

UBE2T对肝癌细胞增殖、克隆形成及细胞周期的影响及机制研究

吴琼, 郑志存 (江苏省海安市人民医院消化内科, 江苏海安 226600)

摘要:目的 通过检测肝癌组织中泛素结合酶E2T(ubiquitin binding enzyme E2T, UBE2T)表达,探究其对肝癌细胞增殖、克隆形成及细胞周期的影响及其潜在分子机制。方法 采用实时荧光定量PCR实验(qRT-PCR)检测50例临床肝癌组织及其癌旁正常组织中UBE2T相对表达量;通过转染靶向UBE2T基因的shRNA干扰慢病毒载体GV248-shUBE2T-1, GV248-shUBE2T-2及阴性对照GV248-NC至肝癌HepG2细胞,构建UBE2T基因稳定干扰细胞系,并验证其转染敲降效率;采用细胞增殖实验、克隆形成实验及细胞周期实验分别检测敲低UBE2T表达对肝癌细胞增殖、克隆形成及细胞周期的影响;蛋白免疫印迹实验检测PI3K/AKT信号通路关键靶基因PI3K和AKT磷酸化水平。结果 临床50例肝癌组织中UBE2T相对表达量为 2.012 ± 0.489 ,显著高于癌旁正常组织的 1.102 ± 0.533 ,差异有统计学意义($t=8.896$, $P<0.01$)。与阴性对照组(1.000 ± 0.001)相比,转染干扰慢病毒载体的shUBE2T-1组(0.201 ± 0.003)和shUBE2T-2组(0.246 ± 0.005)中UBE2T表达明显降低,差异有统计学意义($F=518.800$, $P<0.001$)。shUBE2T-1组(0.392 ± 0.028)和shUBE2T-2组(0.368 ± 0.026)细胞增殖速率明显低于对照组(0.519 ± 0.031),差异有统计学意义($F=24.477$, $P=0.001$);shUBE2T-1组(5.018 ± 0.521)和shUBE2T-2组(5.906 ± 0.485)细胞克隆形成速率明显低于对照组(9.312 ± 0.479),差异有统计学意义($F=62.819$, $P<0.001$),并将细胞周期显著阻滞在G1期。shUBE2T-1组和shUBE2T-2组细胞中PI3K磷酸化水平为 0.285 ± 0.030 和 0.267 ± 0.029 ,AKT磷酸化水平为 0.454 ± 0.037 和 0.411 ± 0.039 ,均分别低于对照组的 1.005 ± 0.026 和 1.004 ± 0.031 ,差异有统计学意义($F=659.930$, 255.517 , 均 $P<0.001$),但其本底表达保持不变。结论 肝癌中UBE2T显著高表达,其可能通过诱导PI3K, AKT的磷酸化进而参与调控PI3K-AKT信号通路来促进肝癌细胞增殖。

关键词: 肝癌; 泛素结合酶E2T; PI3K-AKT信号通路

中图分类号: R735.7; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2022)02-115-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.024

Effects of UBE2T on Proliferation, Clone Formation and Cell Cycle of Hepatocellular Carcinoma Cells and Its Molecular Mechanism

WU Qiong¹, CHENG Zhi-cun²

(Department of Digestive Medicine, Hai'an People's Hospital, Jiangsu Hai'an 226600, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of UBE2T on the proliferation, clonogenesis and cell cycle of hepatoma cells and its potential molecular mechanism by detecting the expression of UBE2T in hepatoma tissues. **Methods** Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the relative expression level of UBE2T in 50 cases of clinical liver cancer and adjacent normal tissues. Lentiviral vector GV248-shUBE2T-1, GV248-shUBE2T-2 and negative control GV248-NC were transfected into HepG2 cells to construct UBE2T gene stable interference cell lines, and the knockdown efficiency of the transfection was verified. Cell proliferation assay, clone formation assay and cell cycle assay were used to detect the effect of knockdown UBE2T expression on proliferation, clone formation and cell cycle of hepatoma cells. Phosphorylation levels of PI3K and Akt, key target genes of the PI3K/Akt signaling pathway, were detected by Western blot assay. **Results** The relative expression level of UBE2T in 50 cases of liver cancer was 2.012 ± 0.489 , significantly higher than that in adjacent normal tissues (1.102 ± 0.533), the difference was statistically significant ($t=8.896$, $P<0.01$). Compared with the negative control group (1.000 ± 0.001), the expression of UBE2T in shUBE2T-1 group (0.201 ± 0.003) and shUBE2T-2 group (0.246 ± 0.005) was significantly decreased, the difference was statistically significant ($F=518.800$, $P<0.001$) after transfection with interfered lentiviral vector. The cell proliferation rate in shUBE2T-1 group (0.392 ± 0.028) and shUBE2T-2 group (0.368 ± 0.026) was significantly lower than that in control group (0.519 ± 0.031), the difference was statistically significant ($F=24.477$, $P=0.001$).

基金项目: 江苏省卫生计生委医学科研课题(H2019087)。

作者简介: 吴琼(1984-),女,主治医师,研究方向:肝癌靶向治疗基础研究, E-mail: tcl59986205@126.com。

通讯作者: 郑志存(1963-),男,主任医师,研究方向:肝癌靶向治疗。

The cell clone formation rate in shUBE2T-1 group (5.018 ± 0.521) and shUBE2T-2 group (5.906 ± 0.485) was significantly lower than that in control group (9.312 ± 0.479), the difference was statistically significant ($F=62.819$, $P<0.001$), and the cell cycle was significantly arrested in G1 phase. The phosphorylation level of PI3K in shUBE2T-1 group and shUBE2T-2 group was 0.285 ± 0.030 and 0.267 ± 0.029 , and the phosphorylation level of Akt was 0.454 ± 0.037 and 0.411 ± 0.039 . All of them were lower than those in the control group (1.005 ± 0.026 and 1.004 ± 0.031), the difference was statistically significant ($F=659.930$, 255.517 , $P<0.001$), respectively, but their background expression remained unchanged. **Conclusion** UBE2T was highly expressed in liver cancer, which may promote the proliferation of liver cancer cells by inducing the phosphorylation of PI3K and Akt and then participating in the regulation of PI3K-Akt signaling pathway.

Keywords: liver cancer; ubiquitin binding enzyme E2T; PI3K-AKT signaling pathway

肝癌是肝硬化人群中最常见的原发性肝癌和最致命的疾病,据流行病学调查显示,全世界每年约有660 000例肝癌导致死亡,其中一半的死亡发生在中国^[1-2]。肝癌的临床治疗主要包括手术、靶向治疗、肝移植和射频消融^[3],这主要取决于疾病的进展阶段。个人的耐受性和供体来源。且肝癌患者总体预后一般,仅约10%的患者可以通过手术切除治愈^[4]。越来越多的证据表明,基因的异常表达与肝癌的发生和发展有关^[5]。在这方面,靶向癌组织中表达的特定致癌分子的治疗是治疗肝癌的有效方法。因此有必要研究潜在的治疗靶点以改善肝癌患者的临床治疗结果。泛素结合酶E2T(ubiquitin binding enzyme E2T, UBE2T)是泛素蛋白酶体家族的成员,是一个有效的蛋白质修饰家族蛋白,在几乎所有细胞行为中都起着重要作用,包括DNA复制、细胞增殖、分化、凋亡和血管生成^[6]。据报道,UBE2T通过其UBC结构域与FA互补L组蛋白结合,促进了范可尼贫血(FA)核心复合物的形成并激活了FA信号通路^[7]。目前,UBE2T已被确定为多种癌症中的癌基因,例如UBE2T在结直肠癌组织中异常高表达,沉默UBE2T通过促进G1/S期细胞周期阻滞抑制结直肠癌细胞的增殖^[8];UBE2T基因表达可促进鼻咽癌5-8F细胞增殖、侵袭及转移^[9];降低UBE2T可抑制骨肉瘤和胃癌细胞的增殖和侵袭^[10]。此外,陈颖等^[11]研究发现,UBE2T高表达与卵巢癌不良组织学分级显著相关,是卵巢癌患者不良预后的独立风险因素;UBE2T通过阻断RACK1泛素化抑制Wnt/ β -catenin信号通路激活和胃癌进展^[12];UBE2T可调控肝细胞癌干细胞性及耐药^[13],证实了UBE2T的原癌基因属性。因此,本研究拟探究UBE2T在肝癌中的功能以及潜在的分子机制,以期为临床肝癌的诊治提供更多参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2020年1月~10月在江苏省海安市人民医院就诊并接受手术切除治疗的50例肝癌患者肝癌组织及癌旁正常组织,所有组织均于术中获取经病理确诊后制成组织标本低温保存备用,所有患者术前均未接受任何相关治疗。肝癌细

胞HepG2购于美国ATCC细胞库,用RPMI-1640培养液培养,加入10ml/dl胎牛血清,100 μ g/ml链霉素和100 IU/ml青霉素,细胞培养皿放于含5% CO₂和95%湿度的37 $^{\circ}$ C培养箱中孵育培养。

1.2 试剂和仪器 胎牛血清FBS, RPMI-1640培养液、胰蛋白酶购自美国Thermo Fisher; Trizol试剂、脂质体2000购自美国Invitrogen; 逆转录试剂及荧光定量PCR试剂购自翊圣(上海)有限公司; 靶向UBE2T基因的shRNA干扰慢病毒载体GV248-shUBE2T-1, GV248-shUBE2T-2及阴性对照GV248-NC购自上海吉凯基因化学技术有限公司; 细胞增殖实验反应MTS购于Abcam公司; 细胞周期实验DNase-free RNase A购于美国Sigma; propidium iodide购于罗氏公司; BCA蛋白浓度检测试剂盒购自上海碧云天; 兔抗人AKT, p-AKT, PI3K, p-PI3K多克隆抗体、抗 β -Actin抗体及HRP偶联二抗购自英国Abcam。

1.3 研究方法

1.3.1 慢病毒感染: 人肝癌细胞系HepG2经胰酶消化后以 5×10^4 浓度接种于6孔板,加入GV248-shUBE2T-1, GV248-shUBE2T-2及阴性对照GV248-sh-NC慢病毒载体进行转染,分别设为阴性对照sh-NC组和shUBE2T-1, shUBE2T-2实验组; 培养至细胞贴壁生长,融合度达70%时弃去各组培养液,将完全培养液与病毒液按照2:1体积加入各组培养皿,培养6~8 h,加入新鲜DMEM培养液,培养、传代后收集细胞提取RNA,检测各组UBE2T基因干扰效率。

1.3.2 实时荧光定量PCR实验(qRT-PCR): 采用Trizol法提取各组细胞总DNA,通过逆转录试剂盒反转录为cDNA,并以此为模板按照cDNA 4 μ l, qPCR mix 5 μ l, primer 1 μ l的方法加入到96孔板行PCR扩增,反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s; 70 $^{\circ}$ C 30 s; 60 $^{\circ}$ C 20 s,循环40次。根据试剂盒说明书行PCR实验,以 β -Actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因相对表达量。基因序列来源于NCBI数据库,RT-PCR检测引物通过Primer 3.0软件设计,由上海生工生物工程有限公司合成。引

物序列见表1。

项目	Primer Sequence
UBE2T	F 5'-ACATCGCAACTGTGTGACC-3'
	R 5'-GCTGACTGGCCTTCCTTTTC-3'
β-Actin	F 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3'
	R 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGC-3'

1.3.3 细胞增殖实验: 将长满 10 cm 盘的细胞胰酶消化, 以每孔 20 μl 细胞液接种于 96 孔板, 每孔设 3 个生物复孔; 37℃, 5ml/dl CO₂ 培养箱孵育 6 h, 待细胞贴壁后进行 siRNA 转染; 按照培养液: MTS=20:1 比例配制 MTS 反应液, 每孔加入 100 μl MTS 反应液, 37℃ 继续培养 2 h, 在 490 nm 处检测吸光度值, 绘制细胞增殖曲线。实验重复三次取平均值。

1.3.4 克隆形成实验: 以每孔 2 000 个细胞铺于 6 孔板中培养 6 h, 待细胞贴壁进行转染, 每个样品设 3 个生物复孔, 待出现肉眼可见的克隆时吸掉上清液, PBS 洗涤 2 次, 加入甲醇:乙酸=3:1 的固定液常温固定 5 min, 加入含 0.5ml/dl 结晶紫的甲醇溶液染色固定 15 min, 吸掉上清液, 水洗, 室温风干进行扫描观察。

1.3.5 细胞周期实验: 取胰酶消化长满的细胞铺于 6 孔板, 用移液枪吹散细胞, 滴加 4℃ 预冷无水乙醇, 混匀, 4℃ 静置 24 h; 加入 500 μl PI/Triton X-100 染液 (按试剂盒说明配制), 37℃ 孵育 15 min, 用纱布过滤成团的细胞, 在流式细胞仪上进行分析。实验重复三次取平均值。

1.3.6 蛋白质免疫印迹实验: 用胰酶消化长满的细胞加入细胞裂解液, 提取细胞内总蛋白, BCA 试剂盒检测蛋白浓度; 蛋白经 SDS-PAGE 凝胶电泳, 分离后转移至 PVDF 膜上, BSA 封闭 1 h, 加入 p-AKT 和 p-PI3K 一抗, 4℃ 过夜; 次日洗膜 3 次, 加入二抗室温孵育 1 h, 洗膜 3 次, 加入显影液, 暗房显影, 量化记录蛋白表达检测水平。实验重复三次取平均值。

表2 敲低 UBE2T 对各时间点 HepG2 细胞增殖 (A 值) 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

时间	sh-NC 组①	shUBE2T-1 组②	shUBE2T-2 组③	F	P
第1天	0.099 ± 0.003	0.103 ± 0.001	0.101 ± 0.002	2.571	0.156
第2天	0.201 ± 0.012	0.189 ± 0.010	0.184 ± 0.011	1.882	0.232
第3天	0.312 ± 0.019	0.268 ± 0.017*	0.247 ± 0.016*	10.930	0.010
第4天	0.425 ± 0.025	0.325 ± 0.019*	0.306 ± 0.022*	25.022	0.001
第5天	0.519 ± 0.031	0.392 ± 0.028	0.368 ± 0.026	24.477	0.001

注: * 第三天, ① vs ② $t=3.806, P=0.027$; ① vs ③ $t=9.581, P=0.011$; 第四天, ① vs ② $t=5.533, P=0.004$; ① vs ③ $t=6.584, P=0.002$ 。

1.4 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 20.0 对实验数据进行统计分析, 每个实验重复三次取平均值。数据采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验; 肝癌组织及癌旁正常组织中 UBE2T 表达差异采用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UBE2T 在肝癌组织中的表达 见图 1。qRT-PCR 法检测 50 例肝癌组织中 UBE2T 表达水平为 2.012 ± 0.489 , 明显高于对应癌旁正常组织的 1.102 ± 0.533 , 差异有统计学意义 ($t=8.896, P < 0.05$)。

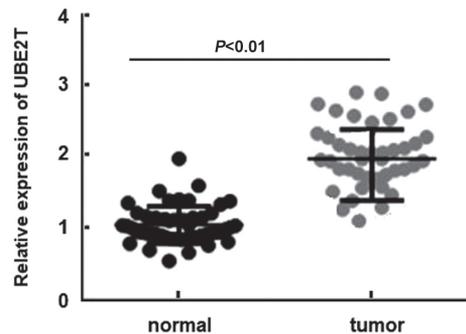


图1 肝癌组织及其癌旁正常组织中 UBE2T 表达

2.2 UBE2T 敲低效率验证 HepG2 细胞行 UBE2T shRNA 重组慢病毒感染, 建立 UBE2T 基因稳定干扰细胞系, 经 qRT-PCR 检测验证显示: 阴性对照组, shUBE2T-1 组和 shUBE2T-2 组中 UBE2T 相对表达量分别为 1.000 ± 0.001 , 0.201 ± 0.003 和 0.246 ± 0.005 , 差异有统计学意义 ($F=518.800, P < 0.001$); 组间比较, shUBE2T-1 组和 shUBE2T-2 组 UBE2T 相对表达量均显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($t=437.630, 256.121$, 均 $P < 0.001$), 表明 UBE2T 敲降效率有效、可靠。

2.3 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞增殖的影响 见表 2 和图 2。细胞增殖实验检测显示敲低 UBE2T 的第 3~5 天, 与对照组相比, shUBE2T-1 组和 shUBE2T-2 组细胞增殖速率显著减慢, 差异有统计学意义 ($F=10.930, P=0.010$; $F=25.022, P=0.001$; $F=24.477, P=0.001$)。

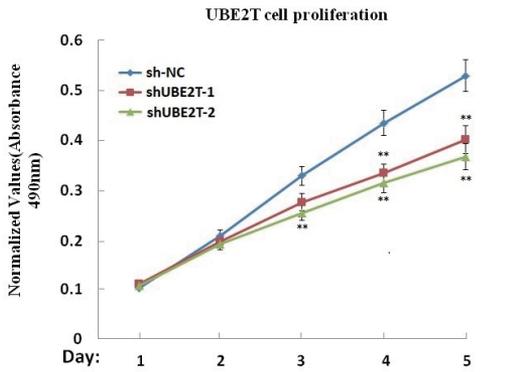
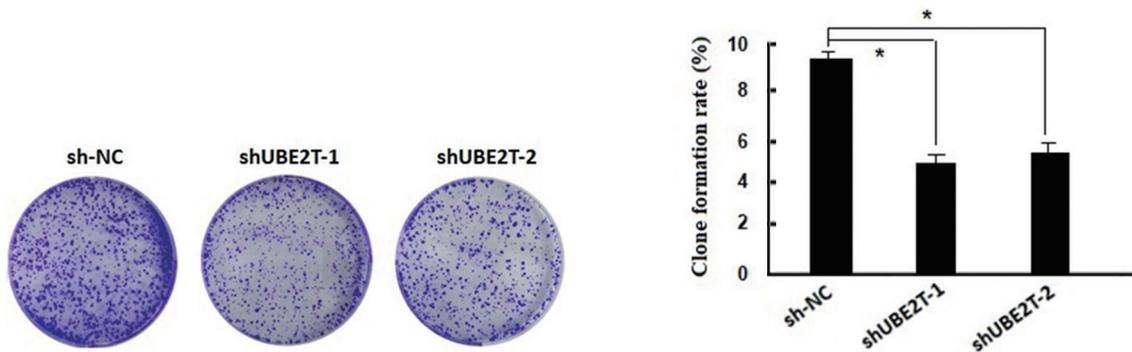


图2 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞增殖速率的影响

2.4 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞克隆形成率的影响 见图 3。克隆形成实验检测显示: shUBE2T-1 组, shUBE2T-2 组细胞克隆形成率分别为 5.018% ± 0.521%, 5.906% ± 0.485%, 明显低于 sh-NC 对照组的 9.312% ± 0.479%, 差异有统计学意义 ($F=62.819, P<0.001$)。

2.5 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞周期的影响 见图 4。细胞周期实验结果显示: 与对照组 (46.73%) 相比, shUBE2T-1 组 (58.23%) 和 shUBE2T-2 组 (65.76%) 细胞周期显著阻滞在 G1 期, 提示 UBE2T 促进肝癌细胞生长的作用。



注: 与 sh-NC 组相比, * $P<0.05$ 。

图3 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞克隆形成率的影响

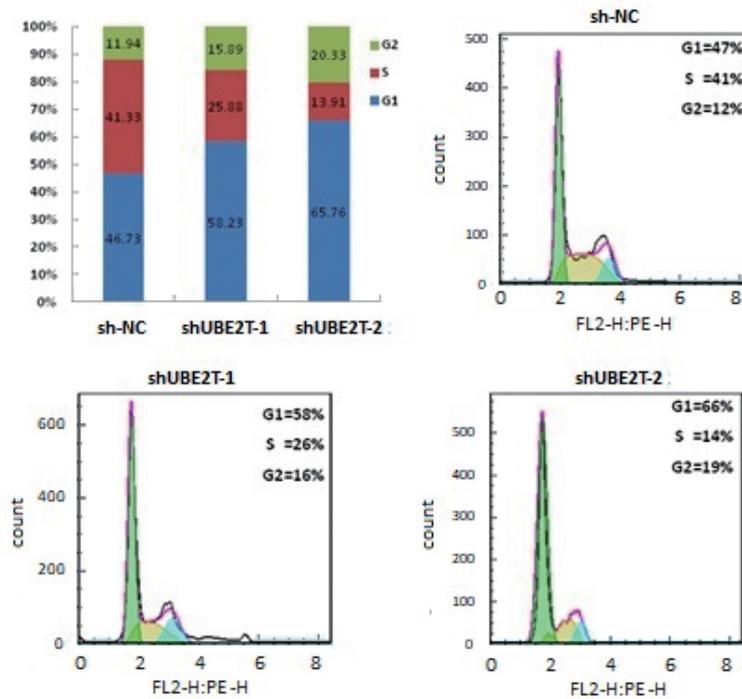


图4 敲低 UBE2T 对 HepG2 细胞周期影响

2.6 UBE2T 参与 PI3K/AKT 信号通路 为探究 UBE2T 促进肝癌细胞增殖的分子机制, 研究经检测 PI3K/AKT 信号通路关键靶基因 PI3K, AKT 表达水平显示: 与对照组相比, shUBE2T-1 组和 shUBE2T-2

组细胞中 PI3K 和 AKT 蛋白磷酸化水平显著减弱, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 但其本底水平表达不变, 见表 3。提示 UBE2T 可能通过参与 PI3K/AKT 信号通路促进肝癌细胞增殖和克隆形成。

表3 PI3K/AKT 信号通路关键靶蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$)

蛋白	Sh-NC 组 ^①	ShUBE2T-1 组 ^②	ShUBE2T-2 组 ^③	F	P
p-AKT	1.004 ± 0.031	0.454 ± 0.037 [*]	0.411 ± 0.039 [*]	255.517	<0.001
AKT	1.007 ± 0.029	0.974 ± 0.033	0.985 ± 0.027	0.956	0.436
p-PI3K	1.005 ± 0.026	0.285 ± 0.030 [*]	0.267 ± 0.029 [*]	659.930	<0.001
PI3K	1.003 ± 0.024	0.965 ± 0.027	0.979 ± 0.026	1.678	1.678

注: * ① vs ② $t_{p-AKT}=18.801, P<0.001$; ① vs ③ $t_{p-AKT}=20.271, P<0.001$; ① vs ② $t_{p-PI3K}=31.067, P<0.001$; ① vs ③ $t_{p-PI3K}=31.844, P<0.001$ 。

3 讨论

近年,随着分子生物学的研究进展,发现肿瘤的发生发展是多基因、多通路、多因素共同作用的结果,显示肿瘤细胞恶性增殖及侵袭转移是肿瘤发生的重要病理特征^[14]。故目前基于分子生物学探究肿瘤的发生发展机制,找寻具有特异敏感性的生物标志物为肿瘤的临床治疗提供了新的研究方向,也是肿瘤靶向治疗研究的热点。研究显示,真核细胞生物调节蛋白质发挥生物学功能的重要方式之一是蛋白质翻译后修饰,常见的有乙酰化、磷酸化、泛素化等^[15]。发现泛素-蛋白酶体系统在细胞增殖、凋亡、周期阻滞、DNA复制及修复等多个过程中发挥重要作用,其在肿瘤中的作用不断显现^[16]。故积极探究肿瘤发生发展分子机制,找寻特异性生物靶标,对人类肿瘤的治疗研究意义重大。

UBE2T 是泛素结合酶 E2 家族成员之一,既往相关研究显示,UBE2T 通过阻断 RACK1 泛素化可抑制 Wnt/ β -catenin 信号过度激活及胃癌进展^[17]。结直肠癌细胞系中 UBE2T 表达上调,促进了 CRC 细胞的增殖、侵袭及迁移,抑制细胞凋亡,通过 p53 蛋白泛素化调控下游相关蛋白表达促进了结直肠癌的发生发展^[18]。UBE2T 通过泛素化介导的 FOXO1 降解和 Wnt/ β -catenin 信号通路激活促进上皮-间充质转化,可促进 NSCLC 细胞增殖、迁移、侵袭和抗辐射,加速 G2/M 细胞过渡,抑制细胞凋亡^[9]。三阴性乳腺癌中 UBE2T 通过 ERK 和 AKT 信号途径影响乳腺癌细胞恶性生物学行为^[19]。证实 UBE2T 在人类多种恶性肿瘤中异常高表达,与肿瘤临床病理特征及预后关系密切,通过发挥原癌基因作用,参与调控肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡等过程,参与肿瘤的发生发展进程^[7]。而本研究前期经检索 GEPIA 数据库发现 UBE2T 在肝癌组织中异常高表达,且具有高表达预后差的临床特征,是肝癌独立预后因素,提示其在肝癌发生发展中扮演着重要角色。故本研究拟进一步探究 UBE2T 在肝癌中的作用,检测发现 50 例临床肝癌组织样本中 UBE2T 高表达,与数据库检索结果一致。通过转染敲低 UBE2T 表达,基于体外细胞实验证实敲低 UBE2T 表达明显抑制了肝癌细胞的增殖和克隆

形成速率,使细胞周期显著阻滞在 G1 期,证明了 UBE2T 在肝癌发生发展中的致癌因子属性。

PI3K / AKT 信号通路是细胞内重要的通路之一,是控制众多肿瘤发生发展的经典细胞生物学途径^[20]。PI3K 是一种细胞内蛋白激酶,通过被激活(即磷酸化)在细胞增殖和分化、凋亡、葡萄糖转运和肿瘤发展中发挥作用^[21]。PI3K 作为重要的细胞信号转导因子可被细胞外多种信号刺激激活、催化 PIP2 产生 PIP3,结合活化 PI3K 下游多种信号蛋白,从而调控细胞多种过程^[22]。活化的 AKT(即磷酸化 AKT)具有多种生物活性,可以催化一系列蛋白质的磷酸化,促进肿瘤细胞的增殖,抑制细胞凋亡,促进侵袭和转移,调节内皮细胞的生长和血管生成,并增加对放射线的敏感性^[20]。证实 PI3K/AKT 信号传导在肝癌的生长和增殖以及黏附分子的表达中起着重要作用^[23];而抑制 PI3K / AKT 信号通路能够抑制癌细胞的增殖,促进细胞凋亡,现已被认为是肿瘤靶向治疗的新靶标。目前 UBE2T 发挥作用的相关研究证实,UBE2T 可通过参与调控 PI3K/AKT 信号通路促进肾癌细胞的增殖^[24];PTEN 通过调控 PI3K/Akt 信号通路对食管癌细胞的增殖、侵袭起到抑制作用^[25];UBE2T 通过 ERK 和 AKT 信号途径影响乳腺癌细胞恶性生物学行为^[19];miR-1305 通过靶向 UBE2T 可抑制 AKT 信号通路激活,抑制肿瘤干细胞的干性和肿瘤发生^[26]。推测 UBE2T 是 PI3K/Akt 信号调控网络的一员。那么在肝癌中 UBE2T 是否也通过调控 PI3K / AKT 信号通路发挥作用。为验证该猜想,研究进一步探究发现在敲低 UBE2T 表达的肝癌细胞中,PI3K/AKT 信号通路的关键靶基因 PI3K 和 AKT 磷酸化水平显著降低,但本底表达水平不变,验证了 UBE2T 可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路从而抑制肝癌细胞的增殖。相比于既往研究而言,本研究证实 UBE2T 在肝癌中发挥作用与 PI3K / AKT 信号通路的激活调控关系密切,探究了 UBE2T 发挥作用的潜在作用机制,是本研究的一个创新点。然而本研究对于 UBE2T 的功能研究有限,后期可通过设计体内实验进一步补充阐明,另鉴于细胞分子作用机制多样且复杂,UBE2T 调控 PI3K/Akt 信号通路参与肝癌发生及进

展的深入具体作用机制还需继续探究, 以期为肝癌的临床诊治及攻克提供更可靠的新的参考靶标。

综上所述, UBE2T 在肝癌中高表达, 可能通过激活 PI3K/AKT 信号通路从而促进肝癌细胞增殖。

参考文献:

- [1] CHIDAMBARANATHAN-REGHUPATY S, FISHER P B, SARKAR D. Hepatocellular carcinoma (HCC): Epidemiology, etiology and molecular classification [J]. *Advances in Cancer Research*, 2021, 149: 1-61.
- [2] JIANG Hanyu, CHEN Jie, XIA Chunchao, et al. Noninvasive imaging of hepatocellular carcinoma: From diagnosis to prognosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(22):2348-2362.
- [3] PARK J, PARK J W, KANG M K. Current status of stereotactic body radiotherapy for the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Yeungnam University Journal of Medicine*, 2019, 36(3): 192-200.
- [4] 隆绍平, 邓世群, 赵世元. PTPN12 蛋白表达下调与原发性肝细胞癌患者复发和预后关系研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(1):86-90.
LONG Shaoping, DENG Shiqun, ZHAO Shiyuan. Association between downregulation of PTPN12 protein and recurrence and prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(1):86-90.
- [5] 张鑫浩, 张涛元, 李俏, 等. 基于 GEO 芯片数据的肝癌关键生物标志物的筛选与鉴定及生物信息学分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(4):26-31.
ZHANG Xinhao, ZHANG Taoyuan, LI Qiao, et al. Screening, identification and bioinformatics analysis of key biomarkers for hepatocellular carcinoma based on GEO chip data [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4):26-31.
- [6] 杨豪帅, 赖慧娜, 饶怡茹, 等. 基于生物信息学途径评估 UBE2 家族及 UBE2T 基因在肺腺癌中的表达及临床意义 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2020, 41(3):445-451.
YANG Haoshuai, LAI Huina, RAO Yiru, et al. Expressions and clinical implication of UBE2 family and UBE2T gene in lung adenocarcinoma based on bioinformatics[J]. *Journal of Sun Yat-sen University(Medical Sciences)*, 2020, 41(3):445-451.
- [7] 赵军, 刘国龙, 马刚, 等. 蛋白泛素化修饰异常与骨肉瘤研究进展 [J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(21):1337-1348.
ZHAO Jun, LIU Guolong, MA Gang, et al. Recent progress in the investigation of ubiquitination aberrance in osteosarcoma[J]. *Chinese Journal of Orthopaedics*, 2018, 38(21):1337-1348.
- [8] 潘烽平, 徐言, 徐龙生, 等. 泛素结合酶 UBE2T 在结直肠癌中的表达及其生物学作用 [J]. *中华全科医学*, 2019, 17(2):306-309.
PAN Fengping, XU Yan, XU Longsheng, et al. The expression pattern and biological role of ubiquitin-binding enzyme UBE2T in colorectal cancer [J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2019, 17(2):306-309.
- [9] 郑志刚, 华清泉, 陈锋. UBE2T 基因表达对鼻咽癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响 [J]. *实用癌症杂志*, 2019, 34(10):1579-1582.
ZHENG Zhigang, HUA Qingquan, CHEN Feng. Effects of UBE2T gene expression on proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *The Practical Journal of Cancer*, 2019, 34(10):1579-1582.
- [10] SHEN Lin, ZHAO Kai, LI Han, et al. Downregulation of UBE2T can enhance the radiosensitivity of osteosarcoma in vitro and in vivo [J]. *Epigenomics*, 2019, 11(11): 1283-1305.
- [11] 陈颖, 毕芳芳, 王丹丹, 等. 基于生物信息学数据库分析卵巢癌组织 UBE2C 表达及意义 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(22):1567-1572.
CHEN Ying, BI Fangfang, WANG Dandan, et al. Identification of potential prognostic value of UBE2C expression in ovarian cancer: A study based on bioinformatics database [J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2018, 25(22):1567-1572.
- [12] YU Zeyuan, JIANG Xiangyan, QIN Long, et al. A novel UBE2T inhibitor suppresses Wnt/ β -catenin signaling hyperactivation and gastric cancer progression by blocking RACK1 ubiquitination [J]. *Oncogene*, 2021, 40(5): 1027-1042.
- [13] HO P Y, LEE K W. Abstract 162: UBE2T: A molecular regulator for cancer stemness and drug resistance in hepatocellular carcinoma [J]. *American Association for Cancer Research*, 2018, 78(13 Supplement):162.
- [14] SHAHADIN M S, A B MUTALIB N S, LATIF M T, et al. Challenges and future direction of molecular research in air pollution-related lung cancers[J]. *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 2018, 118: 69-75.
- [15] OO H Z, SEILER R, BLACK P C, et al. Post-translational modifications in bladder cancer: Expanding the tumor target repertoire[J]. *Urologic Oncology*, 2020, 38(12): 858-866.
- [16] 程思源, 张苑, 陈磊磊. 泛素-蛋白酶体系统在心血管疾病中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(15): 2954-2960.
CHENG Siyuan, ZHANG Yuan, CHEN Leilei. Research progress of ubiquitin-proteasome system in cardiovascular diseases [J]. *Medical Recapitulate*, 2018, 24(15):2954-2960.
- [17] YU Zeyuan, JIANG Xiangyan, QIN Long, et al. A novel UBE2T inhibitor suppresses Wnt/ β -catenin signaling hyperactivation and gastric cancer progression by blocking RACK1 ubiquitination [J]. *Oncogene*, 2021, 40(5):1027-1042.
- [18] WU Mengqiong, LI Xianglu, HUANG Weiwei, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme E2T(UBE2T) promotes colorectal cancer progression by facilitating ubiquitination and degradation of p53[J]. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 2021, 45(2): 101493.