

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.30.008

文章编号: 1005-8982 (2018) 30-0037-06

泛素特异性蛋白酶 39 在非小细胞肺癌中的表达 及其对细胞增殖的影响

吉晓剑, 杨秀林, 周厚荣, 王文琴, 许新梅

(贵州省人民医院 急诊内科, 贵州 贵阳 550002)

摘要: **目的** 检测泛素特异性蛋白酶 39 (USP39) 在非小细胞肺癌组织及细胞中的表达情况, 并分析 USP39 的表达水平与 85 例非小细胞肺癌患者的临床病理特征的相关性, 及 USP39 对非小细胞肺癌细胞系增殖、凋亡和周期的影响。 **方法** 利用免疫组织化学技术检测非小细胞肺癌石蜡组织标本中 USP39 蛋白的表达情况, 分析非小细胞肺癌组织及癌旁组织中 USP39 的表达差异, 利用 Spearman 秩相关分析 USP39 与非小细胞肺癌患者临床病理特征的相关性, 利用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测非小细胞肺癌细胞系及支气管上皮样细胞系中 USP39 的表达, 利用 CCK-8 实验检测 USP39 对非小细胞肺癌细胞增殖的影响, 利用流式细胞术检测 USP39 对非小细胞肺癌细胞凋亡和周期的影响。 **结果** USP39 蛋白在非小细胞肺癌组织中的阳性率高于癌旁组织 ($P < 0.05$); USP39 蛋白的表达水平与非小细胞肺癌患者 TNM 分期呈正相关 ($P < 0.05$), 而与其他临床病理特征无相关性 ($P > 0.05$); 非小细胞肺癌细胞系中 USP39 的表达水平高于支气管上皮样细胞 ($P < 0.05$); 转染 USP39 siRNA 的非小细胞肺癌细胞增殖能力低于转染 USP39 NC 者 ($P < 0.05$); 转染 USP39 siRNA 的非小细胞肺癌细胞早期凋亡细胞比例高于转染 USP39 NC 者 ($P < 0.05$), 细胞周期被阻滞于 G₁ 期。 **结论** USP39 在非小细胞肺癌中表达升高, 与患者 TNM 分期密切相关, 可促进非小细胞肺癌的增殖。

关键词: 泛素特异性蛋白酶 39; 非小细胞肺癌; 增殖; 凋亡; 周期

中图分类号: R734

文献标识码: A

Effect of USP39 in non-small cell lung cancer

Xiao-jian Ji, Xiu-lin Yang, Hou-rong Zhou, Wen-qin Wang, Xin-mei Xu
(Department of Emergency Medicine, Guizhou Provincial People's Hospital,
Guiyang, Guizhou 550002, China)

Abstract: Objective To explore the expression of USP39 in cancer tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC) and its clinical significance both *in vivo* and *in vitro*. **Methods** A total of 85 patients with NSCLC were involved in this study. Expressions of USP39 were identified by Immunohistochemistry. Statistical methods were performed to determine the clinical relevance of USP39 in NSCLC. Quantitative real-time PCR was conducted to detect the expression of UPS39 in NSCLC cell lines and BEAS-2B cells. CCK-8 and Flow cytometry were carried out to measure cell proliferation and cell apoptosis. **Results** Positive rate of USP39 was upregulated in NSCLC tissues compared with adjacent normal tissue. Expression of USP39 was closely associated with TNM stage in NSCLC patients. USP39 was upregulated in NSCLC cell line than that in BEAS-2B cells. Cell proliferation was decreased while cell apoptosis rate was increased in NSCLC cells transfected with USP39 siRNAs when compared with those in USP39 NC group. Furthermore, cell cycle was arrested at G₁ stage in NSCLC transfected with USP39 siRNAs. **Conclusions** USP39 expression is upregulated in NSCLC and closely associated with disease prognosis.

收稿日期: 2018-05-08

Keywords: USP39; nsclc; proliferation; apoptosis; cell cycle

肺癌在全球范围的发病率高居所有肿瘤的第 3 位^[1], 而其中 75% ~ 80% 属非小细胞肺癌, 患者就诊时已处于晚期^[2]。近年来, 一系列靶向药物和免疫药物已在临床上逐步应用, 显示出良好的治疗效果, 但非小细胞肺癌的预后仍处于较低水平, 5 年总体生存率仅 11%^[3]。因此, 寻找与非小细胞肺癌进展的相关分子及潜在机制具有重要意义。

泛素特异性蛋白酶 39 (ubiquitin-specific protease, USP39) 属于泛素特异性蛋白酶家族成员^[4], 其结构由一个锌指泛素结合域和一个泛素化 C 端水解酶域组成^[5]。研究表明, USP39 在 mRNA 前体剪接中发挥着至关重要的作用。细胞中 USP39 的缺失将导致有丝分裂纺锤体检查点完整性的缺陷, 因此 USP 在细胞周期和增殖过程的调控中发挥至关重要的作用^[6]。多项研究结果显示, 沉默肿瘤细胞中 USP39 的表达可在体内和体外水平抑制肿瘤细胞的增殖^[7-8]。然而 USP39 在非小细胞肺癌组织和细胞中的表达及功能, 尚无研究报道。本研究拟通过免疫组织化学(简称免疫组化)及实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 技术检测非小细胞肺癌、癌旁组织及细胞系中 USP39 的表达情况, 并分析其临床相关性及其对细胞增殖的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 6 月 -2016 年 12 月于贵州省人民医院接受全胸腔镜非小细胞肺癌根治术的患者肿瘤组织及癌旁组织, 期间共收集患者肿瘤组织及癌旁组织 85 例。本研究入组患者详细临床病理资料见表 1。所有入选本研究的非小细胞肺癌患者术前未进行包括放疗、化疗及靶向治疗, 术中所取肿瘤组织及相应的癌旁组织, 经石蜡包埋长期储存。本研究经贵州省人民医院伦理委员会审核并批准, 所有入组患者均亲自签署知情同意书, 授权课题组使用其组织标本进行本项科学研究。

1.2 试剂与仪器

免疫组化试剂盒购于福州迈新科技发展有限公司, Lipo™ 2000 转染试剂购于美国 Invitrogen 公司, USP39 NC 及 siRNA 由美国 Sigma 公司合成, CCK-8 试剂购于日本同仁公司, SYBR premix Ex Taq II 和 5x

Prime Script RT master 购于日本 TaKaRa 公司, 细胞凋亡检测 Annexin-V 和 PI 试剂盒购于美国 BD 公司。4℃ 低温离心机购于德国 Eppendorf 公司, BD FACS Calibur 流式细胞仪购于美国 BD 公司。

1.3 免疫组化检测 USP39 蛋白在肺非小细胞肺癌及矮胖组织中表达

二甲苯脱蜡 2 次, 100% ~ 70% 梯度酒精脱蜡。柠檬酸盐缓冲液高压修复 90 s。30 ml/L 过氧化氢孵育 20 min, 磷酸盐缓冲液清洗 5 min × 5 次。兔抗人 USP39 单克隆抗体 (ab131244, 英国 Abcam 公司) (1 : 100) 4℃ 孵育过夜, 磷酸盐缓冲液清洗 5 min × 5 次。加入聚合物增强剂 (美国 Sigma 公司), 37℃ 孵育 20 min, 磷酸盐缓冲液清洗 5 min × 5 次。加入酶抗兔聚合物放大剂 (美国 Sigma 公司), 37℃ 孵育 15 min, 磷酸盐缓冲液清洗 5 min × 5 次。二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine, DAB) (美国 Sigma 公司) 显色, 苏木素 (美国 Sigma 公司) 复染, 1 ml/L 盐酸酒精分化, 磷酸盐缓冲液返蓝, 脱水, 透明, 封片。染色结果判定流程为: 已染色的石蜡组织片子随机选取 10 个视野, 每个视野计数 100 个细胞, 将呈现棕色或黄色的细胞定义为阳性细胞, 统计阳性细胞的百分率, 染色结果根据阳性细胞百分率及着色程度综合判断。将阳性细胞百分率 >25%、及不着色或较淡着色者判定为 USP39 阴性, 将阳性细胞百分率 <35%、及染色呈现适中着色或深着色者为阳性。免疫组化染色结果由两位病理科医师以双盲的方式完成, 两者不一致的结果请上级病理医师与两人经多镜头显微镜下讨论得出一致结果。

1.4 RNA 提取及反转录

RNA 提取采用 Trizol 法, Trizol 购自美国 Sigma 公司, 非小细胞肺癌细胞经胰酶消化 5 min, 加含血清的培养基终止反应, 离心后弃去废液, 加入 1 ml Trizol 室温裂解 5 min。12 000 r/min 4℃ 离心 5 min, 上清转移至一新离心管中。加入裂解液 1/5 体积的氯仿, 用力振荡至充分乳化。12 000 r/min 4℃ 离心 15 min (德国 Eppendorf 公司)。吸取上清液至一新的离心管中, 加入等体积异丙醇, 上下颠倒 15 次, 静置 10 min。12 000 r/min 4℃ 离心 15 min。弃去上清, 加入 75% 的乙醇 1 ml, 12 000 r/min 4℃ 离心 5 min。所得沉淀加入 20 μl 去离子水, 即为所需 RNA。逆转录采用 10 μl

体系, RNA 定量后, 取 1 μl RNA, 加入 5 \times Prime Script RT master (日本 TaKaRa 公司) 2 μl , 7 μl 去离子水。轻柔混匀后, 进行逆转录反应。反应条件为: 37 $^{\circ}\text{C}$ 15 min 使 RNA 逆转录为 cDNA, 85 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 s, 置入 4 $^{\circ}\text{C}$ 储存。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应检测 USP39 mRNA 的表达水平

采用日本 TaKaRa 公司 SYBR premix Ex Taq II 试剂盒进行 qRT-PCR。PCR 反应采用 25 μl 体系, 配置 PCR 反应液, 组分如下: SYBR premix Ex Taq II 12.5 μl , USP39 或 β -actin 正向引物 1 μl , USP39 或 β -actin 反向引物 1 μl , 实时荧光定量产物 2 μl , 去离子水 8.5 μl 。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 扩增 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 共 40 个循环。反应结束后样品保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 。USP39 引物序列如下: 正向 5'-GGCA GTAAACTTGAGGGTGT-3', 反向 5'-TTGAAGTCTCA CGCCTACATTC-3'; β -actin 引物序列如下: 正向 5'-C GTCTTCCCCTCCATCGT-3', 反向 5'-GAAGGTGTGGTG CCAGATTT-3'。计算公式为: USP39 相对表达量: $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}} = 2^{-(\text{CT USP39} - \text{CT } \beta\text{-actin}) - (\text{CT USP39} - \text{CT } \beta\text{-actin})_{\text{校准样本}}}$ 。

1.6 细胞转染 USP39 siRNA 及 NC

USP39 正常对照 (normal control, NC) 及小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 由美国 Sigma 公司合成, 按说明书剂量使用 DEPC 水溶解 USP39 NC 及 siRNA 后, 各取 5 μl 加入 250 μl 无血清培养基中, 另取 5 μl LipoTM 2000 转染试剂 (美国 Invitrogen 公司) 加入 250 μl 无血清培养基中, 将两溶液混匀, 室温反应 20 min。逐滴加入 6 孔板中, 分别命名为 USP39 NC 组和 USP39 siRNA 组。

1.7 细胞增殖与凋亡检测

96 孔板配置 100 μl 转染 USP39 NC 或 siRNA 细胞悬液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% 二氧化碳 CO_2 条件下培养 24 h, 向培养板中加入 10 μl CCK-8 溶液 (日本同仁公司), 在培养箱中孵育 1.5 h, 在 450 nm 波长下测定吸光度值 (optical density, OD)。

将转染 USP39 NC 及 USP39 siRNA 的细胞消化后离心 5 min, 加入流式洗液 5 ml 清洗 2 次, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃去废液, 加入 PI 及 FITC-Annexin V (美国 BD 公司), 室温孵育 20 min, 上机检测。凋亡检测所用流式细胞仪型号为美国 BD 公司 FACS Caliur, 所

得数据采用随机自带软件分析。

1.8 细胞周期检测

将转染 USP39 NC 及 USP39 siRNA 的细胞消化后离心 5 min, 加入流式洗液 5 ml 清洗 2 次, 1000 r/min 离心 5 min, 弃去废液, 加入 PI (美国 BD 公司) 室温孵育 20 min, 上机检测。凋亡检测所用流式细胞仪为 BD FACS Caliur (美国 BD 公司), 所得数据采用美国 Verity Software House 公司 Mod Fit LT 软件分析。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间阳性例数差异分析采用 χ^2 检验。相关性分析应用 Spearman 秩相关。计量资料 3 组间的比较, 首先采用方差分析, 用 LSD-*t* 检验进行两两比较。计量资料两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 USP39 蛋白在非小细胞肺癌及癌旁组织中的表达情况

免疫组织化学结果显示, 非小细胞肺癌中 USP39 表达于肿瘤细胞包膜及包浆, 非小细胞肺癌中 USP39 阳性例数为 53 例 (62.353%), 非小细胞肺癌组织中典型 USP39 蛋白阳性及阴性表达见图 1A、B。癌旁组织中未检测到 USP39 的阳性表达 (0.000%), 癌旁组织中 USP39 蛋白典型阴性表达见图 1C。两组间 USP39 阳性率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), USP39 蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达较癌旁组织上调。见表 1。

2.2 USP39 的表达与非小细胞肺癌患者临床病理特征的关系

USP39 的表达水平与非小细胞肺癌患者 TNM 分期呈正相关, 而与其他病理特征无相关性。见表 1。

2.3 USP39 在非小细胞肺癌细胞中的表达

qRT-PCR 结果显示 USP39 在正常支气管上皮 BEAS-2B 细胞中的相对表达水平为 (1.000 \pm 0.156), 非小细胞肺癌细胞系 A549 及 H460 分别为 (3.513 \pm 0.374) 和 (4.174 \pm 0.516), 3 组间比较差异有统计学意义 ($F = 19.412$, $P = 0.014$); A549 和 H460 中的 USP39 相对表达水平高于正常支气管上皮 BEAS-2B 细胞 (均 $P < 0.05$)。转染 USP39 NC 的 A549 中 USP39 的表达水平为 (1.000 \pm 0.087), 转染 USP39 siRNA

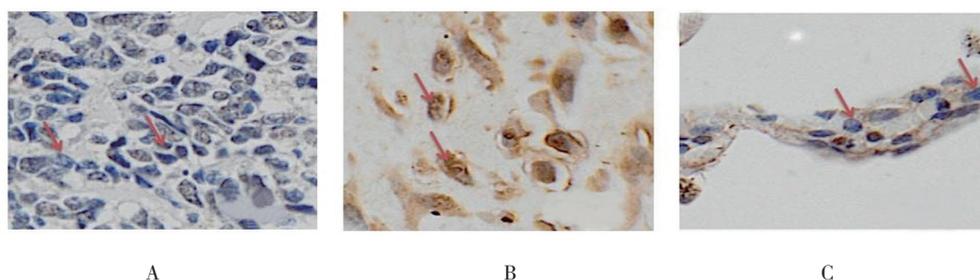


图 1 USP39 蛋白在非小细胞肺癌组织及癌旁组织中的表达 (×400)

表 1 非小细胞肺癌患者不同临床病理特征
癌组织 USP39 阳性表达率的比较

临床病理特征	例数	阳性率 例 (%)	r_s 值	P 值
年龄				
≤ 50 岁	37	19 (51.351)	0.417	0.103
>50 岁	48	34 (70.833)		
性别				
男	49	32 (65.306)	0.183	0.745
女	36	21 (58.333)		
吸烟史				
无	32	16 (50.000)	0.277	0.314
有	53	37 (69.811)		
肿瘤分化				
好	41	21 (51.220)	0.319	0.178
中 / 差	44	32 (72.727)		
肿瘤直径				
≥ 5 cm	33	22 (66.667)	0.213	0.517
<5 cm	52	31 (59.615)		
TNM 分期				
I、II 期	48	21 (43.750)	0.853	0.023
III、IV 期	37	32 (86.486)		

的 A549 中 USP39 的表达水平为 (0.315 ± 0.043) , 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=3.781, P=0.034$)。转染 USP39 NC 的 H460 中 USP39 的表达水平为 (1.000 ± 0.104) , 转染 USP39 siRNA 的 H460 中 USP39 的表达水平为 (0.273 ± 0.032) , 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=3.975, P=0.031$), USP39 siRNA 组非小细胞肺癌中 USP39 表达水平较转染 USP39 NC 组降低。

2.4 USP39 对非小细胞肺癌细胞增殖的影响

USP39 NC 组与 USP39 siRNA 转染后 24、48、72、96 及 120 h 的 OD 值比较, 采用重复测量设计的方差分

析, 结果: ①不同时间点的 OD 值有差异 (A549: $F=37.142, P=0.016$; H460: $F=41.421, P=0.011$); ②USP NC 组与 USP39 siRNA 组在转染后 120 h 时间点的 OD 值有差异 (A549: $F=21.513, P=0.031$; H460: $F=19.451, P=0.042$)。在 120 h 时, USP39 siRNA 组时 OD 值低于 USP39 NC 组。③USP39 NC 组与 USP39 siRNA 组的 OD 值变化趋势有差异 (A549: $F=23.514$ 和 $21.151, P=0.031$ 和 0.038)。见表 2 和图 3。

表 2 转染 USP39 siRNA 与 NC 的非小细胞肺癌增殖情况

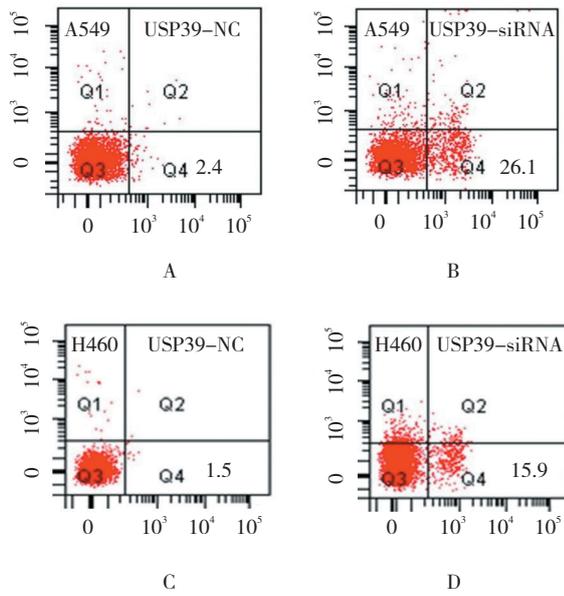
指标	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
A549					
USP39 NC	0.200	0.485	0.692	0.914	1.242
USP39 siRNA	0.200	0.364	0.519	0.692	0.832
H460					
USP39 NC	0.200	0.512	0.835	1.146	1.532
USP39 siRNA	0.200	0.331	0.501	0.638	0.769

2.5 USP39 对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响

转染 USP39 siRNA 组非小细胞肺癌细胞凋亡细胞百分比为 (24.872 ± 3.522) 和 (16.324 ± 0.423) , 转染 USP39 NC 组非小细胞肺癌细胞凋亡细胞百分比为 (2.319 ± 0.325) 和 (1.423 ± 0.321) , 经 t 检验, 差异有统计学意义 (A549: $t=5.982, P=0.014$, H460: $t=3.291, P=0.034$), USP39 siRNA 组凋亡细胞百分比高于 USP39 NC 组。见图 2。

2.6 USP39 对非小细胞肺癌细胞周期的影响

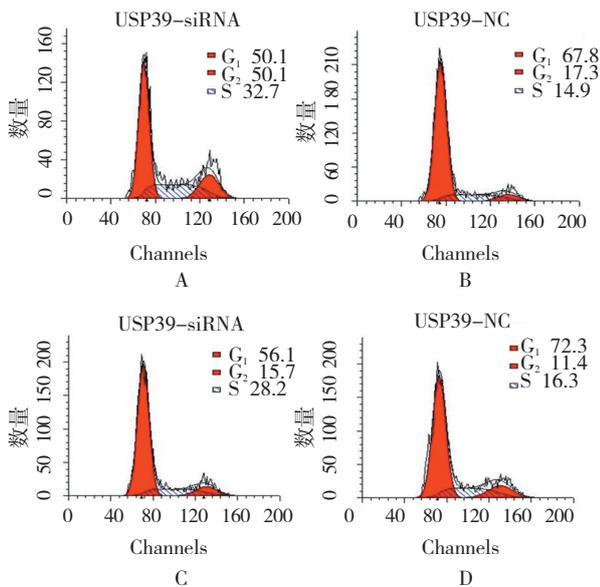
转染 USP39 siRNA 组非小细胞肺癌细胞 G_1 期细胞百分比为 (50.321 ± 3.241) 和 (56.253 ± 1.458) , S 期细胞百分比为 (34.151 ± 3.815) 和 (27.891 ± 3.871) ; 转染 USP39 NC 组非小细胞肺癌 G_1 期细胞百分比为



A: 转染 USP39-NC 的 A549 细胞凋亡情况; B: 转染 USP39-siRNA 的 A549 细胞凋亡情况; C: 转染 USP39-NC 的 H460 细胞凋亡情况; D: 转染 USP39-siRNA 的 H460 细胞凋亡情况

图 2 USP39 的表达对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响

(68.182 ± 2.357) 和 (72.831 ± 1.551), S 期细胞百分比为 (14.721 ± 4.124) 和 (16.913 ± 1.118)。经 *t* 检验, 差异有统计学意义 (A549 : $t=4.323, P=0.023$, H460 : $t=4.851, P=0.027$), USP39 siRNA 组 G₁ 期细胞百分比高于 USP39 NC 组, 而 S 细胞百分比低于 USP39 NC 组。见图 3。



A: 转染 USP39-NC 的 A549 细胞周期分布; B: 转染 USP39-siRNA 的 A549 细胞周期分布; C: 转染 USP39-NC 的 H460 细胞周期分布; D: 转染 USP39-siRNA 的 H460 细胞周期分布

图 3 USP39 的表达对非小细胞肺癌细胞周期的影响

3 讨论

本研究结果显示, USP39 蛋白在非小细胞肺癌组织中表达升高, 其表达水平与非小细胞肺癌患者 TNM 分期密切相关。而 USP39 在非小细胞肺癌细胞中的表达水平高于正常支气管上皮细胞, 沉默非小细胞肺癌细胞中 USP39 的表达后, 非小细胞肺癌细胞增殖受到抑制, 细胞凋亡比例提高, 细胞周期被阻滞于 G₁ 期。

去泛素化蛋白酶 (DUBs) 可介导生物体内的泛素的去除和加工, 在蛋白转录后的调控中起着至关重要的作用。目前已鉴定出近 100 种去泛素化酶, 分为 5 个家族, 泛素化 C 端水解酶家族, 泛素特异性蛋白酶家族, 卵巢肿瘤蛋白酶家族, JAMM motif 蛋白酶家族, 和 MJD 病蛋白酶家族^[4]。USP39 是泛素特异性蛋白酶家族成员, 但 USP39 因缺乏 3 个重要活化位点的残基而无泛素化蛋白酶活性。但 USP39 对于 U4/U6-U5 三聚体 snRNA 的招募至关重要, 而对于三聚体 snRNA 稳定性的维持却无作用^[5]。细胞中 USP39 的缺失将导致有丝分裂纺锤体检查点完整性的缺陷, 其可能的机制为 USP39 调控 Aurora B 和其他 mRNA 的表达水平^[6]。近年来一系列研究显示, USP39 在肿瘤的发生、发展中亦发挥着重要的作用。在结肠癌^[9]、骨肉瘤^[10]中, 研究发现 USP39 在肿瘤组织中的表达高于配对癌旁组织。生物信息学数据库挖掘研究显示, USP39 在肺癌组织中的表达上调^[11]。值得注意的是, 该研究仅基于生物信息学数据库的挖掘证实 USP39 在肺癌组织中表达上调, 并进一步深入研究在肺癌各分型中 USP39 的表达情况, 及 USP39 与肺癌临床病理特征的关系。与该研究结果相符, 本研究结果显示 USP39 在非小细胞肺癌肿瘤组织及细胞中的表达水平高于癌旁组织和正常支气管上皮细胞。更为重要的是, 笔者的研究结果显示 USP39 与非小细胞肺癌的 TNM 分期密切相关。以上研究结果提示, USP39 可能参与调控非小细胞肺癌的发生及进展, 是潜在致癌分子。

在斑马鱼中, USP39 的变异可阻滞细胞周期与 G₁ 期, 并可下调 rb1 的表达水平^[12]。近年来, 一系列研究表明 USP39 在肿瘤中可作用致癌性分子发挥作用, USP39 在乳腺癌^[13-14]、肝细胞癌^[8, 15]和甲状腺髓样癌^[7]中的表达水平上调。沉默 USP39 的表达水平可阻滞细胞周期并促进细胞凋亡, 其可能的机制为 USP39 上调 p-Cdc2 并下调 p-Cdc25c 和 p-myt1 的表达^[8]。沉默口腔鳞状细胞癌中 USP39 的表达后, 细胞

增殖收到抑制, 细胞周期被阻滞于 S 期和 G₁/M 期, 此外, 沉默 USP39 还可通过活化 Caspase-3 和 PARP 而促进口腔鳞状上皮细胞凋亡^[16]。更为重要的是, 研究发现沉默人巨细胞肺癌细胞系 95D 中 USP39 的表达后, 细胞的克隆形成能力降低, 凋亡细胞比例增高^[11]。与既往研究结果相符, 本研究结果显示, 沉默非小细胞肺癌中 USP39 的表达后, 肿瘤细胞的增殖受到抑制, 而细胞凋亡比例则提升, 细胞周期被阻滞于 G₁ 期。结合既往研究和本研究结果可更充分的证明 USP39 在肿瘤进展中的致癌作用, 其是极具潜力的肿瘤治疗分子靶点。

综上所述, USP39 在非小细胞肺癌组织和细胞中的表达水平高于癌旁组织或正常支气管上皮细胞, USP39 与非小细胞肺癌患者 TNM 分期密切相关, 沉默非小细胞肺癌细胞中 USP39 的表达后, 非小细胞肺癌细胞增殖受到抑制, 细胞凋亡比例提高, 细胞周期被阻滞于 G₁ 期。提示 USP39 可促进非小细胞肺癌细胞增殖, 可做为非小细胞肺癌生物治疗研究的潜在分子靶点。

参 考 文 献:

- [1] TORRE LINDSEY A, BRAY FREDDIE, SIEGEL REBECCA L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] HAN Y, JIA C Y, CONG X L, et al. Increased expression of TGF-beta R2 is associated with the clinical outcome of non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134682.
- [3] FANG Y, FU D, SHEN X Z, The potential role of ubiquitin c-terminal hydrolases in oncogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1806(1): 1-6.
- [4] FRAILE J M, QUESADA V, RODRIGUEZ D, et al. Deubiquitinases in cancer: new functions and therapeutic options[J]. *Oncogene*, 2012, 31(19): 2373-2388.
- [5] MAKAROVA OLGA V, MAKAROV EVGENY, LUHRMANN Reinhard, the 65 and 110 kD SR-related proteins of the U4/U6. U5 tri-snRNP are essential for the assembly of mature spliceosomes[J]. *EMBO J*, 2001, 20(10): 2553-2563.
- [6] van LEUKEN RENSKE J, LUNA-VARGAS MARK P, SIXMA TITIA K, et al. Usp39 is essential for mitotic spindle checkpoint integrity and controls mRNA-levels of aurora B[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(17): 2710-2719.
- [7] AN Y, YANG S W, GUO K L, et al. Reduced USP39 expression inhibits malignant proliferation of medullary thyroid carcinoma in vitro[J]. *World J Surg Oncol*, 2015, 13(1): 255.
- [8] YUAN X W, SUN X, SHI X L, et al. USP39 promotes the growth of human hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(2): 823-832.
- [9] YUAN X W, SUN X, SHI X L, et al. USP39 promotes colorectal cancer growth and metastasis through the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(4): 2398-2404.
- [10] GAN Z H, HAN K, LIN S C, et al. Knock down of ubiquitin-specific peptidase 39 inhibited the growth of osteosarcoma cells and induced apoptosis in vitro[J]. *Biol Res*, 2017, 50(1): 15.
- [11] LIN Z F, XIONG L W, LIN Q, Ubiquitin-specific protease 39 is overexpressed in human lung cancer and promotes tumor cell proliferation in vitro[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 422(1/2): 97-107.
- [12] RIOS YESENIA, MELMED SHLOMO, LIN SHUO, et al. Zebrafish USP39 mutation leads to rb1 mRNA splicing defect and pituitary lineage expansion[J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(1): e1001271.
- [13] WANG H B, JI X J, LIU X P, et al. Lentivirus-mediated inhibition of USP39 suppresses the growth of breast cancer cells in vitro[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(6): 2871-2877.
- [14] LIU S H, LIU X P, WANG H B, et al. Lentiviral vector-mediated doxycycline-inducible USP39 shRNA or cDNA expression in triple-negative breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(5): 2477-2483.
- [15] PAN Z Y, PAN H, ZHANG J, et al. Lentivirus mediated silencing of ubiquitin specific peptidase 39 inhibits cell proliferation of human hepatocellular carcinoma cells in vitro[J]. *Biol Res*, 2015, 48(1): 18.
- [16] LI K Y, ZHANG J, JIANG L C, et al. Knockdown of USP39 by lentivirus-mediated RNA interference suppresses the growth of oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 16(1): 137-144.

(王荣兵 编辑)