



## 应用慢病毒shRNA文库结合二代测序筛选口腔鳞癌放疗抵抗相关分子

罗丽萍, 曹邦荣, 马士淇, 任源, 祁国海, 王卫东

引用本文:

罗丽萍, 曹邦荣, 马士淇, 等. 应用慢病毒shRNA文库结合二代测序筛选口腔鳞癌放疗抵抗相关分子[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2021, 41(3): 166–171.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2021.03.002>

### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### 沉默Kr ü ppe因子5对电离辐射后大鼠小肠上皮IEC-6细胞生物学功能的影响

Effects of Kr ü ppe-like factor 5 gene silencing on biological functions of rat intestinal epithelial cells IEC-6 after radiation

中华放射医学与防护杂志. 2020, 40(7): 500–506 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.07.002>

#### 慢病毒介导的DKC1基因沉默对人宫颈癌HeLa细胞放射敏感性的影响

Effects of lentivirus-mediated DKC1 gene silence on radiosensitivity of human cervical cancer HeLa cells

中华放射医学与防护杂志. 2020, 40(8): 590–594 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.08.003>

#### 沉默EZH2诱导舌癌Tca-8113细胞凋亡及其对放射敏感性的影响

Effects of EZH2 siRNA on apoptosis induction and radiosensitivity of tongue cancer Tca-8113 cells

中华放射医学与防护杂志. 2018, 38(8): 561–566 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2018.08.001>

#### miR-885-3p靶向AKT1对结直肠癌细胞HT-29放射敏感性的影响

miR-885-3p regulates radiosensitivity of colorectal cancer cell HT-29 by targeting AKT1

中华放射医学与防护杂志. 2018, 38(12): 899–906 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2018.12.003>

#### CD44+/CD24+宫颈癌细胞和耐辐射宫颈癌细胞特性研究

The characteristics of CD44 +/CD24 + cervical cancer cells and radioresistant cervical cancer cells

中华放射医学与防护杂志. 2018, 38(2): 87–92 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2018.02.002>

# 应用慢病毒 shRNA 文库结合二代测序筛选口腔鳞癌放疗抵抗相关分子

罗丽萍 曹邦荣 马士淇 任源 祁国海 王卫东

电子科技大学医学院附属肿瘤医院 四川省肿瘤医院·研究所基础研究中心 四川省癌症防治中心放射肿瘤学四川省重点实验室, 成都 610041

通信作者: 王卫东, Email: wwdwyl@sina.com

**【摘要】 目的** 用高通量方法筛选口腔鳞癌放疗抵抗相关的激酶基因, 为口腔鳞癌的临床治疗决策提供理论基础。**方法** 以慢病毒构建的短发夹核糖核酸(shRNA)激酶文库(含 4 675 个不同 shRNA 序列, 覆盖 709 个人激酶基因)感染舌鳞癌 Cal-27 细胞, 嘌呤霉素筛选去除未成功感染的细胞后, 以光子射线进行照射(0、10 和 15 cGy), 然后继续培养 3 d, 以增加不同射线抗性细胞的丰度差异。提取细胞基因组 DNA, 利用 PCR 获得完整 shRNA 序列, 同时每组引入不同标签序列, 利用 illumina 平台进行二代测序, 找出丰度发生显著变化的 shRNA, 其对应基因即为影响射线抗性的基因。**结果** 本次实验共筛选到 5 个影响口腔鳞癌放射线抗性的激酶基因, 其中, PKLR 和 IPMK 敲减后会增加射线抵抗, AURKB、ITPKB 和 DLG2 敲减后会导致放射敏感, 其高表达会导致患者对放疗耐受。**结论** 本研究利用 shRNA 慢病毒文库结合二代测序方法筛选到 3 个口腔鳞癌放射抵抗基因, 但具体作用机制尚需进一步探究。

**【关键词】** 慢病毒; 短发夹核糖核酸; 口腔鳞癌; 放疗; 二代测序

**基金项目:** 国家重点研发计划项目(2017YFC0113904); 四川省科技计划重点研发项目(2017SZ0004); 四川省科技支撑计划项目(2015SZ0053)

DOI: 10. 3760/cma.j.issn.0254-5098. 2021. 03. 002

## Screening for regulation genes of radioresistance of oral squamous cells using lentiviral shRNA library combined with next generation sequencing

Luo Liping, Cao Bangrong, Ma Shiqi, Ren Yuan, Qi Guohai, Wang Weidong

Cancer Hospital Affiliated to School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Basic Research Center, Sichuan Cancer Hospital & Institute, Sichuan Cancer Center, Radiation Oncology Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610041, China

Corresponding author: Wang Weidong, Email: wwdwyl@sina.com

**【Abstract】 Objective** To screen the kinase genes related to radioresistance by high-throughput method and provide a theoretical basis for clinical treatment strategy of oral squamous cell carcinoma. **Methods** The tongue squamous carcinoma cell line Cal-27 was infected with lentivirus shRNA kinase library that contains 4 675 different shRNAs regulating 709 human kinase genes. The uninfected cells were removed by puromycin screening. Then, the cells were irradiated with different doses (0, 10, 15 cGy) and continued to culture for 3 d to enrich the differences among groups. Afterwards, the cell genomic DNA was extracted and the complete shRNA sequences were obtained by PCR. Different tags were labeled in shRNAs of each group. An illumina platform was used for next generation sequencing to acquire the shRNA abundance, and then the differentiated expressed genes among different groups were identified. **Results** A total of 5 kinase genes (PKLR, IPMK, AURKB, ITPKB and DLG2) were screened out from irradiated cells. Knockdown of PKLR and IPMK increased radiation resistance, while knockdown of AURKB, ITPKB and DLG2 increased radiation sensitivity, and the high expression of these genes would lead to radiotherapy tolerance. **Conclusions** In this study, 3 genes relative to radioresistance of oral squamous cell carcinoma were identified by using shRNA lentivirus library combined with next generation sequencing, but the underlying mechanism requires further exploration.

**【Key words】** Lentiviruslibrary; shRNA; Oral squamous cell carcinoma; Radioresistance; Next generation sequencing

**Fund programs:** National Key Research and Development Program (2017YFC0113904); Sichuan Province Science and Technology Key R&D Projects (2017SZ0004); Sichuan Province Science and Technology Support Project (2015SZ0053)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2021.03.002

放射治疗是口腔癌的重要治疗方式,但放射耐受会导致患者治疗失败。已有研究发现,阴阳 1 (yin yang 1, YY1) 可通过调控 PTEN/Rad5 信号通路诱导射线抗性<sup>[1]</sup>; CD47-SIRP $\alpha$  能通过调节上皮-间质转化和肿瘤干细胞的表型,使癌细胞对射线产生耐受<sup>[2]</sup>。但该类研究均不是从整体水平上探寻放射抵抗相关分子。有研究者通过分析已有的一份基因表达汇编 (gene expression omnibus, GEO) 数据,发现 CD225 可通过调控 pSTAT/p21 信号通路增加口腔癌细胞的放射抗性<sup>[3]</sup>。本研究将利用慢病毒 shRNA 文库结合二代测序技术,从人全部激酶基因中筛选影响放射抵抗的基因,探究射线对癌细胞的作用机制,为口腔鳞癌的临床治疗决策提供理论基础。

## 材料与方法

1. 试剂与材料: Dharmacon GIPZ 蛋白激酶 shRNA 慢病毒文库 (RHS6078) 购自美国 GE Healthcare 公司,人舌鳞癌细胞系 Cal-27 购自中国科学院上海细胞库,DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清购自以色列 BI 公司,嘌呤霉素 (puromycin)、高保真 DNA 聚合酶 (Phusion Hot Start II DNA Polymerase) 购自美国 Thermo 公司,聚凝胺 (polybrene) 购自美国 Sigma 公司,基因组 DNA 提取试剂盒和凝胶回收试剂盒购自德国 QIAGEN 公司, X-tremeGENE HP DNA 转染试剂购自德国 Roche 公司。人 HEK293T 细胞、pCMV-DR8.9-EGFP 质粒和 pCMV-VSV-G 质粒为本实验室自有。

2. 细胞培养: 舌鳞癌 Cal-27 (用于基因筛选) 和 HEK293T 细胞 (用于大量扩增慢病毒颗粒) 均置 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中,用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 进行培养,每次铺板实验均使用对数生长期细胞。

3. 慢病毒制备及感染率确定: 在 HEK293T 细胞中进行慢病毒包装,3 种质粒质量比为 DR8.9 : VSV-G : GIPZ-shRNA = 9 : 1 : 10,以 X-tremeGene HP 为转染试剂。收集病毒后,按 10 倍梯度稀释感染 Cal-27 细胞,以聚凝胺 (polybrene) 为感染

增强剂,24 h 后,流式检测绿色荧光细胞比例,并计算病毒含量。结果发现,感染率控制在 30% 时可基本保证 1 个细胞只接受 1 个病毒颗粒,避免发生单个细胞的多基因敲减。

4. 细胞分组及照射: Cal-27 细胞感染慢病毒 24 h 后,以嘌呤霉素作用 48 h 去除未成功感染细胞后,更换为新鲜培养基,对细胞进行辐照。按照照射剂量分为 0、10 和 15 cGy 组。其中,10 和 15 cGy 组实验重复 2 次。在差异基因热图分析中,重复组用 10 cGy-1、10 cGy-2、15 cGy-1、15 cGy-2 组表示。采用美国 Varian 600CD 直线加速器,6 MV 光子射线,源靶距 (SSD) 为 97.85 cm,剂量率为 600 cGy/min,单次照射。15 cm 培养盘和 6 孔板的视野范围分别为 20 cm × 20 cm 和 14 cm × 10 cm,底部垫 1.5 cm 厚组织等效物,照射液面中间平面,各培养盘 (孔板) 单独照射。

5. 细胞存活率检测: Cal-27 细胞感染慢病毒并经嘌呤霉素筛选后,以不同剂量射线 (0、5、10、15、20、25、30、35 cGy) 处理。照射后培养 72 h,消化细胞并计数。每个照射剂量设 2 个复孔,实验重复 2 次。以 0 cGy 照射组存活率为 100% 进行计算,并绘制细胞存活曲线。

6. 基因组 DNA 提取及目的序列扩增: Cal-27 细胞辐照后继续培养 72 h,去除培养基,预冷磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 次,然后按照 QIAGEN 试剂盒抽提基因组 DNA,经 DM2000 测定浓度后,取相同量进行 PCR 扩增目的片段,反应体系参照慢病毒文库说明书。引物序列 (5'→3') 如下: 正向引物: AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACA CCGCAGCAACAGATGGAAGGCC,反向引物: C AAGCAGAAGACGGCATACGAGATATTTATACC ATTTTAATTTCAGC。

7. PCR 产物纯化及送样: PCR 产物先以醋酸钠法浓缩,然后经琼脂糖凝胶电泳,切割目的条带后以 QIAGEN 胶回收试剂盒纯化,再经凝胶电泳检测,各组无杂带且浓度基本一致后,送样测序。

8. 建库及测序: 经 Qubit 3.0 质量检测合格后,以 PCR 产物建库,文库片段大小为 660 bp,以 Illumina Hiseq 4000 平台的 SE 50 进行测序,使用

慢病毒文库提供引物进行测序，读长 49 bp。数据质量控制标准为：每组样本测得的有效序列数  $>10 \times 10^6$  个 (clean reads  $>10$  M)，碱基识别正确率  $>98.5\%$  ( $Q20 > 98.5\%$ )。去除污染、接头序列后的数据通过微生物重测序分析软件与人类基因组 hg19 (GRCh37) 为参考序列进行比对，生成初步分析数据。

9. 数据分析：细胞存活曲线和目的 shRNA 覆盖率采用 GraphPad Prism 7 软件进行分析。测序数据的生物信息学分析采用 R 软件 (version 2.15.2) 进行，分析方法参照 Dharmacon 生物信息学分析技术说明书。

结 果

1. 照射剂量选择：结果如图 1 所示，由于细胞本身先经 shRNA 敲减处理，照射剂量过大，受影响基因过多，会难以筛选到合适的基因，因此选择对细胞总体存活率影响较小的 10 和 15 cGy 进行照射。

2. shRNA 整合情况分析：GIPZ 文库中共含 709 个激酶基因，每个基因有 3 ~ 8 个针对不同位点设计的 shRNA 敲减序列，合计 4 675 个不同序列。在所有样本组中，均能检测到 94% 以上的 shRNA 序列，覆盖全部激酶基因，表明 shRNA 敲减文库构建成功。

3. shRNA 序列数 (read count) 分布情况检测：不同 shRNA 敲减基因后会导致细胞对射线敏感性

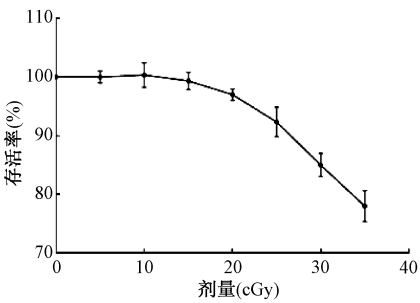
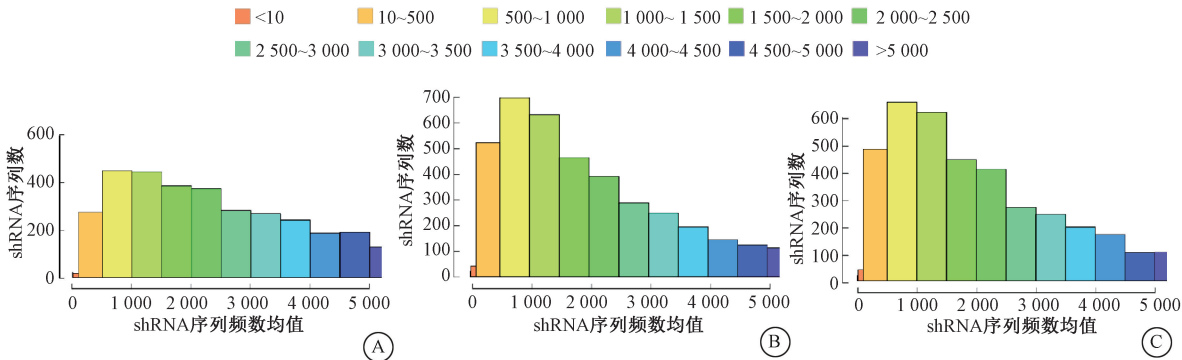


图 1 不同剂量照射下 Cal-27 细胞存活曲线  
Figure 1 Cell survival curve of Cal-27 cells under different doses of irradiation

产生差异，继续培养过程中，敏感细胞的丰度会不断降低，能检测到的对应 shRNA read count 也会降低。由 Read count 频数分布图 (图 2) 可知，各剂量组都呈偏态分布，且 Read count 在 1 000 左右的 shRNA 分布最多。与照射组相比，0 cGy 组的 shRNA 频数分布比较均匀，可能是由于一些 shRNA 敲减本身就会影响细胞生长速度。此外，由于各组接受的照射剂量差别不大，因此 Read count 分布情况基本一致。

4. 数据均一化处理：进行基因差异表达分析前，先将每组的 read count 数进行均一化处理，各组中基因的 shRNA 被测定的平均 read count 数基本一致，表明各组测序深度基本一致，可进行差异分析。

5. 差异基因分布分析：将各照射剂量组分别与 0 cGy 组进行差异基因分析 (图 3)，红色圆点



注：二代测序中，每个测序反应得到的序列称为一个“read”，测序得到的原始图像数据文件经碱基识别分析转化为测序序列，称之为 Raw reads 或 Raw data，本图中统计的是 clean reads，即将 Raw reads 去除带接头的、低质量的 reads 后得到的。统计某一 Read 在整个测序中出现的数量，即 Read count，该数值与 RNA 丰度成正比。横坐标 shRNA 序列频数分布 (Read counts distribution) 表示每个 shRNA reads 数的频数分布，纵坐标 shRNA 序列数 (shRNA numbers) 表示 reads 数在对应频数区间的 shRNA 数量

图 2 shRNA 文库敲减后的 Cal-27 细胞经不同剂量放射线处理后检测到的 shRNA 序列频数分布图 A. 0 cGy 组；B. 10 cGy 组；C. 15 cGy 组

Figure 2 The distribution map of shRNA sequences detected in Cal-27 cells with shRNA library knockdown after treatment with different doses of radiation A. 0 cGy group; B. 10 cGy group; C. 15 cGy group



为差异基因 (cut 值为  $P<0.005$  及 Fold Change 值  $>1.5$  或  $<0.667$ )。位于黑色主集落下方红色圆点代表的基因是照射后丰度减少的基因,即敲减后会导致细胞对射线的敏感性增加,即为放疗抵抗基因。反之,上方红色圆点为放射敏感基因。由图 3 可见,在 10 和 15 cGy 照射组分别发现 5 个和 4 个显著差异基因。

6. 差异基因热图分析:上述显著差异基因中,在经 shRNA 敲减后,与 0 cGy 组相比,10 cGy 组对放射线抗性增加的基因有丙酮酸激酶 1 (pyruvate kinase isozymes L/R,即 pyruvate kinase 1, PKLR),抗性降低的有 PRKC3、PRKACA、肌醇-1, 4, 5-三磷酸 3-激酶 B (inositol-1, 4, 5-trisphosphate 3-kinase-B, ITPKB) 和极光激酶 B (aurora kinase B, AURKB); 15 cGy 组敲减后抗性

增加的有肌醇多磷酸盐多激酶 (inositol polyphosphate multikinase, IPMK),减少的有 VRK1、碟状大同系物 2 (discs large homolog 2, DLG2) 和 SIK3。为确认上述差异基因在重复组中变化是否一致,进行了热图分析,结果显示,在重复组中有相同变化趋势的基因为 PKLR、IPMK、ITPKB、AURKB 和 DLG2 (图 4)。

7. 信号通路分析:通过对 5 个差异基因进行信号通路分析,发现放射敏感基因 (PKLR、IPMK) 主要调控代谢途径和细胞膜的稳定性;而抗性基因 (ITPKB、AURKB 和 DLG2) 主要调控细胞周期和凋亡途径。

讨 论

放射治疗是癌症治疗的重要手段,但是,对

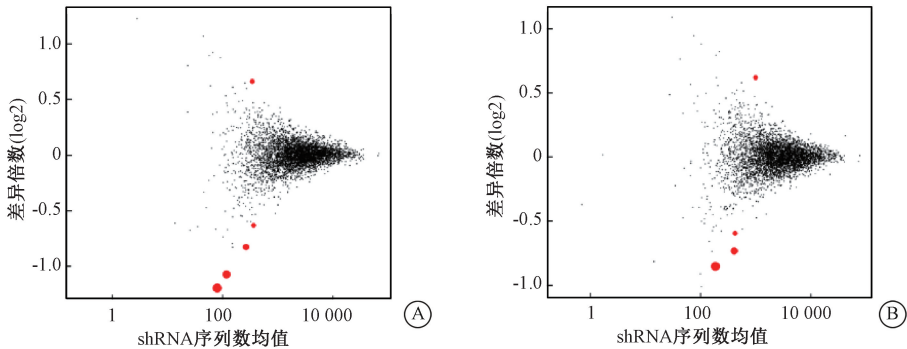


图 3 shRNA 文库敲减后的 Cal-27 细胞不同剂量照射组间基因差异倍数分布图  
A. 10 cGy 组与 0 cGy 组间的差异; B. 15 cGy 组与 0 cGy 组间的差异  
**Figure 3** Distribution of the fold change of differential expressed genes in Cal-27 cells with shRNA library knockdown  
A. The difference between 10 cGy group and the 0 cGy group; B. The difference between 15 cGy group and 0 cGy group

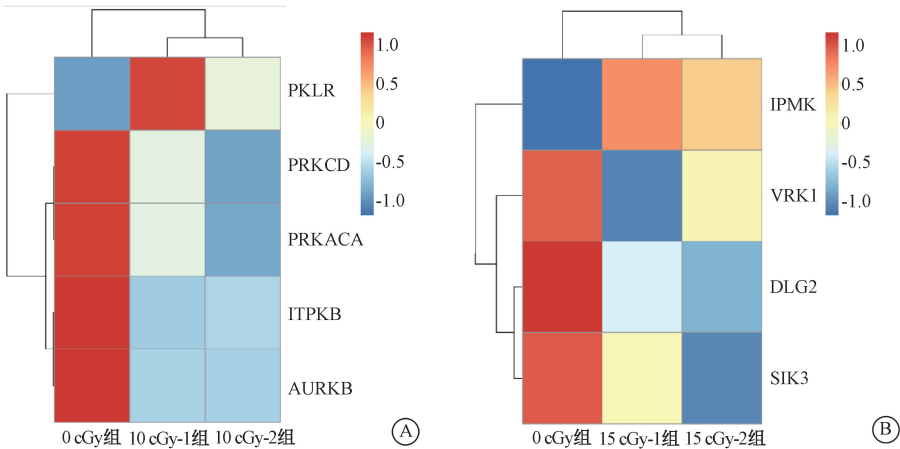


图 4 shRNA 文库敲减后的 Cal-27 细胞不同剂量照射组间差异基因分布热图  
A. 0 cGy 组与 10 cGy 重复组之间的差异; B. 0 cGy 组与 15 cGy 重复组之间的差异  
**Figure 4** Heat map of differential expressed gene in Cal-27 cells after shRNA library knockdown  
A. The differences between 0 cGy group and 10 cGy groups; B. The differences between 0 cGy group and 15 cGy groups

于放疗生物学效应的分子机制研究不足一直是阻碍放疗进步的重要原因之一。高通量筛选技术可从整体水平快速筛选出特定目标分子, shRNA 慢病毒文库是其中一种, 将该技术与二代测序技术结合, 可一次性对几百甚至上万个基因进行快速筛选。

本研究所用文库为 GE Dharmacon 研发的人蛋白激酶组文库, 其主要工作流程为: 先用包含数万个 shRNA 的慢病毒文库以低感染率感染目的细胞, 使单个细胞基因组中只整合特定的单一 shRNA; 筛选出成功感染并表达 shRNA 的细胞, 以不同筛选因素(本研究中为射线)作用后, 使表达某些 shRNA 的细胞在细胞群中的丰度发生变化, 富集或耗尽; 然后对提取的基因组 DNA 进行二代测序, 0 cGy 组和各照射剂量组之间存在显著丰度变化的基因即为目的基因<sup>[4]</sup>。由于其 shRNA 文库及测序引物已经过优化, 可以最大化减小偏倚, 且 shRNA 靠近测序引物一侧带有 22 bp 可变区, 其序列与目的敲减 shRNA 序列一一对应, 可根据测序结果快速匹配目的基因。

本研究从 709 个激酶基因中筛选出 5 个可能与放射线敏感性相关的基因: 其中 AURKB, ITPKB 和 DLG2 为放疗抵抗基因, 经 shRNA 敲减后会致敏细胞, 而 PKLR 和 IPMK 的功能则相反。

AURKB 属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族, 主要调控有丝分裂, 其高表达与鼻咽癌<sup>[5]</sup>和骨肉瘤<sup>[6]</sup>患者预后不良相关。已有研究证明, 抑制 AURKB 的表达可抑制肺癌细胞经放射线照射后的增殖能力并诱导癌细胞凋亡<sup>[7-9]</sup>, MET/AXL/FGFR 抑制剂 S49076 也可获得同样效果<sup>[10]</sup>, 但受影响的信号通路尚不清楚。本研究检测到 AURKB 敲减后的细胞丰度在照射后减少, 与文献<sup>[9-10]</sup>结果一致。

ITPKB 在细胞代谢中有重要作用, 其缺乏会导致严重的联合免疫缺陷<sup>[11]</sup>, 最初有研究发现肺癌细胞中 ITPKB 下调<sup>[12]</sup>, 因此认为是抑癌基因, 在嗜铬细胞瘤<sup>[13]</sup>和结直肠癌<sup>[14]</sup>中的研究也支持这一观点。但后续研究发现, ITPKB 可通过调节钙的释放和细胞骨架运动促进肺癌细胞的转移<sup>[15]</sup>, 其抑制剂可增强顺铂对肿瘤生长的抑制作用<sup>[16]</sup>。

DLG2 属于膜相关鸟苷激酶 (membrane-associated guanylate kinase, MAGUK) 家族, 其敲除之后, 会导致培养的骨肉瘤癌细胞的 3D 克隆形成能力丧失, 小鼠异种移植瘤生长变慢<sup>[17]</sup>。DLG2

广泛参与细胞生理过程调控, 与膀胱癌<sup>[18]</sup>、卵巢癌<sup>[19]</sup>和骨肉瘤<sup>[20]</sup>的发生发展密切相关, 并受 miR-23a 调控<sup>[20]</sup>, 是抑癌基因。

PKLR 和 IPMK 敲减后均会导致细胞产生放射耐受, 二者分别为胞质内调节糖酵解<sup>[21]</sup>和核内磷脂代谢<sup>[22]</sup>中的关键激酶, 与癌症的发生发展有着密切关系<sup>[23-24]</sup>。Bong 等<sup>[25]</sup>以高剂量 (0.8 Gy/min, 单次 4.5 Gy) 或低剂量 (0.7 mGy/h, 累积 1.7 Gy)<sup>137</sup>Cs 照射小鼠胸腺, 在两组中获得的显著响应基因完全不同, 其中 PKLR 是高剂量照射组的显著响应基因。本研究使用低剂量照射也发现 PKLR 的响应, 提示其对放射抗性的调控中存在重要作用, 但是体内和体外研究可能会存在较大差异。

本实验并未在不同剂量组找到相同的耐受基因, 原因一是本研究所用细胞株 Cal-27 生长速度较快, 为满足实验周期, 所以每剂量组有 7 盘细胞, 不同培养盘中的细微差异可能在长时间培养中被放大; 二是本研究中, 射线的作用面是培养基中间平面, 与直接照射组织相比, 可能更容易引起实验误差。

由以上分析可知, 慢病毒 shRNA 文库结合二代测序的方法适用于高通量筛选放射线敏感性相关基因, 本研究中发现的 5 个放疗抵抗相关基因中, 有 2 个基因与已有研究一致, 其余 3 个作用尚不明确。由于下游调控的信号通路比较广泛, 包括代谢途径、膜稳定性、细胞周期和凋亡途径, 因此还需更多深入研究进行验证。

#### 利益冲突 无

**作者贡献声明** 罗丽萍负责病毒制备、细胞感染、目的基因扩增和文章撰写; 曹邦荣负责数据分析; 马士淇负责细胞培养; 任源负责细胞计数; 祁国海负责细胞照射; 王卫东负责实验设计及文章审核

#### 参 考 文 献

- [1] Zhao L, Li R, Qiu JZ, et al. YY1-mediated PTEN dephosphorylation antagonizes IR-induced DNA repair contributing to tongue squamous cell carcinoma radiosensitization [J]. Mol Cell Probes, 2020, 53: 101577. DOI: 10.1016/j.mcp. 2020.101577.
- [2] Pai S, Bamodu OA, Lin YK, et al. CD47-SIRPα signaling induces epithelial-mesenchymal transition and cancer stemness and links to a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma [J]. Cells, 2019, 8 (12): 1658. DOI: 10.3390/cells8121658.

- [3] Yang J, Li L, Xi Y, et al. Combination of IFITM1 knockdown and radiotherapy inhibits the growth of oral cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109 ( 10 ): 3115-3128. DOI: 10.1111/cas.13640.
- [4] Schaefer C, Mallela N, Seggewi BJ, et al. Target discovery screens using pooled shRNA libraries and next-generation sequencing: a model workflow and analytical algorithm [J]. *PLoS One*, 2018, 13 ( 1 ): e0191570. DOI: 10.1371/journal.pone.0191570.
- [5] Huang PY, Li Y, Luo DH, et al. Expression of aurora B and FOXM1 predict poor survival in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Strahlenther Onkol*, 2015, 191 ( 8 ): 649-655. DOI: 10.1007/s00066-015-0840-4.
- [6] Zhao Z, Jin G, Yao K, et al. Aurora B kinase as a novel molecular target for inhibition the growth of osteosarcoma [J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58 ( 6 ): 1056-1067. DOI: 10.1002/mc.22993.
- [7] Woo JK, Kang JH, Shin D, et al. Daurinol enhances the efficacy of radiotherapy in lung cancer via suppression of aurora kinase A/B expression [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14 ( 7 ): 1693-1704. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0960.
- [8] Sak A, Stuschke M, Groneberg M, et al. Inhibiting the aurora B kinase potently suppresses repopulation during fractionated irradiation of human lung cancer cell lines [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 84 ( 2 ): 492-499. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2011.12.021.
- [9] Wu X, Liu W, Cao Q, et al. Inhibition of Aurora B by CCT137690 sensitizes colorectal cells to radiotherapy [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, 33: 13. DOI: 10.1186/1756-9966-33-13.
- [10] Clémenson C, Chargari C, Liu W, et al. The MET/AXL/FGFR inhibitor S49076 impairs aurora B activity and improves the antitumor efficacy of radiotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16 ( 10 ): 2107-2119. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0112.
- [11] Almutairi A, Wallace JG, Jaber F, et al. Severe combined immunodeficiency caused by inositol-trisphosphate 3-kinase B (ITPKB) deficiency [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145 ( 6 ): 1696-1699. e6. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.01.014.
- [12] Jin Y, Liu Y, Zhang J, et al. The expression of miR-375 is associated with carcinogenesis in three subtypes of lung cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10 ( 12 ): e0144187. DOI: 10.1371/journal.pone.0144187.
- [13] Koenig S, Moreau C, Dupont G, et al. Regulation of NGF-driven neurite outgrowth by Ins ( 1, 4, 5 ) P3 kinase is specifically associated with the two isoenzymes ITPKA and ITPKB in a model of PC12 cells [J]. *FEBS J*, 2015, 282 ( 13 ): 2553-2569. DOI: 10.1111/febs.13300.
- [14] Li B, Shi C, Zhao J, et al. Long noncoding RNA CCAT1 functions as a ceRNA to antagonize the effect of miR-410 on the down-regulation of ITPKB in human HCT-116 and HCT-8 cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 ( 54 ): 92855-92863. DOI: 10.18632/oncotarget.21612.
- [15] Bäder S, Glaubke E, Grüb S, et al. Effect of the actin- and calcium-regulating activities of ITPKB on the metastatic potential of lung cancer cells [J]. *Biochem J*, 2018, 475 ( 12 ): 2057-2071. DOI: 10.1042/BCJ20180238.
- [16] Pan C, Jin L, Wang X, et al. Inositol-triphosphate 3-kinase B confers cisplatin resistance by regulating NOX4-dependent redox balance [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129 ( 6 ): 2431-2445. DOI: 10.1172/JCI124550.
- [17] Shao YW, Wood GA, Lu J, et al. Cross-species genomics identifies DLG2 as a tumor suppressor in osteosarcoma [J]. *Oncogene*, 2019, 38 ( 2 ): 291-298. DOI: 10.1038/s41388-018-0444-4.
- [18] Lee HY, Chen YJ, Chang WA, et al. Effects of epigallocatechin gallate (EGCG) on urinary bladder urothelial carcinoma-next-generation sequencing and bioinformatics approaches [J]. *Medicina ( Kaunas )*, 2019, 55 ( 12 ): 768. DOI: 10.3390/medicina55120768.
- [19] Zhuang RJ, Bai XX, Liu W. MicroRNA-23a depletion promotes apoptosis of ovarian cancer stem cell and inhibits cell migration by targeting DLG2 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20 ( 6 ): 897-911. DOI: 10.1080/15384047.2019.1579960.
- [20] Shao YW, Wood GA, Lu J, et al. Cross-species genomics identifies DLG2 as a tumor suppressor in osteosarcoma [J]. *Oncogene*, 2019, 38 ( 2 ): 291-298. DOI: 10.1038/s41388-018-0444-4.
- [21] Yang Y, Zhu G, Dong B, et al. The NQO1/PKLR axis promotes lymph node metastasis and breast cancer progression by modulating glycolytic reprogramming [J]. *Cancer Lett*, 2019, 453: 170-183. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.03.054.
- [22] Malabanan MM, Blind RD. Inositol polyphosphate multikinase (IPMK) in transcriptional regulation and nuclear inositide metabolism [J]. *Biochem Soc Trans*, 2016, 44 ( 1 ): 279-285. DOI: 10.1042/BST20150225.
- [23] Fan Z, Fan K, Deng S, et al. HNF-1 $\alpha$  promotes pancreatic cancer growth and apoptosis resistance via its target gene PKLR [J]. *Acta Biochim Biophys Sin ( Shanghai )*, 2020, 52 ( 3 ): 241-250. DOI: 10.1093/abbs/gmz169.
- [24] Liu P, Qi X, Bian C, et al. MicroRNA-18 $\alpha$  inhibits ovarian cancer growth via directly targeting TRIAP1 and IPMK [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13 ( 6 ): 4039-4046. DOI: 10.3892/ol.2017.5961.
- [25] Bong JJ, Kang YM, Shin SC, et al. Identification of radiation-sensitive expressed genes in the ICR and AKR/J mouse thymus [J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37 ( 5 ): 485-494. DOI: 10.1002/cbin.10065.

( 收稿日期: 2020-04-30 )