/F 值	P 值
性别					
男	16	0.32	0.26	-0.234	0.817
女	15	0.35	0.35		
有无溃疡					
有	17	0.24	0.16	-1.913	0.073
无	14	0.45	0.40		
年龄					
<60 岁	10	0.27	0.31	-0.766	0.45
≥60 岁	21	0.36	0.31		
部位					
肢端	26	0.32	0.29	-0.558	0.581
非肢端	5	0.41	0.41		
T 分期					
T1	4	0.13	0.05	3.820	0.021
T2	5	0.16	0.04		
T3	6	0.20	0.07		
T4	16	0.49	0.36		
Clark 分级					
2	8	0.15	0.11, 0.19	0.005	
3	3	0.16	0.14, 0.23		
4	10	0.27	0.22, 0.34		
5	10	0.36	0.23, 0.75		
临床病理分型					
肢端雀斑型	20	0.28	0.22	3.413	0.032
结节型	8	0.33	0.38		
表浅播散型	2	0.51	0.34		
恶性雀斑型	1	1.14			

2.6 预后分析 利用 Kaplan-Meier 生存分析 TRIM32 水平、肿瘤 Breslow 厚度、Clark 分级等单因

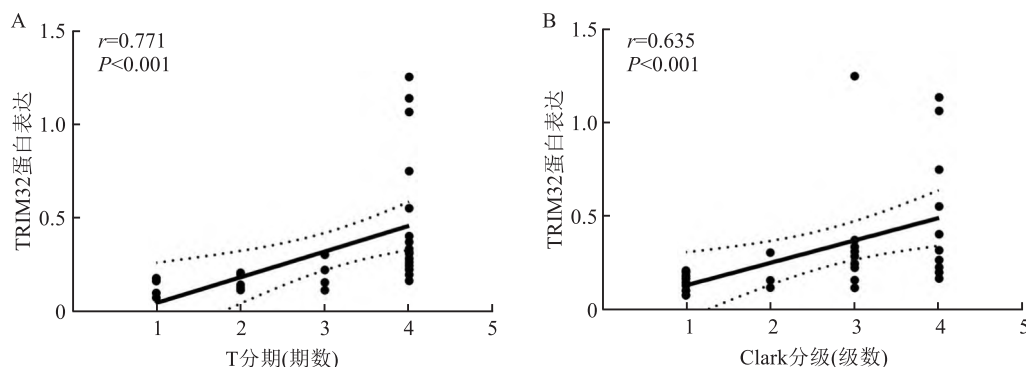


图 3 TRIM32 表达量与 T 分期和 Clark 分级的相关性

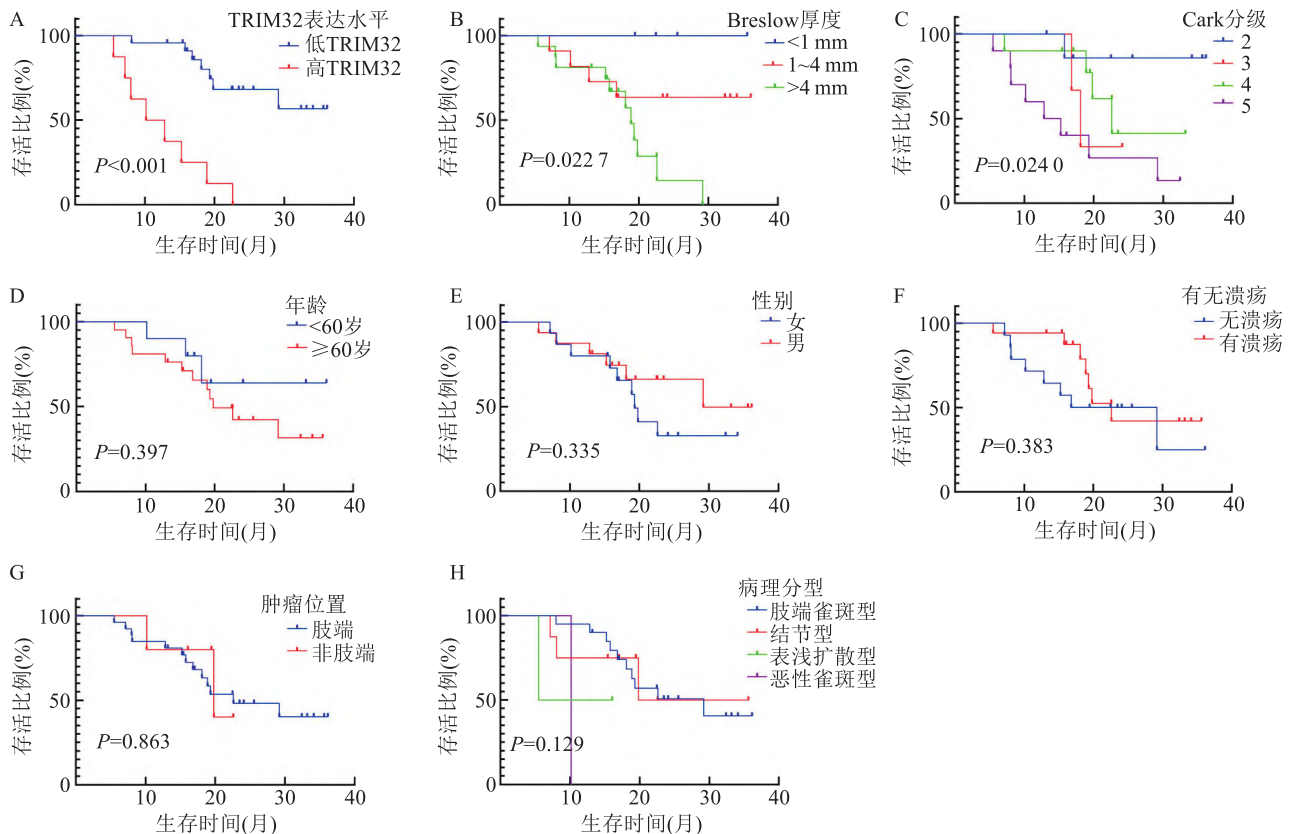


图4 各单因素与患者总体生存率的相关性

素与 CMM 患者预后关系。

将 CMM 患者以 TRIM32 蛋白表达水平的平均值 0.33 为界限,分为高表达 TRIM32 和低表达 TRIM32,分析两组的总体生存期。低表达 TRIM32 患者中位总体生存期明显高于高表达 TRIM32 患者 (36.15 月 vs 19.82 月, $\chi^2 = 4.966$, $P = 0.0258$),见图 4A。

按照肿瘤 Breslow 厚度分组, Breslow 厚度 < 1mm 和 1mm ~ 4mm 组 CMM 患者由于死亡率 < 50% 无法测出中位总体生存期, Breslow 厚度 ≥ 4 mm 的 CMM 患者中位总体生存期为 22.61 个月,不同 Breslow 厚度 CMM 患者总体生存期存在显著差异 ($\chi^2 = 0.575$, $P = 0.0227$),由图 4B 可知,随着肿瘤 Breslow 厚度的增加,总体生存期逐渐下降。将 CMM 患者按照 Clark 分级分组,2 级 CMM 患者由于死亡率 < 50% 无法测出中位总体生存期,3、4、5 级中位总体生存期分别为 18.11、22.61、12.84 个月,不同 Clark 分级 CMM 患者总体生存期存在显著差异 ($\chi^2 = 9.438$, $P = 0.0240$),由图 4C 可知,总体生存期并不完全随着肿瘤 Clark 分级的增加而逐渐下降。年龄、性别、有无溃疡、肿瘤位置、临床病理分型与中位总体生存期均无明显相关性 ($P > 0.05$),详

见图 4。

应用单因素 COX 分析筛选出风险因素为 TRIM32 表达水平、肿瘤 Breslow 厚度和 Clark 分级,详见图 5。将以上单因素输入多因素 COX 回归模型的协变量中,分析得出 TRIM32 表达水平是影响 CMM 患者生存的独立风险因素 ($P < 0.05$),见表 3。

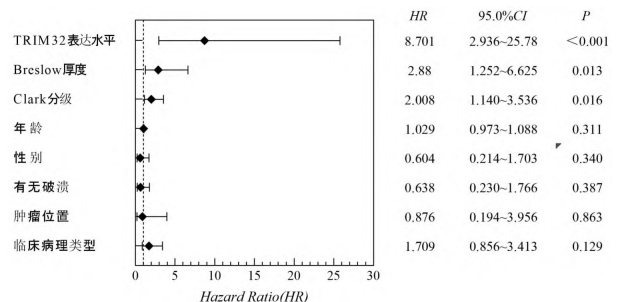


图5 CMM 患者预后相关的单因素风险比森林图

表3 CMM 患者总生存时间的多因素 COX 回归分析 ($\bar{x} \pm s$)

因素	B 值	HR 值	95% CI 值	P 值
TRIM32 表达水平	1.664	5.278	1.457 ~ 19.113	0.011
Breslow 厚度	0.380	1.462	0.340 ~ 6.279	0.610
Clark 分级	0.308	1.360	0.423 ~ 4.374	0.606

3 讨论

黑色素瘤是一种隐匿发病、转移早、早期诊断困难、预后差的恶性肿瘤。全球黑色素瘤发病率呈上升趋势,因治疗手段的扩张,死亡率较前有所下降。黑色素瘤治疗目前以手术治疗为主,辅以其他治疗(靶向治疗、免疫治疗、细胞治疗^[4]等)。虽然近年来黑色素瘤的靶向治疗和免疫治疗取得了显著的效果,但是继发性耐药和毒副作用影响了这些治疗方法的长期疗效,因此探索黑色素瘤治疗的新靶点及寻找与该病预后相关的因素,对于改善黑色素瘤患者预后、延长患者生存时间、提高患者生存率具有重要意义。

TRIM32 属于 E3 泛素连接酶家族中的一员,参与多种生物过程,包括自噬、细胞内信号转导、癌变、细胞周期调控及药物抵抗等。TRIM32 由锌指结构域、B-box 结构域、卷曲结构域以及 NHL 结构域组成。TRIM32 蛋白通过锌指结构发挥 E3 连接酶作用,介导泛素与靶蛋白的特异性结合。E3 泛素连接酶通过确定链拓扑结构将泛素组装成聚合链,这是泛素链调节多种细胞功能的基础^[5]。既往的文献已经证实 TRIM32 参与多种恶性肿瘤的发生和发展,例如在鳞状细胞癌中 TRIM32 促进 ARID1A 降解,驱动肿瘤进展^[6]。TRIM32 的高表达与肝细胞癌^[7]、胃癌^[8]、胰腺癌^[9]、肺癌^[10]的不良预后有关。

然而目前 TRIM32 在黑色素瘤中的作用尚不明确。本课题组前期使用 GEO 数据库证实了黑色素瘤中 TRIM32 存在异常表达且与患者的不良预后显著相关^[3]。本研究首先通过在细胞水平验证 TRIM32 在黑色素瘤中的表达异常,细胞实验结果证明与 HACAT 正常皮肤细胞相比,TRIM32 mRNA 表达水平在 A375 黑色素瘤细胞中明显升高($P < 0.001$),在 MV3 黑色素瘤细胞中无明显差异($P > 0.05$)。TRIM32 在 MV3 中的表达与预计结果不符,这可能与对照组 HACAT 状态有关。本研究所采用 HACAT 系永生生化人角质形成细胞,在多次传代过程中可能已发生基因突变,向肿瘤细胞演变,造成 HACAT 和 MV3 中 TRIM32 的表达量无明显差异。有研究表明 A375 与 MV3 细胞形态明显不同,A375 较 MV3 侵袭迁移能力更强,此外多项研究表明 TRIM32 与肿瘤细胞的侵袭迁移能力有关,这可能表明 A375 中 TRIM32 较 MV3 表达量高,这与本实验结果相符。本研究存在实验组黑色素瘤细胞系种类较少的局限性,未来应增加检测 TRIM32 在其他黑

色素瘤细胞系中表达情况的实验,使实验结果可信度更高。

本研究第二部分是对安徽医科大学第二附属医院病理科拥有完整病例资料的 31 名 CMM 患者进行 TRIM32 免疫组化和病例资料分析。免疫组化结果证明 TRIM32 在黑色素瘤组织中高表达($P < 0.001$),提示 TRIM32 在 CMM 患者中存在异常表达,此结果与 TRIM32 在其他恶性肿瘤包括皮肤鳞状细胞癌中的高表达情况相符,因此 TRIM32 在 CMM 中的调控通路可能与别的肿瘤相似。相关性分析发现 TRIM32 表达随着 CMM 患者的 Breslow 厚度增加而增加,随着 Clark 分级的升高而升高,这提示 TRIM32 可能参与 CMM 浸润的过程。按照临床病理类型分组,恶性雀斑型 CMM 患者的 TRIM32 表达水平最高,肢端雀斑型 CMM 患者 TRIM32 表达量最低,而恶性雀斑型 CMM 属于高周围皮肤累积太阳损伤型黑色素瘤,肢端雀斑型 CMM 属于非日光型黑色素瘤,这提示 TRIM32 可能与黑色素瘤的发病病因有关。UVB(中波紫外线)可刺激角质形成细胞反应性分泌 TNF 从而诱导细胞凋亡,众多文献^[11,12]证实 UVB 与黑色素瘤的发生和转移相关。有文献证实鳞状细胞癌中 TRIM32 过表达,TRIM32 通过抑制 UVB 辐射激活的 TNF 促细胞凋亡反应,从而促进细胞存活,发挥致癌基因作用^[13]。本研究发现 TRIM32 高表达与 CMM 患者日光照射相关,因此有理由假设,TRIM32 通过抑制 TNF/UVB 协同诱导细胞凋亡的作用来促进黑色素细胞转化和黑色素瘤的发生。Kaplan-Meier 生存分析发现 TRIM32 表达水平、Breslow 厚度、Clark 分级与患者总体生存期显著相关。单因素 COX 分析提示 TRIM32 表达水平、Breslow 厚度、Clark 分级是 CMM 的风险因素,多因素 COX 回归模型评估得出 TRIM32 是 CMM 的独立风险因素,这提示 TRIM32 有望成为 CMM 的预后指标。多项研究^[14,15]证明,Breslow 厚度与 CMM 预后相关,然而本研究中 COX 回归模型提示 Breslow 厚度不是 CMM 的独立风险因素,这可能与样本量较少有关,此外本研究属于回顾性研究,选择偏倚及信息偏倚可能会影响研究的结果。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72 (1): 7-33.
- [2] Global Burden of Disease Cancer C, Kocarnik J M, Compton K, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer

- groups from 2010 to 2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019[J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8 (3): 420 – 44.
- [3] Xia Y, Xie J, Zhao J, et al. Screening and Identification of Key Biomarkers in Melanoma: Evidence from Bioinformatic Analyses [J]. *J Comput Biol*, 2021, 28 (3): 317 – 29.
- [4] 张启婷, 赵 华, 李文明, 等. 手术联合细胞治疗皮肤型黑色素瘤的疗效观察[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54 (6): 957 – 62.
- [5] Fiil B K, Gyrd-Hansen M. The Met1-linked ubiquitin machinery in inflammation and infection[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28 (2): 557 – 69.
- [6] Luo Q, Wu X, Nan Y, et al. TRIM32/USP11 balances ARID1A stability and the oncogenic/tumor-suppressive status of squamous cell carcinoma[J]. *Cell Rep*, 2020, 30 (1): 98 – 111.
- [7] Dai W, Wang J, Wang Z, et al. Comprehensive analysis of the prognostic values of the TRIM family in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 767644.
- [8] Wang C, Xu J, Fu H, et al. TRIM32 promotes cell proliferation and invasion by activating β -catenin signalling in gastric cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22 (10): 5020 – 8.
- [9] Zhang B, Yan Y Y, Gu Y Q, et al. Inhibition of TRIM32 by ibr-7 treatment sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine *via* mTOR/p70S6K pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26 (2): 515 – 26.
- [10] Yin H, Li Z, Chen J, et al. Expression and the potential functions of TRIM32 in lung cancer tumorigenesis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (4): 5232 – 43.
- [11] Sample A, He Y Y. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma [J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2018, 34 (1): 13 – 24.
- [12] Gaffal E, Landsberg J, Bald T, et al. Neonatal UVB exposure accelerates melanoma growth and enhances distant metastases in Hgf-Cdk4(R24C) C57BL/6 mice [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129 (2): 285 – 94.
- [13] Horn E J, Albor A, Liu Y, et al. RING protein Trim32 associated with skin carcinogenesis has anti-apoptotic and E3-ubiquitin ligase properties [J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25 (2): 157 – 67.
- [14] Oh Y, Choi S, Cho M Y, et al. Male sex and Breslow thickness are important risk factors for recurrence of localized melanoma in Korean populations [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2020, 83 (4): 1071 – 9.
- [15] Eggen C A M, Durgaram V V L, van Doorn R, et al. Incidence and relative survival of melanoma in children and adolescents in the Netherlands, 1989 – 2013 [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2018, 32 (6): 956 – 61.

Expression of TRIM32 in cutaneous malignant melanoma and its correlation with prognosis

Zhao Danyang¹, Cao Dongsheng¹, Xu Jiegou², Xie Juan¹

(¹Dept of Plastic Surgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

²Dept of Immunology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objectives To investigate the expression and clinical significance of TRIM32 in Cutaneous Malignant Melanoma patients. **Methods** Real-time PCR was used to detect the expression of TRIM32 in human melanoma cell lines (A375, MV3) and human normal skin cell lines (HACAT). Clinical characteristics of 31 CMM patients were collected. The expression of TRIM32 in the CMM tissues and para-cancerous tissues was detected by immunohistochemistry (IHC). The correlation between TRIM32 expression and clinical characteristics was analyzed. Kaplan-Meier survival analysis and Cox univariate analysis model were used to analyze the prognostic factors. **Results** The expression of TRIM32 mRNA in A375 melanoma cells was significantly higher than that in HACAT normal skin cells ($P < 0.001$), while the expression in MV3 cells was comparable to that in HACAT cells. The expression of TRIM32 protein in the CMM tissues, detected by IHC, was significantly higher than that in the para-cancerous tissues ($P < 0.001$) and positively correlated with Breslow thickness ($r = 0.771, P < 0.001$) and Clark grade ($r = 0.635, P < 0.001$), but not with sex, ulcer, age and primary location of tumor ($P > 0.05$). Also, TRIM32 expression level was significantly correlated with prognosis of CMM. **Conclusion** TRIM32 is highly expressed in A375 melanoma cells and CMM tissues. TRIM32 may be helpful for the prognosis of CMM patients.

Key words TRIM32; cutaneous melanoma; immunohistochemistry; prognosis