

非小细胞肺癌中卵巢肿瘤泛素异肽酶 1 与程序性死亡受体-1 配体的表达相关性

陈秀红, 李 坤, 靳 爽, 张中冕

(郑州大学第二附属医院 肿瘤科, 河南 郑州, 450014)

摘要:目的 探讨非小细胞肺癌(NSCLC)中卵巢肿瘤泛素异肽酶 1(OTUB1)与程序性死亡受体-1 配体(PD-L1)的相关性。方法 分析肿瘤基因组数据库(TCGA)中 NSCLC 与癌旁正常组织 OTUB1 mRNA 的差异性。基于基因表达谱数据动态分析(GEPIA)探讨 NSCLC 中 OTUB1 与 PD-L1 mRNA 表达相关性。免疫组化法检测 46 例 NSCLC 及 41 例癌旁正常组织蜡块 OTUB1 及 PD-L1 蛋白表达,收集临床病例数据及随访资料。分析 OTUB1 在癌组织与癌旁组织中的表达差异, OTUB1 与 PD-L1 相关性、临床病理特征的关系以及无复发生存期(RFS)预测意义。结果 NSCLC 与癌旁正常组织的 OTUB1 mRNA 及蛋白表达差异均有统计学意义($P < 0.05$)。NSCLC 的 OTUB1 与 PD-L1 mRNA 无相关性($P > 0.05$),但两者蛋白表达有相关性($P = 0.029$)。OTUB1 与 TNM 分期有相关性($P = 0.039$),与年龄、吸烟史、分化程度、转移淋巴结数及病理类型无相关性($P > 0.05$)。Kaplan-Meier 分析显示, TNM 分期($P < 0.001$)、转移淋巴结数($P = 0.001$)及分化程度($P = 0.042$)是 RFS 的影响因素; OTUB1 阴性及阳性中位 RFS 分别是 18、19 个月,差异无统计学意义($P > 0.05$)。COX 多因素分析结果提示,分化程度($P = 0.005$)及 TNM 分期($P = 0.006$)是影响 RFS 的独立危险因素。结论 NSCLC 中 OTUB1 mRNA 及蛋白表达均高于癌旁正常组织。在蛋白水平方面, OTUB1 与 PD-L1 呈正相关。OTUB1 表达与 TNM 分期相关。

关键词: 非小细胞肺癌; 卵巢肿瘤泛素异肽酶 1; 程序性死亡受体-1 配体; 免疫治疗; 相关性

中图分类号: R 734.2; R 392.11 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2021)23-031-06 DOI: 10.7619/jcmp.20213152

Correlation between expression of ovarian tumor domain-containing ubiquitin aldehyde binding protein 1 and programmed cell death-ligand 1 in non-small cell lung cancer

CHEN Xiuhong, LI Kun, JIN Shuang, ZHANG Zhongmian

(Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450014)

Abstract: **Objective** To explore the correlation between ovarian tumor domain-containing ubiquitin aldehyde binding protein 1 (OTUB1) and programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Differences of OTUB1 mRNA between NSCLC and corresponding non-tumor normal tissues in the Cancer Genome Atlas (TCGA) were analyzed. The correlation on mRNA expression between OTUB1 and PD-L1 in NSCLC in Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) was discussed. The protein expressions of OTUB1 and PD-L1 in 46 cases of NSCLC and 41 cases of corresponding non-tumor normal tissues were detected by immunohistochemistry, and the clinical case data and follow-up data were collected. The expression difference of OTUB1 between cancer tissues and adjacent tissues, the correlations between OTUB1 and PD-L1 as well as clinicopathological features, and the predictive significance for recurrence free survival (RFS) were analyzed. **Results** There were significant differences in mRNA and protein expressions of OTUB1 between NSCLC and corresponding non-tumor normal tissues ($P < 0.05$). There was no correlation in mRNA expression between OTUB1 and PD-L1 in NSCLC tissues ($P > 0.05$), but there was a correlation in protein expression between OTUB1 and PD-L1 ($P = 0.029$). OTUB1 was correlated with TNM staging ($P = 0.039$), but had no correlation with age, history of smoking, degree of differentiation,

number of metastatic lymph nodes and pathological type ($P > 0.05$). Kaplan-Meier analysis showed that TNM staging ($P < 0.001$), the number of metastatic lymph nodes ($P = 0.001$) and the degree of differentiation ($P = 0.042$) were the influencing factors of RFS. The median RFS of negative and positive OTUB1 were 18 months and 19 months, respectively, and there was no significant difference ($P > 0.05$). COX multivariate analysis showed that the degree of differentiation ($P = 0.005$) and TNM staging ($P = 0.006$) were the independent risk factors for RFS. **Conclusion** The mRNA and protein expression levels of OTUB1 in NSCLC tissue are higher than those in corresponding non-tumor normal tissues. In terms of protein level, OTUB1 is positively correlated with PD-L1. OTUB1 expression is related to TNM staging.

Key words: non-small cell lung cancer; ovarian tumor domain-containing ubiquitin aldehyde binding protein 1; programmed cell death-ligand 1; immunotherapy; correlation

非小细胞肺癌(NSCLC)的常见病理类型包括腺癌(LUAD)及鳞癌(LUSC)^[1]。目前,NSCLC的治疗已经实现了从细胞毒药物阶段、分子靶向治疗阶段向以免疫检查点抑制剂为代表的免疫治疗阶段的显著改变,尤其是免疫治疗进展迅速,在NSCLC、肾癌、霍奇金淋巴瘤等多种肿瘤治疗中均有获益,但总体疗效仍不理想^[2]。免疫治疗主要机制包括了程序性死亡受体-1(PD1)及其配体(PD-L1)通路的阻断,PD-L1及PD1为免疫治疗的重要靶点;PD-L1广泛表达于癌细胞、抗原呈递细胞等,与PD1的结合可导致T淋巴细胞功能受损,故PD-L1抑制剂特异性靶向PD-L1蛋白可以避免肿瘤细胞免疫逃逸的发生^[3]。PD-L1作为典型的跨膜结构域蛋白,多项研究^[4-9]揭示其转运相关的关键调控因子如二甲双胍、趋化素样因子超家族(CMTM)、亨廷顿相互作用蛋白1相关蛋白(HIP1R)、外泌体以及各种翻译后修饰,其中的糖基化、磷酸化、棕榈酰化和泛素化尤其重要。糖基化的PD-L1影响参与泛素化过程酶的磷酸化,阻断了泛素E3连接酶识别PD-L1,从而影响PD-L1泛素化。PD-L1磷酸化影响其从内质网至高尔基体的转运,缺失磷酸化的PD-L1被内质网相关降解蛋白消除。棕榈酰化通过阻断PD-L1泛素化保持PD-L1的稳定,抑制溶酶体对PD-L1的降解^[10]。

卵巢肿瘤泛素异肽酶1(OTUB1)是卵巢肿瘤域蛋白酶去泛素酶家族成员之一,在肿瘤及神经退化等疾病中发挥重要作用,作用机制包括了下调泛素化调节蛋白稳定性等^[11]。近期研究^[12]发现,OTUB1阻止内质网相关PD-L1降解,明确包括了乳腺癌、肺癌、肾癌及肝癌细胞系等。目前OTUB1在NSCLC组织方面的研究较少,NSCLC

中OTUB1是否存在对PD-L1表达的调节有待进一步探索,也能为提高免疫治疗效果提供可选择方案。本研究通过评价肿瘤基因组数据库(TCGA)中NSCLC组织及癌旁正常组织的OTUB1 mRNA差异性,回顾性分析NSCLC组织及癌旁正常组织中OTUB1蛋白差异性。基于基因表达谱数据动态分析(GEPIA)探讨数据库中NSCLC的OTUB1与PD-L1 mRNA相关性,采用免疫组织化学染色(IHC)测定NSCLC组织中OTUB1及PD-L1蛋白表达,探究两者相关性及OTUB1表达与临床特征及对无复发生存期(RFS)的影响,探讨非小细胞肺癌免疫治疗的可能方向,阐明NSCLC可能的发生机制及新的RFS预测因素。

1 材料与方法

1.1 数据来源

从TCGA数据库 Genomic Data Commons Portal(GDC)(<https://portal.gdc.cancer.gov>)(2021年4月30日)中下载LUAD($n = 535$)及癌旁正常组织($n = 59$)和LUSC($n = 502$)及癌旁正常组织($n = 49$)的OTUB1表达数据,下载的OTUB1表达数据类型为采用转录组测序技术(RNA-Seq)所获得的HTSeq-FPKM数据^[13];使用GEPIA数据库分析其数据库下载的NSCLC中OTUB1与PD-L1 mRNA表达相关性^[14]。

1.2 组织样本来源

收集2016年6月—2019年12月郑州大学第二附属医院病理确诊为NSCLC并接受了肺癌切除术及淋巴结清扫术的患者的癌组织46例及癌旁正常肺组织蜡块包埋样本41例。纳入标准:病理确诊为NSCLC、明确的TNM分期、完整的随

访记录及临床信息(包括年龄、性别、吸烟史、分化程度及转移淋巴结数等)、至少接受术后标准治疗者。排除标准:术前接受放化疗、免疫治疗、其他肿瘤病史、死因非肺癌患者。NSCLC者46例,中低分化15例,高分化31例;Ⅰ~Ⅱ期30例,Ⅲ期16例;年龄29~74岁,有吸烟史26例,无吸烟史20例;肺鳞癌22例,肺腺癌24例,癌旁正常组织41例。截至2021年5月30日,对所有患者随访,包括门诊随访、入院检查及电话回访。无复发生存期(RFS)指手术至肿瘤复发或者任何原因死亡的时间(以月为单位)。本临床研究方案经郑州大学第二附属医院伦理学委员会批准(伦理批件号2021209)。

1.3 免疫组织化学(IHC)及评分

IHC染色采用的试剂来自单克隆兔抗OTUB1抗体(affbiotech,编号DF9998)和多克隆兔抗PD-L1抗体(Abcam,编号ab213524)。实验步骤如下:石蜡切片脱蜡、水化及修复,3% H₂O₂阻断内源性过氧化物酶,加一抗(OTUB1为1:400,PD-L1为1:150)后4℃过夜;加二抗孵育,DAB显色、苏木素复染及脱水封片。PD-L1根据肿瘤比例评分(TPS)标准:即任何染色强度的PD-L1膜染色的肿瘤细胞在所有肿瘤细胞中所占百分比,定义膜染色有0分(<1%)、1分(1%~<50%)、2分(≥50%),0分为阴性表达组,≥1分为阳性表达组。OTUB1评分标准:随机选取切片的5个视野(放大倍数400倍),参考抗体说明书,按细胞质中染色强度评分:即0分(无色)、1分(淡黄色)、2分(棕黄色)、3分(棕褐色);结合阳性细胞所占百分比,评估为0分(≤5%)、1分(>5%~25%)、2分(>25%~50%)、3分(>50%~75%)和4分(>75%)。OTUB1

表达以0~4分为阴性表达,5~12分为阳性表达。病理切片由郑州大学第二附属医院2位病理医师独立、盲法评分,分析PD-L1、OTUB1的表达。

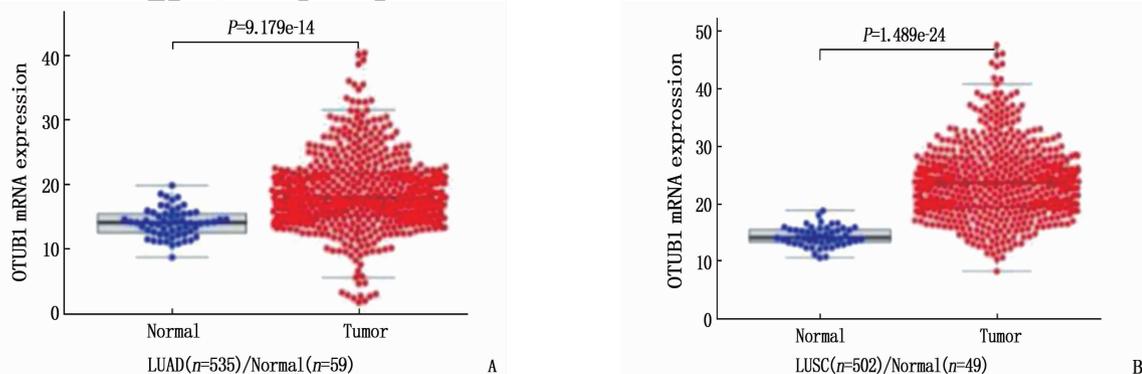
1.4 统计学分析

采用R软件中“limma”及“beeswarm”包分析来源于TCGA中癌组织与癌旁正常组织中OTUB1表达情况,应用wilcox.test统计分析并描绘散点图。采用SPSS 22.0软件进行统计数据分分析,相关性分析采用Spearman等级相关分析,生存分析采用Kaplan-Meier法,生存率比较采用Log-rank检验,对有意义的预后因素应用COX回归多因素分析。计数资料采用频数、率表示,比较采用 χ^2 检验。计量资料采用均数±标准差表示,比较采用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

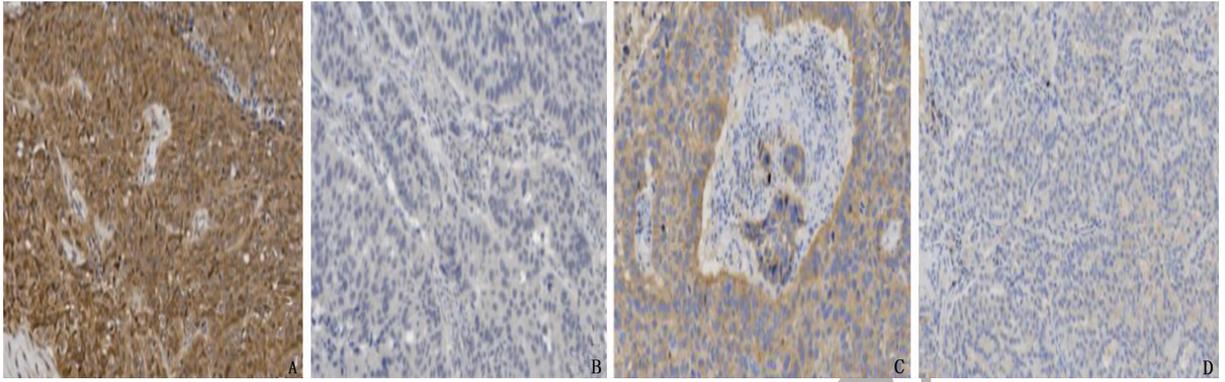
2.1 NSCLC组织与癌旁正常组织中OTUB1 mRNA及蛋白表达差异结果

TCGA下载的LUAD($n=535$)及癌旁正常组织($n=59$)的OTUB1 mRNA比较,差异有统计学意义($P<0.05$);TCGA下载的LUSC($n=502$)及癌旁正常组织($n=49$)的OTUB1 mRNA比较,差异也有统计学意义($P<0.05$)。见图1。IHC显示OTUB1主要表达于细胞质中,见图2。46例肺癌组织中,OTUB1阳性28例(60.9%),阴性18例(39.1%);相应的41例癌旁正常组织中,OTUB1阳性15例(36.6%),阴性26例(63.4%);肺癌组织与癌旁正常组织的OTUB1表达差异有统计学意义($P<0.05$),提示NSCLC组织中OTUB1 mRNA及蛋白表达均高于癌旁正常组织。



A: TCGA 数据库中 LUAD 及癌旁正常组织 OTUB1 mRNA 比较; B: TCGA 数据库中 LUSC 及癌旁正常组织 OTUB1 mRNA 比较。

图1 NSCLC 组织与癌旁正常组织中 OTUB1 mRNA 比较



A, B: OTUB1 阳性表达与阴性表达; C, D: PD-L1 阳性表达与阴性表达。

图 2 OTUB1 蛋白及 PD-L1 蛋白 IHC 阳性及阴性比较 (放大倍数 200 倍)

2.2 NSCLC 组织中 OTUB1 与 PD-L1 在 mRNA、蛋白表达水平的相关性

基于 GEPIA 应用 Spearman 分析来自其数据库中 NSCLC 的 OTUB1 与 PD-L1 mRNA 水平表达的相关性,结果显示无相关性($r = -0.006, P = 0.850$),见图 3。46 例肺癌组织中,OTUB1 阳性 28 例(60.9%),阴性 18 例(39.1%);PD-L1 阳性 27 例(58.7%),阴性 19 例(41.3%);Spearman 相关性分析提示两者蛋白水平具有相关性($r = 0.323, P = 0.029$)。

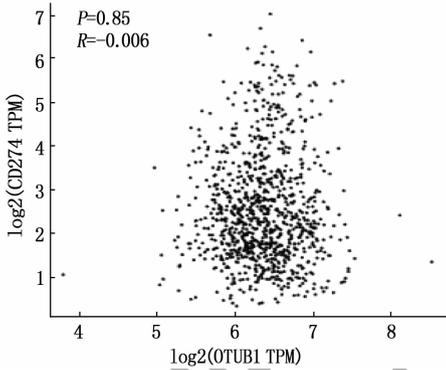


图 3 基于 GEPIA 分析 LUSC、LUAD 中 OTUB1 mRNA 表达相关性

2.3 NSCLC 组织中 OTUB1 表达与各临床特征的关系

不同 TNM 分期患者 OTUB1 表达差异具有统计学意义($\chi^2 = 4.278, P = 0.039$),见表 1。

2.4 NSCLC 患者术后 RFS 的影响因素分析

TNM 分期($P < 0.001$)、转移淋巴结个数($P = 0.001$)、分化程度($P = 0.042$)是 RFS 的影响因素;OTUB1 阴性、阳性表达患者的中位 RFS 分别 18、19 个月,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

2.5 NSCLC 患者术后 RFS 影响因素的多因素分析

根据 Kaplan-Meier 单因素分析结果,以转移

淋巴结数、分化程度、TNM 分期建立 COX 多因素风险模型,结果提示分化程度($Hr = 3.143, 95\% CI$ 为 $1.407 \sim 7.024, P = 0.005$)及 TNM 分期($Hr = 3.467, 95\% CI$ 为 $1.425 \sim 8.435, P = 0.006$)是影响 RFS 的独立危险因素,转移淋巴结数不是影响 RFS 的独立危险因素($Hr = 2.267, 95\% CI$ 为 $0.859 \sim 5.980, P = 0.098$)。

表 1 NSCLC 组织中 OTUB1 表达与各临床特征的关系

临床特征	OTUB1		χ^2	P	
	阴性(n=18)	阳性(n=28)			
年龄	<60 岁	6	11	0.167	0.683
	≥60 岁	12	17		
吸烟史	无	8	12	0.011	0.916
	有	10	16		
分化程度	高分化	6	9	0.007	0.933
	中低分化	12	19		
转移淋巴结个数	<3 个	15	18	1.961	0.161
	≥3 个	3	10		
TNM 分期	I ~ II 期	15	15	4.278	0.039
	III 期	3	13		
病理类型	腺癌	11	13	0.947	0.331
	鳞癌	7	15		

表 2 NSCLC 患者术后 RFS 的影响因素分析 (Kaplan-Meier 法)

临床特征	RFS/个月		χ^2	P	
	中位数	95% CI			
TNM 分期	I ~ II 期	23	10.765 ~ 35.235	16.487	<0.001
	III 期	10	7.387 ~ 12.613		
	转移淋巴结个数	<3 个	23		
≥3 个	10	7.651 ~ 12.349			
分化程度	高分化	23	16.098 ~ 29.902	4.132	0.042
	中低分化	15	10.637 ~ 19.363		
OTUB1	阴性	18	11.802 ~ 24.198	0.323	0.570
	阳性	19	10.261 ~ 27.739		

3 讨论

近年来研究^[15-16]表明,OTUB1 在调控细胞增殖、代谢及代谢相关蛋白方面具有重要作用,并在胃腺癌、结直肠癌及前列腺癌中均发现了

OTUB1 的高表达。KARUNARATHNA U 等^[17]证实了 OTUB1 下调 FOXM1 泛素水平而促进乳腺癌细胞的增殖能力; IGLESIAS-GATO D 等^[18]也阐述了 OTUB1 上调二氢睾酮诱导的前列腺癌细胞株的侵袭力; 但有关肺癌中 OTUB1 的表达的相关研究却较少。PD-L1 作为免疫治疗的主要研究点, 除了在遗传、表观遗传、转录及翻译等方面进行研究外, 其在蛋白泛素化方面的调控也逐渐成为研究的热点^[19]。本研究采用生物信息学与免疫组化实验相结合的方法探讨 OTUB1 在肺癌组织中的表达及临床意义, 发掘可能调控 PD-L1 的新方向。

相较于 OTUB2 等其它 OTUB1 家族成员, OTUB1 在泛素链切割方面具有较高的特异性, 仅对 K48 连接多聚泛素链切割, 此方式也是 OTUB1 下调泛素化的经典机制。除此之外, OTUB1 通过与携带泛素的 E2 连接酶结合而阻止泛素向蛋白底物的转移^[20-21]。ZHU D 等^[12]发行 BT-549 及 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系敲除 OTUB1 后 PD-L1 蛋白水平显著降低, 且 OTUB1 的缺失对其影响只限于蛋白水平, 其 mRNA 丰度并未受到影响。其机制可能正是 OTUB1 发挥了去泛素化酶作用, 使 PD-L1 蛋白保持了较低的泛素化状态, 避免其在胞质内被内质网相关降解复合体 (ERAD) 降解。基于 GEPIA 分析显示, OTUB1 mRNA 及 PD-L1 mRNA 无明显相关性, 一定程度上预测了两者在基因水平上相互调控或者被同一因素调控的可能性较低。本实验采用 IHC 首次发现了 NSCLC 组织中 OTUB1 与 PD-L1 蛋白呈正相关, 佐证了两者可能存在蛋白水平调节的假设, 此假设也与乳腺癌中已证实了的 OTUB1 经下调 PD-L1 泛素化而避免其被降解的机制相符合。ZHU D 等^[12]发现 NSCLC 的 A549 细胞中 OTUB1 缺失引起了 OTUB1 蛋白量下降, 与本实验结果一致。

研究^[22-25]表明, PD-L1 表达水平的升高与肾细胞癌、肺癌、卵巢癌、鼻咽癌等癌症的抗 PD-L1 疗效及生存预后较差相关。PD-L1 作为膜蛋白的一种, 大部分均经历了持续的代谢和内化, 其释放的动态循环和调控影响了细胞膜上 PD-L1 的数量, 目前的免疫治疗可能只针对暂时暴露于细胞表面的 PD-L1^[8]。此结果为靶向 PD-L1 提供了新的调控点, 也为增强免疫治疗成效提供了可能性。本研究通过分析来源于 TCGA 中数据及 IHC 验证发现了 OTUB1 较癌旁正常组织表达上调, 提示了其在

NSCLC 发生中可能具有一定的作用。BAIETTI M F 等^[26]研究发现, 在 OTUB1 下调 RAS 泛素化激活下游 MAPK 通路, 成为野生 RAS 型非小细胞肺癌发生的重要机制。LI Y 等^[27]研究却揭示了 OTUB1 通过阻断 UbcH5 降低 P53 泛素化, 从而维持 P53 稳定性, 使得 P53 在介导细胞凋亡和抑制细胞增殖方面发挥作用。ZHOU Y 等^[15]研究亦发现了 OTUB1 阳性表达为肺腺癌早期事件, 与本研究 III 期患者中阳性表达率较高不一致, 考虑可能与入组病例数较少、纳入标准不同有关。

本研究的局限性: ① 本研究存在临床纳入病例数较少的问题, 缺乏大规模临床入组。② OTUB1 与 PD-L1 相关性仅局限于人肺腺癌、肺鳞癌病理类型, 两者之间 mRNA 关系仅来自于生物信息学分析。③ 由于实验条件限制, 缺乏肺癌细胞系中 OTUB1 与 PD-L1 蛋白水平相关性的验证, 即在 NSCLC 细胞系中敲除 OTUB1 mRNA, 行 PD-L1 mRNA 及蛋白水平检测, 在 NSCLC 中 OTUB1 调节 PD-L1 的具体机制尚需进一步研究验证。

综上所述, 本研究发现 NSCLC 中 OTUB1 与 PD-L1 蛋白水平呈正相关, 在 NSCLC 中也呈现高表达, 提示 OTUB1 可能是 PD-L1 潜在的调节机制中至关重要的一环, 也表明其在 NSCLC 发生中可能发挥一定的作用。

参考文献

- [1] BARTA J A, POWELL C A, WISNIVESKY J P. Global epidemiology of lung cancer[J]. *Ann Glob Heal*, 2019, 85(1): 8.
- [2] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(pt 1): 103-109.
- [3] ZOU W, WOLCHOK J D, CHEN L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(328): 328rv4.
- [4] EIKAWA S, NISHIDA M, MIZUKAMI S, et al. Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin[J]. *PNAS*, 2015, 112(6): 1809-1814.
- [5] YANG Y, HSU J M, SUN L, et al. Palmitoylation stabilizes PD-L1 to promote breast tumor growth[J]. *Cell Res*, 2019, 29(1): 83-86.
- [6] ZHANG J, BU X, WANG H, et al. Cyclin D-CDK4 kinase destabilizes PD-L1 via cullin 3-SPOP to control cancer immune surveillance[J]. *Nature*, 2018, 553(7686): 91-95.
- [7] LIM S O, LI C W, XIA W, et al. Deubiquitination and stabilization of PD-L1 by CSN5[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(6):

- 925-939.
- [8] DENG S, ZHOU X, XU J. Checkpoints under traffic control: from and to organelles[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1248: 431-453.
- [9] FRAME S, COHEN P. GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery[J]. *Biochem J*, 2001, 359(pt 1): 1-16.
- [10] YANG Y, HSU J M, SUN L, *et al.* Palmitoylation stabilizes PD-L1 to promote breast tumor growth[J]. *Cell Res*, 2019, 29(1): 83-86.
- [11] ZHU Q, FU Y, LI L, *et al.* The functions and regulation of Otubains in protein homeostasis and diseases[J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 67: 101303.
- [12] ZHU D, XU R, HUANG X, *et al.* Deubiquitinating enzyme OTUB1 promotes cancer cell immunosuppression via preventing ER-associated degradation of immune checkpoint protein PD-L1[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(6): 1773-1789.
- [13] TOMCZAK K, CZERWIŃSKA P, WIZNEROWICZ M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge[J]. *Contemp Oncol: Pozn*, 2015, 19(1a): A68-A77.
- [14] TANG Z, LI C, KANG B, *et al.* GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45 (w1): W98-W102.
- [15] ZHOU Y, WU J, FU X, *et al.* OTUB1 promotes metastasis and serves as a marker of poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 258.
- [16] WENG W, ZHANG Q, XU M, *et al.* OTUB1 promotes tumor invasion and predicts a poor prognosis in gastric adenocarcinoma[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(5): 2234-2244.
- [17] KARUNARATHNA U, KONGSEMA M, ZONA S, *et al.* OTUB1 inhibits the ubiquitination and degradation of FOXM1 in breast cancer and epirubicin resistance[J]. *Oncogene*, 2016, 35(11): 1433-1444.
- [18] IGLESIAS-GATO D, CHUAN Y C, JIANG N, *et al.* Erratum: OTUB1 de-ubiquitinating enzyme promotes prostate cancer cell invasion in vitro and tumorigenesis in vivo[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 88.
- [19] WANG Y, WANG H, YAO H, *et al.* Regulation of PD-L1: emerging routes for targeting tumor immune evasion[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 536.
- [20] ALTUN M, WALTER T S, KRAMER H B, *et al.* The human otubain2-ubiquitin structure provides insights into the cleavage specificity of poly-ubiquitin-linkages[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1): e0115344.
- [21] WIENER R, ZHANG X, WANG T, *et al.* The mechanism of OTUB1-mediated inhibition of ubiquitination[J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 618-622.
- [22] FEDCHENKO N, REIFENRATH J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review[J]. *Diagn Pathol*, 2014, 9: 221.
- [23] THOMPSON R H, KUNTZ S M, LEIBOVICH B C, *et al.* Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3381-3385.
- [24] HSU M C, HSIAO J R, CHANG K C, *et al.* Increase of programmed death-1-expressing intratumoral CD8 T cells predicts a poor prognosis for nasopharyngeal carcinoma[J]. *Mod Pathol*, 2010, 23(10): 1393-1403.
- [25] HAMANISHI J, MANDAI M, IWASAKI M, *et al.* Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer[J]. *PNAS*, 2007, 104(9): 3360-3365.
- [26] BAIETTLI M F, SIMICEK M, ABBASI ASBAGH L, *et al.* OTUB1 triggers lung cancer development by inhibiting RAS monoubiquitination[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(3): 288-303.
- [27] LI Y, SUN X X, ELFERICH J, *et al.* Monoubiquitination is critical for ovarian tumor domain-containing ubiquitin aldehyde binding protein 1 (Otub1) to suppress UbcH5 enzyme and stabilize p53 protein[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(8): 5097-5108.

(本文编辑: 梁琥)

(上接第 30 面)

- [6] RANZANI O T, SENUSSI T, IDONE F, *et al.* Invasive and non-invasive diagnostic approaches for microbiological diagnosis of hospital-acquired pneumonia[J]. *Crit Care*, 2019, 23(1): 51.
- [7] 郭磊磊, 秦红英, 张艺, 等. 重症监护病区医院感染风险预测模型构建[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(8): 1239-1244.
- [8] 赵霞, 王力红, 魏楠, 等. 老年患者医院获得性肺炎风险评估模型的构建[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(3): 271-276.
- [9] ERICSON J E, MCCUIRE J, MICHAELS M G, *et al.* Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia in children: a prospective natural history and case-control study[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2020, 39(8): 658-664.
- [10] TELLAPRAGADA C, GISKE C G. The Unyvero Hospital-Acquired pneumonia panel for diagnosis of secondary bacterial pneumonia in COVID-19 patients[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2021, 40(12): 2479-2485.
- [11] 张雯予, 王金荣, 郭淑芬, 等. 重症监护病房医院感染早期预测模型的建立[J]. *国际呼吸杂志*, 2021, 41(2): 127-132.
- [12] 张英, 谢晓梅, 许亚婷, 等. 某院 ICU 卒中老年患者医院获得性肺炎的病原学特点及危险因素分析[J]. *中国消毒学杂志*, 2020, 37(11): 826-828.
- [13] 李静, 王艳静, 贺延娇, 等. ICU 患者发生耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌医院获得性肺炎的危险因素[J]. *中国感染控制杂志*, 2019, 18(2): 163-166.
- [14] 王海君. 老年呼吸内科患者医院获得性肺炎危险因素分析及护理干预效果[J]. *中国急救医学*, 2018, 38(z2): 26-26.
- [15] 孙文霞, 吴刚. 老年脑卒中患者并发医院获得性肺炎的危险因素分析[J]. *新疆医科大学学报*, 2019, 42(11): 1459-1463.

(本文编辑: 周冬梅)