

MiRNA 靶向调控骨肉瘤耐药机制的研究进展

贵 鹏¹, 李朝旭², 吴 昊¹, 刘继鸿², 陈明洲²

(1. 桂林医学院附属医院, 广西 桂林 541001; 2. 桂林医学院附属南溪山医院, 广西 桂林 541003)

摘 要: MicroRNAs (miRNAs) 是一类长度为 22~25 个核苷酸的非编码小分子 RNA, 具有高度的保守性、时序性和特异性。MiRNAs 参与调节多种生物活动和病理过程, 包括肿瘤的形成和发展。骨肉瘤是一种具有很强转移性及侵袭性的恶性肿瘤, 目前骨肉瘤的治疗仍以手术及化疗为主, 然而肿瘤细胞对化疗药物的耐药性是骨肉瘤治疗及预后所面临的主要问题。近年来, 研究发现 miRNA 可调控肿瘤细胞的多种位置靶点基因, 降低甚至逆转肿瘤细胞对化疗药物的抗性, 对 miRNA 的研究可能成为改变骨肉瘤耐药机制新的治疗方向。该文对 miRNA 调控骨肉瘤的耐药机制作一综述。

关键词: 骨肉瘤; miRNAs; 耐药; 靶向调控

中图分类号: R738.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2019)09-0694-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.09.A010

Advances in MiRNA Targeting Regulation of Drug Resistance in Osteosarcoma

GUI Peng¹, Li Zhao-xu², WU Hao¹, LIU Ji-hong², CHEN Ming-zhou²

(1. Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, China; 2. Nanxishan Hospital Affiliated to Guilin Medical College, Guilin 541003, China)

Abstract: MicroRNAs (miRNAs) are non-coding small RNAs of 22~25 nucleotides in length, with high conservation, sequence and specificity. MiRNAs are involved in the regulation of a variety of biological activities and pathological processes, including the formation and progression of the tumor. Osteosarcoma is a highly metastatic and invasive malignant tumor. At present, the surgery and chemotherapy are still mainly treatment for osteosarcoma, however, the drug resistance of tumor cells is the primary issue for treatment and prognosis of patients. In recent years, it has been found that miRNA can regulate multiple target genes in tumor cells, which can reduce or even reverse the resistance of tumor cells to chemotherapeutic drugs. The study of miRNA may become a new way to change the drug resistance mechanism of osteosarcoma. This article reviews the development of mechanisms for miRNA regulation of drug-resistance in osteosarcoma.

Key words: osteosarcoma; miRNAs; drug resistance; targeting regulation

骨肉瘤是骨骼中最常见的恶性肿瘤, 恶性程度高。尽管近些年来采用手术、新辅助化疗等治疗方案, 非转移性骨肉瘤患者的预后有了显著改善, 但仍大约有三分之一的患者出现局部复发及转移^[1], 患者对化疗药物的抗性成为治疗失败的主要原因^[2]。随着研究的进展, 发现 miRNA 在骨肉瘤耐药性中扮演

着一个新兴的角色。这些过程均可调控药物在体内的代谢, 能够在降低甚至逆转骨肉瘤细胞对药物抗性方面发挥重要作用。

1 MiRNA 调控骨肉瘤生长过程

MiRNA 参与调控多种生物行为, 如细胞周期、分化、增殖、凋亡、抗应激、能量代谢、免疫应答等过程^[3]。相关研究证明, miRNA 能够靶向调控超过 5300

收稿日期: 2019-04-29; 修回日期: 2019-07-05
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81360400)
通信作者: 李朝旭, E-mail: lizhaoxu@glmc.edu.cn

个人类蛋白靶点^[4],这也说明 miRNA 几乎能够参与调节骨肉瘤的生长及发展的各个阶段。

1.1 MiRNA 靶向调控抑制骨肉瘤生长

在骨肉瘤细胞内,抑癌 miRNA 通常表达下调,其作用的基因也成为研究抑癌作用的潜在靶点。

细胞周期蛋白 D1(*cyclin D1*, *CCND1*),被称为原癌基因,它作为有丝分裂的信号传感器,其蛋白质的过度表达使肿瘤细胞周期缩短,从而导致肿瘤细胞自主无限性增殖。Han 等^[5]发现在具有转移倾向的骨肉瘤细胞中 *miRNA-195* 呈高度表达, *CCND1* 是其目标靶点。同时作者通过动物实验,发现外源性 *miR-195* 可以显著抑制体内骨肉瘤细胞的生长和转移。同样 Zhu 等^[6]发现 *miRNA-138* 可通过靶向调控 *EZH2* 起到抑癌的作用。

1.2 MiRNA 靶向调控促进骨肉瘤生长

在骨肉瘤细胞中,致癌 miRNA 通常呈高表达,并靶向抑制相关抑癌基因的表达,促进骨肉瘤的发生发展。

SASH1(SAM-and SH3-domain containing 1) 基因一种较早发现的抑癌基因^[7]。*SASH1* 基因在多种癌症中表达下调。Li 等^[8]研究表明 *miR-128* 的缺失明显抑制了 MG-63 细胞生长并促进 MG-63 细胞的凋亡。*miR-128* 通过靶向降低了 *SASH1* 的表达,促进骨肉瘤肿瘤细胞生长。Rehei 等^[9]发现 *miRNA-214* 在骨肉瘤细胞中表达上调, *miRNA-214* 通过靶向调控 *TPAF3* 基因促进 HOS 和 U2OS 细胞生长。

目前骨肉瘤的发病机制尚不清楚,但已经证实 miRNA 广泛地参与到肿瘤发生发展的过程中,从而发挥其对肿瘤的调控作用。但由于 miRNA 对骨肉瘤细胞的生长调控尚处于体外细胞层次,所以直接应用于调控骨肉瘤生长过程尚存在很大的难度。

2 骨肉瘤的耐药

化疗可以防止肿瘤细胞复发及作为对一些发生远处转移的肿瘤的姑息治疗,但肿瘤细胞的耐药性往往是导致治疗失败的主要原因。根据肿瘤的耐药机制可分为内源性耐药和获得性耐药。近十几年,化疗药物已取得很大进展,目前临床应用较多的一线化疗药物为阿霉素、顺铂、氨甲喋呤等。然而,化疗药物耐药使患者的预后仍然较差,联合化疗不仅使 5

年生存率没有明显的变化,而且产生了许多药物不良反应,目前,已有的研究认为药物转运、药物代谢、药物靶点异常、DNA 损伤反应、细胞凋亡逃避、自噬、上皮-间充质转化和活化癌症干细胞(CSCs)的激活与肿瘤耐药性相关^[10]。骨肉瘤耐药也成为临床急需解决的问题。

骨肉瘤耐药机制主要包括:①药物转运机制。药物转运机制已在肿瘤细胞耐药中得到充分研究,在细胞质膜表面存在与药物转运密切相关蛋白,即 ABC 转运蛋白(ATP-binding cassette, ABC)^[11],是耐药机制中重要介质。②DNA 损伤反应机制。肿瘤化疗药物可引起细胞 DNA 损伤并引发细胞应激反应(DDR),通过暂时的细胞周期停滞来保护肿瘤细胞逃避不可逆的损害,并进行 DNA 损伤修复^[12]。③细胞凋亡机制。细胞凋亡是一种细胞周期永久性停滞在凋亡状态为特征的级联激活过程,肿瘤细胞可干扰凋亡过程致细胞增殖不受控制,从而导致肿瘤细胞耐药表现^[13]。④自噬机制。自噬是指溶酶体降解的过程。Zhao 等^[14]揭示这种自噬降解过程能够增加骨肉瘤对细胞毒性药物的抗性。⑤肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)。肿瘤干细胞是一种具有自我分化潜能的小细胞亚群,是转移和肿瘤复发的根本来源^[15]。

与此同时,大量研究发现在耐药的骨肉瘤细胞中,都存在表达异常的 miRNA, miRNA 的靶向调控或许能够成为解决骨肉瘤患者对化疗药物抗性新的方法。

3 MiRNA 调控骨肉瘤的耐药

3.1 MiRNA 调控药物转运机制

ABC 转运蛋白中的 P-gp 蛋白是一种能量依赖性的外排泵,介导内源性物质、药物以及环境毒物的外排^[16]。Yan 等^[17]探讨了 *miR-340* 对耐药的骨肉瘤中的 P-gp 表达水平的影响。作者通过对顺铂(DDP)耐药的 MG-63 骨肉瘤细胞进行 *miR-340* 及相应对照组转染,发现外源性 *miR-340* 的高表达能有效地降低了耐药骨肉瘤细胞的 P-gp 水平,降低对药物的外排作用,增强骨肉瘤细胞对顺铂药物的敏感性。

ABCB1 是 ABC 转运蛋白家族中最具特色的转运蛋白成员,也是合成 P-gp 蛋白的底物蛋白。Zhou 等^[18]在骨肉瘤患者样本中发现对化疗药物敏感性高

的患者中,其血液及肿瘤组织中检测到呈高表达的 *miR-34*,与此同时 ABCB1 蛋白则表达降低。作者通过转染 *miR-34* 使其在骨肉瘤细胞中呈高表达,发现 *miR-34* 能够靶向下调 ABCB1 蛋白表达。当顺铂作用于细胞后,*miR-34* 能够阻碍 ABCB1 蛋白与药物分子作用,降低去磷酸化过程释放能量,减少药物外排,增强肿瘤细胞对顺铂的敏感性。

因此,当 miRNA 如果能够有效地调控药物转运机制,靶向 ABC 转运蛋白中的相应作用蛋白,减少骨肉瘤细胞对化疗药物外排机制,增强肿瘤细胞与药物反应过程及作用时间,则可以有效降低骨肉瘤患者对化疗药物的耐药性。

3.2 MiRNA 调控细胞 DNA 损伤修复

DDR 进程包含 DNA 耐受机制,碱基切除修复,核苷酸切除修复,错配修复和 DNA 双重修复^[19]。相关报道证明,miRNA 可以作为一种调节因子,通过涉及 DDR 机制调控骨肉瘤的耐药性。

已有研究证实 DDR 进程中的聚 ADP-ribose 聚合酶 1(PARP1),其相关的抑制剂可以提高肿瘤细胞对药物的敏感性^[20]。Chen 等^[21]通过转染上调 *miR-124* 表达,能够靶向降低蛋白 PARP1 表达,并且可以增强 U2OS 骨肉瘤细胞中蛋白 PARP1 的 mRNA 序列与各种 DNA 损伤药物的反应结合。降低骨肉瘤细胞中 PARP1 引起的一系列对骨肉瘤细胞中 DNA 修复过程,从而加强药物对骨肉瘤细胞的损伤作用。

WEE1 可以编码蛋白激酶,影响肿瘤细胞的 DDR 进程^[22]。Duan 等^[23]研究发现化疗敏感的骨肉瘤细胞系存在高表达的 *miR-15b*,作者通过转染过表达 *miR-15b*,发现能够抑制 *WEE1* 的基因编码活动,调节细胞周期的 G₂ 期,从而使骨肉瘤细胞对 DNA 损伤做出反应的敏感度降低,提高化疗药物的损伤作用。

骨肉瘤细胞及其他肿瘤细胞之所以能够减少甚至避免药物对细胞的损伤作用,在于其强大的 DNA 修复机制。当 miRNA 能够干涉骨肉瘤细胞的 DNA 损伤修复过程,阻碍相关机制之间的联系,降低修复能力,或许能够成为加强药物作用能力及提高骨肉瘤细胞对药物敏感度的有效方法。

3.3 MiRNA 调控细胞凋亡相关基因表达

已有研究证明 miRNA 可以通过调控肿瘤细胞中相关凋亡基因的表达及相互之间的联系,增加肿

瘤细胞对化疗敏感程度。

C-Myc 是一种转录激活因子,可控制细胞增殖,分化和转化,也可参与细胞凋亡的调控^[24]。Li 等^[25]研究发现 *miR-34a* 的过表达可以提高骨肉瘤细胞对顺铂药物的敏感性。作者通过转染高表达的 *miR-34a* 上调 *c-Myc* 因子,介导骨肉瘤细胞生长、分化、转化等方面的重要改变,提高凋亡调控和凋亡信号诱导凋亡的过程,使骨肉瘤细胞趋于正常生长,提高了顺铂药物分子的作用时间及空间。

P53 基因是正常细胞中重要的抑癌基因。发现转染高表达的 *miR-590* 可以提高骨肉瘤对多柔比星的化学抗性^[26]。作者发现 *miR-590* 能靶向激活 *p53* 基因,使骨肉瘤细胞进入 G₁ 期,降低骨肉瘤细胞对多柔比星的抗性,抑制骨肉瘤生长。

肿瘤细胞中的相关凋亡基因正常情况下处于抑制状态。也许随着凋亡基因的激活,当化疗药物使骨肉瘤细胞的 DNA 损伤时,损伤的 DNA 启动凋亡基因,使细胞生长周期停滞,生长抑制,并诱导骨肉瘤细胞进入凋亡状态,使细胞对化疗抗性降低。

3.4 MiRNA 调控骨肉瘤自噬诱导

自噬在生物降解过程中是一把双刃剑,严格控制自噬过程有利于正常细胞的生存及肿瘤细胞的凋亡。

Meng 等^[27]分别在体内外进行研究发现,体外低表达 *miR-140-5p* 可增强骨肉瘤细胞对多种化疗药物的耐药性。在体内,低表达 *miR-140-5p* 也可以增加了骨肉瘤细胞药物抗性。并证实 *HMG5* 是 *miR-140-5p* 的直接靶点,低表达 *miR-140-5* 靶向上调 *HMG5p* 基因表达,可以正向诱导细胞自噬^[28],增加骨肉瘤细胞对化疗敏感性。

Wei 等^[29]发现 *miR-140-5p* 在骨肉瘤细胞化疗过程中呈高度表达状态,并能够诱导自噬活动的发生。*miR-140-5p* 通过其作用靶点肌醇 1,4,5-三磷酸激酶 2(IP3k2)调节这种诱导性自噬。*miR-140-5p* 通过调节 IP3 信号来诱导自噬并影响骨肉瘤细胞的耐药性。

自噬诱导是肿瘤细胞自我消化的过程,也是消灭癌症最为理想的方法。但如何掌握正常细胞与骨肉瘤细胞自噬诱导平衡,如何保护正常细胞并诱导肿瘤细胞死亡则是 miRNA 靶向调控骨肉瘤自噬机制面临的挑战。

3.5 MiRNA 调控肿瘤干细胞(CSCs)

在由 MG-63 细胞系干细胞衍生得到的 3AB-OS

细胞中发现 *miR-29b-1* 显著降低, 并且 *miR-29b-1* 可以负调节一些 CSCs 的标志物, 包括 *Oct3/4*、*Sox2*、*CD133* 等^[30]。作者认为可以提高 *miR-29b-1* 的表达, 对 3AB-OS 细胞的干细胞调控其细胞增殖, 损伤修复和耐药性的影响。这些研究中发现的骨肉瘤中 miRNA 和 CSCs 之间的内在联系, 都能够为改善骨肉瘤的耐药性提供新的视角。

ZEB1 是锌指结构转录因子中的 E 盒结合锌指蛋白 (zinc finger E-box-binding protein, ZEB) 的一员, 是上皮间质转化 (EMT) 的重要介质。EMT 是指上皮细胞在内外因素刺激下转化为具有间充质表型的生物学过程^[31]。最新研究表明, EMT 与肿瘤转移、肿瘤干细胞形成及肿瘤耐药等多种恶性生物学行为密切相关。Yan 等^[17]认为 *miR-340* 也可以通过靶向提高 ZEB1 活力并增强骨肉瘤细胞对顺铂的敏感性。

通过 miRNA 靶向调控与肿瘤干细胞相联系的蛋白及基因, 从根本上抑制骨肉瘤细胞的发生过程, 是提高药物损伤骨肉瘤机制的根本。因此, 根除 CSC 被普遍认为是成功治疗癌症关键。

4 MiRNA 相关信号通路对骨肉瘤耐药性的改变

常见的骨肉瘤相关信号通路, 包括 Wnt/ β -atenin、PI3K/Akt、IGFIR、Notch、TGF- β 等等, 已经证实很多信号转导途径可以通过调节骨肉瘤增殖、生长及凋亡过程。

MiR-155 通过调节 PTEN-PI3K/AKT/mTOR 信号通路影响 MG-63 细胞系自噬过程并改变对阿霉素的耐药抗性^[32]。MiR-499a 能够调节 TGF β -miR-499a-SHKBPI 信号通路, 从而抑制与 EMT 相关激酶的合成, 逆转骨肉瘤细胞对厄洛替尼的化学抗性^[33]。

相关信号通路的研究不仅可以帮助我们进一步了解 miRNA 调控耐药性质的机制, 而且, 对影响药物抗性的相关通路及分子研究提供了新的思路。

5 展 望

MiRNA 作为骨肉瘤中的早期诊断指标及联合化疗药物日趋成熟, miRNA 也受到越来越多的关注, 相关拮抗药物或者基因模拟药物已被设计用于

癌症治疗。如何通过 miRNA 靶向调控提高药物与骨肉瘤细胞的作用时间和空间, 如何对骨肉瘤细胞停滞周期进行掌握, 如何防止骨肉瘤对化疗药物逃逸现象, 或许将成为改善骨肉瘤患者耐药性的研究方向。对化疗药物敏感的患者及化疗药物不敏感患者异常表达的 miRNA 序列进行研究, 寻找作用靶基因及信号通路, 基因编码等分子层面的治疗可能成为治疗骨肉瘤新的突破。但目前多数 miRNA 对骨肉瘤细胞的研究仍处于体外研究, 因此, 相关生物制剂的合成, 早期诊断的标准以及拮抗 miRNA 体内作用机制都将成为 miRNA 应用于临床治疗骨肉瘤患者耐药性的未知因素。

参考文献:

- [1] Xiao X, Wang W. The role of chemotherapy for metastatic, relapsed and refractory osteosarcoma [J]. Paediatr Drugs, 2014, 16(6):503-512.
- [2] Meazza C. Metastatic osteosarcoma: a challenging multidisciplinary treatment [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2016, 16(5):543-556.
- [3] Giovannetti E, Eroznici A, Smit J, et al. Molecular mechanisms underlying the role of microRNAs (miRNAs) in anticancer drug resistance and implications for clinical practice [J]. Crit Rev Oncol/Hematol, 2012, 81(2):103-122.
- [4] Lewis BP, Burge CB. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets [J]. Cell, 2005, 120(1):15-20.
- [5] 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.
- [6] Zhu Z, Tang J, Wang J, et al. MiR-138 acts as a tumor suppressor by targeting EZH2 and enhances cisplatin-induced apoptosis in osteosarcoma Cells [J]. PLoS One, 2016, 11(3):e0150026.
- [7] Zhou N, Liu C, Wang X, et al. Downregulated SASH1 expression indicates poor clinical prognosis in gastric cancer [J]. Hum Pathol, 2018, 74:83-91.
- [8] Li Z, Ni J, Song D. Regulatory mechanism of microRNA-128 in osteosarcoma tumorigenesis and evolution through targeting SASH1 [J]. Oncol Lett, 2018, 15(6):8687-8694.
- [9] Rehei AL, Zhang L, Fu YX, et al. MicroRNA-214 functions as an oncogene in human osteosarcoma by targeting TRAF3 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16):5156-5164.

- [10] Chen R, Wang G, Zheng Y, et al. Drug resistance-related microRNAs in osteosarcoma: translating basic evidence into therapeutic strategies [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2280–2292.
- [11] Chen X, Jiang M, Zhao RK. Quantitative assessment of the association between ABC polymorphisms and osteosarcoma response: a meta-analysis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(11): 4659–4664.
- [12] Alkan O, Schoeberl B, Shah M, et al. Modeling chemotherapy-induced stress to identify rational combination therapies in the DNA damage response pathway [J]. *Sci Signal*, 2018, 11(540): eaat0229.
- [13] Karpel-Massler G, Shu C, Chau L, et al. Combined inhibition of Bcl-2/Bcl-xL and Usp9X/Bag3 overcomes apoptotic resistance in glioblastoma in vitro and in vivo [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(16): 14507–14521.
- [14] Zhao D, Yuan H, Yi F, et al. Autophagy prevents doxorubicin-induced apoptosis in osteosarcoma [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(5): 1975–1981.
- [15] Shin MK. Mitochondria-centric bioenergetic characteristics in cancer stem-like cells [J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(2): 113–127.
- [16] Fang CL, Guo LL. Research situation of miRNAs in regulating chemotherapy resistance of lung cancer [J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2014, 21(1): 72–76. [方楚玲, 郭琳琅. miRNA 对肺癌化疗耐药调控研究进展 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2014, 21(1): 72–76.]
- [17] Yan H, Zhang B, Fang C. MiR-340 alleviates chemoresistance of osteosarcoma cells by targeting ZEB1 [J]. *Anti-cancer Drugs*, 2018, 29(5): 440–448.
- [18] Zhou Y, Zhao RH, Tseng KF, et al. Sirolimus induces apoptosis and reverses multidrug resistance in human osteosarcoma cells in vitro via increasing microRNA-34b expression [J]. *Acta Pharmacol Sinica*, 2016, 37(4): 519–529.
- [19] Ashok Kumar PV, Dakup PP, Sarkar S, et al. It's about time: advances in understanding the circadian regulation of DNA damage and repair in carcinogenesis and cancer treatment outcomes [J]. *Yale J Biol Med*, 2019, 92(2): 305–316.
- [20] Gill SJ, Travers J, Pshenichnaya I, et al. Combinations of PARP inhibitors with temozolomide drive PARP1 trapping and apoptosis in Ewing's sarcoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140988.
- [21] Chen SM, Chou WC, Hu LY, et al. The effect of microRNA-124 overexpression on anti-tumor drug sensitivity [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0128472.
- [22] Parsels LA, Karnak D, Parsels JD, et al. PARP1 trapping and DNA replication stress enhance radio sensitization with combined WEE1 and PARP inhibitors [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(2): 222–232.
- [23] Duan Z, Gao Y, Shen J, et al. MiR-15b modulates multidrug resistance in human osteosarcoma in vitro and in vivo [J]. *Mol Oncol*, 2017, 11(2): 151–166.
- [24] Yu W, Tang L, Lin F, et al. DGKZ acts as a potential oncogene in osteosarcoma proliferation through its possible interaction with ERK1/2 and MYC pathway [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 655.
- [25] Li QC, Xu H, Wang X, et al. MiR-34a increases cisplatin sensitivity of osteosarcoma cells in vitro through up-regulation of c-Myc and Bim signal [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 21(1): 135–144.
- [26] Long X. P65-mediated miR-590 inhibition modulates the chemoresistance of osteosarcoma to doxorubicin through targeting wild-type p53-induced phosphatase 1 [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4): 5652–5665.
- [27] Meng Y, Gao R, Ma J, et al. MicroRNA-140-5p regulates osteosarcoma chemoresistance by targeting HMG5 and autophagy [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 416.
- [28] Yang C, Gao R, Wang J, et al. High-mobility group nucleosome-binding domain 5 increases drug resistance in osteosarcoma through upregulating autophagy [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(7): 6357–6363.
- [29] Wei R, Cao G, Deng Z, et al. MiR-140-5p attenuates chemotherapeutic drug-induced cell death by regulating autophagy through inositol 1,4,5-trisphosphate kinase 2 (IP3k2) in human osteosarcoma cells [J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(5): e00392.
- [30] Di Fiore R, Drago-Ferrante R, Pentimalli F, et al. MicroRNA-29b-1 impairs in vitro cell proliferation, self-renewal and chemoresistance of human osteosarcoma 3AB-OS cancer stem cells [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(5): 2013–2023.
- [31] Rhodes LV, Tate CR, Segar HC, et al. Suppression of triple negative breast cancer metastasis by pan-DAC inhibitor panobinostat via inhibition of ZEB family of EMT master regulators [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 145(3): 593–604.
- [32] Wang L, Tang B, Han H, et al. MiR-155 affects osteosarcoma MG-63 cell autophagy induced by adriamycin through regulating PTEN-PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2018, 33(1): 32–38.
- [33] Wang T, Wang D, Zhang L, et al. The TGFβ-miR-499a-SHKBPI pathway induces resistance to EGFR inhibitors in osteosarcoma cancer stem cell-like cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 226.