

CHMP2B 高表达促进胰腺癌发生和发展的机制

曹天宇¹, 金皓东², 黄 灿¹

(¹ 安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 合肥 230032;

² 安徽医科大学第一临床医学院, 合肥 230032)

摘要 目的 解析带电多泡体蛋白 2B(CHMP2B)在胰腺癌中高表达的临床意义,探究 CHMP2B 在胰腺癌中的促癌机制。方法 通过 GEPIA 网站的转录组学分析在胰腺癌肿瘤中 CHMP2B 的表达情况,探究 CHMP2B 的表达与胰腺癌无疾病生存率和总生存率的关系。通过 Western blot 法检测 HPNE 细胞与 BXPC-3、MIA PaCa-2、PANC-1 三种胰腺癌细胞中 CHMP2B 的表达。胰腺癌在 MIA PaCa-2 细胞中使用 Lipofectamine 2000 转染 CHMP2B 因子的过表达质粒,通过 Western blot 验证在 MIA PaCa-2 中过表达 CHMP2B 质粒的过表达效果。通过克隆形成实验比较过表达 CHMP2B 因子对 MIA PaCa-2 细胞成瘤能力。CCK-8 实验和 Transwell 实验验证过表达 CHMP2B 因子对 MIA PaCa-2 细胞增殖和迁移侵袭的影响。采用免疫荧光染色检测 CHMP2B 因子的细胞定位,Western blot 法检测 CHMP2B 高表达对微管关联蛋白 1 轻链 3B(MAP1LC3B)和重组核孔蛋白 62(P62)表达的影响。结果 CHMP2B 因子在胰腺癌组织中表达升高($P < 0.01$)。CHMP2B 因子的过表达降低胰腺癌患者的总生存率和无疾病生存率($P < 0.01$)。人胰腺癌细胞系中 CHMP2B 表达量明显高于正常人胰腺导管上皮细胞。CHMP2B 的高表达促进胰腺癌 MIA PaCa-2 细胞成瘤,同时与对照组相比 CHMP2B 高表达导致胰腺癌增殖、迁移和侵袭能力升高。免疫荧光染色可见 CHMP2B 在细胞核和细胞质中均有分布并与膜泡分泌相关。但是 CHMP2B 的高表达促进了 MAP1LC3B 的表达但是抑制了 P62 的表达水平。结论 临床胰腺癌组织样本中 CHMP2B 的高表达与体外胰腺癌细胞系中的高表达相一致。CHMP2B 分布在细胞核和细胞质并且参与膜泡运输和溶酶体自噬,在胰腺癌细胞系 MIA PaCa-2 中,CHMP2B 与自噬标志物 MAP1LC3B 表达呈正相关,并且抑制 P62 的表达。可知 CHMP2B 对胰腺癌恶性程度的促进与细胞自噬相关。CHMP2B 通过调节膜泡运输和细胞自噬满足胰腺癌细胞高的营养代谢需求,进而促进胰腺癌的恶性生物学行为。

关键词 CHMP2B;膜泡运输;胰腺癌;溶酶体自噬;P62;MAP1LC3B

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)09-1551-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.009

胰腺癌被称为癌症之王,发病率和死亡率一直以来处于不断上升趋势^[1]。探究胰腺癌发病机制,明确早期诊断的标志物以及药物治疗的新靶点对胰腺癌的诊断和治疗具有重要意义。胰腺癌细胞活跃的囊泡物质运输对抗肿瘤药物的免疫逃脱具有十分重要的作用^[2]。有报道在正常细胞中 ESCRT-III 复合物的亚基中 CHMP2B 家族蛋白参与囊泡的出芽过程,CHMP 家族中 CHMP2B 基因的异常表达将引起囊泡出芽障碍以及胞内体的异构化^[3]。CHMP2B 关于囊泡功能的报道主要集中在正常神经细胞中,而且其报道仅仅集中于囊泡的异构化^[4]。针对 CHMP2B 通过影响囊泡介导的进一步表型特

征鲜有报道。该研究在胰腺癌中探究了 CHMP2B 基因的表达水平和胰腺癌患者临床预后的关系,并解析了其影响胰腺癌恶性生物学的分子机制,为胰腺癌早期诊断的标志和靶向治疗的位点,以及不良预后评估提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 材料 人胰腺癌细胞 MIA PaCa-2、BXPC-3、HPNE 和 PANC-1 购自美国 ATCC 公司。一抗兔抗 6 × his、一抗兔抗自噬微管相关蛋白链 3 (microtubule-associated protein1 light chain 3 beta, LC3B)、一抗兔抗重组核孔蛋白 62 (recombinant nucleoporin 62, P62)、一抗兔抗带电多泡体蛋白 2B (charged multivesicular body protein 2B, CHMP2B), 以及 488 和 549 荧光二抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司。Invitrogen Lipofectamine 2000 Reagent 购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,Transwell 小室购自甄选中国兰杰柯公司。CCK-8 溶液购自武汉三鹰生物

2024-08-20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82203424)

作者简介:曹天宇,男,硕士研究生;

黄 灿,女,博士,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:

huangcan@ahmu.edu.cn

技术公司。

1.2 生物信息学 通过 TCGA 数据库分析胰腺癌与癌旁组织中 CHMP2B 因子的转录本表达,以及 CHMP2B 因子与胰腺癌无疾病生存率和总生存率的相关性。

1.3 细胞培养 将 MIA PaCa-2 细胞使用含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM 高糖培养基在温度 37 °C、5% CO₂ 的常规加湿培养箱进行常规培养。将 MIA PaCa-2 细胞接种在 6 孔板分为对照组和过表达 CHMP2B 组,细胞丰度为 75% 左右后使用 Lipofectamine 2000 转染 2.5 μg 质粒。

1.4 免疫荧光实验 将 MIA PaCa-2 细胞接种在 6 孔板中,用 Lipofectamine 2000 转染过表达 CHMP2B 质粒,24 h 后接种至 12 孔板,孔内放置细胞爬片。待细胞贴壁后 4% 多聚甲醛固定 5 min。PBS 溶液漂洗 3 次,3 min/次。采用 Triton X-100 打孔 30 min, PBST 溶液漂洗 3 次,3 min/次。5% BSA 封闭 1 h, 常温下一抗兔抗 CHMP2B 孵育 2 h, PBST 溶液漂洗 3 次,5 min/次。荧光二抗 488 孵育 1 h, 进行 DAPI 染色 3 min, PBST 漂洗 3 次,5 min/次。正置荧光显微镜观察。

1.5 克隆形成实验 将 MIA PaCa-2 细胞进行细胞计数板计数,每孔 7.5×10^5 接种至 6 孔板。分为对照组和过表达 CHMP2B 组。用 Lipofectamine 2000 转染过表达 CHMP2B 质粒 2.5 μg, 48 h 后将 MIA PaCa-2 细胞进行消化,细胞计数器计数,按每个孔 1 500 个细胞,均匀接种至 6 孔板,14 d 后克隆群落形成,弃培养基,PBS 溶液漂洗 2 次,4% 多聚甲醛固定 4 min,结晶紫染色 30 min,PBS 溶液漂洗 3 次,至生物安全柜晾干拍照并统计克隆形成数。

1.6 迁移实验 将 MIA PaCa-2 细胞接种于 6 孔板中,分为实验组和对照组,实验组转染 CHMP2B 过表达质粒,24 h 后用胰酶消化细胞,细胞计数器统计细胞数,每个 Transwell 小室加入 200 μl 含 8×10^4 个细胞的无血清无双抗的 DMEM 培养基,并放置于每孔中加入 600 μl 含 10% ~ 15% FBS 完全培养基的 24 孔板中。24 h 后取出 Transwell 小室,弃培养基,4% 多聚甲醛固定 20 min,5% 的结晶紫染色 35 min。PBS 溶液漂洗 3 ~ 5 次直至结晶紫去除干净。倒置于生物安全柜内晾干,显微镜拍照。

1.7 侵袭实验 在 4 °C 条件下将基质胶用 DMEM 培养基按 1:8 稀释,取 40 μl 铺展于 Transwell 小室底部 37 °C 培养箱孵育 1 ~ 2 h。将准备好的对照组和过表达 CHMP2B 组 MIA PaCa-2 细胞分别接种至

Transwell 小室,每个小室 8×10^4 个细胞。培养 36 ~ 40 h 后取出小室,弃培养基,用 4% 多聚甲醛固定 20 min,结晶紫染色 30 min,PBS 溶液漂洗 4 次。显微镜拍照统计细胞数目。

1.8 CCK-8 实验 准备实验组和过表达 CHMP2B 组的两组 MIA PaCa-2 细胞。接种 4 块 96 孔板,每组接种 5 个复孔,每个孔接种 100 μl 完全培养基含 2 000 个细胞。再分为对照组和过表达 CHMP2B 组,在 5% CO₂、37 °C 培养箱培养 22、46、70、94 h 四个时间点检测,每个孔加入 10 μl CCK-8 溶液 37 °C 孵育 1.5 h。在酶标仪 450 nm 波长检测吸光度 (optical density, OD) 值。

1.9 Western blot 实验 将 MIA PaCa-2 细胞更换为无 FBS 无双抗的培养基,将过 pcDNA3.1-CHMP2B-His 表达质粒和 pcDNA3.1-His 对照组质粒分别 2.5 μg 通过 Lipofectamine 2000 转染,6 h 更换完全培养基。48 h 后弃培养基,用弱 RIPA 裂解液裂解 30 min 后 12 000r/min 离心 5 min。对上清液进行蛋白定量后加 5 × loading 混合 100 °C 煮 5 min,上样量为 50 μg。进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,4°C 条件下转膜,5% 的脱脂牛奶封闭,加入一抗兔抗 6 × his (1:50 000)、P62 (1:3 000)、MAP1LC3B (1:3 000) 孵育再加入鼠抗兔二抗 (1:10 000) 孵育,最后滴加化学发光试剂,在 Bio-rad 成像仪显影。

1.10 统计学处理 使用 GraphPad 软件统计细胞克隆群落及 Western blot 灰度值,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌组织中 CHMP2B 的表达及其临床意义 CHMP2B 作为 ESCRT-III 蛋白亚型之一参与膜泡运输、自噬、内吞、出芽等细胞生命活动。经 TCGA 数据库分析显示,胰腺癌组织中 CHMP2B 因子的表达量显著高于正常的癌旁组织 ($P < 0.01$),见图 1。同时分析显示在胰腺癌病患者中 CHMP2B 的高表达与患者极低的无疾病生存率和总生存率密切相关,高表达的 CHMP2B 导致无疾病生存率 ($P < 0.01$) 和总生存率 ($P < 0.01$) 的降低。并且检测发现三种胰腺癌细胞相比较胰腺上皮永生细胞 CHMP2B 的表达量明显升高。

2.2 高表达 CHMP2B 对 MIA PaCa-2 迁移的影响 在 MIA PaCa-2 细胞中高表达 CHMP2B 后进行

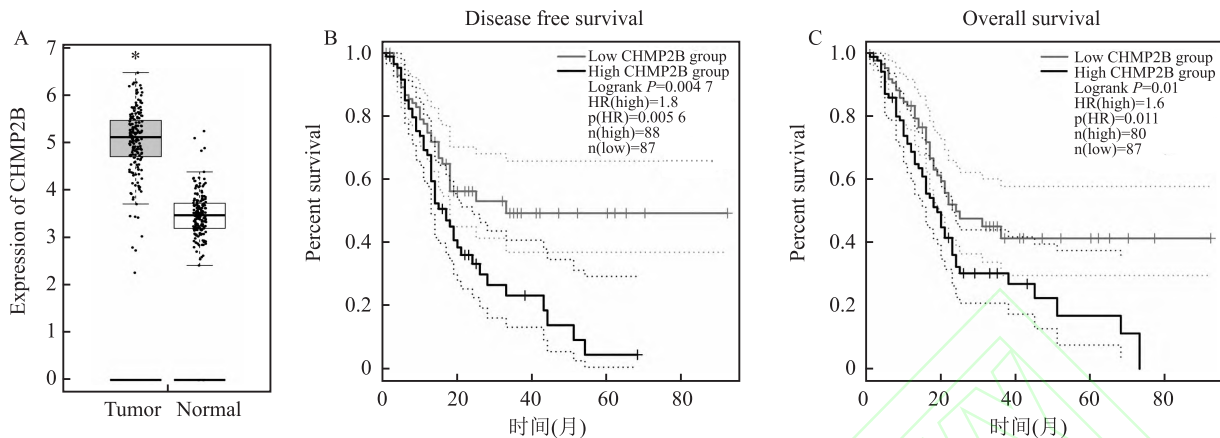


图1 CHMP2B 在胰腺癌中高表达

Fig.1 CHMP2B is overexpressed in pancreatic cancer

A: TCGA database was used to analyze the expression of CHMP2B in pancreatic cancer tissue and normal tissue; B: The relationship between CHMP2B expression and disease-free survival in patients with pancreatic cancer; C: Relationship between CHMP2B expression and overall survival in patients with pancreatic cancer; D: The expression of CHMP2B in pancreatic cancer and paracancer cells: ** $P < 0.05$ vs normal tissue.

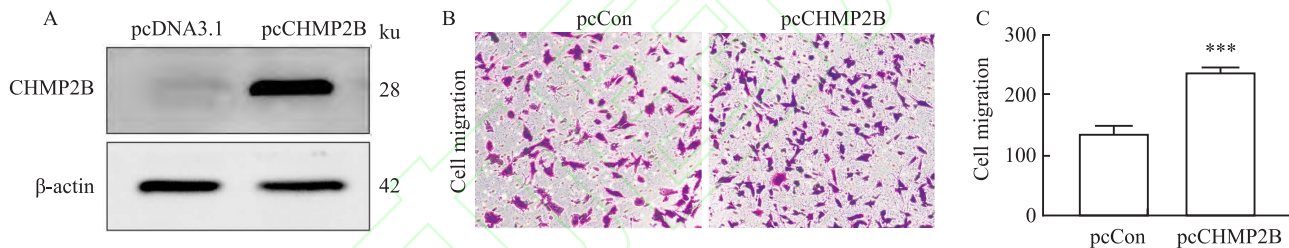
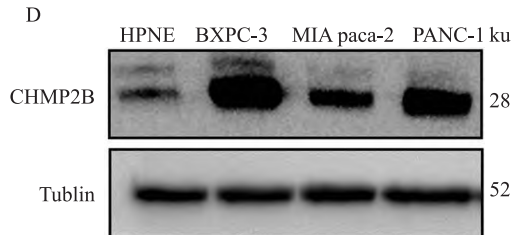


图2 CHMP2B 促进 MIA PaCa-2 细胞迁移

Fig.2 CHMP2B promotes MIA PaCa-2 cell migration

A: Immunoblotting band with high expression of CHMP2B; B: MIA paca-2 cells with high expression of CHMP2B migrated $\times 40$; C: Statistics based on migrating cells; *** $P < 0.001$ vs pcCon group.

Transwell 实验,统计结果显示,过表达 CHMP2B 组明显较对照组的细胞迁移数多。过表达 CHMP2B 促进 MIA PaCa-2 细胞迁移能力的增强 ($t = 10.51, P < 0.001$),见图 2。

2.3 高表达 CHMP2B 对 MIA PACA-2 侵袭的影响 细胞侵袭实验(图 3)显示,过表达 CHMP2B 组细胞侵袭数目明显较对照组细胞侵袭数目多。过表达 CHMP2B 明显促进 MIA paca-2 细胞的侵袭能力增强 ($t = 12.11, P < 0.01$)。

2.4 高表达 CHMP2B 对 MIA PaCa-2 成瘤的影响 克隆形成实验(图 4)显示,过表达 CHMP2B 组细胞克隆形成数明显比对照组细胞克隆形成数多。说明 CHMP2B 促进 MIA PaCa-2 细胞的增殖能力 ($t = 16.71, P < 0.01$)。

2.5 高表达 CHMP2B 对 MIA PaCa-2 增殖能力的影响 CCK-8 法检测结果显示,CHMP2B 过表达组

的增殖能力明显高于对照组,说明 CHMP2B 促进 MIA PaCa-2 细胞的增殖。见图 5。

2.6 CHMP2B 与 MAP1LC3B 和 P62 的关系

CHMP2B 参与膜泡运输以及溶酶体自噬。在高表达 CHMP2B 的情况下 P62 被抑制,与此同时促进了 MAP1LC3B 的表达。见图 6。

3 讨论

胰腺癌患者肿瘤组织中细胞膜流动通量、胞内物质运输、囊泡转运均显著升高^[5]。其中 ESCRT 途径参与的囊泡运输途径在上述过程中十分活跃^[6]。ESCRT 途径通过驱动囊泡出芽将降解的物质运往液泡和溶酶体^[7]。CHMP2B 是 ESCRT-III 蛋白亚型之一,也是 ESCRT 复合物的核心组成部分,同时也是细胞自噬和内体运输所必须的^[8]。CHMP2B 参与蛋白质降解、细胞分裂和包膜逆转录病毒释放等

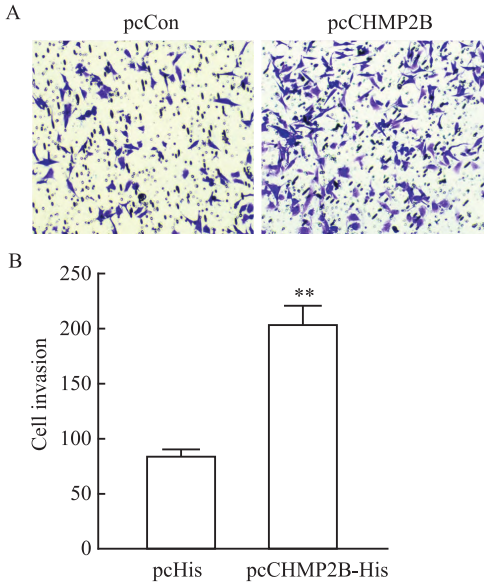


图3 CHMP2B 促进 MIA PaCa-2 细胞的侵袭

Fig. 3 CHMP2B promotes MIA PaCa-2 cell invasion

A: MIA PaCa-2 cells with high expression of CHMP2B invaded × 40; B: Statistics based on cell invasion; ** P < 0.01 vs pcHis group.

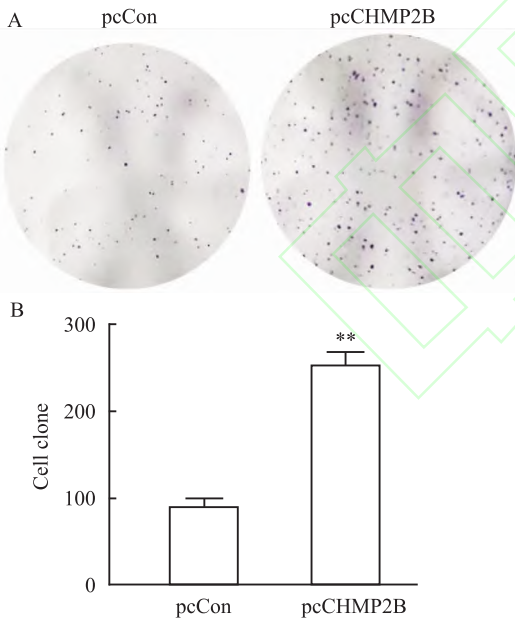


图4 细胞克隆形成实验

Fig. 4 Cell clonal formation experiment

A: The number of clones of MIA PaCa-2 cells with CHMP2B overexpressed was significantly higher than that of the control group; B: Statistics based on number of cell clones; ** P < 0.01 vs pcCon group.

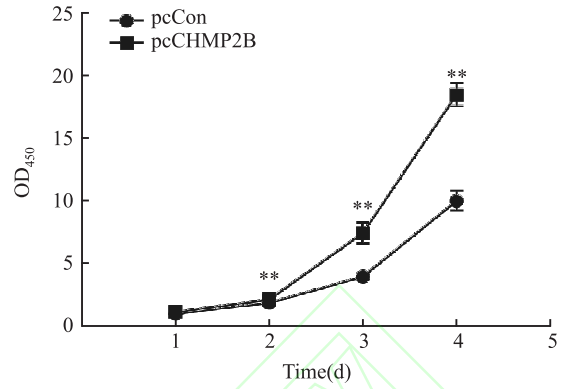


图5 CCK-8 法检测 MIA PaCa-2 细胞的增殖实验

Fig. 5 The proliferation experiment of MIA PaCa-2 cells detected by CCK-8 assay

** P < 0.01 vs pcCon group

调节细胞凋亡,促进肝细胞癌的发生和发展^[12]。但 CHMP2B 的研究主要在神经细胞和病毒出芽相关的领域较多,在肿瘤细胞的功能尚不明确。因此本研究利用 TCGA 数据库比较胰腺癌组织与癌旁组织中 CHMP2B 的表达量,检测 CHMP2B 的表达与胰腺癌的生存率降低的关系,并通过考察高表达的 CHMP2B 对胰腺癌细胞 MIA PaCa-2 的迁移、侵袭、增殖和成瘤能力的影响,验证 CHMP2B 对胰腺癌细胞恶性程度的影响。实验结果表明,CHMP2B 在胰腺癌较癌旁组织表达量升高,并且导致胰腺癌患者的无疾病生存率和总生存率的降低。Western blot 结果显示 CHMP2B 在胰腺癌细胞中的表达量高于胰腺导管细胞。在胰腺癌细胞中 CHMP2B 过表达促进 MIA PaCa-2 细胞迁移、侵袭、成瘤和增殖能力。说明 CHMP2B 对胰腺癌的恶性程度有促进作用。在胰腺癌细胞中对 CHMP2B 因子进行免疫荧光染色发现其在囊泡中确实分布广泛。由于 CHMP2B 介导溶酶体途径相关的蛋白质分选,CHMP2B 功能的缺失会导致异常溶酶体形态,而溶酶体的异常可能引起自噬通量^[13]。所以本研究通过免疫印迹检测 CHMP2B 蛋白水平与自噬标志物 MAP1LC3B^[14] 和 P62^[15] 的相关性,发现 CHMP2B 的高表达可促进 LC3BI 向 LC3B II 的转化,同时 CHMP2B 促进 P62 的降解。结果说明 CHMP2B 通过促进细胞内的自噬促进癌细胞高代谢的物质需求,同时也通过囊泡的运输降低细胞毒性。但是 CHMP2B 调控自噬的机制以及对自噬程度的影响知之甚少。为此将进一步确定在自噬过程中 CHMP2B 直接作用的下游因子,以及 CHMP2B 如何通过这些因子影响自噬程度相关的标志蛋白。

关键过程^[9]。CHMP 家族成员在肿瘤细胞中调节多种生命过程。例如:CHMP1A 可通过调节 PI3K/mTOR/p53 信号通路抑制肾癌细胞的生长和扩散^[10]。CHMP2A 在自然杀伤细胞中调节趋化因子的分泌,促进其向肿瘤细胞迁移^[11]。CHMP3 通过

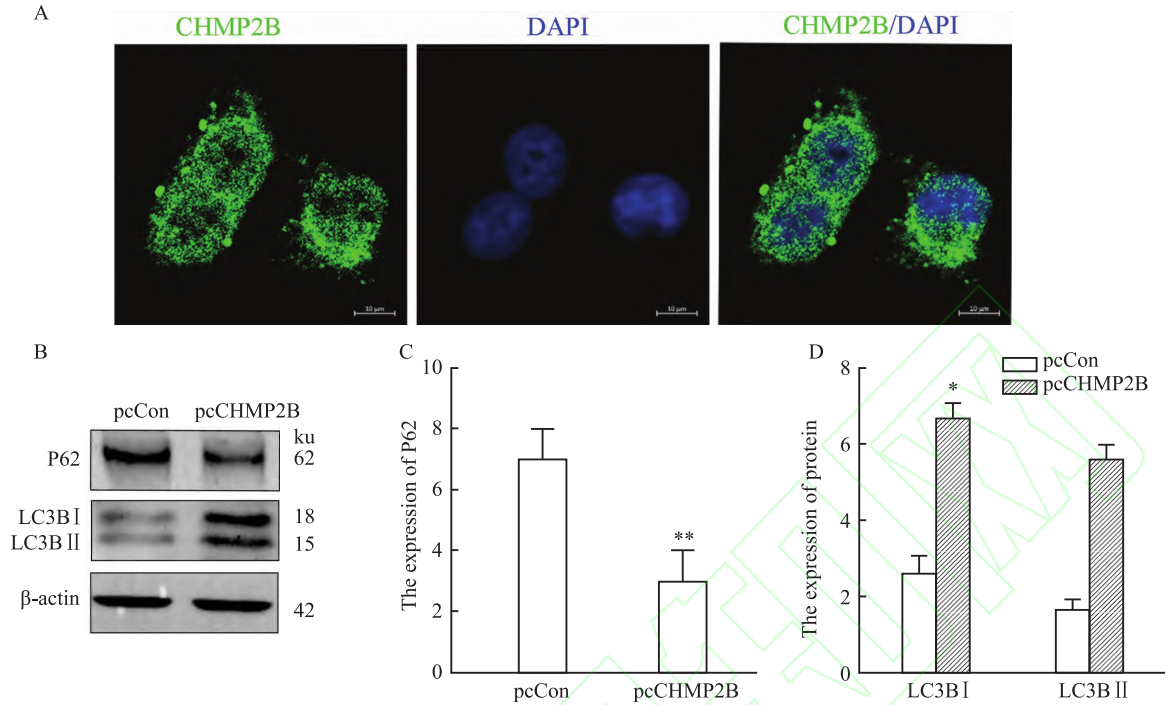


图6 CHMP2B 促进溶酶体自噬

Fig. 6 CHMP2B promotes lysosomal autophagy

A: Immunofluorescence images; green is the distribution of CHMP2B $\times 630$; blue is DAPI stained $\times 630$; B: The expression of MAP1LC3B and P62 was higher than that of the control group by detected immunoprinting; C: Immunoprinting quantitative analysis of P62; D: Immunoprinting quantitative analysis of LC3; * $P < 0.01$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs control group.

参考文献

- [1] 马丹丹, 张 翌, 林振宇, 等. PRC1 在胰腺癌中的细胞生物学功能及临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(2): 189-95. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.02.003.
- [1] Ma D D, Zhang Y, Lin Z Y, et al. The cell biological function and clinical significance of PRC1 in pancreatic carcinoma[J]. Acta Univ Med Anhui, 2023, 58(2): 189-95. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.02.003.
- [2] Moore M J, Goldstein D, Hamm J, et al. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the national cancer institute of canada clinical trials group[J]. J Clin Oncol, 2023, 41(30): 4714-20. doi:10.1200/jco.2006.0.9525.
- [3] Lee J A, Liu L, Javier R, et al. ESCRT-III subunits Snf7-1 and Snf7-2 differentially regulate transmembrane cargos in hESC-derived human neurons [J]. Mol Brain, 2011, 4: 37. doi:10.1186/1756-6606-4-37.
- [4] Ritter A T, Shtengel G, Xu C S, et al. ESCRT-mediated membrane repair protects tumor-derived cells against T cell attack[J]. Science, 2022, 376(6591): 377-82. doi:10.1126/science.abl3855.
- [5] Chen Y, Krishnan G, Parsi S, et al. The enhanced association between mutant CHMP2B and spastin is a novel pathological link between frontotemporal dementia and hereditary spastic paraplegias [J]. Acta Neuropathol Commun, 2022, 10(1): 169. doi:10.1186/s40478-022-01476-8.
- [6] Kuchitsu Y, Mukai K, Uematsu R, et al. STING signalling is terminated through ESCRT-dependent microautophagy of vesicles originating from recycling endosomes[J]. Nat Cell Biol, 2023, 25(3): 453-66. doi:10.1038/s41556-023-01098-9.
- [7] Robbins M, Clayton E L. Synaptopathy in CHMP2B frontotemporal dementia highlights the synaptic vesicle cycle as a therapeutic target[J]. Neural Regen Res, 2023, 18(2): 315-6. doi:10.4103/1673-5374.343905.
- [8] Deng X, Sun X, Yue W, et al. CHMP2B regulates TDP-43 phosphorylation and cytotoxicity independent of autophagy via CK1 [J]. J Cell Biol, 2022, 221(1): e202103033. doi:10.1083/jcb.202103033.
- [9] Alqabandi M, de Franceschi N, Maity S, et al. The ESCRT-III isoforms CHMP2A and CHMP2B display different effects on membranes upon polymerization [J]. BMC Biol, 2021, 19(1): 66. doi:10.1186/s12915-021-00983-9.
- [10] Wu Y P, Wu Y G, Xu C, et al. CHMP1A suppresses the growth of renal cell carcinoma cells via regulation of the PI3K/mTOR/p53 signaling pathway [J]. Genes Genomics, 2022, 44(7): 823-32. doi:10.1007/s13258-022-01237-w.
- [11] Bernareggi D, Xie Q, Prager B C, et al. CHMP2A regulates tumor sensitivity to natural killer cell-mediated cytotoxicity [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1899. doi:10.1038/s41467-022-

-29469-0.

[12] Azad K, Guilligay D, Boscheron C, et al. Structural basis of CHMP2A-CHMP3 ESCRT-III polymer assembly and membrane cleavage[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2023, 30(1): 81-90. doi: 10.1038/s41594-022-00867-8.

[13] Chua J P, De Calbiac H, Kabashi E, et al. Autophagy and ALS: mechanistic insights and therapeutic implications[J]. *Autophagy*, 2022, 18(2): 254-82. doi: 10.1080/15548627.2021.

1926656.

[14] Hwang H J, Kim Y K. The role of LC3B in autophagy as an RNA-binding protein[J]. *Autophagy*, 2023, 19(3): 1028-30. doi: 10.1080/15548627.2022.2111083.

[15] Tao M M, Liu T, You Q D, et al. p62 as a therapeutic target for tumor[J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 193:112231. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112231.

High expression of CHMP2B promotes the occurrence and development of pancreatic cancer and explores its mechanism

Cao Tianyu¹, Jin Haodong², Huang Can¹

(¹*Dept of Biological Chemistry and Basic Medical College, Anhui Medical University, Hefei 230032;*

²*The First Clinical Medical College, Anhui Medical University, Hefei 230032)*

Abstract Objective To analyze the clinical significance of elevated CHMP2B expression in pancreatic cancer, and to explore the oncogenic mechanism of CHMP2B in pancreatic cancer. **Methods** A transcriptomic analysis conducted on the GEPIA website revealed CHMP2B expression in over 20 types of malignant tumors. The relationship between CHMP2B expression and disease-free survival and overall survival of pancreatic cancer was analyzed. The correlation between CHMP2B, MAP1LC3B and P62 expression was analyzed by TCGA database. The overexpression plasmid of CHMP2B factor was transfected with Lipofectamine 2000 in MIA PaCa-2 cells, and the overexpression of CHMP2B factor in MIA PaCa-2 was verified by Western blot. The effect of overexpression of CHMP2B on tumorigenic ability of MIA PaCa-2 cells was verified by clonal formation experiment. The effect of overexpression of CHMP2B on proliferation, migration and invasion of MIA PaCa-2 cells was verified by CCK-8 and Transwell experiments. The localization of CHMP2B factor was detected by immunofluorescence staining. The correlation between CHMP2B, MAP1LC3B and P62 expression was analyzed by TCGA database. The expression of MAP1LC3B and P62 in CHMP2B overexpression was verified by qPCR. **Results** The expression of CHMP2B factor increased in pancreatic cancer ($P < 0.01$). Overexpression of CHMP2B factor was associated with overall survival and disease-free survival ($P < 0.01$). The high expression of CHMP2B promoted the tumorigenesis of MIA PaCa-2 cells in pancreatic cancer, and also promoted the proliferation, migration and invasion of pancreatic cancer. Immunofluorescence staining showed that CHMP2B was distributed in both nucleus and cytoplasm and correlated with vesicle secretion. Moreover, CHMP2B was positively correlated with the expression of autophagy marker MAP1LC3B while inhibiting the expression of P62. **Conclusion** The high expression of CHMP2B in clinical pancreatic cancer tissue samples is consistent with the high expression *in vitro* pancreatic cancer cell lines. CHMP2B is localized in both nucleus and cytoplasm, involving in vesicle transport and lysosomal autophagy. In the pancreatic cancer cell line MIA PaCa-2, CHMP2B is positively correlated with the expression of autophagy marker MAP1LC3B and inhibits the expression of P62. It is concluded that CHMP2B is related to autophagy in promoting the malignant degree of pancreatic cancer. CHMP2B meets the high nutritional metabolic requirements of pancreatic cancer cells by regulating vesicular transport and autophagy, thus promoting the malignant biological behavior of pancreatic cancer.

Key words CHMP2B; vesicular transport; pancreatic cancer; lysosomal autophagy; P62; MAP1LC3B

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 82203424)

Corresponding author Huang Can, E-mail: huangcan@ahmu.edu.cn