

文章编号 1006-8147(2022)03-0324-04

论著

NCAPG 促进成骨肉瘤细胞增殖的研究

史君¹, 陈坤峰¹, 李桂石², 赵志坚¹

(1.商丘市第一人民医院急诊创伤外科, 商丘 476100; 2.烟台毓璜顶医院关节矫形外科, 烟台 264000)

摘要 目的:初步探究非染色体结构维护亚基凝聚素 I 复合物亚基 G(NCAPG)基因对成骨肉瘤细胞增殖的影响。方法:选择商丘市第一人民医院和烟台毓璜顶医院 2010 年 7 月—2021 年 1 月收治的成骨肉瘤患者 58 例,通过免疫组织化学染色法对成骨肉瘤和正常组织中 NCAPG 基因的表达水平进行比较。成骨肉瘤细胞 MG-63 和 U-2 OS,通过转染慢病毒载体和对照载体的 shRNA,敲减 NCAPG 基因来抑制其表达,qRT-PCR、Western 印迹验证敲减效果,通过集落形成实验、CCK-8 检测其对成骨肉瘤细胞 MG-63 与 U-2 OS 细胞增殖的影响。结果:免疫组织化学染色显示,与正常组织相比,成骨肉瘤组织中 NCAPG 蛋白表达水平明显升高,并且 NCAPG 基因的表达与临床分期($\chi^2=6.375, P=0.042$)和肿瘤大小($\chi^2=4.169, P=0.012$)密切相关。qRT-PCR、Western 印迹显示,慢病毒载体明显抑制了 NCAPG mRNA 及蛋白的表达(mRNA: $t_{UG-63}=20.7, t_{U-2OS}=22.9$; 蛋白质: $t_{UG-63}=18.7, t_{U-2OS}=16.9$, 均 $P<0.001$)。与 NCAPG 基因未敲减相比,NCAPG 基因敲减后 MG-63 与 U-2 OS 克隆形成细胞数量降低($t_{UG-63}=18.3, t_{U-2OS}=15.9$, 均 $P<0.01$)。结论:成骨肉瘤组织 NCAPG 基因表达增加,敲减 NCAPG 基因可抑制成骨肉瘤细胞的增殖。

关键词 NCAPG 基因;成骨肉瘤;细胞增殖

中图分类号 R738.1

文献标志码 A

Study of the proliferation of osteosarcoma cells promoted by NCAPG

SHI Jun¹, CHEN Kun-feng¹, LI Gui-shi², ZHAO Zhi-jian¹

(1.Department of the Emergency Trauma Surgery, The First People's Hospital of Shangqiu City, Shangqiu 476100, China; 2.Department of Orthopaedic Surgery, Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai 264000, China)

Abstract **Objective:** To preliminarily explore the effect of non-structural maintenance of chromosomes condensation I complex subunit G (NCAPG) gene on the proliferation of osteosarcoma cell. **Methods:** A total of 58 patients with osteosarcoma admitted to Shangqiu First People's Hospital and Yantai Yuhuangding Hospital from July 2010 to January 2021 were selected to compare the expression level of NCAPG gene in osteosarcoma and normal tissues by immunohistochemical staining. The expression of NCAPG gene in osteosarcoma cells mG-63 and U-2 OS was inhibited by transfection of shRNA of lentiviral vector and control vector, and the knockdown effect was verified by qRT-PCR and Western blotting. Colony formation assay and CCK-8 assay were used to detect the effects on proliferation of osteosarcoma cells MG-63 and U-2 OS. **Results:** Immunohistochemical staining showed that the expression of NCAPG protein in osteosarcoma tissues was significantly higher than that in normal tissues, and the expression of NCAPG gene was closely correlated with clinical stage ($\chi^2=6.375, P=0.042$) and tumor size ($\chi^2=4.169, P=0.012$). qRT-PCR and Western blotting showed that the expression of NCAPG mRNA and protein was significantly inhibited by lentiviral vector (mRNA: $t_{UG-63}=20.7, t_{U-2OS}=22.9$; protein: $t_{UG-63}=18.7, t_{U-2OS}=16.9, P<0.001$). Compared with no NCAPG gene knockdown, the number of mG-63 and U-2 OS clones was decreased after NCAPG gene knockdown ($t_{UG-63}=18.3, t_{U-2OS}=15.9, P<0.01$). **Conclusion:** The expression of NCAPG gene in osteosarcoma tissue is increased, and the knocking down NCAPG gene can inhibit the proliferation of osteosarcoma cells.

Key words NCAPG gene; osteosarcoma; proliferation

成骨肉瘤是一种侵袭性的原始骨间充质肿瘤^[1],发病率在原发性骨恶性肿瘤中居于首位,早期表现隐匿而且早期即可发生转移,一直是骨科界的难题之一^[2]。非染色体结构维护亚基凝聚素 I 复合物亚基 G(non-structural maintenance of chromosomes condensation I complex subunit G, NCAPG)是一种有丝分裂相关的染色体凝缩蛋白,广泛存在于真核细胞

中。NCAPG 在多种癌症中异常表达,且通过相关分子机制与肿瘤细胞的侵袭、转移、凋亡及耐药等过程密切相关^[3-4]。以往研究发现,NCAPG 基因诱导 G0/G1 细胞周期,从而促进细胞分裂^[5]。在肝细胞性肝癌中,通过靶向调节 NCAPG 可以抑制肝细胞性肝癌的生长和转移^[6-7],但是 NCAPG 基因在成骨肉瘤中的作用尚不可知。本研究主要探讨 NCAPG 基因对成骨肉瘤细胞增殖的影响及其与成骨肉瘤临床指标的关系。

作者简介 史君(1984-),男,主治医师,硕士,研究方向:骨科各种疾病尤其是骨肿瘤的诊疗等;通信作者:赵志坚, E-mail:898183184@qq.com。

1 对象和方法

1.1 研究对象及分组 选择商丘市第一人民医院和烟台毓璜顶医院 2010 年 7 月—2021 年 1 月收治的成骨肉瘤患者 58 例。其中, 男性 23 例, 女性 35 例, 年龄 16~25 岁。全部病例均已经过病理证实, 且具有完整的病例资料。选择患者的成骨肉瘤组织为实验组, 相应配对的成骨肉瘤旁正常组织为对照组。在 58 例成骨肉瘤病例中, 临床分级为 I~II 级者 33 例, III 级者 25 例; 肿瘤直径 <5 cm 者 22 例, 肿瘤直径 \geq 5 cm 者 36 例。所有患者均接受 MAP 化疗方案 (大剂量氨甲喋呤+顺铂+阿霉素) 治疗, 所有患者均行全面术前体检, 并进行了原发性肿瘤手术。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化检测 采用免疫组化试剂盒进行免疫组化的检测, 将肿瘤组织切成约 3 mm 厚, 在福尔马林中固定 24 h, 后嵌入石蜡中, 切片, 每片厚度为 4 μ m, 置于 70℃ 环境下烤 30 min, 随后放入二甲苯溶液浸泡 30 min 进行脱蜡, 之后依次分别放入 95%、85% 和 75% 的乙醇溶液中各 30 min。之后, 将切片标本在 PBS 缓冲液中洗涤 2 次, 每次 2 min。之后将切片置于枸橼酸钠缓冲液中并放入微波中加热 20 min 后提取抗原。然后, 将切片置于室温下放置 2 h, 并用 PBS 缓冲液洗涤 2 次, 每次 2 min。在除去多余的水分后, 切片在室温下加入 H_2O_2 后在湿箱中放置 20 min, 再次洗涤, 滴入 NCAPG 抗体 (ab251864, Abcam plc, Cambridge, UK 1:100), 并在 4℃ 环境下过夜。

次日, 将切片室温放置 1 h, 用磷酸盐 (PBS) 缓冲液洗涤 2 次, 每次 2 min。之后, 在室温下滴加 IgG 二级抗体, 静置 2 h。再用 PBS 缓冲液再次洗涤, 滴加 3,3'-二氨基苯联胺 (Diaminobenzidine, DAB) (用 A 液和 B 液预先配制), 室温下染色约 5~15 s。用水冲洗掉表面染料, 然后用苏木精溶液染细胞核 5~8 s, 用水冲洗约 2 min。最后, 用中性树胶封片后在显微镜下观察。

免疫组化结果判定: 2 名病理医师双盲状态下, 高倍镜 (400 \times) 观察肿瘤细胞, 细胞核或细胞质中出现明显染色颗粒判为阳性细胞。染色程度评分规则: 无染色, 0 分; 轻微染色, 1 分; 中等染色, 2 分; 强染色, 3 分。染色细胞所占比例评分: 无染色, 0 分; 染色面积 <25%, 1 分; 染色面积 26%~50%, 2 分; 染色面积 51%~75%, 3 分; 染色面积 >75%, 4 分。最终评分为染色强度与染色面积的乘积, 分数 \geq 4 为高表达, 分数 <3 为低表达。

1.2.2 试剂和仪器 抗 NCAPG (ab251864, Abcam

Cambridge, UK 1:100)、山羊抗兔 HRP (辣根过氧化物酶) 次级抗体 (ab6721, Abcam, 1:5 000 武汉 proteintech 公司), IgG 二级抗体 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。Trizol 试剂 (15596026, Invitrogen, USA), β -肌动蛋白 (ab179467, Abcam, 1:1 000), 第一链 cDNA 合成试剂盒 (K1621, Thermo, USA), Fast Start Universal SYBR Green Master (ROX) (Roche, Switzerland); 本研究中涉及的仪器如下: ABI 7900HT QPCR Cycle, 微板阅读器 (Thermo Multiskan GO, USA), PVDF 膜 (北京智杰方远科技有限公司)。

2 细胞实验

2.1 细胞培养、转染与分组 成骨肉瘤细胞 MG-63 (EMEM) 用含 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素双抗体的 EMEM 培养, U-2 OS 用含 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素双抗体的 McCoy 的 5a 改良培养基和 1% 青霉素-链霉素双抗体在 37℃ 和 5% CO 的培养箱中培养。采用基因法 (中国上海) 收集慢病毒载体 (5'-CCAGAACCAGGCGAAGCTGGTGG-3') 和对照载体的 shRNA。构建了一个慢病毒质粒 pL3.7, 插入 shRNA 用于敲减人 NCAPG。在聚烯存在的情况下, 用 shNCAPG 慢病毒感染 MG-63 (EMEM) 和 U-2 OS, 在细胞感染慢病毒的第 3 天, 加入 2 μ g/mL 嘌呤霉素 (P8230, 白菌) 筛选阳性细胞, 始终保持药物浓度。并将未进行 NCAPG 基因敲减的细胞为对照组 (control 组), 敲减 NCAPG 基因作为实验组 (shRNA 组)。

2.2 方法

2.2.1 RNA 提取和逆转录聚合酶链反应 (qRT-PCR) 应用 Trizol 试剂从转染了 NCAPG shRNA 的 MG-63 细胞和 U-2 OS 细胞中提取总 RNA, 用第一链 cDNA 合成试剂盒 (K1621, Thermo, Waltham, USA) 合成 cDNA, 随后将反转录产物加入试剂盒中, 使用 Fast Start Universal SYBR Green Master (ROX) 进行 qPCR 实验, 反应条件为 94℃ 条件下 15 s 及 94℃ 条件下 5 s 变性, 60℃ 条件下 25 s 退火, 72℃ 条件下 10 s 延展, 共 40 个循环。GAPDH 已经被规范化, 并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算方法计算相对表达式。引物序列见表 1。

2.2.2 Western 印迹 从 MG-63 和 U-2 OS 细胞中提取总蛋白后, 进行蛋白定量, 加上样缓冲液, 10% SDS-PAGE 电泳后, 转移到 PVDF 膜中, 并在室温下用 10% 的牛奶阻断 1 h。然后, 将膜与抗 NCAPG (ab251864, 1:100)、 β -肌动蛋白 (ab179467, 1:1 000) 在 4℃ 过夜孵育。用 TBST 缓冲液洗涤 3 次后, 用山羊抗兔 HRP 二抗 (ab6721, 1:5 000) 孵育 PVDF, PBS

反复冲洗,然后加 ECL 发光液,采用图像分析系统对目的条带进行扫描分析,蛋白的相对表达用相对密度表示。

表 1 qRT-PCR 中基因的引物序列

Tab 1 Primers of genes in qRT-PCR

基因	引物序列(5'→3')	引物大小(bp)
NCAPG	上游引物: GAGGCTGCTGTCGATTAAGGA	21
	下游引物: AACTGTCTTATCATCCATCGTGC	23
GAPDH	上游引物: GAGTCAACGGATTTGGTCGT	20
	下游引物: TTGATTTTGGAGGGATCTCG	20

注:NCAPG:非染色体结构维护亚基凝聚素 I 复合物亚基 G

2.2.3 集落形成试验 培养使用 6 孔板在 37℃内培养 MG-63 和 U-2 OS 细胞 14 d。然后在室温下用多聚甲醛固定 30 min,用 0.2%晶紫染色 20 min,并分别用 PBS 洗涤。克隆细胞的数量由人工计数并绘制出来。

2.2.4 细胞增殖检测(CCK-8) 采用 MTT 法确定 MG-63 和 U-2 OS 细胞的生存能力。将细胞培养

在 6 孔板上,用 shRNA-NCAPG 质粒转染 24 h,48 h 后用 MTT 溶液处理 3 h,用 PBS 清洗 2 次后,加入 150 μL 二甲基硫磺(DMSO)培养 4 h。最后使用微板阅读器(ThermoMultiskanGO,美国)在 570 nm 处测量光学密度(OD)。

2.3 统计学处理 采用 GraphPad8.0 软件(Graph-Pad 软件,美国)进行了统计分析和图表绘制。通过 Pearson 相关分析、 χ^2 检验和 Spearman 相关分析 NCAPG 与成骨肉瘤之间的关系。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 免疫组化检测成骨肉瘤组织及正常组织 NCAPG 蛋白的表达 与癌旁正常组织相比,成骨肉瘤中 NCAPG 蛋白的表达水平明显高于正常组织(图 1)。

3.2 NCAPG 的表达与临床病理特征的关系 结果表明,NCAPG 的表达与临床分期($P=0.042$)和肿瘤大小($P=0.012$)密切相关,见表 2。

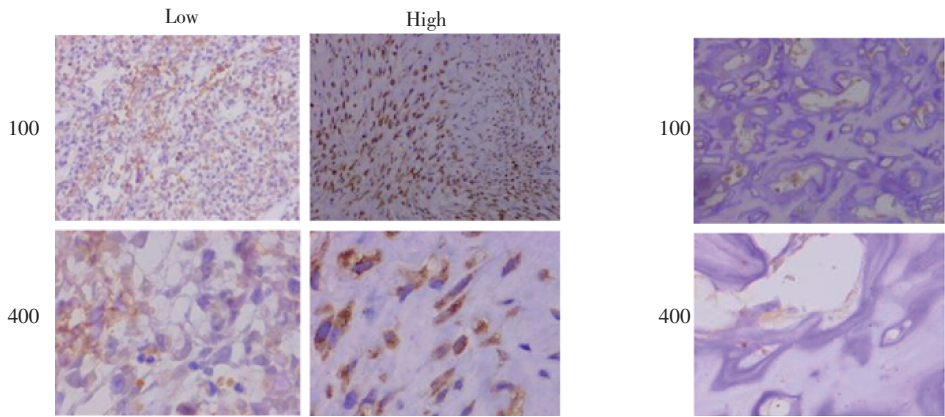


图 1 NCAPG 在成骨肉瘤中的高表达(苏木精染色法,100×和 400×)

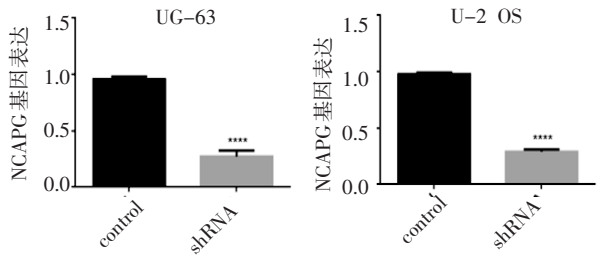
Fig 1 The high expression of NCAPG in osteosarcoma(hematoxylin staining, 100× and 400× respectively)

表 2 58 例成骨肉瘤患者 NCAPG 表达与临床病理特征的关系(n)

Tab 2 The relationship between NCAPG expression and clinico-pathological features in 58 patients with osteosarcoma (n)

临床病理特征	例数	NCAPG 表达低(n=20)	NCAPG 表达高(n=38)	χ^2	P
年龄(岁)				0.330	0.566
<30	26	10	16		
≥30	32	10	22		
性别				0.019	0.890
男	37	13	24		
女	21	7	14		
肿瘤直径(cm)				6.315	0.012
<5	22	12	10		
≥5	36	8	28		
分化程度				0.648	0.421
低	22	9	13		
高	36	11	25		
临床分期				4.169	0.042
I ~ II	36	16	20		
III	22	4	18		

3.3 定量 PCR 及 Western 印迹检测 MG-63 和 U-2 OS 细胞 NCAPG 基因敲减后 NCAPG 基因及蛋白的表达 与对照组(control 组)相比,实验组(shRNA 组)NCAPG mRNA 表达水平明显受到抑制($P<0.0001$)(图 2)。

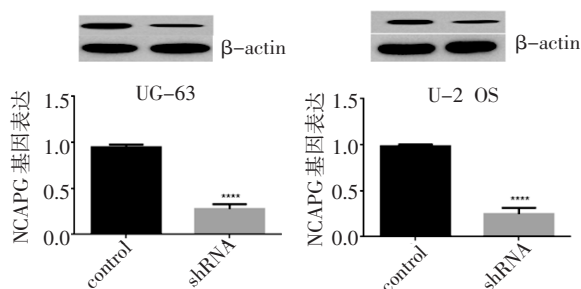


注:与对照组(control 组)相比, $t_{UG-63}=20.7$, $t_{U-2OS}=22.9$,**** $P<0.0001$; NCAPG:非染色体结构维护亚基凝聚素 I 复合物亚基 G

图 2 定量 PCR 检测 MG-63 和 U-2 OS 细胞 NCAPG 基因敲减后 NCAPG 基因的表达

Fig 2 Detection of NCAPG gene expression after NCAPG gene knockdown in MG-63 and U-2 OS cells by quantitative PCR

与对照组(control组)相比,转染 shRNA 组的 NCAPG 蛋白表达明显低于对照组($P<0.0001$)(图3)。

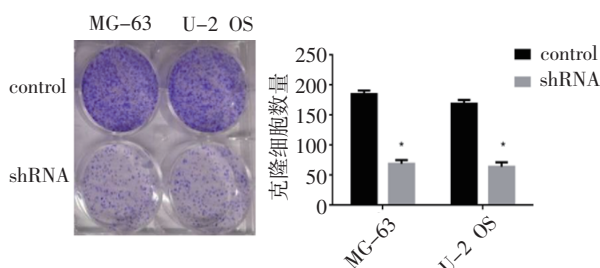


注:与对照组(control组)相比, $t_{UG-63}=18.7$, $t_{U-2OS}=16.9$,**** $P<0.0001$;NCAPG:非染色体结构维护亚基凝集素1复合物亚基G

图3 Western印迹检测MG-63和U-2 OS细胞NCAPG基因敲减后NCAPG蛋白的表达

Fig 3 Expression of NCAPG protein after NCAPG gene knockdown in MG-63 and U-2 OS cells by Western blotting

3.4 敲减 NCAPG 基因对成骨肉瘤细胞增殖的影响 集落形成实验结果显示,与对照组(control组)相比,实验组(shRNA组)MG-63和U-2 OS细胞的集落形成能力受到明显抑制(图4)。

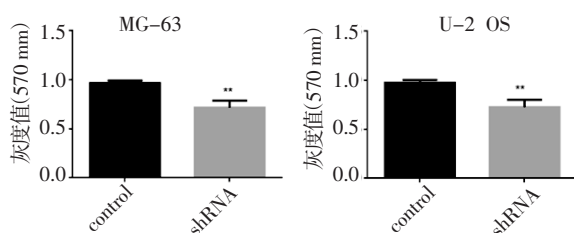


注:与对照组(control组)相比, $t_{UG-63}=18.3$, $t_{U-2OS}=15.9$,* $P<0.0001$;NCAPG:非染色体结构维护亚基凝集素1复合物亚基G

图4 敲减 NCAPG 基因抑制成骨肉瘤 MG-63 和 U-2 OS 细胞的增殖

Fig 4 The proliferation of osteosarcoma MG-63 and U-2 OS cells inhibited by NCAPG knockdown

CCK8 检测细胞增殖情况,结果显示,实验组(shRNA组)MG-63和U-2 OS细胞的增殖能力也较对照组(control组)明显下降(图5)。



注:与对照组(control组)相比, $t_{UG-63}=21.7$, $t_{U-2OS}=19.9$,** $P<0.0001$;NCAPG:非染色体结构维护亚基凝集素1复合物亚基G

图5 敲减 NCAPG 基因抑制成骨肉瘤 MG-63 和 U-2 OS 细胞的增殖

Fig 5 The proliferation of osteosarcoma MG-63 and U-2 OS cells inhibited by NCAPG knockdown

4 讨论

成骨肉瘤由于其高死亡率和强侵袭性,导致许多成骨肉瘤患者失去了手术切除的机会^[7]。肿瘤的早期诊断是确保治疗效果的关键,但因成骨肉瘤早期缺乏特异性症状,发现时病情往往已经进一步发展。延误治疗时机、早期转移和化疗耐药等是成骨肉瘤患者生存期短、预后不佳的主要原因^[8]。但是,传统的治疗方法,如放化疗疗效有限。近年来,靶向治疗因其精准性表现出极大的优势,各种治疗靶点也陆续被发现。为了改善成骨肉瘤患者的预后,需要寻找更多的治疗靶点。

在本研究中,免疫组化检测发现,NCAPG 基因在肉瘤组织中异常高表达。又通过对 58 例成骨肉瘤患者的临床病理特征分析发现,NCAPG 基因的表达与肿瘤直径、分期等临床特征相关。因此,认为 NCAPG 基因可以作为成骨肉瘤的治疗靶点。

在本研究中发现,NCAPG 基因的高度表达与成骨肉瘤密切相关,这与之前的研究结果一致,认为 NCAPG 基因与上皮性卵巢癌组织、卵巢癌细胞株、前列腺癌、儿童胶质瘤、多发性骨髓瘤等肿瘤发生密切相关^[9-12]。并且 NCAPG 基因的高表达与成骨肉瘤的分期和直径有关,这也与其他研究对于肝细胞癌结论高度吻合,认为 NCAPG 基因呈现高表达,在癌旁组织中弱表达,且表达情况与分化程度和 TNM 分期密切相关^[13]。

为进一步验证 NCAPG 基因对成骨肉瘤的影响,用 NCAPG shRNA 转染成骨肉瘤 MG-63 和 U-2 OS 细胞,发现 NCAPG 基因敲减组 NCAPG mRNA 表达水平和蛋白质表达水平明显下降,并且通过 CCK-8 测定和集落形成实验表明抑制 NCAPG 基因的表达会显著降低成骨肉瘤细胞的增殖。因此,证实了 NCAPG 基因可能参与了成骨肉瘤细胞的增殖。研究表明,NCAPG 基因的高表达促进多种肿瘤细胞的增殖,如在肝细胞性肝癌中,通过靶向调节 NCAPG 可以抑制肝细胞癌的增殖^[5],证实 NCAPG 可以作为一种新的、有前景的肿瘤治疗靶点。

在肝细胞癌中,NCAPG 通过磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B 信号通路发挥作用^[12-13]。在贲门腺癌中,NCAPG 通过促进 cyclins(CDK4、CDK6 和 cyclin D1)过表达和下调细胞周期抑制剂(P21 和 P27),调控细胞异常凋亡^[6]。但是 NCAPG 促进成骨细胞瘤进程的机制尚待进一步探讨。

综上所述,NCAPG 基因可能是促进和介导成骨肉瘤进展的内在机制。在成骨肉瘤组织,NCAPG 基

(下转第 335 页)

- [19] JIN Y, HUANG R, XIA Y. Long noncoding RNA KIF9-AS1 regulates transforming growth factor- β and autophagy signaling to enhance renal cell carcinoma chemoresistance via microRNA -497 -5p [J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(7): 1096-1103.
- [20] WANG L, LI B, LI L, et al. MicroRNA-497 suppresses proliferation and induces apoptosis in prostate cancer cells [J]. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2013, 14(6): 3499-3502.
- [21] FARAH C. Molecular landscape of head and neck cancer and implications for therapy [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(10): 915.
- [22] HU J, XU J, GE W. MiR-497 enhances metastasis of oral squamous cell carcinoma through SMAD7 suppression [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(7): 3023-3031.
- [23] REN J, ZHANG F, WANG J, et al. LINC01315 promotes the aggressive phenotypes of papillary thyroid cancer cells by sponging miR-497 [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2021, 37(6): 459-467.
- [24] JIN H, LIANG G, YANG L, et al. SP1-induced AFAP1-AS1 contributes to proliferation and invasion by regulating miR-497/CELF1 pathway in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Hum Cell*, 2021, 34(2): 491-501.
- [25] LU F, YE Y, ZHANG H, et al. MiR-497/wnt3a/c-jun feedback loop regulates growth and epithelial-to-mesenchymal transition phenotype in glioma cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt A): 985-991.
- [26] REGAZZO G, TERRENATO I, SPAGNUOLO M, et al. A restricted signature of serum miRNAs distinguishes glioblastoma from lower grade gliomas [J]. *J Exp Clin Cancer*, 2016, 35(1): 124.
- [27] JI L, WEI M, LIU Y, et al. MiR-497/497HG inhibits glioma cell proliferation by targeting CCNE1 and the miR-588/TUSC1 axis [J]. *Oncol Rep*, 2021, 46(6): 255.
- [28] LAN J, XUE Y, CHEN H, et al. Hypoxia-induced miR-497 decreases glioma cell sensitivity to TMZ by inhibiting apoptosis [J]. *FEBS Lett*, 2014, 17(588): 3333-3339.
- [29] ZHU D, TU M, ZENG B, et al. Up-regulation of miR-497 confers resistance to temozolomide in human glioma cells by targeting mTOR/Bcl-2 [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(2): 452-462.
- [30] JEUGHT K, XU H, LI Y, et al. Drug resistance and new therapies in colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(34): 3834-3848.
- [31] WANG F, KONG L, PU Y, et al. Long noncoding RNA DICER1-AS1 functions in methylation regulation on the multi-drug resistance of osteosarcoma cells via miR-34a-5p and GADD45A [J]. *Front Oncol*, 2021, 9(11): 685881.
- [32] XU S, FU G, TAO Z, et al. MiR-497 decreases cisplatin resistance in ovarian cancer cells by targeting mTOR/P70S6K1 [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 26457-26471.
- [33] HONG S, YAN Z, SONG Y, et al. LncRNA AGAP2-AS1 augments cell viability and mobility, and confers gemcitabine resistance by inhibiting miR-497 in colorectal cancer [J]. *AGING*, 2020, 12(6): 5183-94.
- [34] POEL D, BOYD L, BEEKHOF R, et al. Proteomic analysis of miR-195 and miR-497 replacement reveals potential candidates that increase sensitivity to oxaliplatin in MSI/P53wt colorectal cancer cells [J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1111.
- [35] FURUTA M, KOZAKI K, TANIMOTO K, et al. The tumor suppressive miR-497-195 cluster targets multiple cell-cycle regulators in hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e60155.
- [36] SONG Z, JIA N, LI W, et al. LINC01572 regulates cisplatin resistance in gastric cancer cells by mediating miR-497-5p [J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13: 10877-10887.
- [37] TAO L, WU Y, ZHANG S. MiR-21-5P enhances the progression and paclitaxel resistance in drug resistant breast cancer cell lines by targeting PDCD4 [J]. *Neoplasma*, 2019, 66(5): 746-755.

(2021-11-23 收稿)

(上接第 327 页)

因的表达明显上调,并且通过敲减 NCAPG 基因,成骨肉瘤细胞的增殖速度明显下降,因此,可以通过抑制 NCAPG 基因的表达来治疗成骨肉瘤改善患者预后。但本研究也存在一定局限性,单中心、小样本弱化了这一结论,因此需要更多的体内、体外研究进一步验证结论。

参考文献:

- [1] 王兆丰,许晓波,唐文潇,等. TRIM11 对骨肉瘤细胞增殖、凋亡的影响及其机制研究 [J]. *现代实用医学*, 2021, 33(2): 162-163, 281.
- [2] 周灵,谢琳,廖治丹,等. 骨肉瘤转移机制研究进展 [J]. *中华转移性肿瘤杂志*, 2019(3): 55-59.
- [3] SUN D P, LIN C C, HUANG S T, et al. Aberrant expression of NCAPG is associated with prognosis and progression of gastric cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 7837-7846.
- [4] 余海婷,殷雪琴,杨丽华. NCAPG 在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. *生物技术通讯*, 2020, 31(4): 496-501.
- [5] WU M, LIU Z, ZHANG A, et al. Identification of key genes and pathways in hepatocellular carcinoma: a preliminary bioinformatics analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(5): e14287.
- [6] 倪娜. NCAPG 基因在上皮性卵巢癌中的表达及生物学功能研究 [D]. 昆明医科大学, 2020.
- [7] SAINI H, SHARMA H, MUKHERJEE S, et al. Verteporfin disrupts multiple steps of autophagy and regulates p53 to sensitize osteosarcoma cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21: 52.
- [8] 朱昱润,张春林. 骨肉瘤生物标志物研究进展 [J]. *国际骨科学杂志*, 2021, 42(2): 106-109.
- [9] 张新鑫. NCAPG 对食管胃结合部腺癌细胞增殖影响的机制研究 [D]. 蚌埠医学院, 2021.
- [10] 陆进,杨月,赵学影,等. 肝细胞癌关键基因的筛选及其临床意义 [J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(7): 879-888.
- [11] 余海婷,殷雪琴,杨丽华. NCAPG 在恶性肿瘤中的研究进展 [J]. *生物技术通讯*, 2020, 31(4): 496-501.
- [12] 罗宏涛. LIF 对食管鳞癌中不同 LET 射线辐射应答的作用及机制研究 [D]. 兰州大学, 2020.
- [13] 艾济远. MiR-181c 靶向调节 NCAPG 抑制肝细胞性肝癌的生长和转移 [D]. 南昌大学, 2020.

(2021-09-20 收稿)