

· 基础研究 ·

## miR-27b-3p通过靶向SSRP1调控骨肉瘤细胞的生长

段伟豪, 俞学成, 吴璟斌, 袁秀琛, 范世杰, 谭亚东, 翁益平\*

南京医科大学附属常州市第二人民医院骨科, 南京医科大学常州医学中心, 江苏 常州 213003

**[摘要]** 目的: 探究 miR-27b-3p 对骨肉瘤(osteosarcoma, OS) 细胞生长的影响及其潜在的分子机制。方法: ①采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 分析 miR-27b-3p 在骨肉瘤细胞系中的表达; ②CCK-8 实验、集落形成实验及流式细胞术检测 miR-27b-3p 以及 SSRP1 对骨肉瘤细胞生长的影响; ③使用在线数据库预测 miR-27b-3p 的靶基因并进行筛选, 使用双荧光素报告酶实验测定 miR-27b-3p 与结构特异性识别蛋白 1(structure-specific recognition protein-1, SSRP1) 的关系; ④干扰效率以及过表达效率使用 Western blot 实验验证。结果: ①miR-27b-3p 在骨肉瘤细胞和临床样本中低表达, 过表达 miR-27b-3p 会抑制骨肉瘤细胞的生长; ②生物信息学分析和双荧光素报告酶实验证实 SSRP1 为 miR-27b-3p 的靶基因, SSRP1 表达受 miR-27b-3p 的直接调控; ③干扰 SSRP1 的表达会抑制骨肉瘤细胞的增殖, 促进凋亡; ④过表达 SSRP1 会部分逆转 miR-27b-3p 对骨肉瘤细胞生长的抑制效应。结论: miR-27b-3p 在骨肉瘤细胞中低表达, 通过靶向 SSRP1 从而影响骨肉瘤细胞的生长。miR-27b-3p 可能是骨肉瘤的一个潜在的分子靶点, 靶向 miR-27b-3p/SSRP1 轴可能成为骨肉瘤治疗的新策略。

**[关键词]** 骨肉瘤; miR-27b-3p; SSRP1; 细胞增殖; 细胞凋亡**[中图分类号]** R730.231**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2023)04-502-08**doi:** 10.7655/NYDXBNS20230408

## MiR-27b-3p inhibits osteosarcoma cells growth by targeting SSRP1

DUAN Weihao, YU Xuecheng, WU Jingbin, YUAN Xiuchen, FAN Shijie, TAN Yadong, WENG Yiping\*

*Department of Orthopedics, the Affiliated Changzhou Second People's Hospital of Nanjing Medical University, Changzhou Medical Center, Nanjing Medical University, Changzhou 213003, China*

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-27b-3p on osteosarcoma cells growth and its potential molecular mechanism. **Methods:** ①The expression of miR-27b-3p in osteosarcoma cell lines was analyzed by RT-qPCR. ②CCK-8 assay, colony formation assay and flow cytometry analysis were used to detect the effect of miR-27b-3p and structure-specific recognition protein-1 (SSRP1) on osteosarcoma cell growth. ③The miRNA target prediction database was used to predict potential target gene of miR-27b-3p, and dual luciferase reporter assay was performed to demonstrate the relationship of miR-27b-3p and its target genes. ④Efficiency of knockdown or overexpression was validated by Western blot analysis. **Results:** ①The expression of miR-27b-3p in osteosarcoma cell lines and clinical samples was low, and overexpression of miR-27b-3p inhibited the growth of osteosarcoma cells. ②Bioinformatics analysis and dual-fluorescence reporter assay confirmed that SSRP1 was a target gene of miR-27b-3p, and the expression of SSRP1 was regulated by miR-27b-3p. ③Silencing of SSRP1 significantly inhibited cell proliferation and increased cell apoptosis of osteosarcoma cells. ④Overexpression of SSRP1 partly reversed the inhibitory effect of miR-27b-3p on osteosarcoma cell growth. **Conclusion:** miR-27b-3p is low expressed in osteosarcoma cells, and it regulates the growth of osteosarcoma cells by targeting SSRP1. Targeting the miR-27b-3p/SSRP1 axis may become a new therapeutic strategy for the treatment of osteosarcoma.

**[Key words]** osteosarcoma; miR-27b-3p; SSRP1; cell proliferation; cell apoptosis

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(04): 502-509]

**[基金项目]** 常州市科技计划项目(CE20215020); 南京医科大学常州医学中心科研项目(CMCC202217)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: czeywengyiping@163.com

骨肉瘤(osteosarcoma, OS)是人类最早发现的癌症之一,也是最常见的原发恶性骨肿瘤之一,但它仍是一种很罕见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。骨肉瘤最常发生于儿童及青少年中,常累及长骨干骺端,如股骨远端与胫骨近端,且具有很强的肺转移倾向<sup>[2]</sup>。随着手术治疗的发展和多药化疗方案的引入,骨肉瘤患者的总生存率已经提升至60%~70%,但伴有转移和复发的骨肉瘤患者的5年生存率仍仅约20%<sup>[3-4]</sup>。而在过去的三十余年里,骨肉瘤患者的总体生存率达到了一个平台期<sup>[5]</sup>。因此,探寻骨肉瘤的发生发展机制,找到有效的分子靶点是改善骨肉瘤患者预后的当务之急。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类内源性的非编码小分子RNA,大小约为18~25个核苷酸,其主要功能是识别靶基因的3'非编码区(3'-untranslated region, 3'-UTR)中的互补靶点,在转录之后抑制靶基因的表达或者促进靶基因的降解<sup>[6]</sup>。miRNA已被证明参与肿瘤的各种生物过程,如增殖、凋亡、侵袭、转移、自噬和血管生成等<sup>[7-10]</sup>。大量研究发现,miRNA在调节骨肉瘤增殖、迁移、凋亡等方面发挥了关键作用,并与骨肉瘤的预后及耐药密切相关,具有成为骨肉瘤的新型候选生物标志物的潜力<sup>[11-14]</sup>。越来越多的证据表明,miR-27b-3p在肿瘤组织中表达下调<sup>[15]</sup>,并作为一种肿瘤抑制因子调节肿瘤进展,包括细胞增殖、侵袭、转移等方面<sup>[16-18]</sup>。同时,也有研究证明了miR-27b-3p可能作为一种致癌miRNA促进乳腺癌的生长<sup>[19]</sup>。这些研究的发现说明miR-27b-3p可能具有多方面的作用,可能与特定的肿瘤类型或者具体的靶基因有关。然而,miR-27b-3p在骨肉瘤中的生物学功能尚未被研究。

本研究旨在探寻骨肉瘤中差异表达的miR-27b-3p在骨肉瘤发生发展中的表达情况、生物学功能以及潜在的分子机制,从而为骨肉瘤的治疗提供新的思路和靶点。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人骨肉瘤细胞株U-2OS、143B、MG63、MNNG-HOS以及人成骨细胞系hFOB1.19购自中国科学院上海生命科学研究所细胞库。MEM、DMEM、McCoy's 5A培养基、胰酶、青链霉素(双抗)(上海源培生物);胎牛血清(Gibco公司,美国);miR-27b-3p模拟物(miR-27b-3p mimics)、miR-27b-3p对照载体(mimics control)、结构特异性识别蛋白1(structure-specific

recognition protein-1, SSRP1)小干扰RNA(si-SSRP1)以及SSRP1过表达载体及其阴性对照载体均由上海吉玛公司设计并合成;Lipofectamine 3000试剂(Invitrogen公司,美国);CCK-8试剂盒、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(上海圣尔生物);RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒(杭州碧云天);细胞冻存液、ECL发光液(苏州新赛美);结晶紫染液(北京索莱宝);PBS缓冲液、TBS缓冲液、电泳缓冲液、转膜缓冲液、4%多聚甲醛(武汉赛维尔);逆转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒、蛋白胶预混液试剂盒(南京诺唯赞);NucleoZOL试剂(Macherey-Nagel公司,德国);GAPDH和SSRP1兔多克隆抗体(Abcam公司,英国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养、转染

U-2OS及MG63细胞株选用McCoy's 5A培养基,143B和MG63细胞株选用MEM培养基,hFOB1.19选用DMEM培养基,均辅以10%的胎牛血清及1%的青链霉素。人骨肉瘤细胞株均在37℃含5%CO<sub>2</sub>的湿润气体的培养箱中培养,成骨细胞株在34.5℃含5%CO<sub>2</sub>的湿润气体的培养箱中培养。

以上细胞每2d更换1次细胞培养液,在细胞密度达到80%时使用胰酶进行消化与传代。转染48h后取适量对数生长期的细胞进行铺板,当孔内细胞密度达到70%~90%时进行质粒转染,转染方法按照Lipofectamine 3000提供的方法进行。

#### 1.2.2 GEO数据库分析

GSE65071数据集从GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)获取,使用R语言limma包分析并筛选该数据集中正常样本与骨肉瘤样本的差异表达的miRNA[标准为log<sub>2</sub>差异倍数(fold change, FC)≥1且调整后的P<0.05],分别运用R语言的ggpubr和pheatmap包对差异miRNA绘制火山图及热图。GSE65071数据集中包括35例样本,其中20例骨肉瘤样本为肿瘤组,15例健康者样本为对照组。

#### 1.2.3 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)

使用上述转染48h的细胞,根据厂商提供的说明使用NucleoZOL试剂进行细胞总RNA的抽提。使用酶标仪(BioTek公司,美国)测定总RNA的浓度及纯度。取1000ng RNA使用逆转录试剂盒,按照10μL的体系配方进行cDNA合成,反应条件为42℃30min,95℃5min,5℃5min,获得的cDNA置于-20℃保存。使用实时荧光定量PCR试剂盒、

cDNA、引物、双蒸水配制PCR体系,实时荧光定量PCR仪(Thermo公司,美国)进行分析,内参基因选择18S rRNA基因,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算相对表达量。

### 1.2.4 CCK-8实验

将各组转染48 h的细胞消化、计数,按照每孔 $3 \times 10^3$ 个的标准将各组细胞接种于96孔板中,于接种后的0、24、48、72、96和120 h分别按照CCK-8试剂盒说明书加入检测溶液,培养1 h后,使用酶标仪测定各孔在450 nm处的吸光度值。

### 1.2.5 集落形成实验

在6孔板中接种上述处理的细胞,按照每孔 $1 \times 10^3$ 个标准进行接种,接种后将培养板置于细胞培养箱中培养2周,每3 d进行1次培养基更换,2周后丢弃培养基加入4%多聚甲醛进行固定,固定完成后使用结晶紫溶液进行染色,最后使用PBS清洗、干燥后进行计数。

### 1.2.6 荧光素酶活性分析

使用含有miR-27b-3p预测结合位点的SSRP1定向缺失突变型(SSRP1-Mut)和野生型(SSRP1-WT)3'-UTR的荧光素酶序列报告载体单独转染或与miR-27b-3p mimics共转染骨肉瘤细胞,细胞裂解后,按照试剂盒厂家提供的说明,采用酶标仪检测荧光素酶活性。

### 1.2.7 Western blot

上述各组转染48 h后的细胞培养板置于冰上,弃培养基,使用预冷的PBS冲洗,使用预冷的RIPA裂解液(含蛋白酶抑制剂)进行裂解,收集细胞后高速离心,取上清,BCA法测定后调整蛋白浓度至20 ng/mL,100 °C下的金属浴加热5 min获得蛋白样品。选择10%的蛋白胶预混液进行电泳,转膜、封闭后与特异性一抗在4 °C摇床上封闭过夜,再加入二

抗孵育,最后使用ECL发光液进行蛋白条带成像。

### 1.2.8 流式细胞术

收集各组转染48 h后的细胞,使用不含EDTA的胰酶消化,离心弃上清,加入PBS重悬洗涤两次后加入500  $\mu$ L的染色缓冲液以及Annexin V-FITC与PI各5  $\mu$ L,混匀后室温孵育15 min,在流式细胞仪(BD Biosciences公司,美国)中进行细胞凋亡检测。

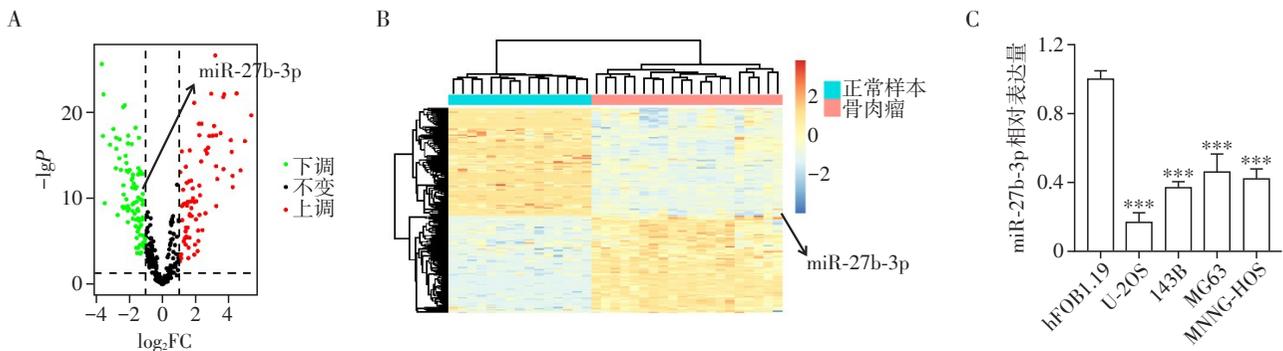
### 1.3 统计学方法

使用R软件(<https://www.r-project.org/>, 4.2.0版本)分析并绘制差异miRNA的火山图及热图。实验数据采用SPSS 23.0软件进行数据分析,每个实验重复3次,数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用方差分析,与对照组比较采用Dunnett-t检验,组间两两比较采用Tukey's检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-27b-3p在骨肉瘤样本及细胞中显著低表达

首先在GEO数据库中的GSE65071数据集使用R语言进行差异miRNA分析,标准为 $|\log_2 FC| \geq 1$ 且调整后的 $P < 0.05$ ,共获得了169个差异miRNA,包括80个上调miRNA和89个下调miRNA,结果展示在火山图(图1A)和热图(图1B),发现miR-27b-3p在骨肉瘤样本中的表达水平显著降低。为了验证miR-27b-3p在骨肉瘤细胞是否低表达,使用RT-qPCR检测miR-27b-3p的表达水平,结果显示,相比于人正常成骨细胞株hFOB1.19,miR-27b-3p在骨肉瘤细胞株U-2OS、143B、MG63及MNNG-HOS的表达量均显著降低( $P < 0.001$ ,图1C)。由此得出结论,miR-27b-3p在骨肉瘤样本及细胞中显著低表达。



A: 火山图显示骨肉瘤和正常样本中差异表达的miRNA,绿点和红点分别表示显著下调和上调的miRNA;B: 热图显示骨肉瘤和正常样本中的差异表达的miRNA;C: RT-qPCR检测miR-27b-3p在骨肉瘤各细胞系中的表达水平。与hFOB1.19细胞相比,\*\*\* $P < 0.001$ ( $n=3$ )。

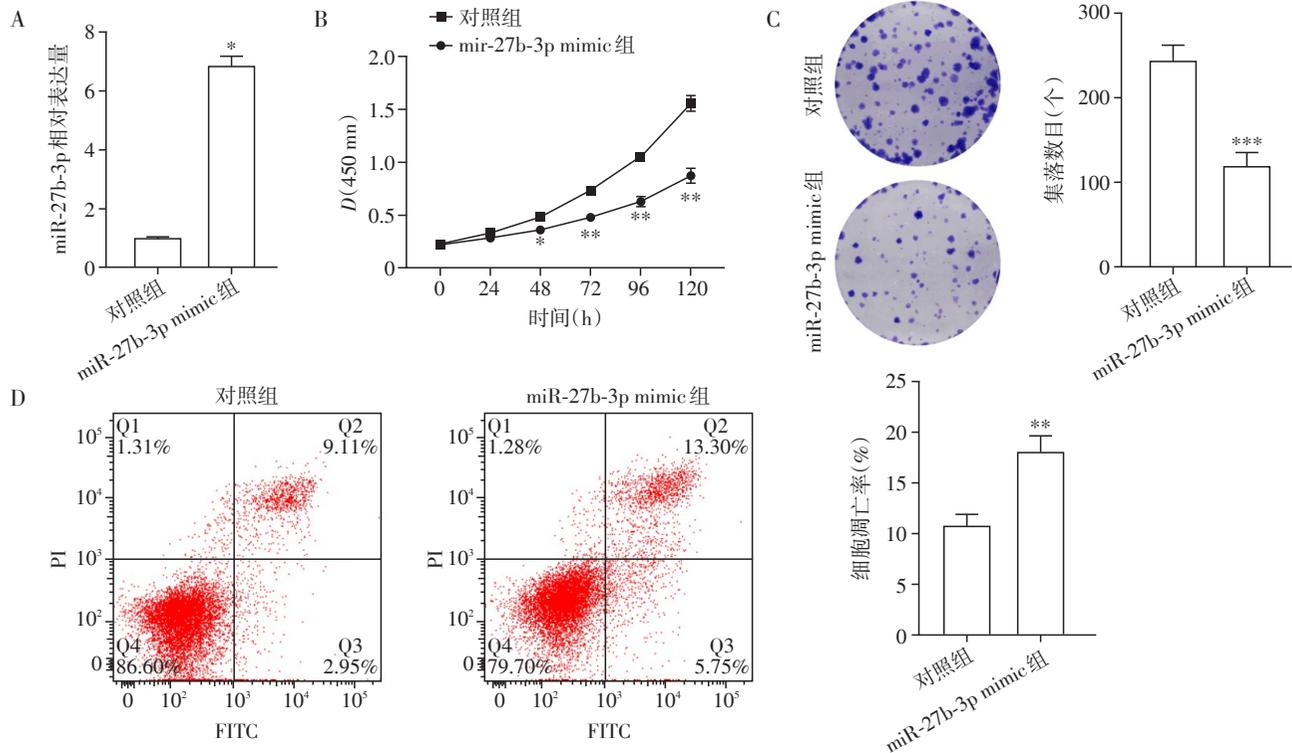
图1 miR-27b-3p在骨肉瘤患者样本和细胞系中表达下调

Figure 1 miR-27b-3p was downregulated in OS patient samples and cell lines

## 2.2 miR-27b-3p过表达抑制骨肉瘤细胞的增殖并促进凋亡

为了评估miR-27b-3p在骨肉瘤发生发展中的生物学功能,在骨肉瘤细胞株中过表达miR-27b-3p,转染48 h后采用RT-qPCR检测过表达效率,结果显示,与对照组相比,转染miR-27b-3p mimics的骨肉瘤细胞中miR-27b-3p的表达显著升高(图2A)。

CCK-8实验以及集落形成实验结果显示,与对照组相比,miR-27b-3p过表达后,骨肉瘤细胞增殖能力明显减弱(图2B、C)。流式细胞术也获得了相同的结果,miR-27b-3p过表达后,骨肉瘤细胞的凋亡率明显高于对照组(图2D)。以上结果表明,miR-27b-3p过表达会抑制骨肉瘤的增殖并促进凋亡。



A: RT-qPCR检测miR-27b-3p的过表达效率;B:CCK-8测定miR-27b-3p过表达后骨肉瘤细胞增殖能力;C:集落形成实验检测miR-27b-3p过表达后骨肉瘤细胞集落形成能力的变化;D:流式细胞术分析miR-27b-3p过表达后骨肉瘤细胞凋亡率的变化。与对照组相比,\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ( $n=3$ )。

图2 miR-27b-3p过表达显著抑制骨肉瘤细胞的生长

Figure 2 Overexpression of miR-27b-3p significantly suppressed the growth of OS cells

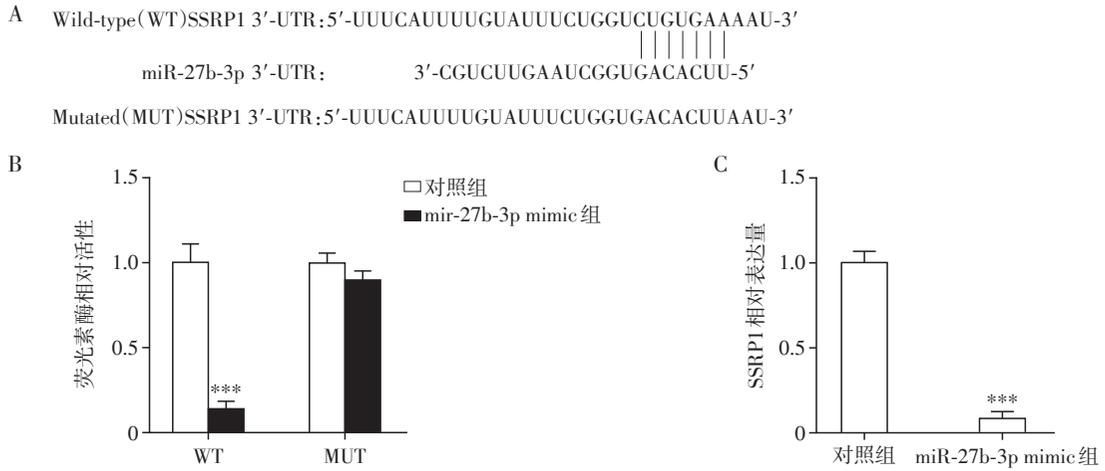
## 2.3 SSRP1是miR-27b-3p的直接靶点

使用在线数据库 TargetScan、miRDB、Starbase 预测miR-27b-3p靶基因,以进一步探究miR-27b-3p影响骨肉瘤细胞生长的潜在机制。SSRP1在3个数据库中被同时预测为miR-27b-3p的靶基因并获得预测的结合位点(图3A)。使用双荧光素酶报告基因实验验证miR-27b-3p是否直接靶向SSRP1,结果显示,miR-27b-3p mimics与SSRP1-WT共转染的相对荧光活性显著降低,而SSRP1-Mut组未见明显变化( $P < 0.05$ ,图3B)。这表明SSRP1是miR-27b-3p的直接靶点。与对照组相比,miR-27b-3p过表达组中的SSRP1的表达量明显下调,证实了SSRP1的表达受miR-27b-3p直接调控。以上结果表明,SSRP1

是miR-27b-3p的靶基因(图3C)。

## 2.4 干扰SSRP1抑制骨肉瘤细胞的生长

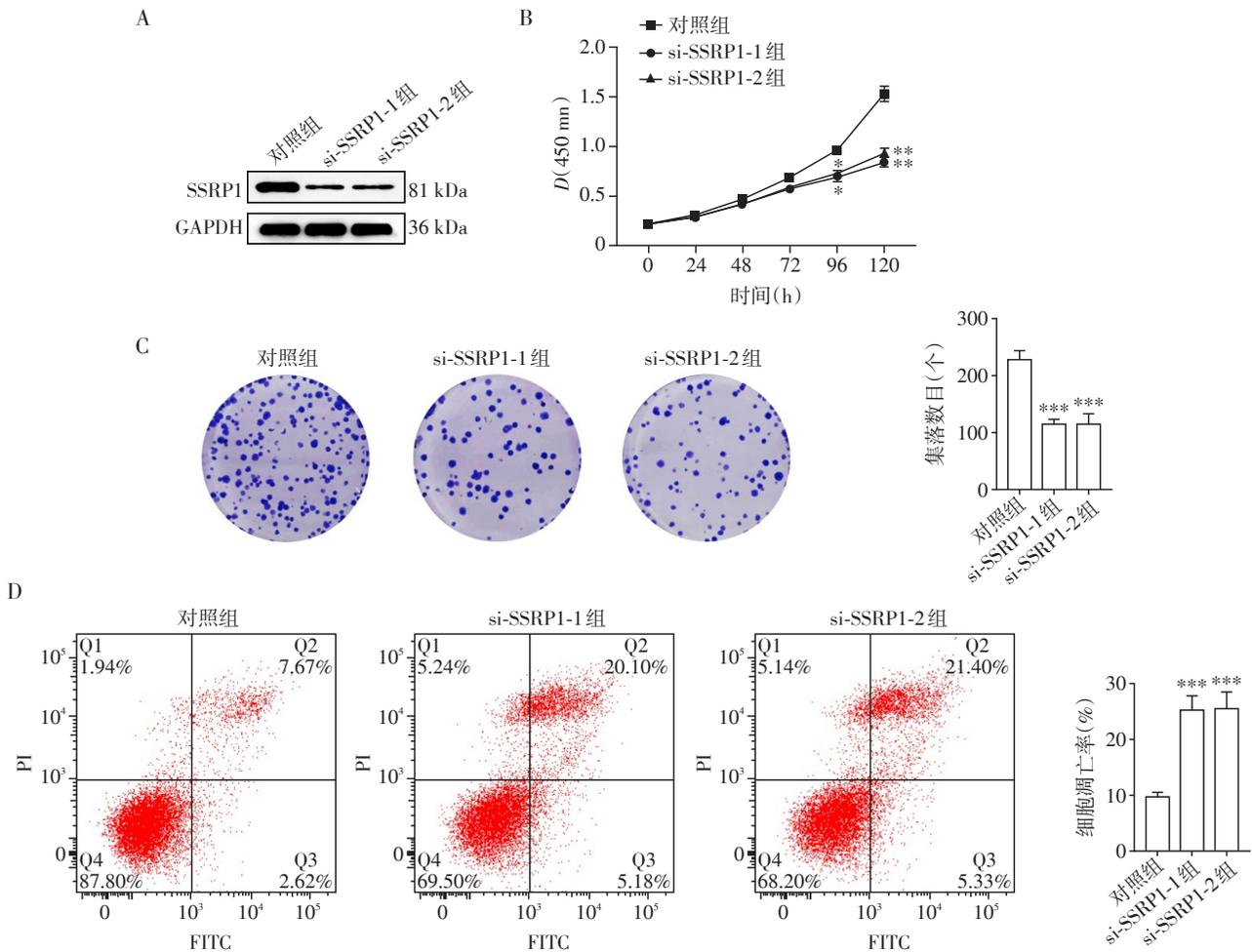
为了进一步研究SSRP1在骨肉瘤细胞生长中是否发挥作用,使用特异性的si-SSRP1干扰SSRP1的表达。首先,通过Western blot实验验证si-SSRP1的干扰效率,结果显示,SSRP1的表达在si-SSRP1-1组以及si-SSRP1-2组显著下调(图4A)。随后,CCK-8实验以及集落形成实验验证,干扰SSRP1后,显著抑制了骨肉瘤细胞的增殖能力(图4B、C)。流式细胞术结果显示,干扰SSRP1促进了骨肉瘤细胞的凋亡(图4D)。以上结果证实了SSRP1在骨肉瘤细胞生长中发挥重要作用,干扰SSRP1抑制骨肉瘤的增殖并促进其凋亡。



A:在线数据库预测出SSRP1与miR-27b-3p的结合位点;B:将含有SSRP1野生型(WT)或SSRP1突变型(MUT)的荧光素酶报告质粒与miR-27b-3p模拟物共转染,检测荧光素酶活性;C:RT-qPCR检测miR-27b-3p过表达后SSRP1 mRNA水平的变化。与对照组比较,\*\*\* $P < 0.001$ ( $n=3$ )。

图3 SSRP1是miR-27b-3p的靶基因

Figure 3 SSRP1 is target gene of miR-27b-3p



A:Western blot检测SSRP1的干扰效率;B:干扰SSRP1后骨肉瘤细胞的增殖能力被抑制;C:干扰SSRP1显著降低骨肉瘤细胞集落形成能力;D:干扰SSRP1后显著提高了骨肉瘤细胞凋亡率。与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ ( $n=3$ )。

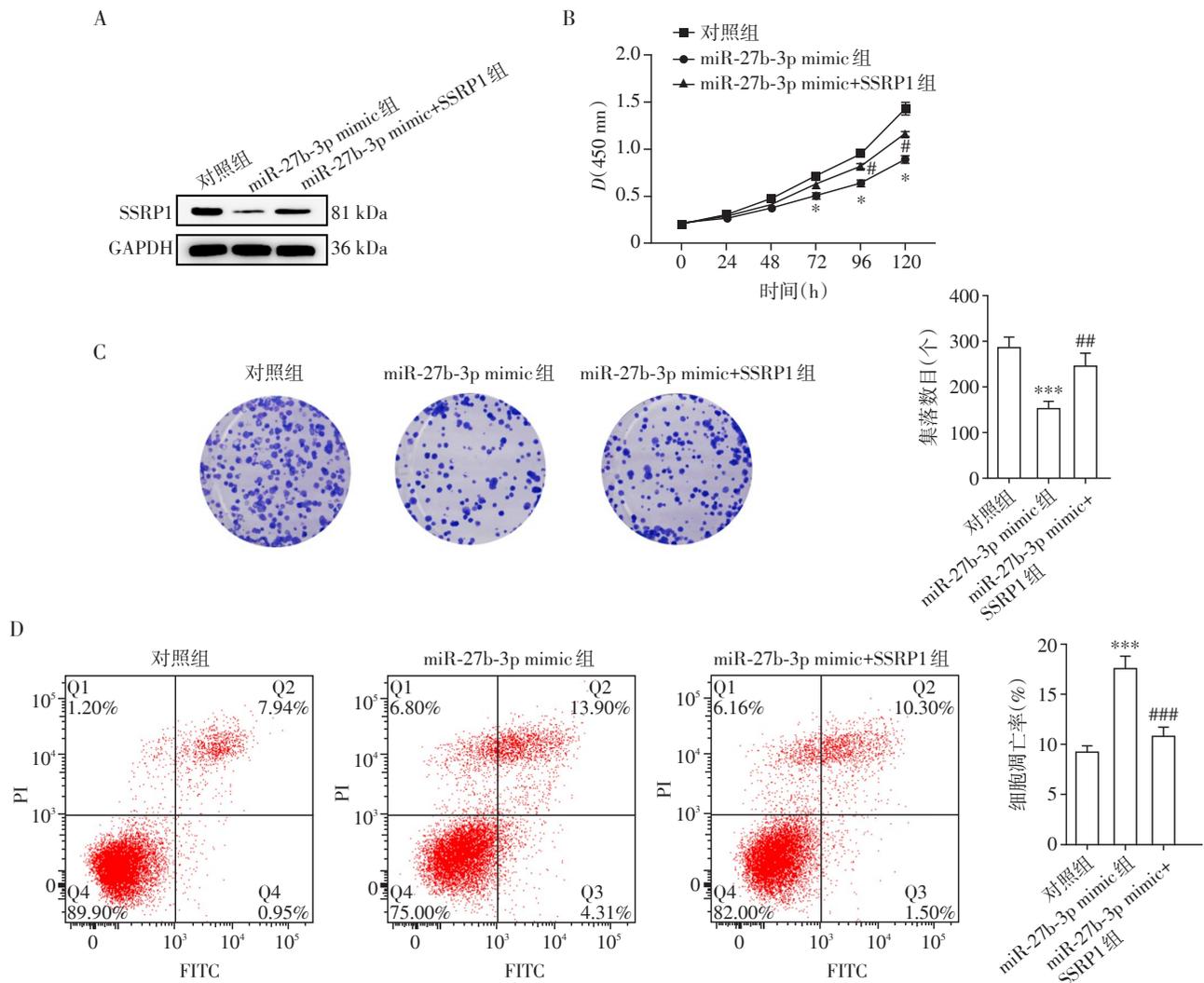
图4 干扰SSRP1表达抑制骨肉瘤细胞的增殖并促进其凋亡

Figure 4 Silencing of SSRP1 inhibited cell proliferation and accelerated cell apoptosis in OS cells

### 2.5 过表达SSRP1逆转了miR-27b-3p对骨肉瘤的增殖作用

使用Western blot测定过表达效率(图5A)。CCK-8实验和集落形成实验结果显示,过表达SSRP1部分恢复了由miR-27b-3p过表达引起的集落

形成能力的抑制(图5B、C)。此外,流式细胞术结果显示,过表达miR-27b-3p引起的骨肉瘤凋亡效应可以由过表达SSRP1部分逆转(图5D)。结合以上结果,证明了miR-27b-3p通过靶向抑制SSRP1的表达来调控骨肉瘤细胞的增殖和凋亡功能。



A: Western blot检测SSRP1的过表达效率;B:过表达SSRP1后部分恢复了miR-27b-3p对骨肉瘤细胞增殖的抑制;C:过表达SSRP1后部分恢复了miR-27b-3p对骨肉瘤细胞集落形成能力的抑制;D:过表达SSRP1后部分恢复了miR-27b-3p对骨肉瘤细胞细胞凋亡的促进。与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\*\* $P < 0.001$ ;与miR-27b-3p mimic组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ ,### $P < 0.001$ ( $n=3$ )。

图5 过表达SSRP1表达部分逆转了miR-27b-3p对骨肉瘤细胞的抑制作用

Figure 5 Overexpression of SSRP1 partially reversed the inhibitory of miR-27b-3p on OS cells

### 3 讨论

骨肉瘤是青少年最常见的原发恶性骨肿瘤,由于缺乏有效的治疗方法,致死率和致残率居高不下。近年来,大量研究证实,miRNA已经成为许多类型肿瘤的新的生物标志物和治疗靶点<sup>[20]</sup>。而在骨肉瘤发病机制的研究中,miRNA已被证实与骨肉

瘤的发生发展密切相关<sup>[13-14,21]</sup>。目前,大量研究表明miR-27b-3p在多种恶性肿瘤中广泛下调,通过抑制肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等能力发挥抑癌作用。在胃癌中,miR-27b-3p显著下调,并通过靶向调节细胞周期G1到S期的转换1基因(GSPT1)抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[22]</sup>。miR-27b-3p也被报道在乳腺癌细胞和组织中明显低表达,调节核受

体亚家族5组A成员2(NR5A2)和camp反应元件结合蛋白1(CREB1)的表达,因此增强了他莫西芬诱导的细胞毒性<sup>[23]</sup>。另有一项研究称,miR-27b-3p过表达会发挥肿瘤抑制活性,抑制肺癌细胞的侵袭功能<sup>[24]</sup>。然而,miR-27b-3p在骨肉瘤中的生物学功能尚未被研究。本研究证明了miR-27b-3p在骨肉瘤患者样本及骨肉瘤细胞中呈显著低表达,且过表达miR-27b-3p会显著抑制骨肉瘤细胞的增殖并促进其凋亡,总之,miR-27b-3p是一种潜在的骨肉瘤预后和诊断生物标志物并在骨肉瘤的发生发展中发挥肿瘤抑制因子作用。

本研究通过数据库预测发现了SSRP1可能是miR-27b-3p的作用靶点。SSRP1是组蛋白伴侣促染色质转录复合体(FACT)的一个亚基,参与包括DNA复制、修复和转录等相关过程<sup>[25-26]</sup>。SSRP1已被证实在多种肿瘤组织,如肝癌<sup>[27]</sup>、结直肠癌<sup>[28]</sup>、鼻咽癌<sup>[29]</sup>中明显上调,并与较差的预后、化疗药物敏感性相关。此外,据报道SSRP1结合GLI家族锌指蛋白1(GLI1)的启动子区域,从而激活Hedgehog通路在多种肿瘤中发挥促癌作用<sup>[30]</sup>。然而,关于SSRP1在骨肉瘤中的表达及其生物学作用的研究尚未见报道。本研究证实了SSRP1是miR-27b-3p靶基因,并通过进一步研究证实,下调SSRP1可抑制骨肉瘤细胞的增殖,促进其凋亡,且过表达SSRP1可以部分逆转miR-27b-3p对骨肉瘤发生发展的抑制作用。但是,未来仍需进一步实验确定SSRP1在骨肉瘤细胞中的表达情况及预后,在体内对骨肉瘤发生发展的影响以及发挥其生物学功能的具体机制。

综上所述,本研究证实了miR-27b-3p在骨肉瘤样本和骨肉瘤细胞系中显著低表达,并通过直接靶向SSRP1从而抑制骨肉瘤细胞的增殖并促进凋亡,这为揭示骨肉瘤发生发展的分子机制提供了新的见解。同时,miR-27b-3p/SSRP1轴也为骨肉瘤的治疗提供了新的研究思路和治疗策略。

#### [参考文献]

- [1] MELTZER P S, HELMAN L J. New horizons in the treatment of osteosarcoma[J]. *N Engl J Med*, 2021, 385(22): 2066-2076
- [2] HARRISON D J, GELLER D S, GILL J D, et al. Current and future therapeutic approaches for osteosarcoma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(1): 39-50
- [3] GILL J, GORLICK R. Advancing therapy for osteosarcoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(10): 609-624
- [4] GRÜNEWALD T G, ALONSO M, AVNET S, et al. Sarcoma treatment in the era of molecular medicine[J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(11): e11131
- [5] ALJUBRAN A H, GRIFFIN A, PINTILIE M, et al. Osteosarcoma in adolescents and adults: survival analysis with and without lung metastases[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(6): 1136-1141
- [6] AMBROS V. MicroRNA pathways in flies and worms: growth, death, fat, stress, and timing[J]. *Cell*, 2003, 113(6): 673-676
- [7] RUPAIMOOLE R, SLACK F J. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222
- [8] LENKALA D, LACROIX B, GAMAZON E R, et al. The impact of microRNA expression on cellular proliferation[J]. *Hum Genet*, 2014, 133(7): 931-938
- [9] ZHANG L, XU X, SU X. Noncoding RNAs in cancer immunity: functions, regulatory mechanisms, and clinical application[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 48
- [10] EICHMÜLLER S B, OSEN W, MANDELBOIM O, et al. Immune modulatory microRNAs involved in tumor attack and tumor immune escape[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2017, 109(10). doi: 10.1093/jnci/djx034
- [11] SCUDERI S A, CALABRESE G, PATERNITI I, et al. The biological function of microRNAs in bone tumors[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4): 2348
- [12] ZHANG H, WANG J, REN T, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-206 inhibits osteosarcoma progression by targeting TRA2B[J]. *Cancer Lett*, 2020, 490: 54-65
- [13] JI Q, XU X, SONG Q, et al. miR-223-3p inhibits human osteosarcoma metastasis and progression by directly targeting CDH6[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(5): 1299-1312
- [14] WANG S N, LUO S, LIU C, et al. miR-491 Inhibits osteosarcoma lung metastasis and chemoresistance by targeting  $\alpha$ B-crystallin[J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2140-2149
- [15] NAVON R, WANG H, STEINFELD I, et al. Novel rank-based statistical methods reveal microRNAs with differential expression in multiple cancer types[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e8003
- [16] LEE J J, DRAKAKI A, ILIOPOULOS D, et al. MiR-27b targets PPAR $\gamma$  to inhibit growth, tumor progression and the inflammatory response in neuroblastoma cells[J]. *Oncogene*, 2012, 31(33): 3818-3825
- [17] WAN L, ZHANG L, FAN K, et al. MiR-27b targets LIMK1 to inhibit growth and invasion of NSCLC cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 390(1-2): 85-91

- [18] ZHAO L, HAN S, HOU J, et al. The local anesthetic ropivacaine suppresses progression of breast cancer by regulating miR-27b-3p/YAP axis [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(12):16341-16352
- [19] EASTLACK S C, DONG S, IVAN C, et al. Suppression of PDHX by microRNA-27b deregulates cell metabolism and promotes growth in breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):100
- [20] TAKAHASHI R U, MIYAZAKI H, TAKESHITA F, et al. Loss of microRNA-27b contributes to breast cancer stem cell generation by activating ENPP1 [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:7318
- [21] WENG Y, SHEN Y, HE Y, et al. The miR-15b-5p/PDK4 axis regulates osteosarcoma proliferation through modulation of the Warburg effect [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4):2749-2757
- [22] ZHANG C, ZOU Y, DAI D Q. Downregulation of microRNA-27b-3p via aberrant DNA methylation contributes to malignant behavior of gastric cancer cells by targeting GSPT1 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119:109417
- [23] ZHU J, ZOU Z, NIE P, et al. Downregulation of microRNA-27b-3p enhances tamoxifen resistance in breast cancer by increasing NR5A2 and CREB1 expression [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(11):e2454
- [24] CHEN Z, CHEN X, LU B, et al. Up-regulated LINC01234 promotes non-small-cell lung cancer cell metastasis by activating VAV3 and repressing BTG2 expression [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):7
- [25] ORPHANIDES G, WU W H, LANE W S, et al. The chromatin-specific transcription elongation factor FACT comprises human SPT16 and SSRP1 proteins [J]. *Nature*, 1999, 400(6741):284-288
- [26] BIRCH J L, TAN B C, PANOVA K I, et al. FACT facilitates chromatin transcription by RNA polymerases I and III [J]. *Embo J*, 2009, 28(7):854-865
- [27] SHEN J, CHEN M, LEE D, et al. Histone chaperone FACT complex mediates oxidative stress response to promote liver cancer progression [J]. *Gut*, 2020, 69(2):329-342
- [28] WU W, HE K, GUO Q, et al. SSRP1 promotes colorectal cancer progression and is negatively regulated by miR-28-5p [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5):3118-3129
- [29] AI J, LI W, ZENG R, et al. Blockage of SSRP1/Ets-1/Pim-3 signalling enhances chemosensitivity of nasopharyngeal carcinoma to docetaxel *in vitro* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83:1022-1031
- [30] MO J, LIU F, SUN X, et al. Inhibition of the FACT complex targets aberrant hedgehog signaling and overcomes resistance to smoothened antagonists [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(11):3105-3120

[收稿日期] 2022-10-08

(责任编辑:蒋莉)