·论　　著·
（临床研究）

核孔蛋白43在肝内胆管癌增殖转移中的作用及机制研究

王宗鼎[1,2]，顾永鹏[3]，李秀云[1]，龚建平[3]
1. 重庆市垫江县人民医院肝胆外科，重庆 408300；2. 重庆市中医院肝胆外科，重庆 400021；3. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科，重庆 400010

［**摘　要**］ **目的**　探究核孔蛋白43（nucleoporin 43，Nup43）在肝内胆管癌（intrahepatic cholangiocarcinoma，ICC）中的表达特征、临床意义、生物学功能及分子调控机制，为ICC的精准治疗提供理论依据与潜在靶点。**方法**　（1）利用癌症基因组图谱（TCGA）数据库分析Nup43在胆管癌组织与癌旁正常组织中的mRNA表达差异；（2）通过免疫组织化学（IHC）检测106例ICC病人癌组织及配对癌旁正常组织中Nup43的蛋白表达水平，根据IHC染色评分标准，将106例病人分为Nup43高表达组（＞4分）和Nup43低表达组（≤4分），分析其与病人临床病理特征及预后的关联性；（3）采用siRNA介导的基因沉默技术下调ICC细胞系RBE中Nup43的表达，通过CCK-8、Transwell实验探究其对细胞增殖、迁移能力的影响；（4）借助Ubibroswer1.0数据库预测Nup43的潜在泛素化底物，结合免疫共沉淀（Co-IP）、泛素化检测及蛋白质印迹法（Western blot）实验验证其与p53的相互作用及调控机制；（5）功能挽救实验证明Nup43通过负调控p53发挥促癌效应。**结果**　TCGA数据库及免疫组织化学染色结果显示，Nup43在ICC组织中呈mRNA及蛋白水平高表达（$P<0.05$）。Nup43高表达与ICC病人肿瘤体积增大（$P<0.001$）、TNM分期升高（$P<0.001$）、脉管侵犯（$P=0.030$）、神经侵犯（$P=0.026$）及肿瘤分化程度降低（$P<0.001$）有关，且高表达组病人总生存期显著短于低表达组（$P=0.002\ 2$）。细胞实验证实，沉默Nup43可显著抑制人ICC细胞系RBE细胞的增殖活力与迁移能力（$P<0.05$）。机制研究表明，Nup43可能参与泛素化降解p53的过程，Nup43可与p53发生外源性结合并介导其泛素化降解。功能挽救实验验证了共沉默Nup43和p53组的细胞增殖活力及穿膜细胞数量较单独敲低Nup43组均表现出明显的恢复趋势。**结论**　Nup43在ICC组织中高表达，与病人不良预后及恶性临床病理表型密切相关；Nup43通过介导p53泛素化降解促进ICC细胞增殖与转移，其表达水平与病人不良预后密切相关，可作为评估ICC预后的重要生物标志物及潜在治疗靶点。

［**关键词**］ 核孔蛋白43；肝内胆管癌；p53；泛素化降解；增殖转移
［**中图分类号**］R657.4　［**文献标识码**］A　**DOI**：10.3969/j.issn.1003-5591.2026.03.007

Role and mechanism of Nup43 in the proliferation and metastasis of intrahepatic cholangiocarcinoma

Wang Zongding[1,2], *Gu Yongpeng*[3], *Li Xiuyun*[1], *Gong Jianping*[3]
1. *Department of Hepatobiliary Surgery, Dianjiang County People's Hospital, Chongqing* 408300, *China*; 2. *Department of Hepatobiliary Surgery, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing* 400021, *China*; 3. *Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing* 400010, *China*
Corresponding author: *Gong Jianping*; *Email*: *gongjianping*11@126.*com*

基金项目：重庆市自然科学基金（CSTB2025NSCQ-GPX1129）；中国博士后科学基金面上项目（2025M772239）
作者简介：王宗鼎，博士，主要从事肝胆肿瘤的基础与临床研究，Email：251286438@qq.com
通信作者：龚建平，Email：gongjianping11@126.com

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression profile, clinical significance, biological function, and molecular regulatory mechanism of nucleoporin 43 (Nup43) in intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC), and to provide a theoretical basis and potential target for precision treatment of ICC. **Methods** (1) The Cancer Genome Atlas (TCGA) database was used to analyze differences in Nup43 mRNA expression between cholangiocarcinoma tissues and adjacent normal tissues. (2) Immunohistochemical staining was performed to detect Nup43 protein expression in cancer tissues and paired adjacent normal tissues from 106 ICC patients, and its associations with clinicopathological features and prognosis were analyzed. (3) siRNA-mediated gene silencing was used to downregulate Nup43 expression in the ICC cell line RBE, and CCK-8 and Transwell assays were conducted to assess its effects on cell proliferation and migration. (4) The Ubibrowser1.0 database was used to predict potential ubiquitination substrates of Nup43. Co-immunoprecipitation (Co-IP), ubiquitination assays, and Western blot were then used to validate its interaction with p53 and the underlying regulatory mechanism. (5) Rescue experiments demonstrated that Nup43 exerts a pro-tumor effect by negatively regulating p53. **Results** TCGA data and immunohistochemical staining showed that Nup43 was highly expressed at both the mRNA and protein levels in ICC tissues ($P<0.05$). High Nup43 expression was associated with increased tumor size ($P<0.001$), advanced TNM stage ($P<0.001$), vascular invasion ($P=0.030$), nerve invasion ($P=0.026$), and poorer tumor differentiation ($P<0.001$) in ICC patients. Moreover, the high-expression group had significantly shorter overall survival than the low-expression group ($P=0.002\ 2$). Cell experiments confirmed that Nup43 silencing significantly inhibited the proliferative activity and migratory capacity of RBE cells ($P<0.05$). Mechanistic studies indicated that Nup43 may be involved in the ubiquitin-mediated degradation of p53. Nup43 could bind exogenously to p53 and promote its ubiquitination and degradation. Rescue experiments verified that cells in the co-silencing Nup43 and p53 group showed a clear recovery in proliferative activity and the number of transmembrane cells compared with the Nup43 knockdown group alone. **Conclusion** Nup43 is highly expressed in ICC tissues and is closely associated with poor prognosis and malignant clinicopathological features. By promoting p53 ubiquitination and degradation, Nup43 enhances ICC cell proliferation and metastasis. Its expression level is closely correlated with poor prognosis in patients, suggesting that Nup43 may serve as an important prognostic biomarker and a potential therapeutic target for ICC.

[**Key words**] Nucleoporin 43; Intrahepatic cholangiocarcinoma; p53; Ubiquitination and degradation; Proliferation and metastasis

肝内胆管癌（intrahepatic cholangiocarcinoma，ICC）恶性程度高，预后极差[1-3]。手术切除是目前临床首选的治疗手段，但受肿瘤分期、血管受累及远处转移等因素限制，适用人群有限，而放化疗等传统辅助治疗方案疗效亦不尽理想[4-7]。尽管近年来以吉西他滨联合顺铂（GC）方案为基础的化疗，以及新兴程序性死亡受体 1（programmed death-1，PD-1）/程序性死亡受体配体 1（programmed death-ligand 1，PD-L1）免疫检查点抑制剂治疗，为晚期胆道恶性肿瘤病人带来了新的生存希望[8-11]，但临床实践显示，仍有相当比例的病人对现有治疗方案不敏感或产生继发性耐药，总体生存率依然不容乐观[12-13]。肿瘤蛋白 p53（*TP53*）基因作为“基因组卫士”，其功能缺失或蛋白水平的异常降解是驱动 ICC 发生发展的重要分子事件，也是导致化疗及免疫治疗耐药的关键因素之一[14-16]。因此，深入解析导致 ICC 中 p53 蛋白不稳定的上游调控机制，对于寻找新的治疗靶点、恢复抑癌功能及增敏现有治疗具有重要意义。

近年，核孔蛋白 43（nucleoporin 43，Nup43）被证实在多种实体瘤中充当致癌角色。研究表明，Nup43 在肝细胞癌、乳腺癌等肿瘤中显著高表达，并通过调控细胞周期及相关信号通路促进肿瘤细胞增殖与转移[17-19]。虽然有学者曾在结直肠癌研究中提示 Nup43 可能间接影响 PD-L1 的转运[17]，但 Nup43 在胆道恶性肿瘤中的具体生物学功能，尤其是否通过翻译后修饰（如泛素化）调控关键抑癌蛋白（如 p53）的稳定性，目前尚属研究空白。基于此，本研究聚焦于 Nup43 在 ICC 中的表达特征及其促癌机制，以揭示“Nup43-p53”这一新的分子轴，为阐明 ICC 的分子发病机制提供新证据，也为未来开发靶向 Nup43 以恢复 p53 功能（进而可能增敏免疫或化疗）的治疗策略提供理论依据。

资料与方法

一、研究对象

ICC 病人癌组织（$n=106$）及配对癌旁正常组织（$n=106$）芯片及完整临床资料均购自湖南艾方生物科技有限公司，所有病人均经术后病理组织学检查明确诊断，且术前未接受放化疗、免疫治疗等抗肿瘤治疗。

二、主要实验试剂与仪器

1. 试剂　兔抗人Nup43多克隆抗体、免疫组织化学（IHC）检测试剂盒（SP法）、3,3′-二氨基联苯胺（DAB）显色试剂盒、Flag抗体、HA抗体、p53抗体、GAPDH抗体、β-Actin抗体、蛋白A/G琼脂糖珠、RIPA裂解液（含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂）、十二烷基硫酸钠（SDS）上样缓冲液、MG132（蛋白酶体抑制剂）、ECL化学发光试剂盒、胎牛血清、青霉素-链霉素混合液、DMEM培养基等，其余常规化学试剂均为分析纯级别。

2. 仪器　实时荧光定量PCR仪、病理切片机、光学显微镜、高速冷冻离心机、SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）系统、转膜仪、化学发光成像系统等。

三、癌症基因组图谱（TCGA）数据库数据分析

从TCGA数据库（https://portal.gdc.cancer.gov/）中下载胆管癌相关RNA测序数据及对应的临床信息，筛选出包含癌组织与癌旁正常组织配对数据的样本，提取Nup43基因的mRNA表达量数据，采用R软件（4.2.0版）对数据进行标准化处理，比较Nup43在胆管癌组织与癌旁正常组织中的表达差异。

四、IHC染色与结果判定

将胆管癌芯片经脱蜡、水化、抗原修复（柠檬酸盐缓冲液，pH6.0）、3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性、山羊血清封闭非特异性结合位点后，加入兔抗人Nup43一抗（1∶200稀释），4 ℃孵育过夜；次日复温后加入二抗，37 ℃孵育30 min，DAB显色，苏木素复染，脱水透明，中性树胶封片。以磷酸盐缓冲液替代一抗作为阴性对照。结果判定采用双盲法，由2名经验丰富的病理科主治医师独立阅片。根据染色强度（0分：无染色；1分：淡黄色；2分：棕黄色；3分：棕褐色）和阳性细胞比例（0分：＜5%；1分：5%～25%；2分：26%～50%；3分：51%～75%；4分：＞75%）进行评分。两者乘积为最终评分，其中≤4分为低表达，＞4分为高表达。

五、细胞实验相关方法

1. 细胞培养　人ICC细胞系RBE购自上海生物科学研究所细胞资源中心，培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的1640培养基中，置于37 ℃、5% CO_2恒温培养箱中常规培养，取对数生长期细胞用于后续实验。

2. 质粒构建与转染　构建Flag-Nup43过表达质粒、HA-p53过表达质粒、His-Ub质粒及相应空载体质粒。采用Lipofectamine™ 8000转染试剂按照说明书操作将质粒转染至胆管癌细胞中，转染48 h后收集细胞用于后续实验。

3. 免疫共沉淀（Co-IP）实验　转染后的细胞经RIPA裂解液冰上裂解30 min，12 000 r/min离心15 min收集上清液。取部分上清液作为Input样品，其余上清液加入Flag抗体或HA抗体，4 ℃孵育过夜，次日加入蛋白A/G琼脂糖珠，37 ℃孵育2 h，离心收集琼脂糖珠，用磷酸盐缓冲液洗涤3次后，加入SDS上样缓冲液，沸水浴10 min变性，进行蛋白质印迹法（Western blot）检测。

4. 泛素化检测实验　将Flag-Nup43、HA-p53及His-Ub质粒共转染至胆管癌细胞中，转染48 h后加入MG132（终浓度10 μmol/L）处理6 h，收集细胞并裂解。以HA抗体进行免疫沉淀，Western blot检测沉淀产物中HA标签（泛素化标记）的表达水平，验证Nup43对p53的泛素化修饰作用。

5. Western blot检测　收集细胞裂解液或Co-IP产物，经SDS-PAGE分离后，转移至PVDF膜上，5%脱脂牛奶室温封闭1 h，加入相应一抗4 ℃孵育过夜，用Tris缓冲吐温生理盐水（TBST）洗涤3次后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记的二抗，室温孵育1 h，再次洗涤后采用ECL化学发光试剂盒显影，ImageJ软件定量分析条带灰度值。

六、统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件和R软件4.2.0进行数据分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用t检验；计数资料以例（%）表示，组间比较采用χ^2检验。采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线，log-rank检验比较不同Nup43表达水平病人的总生存率差异；采用Cox比例风险回归模型进行预后单因素和多因素分析。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

结　果

一、Nup43在ICC组织中高表达

TCGA数据库分析显示，胆管癌组织中Nup43的mRNA表达水平显著高于癌旁正常组织（$P<0.05$），见图1A。IHC染色结果证实，ICC肿瘤组织中Nup43蛋白的表达水平显著高于癌旁正常组织（$P<0.05$，图1B）。上述结果表明，Nup43在ICC组织中呈mRNA及蛋白水平的高表达特征。

二、Nup43高表达状态与ICC病人不良预后及恶性临床病理表型显著相关

依据IHC染色评分标准，对106例ICC病人进行分组，其中Nup43高表达组63例，低表达组43例。

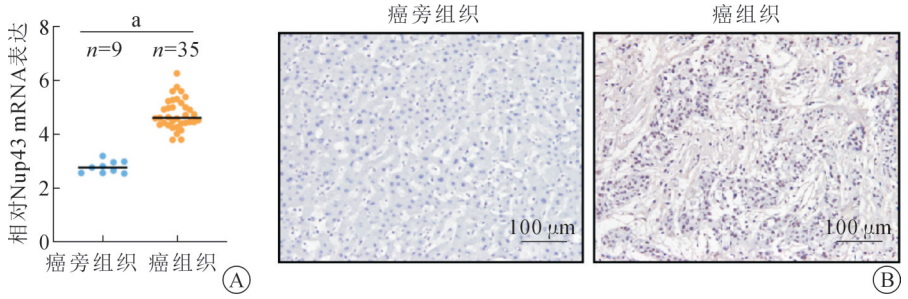


图 1　核孔蛋白 43（Nup43）在肝内胆管癌（ICC）中高表达　A. Nup43 在癌症基因组图谱（TCGA）数据库中 ICC 病人癌组织与癌旁组织 mRNA 表达水平（$^{a}P<0.01$）；B. 免疫组织化学显示 ICC 病人癌组织及癌旁组织的蛋白表达

采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析并通过 log-rank 检验验证差异，结果显示，Nup43 高表达组病人的总生存率显著低于 Nup43 低表达组，总生存期显著缩短，差异具有统计学意义（$P=0.002\ 2$），见图 2。其中 Nup43 高表达组，中位生存时间为 19.07 个月，而 Nup43 低表达组中位生存时间为 39.6 个月，高表达与低表达组风险比为 2.111。进一步开展临床病理特征相关性分析，结果表明 Nup43 高表达与 ICC 病人的肿瘤体积增大（$P<0.001$）、TNM 分期升高（Ⅲ～Ⅳ期，$P<0.001$）、脉管侵犯（$P=0.03$）、神经侵犯（$P=0.026$）及肿瘤分化程度降低（$P<0.001$）均存在显著相关；而在病人性别、年龄方面，Nup43 高表达组与低表达组之间差异均无统计学意义（均 $P>0.05$），见表 1。单因素分析结果显示，Nup43 表达以及肿瘤大小（≥3 cm）是影响 ICC 病人术后总生存率的相关因素（$P<0.05$），见表 2。进一步多因素分析结果显示 Nup43 表达的 $P=0.229$，虽未达到统计学独立显著性，但提示 Nup43 表达与肿瘤大小存在生物共线性（表 3）。

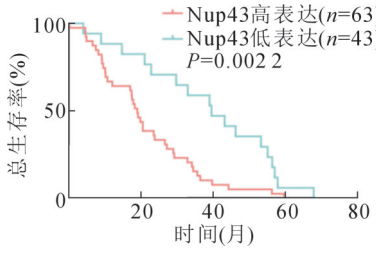


图 2　核孔蛋白 43（Nup43）高表达、低表达对肝内胆管癌病人预后的影响

三、Nup43 可促进胆管癌细胞的增殖和转移

为探究 Nup43 在 ICC 细胞生物学行为调控中的作用，以人 ICC 细胞系 RBE 为研究对象，采用 siRNA 介导的基因沉默技术特异性下调 Nup43 表达。Western blot 实验结果显示，靶向 Nup43 的两条干扰序列（siNup43#1、siNup43#2）均能高效抑制人 ICC 细胞系 RBE 细胞中 Nup43 的蛋白表达水平，干扰效率经灰度值定量分析验证符合实验要求（图 3A）。CCK-8 增殖检测结果显示，与对照组相比，Nup43 表达下调后，人 ICC 细胞系 RBE 细胞在 450 nm 波长处的吸光度显著降低（$P<0.05$），表明细胞增殖活力受到明显抑制（图 3B）。Transwell 体外迁移实验结果显示，沉默 Nup43 表达后，穿过聚碳酸酯膜的人 ICC 细胞系 RBE 细胞数量较对照组显著减少（$P<0.05$），提示细胞的迁移侵袭潜能被显著削弱（图 3C、D）。功能学实验结果证实，Nup43 在 ICC 细胞中发挥促癌作用，其高表达可显著增强 ICC 细胞的增殖能力与迁移活性。

表 1　核孔蛋白 43（Nup43）表达水平与肝内胆管癌病人临床病理特征的关系[例（%）]

临床病理特征	例数	Nup43 低表达（43 例）	Nup43 高表达（63 例）	χ^2 值	P 值
性别				1.061	0.303
男	63	23（36.50）	40（63.50）		
女	43	20（46.51）	23（53.49）		
年龄				0.286	0.593
＜60 岁	49	23（46.94）	26（53.06）		
≥60 岁	57	20（35.09）	37（64.91）		
肿瘤大小				31.885	＜0.001
＜3 cm	42	31（73.80）	11（26.20）		
≥3 cm	64	12（18.75）	52（81.25）		
TNM 分期				16.228	＜0.001
Ⅰ～Ⅱ	67	37（55.22）	30（44.78）		
Ⅲ～Ⅳ	39	6（15.38）	33（84.62）		
脉管侵犯				4.728	0.030
无	58	29（50.00）	29（50.00）		
有	48	14（29.17）	34（70.83）		
神经侵犯				4.989	0.026
无	68	33（48.53）	35（51.47）		
有	38	10（26.32）	28（73.68）		
分化级别				34.009	＜0.001
中/高	50	35（70.00）	15（30.00）		
低	56	8（14.29）	48（85.71）		

四、Nup43 蛋白可泛素化降解 TP53

为筛选 Nup43 介导的泛素化调控过程中潜在

表 2　影响 106 例胆管癌病人术后总生存率的单因素分析

临床病理因素	回归系数(β)	标准误	Wald χ^2值	风险比	95% 置信区间	P值
性别(男比女)	－0.245	0.296	0.685	0.783	0.438～1.398	0.408
年龄(＜60 岁比≥60 岁)	－0.187	0.305	0.378	0.829	0.457～1.506	0.539
核孔蛋白 43 表达(高表达比低表达)	0.747	0.296	6.356	2.111	1.181～3.775	0.012
肿瘤大小(＜3 cm 比≥3 cm)	0.846	0.317	7.115	2.331	1.252～4.340	0.008
TNM 分期(Ⅰ～Ⅱ比Ⅲ～Ⅳ)	0.207	0.309	0.450	1.230	0.671～2.255	0.502
分化级别(中/高比低)	0.271	0.288	0.886	1.311	0.746～2.304	0.347
脉管侵犯(无比有)	0.172	0.298	0.335	1.188	0.663～2.130	0.563
神经侵犯(无比有)	－0.017	0.313	0.003	0.983	0.533～1.815	0.957

表 3　影响 106 例胆管癌病人术后总生存率的多因素分析

临床病理因素	回归系数(β)	标准误	Wald χ^2值	风险比	95% 置信区间	P值
核孔蛋白 43 表达(高表达比低表达)	0.417	0.346	1.447	1.517	0.769～2.990	0.229
肿瘤大小(＜3 cm 比≥3 cm)	0.624	0.370	2.839	1.867	0.903～3.858	0.092

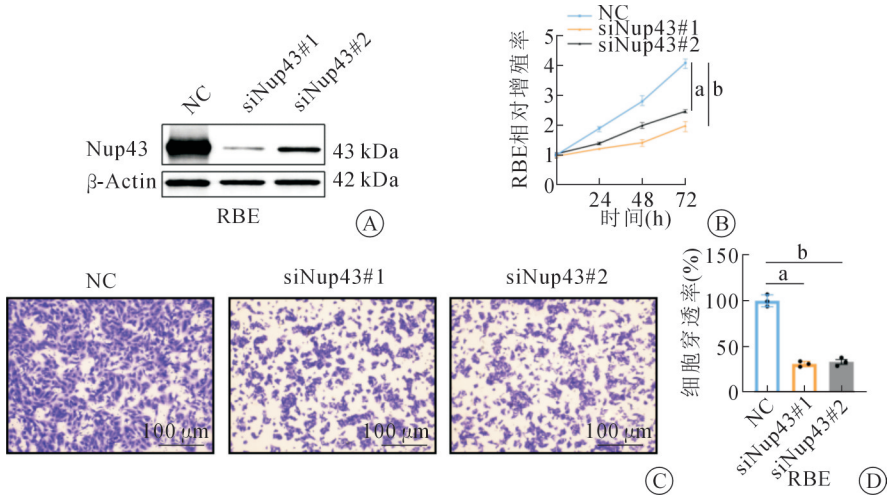


图 3　核孔蛋白 43(Nup43)干扰效果以及 CCK8、Transwell 实验验证 Nup43 促进胆管癌细胞的增殖和转移(NC 为正常对照)　A. 蛋白质印迹法实验验证 Nup43 干扰效率；B. CCK8 实验显示干扰 Nup43 后 72 h 对 RBE 细胞增殖效率的影响(a、b 均 P＜0.01)；C. Transwell 实验显示干扰 Nup43 对 RBE 细胞转移的影响；D. 柱状图统计干扰 Nup43 对 RBE 细胞穿膜效率的影响(a、b 均 P＜0.01)

的作用底物，本研究通过泛素化底物预测网站 UbiBroswer1.0 数据库(http://ubibrowser.bio-it.cn/ubibrowser/)进行生物信息学预测，获得了 Nup43 的候选底物分子(图 4A)。为验证预测结果及明确 Nup43 与候选底物的相互作用关系，采用免疫共沉淀(Co-IP)实验检测外源性 Nup43 与 p53 的结合情况，Nup43 可与 p53 发生外源性相互作用(图 4B)。进一步探究 Nup43 对 p53 的修饰调控机制，泛素化修饰检测实验结果表明，Nup43 能够介导 p53 的泛素化修饰(图 4C)。为了探究 Nup43 诱导的泛素化修饰是否导致了 p53 蛋白的降解，我们开展了蛋白稳定性分析。实验结果表明，Nup43 的过表达显著下调了 p53 蛋白丰度，而这种下调效应可被蛋白酶体抑制剂 MG132 所逆转(图 4D)。上述结果确证，Nup43 通过增强 p53 的泛素化修饰，进而招募蛋白酶体介导其降解，从而降低 p53 在胆道癌细胞中的稳定性。

五、共同下调 p53 表达可抵消沉默 Nup43 产生的生物学效应

为了进一步验证 Nup43 是否通过调控 p53 介导胆管癌的恶性进展，我们进行了功能挽救实验。结果显示，单独敲低 Nup43 能显著抑制胆管癌细胞的增殖与迁移能力，而同时沉默 p53 则可显著逆转这一抑制效应(图 5A)；随后的柱状图定量统计结果进一步证实，共沉默 Nup43 和 p53 组的细胞增殖活力及穿膜细胞数量较单独敲低 Nup43 组均表现出明显的恢复趋势，且差异具有统计学意义(均 P＜0.05，图 5B)，从功能层面有力支撑了 Nup43 通过负调控 p53 发挥促癌生物学效应的假设。图 5C 证明了对 TP53 的干扰效果。

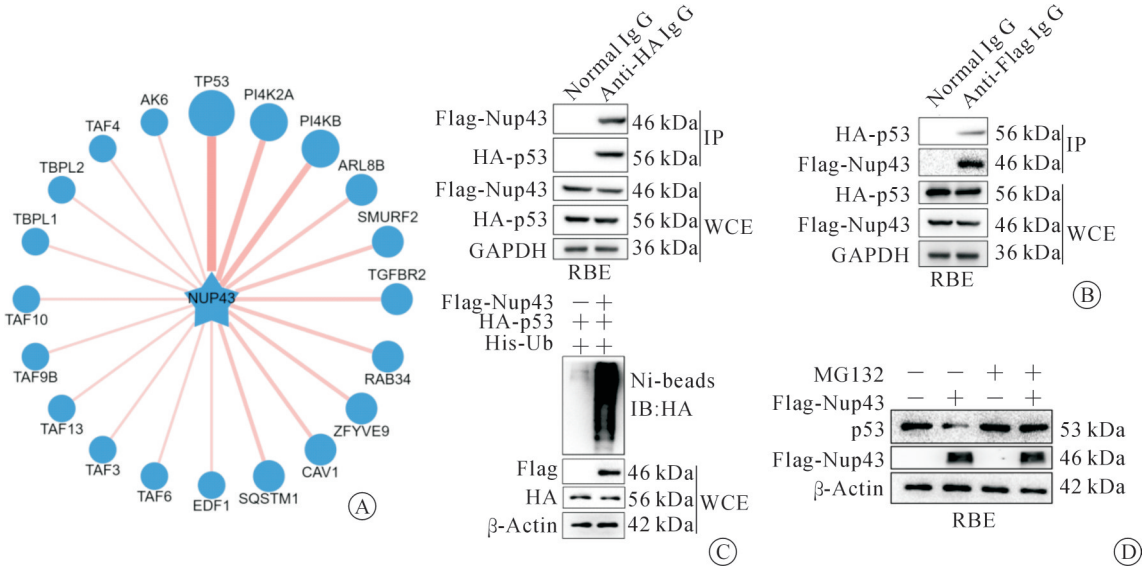


图 4　核孔蛋白 43（Nup43）参与肿瘤蛋白 p53（TP53）泛素化修饰并降低其稳定性　A. 泛素化底物预测网站 UbiBroswer1. 0 数据库预测的 Nup43 潜在泛素化底物；B. 免疫共沉淀实验证明了 Nup43 和 p53 的外源性结合；C. Nup43 对于 p53 的泛素化实验；D. Nup43 泛素化降解 p53（MG132 处理浓度 10 μmol/L，处理时间 6～8 h）

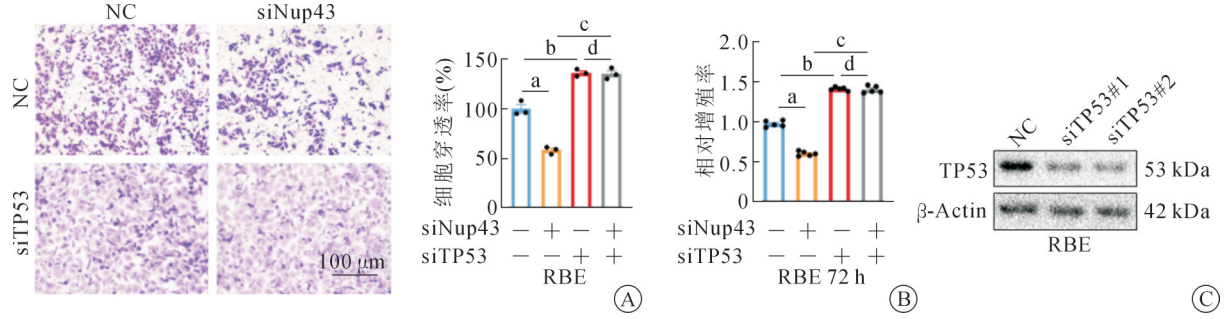


图 5　核孔蛋白 43（Nup43）通过负调控 p53 发挥促癌生物学效应（NC 为正常对照）　A. 功能挽救实验显示，同时沉默 p53 可显著逆转敲低 Nup43 对细胞增殖与迁移的抑制作用，证明 Nup43 通过负调控 p53 发挥促癌效应（a、b、c 均 $P<0.05$，$^{d}P>0.05$）；B. 柱状图统计共沉默 p53 和 Nup43 对胆管癌细胞系的生物学效应（a、b、c 均 $P<0.05$，$^{d}P>0.05$）；C. 蛋白质印迹法展示干扰肿瘤蛋白 p53（TP53）的效率

讨　论

ICC 作为高度异质性的肝胆系统恶性肿瘤，其临床诊疗仍面临诸多挑战，尤其是晚期病人预后极差，免疫治疗虽为部分病人带来新希望，但应答率偏低、获益人群筛选困难等问题亟待解决[20-23]。Nup43 在多种恶性肿瘤中发挥促癌作用，但在 ICC 中的功能及调控机制仍待阐明。本研究通过结合临床样本分析与细胞功能实验，系统探究了 Nup43 在 ICC 中的表达特征、临床预后价值及其介导 p53 泛素化降解的分子调控机制，为 ICC 的风险分层及靶向治疗提供了新的理论依据与潜在靶点。

本研究首先结合 TCGA 数据库分析与临床样本 IHC 验证，确立了 Nup43 在 ICC 中呈 mRNA 及蛋白水平显著高表达的特征。生存分析显示，Nup43 高表达组病人的总生存期显著缩短，单因素 Cox 回归进一步证实 Nup43 是影响 ICC 病人预后的显著风险因子（$P=0.012$），提示其具有作为临床预后评估标志物的潜质。临床病理相关性分析显示，Nup43 高表达与肿瘤体积增大、TNM 分期升高、脉管侵犯、神经侵犯及肿瘤低分化等恶性表型紧密相关。值得注意的是，尽管多因素 Cox 回归中 Nup43 未能表现出独立预后价值（$P=0.229$），但考虑到其与肿瘤体积等强预后指标存在显著的生物学相关性（共线性），推测 Nup43 可能通过驱动肿瘤生长等上游环节参与疾病进展。因此，Nup43 仍是评估 ICC 病人风险分层的重要分子指标，并有望成为潜在的治疗靶点。

为明确 Nup43 在 ICC 中的生物学功能，本研究以人 ICC 细胞系 RBE 为研究对象，通过 siRNA 介导

的基因沉默技术下调Nup43表达，发现Nup43沉默后人ICC细胞系RBE细胞的增殖活力显著降低，迁移侵袭潜能明显削弱。这一结果证实了Nup43在ICC细胞中发挥促癌作用，其高表达可增强ICC细胞的增殖与转移能力，与此前Nup43在肝癌、胃癌中的功能研究结论相符，提示Nup43可能通过调控肿瘤细胞的核心生物学行为，成为驱动ICC进展的关键分子。

泛素-蛋白酶体系统介导的蛋白质泛素化修饰是调控细胞内蛋白稳定性与功能的重要机制，而E3泛素连接酶在底物识别与泛素化过程中发挥核心作用[24-26]。为解析Nup43调控ICC进展的分子机制，本研究通过UbiBroswer1.0数据库预测发现p53是Nup43的潜在泛素化底物。p53作为经典的抑癌蛋白，其功能失活在肿瘤发生发展中具有关键作用，而泛素化降解是导致p53蛋白失活的重要方式之一[27-28]。进一步的Co-IP实验证实Nup43与p53存在物理相互作用。泛素化检测实验明确，Nup43的高表达可显著增强p53的泛素化修饰程度。尽管Nup43并不具备典型的E3泛素连接酶催化结构域，但上述结果提示其可能作为支架蛋白或共调控因子，通过招募泛素化相关复合物间接促进了p53的泛素化修饰过程。这一发现揭示了Nup43调控ICC进展的全新分子机制：Nup43通过与p53结合并促进其泛素化修饰，导致抑癌蛋白p53表达水平下调，从而驱动ICC细胞的增殖与转移。此前研究表明Nup43可调控PD-L1核转位或激活JAK/STAT3信号通路，而本研究首次发现Nup43对p53泛素化水平的调控模式，不仅丰富了Nup43的促癌机制网络，也为理解ICC中p53功能失活的分子机制提供了新的视角。

本研究存在一定局限性：首先，细胞实验仅采用RBE单一ICC细胞系，后续需在多种ICC细胞系中验证Nup43的功能及调控机制，以增强结果的可靠性；其次，本研究未开展体内动物实验验证Nup43对ICC肿瘤生长与转移的影响，且未深入探究Nup43介导p53泛素化的具体位点及下游信号通路；此外，由于本研究临床样本为单中心回顾性分析，且受限于样本量规模，Nup43在多因素分析中未能表现出完全的预后独立性。这提示Nup43的预后评估价值可能与其驱动的肿瘤体积增大等恶性表型存在内在关联。因此，后续研究仍需扩大样本量并开展多中心、前瞻性的临床队列研究，以进一步验证Nup43在ICC风险分层中的临床效能，并深入探索其作为ICC分子诊断指标及靶向干预位点的应用前景。

综上所述，本研究首次证实Nup43在ICC组织中高表达，且与病人不良预后及恶性临床病理表型相关；Nup43可通过促进ICC细胞的增殖与转移推动肿瘤进展，其分子机制可能与参与p53的泛素化降解过程有关。本研究为深入理解ICC的发病机制提供了新的理论依据，Nup43有望成为评估ICC病人预后的生物标志物及潜在治疗靶点，为ICC的个体化精准治疗提供新思路。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参　考　文　献

[1] Brindley PJ, Bachini M, Ilyas SI, et al. Cholangiocarcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 65. DOI: 10.1038/s41572-021-00300-2.

[2] 孙江阳，蔡常春. 肝内胆管癌的手术治疗相关问题浅谈[J]. 腹部外科，2023，36(5)：343-347，360. DOI：10.3969/j.issn.1003-5591.2023.05.004.

[3] Banales JM, Rodrigues PM, Affò S, et al. Cholangiocarcinoma 2026: status quo, unmet needs and priorities [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2026, 23(1): 65-96. DOI: 10.1038/s41575-025-01153-w.

[4] Li YH, Yu JF, Zhang YJ, et al. Advances in targeted therapy of cholangiocarcinoma[J]. Ann Med, 2024, 56(1): 2310196. DOI: 10.1080/07853890.2024.2310196.

[5] De Santis A, Zhu L, Tao JX, et al. Molecular subtypes of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Trends Mol Med, 2025, 31(8): 755-769. DOI: 10.1016/j.molmed.2025.01.008.

[6] 马世辉，崔云甫. 肝内胆管癌的分型及综合治疗现状[J]. 腹部外科，2024，37(3)：161-168. DOI：10.3969/j.issn.1003-5591.2024.03.002.

[7] 陈家璐，于小鹏，唐玥，等. 肝内胆管癌外科治疗的若干热点问题探讨[J]. 腹部外科，2023，36(3)：160-164，183. DOI：10.3969/j.issn.1003-5591.2023.03.002.

[8] Lu JC, Wu LL, Sun YN, et al. Macro CD5L(+) deteriorates $CD8^+$T cells exhaustion and impairs combination of Gemcitabine-Oxaliplatin-Lenvatinib-anti-PD1 therapy in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 621. DOI: 10.1038/s41467-024-44795-1.

[9] Li FW, Li Y, Wang LS, et al. Tumor microenvironment heterogeneity and progression mechanisms in intrahepatic cholangiocarcinoma: a study based on single-cell and spatial transcriptomic sequencing[J]. Hepatology, 2026, 83(5): 1082-1097. DOI: 10.1097/HEP.0000000000001423. [Epub 2025 Jun 9]

[10] Oh DY, He AR, Bouattour M, et al. Durvalumab or placebo plus gemcitabine and cisplatin in participants with advanced biliary tract cancer (TOPAZ-1): updated overall survival from a randomised phase 3 study[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2024, 9(8): 694-704. DOI: 10.1016/S2468-1253(24)00095-5.

[11] Burris HA, Okusaka T, Vogel A, et al. Durvalumab plus gemcitabine and cisplatin in advanced biliary tract cancer (TOPAZ-1): patient-reported outcomes from a randomised,

double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. Lancet Oncol, 2024, 25(5): 626-635. DOI: 10.1016/S1470-2045(24)00082-2.

[12] Gu SJ, Luo QY, Zhang YL, et al. Cryoablation plus sintilimab and lenvatinib in advanced or metastatic intrahepatic cholangiocarcinoma: a phase 2 trial[J]. Nat Cancer, 2026, 7(1): 60-79. DOI: 10.1038/s43018-025-01058-2.

[13] Woodhead G, Lee S, Struycken L, et al. Interventional radiology locoregional therapies for intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Life, 2024, 14(2): 217. DOI: 10.3390/life14020217.

[14] Auer TA, Collettini F, Segger L, et al. Interventional treatment strategies in intrahepatic cholangiocarcinoma and perspectives for combined hepatocellular-cholangiocarcinoma [J]. Cancers, 2023, 15(9): 2655. DOI: 10.3390/cancers15092655.

[15] 李照, 韦鹏程, 朱继业. 肝内胆管癌外科治疗及转化治疗的研究现状与展望[J]. 腹部外科, 2023, 36(3): 153-159. DOI: 10.3969/j.issn.1003-5591.2023.03.001.

[16] Baucells E, Morement H, Leonardi P. Understanding Cholangiocarcinoma: perspectives from three European advocacy groups[J]. Lancet Reg Health Eur, 2025, 50: 101239. DOI: 10.1016/j.lanepe.2025.101239.

[17] Wu F, Sun GQ, Nai YJ, et al. NUP43 promotes PD-L1/nPD-L1/PD-L1 feedback loop via TM4SF1/JAK/STAT3 pathway in colorectal cancer progression and metastatsis[J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 241. DOI: 10.1038/s41420-024-02025-z.

[18] Li WX, Duan JM, Shi WB, et al. Long non-coding RNA NCK1-AS1 serves an oncogenic role in gastric cancer by regulating miR-137/NUP43 axis[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 9929-9939. DOI: 10.2147/OTT.S259336.

[19] Tian C, Zhou SJ, Yi C. High NUP43 expression might independently predict poor overall survival in luminal A and in HER2+ breast cancer[J]. Future Oncol, 2018, 14(15): 1431-1442. DOI: 10.2217/fon-2017-0690.

[20] Greten TF, Schwabe R, Bardeesy N, et al. Immunology and immunotherapy of cholangiocarcinoma [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20(6): 349-365. DOI: 10.1038/s41575-022-00741-4.

[21] Cabibbo G, Rimassa L, Lamarca A, et al. The present and the future of immunotherapy in hepatocellular carcinoma and biliary tract cancers[J]. Cancer Treat Rev, 2025, 137: 102955. DOI: 10.1016/j.ctrv.2025.102955.

[22] Huang SH, Hua CG, Ding B, et al. Advances in improving the efficacy of anti-PD-1/PD-L1 therapy in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2025, 213: 104784. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2025.104784.

[23] Merters J, Lamarca A. Integrating cytotoxic, targeted and immune therapies for cholangiocarcinoma[J]. J Hepatol, 2023, 78(3): 652-657. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.11.005.

[24] Wang J, Xiang YD, Fan MQ, et al. The ubiquitin-proteasome system in tumor metabolism[J]. Cancers, 2023, 15(8): 2385. DOI: 10.3390/cancers15082385.

[25] Alhasan BA, Morozov AV, Guzhova IV, et al. The ubiquitin-proteasome system in the regulation of tumor dormancy and recurrence[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2024, 1879(4): 189119. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.189119.

[26] Park J, Cho J, Song EJ. Ubiquitin-proteasome system(UPS) as a target for anticancer treatment[J]. Arch Pharmacal Res, 2020, 43(11): 1144-1161. DOI: 10.1007/s12272-020-01281-8.

[27] Li X, Zhang CC, Lin XT, et al. Elevated expression of WSB2 degrades p53 and activates the IGFBP3-AKT-mTOR-dependent pathway to drive hepatocellular carcinoma [J]. Exp Mol Med, 2024, 56(1): 177-191. DOI: 10.1038/s12276-023-01142-6.

[28] Liu J, Guan D, Dong MG, et al. UFMylation maintains tumour suppressor p53 stability by antagonizing its ubiquitination [J]. Nat Cell Biol, 2020, 22(9): 1056-1063. DOI: 10.1038/s41556-020-0559-z.

（收稿日期：2026-01-07）

（上接第 192 页）

[28] 龚帅昌, 黄长文. 腹腔镜肝切除术中出血预防与控制研究进展[J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2021, 10(3): 246-250. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3232.2021.03.004.

[29] Yang T, Liu K, Liu CF, et al. Impact of postoperative infective complications on long-term survival after liver resection for hepatocellular carcinoma[J]. Br J Surg, 2019, 106(9): 1228-1236. DOI: 10.1002/bjs.11231.

[30] Liu WJ, Cheng WC, Chen YY, et al. Detrimental effects of fresh frozen plasma transfusions on postoperative outcomes in patients undergoing liver resection for hepatocellular carcinoma [J]. J Formos Med Assoc, 2023, 122(11): 1189-1198. DOI: 10.1016/j.jfma.2023.05.026.

[31] Inoue Y, Ishii M, Fujii K, et al. The effects of allogeneic blood transfusion in hepatic resection[J]. Am Surg, 2021, 87(2): 228-234. DOI: 10.1177/0003134820950285.

[32] Hu LB, Li ZY, Qiao YL, et al. Does perioperative allogeneic blood transfusion worsen the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma? A meta-analysis of propensity score-matched studies[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1230882. DOI: 10.3389/fonc.2023.1230882.

（收稿日期：2026-03-23）