

基于生物信息学分析骨肉瘤肺转移的关键基因和功能鉴定

王鑫, 彭李华, 陈兴旺

(重庆医科大学附属璧山医院骨科, 重庆 402760)

【摘要】 目的: 采用生物信息学的方法筛选骨肉瘤肺转移的差异表达基因, 并探讨其功能及调控网络。方法: 从 GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) 中筛选数据集 GSE14359, 使用 GEO2R 在线工具筛选差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG); 在线 HMMD 数据库 (<http://www.cuilab.cn/hmdd>) 下载骨肉瘤疾病相关的 miRNA, FunRich 软件预测靶基因, 与 DEG 取交集, 获得目标基因; 根据靶向关系形成 miRNA-mRNA 关系对, 数据导入 Cytoscape 可视化; DAVID 对目标基因行 GO 和 KEGG 通路富集分析; STRING 构建 PPI 网络, Cytoscape 可视化, CytoHubba 插件筛选中枢基因, 在线网站进行表达和生存分析。结果: 共鉴定出 704 个 DEG, 由 477 个上调基因和 227 个下调基因组成。FunRich 预测出 mRNA 7 888 个, 两者交集, 获得目标基因 343 个。KEGG 富集分析显示: 目标基因主要参与与焦点粘连、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 受体相互作用、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、白细胞介素-17 (interleukin 17, IL-17) 信号通路、MAPK 信号通路。获得 10 个中枢基因 (CCNB1、CHEK1、AURKA、DTL、RRM2、MELK、CEP55、FEN1、KPNA2、TYMS), CCNB1、DTL、MELK 和预后不良高度相关。结论: 该研究确定的关键基因和功能通路可能有助于了解骨肉瘤肺转移癌发生和进展的分子机制, 并提供潜在的治疗靶点。

【关键词】 骨肉瘤; 肺转移; 生物信息学; 基因

中图分类号: R681

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.20221326

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Identification of key genes and functions in lung metastasis of osteosarcoma based on bioinformatics

WANG Xin, PENG Li-hua, CHEN Xing-wang (Department of Orthopaedics, Bishan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402760, China)

ABSTRACT Objective To screen the differentially expressed genes of lung metastasis of osteosarcoma by bioinformatics, and explore their functions and regulatory networks. **Methods** The data set of GSE14359 was screened from GEO database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) and the differentially expressed gene (DEG) was identified using GEO2R online tool. Download osteosarcoma disease related miRNAs from the online HMMD database (<http://www.cuilab.cn/hmdd>) and then FunRich software was used to predict the target gene, intersects with DEG to obtains the target gene. The miRNA-mRNA relationship pairs were formed according to the targeted joints, then the data was imported into Cytoscape for visualization, DAVID was used to performe GO and KEGG analysis on target genes, STRING was used to construct PPI network, Cytoscape visualization, CytoHubba plug-in screening central genes and online website for expression and survival analysis. **Results** Total 704 DEGs were identified, consisting of 477 up-regulated genes and 227 down regulated genes. FunRich predicted 7 888 mRNAs and 343 target genes were obtained through intersection of the two. KEGG analysis showed that it was mainly involved in focal adhesion, ECM receptor interaction, TNF signal pathway, PI3K-Akt signal pathway, IL-17 signal pathway and MAPK signal pathway. Ten central genes (CCNB1, CHEK1, AURKA, DTL, RRM2, MELK, CEP55, FEN1, KPNA2, TYMS) were identified as potential key genes. Among them, CCNB1, DTL, MELK were highly correlated with poor prognosis. **Conclusion** The key genes and functional pathways identified in this study may be helpful to understand the molecular mechanism of the occurrence and progression of lung metastases from osteosarcoma, and provide potential therapeutic targets.

KEYWORDS Osteosarcoma; Lung metastasis; Bioinformatics; Gene

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是儿童和青少年中最常见的恶性骨肿瘤, 尽管近年来骨肉瘤的治疗取得

了一定进展, 但无病生存率并没有显著改善, 50% 的患者随后发展为致命的肺转移^[1], 5 年生存率仅为 20%~30%^[2]。因此, 探索骨肉瘤发生肺转移的分子机制, 从而制定有效的治疗策略至关重要。近年来, 随

通讯作者: 彭李华 E-mail: 363670397@qq.com

Corresponding author: PENG Li-hua E-mail: 363670397@qq.com

着高通量技术的不断发展和数据分析技术的进步,微阵列技术结合生物信息学分析被广泛应用于肿瘤基因组水平的遗传改变,以揭示疾病的分子机制。本研究采用生物信息学方法,筛选骨肉瘤肺转移的关键基因及可能涉及的信号通路,并预测可能的 miRNA-mRNA 调控关系。

1 材料与方法

1.1 原始数据获取

GEO 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>) 检索 “osteosarcoma and lung metastasis and mRNA”, 筛选数据集 GSE14359 (GPL96 平台 [HG-U133A] Affymetrix Human Genome U133A Array), 包含 8 个肺转移样本和 10 个非转移性骨肉瘤样本。HMMD 数据库 (<http://www.cuilab.cn/hmdd>) 下载骨肉瘤疾病相关的 miRNA。

1.2 目标基因筛选

GEO2R 在线工具筛选出 GSE14359 肺转移组和非转移组之间的差异表达基因 (differentially expressed gene, DEG), 筛选标准为 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 FC| > 1$ 。HMMD 数据库 (<http://www.cuilab.cn/hmdd>) 下载骨肉瘤疾病相关的 miRNA, FunRich (<http://funrich.org>) 软件预测靶基因。两者取交集获得目标基因, 在线网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 制作韦恩图。

1.3 GO 和 KEGG 富集分析

DAVID 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov>) 进行单基因 GO (gene ontology) 注释和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, 以进一步分析目标基因的生物功能和潜在通路, 筛选标准 $P < 0.05$ 。GO 注释包括生物学进程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 及分子功能 (molecular function, MF) 3 个部分。下载 DAVID 数据整理后使用微生信在线网站 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 制作 BP、CC、MF、KEGG 气泡图。

1.4 PPI 网络建设及模块分析

STRING (<http://string-db.org>) 对目标基因做蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析 (交互得分 ≥ 0.7), 下载 STRING 数据库数据导入 Cytoscape (<http://www.cytoscape.org/>) 可视化。

1.5 Hub 基因选择与分析

根据 Cytoscape 的 cytoHubba 插件, 选择 MCC 算法选取排名前 10 的基因作为 Hub 基因, 在线网站 (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 分析表达差异; 在线网站 (<https://hgserver1.amc.nl/cgi-bin/>

r2/main.cgi) 作生存分析。

1.6 miRNA-mRNA 调控网络的构建

HMDD 网站 (<http://www.cuilab.cn/hmdd>) 下载与骨肉瘤相关的 miRNA, 使用 FunRich (<http://funrich.org>) 软件预测靶基因, 与差异表达基因取交集, 根据靶向关系形成 miRNA-mRNA 关系对, Cytoscape 可视化构建 miRNA-mRNA 调控网络。

2 结果

2.1 目标基因的获取

删除重复值及无效值, 从 GSE14359 数据集中筛选出 704 个 DEG, 包括 477 个上调基因和 227 个下调基因, GSE14359 火山图 (图 1)。HMMD 数据库有 191 个 miRNA, FunRich (<http://funrich.org>) 软件预测骨肉瘤相关 miRNA 靶基因 7 888 个, 与 GSE14359 的 DEG 交集, 得到目标基因 343 个 (图 2)。

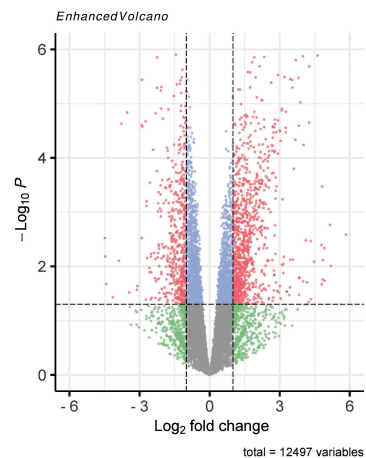


图 1 GSE14359 火山图

Fig.1 Volcano map of GSE14359

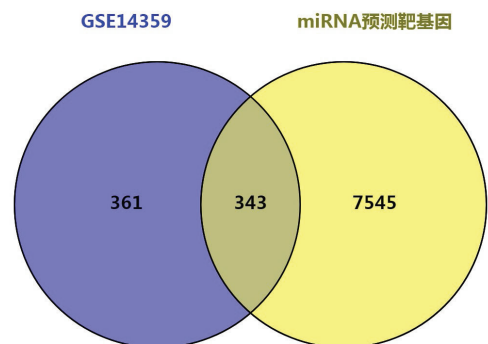


图 2 GSE14359 与骨肉瘤相关 miRNA 预测靶基因的 Venn 图

Fig.2 Venn map of predicted target genes for GSE14359 and osteosarcoma related miRNAs

2.2 目标基因的 GO 注释和 KEGG 富集分析

利用 DAVID 对目标基因进行 GO 注释和 KEGG 通路富集分析。GO 注释: BP (图 3a), RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、RNA 聚合酶 II 启动子

转录的负调控、细胞迁移、RNA 聚合酶 II 启动子的转录、细胞对钙离子的反应、转录的正调控、DNA 模板化、药物反应、内皮细胞增殖的正调节、转化生长因子 β 受体信号通路、MAP 激酶活性的正调节。CC(图 3b), 细胞外泌体、细胞质、胞浆、高分子复合物、染色质、焦点粘连、细胞表面、膜、核、细胞质核周区。MF(图 3c), 蛋白质结合、特异性双链 DNA 结合、相同蛋白结合、转录激活剂活性, RNA 聚合酶 II 转录调节区序列特异性结合、转录因子活性, 序列特异性 DNA 结合、蛋白质同源二聚体活性、未折叠蛋白结合、肌动蛋白丝结合、转录因子结合、RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 结合转录因子结合。KEGG 分析显示(图 3d), 通路富集在焦点粘连、ECM 受体相互作用、癌症的途径、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)信号通路、癌症中的蛋白聚糖、PI3K-Akt 信号通路、小细胞肺癌、流体剪切应力与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、MAPK 信号通路。

2.3 PPI 网络构建及 Hub 基因筛选

为了分析目标基因之间的功能交互, 使用 Cytoscape 对 STRING 构建的 PPI 网络进行可视化, 该网络由 204 个节点和 950 条边组成。利用 Cytoscape 的 cytoHubba 插件, 按照 MCC 算法筛选出前 10 的中枢基因。见表 1、图 4。

2.4 Hub 基因选择与分析

筛选出 10 个 Hub 基因(CCN-B1、CHEK1、AURKA、DTL、RRM2、MELK、CEP55、FEN1、KPNA2、TYMS), 基因全称中英文对照见表 1。在线网站 (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 分析表达差异(图 5), 在线网站 (<https://hgserver1.amc.nl/cgi-bin/r2/main.cgi>) 进行生存分析。结果表明, CCNB1、AURKA、DTL、RRM2、MELK、CEP55、KPNA2 有统计学意义, CCNB1、DTL、MELK 与骨肉瘤患者预后不良密切相关(图 6)。

2.5 miRNA-hub 基因调控网络

HMMD 数据库与骨肉瘤疾病相关 miRNA 有 191 个, FunRich 软件预测靶基因 7 888 个, 与

GSE14359 的 DEG 交集, 得到目标基因 343 个, 使用 Cytoscape 可视化, 由 462 个点, 1 707 条边构成。通过交互网络度分析, hsa-miR-15a、hsa-miR-195、hsa-miR-16-1、hsa-miR-16-2、hsa-miR-29a 是中枢 miRNA(图 7)。

3 讨论

OS 是儿童和青少年中最常见的原发性恶性肿瘤, 具有很高的肺转移倾向。因此, 鉴定导致转移潜能增加的分子标记物非常重要, 以便设计更有效的治疗策略来抑制转移。

3.1 骨肉瘤肺转移 Hub 基因的功能分析

构建目标基因的 PPI 网络, cytoHubba 插件筛选 Hub 基因, GEPIA 数据库进一步对 Hub 基因进行表

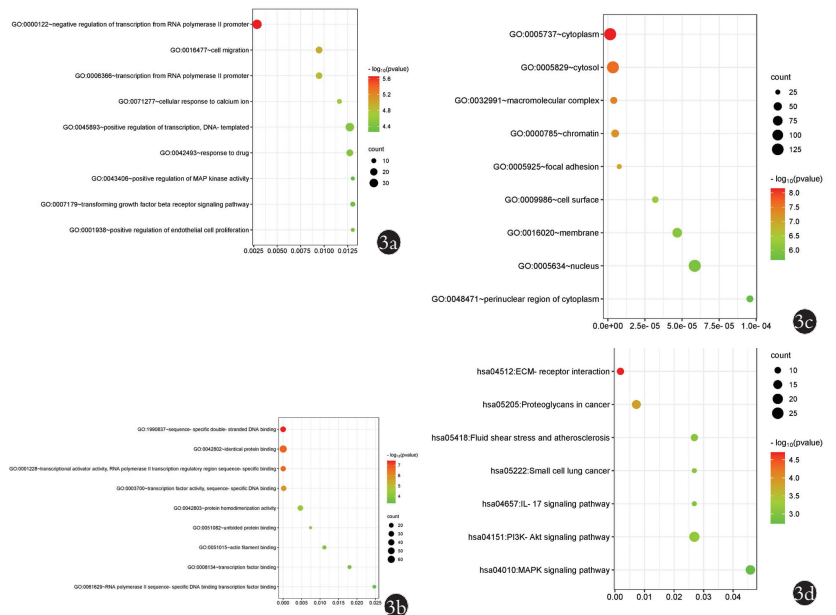


图 3 目标基因的 GO 注释和 KEGG 通路富集分析 3a. BP 气泡图 3b. CC 气泡图 3c. MF 气泡图 3d. KEGG 气泡图

Fig.3 GO annotation and KEGG pathway enrichment analysis of target genes 3a. BP Bubble Chart 3b. CC bubble chart 3c. MF bubble chart 3d. KEGG Bubble Chart

表 1 Hub 基因中英文全称

Tab.1 Full Chinese and English names of Hub genes

基因简称	英文全称	中文全称
CCNB1	cyclin B1	细胞周期蛋白 B1
CHEK1	Checkpoint Kinase 1	检查点激酶 1
AURKA	Aurora Kinase A	极光激酶 A
DTL	dentideless E3 ubiquitin ligase	泛素蛋白连接酶同系物
RRM2	Ribonucleotide reductase subunit M2	核糖核苷酸还原酶调节亚基 M2
MELK	Maternal Embryonic Leucine Zipper Kinase	母体胚胎亮氨酸拉链激酶
CEP55	Centrosomal protein 55	中心体蛋白 55
FEN1	Flap Structure-Specific Endonuclease 1	瓣状核酸内切酶 1
KPNA2	Karyopherin Subunit Alpha 2	核转运蛋白 α2
TYMS	Thymidylate Synthetase	胸苷酸合成酶

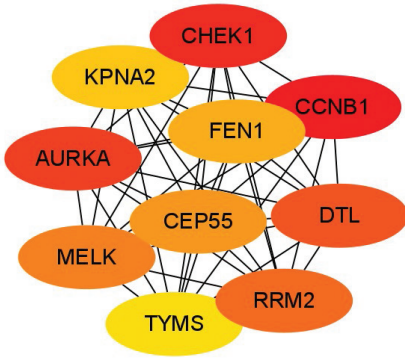


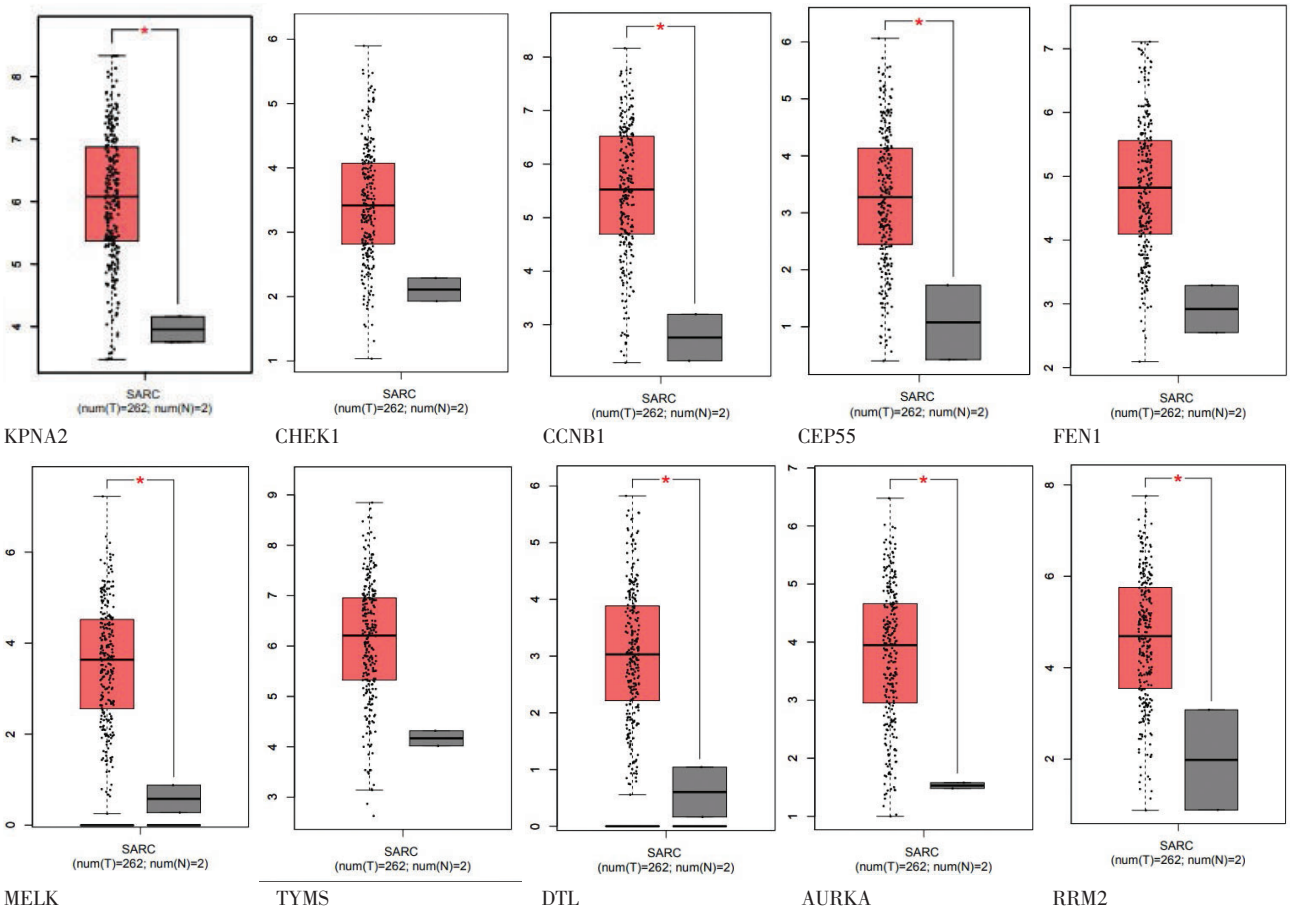
图 4 PPI 网络的 Hub 基因
Fig.4 Hub Gene of PPI Network

达分析,结果显示 CEP55、AURKA、RRM2、KPNA2、CCNB1、DTL、MELK 具有统计学意义,这些基因可能与骨肉瘤的发生发展起重要作用。CEP55 在 OS 组织中过表达,主要位于 OS 细胞的质膜上,沉默 CEP55 可 G1 期细胞显著增加,进入 S 期和 G2/M 期的细胞减少,并促进细胞凋亡^[3]。AURKA 是一种致癌基因,在包括骨肉瘤在内的多种人类肿瘤中高度表达,其表达水平与恶性程度和肿瘤转移相关。沉默

AURKA 基因可诱导 OS 细胞凋亡和 G2/M 细胞周期停滞来抑制细胞活力^[4]。RRM2 在 DNA 损伤修复、上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、侵袭、增殖方面起着重要作用;RRM2 可能作为一种促转移因子,通过 PI3K/AKT 信号通路诱发细胞侵袭、迁移和 VEGF 表达^[5]。高 RRM2 蛋白表达与较差的总生存率显著相关,高 RRM2 表达促进侵袭性表型,RRM2 沉默后细胞周期和增殖相关基因特征下调,伴随着细胞凋亡和 DNA 损伤的增加^[6]。KPNA2 参与多种肿瘤相关蛋白的核质运输途径。KPNA2 参与细胞分化、增殖、凋亡、免疫反应,进而促进肿瘤形成和发展,但和骨肉瘤的关系未见相关报道。

3.2 CCNB1、DTL、MELK 与肺转移的分子机制

生存分析显示:CCNB1、DTL、MELK 与骨肉瘤患者预后不良密切相关,这些基因可能对骨肉瘤转移起重要作用。CCNB1 基因编码 CyclinB1 蛋白,参与细胞周期调控、中心体复制和染色体分离。CCNB1 过表达与许多癌症的细胞增殖和肿瘤发生密切相关,并且与肿瘤分期相关^[7-8]。CCNB1 可能通过调控



注: * 差异有统计学意义
图 5 Hub 基因的表达差异
Fig.5 Differential expression of Hub gene

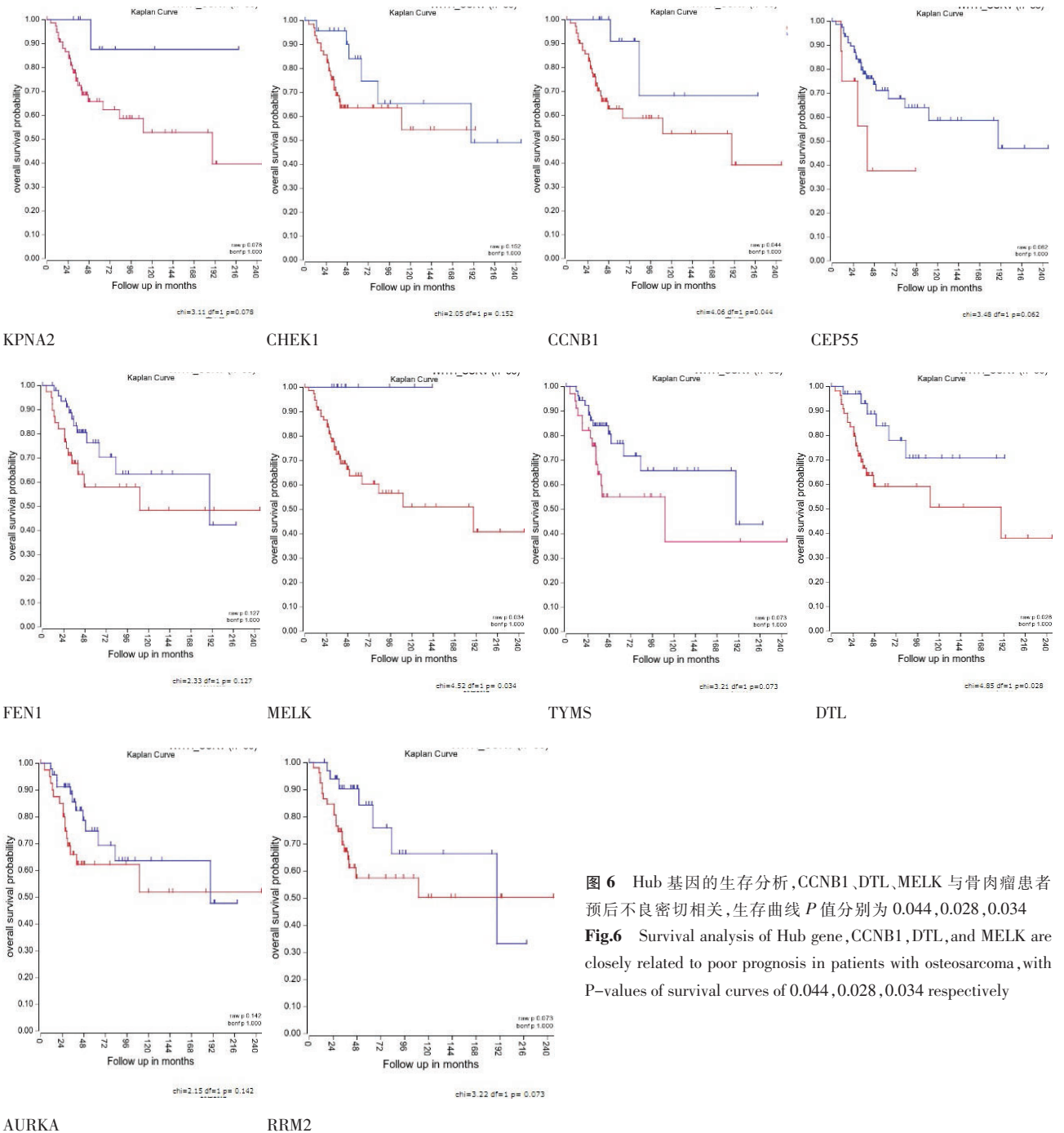
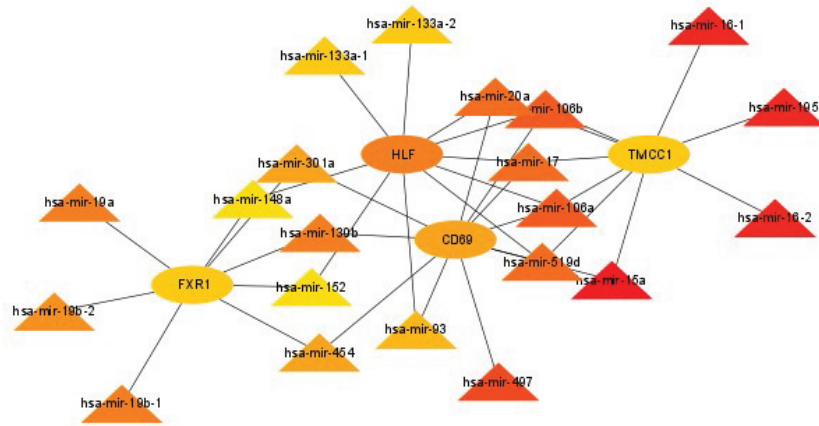


图 6 Hub 基因的生存分析,CCNB1、DTL、MELK 与骨肉瘤患者预后不良密切相关,生存曲线 P 值分别为 0.044,0.028,0.034
Fig.6 Survival analysis of Hub gene,CCNB1,DTL,and MELK are closely related to poor prognosis in patients with osteosarcoma,with P-values of survival curves of 0.044,0.028,0.034 respectively

DNA 复制参与肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的细胞周期^[7],还可促进 HCC 中的磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 和 AKT 磷酸化,并通过促进 P53 泛素化来降低 P53 蛋白表达,从而导致肿瘤细胞的生长和细胞周期进程^[8]。在骨肉瘤中,CCNB1 水平升高,会降低 G2 期的细胞百分比,升高 G1 期的细胞百分比,增加抗肿瘤药物的耐药性,促进骨肉瘤细胞增殖转移^[9]。DTL 调节泛素蛋白酶活性,参与蛋白质泛素化、调节有丝分裂细胞周期的 G2/M 转换和 DNA 损伤反应^[10-11]。临床上 DTL 在癌组织中比在正常组织中显

著上调。生存曲线显示,DTL 表达量越高的癌症患者生存率越低。程序性细胞死亡因子 4(programmed cell death 4, PDCD4) 被确定为 DTL 的潜在底物, PDCD4 是一种肿瘤抑制基因,参与细胞凋亡、转化、侵袭和肿瘤进展。DTL 通过降解 PDCD4 促进癌细胞的运动和增殖,从而促进癌症的发展^[12]。DTL 和 PCNA 调节 p53 多泛素化,DTL 的失活诱导 p53 稳定和细胞生长停滞^[13]。MELK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,在细胞周期调节、增殖和细胞凋亡中起主导作用。在骨肉瘤中,MELK 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调节增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear



注：三角形为 miRNA，圆形为 mRNA

图 7 miRNA-mRNA 网络图

Fig.7 miRNA-mRNA network diagram

antigen, PCNA) 和基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloprotein 9, MMP9) 的表达, 从而促进骨肉瘤的增殖和转移, 敲低 MELK 导致体外增殖、迁移和侵袭减少以及细胞凋亡和细胞周期停滞的增强^[14]。

3.3 骨肉瘤肺转移相关的信号通路

为了揭示 OS 肺转移的分子机制, 对目标基因可能的 GO 功能项和信号通路进行了表征。KEGG 通路富集分析表明, TNF 信号通路、癌症中的蛋白聚糖、PI3K-Akt 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路等是与 OS 最相关的通路。肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是一种促炎细胞因子, 通过调节细胞因子的产生、细胞存活和细胞死亡来协调组织稳态。文献^[15]表明 TNF- α /NF- κ B 轴在人骨肉瘤细胞中被激活, 阻断 TNF- α /NF- κ B/CUL4B 轴可诱导细胞周期停滞在 S 期, 抑制细胞增殖、集落形成、细胞侵袭和肿瘤形成能力。TNF- α 信号的激活增强骨肉瘤细胞中的 IL-34 表达, 并通过增加新血管生成和 M2 巨噬细胞的募集促进 OS 生长^[16]。非经典的 TNF/NF- κ B 信号通路激活, NF- κ B 诱导激酶 (NF-kappaB-inducing kinase, NIK) 的上调导致 p100 (p-p100) 磷酸化, 易位到细胞核后, 一方面重塑线粒体依赖性凋亡相关蛋白的表达, 从而抑制细胞凋亡, 另一方面通过影响骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 信号或糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 通路广泛参与骨肉瘤细胞增殖和分化, 下调磷酸化 Akt 和 NF- κ B 将 MG-63 细胞阻滞在 G1 期, 从而显著抑制 MG-63 细胞的迁移和增殖^[17]。PI3K/AKT/mTORa 通路在 OS 中经常过度激活, 并有助于肿瘤发生、增殖、侵袭、细胞周期进程、细胞凋亡抑制、血管生成和化学抗性^[18-19]。抑制 PI3K/AKT 通路, 下游关键促凋亡蛋白的表达显著增加, 主要抗

凋亡蛋白的表达减少, 增加 OS 自噬和诱导凋亡, 抑制骨肉瘤增殖、侵袭和增殖^[20-21]。MAPK 信号通路由 RAF1、MEK 和 ERK 组成, 在促进肿瘤增殖、迁移、侵袭和血管生成中起关键作用。WANG 等^[22]报道骨肉瘤肺转移相关的基因突变主要集中在 MAPK 信号通路, 另有研究证实巨噬细胞迁移抑制因子可激活 MAPK 信号通路进而增加骨肉瘤增殖侵袭和肺转移^[23]。

3.4 骨肉瘤肺转移相关 miRNA

miRNA 负向调节靶基因 mRNA 的表达水平, 为 OS 的早期诊断、临床精准治疗提供新的线索。

在本研究中, 构建的 miRNA-mRNA 网络关系中可以看出, hsa-miR-15a、hsa-miR-195、hsa-miR-16-1、hsa-miR-16-2、hsa-miR-29a 是与大多数靶基因相互作用的 miRNA。miR-195 在 OS 组织中经常下调, 靶向调节 OS 中的 CCND1 表达, 在体外和体内均抑制了 OS 细胞的转移^[24]。软骨细胞来源的外泌体 miR-195 通过靶向 KIF4A 抑制 OS 细胞增殖并降低对化疗药物的耐受性^[25], 提示 miR-195 可以作为一种新的生物标志物用于骨肉瘤早期诊断和预后判断。MiR-15-a 和 miR-16-1 上调抑制 CCND1 表达并诱导骨肉瘤细胞凋亡和细胞周期停滞^[26]。最近的研究表明, miR-29 的高表达与 OS 患者的不良预后相关^[27]。敲低 miR-29 可显著下调 TGF- β 1 并上调 PUMA 表达, 并使 MG-63 细胞生长减少 70%, 使集落形成受损约 80%, 并使 MG-63 细胞凋亡增加 40%^[28]。利用 Targetscan 软件预测中枢 miRNA 靶基因, 结果提示: hsa-miR-29a-5p 可以靶向 RRM2、CHEK1; hsa-miR-16-1-3p 可以靶向 CEP55、CCNB1; hsa-miR-16-2-3p 可以靶向 MELK、CHEK1, 这需要在后续的研究中进一步实验验证。

本研究通过对基因表达数据集的综合分析, 确定了可能参与骨肉瘤肺转移的关键基因和关键信号通路, 可作为诊断和治疗靶点。此外, CCNB1、DTL、MELK 与骨肉瘤患者的预后不良密切相关, miR-16-1-3p、miR-16-2-3p 可能调控 CCNB1、MELK 的表达, 这可能成为潜在的治疗靶点。这些结果为全面认识骨肉瘤原发性肺转移提供了重要思路, 然而, 需要进一步的研究来验证目前的发现并阐明这些基因在骨肉瘤肺转移中的具体分子机制。

参考文献

[1] ALFRANCA A, MARTINEZ-CRUZADO L, TORNIN J, et al. Bone microenvironment signals in osteosarcoma development[J]. Cell Mol

- Life Sci, 2015, 72(16):3097–3113.
- [2] QIU S, TAO L, ZHU Y. Marital status and survival in osteosarcoma patients: an analysis of the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) database[J]. Med Sci Monit, 2019, 25:8190–8203.
- [3] JIA Y, XIAO Z H, GONGSUN X, et al. CEP55 promotes the proliferation, migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma via the PI3K/Akt pathway[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11:4221–4232.
- [4] JIANG Z H, JIANG J N, YANG H L, et al. Silencing of Aurora kinase A by RNA interference inhibits tumor growth in human osteosarcoma cells by inducing apoptosis and G2/M cell cycle arrest[J]. Oncol Rep, 2014, 31(3):1249–1254.
- [5] ZHUANG S J, LI L, ZANG Y W, et al. RRM2 elicits the metastatic potential of breast cancer cells by regulating cell invasion, migration and VEGF expression via the PI3K/AKT signaling[J]. Oncol Lett, 2020, 19(4):3349–3355.
- [6] OHMURA S, MARCHETTO A, ORTH M F, et al. Translational evidence for RRM2 as a prognostic biomarker and therapeutic target in Ewing sarcoma[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1):97.
- [7] RONG M H, LI J D, ZHONG L Y, et al. CCNB1 promotes the development of hepatocellular carcinoma by mediating DNA replication in the cell cycle[J]. Exp Biol Med, 2022, 247(5):395–408.
- [8] XIA P, ZHANG H, XU K Q, et al. MYC-targeted WDR4 promotes proliferation, metastasis, and sorafenib resistance by inducing CCNB1 translation in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(7):691.
- [9] ZHENG S K, LIU Y, SUN H H, et al. Identification of abnormally high expression of POGZ as a new biomarker associated with a poor prognosis in osteosarcoma[J]. Eur J Histochem, 2021, 65(3):3264.
- [10] CHEN Y C, CHEN I S, HUANG G J, et al. Targeting DTL induces cell cycle arrest and senescence and suppresses cell growth and colony formation through TPX2 inhibition in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Onco Targets Ther, 2018, 11:1601–1616.
- [11] FENG M X, WANG Y S, BI L, et al. CRL4ADTL degrades DNA-PKcs to modulate NHEJ repair and induce genomic instability and subsequent malignant transformation[J]. Oncogene, 2021, 40(11):2096–2111.
- [12] CUI H R, WANG Q, LEI Z C, et al. DTL promotes cancer progression by PDCD4 ubiquitin-dependent degradation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):350.
- [13] BANKS D, WU M, HIGA L A, et al. L2DTL/CDT2 and PCNA interact with p53 and regulate p53 polyubiquitination and protein stability through MDM2 and CUL4A/DDB1 complexes[J]. Cell Cycle, 2006, 5(15):1719–1729.
- [14] LI S, LI Z Y, GUO T, et al. Maternal embryonic leucine zipper kinase serves as a poor prognosis marker and therapeutic target in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2016, 7(5):6266–6280.
- [15] ZHANG C G, CHEN B, JIANG K B, et al. Activation of TNF- α /NF- κ B axis enhances CRL4BDBCAF11 E3 ligase activity and regulates cell cycle progression in human osteosarcoma cells[J]. Mol Oncol, 2018, 12(4):476–494.
- [16] MORI T, SATO Y, MIYAMOTO K, et al. TNF- α promotes osteosarcoma progression by maintaining tumor cells in an undifferentiated state[J]. Oncogene, 2014, 33(33):4236–4241.
- [17] KUMAR A, KAUR S, DHIMAN S, et al. Targeting akt/NF- κ B/p53 pathway and apoptosis inducing potential of 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methyl propyl) ester isolated from Onosma bracteata wall. against human osteosarcoma (MG-63) cells[J]. Molecules, 2022, 27(11):3478.
- [18] WANG B, LI J Y. Piceatannol suppresses the proliferation and induced apoptosis of osteosarcoma cells through PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12:2631–2640.
- [19] JIN R, JIN Y Y, TANG Y L, et al. GPNMB silencing suppresses the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by blocking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2018, 39(6):3034–3040.
- [20] ZHENG J P, LIU C H, SHI J D, et al. AIM2 inhibits the proliferation, invasion and migration, and promotes the apoptosis of osteosarcoma cells by inactivating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2022, 25(2):53.
- [21] PANG H, WU T R, PENG Z H, et al. Baicalin induces apoptosis and autophagy in human osteosarcoma cells by increasing ROS to inhibit PI3K/Akt/mTOR, ERK1/2 and β -catenin signaling pathways[J]. J Bone Oncol, 2022, 33:100415.
- [22] WANG D, NIU X H, WANG Z J, et al. Multiregion sequencing reveals the genetic heterogeneity and evolutionary history of osteosarcoma and matched pulmonary metastases[J]. Cancer Res, 2019, 79(1):7–20.
- [23] LV H H, ZHEN C X, LIU J Y, et al. β -phenethyl isothiocyanate induces cell death in human osteosarcoma through altering iron metabolism, disturbing the redox balance, and activating the MAPK signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020:5021983.
- [24] HAN K, CHEN X, BIAN N, et al. microRNA profiling identifies miR-195 suppresses osteosarcoma cell metastasis by targeting CCND1[J]. Oncotarget, 2015, 6(11):8875–8889.
- [25] LU Y, CAO G L, LAN H Y, et al. Chondrocyte-derived exosomal miR-195 inhibits osteosarcoma cell proliferation and anti-apoptotic by targeting KIF4A in vitro and in vivo[J]. Transl Oncol, 2022, 16:101289.
- [26] CAI C K, ZHAO G Y, TIAN L Y, et al. miR-15a and miR-16-1 downregulate CCND1 and induce apoptosis and cell cycle arrest in osteosarcoma[J]. Oncol Rep, 2012, 28(5):1764–1770.
- [27] HONG Q N, FANG J, PANG Y W, et al. Prognostic value of the microRNA-29 family in patients with primary osteosarcomas[J]. Med Oncol, 2014, 31(8):37.
- [28] WANG C Y, REN J B, LIU M, et al. Targeting miR-29 induces apoptosis of osteosarcoma MG-63 cells via regulation of TGF- β 1/PUMA signal[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(17):3552–3560.

(收稿日期:2023-07-18 本文编辑:朱嘉)