

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2024.10.006

PCR 技术与肿瘤

肿瘤组织 miR-23a 联合 MELK 检测在骨肉瘤病情及预后评估中的临床价值

杨琼,李健伟,曾寒,欧阳柳,郑冲



基金项目: 湖北省自然科学基金(WJ2019A167)

作者单位: 430081 武汉科技大学附属普仁医院骨科(杨琼、曾寒),手足显微外科(李健伟); 430022 武汉,华中科技大学

同济医学院附属协和医院(欧阳柳); 441000 襄阳,湖北文理学院附属襄阳市中心医院(郑冲)

通信作者: 郑冲 E-mail: 1750851815@qq.com

【摘要】 目的 分析肿瘤组织微小核糖核酸-23a(miR-23a) 联合母体胚胎亮氨酸拉链激酶(MELK) 水平对骨肉瘤病情及预后评估的临床价值。方法 选择 2019 年 1 月—2022 年 1 月武汉科技大学附属普仁医院骨科诊治的骨肉瘤患者 93 例为研究组,骨良性疾病患者 53 例为对照组。采用实时荧光定量 PCR 法检测组织 miR-23a、MELK 表达水平;采用受试者工作特征(ROC) 曲线分析肿瘤组织 miR-23a、MELK 水平预测骨肉瘤患者预后不良的价值;多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者预后不良的危险因素;Kaplan-Meier 模型分析 miR-23a、MELK 表达对骨肉瘤患者生存期的影响。结果 研究组肿瘤组织 miR-23a、MELK 表达水平显著高于对照组($t/P=12.127/<0.001$ 、 $11.291/<0.001$);肿瘤最大径 ≥ 5 cm、有远处转移、Enneking 分期Ⅲ期的骨肉瘤患者 miR-23a、MELK 表达高于肿瘤最大径 <5 cm、无远处转移、Enneking 分期Ⅰ~Ⅱ期患者(miR-23a: $t/P=8.357/<0.001$ 、 $9.112/<0.001$ 、 $6.531/<0.001$; MELK: $t/P=11.265/<0.001$ 、 $9.787/<0.001$ 、 $10.462/<0.001$); miR-23a、MELK 水平及二者联合预测骨肉瘤患者预后不良的 AUC 分别为 0.781、0.773、0.901,二者联合的 AUC 大于单独预测的 AUC($Z/P=6.431/<0.001$ 、 $0.705/<0.001$); Cox 回归分析显示,miR-23a 高表达、MELK 高表达、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、有远处转移、Enneking 分期Ⅲ期为骨肉瘤患者预后不良的独立危险因素[OR(95%CI) = 4.100(1.426~6.774)、4.023(1.279~6.767)、2.250(1.041~3.459)、2.396(1.117~3.675)、2.489(1.028~3.951)]; miR-23a ≥ 1.14 且 MELK ≥ 0.73 的骨肉瘤患者中位生存期显著低于 miR-23a <1.14 或 MELK <0.73 的患者(中位生存期 24.38 月 ± 4.52 月 vs. 32.74 月 ± 5.16 月,Log Rank $\chi^2=9.821$, $P<0.001$)。结论 骨肉瘤患者 miR-23a 和 MELK 表达与临床病理特征密切相关,可为骨肉瘤病情及预后评估提供基因水平的客观证据,二者联合检测可提高预测骨肉瘤预后不良的敏感度及特异度。

【关键词】 骨肉瘤;微小核糖核酸-23a;母体胚胎亮氨酸拉链激酶;临床病理特征;预后评估**【中图分类号】** R738.1**【文献标识码】** A

Clinical value of miR-23a combined with MELK detection in the evaluation of osteosarcoma disease and prognosis

Yang Qiong*, Li Jianwei, Zeng Han, Ouyang Liu, Zheng Chong.* Department of Orthopedics, Puren Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Hubei Province, Wuhan 430081, China

Funding program: Hubei Natural Science Foundation (WJ2019A167)

Corresponding author: Zheng Chong, E-mail: 1750851815@qq.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical value of microribonucleic acid 23a (miR-23a) combined with maternal embryonic leucine zipper kinase (MELK) levels in assessing the condition and prognosis of osteosarcoma. **Methods** Ninety-three patients with osteosarcoma (study group) and 53 patients with benign bone diseases (control group) from Puren Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology between January 2019 and January 2022 were selected as study. The real time fluorescence quantitative PCR method was used to detect the expression levels of tissue miR-23a and MELK; the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of tumor tissue miR-23a and MELK levels in predicting the poor prognosis of patients with osteosarcoma; Multivariate Cox regression analysis of risk factors for poor prognosis in patients with osteosarcoma; Kaplan-Meier model analyzed the impact of miR-23a and MELK expression on the sur-

vival of patients with osteosarcoma. **Results** The expression levels of miR-23a and MELK in tumor tissues of the study group were significantly higher than those of the control group ($t/P=12.127/<0.001$, $11.291/<0.001$); tumors with maximum diameter ≥ 5 cm, distant metastasis, and Enneking stage III The expression of miR-23a and MELK in patients with osteosarcoma were higher than that in patients with tumors with a maximum diameter <5 cm, no distant metastasis, and Enneking stage I to II ($t/P=8.357/<0.001$, $11.265/<0.001$, $9.112/<0.001$, $9.787/<0.001$, $6.531/<0.001$, $10.462/<0.001$); the AUCs of miR-23a, MELK levels and their combination in predicting poor prognosis in patients with osteosarcoma are 0.781, 0.773, and 0.901 respectively, and the AUC of their combination was greater than that of miR-23a, MELK level alone ($Z/P=6.431/<0.001$, $0.705/<0.001$); Cox regression analysis showed that high expression of miR-23a, high expression of MELK, maximum tumor diameter ≥ 5 cm, distant metastasis, Enneking stage III were independent risk factors for poor prognosis of osteosarcoma [$OR(95\% CI)=4.100 (1.426-6.774)$, $4.023 (1.279-6.767)$, $2.250 (1.041-3.459)$, $2.396 (1.117-3.675)$, $2.489 (1.028-3.951)$]; the median survival time of osteosarcoma patients with miR-23a ≥ 1.14 and MELK ≥ 0.73 was significantly lower than that of patients with miR-23a <1.14 or MELK <0.73 (median survival time 24.38 ± 4.52 months vs. 32.74 ± 5.16 months, Log Rank $\chi^2=9.821P<0.001$). **Conclusion** The expression of miR-23a and MELK in patients with osteosarcoma is closely related to the clinicopathological characteristics, which can provide objective evidence at the gene level for the assessment of osteosarcoma disease and prognosis. The combined detection of the two can improve the sensitivity and specificity in predicting poor prognosis of osteosarcoma.

【Key words】 Osteosarcoma; MicroRNA-23a; Maternal embryonic leucine zipper kinase; Clinicopathological features; Prognosis evaluation

骨肉瘤主要好发于青少年,起病隐匿且确诊时往往处于进展期,导致目前骨肉瘤近远期预后极差,提高骨肉瘤诊疗水平、改善预后为临床上亟待解决的重大问题^[1-2]。骨肉瘤的发病机制主要与基因表达异常有关,且与骨肉瘤临床病理特征及生存期直接关联,可能在骨肉瘤病情及预后评估中的临床价值高于传统的Enneking分期^[3-4]。微小核糖核酸-23a(miR-23a, miR-23a)具有调控细胞分化、细胞周期及物质能量代谢等多种功能,可促进肿瘤细胞迁移侵袭等恶性生物学行为,在多种恶性肿瘤中表达升高且与临床病理特征相关,为其预后不良的标志物^[5-6]。母体胚胎亮氨酸拉链激酶(maternal embryonic leucine zipper kinase, MELK)为多种恶性肿瘤的癌基因,参与细胞周期、细胞增殖、肿瘤生成和细胞凋亡等过程,在多种恶性肿瘤中可检测到表达异常^[7-8]。目前miR-23a和MELK作为新近发现的类促癌基因,在骨肉瘤中的表达及其临床价值尚未完全明确。本研究检测骨肉瘤患者miR-23a、MELK表达并研究其临床价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2019年1月—2022年1月武汉科技大学附属普仁医院骨科诊治的骨肉瘤患者93例为研究组,另以同期诊治的骨良性疾病(取得病理组织;包括骨折36例、骨髓炎7例、骨巨细胞瘤4例、骨囊肿4例)患者51例为对照组。2组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。本研究经武汉科技大学附属普仁医院医学伦理委员会审核通过(2019-031),患者或家属知情

同意并签署知情同意书。

表1 对照组与研究组患者临床资料比较
Tab.1 Comparison of clinical data between control group and study group patients

项 目	对照组 (<i>n</i> = 51)	研究组 (<i>n</i> = 93)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
性别[例(%)]	男 28(54.90)	52(55.91)	0.014	0.907
	女 23(45.10)	41(44.09)		
年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	25.78 $\pm$ 5.53	25.16 $\pm$ 5.22	0.667	0.506
体质指数($\bar{x}\pm s$, kg/m ²)	22.29 $\pm$ 3.18	22.17 $\pm$ 3.04	0.223	0.824
糖尿病史[例(%)]	4(7.84)	7(7.53)	0.067	0.735
高血压史[例(%)]	6(11.76)	9(9.68)	0.154	0.695
卡氏评分($\bar{x}\pm s$, 分)	22.29 $\pm$ 3.18	22.17 $\pm$ 3.04	0.147	0.883

1.2 研究组病例选择标准 (1) 纳入标准: ①经术前或术后病理组织学检查确诊,符合《骨肉瘤临床循证诊疗指南》^[9]诊断标准; ②临床资料完整; ③术前影像学检查(CT、MR)或术后病理检查有明确的Enneking分期。(2) 排除标准: ①合并其他良恶性肿瘤、骨转移瘤; ②无法配合本研究及失访患者; ③合并神经精神疾病; ④既往行相关治疗(包括手术、放化疗、免疫治疗、靶向治疗等)。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 组织 miR-23a、MELK 表达水平检测: 收集研究组骨肉瘤患者肿瘤组织、对照组骨良性疾病患者骨组织。提取各组组织总RNA后纯化并定量,采用实时荧光定量PCR法检测miR-23a、MELK表达水平。RNA提取试剂盒购自武汉塞维尔公司; 实时荧光定量PCR检测试剂购自武汉爱普蒂公司; PCR扩增仪器为美国

Blue-Ray 公司 TurboCycler3。miR-23a 选择 U6 为参照 ,MELK 选择 β -actin 为参照 ,引物序列见表 2。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分别计算 miR-23a、MELK 相对表达水平。

表 2 miR-23a 和 MELK 引物序列
Tab.2 miR-23a and MELK Primer Sequence

基 因	上游引物	下游引物
miR-23a	5'-TTCCTGGGGATGGGA-TT-3'	5'-GAACATGTCTGCGTAT-CTC-3'
MELK	5'-TCCTGTGGACAAGCC-AGTGCTA-3'	5'-GGGAGTAGCAGCACCT-GTTGAT-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CAT-3'	5'-TTGCGTGTTCATCCTTG-CG-3'
β -actin	5'-GGGAGCCAAAAGGG-TCAT-3'	5'-GAGTCCTTCCACGATAC-CAA-3'

1.3.2 随访及预后评估: 研究组骨肉瘤患者每 3 个月门诊复查 ,随访时间 2019 年 4 月—2024 年 3 月。统计患者预后状况(存活、肿瘤复发、死亡等) ,其中出现骨肉瘤进展(复发或转移)、严重并发症(病理性骨折、肿瘤相关性截肢)、死亡等为预后不良。

1.4 统计学方法 采用 MedCalc 20.1 软件行统计学分析。计数资料以频数或率(%)表示 ,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示 ,2 组比较采用 t 检验 ,多组间比较采用单因素方差分析 ,组间两两比较采用 SNK 检验;受试者工作特征(ROC)曲线分析 miR-23a、MELK 水平在骨肉瘤患者预后不良预测中的价值并采用 DeLong 法比较其差异;多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者预后不良影响因素;Kaplan-Meier 模型分析 miR-23a、MELK 表达对患者生存期的影响。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果
2.1 2 组患者组织 miR-23a、MELK 表达水平比较 研究组患者 miR-23a、MELK 表达水平显著高于对照组患者 ,差异有统计学意义($P<0.01$) ,见表 3。

表 3 对照组和研究组受试者组织 miR-23a、MELK 表达比较 ($\bar{x}\pm s$)
Tab.3 Comparison of miR-23a and MELK expression in the tissues of control group and study group subjects

组 别	例数	miR-23a	MELK
对照组	51	0.68±0.14	0.46±0.08
研究组	93	1.14±0.25	0.73±0.16
t 值		12.127	11.291
P 值		<0.001	<0.001

2.2 骨肉瘤患者肿瘤组织中 miR-23a、MELK 表达在不同临床病理特征中的差异 研究组骨肉瘤患者肿瘤组织 miR-23a、MELK 表达水平在不同性别、年龄、肿瘤位置、病理类型中比较差异无统计学意义($P>0.05$) ,肿瘤最大径 ≥ 5 cm、有远处转移及 Enneking 分期Ⅲ期患者 miR-23a、MELK 表达高于肿瘤最大径 <5 cm、无远处转移及 Enneking 分期Ⅰ~Ⅱ期患者($P<0.01$) ,见表 4。

2.3 miR-23a、MELK 水平预测骨肉瘤患者预后不良的价值 绘制 miR-23a、MELK 水平单独与联合预测骨肉瘤患者预后不良的 ROC 曲线 ,并计算曲线下面积(AUC) ,结果显示: miR-23a、MELK 水平及二者联合预测骨肉瘤患者预后不良的 AUC 分别为 0.781、0.773、0.901 ,二者联合的 AUC 大于单独预测的 AUC($Z/P=6.431/<0.001$ 、0.705/ <0.001) ,见表 5、图 1。

表 4 骨肉瘤患者肿瘤组织中 miR-23a、MELK 表达在不同临床病理特征中差异比较

Tab.4 Comparison of miR-23a and MELK expression in tumor tissues of osteosarcoma patients with different clinical pathological features								
项 目		例数	miR-23a	t 值	P 值	MELK	t 值	P 值
性别	男	52	1.12±0.23	0.578	0.564	0.75±0.11	1.112	0.269
	女	41	1.15±0.27			0.72±0.15		
年龄	≥ 20 岁	62	1.11±0.22	1.166	0.247	0.71±0.14	1.585	0.116
	<20 岁	31	1.17±0.26			0.76±0.15		
肿瘤位置	四肢	80	1.13±0.21	0.472	0.638	0.72±0.11	0.889	0.376
	其他	13	1.16±0.23			0.75±0.13		
病理类型	成骨型	73	1.12±0.24	0.643	0.522	0.76±0.14	1.456	0.149
	其他	20	1.16±0.27			0.71±0.12		
肿瘤最大径	<5 cm	60	0.87±0.18	8.357	<0.001	0.61±0.09	11.265	<0.001
	≥ 5 cm	33	1.28±0.21			0.86±0.15		
远处转移	无	81	0.82±0.16	9.112	<0.001	0.62±0.11	9.787	<0.001
	有	12	1.34±0.29			0.85±0.13		
Enneking 分期	Ⅰ~Ⅱ期	59	0.93±0.23	6.531	<0.001	0.58±0.07	10.462	<0.001
	Ⅲ期	34	1.29±0.26			0.87±0.12		

表 5 miR-23a、MELK 水平预测骨肉瘤患者预后不良的价值
Tab.5 The value of miR-23a and MELK levels in predicting poor prognosis in patients with osteosarcoma

指 标	Cut-off 值	AUC	95%CI	敏感度	特异度	约登指数
miR-23a	1.23	0.781	0.511~1.050	0.746	0.728	0.474
MELK	0.81	0.773	0.464~1.089	0.725	0.707	0.432
二者联合		0.901	0.642~1.160	0.886	0.894	0.780

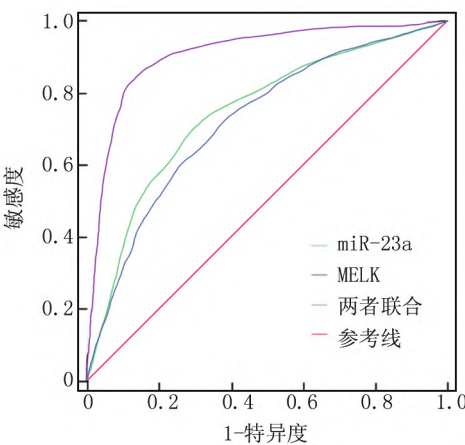


图 1 miR-23a、MELK 水平预测骨肉瘤患者预后不良的 ROC 曲线
Fig.1 ROC curve of miR-23a and MELK levels predicting poor prognosis in osteosarcoma patients

2.4 Cox 回归分析骨肉瘤患者预后不良影响因素
以患者预后不良为因变量(1 = 预后不良,0 = 预后良好),以 miR-23a、MELK、肿瘤最大径、远处转移、Enneking 分期为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示:miR-23a 高表达、MELK 高表达、肿瘤最大径 ≥ 5 cm、有远处转移、Enneking 分期Ⅲ期为骨肉瘤患者预后不良的独立危险因素($P<0.05$),见表 6。

表 6 多因素 Cox 回归分析骨肉瘤预后不良的危险因素
Tab.6 Multivariate Cox regression analysis of risk factors for poor prognosis in osteosarcoma

因 素	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95%CI
miR-23a 高表达	1.411	0.187	16.145	0.003	4.100	1.426~6.774
MELK 高表达	1.392	0.116	14.341	0.011	4.023	1.279~6.767
肿瘤最大径 ≥ 5 cm	0.811	0.092	11.826	0.025	2.250	1.041~3.459
有远处转移	0.874	0.085	12.049	0.027	2.396	1.117~3.675
Enneking 分期Ⅲ期	0.912	0.101	13.788	0.021	2.489	1.028~3.951

2.5 骨肉瘤组织中 miR-23a、MELK 表达对患者生存期的影响
组织 miR-23a ≥ 1.14 (均值)且 MELK ≥ 0.73 (均值)的骨肉瘤患者中位生存期低于 miR-23a < 1.14 或 MELK <0.73 的患者中位生存期[(24.38 $\pm$ 4.52)

月 vs. (32.74 $\pm$ 5.16)月],差异有统计学意义(Log Rank $\chi^2=9.821$, $P<0.001$)。

3 讨 论

骨肉瘤的致病分子机制主要与基因突变及表观遗传学导致的基因表达异常有关,其中 miRNA 通过调控细胞迁移、侵袭及微血管再生等多种方式参与其发病机制,为骨肉瘤最新的研究热点及难点^[10]。研究发现 miRNA 表达异常在骨肉瘤广泛存在,且与病情及预后紧密关联,可作为骨肉瘤病情及预后评估的标志物^[11-12]。miRNA 具有翻译前基因表达调控功能,可结合靶基因而抑制其表达^[13-14]。miR-23a 为新近发现的具有促癌功能的 miRNA,通过调控细胞增殖、迁移及侵袭等功能参与恶性肿瘤发生、发展及转归,为恶性肿瘤的危险因素^[15]。此外,研究证实 miR-23a 可通过多个靶基因调控细胞自噬、铁死亡等功能^[16]。研究发现 miR-23a 与骨关节等疾病发病机制相关,在多种恶性肿瘤中表达显著增高,与肿瘤分期及恶性程度密切相关,为预后不良的生物标志物^[17-18],但 miR-23a 在骨肉瘤中的表达及与临床病理特征的关联尚无研究。本研究发现骨肉瘤患者肿瘤组织 miR-23a 表达显著上调,与肿瘤最大径、远处转移及 Enneking 分期相关且 miR-23a 高表达为骨肉瘤预后不良的独立危险因素,表明 miR-23a 在骨肉瘤中具有促癌基因功能且与病情和预后相关。

MELK 为 Snf1/AMPK 激酶家族中保守的周期依赖性激酶,其表达有极高的组织特异性,在细胞更新活跃的组织器官中高表达而在成体的心脑肺等组织器官中表达较低^[19]。MELK 与多种基因交互作用后激活下游信号通路,在组织发育的过程中发挥维持增殖和凋亡平衡的作用^[20]。MELK 的功能包括调控细胞周期、mRNA 前体剪接、干细胞及胚胎细胞发育,同时 MELK 自身或作为其他基因靶标相互作用参与恶性肿瘤的发生、发展及转归。MELK 作为新近发现的促癌基因在多种恶性肿瘤中表达显著上调,与 TNM 分期及生存期相关,为恶性肿瘤病情及预后评估潜在的标志物^[21-23]。体外实验发现,MELK 在骨肉瘤细胞中表达显著升高,敲低 MELK 表达后骨肉瘤细胞增殖、迁移及侵袭能力显著下降^[24]。目前 MELK 在骨肉瘤组织中的表达及其临床价值尚无研究,本研究发现骨肉瘤患者肿瘤组织 MELK 表达显著增高,与肿瘤分期相关,且 MELK 高表达为骨肉瘤预后不良的独立危险因素,首次证实 MELK 在骨肉瘤中具有促癌基因功能。

当前临床上骨肉瘤病情及预后评估、临床诊疗策略制定的方法多为影像学评估及 Enneking 分期,存在

敏感度及特异度不高、依赖于检查机器精度及影像科医生经验等缺点,尤其对无法取得明确病理组织的患者不适用,导致影像学评估及 Enneking 分期在实际临床应用中的价值有限^[25-28]。随着骨肉瘤相关的新功能基因的发现及检测基因 PCR 技术指数级扩大效应,其在骨肉瘤病情及预后评估中具有更高的临床价值,具有可重复性高、敏感度高及对组织标本量要求低等优点,但单个指标的检测存在敏感度及特异度低等缺点,目前无法达到临床广泛应用的目的,基于目前检测现状临床上将多个指标、多种检测技术联合应用以提高临床价值^[29-30]。本研究中,miR-23a 联合 MELK 预测骨肉瘤预后不良的敏感度、特异度均高于传统的 Enneking 分期等,提示 miR-23a、MELK 表达检测预测骨肉瘤预后不良的效能高于目前的检测指标。此外,本研究发现 MELK 和 miR-23a 两者联合时其敏感度及特异度显著升高,提示在骨肉瘤临床诊疗方面应将 miR-23a 及 MELK 有机结合以提高效能。

综上所述,骨肉瘤患者 miR-23a、MELK 表达升高,与肿瘤最大径、远处转移及 Enneking 分期等传统指标存在相关性,在骨肉瘤病情及预后评估中具有更高的临床价值,miR-23a、MELK 二者联合检测时可显著提高敏感度及特异度。值得注意的是,本研究中 miR-23a、MELK 的检测均为病理组织标本,存在受制于病理标本的缺点,外周血 miR-23a、MELK 检测可能更适合临床应用,但其具体价值有待于进一步大规模临床试验研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨琼:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;李健伟:进行统计学分析;曾寒、欧阳柳:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;郑冲:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Shoaib Z, Fan TM, Irudayaraj J. Osteosarcoma mechanobiology and therapeutic targets [J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(2): 201-217. DOI: 10.1111/bph.15713.
- [2] 易鹏,徐雄峰,姚佳伟,等.儿童骨肉瘤预后因素及列线图构建[J].疑难病杂志,2020,19(9): 926-930. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.015.
- [3] Sun Y, Zhang C, Fang Q, et al. Abnormal signal pathways and tumor heterogeneity in osteosarcoma [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 99. DOI: 10.1186/s12967-023-03961-7.
- [4] Wu C, Gong S, Duan Y, et al. A tumor microenvironment-based prognostic index for osteosarcoma [J]. J Biomed Sci, 2023, 30(1): 23. DOI: 10.1186/s12929-023-00917-3.
- [5] Abdollahi E, Mozdarani H, Alizadeh BZ. Role of circ-FOXO3 and miR-23a in radiosensitivity of breast cancer [J]. Breast Cancer, 2023, 30(5): 714-726. DOI: 10.1007/s12282-023-01463-4.
- [6] Zuo H, Liu S, Li X, et al. miR-23a-3p promotes the development of colon cancer by inhibiting the expression of NDRG4 [J]. Clin Transl Oncol, 2023, 25(4): 933-940. DOI: 10.1007/s12094-022-02996-4.
- [7] Laha D, Grant R, Mishra P, et al. Preclinical assessment of synergistic efficacy of MELK and CDK inhibitors in adrenocortical cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 282. DOI: 10.1186/s13046-022-02464-5.
- [8] Yang H, Zhou H, Wang G, et al. MELK is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltration in glioma [J]. Front Neurol, 2022, 13(4): 977180. DOI: 10.3389/fneur.2022.977180.
- [9] 中国医师协会骨科医师分会骨肿瘤专业委员会,郭卫,牛晓辉,等.骨肉瘤临床循证诊疗指南[J].中华骨与关节外科杂志,2018,11(4): 288-301. DOI: 10.3969/j.issn.2095-9958.2018.04.005.
- [10] Jiang M, Jike Y, Liu K, et al. Exosome-mediated miR-144-3p promotes ferroptosis to inhibit osteosarcoma proliferation, migration, and invasion through regulating ZEB1 [J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 113. DOI: 10.1186/s12943-023-01804-z.
- [11] Yang F, Liu Y, Xiao J, et al. Circ-CTNNB1 drives aerobic glycolysis and osteosarcoma progression via m6A modification through interacting with RBM15 [J]. Cell Prolif, 2023, 56(1): e13344. DOI: 10.1111/cpr.13344.
- [12] Uric I, Jovicic MS, Ostojic K, et al. Cellular and genetic background of osteosarcoma [J]. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45(5): 4344-4358. DOI: 10.3390/cimb45050276.
- [13] 万晶晶,姚莉,李梦琳,等.TOP2A 联合 miR-21 检测在宫颈癌病情及预后评估中的价值[J].疑难病杂志,2023,22(10): 1045-1050. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.10.007.
- [14] 洪佳,黄金玲,杨琼琼,等.miR-200c 联合 MORC2 检测在卵巢癌病情及预后评估中的临床价值[J].疑难病杂志,2024,23(4): 407-411. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.04.005.
- [15] Petrovic N, Stanojkovic TP, Nikitovic M. MicroRNAs in prostate cancer following radiotherapy: Towards predicting response to radiation treatment [J]. Curr Med Chem, 2022, 29(9): 1543-1560. DOI: 10.2174/0929867328666210804085135.
- [16] Fan X, Tao S, Li Q, et al. The miR-23a/27a/24-2 cluster promotes postoperative progression of early-stage non-small cell lung cancer [J]. Mol Ther Oncolytics, 2022, 24(7): 205-217. DOI: 10.1016/j.omto.2021.12.014.
- [17] Simeone I, Rubolino C, Noviello T, et al. Prediction and pan-cancer analysis of mammalian transcripts involved in target directed miRNA degradation [J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(4): 2019-2035. DOI: 10.1093/nar/gkac057.
- [18] Hussien BM, Ahmadi G, Marzban H, et al. The role of HPV gene expression and selected cellular MiRNAs in lung cancer development [J]. Microb Pathog, 2021, 150(10): 104692. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104692.
- [19] Li Z, Zhou H, Zhai X, et al. MELK promotes HCC carcinogenesis through modulating cuproptosis-related gene DLAT-mediated mitochondrial function [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(11): 733. DOI: 10.1038/s41419-023-06264-3.

(下转 1192 页)

- [13] Zhang H ,Liu R ,Jing Z ,et al. LRRC8A as a central mediator promotes colon cancer metastasis by regulating PIP5K1B/PIP2 pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* ,2024 ,1870(4) : 1670-1686. DOI: 10.1016/j.bbadis.2024.167066.
- [14] Yoshimoto S ,Matsuda M ,Kato K ,et al. Volume-regulated chloride channel regulates cell proliferation and is involved in the possible interaction between TMEM16A and LRRC8A in human metastatic oral squamous cell carcinoma cells [J]. *Eur J Pharmacol* ,2021 ,895(8) : 1738-1746. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.173881.
- [15] Widmer CA ,Klebic I ,Domanitskaya N ,et al. Loss of the volume-regulated anion channel components LRRC8A and LRRC8D limits platinum drug efficacy [J]. *Cancer Res Commun* ,2022 ,2(10) : 1266-1281. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0208.
- [16] 韦有生,姚德生,李力,等. METTL14 在卵巢上皮性癌组织中的表达及对 A2780、SKOV3 细胞增殖、侵袭和迁移的影响 [J]. *中华妇产科杂志* ,2022 ,57(1) : 46-56. DOI: 10.3760/cma.j.cn112141-20210925-00553.
- [17] 赵满英,伍东月,杜瑞亭,等. METTL14 介导 ER α 的 m6A 修饰调控子宫内膜癌转移的机制研究 [J]. *中国癌症杂志* ,2023 ,33(3) : 250-259. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2023.03.008.
- [18] Geng F ,Fan MJ ,Li J ,et al. Knockdown of METTL14 inhibits the growth and invasion of cervical cancer [J]. *Transl Cancer Res* ,2019 ,8(6) : 2307-2315. DOI: 10.21037/ter.2019.09.48.
- [19] Xie Q ,Li Z ,Luo X ,et al. piRNA-14633 promotes cervical cancer cell malignancy in a METTL14-dependent m6A RNA methylation manner [J]. *J Transl Med* ,2022 ,20(1) : 51-62. DOI: 10.1186/s12967-022-03257-2.
- [20] Liu X ,Xiao M ,Zhang L ,et al. The m6A methyltransferase METTL14 inhibits the proliferation ,migration and invasion of gastric cancer by regulating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *J Clin Lab Anal* ,2021 ,35(3) : 2365-2375. DOI: 10.1002/jcla.23655.
- [21] 玛海亚木古丽·克依木,热孜婉古丽·吾布力,克热曼·牙库甫,等. 基于列线图生存预测模型探讨血清学指标对宫颈癌预后的判断价值 [J]. *疑难病杂志* ,2023 ,22(11) : 1186-1190. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.11.013.
- [22] Wang B ,Mao Z ,Ye J ,et al. Glycolysis induced by METTL14 is essential for macrophage phagocytosis and phenotype in cervical cancer [J]. *J Immunol* ,2024 ,212(4) : 723-736. DOI: 10.4049/jimmunol.2300339.
- [23] Han C ,Hu C ,Liu T ,et al. IGF2BP3 enhances lipid metabolism in cervical cancer by upregulating the expression of SCD [J]. *Cell Death Dis* ,2024 ,15(2) : 138-147. DOI: 10.1038/s41419-024-06520-0.
- [24] 张海花,雷燕,刘宇,等. m6A 修饰与妇科恶性肿瘤相关性的研究进展 [J]. *临床误诊误治* ,2024 ,37(1) : 147-152. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2024.01.026.
- [25] Lu W ,Yang X ,Zhong W ,et al. METTL14-mediated m6A epitranscriptomic modification contributes to chemotherapy-induced neuropathic pain by stabilizing GluN2A expression via IGF2BP2 [J]. *J Clin Invest* ,2024 ,134(6) : 1748-1757. DOI: 10.1172/JCI174847.

(收稿日期: 2024-07-05)

(上接 1186 页)

- [20] Ren L ,Guo JS ,Li YH ,et al. Structural classification of MELK inhibitors and prospects for the treatment of tumor resistance: A review [J]. *Biomed Pharmacother* ,2022 ,156(2) : 113965. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113965.
- [21] Hardeman AA ,Han YJ ,Grushko TA ,et al. Subtype-specific expression of MELK is partly due to copy number alterations in breast cancer [J]. *PLoS One* ,2022 ,17(6) : e0268693. DOI: 10.1371/journal.pone.0268693.
- [22] Zhu X ,Zhang E ,Qin L. The high expression of TOP2A and MELK induces the occurrence of psoriasis [J]. *Aging (Albany NY)* ,2024 ,16(4) : 3185-3199. DOI: 10.18632/aging.205519.
- [23] 张钊红,全昱冲,关德凤,等. 母体胚胎亮氨酸拉链激酶与妇科恶性肿瘤的相关研究 [J]. *临床误诊误治* ,2020 ,33(8) : 112-116. DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2020.08.023.
- [24] Salim Jeddo(萨利姆). MELK 是骨肉瘤的不良预后标志物和治疗靶 [D]. 济南: 山东大学 ,2021.
- [25] 孟杨,王绍伟,王宪峰,等. 瑞芬太尼调控 miR-148a 对骨肉瘤细胞生物行为的影响 [J]. *疑难病杂志* ,2020 ,19(4) : 371-375. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.04.011.
- [26] Li R ,Yan L ,Jiu J ,et al. PSME2 offers value as a biomarker of M1 macrophage infiltration in pan-cancer and inhibits osteosarcoma malignant phenotypes [J]. *Int J Biol Sci* ,2024 ,20(4) : 1452-1470. DOI: 10.7150/ijbs.90226.
- [27] Guo T ,Wei R ,Dean DC ,et al. SMARCB1 expression is a novel diagnostic and prognostic biomarker for osteosarcoma [J]. *Biosci Rep* ,2022 ,42(1) : BSR20212446. DOI: 10.1042/BSR20212446.
- [28] 易鹏,徐雄峰,姚佳炜,等. 儿童骨肉瘤预后因素及列线图的构建 [J]. *疑难病杂志* ,2020 ,19(9) : 926-930. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.015.
- [29] Gao X ,Gao B ,Li S. Extracellular vesicles: A new diagnostic biomarker and targeted drug in osteosarcoma [J]. *Front Immunol* ,2022 ,13(9) : 1002742. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1002742.
- [30] Han Z ,Peng X ,Yang Y ,et al. Integrated microfluidic-SERS for exosome biomarker profiling and osteosarcoma diagnosis [J]. *Biosens Bioelectron* ,2022 ,217(2) : 114709. DOI: 10.1016/j.bios.2022.114709.

(收稿日期: 2024-05-30)