

• 论 著 •

食管鳞癌组织 OTUD3 和 ILF2 表达与临床病理特征及预后的关系*

余慧娟^{1,2}, 辛 勇^{1,2△}, 尹红英², 赵家胜², 李 丽²

1. 徐州医科大学第一临床医学院, 江苏徐州 221000; 2. 淮安市第五人民医院肿瘤科, 江苏淮安 223300

摘 要:**目的** 探究食管鳞癌组织 OTU 去泛素酶 3(OTUD3)、白细胞介素增强结合因子 2(ILF2)表达与临床病理特征及预后的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2020 年 7 月在淮安市第五人民医院行食管癌根治术治疗的 102 例食管鳞癌患者作为研究对象。应用免疫组织化学检测组织 OTUD3、ILF2 表达。Spearman 秩相关分析食管鳞癌中 OTUD3 与 ILF2 表达的关系。Kaplan-Meier 生存曲线分析 OTUD3、ILF2 表达对食管鳞癌预后的影响。COX 比例风险模型分析食管鳞癌预后影响因素。**结果** 与癌旁组织相比,食管鳞癌组织中 OTUD3 阳性率较低,ILF2 阳性率较高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。癌组织中 OTUD3 和 ILF2 表达呈负相关($r=-0.712, P<0.001$)。相比于 TNM 分期 I~II 期、中高分化程度、无淋巴结转移食管鳞癌患者, TNM 分期 III 期、低分化程度、有淋巴结转移食管鳞癌患者组织 OTUD3 阳性率较低,ILF2 阳性率较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。OTUD3 阳性组患者 3 年累积生存率高于 OTUD3 阴性组,差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=5.869, P=0.015$); ILF2 阳性组患者 3 年累积生存率低于 ILF2 阴性组,差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=16.257, P<0.001$)。TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、OTUD3 及 ILF2 是影响食管鳞癌患者预后的独立因素。**结论** 食管鳞癌组织 OTUD3 表达降低,ILF2 表达升高,均参与食管鳞癌肿瘤的恶性进展,是影响食管鳞癌患者预后的独立因素。

关键词:食管鳞癌; OTU 去泛素酶 3; 白细胞介素增强结合因子 2; 预后
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.010 **中图法分类号:**R446.1;R735.1
文章编号:1673-4130(2024)17-2098-05 **文献标志码:**A

Expression of OTUD3, ILF2 in esophageal squamous cell cancer tissue and their relationship with clinical pathological characteristics and prognosis*

YU Huijuan^{1,2}, XIN Yong^{1,2△}, YIN Hongying², ZHAO Jiasheng², LI Li²

1. First Clinical Medical College, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000, China;
2. Department of Oncology, Huai'an Fifth People's Hospital, Huai'an, Jiangsu, 223300, China

Abstract:**Objective** To investigate the expression of OTU deubiquitinase 3 (OTUD3) and interleukin enhancer binding factor 2 (ILF2) in esophageal squamous cell cancer and their correlation with clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** A total of 102 patients with esophageal squamous cell cancer who underwent radical resection in Huai'an Fifth People's Hospital between January 2019 and July 2020 were included in this study. Immunohistochemistry was used to detect OTUD3 and ILF2 expression. Spearman rank correlation analysis was conducted to assess the relationship between OTUD3 and ILF2. Kaplan-Meier survival curves were used to analyze the impact of OTUD3 and ILF2 expression on patient survival prognosis. COX regression analysis was employed to identify prognostic factors. **Results** Compared with adjacent tissues, the positive rate of OTUD3 was lower and the positive rate of ILF2 was higher in esophageal squamous cell cancer tissues, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). A significant negative correlation was observed between the expression of OTUD3 and ILF2 in esophageal squamous cell cancer ($r=-0.712, P<0.001$). Furthermore, patients with TNM stage III, low differentiation, and lymph node metastasis exhibited a lower positive rate of OTUD3 and a higher positive rate of ILF2 compared to patients with TNM stage I-II, medium-high differentiation, and no lymph node metastasis ($P<0.05$). The 3-year survival rate for the OTUD3-positive group was significantly higher than that of the OTUD3-negative group (Log-rank $\chi^2=5.869, P=0.015$). The 3-year survival rate for the ILF2-positive group was significantly lower than that of the ILF2-negative group (Log-rank $\chi^2=16.257, P<0.001$). TNM staging, lymph node metastasis, degree of

* 基金项目:江苏省卫生健康委科研课题(BJ19037)。
作者简介:余慧娟,女,主治医师,主要从事胸部肿瘤病理方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: deep369@163.com。

differentiation, OTUD3, and ILF2 were independent factors affecting the prognosis of esophageal squamous cell cancer patients. **Conclusion** Decreased expression of OTUD3 and increased expression of ILF2 in esophageal squamous cell cancer tissues are implicated in the malignant progression of esophageal squamous cell cancer and serve as independent factors affecting patient outcomes.

Key words: esophageal squamous cell cancer; OTU deubiquitinase 3; interleukin enhancer binding factor 2; prognosis

食管癌是人类常见的胃肠道恶性肿瘤,是癌症相关死亡的第六大原因,其发病率呈上升趋势^[1]。食管鳞癌是食管癌的主要病理类型,临床治疗包括手术及术后辅助放化疗,但对于进展期患者术后仍会发生肿瘤复发及转移,生存预后较差^[2]。寻找影响食管鳞癌患者预后的因素,能为食管鳞癌临床诊治提供参考。OTU 去泛素酶 3(OTUD3)是 OUT 亚家族成员,位于细胞质中,促进下游蛋白去泛素化,负调控蛋白激酶 B 信号通路,影响细胞增殖及凋亡过程^[3]。有研究表明,OTUD3 通过稳定下游靶蛋白磷酸酶及张力蛋白同源基因,抑制人类哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路,抑制乳腺癌等恶性肿瘤的发生发展和转移^[4]。白细胞介素增强结合因子(ILF)2 是一种转录因子,能够促进 T 细胞表达白细胞介素 2,还能与 ILF3 形成复合物,影响核 mRNA 的细胞质分布^[5]。有研究表明,肺癌中 ILF2 能与转录因子 E2F1 相互作用,促进线粒体氧化磷酸化,增强肿瘤细胞的恶性增殖^[6]。然而,目前食管鳞癌组织中 OTUD3、ILF2 的表达及临床意义尚不清楚。因此,本研究通过检测食管鳞癌组织中 OTUD3、ILF2 的表达情况,分析二者与临床病理特征及预后的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2020 年 7 月在淮安市第五人民医院治疗的 102 例食管鳞癌患者。纳入标准:(1)均接受食管癌根治术,病理组织学明确为食管鳞癌;(2)均为原发、首次诊治;(3)患者及家属均签署知情同意;(4)年龄>18 岁,资料完整。排除标准:(1)既往有其他恶性肿瘤;(2)严重心肺功能障碍等原因不能接受手术;(3)合并精神障碍性疾病、妊娠哺乳期或近 3 月有心脑血管疾病史;(4)围术期死亡。男 65 例,女 37 例;年龄 38~69 岁,平均(58.79±6.41)岁;TNM 分期:I~II 期 61 例,III 期 41 例;分化程度:中高分化 70 例,低分化 32 例;肿瘤位置:上胸段 22 例,中胸段 50 例,下胸段 30 例;淋巴结转移:有 44 例,无 58 例。本研究经淮安市第五人民医院伦理委员会批准通过。

1.2 仪器与试剂 免疫组化染色试剂盒购自北京中杉金桥公司,型号:SP-9001。OTUD3 多克隆抗体购自上海爱必信公司,货号 abs113392。ILF2 单克隆抗体购自美国 Abcam 公司,货号:ab93838。显微镜购自日本奥林巴斯公司,型号 DX31。

1.3 OTUD3、ILF2 表达检测 留取食管鳞癌和癌

旁组织,10%中性甲醛固定液固定 12 h,石蜡包埋切片,60℃ 2 h。依次二甲苯、梯度乙醇浸泡,抗原修复液 100℃ 10 min,3% H₂O₂ 室温 10 min,滴加 OTUD3、ILF2 抗体(稀释比均为 1:500),4℃ 冰箱过夜,通用型二抗 37℃ 30 min,DAB 显色 5 min,显微镜观察,苏木素染色,盐酸乙醇分化液分化,梯度乙醇脱水,中性树胶封片。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗的组织切片作为阴性对照,以已知 OTUD3、ILF2 表达的甲状腺癌组织为阳性对照。由两位病理科医师独立对显微镜下观察染色结果进行评估,对意见不一致时由主任病理医师进行判断。取高倍镜视野(×200)随机选取 5 个视野进行评分,结果取平均值。染色强度(0 分,浅染色;1 分,淡黄色;2 分,黄褐色)与染色面积(0 分,<10%;1 分,10%~30%;2 分,>30%~50%;3 分,>50%)评分的乘积≥2 分判定为阳性^[7]。

1.4 随访 于患者出院后开始随访,总随访时间为 3 年,每 3~6 个月门诊或电话随访 1 次,随访截止时间为 2023 年 8 月 1 日。随访内容为患者常规体检检查、CT 或 MRI 等影像学检查,判断肿瘤复发进展情况,记录患者的存活时间。研究终点为患者死亡或随访截止。

1.5 统计学处理 利用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验比较。Spearman 秩相关分析癌组织 OTUD3 与 ILF2 表达的关系。绘制 Kaplan-Meier 生存曲线(Log-rank 检验)分析 OTUD3、ILF2 对食管鳞癌预后的影响。单因素和多因素 COX 回归分析食管鳞癌预后影响因素。 $P<0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞癌中 OTUD3 和 ILF2 表达 癌旁组织中 OTUD3 阳性染色位于细胞质和细胞膜,癌组织 ILF2 阳性染色位于细胞核,见图 1。癌组织和癌旁组织中 OTUD3 阳性率分别为 23.53%(24/102)、91.18%(93/102),差异有统计学意义($\chi^2=95.416$, $P<0.001$)。癌组织和癌旁组织中 ILF2 阳性率分别为 76.47%(78/102)、9.80%(10/102),差异有统计学意义($\chi^2=92.408$, $P<0.001$)。

2.2 食管鳞癌组织中 OTUD3 和 ILF2 表达相关性 癌组织 OTUD3 与 ILF2 表达呈负相关($r=-0.712$, $P<0.001$)。

2.3 不同临床病理特征食管鳞癌患者 OTUD3、ILF2

表达比较 与 TNM 分期 I ~ II 期、中高分化、无淋巴结转移相比, TNM 分期 III 期、低分化、有淋巴结转移癌组织中 OTUD3 阳性率较低, ILF2 阳性率较高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.4 OTUD3、ILF2 表达与食管鳞癌患者生存预后的关系 102 例食管鳞癌患者随访 3 年, 死亡 48 例, 3 年总生存率为 52.94%(54/102)。OTUD3 阳性组和阴性组 3 年生存率分别为 83.33%(20/24)、43.59%(34/78), 而 ILF2 阳性组和阴性组分别为 42.31%(33/78)、87.50%(21/24)。OTUD3 阴性组患者累积生存率低于阳性组, 而 ILF2 阴性患者高于 ILF2 阳性(Log-rank $\chi^2=5.869$ 、16.257, 均 $P<0.001$)。

2.5 食管鳞癌预后影响因素 以随访中患者的预后为因变量(1=死亡, 0=存活, t =生存时间), 以 OTUD3、ILF2 表达及各临床病理特征为自变量, 结

果显示, TNM 分期、淋巴结转移、低分化、OTUD3 及 ILF2 均是食管鳞癌患者预后的影响因素。见表 2、3。

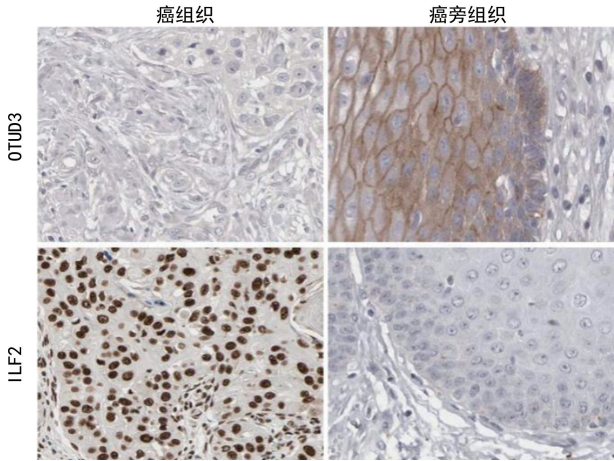


图 1 癌组织及癌旁组织 OTUD3 和 ILF2 表达 (免疫组化, $\times 200$)

表 1 OTUD3、ILF2 表达与食管鳞癌临床病理特征的关系[n(%)]

因素	n	OTUD3			ILF2		
		OTUD3 阳性	χ^2	P	ILF2 阳性	χ^2	P
年龄			0.039	0.844		0.456	0.500
<60 岁	62	15(24.19)			46(74.19)		
≥60 岁	40	9(22.50)			32(80.00)		
性别			0.395	0.530		2.558	0.110
男性	65	14(21.54)			53(81.54)		
女性	37	10(27.03)			25(67.57)		
TNM 分期			4.894	0.027		10.015	0.002
I ~ II 期	61	19(31.15)			40(65.57)		
III 期	41	5(12.20)			38(92.68)		
分化程度			18.158	<0.001		5.192	0.023
中高分化	70	8(31.15)			49(70.00)		
低分化	32	16(12.20)			29(90.63)		
肿瘤位置			1.631	0.442		1.113	0.573
上胸段	22	7(31.82)			15(70.00)		
中胸段	50	12(24.00)			39(90.63)		
下胸段	30	5(16.67)			24(70.00)		
淋巴结转移			4.209	0.040		8.965	0.003
有	44	6(13.64)			40(90.91)		
无	58	18(31.03)			38(65.52)		

表 2 单因素 COX 回归分析

因素	赋值	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
年龄	1=≥60 岁, 0=<60 岁	0.141	0.130	1.176	0.642	1.151	0.892~1.486
性别	1=男, 0=女	0.174	0.149	1.364	0.514	1.191	0.889~1.594
肿瘤位置	1=上中胸段, 0=下胸段	0.259	0.190	1.858	0.319	1.296	0.892~1.880
分化程度	1=低分化, 0=中高分化	0.249	0.112	4.943	<0.001	1.283	1.030~1.598
淋巴结转移	1=有, 0=无	0.471	0.151	9.729	<0.001	1.602	1.191~2.153
TNM 分期	1=III 期, 0=I ~ II 期	0.566	0.196	9.276	<0.001	1.730	1.434~2.099
OTUD3	1=阳性, 0=阴性	-0.641	0.181	11.667	<0.001	0.527	0.369~0.751
ILF2	1=阳性, 0=阴性	0.717	0.214	12.696	<0.001	2.060	1.921~2.279

表 3 多因素 COX 回归分析

因素	β	SE	Wald χ^2	P	HR	95%CI
淋巴结转移	0.970	0.420	5.339	0.006	2.637	1.158~6.008
TNM 分期	0.680	0.235	8.373	<0.001	1.973	1.245~3.129
分化程度	0.557	0.220	6.410	<0.001	1.745	1.134~2.686
OTUD3	-0.910	0.280	10.563	<0.001	0.403	0.233~0.697
ILF2	0.565	0.231	8.287	<0.001	1.660	1.236~3.058

3 讨 论

全球食管癌每年新发 33 万例,死亡 27 万例,其中我国发病率和病死率居全球第一^[8]。食管癌以食管鳞癌最常见,患者初期无明显症状,经发现后则已处于中晚期,错过最佳手术治疗时间,患者病死率较高。目前食管鳞癌治疗以手术及辅助放化疗为主,但肿瘤术后复发转移仍是导致患者死亡的主要原因。因此,研究预测食管鳞癌患者预后的生物标志物对建立更有效的治疗策略、提高患者生存率和生活质量均具有重要临床意义。

OTUD3 是去泛素化酶 OUT 亚家族成员,定位于人类 1p36.13,编码蛋白基因半胱氨酸酶活性中心,广泛参与代谢、免疫反应和神经发育等生物学过程^[9]。有研究表明,OTUD3 能够特异性去除抑癌基因 p53 及 PTEN 的多聚泛素化修饰,维持 p53 及磷酸酶和张力蛋白同源物蛋白(PTEN)蛋白稳定性,抑制恶性肿瘤细胞的侵袭和转移^[10-11]。本研究中,食管鳞癌中 OTUD3 表达降低,提示 OTUD3 可能作为一种抑癌因子,参与抑制食管鳞癌的肿瘤发生。有学者报道,食管鳞癌中 Hsp70 相互作用蛋白表达显著升高,其羧基末端能够与 OTUD3 结合并促进其泛素化修饰,促进 OTUD3 蛋白经泛素蛋白酶体途径降解,进而激活葡萄糖调节蛋白 78 的表达,促进恶性肿瘤的发生^[11]。

本研究中,OTUD3 表达与不良临床病理特征有关,表明 OTUD3 的表达降低参与食管鳞癌的肿瘤进展。有研究表明,食管鳞癌中 OTUD3 的表达下调导致其与环指蛋白 ZFP36 相互作用减弱,促进 F 框 WD40 域蛋白 7 介导的 ZFP36 蛋白 K48 位点连接的多泛素化,降低 ZFP36 蛋白稳定性,增加血管内皮生长因子 C mRNA 的稳定性,上调血管内皮生长因子 C 的表达,促进尼古丁诱导食管鳞癌淋巴结转移^[12]。另有研究发现,OTUD3 通过氨基末端的 OUT 结构域直接与 p53 相互作用,促进 p53 的去泛素化及蛋白稳定,而 OTUD3 的表达降低导致 p53 蛋白过度降解,进而促进肿瘤细胞的增殖和克隆形成,抑制肿瘤细胞的凋亡,导致肿瘤进展^[13]。本研究中,OTUD3 阴性的食管鳞癌患者预后较差,提示 OTUD3 表达是评估食管鳞癌患者预后的肿瘤标志物。分析其机制可能是,OTUD3 的表达降低参与肿瘤耐药性形成,进而导

致食管鳞癌患者不良生存预后。有研究发现,肿瘤中 miR-520 异常高表达表达能够结合其直接靶点 OTUD3 mRNA,激活下游磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)通路的活性,促进乳腺癌细胞增殖,抑制紫杉醇诱导的细胞凋亡,而抑制 miR-520h 的表达可提高紫杉醇耐药的 MCF-7/Taxol 细胞对紫杉醇的敏感性^[14]。因此,食管鳞癌中 OTUD3 的表达降低促进肿瘤的发生发展,是评估患者预后的肿瘤标志物。

ILF2 又称为核因子 45,属于活化的 T 细胞核因子,其作为序列特异性 DNA 结合蛋白,参与 DNA 断裂修复、抑制病毒复制及调节细胞生长等生物学过程^[15]。有研究表明,ILF2 能够结合到环磷酸腺苷反应元件结合蛋白的 pKID 结构域并刺激其在 Ser133 位点处的磷酸化激活,促进肿瘤细胞的恶性增殖及转移^[16]。

本研究中,食管鳞癌组织中 ILF2 阳性率较高,提示 ILF2 参与食管鳞癌发生过程。ILF2 表达受上游非编码 RNA 的表达调控。有研究表明,lncRNA ELF3-AS1 通过 RNA-RNA 相互作用增强 ILF2 mRNA 的稳定性,上调 ILF2 的表达,ILF2 与 ILF3 形成复合物促进下游上皮间质转化基因 SNAI2 或 SNAI1 的转录,促进细胞周期 G₁/S 转换导致癌细胞过度增殖及转移^[17]。本研究中,ILF2 表达与食管鳞癌不良临床病理特征有关,提示 ILF2 促进食管鳞癌的恶性进展。有研究表明,食管癌中 ILF2 的表达能结合 THO 复合物蛋白 THOC4,促进其 mRNA 输出细胞核,激活 Jacus 相关激酶 2/信号转导子和转录激活子 3 信号通路,促进干细胞标志物 SOX2、NANOG 等的稳定表达,增强食管癌细胞的干细胞性和肿瘤增殖和侵袭能力^[18]。此外,ILF2 还能直接结合肿瘤抑制基因磷酸酶和张力蛋白同源物基因的上游调控区,抑制其表达水平,增强肿瘤细胞黏附和抗失巢凋亡的能力,导致肿瘤进展^[19]。本研究中,ILF2 阳性是食管鳞癌患者不良预后的独立因素,表明 ILF2 是新的评估食管鳞癌患者预后的标志物。原因可能是,ILF2 的表达能够增强肿瘤细胞对放化疗的抵抗性,导致患者不良生存预后。有研究表明,ILF2 能与核仁纺锤体相关蛋白 1 相互作用,减少喜树碱诱导的 R 环积累,促进 DNA 损伤修复反应,增强对化疗治疗的耐药性,而在敲低 ILF2 表达后,增加了喜树碱诱导的 R-环积

累和 DNA 损伤,增强化疗药物治疗的敏感性^[20]。

本研究中,食管鳞癌中 OTUD3 和 ILF2 表达呈负相关。结合既往文献研究,食管鳞癌中 OTUD3 和 ILF2 存在共同的下游作用靶点,OTUD3 的表达下调降低 PTEN 蛋白稳定性^[11],而 ILF2 能够在转录水平抑制 PTEN 的表达^[19],结果均会导致 PTEN 表达下调,导致下游磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/AKT 通路激活,促进癌细胞的恶性增殖和侵袭。因此,食管鳞癌中二者的表达失调在功能上均发挥促进肿瘤进展的效应,但食管鳞癌中 ILF2 是否为 OTUD3 的直接作用靶点,仍有待进一步研究。

综上所述,食管鳞癌组织中 OTUD3 阳性率较低,ILF2 阳性率较高,二者表达呈负相关,均在食管鳞癌肿瘤的发生发展中发挥重要作用。临床医生可根据食管鳞癌组织中 OTUD3、ILF2 的表达,结合传统的 TNM 分期,肿瘤分化程度等因素,综合评估食管鳞癌患者的预后,指导临床医生治疗和随访。本研究的不足之处在于获得的病例数有限,今后需要扩大研究样本量,深入研究 OTUD3、ILF2 在食管鳞癌中的临床意义。

参考文献

[1] MORGAN E,SOERJOMATARAM I,RUMGAY H,et al. The global landscape of esophageal squamous cell carcinoma and esophageal adenocarcinoma incidence and mortality in 2020 and projections to 2040:new estimates from GLOBOCAN 2020[J]. *Gastroenterology*, 2022, 163(3): 649-658.

[2] ROGERS J E,SEWASTJANOW-SILVA M,WATERS R E,et al. Esophageal cancer:emerging therapeutics[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2022, 26(2):107-117.

[3] LIU J P,YANG A P,LEI G,et al. Prevalence and clinical characteristics of T2DM patients with OTUD3 gene rs78466831 SNP at a single academic center in China[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13(6):1059-1064.

[4] CHRISTINE A,PARK M K,SONG S J,et al. The equilibrium of tumor suppression:DUBs as active regulators of PTEN[J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(11):1814-1821.

[5] WEI L,YANG C,WANG G,et al. Interleukin enhancer binding factor 2 regulates cell viability and apoptosis of human brain vascular smooth muscle cells[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(2):225-233.

[6] ZHAO M,LIU Y,CHANG J,et al. ILF2 cooperates with E2F1 to maintain mitochondrial homeostasis and promote small cell lung cancer progression[J]. *Cancer Biol Med*, 2019, 16(4):771-783.

[7] SHIBAHARA Y,ESPIN-GARCIA O,CONNER J,et al. Intestinal stem cell marker ASCL2 is a novel prognostic predictor in esophageal adenocarcinoma[J]. *Cureus*, 2022, 14(1):2102-2111.

[8] ZHU H,MA X,YE T,et al. Esophageal cancer in China: practice and research in the new era[J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(9):1741-1751.

[9] ZHANG Z,FANG X,WU X,et al. Acetylation-dependent deubiquitinase OTUD3 controls MAVS activation in innate antiviral immunity[J]. *Mol Cell*, 2020, 79(2):304-319.

[10] XU Q,HE L,ZHANG S,et al. Deubiquitinase OTUD3;a double-edged sword in immunity and disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11(9):1237-1253.

[11] PU Q,LV Y R,DONG K,et al. Tumor suppressor OTUD3 induces growth inhibition and apoptosis by directly deubiquitinating and stabilizing p53 in invasive breast carcinoma cells[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1):583-595.

[12] WANG M,LI Y,XIAO Y,et al. Nicotine-mediated OTUD3 downregulation inhibits VEGF-C mRNA decay to promote lymphatic metastasis of human esophageal cancer[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):7006-7016.

[13] PU Q, LV Y R, DONG K, et al. Tumor suppressor OTUD3 induces growth inhibition and apoptosis by directly deubiquitinating and stabilizing p53 in invasive breast carcinoma cells[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 583-595.

[14] GENG W,SONG H,ZHAO Q,et al. miR-520h Stimulates Drug Resistance to Paclitaxel by Targeting the OTUD3-PTEN Axis in Breast Cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 20(2):9512-9523.

[15] CHIU C L,LI C G,VERSCHUEREN E,et al. NUSAP1 binds ILF2 to modulate R-loop accumulation and DNA damage in prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6258-6267.

[16] DU H,LE Y,SUN F,et al. ILF2 directly binds and stabilizes CREB to stimulate malignant phenotypes of liver cancer cells[J]. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2019, 20(9): 1575-1591.

[17] LI D,SHEN L,ZHANG X,et al. LncRNA ELF3-AS1 inhibits gastric cancer by forming a negative feedback loop with SNAI2 and regulates ELF3 mRNA stability via interacting with ILF2/ILF3 complex[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1):332-346.

[18] LI Y,WANG M,YANG M,et al. Nicotine-induced ILF2 facilitates nuclear mrna export of pluripotency factors to promote stemness and chemoresistance in human esophageal cancer[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(13):3525-3538.

[19] LI N,LIU T,LI H,et al. ILF2 promotes anchorage independence through direct regulation of PTEN[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(2):1689-1696.

[20] PETERMANN E,LAN L,ZOU L. Sources, resolution and physiological relevance of R-loops and RNA-DNA hybrids[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(8):521-540.