基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003681

USP53 在结直癌中的抗肿瘤作用及其预后价值的研究

李辰皓[1]，游舒云[1]，王雪莲[1]，苏林杰[1]，左　中[2]，朱宇熹[1]
（1.重庆医科大学附属第一医院肿瘤科，重庆　400016；2.重庆医科大学附属第一医院心血管内科，重庆　400016）

【摘　要】目的：泛素特异性蛋白酶53（ubiquitin-specific protease 53，USP53）在结直肠癌（colon adenocarcinoma，COAD）中的临床意义和潜在机制尚不清楚。本研究采用生物信息学结合体外细胞学实验，观察USP53对结直肠癌细胞的抗癌作用。**方法：**分析来自TCGA-COAD和GEO数据库（GSE39582数据集）的USP53表达数据。通过KEGG、GO和GSEA富集分析，探讨USP53可能参与的生物过程和信号通路。通过免疫浸润分析、药物敏感性分析结合CLUE平台和分子对接技术，预测潜在可用于治疗的小分子化合物。通过10种机器学习算法和101种集成组合构建预后预测模型，通过体外实验验证USP53的生物功能。**结果：**USP53在COAD中具有抗肿瘤作用，低表达与较差的预后相关（$P<0.05$）。免疫浸润分析显示USP53低表达组有更高的免疫浸润水平，以及更高的TIDE和功能障碍评分（$P<0.01$）。体外实验表明，USP53过表达抑制了肿瘤细胞的增殖和迁移（$P<0.05$），并抑制了上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）。**结论：**USP53通过影响EMT、凋亡、细胞周期调控和肿瘤免疫逃逸等机制发挥抗肿瘤作用，可能成为COAD的新型预后标志物。

【关键词】泛素特异性蛋白酶53；结直肠癌；生物信息学；预后分析
【中图分类号】R735.3　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2024-10-31

Anti-tumor effect and prognostic value of ubiquitin-specific protease 53 in colorectal cancer

Li Chenhao[1]，*You Shuyun*[1]，*Wang Xuelian*[1]，*Su Linjie*[1]，*Zuo Zhong*[2]，*Zhu Yuxi*[1]
（*1. Department of Oncology，The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University；*
2. Department of Cardiology，The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University）

【Abstract】*Objective*：To investigate the antitumor effect of ubiquitin-specific protease 53（USP53）in colon adenocarcinoma（COAD）cells using bioinformatics methods combined with *in vitro* cellular experiments，since the clinical significance and potential mechanisms of USP53 in COAD remains unclear. ***Methods*：**The expression data of USP53 from TCGA-COAD and GEO database（GSE39582 cohort）were analyzed，and KEGG，GO，and GSEA enrichment analyses were used to explore the biological processes and signaling pathways in which USP53 might be involved. The immune infiltration analysis and drug sensitivity analysis，along with the CLUE platform and molecular docking techniques，were used to predict the potential small-molecule compounds for treatment. A prognostic prediction model was established using 10 machine learning algorithms and 101 ensemble combinations，and *in vitro* experiments were performed to validate the function of USP53. ***Results*：**USP53 exhibited an antitumor effect in COAD，and the low expression of USP53 was associated with poor prognosis（$P<0.05$）. The immune infiltration analysis showed that the low USP53 expression group had a higher level of immune infiltration，as well as higher TIDE and dysfunction scores（$P<0.01$）. *In vitro* experiments showed that USP53 overexpression inhibited the proliferation and migration of tumor cells and inhibited epithelial-mesenchymal transition（EMT）（$P<0.05$）. ***Conclusion*：**USP53 exerts an antitumor effect by influencing the mechanisms such as EMT，apoptosis，cell cycle regulation，and tumor immune escape，and it may become a novel prognostic marker for COAD.

【Key words】ubiquitin-specific protease 53；Colon adenocarcinoma；bioinformatics；prognostic analysis

结直肠癌（colon adenocarcinoma，COAD）是全球第三大常见癌症，也是癌症相关死亡的第二大原因[1]。目前，东欧、亚洲和南美洲，COAD的发病率和死亡率正在急剧上升[2]。预计到2035年，全球将新增250万例COAD病例[3-4]。在过去的十年中，尽管手术、化疗、靶向治疗和免疫治疗明显提高了COAD

作者介绍：李辰皓，Email：lichenhao0105@163.com，研究方向：结直肠癌发病机制。
通信作者：朱宇熹，Email：zhuyuxi@hospital.cqmu.edu.cn。
基金项目：重庆医科大学未来医学青年创新团队支持计划资助项目（编号：W0188）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241226.1627.030（2024-12-27）

患者的生存率，但早期筛查和诊断的局限，致使这种疾病仍然是全球健康领域的一大挑战。患者的预后普遍较差，且复发率依然居高不下[5]。因此，识别新的治疗靶点和预后标志物对于改善COAD患者的临床结局至关重要。

研究发现，COAD的发生与泛素化和去泛素化酶的异常表达和活性失常密切相关[6-7]。泛素特异性蛋白酶53（ubiquitin-specific protease 53，USP53）是一种去泛素化酶，被发现参与胆汁淤积、听力损失以及促进人骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化[8-11]。近年来的研究发现USP53作为一种抑癌基因发挥作用[12-13]。然而，其在COAD中的作用仍不明确。在本研究中，利用生物信息学方法分析了TCGA-COAD和GSE39582数据集，探讨了USP53在结直肠癌中的潜在作用，并通过细胞实验验证了其生物学功能。

1 材料与方法

1.1 数据获取与处理

从GEO（GSE39582）和TCGA（TCGA-COAD）数据库下载了转录组和临床数据。GSE39582数据集包括19个健康结肠组织样本和566个结直肠癌组织样本。TCGA-COAD数据集包含41个健康组织样本和480个结直肠癌组织样本。

1.2 Kaplan-Meier曲线分析

采用“survminer”包中的surv_cutpoint函数确定最佳cut-off值，将样本分为USP53高表达组和低表达组。随后，通过“survival”包对分组进行log-rank检验，检验水准α=0.05。最后，利用“survminer”包进行数据可视化。

1.3 差异分析和富集分析

采用*R*语言中的“limma”包进行差异表达分析[14]，筛选标准为｜Log2FC｜>0.5且校准后的*P*值<0.05，以识别显著差异表达的基因。使用“clusterProfiler”包进行基因本体（Gene Ontology，GO）注释和基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）功能注释以及基因集富集分析（Gene Set Enrichment Analysis，GSEA）[15]。GSEA结果通过“ggplot2”包进行可视化。从MSigDB数据库下载了“c2.all.v2023.1.Hs.symbols”和“c5.all.v2023.1.Hs.symbols”基因集，进一步用于执行GSEA富集分析。

1.4 免疫浸润分析

采用“estimate”包计算了TCGA-COAD和GSE39582数据集中每个样本的免疫评分和基质评分[16]。随后，使用Wilcoxon检验分析不同集群之间免疫评分和基质评分的差异。使用“GSVA”包计算每个样本的免疫浸润情况[17-18]，并进行了肿瘤免疫功能障碍与排斥（Tumor Immune Dysfunction and Exclusion，TIDE）分析[19]，该分析可用于检查不同USP53表达组之间的免疫功能障碍和排斥差异。

1.5 scRNA-seq分析

利用TISCH数据库对GSE166555和GSE146771数据集中不同细胞类型的USP53表达水平进行了评估，并对肿瘤样本、正常样本和外周血单核细胞（peripheral blood mononuclear cell，PBMC）中不同细胞亚型的USP53表达水平进行了比较。

1.6 药物敏感性及分子对接

采用“oncoPredict”包预测了半数抑制浓度（IC_{50}）值，以便评估体外和体内环境中药物和生物标志物的潜在作用。基于基因表达谱，利用Clue平台将基因、靶向药物和疾病联系起来，并将USP53相关高表达组和低表达组的差异表达基因提交至Clue平台，帮助识别可能改善癌症进展的潜在治疗药物。为进一步获得识别的小分子的三维结构，查询了PubChem数据库。进一步通过Swiss Model数据库预测了USP53的蛋白质结构。接下来，采用AutoDock Vina软件进行了小分子与蛋白质的分子对接，并使用PyMOL对对接结果进行可视化分析。

1.7 机器学习

应用10种机器学习算法和101种集成组合，包括Elastic Net（Enet）、Lasso、随机生存森林（RSF）、Ridge、Cox Boost、监督主成分分析（SuperPC）、StepCox、Cox模型的偏最小二乘回归（plsRcox）、生存支持向量机（survival-SVM）和广义增强回归模型（GBM），以系统性评估USP53相关基因的预后价值[20]。以TCGA数据集为训练集，排除了生存时间为0的数据样本，并在GSE39582数据集上验证了模型的稳健性。模型的准确性通过Kaplan-Meier（KM）生存分析曲线及时间依赖的ROC曲线进行了综合评估。

1.8 细胞培养与质粒

HCT116细胞购自中国科学院细胞库（上海，中国），在含有10%胎牛血清、100单位/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基中培养，培养条件为37 ℃、5% CO_2。从森灵生物平台购得质粒pCMV-USP53-FLAG（P21845）和pCMV-Script（P58978）质粒，并使用Lipofectamine 3000试剂（Thermo Fisher Scientific，美国）进行细胞转染。

1.9 实时荧光定量PCR（quantitative teal-time polymerase chain reaction，qPCR）与Western blot

对于qPCR实验，在Trizol试剂（Invitrogen，美国）提取RNA后，使用RNA逆转录试剂盒（Takara，日本）合成cDNA。在Bio-Rad CFX96系统（Bio-Rad，美国）上进行了定量实时PCR实验，并使用β-actin作为内参基因，通过2-ΔΔCt方法计算mRNA水平。对于WB实验，在用磷酸盐缓冲液（phosphate buffered salin，PBS）清洗细胞2次后，使用细胞裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂的混合物提取总蛋白。这一过程产生了20 mg的蛋白样本，这些样本于10%的聚丙烯酰胺SDS凝胶在120 V恒压下分离，然后在200 mA恒流下转移到PVDF膜上。USP53一抗（Immunoway，美国）孵育过夜后，洗涤后，再用二抗（Abcam，英国）孵育，免疫反应条带通过增强型化学发光（ECL）系统（Bio-Rad，美国）显影。

1.10 细胞增殖与划痕试验

将HCT116细胞以每孔1 500个细胞的密度接种于96孔

板，进行细胞增殖实验。连续 5 d 使用 IncuCyte ZOOM 活细胞成像系统（Essen BioScience，美国）进行细胞计数和分析。对于划痕实验，于 96 孔板中每孔接种 40 000 个细胞使得密度约为 80%～90%。当细胞贴壁后，使用 WoundMaker™在细胞表面造成划痕，并在 36 h 后由 IncuCyte ZOOM 活细胞成像系统记录划痕区域。

1.11 集落形成实验

以每孔 1 200 个细胞的密度接种于六孔板，并在 37 ℃下培养。培养 8 d 后，细胞用 4% 的多聚甲醛固定，随后用 0.1% 的结晶紫染色。使用 ImageJ 软件拍摄照片并进行分析。

1.12 临床样本采集与免疫组化试验

从重庆医科大学病理教研室收集了 8 例结直肠癌及其癌旁组织的石蜡包埋切片。切片在 4 ℃下与 USP53 一抗孵育过夜，随后用 ZSGB-BIO 的抗兔 IgG 二抗孵育，并采用 3,3′-二氨基联苯胺（DAB）染色。染色后的切片通过 Pannoramic Scan 250 Flash 扫描仪扫描，图像由 Pannoramic Viewer 1.15.2 软件（3DHistech，匈牙利布达佩斯）采集并进行分析。这项研究遵循赫尔辛基宣言的相关规定，专门为人类参与者设计，并获得了重庆医科大学第一附属医院医学研究伦理委员会的批准。

1.13 统计学分析

数据分析使用 R 软件（版本 4.1.1）进行。对于符合正态分布的连续变量，2 组之间的比较采用 t 检验。差异基因表达分析中，使用 Benjamini-Hochberg（BH）方法调整 P 值，检验水准 α=0.05。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）的形式呈现。

2 结 果

2.1 USP53 在结直肠癌中低表达并与不良预后相关

TCGA-COAD 数据库（癌旁组织：4.204 30 ± 0.440 92，肿瘤组织：3.692 80 ± 0.814 04，P<0.001）和 GSE39582 数据集（癌旁组织：6.520 90 ± 0.495 78，肿瘤组织：5.651 20 ± 0.590 94，P<0.001）分析结果显示，USP53 在结直肠癌的 mRNA 水平明显降低（图 1A、B）。通过对 TCGA 数据库中样本进行配对 t 检验，发现 COAD 组织中的 USP53 mRNA 水平明显低于正常组织（癌旁组织：4.204 30 ± 0.440 92，肿瘤组织：3.569 10 ± 0.918 87，P<0.001，图 1C）。临床数据样本的 KM 生存曲线分析表明，USP53 表达水平低与总生存率降低相关（TCGA 数据集：P<0.001，GSE39582 数据集：P=0.036，图 1D）。

2.2 USP53 调控结直肠癌的生物信息学通路分析

使用 2 组数据集的 KM 曲线分组数据进行了差异基因表达分析。基于筛选出的差异表达基因及其 logFC 值，进一步进行了 KEGG 和 GO 富集分析。KEGG 富集分析结果显示，这些差异表达基因明显富集于细胞周期、FOXO 信号通路、p53 信号通路和趋化因子信号通路等关键途径（图 2A、B）。GO 富集分析则表明，USP53 的过表达在钙黏蛋白结合、DNA 复制、细胞周期正向调控及免疫细胞趋化等生物过程中具有明显作用（图 2A、B）。此外，基于所有基因的 logFC 值进行了

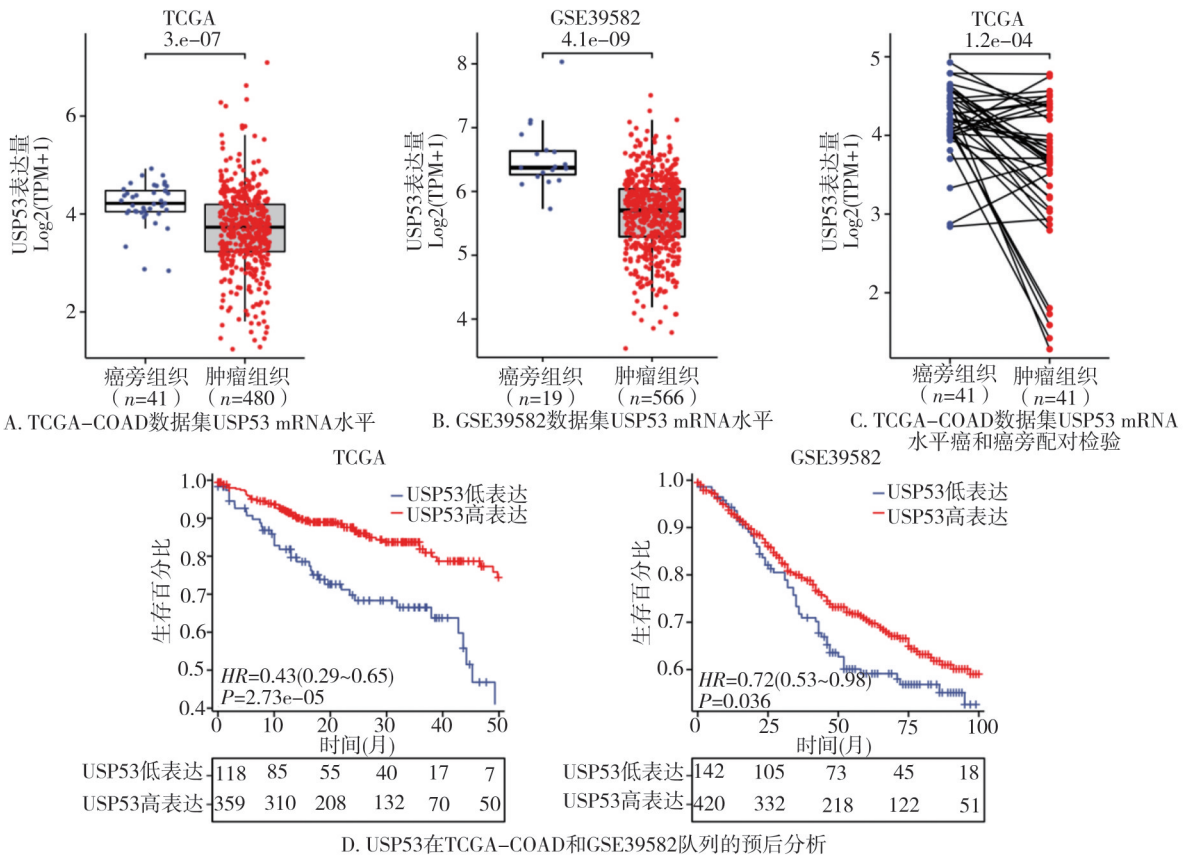
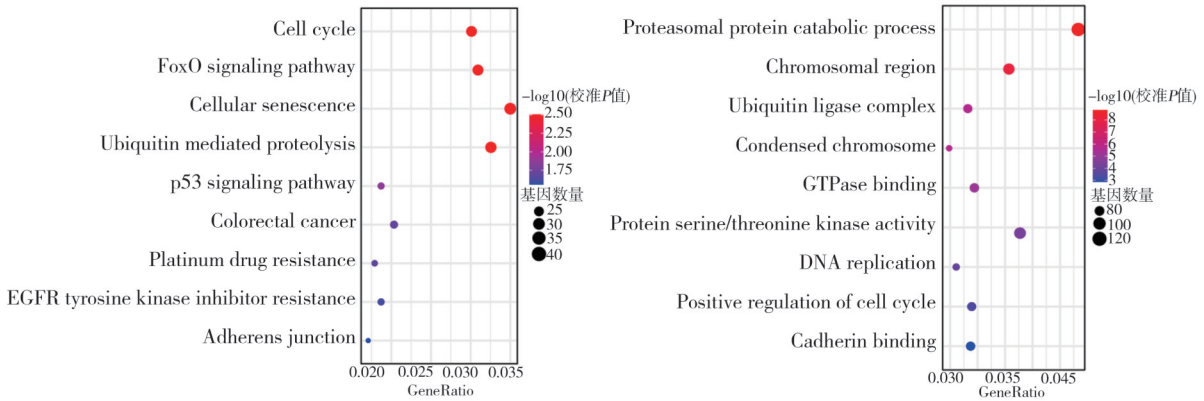


图 1 USP53 在结直肠癌中低表达并与不良预后相关

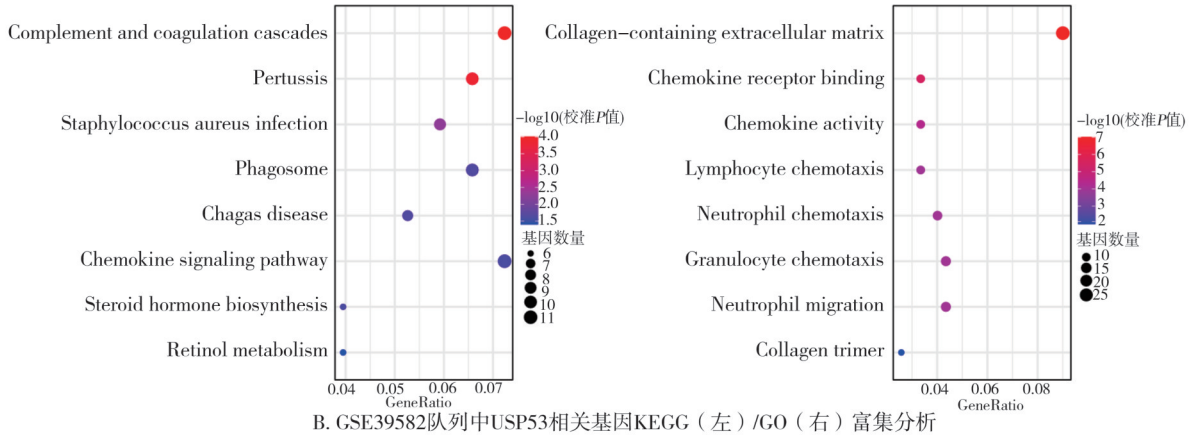
KEGG基因集的GSEA富集分析。结果显示，在2个数据库中，USP53高表达组的T细胞信号通路和细胞凋亡通路明显上调（图2C）。上述结果表明，USP53的过表达可能通过调控以上信号通路，从而导致2组之间在预后结果出现明显差异。

2.3　USP53在结直肠癌中的免疫浸润分析

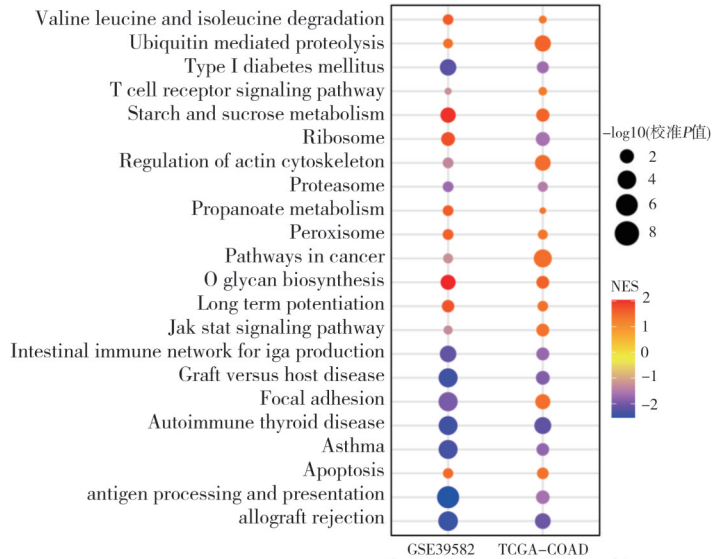
通过Estimate方法分析结果显示，TCGA数据集USP53高表达组的免疫分数（低表达组：778.42 ± 710.76，高表达组：530.24 ± 650.65，P=0.005）以及总分低于低表达组（低表达组：778.42 ± 710.76，高表达组：530.24 ± 650.65，P=0.020），GSE39582数据集USP53高表达组的基质分数（低表达组：139.63 ± 704.96，高表达组：−216.53 ± 733.60，P<0.001）、免疫分数（低表达组：1 299.50 ± 667.98，高表达组：983.05 ± 644.44，P<0.001）以及总分（低表达组：1 439.10 ± 1 267.60，高表达组：766.52 ± 1 278.40，P<0.001）均低于低表达组（图3A）。此外，ssGSEA结果显示，高USP53表达组的免疫细胞浸润和功能水平均有所降低（图3B、C）。而在TIDE分析中，



A. TCGA-COAD队列中USP53相关基因KEGG（左）/GO（右）富集分析



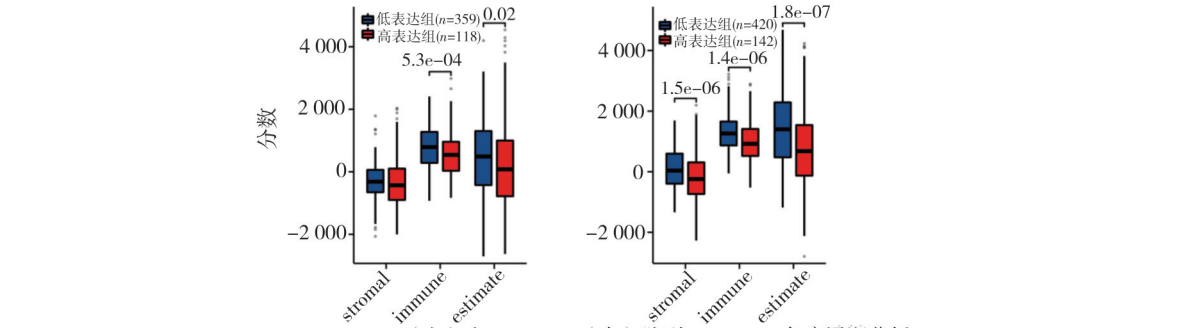
B. GSE39582队列中USP53相关基因KEGG（左）/GO（右）富集分析



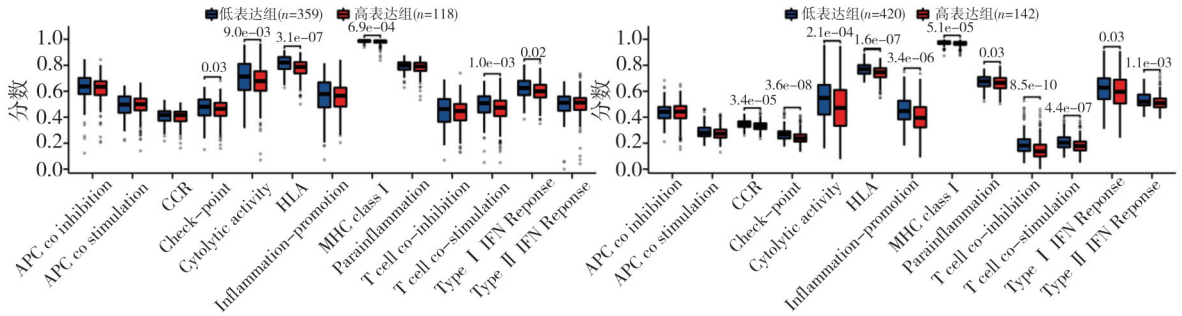
C. TCGA-COAD和GSE39582队列USP53相关基因GSEA富集分析

图2　USP53调控结直肠癌的生物信息学通路分析

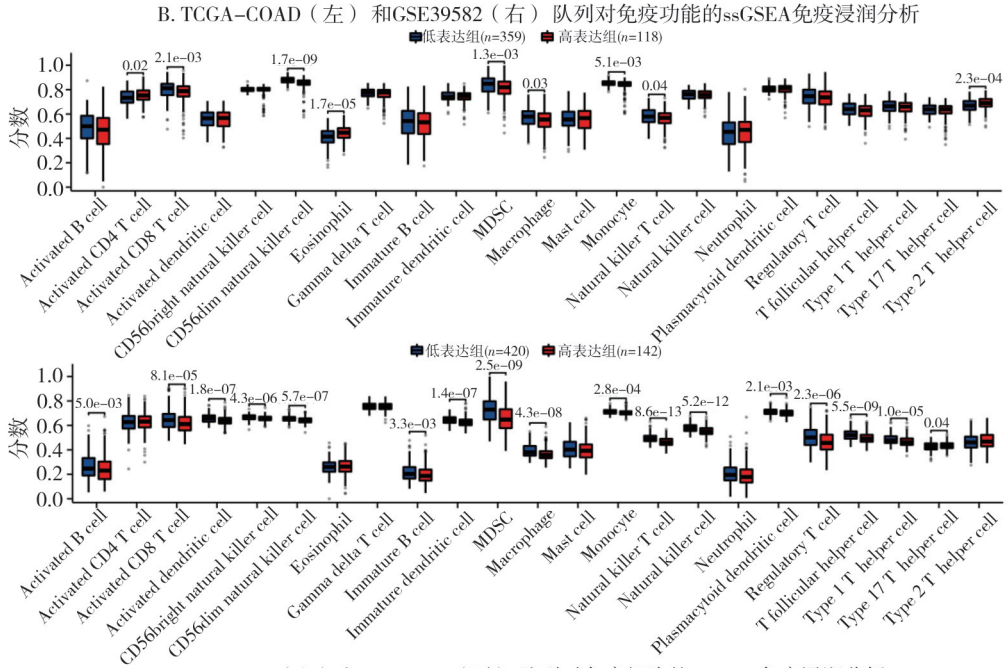
TCGA 数据集和 GSE39582 数据集 USP53 低表达组的 TIDE 评分和功能失调评分均高于高表达组（图 3D）。以上结果表明，虽然低表达组免疫浸润情况较好，但低 USP53 表达组的免疫活性相对较低，同时具备更强的免疫逃逸能力。



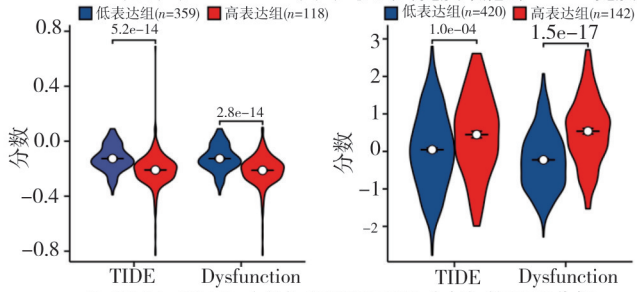
A. TCGA-COAD（左）和GSE39582（右）队列ESTIMATE免疫浸润分析



B. TCGA-COAD（左）和GSE39582（右）队列对免疫功能的ssGSEA免疫浸润分析



C. TCGA-COAD（上）和GSE39582（下）队列对免疫细胞的ssGSEA免疫浸润分析

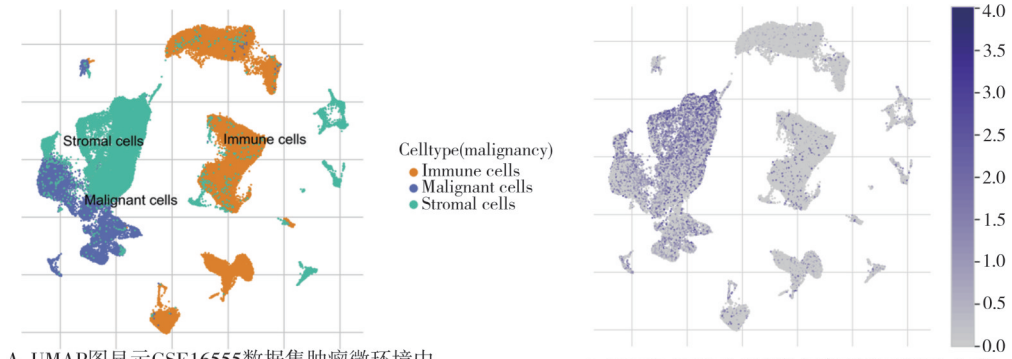


D. TCGA-COAD（左）和GSE39582（右）的TIDE分析

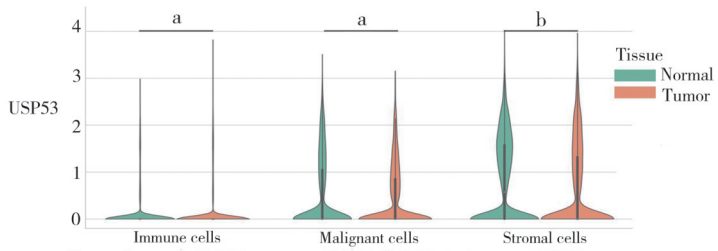
图 3　USP53 在结直肠癌中的免疫浸润分析

2.4　USP53 的单细胞 RNA 测序（scRNA-seq）分析

采用 TISCH 数据库中的 GSE166555 数据集分析了 USP53 基因在不同细胞类型中的表达情况，并结合 GSE146771 数据集进一步探讨了 USP53 在多种免疫细胞中的表达特征。图 4A 和 4D 展示了各细胞簇群的分布，图 4B 和 4E 则显示了细胞群中 USP53 基因的具体表达模式。结果显示，USP53 在基质细胞和肿瘤细胞中的表达较高，在免疫细胞中主要存在于 CD8 T 细胞、CD8 Tex、CD4 T 细胞及其他类型中。小提琴图（图 4C）表明，USP53 在基质细胞中的表达相对较低，而在肿瘤细胞中明显升高，且差异具有统计学意义。此外，图 4F 进一步分层分析免疫细胞后显示，尽管 USP53 在肿瘤细胞中的表达水平相对较低，但与免疫细胞的差异仍具有统计学意义。以上结果提示，USP53 在多种细胞类型中均有表达，其表达水平与肿瘤的恶性程度及免疫细胞密切相关。

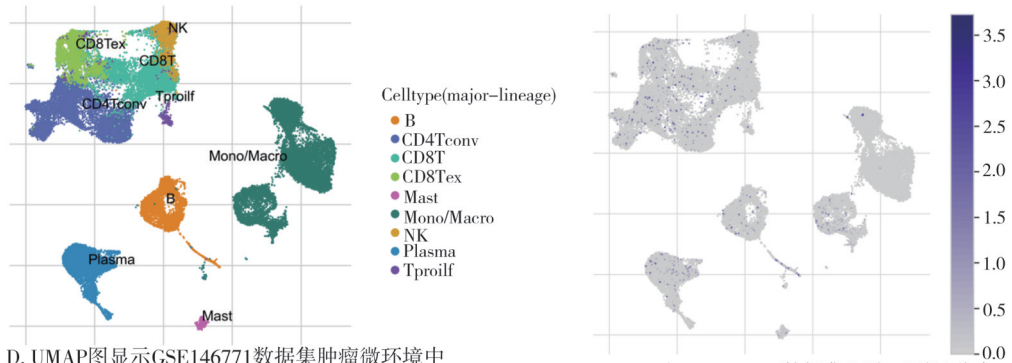


A. UMAP图显示GSE16555数据集肿瘤微环境中主要细胞群的分布　　B. USP53在GSE16555数据集细胞亚群的分布

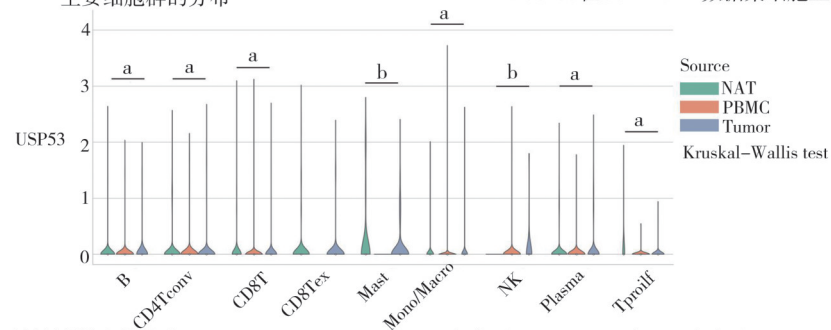


注：a，与Normal组相比，P>0.05，无统计学差异；b，与Normal组相比，P<0.001

C. GSE16555队列单细胞分析USP53 mRNA表达



D. UMAP图显示GSE146771数据集肿瘤微环境中主要细胞群的分布　　E. USP53在GSE146771数据集细胞亚群的分布



注：三组的统计学比较均为Kruskal-Wallis test。a，与NAT组相比，P<0.001；b，与NAT组相比，P>0.05，无统计学差异

F. GSE146771队列单细胞分析USP53 mRNA表达

图 4　USP53 的单细胞 RNA 测序（scRNA-seq）分析

2.5 药物敏感性与分子对接

通过“oncoPredict”包比较了高、低 USP53 表达患者对常用化疗药物的敏感性。结果显示，低 USP53 表达组患者对奥沙利铂（低表达组：6.206 9 ± 2.450 2，高表达组：7.453 4 ± 2.145 4，P<0.01）、5-氟尿嘧啶（低表达组：6.089 5 ± 3.286 8，高表达组：7.178 2 ± 3.442 0，P<0.01）和伊利替康（低表达组：3.649 1 ± 2.877 9，高表达组：4.524 5 ± 3.296 0，P<0.01）的敏感性明显更高，这些药物在该组患者中展现出更优的临床疗效（图 5A）。进一步地，将 2 组间的差异表达基因上传至 Clue 平台，预测了对结直肠癌细胞系（HT29）具有效果的小分子化合物，包括积雪草酸（Asiatic Acid）、非索非那定（fexofenadine）、拓扑替康（topotecan）和牡荆素（vitexin）（图 5B）。

基于结构的分子对接方法是一种用于药物设计和筛选的关键技术，因而对这 4 种候选小分子化合物与 USP53 进行了分子对接分析，并展示了最低结合能量的结果。分子对接结果（图 5C）显示，积雪草酸通过氢键在 LEU-291 和 THR-268 位点与 USP53 结合；非索非那定在 TYR-1053 位点形成氢键；拓扑替康则在 ARG-222 和 ARG-236 位点与 USP53 结合；牡荆素在 PRO-176、ARG-1056 和 HIS-1054 位点形成氢键。这些化合物的结合能分别为-8.1、-9.7、-8.8 和-8.5，表明这些小分子与 USP53 之间的相互作用具有潜在的稳定性和可行性。

2.6 通过机器学习方法建立 USP53 相关基因的预后模型

本研究以 TCGA-COAD 为训练集，GSE39582 为验证集，利用 10 种机器学习算法和 101 种集成组合构建了预测模型。通过 C-index 对模型表现进行评估，最终选定 StepCox [forward] + Ridge 组合算法作为构建预后模型的最佳方案（图 6A）。基于该模型，对测试集和验证集进行了风险分层分析。KM 曲线结果显示，高风险组的死亡率明显高于低风险组（TCGA：P<0.001，GSE39582：P=0.002，图 6B）。为进一步

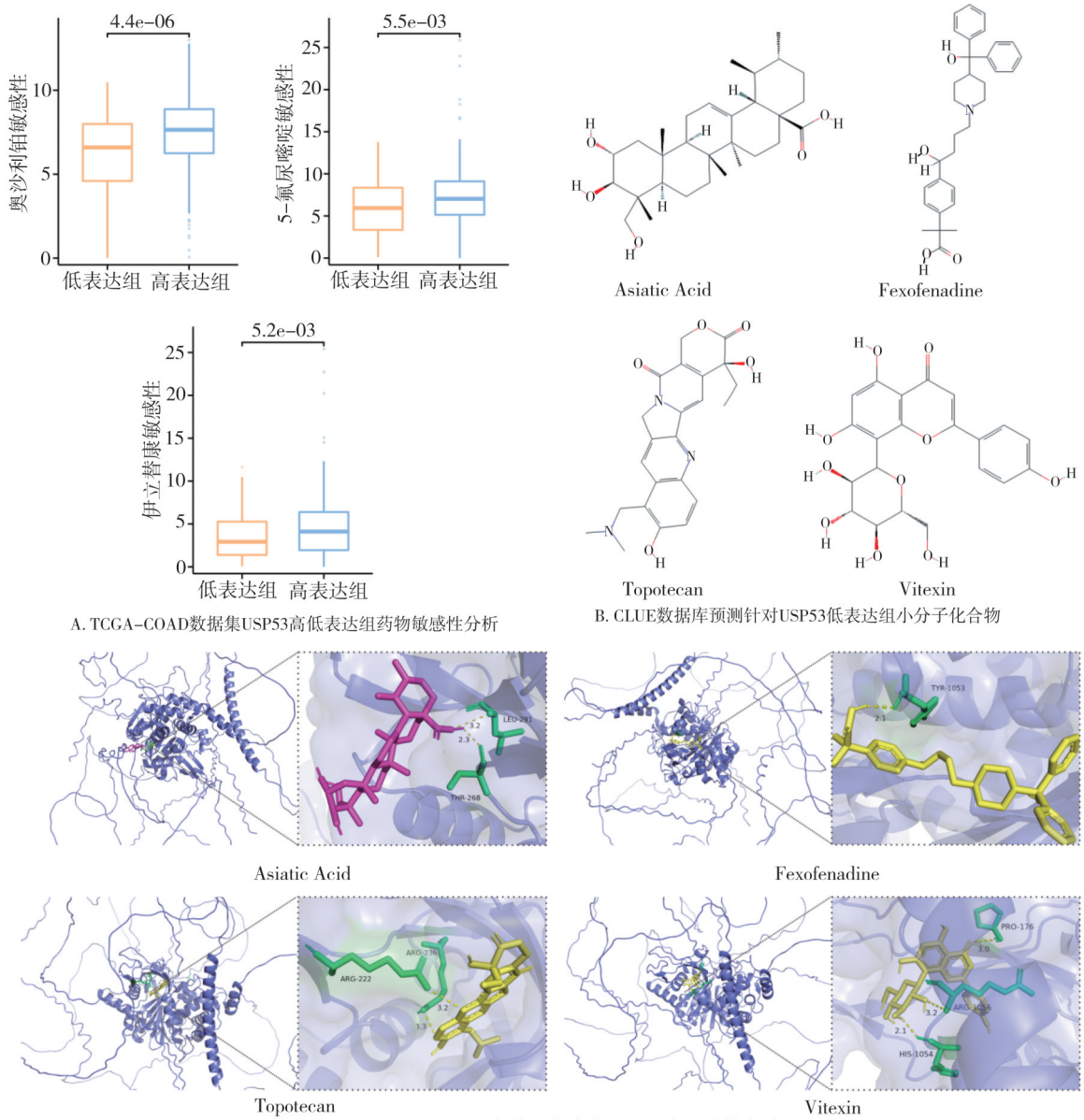
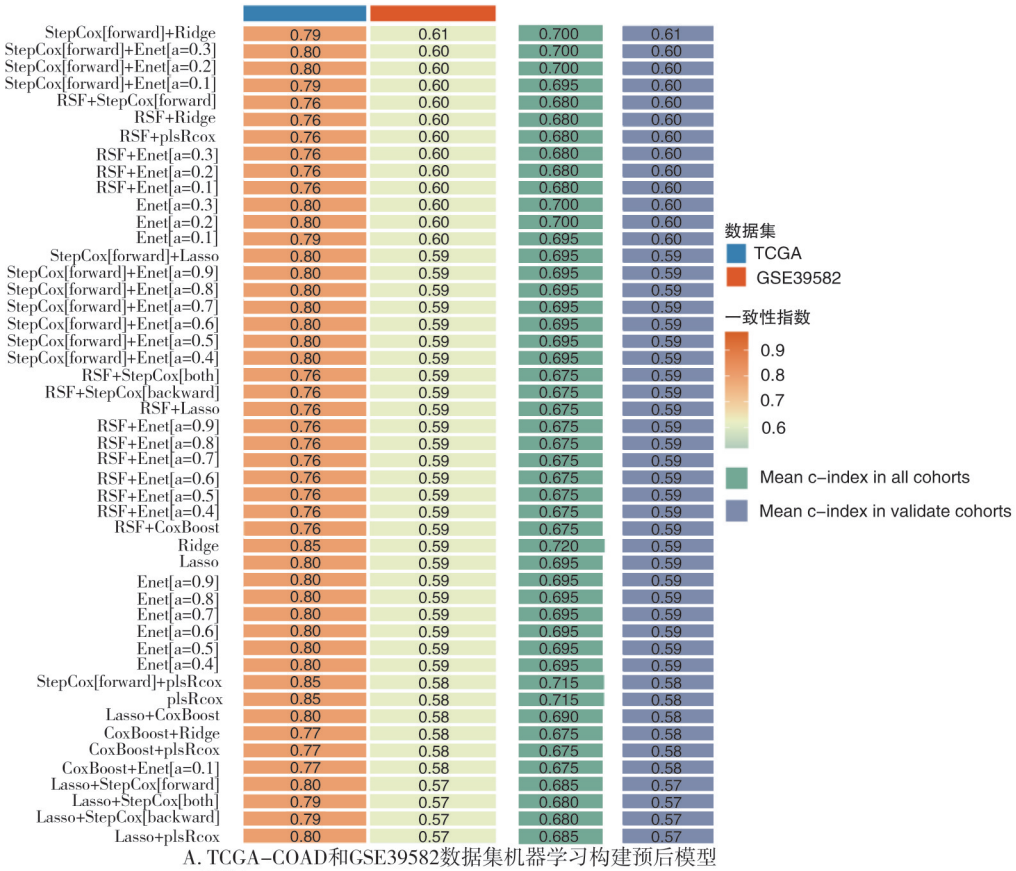
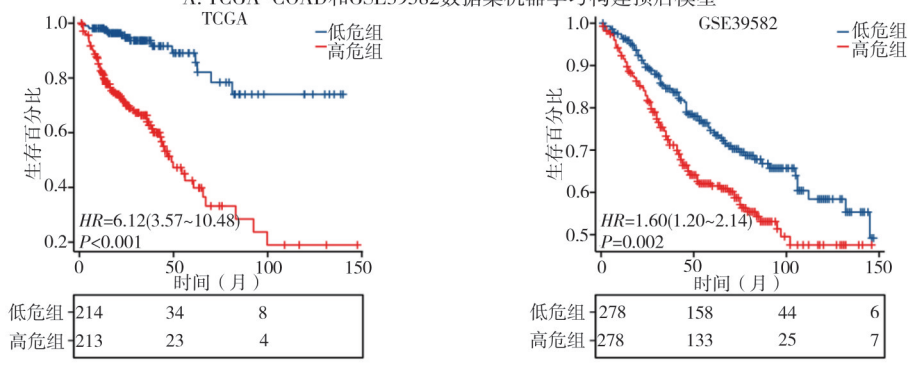


图 5 药物敏感性与分子对接

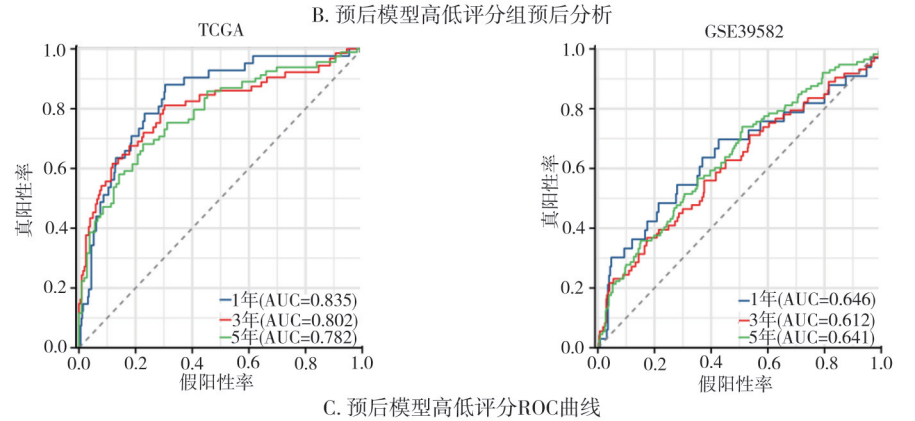
验证模型的预测能力，绘制了 ROC 曲线。在 TCGA-COAD 数据集中，模型的 1 年、2 年和 3 年 ROC 曲线下面积（area under curve，AUC）分别为 0.835、0.802 和 0.782；在 GSE39582 验证集中，1 年、2 年和 3 年的 AUC 分别为 0.646、0.612 和 0.641（图 6C）。这些结果表明，所建立的模型在训练集中具有较高的预测准确性。



A. TCGA-COAD和GSE39582数据集机器学习构建预后模型



B. 预后模型高低评分组预后分析



C. 预后模型高低评分ROC曲线

图 6　通过机器学习方法建立 USP53 相关基因的预后模型

2.7 USP53过表达抑制结直肠癌细胞的增殖和迁移能力

通过在HCT116细胞中转染pCMV-USP53-FLAG质粒以诱导USP53过表达，评估其对细胞生物学行为的影响（图7A和7B）。细胞增殖实验结果显示，USP53过表达组在5 d培养期间的增殖速率明显低于对照组（过表达组：5 624.80 ± 477.76，对照组：7 399.00 ± 215.16，P=0.042，图7C），且这一结果在克隆形成实验中得到进一步验证（过表达组：280.33 ± 7.571 9，对照组：482.330 ± 36.665，P=0.000 7，图7D）。此外，划痕实验表明，相较于对照组（59.128 0 ± 1.855 5），USP53过表达组（43.833 0 ± 4.637 3）的细胞迁移能力明显降低（P=0.004，图7E）。

进一步分析揭示，USP53的过表达不仅明显抑制了结直肠癌细胞的迁移能力，还与上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）过程相关。在USP53过表达的结直肠癌细胞中，检测到EMT相关蛋白的表达变化。Western blot结果显示，USP53过表达明显降低了N-cadherin的表达，并明显提高了E-cadherin的表达水平（图7F），提示USP53的过表达能够有效抑制EMT过程，从而削弱结直肠癌细胞的侵袭性。

2.8 USP53在临床结直肠癌组织中的表达

为研究USP53在临床结直肠癌组织中的表达水平，收集了8例结直肠癌患者癌组织和癌旁组织切片，并进行了免疫组化染色（图8）。结果显示，结直肠癌病变组织中的USP53表达明显低于相邻的正常组织。提示USP53可能在结直肠癌的发生和发展中扮演了重要的抑癌角色。

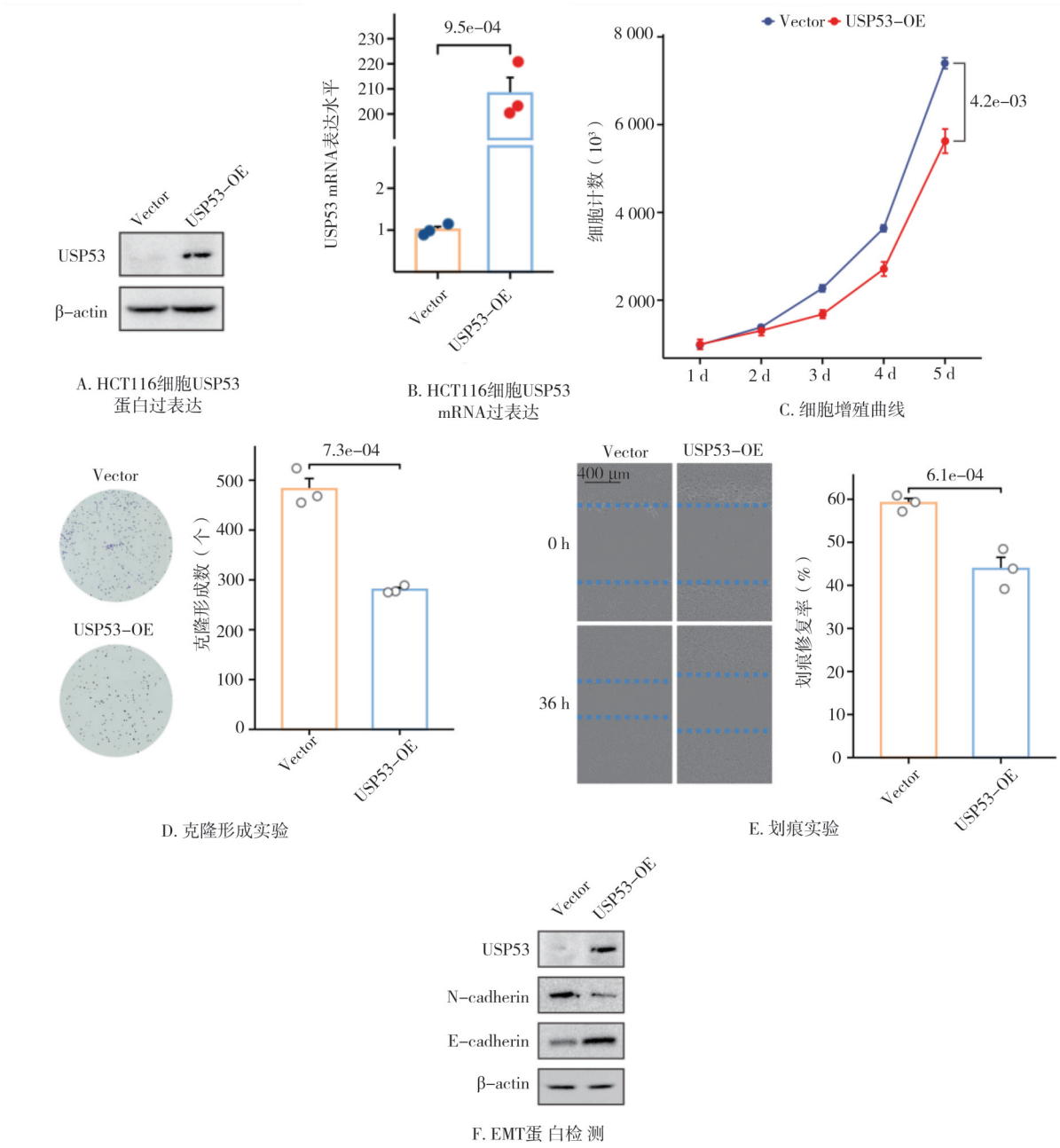


图7 USP53过表达抑制结直肠癌细胞的增殖和迁移能力

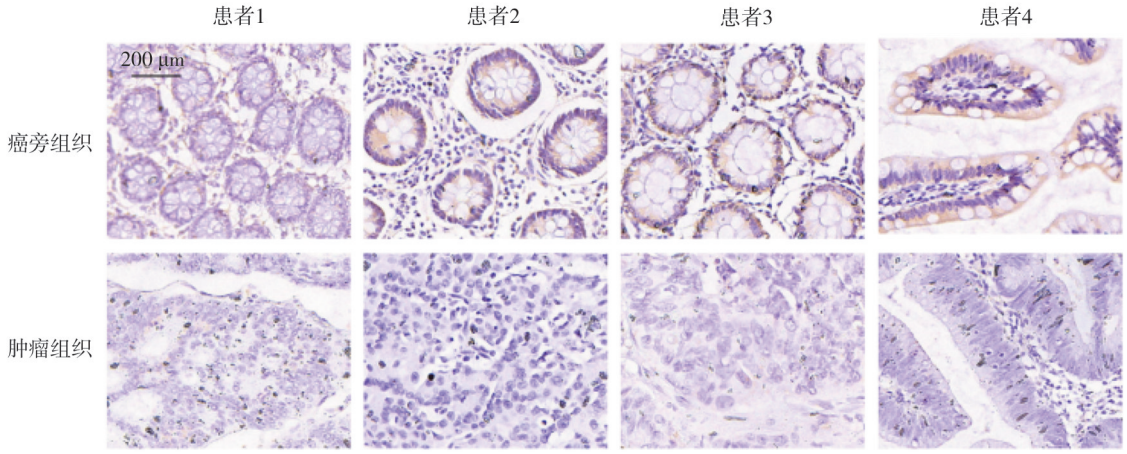


图8　USP53在临床结直肠癌组织中的表达

3　讨　论

研究发现USP53在恶性肿瘤的发生发展中起着抑癌基因的重要作用。USP53通过抑制NF-κB信号通路，有效抑制透明细胞肾癌的增殖与迁移[21]。同时，异位表达的USP53能够抑制肝细胞癌细胞的增殖、迁移和侵袭，并诱导其凋亡[13]。研究还发现，H3K27乙酰化能够激活USP53，进而通过调节细胞生长和代谢抑制食管癌（esophageal carcinoma，ESCA）的进展[22]。

在本研究中，通过分析TCGA-COAD和GSE39582数据集，发现结直肠癌组织中USP53的表达明显降低，且与高表达相比，低USP53表达的患者预后更差，总体生存率明显降低。临床组织样本的免疫组化实验进一步证实，结直肠癌组织中的USP53表达明显低于正常组织。KEGG富集分析提示了USP53抑制肿瘤进展的潜在机制，表明USP53过表达可能明显影响细胞周期、凋亡及JAK-STAT信号通路。以往研究表明，JAK-STAT信号通路的激活与不良预后密切相关[23-24]。USP22也是泛素特异性蛋白酶家族成员之一，并且通过组蛋白去泛素化影响染色质结构和基因转录，促进STAT信号通路的激活[25]，与USP53的作用相反，有必要继续深入研究。

GO富集分析显示，各类免疫细胞的趋化活性明显增加。研究表明，记忆性$CD4^+$ T细胞和$CD8^+$ T细胞在肿瘤微环境中的浸润与迁移调控着肿瘤免疫，包括肿瘤清除、机体平衡和免疫逃逸3个阶段[26]。免疫细胞的趋化活性差异可能是两组生存率差异的原因之一。因此，本研究分析了两组数据集的免疫浸润状态。结果显示，与高表达组相比，USP53低表达组的免疫浸润程度较高，但其预后较差。进一步的TIDE分析表明，USP53低表达组的TIDE评分和功能障碍评分更高，显示出免疫活性降低和免疫逃逸增强，即虽然USP53低表达组免疫浸润程度高，免疫细胞的功能可能较差，导致预后较差[27]。

化疗是结直肠癌的主要治疗手段。通过对TCGA-COAD数据库的分析，发现USP53低表达（高风险组）对多种化疗药物更为敏感。此外，利用CLUE平台筛选出可能通过激活USP53途径来抑制结直肠癌的小分子化合物，并通过分子对接预测其作用机制，为结直肠癌患者提供了潜在的治疗策略。

在HCT116结直肠癌细胞中过表达USP53后，细胞增殖曲线、克隆形成和划痕实验提示USP53抑制结直肠癌细胞增殖和迁移能力。EMT是肿瘤细胞在发生、进展和转移过程中的重要机制[28]，使上皮细胞转变为具有更高侵袭性和迁移能力的间质细胞[29-30]。USP53通过调控EMT过程发挥抗肿瘤作用[31]。基于以上结果，USP53有望成为肿瘤预后重要标志物。另外，本研究表明，肿瘤中USP53的表达水平可能与免疫疗法的成功率密切相关。USP53可能成为预测免疫疗法疗效的生物标志物，有助于开发个性化治疗策略。

接下来，将通过体外实验分析USP53与结直肠癌相关通路的调控，并在体内实验验证；此外，USP53作为去泛素化酶在EMT过程中的调控作用尚未进行实验验证，将进行相关的探索。

参 考 文 献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] Center MM, Jemal A, Smith RA, et al. Worldwide variations in colorectal cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(6): 366-378.

[3] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480.

[4] Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality[J]. Gut, 2017, 66(4): 683-691.

[5] Rex DK, Boland CR, Dominitz JA, et al. Colorectal cancer screening: recommendations for physicians and patients from the U. S. multi-society task force on colorectal cancer[J]. Am J Gastroenterol, 2017, 112(7): 1016-1030.

[6] Li B, Qi ZP, He DL, et al. NLRP7 deubiquitination by USP10 promotes tumor progression and tumor-associated macrophage polarization in colorectal cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 126.

[7] Yu SY, Zang WC, Qiu YC, et al. Deubiquitinase OTUB2 exacerbates the progression of colorectal cancer by promoting PKM2 activity and glycolysis[J]. Oncogene, 2022, 41(1): 46-56.

[8] Vij M, Sankaranarayanan S. Biallelic mutations in ubiquitin-specific peptidase 53 (USP53) causing progressive intrahepatic cholestasis. report of a case with review of literature[J]. Pediatr Dev Pathol, 2022, 25(2): 207-212.

[9] Ateş BB, Ceylan AC, Hızal G, et al. A novel homozygous mutation in the USP53 gene as the cause of benign recurrent intrahepatic cholestasis in children: a case report[J]. Turk J Pediatr, 2023, 65(6): 1012-1017.

[10] Kazmierczak M, Harris SL, Kazmierczak P, et al. Progressive hearing loss in mice carrying a mutation in Usp53[J]. J Neurosci, 2015, 35(47): 15582-15598.

[11] Baek D, Park KH, Lee KM, et al. Ubiquitin-specific protease 53 promotes osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(3): 238.

[12] Liu Y, Tang W, Yao F. USP53 exerts tumor-promoting effects in triple-negative breast cancer by deubiquitinating CRKL[J]. Cancers, 2023, 15(20): 5033.

[13] Yao Y, Ma WJ, Guo YH, et al. USP53 plays an antitumor role in hepatocellular carcinoma through deubiquitination of cytochrome C[J]. Oncogenesis, 2022, 11(1): 31.

[14] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(7): e47.

[15] Wu TZ, Hu EQ, Xu SB, et al. clusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data[J]. Innovation (Camb), 2021, 2(3): 100141.

[16] Yoshihara K, Shahmoradgoli M, Martínez E, et al. Inferring tumour purity and stromal and immune cell admixture from expression data[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2612.

[17] Hänzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSVA: gene set variation analysis for microarray and RNA-seq data[J]. BMC Bioinformatics, 2013, 14: 7.

[18] Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer[J]. Immunity, 2013, 39(4): 782-795.

[19] Jiang P, Gu SQ, Pan D, et al. Signatures of T cell dysfunction and exclusion predict cancer immunotherapy response[J]. Nat Med, 2018, 24(10): 1550-1558.

[20] Liu ZQ, Liu L, Weng SY, et al. Machine learning-based integration develops an immune-derived lncRNA signature for improving outcomes in colorectal cancer[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 816.

[21] Gui DW, Dong ZF, Peng W, et al. Ubiquitin-specific peptidase 53 inhibits the occurrence and development of clear cell renal cell carcinoma through NF-κB pathway inactivation[J]. Cancer Med, 2021, 10(11): 3674-3688.

[22] Cheng W, Tang Y, Tong XB, et al. USP53 activated by H3K27 acetylation regulates cell viability, apoptosis and metabolism in esophageal carcinoma via the AMPK signaling pathway[J]. Carcinogenesis, 2022, 43(4): 349-359.

[23] Tang SB, Yuan XH, Song JT, et al. Association analyses of the JAK/STAT signaling pathway with the progression and prognosis of colon cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1): 159-164.

[24] Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer[J]. Nature, 2001, 411(6835): 342-348.

[25] Chipumuro E, Henriksen M. The ubiquitin hydrolase, USP22 contributes to 3'-end processing of JAK-STAT inducible genes[J]. Epigenetics Chromatin, 2013, 6(Suppl 1): P27.

[26] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting[J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 329-360.

[27] Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment[J]. Nat Immunol, 2013, 14(10): 1014-1022.

[28] Creighton CJ, Gibbons DL, Kurie JM. The role of epithelial-mesenchymal transition programming in invasion and metastasis: a clinical perspective[J]. Cancer Manag Res, 2013, 5: 187-195.

[29] Chanda AY, Sarkar A, Bonni S. The SUMO system and TGFβ signaling interplay in regulation of epithelial-mesenchymal transition: implications for cancer progression[J]. Cancers, 2018, 10(8): 264.

[30] Tamaki T, Shimizu T, Niki M, et al. Immunohistochemical analysis of NANOG expression and epithelial-mesenchymal transition in pulmonary sarcomatoid carcinoma[J]. Oncol Lett, 2017, 13(5): 3695-3702.

[31] Sisto M, Ribatti D, Lisi S. Cadherin signaling in cancer and autoimmune diseases[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(24): 13358.

（责任编辑：周一青）