

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.14.002  
文章编号: 1005-8982 (2022) 14-0007-07

非小细胞肺癌专题·论著

## NEDD4L和ULK1在非小细胞肺癌中的表达及预后价值\*

吴松<sup>1</sup>, 郝小康<sup>2</sup>, 张振华<sup>3</sup>, 高晓<sup>4</sup>, 杜伟平<sup>5</sup>

(1. 三二〇一医院 医学检验科, 陕西 汉中 723000; 2. 西藏民族大学附属医院 检验科, 陕西 咸阳 712082; 3. 三二〇一医院 心胸外科, 陕西 汉中 723000; 4. 陕西省核工业二一五医院 病理科, 陕西 咸阳 712000; 5. 延安大学附属医院 检验科, 陕西 延安 716000)

**摘要:** **目的** 研究非小细胞肺癌(NSCLC)组织中NEDD4样E3泛素蛋白连接酶(NEDD4L)、UNC-51样激酶1(ULK1)的表达及临床意义。**方法** 选取2017年1月—2018年1月三二〇一医院收治的88例NSCLC患者作为研究对象。应用R语言分析癌症基因组图谱(TCGA)数据库中NSCLC及癌旁组织中NEDD4L和ULK1 mRNA的表达差异, 免疫组织化学法分析癌组织和癌旁组织中NEDD4L和ULK1蛋白的表达, Kaplan-Meier法分析NEDD4L、ULK1表达与患者生存预后的关系, 单因素及多因素Cox回归分析影响NSCLC患者生存预后的危险因素。**结果** 癌组织NEDD4L mRNA相对表达量低于癌旁组织( $P < 0.05$ ), ULK1 mRNA相对表达量高于癌旁组织( $P < 0.05$ )。癌组织NEDD4L的阳性表达率低于癌旁组织( $P < 0.05$ ), ULK1的阳性表达率高于癌旁组织( $P < 0.05$ )。有无淋巴结转移、不同TNM分期患者的癌组织NEDD4L、ULK1阳性表达率比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Spearman相关性分析结果显示, NSCLC患者癌组织中NEDD4L与ULK1的表达呈负相关( $r_s = -0.587, P < 0.05$ )。NEDD4L阴性表达患者3年总体生存率较阳性表达患者低( $P < 0.05$ ), NEDD4L阳性表达患者平均生存时间较阴性表达患者长( $P < 0.05$ )。ULK1阳性表达患者3年总体生存率较阴性表达患者低( $P < 0.05$ ), ULK1阳性表达患者平均生存时间较阴性表达患者长( $P < 0.05$ )。单因素Cox回归分析结果显示, 肿瘤TNM分期Ⅲ期[HR=1.898(95% CI: 1.320, 2.729)]、NEDD4L阴性表达[HR=1.654(95% CI: 0.921, 2.588)]和ULK1阳性表达[HR=1.692(95% CI: 0.860, 2.650)]是NSCLC患者预后的影响因素( $P < 0.05$ )。多因素Cox回归分析结果显示, NEDD4L阴性表达[HR=1.878(95% CI: 0.961, 2.995)]、ULK1阳性表达[HR=1.679(95% CI: 0.785, 2.884)]及肿瘤TNM分期Ⅲ期[HR=1.937(95% CI: 1.131, 3.317)]是NSCLC患者不良预后的独立危险因素( $P < 0.05$ )。**结论** NSCLC中NEDD4L表达降低, ULK1表达升高, NEDD4L、ULK1的表达与肿瘤TNM分期、淋巴结转移有关, NEDD4L阴性表达、ULK1阳性表达是NSCLC患者不良预后的独立危险因素。

**关键词:** 非小细胞肺癌; NEDD4样E3泛素蛋白连接酶; UNC-51样激酶1; 预后; 临床意义

**中图分类号:** R734.2

**文献标识码:** A

## The expression and prognostic value of NEDD4L and ULK1 in non-small cell lung cancer\*

Song Wu<sup>1</sup>, Xiao-kang He<sup>2</sup>, Zhen-hua Zhang<sup>3</sup>, Xiao Gao<sup>4</sup>, Wei-ping Du<sup>5</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, 3201 Hospital, Hanzhong, Shaanxi 723000, China;  
2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Xizang Minzu University, Xianyang, Shaanxi 712082, China; 3. Department of Cardiothoracic Surgery, 3201 Hospital, Hanzhong,

收稿日期: 2021-09-09

\* 基金项目: 国家重点研发计划(No. 2019YFF0216502)

[通信作者] 高晓, E-mail: 835676136@qq.com

Shaanxi 723000, China; 4. Department of Pathology, No.215 Hospital of Shaanxi Nuclear Industry, Xianyang, Shaanxi 712000, China; 5. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi 716000, China)

**Abstract: Objective** To decipher the expression and clinical significance of NEDD4-like E3 ubiquitin protein ligase (NEDD4L) and UNC-51-like kinase 1 (ULK1) in tumor tissues from patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** The 88 NSCLC patients admitted to 3201 Hospital from January 2017 to January 2018 were enrolled as participants. The differences in the mRNA expressions of NEDD4L and ULK1 in NSCLC and adjacent normal tissues as revealed in The Cancer Genome Atlas (TCGA) were analyzed with R software. Immunohistochemistry was performed to detect the protein expressions of NEDD4L and ULK1 in the cancer and adjacent normal tissues. The relationship between the expressions of NEDD4L and ULK1 in cancer tissues and the prognosis of patients was analyzed by Kaplan-Meier method. Univariable and multivariable COX proportional hazards models were used to analyze the risk factors that affect the prognosis of NSCLC patients. **Results** The mRNA expression level of NEDD4L in NSCLC tissues was lower than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ), while the mRNA expression level of ULK1 was significantly higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). Consistently, the positivity rate of NEDD4L in NSCLC tissues was lower than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ), while the positivity rate of ULK1 in NSCLC tissues was higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). The positivity rates of NEDD4L and ULK1 in NSCLC tissues were different between patients with and without lymph node metastasis and among those with distinct TNM stages ( $P < 0.05$ ). The expression of NEDD4L and that of ULK1 in NSCLC tissues were negatively correlated ( $r_s = -0.587$ ,  $P < 0.05$ ). The 3-year overall survival rate was lower in patients with negative expression of NEDD4L than in those with positive expression of NEDD4L ( $P < 0.05$ ), and the mean survival time was longer in patients with positive expression of NEDD4L than in those with negative expression of NEDD4L ( $P < 0.05$ ). The 3-year overall survival rate was lower in patients with positive expression of ULK1 than in those with negative expression of ULK1 ( $P < 0.05$ ), and the mean survival time was longer in patients with positive expression of ULK1 than in those with negative expression of ULK1 ( $P < 0.05$ ). The univariable Cox regression analysis exhibited that stage III NSCLC, negative expression of NEDD4L, and positive expression of ULK1 were factors affecting the prognosis of NSCLC patients ( $P < 0.05$ ). The multivariable Cox regression analysis revealed that negative expression of NEDD4L [ $\hat{HR} = 0.978$  (95% CI: 0.961, 0.995)], positive expression of ULK1 [ $\hat{HR} = 0.879$  (95% CI: 0.785, 0.984)], and stage III NSCLC [ $\hat{HR} = 1.937$  (95% CI: 1.131, 3.317)] were independent risk factors for poor prognosis in NSCLC patients ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The expression of NEDD4L decreases, while the expression of ULK1 increases in patients with NSCLC. The expressions of NEDD4L and ULK1 are related to the TNM stage of NSCLC and lymph node metastasis. The negative expression of NEDD4L and positive expression of ULK1 are independent risk factors for the poor prognosis of NSCLC patients.

**Keywords:** non-small cell lung cancer; NEDD4-like E3 ubiquitin protein ligase; UNC-51-like kinase 1; prognosis; clinical significance

肺癌是全球常见的呼吸系统恶性肿瘤，每年发病患者约 180 万例，死亡约 159 万例<sup>[1]</sup>。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是肺癌最常见的类型。虽然分子靶向治疗及免疫治疗等改善了 NSCLC 患者的生存预后，但 5 年总体生存率仍较差，仅 20% 左右<sup>[2]</sup>。NEDD4 样 E3 泛素蛋白连接酶 (NEDD4L) 的编码基因位于 18q21.31，其编码蛋白属于 HECT 域 E3 泛素连接酶的 NEDD4 家族成员，能将 E2 泛素结合酶转移到蛋白质底物，从而降解特定蛋白质进行溶酶体<sup>[3]</sup>。有研究表明，NEDD4L 在肿瘤中发挥抑制肿瘤的功能，通过抑制促癌因子

(如缺氧诱导因子 1 $\alpha$ ) 的表达，抑制恶性肿瘤的发生、发展，在胃癌及卵巢癌等恶性肿瘤中 NEDD4L 表达下调，促进肿瘤的恶性进展<sup>[4-5]</sup>。UNC-51 样激酶 1 (ULK1) 编码基因位于 12q24.33，编码蛋白参与 ULK1 复合物构成，整合不同磷酸化和泛素化的信号传导，是促进自噬起始的主要因子<sup>[6]</sup>。有研究表明，肿瘤中 *ULK1* 作为一种促癌基因，在乳腺癌、胃癌等恶性肿瘤中表达上调，能使磷脂酰肌醇 3 激酶复合物磷酸化，促进肿瘤细胞的恶性增殖<sup>[7-8]</sup>。本研究通过检测 NSCLC 癌组织中 NEDD4L、ULK1 的表达，初步探讨两者的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 1 月—2018 年 1 月三二〇一医院收治的 88 例 NSCLC 患者作为研究对象。其中男性 55 例, 女性 33 例; 年龄 36~79 岁, 平均(59.2 ± 7.8)岁; 病理类型: 腺癌 60 例, 鳞癌 28 例; 肿瘤直径 ≤ 5 cm 52 例, > 5 cm 36 例; 肿瘤 TNM 分期: I、II 期 57 例, III 期 31 例。病理分级: 高中分化 49 例, 低分化 39 例; 有淋巴结转移 19 例, 无淋巴结转移 69 例。纳入标准: ①经病理组织学检查明确诊断为 NSCLC, 由 2 位病理科医师共同诊断; ②初次诊治, 无放疗、靶向治疗史; ③临床及随访资料完整; ④患者和家属对本研究知情同意, 能够配合完成随访。排除标准: ①伴肺炎等感染性疾病或类风湿性关节炎等自身免疫系统疾病; ②伴其他恶性肿瘤; ③心肺器官衰竭, 体能状态较差, KPS 评分 < 70 分。本研究经医院伦理委员会批准通过。

### 1.2 主要试剂和仪器

兔单克隆 NEDD4L 抗体、兔单克隆 ULK1 抗体购自美国 Abcam 公司, 二步法免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 显微镜购自日本 Olympus 株式会社。

### 1.3 方法

将癌组织和癌旁组织放入 10% 甲醛溶液中固定 24 h。石蜡包埋, 切片, 二甲苯脱蜡 2 遍, 10 min/次, 梯度酒精脱水, 每个梯度 5 min。切片放入柠檬酸缓冲液中微波炉加热至煮沸, 维持 5 min 抗原热修复。避光室温滴加 3% 过氧化氢去除内源性过氧化物酶, 一抗 4℃ 避光过夜 (NEDD4L 稀释比 1:500, ULK1 稀释比 1:400), 二抗室温 30 min, 二氨基联苯胺显色 30 s, 苏木素核染 2 min, 盐酸酒精分化 5 s, 梯度酒精脱水, 中性树脂封片。200 倍显微镜下观察阳性表达部位的染色强度和范围, 染色评分根据染色强度 (0 分为无染色, 1 分为染色浅, 2 分为染色深) 和染色面积 (0 分为 ≤ 25%, 1 分为 >25% ~ <50%, 2 分为 ≥ 50%) 的乘积评估。总分 < 2 分为阴性表达, ≥ 2 分为阳性表达。应用 R 语言分析癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库中 NSCLC 及其癌旁组织中 NEDD4L 和 ULK1 mRNA 的表达差异。患者随访 3~36 个月, 平均(30.1 ± 4.3)个月。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用 *t* 检验, 非正态分布的计量资料以中位数和四分位数间距 [M (P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)] 表示, 比较用 Mann-Whitney *U* 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 比较用  $\chi^2$  检验; 相关性分析用 Spearman 法; Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 比较用 log-rank  $\chi^2$  检验; 影响因素的分析用单因素或多因素 Cox 回归模型。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NSCLC 癌组织与癌旁组织中 NEDD4L、ULK1 mRNA 相对表达量比较

NSCLC 癌组织与癌旁组织中 NEDD4L mRNA 相对表达量分别为 4.32 (3.62, 5.02)、5.46 (5.14, 5.79), ULK1 mRNA 分别为 4.63 (3.92, 5.35), 4.27 (3.98, 4.56), 经 Mann-Whitney *U* 检验, 差异有统计学意义 ( $Z = 8.433$  和  $3.793$ , 均  $P = 0.000$ ), 癌组织 NEDD4L mRNA 相对表达量低于癌旁组织, ULK1 mRNA 相对表达量高于癌旁组织。见图 1。

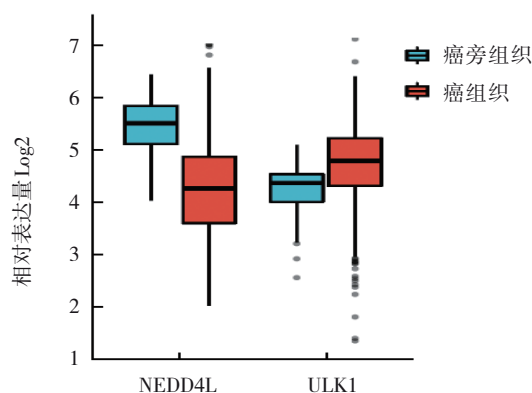


图 1 NSCLC 癌组织与癌旁组织 NEDD4L、ULK1 mRNA 相对表达量比较

### 2.2 NSCLC 癌组织与癌旁组织中 NEDD4L、ULK1 蛋白表达及阳性表达率比较

NSCLC 癌组织中 NEDD4L 阳性表达主要位于细胞浆和细胞膜, ULK1 阳性表达主要位于细胞核 (见图 2)。癌组织中 NEDD4L 的阳性表达率为 26.1% (23/88), 癌旁组织为 73.9% (65/88), 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 40.091$ ,  $P = 0.000$ ), 癌组织低于癌旁组织。癌组织中 ULK1 的阳性表达率为 75.0% (66/

88), 癌旁组织为 25.0%(22/88), 经  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义( $\chi^2=44.000, P=0.000$ ), 癌组织高于癌旁组织。

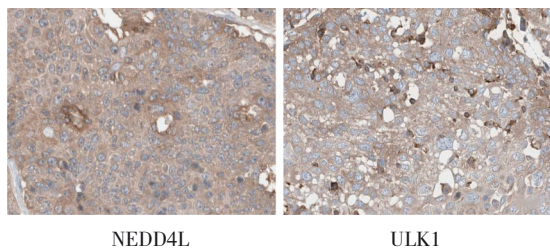


图 2 癌组织 NEDD4L、ULK1 蛋白表达 (×200)

### 2.3 不同临床特征患者的癌组织中 NEDD4L、ULK1 阳性表达率比较

有无淋巴结转移、不同 TNM 分期患者的癌组织 NEDD4L、ULK1 阳性表达率比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。其余指标的 NEDD4L、ULK1 阳性表达率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.4 NSCLC 患者 NEDD4L 与 ULK1 表达的相关性

Spearman 相关性分析结果显示, NEDD4L 与 ULK1 的表达呈负相关( $r_s = -0.587, P = 0.000$ )。

### 2.5 癌组织中 NEDD4L 和 ULK1 表达对 NSCLC 患者生存预后影响

随访期间死亡 32 例, 3 年总体生存率为 63.6%(56/88)。NEDD4L 阳性表达患者 3 年总体生存率为 87.0%(20/23), NEDD4L 阴性表达患者为 55.4%(36/65), 经 Log-rank  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.114, P = 0.008$ ), NEDD4L 阴性表达患者 3 年总体生存率较阳性表达患者低。NEDD4L 阳性表达患者平均生存时间为(32.2 ± 5.0)个月, NEDD4L 阴性表达患者为(21.4 ± 4.2)个月, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义( $t = 10.075, P = 0.000$ ), NEDD4L 阳性表达患者平均生存时间较阴性表达患者长。见图 3。

ULK1 阳性表达患者的 3 年总体生存率为 54.55%(36/66), ULK1 阴性表达患者为 90.91%(20/22), 经 Log-rank  $\chi^2$  检验, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.814, P = 0.002$ ), ULK1 阳性表达患者 3 年总体生存率较阴性表达患者低。ULK1 阳性表达患者的平均生存时间为(33.4 ± 5.3)个月, ULK1 阴性表达患者为(20.7 ± 4.6)个月, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义( $t = 10.041, P = 0.000$ ), ULK1 阳性表达患者平均生

表 1 不同临床特征患者的癌组织中 NEDD4L、ULK1 阳性表达率比较 例(%)

临床特征	n	NEDD4L 阳性	$\chi^2$ 值	P 值	ULK1 阳性	$\chi^2$ 值	P 值
<b>年龄</b>							
< 60 岁	40	10(25.00)	0.049	0.825	31(77.5)	0.244	0.621
≥ 60 岁	48	13(27.08)			35(72.92)		
<b>性别</b>							
男	55	16(29.09)	0.663	0.415	41(74.55)	0.016	0.899
女	33	7(21.21)			25(75.76)		
<b>病理类型</b>							
腺癌	60	15(25.00)	0.126	0.722	46(76.67)	0.279	0.597
鳞癌	28	8(28.57)			20(71.43)		
<b>病理分级</b>							
高、中分化	49	15(30.61)	1.147	0.284	35(71.43)	0.752	0.386
低分化	39	8(20.51)			31(79.49)		
<b>肿瘤直径</b>							
≤ 5 cm	52	16(30.77)	1.413	0.234	36(69.23)	2.256	0.133
> 5 cm	36	7(19.44)			30(83.33)		
<b>淋巴结转移</b>							
有	19	1(5.26)	5.469	0.019	18(94.75)	5.034	0.025
无	69	22(31.88)			48(69.57)		
<b>TNM 分期</b>							
I、II 期	57	21(36.84)	9.606	0.002	36(63.16)	12.102	0.001
III 期	31	2(6.45)			30(96.77)		

存时间较阴性表达患者长。见图 3。

### 2.6 单因素及多因素 Cox 回归分析影响 NSCLC 预后的危险因素

将年龄(< 60 岁 = 0, ≥ 60 岁 = 1)、性别(男 = 0, 女 = 1)、肿瘤直径(≤ 5 cm = 0, > 5 cm = 1)、病理类型(腺癌 = 0, 鳞癌 = 1)、病理分级(高中分化 = 0, 低分化 = 1)、TNM 分期(I、II 期 = 0, III 期 = 1)、淋巴结转移(无 = 0, 有 = 1)、NEDD4L(阳性 = 0, 阴性 = 1)、ULK1(阴性 = 0, 阳性 = 1)作为自变量, 将 NSCLC 患者随访过程中的生存状态作为因变量(死亡 = 1, 存活 = 0), 做单因素及多因素 Cox 回归分析。

单因素 Cox 回归分析结果显示, 肿瘤 TNM 分期 III 期[ $\hat{H}R = 1.898$  (95% CI: 1.320, 2.729)]、NEDD4L 阴性表达[ $\hat{H}R = 1.654$  (95% CI: 0.921, 2.588)]和 ULK1 阳性表达[ $\hat{H}R = 1.692$  (95% CI: 0.860, 2.650)]是 NSCLC 患者预后的影响因素( $P < 0.05$ )。见表 3。

多因素 Cox 回归分析结果显示, NEDD4L 阴性

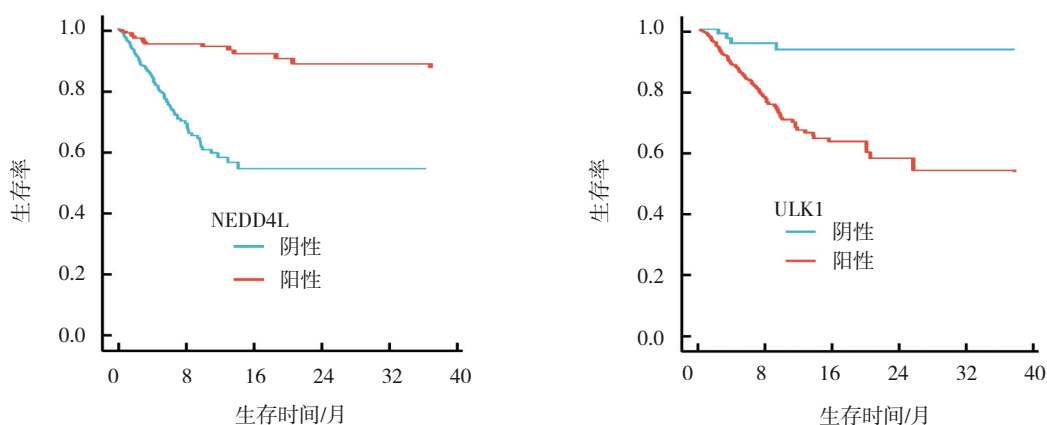


图3 NEDD4L 和 ULK1 表达对 NSCLC 患者生存预后的影响

表达 [ $\hat{H}R=1.878$  (95% CI: 0.961, 2.995)]、ULK1 阳性 NSCLC 患者不良预后的独立危险因素 ( $P < 0.05$ )。表达 [ $\hat{H}R=1.679$  (95% CI: 0.785, 2.884)] 及肿瘤 TNM 见表 4。分期 III 期 [ $\hat{H}R=1.937$  (95% CI: 1.131, 3.317)] 是

表 3 影响 NSCLC 患者预后的单因素 Cox 回归分析参数

自变量	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i> 值	$\hat{H}R$	95% CI	
						下限	上限
年龄	-0.154	0.146	1.194	0.166	1.178	0.652	2.368
性别	0.188	0.176	1.033	0.173	1.374	0.833	2.266
肿瘤直径	0.268	0.192	0.895	0.324	1.460	1.114	3.600
病理类型	0.251	0.202	1.422	0.103	1.989	0.969	4.050
病理分级	0.471	0.151	0.949	0.250	1.156	0.696	2.872
淋巴结转移	0.359	0.221	1.242	0.157	1.039	0.682	2.763
TNM 分期	0.566	0.196	6.276	0.001	1.898	1.320	2.729
NEDD4L	0.641	0.181	5.667	0.009	1.654	0.921	2.588
ULK1	0.717	0.214	4.792	0.012	1.692	0.860	2.650

表 4 影响 NSCLC 患者预后的多因素 Cox 回归分析参数

自变量	<i>b</i>	<i>S<sub>b</sub></i>	Wald $\chi^2$	<i>P</i> 值	$\hat{H}R$	95% CI	
						下限	上限
TNM 分期 III 期	0.481	0.236	6.376	0.016	1.937	1.131	3.317
NEDD4L 阴性表达	0.911	0.281	6.167	0.019	1.878	0.961	2.995
ULK1 阳性表达	0.567	0.234	5.396	0.025	1.679	0.785	2.884

### 3 讨论

NSCLC 作为肺癌的最常见类型, 约占 85%<sup>[9]</sup>, 大多数 NSCLC 患者初次诊断时癌细胞即发生转移<sup>[10-11]</sup>。在过去 20 年里, 随着肿瘤生物学和肿瘤进展机制的研究, NSCLC 的治疗取得了重要进展。然而, NSCLC 的总体治愈率和存活率仍然很低。因

此, 需要研究新的预后判断的肿瘤标志物, 以改善 NSCLC 的疗效<sup>[12]</sup>。

NEDD4L 是一种 E3 泛素蛋白连接酶, 包含 1 个 HECT 结构域。NEDD4L 的下游靶点多数是膜蛋白, 包括离子通道和转运蛋白, NEDD4L 活性对于维持血压和正常生理机能发挥重要的作用<sup>[13]</sup>。有研究表明, NEDD4L 在肿瘤中发挥抑癌因子的作用, 其通过

调控肿瘤信号通路的 Dvl2 蛋白质的降解,导致 Wnt 信号通路抑制,抑制肿瘤的侵袭和转移<sup>[14]</sup>。近年来研究表明,多种肿瘤中存在 NEDD4L 表达下调,通过影响肿瘤细胞的线粒体代谢,促进肿瘤的恶性增殖、浸润、转移<sup>[15]</sup>。本研究中 NSCLC 癌组织中 NEDD4L 在 mRNA 及蛋白表达均明显降低,与 WANG 等<sup>[16]</sup>报道结果一致。NEDD4L 表达下调的机制与微小 RNA 调控有关。有研究表明,微小 RNA-513a-5p 能够结合于 NEDD4L mRNA 的 3' 非编码区域,促进 NEDD4L mRNA 的降解,抑制 NEDD4L 的表达<sup>[17]</sup>。此外,WANG 等<sup>[16]</sup>报道 Zeste 同源物 2(EZH2)介导的多梳组蛋白增强子 H3K27 甲基化,能够抑制 NEDD4L 的表达,敲低 EZH2 的表达后 NEDD4L 的表达再次升高,进一步证实了 EZH2 对 NEDD4L 的调控功能。本研究发现,NSCLC 肿瘤分期 III 期、有淋巴结转移的 NSCLC 癌组织中 NEDD4L 表达较低,提示 NSCLC 中 NEDD4L 的低表达与肿瘤恶性进展有关。分析其原因,NEDD4L 的表达下调可导致下游靶蛋白 SMAD2 和 SMAD7 的积累,SMAD2 和 SMAD7 能够导致转化生长因子  $\beta$ (TGF- $\beta$ ) 信号通路激活,促进肿瘤细胞的迁移及侵袭,导致肿瘤的进展<sup>[18]</sup>。此外,JIANG 等<sup>[4]</sup>发现 NEDD4L 能够泛素化降解缺氧诱导因子 1A,NEDD4L 表达下调后导致缺氧诱导因子 1A 的下游靶点如血管内皮生长因子表达升高,促进肿瘤血管生成,促进肿瘤的恶性发展。

ULK1 是哺乳动物中 ATG1 基因的同源物,能与自噬蛋白如 FIP200 等形成蛋白质复合物,调节自噬的启动,是自噬过程中重要的细胞质激酶<sup>[19]</sup>。研究表明,ULK1 在人类乳腺癌及胃癌等多种肿瘤中表达上调,作为重要的致癌基因,能够在营养缺乏的环境中通过蛋白质-蛋白质相互作用诱导自噬发生,并促进肿瘤的增殖<sup>[7-8]</sup>。因此,ULK1 是肿瘤中一种具有潜力的重要的诊断治疗靶点。本研究中,NSCLC 癌组织中 ULK1 的表达量明显高于癌旁组织,表明 NSCLC 中 ULK1 表达上调。分析其原因,ULK1 参与构成 ULK 复合物,ULK 复合物诱导自噬的发生。有研究发现,ULK 复合物直接受 mTOR 和 AMP 活化蛋白激酶 (AMPK) 的调控,其在肿瘤中的表达促进 ULK1 的表达<sup>[20]</sup>。此外,本研究中 NSCLC 癌组织中 ULK1 的表达与肿瘤 TNM 分期及淋巴结转移有关,表明 ULK1 可能促进 NSCLC 肿瘤的发生、发

展。有学者报道,肿瘤中 ULK1 的过度活化增强线粒体自噬能力,促进 NLRP3 炎症小体过度激活,大量趋化因子的分泌导致肿瘤细胞的骨转移<sup>[21]</sup>。有研究发现,自噬在肿瘤发展的各个阶段会有所不同,在肿瘤发展的早期,自噬通过直接杀伤来限制肿瘤细胞的增殖。然而,在肿瘤已经形成之后,对缺血缺氧压力的反应增加肿瘤细胞的存活、侵袭和转移<sup>[22]</sup>。因此,ULK1 在肿瘤进展期及晚期中可能发挥更为重要的肿瘤促进功能。

笔者进一步分析 NEDD4L、ULK1 与 NSCLC 患者生存预后关系,结果 NEDD4L 阴性表达、ULK1 阳性表达的 NSCLC 患者生存预后较差,提示 NEDD4L、ULK1 是判断 NSCLC 患者预后的重要指标。本研究利用单因素及多因素 Cox 回归分析发现,肿瘤 TNM 分期 III 期、NEDD4L 阴性表达和 ULK1 阳性表达是 NSCLC 患者不良预后的独立危险因素。因此,NEDD4L、ULK1 是重要的 NSCLC 的肿瘤标志物,检测 NSCLC 癌组织中 NEDD4L、ULK1 的表达有助于患者的预后。笔者发现,NSCLC 癌组织中 NEDD4L 与 ULK1 的表达呈负相关,表明两者可能存在相互作用的关系。LEE 等<sup>[23]</sup>报道,NEDD4L 通过降低抑制肿瘤细胞 ULK1 的磷酸化激活,抑制自噬和线粒体代谢,从而抑制胰腺癌细胞的增殖。因此,在 NSCLC 中 NEDD4L 通过对 ULK1 活性的调控,进而影响肿瘤细胞的线粒体代谢过程,影响肿瘤的发生、发展。但 NSCLC 中两者的具体作用机制有待深入探索。

综上所述,NSCLC 中 NEDD4L 表达下调,ULK1 表达上调,两者表达与肿瘤 TNM 分期及淋巴结转移有关。NEDD4L 低表达、ULK1 的高表达的 NSCLC 患者预后较差,且是 NSCLC 患者不良生存预后的独立危险因素,其有望成为新的判断 NSCLC 预后的分子标志物。但本研究样本例数有限,且是回顾性研究,有待今后设计大样本、前瞻性临床研究证实。

#### 参 考 文 献 :

- [1] DUMA N, SANTANA-DAVILA R, MOLINA J R. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment[J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(8): 1623-1640.
- [2] ASSELAIN B, BARRIÈRE J R, CLAROT C, et al. Metastatic NSCLC: Clinical, molecular, and therapeutic factors associated with long-term survival[J]. Respir Med Res, 2019, 76: 38-44.

- [3] WANG Y, LIU Y, LIU J, et al. NEDD4L-mediated LTF protein degradation limits ferroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 531(4): 581-587.
- [4] JIANG X W, ZHANG S X, YIN Z H, et al. The correlation between NEDD4L and HIF-1 $\alpha$  levels as a gastric cancer prognostic marker[J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(11): 1517-1524.
- [5] YANG Q Y, ZHAO J H, CUI M H, et al. Nedd4L expression is decreased in ovarian epithelial cancer tissues compared to ovarian non-cancer tissue[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2015, 41(12): 1959-1964.
- [6] KUMAR M, PAPALEO E. A pan-cancer assessment of alterations of the kinase domain of ULK1, an upstream regulator of autophagy[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 14874.
- [7] DENG R, ZHANG H L, HUANG J H, et al. MAPK1/3 kinase-dependent ULK1 degradation attenuates mitophagy and promotes breast cancer bone metastasis[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3011-3029.
- [8] LI G M, LI L, LI M Q, et al. DAPK3 inhibits gastric cancer progression via activation of ULK1-dependent autophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(3): 952-967.
- [9] JONNA S, SUBRAMANIAM D S. Molecular diagnostics and targeted therapies in non-small cell lung cancer (NSCLC): an update[J]. *Discov Med*, 2019, 27(148): 167-170.
- [10] WOOD S L, PERNEMALM M, CROSBIE P A, et al. The role of the tumor-microenvironment in lung cancer-metastasis and its relationship to potential therapeutic targets[J]. *Cancer Treat Rev*, 2014, 40(4): 558-566.
- [11] JEPPESEN S S, HANSEN N C G, SCHYTTE T, et al. Survival of localized NSCLC patients without active treatment or treated with SBRT[J]. *Acta Oncol*, 2018, 57(2): 219-225.
- [12] MCDONOUGH C W, BURBAGE S E, DUARTE J D, et al. Association of variants in NEDD4L with blood pressure response and adverse cardiovascular outcomes in hypertensive patients treated with thiazide diuretics[J]. *J Hypertens*, 2013, 31(4): 698-704.
- [13] NOVELLASDEMUNT L, KUCHARSKA A, JAMIESON C, et al. NEDD4 and NEDD4L regulate Wnt signalling and intestinal stem cell priming by degrading LGR5 receptor[J]. *EMBO J*, 2020, 39(3): e102771.
- [14] TOMASELLI D, STEEGBORN C, MAI A, et al. Sirt4: a multifaceted enzyme at the crossroads of mitochondrial metabolism and cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 474.
- [15] CHEN K C, CHEN P H, HO K H, et al. IGF-1-enhanced miR-513a-5p signaling desensitizes glioma cells to temozolomide by targeting the NEDD4L-inhibited Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0225913.
- [16] WANG X M, DUAN J, FU W P, et al. Decreased expression of NEDD4L contributes to NSCLC progression and metastasis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513(2): 398-404.
- [17] KURATOMI G, KOMURO A, GOTO K, et al. NEDD4-2 (neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-2) negatively regulates TGF-beta (transforming growth factor-beta) signalling by inducing ubiquitin-mediated degradation of Smad2 and TGF-beta type I receptor[J]. *Biochem J*, 2005, 386(Pt 3): 461-470.
- [18] SHI X S, CHANG C M, YOKOM A L, et al. The autophagy adaptor NDP52 and the FIP200 coiled-coil allosterically activate ULK1 complex membrane recruitment[J]. *Elife*, 2020, 9: e59099.
- [19] KIM J, KUNDU M, VIOLLET B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(2): 132-141.
- [20] KASHATUS J A, NASCIMENTO A, MYERS L J, et al. Erk2 phosphorylation of Drp1 promotes mitochondrial fission and MAPK-driven tumor growth[J]. *Mol Cell*, 2015, 57(3): 537-551.
- [21] DENG R, ZHANG H L, HUANG J H, et al. MAPK1/3 kinase-dependent ULK1 degradation attenuates mitophagy and promotes breast cancer bone metastasis[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3011-3029.
- [22] HUANG T Z, SONG X, YANG Y Y, et al. Autophagy and hallmarks of cancer[J]. *Crit Rev Oncog*, 2018, 23(5/6): 247-267.
- [23] LEE D E, YOO J E, KIM J, et al. NEDD4L downregulates autophagy and cell growth by modulating ULK1 and a glutamine transporter[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1): 38.

(李科 编辑)

**本文引用格式:** 吴松, 郝小康, 张振华, 等. NEDD4L 和 ULK1 在非小细胞肺癌中的表达及预后价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(14): 7-13.

**Cite this article as:** WU S, HE X K, ZHANG Z H, et al. The expression and prognostic value of NEDD4L and ULK1 in non-small cell lung cancer[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(14): 7-13.