

NPL4 靶向抑制剂双硫仑对 T 细胞肿瘤泛素-蛋白酶体通路相关基因表达的影响

蔡清华^{1,2}, 王彩霞^{1,2}, 陈存特^{1,2}

(1. 华南理工大学医学院, 广州 510006; 2. 广州市第一人民医院, 华南理工大学附属第二医院血液科, 广州 510180)

[摘要] **目的** 我们前期的研究表明, 双硫仑(disulfiram, DSF)通过核蛋白定位蛋白 4 同源物(nuclear protein localization protein 4 homolog, NPL4)介导的泛素-蛋白酶体通路发挥抗 T 细胞肿瘤[主要包括急性 T 淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)和 T 细胞淋巴瘤(T-cell lymphoma, TCL)]的作用。本研究旨在探讨双硫仑对 T 细胞肿瘤中泛素-蛋白酶体通路相关基因表达的调节作用, 为 T 细胞肿瘤的精准靶向治疗提供依据。**方法** 应用 0.4 μM 双硫仑处理 T-ALL 细胞株 Jurkat 48 h, 采用转录组测序分析显著性差异表达的基因, 并采用 10 例 T 细胞肿瘤样本(GZFPH 数据集)进行实时荧光定量 PCR 验证差异基因相对表达水平。最后, 从 TARGET 和 GSE58445 数据库中下载 262 例 T-ALL 和 140 例 TCL 的转录组测序数据进行生存分析。**结果** 0.4 μM 双硫仑处理 Jurkat 细胞 48 h 后, 在泛素-蛋白酶体通路中, 有 86 个下调和 35 个上调的基因; 其中, 单因素 Cox 回归和生存曲线分析发现, 仅有泛素结合酶 E2 J1(ubiquitin conjugating enzyme E2 J1, UBE2J1)基因的低表达与 TARGET 和 GSE58445 数据集中 T-ALL 和 TCL 患者的不良预后相关($P<0.05$)。将 UBE2J1 的表达水平、年龄和性别纳入单因素和多因素 Cox 回归分析, 结果提示 UBE2J1 的低表达是 T-ALL 和 TCL 患者的独立预后影响因子($P<0.05$)。**结论** 双硫仑可调控 UBE2J1 基因的表达, 其低表达与 T 细胞肿瘤患者的不良预后相关, 为进一步阐明双硫仑的抗肿瘤作用及其调控的 UBE2J1 基因作为 T 细胞肿瘤的危险分层的分子标志物提供理论依据。

[关键词] NPL4; 双硫仑; 急性 T 淋巴细胞白血病; T 细胞淋巴瘤; 泛素-蛋白酶体通路

[中图分类号] R733.7; R733.4 **[文献标志码]** A **DOI:**10.12019/j.issn.1671-5144.202404028

The Effect of NPL4-Targeted Inhibitor Disulfiram on the Expression of Genes Related to the Ubiquitin-Proteasome Pathway in T-Cell Malignancies

CAI Qing-hua^{1,2}, WANG Cai-xia^{1,2}, CHEN Cun-te^{1,2}

(1. School of Medicine, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. Department of Hematology, Guangzhou First People's Hospital, The Second Affiliated Hospital of South China University of Technology, Guangzhou 510180, China)

Abstract: Objective Our previous studies have demonstrated that disulfiram (DSF) exerts antitumor effects on T-cell malignancies, including T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and T-cell lymphoma (TCL), through the ubiquitin-proteasome pathway mediated by nuclear protein localization protein 4 homolog (NPL4). This study aims to investigate the regulatory effects of disulfiram on the expression of genes related to the ubiquitin-proteasome pathway in T-cell malignancies, providing a basis for precision targeted therapy of T-cell malignancies. **Methods** Jurkat cells, a

[基金项目] 国家自然科学基金(82300176); 广东省自然科学基金(2023A1515012968)。

[作者简介] 蔡清华(1997-), 女, 河南信阳人, 医师, 在读硕士研究生, 从事血液肿瘤学研究。

[通讯作者] 陈存特, E-mail: cuntechen@163.com; 王彩霞, E-mail: wangcx225@163.com。

T-ALL cell line, were treated with 0.4 μM disulfiram for 48 hours. Transcriptome sequencing was performed to analyze differentially expressed genes, and real-time quantitative PCR was used to validate the relative expression levels of these genes in 10 T-cell malignancy samples (GZFPD dataset). Additionally, transcriptome sequencing data from 262 cases of T-ALL and 140 cases of TCL were downloaded from the TARGET and GSE58445 databases for survival analysis.

Results After treating Jurkat cells with 0.4 μM disulfiram for 48 hours, 86 genes were downregulated and 35 genes were upregulated in the ubiquitin-proteasome pathway. Among these genes, univariate Cox regression and survival curve analysis revealed that only low expression of ubiquitin-conjugating enzyme E2 J1 (UBE2J1) was associated with poor prognosis in patients with T-ALL and TCL in both the TARGET and GSE58445 datasets ($P < 0.05$). When incorporating UBE2J1 expression level, age, and gender into univariate and multivariate Cox regression analyses, low expression of UBE2J1 emerged as an independent prognostic factor for patients with T-ALL and TCL ($P < 0.05$).

Conclusions Disulfiram can regulate the expression of the UBE2J1 gene, and its low expression is associated with poor prognosis in patients with T-cell malignancies. This study provides a theoretical basis for further elucidating the antitumor effects of disulfiram and the potential use of UBE2J1 as a biomarker for risk stratification in T-cell malignancies.

Key words: NPL4; disulfiram; T cell acute lymphoblastic leukemia; T cell lymphoma; ubiquitin-proteasome pathway

引言

T 细胞肿瘤主要包括急性 T 淋巴白血病(T cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)和 T 细胞淋巴瘤(T-cell lymphoma, TCL), 其是罕见但可能威胁生命的异质性血液恶性肿瘤^[1-3]。T-ALL 是由于未成熟 T 细胞在骨髓或淋巴组织中恶性增殖导致的, 而 TCL 是一种来源于成熟 T 细胞的淋巴样恶性肿瘤, 具有多样性的定位、病理特征和临床表现^[4]。尽管近年来随着治疗方案(包括造血细胞移植和化疗等)的改善, T 细胞肿瘤患者预后得到很大的改善, 但其预后仍然很差并缺乏特异性的靶点^[4-5]。因此, 急需探索新的药物及靶点以提高 T 细胞肿瘤患者的预后。

我们前期的研究表明, 戒酒药物双硫仑(disulfiram, DSF)通过核蛋白定位蛋白 4 同源物(Nuclear protein localization protein 4 homolog, NPL4)介导的泛素-蛋白酶体通路发挥抗 T 细胞肿瘤的作用, NPL4 是双硫仑发挥肿瘤作用的分子靶点^[6-7]。同时, 高表达 NPL4 与多种肿瘤(T-ALL 和 TCL)患者的不良预后显著相关, 其提示 NPL4 可能作为肿瘤患者危险分层的分子标志物^[6,8-9]。然而, 双硫仑靶向 NPL4 介导的泛素-蛋白酶体通路中的基因仍需进一步探讨其在 T 细胞肿瘤中的预后价值。因此, 本研究利用双硫仑对 T-ALL 细胞株 Jurkat 泛素-蛋白酶体通路相关基因的调控作用, 以及差异基因在 T 细胞肿瘤的预后价值。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

RPMI-1 640 培养基(Gibco, Invitrogen, 美国), PBS 缓冲液(Gibco, Invitrogen, 美国), 胎牛血清(GEMINI, 美国), 青霉素-链霉素溶液(Gibco, Invitrogen, 美国), DMSO(二甲基亚砜, Sigma, 德国), RNA 提取试剂盒(TAKARA, 日本)、逆转录试剂盒(TAKARA, 日本), SYBR MIX(TIANGEN, 北京, 中国), 双硫仑(Selleck, 美国)。

1.2 细胞培养及设备

细胞培养: 人 T-ALL 细胞株 Jurkat 加药组(DSF 0.4 μM)与未加药组均培养在 10% FBS、100 mg/mL 青-链霉素双抗的 RPMI-1 640 培养基中, 并均置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中培养 48 h。

设备: SW-CJ-IF 超净工作台(苏信, 苏州), 倒置显微镜, 离心机, CO_2 细胞培养箱(赛默飞, 美国), 超微量分光光度计(倍辉, 北京, 中国)。

1.3 RNA 提取和实时荧光定量 PCR(real time quantitative PCR, RT-qPCR)

按照说明书提取 RNA, 离心后洗脱 RNA, 使用超微量分光光度计测定 RNA 浓度, 使用逆转录试剂盒逆转录为 cDNA 并置于超低温冰箱保存。通过 NCBI 网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)设计引物(引物序列见表 1), 用 ABI 7000i(Applied Biosystems, 美国)进行实时荧光定量检测。设置 40 次循环, 以 β -actin 作为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算目的基因的 mRNA 相对表达水平, 每个样本 3 个复孔。

表 1 引物序列

Tab.1 The sequence of primers

Target	Sequence (5'-3')
β-actin (F)	TTGTTACAGGAAGTCCCTTGCC
β-actin(R)	ATGCTATCACCTCCCCTGTGTG
UBE2J1(F)	GAAACTTGGCAGCCTTCGTG
UBE2J1(R)	TCTGGAGTCCGTACTTAAAGC

1.4 转录组测序与差异基因分析

将人 T-ALL 细胞株 Jurkat 加药组 (DSF 0.4 μM) 与未加药组在培养基中培养 48 h 加 Trizol 后送至上海伯豪生物科技有限公司进行转录组测序。根据先前发表的论文中差异基因的筛选标准: 绝对值 1.1^[6], 获得差异表达的基因。

1.5 T 细胞肿瘤病人的信息

从产生有效治疗的治疗学应用研究 (Therapeutically Applicable Research To Generate Effective Treatments, TARGET) 数据库 (<https://ocg.cancer.gov/programs/target/data-matrix>) 下载了 262 例具有完整临床数据的 T-ALL 样本的转录组数据。从 Gene

Expression Omnibus (GEO) 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载 GSE58445 数据集中具有完整临床数据的 140 例 TCL 患者的转录组数据^[10], 以及 GSE13159 数据集 [174 例 T-ALL 和 74 例正常人 (healthy individual, HI) 的骨髓] 和 GSE28497 数据集 (46 例 T-ALL 和 4 例正常人的骨髓) 的转录组数据^[11-12], 临床资料见表 2。总体生存期 (overall survival, OS) 定义为: 从诊断开始至 (因任何原因) 死亡的时间。OS 被认为是肿瘤临床试验中最佳的疗效终点, 当患者的生存期能充分评估时, 它是首选终点, 被认为是有意义的直接临床获益证据。TARGET、GSE58445、GSE13159 和 GSE28497 数据集为公共可利用数据, 无需获得本单位医学伦理委员会的批准。同时, 获得来自于广州市第一人民医院 (Guangzhou First People's Hospital, GZFPH) 的 10 例 T-ALL、10 例 TCL 和 10 例正常人的骨髓样本, 本研究经广州市第一人民医院伦理委员会批准 (伦理号: K-2024-005-01), 所有参与者都获得了书面知情同意书。

表 2 T 细胞肿瘤患者临床资料

Tab.2 Clinical information of patients with TCM

Variables	TARGET	GSE13159	GSE58445	GSE28497	GZFPH
Gender, n (%)					
Female	61 (23.3)	-	42 (30.0)	-	-
Male	201 (76.7)	-	68 (48.6)	-	-
Unknown	0 (0)	-	30 (21.4)	-	-
Age, y/o, mean ± SD	9.6 ± 5.1	-	57.1 ± 18.8	-	-
Subtype, n (%)					
T-ALL	262 (100)	174 (100)	0 (0)	46 (100)	10 (50)
TCL	0 (0)	0 (0)	140 (100)	0 (0)	10 (50)
OS time, months, median (range)	74.9 (0~113.3)	-	18.4 (1.1~220.7)	-	-
Status, n (%)					
Alive	248 (94.7)	-	60 (42.9)	-	-
Death	14 (5.3)	-	80 (57.1)	-	-
EFS time, months, median (range)	73.4 (0~113.3)	-	-	-	-
EFS, n (%)					
No	234 (89.3)	-	-	-	-
Yes	27 (10.3)	-	-	-	-
Unknown	1 (0.4)	-	-	-	-

缩写: EFS: 无事件生存; SD: 标准差。

Abbreviations: EFS: event-free survival; SD: standard deviation.

1.6 统计学方法

使用 SPSS 软件 (版本 22.0, IBM) 和 R 包

(版本 4.2.1, <https://www.r-project.org/>) 进行统计学分析。两组和三组定量数据的差异分别采用 Mann-

Whitney-Wilcoxon 检验和 Kruskal-Wallis 检验。采用 R 包“survival”对 Kaplan-Meier 曲线进行 log-rank 检验。通过 SPSS 软件中的单因素和多因素 Cox 回归模型筛选预后因素。应用 R 包“maxstat”获得基因的最佳预后截断值。采用 R 包“survRM2”确定首先的平均生存时间(restricted mean survival time, RMST)。 $P < 0.05$ 代表有统计学意义。

2 结果

2.1 确定泛素-蛋白酶体通路中的差异基因

应用 $0.4 \mu\text{M}$ 双硫仑处理 Jurkat 细胞株 48 h 后进行转录组测序(图 1A), 在泛素-蛋白酶体通路中, 总共有 86 个下调和 35 个上调的基因(图 1B)。接

着, 将这 121 个差异基因纳入单因素和多因素 Cox 回归模型中进行预后分析, 结果提示, 仅有泛素结合酶 E2J1(ubiquitin conjugating enzyme E2 J1, UBE2J1) 基因的高表达同时与 TARGET 和 GSE58445 数据集中 T-ALL[风险比(hazard ratio, HR)=0.96, 95% 可信区间(confidence interval, CI) 0.92~1.00, $P=0.046$] 和 TCL(HR=0.70, 95%CI 0.51~0.97, $P=0.032$) 患者的良好预后相关(图 1C~D)。这个结果表明, UBE2J1 可能是双硫仑调控的 T 细胞肿瘤泛素-蛋白酶体通路的关键基因。

2.2 UBE2J1 在 T-ALL 中低表达

使用自 GZFPH 的 10 例 T-ALL、TCL 和 HI 的骨髓标本, 对 UBE2J1 基因进行 RT-qPCR 检测, 发

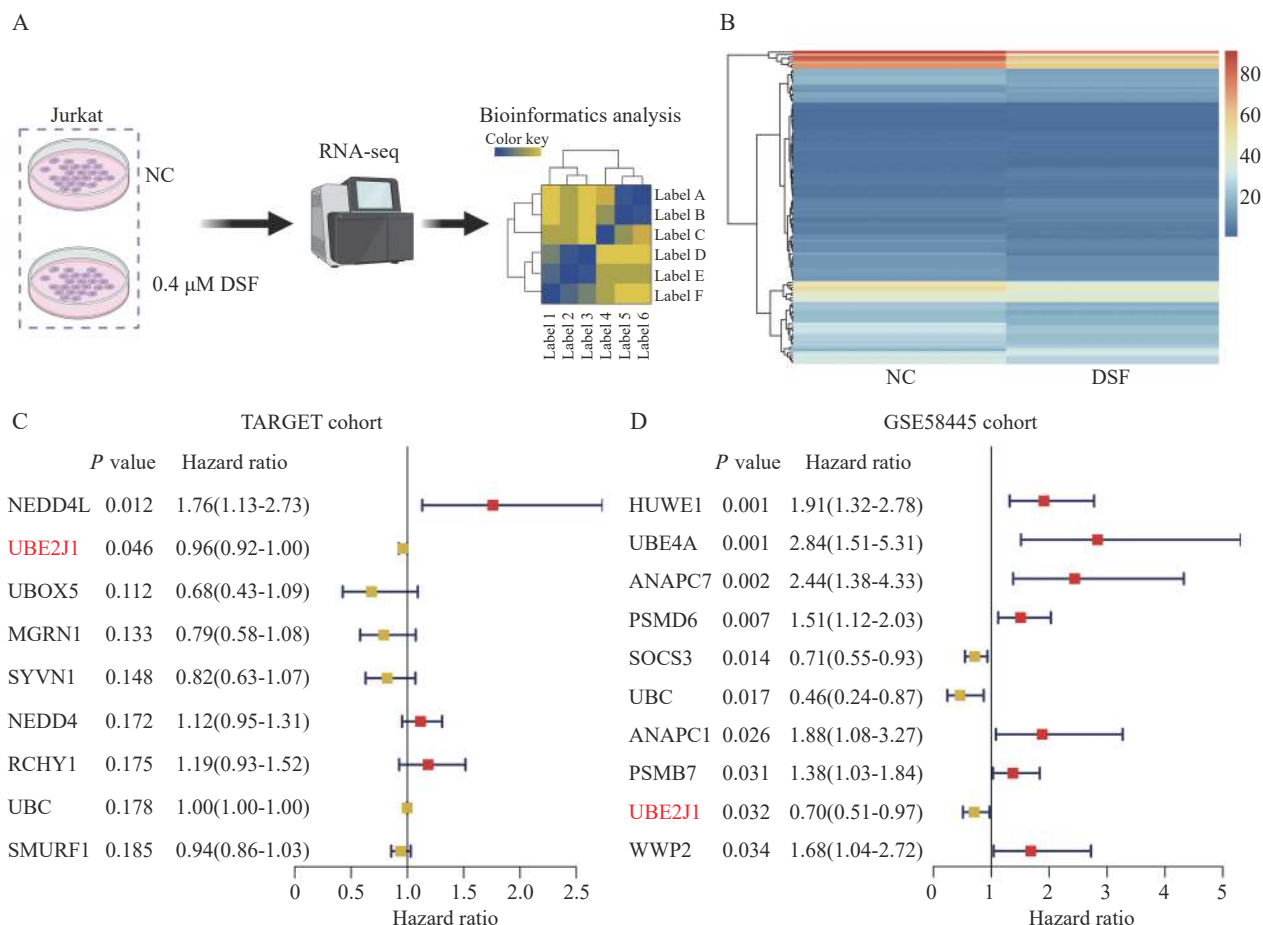


图 1 泛素-蛋白酶体通路中的差异基因的筛选

Fig.1 Selection of differentially expressed genes in the ubiquitin-proteasome pathway

注: A. 双硫仑处理 Jurkat 细胞的实验流程图; B. 热图展示泛素-蛋白酶体通路中的差异基因, 筛选标准为: 差异倍数的绝对值 >1.1 ; C. 在 TARGET 数据集的单因素 Cox 回归分析中, 森林图展示 $P < 0.2$ 的基因; D. 在 GSE58445 数据集的单因素 Cox 回归分析中, 森林图展示 $P < 0.05$ 的基因。

Note: A. Experimental flowchart for the treatment of Jurkat cells with disulfiram; B. Heatmap displaying differentially expressed genes in the ubiquitin-proteasome pathway, with the selection criterion set as an absolute fold change > 1.1 ; C. Forest plot showing genes with $P < 0.2$ in the univariate Cox regression analysis of the TARGET dataset; D. Forest plot showing genes with $P < 0.05$ in the univariate Cox regression analysis of the GSE58445 dataset.

现相比于 HI, T-ALL 患者 UBE2J1 基因的表达水平显著降低 ($P=0.005$), 而 UBE2J1 基因的表达水平在 TCL 与 HI 间无显著差异 ($P=0.910$) (图 2A)。我们进一步用公共可利用数据库验证 UBE2J1 基因在 T-ALL 中的结果, 其表明, 在 GSE131591 数据集

中, UBE2J1 基因在 T-ALL 中的表达水平较 HI 中低 ($P<0.001$, 图 2B)。这个结果也在 GSE28249 数据集中得到验证 ($P=0.002$, 图 2C)。这些结果表明在 T-ALL 中, UBE2J1 基因显著低表达。

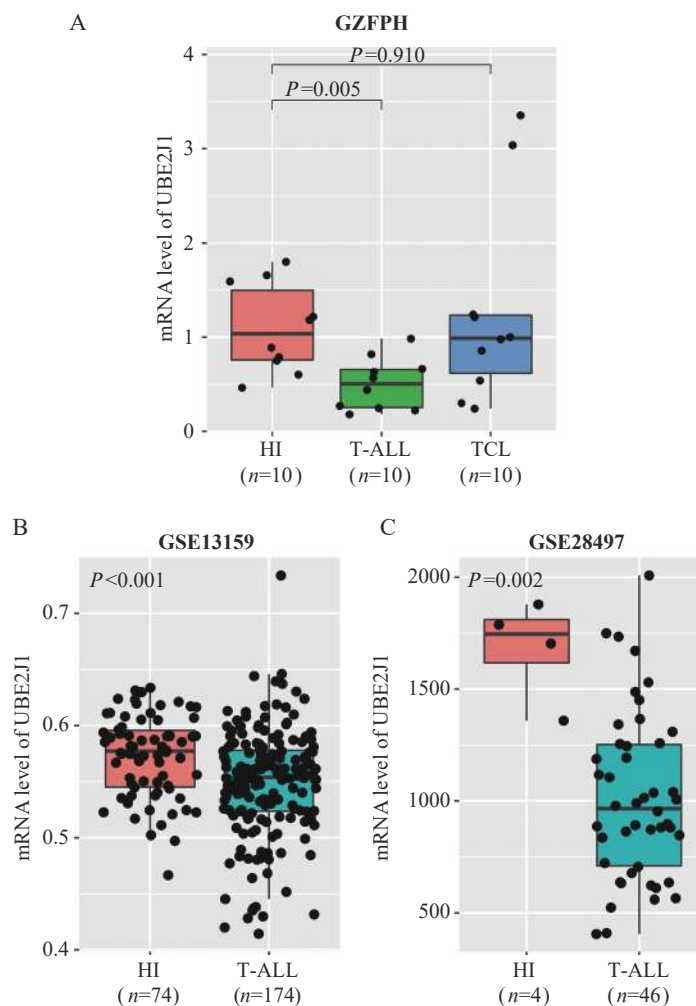


图 2 UBE2J1 的表达水平

Fig.2 Expression levels of UBE2J1

注: A. 在 GZFPH 数据集中, UBE2J1 在正常人(HI)、T-ALL 和 TCL 间的表达水平差异; B~C. 在 GSE13159(B) 和 GSE28497(C) 数据集中, UBE2J1 在 HI 和 T-ALL 的表达水平差异。

Note: A. Differential expression of UBE2J1 between healthy individuals (HI), T-ALL, and TCL in the GZFPH dataset; B~C. Differential expression of UBE2J1 between HI and T-ALL in the GSE13159 (B) and GSE28497 (C) datasets.

2.3 低表达 UBE2J1 与 T 细胞肿瘤患者不良预后有关

为了探讨 UBE2J1 基因的表达水平与 T 细胞肿瘤患者预后的相关性, 我们进一步利用生存曲线进行了分析。在临床应用过程中, 基因的表达水平与患者预后的关系更多的是以患者间基因表达水平的差异来作为分组对象, 因此, 本研究用患者间

UBE2J1 的表达水平作为比较而不以健康人群作为比较。首先, 获得 TARGET 数据集中 UBE2J1 的最佳截断值 37.88, 将 T-ALL 患者分为高和低表达两组 (图 3A)。低表达 UBE2J1 与 T-ALL 患者的不良 OS 相关 ($HR=7.00$, $95\%CI$ 0.92~53.52, $P=0.029$)。同时, 相比于高表达组, 低表达 UBE2J1 组的 T-ALL 患者的 5 年 RMST 更短 (低 vs. 高: 58.1 个月,

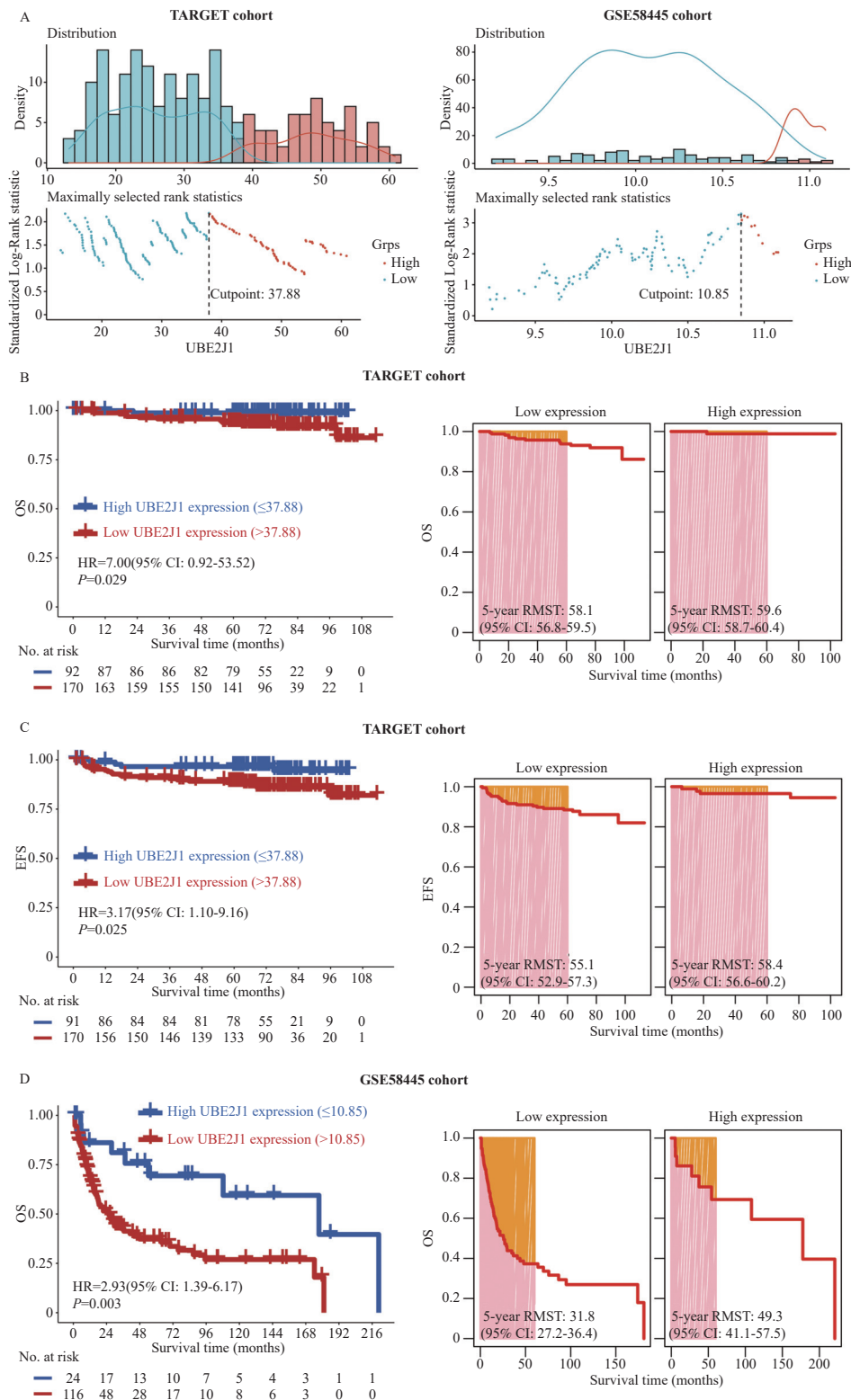


图3 低表达 UBE2J1 与患者不良预后有关

Fig.3 Low expression of UBE2J1 is correlated with adverse clinical outcomes

注: A. TARGET 和 GSE58445 数据集中 UBE2J1 的最佳截断值; B. TARGET 数据集的 OS 生存曲线(左)与 5 年 RMST(右); C. TARGET 数据集的 EFS 生存曲线(左)与 5 年 RMST(右); D. GSE58445 数据集的 OS 生存曲线(左)与 5 年 RMST(右)。

Note: A. Optimal cutoff values for UBE2J1 in the TARGET and GSE58445 datasets; B. The survival curve (left) and 5-year RMST (right) for the OS in the TARGET dataset; C. The survival curve (left) and 5-year RMST (right) for the EFS in the TARGET dataset; D. The survival curve (left) and 5-year RMST (right) for the OS in the GSE58445 dataset.

95%CI 56.8~59.5 vs. 59.6 个月, 95%CI 58.7~60.4) (图 3B)。有趣的是, 低表达 UBE2J1 也与 T-ALL 患者的较差 EFS(HR=3.17, 95%CI 1.10~9.16, $P=0.025$) 和更短的 5 年 RMST(低 vs.高: 55.1 个月, 95%CI 52.9~57.3 vs. 58.4 个月, 95%CI 56.6~60.2) 显著相关(图 3C)。为了验证这一结果, GSE58445 数据集中 TCL 患者的预后数据被用于分析。正如图 3D 所示, 低表达 UBE2J1 也与 TCL 患者的不良 OS(HR=2.93, 95%CI 1.39~6.17, $P=0.003$) 和更短的 5 年 RMST(低 vs.高: 31.8 个月, 95%CI 27.2~36.4 vs. 49.3 个月, 95%CI 41.1~57.5) 相关。为了排除混

杂因素, 将 UBE2J1 表达水平、年龄和性别纳入单因素和多因素 Cox 回归模型, 有明显的趋势表明, 在 TARGET 数据集中, UBE2J1 是 T-ALL 患者的独立 OS(HR=6.78, 95%CI 0.89~51.86, $P=0.065$) 和 EFS(HR=3.16, 95%CI 1.09~9.15, $P=0.034$) 影响因素(表 3)。同样地, 在 GSE58445 数据集中, UBE2J1 是 TCL 患者的独立 OS(HR=2.80, 95%CI 1.23~6.37, $P=0.014$) 影响因素(表 4)。这些结果提示, UBE2J1 可作为 T 细胞肿瘤危险分层的分子标志物以预测患者的预后。

表 3 TARGET 队列 T-ALL 患者的单因素和多因素回归分析

Tab.3 Univariate and multivariate regression analysis of T-ALL patients in the TARGET cohort

Variables	Univariate COX regression				Multivariate COX regression			
	OS		EFS		OS		EFS	
	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
UBE2J1 level								
High	Reference		Reference		Reference		Reference	
Low	7.00 (0.92, 53.49)	0.061	3.17 (1.10, 9.16)	0.033	6.78 (0.89, 51.86)	0.065	3.16 (1.09, 9.15)	0.034
Age, years	0.96 (0.86, 1.07)	0.440	0.94 (0.86, 1.02)	0.120	0.96 (0.86, 1.07)	0.488	0.94 (0.86, 1.02)	0.124
Gender								
Female	Reference		Reference		Reference		Reference	
Male	0.56 (0.19, 1.66)	0.292	0.85 (0.36, 2.02)	0.718	0.63 (0.21, 1.87)	0.401	0.95 (0.40, 2.27)	0.916

表 4 GSE58445 队列中 TCL 患者的单因素和多因素回归分析

Tab.4 Univariate and multivariate regression analysis of TCL patients in the GSE58445 cohort

Variables	Univariate Cox		Multivariate Cox	
	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
UBE2J1 level				
High	Reference		Reference	
Low	2.93 (1.39, 6.17)	0.005	2.80(1.23, 6.37)	0.014
Age, years	1.02 (1.01, 1.04)	0.006	1.03 (1.01, 1.04)	0.001
Gender				
Female	Reference		Reference	
Male	1.85 (1.07, 3.22)	0.029	1.89 (1.08, 3.33)	0.027

3 讨论

泛素-蛋白酶体通路主要参与真核细胞中蛋白质的泛素化和降解, 与肿瘤的发生发展密切相关, 并调控多种生物学过程, 包括细胞周期、细胞凋亡和基因转录等^[13]。VCP-UFD1-NPL4 复合体在泛素-蛋白酶体依赖的降解过程中起着至关重要的作用, 可以影响细胞周期调节、DNA 损伤反应和基因组

稳定性等途径^[14], NPL4 是其中重要的一部分^[15-16]。NPL4 在多种肿瘤中异常高表达, 在膀胱癌组织中 NPL4 表达上调, 上调的 NPL4 通过增强 cyclin D1 的稳定性导致 cyclin D1 过表达, 从而促进肿瘤细胞增殖。并且 NPL4 的表达上调与预后不良相关^[8]。双硫仑以 NPL4 为靶点, 对多种癌症具有抗肿瘤作用^[17]。双硫仑在前列腺癌中通过抑制 DNMT 活性

发挥抗肿瘤的作用^[18]。在乳腺癌中双硫仑通路激活内质网应激从而诱导癌细胞自噬依赖性凋亡^[19]。在急性髓性白血病和胃癌中,双硫仑可诱导周期阻滞和细胞凋亡^[20]。重要的是,我们的前期研究表明,双硫仑通过 NPL4 介导的泛素-蛋白酶体通路发挥抗 T 细胞肿瘤的作用^[6]。在本研究中,NPL4 的靶向药物双硫仑处理 Jurkat 细胞后 UBE2J1 基因表达上调,说明双硫仑可能通过上调泛素-蛋白酶体通路中的 UBE2J1 基因发挥抗 T 细胞肿瘤的作用。

UBE2J1 属于泛素结合 E2 酶家族,锚定在内质网膜上,包含一个管腔结构域、一个单跨膜区域和一个细胞质催化结构域^[21]。迄今为止,已证明 UBE2J1 可以诱导多种底物蛋白的泛素化和降解,从而介导各种细胞过程。例如,UBE2J1 与 c-IAP1/ TRAF2(TNF 受体相关因子 2)复合物相互作用,促进 TRAF2 泛素化^[22]。错误折叠的 MHC I 的蛋白酶体降解是由 UBE2J1 与 E3 连接酶 HRD1 介导的^[23]。UBE2J1/Derlin-1/RMA1 复合物催化错误折叠的囊性纤维化跨膜电导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)的降解^[24]。上述研究均表明 UBE2J1 在泛素-蛋白酶体通路中蛋白的降解发挥着重要作用。此外,通过促进转录因子 IFN 调节因子 3(interferon-regulatory factor 3, IRF3)泛素化,UBE2J1 可以通过负调节 1 型 IFN 表达来促进 RNA 病毒感染^[25]。此外,在结肠直肠癌组织中 UBE2J1 不仅表达下调,并且 UBE2J1 的降低与预后不良相关。作为抑癌基因,在功能上,UBE2J1 不仅能抑制结肠癌细胞的增殖和转移,还能通过 UBE2J1-TRIM25 复合物诱导 RPS3 的泛素化和降解从而导致 NF- κ B 信号通路失活^[21]。然而,关于 UBE2J1 作为泛素结合酶在 T 细胞肿瘤中的预后价值尚未被研究。在这项研究中,低表达 UBE2J1 与 T 细胞肿瘤患者的不良预后显著相关,其可作为 T-ALL 和 TCL 患者危险分层的一个分子标志物,但是 UBE2J1 在 T 细胞肿瘤中的分子功能有待进一步研究。

4 结 论

综上所述,本研究确定了双硫仑通过上调 UBE2J1 发挥抗 T 细胞肿瘤的作用,其低表达与 T 细胞肿瘤患者的不良预后相关,为双硫仑的临床应用以及 UBE2J1 在危险分层中的作用提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] COOPER M L, DIPERSIO J F. Chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) for the treatment of T-cell malignancies[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2019, 32(4): 101097. doi: 10.1016/j.beha.2019.101097.
- [2] CHEN C T, CHEN S H, LUO G X, et al. High expression of *TMEM244* is associated with poor overall survival of patients with T-cell lymphoma[J]. *Biomark Res*, 2022, 10(1): 46. doi: 10.1186/s40364-022-00395-z.
- [3] LI K H, CHEN C T, GAO R L, et al. Inhibition of BCL11B induces downregulation of PTK7 and results in growth retardation and apoptosis in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Biomark Res*, 2021, 9(1): 17. doi: 10.1186/s40364-021-00270-3.
- [4] BASSAN R, BOURQUIN J P, DEANGELO D J, et al. New approaches to the management of adult acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(35): 3504–3519. doi: 10.1200/JCO.2017.77.3648.
- [5] GRUNENBERG A, SALA E, KAPP-SCHWOERER S, et al. Pharmacotherapeutic management of T-cell acute lymphoblastic leukemia in adults: an update of the literature[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2022, 23(5): 561–571. doi: 10.1080/14656566.2022.2033725.
- [6] CHEN C T, NIE D R, HUANG Y X, et al. Anticancer effects of disulfiram in T-cell malignancies through NPL4-mediated ubiquitin-proteasome pathway[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 112(4): 919–929. doi: 10.1002/JLB.5MA1121-644R.
- [7] NIE D R, CHEN C T, LI Y Q, et al. Disulfiram, an aldehyde dehydrogenase inhibitor, works as a potent drug against sepsis and cancer via NETosis, pyroptosis, apoptosis, ferroptosis, and cuproptosis[J]. *Blood Sci*, 2022, 4(3): 152–154. doi: 10.1097/BS9.000000000000117.
- [8] LU B S, YIN Y W, ZHANG Y P, et al. Upregulation of NPL4 promotes bladder cancer cell proliferation by inhibiting DXO destabilization of cyclin D1 mRNA[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 149. doi: 10.1186/s12935-019-0874-2.
- [9] YOSHINO H, YAMADA Y, ENOKIDA H, et al. Targeting NPL4 via drug repositioning using disulfiram for the treatment of clear cell renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0236119. doi: 10.1371/journal.pone.0236119.
- [10] IQBAL J, WRIGHT G, WANG C, et al. Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2014, 123(19): 2915–2923. doi: 10.1182/blood-2013-11-536359.
- [11] HAFERLACH T, KOHLMANN A, WIECZOREK L, et al. Clinical utility of microarray-based gene expression profiling in the diagnosis and subclassification of leukemia: report from the international microarray innovations in leukemia study group[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(15): 2529–2537. doi: 10.1200/JCO.2009.23.4732.
- [12] COUSTAN-SMITH E, SONG G C, CLARK C, et al. New

- markers for minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2011, 117(23): 6267–6276. doi: [10.1182/blood-2010-12-324004](https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-324004).
- [13] DING F B, XIAO H B, WANG M S, et al. The role of the ubiquitin-proteasome pathway in cancer development and treatment[J]. *Front Biosci*, 2014, 19(6): 886–895. doi: [10.2741/4254](https://doi.org/10.2741/4254).
- [14] VAZ B, HALDER S, RAMADAN K. Role of p97/VCP (Cdc48) in genome stability[J]. *Front Genet*, 2013, 4: 60. doi: [10.3389/fgene.2013.00060](https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00060).
- [15] BODNAR N O, KIM K H, JI Z J, et al. Structure of the Cdc48 ATPase with its ubiquitin-binding cofactor Ufd1-Npl4[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(7): 616–622. doi: [10.1038/s41594-018-0085-x](https://doi.org/10.1038/s41594-018-0085-x).
- [16] ISAACSON R L, PYE V E, SIMPSON P, et al. Detailed structural insights into the p97-Npl4-Ufd1 interface[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21361–21369. doi: [10.1074/jbc.M610069200](https://doi.org/10.1074/jbc.M610069200).
- [17] Cancer Discovery Editorial Staff. The alcohol-abuse drug disulfiram targets NPL4 to exert antitumor effects[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(2): OF7. doi: [10.1158/2159-8290.CD-RW2017-235](https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-RW2017-235).
- [18] SHARMA V, VERMA V, LAL N, et al. Disulfiram and its novel derivative sensitize prostate cancer cells to the growth regulatory mechanisms of the cell by re-expressing the epigenetically repressed tumor suppressor-estrogen receptor β [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(11): 1843–1857. doi: [10.1002/mc.22433](https://doi.org/10.1002/mc.22433).
- [19] ZHANG X, HU P, DING S Y, et al. Induction of autophagy-dependent apoptosis in cancer cells through activation of ER stress: an uncovered anti-cancer mechanism by anti-alcoholism drug disulfiram[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(6): 1266–1281.
- [20] HASSANI S, GHAFARI P, CHAHARDOULI B, et al. Disulfiram/copper causes ROS levels alteration, cell cycle inhibition, and apoptosis in acute myeloid leukaemia cell lines with modulation in the expression of related genes[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 561–569. doi: [10.1016/j.biopha.2018.01.109](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.109).
- [21] WANG T, JIN C, YANG P, et al. UBE2J1 inhibits colorectal cancer progression by promoting ubiquitination and degradation of RPS3[J]. *Oncogene*, 2023, 42(9): 651–664. doi: [10.1038/s41388-022-02581-7](https://doi.org/10.1038/s41388-022-02581-7).
- [22] WU C J, CONZE D B, LI X M, et al. TNF- α induced c-IAP1/TRAF2 complex translocation to a Ubc6-containing compartment and TRAF2 ubiquitination[J]. *EMBO J*, 2005, 24(10): 1886–1898. doi: [10.1038/sj.emboj.7600649](https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600649).
- [23] BURR M L, CANO F, SVOBODOVA S, et al. HRD1 and UBE2J1 target misfolded MHC class I heavy chains for endoplasmic reticulum-associated degradation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 2034–2039. doi: [10.1073/pnas.1016229108](https://doi.org/10.1073/pnas.1016229108).
- [24] YOUNGER J M, CHEN L L, REN H Y, et al. Sequential quality-control checkpoints triage misfolded cystic fibrosis transmembrane conductance regulator[J]. *Cell*, 2006, 126(3): 571–582. doi: [10.1016/j.cell.2006.06.041](https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.041).
- [25] FENG T T, DENG L, LU X C, et al. Ubiquitin-conjugating enzyme UBE2J1 negatively modulates interferon pathway and promotes RNA virus infection[J]. *Virol J*, 2018, 15(1): 132. doi: [10.1186/s12985-018-1040-5](https://doi.org/10.1186/s12985-018-1040-5).

[收稿日期] 2024-04-18