

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.05.016

hsa_circ_0076931 可能通过 hsa-miR-181a-5p 影响胶质瘤发生发展 *

柯炎斌 方泽鲁 曹国彬 李 伟 陀泳华 王业忠

(广州医科大学附属第二医院神经外科 广东 广州 510260)

摘要 目的: 探讨 hsa_circ_0076931 在胶质瘤中的表达及其潜在分子机制。**方法:** 通过生物信息学分析, 筛选出目的基因 hsa_circ_0076931, 在 H4 细胞系中过表达 hsa_circ_0076931 后进行转录组测序、生物信息学分析和验证。**结果:** 基因本体(GO)和基因组百科全书(KEGG)结果显示: 差异环状 RNA(circRNAs)母基因及差异信使核糖核酸(mRNA)主要参与细胞周期、细胞分裂等生物学功能以及代谢、癌症相关和 MAPK 等信号通路。此外, 与 hsa_circ_0076931 互相作用的基因主要参与细胞增殖、细胞凋亡和细胞迁移等生物学功能以及 MAPK、PI3K-Akt、Rap1 等信号通路。hsa_circ_0076931 可以下调靶基因 hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-181a-5p 和 hsa-miR-34a-5p 表达, 上调双特异性磷酸酶 5(DUSP5)、血小板衍生生长因子受体(PDGFRB)和钙通道 $\beta 3$ 亚基(CACNB3)的表达, 并抑制磷酸化 ERK(p-ERK)蛋白的表达。**结论:** hsa_circ_0076931 可能通过吸附 hsa-miR-181a-5p 结合上调 DUSP5 的表达, 从而抑制 MAPK 信号通路参与胶质瘤的发生发展过程。

关键词: 胶质瘤; hsa_circ_0076931; MAPK 信号通路; H4 细胞; hsa-miR-181a-5p; DUSP5

中图分类号: R-33; R739.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2023)05-881-06

hsa_circ_0076931 May Affect the Occurrence and Development of Glioma through hsa-miR-181a-5p*

KE Yan-bin, FANG Ze-lu, CAO Guo-bin, LI Wei, TUO Yong-hua, WANG Ye-zhong

(Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510260, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of hsa_circ_0076931 in glioma and its underlying molecular mechanism. **Methods:** Through bioinformatics analysis, the target gene hsa_circ_0076931 was screened out, and hsa_circ_0076931 was overexpressed in the H4 cell line for transcriptome sequencing, bioinformatics analysis and verification. **Results:** The results of Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) showed that the differential circular RNA (circRNAs) parent genes and differential messenger ribonucleic acid (mRNA) were mainly involved in biological functions such as cell cycle and cell division, as well as metabolism, cancer-related and MAPK signaling pathways. In addition, the genes interacting with hsa_circ_0076931 were mainly involved in cell proliferation, cell apoptosis, cell migration and other biological functions, as well as MAPK, PI3K-Akt, Rap1 and other signaling pathways. The hsa_circ_0076931 can down-regulate the expression of target genes hsa-miR-26a-5p, hsa-miR-181a-5p and hsa-miR-34a-5p, and can up-regulated the expression of bispecific phosphatase 5 (DUSP5), platelet-derived growth factor receptor (PDGFRB) and calcium channel $\beta 3$ subunit (CACNB3), and inhibited the expression of phosphorylated ERK (P-ERK) protein. **Conclusions:** The hsa_circ_0076931 may up-regulate the expression of DUSP5 through adsorption of hsa-miR-181a-5p, thereby inhibiting MAPK signaling pathway involved in the occurrence and development of glioma.

Key words: Glioma; hsa_circ_0076931; MAPK signaling pathway; H4 cell; hsa-miR-181a-5p; DUSP5

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)05-881-06

前言

胶质瘤通常起源于神经胶质细胞的中枢神经系统,是最常见的原发性中枢神经系统肿瘤,占有颅内原发肿瘤的一半以上^[1]。由于胶质瘤在大脑中生长迅速,对化疗有抵抗力,并且具有高度侵袭性^[2],因此,揭示胶质瘤发生、进展的分子机制对提高诊断及治疗效率具有重要的临床意义。环状 RNA(circRNAs)是一类以共价键形成环形结构的非编码 RNA 分,可以通

过与蛋白质相互作用及编码短肽等方式调控细胞的增殖、发育、凋亡等多生物学功能^[3,4]。circRNAs 可以和信使核糖核酸(mRNA)、长链非编码核糖核酸(lncRNA)通过内源性竞争与 microRNA 的结合,影响以上 RNA 的转录,从而影响蛋白质编码及细胞功能^[5]。最新研究表明,竞争性内源 RNA(ceRNA)调控机制在胶质瘤的发展中起重要的调节作用^[6]。如 Circ-POSTN/miR-361-5p/mRNA TPX2 可以刺激胶质瘤细胞糖酵解,并抑制细胞凋亡^[7]。hsa_circ_0076931 是本研究前期通过对

* 基金项目:广东省医学科学技术研究基金项目(A2019115)

作者简介:柯炎斌(1981-),男,博士,副主任医师,从事脑胶质瘤方向的研究,E-mail: ybke020@163.com

(收稿日期:2022-09-10 接受日期:2022-09-30)

胶质瘤样本测序筛选得到的显著差异表达的 circRNAs, 但其在胶质瘤中的作用还未完全阐明^[8]。本实验通过在 H4 细胞系中过表达 hsa_circ_0076931 后进行转录组测序, 构建 ceRNA 互作网络及生物信息学分析筛选得到潜在作用的关键靶基因, 并结合逆转录-定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 验证其对潜在的信号通路的影响, 进一步在细胞水平探究了 hsa_circ_0076931 对胶质瘤作用的潜在分子机制, 以期为胶质瘤的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

胶质瘤细胞系 H4 购自中科院上海细胞库。DMEM 培养液购自美国 Gibco 公司, 胎牛血清购自美国 HyClone 公司, 细胞培养皿购自美国 Corning 公司, prime ScriptRT 和 SYBR premix Ex Taq II 试剂购自 TaKaRa 公司, hsa_circ_0076931 过表达质粒通过通用生物公司构建。极超敏 ECL 化学发光试剂盒购自 Thermo Fisher 公司, BCA 蛋白定量试剂购自北京索莱宝公司, p-ERK 抗体及 ERK 抗体均购自 R&D 公司, GAPDH 抗体购自 Proteintech 公司。TRIzol 试剂及转染试剂 lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与质粒转染 将 H4 细胞置于含 10%胎牛血清、100U 青霉素和 0.1 mg/mL 链霉素的 DMEM 培养液, 在 37℃、5%CO₂ 培养箱进行培养, 取对数生长期的细胞进行后续实验。根据 lipofectamine 2000 试剂说明书将 hsa_circ_0076931 的过表达质粒 LV_hsa_circ_0076931 及空白对照质粒 LV_003 分别转染 H4 细胞, 6 小时候更换普通完全培养液, 48 小时候提取 RNA 及蛋白进行检测。

1.2.2 差异表达 circRNA 筛选 根据前期研究^[8]的 3 对胶质瘤与癌旁组织中 circRNA 的测序结果, 使用 R 语言软件的 limma 包进行差异表达的 circRNA 筛选分析 (筛选条件为: Fold changes (FC) >1.5 and 校正 P 值 <0.05)。从显著差异表达的 circRNA 中选取 hsa_circ_0076931 作为研究对象并在组织样品中进行验证。

1.2.3 靶基因生物信息学分析和 ceRNA 互作网络构建 通过 Database for Annotation, Visualization and Intergrated Discovery (DAVID) 数据库对胶质瘤及其癌旁组织筛选得到的差异 circRNA 对应的亲本基因进行增殖、凋亡、周期、迁移及侵袭功能相关的基因本体 (GO) 功能分析和基因组百科全书 (KEGG) 富集通路分析。在胶质瘤 H4 细胞系过表达 hsa_circ_0076931 后对转录组进行测序分析, 对差异 mRNA 进行增殖、凋亡、周期、迁移及侵袭功能相关的 GO 和 KEGG 功能分析。接下来, 以 hsa_circ_0076931 为中心, 结合转录组测序得到的差异 mRNA 数据及 miRNA 靶基因构建 ceRNA 网络图。进一步对 ceRNA 网络图中的差异 mRNA 进行增殖、凋亡、周期、迁移及侵袭功能相关的 GO 分析和 KEGG 分析, 最后将参与 MAPK 信号通路的差异 mRNA 进行通路相关的 ceRNA 子网络图构建与展示。

1.2.4 RNA 提取及 RT-qPCR 检测 根据说明书, 使用 TRIzol 从 H4 细胞中提取总 RNA。用 PrimerScript RT 反转录试剂盒将提取的总 RNA 逆转录成 cDNA, 使用 SYBR premix ExTaqII 和

PCR 仪进行 PCR 扩增。以 GAPDH 或 U6 作为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因的相对表达量。

1.2.5 蛋白印记法检测磷酸化 ERK (p-ERK) 表达 使用细胞裂解液裂解 H4 细胞, 提取总蛋白并进行 BCA 定量。将分组处理得到的等量蛋白裂解液上样到 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶中进行电泳分离并电转到硝纤维素膜上。使用 5%脱脂牛奶室温摇床上封闭 1 h, 将 p-ERK 抗体 (1:2000)、ERK 抗体 (1:1000) 及 GAPDH (1:8000) 在 4℃下摇床孵育过夜。使用预冷的 TBST 缓冲液洗涤 3 次, 每次 10 min。在室温用相应辣根过氧化物酶结合的抗体孵育 1 h 后, 预冷 TBST 洗涤三次。使用 ECL 试剂盒进行显影, 拍照进行定量分析。

1.3 统计学方法

采用 R 软件, SPSS 22.0 版本及 GraphPad Prism 8 软件对结果数据进行分析与绘图。采用非参数 Mann-Whitney U 检验比较两组之间区别, 采用 Image J pro 对 WB 条带进行灰度分析。P 值 <0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胶质瘤组织 circRNA 及 hsa_circ_0076931 在 H4 细胞中相关的差异靶基因的功能富集分析

对胶质瘤组织中的差异 circRNA 进行细胞增殖、凋亡、周期、迁移和侵袭相关的 GO 分析, 结果显示差异 circRNA 主要富集在包括细胞周期、细胞迁移及有丝分裂等相关生物学功能中 (图 1A)。对差异 circRNA 进行 KEGG 分析, 结果显示差异 circRNA 主要富集在包括代谢、癌相关、内吞作用、钙离子和 MAPK 信号通路中 (图 1B)。对 H4 细胞中过表达 hsa_circ_0076931 后进行转录组测序的差异 mRNA 予以功能富集分析。与细胞增殖、凋亡、周期、迁移和侵袭相关的 GO 分析结果显示差异 mRNA 主要富集在细胞周期、有丝分裂周期和细胞增殖等生物学功能中 (图 1C)。KEGG 结果显示: 差异 mRNA 主要富集在癌相关、代谢通路、感染相关信号通路、PI3K-Akt 和 MAPK 信号通路中 (图 1D)。

2.2 hsa_circ_0076931 的内源性竞争互作网络图及功能富集分析

将 hsa_circ_0076931 在 H4 细胞系中过表达后的 mRNA 进行测序, 将 hsa_circ_0076931 与测序差异表达 mRNA 进行 ceRNA 分析和作图, 得到 hsa_circ_0076931 潜在调控的 60 个 miRNA、191 个 mRNA 及 ceRNA 网络互作图 (图 2A)。将网络图中的 mRNA 进行功能富集分析, 对增殖、凋亡、周期、迁移和侵袭功能相关的 mRNA 进行 GO 分析, 结果显示: ceRNA 网络 mRNA 主要富集在细胞增殖、细胞凋亡和细胞迁移等有关的生物学功能中 (图 2B)。KEGG 分析显示与 hsa_circ_0076931 相关的差异 mRNA 主要富集在 MAPK、Ras、Rap 1、癌症 microRNA 及 PI3K-Akt 等信号通路中, 主要富集的前十条信号通路如图 2C 所示。

2.3 构建参与 MAPK 信号通路的 hsa_circ_0076931 网络调控图

结合前面的生物学信息分析可知 MAPK 信号通路在 hsa_circ_0076931 参与胶质瘤过程中可能起主要作用, 且 MAPK 信号通路与肿瘤细胞的增殖、凋亡功能密切相关。因此, 选取与 hsa_circ_0076931 具有潜在 ceRNA 调控关系且参与

MAPK 信号通路的差异 mRNA 进行进一步的 ceRNA 分析,如图 3 所示。结果显示:ceRNA 网络中包含 24 个 miRNA 和 18 个 mRNA。

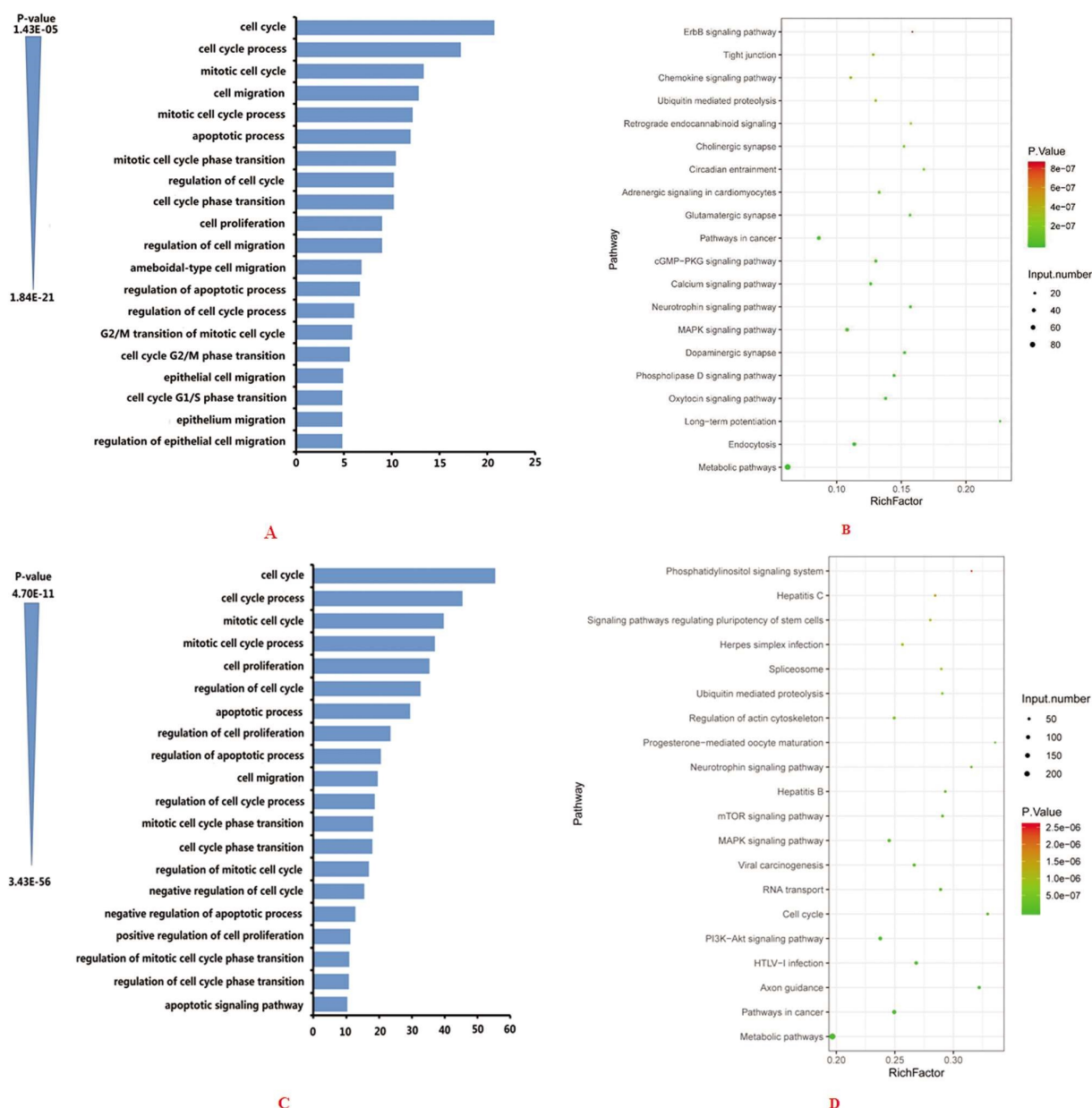


图 1 胶质瘤组织 circRNA 及 hsa_circ_0076931 在 H4 细胞中相关的差异靶基因的功能富集分析

Fig.1 Functional enrichment analysis of different target genes related to circRNA and hsa_circ_0076931 in glioma tissue in H4 cells

Note: A: ontology function enrichment analysis of circRNA in glioma tissues. B: circRNA pathway enrichment analysis in glioma tissues. C: ontology functional enrichment analysis of differential mRNA obtained after screening hsa_circ_0076931 overexpression in H4 cell line. D: pathway enrichment analysis of differential mRNA obtained after screening hsa_circ_0076931 overexpression in H4 cell lines.

2.4 hsa_circ_0076931 过表达抑制靶基因的表达及 MAPK 通路

在图 3 的 ceRNA 网络中,根据 mRNA 表达上调,文献调研 miRNA 的表达与文献报道一致的条件筛选得到关键靶基因 hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-181a-5p、hsa-miR-34a-5p 和双特异性磷酸酶 5(DUSP5)、血小板衍生生长因子受体(PDGFRB)和钙通道 $\beta 3$ 亚基(CACNB3)。采用 RT-qPCR 验证过表达后 H4 细胞系中 miR-181a-5p、miR-26a-5p、miR-34a-5p、DUSP5、PDGFRB、CACNB3 的表达水平。RT-qPCR 结果显示 hsa_circ_0076931 过表达后 hsa-miR-181a-5p、hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-34a-5p 表达下调(图 4A),DUSP5、PDGFRB、CACNB3

表达上调(图 4B)。检测 hsa_circ_0076931 对 MAPK 信号通路的影响以及 MAPK 信号通路中关键分子 ERK 和其磷酸化形式表达水平的变化,蛋白印记结果显示 hsa_circ_0076931 过表达后,磷酸化 ERK(p-ERK)蛋白表达降低(图 4C、D)。

3 讨论

近年来,尽管胶质瘤的外科技术、化疗和放射治疗方面取得很大进展,但由于肿瘤的大小、浸润程度与位置的不同,胶质瘤患者的预后仍然很差,甚至影响脑功能^[9-11]。因此,进一步研究胶质瘤的分子机制,筛选早期诊断的生物标志物,寻找潜在

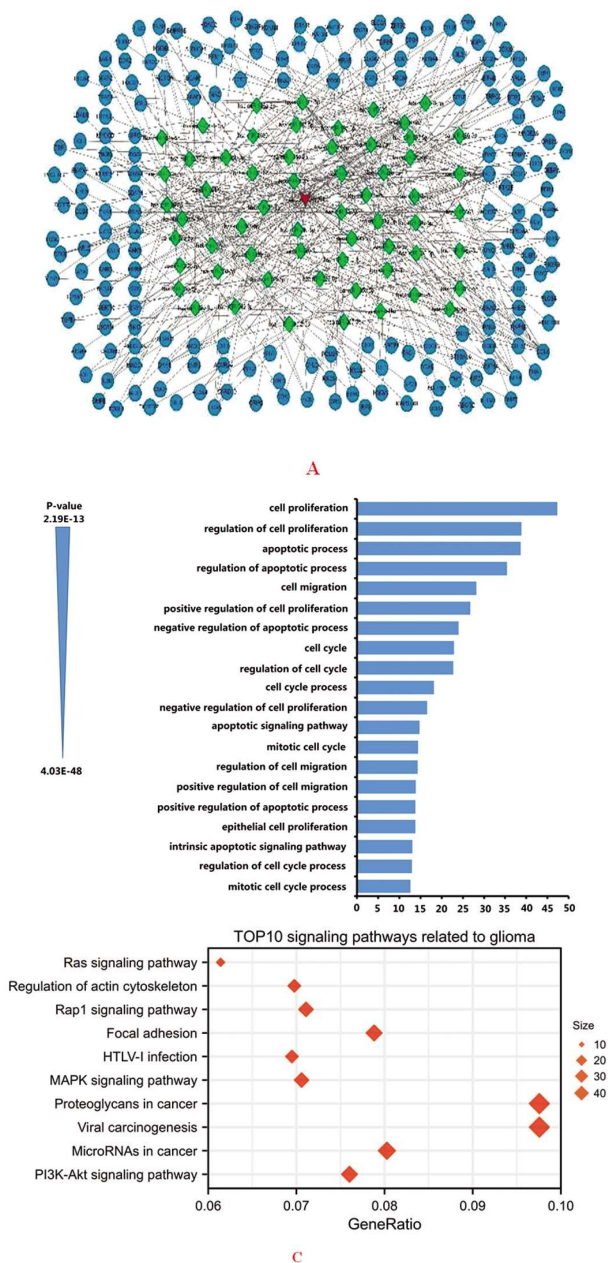


图2 hsa_circ_0076931 内源性竞争 RNA 互作网络及功能富集分析
Fig.2 The hsa_circ_0076931 endogenous competitive RNA interaction network and functional enrichment analysis

Note: A: the network construction included 60 miRNA (green diamonds) that interact with hsa_circ_0076931 (red triangle) in glioma cell line H4 and 191 mRNA (blue circles) that expressions dysregulated. B: GO analysis of differentially expressed mRNA related to proliferation, apoptosis, cycle, migration and invasion functions in the ceRNA network. C: the 10 most significant signaling pathways in the pathway enrichment analysis of mRNA with potential interaction with hsa_circ_0076931 in ceRNA network.

治疗靶点对提高胶质瘤的疗效具有重要的意义。越来越多证据表明, circRNA 在包括胶质瘤在内的多种恶性肿瘤的发生发展中起着重要的调控作用^[12-14]。

本研究通过前期测序结果^[8]发现 hsa_circ_0076931 在胶质瘤中表达显著下调, 是参与胶质瘤的关键分子, 将差异基因进行生物信息学分析, 确定差异基因与细胞周期及细胞迁移密切相

关, 且其主要富集的信号通路包括 MAPK、代谢、癌相关等通路。MAPK、代谢等通路均在胶质瘤发展中起重要作用^[15-17]。为了进一步探究 hsa_circ_0076931 在胶质瘤中的作用机制, 本研究通过过表达 hsa_circ_0076931 检测其互作网络中关键靶基因的表达变化。有研究显示 miR-181a-5p 和 miR-34a-5p 在食管癌中为促癌基因, 可通过提高食管癌细胞侵袭和迁移能力, 促进疾病进展^[18]。Hsa-miR-181a-5p 参与多种癌症的发生发展的病理过程, 包括胃癌^[19]、子宫内膜癌^[20]细胞增殖, 并与胃癌淋巴结侵袭相关^[19]。在本研究中, hsa_circ_0076931 过表达后这两个 miRNA 的转录水平表达显著下降, 说明 hsa_circ_0076931 可能通过调控 miR-181a-5p 和 miR-34a-5p 的表达进而抑制胶质瘤的发展。另一方面, RT-PCR 验证过表达 hsa_circ_0076931 可以上调 DUSP5、PDGFRB 和 CACNB3 转录水平。根据已有研究显示 PDGFRB 在胶质瘤中表达上调并促进胶质瘤的发展^[21], 另外, CACNB3 负责转导信号, 在人脑皮层、海马体等部位高表达, 缺失会影响小鼠的学习功能^[22]。DUSP5 是一种生长因子诱导型磷酸酶, 具有功能性核定位信号^[23-25]。有文献报道 DUSP5 在胶质瘤中低表达, 过表达 DUSP5 能够抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭等功能^[26], 且 Habibian JS^[27]等人报道 DUSP5 能够抑制 ERK1/2 的磷酸化, 进而抑制细胞的相关功能。胶质瘤中 DUSP5 表达降低, 是一种抑癌基因, 与本研究相符。DUSP5 可靶向锚定 ERK1 和 ERK2 到细胞核, 进而通过负调节 MAPK 信号通路^[26], 还可以通过调节磷酸化 ERK 表达进而调控 MAPK 信号通路的激活^[28-30]。本文基于生物信息学分析发现 MAPK 可能在 hsa_circ_0076931 参与胶质瘤的发展中起重要作用, 而且是 DUSP5 的重要调节靶通路。因此, 本研究推测 hsa_circ_0076931 可以通过上调 DUSP5 表达来抑制磷酸化 ERK 表达, 进而抑制 MAPK 信号通路。此外, 本研究分析目的基因互作网络中基因主要富集在包括 Rap1, Ras 以及 MAPK 与肿瘤发生发展密切相关的信号通路中, 通过蛋白印记检测, 结果与预期一致, H4 细胞中过表达 hsa_circ_0076931 后, 磷酸化的 ERK 蛋白水平显著降低。因此, hsa_circ_0076931 可以通过 p-ERK 进而抑制 MAPK 信号通路。根据 ceRNA 表格, hsa_circ_0076931、miR-181a-5p 和 DUSP5 之间符合 ceRNA 调控机制, 我们猜想 hsa_circ_0076931 可能通过吸附 hsa-miR-181a-5p 来上调 DUSP5 的表达, 进而抑制胶质瘤的发生发展, 但 hsa_circ_0076931、miR-181a-5p 与 DUSP5 基因之间的关系, 其与 MAPK 信号通路在胶质瘤中的作用还未完全明确, 我们将在今后的研究中进一步验证。

综上所述, hsa_hsa_circ_0076931 可能通过吸附 hsa-miR-181a-5p 来上调 DUSP5 的表达, 进而抑制胶质瘤的发生发展。

参考文献 (References)

- [1] Hide T, Shibahara I, Inukai M, et al. Ribosomes and Ribosomal Proteins Promote Plasticity and Stemness Induction in Glioma Cells via Reprogramming[J]. Cells, 2022, 11(14): 2142
- [2] 王传玺, 梅洁, 闫兆月, 等. MGMT、h MLH1 基因在人脑胶质瘤中的表达及对常见药物化疗敏感性的影响研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(5): 794-798
- [3] Ahmed SP, Castresana JS, Shahi MH. Role of Circular RNA in Brain

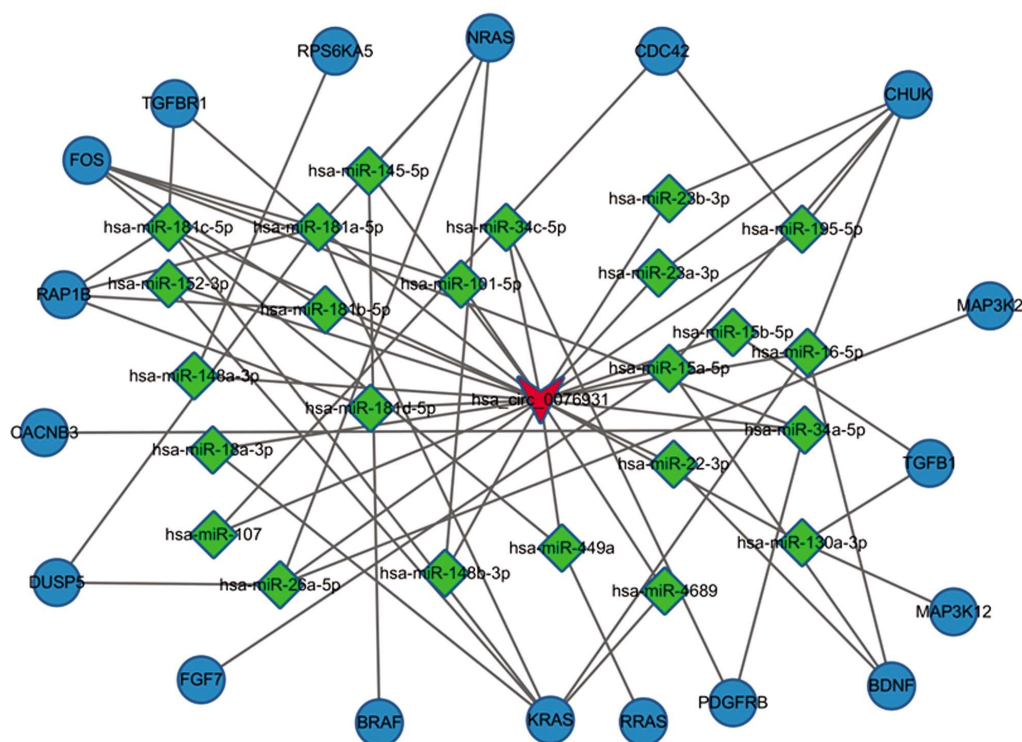


图3 参与 MAPK 通路的 hsa_circ_0076931-miRNA-mRNA 网络互作分析

Fig.3 Interaction analysis of hsa_circ_0076931-miRNA-mRNA network involved in MAPK pathway

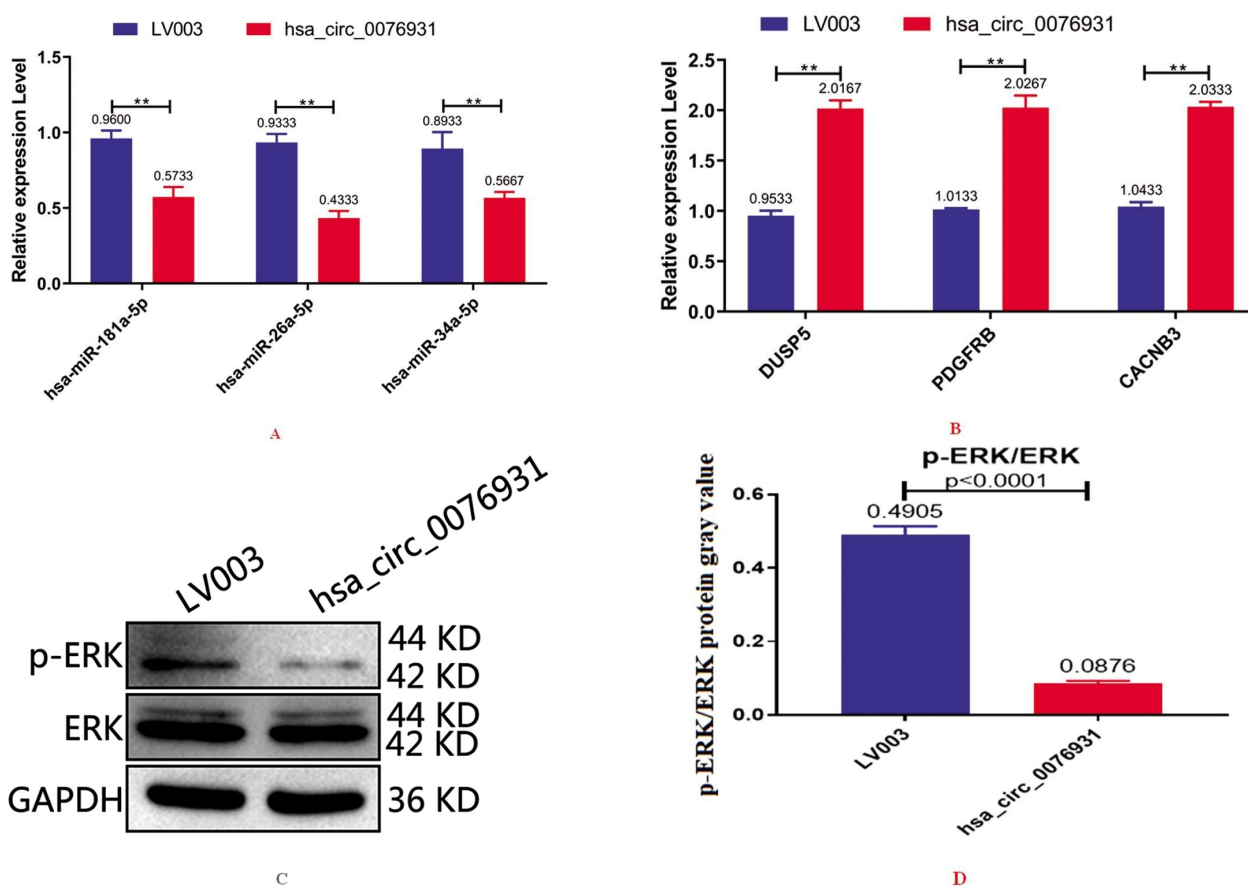


图4 hsa_circ_0076931 过表达抑制靶基因的表达及 MAPK 通路

Fig.4 The hsa_circ_0076931 overexpression inhibits the expression of target genes and MAPK pathway

Note: A: The RT-qPCR was used to detect the expression level of target genes after hsa_circ_0076931 overexpression, and the expressions of miR-181a-5p, miR-26A-5p and miR-34a-5p were inhibited. B: The RT-qPCR showed that overexpression of hsa_circ_0076931 could up-regulate the expression levels of target genes DUSP5, PDGFRB and CACNB3. C: The results of protein imprinting method. D: Overexpression of hsa_circ_0076931 inhibited the expression of p-ERK protein.

- Tumor Development[J]. Cells, 2022, 11(14): 2130
- [4] Salami R, Salami M, Mafi A, et al. Circular RNAs and glioblastoma multiforme: focus on molecular mechanisms [J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 13
 - [5] Sun W, Zhou H, Han X, et al. Circular RNA: A novel type of biomarker for glioma (Review)[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(2): 602
 - [6] Cen L, Liu R, Liu W, et al. Competing Endogenous RNA Networks in Glioma[J]. Front Genet, 2021, 12(29): 675498
 - [7] Long N, Chu L, Jia J, et al. CircPOSTN/miR-361-5p/TPX2 axis regulates cell growth, apoptosis and aerobic glycolysis in glioma cells [J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(6): 374
 - [8] Ke Y, Su S, Duan C, et al. Hsa_circ_0076931 suppresses malignant biological properties, down-regulates miR-6760-3p through direct binding, and up-regulates CCBE1 in glioma [J]. Biosci Rep, 2022, 42(1): BSR20211895
 - [9] 周秀珍, 张丽娜, 申静, 等. 脑胶质瘤患者血清 VTN、IGFBP、UBE2C 水平与临床病理特征和预后的关系研究 [J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(4): 693-697
 - [10] 崔承志, 刘翠, 丛培雨. 手术治疗多中心脑胶质瘤患者预后的相关影响因素分析[J]. 贵州医药, 2022, 46(3): 450-452
 - [11] 李博, 莫志海, 李钰, 等. 96 例脑胶质瘤术后放射治疗预后影响因素分析[J]. 临床军医杂志, 2015, 43(5): 487-489, 492
 - [12] Latowska J, Grabowska A, Zarebska Ż, et al. Non-coding RNAs in Brain Tumors, the Contribution of lncRNAs, circRNAs, and snoRNAs to Cancer Development-Their Diagnostic and Therapeutic Potential[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7001
 - [13] Abi A, Ghaedi K, Khosravi A, et al. Circular RNAs and Glioma: Small Molecule with Big Actions [J]. Curr Mol Med, 2021, 21(1): 25-44
 - [14] Sun J, Li B, Shu C, et al. Functions and clinical significance of circular RNAs in glioma[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 34
 - [15] Dang Y, Wei X, Xue L, et al. Long Non-Coding RNA in Glioma: Target miRNA and Signaling Pathways [J]. Clin Lab, 2018, 64(6): 887-894
 - [16] 陈玉升, 郭杨, 申汉威, 等. 胶质瘤差异表达基因筛选、功能富集和相关信号通路生物信息学分析 [J]. 中华医学杂志, 2019, 99(29): 2311-2314
 - [17] Eslahi M, Maleki Dana P, et al. The Effects of Sterol-Related Signaling Pathways on Glioma [J]. Nutr Cancer, 2022, 74(5): 1527-1537
 - [18] Lin Z, Chen Y, Lin Y, et al. Potential miRNA biomarkers for the diagnosis and prognosis of esophageal cancer detected by a novel absolute quantitative RT-qPCR method [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 20065
 - [19] Chen G, Shen ZL, Wang L, et al. Hsa-miR-181a-5p expression and effects on cell proliferation in gastric cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(6): 3871-3875
 - [20] He S, Zeng S, Zhou ZW, et al. Hsa-microRNA-181a is a regulator of a number of cancer genes and a biomarker for endometrial carcinoma in patients: a bioinformatic and clinical study and the therapeutic implication[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9(18): 1103-1175
 - [21] Dong Y, Jia L, Wang X, et al. Selective inhibition of PDGFR by imatinib elicits the sustained activation of ERK and downstream receptor signaling in malignant glioma cells [J]. Int J Oncol, 2011, 38(2): 555-569
 - [22] 江东, 郭维, 孙琪, 等. 逍遥散对慢性应激损伤模型大鼠海马区 Cacnb4 基因表达的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(3): 470-473, 后插 2
 - [23] Chen HF, Chuang HC, Tan TH. Regulation of Dual-Specificity Phosphatase (DUSP) Ubiquitination and Protein Stability [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 2668
 - [24] Chuang HC, Tan TH. MAP4K Family Kinases and DUSP Family Phosphatases in T-Cell Signaling and Systemic Lupus Erythematosus [J]. Cells, 2019, 8(11): 1433
 - [25] Kutty RG, Talipov MR, Bongard RD, et al. Dual Specificity Phosphatase 5-Substrate Interaction: A Mechanistic Perspective [J]. Compr Physiol, 2017, 7(4): 1449-1461
 - [26] Wang R, Bao HB, Du WZ, et al. P68 RNA helicase promotes invasion of glioma cells through negatively regulating DUSP5 [J]. Cancer Sci, 2019, 110(1): 107-117
 - [27] Habibian JS, Jelic M, Bagchi RA, et al. DUSP5 functions as a feedback regulator of TNF α -induced ERK1/2 dephosphorylation and inflammatory gene expression in adipocytes [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12879
 - [28] Caunt CJ, Keyse SM. Dual-specificity MAP kinase phosphatases (MKPs): shaping the outcome of MAP kinase signalling [J]. FEBS J, 2013, 280(2): 489-504
 - [29] Du M, Zhuang Y, Tan P, et al. microRNA-95 knockdown inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype in gastric cancer cells through MAPK pathway by upregulating DUSP5 [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2): 944-956
 - [30] Ferguson BS, Harrison BC, Jeong MY, et al. Signal-dependent repression of DUSP5 by class I HDACs controls nuclear ERK activity and cardiomyocyte hypertrophy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(24): 9806-9811