

# circ0000781 通过吸附 miR-21-5p 调控 BTG2 表达抑制骨肉瘤增殖和侵袭的机制\*

徐斌<sup>1</sup> 付玲钰<sup>2</sup> 张波<sup>1</sup> 吴辉<sup>1</sup> 张旭乾<sup>3</sup>

(南充市中心医院·川北医学院第二临床医学院 1. 骨科; 2. 健康管理中心; 3. 病理科, 四川 南充 637000)

**【摘要】** **目的** 探讨 circ0000781 通过吸附 miR-21-5p 调控 BTG2 表达在骨肉瘤增殖中的作用及机制, 为骨肉瘤提供新的治疗靶点。**方法** 采用 qRT-PCR 检测骨肉瘤细胞中 BTG2 的表达, CCK-8 法检测细胞增殖能力, Transwell 法检测细胞侵袭能力, 生物学数据库和双荧光素酶报告基因法证实 BTG2 与 miR-21-5p, miR-21-5p 与 circ0000781 靶向结合。**结果** BTG2 在骨肉瘤细胞中低表达, 过表达 BTG2 可抑制骨肉瘤细胞的增殖活性及侵袭能力。miR-21-5p 可靶向结合 BTG2 并负调控 BTG2 表达, circ0000781 可靶向结合 miR-21-5p 并下调 miR-21-5p 的表达, 过表达 circ0000781 可上调 BTG2 表达。**结论** BTG2 在骨肉瘤中作为抑癌基因发挥作用, circ0000781 通过吸附 miR-21-5p 上调 BTG2 表达抑制骨肉瘤细胞增殖和侵袭。

**【关键词】** 骨肉瘤; circ0000781; miR-21-5p; B 细胞易位基因 2

**【中图分类号】** R738.1 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 05. 005

## circ0000781 inhibits osteosarcoma proliferation and invasion by sponging miR-21-5p and regulating BTG2 expression

XU Bin<sup>1</sup>, FU Lingyu<sup>2</sup>, ZHANG Bo<sup>1</sup>, WU Hui<sup>1</sup>, ZHANG Qiankun<sup>3</sup>

(1. Department of Orthopaedics, Nanchong Central Hospital, The Second Clinical Medical School of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Health Management Center, Nanchong Central Hospital, The Second Clinical Medical School of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China;

3. Department of Pathology, Nanchong Central Hospital, The Second Clinical Medical School of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

**【Abstract】** **Objective** This study aimed to explore the role and mechanism of circ0000781 in osteosarcoma(OS) proliferation by sponging miR-21-5p and regulating BTG2 expression and provide a novel therapeutic target for the OS. **Methods** QRT-PCR was used to detect the expression of BTG2 in OS cell lines. CCK8 was used to detect the proliferation ability of cells in each group. Transwell assay were performed to detect OS cells invasion ability. Biological database and luciferase reporter were performed to confirm the binding of BTG2 with miR-21-5p and miR-21-5p with circ0000781. **Results** BTG2 was lowly expressed in OS cell lines, and enforced-expression of BTG2 inhibited OS cell proliferation and invasion ability. miR-21-5p can target to bind BTG2 and negatively regulate BTG2 expression, and circ0000781 can target to bind miR-21-5p and down regulate miR-21-5p expression, overexpression of circ0000781 increased the expression level of BTG2. **Conclusion** BTG2 acts as a tumor suppressor gene in OS, circ0000781 inhibits osteosarcoma proliferation and invasion by sponging miR-21-5p and upregulating BTG2 expression.

**【Key words】** Osteosarcoma; circ0000781; miR-21-5p; B-cell translocation gene 2

基金项目:四川省科技厅重点研发项目(2020YFS0529);南充市应用技术与开发资金项目(20YFZJ0010)

通信作者:张波, E-mail: 1138340730@qq.com

引用本文:徐斌,付玲钰,张波,等. circ0000781 通过吸附 miR-21-5p 调控 BTG2 表达抑制骨肉瘤增殖和侵袭的机制研究[J]. 西部医学, 2022, 34(5):652-657. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 05. 005

骨肉瘤是儿童和青少年最常见的恶性骨肿瘤之一,每年全球新发病例约为 400 万<sup>[1-4]</sup>。骨肉瘤早期诊断较困难,目前新辅助化疗联合肿瘤切除术是骨肉瘤的主要治疗方法,但预后较差<sup>[5-7]</sup>。尽管骨肉瘤的治疗手段不断更新,但是转移或复发的骨肉瘤患者死亡率仍然很高,总生存率低于 20%<sup>[8-10]</sup>。骨肉瘤患者预后差的原因是其发病机制尚不清楚且存在争议,因此进一步研究骨肉瘤增殖和转移的机制,寻找新的肿瘤标志物和治疗靶点就显得非常重要。BTG2 是 BTG/TOB 家族中的关键基因,与包括肿瘤在内的多种生物学现象有关<sup>[11]</sup>。既往研究发现 BTG2 在多种肿瘤组织中低表达<sup>[12-14]</sup>,也有研究证实 BTG2 在骨肉瘤组织中的表达水平明显降低<sup>[15]</sup>,提示 BTG2 可能作为抑癌基因发挥作用,然而 BTG2 对骨肉瘤细胞增殖的影响及其上游调控机制尚不明确。本研究深入探讨了 BTG2 在骨肉瘤发病中的作用及其上游调控机制,以期为骨肉瘤的早期诊断和治疗提供新的生物标志物和作用靶点。

## 1 材料与方法

1.1 材料 人骨肉瘤细胞株,正常人成骨细胞 hFOB1.19 细胞株和 3 种人骨肉瘤细胞株(HOS、MG63 和 Saos-2)购自美国种质保藏中心。用含有 10%胎牛血清的 DMEM-F12(Gibco,Carlsbad,USA)培养 hFOB1.19 细胞。三种骨肉瘤细胞在含有 100 U/mL 青霉素,100 mg/mL 链霉素和 10%胎牛血清的 DMEM(Gibco)中培养,培养箱内温度为 37℃,并含有 5% CO<sub>2</sub>。

1.2 细胞转染 miR-21-5p mimic、miR-21-5p inhibitor 及 BTG2 siRNA(5'-GCUCCAUCUGCGUCUU-GUA-3')购自 RiboBio 公司(Guangzhou,China),circ0000781 过表达载体 PcDNA3.1-circ0000781 质粒和 BTG2 过表达载体 PcDNA3.1-BTG2 质粒购自 GeneChem 公司(Shanghai,China)。根据制造商的说明,使用 Lipofectamine 2000 试剂(Life Technologies,Carlsbad,USA)进行转染,转染后 48 h 收集细胞进行后续实验。

1.3 qRT-PCR 根据制造商说明书使用 TRIzol(Invitrogen,Carlsbad,CA,USA)从细胞中提取总 RNA,再应用 Primescript 逆转录试剂盒(Takara,Otsu,Shiga,Japan)逆转录成 cDNA。然后用 PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix(Applied Biosystems,美国)对 cDNA 进行 PCR 扩增。BTG2 引物序列如下:5'-GCGTGAGCGAGCAGAGGCTT-3'(forward),5'-GGCTGGCCACCCTGCTGATG-3'(reverse)。miR-21-

5p 引物序列如下:5'-CTTACTTCTCTGTGTGATTTCTGTG-3'(forward),5'-ACAACCTTCCAAAATCCATGAGGC-3'(reverse)。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法记录 mRNA 相对表达水平。

1.4 CCK-8 CCK-8 用于检测细胞增殖能力。将处理过的细胞用胰蛋白酶消化后接种到 96 孔板(每孔约 2000 个细胞),每组 5 个重复。用 CCK8 分析不同时间点(接种后 24、48 和 72 h)的细胞增殖活性。

1.5 Transwell 按照制造商的说明(BD Biosciences,Bedford,MA,USA),将预涂有 Matrigel 的 Transwell 小室用于细胞侵袭分析。1×10<sup>5</sup> 处理过的 OS 细胞添加到上室,600 ul 培养基添加到下室,细胞培养 24 h。在倒置光学显微镜下(Zeiss,Primovert)随机取三个视野计算侵袭细胞数。

1.6 生物信息学数据库使用 通过生物信息学数据库 Targetscan([http://www.targetscan.org/vert\\_71/](http://www.targetscan.org/vert_71/))筛选可与 BTG2 靶向结合的 miRNA,再通过 Circular RNA Interactome(<https://circinteractome.nih.gov/>)数据库预测可与 miR-21-5p 靶向结合的 circRNA。

1.7 荧光素酶报告实验 设计含有 circ0000781 野生型序列和突变型序列及 BTG2 野生型序列和突变型序列的荧光素酶报告质粒(Shanghai GeneChem Co)。将骨肉瘤细胞与报告质粒和 miR-21-5p mimic 或阴性对照模拟物(NC)共转染并培养 24 h,然后用双荧光素酶报告系统(Promega)测定荧光素酶活性。

1.8 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间比较采用 *t* 检验,多组间统计差异采用单因素方差分析,然后采用 Newman-Keuls 检验,评价各组间差异,并进行重复测量方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 BTG2 在骨肉瘤细胞中的表达 PCR 结果显示,与正常人成骨细胞 hFOB1.19 细胞株(0.99 ± 0.07)相比,骨肉瘤 HOS(0.65 ± 0.05)、MG63(0.42 ± 0.04)和 Saos-2(0.71 ± 0.06)细胞中 BTG2 表达水平明显降低,在 MG63 细胞中的表达水平最低,故选择 MG63 细胞进行后续实验,见图 1。

2.2 BTG2 对细胞增殖的影响 通过 PcDNA3.1-BTG2 质粒在 MG63 细胞中过表达 BTG2,与空载组和空白对照组相比,BTG2 过表达组细胞增殖能力明显降低,差异具有统计学意义(*P* < 0.05),见表 1。

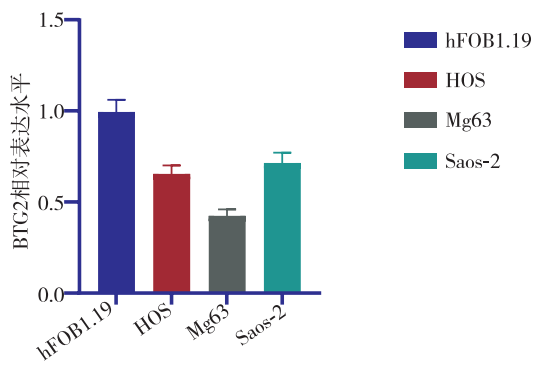


图 1 BTG2 在细胞株中表达水平  
Figure 1 BTG2 expression level in cell lines

表 1 过表达 BTG2 对细胞增殖的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	24 h	48 h	72 h
空载组	0.38±0.02	0.64±0.04	0.81±0.04
空白对照组	0.39±0.02	0.62±0.03	0.80±0.05
BTG2 过表达组	0.37±0.03	0.47±0.03	0.60±0.05

2.3 BTG2 对细胞侵袭的影响 通过 Transwell 法发现,与空载组 ( $92.67 \pm 5.15$ ) 和空白对照组 ( $94.33 \pm 4.04$ ) 相比, BTG2 过表达组细胞侵袭能力明显降低 ( $36.33 \pm 2.52$ ), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 2。

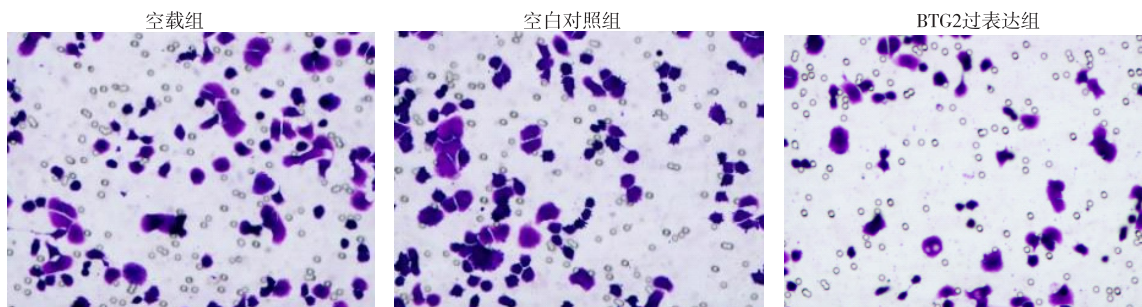


图 2 BTG2 对细胞侵袭的影响  
Figure 2 Effect of BTG2 on invasion

2.4 BTG2 可与 miR-21-5p 靶向结合 通过 Tar- getscan 发现 miR-21-5p 含有 BTG2 的结合位点, 进

一步通过荧光素酶报告实验证实 BTG2 可与 miR-21-5p 靶向结合, 见图 3、图 4。

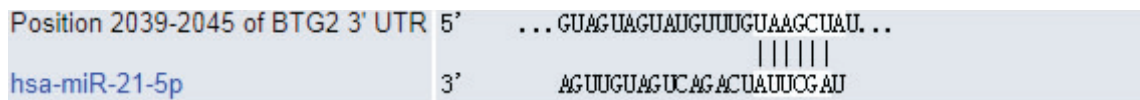


图 3 miR-21-5p 与 BTG2 结合位点  
Figure 3 Binding site of miR-21-5p and BTG2

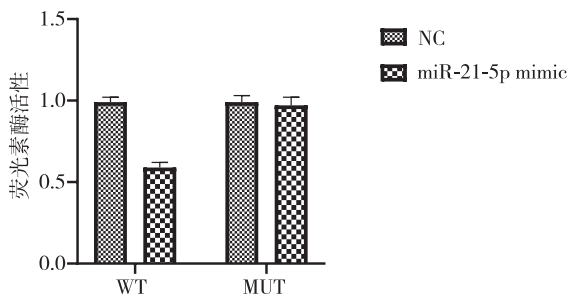


图 4 双荧光素酶报告实验结果  
Figure 4 Luciferase reporter gene assay

miR-21-5p 过表达组中 BTG2 表达水平明显降低 ( $0.59 \pm 0.04$ ), 说明 miR-21-5p 负调控 BTG2 的表达, 见图 5。

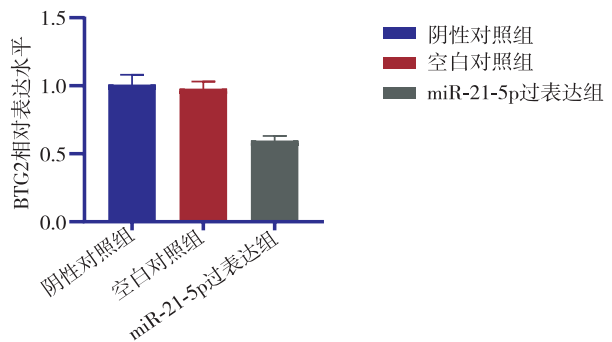


图 5 miR-21-5p 负调控 BTG2 表达  
Figure 5 miR-21-5p negatively regulates BTG2 expression

2.5 miR-21-5p 负调控 BTG2 在 MG63 细胞中 转染 miR-21-5p mimic 过表达 miR-21-5p, 发现与阴性 对照组(miR-21-5p mimic NC)和空白对照组(Blank) 相比(分别为  $1.00 \pm 0.08$ ,  $0.97 \pm 0.06$ ) 相比,

2.6 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞增殖  
为证实 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞增殖,本研究设立对照组, miR-21-5p mimic, miR-21-5p mimic NC 及 miR-21-5p mimic+ BTG2 过表达组,检测细胞增殖能力,结果显示与对照组和 miR-21-5p mimic NC 组相比, miR-21-5p mimic 组细胞增殖能力明显增强,但是与 miR-21-5p mimic 组相比, miR-21-5p mimic+BTG2 过表达组细胞增殖能力则有所降低,说明 BTG2 可逆转 miR-21-5p 对细胞增殖的促进作用,见表 2。

2.7 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞侵袭  
为证实 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞侵袭,本研究设立对照组, miR-21-5p mimic, miR-21-5p mimic NC 及 miR-21-5p mimic+ BTG2 过表达组,检测细胞侵袭能力,结果显示与对照组(39.00±2.00)和 miR-21-5p mimic NC 组(37.67±4.51)相比, miR-21-5p mimic 组(84.00±3.00)细胞侵袭能力明显增强,但是与 miR-21-5p mimic 组相比, miR-21-5p

表 2 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞增殖( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 miR-21-5p promoted cell proliferation by negatively regulate BTG2

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0.31±0.04	0.48±0.04	0.66±0.04
miR-21-5p mimic NC 组	0.32±0.04	0.50±0.05	0.68±0.06
miR-21-5p mimic 组	0.33±0.04	0.64±0.06	0.84±0.05
miR-21-5p mimic+ BTG2 过表达组	0.29±0.03	0.55±0.03	0.75±0.05

mimic+ BTG2 过表达组(64.67±4.04)细胞侵袭能力则有所降低,说明 miR-21-5p 对细胞侵袭的促进作用可被 BTG2 逆转,见图 6。

2.8 circ0000781 可与 miR-21-5p 靶向结合 通过 Circular RNA Interactome 发现, circ0000781 含有 miR-21-5p 结合位点,进一步通过通过荧光素酶报告实验证实 circ0000781 可与 miR-21-5p 靶向结合,见图 7、图 8。

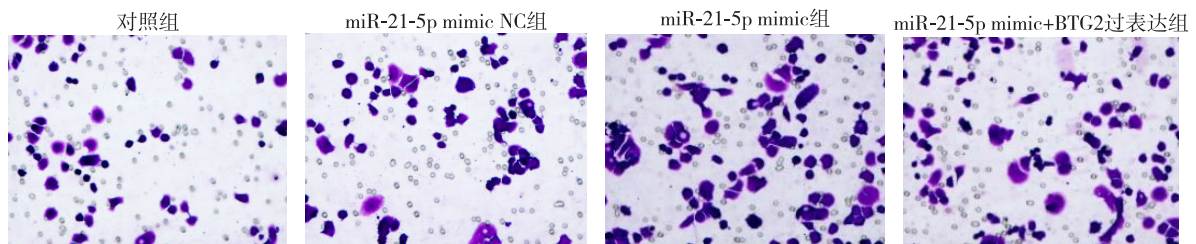


图 6 miR-21-5p 通过负调控 BTG2 促进细胞侵袭

Figure 6 miR-21-5p promoted cell invasion by negatively regulate BTG2

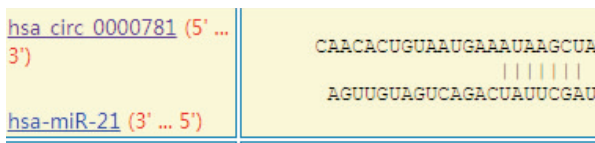


图 7 circ0000781 与 miR-21-5p 可能结合位点

Figure 7 Binding site of circ0000781 and miR-21-5p

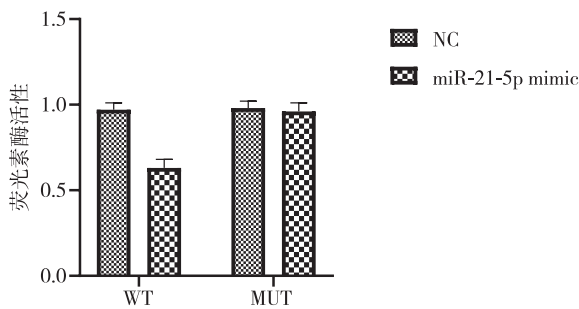


图 8 双荧光素酶报告实验结果

Figure 8 Luciferase reporter gene assay

PcDNA3.1-circ0000781 质粒在 MG63 细胞中过表达 circ0000781,发现与空载组(Vector)和空白对照组(Blank)相比(分别为 1.03±0.04, 0.97±0.06), circ0000781 过表达组 miR-21-5p 表达水平明显降低(0.60±0.07),证实 circ0000781 可下调 miR-21-5p 表达,见图 9。

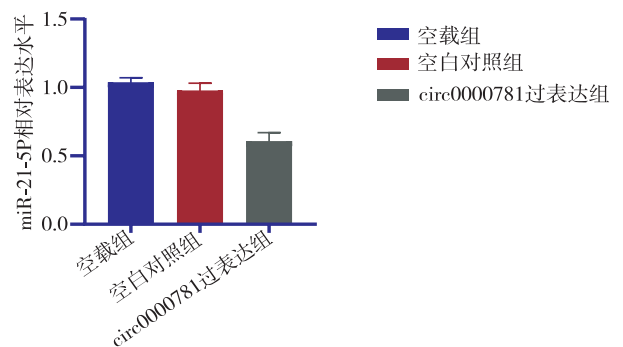


图 9 circ0000781 负调控 miR-21-5p 表达

Figure 9 circ0000781 negatively regulates miR-21-5p expression

2.9 circ0000781 负调控 miR-21-5p 表达 通过

2.10 circ0000781 通过负调控 miR-21-5p 上调 BTG2 表达 本研究设立对照组, circ0000781 过表达组, PcDNA3. 1-circ0000781 NC (空载组) 组及 circ0000781 过表达 + miR-21-5p mimic 组, 结果发现与对照组(0.70±0.07)和空载组(0.72±0.06)相比, circ0000781 过表达组中 BTG2 表达水平明显增高(0.90±0.06), 但是与 circ0000781 过表达组相比, circ0000781 过表达 + miR-21-5p mimic 组中 BTG2 表达水平则有所降低(0.79±0.04), 说明 miR-21-5p 可逆转 circ0000781 对 BTG2 表达的促进作用, 见图 10。

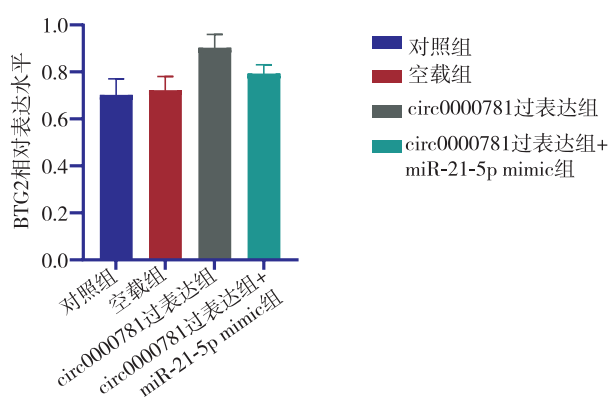


图 10 circ0000781 通过负调控 miR-21-5p 上调 BTG2 表达

Figure 10 circ0000781 upregulated BTG2 expression by negatively regulate miR-21-5p

### 3 讨论

BTO/TOB 家族是 20 世纪 90 年代发现的一个抗增殖蛋白家族。既往研究发现 BTG2 在多种组织中均有表达, 参与细胞分化、增殖、DNA 损伤修复及细胞凋亡等多种生物活性。研究表明 BTG2 可使细胞周期阻滞在 G0 和 G1 期从而抑制细胞增殖, 也有研究发现 BTG2 可通过调控 p38 和 MAPK 信号通路下调口腔鳞癌细胞增殖活性<sup>[16-17]</sup>。Gu 等<sup>[15,18]</sup>的研究证实 BTG2 在骨肉瘤组织中低表达, 并且 BTG2 可通过 PI3K-AKT 信号通路抑制骨肉瘤细胞增殖和转移。本研究也发现 BTG2 在骨肉瘤细胞中的表达水平相比于正常人成骨细胞明显降低, 并且过表达 BTG2 可明显抑制骨肉瘤细胞的增殖和侵袭能力, 证实 BTG2 在骨肉瘤中扮演着抑癌基因的角色, 与既往结果相符, 表明 BTG2 是一个极具前景的骨肉瘤治疗新靶点。

虽然本研究表明 BTG2 在骨肉瘤中作为抑癌基因发挥作用, 然而调控其表达的上游机制尚不明确。miRNA 是一类单链非编码小 RNA(18-25nt), 它们广泛存在于真核生物中并可与靶基因的 3-UTR 结合,

通过 mRNA 降解或翻译抑制负调控基因表达<sup>[19]</sup>。通过生物信息学数据库 Targetscan 我们发现 BTG2 mRNA 的 3-UTR 中含有 miR-21-5p 的结合位点, 进一步双荧光素酶报告基因法证实 BTG2 可与 miR-21-5p 靶向结合。miR-21-5p 对肿瘤发生发展的调控作用已得到广泛的证实。如 miR-21-5p 通过靶向 SMAD7 促进非小细胞肺癌增殖、迁移和侵袭, 并且 miR-21-5p 在复发性胃癌中高表达, 可作为胃癌的潜在预后因子<sup>[20-21]</sup>。除此之外 Zhang 等<sup>[22]</sup>的研究发现 miR-21-5p 在骨肉瘤组织中高表达, 然而 miR-21-5p 在骨肉瘤中的调控网络尚不清楚。本研究发现 miR-21-5p 可负调控 BTG2 的表达, miR-21-5p 还可促进骨肉瘤细胞增殖和侵袭, 然而 miR-21-5p 对骨肉瘤细胞增殖和侵袭的促进作用可被 BTG2 逆转, 证实 miR-21-5p 作为癌基因通过抑制抑癌基因 BTG2 的表达促进骨肉瘤细胞增殖和侵袭。

进一步我们探讨了 miR-21-5p 的上游调控基因。基于环状 RNA(circularRNAs, circRNAs)在肿瘤中的重要作用及其与 microRNA 的密切关系, 我们将目光转向 circRNAs。circRNA 是一类双链闭合 RNA, 其 3'和 5'末端连接形成共价闭合的环状结构, 大部分属于非编码 RNA<sup>[23]</sup>。研究表明, circRNA 在肿瘤中可以作为“海绵”来阻断及竞争性抑制 miRNA 来发挥作用, 因此 circRNA 可以作为内源性竞争 RNA 参与肿瘤的发病<sup>[24]</sup>。鉴于 circRNA 在肿瘤发生中的重要作用, 我们通过生物信息学数据库 Circular RNA Interactome 筛选可与 miR-21-5p 靶向结合的 circRNA, 发现 circ0000781 含有 miR-21-5p 结合位点, 接下来的荧光素酶报告实验证实 circ0000781 可与 miR-21-5p 靶向结合, 并且 circ0000781 可负调控 miR-21-5p 表达。本研究还发现 circ0000781 可上调 BTG2 的表达, 但是过表达 miR-21-5p 后 BTG2 的表达水平则明显降低, 说明 miR-21-5p 可逆转 circ0000781 对 BTG2 表达的促进作用。

### 4 结论

本研究结果显示, BTG2 在骨肉瘤细胞中低表达并可抑制骨肉瘤细胞增殖和侵袭。进一步在探寻 BTG2 上游调控机制的过程中发现 circ0000781 可作为海绵竞争性抑制 miR-21-5p 的表达, 最终通过上调 BTG2 的表达降低骨肉瘤细胞的增殖活性和侵袭能力。这表明 circ0000781/miR-21-5p/BTG2 信号轴可作为骨肉瘤治疗的潜在作用靶点。

### 【参考文献】

[1] P HUANG, J ZHAO, M FOWDUR, et al. Knockdown of

- RPL34 suppresses osteosarcoma cell proliferation likely through EIF3/FAU signaling pathway[J]. *Transl Cancer Res*, 2019, 8(3):848-855.
- [2] 孙杰, 万里, 王俊. 长链非编码 RNA 淋巴样增强因子 1 反义 RNA201 调控 miR-339-5p 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡作用的研究[J]. *中华骨与关节外科杂志*, 2020, 13(12):1040-1045.
- [3] 袁长深, 容伟明, 卢智贤, 等. 基于生物信息学构建骨肉瘤 miRNA-mRNA 的调控网络[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(17):2740-2746.
- [4] 黄媚, 陈熙, 邹军. m6A 甲基化调控骨肉瘤的研究进展[J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(11):2045-2051.
- [5] BROCK A LINDSEY, JUSTIN E MARKEL, EUGENIE S KLEINERMAN. Osteosarcoma overview [J]. *Rheumatol Ther*, 2017, 4(1):25-43.
- [6] 曹莉莉, 朱岩, 樊根涛, 等. 骨肉瘤的治疗进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2020, 9(10):771-778.
- [7] 宋毅昌. Notch 信号通路在增强骨肉瘤化学治疗药物疗效中的机制[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2020, 45(10):1234-1240.
- [8] DOUGLAS J HARRISON, DAVID S GELLER, JONATHAN D GILL, *et al*. Current and future therapeutic approaches for osteosarcoma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(1):39-50.
- [9] SI CHEN, WEIGUO LI, AI GUO. LOXL1-AS1 predicts poor prognosis and promotes cell proliferation, migration, and invasion in osteosarcoma [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(4):BSR20190447.
- [10] 唐定波, 肖继伟, 易颖. 骨肉瘤患者治疗前后血清 LDH20ALP 及 TSGF 水平变化与预后的相关性[J]. *西部医学*, 2019, 31(8):1219-1222.
- [11] BENJAMIN STUPFLER, CATHERINE BIRCK, BERTRAND SÉRAPHIN, *et al*. BTG2 bridges PABPC1 RNA-binding domains and CAF1 deadenylase to control cell proliferation[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:10811.
- [12] SHUOXI LI, YU HAN, XUESONG LIANG, *et al*. LINC01089 inhibits the progression of cervical cancer via inhibiting miR-27a-3p and increasing BTG2[J]. *J Gene Med*, 2020, e3280.
- [13] SHI LI, YANAN SHAN, XIAOYA LI, *et al*. lncRNA SNHG5 Modulates Endometrial Cancer Progression via the miR-25-3p/BTG2 Axis[J]. *J Oncol*, 2019, 2019:7024675.
- [14] QINGBIN LI, QIANG SUN, BAOYU ZHU, *et al*. LncRNA XIST Inhibits the Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma via Sponging miR-455-3p/BTG2 Axis[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:11211-11220.
- [15] ZHIQIAN GU, SHAO KUN WU, GUOXING XU, *et al*. miR-487a performs oncogenic functions in osteosarcoma by targeting BTG2 mRNA[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(6):631-637.
- [16] LAURENSIA YUNIATI, BLANCA SCHEIJEN, LAURENS T VAN DER MEER, *et al*. Tumor suppressors BTG1 and BTG2: beyond growth control [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(5):5379-5389.
- [17] JEHN-CHUAN LEE, LI-CHUAN CHUNG, YU-JEN CHEN, *et al*. Upregulation of B-cell translocation gene 2 by epigallocatechin-3-gallate via p38 and ERK signaling blocks cell proliferation in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2015, 360(2):310-318.
- [18] YI-JIN LI, BAO-KANG DONG, MENG FAN, *et al*. BTG2 inhibits the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by suppressing the PI3K/AKT pathway[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(10):12410-12418.
- [19] 代晓燕, 赵晓龙, 李崇义, 等. miR-513a-5p 慢病毒载体的构建及其对骨肉瘤细胞放疗敏感性的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(21):3657-3661.
- [20] XIANGPAN LI, XIAOFEI WU. MiR-21-5p promotes the progression of non-small-cell lung cancer by regulating the expression of SMAD7[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11:8445-8454.
- [21] SOO-KYUNG PARK, YOUNG SOO PARK, JI YONG AHN, *et al*. MiR 21-5p as a predictor of recurrence in young gastric cancer patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2016, 31(8):1429-1435.
- [22] RUI ZHANG, TIAN XIA. Long non-coding RNA XIST regulates PDCD4 expression by interacting with miR-21-5p and inhibits osteosarcoma cell growth and metastasis[J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(5):1460-1470.
- [23] 尉嘉斌, 鹿洪亭. 环状 RNA 在儿童常见恶性实体肿瘤中的研究进展[J]. *临床小儿外科杂志*, 2020, 19(11):1012-1015.
- [24] YIZHENG WU, ZIANG XIE, JUNXIN CHEN, *et al*. Circular RNA circTADA2A promotes osteosarcoma progression and metastasis by sponging miR-203a-3p and regulating CREB3 expression[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1):73.

(收稿日期:2021-05-10;修回日期:2021-12-14;编辑:张翰林)