

## 基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003435

# PSME1/2通过抑制CDK15的表达促进子宫内膜癌细胞的增殖和侵袭

章海林<sup>1</sup>,李 聪<sup>2</sup>,肖正华<sup>1</sup>,廖 娟<sup>3</sup>,周 勤<sup>2</sup>

(1.重庆医科大学附属永川医院妇产科,重庆 402160;2.重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016;

3.重庆医科大学附属永川医院中心实验室重庆 402160)

**[摘要]**目的:探索人类蛋白酶体激活剂(proteasome activator subunit, PSME)1/2在子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)中的表达水平及其对EC细胞增殖和侵袭的影响。方法:检测子宫内膜细胞系和原代细胞中PSME1/2和细胞周期蛋白依赖性激酶15(cyclin-dependent kinase 15, CDK15)的表达,以敲低株分析PSME1/2与CDK15的表达相关性及其对肿瘤增殖和侵袭影响。比较PSME1/2和CDK15在EC组织和瘤旁组织中的表达水平差异,并分析其对EC患者预后的影响。结果:与人正常子宫内膜细胞系相比,PMSE1/2在HEC1B(human endometrial adenocarcinoma cells, HEC1B)及原代细胞中mRNA(messenger RNA, mRNA)高表达和蛋白高表达,CDK15蛋白表达量下降。与对照组和双敲组比,CDK15在HEC1B系PSME1/2敲低株的蛋白表达升高,提示CDK15可能受PSME1/2抑制。在EC组织PMSE1/2高表达,CDK15低表达。PSME1/2表达与患者临床资料如年龄、术后诊断分型、分化程度、术后分期等差异无统计学意义( $P>0.05$ )。PSME1/2、CDK15的表达与EC患者的不良预后无明显相关性( $P>0.05$ )。结论:PSME1/2抑制CDK15的表达而促进EC细胞的增殖和侵袭,PSME1/2具有促EC作用。

**[关键词]**人类蛋白酶体激活剂1/2;细胞周期蛋白依赖性激酶15;子宫内膜癌;增殖;侵袭

【中图分类号】R714.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-10-26

## Proteasome activator subunit 1/2 promotes the proliferation and invasion of endometrial carcinoma cells by inhibiting the expression of cyclin-dependent kinase 15

Zhang Hailin<sup>1</sup>, Li Cong<sup>2</sup>, Xiao Zhenghua<sup>1</sup>, Liao Juan<sup>3</sup>, Zhou Qin<sup>2</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University;

2. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

3. Central Laboratory of Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University)

**[Abstract]****Objective:** To investigate the expression level of proteasome activator subunit 1/2(PSME1/2) in endometrial carcinoma and its effect on the proliferation and invasion of endometrial carcinoma cells. **Methods:** The expression levels of PSME1/2 and cyclin-dependent kinase 15(CDK15) were measured in endometrial cell lines and primary cultured cells, and knock-down strains were used to analyze the correlation between PSME1/2 and CDK15 and the effect of PSME1/2 on tumor proliferation and invasion. The expression levels of PSME1/2 and CDK15 were compared between endometrial carcinoma tissue and paracancerous tissue, and the influence of PSME1/2 and CDK15 on the prognosis of patients with endometrial carcinoma was analyzed. **Results:** Compared with normal human endometrial cell lines, human endometrial adenocarcinoma HEC1B cells and primary cultured cells had high mRNA and protein expression levels of PMSE1/2 and a reduction in the protein expression of CDK15. Compared with the control group and the double knock-down group, there was an increase in the protein expression level of CDK15 in the HEC1B line with PSME1/2 knock-down, suggesting that CDK15 might be inhibited by PSME1/2. There was a high expression level of PMSE1/2 and a low expression level of CDK15 in endometrial carcinoma. There were no significant differences in age, postoperative diagnosis and typing, degree of tumor differentiation, and postoperative stage between the high PSME1/2 expression group and the low PSME1/2 expression group ( $P>0.05$ ). There was no significant correlation between the expression of PSME1/2 and CDK15 and the poor prognosis of patients with endometrial carcinoma ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** PSME1/2 can inhibit the expression of CDK15 and promote the proliferation and invasion of endometrial carcinoma cells, and PSME1/2 can also promote endometrial carcinoma.

作者介绍:章海林,Email:348174421@qq.com,

研究方向:妇产科学研究。

通信作者:周 勤,Email:1733638008@qq.com。

基金项目:重庆市科卫联合医学科研资助项目(编号:2021MSXM081)。

优先出版:<https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240206.1107.034>

(2024-02-09)

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)是最常见的妇科癌症,近几年来新发病例逐年增长,严重影响着广大女性朋友的生命健康。在世界范围内,EC 占所有新发癌症病例总数的 3.5%<sup>[1-2]</sup>。我国每年大约有 5 万新发 EC 患者,死亡率 36%<sup>[3]</sup>。高危患者中 EC 的复发率约为 13%<sup>[4]</sup>。因此,发现新的标志物筛查手段、延缓或控制肿瘤的进展及开发新的治疗方案对改善患者的预后有非常重大的意义。

人类蛋白酶体激活剂(proteasome activator sub-unit, PSME)为蛋白酶多肽酶活性的激活因子,调节蛋白酶体的功能,是普遍存在于真核细胞胞浆和胞核中具有降解细胞内蛋白质作用的蛋白酶体的激活剂之一,其家族成员共有 4 个,分别是 PSME1(PA28 $\alpha$ )、PSME2(PA28 $\beta$ )、PSME3(PA28 $\gamma$ ) 和 PSME4(PA200)<sup>[5]</sup>。PSME1 和 PSME2 常优先形成异二聚体,结合于蛋白酶体的开放点,激活酶体,通过促进外来抗原降解产生抗原肽,参与主要组织相容性复合体 I 类抗原(mhcI antigen integrity I, MHC I)的提呈<sup>[6]</sup>。而多项研究表明,PSME1 和 PSME2 在多种癌症中表达失调,提示其可能作为疾病治疗的潜在靶点及预后指标<sup>[7]</sup>。细胞周期蛋白依赖性激酶 15(cyclin-dependent kinase 15, CDK15)是细胞周期依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDKs)家族成员之一,CDK 家族的一些家族成员参与细胞转录调节,而 CDK15 的具体作用还尚未明确,既往研究发现其与 CDK14 具有同源性,存在于 PFTAIRE 和 PCTAIRE 家族中<sup>[8]</sup>,并且可能与抑制癌症的侵袭、迁移和转移相关<sup>[9]</sup>。

PSME1/2 在乳腺癌中表达增高,PSME2 在子宫内膜癌中的也呈现高表达<sup>[10-11]</sup>。有研究发现 PSME1/2 的上调抑制了 CDK15 的表达,促进了乳腺癌细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[12]</sup>。而在 EC 中,少见相关研究报道。因此,本研究检测了 PSME1/2、CDK15 在 hEEC 人正常子宫内膜细胞系、人子宫内膜腺癌细胞(human endometrial adenocarcinoma cells, HEC1B)和 HEC-251 EC 细胞系、原代细胞中表达情况,分析了二者之间的相关性,以及其对 EC 细胞系恶性生物学行为的影响;并且通过对本中心 98 例 EC 患者标本检测及随访数据的分析,探究了二者表达水平与临床病理因素和患者预后的相关性,为 EC 治疗提供新的靶点和思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

收集 2016 年至 2020 年重庆医科大学附属永川医院妇产科 EC 患者的手术标本(分别取 EC 组织和癌旁正常组织),共 98 例,记录好患者的基本信息(包括性别、年龄、住院号、联系方式)、术中浸润深度、病理编号、术后治疗方案等。标本采集征得患者及家属同意,本研究获重庆医科大学附属永川医院伦理委员会批准(批准号:2020 年科伦审 145 号)。所有的子宫内膜癌患者术前未接受新辅助治疗,依据 FIGO 指南行手术治疗,其中腺癌 95 例,浆液性癌 3 例;高分化 32 例,中分化 49 例,低分化 17 例;I 期 72 例,II 期 7 例,III 期 17 例,IV 期 2 例;这些组织的病理结果经本院病理科医师诊断证实。收集的组织一部分用福尔马林固定石蜡包埋用于免疫组织化学染色技术(immunohistochemical staining technique, IHC),其余另一部分存储于 -80°C 冰箱中用于信使 RNA(messenger RNA, mRNA)和蛋白质提取。

### 1.2 试剂与抗体

人永生化正常子宫内膜细胞 hEEC、子宫内膜腺癌细胞株 HEC1B、HEC-251 购自上海雅吉生物科技,原代细胞为由高表达 PSME1/2 的低分化腺癌患者标本培养的原代细胞系; siRNA 干粉购自北京擎科生物科技有限公司;细胞培养基购自武汉普诺赛公司;新生胎牛血清购自美国 Scitecher 公司;转染试剂购自美国 Thermo Fisher 公司;用于免疫组化的兔抗人 PSME1、PSME2、CDK15 抗体及 DAB 试剂盒购自北京 ZSGB-BIO 公司;RNA 提取试剂盒购自德国 Qiagen 公司;逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒、蛋白免疫印迹试剂盒购自美国 Gibco 公司;蛋白提取试剂盒购自北京诺博莱德公司;GAPDH 引物购自美国 CST 公司;CCK-8 试剂盒购自上海语纯生物科技有限公司。

### 1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学染色 新鲜组织标本离体后,用中性福尔马林浸泡,石蜡包埋后切成薄片。组织切片于 60 °C 下烘烤 1 h,用二甲苯进行脱蜡、梯度酒精水化处理,用柠檬酸盐浸泡置于微波炉中加热进行抗原修复。3% 过氧化氢去离子水孵育,消除内源性过氧化物酶活性;滴加非免疫性动物血清室温孵育;滴加 PSME1、PSME2、CDK15 抗体(1:200),4 °C 过夜。次日洗涤后,滴加二抗,37 °C 孵育;滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶孵育;浓缩型二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色,苏木精复染,脱水,树胶封片。用图像分析(Image-Pro Plus, IPP)软件分析图像,对细胞染色强度和着色百分比共同评定量化。

1.3.2 细胞培养及细胞转染 HEC-1B 细胞用含 10% 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, FBS)、RPMI-1640 培养液,置于 37 °C、5%CO<sub>2</sub>、90% 湿度的细胞培养箱中培养,收集培养上清液进行下一步实验。将生长良好的细胞依照转染试剂说明转染细胞。将配置好的混合液 I(无酶水重悬 siRNA

干粉至浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$ , 加入基础培养基稀释 siRNA 浓度至 20  $\mu\text{mol/L}$  和混合液 II (100  $\mu\text{L}$  基础培养基+Lipo2000 2  $\mu\text{L}$ ) 加在一起混合, 轻轻摇匀, 静置; 将 6 孔细胞培养基的细胞加入其中, 并加入基础培养基, 使 siRNA 的终浓度为 100 nmol/L; 转染 4~6 h, 更换完全新鲜培养基。转染 24~48 h, 收取细胞, 用于其他细胞功能实验。

**1.3.3 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测 mRNA 水平** 按照 TRIzol 说明书提取子宫内膜组织的总 RNA, 然后按照反转录试剂盒说明书对提取的 RNA 进行逆转录。以 cDNA 为模板, 分别检测 PSME1/2、CDK15 在癌旁正常细胞和 EC 组织中 mRNA 的表达水平。GAPDH 为内参。引物序列 PSME1 上游 5'-CCAGTGCCTGATCCAGTCAAG-3', 下游 5'-ACCAAGATCTTCATTGCAGT-3'; 引物序列 PSME2 上游 5'-GCAAGAGGACTCCCTCAATGT-3', 下游 5'-CTTCTGGCT TAACCAGGGCA-3'; 引物序列 CDK15 上游 5'-TGGCCCAGT ATATGTCTCAGC-3', 下游 5'-GGCCCCCAAAGTTGAAAC-3'; 基因内参上游 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', 下游 5'-GGCTGTTGTCATACTCATGG-3'。Real-time PCR 反应体系包括: SYBR Premix 12.5  $\mu\text{L}$ 、引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 1  $\mu\text{L}$ 、cDNA 模板 0.5  $\mu\text{L}$  和 ddH<sub>2</sub>O 10  $\mu\text{L}$ 。Real-time PCR 反应条件: 95 °C 30 s、95 °C 5 s、60 °C 30 s, 共 40 个循环, 再 95 °C 10 s、65 °C 5 s、95 °C 5 s。目的基因结果用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  表示。

**1.3.4 Western blot 检测蛋白水平** 根据蛋白提取试剂盒和 BCA 试剂盒说明书分别进行蛋白提取和蛋白浓度的测定。按照试剂比说明, 配置分离胶、浓缩胶, 按适当比例进行蛋白上样、电泳, 将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上进行转膜后, 放入 5% 脱脂牛奶中封闭, 加入一抗, 4 °C 孵育过夜。次日三羟甲基氨基甲烷缓冲液 (tris buffered saline with tween, TBST) 洗膜后室温下孵育二抗 1 h, 然后洗膜, 用 ECL 试剂盒进行反应并拍摄。GAPDH 为内参。

**1.3.5 CCK8 实验检测细胞的增殖活性** 各组子宫内膜癌细胞培养 36 h 后, 选取 96 孔板, 每组均设置 3 个复孔, 分别均匀的接种于 96 孔板中 (6 000~9 000 个/孔)。分别于每天的同一时间点 (0 h、24 h、48 h 和 72 h) 严格避光条件下对实验组和对照组加入 10% CCK-8 试剂 10  $\mu\text{L}$ , 孵育 3 h, 用仪器检测每孔在波长 450 nm 下的吸光光度值 (*OD* 值), 来反映细胞增殖的活性。

**1.3.6 Transwell 实验检测细胞的侵袭能力** 将使用无血清培养基重悬的细胞悬液 200  $\mu\text{L}$  加入已铺基质胶的 24 孔 transwell 培养板上层小室中, 向下层室中每孔加入完全培养基 500  $\mu\text{L}$ , 孵箱中培养 24~48 h。弃掉所有培养基, 使用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 清洗培养板。下室每孔加入 500  $\mu\text{L}$  多聚甲醛, 放入小室室温固定 30 min, 弃去甲醛, PBS 清洗后晾干。再次向下室中加入 500  $\mu\text{L}$  结晶紫溶液, 放入小室染色 30 min, 弃去溶液, PBS 清洗干净, 显微镜下观察计数。

#### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 进行统计分析, 符合正态分布方差齐性

的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 来表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验; 不符合正态分布的计量资料用中位数 (四分位数) [ $M_d(P_{25}, P_{75})$ ] 表示, 采用秩和检验, 计数资料采用例和百分比表示, 两组比较采用卡方检验或 Fisher 精确检验, 检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结 果

### 2.1 PSME1/2 在 EC 组织中表达升高, CDK15 表达下降

比较肿瘤组织与正常癌旁组织的表达情况, 根据细胞染色强度和着色细胞百分比分为高表达组和低表达组。发现 PSME1 在 98 例 EC 患者肿瘤组织中高表达占 85.7% (84/98), 低表达占 14.3% (14/98), 癌旁正常组织不表达; PSME2 在 EC 中高表达占 51.0% (50/98), 低表达占 49.0% (48/98), 癌旁正常组织不表达; CDK15 在 EC 中高表达占 36.7% (36/98), 低表达占 63.3% (62/98), 癌旁正常组织呈高表达 (图 1)。结果表明, 在 EC 癌组织 PMSE1/2 高表达, CDK15 低表达。

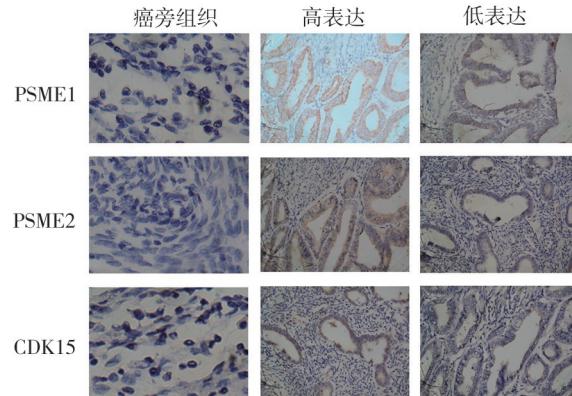


图 1 PSME1/2、CDK15 在癌旁正常子宫内膜和 EC 组织中的免疫表达情况

### 2.2 PSME1/2 与 CDK15 表达呈负相关

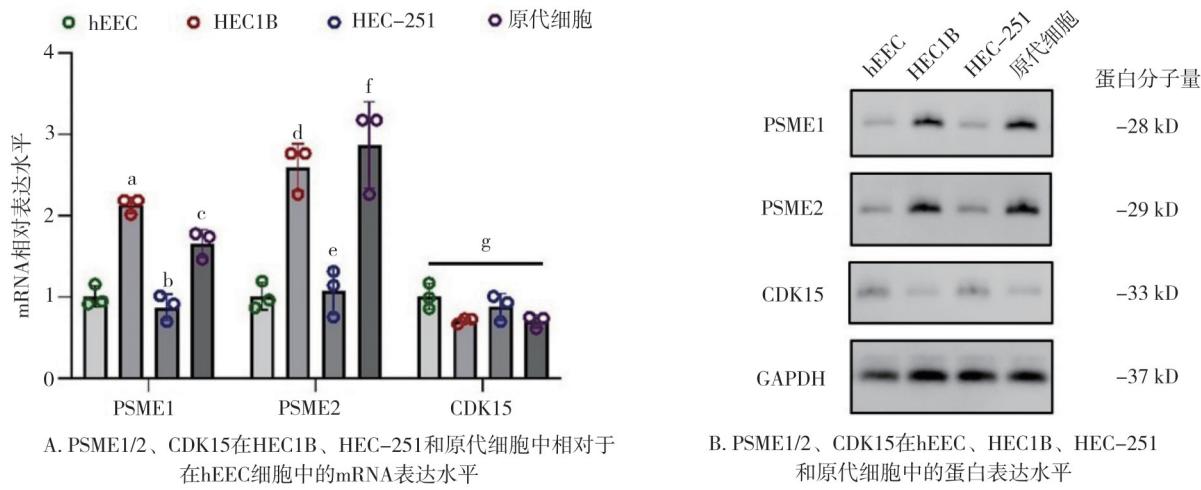
以人正常子宫内膜细胞系 hEEC 细胞系为对照, 比较人 EC 细胞系 HEC1B、HEC-251 及原代细胞中 PMSE1/2 及 CDK15 在 mRNA 和蛋白表达水平。结果表明, 与人正常子宫内膜细胞系相比, PMSE1/2 mRNA 水平在人 EC 细胞系 HEC1B 及原代细胞中表达升高, 在 HEC-251 细胞中表达量未见明显差异, 在 CDK15 mRNA 表达水平在 4 组内无明显差异 (图 2A)。PMSE1/2 蛋白在人 EC 细胞系 HEC1B 及原代细胞中表达量升高, 而 CDK15 蛋白的表达量下降 (图 2B), 提示 PMSE1/2 与 CDK15 的表达可能呈负相关关系, PMSE1/2 作为一种蛋白酶体激活剂可能影响 CDK15 表达水平。

### 2.3 PSME1/2 通过 CDK15 介导促进肿瘤细胞的增殖和侵袭

以高表达 PSME1/2 的 HEC1B 系使用 siRNA 建立 PSME1/2 敲低株以及 PSME1/2 和 CDK15 均敲低的双敲低株, 并通过 WB 实验检测蛋白表达效果 (图 3A)。结果表明, 与对照组相比, 敲低 PSME1/2 后, PSME1/2 表达下调, 而 CDK15 的蛋白表达水平增高。双敲低株中 PSME1/2 和 CDK15 的表达均下调, 提示 PSME1/2 表达可能与 CDK15 呈现负相关, 且 PSME1/2 在 CDK15 在转录后水平起负调节作用。

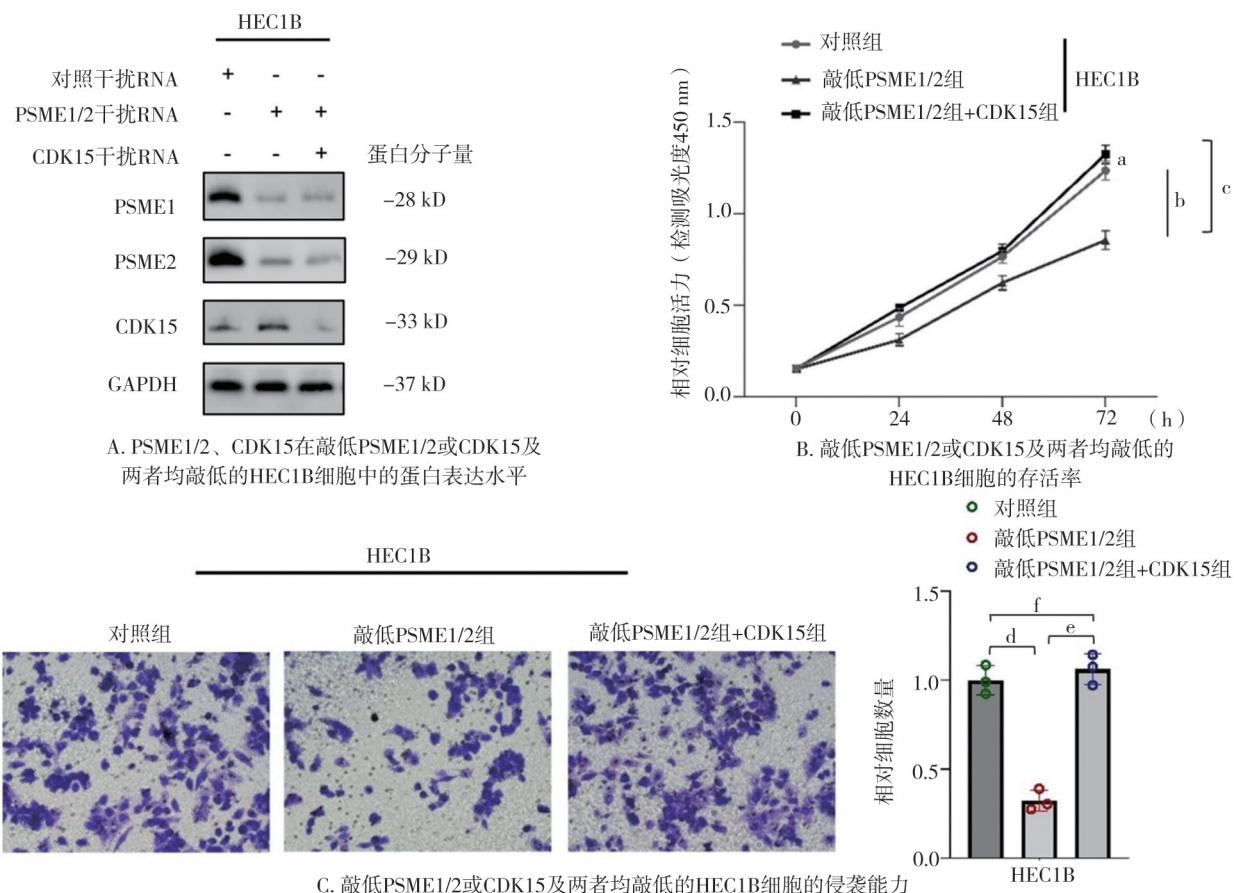
CCK8 细胞增殖实验和 transwell 实验结果表明,与对照组相比,仅敲低 PSME1/2 的 HEC1B 细胞的增殖能力和侵袭能力均下降;而在同时敲低 PSME1/2 及 CDK15 的 HEC1B 细

胞中,HEC1B 细胞受到抑制的增殖和侵袭能力获得了恢复(图 3B、3C)。这表明 PSME1/2 的上调通过抑制 CDK15 蛋白的表达增强了肿瘤细胞的增殖和侵袭能力。



注:  $n=3$ ; a, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=11.734, P<0.001$ ; b, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=-1.082, P>0.05$ ; c, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=5.247, P<0.01$ ; d, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=8.193, P<0.01$ ; e, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=0.333, P>0.05$ ; f, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=5.820, P<0.05$ ; g, 与 hEEC 细胞组比较,  $t=-3.204, -0.990, -3.034, P>0.05$

图 2 PSME1/2、CDK15 在 hEEC、HEC1B、HEC-251 和原代细胞中 mRNA 和蛋白表达水平



注:  $n=3$ ; a, 敲低 PSME1/2+CDK15 组与对照组比较,  $t=2.123, P>0.05$ ; b, 敲低 PSME1/2 组与对照组比较,  $t=-8.998, P<0.001$ ; c, 敲低 PSME1/2+CDK15 组与敲低 PSME1/2 组比较,  $t=11.288, P<0.001$ ; d, 敲低 PSME1/2 组与对照组比较,  $t=11.620, P<0.001$ ; e, 敲低 PSME1/2+CDK15 组与敲低 PSME1/2 组比较,  $t=12.213, P<0.001$ ; f, 敲低 PSME1/2+CDK15 组与对照组比较,  $t=-0.926, P>0.05$

图 3 PSME1/2 通过 CDK15 介导促进肿瘤细胞的增殖和侵袭

#### 2.4 PSME1/2与CDK15的表达在EC病例中有相关性

根据患者EC标本PSME1/2、CDK15免疫表达情况,分为高表达组和低表达组,分析PSME1/2、CDK15表达与子宫内膜恶性肿瘤预后的影响。PSME1/2高表达组与低表达组与患者临床资料如年龄、术后诊断分型、分化程度、术后分期等差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1)。CDK15低表达占PSME1高表达组的65.5%(55/84),占PSME2高表达组的46.0%(23/50),占PSME1/2高表达组的64.3%(63/91),占PSME1/2均高表达44.2%(19/43),提示PSME1和CDK15的表达呈负相关性(表2)。

#### 2.5 PSME1/2、CDK15的表达与EC患者不良预后的关系

比较EC患者PSME1/2和CDK15表达情况对患者不良预后的影响(包括治疗期间疾病进展、疾病复发或因疾病死亡),采用Kaplan Meier方法和对数秩和检验,结果发现PSME1/2、CDK15的表达与EC患者的不良预后无明显相关性( $P>0.05$ )(图4)。

比较PSME1/2高表达的患者中,CDK15的表达情况对患者不良预后的影响,采用Kaplan Meier方法和对数秩和检验,结果发现PSME2高表达的患者中,CDK15低表达的患者不良预后的比例较高,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),在PSME1高表达及PSME1/2均高表达的2组中,CDK15的表达对患者预后的影响差异也无统计学意义( $P>0.05$ )(图5)。

表1 EC病例中PSME1/2高表达组与低表达组一般情况比较 [ $M_d(P_{25}, P_{75}) ; \bar{x} \pm s ; n, \%$ ]

项目	PSME1		$Z/\chi^2$ 值	P值	PSME2		$t/Z/\chi^2$ 值	P值
	低表达(n=14)	高表达(n=84)			低表达(n=48)	高表达(n=50)		
年龄(岁)	53(48.5,57.0)	54.5(51.0,60.8)	-0.168	0.867	55.38 ± 8.59	55.20 ± 6.83	0.112	0.911
孕次	3(2,5)	3(2,4)	-0.290	0.772	2.5(2,4)	3(2,5)	-1.299	0.194
产次	2(1,2)	2(1,3)	-0.372	0.710	2(1,2)	2(1,3)	-0.752	0.452
术后诊断分型			0.516	1.000			0.387	0.534
腺癌	14(100.0)	81(96.4)			46(48.4)	49(51.6)		
浆液性癌	0(0)	3(3.6)			2(66.7)	1(33.3)		
术后分化程度			3.162	0.206			2.431	0.297
低分化	3(21.4)	14(16.7)			11(22.9)	6(12.0)		
中分化	4(28.6)	45(53.6)			21(43.8)	28(56.0)		
高分化	7(50.0)	25(29.8)			16(33.3)	16(32.0)		
术后诊断分期			5.749	0.124			0.161	0.984
1	8(57.1)	64(76.2)			36(75.0)	36(72.0)		
2	3(21.4)	4(4.8)			3(6.3)	4(8.0)		
3	3(21.4)	14(16.7)			8(16.7)	9(18.0)		
4	0(0.0)	2(2.4)			1(2.1)	1(2.0)		
术后诊断分期			1.980	0.372			0.737	0.692
A	11(78.6)	54(64.3)			32(66.7)	33(66.0)		
B	1(7.1)	20(23.8)			9(18.8)	12(24.0)		
C	2(14.3)	10(11.9)			7(14.6)	5(10.0)		

表2 EC病例中PSME1/2与CDK15表达的相关性分析(n,%)

PSME1/2表达	例数(n=98)	CDK15表达		$\chi^2$ 值	P值
		低表达(n=63)	高表达(n=35)		
PSME1				0.363	0.547
高表达	84	55(87.3)	29(82.9)		
低表达	14	8(12.7)	6(17.1)		
PSME2				14.867	<0.001
高表达	50	23(36.5)	27(77.1)		
低表达	48	40(63.5)	8(22.9)		
PSME1/2				12.001	<0.001
均高表达	43	19(30.2)	24(68.6)		
其他	55	44(69.8)	11(31.4)		
PSME1或2				0.168	0.698
高表达	91	59(93.7)	32(91.4)		
其他	7	4(6.3)	3(8.6)		

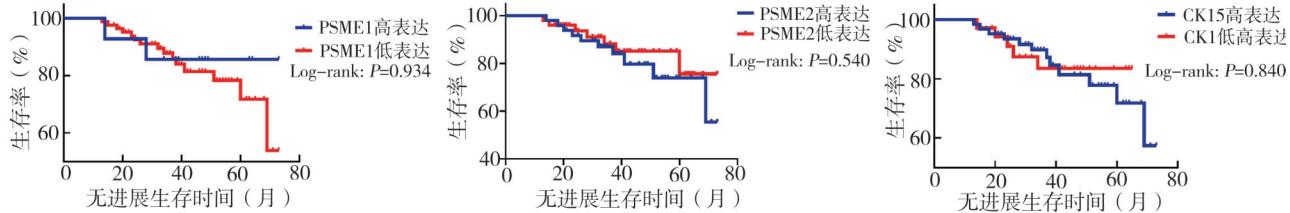


图4 不同PSME1/2、CDK15表达水平的EC患者生存分析

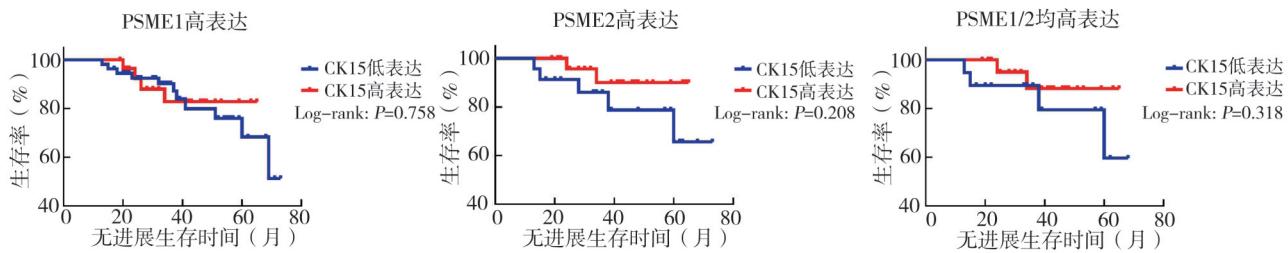


图5 PSME1/2高表达患者中CDK15表达水平对EC患者预后影响

### 3 讨 论

EC作为女性妇科患者常见恶性肿瘤之一,起源于子宫内膜上皮细胞。近几年来EC发病率逐渐升高,可能与缺乏早期筛查手段有关<sup>[13]</sup>。与组织的生物学标志物相比,基于血液的生物标志物获取较为便捷,如CA-125,可以反映治疗效果及提示患者复发<sup>[14-15]</sup>。但到目前为止,预测性的生物标志物尚未被识别<sup>[16]</sup>。在发展靶向治疗方面,EC几乎落后于每一种原发性癌症类型。肿瘤发生发展的核心离不开细胞周期调控,作为细胞周期的关键调节因子,CDKs(细胞周期蛋白依赖性激酶)与癌症发生密切相关。CDKs作为肿瘤治疗靶点早已有很多相关的研究,CDKs作为癌基因不仅在细胞调控周期中发挥着重要作用,而且在转录过程中也有极其重要的作用。有研究者发现,CDKs将成为乳腺癌和卵巢癌治疗新的靶点<sup>[12]</sup>。而PSME基因在消化道恶性肿瘤(如胃癌、肝癌、结肠癌、直肠癌)、肺癌、甲状腺恶性肿瘤和妇科恶性肿瘤(如乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌)等多种肿瘤中均有表达,存在各种不同的通路促进肿瘤形成或抑制肿瘤发生发展的作用<sup>[7]</sup>。在BC中,李胜男等<sup>[12]</sup>实验证明PSME1/2有促肿瘤作用,而乳腺癌细胞中CDK15在蛋白水平和RNA水平表达不一致,而干扰CDK15能够增加乳腺癌细胞

的侵袭和侵袭能力。与乳腺癌同为激素依赖性肿瘤的EC中,PSME1/2、CDK15提及甚少。

对98例患者EC标本的免疫组化结果分析PSME1/2、CDK15表达确实存在负相关性。而进一步的随访却未发现PSME1/2及CDK15的表达水平与患者的不良预后具有相关性,可能存在以下几种可能:①作为单中心样本可能因样本量过少而存在偏倚;②临床分期早、中期患者占比较高;③患者随访时间较短,欠缺长期随访结果;④PSME1/2-CDK15途径介导的对EC增殖和侵袭能力提高的途径并非存在于所有类型的子宫内膜癌患者中,该影响可能仅存在于某一类患者中,而其中的分类依据仍需进一步的研究发现。课题组将继续对患者进行随访,观察PSME1/2、CDK15的表达对患者长期预后的影响。

此外,有研究表明CDK15具有抑癌基因的作用<sup>[12]</sup>。然而,本研究只证明PSME1/2在转录后水平对CDK15的抑制作用,其具体的作用机制以及CDK15在EC发展的过程中是否起到抑制作用尚需进一步研究。有研究通过组织型蛋白酶体抑制剂和免疫型蛋白酶体抑制剂诱导乳腺癌细胞后检测CDK15蛋白的表达<sup>[12]</sup>,证明乳腺癌中使用了免疫型蛋白酶体抑制剂后不仅能使乳腺癌的侵袭和转移能力降低,同时CDK15蛋白表达也增加了,诠释CDK15抑制乳腺癌侵袭转移的上游调控机制。证

实该通路可能在多种癌种中发挥作用,具有作为泛癌种靶点的潜质。

本研究发现在 EC 患者标本中,CDK15 的表达与 PSME1/2 呈负相关关系。进一步的实验室研究发现,PSME1/2 对 CDK15 的表达呈现负性调节,并通过实验表明 PSME1/2 通过抑制 CDK15 的蛋白表达促进了 EC 细胞的增殖和侵袭。这提示 PSME1/2 具有促 EC 作用,可能在肿瘤形成、进展、复发和转移过程中发挥重要的作用,PSME1/2 作为新的肿瘤标志物及药物靶点具有潜在的可行性。但仍需要更多的实验来进一步探索 PSME1/2、CDK15 的相互影响过程以及在 EC 发生、发展和转移过程中的具体作用机制,为 EC 的早期筛查、诊断和治疗提供新方向和途径。

## 参 考 文 献

- [1] National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Uterine Cancer 2021 [EB/OL].(2022-01-15)[2023-10-25]. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/corp.html>.
- [2] 谢幸,孔北华,段涛.妇产科学[M].9 版.北京:人民卫生出版社,2018.
- Xie X, Kong BH, Duan T. Obstetrics and gynecology[M]. 9th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018.
- [3] 李秋霞,余贵媛,金平.年轻子宫内膜癌女性保留生育及卵巢功能的治疗进展[J].国际妇产科学杂志,2018,45(1):75-79.
- Li QX, Yu GY, Jin P. Treatment progresses on fertility preservation and ovarian preservation in young female with endometrial carcinoma[J]. J Int Obstet Gynecol, 2018, 45(1):75-79.
- [4] Giannone G, Attademo L, Scotto G, et al. Endometrial cancer stem cells: role, characterization and therapeutic implications[J]. Cancers, 2019, 11(11):1820.
- [5] Rechsteiner M, Realini C, Ustell V. The proteasome activator 11 S REG (PA28) and class I antigen presentation[J]. Biochem J, 2000, 345 (Pt 1):1-15.
- [6] Cascio P. PA28 $\alpha\beta$ :the enigmatic magic ring of the proteasome?[J]. Biomolecules, 2014, 4(2):566-584.
- [7] 李晓阳,殷雪琴,张琴,等.基于 Oncomine 数据库及生物信息学方法挖掘卵巢癌 PSME2 基因表达意义及作用机制[J].重庆医学, 2020, 49(8):1350-1353, 1357.
- Li XY, Yin XQ, Zhang Q, et al. Excavating significance and action mechanism of ovarian cancer PSME2 gene expression based on Oncomine database and bioinformatics methods[J]. Chongqing Med, 2020, 49 (8):1350-1353, 1357.
- [8] Malumbres M. Cyclin-dependent kinases[J]. Genome Biol, 2014, 15(6):122.
- [9] Park MH, Kim SY, Kim YJ, et al. ALS2CR7(CDK15) attenuates TRAIL induced apoptosis by inducing phosphorylation of survivin Thr34 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(1):129-134.
- [10] Hendrix ND, Wu R, Kuick R, et al. Fibroblast growth factor 9 has oncogenic activity and is a downstream target of Wnt signaling in ovarian endometrioid adenocarcinomas[J]. Cancer Res, 2006, 66(3):1354-1362.
- [11] Lu KH, Patterson AP, Wang L, et al. Selection of potential markers for epithelial ovarian cancer with gene expression arrays and recursive descent partition analysis[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 (10): 3291-3300.
- [12] Li SN, Dai XQ, Gong KX, et al. PA28 $\alpha\beta$  promote breast cancer cell invasion and metastasis via down-regulation of CDK15[J]. Front Oncol, 2019, 9:1283.
- [13] Bagaria M, Shields E, Bakkum-Gamez JN. Novel approaches to early detection of endometrial cancer[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2017, 29(1):40-46.
- [14] Forsse D, Tangen IL, Fasmer KE, et al. Blood steroid levels predict survival in endometrial cancer and reflect tumor estrogen signaling [J]. Gynecol Oncol, 2020, 156(2):400-406.
- [15] Reijnen C, Visser NC, Kasius JC, et al. Improved preoperative risk stratification with CA-125 in low-grade endometrial cancer: a multicenter prospective cohort study[J]. J Gynecol Oncol, 2019, 30(5):e70.
- [16] McAlpine JN, Temkin SM, MacKay HJ. Endometrial cancer: not your grandmother's cancer[J]. Cancer, 2016, 122(18):2787-2798.

(责任编辑:曾玲)