

胸部肿瘤专题

· 临床研究 ·

## 26S 蛋白酶体 ATP 酶亚基 2 在非小细胞肺癌患者中的表达及其与预后的关系\*

吴伟铭, 赵天成, 郭翔, 杨异<sup>△</sup>

200233 上海, 上海交通大学附属第六人民医院 胸外科

**[摘要]** 目的: 研究 26S 蛋白酶体 ATP 酶亚基 2 (proteasome 26S subunit ATPase 2, PSMC2) 蛋白在非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者中的表达情况及其与 NSCLC 细胞患者预后的关系。方法: 采用免疫组化方法分别检测 58 例 NSCLC 患者癌组织和癌旁组织中的 PSMC2 表达情况。从临床特征和病理特征两方面进行两组患者差异的比较。通过电话随访方式了解这 58 例患者手术后的生存状况, 使用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较两组患者的生存差异。Logistic 回归分析 PSMC2 表达与临床病理参数的关系, 同时使用 COX 回归进行单因素和多因素分析包括 PSMC2 在内的所有的临床病理特征与患者生存的关系。结果: 一般临床资料比较发现, 随着吸烟指数的升高, PSMC2 阳性患者的人数与 PSMC2 阴性人数比值也随之增高。另外, 在肿瘤最大直径和肿瘤分化程度上, PSMC2 阴性患者与 PSMC2 阳性患者之间的差异有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。Kaplan-Meier 分析显示, PSMC2 阴性患者的总生存期 (62 个月 vs 56 个月,  $P = 0.004$ ) 和无进展生存期 (48 个月 vs 45 个月,  $P = 0.043$ ) 均优于 PSMC2 阳性患者, 差异有统计学意义。Logistic 回归分析显示 PSMC2 表达仅与肿瘤分化程度有关 ( $OR: 3.511, CI: 1.498 \sim 8.227, P = 0.004$ )。单因素分析表明 PSMC2 高表达 ( $HR: 2.950, CI: 1.335 \sim 6.525, P = 0.007$ ) 和肿瘤分化程度 ( $HR: 2.045; CI: 1.210 \sim 3.461, P = 0.008$ ) 与 NSCLC 患者的不良生存预后相关; 而多因素检验分析进一步证明 PSMC2 阳性表达与 NSCLC 患者的不良结局相关 ( $HR: 3.165, CI: 1.439 \sim 6.961, P = 0.034$ )。结论: PSMC2 蛋白在 NSCLC 患者中有不同程度的表达, 其表达的阳性程度与肿瘤的恶性程度有一定关系, 单因素和多因素分析均显示其阳性表达与患者的不良预后有关。

**[关键词]** 26S 蛋白酶体; PSMC2 蛋白; 非小细胞肺癌; 预后

**[中图分类号]** R734.2; R730.7 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2020.09.007

**引文格式:** Wu WM, Zhao TC, Guo X, et al. Expression of proteasome 26S subunit ATPase 2 in non-small cell lung cancer patients and its relationship with prognosis [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(9):767-774. [吴伟铭, 赵天成, 郭翔, 等. 26S 蛋白酶体 ATP 酶亚基 2 在非小细胞肺癌患者中的表达及其与预后的关系 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(9):767-774.]

### Expression of Proteasome 26S Subunit ATPase 2 in Non-Small Cell Lung Cancer Patients and Its Relationship with Prognosis

Wu Weiming, Zhao Tiancheng, Guo Xiang, Yang Yi

Department of Thoracic Surgery, Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

**Corresponding author:** Yang Yi, E-mail: dryangyi12312@163.com

This study was supported by grants from Shanghai Hospital Development Center (NO. 16CR2013A).

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of proteasome 26S subunit ATPase 2 (PSMC2) in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients and its relationship with prognosis. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the

expression and location of PSMC2 in tumor and adjacent tissues from 58 NSCLC patients assigned to the PSMC2-positive group and the PSMC2-negative group. Clinicopathological features of patients in two groups were compared. Survival of the 58 patients were followed up by telephone, the Ka-

**[收稿日期]** 2020-04-15 **[修回日期]** 2020-09-03

**[基金项目]** \*上海市促进市级医院临床技能与临床创新能力三年行动计划 (编号:16CR2013A)

**[通讯作者]** <sup>△</sup>杨异, E-mail: dryangyi12312@163.com

plan-Meier was used to compare the survival in two groups. Logistic regression was used to analyze the relationship between PSMC2 expression and clinicopathological parameters. Cox regression was used to perform univariate and multivariate analyses of the relationship between clinicopathological parameters and survival of the patients. **Results:** The higher the smoking index was, the higher the PSMC2-positive patients/PSMC2-negative patients ratio was. There were significant differences in maximum tumor diameter and tumor differentiation degree between PSMC2-positive patients and PSMC2-negative patients ( $P < 0.05$ ). Kaplan-Meier survival analysis revealed that the overall survival of PSMC2-negative patients was better than that of PSMC2-positive patients (56 months vs 48 months,  $P = 0.004$ ); and the progression-free survival of PSMC2-negative patients was also better than that of PSMC2-positive patients (48 months vs 45 months,  $P = 0.043$ ). Logistic regression analysis showed that PSMC2 expression was correlated to tumor differentiation ( $OR: 3.511$ , 95%  $CI: 1.498 - 8.227$ ,  $P = 0.004$ ). Univariate analysis showed that high PSMC2 expression ( $HR: 2.95$ , 95%  $CI: 1.335 - 6.525$ ,  $P = 0.007$ ) and tumor differentiation ( $HR: 2.045$ , 95%  $CI: 1.210 - 3.461$ ,  $P = 0.008$ ) were poor prognostic factors; multivariate analysis showed that the positive expression of PSMC2 could be used as an independent prognostic factor to predict the poor outcome of NSCLC ( $HR: 3.165$ , 95%  $CI: 1.439 - 6.961$ ,  $P = 0.034$ ). **Conclusion:** PSMC2 is differently expressed in patients with NSCLC. The positive expression of PSMC2 in NSCLC patients is related to the malignant degree of NSCLC. Univariate and multivariate analyses show that the positive expression of PSMC2 is related to the poor prognosis of NSCLC patients.

[**Key words**] Proteasome 26S; PSMC2; Non-small cell lung cancer; Prognosis

肺癌目前仍然是国内外发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,其中约 85% 为非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC), 严重危害国民健康。大多数 NSCLC 患者在确诊时已为晚期, 失去了最有效的手术治疗机会, 而内科治疗中各种化疗方案的客观反应率仅为 25% 左右且毒副作用大, 因此积极探索肿瘤的发生发展有着重要的临床意义。然而, 肿瘤的发生又有着十分复杂的因素。一项针对 3 000 多例肿瘤的研究表明除驱动癌症增殖的经典基因外, 可能还存在着促进癌症发生的 56 个必要基因, 这其中占据首位的就是 26S 蛋白酶体 ATP 酶亚基 2 (proteasome 26S subunit ATPase 2, PSMC2) 基因, 并且该研究指出 PSMC2 基因在癌细胞中的一个拷贝频繁丢失, 会导致细胞生存危机, 同时研究小组在荷瘤 (卵巢癌) 小鼠中发现 PSMC2 表达受到抑制后肿瘤显著缩小<sup>[2]</sup>。近来更有研究发现其在胰腺癌、肠癌的发生发展中也具有相类似的表现<sup>[3-4]</sup>。但目前尚无 PSMC2 蛋白在 NSCLC 中的表达状况及其临床意义的报道, 因此我们进行了相关研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料与随访

选取 2012 年 1 月至 2014 年 10 月在上海交通大学附属第六人民医院胸外科接受手术治疗的 58 例 NSCLC 患者, 收集其一般临床资料, 并从该院病理科调取这些病例的石蜡标本 (癌组织及癌旁组织)。其中男性 39 例, 女性 19 例。年龄 38 ~ 78 岁, 中位年龄 64 岁。无吸烟史 31 例, 有吸烟史 27 例, 其中吸烟指数 (每天吸烟支数 × 吸烟年数) < 400 者 7

例, ≥400 者 20 例。肿瘤位于右上叶 17 例, 右下叶 6 例, 右中叶 6 例, 左上叶 21 例, 左下叶 8 例。中央型 22 例, 周围型 36 例。肿瘤最大直径 0.8 ~ 9 cm。术后病理类型: 腺癌 32 例, 鳞癌 19 例, 其他类型共 7 例 (大细胞癌 3 例, 低分化癌 1 例, 淋巴上皮瘤样癌 1 例, 肉瘤样癌 1 例, 腺鳞癌 1 例)。手术后通过电话随访方式了解这 58 例患者术后生存状况, 随访截止日期为 2018 年 7 月 1 日。

### 1.2 手术情况

该 58 例 NSCLC 患者根据术前检查结果和术中探查情况进行了相应的手术治疗。术前检查结果提示患者均能耐受肺部手术, 手术方式为右上叶肺叶切除 11 例、右上叶肺楔形切除 2 例、右上肺叶支气管袖式切除 2 例、右上肺叶 + 右中肺叶切除 1 例、右中肺叶切除 5 例、右中叶肺楔形切除 1 例、右中肺叶 + 右下肺叶切除 2 例、右下肺叶切除 4 例、右全肺切除 1 例、左上肺叶切除 14 例、左上肺叶楔形切除 2 例、左上肺叶支气管袖式切除 1 例、左下肺叶切除 5 例、左下肺叶楔形切除 2 例、左下肺叶切除 + 左上叶肺楔形切除 1 例和左全肺切除 4 例。术后根据 2017 年 12 月 IASLC (国际肺癌研究协会) 发布的第 8 版 TNM 分期进行病理分期。其中 Ia 期 10 例、Ib 期 11 例、IIa 期 7 例、IIb 期 6 例、IIIa 期 13 例、IIIb 期 9 例、IV 期 2 例。

### 1.3 实验仪器和材料

倒置荧光显微镜 (XDS-100 上海蔡康光学仪器有限公司)、通风橱、微波炉。材料: 移液器 (P1, P200, P20, P10, GILSONI: 4415678, eppendorf): 吸头 (10 μL, 100 μL, 1 000 μL, Axygen)。试剂: 胎牛

血清 (10099-141 Invitrogen), 1mol/L 的 TBS 缓冲液, 0.01M mol/L 柠檬酸盐缓冲液 (CB, pH6. 0, 1 000 mL): 柠檬酸三钠 3 g, 柠檬酸 0.4 g, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液。一抗: PSMC2 (ab3322), 二抗: goat anti-Rabbit IgG-HRP 均来之 Abcam。

1.4 方法

取癌组织及癌旁正常组织石蜡标本, 常规进行组织切片。脱蜡前, 将组织切片在 60℃ 恒温箱中烘烤 30 min, 置于二甲苯中浸泡 30 min, 二甲苯: 乙醇 = 1:1 混液中浸泡 10 min, 75% ~ 95% 乙醇浸泡, 蒸馏水浸泡, 室温封闭。抗原修复: 在微波炉里大火加热以 0.01M 柠檬酸钠缓冲溶液 (pH 6. 0) 至沸腾后将组织切片放入, 低火维持 20 min, 待自然冷却至室温后, 置入蒸馏水浸泡 10 min, 10% 血清 (TBS 配置) 封闭 30 min, 吸弃血清, 加入对应一抗孵育过夜后回收一抗, TBS 洗 2 遍后加入二抗, 室温孵育 60 min 后再以 TBS 洗涤。加入 VULCAN FAST RED CHROMOGEN kit2 染色 15 min 后再加入 DAB 染色, 直至显浅黄色位为止, 放入蒸馏水中终止反应, 苏木素染色 30 s, 放入蒸馏水中终止反应, 然后依次以乙醇和二甲苯脱水封片, 晾干后观察结果。

1.5 免疫组化结果及判定

根据阳性细胞数量和着色强度依次分为“-、+、++ 和 +++”, 其中着色为“-”13 例 (22. 41%), 着色为“+”19 例 (32. 76%), 着色为“++”16 例 (27. 59%), 着色为“+++”10 例 (17. 24%)。以上结果显示 PSMC2 在多数非小细胞患者的细胞中表达呈阳性 (45/58, 77. 59%), 蛋白主要定位于细胞

质。以免疫染色作为分组依据, 将染色结果为“- ~ +”定义为 PSMC2 表达阴性, 将染色结果为“++ ~ +++”定义为 PSMC2 阳性<sup>[5]</sup>, 随后进行两组之间的数据统计分析。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 19. 0 对实验数据进行统计学处理。计量资料用 *t* 检验, 计数资料用卡方检验。对数据进行正态性检验, 对于非正态分布数据以 Mann-Whitney 和 Kruskal-Wallis 方法进行检验, 同时对生存状况 [( 总生存率 overall survival, OS) 和无疾病进展时间 (progression-free survival, PFS)] 以 Kaplan-Meier 方法进行统计分析, 以 Logistic 回归分析 PSMC2 的表达与临床病理特征的关系, COX 方法进行单因素和多因素分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者在一般临床资料方面的比较

PSMC2 阴性患者与阳性患者的性别构成 (*P* = 0. 391) 和年龄 (*P* = 0. 743) 差异无统计学意义 (*P* > 0. 05), 但 PSMC2 阳性患者中的吸烟者多于阴性患者, 差异有统计学意义 (*P* = 0. 035), 提示吸烟与 PSMC2 阳性可能存在一定的关联。肿瘤生长部位、胸膜浸润、淋巴结转移和术后病理分期上, 两组差异无统计学意义 (*P* > 0. 05), 肿瘤最大直径和肿瘤分化程度上 PSMC2 阴性组与 PSMC2 阳性组之间差异有统计学意义 (*P* < 0. 05)。见表 1。

表 1 两组患者一般临床资料

Table 1. Clinical Data of Patients in Two Groups

Variable	N (%)	PSMC2-negative(N)	PSMC2-positive(N)	$\chi^2$	<i>P</i>
Gender				0. 716	0. 391
Male	39 (67. 24)	20	19		
Female	19 (32. 76)	12	7		
Age (year)				0. 002	0. 969
<60	18 (31. 03)	10	8		
≥60	40 (68. 97)	22	18		
Smoking index				6. 729	0. 035
No	31 (53. 45)	22	9		
<400	7 (12. 07)	3	4		
≥400	20 (34. 48)	7	13		
Lobe				4. 271	0. 371
Right upper lobe	17 (29. 31)	8	9		

(Table 1 continues on next page)

(Continued from previous page)

Variable	N(%)	PSMC2-negative(N)	PSMC2-positive(N)	$\chi^2$	P
Right middle lobe	6 (10.34)	3	3		
Right lower lobe	6 (10.34)	4	2		
Left upper lobe	22 (37.94)	15	7		
Left lower lobe	7 (12.07)	2	5		
Location				0.377	0.539
Peripheral	36 (62.07)	21	15		
Central	22 (37.93)	11	11		
Maximum diameter of tumor (cm)				8.258	0.041
$\leq 3$	33 (56.90)	22	11		
$> 3$ , but $\leq 5$	15 (25.86)	5	10		
$> 5$ , but $\leq 7$	5 (8.62)	1	4		
$> 7$	5 (8.62)	4	1		
Pleural invasion				<0.001	0.985
No	20 (34.48)	11	9		
Yes	38 (65.52)	21	17		
Degree of differentiation				12.074	0.002
High	32 (55.17)	23	9		
Moderate	10 (17.24)	6	4		
Low	16 (27.59)	3	13		
Pathological type				0.074	0.964
Adenocarcinoma	32 (55.17)	18	14		
Squamous cell carcinoma	19 (32.76)	10	9		
Others	7 (12.07)	4	3		
pN				2.020	0.364
N0	32 (55.17)	19	13		
N1	9 (15.52)	6	3		
N2	17 (29.31)	7	10		
Pathological stage				1.434	0.697
I	21 (36.21)	13	8		
II	13 (22.41)	8	5		
III	22 (37.93)	10	12		
IV	2 (3.45)	1	1		

PSMC2: Proteasome 26S subunit ATPase 2.

## 2.2 PSMC2 的表达与临床病理参数的关系

根据 58 例患者的 PSMC2 标本表达结果与临床病理特点进行 Logistic 回归分析,发现 PSMC2 阳性表达仅与肿瘤分化程度有关( $P=0.004$ ),余未见明显相关(表 2)。

## 2.3 两组患者的生存分析

在 OS 上,PSMC2 阴性组比 PSMC2 阳性组具有

明显的生存优势( $P=0.004$ ),见图 1。PSMC2 阴性组中位 OS 为 62 个月,PSMC2 阳性组中位生存时间为 56 个月( $HR 0.271, 95\% CI: 0.111 \sim 0.662$ )。在 PFS 上,PSMC2 阴性组比 PSMC2 阳性组具有明显的生存优势( $P=0.043$ ),见图 2。PSMC2 阴性组的中位 PFS 为 48 个月,PSMC2 阳性组中位 PFS 为 45 个月( $HR 0.421, 95\% CI 0.182 \sim 0.975$ )。

表 2 Logistic 回归分析 PSMC2 表达与临床病理特征关系

Table 2. Relationship between PSMC2 Expression and Clinicopathological Characteristics by Logistic Regression

Variable	N	PSMC2-negative (n)	PSMC2-positive (n)	OR (95% CI)	P
Lobe				0.946 (0.642 – 1.432)	0.792
Right upper lobe	17	8	9		
Right middle lobe	6	3	3		
Right lower lobe	6	4	2		
Left upper lobe	22	15	7		
Left lower lobe	7	2	5		
Location				1.076 (0.229 – 5.054)	0.926
Peripheral	36	21	15		
Central	22	11	11		
Maximum diameter of tumor(cm)				1.046 (0.500 – 2.191)	0.905
≤3	33	22	11		
>3, but ≤5	15	5	10		
>5, but ≤7	5	1	4		
>7	5	4	1		
Pleural invasion				1.046 (0.205 – 5.341)	0.957
No	20	11	9		
Yes	38	21	17		
Degree of differentiation				3.511 (1.498 – 8.227)	0.004
High	32	23	9		
Moderate	10	6	4		
Low	16	3	13		
Pathological type				0.727 (0.274 – 1.929)	0.522
Adenocarcinoma	32	18	14		
Squamous cell carcinoma	19	10	9		
Others	7	4	3		
pN				1.176 (0.387 – 3.567)	0.775
N0	32	19	13		
N1	9	6	3		
N2	17	7	10		
Pathological stage				0.745 (0.205 – 2.703)	0.654
I	21	13	8		
II	13	8	5		
III	22	10	12		
IV	2	1	1		

Abbreviations as indicated in Table 1.

单因素分析表明 PSMC2 阳性表达与 OS 相关 ( $HR:2.952, CI:1.335 \sim 6.525; P=0.007$ ), 另外肿瘤的分化程度也与 OS 相关( $HR:2.046, CI:1.210 \sim$

$3.461; P=0.008$ ), 见表 3。进一步多因素分析发现, 仅 PSMC2 与 OS 相关, 或可作为独立的预后因子 ( $HR:3.165, CI:1.439 \sim 6.961; P=0.004$ )。

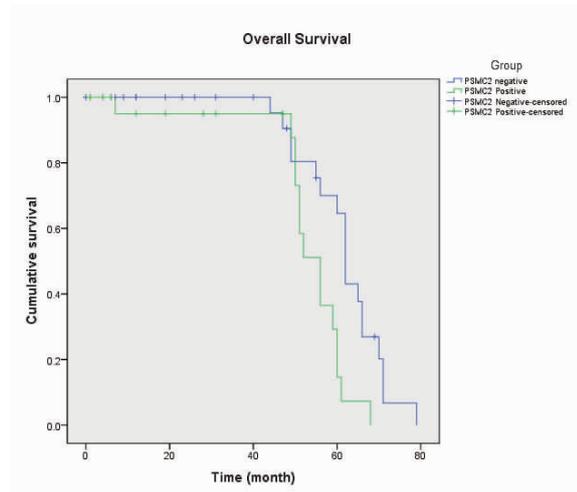


图 1 两组患者的 OS 曲线

Figure 1. Overall Survival in the PSMC2-Negative Group and the PSMC2-Positive Group

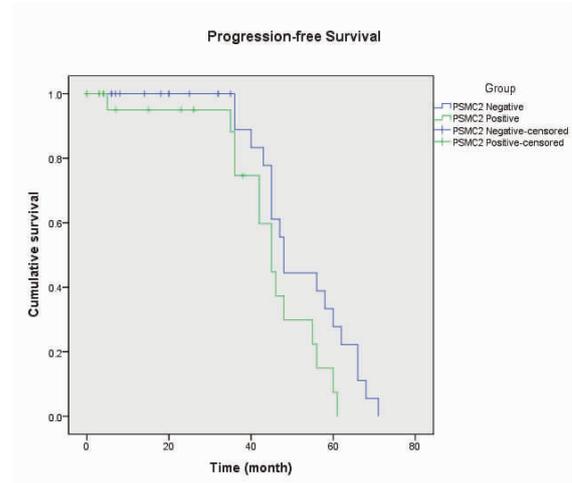


图 2 两组患者的 PFS 曲线

Figure 2. Progression-Free Survival in the PSMC2-Negative Group and the PSMC2-Positive Group

表 3 COX 单因素分析

Table 3. Univariate Analysis of the Correlation between PSMC2 Expression and Overall Survival of Non-small Cell Lung Cancer Patients

Variable	HR	95% CI	P
Gender	0.952	0.469 - 1.934	0.891
Age	1.680	0.775 - 3.642	0.189
Smoking index	1.371	0.888 - 2.117	0.154
Lobe	1.001	0.784 - 1.280	0.991
Location	0.852	0.380 - 1.911	0.697
Maximum diameter of tumor	0.975	0.631 - 1.508	0.911
Pleural invasion	1.079	0.527 - 2.207	0.836
Degree of differentiation	2.046	1.210 - 3.461	0.008
Pathological type	1.195	0.600 - 2.383	0.612
pN	1.116	0.695 - 1.791	0.650
Pathological stage	0.916	0.599 - 1.402	0.687
PSMC2 Expression	2.952	1.335 - 6.525	0.007

Abbreviations as indicated in Table 1.

### 3 讨论

人体内的正常细胞在各种相关基因的调控下,按照一定的规则和节奏进行生长、分裂和死亡。一旦细胞周期顺序发生异常,就有可能导致肿瘤的发生<sup>[6]</sup>。细胞周期的正常运行需要通过一系列的蛋白激酶来实现,而这些蛋白激酶又被称之为细胞周期素依赖蛋白(cyclin-dependent kinases, CDK),这是因为只有结合了细胞周期素(cycling)的蛋白激酶才具有真正的生物活性,才能推动细胞周期的进行。

一旦细胞周期素本身发生代谢异常,不能被正常的降解,就会长时间地与 CDK 结合,而所形成的 cyclin-CDK 复合物,通过 CDK 活性,将有可能对不同底物磷酸化持续保持相应的生物活性,而导致细胞周期的紊乱<sup>[7-8]</sup>。

研究发现细胞周期素的降解是通过与泛素结合后再递呈给 26S 蛋白酶体复合物(26S proteasome)进行识别和降解。26S 蛋白酶体复合物是由一个桶形 20s 核心颗粒和一个或两个 19s 调节颗粒组成的复合体<sup>[9]</sup>。而 19s 调节颗粒是由 6 个 ATP 酶

(PSMC1、PSMC2、PSMC3、PSMC4、PSMC5、PSMC6)组成的一个亚群,其结构相似,在进化过程中高度保守<sup>[10]</sup>。从分子组成结构上看 PSMC2 是构成 26S 蛋白酶体中的 19S 调节亚单位的结构之一,它的主要功能是利用 ATP 水解提供能量,对切掉泛素链的蛋白质底物进行去折叠并转运至 20S 核心颗粒中进行降解<sup>[11]</sup>,因此 PSMC2 的变化影响了 26S 蛋白酶体对 cyclin 的降解程度从而影响到细胞周期的正常运行而引发肿瘤的产生<sup>[12-16]</sup>。由于 26S 蛋白酶体与肿瘤发生有关的细胞蛋白上起着关键作用,临床上它被作为靶向目标而对癌症进行治疗<sup>[17-21]</sup>。

既往已有报道 PSMC2 蛋白在骨肉瘤患者体内表达并且验证了其对骨肉瘤细胞的作用<sup>[22]</sup>;也有研究报道在 40 例 I~III 期胰腺癌患者中有 28 例患者 PSMC2 阳性,而同时收集的 5 例慢性胰腺炎患者均为 PSMC2 阴性<sup>[3]</sup>;另外有报道指出在 96 例结肠癌患者中有 51 例患者 PSMC2 高表达,而 45 例患者为 PSMC2 低表达,同时 73 例对照的癌旁组织 PSMC2 均为低表达<sup>[4]</sup>,以上这些结果均提示 PSMC2 与肿瘤的发生发展密切相关,然而对于 PSMC2 在肺癌患者中的表达情况尚未有报道。我们的研究发现 NSCLC 细胞肺癌患者中 PSMC2 蛋白也具有不同程度的阳性表达,其阳性表达主要是集中在细胞质中。我们依据 PSMC2 染色阳性程度强弱不等将这些病例分为了 PSMC2 表达阴性组和 PSMC2 表达阳性组,并进一步根据分组的不同比较这两组患者在一般临床资料和肿瘤相关资料上的差异。我们的研究结果显示 PSMC2 阴性组患者与 PSMC2 阳性组患者在男女性别构成上、年龄分组上、肿瘤类型、肿瘤生长的位置和部位、胸膜浸润、淋巴结转移、病理类型和病理分期上均无显著差异,提示以上这些方面与 PSMC2 的表达无相关。但是在吸烟、肿瘤的分化程度和肿瘤最大直径上,两组患者的结果却出现了显著差异,提示 PSMC2 的表达可能跟这些临床病理参数有关。

本研究发现,PSMC2 阳性组中的吸烟者显著多于 PSMC2 阴性组,且吸烟指数越高,PSMC2 阳性者的占比就越大。众所周知,吸烟是肺癌的高危因素。烟草中的多种有害物质可能通过敏感基因激活、DNA 损伤修复功能的降低等方面引发肺癌的发生和发展,同时烟草长期对肺组织的破坏会造成慢性炎症和局部组织的缺氧环境,而体内的缺氧会造成高缺氧区和体内低氧分压状态又促进了血管生成因子的分泌增加,形成肿瘤生长和存活<sup>[5,23]</sup>。但吸烟

是怎样造成 PSMC2 表达的增强,是烟草内成分本身激活还是通过其他因素促进其表达,则需要进一步的实验研究来确定。

肿瘤的最大直径和肿瘤的分化程度体现了肿瘤恶性程度的高低。本研究发现在肿瘤分化的方面,随着肿瘤的分化程度越差,PSMC2 阳性患者人数占比也随之增高,提示随着 PSMC2 的阳性与 NSCLC 的恶性程度可能有关联。同样的我们发现随着肿瘤直径的不断增大,PSMC2 阳性患者所占人数比例也随之提高。该结果提示 PSMC2 的阳性表达与非小细胞肺癌的恶性程度密切相关,是 NSCLC 恶性程度的重要标记,同时 PSMC2 的高表达与癌细胞的增殖有关,可能是癌细胞增殖的重要基因。我们还发现,当肿瘤的最大直径超过 7 cm 时,PSMC2 阳性患者所占比例并没有进一步提高,可能是因为肿瘤过大后出现细胞坏死,从而影响到 PSMC2 阳性的表达率。而进一步 Logistic 回归分析结果仅显示出 PSMC2 的表达与肿瘤的分化程度有关,而与肿瘤的直径大小无关,提示 PSMC2 可能在肿瘤的分化程度中起作用。

本研究还发现,无论在 OS 还是在 PFS 上,PSMC2 阴性患者与 PSMC2 阳性患者的生存曲线均出现明显差异,PSMC2 阴性组患者的生存情况显著优于 PSMC2 阳性患者,提示 PSMC2 的阳性表达是 NSCLC 患者不良预后的标志。而在其他研究发现对于 96 例肠癌患者中比较了 PSMC2 表达阳性与表达阴性的生存差异,发现 PSMC2 阴性患者要好于 PSMC2 患者( $P=0.009$ )<sup>[4]</sup>,而在骨肉瘤患者的研究中发现 PSMC2 阳性与肿瘤的恶性程度密切相关<sup>[21]</sup>,而针对靶向 PSMC2 的 miR-630 研究发现,低表达的 miR-630 导致 PSMC2 表达增高,并导致患者生存低于因 miR-630 高表达而 PSMC2 表达降低患者<sup>[24]</sup>。COX 单因素分析显示 PSMC2 阳性表达和肿瘤的分化程度与患者的不良预后有关,而进一步的多因素分析显示 PSMC2 是独立的患者预后相关因素,其阳性表达与 NSCLC 的不良预后相关,有望成为 NSCLC 不良预后结局的潜在分子标志物。

总之,我们的初步研究发现 PSMC2 在 NSCLC 患者体内也有不同程度的表达,并且这种表达与肿瘤的恶性程度密切相关,同时 PSMC2 表达阳性的患者具有不良的生存预后,提示我们可以将其作为辅助诊断和判断预后的标志,积极研究其可能参与的信号通路而从中干预,可能会改善这一部分患者的预后。

**作者声明:** 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任; 并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存, 可接受核查。

**学术不端:** 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:** 经同行专家双盲外审, 达到刊发要求。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:** 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

#### [参考文献]

- [1] 刘鹏, 杜秀婷, 韦海林, 等. 中国与美国恶性肿瘤的现状比较及差异分析[J]. 肿瘤预防与治疗, 2017, 30(4): 299-304.
- [2] Nijhawan D, Zack TI, Ren Y, *et al.* Cancer vulnerabilities unveiled by genomic loss [J]. *Cell*, 2012, 150(4): 842-854.
- [3] Qin J, Wang W, An F, *et al.* PSMC2 is up-regulated in pancreatic cancer and promotes cancer cell proliferation and inhibits apoptosis [J]. *J Cancer*, 2019, 10(20): 4939-4946.
- [4] He J, Xing J, Yang X, *et al.* Silencing of proteasome 26S subunit atpase 2 regulates colorectal cancer cell proliferation, apoptosis, and migration [J]. *Chemotherapy*, 2019, 64(3): 146-154.
- [5] 吴伟铭, 何伟伟, 高宗礼, 等. 肺癌患者围术期血清 VEGF-A 和 VEGFR-2 变化的临床意义[J]. 现代仪器与医疗, 2016, 22(2): 57-59.
- [6] Ingham M, Schwartz GK. Cell-cycle therapeutics come of age [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(25): 2949-2959.
- [7] Lim S, Kaldis P. Cdks, cyclins and CKIs: Roles beyond cell cycle regulation [J]. *Development*, 2013, 140(15): 3079-3093.
- [8] Swaffer MP, Jones AW, Flynn HR, *et al.* CDK substrate phosphorylation and ordering the cell cycle [J]. *Cell*, 2016, 167(7): 1750-1761.
- [9] Wehmer M, Rudack T, Beck F, *et al.* Structural insights into the functional cycle of the ATPase module of the 26S proteasome [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(6): 1305-1310.
- [10] Tanaka K. Molecular biology of the proteasome [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 247(3): 537-641.
- [11] 王丰, 施一公. 26S 蛋白酶体的结构生物学研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2014, 44(10): 965-974.
- [12] da Fonseca PC, He J, Morris EP. Molecular Model of the human 26S proteasome [J]. *Mol Cell*, 2012, 46(1): 54-66.
- [13] Navon A, Ciechanover A. The 26S proteasome: From basic mechanisms to drug targeting [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(49): 33713-33718.
- [14] Wang X, Cimermanic P, Yu C, *et al.* Molecular details underlying dynamic structures and regulation of the human 26S proteasome [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2017, 16(6): 840-854.
- [15] Collins GA, Goldberg AL. The logic of the 26S proteasome [J]. *Cell*, 2017, 169(5): 792-806.
- [16] Suh KS, Tanaka T, Sarojini S, *et al.* The role of the ubiquitin proteasome system in lymphoma [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013, 87(3): 306-322.
- [17] Chang HY, Huang TC, Chen NN, *et al.* Combination therapy targeting ectopic ATP synthase and 26S proteasome induces ER stress in breast cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(11): e1540.
- [18] Laqadee C, Vlashi E, Bhuta S, *et al.* Tumor cells with low proteasome subunit expression predict overall survival in head and neck cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 152.
- [19] Yim JH, Yun HS, Lee SJ, *et al.* Radiosensitizing effect of PSMC5, a 19S proteasome ATPase, in H460 lung cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 469(1): 94-100.
- [20] Deshpande R, Asiedu MK, Klebik M, *et al.* A comparative genomic approach for identifying synthetic lethal interactions in human cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(20): 6128-6136.
- [21] Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, *et al.* The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers [J]. *Nature*, 2010, 463(7283): 899-905.
- [22] Song MZ, Wang Y, Zhang Z, *et al.* PSMC2 is up-regulated in osteosarcoma and regulates osteosarcoma cell proliferation, apoptosis and migration [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 933-953.
- [23] 李伊培, 郝永义, 张连成, 等. 抗 VEGF/VEGFR 靶向肿瘤血管药物的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(16): 3158-3162.
- [24] Li GW, Yan X. Lower miR-630 expression predicts poor prognosis of osteosarcoma and promotes cell proliferation, migration and invasion by targeting PSMC2 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019 23(5): 1915-1925.