

# 结直肠癌组织中 USP11 和 PPP1CA 表达水平与临床病理的相关性研究

冯 芬 (佛山市第一人民医院胃肠肿瘤内科, 广东佛山 528000)

**摘要:** **目的** 探讨结直肠癌组织中泛素特异性蛋白酶 11(ubiquitin-specific protease 11, USP11)、蛋白磷酸酶 1 催化亚基  $\alpha$ (protein phosphatase 1 catalytic subunit  $\alpha$ , PPP1CA) 表达水平与临床病理的相关性。**方法** 收集佛山市第一人民医院 2015 年 1 月~2016 年 4 月 87 例结直肠癌患者外科手术切除的癌组织和癌旁组织标本及临床资料。采用实时荧光定量 PCR 检测 USP11 mRNA 和 PPP1CA mRNA 表达水平, 免疫组织化学检测 USP11 和 PPP1CA 蛋白表达水平。采用 Spearman 相关性分析结直肠癌组织中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达的相关性, 并分析二者与结直肠癌临床病理特征的关系。术后随访 5 年, 统计总生存率, KM 法绘制 USP11 和 PPP1CA 蛋白表达阳性与阴性结直肠癌患者生存曲线。采用多因素 COX 回归分析结直肠癌患者预后不良影响因素。**结果** 癌组织中 USP11 mRNA[3.49(3.45,3.52)] 和 PPP1CA mRNA 表达水平 [1.13(1.11,1.15)] 高于癌旁组织 [1.02(0.99,1.06), 0.35(0.34,0.36)], 差异均有统计学意义 ( $Z=-11.397$ ,  $-11.423$ , 均  $P<0.001$ )。结直肠癌组织中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达呈正相关 ( $r_s=0.658$ ,  $P<0.001$ )。USP11 和 PPP1CA 表达与结直肠癌 TNM 分期和淋巴结转移有关 ( $\chi^2=5.386 \sim 6.471$ , 均  $P<0.05$ ), 与性别、年龄、组织学分型和分化程度无关 ( $\chi^2=0.039 \sim 1.130$ , 均  $P>0.05$ )。中位随访 34 个月, 术后 5 年总生存率为 64.37%, USP11 和 PPP1CA 蛋白表达阳性术后 5 年总生存率为 55.17% 和 57.41%, 低于 USP11 和 PPP1CA 蛋白表达阴性组 (82.76%, 75.76%), 差异有统计学意义 (Log-rank  $\chi^2=8.900, 9.081$ , 均  $P<0.01$ )。TNM 分期 III~IV 期 (HR=1.896, 95%CI 1.359~2.749)、淋巴结转移 (HR=1.818, 95%CI 1.391~2.698)、USP11 阳性 (HR=2.404, 95%CI 1.791~3.754)、PPP1CA 阳性 (HR=2.556, 95%CI 1.868~3.852) 为结直肠癌患者预后不良独立风险因素 ( $P=0.009, 0.013, 0.019, 0.010$ )。**结论** 结直肠癌中 USP11 和 PPP1CA 高表达, 与 TNM 分期和淋巴结转移有关, 二者可能共同影响患者预后。

**关键词:** 结直肠癌; 泛素特异性蛋白酶 11; 蛋白磷酸酶 1 催化亚基  $\alpha$

中图分类号: R735.3; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 04-043-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.04.009

## Correlation between USP11 and PPP1CA Expression Levels and Clinicopathology in Colorectal Cancer Tissues

FENG Fen (Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Foshan, Guangdong Foshan 528000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the correlation between the expression levels of ubiquitin-specific protease 11 (USP11), protein phosphatase 1 catalytic subunit  $\alpha$  (PPP1CA) and clinicopathology in colorectal cancer tissues. **Methods** The specimens and clinical data of cancer tissues and adjacent tissues surgically removed from 87 patients with colorectal cancer in the First People's Hospital of Foshan from January 2015 to April 2016 were collected. The expression levels of USP11 mRNA and PPP1CA mRNA were detected by real-time fluorescence quantitative PCR, and the expression levels of USP11 and PPP1CA protein were detected by immunohistochemistry. Spearman correlation was used to analyze the correlation between the expression of USP11 mRNA and PPP1CA mRNA in colorectal cancer tissues, and to analyze the relationship between the two and the clinicopathological characteristics of colorectal cancer. After 5 years of follow-up, the overall survival rate was calculated, and the K-M method was used to draw the survival curve of USP11, PPP1CA protein expression positive and negative colorectal cancer patients. Multivariate COX regression was used to analyze the factors affecting the prognosis of patients with colorectal cancer. **Results** The expression levels of USP11 mRNA [3.49(3.45,3.52)], PPP1CA mRNA [1.13(1.11,1.15)] were higher in cancer tissues than in paracancerous tissues [1.02(0.99,1.06), 0.35(0.34,0.36)], the differences were statistically significant ( $Z=-11.397, -11.423$ , all  $P<0.001$ ). USP11 and PPP1CA expression was associated with TNM stage and lymph node metastasis in colorectal cancer ( $\chi^2=5.386 \sim 6.471$ , all  $P<0.05$ ), independent of gender, age, histological staging and degree of differentiation ( $\chi^2=0.039 \sim 1.130$ , all  $P>0.05$ ). There was a positive correlation between the expression of USP11 mRNA and PPP1CA mRNA in colorectal cancer tissues ( $r_s=0.658$ ,  $P<0.001$ ). At a median follow-up of 34 months,

基金项目: 2019 年佛山市自筹经费类科技计划项目 (1920001001013)。

作者简介: 冯芬 (1983-), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 胃肠道肿瘤, E-mail: ff198304@163.com。

the overall survival rate at 5 years after surgery was 64.37%, 55.17% and 57.41% in the USP11, PPP1CA protein expression positive group were lower than 82.76% and 75.76% in the USP11, PPP1CA protein expression negative group, the differences were statistically significant(Log-rank  $\chi^2=8.900$ ,  $9.081$ , all  $P=0.003$ ).TNM stage III ~ IV (HR=1.896, 95%CI 1.359 ~ 2.749), lymph node metastasis (HR=1.818, 95%CI 1.391 ~ 2.698), USP11 positive (HR=2.404, 95%CI 1.791 ~ 3.754), PPP1CA positive (HR=2.556, 95%CI 1.868 ~ 3.852) were independent risk factors for poor prognosis in patients with colorectal cancer ( $P=0.009$ ,  $0.013$ ,  $0.019$ ,  $0.010$ ). **Conclusion** The high expression of USP11 and PPP1CA in colorectal cancer was related to TNM staging and lymph node metastasis, and both may affect the prognosis of patients.

**Keywords:** colorectal cancer; ubiquitin-specific protease 11;protein phosphatase 1 catalytic subunit alpha

结直肠癌是全球第三大常见恶性肿瘤,发病率和死亡率分别居我国全部恶性肿瘤的第3位和第5位<sup>[1]</sup>。近几十年来随着诊断、检测、治疗策略的进步,结直肠癌患者预后明显改善,但大多患者确诊时已达中晚期,晚期患者5年生存率仅27.70%,伴远处转移病灶无法切除者5年生存率不足5%<sup>[2-3]</sup>。因此还需探索结直肠癌相关生物标志物,以进一步阐明结直肠癌机制,改善患者预后。研究表明,Ras基因突变通常与癌症发生发展有关<sup>[4]</sup>。Ras/Raf/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase,MAPK)信号通路异常激活可影响结直肠癌患者表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)靶向治疗,导致耐药性产生<sup>[5-6]</sup>。因此发现Ras/Raf/ MAPK信号通路中癌基因或抑癌基因可能是一种新的癌症治疗策略。泛素化和去泛素化是两种主要的翻译后修饰形式,能在生物过程中维持蛋白质的动态平衡<sup>[7]</sup>。研究表明,不正常的泛素化和去泛素化常会引起疾病,去泛素化酶(deubiquitinating enzymes, DUB)的降解在癌症进展中发挥重要作用<sup>[8]</sup>。泛素特异性蛋白酶(ubiquitin-specific protease, USP)是DUB大家族最常见成员,参与蛋白质去泛素化和Ras活性调控<sup>[9]</sup>。目前已有研究报道USP11在乳腺癌、卵巢癌等实体肿瘤中的作用<sup>[10-11]</sup>。蛋白磷酸酶1是一种去磷酸化反应的酶分子,在细胞分裂、凋亡、RNA剪切、糖原代谢、蛋白合成等生理调节中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。蛋白磷酸酶1催化亚基 $\alpha$ (protein phosphatase 1 catalytic subunit alpha, PPP1CA)是蛋白磷酸酶1亚型,研究报道其能激活MAPK信号通路,参与前列腺癌发展<sup>[13]</sup>。目前关于USP11, PPP1CA在结直肠癌中的作用尚不明确,本研究就观察结直肠癌中USP11, PPP1CA表达变化,探讨二者与结直肠癌的相关性及临床价值。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 选取佛山市第一人民医院2015年1月~2016年4月收治的87例接受外科手术切除的结直肠癌患者,其中男性46例,女性41例;年龄34~82( $60.25 \pm 7.48$ )岁;组织学分型:腺癌65例,黏液腺癌22例;TNM分期:I期26例,II

期41例,III期13例,IV期7例。纳入标准:①术后病理检查确诊为结直肠癌;②初次确诊,术前未接受免疫治疗、化疗、放疗者;③可接受随访者;④病理资料和随访资料完整者。排除标准:①并发其他部位肿瘤者;②严重心、肝、肾等脏器疾病者;③全身感染性疾病者;④血液系统疾病者。本研究患者及家属均知情研究,并经伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 NanoDrop 2000C超微量分光光度计,MiniAmp PCR仪(赛默飞世尔科技公司);ZEISS光学显微镜(北京仪准科技有限公司);Trizol试剂盒(北京柏莱斯特科技发展有限公司);Takara逆转录试剂盒,实时荧光定量PCR(quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)试剂盒(宝日医生物技术有限公司);USP11, PPP1CA抗体(亚诺法生技股份有限公司);辣根过氧化物酶标记的二抗(武汉艾美捷科技有限公司)。

## 1.3 方法

1.3.1 标本收集:术中切除部分癌组织及距离癌组织 $\geq 5$ cm癌旁组织,部分组织离体后15min内液氮冷冻,储存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱内,进行qRT-PCR检测;部分组织以10g/dl中性甲醛溶液固定,脱水、透明、石蜡包埋,连续切片 $4\mu\text{m}$ ,进行免疫组织化学检测。

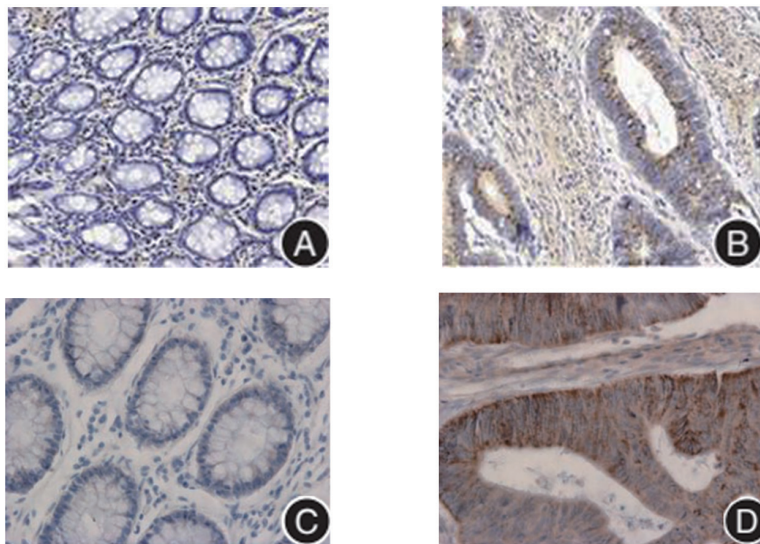
1.3.2 qRT-PCR检测: Trizol试剂盒提取组织中总RNA,超微量分光光度计验证RNA浓度和纯度,Takara逆转录试剂盒合成cDNA,qRT-PCR试剂盒进行qRT-PCR检测。USP11上游引物:5'-UUAUCUCAUCUUGAAAGAGUG-3',下游引物:5'-UGUUGUUGUUGAUGACAUGCA-3';PPP1CA上游引物:5'-TATTTGAGTATGGCGGTTTCC-3',下游引物:5'-CCACAGTTTGATGTTGTAGCG-3'。反应体系:2 $\mu\text{l}$  cDNA,1 $\mu\text{l}$ 引物,10 $\mu\text{l}$  SYBR Green Master Mix,6 $\mu\text{l}$  ddH<sub>2</sub>O;反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性10min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性10s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30s,循环35次。内参GAPDH上游引物:5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGG-3',下游引物:5'-CTGGAAGATGGTGATGGGATT-3'。2 $^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算组织中USP11, PPP1CA相对表达量。

1.3.3 免疫组织化学和HE染色:切片常规脱蜡、复水、HE染色、脱水,免疫组织化学染色时将载

玻片置于 65℃ 环境下孵育 45min 后脱蜡, 通过枸橼酸盐缓冲液和 3g/dl  $H_2O_2$  阻断内源性过氧化物酶以检索抗原, 非特异性抗原阻断后, 载玻片与 USP11, PPP1CA 抗体在 4℃ 环境下孵育过夜。次日将载玻片与辣根过氧化物酶标记的二抗在室温下孵育 1h。二氨基联苯胺显色试剂盒显色, 光学显微镜观察显色程度, 苏木精反染载玻片, 根据染色强度和阳性细胞数计算免疫组织化学评分。染色强度: 棕褐色、棕黄色、淡黄色、无色各计 3, 2, 1, 0 分; 阳性细胞数: 每张切片随机选取 5 个高倍视野, 计算阳性细胞数占总细胞数比例,  $\geq 75\%$ , 50% ~ 74%, 25% ~ 49%, 1% ~ 24% 各计 6, 4, 2, 1 分; 免疫组织化学评分 = 染色强度  $\times$  阳性细胞率, 总分  $\geq 2$  分表示阳性。

1.3.4 随访: 患者出院后通过门诊或电话方式随访 5 年, 随访至 2021 年 4 月, 统计术后 5 年总生存率 (overall survival, OS)。

1.4 统计学分析 采用 SPSS26.0 统计学软件处理数据, 计数资料以率 (%) 表示, 采用  $\chi^2$  检验; 满足正态性分布及方差齐性的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用  $t$  检验; 偏态分布计量资料以中位数 (四分位间) [ $M(P_{25}, P_{75})$ ] 表示, 两组间比较采用  $Z$  检验; 相关性采用 Spearman 相关性分析; K-M 法绘制生存曲线, 组间生存率采用 Log-rank 检验; 采用多因素 COX 回归分析结直肠癌患者预后不良影响因素;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。



注: A 为 USP11 在结直肠癌组织中表达; B 为 USP11 在癌旁组织中表达; C 为 PPP1CA 在结直肠癌组织中表达; D 为 PPP1CA 在癌旁组织中表达。

图 2 结直肠癌组织与癌旁组织中 USP11, PPP1CA 蛋白表达

2.3 结直肠癌组织中 USP11, PPP1CA 表达与临床病理特征的关系 见表 1。结直肠癌组织中 USP11, PPP1CA 表达 TNM 分期和淋巴结转移有

## 2 结果

2.1 结直肠癌组织与癌旁组织中 USP11 mRNA, PPP1CA mRNA 表达水平比较 癌组织中 USP11 mRNA [3.49(3.45, 3.52)], PPP1CA mRNA [1.13(1.11, 1.15)] 表达水平高于癌旁组织中 [1.02(0.99, 1.06), 0.35(0.34, 0.36)], 差异均有统计学意义 ( $Z = -11.397, -11.423$ , 均  $P < 0.001$ )。

2.2 结直肠癌组织中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达的相关性 见图 1。Spearman 相关性分析显示, 结直肠癌组织中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达呈正相关 ( $r_s = 0.658, P < 0.001$ )。

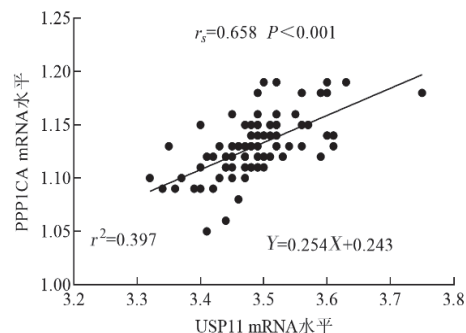


图 1 结直肠癌组织中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达的相关性

2.2 结直肠癌组织与癌旁组织中 USP11, PPP1CA 蛋白表达阳性率比较 见图 2。结直肠癌组织中 USP11, PPP1CA 蛋白表达阳性率分别为 66.67% (58/87), 62.07% (54/87), 明显高于癌旁组织中蛋白表达阳性率 20.69% (18/87), 25.29% (22/87), 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 37.379, 23.923$ , 均  $P < 0.001$ )。

关 (均  $P < 0.05$ ), 与性别、年龄、组织学分型、分化程度无关 (均  $P > 0.05$ )。



表1 结直肠癌组织中 USP11, PPP1CA 表达与临床病理特征的关系 [n(%)]

| 项 目    | n          | USP11 |           |          |       | PPP1CA    |           |          |       |
|--------|------------|-------|-----------|----------|-------|-----------|-----------|----------|-------|
|        |            | 阳性    | 阴性        | $\chi^2$ | P     | 阳性        | 阴性        | $\chi^2$ | P     |
| 性别     | 男          | 46    | 33(71.74) | 1.130    | 0.288 | 29(63.04) | 17(36.96) | 0.039    | 0.843 |
|        | 女          | 41    | 25(60.98) |          |       | 25(60.98) | 16(39.02) |          |       |
| 年龄(岁)  | ≥ 65       | 52    | 36(69.23) | 0.382    | 0.536 | 34(65.38) | 18(34.62) | 0.604    | 0.437 |
|        | < 65       | 35    | 22(62.86) |          |       | 20(57.14) | 15(42.86) |          |       |
| 组织学分型  | 腺癌         | 65    | 44(67.69) | 0.122    | 0.727 | 41(63.08) | 24(36.92) | 0.111    | 0.739 |
|        | 黏液腺癌       | 22    | 14(63.64) |          |       | 13(59.09) | 9(40.91)  |          |       |
| 分化程度   | 低分化        | 11    | 8(72.73)  | 0.208    | 0.648 | 8(72.73)  | 3(27.27)  | 0.608    | 0.436 |
|        | 中高分化       | 76    | 50(65.79) |          |       | 46(60.53) | 30(39.47) |          |       |
| TNM 分期 | I ~ II 期   | 67    | 40(59.70) | 6.363    | 0.012 | 37(55.22) | 30(44.78) | 5.800    | 0.016 |
|        | III ~ IV 期 | 20    | 18(90.00) |          |       | 17(85.00) | 3(15.00)  |          |       |
| 淋巴结转移  | 有          | 16    | 15(93.75) | 6.471    | 0.011 | 14(87.50) | 2(12.50)  | 5.386    | 0.020 |
|        | 无          | 71    | 43(60.56) |          |       | 40(56.34) | 31(43.66) |          |       |

2.4 USP11, PPP1CA 表达与结直肠癌患者总生存率的关系 见图3。随访4~60个月,中位随访34个月,术后5年总生存率为64.37%(56/87)。K-M 曲线显示,USP11, PPP1CA 蛋白表达阳性

组术后5年总生存率为55.17%(32/58),57.41%(31/54),低于USP11, PPP1CA 蛋白表达阴性组82.76%(24/29),75.76%(25/33),差异有统计学意义(Log-rank  $\chi^2=8.900, 9.081$ , 均  $P=0.003$ )。

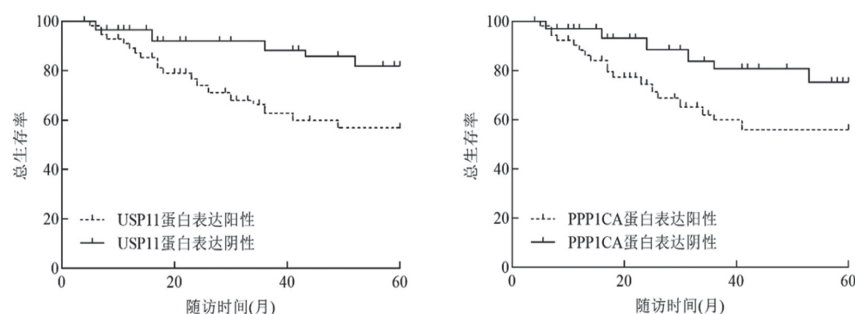


图3 USP11, PPP1CA 蛋白表达阳性与阴性结直肠癌患者生存曲线

2.5 结直肠癌患者预后不良影响因素的 COX 回归分析 以性别、年龄、组织学分型、分化程度、TNM 分期、淋巴结转移、USP11, PPP1CA 为自变量,随访时间为时间变量,预后为因变量,赋值见表2。多因素 COX 回归分析显示, TNM 分期 III ~ IV 期、淋巴结转移、USP11 阳性及 PPP1CA 阳性为结直肠癌患者预后不良独立风险因素 ( $P < 0.05$ ), 见表3。

表2 变量赋值

| 变 量    | 赋值                         |
|--------|----------------------------|
| 自变量    |                            |
| 性别     | 男性“1”; 女性“0”               |
| 年龄     | ≥ 65 岁“1”; < 65 岁“0”       |
| 组织学分型  | 腺癌“1”; 黏液腺癌“0”             |
| 分化程度   | 低分化“1”; 中高分化“0”            |
| TNM 分期 | III ~ IV 期“1”; I ~ II 期“0” |
| 淋巴结转移  | 有“1”; 无“0”                 |
| USP11  | 阳性“1”; 阴性“0”               |
| PPP1CA | 阳性“1”; 阴性“0”               |
| 因变量    |                            |
| 预后     | 死亡“1” 存活“0”                |

### 3 讨论

结直肠癌是胃肠道常见恶性肿瘤, 尽管近年来手术和放化疗取得了较大进展, 但结直肠癌患者总生存率仍然较低<sup>[4]</sup>。结直肠癌的发展是一个复杂的过程, 可能起源于结肠上皮原癌基因突变、抑癌基因失活、微卫星不稳定、错配修复基因突变、凋亡机制障碍、基因过度表达、信号转导调控紊乱、浸润转移相关分子改变、基因组表观遗传学修饰改变、环境等多因素的共同作用, 涉及多个分子间的作用, 研究相关分子改变可能为结直肠癌诊治提供方向。

泛素-蛋白酶途径是常见的多步骤反应的蛋白翻译后修饰过程, 几乎参与调控所有生命过程, DUB 是其关键组分之一, 可进行泛素前体的加工, 在泛素化时可编辑泛素链、逆转泛素结合、回收泛素分子等, 在蛋白质泛素化过程中, DUB 能竞争性地结合到泛素结合位点并稳定其目标蛋白, 在癌症过程发挥重要调控作用<sup>[8]</sup>。USP 为 DUB 主要成员, USP11 为 USP 家庭成员之一, 具有调控细胞周期、细胞凋亡、蛋白质合成降解、DNA 修复、

参与基因表达等生物学功能,已被证实与多种实体肿瘤发生和预后相关<sup>[15-16]</sup>。如 GARCIA 等<sup>[15]</sup> 研究报道,乳腺癌中 USP11 表达上调,USP11 能增强转化生长因子  $\beta$  受体 II 诱导的乳腺上皮细胞上皮间充质转化和自我更新,促进乳腺癌细胞转移、迁移。ZHANG 等<sup>[16]</sup> 研究报道,肝癌组织中 USP11

表达上调,USP11 能结合核因子 90 并去泛素化,稳定核因子 90 蛋白表达水平,促进肝癌细胞增殖和转移。本研究结果显示,结直肠癌组织中 USP11 mRNA 表达上调,USP11 蛋白阳性率也显著增加,提示 USP11 可能在结直肠癌发展中发挥作用。

表 3 结直肠癌患者预后不良影响因素的单因素和多因素 COX 回归分析

| 自变量    | 单因素 COX 回归 |               |       | 多因素 COX 回归 |               |       |
|--------|------------|---------------|-------|------------|---------------|-------|
|        | HR         | 95%CI         | P     | HR         | 95%CI         | P     |
| 性别     | 1.068      | 1.005 ~ 1.593 | 0.848 | -          | -             | -     |
| 年龄     | 1.045      | 1.004 ~ 1.407 | 0.896 | 1.436      | 1.139 ~ 2.492 | 0.066 |
| 组织学分型  | 1.781      | 1.328 ~ 2.416 | 0.083 | -          | -             | -     |
| 分化程度   | 1.648      | 1.262 ~ 2.149 | 0.132 | -          | -             | -     |
| TNM 分期 | 2.611      | 1.963 ~ 4.003 | 0.005 | 1.896      | 1.359 ~ 2.749 | 0.009 |
| 淋巴结转移  | 2.370      | 1.834 ~ 3.551 | 0.011 | 1.818      | 1.391 ~ 2.698 | 0.013 |
| USP11  | 2.347      | 1.768 ~ 3.515 | 0.005 | 2.404      | 1.791 ~ 3.754 | 0.019 |
| PPP1CA | 2.424      | 1.838 ~ 3.748 | 0.011 | 2.556      | 1.868 ~ 3.852 | 0.010 |

众所周知,癌细胞能通过促进增殖和抑制凋亡而无限增殖,导致淋巴结或其他部位转移,从而促进癌细胞的发展,导致预后不良。本研究结果显示,USP11 表达水平与结直肠癌患者 TNM 分期和淋巴结转移有关,进一步说明 USP11 参与结直肠癌发展,但还需试验验证其对结直肠癌细胞的侵袭、迁移作用。同时结果也显示,USP11 表达阳性术后 5 年生存率明显降低,相比 USP11 表达阴性组,术后 5 年预后不良风险增加 2.404 倍,说明 USP11 可能成为预测结直肠癌的一个新的生物标志物和一个新的治疗靶点。USP11 已被证实能通过稳定 p21, BIP, 转录辅助因子退变样蛋白 -4、磷酸酶和张力蛋白同系物抑制肿瘤发生发展<sup>[17-19]</sup>,也可通过稳定 Snail, 真核起始因子 4B, 细胞抑制因子凋亡蛋白 2 促进肿瘤发生发展<sup>[11,20]</sup>。这些发现表明 USP11 在肿瘤中具有双向作用,凸显了 USP11 在肿瘤恶性进展中的特异性,因此关于其参与结直肠癌恶性进展的具体机制还需进一步研究。

癌细胞可利用信号级联来满足其持续生长和生存的需要,细胞信号转导是由可逆的蛋白质磷酸化机制紧密控制的,这需要蛋白质激酶和蛋白质磷酸酶的平衡作用,因此该系统的平衡与癌症发生发展密切相关<sup>[12]</sup>。蛋白磷酸酶 1 是真核细胞中最重要的蛋白磷酸酶之一,PPP1CA 是其一种亚型,能与多种调节亚基形成复合物,调节细胞信号转导、细胞周期、细胞凋亡等各种细胞活动,目前研究也证实,PPP1CA 能激活 MAPK 通路,促进肿瘤进展<sup>[12-13]</sup>。同时研究报道,肺癌组织中 PPP1CA 表达降低,且 PPP1CA 的下调与肺癌预后不良有关<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,结直肠癌组织中 PPP1CA mRNA 表达上

调,USP11 蛋白阳性率也显著增加,并与结直肠癌患者 TNM 分期和淋巴结转移有关,说明 PPP1CA 参与结直肠癌发生发展。但本研究中,PPP1CA 表达阳性是结直肠癌患者预后不良独立风险因素,与 VERDUGO-SIVIANES 等<sup>[21]</sup> 报道的 PPP1CA 的下调增加肺癌预后不良存在差异。HANG 等<sup>[22]</sup> 研究也报道,胰腺癌组织中 PPP1CA 表达上调,其高表达与胰腺癌患者存活率降低相关。提示 PPP1CA 在不同癌症中可能也发挥不同的作用,值得进一步研究。本研究结果还显示,结直肠癌中 USP11 mRNA 与 PPP1CA mRNA 表达呈正相关,提示 USP11 和 PPP1CA 可能共同参与结直肠癌发生发展。MAPK 是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者,细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) /MAPK 信号通路在细胞增殖、分化、凋亡等过程中发挥关键作用,与癌症发生发展密切相关<sup>[23]</sup>。CHEN 等<sup>[13]</sup> 研究发现,结直肠癌中 USP11 过表达能富集 MAPK 通路,并进一步证实 USP11 可通过去泛素化稳定 PPP1CA 以激活 ERK/MAPK 信号通路,促进结肠直肠癌细胞生长和转移。进一步说明 USP11 和 PPP1CA 共同参与结直肠癌恶性进展。

结直肠癌中 USP11, PPP1CA 高表达,与 TNM 分期和淋巴结转移有关,二者可能共同影响患者预后。但还需要进一步的前瞻性临床研究证实二者是诊断和治疗结直肠癌患者的新的生物标志物。

#### 参考文献:

- [1] 陈培, 邓钦木, 李丹丹. 血浆 Septin9 甲基化检测在结直肠癌中的诊断价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35 (4): 10-13.
- CHEN Pei, DENG Qinmu, LI Dandan. Diagnostic

- value of plasma septin9 methylation in screening of colorectal cancer [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4): 10-13.
- [2] 周昌明, 郭天安, 莫森, 等. 以大型单中心医院登记为基础的1.37万例结直肠癌手术患者生存报告[J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(4): 246-253.
- ZHOU Changming, GUO Tianan, MO Miao, et al. Survival report of 13.7 thousand surgical colorectal cancer patients from a large single hospital-based cancer registry [J]. *China Oncology*, 2020, 30(4): 246-253.
- [3] 中国医师协会外科医师分会, 中华医学会外科分会胃肠外科学组, 中华医学会外科分会结直肠外科学组, 等. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(V 2020)[J]. *中华结直肠疾病电子杂志*, 2021, 10(1): 2-15, I0008-I0017.
- Chinese College of Surgeons, Chinese Medical Doctor Association, Chinese Society Gastrointestinal Surgery, Chinese Society of Surgery, Chinese Medical Association, Chinese Society of Colorectal Surgery, Chinese Society of Oncology, Chinese Medical Association, et al. China guideline for diagnosis and comprehensive treatment of colorectal liver metastases (version 2020) [J]. *Chinese Journal of Colorectal Diseases (Electronic Edition)*, 2021, 10(1): 2-15, I0008-I0017.
- [4] 张明俊, 潘俊辰, 黄蓬. RAS基因与脂代谢在恶性肿瘤中的相互调控[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2021, 50(1): 17-22.
- ZHANG Mingjun, PAN Junchen, HUANG Peng. Interaction between RAS gene and lipid metabolism in cancer [J]. *Journal of Zhejiang University (Medical Sciences)*, 2021, 50(1): 17-22.
- [5] 吴佳. 西妥昔单抗在转移性结直肠癌一线治疗后的后续应用研究进展[J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(1): 64-69.
- WU Jia. The use of cetuximab in the continuum of care for patients with metastatic colorectal cancer [J]. *China Oncology*, 2020, 30(1): 64-69.
- [6] LAKATOS G, KÖHNE C H, BODOKY G. Current therapy of advanced colorectal cancer according to RAS/RAF mutational status[J]. *Cancer Metastasis Reviews*, 2020, 39(4): 1143-1157.
- [7] NING Fengling, XIN Hong, LIU Junqiu, et al. Structure and function of USP5: Insight into physiological and pathophysiological roles[J]. *Pharmacological Research*, 2020, 157: 104557.
- [8] BUFALIERI F, LOSPINOSO SEVENRINI L, CAIMANO M, et al. DUBs activating the hedgehog signaling pathway: a promising therapeutic target in cancer[J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1518.
- [9] YOUNG M J, HSU K C, LIN Te, et al. The role of ubiquitin-specific peptidases in cancer progression[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2019, 26(1): 42.
- [10] DWANE L, O'CONNOR A E, DAS S, et al. A functional genomic screen identifies the deubiquitinase USP11 as a novel transcriptional regulator of ER $\alpha$  in breast cancer[J]. *Cancer Research*, 2020, 80(22): 5076-5088.
- [11] WANG Weiwei, WANG Jing, YAN Hua, et al. Upregulation of USP11 promotes epithelial-to-mesenchymal transition by deubiquitinating Snail in ovarian cancer[J]. *Oncology Reports*, 2019, 41(3): 1739-1748.
- [12] FELGUEIRAS J, JERONIMO C, FARDILHA M. Protein phosphatase 1 in tumorigenesis: is it worth a closer look[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 2020, 1874(2): 188433.
- [13] CHEN Ming, WAN Lixin, ZHANG Jiangwen, et al. Deregulated PP1 $\alpha$  phosphatase activity towards MAPK activation is antagonized by a tumor suppressive failsafe mechanism[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 159.
- [14] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2019, 41(1): 19-28.
- ZHENG Rongshou, SUN Kexin, ZHANG Siwei, et al. Report of cancer epidemiology in China, 2015 [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2019, 41(1): 19-28.
- [15] GARCIA D, BAEK C, ESTRADA M V, et al. USP11 enhances TGF $\beta$ -Induced Epithelial-Mesenchymal plasticity and human breast cancer metastasis[J]. *Molecular Cancer Research*, 2018, 16(7): 1172-1184.
- [16] ZHANG Changmao, XIE Chengrong, WANG Xiaomin, et al. Aberrant USP11 expression regulates NF90 to promote proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. *American Journal of Cancer Research*, 2020, 10(5): 1416-1428.
- [17] DENG Tanggang, YAN Guobei, SONG Xin, et al. Deubiquitylation and stabilization of p21 by USP11 is critical for cell-cycle progression and DNA damage responses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(18): 4678-4683.
- [18] ZHU Xiaolin, ZHANG Yiping, LUO Qingyu, et al. The deubiquitinase USP11 promotes ovarian cancer chemoresistance by stabilizing BIP[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6(1): 264.
- [19] PARK M K, YAO Yixin, XIA Weiya, et al. PTEN selfregulates through USP11 via the PI3K-FOXO pathway to stabilize tumor suppression[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 636.
- [20] KAPADIA B, NANAJI N M, BHALLA K, et al. Fatty acid synthase induced S6kinase facilitates USP11-eIF4B complex formation for sustained oncogenic translation in DLBCL[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 829.
- [21] VERDUGO-SIVIANES E M, NAVAS L, MOLINA-PINELO S, et al. Coordinated downregulation of Spinophilin and the catalytic subunits of PP1, PPP1CA/B/C, contributes to a worse prognosis in lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105196-105210.
- [22] HANG Junjie, LAU S Y, YIN Ruohan, et al. The role of phosphoprotein phosphatases catalytic subunit genes in pancreatic cancer[J]. *Bioscience Reports*, 2021, 41(1): BSR20203282.
- [23] LEE S, RAUCH J, KOLCH W. Targeting MAPK signaling in cancer: mechanisms of drug resistance and sensitivity[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 1102.