

·临床研究·

泛素特异性蛋白酶44在肝细胞癌中的表达及预后价值

王随境¹, 赖杰怡¹, 张丽红¹, 李孜孜², 张新科¹, 陈杰伟¹

(1. 华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心病理科, 广东广州 510060; 2. 中山大学附属第五医院病理科, 广东珠海 519000)

摘要:【目的】探讨泛素特异性蛋白酶44(USP44)在肝细胞癌(HCC)中的表达及其临床病理学意义。【方法】运用免疫组化方法,检测USP44蛋白在161例肝细胞癌中的表达水平,统计分析其与临床病理参数之间的相关性及其预后价值。【结果】在161例HCC患者中,98例(60.9%)高表达USP44蛋白,Pearson's卡方检验结果显示USP44在HCC中的表达水平与临床分期($\chi^2=14.44, P<0.001$)、肿瘤单灶及多灶性($\chi^2=8.04, P=0.005$)显著相关;Kaplan-Meier分析结果显示,低表达组患者平均生存时间59.6个月,显著低于高表达组患者的平均生存时间185.0个月(Log-rank $\chi^2=20.77, P<0.001$);多因素Cox比例风险模型揭示USP44是HCC患者的独立预后危险因素。【结论】USP44蛋白高表达的HCC患者具有良好的生存期,检测其蛋白表达可作为筛选预后良好的肝细胞癌患者的一种手段。

关键词:泛素特异性蛋白酶USP44;肝细胞癌;免疫组化;预后

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2021)05-0746-10

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2021.0513

Expression of USP44 in Hepatocellular Carcinoma and Its Correlation with the Prognosis

WANG Sui-jing¹, LAI Jie-yi¹, ZHANG Li-hong¹, LI Zi-zi², ZHANG Xin-ke¹, CHEN Jie-wei¹

(1. State Key Laboratory of Oncology in South China//Department of Pathology, Sun Yat-Sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China; 2. Department of Pathology, the Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhuhai 519000, China)

Correspondence to: CHEN Jie-wei; E-mail: chenjie@sysucc.org.cn

Abstract:【Objective】To investigate the expression of Ubiquitin specific protease 44(USP44) and its clinical significance in hepatocellular carcinoma (HCC).【Methods】Immunohistochemistry was used to detect the expression of USP44 protein in 161 cases of hepatocellular carcinoma. The correlation between the expression of USP44 protein and clinicopathological parameters, and its prognosis value were analyzed.【Results】Immunohistochemical analysis showed USP44 displayed elevated expression in 98 HCC cases out of 161 cases. Pearson's chi-square test indicated the expression of USP44 in HCC was significantly correlated with clinical stage ($\chi^2=14.44, P<0.001$) and tumor multiplicity (Unifocal or Multifocal) ($\chi^2=8.04, P=0.005$). Kaplan-Meier analysis indicated patients with low USP44 expression correlated with poor overall survival (Log-rank $\chi^2=20.77, P<0.001$). The overall mean survival time was 59.6 months in low USP44 expression patients and 185.0 months in high USP44 expression patients. The Cox proportional hazard model analysis showed USP44 was an independent prognostic risk factor for HCC patients.【Conclusion】USP44 is an independent prognostic risk factor for HCC patients, and the expression of USP44 protein could be used to screen patients with good prognosis for HCC. Our study may provide evidence for USP44 as a potential therapeutic target for HCC patients.

Key words: ubiquitin specific protease 44; hepatocellular carcinoma; immunohistochemistry; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2021, 42(5): 746-755]

收稿日期:2021-05-18

基金项目:国家自然科学基金(81902420);广东省食管癌研究所科技计划项目(Q201903)

作者简介:王随境,技师,研究方向:肿瘤标记物, E-mail: wangsj@sysucc.org.cn; 陈杰伟,通信作者,副主任技师,研究方向:肿瘤标记物, E-mail: chenjie@sysucc.org.cn

原发性肝癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,发病率排世界第6位,是全球第3大癌症致死原因^[1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是原发性肝癌的主要类型,约占85%~90%^[2]。尽管我国过去十来年中,HCC发病率和死亡率都有所下降^[3],但早期诊断困难、术后复发、转移率高导致肝癌患者普遍预后较差^[4]。晚期HCC的5年存活率不足15%^[5]。有效的预后指标能够对患者进行分组并指导相应治疗,改善临床预后,但目前尚缺乏敏感性及特异性较好的指标对HCC患者预后作出准确预测^[6]。泛素特异性蛋白酶44(ubiquitin specific protease 44, USP44)是去泛素化酶(DUBs)中USP家族成员之一,其基本功能是去除靶蛋白的泛素链来避免靶蛋白被26S蛋白酶体降解并以此影响信号转导^[7]。USP44被认为是细胞周期进程、基因表达和DNA修复等细胞过程的重要调节因子^[8]。在先前的研究中,USP44被发现是一种肿瘤抑制因子,通过去泛素化Cdc20-Mad2复合体来调控纺锤体组装检查点蛋白,防止有丝分裂后期过早的到来;以及调节中心体分离、定位和纺锤体几何形状,防止染色体错误分离,进而抑制肿瘤发生发展^[9-11]。近年来,研究者陆续报道USP44表达水平在肺癌、胰腺癌、肾细胞癌等显著下调,表达水平的下降促进了癌细胞增殖和迁移,低表达USP44的患者预后较差^[10,12-16]。然而目前USP44在HCC患者中的预后价值未见文献报道。本研究运用免疫组织化学方法检测HCC患者组织中的USP44蛋白表达水平,并通过统计学分析判断与预后的相关性,旨在探讨USP44对HCC患者预后的价值。

1 材料与方 法

1.1 病例临床资料收集

收集2000年至2015年在中山大学肿瘤医院行肝癌切除术且经病理确诊的161例HCC石蜡标本及29例相应癌旁组织,构建组织芯片。HCC患者诊断分级参照WHO肿瘤分类标准第四版,临床分期依据美国癌症联合委员会/国际抗癌联盟TNM(tumor-node-metastasis)分期系统(2010版)。病例纳入标准:①患者术前未接受过抗癌治疗;②具有完整的临床病理信息和随访资料,所有患者均随访至2021年3月;③本研究获得中山大学肿瘤医院伦理委员会批准知情同意。

1.2 免疫组化染色

USP44蛋白的免疫组化染色应用标准Envision法。组织芯片切片4 μm,60℃烤片2h,二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,PH 9.0的EDTA高压修复2.5 min,流水冷却后,3% H₂O₂浸泡10 min消除内源性过氧化物酶,蒸馏水漂洗,一抗USP44兔抗人多克隆抗体(Abcam, ab205032,美国,稀释浓度1:150)37℃孵育50 min, PBS漂洗2 min×5次,二抗(DAKO, k5007, 丹麦)37℃孵育30 min, PBS漂洗2 min×5次, DAB显色,流水冲洗,苏木素复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

1.3 荧光免疫组化染色

采用荧光免疫组化染色试剂盒(佰诺全景生物技术有限公司,0061000050,中国)进行荧光免疫组化染色。

同1.2进行常规脱蜡,抗原修复,滴加封闭液(0018001030),室温孵育10 min,一抗USP44(Abcam, ab205032,美国,稀释浓度1:150)室温孵育30 min, PBS漂洗后,鼠兔通用型HRP标记二抗(0013001015)室温孵育10 min, PBS漂洗,滴加PPD570荧光染料染色工作液(0008100050,信号放大反应液稀释100倍),室温孵育10 min, PBS洗净, EDTA9.0微波修复后使用DAPI工作液(0012100050)复染10 min, PBS洗脱后,浸泡蒸馏水2 min,烤干,用抗淬灭剂封片,橡胶水泥封固四周,室温风柜风干,激光显微镜观察定位。

1.4 免疫组化染色评分

USP44免疫组化染色评分根据阳性肿瘤细胞的百分比和染色强度来评分:1)阳性肿瘤细胞百分比用百分数(%)表示;2)染色强度用(-、1+、2+、3+)表示:“-”为0分,“1+”为100分,“2+”为200分,“3+”为300分;3)阳性肿瘤细胞百分比与强度的乘积就是样本的分数(0~300分)。结果由两位经验丰富的病理医师进行独立评估,如果结果不一致,则由第3位高级病理医师重新阅片评分。本研究使用ROC曲线确定USP44表达水平的截断值^[17]。

1.5 统计学方法

所有数据使用SPSS 25.0软件进行统计学分析。运用ROC曲线分析得出USP44表达水平的截断值,Wilcoxon符号秩和检验分析肝细胞癌组织和相应癌旁组织的表达差异, χ^2 检验分析USP44蛋白高低表达与临床病理参数的相关性。无病生存期(DFS)定义为从肝癌切除术后到复发或死亡的时间。

间;总生存期(OS)定义为肝癌切除术后到癌症相关死亡或最后一次随访的时间。用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,采用Log-rank检验比较生存曲线,再用Cox比例风险模型进行HCC患者影响预后的多因素危险因素分析, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理资料概述

161例HCC患者包括男性138名,女性23名;年龄21~81岁,平均年龄51岁;临床分期I~II期112例,III~IV期49例;病理分级G1~G2级85例,G3~G4级76例;161例HCC患者详细临床病理资料见表1。

2.2 USP44蛋白在HCC组织及癌旁组织中的表达情况

本研究发现USP44蛋白在HCC中表达以细胞浆为主,可见核浆表达两例(2/161);免疫组化染色强度可见阴性(-)、弱阳性(+)、中等阳性(2+)和强阳性(3+;图1);通过比较肝细胞癌组织与相应癌

旁组织的USP44蛋白染色分数,发现USP44在肝癌组织中的表达低于相应癌旁组织($Z = -5.124, P < 0.001$,图3I),表明USP44在HCC中低表达,提示USP44在肿瘤发生发展中发挥潜在作用。

2.3 USP44蛋白荧光免疫组化染色情况

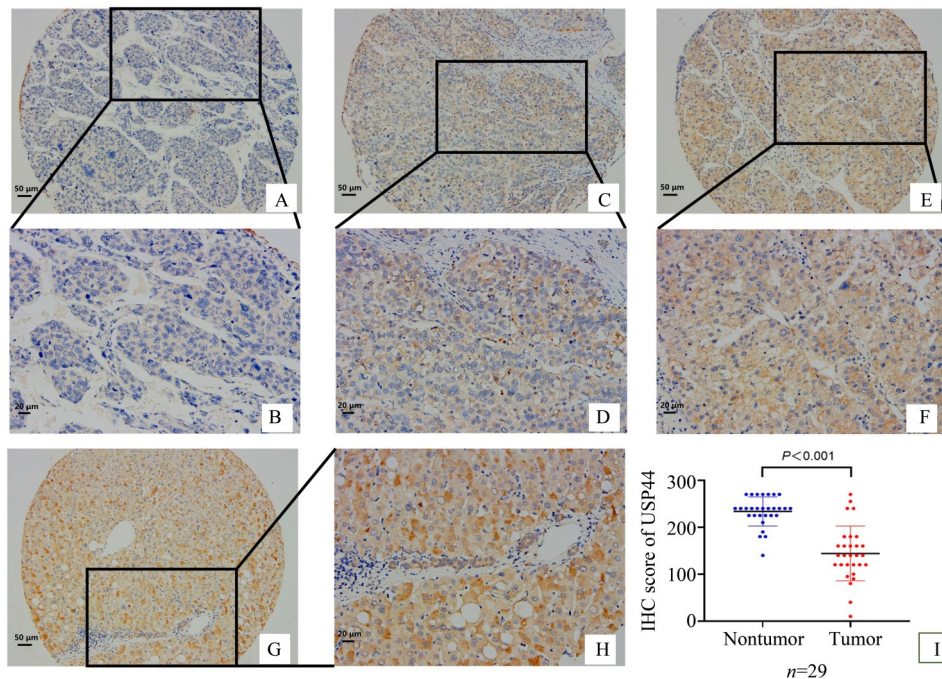
经免疫荧光组织化学染色表明,USP44在HCC组织中主要表达于细胞浆(图2)。

2.4 USP44表达水平的截断值

运用ROC曲线分析方法选择最大敏感度和特异性的点确定为USP44免疫组化评分的截断值。本研究中,对每个临床病理特征的敏感性和特异性进行了绘图(图3),最终选择生存状态作为最佳状态变量,结果显示USP44蛋白表达评分的截断值是145(图3A, $AUC = 0.630, P = 0.006$)。因此,定义 ≥ 145 分为USP44蛋白高表达组, < 145 分为低表达组,161例HCC患者石蜡组织中60.9%(98/161)存在USP44蛋白高表达。

2.5 HCC患者的USP44蛋白表达情况与临床病理参数之间的关系

经卡方检验分析发现,HCC患者的USP44蛋白表达在临床分期中,I+II期的高表达的病例明显



A-B: low expression(+, $\times 100; \times 200$); C-D: moderate expression(2+, $\times 100; \times 200$); E-F: strong expression(3+, $\times 100; \times 200$); G-H: strong expression(3+, $\times 100; \times 200$); I: Statistical analysis of USP44 expression by IHC scores in HCC tissues compared with the adjacent normal tissue as assessed by ($Z = -5.124, P < 0.001$); A-F: HCC tissues; G-H: adjacent normal tissues.

图1 USP44在肝细胞癌组织及癌旁组织中的表达情况

Fig. 1 Expression of USP44 protein in hepatocellular carcinoma and adjacent normal tissues

表1 USP44蛋白表达与肝细胞癌患者临床病理参数相关性分析

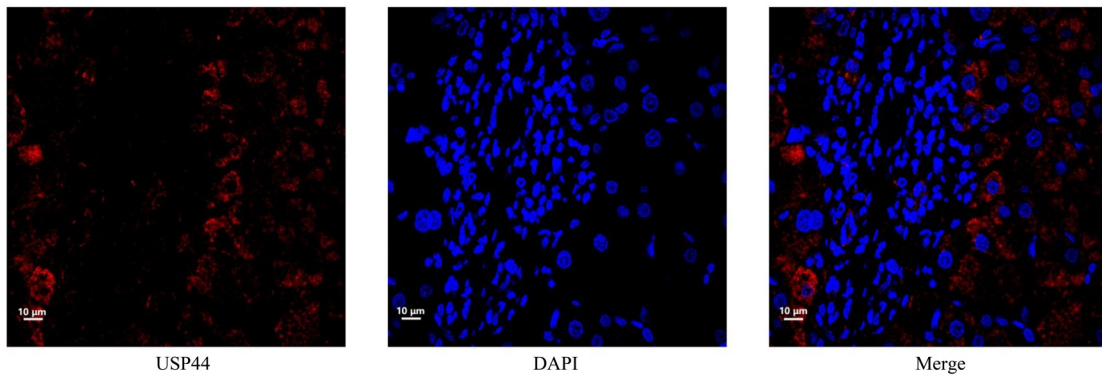
Table 1 Correlation between USP44 protein expression and clinicopathological parameters in 161 patients with hepatocellular carcinoma [n (%)]

Variable	USP44 protein			P ¹⁾
	All cases	Low expression	High expression	
Age/years				0.187
≤51 ²⁾	82	28 (34.1)	54 (65.9)	
>51	79	35 (44.3)	44 (55.7)	
Sex				0.166
Male	138	51 (37.0)	87 (63.0)	
Female	23	12 (52.2)	11 (47.8)	
HBsAg				0.444
Negative	11	6 (54.5)	5 (45.5)	
Positive	150	57 (38.0)	93 (62.0)	
Cirrhosis				0.268
No	93	33 (35.5)	60 (64.5)	
Yes	68	30 (44.1)	38 (55.9)	
Necrosis				0.083
No	75	24 (32.0)	51 (68.0)	
Yes	86	39 (45.3)	47 (54.7)	
Clinical stage				<0.001
I - II	112	33 (29.5)	79 (70.5)	
III - IV	49	30 (61.2)	19 (38.8)	
Histologic grade (WHO)				0.168
G1-G2	85	29 (34.1)	56 (65.9)	
G3-G4	76	34 (44.7)	42 (55.3)	
Tumor size/cm				0.153
≤5	70	23 (32.9)	47 (67.1)	
>5	91	40 (44.0)	51 (56.0)	
Tumor multiplicity				0.005
Unifocal	128	43 (33.6)	85 (66.4)	
Multifocal	33	20 (60.6)	13 (39.4)	
Intravascular emboli				0.240
No	101	36 (35.6)	65 (64.4)	
Yes	60	27 (45.0)	33 (55.0)	

¹⁾Chi-square test; ²⁾Mean age

高于Ⅲ+Ⅳ期($\chi^2=14.44, P<0.001$), 肿瘤单发的肝癌患者高表达 USP44 蛋白的例数明显高于多发患者($\chi^2=8.04, P=0.005$); USP44 蛋白的高低表达在患

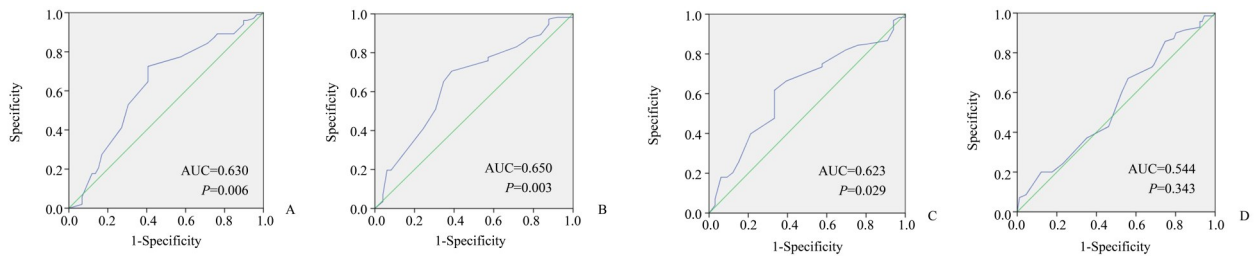
者的不同年龄、性别、肿瘤最大直径、病理分级、有无 HbsAg 感染、肝硬化、坏死、脉管癌栓中的差异均无统计学意义($P>0.05$; 表 1)。



USP44 was stained red, the blue signal represents nuclear DNA stained by DAPI and a merge image is displayed ($\times 600$).

图2 USP44蛋白主要表达于细胞浆

Fig. 2 USP44 is primarily localized at the cytoplasm



A: Survival outcome; B: Clinical stage; C: Tumor multiplicity (unifocal or multifocal); D: Tumor size.

图3 ROC曲线分析确定肝癌中USP44表达水平截断值

Fig. 3 ROC curve analysis was employed to determine the cut-off value for USP44 expression in HCC

2.6 USP44蛋白表达及各临床病理参数对HCC患者总生存时间的影响

本研究对可能影响HCC患者生存时间的参数采用Kaplan-Meier法单因素分析发现:临床I-Ⅱ期患者的平均生存期(168.0月)长于临床Ⅲ-Ⅳ期患者的平均生存期(62.5月, $\text{Log-rank } \chi^2=11.35, P=0.001$, 图4A);病理G1~G2级患者平均生存期(170.5月)长于G3~G4级患者的平均生存期(71.9月, $\text{Log-rank } \chi^2=6.25, P=0.012$, 图4B);肿瘤多发患者的平均生存期比单发患者短,差异有统计学意义($\text{Log-rank } \chi^2=11.79, P=0.001$, 图4C);肿瘤最大直径 $\leq 5\text{cm}$ 的患者相比 $> 5\text{cm}$ 的患者,有着更好的生存期($\text{Log-rank } \chi^2=6.78, P=0.009$, 图4D);此外,坏死($\text{Log-rank } \chi^2=7.15, P=0.008$, 表2)、脉管癌栓($\text{Log-rank } \chi^2=8.33, P=0.004$, 表2)及USP44蛋白表达($\text{Log-rank } \chi^2=20.77, P<0.001$, 表2)与HCC患者总生存期显著相关,而且USP44高表达组相对于低表达组患者有更好的总生存率($\text{Log-rank } \chi^2=20.77, P<0.001$, 图4E)和DFS($\text{Log-rank } \chi^2=20.42, P<$

0.001, 图4F)。USP44高表达组患者平均生存期为185.0个月,3年生存率为79.6%,5年生存率为62.2%,而USP44低表达组平均生存期仅为59.6个月,3年生存率为47.6%,5年生存率为28.6%(表3)。

为研究USP44蛋白表达对不同亚组HCC患者生存的影响,进一步分析了USP44在不同临床分期、病理分级患者中的表达情况,结果显示USP44蛋白表达是临床I~Ⅱ期($\text{Log-rank } \chi^2=4.81, P=0.028$, 图5A),Ⅲ~Ⅳ期($\text{Log-rank } \chi^2=10.13, P=0.002$, 图5B)及病理分级G1~G2级($\text{Log-rank } \chi^2=20.73, P<0.001$, 图5C)亚组患者的预后因素。

2.7 肝细胞癌患者的独立预后因素分析

将有意义的临床参数引入多变量Cox回归分析,结果显示临床分期及USP44蛋白表达水平是HCC患者的独立预后因素($HR=1.750, 95\% \text{ CI}(1.026, 2.985), P=0.040; HR=0.363, 95\% \text{ CI}(0.213, 0.620), P<0.001$;表4)。

表2 单变量分析USP44蛋白表达及临床病理参数在161例肝细胞癌患者预后的意义

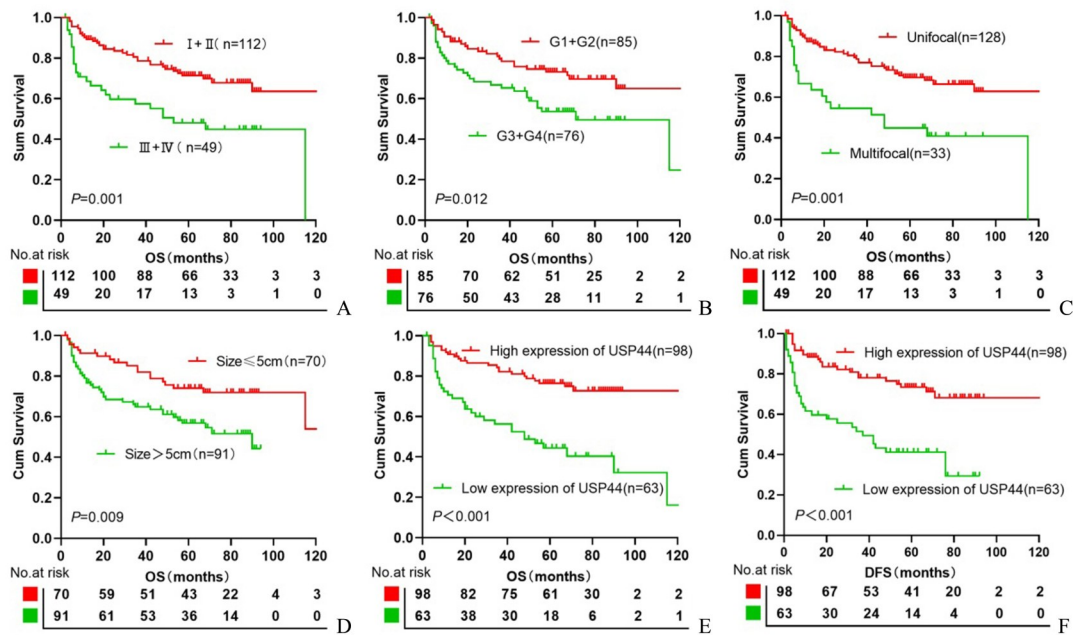
Table 2 Analysis of USP44 protein expression and clinicopathological parameters in the prognosis of 161 patients with hepatocellular carcinoma

Variable	All cases	Mean survival /months	P
Age /years			0.655
≤51	82	67.9	
>51	79	126.7	
Sex			0.170
Male	138	141.0	
Female	23	57.8	
HBsAg			0.625
Negative	11	69.5	
Positive	150	133.8	
Cirrhosis			0.407
No	93	161.0	
Yes	68	75.5	
Necrosis			0.008
No	75	175.4	
Yes	86	72.2	
Clinical stage			0.001
I – II	112	168.0	
III – IV	49	62.5	
Histologic grade (WHO)			0.012
G1-G2	85	170.5	
G3-G4	76	71.9	
Tumor size /cm			0.009
≤5	70	160.0	
>5	91	60.2	
Tumor multiplicity			0.001
Unifocal	128	165.5	
Multifocal	33	58.3	
Intravascular emboli			0.004
No	101	169.8	
Yes	60	67.5	
USP44			<0.001
Low	63	59.6	
High	98	185.0	

3 讨论

USP44是一种具有ZnF-UBP结构域的去泛素

化酶,具有保守的半胱氨酸、组氨酸和天冬酰胺/天冬氨酸残基^[18]。据报道,USP44在许多细胞过程中发挥作用,如细胞增殖、免疫、调节细胞周期、炎症



A: Clinical stage; B: Histologic grade; C: Tumor multiplicity (unifocal or multifocal); D: Tumor size; E: USP44 expression (OS); F: USP44 expression (DFS); OS, Over-all survival; DFS, Disease-free survival.

图4 不同预后因素对161例肝细胞癌患者生存时间的影响

Fig.4 Different prognostic factors for survival outcome in 161 patients with HCC

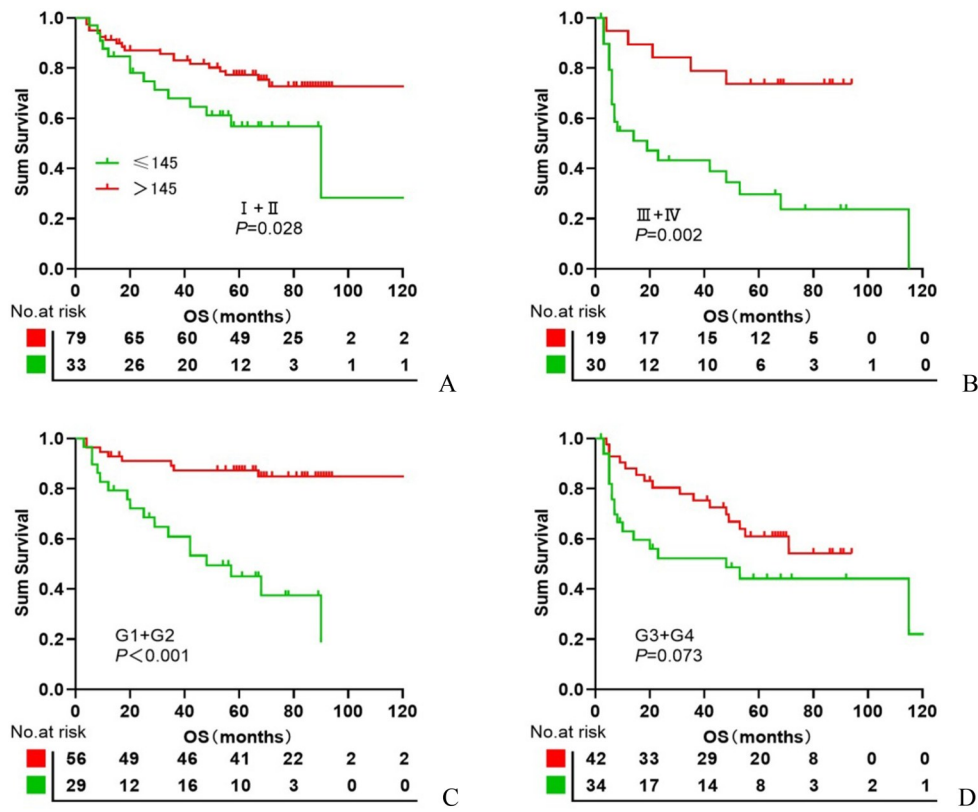
反应、细胞自噬、基因表达与抑制、DNA修复及肿瘤发生等^[19-22]。然而,USP44在肝细胞癌中的临床病理学意义尚不清楚。

在本研究中,我们用免疫组化方法检测了161例肝细胞癌组织及部分相应癌旁组织中USP44蛋白的表达情况,并经过ROC曲线分析得出一个客观的截断值来区分USP44高低表达组。经Wilcoxon符号秩和检验分析发现USP44在HCC中低表达,提示USP44在肿瘤发生发展中发挥潜在作用。经卡方检验显示,USP44的表达情况与临床分期、肿瘤单灶及多灶性存在显著相关。单因素Kaplan-Meier分析表明,USP44蛋白的表达对HCC患者生存有显著影响,低表达USP44的HCC患者预后不良,进一步多变量Cox回归分析发现USP44是HCC患者的有效独立预后因素。本研究结果初步提示USP44在肝细胞癌中扮演着抑癌的角色。

有研究发现,USP44通过去泛素化Cdc20-Mad2复合体来调控纺锤体组装检查点蛋白防止有丝分裂后期过早的到来,以及调节中心体分离、定位和纺锤体几何形状防止染色体错误分离,进而抑制肿瘤进展^[9-11]。Yang等^[13]研究发现,USP44在胰腺癌患者中表达下调,且USP44表达情况与预后成

正相关。Huang等^[15]发现,USP44的过表达抑制了大肠癌细胞的增殖,同时促进了细胞的凋亡,提示USP44在大肠癌中是一种抑癌基因。Zhou等^[16]发现,USP44通过抑制肾透明细胞癌中的JNK通路来抑制细胞增殖和迁移,USP44的表达与肿瘤分期、病理分级呈负相关,且高表达USP44的患者有着更长的生存期。以上研究提示USP44在肿瘤发生发展中起到抑癌基因的角色,这与我们的研究结果一致。然而,有研究人员提出USP44通过稳定肿瘤启动子securin促进胶质瘤的恶性程度^[23]。乳腺癌中,USP44在肿瘤干细胞(CSC)亚群中上调,并通过诱导血管生成拟态形成而促进癌症的进展、侵袭和转移^[24]。USP44通过EZH2蛋白稳定化促进前列腺癌细胞的肿瘤发生^[25]。这些发现提示USP44的过度表达可能与某些肿瘤的进展有关;表明USP44作为去泛素化酶,可以通过稳定生物体中的不同蛋白底物来发挥功能,在肿瘤发生发展过程中具有两面性。

本研究中,经免疫组织化学分析及免疫荧光染色进一步的验证,发现USP44在肝细胞癌中多数表达于细胞浆,提示USP44可能在细胞信号通路过程中在细胞浆中发挥抑癌作用。既往研究发现,在非小



A: Clinical stage I + II; B: Clinical stage III + IV; C: Histologic grade G1+G2; D: Histologic grade G3+G4.

图5 不同临床分期和组织学分级的肝细胞癌患者中 USP44 表达的 Kaplan-Meier 生存分析

Fig.5 Kaplan-Meier survival analysis of USP44 expression in subsets of HCC patients with different clinical stage and Histologic grade

表3 USP44 蛋白表达对 HCC 患者三年和五年生存率的影响

Table 3 The expression of USP44 for Three-year survival rate and Five-year survival rate

USP44 expression	Mean survival time /months	Three-year survival rate /%	Five-year survival rate /%
Low	59.6	47.6	28.6
High	185.0	79.6	62.2

表4 多变量 Cox 回归分析鉴别 HCC 患者的预后因素

Table 4 Multivariate cox regression analysis identify prognostic factors for HCC patients

Variables	<i>b</i>	<i>S_e</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	HR	HR 95% CI
Cirrhosis (Yes vs. No)	0.122	0.264	0.215	0.643	1.130	(0.673, 1.897)
Histologic grade (G3-G4 vs. G1-G2)	0.476	0.268	3.157	0.076	1.610	(0.952, 2.722)
Clinical stage (III-IV vs. I - II)	0.560	0.272	4.222	0.040	1.750	(1.026, 2.985)
USP44 expression (High vs. Low)	-1.012	0.272	13.799	<0.001	0.363	(0.213, 0.620)

CI: confidence interval; HR: hazard ratio

细胞肺癌中 USP44 通过去泛素化 PTEN 蛋白, 抑制 PI3K/AKT 途径中信号传导, 从而抑制癌细胞生

长^[12]; 在结直肠癌中, USP44 通过去泛素化胞浆支架蛋白 Axin 使 Wnt/ β -catenin 途径失活, 从而抑制

大肠癌细胞的增殖,同时促进细胞凋亡^[15]。而在胰腺癌 FBP1-MAPK 途径中, USP44 通过去泛素化 FBP1 蛋白来抑制糖酵解,从而抑制癌细胞生长,并调节吉西他滨耐药性^[13]。FBP1 拮抗糖酵解过程是通过其胞浆催化活性来实现的^[26]。而在肝细胞中 FBP1 缺失会导致代谢异常和脂肪变性,由此引起的非酒精性脂肪性肝病是导致 HCC 的重要诱因^[26]。由此推测 USP44 是否也是通过去泛素化 FBP1 蛋白来抑制肝癌细胞生长,这是一个值得探索的问题。此外,有研究发现细胞质中 USP44 在 DNA 病毒感染后会被招募到干扰素基因刺激蛋白(MITA)处,并从 MITA 中去除 K48 连接的多泛素链,从而阻止 MITA 蛋白酶体介导的降解,对 DNA 病毒诱导的先天免疫应答起正向调节作用^[21];而慢性感染乙型肝炎病毒(HBV)是肝癌发生的重要危

险因素。因此,我们推测 USP44 在肝细胞癌发生发展过程中起着调节细胞增殖和抗病毒的双重作用。有趣的是 Kang 等^[27]发表的文章提示 USP44 可能是存在血清中,通过挖掘敏感性较高的方法在血液检测 USP44 的表达,并通过高通量队列验证其为血清学的潜在的标记物,是一个值得进一步探讨的问题。本研究为单中心的研究,具有一定局限性,有待以后进行多中心研究,扩大样本量,并深入研究其在肝癌发生发展中的作用机制。

综上所述, USP44 是 HCC 患者的独立预后危险因素,是肝细胞癌患者预后良好的生物标志物。USP44 蛋白的表达可作为筛选预后良好的肝细胞癌患者的一种手段,我们的研究可能为 USP44 成为肝细胞癌治疗的潜在靶点提供证据。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Zhou J, Sun HC, Wang Z, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of primary liver cancer in China (2017 Edition) [J]. *Liver Cancer*, 2018, 7(3):235-260.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [4] Tsuchiya N, Sawada Y, Endo I, et al. Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(37):10573-10583.
- [5] DiStefano JK, Davis B. Diagnostic and prognostic potential of AKR1B10 in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4):486.
- [6] Nault JC, Villanueva A. Biomarkers for hepatobiliary cancers [J]. *Hepatology*, 2021, 73 Suppl 1:115-127.
- [7] Nijman SM, Luna-Vargas MP, Velds A, et al. A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes [J]. *Cell*, 2005, 123(5):773-786.
- [8] Kemp M. Recent advances in the discovery of deubiquitinating enzyme inhibitors [J]. *Prog Med Chem*, 2016, 55:149-92.
- [9] Stegmeier F, Rape M, Draviam VM, et al. Anaphase initiation is regulated by antagonistic ubiquitination and deubiquitination activities [J]. *Nature*, 2007, 446(7138):876-881.
- [10] Zhang Y, Foreman O, Wigle DA, et al. USP44 regulates centrosome positioning to prevent aneuploidy and suppress tumorigenesis [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(12):4362-4374.
- [11] Holland AJ, Cleveland DW. The deubiquitinase USP44 is a tumor suppressor that protects against chromosome missegregation [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(12):4325-4328.
- [12] Zhang YK, Tian WZ, Zhang RS, et al. Ubiquitin-specific protease 44 inhibits cell growth by suppressing AKT signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2019, 35(9):535-541.
- [13] Yang C, Zhu S, Yang H, et al. USP44 suppresses pancreatic cancer progression and overcomes gemcitabine resistance by deubiquitinating FBP1 [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8):1722-1733.
- [14] Sloane MA, Wong JW, Perera D, et al. Epigenetic inactivation of the candidate tumor suppressor USP44 is a frequent and early event in colorectal neoplasia [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(8):1092-1100.
- [15] Huang T, Zhang Q, Ren W, et al. USP44 suppresses proliferation and enhances apoptosis in colorectal cancer cells by inactivating the Wnt/ β -catenin pathway

- via Axin1 deubiquitination [J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(8):1651-1659.
- [16] Zhou J, Wang T, Qiu T, et al. Ubiquitin-specific protease-44 inhibits the proliferation and migration of cells via inhibition of JNK pathway in clear cell renal cell carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1):214.
- [17] Cai MY, Zhang B, He WP, et al. Decreased expression of PinX1 protein is correlated with tumor development and is a new independent poor prognostic factor in ovarian carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(6):1543-1549.
- [18] Suresh B, Ramakrishna S, Lee HJ, et al. K48- and K63-linked polyubiquitination of deubiquitinating enzyme USP44 [J]. *Cell Biol Int*, 2010, 34(8):799-808.
- [19] Yang J, Wei P, Barbi J, et al. The deubiquitinase USP44 promotes Treg function during inflammation by preventing FOXP3 degradation [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(9):e50308.
- [20] Lin YH, Forster M, Liang Y, et al. USP44 is dispensable for normal hematopoietic stem cell function, lymphocyte development, and B-cell-mediated immune response in a mouse model [J]. *Exp Hematol*, 2019; 72:1-8.
- [21] Zhang HY, Liao BW, Xu ZS, et al. USP44 positively regulates innate immune response to DNA viruses through deubiquitinating MTA [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(1):e1008178.
- [22] Chen S, Jing Y, Kang X, et al. Histone H2B monoubiquitination is a critical epigenetic switch for the regulation of autophagy [J]. *Nucleic Acids Res*. 2017, 45(3):1144-1158.
- [23] Zou Y, Qiu G, Jiang L, et al. Overexpression of ubiquitin specific proteases 44 promotes the malignancy of glioma by stabilizing tumor-promoter securing [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(35):58231-58246.
- [24] Liu T, Sun B, Zhao X, et al. USP44+ Cancer Stem Cell Subclones Contribute to Breast Cancer Aggressiveness by Promoting Vasculogenic Mimicry [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(9):2121-2131.
- [25] Park JM, Lee JE, Park CM, et al. USP44 Promotes the Tumorigenesis of Prostate Cancer Cells through EZH2 Protein Stabilization [J]. *Mol Cells*, 2019, 42(1):17-27.
- [26] Li F, Huangyang P, Burrows M, et al. FBP1 loss disrupts liver metabolism and promotes tumorigenesis through a hepatic stellate cell senescence secretome [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(6):728-739.
- [27] Kang X, Sun L, Guo K, et al. Serum protein biomarkers screening in HCC patients with liver cirrhosis by ICAT-LC-MS/MS [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(8):1151-1159.

(编辑 祁方昉)