

• 论 著 •

PSMD14 在胰腺癌中的表达分析及对胰腺癌细胞增殖的影响*

王 悦, 徐恩君, 杨玉萍, 王中新[△]

安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽合肥 230000

摘 要:目的 探讨蛋白酶体 26S 亚基非 ATP 酶 14(PSMD14)在胰腺癌中的表达及其与患者预后的关系,并分析其对胰腺癌细胞增殖的影响和潜在机制。方法 用基因表达谱交互分析工具(GEPIA2)分析 PSMD14 信使 RNA(mRNA)在胰腺癌组织中的表达及其与患者预后的关系,并用 Western blot(WB)进一步检测 PSMD14 蛋白在胰腺癌组织和配对癌旁正常组织中的表达情况。对 PSMD14 表达可能参与调控的生物学过程进行基因富集分析。用 PSMD14 小干扰 RNA(siRNA)和阴性对照 siRNA 转染胰腺癌细胞系 PANC-1 和 BxPC-3 细胞, WB 检测转染效率。通过 CCK-8 试验检测 PSMD14 对细胞增殖的影响。通过葡萄糖摄取试验和乳酸生成试验检测 PSMD14 对细胞糖酵解的影响。通过相关性分析挖掘 PSMD14 可能调控的糖酵解关键酶,并用 WB 和反转录-实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)进行实验验证。结果 TCGA 数据分析显示: PSMD14 mRNA 在胰腺癌组织中的表达水平高于癌旁正常组织($P < 0.05$),其高表达与患者预后不良有关($P < 0.05$)。与配对的癌旁正常组织相比, PSMD14 蛋白在胰腺癌组织中表达水平升高($P < 0.05$)。基因富集分析提示 PSMD14 可能参与调控胰腺癌的细胞增殖。与阴性对照 siRNA 相比, PSMD14 siRNA 降低了 PANC-1 和 BxPC-3 细胞中的 PSMD14 蛋白表达水平($P < 0.05$)。干扰 PSMD14 表达能显著抑制细胞增殖、葡萄糖摄取和乳酸生成($P < 0.05$)。PSMD14 mRNA 表达与己糖激酶(HK2)、磷酸果糖激酶(PFKL)、丙酮酸激酶 2(PKM2) mRNA 表达呈正相关($r = 0.30, 0.25, 0.41, P < 0.05$)。WB 证实干扰 PSMD14 表达只降低 PKM2 蛋白表达水平($P < 0.05$),不影响 HK2 和 PFKL 蛋白表达($P > 0.05$),并且 RT-qPCR 结果显示:干扰 PSMD14 表达不影响 PKM2 mRNA 表达水平($P > 0.05$)。结论 PSMD14 在胰腺癌组织中高表达,其高表达与患者预后不良有关。PSMD14 有促进胰腺癌细胞糖酵解和细胞增殖的作用,这可能与增强 PKM2 蛋白的表达有关。

关键词:蛋白酶体 26S 亚基非 ATP 酶 14; 去泛素化; 细胞增殖; 胰腺癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.001 **中图法分类号:**R446.8

文章编号:1673-4130(2023)04-0385-07 **文献标志码:**A

Expression of PSMD14 in pancreatic cancer and its effect on the proliferation of pancreatic cancer cells*

WANG Yue, XU Enjun, YANG Yuping, WANG Zhongxin[△]

Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Anhui

Medical University, Hefei, Anhui 230000, China

Abstract: Objective To investigate the expression of proteasome 26S subunit, non-ATPase 14(PSMD14) in pancreatic cancer and its relationship with the prognosis of patients, and to analyze the effect and potential mechanism of PSMD14 on pancreatic cancer cell proliferation. **Methods** Gene expression profiling interactive analysis(GEPIA)2 was used to analyze the expression of PSMD14 mRNA in pancreatic cancer tissue and its relationship with the prognosis of patients. Western blot(WB) was used to further detect the expression of PSMD14 protein in pancreatic cancer tissue and paired adjacent tissue. Gene enrichment analysis was performed on the biological processes that PSMD14 expression might be involved in regulating. Pancreatic cancer cell lines PANC-1 and BxPC-3 were transfected with PSMD14 small interfering RNA(siRNA) and negative control siRNA, and the transfection efficiency was detected by WB. The effect of PSMD14 on cell proliferation was detected by CCK-8 assay. The effect of PSMD14 on cell glycolysis was detected by glucose uptake assay

* 基金项目:安徽省高校省级自然科学基金重点项目(KJ2015A337, KJ2010A174)。

作者简介:王悦,女,技师,主要从事肿瘤免疫的相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: aywzhx87@163.com。

and lactate production assay. The possible key enzymes of glycolysis regulated by PSMD14 were identified by correlation analysis, and verified by WB and reverse transcription-real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). **Results** TCGA data analysis showed that the expression level of PSMD14 mRNA in pancreatic cancer tissue was higher than that in normal tissue ($P < 0.05$), and its high expression was associated with poor prognosis of patients ($P < 0.05$). Compared with the paired adjacent normal tissue, the expression level of PSMD14 protein was significantly increased in pancreatic cancer tissue ($P < 0.05$). Gene enrichment analysis suggested that PSMD14 may be involved in the regulation of pancreatic cancer cell proliferation. Compared with the negative control siRNA, PSMD14 siRNA reduced the expression level of PSMD14 protein in PANC-1 and BxPC-3 cells ($P < 0.05$). Knockdown of PSMD14 significantly inhibited cell proliferation, glucose uptake and lactate production ($P < 0.05$). The expression of PSMD14 mRNA was positively correlated with the expression of hexokinase (HK2), liver phosphofructokinase (PFKL) and pyruvate kinase 2 (PKM2) mRNA ($r = 0.30, 0.25, 0.41, P < 0.05$). WB confirmed that knockdown of PSMD14 expression only reduced the protein expression level of PKM2 ($P < 0.05$), but did not affect the protein expression levels of HK2 and PFKL ($P > 0.05$), and RT-qPCR showed that knockdown of PSMD14 expression did not affect the mRNA expression level of PKM2 ($P > 0.05$). **Conclusion** PSMD14 is highly expressed in pancreatic cancer tissues, and its high expression is associated with poor prognosis of patients. PSMD14 can promote the glycolysis and proliferation of pancreatic cancer cells, which may be related to the up-regulation of PKM2 protein expression.

Key words: proteasome 26S subunit, non-ATPase 14; deubiquitination; cell proliferation; pancreatic cancer

胰腺癌是一种具有高度侵袭性的肿瘤,严重威胁人类生命健康^[1]。胰腺癌发病隐匿,早期诊断困难,仅 15%~25% 的患者确诊时有机会接受手术治疗^[2]。绝大多数胰腺癌患者确诊时已处于中晚期,5 年生存率低至 9%,预后极差^[3]。缺乏早期检测手段、肿瘤转移及化疗抵抗等多方面因素是患者预后不良的原因^[1]。研究表明,胰腺癌中存在广泛的基因和表观遗传学改变,导致肿瘤驱动基因异常激活^[4-5]。因此,挖掘潜在的肿瘤驱动基因并探索其与胰腺癌的关系将有助于人们认识胰腺癌的进展机制,改善患者预后。泛素化是常见的转录后修饰方式,即泛素分子与底物蛋白赖氨酸残基连接的过程。泛素化的蛋白通常被蛋白酶体识别并降解,而去泛素化则是将泛素分子从底物蛋白移除,从而维持蛋白的稳定性^[6]。由于作用底物的多样性,去泛素化酶在多种生物学进程中发挥重要调控作用,与肿瘤的发生密切相关^[7-8]。蛋白酶体 26S 亚基非 ATP 酶 14 (PSMD14) 是去泛素化酶中 JAB1/MPN/Mov34 金属酶 (JAMM) 结构域蛋白酶家族的一员,在卵巢癌、肝癌和头颈癌等多种肿瘤中表达上调^[9-11]。其表达上调与病理高分期、血管侵袭和肿瘤增殖等多种预后不良因素有关^[10-12],而下调 PSMD14 表达则能诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖和上皮间质转化过程^[9,13]。在结直肠癌中,PSMD14 通过促进致癌基因 ALK2 的去泛素化而维持其蛋白稳定性,从而促进结直肠癌细胞增殖和化疗抵抗^[14]。在头颈癌中,PSMD14 则介导了 SNAIL 的去泛素化和蛋

白的稳定性,从而促进肿瘤的侵袭转移^[15]。由此可见 PSMD14 通过作用于多种不同的底物在多种肿瘤中扮演了“促癌”的角色,而其在胰腺癌中的作用及机制尚不清楚。本研究旨在分析 PSMD14 在胰腺癌中的表达情况及与患者预后的关系,并初步探讨其作用于胰腺癌细胞的分子机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 6 对胰腺癌组织和癌旁正常组织(距离肿瘤边缘 2 cm 以上)来源于 2020 年 4 月至 2020 年 12 月于本院进行手术切除治疗并经病理检查确诊为胰腺癌的患者。本研究经安徽医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准。标本来源的患者均对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 细胞与试剂 胰腺癌 PANC-1 和 BxPC-3 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DMEM 培养基、胰酶及胎牛血清、Opti-MEM 培养基为 Gibco 公司产品,链霉素-青霉素双抗为 Hyclone 公司产品。Lip3000 转染试剂购自 Invitrogen 公司,PSMD14 小干扰 RNA (siRNA) 和阴性对照 siRNA 购自 Thermo Fisher Scientific 公司。葡萄糖摄取试剂盒、乳酸生成试剂盒为 Abcam 公司产品。CCK-8 试剂盒、组织总蛋白提取试剂盒、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、5×蛋白上样缓冲液购自碧云生物技术公司。PSMD14、肝脏磷酸果糖激酶 (PFKL) 抗体购自 Abcam 公司,己糖激酶 2 (HK2) 抗体、丙酮酸激酶 2 (PKM2) 抗体、β-actin 抗体购自 Pro-

teintech 公司。PVDF 膜、增强化学发光液购自 Millipore 公司。Trizol 试剂购自 Life technologies 公司。PrimeScript 反转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒购自 Takara 公司。

1.3 方法

1.3.1 PSMD14 mRNA 表达分析 通过基因表达谱交互分析工具 (GEPIA2, <http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>) 分析 TCGA 数据库中 PSMD14 mRNA 在胰腺癌患者癌组织和正常组织中的表达差异,同时分析 PSMD14 mRNA 表达水平与患者总生存率和无病生存率的关系。对 PSMD14 表达可能参与调控的生物学过程进行基因富集分析,即 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析。

1.3.2 Western blot(WB)检测蛋白表达水平 将组织进行充分研磨后,使用 RIPA 试剂在 4℃ 条件下充分裂解细胞,按照组织蛋白提取试剂盒说明书中的步骤提取总蛋白。用 BCA 法测定蛋白浓度,取适量蛋白加入 5×上样缓冲液后于 100℃ 水浴 10 min 使蛋白变性。将处理好的蛋白在 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶上电泳,然后电转至 PVDF 膜,用含 5% 牛奶的缓冲液将膜封闭 2 h,将 PVDF 膜与一抗(PSMD14 1:1 000 稀释, HK2 1:1 000 稀释, PFKL 1:1 000 稀释, PKM2 1:1 000 稀释, β -actin 1:2 000 稀释)4℃ 孵育过夜。洗膜(10 min×3 次)后,将膜与二抗(1:3 000)室温孵育 1 h,再洗膜(10 min×3 次),最后用化学发光液显影并用凝胶成像仪拍照。

1.3.3 细胞培养和细胞转染 人胰腺癌细胞 PANC-1 和 BxPC-3 用含 1% 双抗、10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,在 37℃、5% CO₂ 条件下培养。取对数生长期的细胞计数,按 2×10^5 个细胞/孔接种于 6 孔板,待细胞融合度达 50%~70% 时进行转染。按照 Lip 3000 转染试剂说明书,将 2.5 μ g siRNA 用 125 μ L 无血清培养基稀释,5 μ L Lip3000 用 125 μ L 无血清培养基稀释,两者混合后加入细胞中,8 h 后换液继续培养至 48 h。PSMD14 siRNA 的序列如下, F: 5'-GCCAUCUACCACUUGCAAUTT-3', R: 5'-AUU GCA AGUGGUAGAUGGCTT-3'。

1.3.4 CCK-8 试验 细胞转染 48 h 后按 3 000 个/孔接种于 96 孔板,每组设置 5 孔,分别培养 0、24、48、72 h,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,孵育 1 h,酶标仪测定 450 nm 处吸光度(A)值。

1.3.5 葡萄糖摄取试验、乳酸生成试验及相关性分析 肿瘤细胞常通过增强糖酵解来保证细胞的快速增殖^[16],因此本研究对 PSMD14 是否通过调控胰腺癌细胞的糖酵解来促进细胞增殖进行研究。葡萄糖摄取试验:将转染的细胞以 3 000 个/孔接种于 96 孔

板中,待细胞贴壁后,更换为无血清培养基使细胞饥饿过夜。PBS 洗 3 次,加入 2-脱氧葡萄糖。按照葡萄糖摄取检测试剂盒说明书处理细胞,酶标仪测定 412 nm 处 A 值(可反映葡萄糖摄取量)。乳酸生成试验:将转染的细胞以 3 000 个/孔接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,更换为无血清培养基,于 24 h 收集细胞培养上清,离心去除细胞碎片,按照乳酸生成检测试剂盒说明书加入试剂,酶标仪测定 450 nm 处 A 值(可反映乳酸生成量)。为了进一步探讨 PSMD14 调控细胞糖酵解的机制,通过 GEPIA2 分析 PSMD14 mRNA 与糖酵解限速酶 HK2、PFKL、PKM mRNA 表达水平的相关性。

1.3.6 RNA 提取及反转录实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR) 按照试剂说明用 Trizol 提取细胞总 RNA,并用核酸仪检测 RNA 浓度。用 PrimeScript RT kit 将 RNA 反转录为 cDNA,再用 SYBR Premix Ex Taq™ II Kit 及相应引物对 cDNA 进行 PCR 扩增。反转录及 qPCR 在 Bio-rad CFX96 型 PCR 仪上进行。引物序列如下, PKM2 正向为 5'-TCGCATGCAGVACCTGATT-3',反向为 5'-CCTC-GAATAGCTGCAAGTGGTA-3'; β -actin 正向为 5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3',反向为 5'-AG-CACTGTGTTGGCGTACAG-3'。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。符合正态分布、方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 PSMD14 表达水平与患者生存预后的关系。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

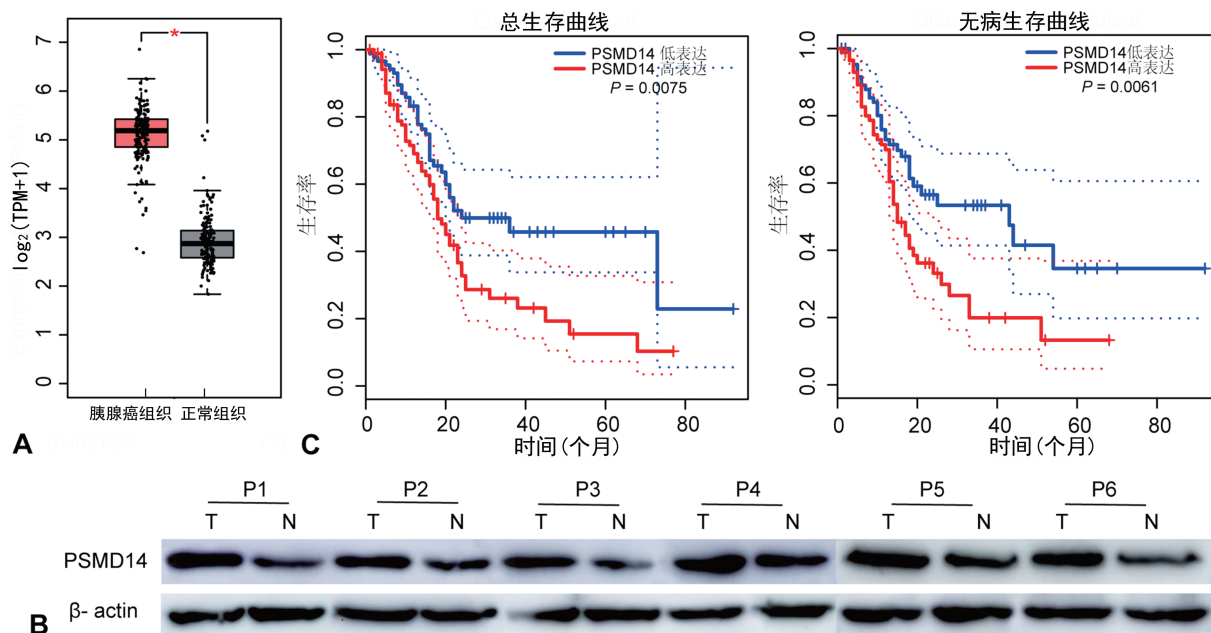
2 结 果

2.1 PSMD14 在胰腺癌和癌旁正常组织中的表达情况及与患者预后的关系 TCGA 数据分析显示: PSMD14 mRNA 在胰腺癌组织中的表达水平显著高于癌旁正常组织(*P* < 0.05)。WB 显示: PSMD14 蛋白在胰腺癌组织中的表达水平高于癌旁正常组织(*P* < 0.05)。以 PSMD14 mRNA 表达水平中位数为界,将胰腺癌患者分为 PSMD14 高表达组和低表达组, PSMD14 高表达组的总生存率和无病生存率均明显低于 PSMD14 低表达组(*P* < 0.05)。见图 1。

2.2 基因富集分析 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析显示: PSMD14 表达与细胞增殖的相关功能和通路有关,如 DNA 重组、细胞周期的正向调控等,提示 PSMD14 可能影响胰腺癌细胞的增殖。

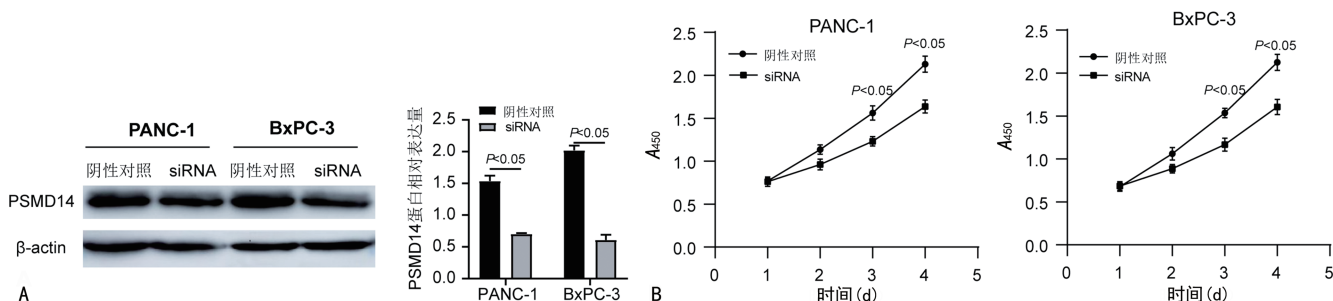
2.3 PSMD14 对胰腺癌细胞增殖的作用 WB 检测显示:转染 PSMD14 siRNA 的细胞与转染阴性对照 siRNA 的细胞相比, PSMD14 蛋白表达水平明显降低(*P* < 0.05)。CCK-8 试验显示:与转染阴性对照 siRNA-

NA 的细胞相比,转染 PSMD14 siRNA 的细胞增殖被明显抑制($P < 0.05$),说明 PSMD14 可以促进胰腺癌细胞的增殖。见图 2。



注:A为TCGA数据中PSMD14 mRNA在胰腺癌组织和癌旁正常组织中的表达水平比较,胰腺癌组织179例,癌旁正常组织171例,*表示两组间比较 $P < 0.05$,以TPM表示mRNA的表达水平,纵轴数值为将TPM进行对数处理后的数值;B为WB检测PSMD14蛋白在胰腺癌组织和癌旁正常组织中的表达水平,P1~P6为标本编号,T表示胰腺癌组织,N表示癌旁正常组织;C为PSMD14高、低表达组总生存曲线和无病生存曲线。

图1 PSMD14在胰腺癌和正常组织中的表达情况及与预后的关系



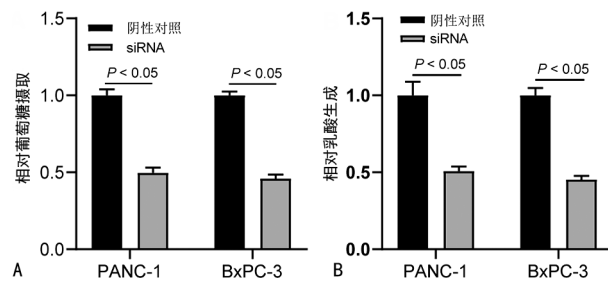
注:A为WB检测各组细胞中PSMD14蛋白的表达水平及PSMD14蛋白表达水平的比较;B为CCK-8试验检测细胞的增殖能力;阴性对照表示转染阴性对照siRNA,siRNA表示转染PSMD14 siRNA。

图2 干扰PSMD14表达对胰腺癌细胞增殖的影响

2.4 PSMD14促进细胞糖酵解 干扰PSMD14表达能显著抑制细胞的葡萄糖摄取和乳酸生成($P < 0.05$),见图3。

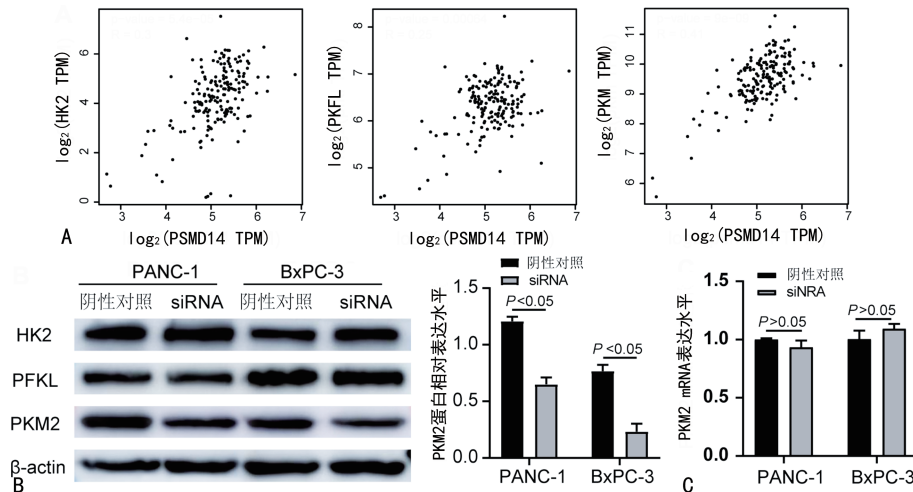
2.5 PSMD14对糖酵解限速酶表达的影响 通过GEPIA2分析发现PSMD14 mRNA与糖酵解限速酶HK2、PFKL、PKM mRNA的表达水平呈正相关($r = 0.30, 0.25, 0.41, P < 0.05$)。WB检测显示:干扰PSMD14表达能抑制PKM2蛋白的表达($P < 0.05$),而对HK2和PFKL蛋白的表达无明显影响($P > 0.05$),说明PSMD14可能通过调控PKM2蛋白的表达影响胰腺癌细胞的糖酵解。RT-qPCR结果显示:干扰PSMD14表达对PKM2 mRNA表达无明显影响($P > 0.05$),提示PSMD14可能通过转录后修饰的方

式调控PKM2蛋白的表达。见图4。



注:A为葡萄糖摄取试验;B为乳酸生成试验;阴性对照表示转染阴性对照siRNA,siRNA表示转染PSMD14 siRNA;葡萄糖摄取量和乳酸生成量分别由相应的A值表示。

图3 干扰PSMD14表达对胰腺癌细胞葡萄糖摄取和乳酸生成的影响



注:A 为通过 GEPIA2 分析胰腺癌中 PSMD14 与 HK2、PFKL 和 PKM2 mRNA 表达水平的相关性,以 TPM 表示 mRNA 的表达水平,横纵轴数值为将 TPM 进行对数处理后的数值;B 为 WB 检测各组细胞中 HK2、PFKL 和 PKM2 蛋白的表达水平及 PKM2 蛋白相对表达水平的组间比较;C 为 RT-qPCR 检测各组细胞中 PKM2 mRNA 的表达水平;阴性对照表示转染阴性对照 siRNA,siRNA 表示转染 PSMD14 siRNA。

图 4 PSMD14 对 HK2、PFKL 和 PKM2 表达的影响

3 讨 论

蛋白的泛素化和去泛素化是常见的转录后修饰过程,近年来越来越多的研究证实了其在肿瘤进展中发挥重要的调控作用^[8]。PSMD14 是去泛素化酶中 JAMM 家族成员之一,其在肝癌、肺癌、结直肠癌等多种肿瘤中表达上调,而且是影响预后的因素^[10,12,14]。本研究首次探讨了 PSMD14 在胰腺癌调控中的分子机制,发现 PSMD14 在胰腺癌组织中表达异常上调,其高表达与患者预后不良有关,这与其在其他多种肿瘤中的促癌作用一致^[10,12,14]。

既往的研究表明,PSMD14 可通过促进细胞增殖、促进上皮间质转化、介导侵袭转移过程、促进血管侵袭等多种方式促进肿瘤进展^[12,17-18],而 PSMD14 导致胰腺癌患者预后不良的分子机制尚不清楚。本研究通过基因富集分析挖掘了 PSMD14 在胰腺癌中可能参与的生物学过程,发现其富集的功能和通路与细胞增殖有关,提示 PSMD14 可能参与调控胰腺癌细胞增殖。进一步的实验验证发现,干扰 PSMD14 表达可抑制胰腺癌细胞增殖。在其他多种肿瘤中,靶向抑制 PSMD14 表达也能明显抑制肿瘤进展。在黑色素瘤中,靶向抑制 PSMD14 可导致 SMAD3 的聚集和锌指转录因子(SLUG)的减少,从而抑制肿瘤细胞的增殖和迁移^[19]。JING 等^[11]研究发现,PSMD14 抑制剂可拮抗 E2F1/Akt/SOX2 信号介导的肿瘤干性,从而逆转化疗抵抗现象。以上研究说明 PSMD14 可能作为肿瘤治疗的潜在靶点。然而,在胰腺癌中 PSMD14 调控细胞增殖的机制尚不清楚,进一步阐明其机制将有助于评估其作为胰腺癌精准治疗靶点的潜力。

无氧糖酵解,也称为“Warburg 效应”,是肿瘤的重要代谢重塑方式之一,肿瘤细胞因此可快速获得能

量供给并产生有利于肿瘤生长的微环境^[20]。有研究表明,泛素化和去泛素化可调控肿瘤细胞的无氧糖酵解,并导致细胞增殖、迁移和侵袭能力等生物学行为的改变^[21]。泛素化酶 TRIM47 通过增加果糖-1,6-二磷酸酶 1(FBP1)的泛素化降解而促进细胞糖酵解,导致胰腺癌进展^[22],去泛素化酶 OTUB2 通过调控 U2AF2 的去泛素化维持其稳定性,从而促进肺癌细胞的糖酵解^[23]。本研究结果显示:干扰 PSMD14 表达能抑制胰腺癌细胞的葡萄糖摄取和乳酸生成,提示 PSMD14 可抑制细胞糖酵解。SUN 等^[9]研究发现 PSMD14 可促进卵巢癌细胞糖酵解进而加速肿瘤进展,使用 PSMD14 抑制剂可抑制肿瘤生长,与本研究结果一致。本研究发现,干扰 PSMD14 可抑制胰腺癌细胞增殖,但其对胰腺癌细胞侵袭能力的影响及在体内的效应仍需进一步地研究。

研究证实 PSMD14 可催化多种底物的去泛素化过程^[10,14-15],通过相关性分析,本课题组发现 PSMD14 与糖酵解关键酶 HK2、PFKL 和 PKM 存在共表达,提示 PSMD14 可能参与调控这 3 种酶的表达。进一步地发现,干扰 PSMD14 表达可降低 PKM2 蛋白表达水平,而对 HK2 和 PFKL 蛋白表达水平无影响,说明 PKM2 是 PSMD14 的调控靶点,此结果与在卵巢癌中的研究结果一致^[9]。PKM2 是糖酵解限速酶之一,参与调控包括胰腺癌在内的多种肿瘤细胞的糖酵解过程,能显著影响肿瘤进展^[24-25]。多种泛素化酶,如 LHP、Parkin、TRIM58 等^[26-28],以及多种去泛素化酶,如 OTUB2 和 USP20,可调控 PKM2 的泛素化和去泛素化过程^[26-30]。LHP、TRIM58 和 OTUB2 调控 PKM2 的泛素化及蛋白的稳定性^[26,28-29]。CHEN 等^[31]研究发现, Parkin 调控

PKM2 的泛素化及降解过程,而 LIU 等^[27]研究表明 Parkin 促进 PKM2 的泛素化并抑制酶活性,但不影响蛋白稳定性。USP20 促进 PKM2 的去泛素化但不影响蛋白稳定性^[30]。本研究结果发现干扰 PSMD14 表达能抑制 PKM2 蛋白的表达,但不影响 PKM2 mRNA 表达。因此,笔者推测 PSMD14 可能通过促进 PKM2 的去泛素化而增加其蛋白稳定性,但仍有待进一步的实验研究来证实。鉴于泛素化和去泛素化对 PKM2 的蛋白稳定性和活性的调控机制复杂多变,结合本研究结果,下一步仍需要继续研究 PSMD14 调控 PKM2 蛋白表达的具体机制,如明确 PSMD14 对 PKM2 的泛素化调控位点以及这种调控是否影响 PKM2 进入细胞核,是否影响 PKM2 的聚合形式等。

综上所述,本研究证实了 PSMD14 在胰腺癌组织中高表达,PSMD14 高表达与患者预后不良有关。PSMD14 促进胰腺癌细胞糖酵解和增殖,这可能与其上调 PKM2 蛋白表达有关,而这也可能是其导致患者预后不良的原因之一。

参考文献

- [1] PARK W, CHAWLA A, O'REILLY E M. Pancreatic cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 326(9): 851-862.
- [2] GARRIDO-LAGUNA I, HIDALGO M. Pancreatic cancer: from state-of-the-art treatments to promising novel therapies[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12(6): 319-334.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [4] XU J, ZHANG W. EZR promotes pancreatic cancer proliferation and metastasis by activating FAK/AKT signaling pathway[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 521.
- [5] ZHOU C, LIANG Y, ZHOU L, et al. TSPAN1 promotes autophagy flux and mediates cooperation between WNT-CTNNB1 signaling and autophagy via the MIR454-FAM83A-TSPAN1 axis in pancreatic cancer[J]. Autophagy, 2021, 17(10): 3175-3195.
- [6] BONACCI T, EMANUELE M J. Dissenting degradation: deubiquitinases in cell cycle and cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 67(Pt 2): 145-158.
- [7] ANTAO A M, TYAGI A, KIM K S, et al. Advances in deubiquitinating enzyme inhibition and applications in cancer therapeutics[J]. Cancers, 2020, 12(6): 1579.
- [8] SUN T, LIU Z, YANG Q. The role of ubiquitination and deubiquitination in cancer metabolism[J]. Mol cancer, 2020, 19(1): 146.
- [9] SUN T, LIU Z, BI F, et al. Deubiquitinase PSMD14 promotes ovarian cancer progression by decreasing enzymatic activity of PKM2[J]. Mol oncol, 2021, 15(12): 3639-3658.
- [10] LV J, ZHANG S, WU H, et al. Deubiquitinase PSMD14 enhances hepatocellular carcinoma growth and metastasis by stabilizing GRB2[J]. Cancer Lett, 2020, 469: 22-34.
- [11] JING C, DUAN Y, ZHOU M, et al. Blockade of deubiquitinating enzyme PSMD14 overcomes chemoresistance in head and neck squamous cell carcinoma by antagonizing E2F1/Akt/SOX2-mediated stemness[J]. Theranostics, 2021, 11(6): 2655-2669.
- [12] ZHANG L, XU H, MA C, et al. Upregulation of deubiquitinase PSMD14 in lung adenocarcinoma (LUAD) and its prognostic significance[J]. J Cancer, 2020, 11(10): 2962-2971.
- [13] BYRNE A, MCLAREN R P, MASON P, et al. Knock-down of human deubiquitinase PSMD14 induces cell cycle arrest and senescence[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(2): 258-271.
- [14] SEO D, JUNG S M, PARK J S, et al. The deubiquitinating enzyme PSMD14 facilitates tumor growth and chemoresistance through stabilizing the ALK2 receptor in the initiation of BMP6 signaling pathway[J]. EBioMedicine, 2019, 49: 55-71.
- [15] ZHU R, LIU Y, ZHOU H, et al. Deubiquitinating enzyme PSMD14 promotes tumor metastasis through stabilizing SNAIL in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Lett, 2018, 418: 125-134.
- [16] YANG J, REN B, YANG G, et al. The enhancement of glycolysis regulates pancreatic cancer metastasis[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(2): 305-321.
- [17] LUO G, HU N, XIA X, et al. RPN11 deubiquitinase promotes proliferation and migration of breast cancer cells[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(1): 331-338.
- [18] SONG Y, LI S, RAY A, et al. Blockade of deubiquitylating enzyme Rpn11 triggers apoptosis in multiple myeloma cells and overcomes bortezomib resistance[J]. Oncogene, 2017, 36(40): 5631-5638.
- [19] YOKOYAMA S, IWAKAMI Y, HANG Z, et al. Targeting PSMD14 inhibits melanoma growth through SMAD3 stabilization[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 19214.
- [20] VAUPEL P, SCHMIDBERGER H, MAYER A. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression[J]. Int J Radiat Biol, 2019, 95(7): 912-919.
- [21] XIE Y, WANG M, XIA M, et al. Ubiquitination regulation of aerobic glycolysis in cancer[J]. Life Sci, 2022, 292: 120322.
- [22] LI L, YU Y, ZHANG Z, et al. TRIM47 accelerates aerobic glycolysis and tumor progression through regulating ubiquitination of FBP1 in pancreatic cancer[J]. Pharmacol Res, 2021, 166: 105429.
- [23] LI J, CHENG D, ZHU M, et al. OTUB2 stabilizes U2AF2 to promote the Warburg effect and tumorigenesis via the AKT/mTOR signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. Theranostics, 2019, 9(1): 179-195.
- [24] ZHU S, GUO Y, ZHANG X, et al. Pyruvate kinase M2 (PKM2) in cancer and cancer therapeutics[J]. Cancer lett, 2021, 503: 240-248.

(下转第 395 页)

作用机制还需后续进一步研究。本研究结果发现, RUNX2 高表达的良性脑膜瘤患者复发率较高, 并且 RUNX2 高表达是良性脑膜瘤患者复发的独立危险因素, 表明检测 RUNX2 的表达水平有助于良性脑膜瘤患者的随访管理。此外, 本研究还显示肿瘤最大径 > 0.5 cm、有瘤周水肿及 Ki-67 指数 $\geq 4\%$ 均是良性脑膜瘤患者复发的独立危险因素, 与 BICZOK 等^[16] 的研究具有一致性。

综上所述, GATA4 和 RUNX2 均在良性脑膜瘤中表达上调, 并在肿瘤最大径 > 0.5 cm、有瘤周水肿及 Ki-67 指数 $\geq 4\%$ 的患者中表达水平更高, 两者都是良性脑膜瘤复发的独立危险因素。

参考文献

- [1] OSTROM Q T, CIOFFI G, GITTLEMAN H, et al. CB-TRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2012—2016[J]. *Neuro Oncol*, 2019, 21 (Suppl 5): v1-v100.
- [2] HADDAD A F, YOUNG J S, KANUNGO I, et al. WHO grade I meningioma recurrence: identifying high risk patients using histopathological features and the MIB-1 index[J]. *Front Oncol*, 2020, 28, 10: 1522.
- [3] GAO L, HU Y, TIAN Y, et al. Lung cancer deficient in the tumor suppressor GATA4 is sensitive to TGFBR1 inhibition[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1665.
- [4] MA X, JI L. Effect of GATA4 gene methylation on proliferation and apoptosis of SGC-7901 gastric cancer cells[J]. *Neoplasma*, 2020, 67(6): 1193-1203.
- [5] ZHOU Y, CHANG H, YANG B. GATA4 is upregulated in nasopharyngeal cancer and facilitates epithelial-mesenchymal transition and metastasis through regulation of SLUG[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 5318-5326.
- [6] 符方旭, 李庆志, 王栋. 恶性脑膜瘤组织中转录因子 GATA 结合蛋白 4、微小 RNA-195 表达水平及其对预后影响[J]. *创伤与急危重病医学*, 2021, 9(5): 356-360.
- [7] YOON J Y, KIM T S, AHN J H, et al. Remifentanyl promotes osteoblastogenesis by upregulating RUNX2/osterix expression in preosteoblastic C2C12 cells[J]. *J Dent Anesth Pain Med*, 2019, 19(2): 91-99.
- [8] PRANAVKRISHNA S, SANJEEV G, AKSHAYAK R L, et al. Regulation of RUNX2 and its signaling pathways by microRNAs in breast cancer metastasis[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2021, 22(7): 534-547.
- [9] LI Y, SUN R, ZHAO X, et al. RUNX2 promotes malignant progression in gastric cancer by regulating COL1A1[J]. *Cancer Biomark*, 2021, 31(3): 227-238.
- [10] OZAKI T, YU M, YIN D, et al. Impact of RUNX2 on drug-resistant human pancreatic cancer cells with p53 mutations[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 309.
- [11] BIRZU C, PEYRE M, SAHM F. Molecular alterations in meningioma: prognostic and therapeutic perspectives[J]. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32(6): 613-622.
- [12] ACKERMAN K G, WANG J, LUO L, et al. Gata4 is necessary for normal pulmonary lobar development[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 36(4): 391-397.
- [13] SU W, ZHU S, CHEN K, et al. Overexpressed WDR3 induces the activation of Hippo pathway by interacting with GATA4 in pancreatic cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 88.
- [14] KHALID A B, SLAYDEN A V, KUMPATI J, et al. GATA4 directly regulates RUNX2 expression and osteoblast differentiation[J]. *JBM Plus*, 2018, 2(2): 81-91.
- [15] 胡专华. LUC7L3 通过 YAP1 信号影响恶性脑膜瘤细胞增殖和侵袭的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [16] BICZOK A, KARSCHNIA P, VITALIN R, et al. Past medical history of tumors other than meningioma is a negative prognostic factor for tumor recurrence in meningiomas WHO grade I [J]. *Acta Neurochir*, 2021, 163 (10): 2853-2859.

(收稿日期: 2022-08-16 修回日期: 2022-12-12)

(上接第 390 页)

- [25] YU T, LI G, WANG C, et al. MIR210HG regulates glycolysis, cell proliferation, and metastasis of pancreatic cancer cells through miR-125b-5p/HK2/PKM2 axis[J]. *RNA Biol*, 2021, 18(12): 2513-2530.
- [26] CHEN W J, CHEN L H, WANG J, et al. LHPP impedes energy metabolism by inducing ubiquitin-mediated degradation of PKM2 in glioblastoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(4): 1369-1390.
- [27] LIU K, LI F, HAN H, et al. Parkin regulates the activity of pyruvate kinase M2[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(19): 10307-10317.
- [28] YUAN P, ZHOU Y, WANG R, et al. TRIM58 interacts with pyruvate kinase M2 to inhibit tumorigenicity in human osteosarcoma cells[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 8450606.
- [29] YU S, ZANG W, QIU Y, et al. Deubiquitinase OTUB2 exacerbates the progression of colorectal cancer by promoting PKM2 activity and glycolysis[J]. *Oncogene*, 2022, 41(1): 46-56.
- [30] KIM S R, KIM J O, LIM K H, et al. Regulation of pyruvate kinase isozyme M2 is mediated by the ubiquitin-specific protease 20[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(5): 2116-2124.
- [31] CHEN D, WU H, FENG X, et al. DNA methylation of cannabinoid receptor interacting protein 1 promotes pathogenesis of intrahepatic cholangiocarcinoma through suppressing parkin-dependent pyruvate kinase M2 ubiquitination[J]. *Hepatology*, 2021, 73(5): 1816-1835.

(收稿日期: 2022-06-12 修回日期: 2022-09-28)