

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.11.008
文章编号: 1005-8982 (2022) 11-0044-07

实验研究·论著

ELK1 调控 PI3K/Akt 信号通路促进骨肉瘤细胞增殖及其机制研究

徐永军¹, 董舒², 王昊¹

(咸阳市中心医院 1. 骨一科, 2. 骨四科, 陕西 咸阳 712000)

摘要: **目的** 探讨E26转录因子1(ELK1)调控PI3K/Akt信号通路对骨肉瘤细胞增殖能力的影响及其发挥作用的可能机制。**方法** Western blotting检测ELK1在骨肉瘤细胞系U2OS、MG-63、HOS及正常成骨细胞hFOB11.9中的相对表达量;选择相对表达量最高的骨肉瘤细胞系进行ELK1 siRNA转染,分为si-NC组、si-ELK1-1组和si-ELK1-2组;MTS检测各组细胞增殖率;平板克隆实验检测各组细胞克隆形成能力;Western blotting检测各组细胞中PI3K/Akt信号通路关键蛋白pPI3K和pAkt的相对表达量;采用PI3K/Akt信号通路激活剂SC79与ELK1 siRNA同时处理骨肉瘤细胞后MTS法检测各组细胞增殖率,平板克隆实验检测各组细胞克隆形成能力。**结果** 与正常成骨细胞比较,ELK1在骨肉瘤细胞系中的相对表达量均升高($P < 0.05$),在U2OS细胞中的相对表达量最高($P < 0.05$);U2OS细胞转染ELK1 siRNA,Western blotting结果显示,与si-NC组比较,si-ELK1-1组、si-ELK1-2组U2OS细胞中ELK1的相对表达量降低($P < 0.05$);与si-NC组比较,si-ELK1-1组和si-ELK1-2组U2OS细胞增殖率和克隆形成能力均降低($P < 0.05$),细胞中pPI3K和pAkt蛋白的相对表达量降低($P < 0.05$)。SC79处理si-ELK1组U2OS细胞后,ELK1 siRNA对细胞增殖和克隆形成能力的抑制作用减弱($P < 0.05$)。**结论** ELK1在骨肉瘤细胞中高表达,通过激活PI3K/Akt信号通路促进骨肉瘤细胞增殖的能力,ELK1可作为治疗骨肉瘤的潜在靶点。

关键词: 骨肉瘤;E26转录因子1;增殖;转移;PI3K/Akt

中图分类号: R738.1

文献标识码: A

Function and mechanism of ELK1 regulating PI3K/Akt signaling pathway to promote osteosarcoma proliferation

Yong-jun Xu¹, Shu Dong², Hao Wang¹

(1. Department of Orthopedics 1, 2. Department of Orthopaedics 4, Xianyang Central Hospital, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

Abstract: Objective To study the effect of E26 transcription factor 1 (E-twenty six transcription factor 1, ELK1) on the proliferation of osteosarcoma cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway, and to explore the possible mechanism of its role. **Methods** Western blotting was used to detect the expression level of ELK1 in osteosarcoma cell lines MG-63, HOS, U2OS, and normal osteoblast hFOB11.9. High-expressing osteosarcoma cell line was selected for ELK1 siRNA infection and divided into si-NC group, si-ELK1-1 group, and si-ELK1-2 group. Western blotting was used to detect the expression level of ELK1 in each group of cells; MTS was used to detect the cell proliferation rate of each group; plate cloning experiment was used to detect the cell formation ability of each group; western blotting was used to detect the effects of PI3K/Akt signaling pathway-related proteins in each group of cells. PI3K/Akt signaling pathway activator SC79 and ELK1 siRNA were used to treat osteosarcoma cells at the

收稿日期: 2022-01-05

[通信作者] 董舒, E-mail: 15909279825@163.com

same time. MTS was used to detect the cell proliferation rate of each group. Plate cloning experiment was used to detect the cell clone formation ability of each group. **Results** Western blotting results showed that the expression of ELK1 in osteosarcoma cell lines was higher than that in normal osteoblasts ($P < 0.05$), and the expression was highest in U2OS cells ($P < 0.05$). U2OS cells were transfected with ELK1 siRNA. Western blotting showed that compared with the NC group, the expression of ELK1 in si-ELK1-1 and si-ELK1-2 groups U2OS cells were reduced ($P < 0.05$); compared with the si-NC group, the proliferation rate and cloning ability of si-ELK1-1 and si-ELK1-2 U2OS cells were decreased ($P < 0.05$), and the expression of pPI3K and pAkt proteins were decreased ($P < 0.05$). After SC79 treatment of U2OS cells in the si-ELK1 group, the inhibitory effect of ELK1 siRNA on cell proliferation and clone formation was weakened ($P < 0.05$). **Conclusion** Interfering with the expression of ELK1 can inhibit the proliferation of osteosarcoma cells by regulating PI3K/Akt.

Keywords: osteosarcoma; ELK1, protein; proliferation; metastasis; PI3K/Akt

骨肉瘤是常见的原发性恶性骨肿瘤, 具有青少年儿童发病率高、疾病进展快、恶性程度高及远处转移和复发率高的特点^[1]。尽管手术治疗与化疗相结合可以提高骨肉瘤患者的生存率, 但骨肉瘤患者的预后仍然不能令人满意, 尤其是在初次检查时出现临床转移的患者中^[2]。表观遗传学领域的新证据表明, 骨肉瘤是由遗传改变和遗传积累引起的。肿瘤的恶性进展取决于基因的调控, 因此寻找与骨肉瘤恶性表型显著相关及在骨肉瘤中发挥关键作用的基因至关重要^[3]。E26 转录因子 1 (E-twenty six transcription factor 1, ELK1) 是属于 ETS 家族和三元复合因子 (ternary complex factor, TCF) 亚家族的转录因子, 在调节细胞生长、分化及存活中起关键作用^[4]。ELK1 在结直肠癌、骨肉瘤、胃癌等多种恶性肿瘤中表达升高, 促进恶性肿瘤的发生、发展^[5-7], 而 ELK1 在骨肉瘤中发挥的具体生物学功能未知。PI3K/Akt 信号通路是与肿瘤发生、发展密切相关的重要调控途径^[8], 抑制其激活可作为抗肿瘤治疗的有效策略^[9]。因此, 本文对 ELK1 在骨肉瘤中发挥的生物学功能及其通过调控 PI3K/Akt 信号通路的作用机制进行了初步研究, 旨在获得 ELK1 作为骨肉瘤治疗潜在分子靶点的重要实验室依据。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

骨肉瘤细胞系 U2OS、MG-63、HOS 及正常成骨细胞 hFOB11.9 (中国科学院细胞库提供), 培养基、胎牛血清和胰酶 (美国 Gibco 公司); 6 孔板、96 孔板及培养瓶 (美国 Corning 公司), RIPA (北京索莱宝试剂有限公司), BCA 蛋白检测试剂盒 (上海碧

云天生物技术有限公司), PVDF 膜 (美国 Promega 公司), ECL 发光液 (美国 millipore 公司), ELK1 siRNA (广州锐博生物生物技术有限公司), MTS 增殖检测试剂盒 (中国北京百奥莱博科技有限公司), 吉姆萨染色 (上海歌凡生物科技有限公司), ELK1、pPI3K 和 pAkt 抗体 (英国 Abcam 公司)。

1.2 细胞培养

骨肉瘤细胞系 U2OS、MG-63、HOS 及正常成骨细胞 hFOB11.9 复苏后重悬至含有 10% 胎牛血清的培养基中, 全湿度条件下放置在 37℃、5% 二氧化碳培养箱中培养。观察培养基的颜色, 变为黄色时更换新鲜培养基, 细胞融合度为 95% 左右时, 以 1:2 进行细胞传代。

1.3 Western blotting 检测 ELK1 蛋白相对表达量

骨肉瘤细胞系 U2OS、MG-63、HOS 及正常成骨细胞 hFOB11.9 长满后, 胰酶进行消化后收集细胞, PBS 洗 3 次, 获得细胞斑块, 加入 RIPA 混匀于冰上裂解细胞 10 min, 4℃ 高速离心 30 min。取 4 μL 上清液检测 ELK1 蛋白, 其余的上清液移至新的 EP 管中, 加入上样缓冲液煮沸蛋白变性。蛋白加至 SDS-PAGE 凝胶中, 电泳仪 80 V 分离蛋白, 100 V 转膜 (PVDF 膜), PVDF 膜放至 8% 脱脂牛奶中室温孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 加入 ELK1 和内参 GAPDH 一抗稀释液 4℃ 孵育过夜, TBST 洗 3 次后, 加入兔二抗室温孵育 1 h, ECL 试剂盒显示蛋白条带。Image J 软件分析各组细胞中 ELK1 的相对表达量。

1.4 细胞转染

对常规培养中 ELK1 蛋白相对表达量最高的骨肉瘤细胞进行 ELK1 siRNA 感染。细胞呈对数生长时, 胰酶进行消化后收集细胞数, 以 1×10^5 个/孔接种至 6 孔板中, 分为 si-NC 组 (对照)、si-ELK1-1

组(ELK1 干扰 siRNA 序列 1)及 si-ELK1-2 组(ELK1 干扰 siRNA 序列 2)。细胞贴壁后采用 Lipofectamine 2000 进行各组 siRNA 转染,全湿度条件下放置在 37℃、5% 二氧化碳培养箱中培养 12 h 后更换新鲜培养基,转染 48 h 后,按照 1.3 中方法检测各组细胞中 ELK1 蛋白相对表达量,验证各组 ELK1 siRNA 转染效率。

1.5 MTS 实验

对常规培养中 ELK1 蛋白相对表达量最高的骨肉瘤细胞进行 MTS 实验。细胞呈对数生长时,胰酶进行消化后收集细胞数,以 1 000 个/孔接种至 96 孔板中,分为 si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组,按照 1.4 细胞转染的方法进行转染。转染 48 h 后,向 96 孔板中加入 30 μ L/孔 MTS 试剂,全湿度条件下放置在 37℃、5% 二氧化碳培养箱中孵育 2 h 后,检测各孔在 490 nm 波长处的 OD 值。细胞增殖率=实验组 OD 值/对照组 OD 值 \times 100%。

1.6 平板克隆实验

对常规培养中 ELK1 蛋白相对表达量最高的骨肉瘤细胞进行平板克隆实验。细胞呈对数生长时,胰酶进行消化后收集细胞数,以 500 个/孔接种至 6 孔板中,分为 si-NC 组、si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组,按照 1.4 细胞转染的方法进行转染。全湿度条件下放置在 37℃、5% 二氧化碳培养箱中培养 2 周左右,肉眼可见克隆团形成时终止细胞培养,培养过程中培养基变黄时更换新鲜培养基。PBS 洗 3 次,加入甲醇固定 10 min,加入吉姆萨染液进行细胞染色,扫描拍照计数各组细胞克隆团形成数目,检测各组细胞克隆形成能力。

1.7 PI3K/Akt 信号通路检测

收集转染的各组细胞,按照 1.3 中 Western blotting 检测 si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组中 PI3K/Akt 信号通路关键蛋白 pPI3K 和 pAkt 的相对表达量。

1.8 SC79 处理骨肉瘤细胞进行功能回复实验

对常规培养中 ELK1 相对表达最高的骨肉瘤细胞进行功能回复实验。细胞呈对数生长时,胰酶进行消化后收集细胞数,以 1×10^5 个/孔接种至 6 孔板中,分为 si-NC 组、si-ELK1 组及 si-ELK1+SC79 组,细胞贴壁后 si-NC 组转染对照 siRNA、si-ELK1

组转染干扰 ELK1 表达效果较好的 ELK1 siRNA, si-ELK1+SC79 组转染 ELK1 siRNA 的同时加入 5 μ mol SC79 作用 48 h,采用 MTS 实验和平板克隆实验检测各组细胞的增殖率和克隆形成能力。

1.9 统计学方法

数据分析用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间的比较用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Dunnett-*t* 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELK1 在骨肉瘤细胞系中的相对表达量

Western blotting 结果显示,ELK1 在骨肉瘤细胞系 U2OS、MG-63、HOS 中的表达分别为 (6.12 ± 1.05)、(2.51 ± 0.11)和 (2.99 ± 0.13),在正常成骨细胞 hFOB11.9 中的表达为 (0.98 ± 0.07),多组间比较差异有统计学意义 ($F = 49.155, P = 0.000$),与正常成骨细胞比较,ELK1 在骨肉瘤细胞系中的相对表达量均升高 ($P < 0.05$),其中,在 U2OS 细胞中的相对表达量最高 ($P < 0.05$)。见图 1。

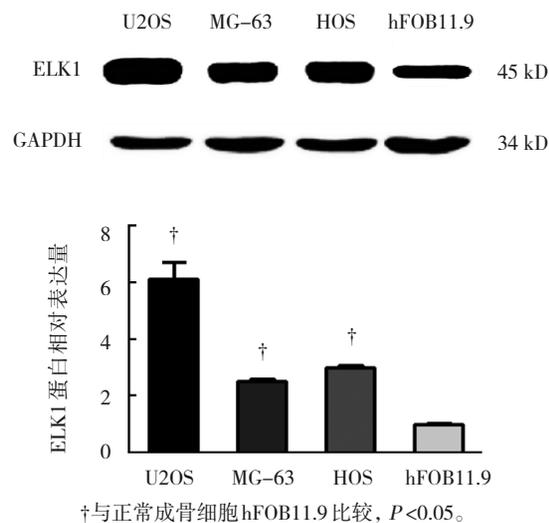


图 1 ELK1 在骨肉瘤细胞系和正常成骨细胞中的相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.2 ELK1 siRNA 转染效果

选择 ELK1 相对表达量最高的骨肉瘤细胞 U2OS 进行 ELK1 siRNA 转染,Western blotting 结果显示,ELK1 在 si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞中的相对表达量分别为 (1.95 ± 0.35)、

(0.85 ± 0.08) 和 (0.62 ± 0.09), 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 33.195, P = 0.001$); 与 si-NC 组比较, si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞中 ELK1 蛋白的相对表达量降低 ($P < 0.05$), si-ELK1-2 组的干扰效果较好, 可进行后续的功能回复实验。见图 2。

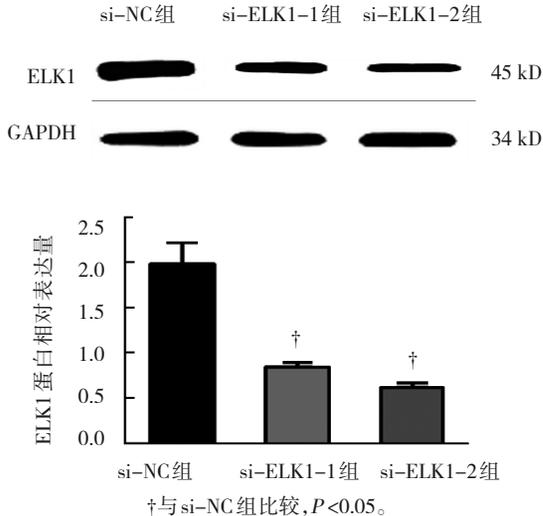


图 2 ELK1 siRNA 转染效果

2.3 干扰 ELK1 对 U2OS 细胞增殖率的影响

MTS 实验结果显示, si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞增殖率分别为 (100.00 ± 0.00)%、(47.22 ± 6.22)% 和 (35.42 ± 5.44)%, 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 311.746, P = 0.000$); 与 si-NC 组比较, si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞增殖率降低 ($P < 0.05$)。见图 3。

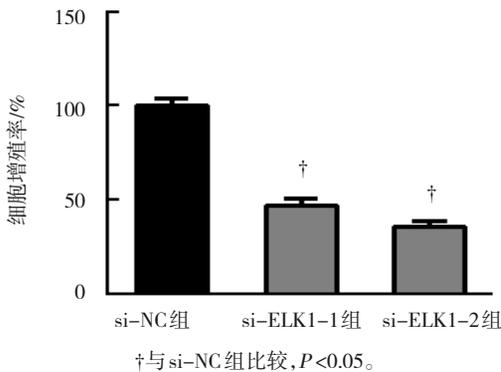


图 3 干扰 ELK1 对 U2OS 细胞增殖率的影响

2.4 ELK1 对 U2OS 细胞克隆形成能力的影响

平板克隆形成实验结果显示, si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞克隆形成数目

分别为 (116.33 ± 13.54) 个、(69.67 ± 6.29) 个和 (36.67 ± 8.42) 个, 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 49.075, P = 0.000$); 与 si-NC 组比较, si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞克隆形成能力降低 ($P < 0.05$)。见图 4。

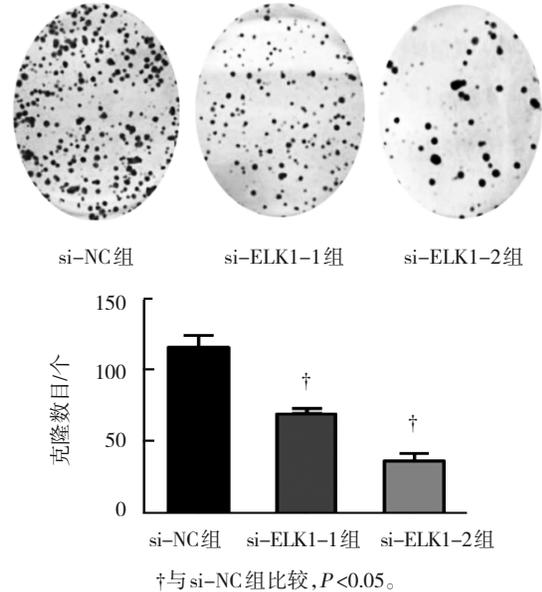


图 4 干扰 ELK1 对 U2OS 细胞克隆形成能力的影响

2.5 ELK1 对 U2OS 细胞中 PI3K/Akt 信号通路的影响

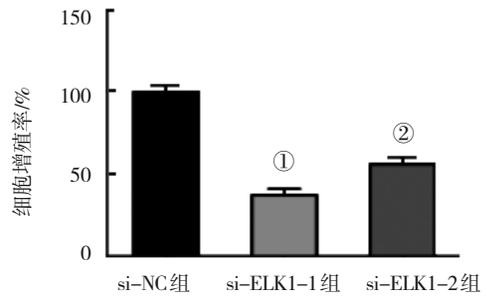
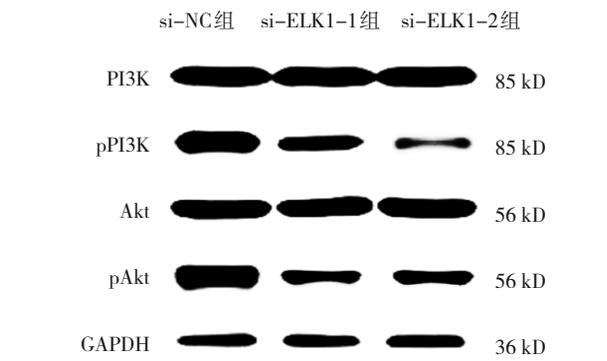
Western blotting 实验结果显示, si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞中 PI3K 和 Akt 蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); si-NC 组、si-ELK1-1 组及 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞中 pPI3K 和 pAkt 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组的 pPI3K 和 pAkt 蛋白相对表达量较 si-NC 组降低 ($P < 0.05$)。见表 1 和图 5。

2.6 ELK1 调控 PI3K/Akt 信号通路影响 U2OS 细胞增殖和克隆形成能力

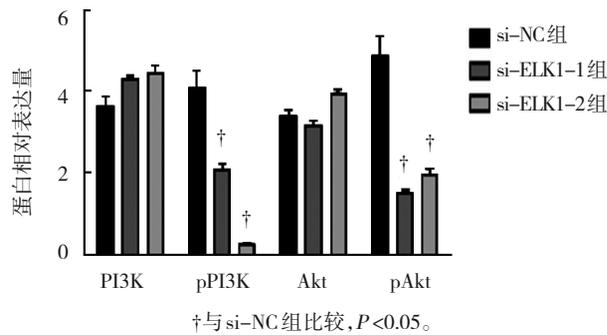
采用 PI3K/Akt 信号通路激活剂 SC79 处理 ELK1 siRNA 转染的细胞进行功能回复实验的研究。MTS 实验结果显示, si-NC 组、si-ELK1 组和 si-ELK1+SC79 组 U2OS 细胞增殖率分别为 (100.00 ± 0.00)%、(37.36 ± 6.44)%、(56.14 ± 7.19)%, 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 99.820, P = 0.000$), 与 si-NC 组比较, si-ELK1 组和 si-ELK1+SC79 组 U2OS 细胞增

表 1 干扰 ELK1 对 PI3K/Akt 信号通路的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	PI3K	pPI3K	Akt	pAkt
si-NC组	3.65 ± 0.43	4.09 ± 0.76	3.41 ± 0.25	4.88 ± 0.81
si-ELK1-1组	4.31 ± 0.15	2.08 ± 0.28	3.18 ± 0.18	1.55 ± 0.19
si-ELK1-2组	4.46 ± 0.27	0.26 ± 0.05	3.94 ± 0.24	1.98 ± 0.23
F 值	4.514	50.163	4.965	41.638
P 值	0.053	0.000	0.056	0.000



①与 si-NC 组比较, $P < 0.05$; ②与 si-ELK1-1 组比较, $P < 0.05$ 。



†与 si-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

图 5 干扰 ELK1 对 U2OS 细胞 PI3K/Akt 信号通路的影响

殖率降低 ($P < 0.05$)。与 si-ELK1 组比较, si-ELK1+SC79 组 U2OS 细胞增殖率增加 ($P < 0.05$), SC79 减弱 ELK1 对细胞增殖率的抑制作用。

平板克隆实验结果显示, si-NC 组、si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞克隆形成数目分别为 (109.67 ± 18.66) 个、 (35.33 ± 6.85) 个、 (72.67 ± 5.22) 个, 3 组比较, 差异有统计学意义 ($F = 29.44, P = 0.001$); 与 si-NC 组比较, si-ELK1-1 组和 si-ELK1-2 组 U2OS 细胞克隆形成数目减少 ($P < 0.05$)。与 si-ELK1-1 组比较, si-ELK1-2 组 U2OS 细胞克隆形成数目增加 ($P < 0.05$), SC79 减弱 ELK1 对细胞克隆形成能力的抑制作用。见图 6。

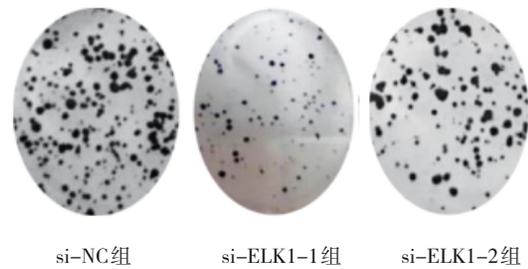


图 6 ELK1 调控 PI3K/Akt 信号通路影响 U2OS 细胞增殖和克隆形成能力

3 讨论

骨肉瘤的发病率为 3/100 万, 是骨组织中最常见的恶性肿瘤^[1]。骨肉瘤最常见的发病部位是股骨远端, 其次是胫骨近端和肱骨长骨的干骺端。骨肉瘤通常发生在青少年中, 0 ~ 24 岁骨肉瘤患者的发病率为 2.0% ~ 7.6%, 在所有儿童和青少年骨恶性肿瘤死亡者中, 约有 8.9% 是由骨肉瘤引起的^[10]。手术联合放化疗是骨肉瘤患者的主要治疗方法, 对早期患者疗效较好, 但是约有 20% 的骨肉瘤患者在初次检查时就出现了肺部临床转移症状, 长期生存率较差, 骨肉瘤患者的 5 年生存率仅为 60% 左右^[10]。骨肉瘤的复发和转移导致病死率升高, 研究报道局限性早期骨肉瘤患者 5 年生存率为 80%,

而晚期骨肉瘤患者的 5 年生存率仅为 15% ~ 30%^[11]。因此研究骨肉瘤进展的分子机制对改善患者预后具有重要意义。骨肉瘤的发病机制是错综复杂的, 主要由遗传和环境因素组成^[3]。针对肿瘤发生、发展中关键基因的治疗是新近发现的抗肿瘤治疗, 即分子靶向治疗, 骨肉瘤的分子靶向治疗仍处于研究阶段, 在分子水平研究骨肉瘤的恶性进展机制是寻找抗骨肉瘤治疗的关键途径^[12]。

E26(E-twenty six, ETS)家族是较大的细胞内转录因子调控家族之一, 该家族大多数的成员在生理和病理过程中具有重要的作用, 包括胚胎发育、细胞分化、细胞增殖与凋亡、细胞与细胞间的相互作用等, 在包括恶性肿瘤在内的人类疾病中发挥重要调控作用^[13]。ETS 家族重要调控转录因子之一的 ELK1 同样在调控细胞增殖、分化及存活过程中发挥关键作用, 研究报道^[14]ELK1 是新型的肿瘤促癌基因, 在前列腺癌中 ELK1 表达与较高的临床 T 期、病理 T 期, 格里森评分、预后等级及阳性淋巴结状态相关, 并是前列腺癌疾病复发的独立预后因子。在宫颈癌中 ELK1 诱导 GPC3-AS1/GPC3 轴促进宫颈癌细胞的增殖和迁移^[15]。而 SU 等^[6]研究报道长链非编码 RNA (lncRNA) MIR100HG 在骨肉瘤组织和细胞系中高表达, 其高表达是骨肉瘤患者预后不良因素, 干扰 MIR100HG 的表达可抑制骨肉瘤细胞增殖和细胞周期的进程, 并促进细胞凋亡, 其作用机制是被转录因子 ELK1 上调。因此 ELK1 上调促进骨肉瘤的进程。而本文对 ELK1 在骨肉瘤中的直接生物学作用进行研究。首先 Western blotting 检测发现, ELK1 在骨肉瘤细胞系中的相对表达量高于其在正常成骨细胞中的相对表达量, 并选择 ELK1 相对表达最高的骨肉瘤细胞进行干扰, MTS 和平板克隆实验发现骨肉瘤细胞的增殖能力下降, 表明 ELK1 在骨肉瘤细胞中高表达促进细胞的增殖。由于组织样本的限制, 本文未在骨肉瘤组织水平对 ELK1 的表达水平进行验证, 仍需在后续实验中进行补充。

ELK1 在骨肉瘤中发挥作用的分子机制需进一步研究。研究报道 ELK1 作为转录因子, 通过激活有丝分裂原激活的蛋白激酶 (MAPK)/细胞外信号调节激酶 (ERK) 途径而被磷酸化并转移到细胞核, 从而导致包括原癌基因 c-fos 下游靶点的调控发挥生

物学功能^[16]。WANG 等^[17]发现在肾透明细胞癌中 ELK1 可以调节 NDUFA4L2 的表达, 参与细胞生长和死亡过程, 而 NDUFA4L2 可能与 PI3K/Akt 发挥相互作用。PI3K/Akt 激活可促进肿瘤的恶性增殖, 由于其密切参与多种肿瘤的各种恶性生物学行为^[18-19], PI3K/Akt 可作为抗肿瘤治疗的分子靶点, PI3K/Akt 信号通路抑制剂已经在抑制肿瘤的进展中取得了一定的疗效^[20]。研究报道在骨肉瘤中 PI3K/Akt 信号通路也处于异常激活状态, PI3K/Akt 信号通路关键蛋白 PI3K 和 Akt 发生磷酸化, 促进或抑制其下游通路分子的表达, 以促进肿瘤的发生、发展^[21-22]。本文采用 Western blotting 检测 ELK1 的表达对骨肉瘤细胞中 PI3K/Akt 信号通路的影响, 结果发现干扰 ELK1 的表达后, 骨肉瘤细胞中 PI3K/Akt 信号通路关键蛋白 pPI3K 和 pAkt 蛋白表达降低, 表明 ELK1 可能通过调控 PI3K/Akt 促进骨肉瘤细胞增殖。并进一步采用 PI3K/Akt 信号通路激活剂 SC79 进行功能回复实验, 结果显示 SC79 恢复 si-ELK1 组部分增殖能力, 表明 ELK1 通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进骨肉瘤细胞的增殖。

综上所述, ELK1 在骨肉瘤细胞中高表达, 通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进骨肉瘤细胞增殖的能力, ELK1 可作为治疗骨肉瘤的潜在靶点。

参 考 文 献 :

- [1] GIANFERANTE D M, MIRABELLO L, SAVAGE S A. Germline and somatic genetics of osteosarcoma - connecting aetiology, biology and therapy[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2017, 13(8): 480-491.
- [2] 张健烽, 刘云霞. 骨肉瘤治疗的研究进展[J]. *浙江医学*, 2019, 41(7): 723-727.
- [3] LEAVEY P J. Biomarker development in osteosarcoma-is there no longer any utility to tumor necrosis? [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63(10): 1702-1703.
- [4] AKATSU Y, TAKAHASHI N, YOSHIMATSU Y, et al. Fibroblast growth factor signals regulate transforming growth factor- β -induced endothelial-to-myofibroblast transition of tumor endothelial cells via Elk1[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(8): 1706-1724.
- [5] 侯倩倩, 杨芳, 王大庆, 等. ELK1 转录激活 PD-L1 表达对结肠癌细胞增殖及侵袭影响[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(2): 122-129.
- [6] SU X C, TENG J Y, JIN G G, et al. Elk1-induced upregulation of long non-coding RNA MIR100HG predicts poor prognosis and promotes the progression of osteosarcoma by epigenetically silencing LATS1 and LATS2[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 788-797.

- [7] HUANG B, CHANG C, WANG B L, et al. Elk1-induced upregulation of lncRNA TRPM2-AS promotes tumor progression in gastric cancer by regulating miR-195/ HMGA1 axis[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(10): 16921-16933.
- [8] REDDY D, GHOSH P, KUMAVATH R. Strophanthidin attenuates MAPK, PI3K/AKT/mTOR, and Wnt/ β -catenin signaling pathways in human cancers[J]. Front Oncol, 2019, 9: 1469.
- [9] 孙肖, 毕经旺. PI3K 抑制剂与非小细胞性肺癌[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(5): 547-552.
- [10] MORENO F, CACCIAVILLANO W, CIPOLLA M, et al. Childhood osteosarcoma: incidence and survival in Argentina. report from the national pediatric cancer registry, ROHA network 2000-2013[J]. Pediatr Blood Cancer, 2017, 64(10): e26533.
- [11] KELLEHER F C, O'SULLIVAN H. Monocytes, macrophages, and osteoclasts in osteosarcoma[J]. J Adolesc Young Adult Oncol, 2017, 6(3): 396-405.
- [12] 李嘉伊, 任庆兰. 晚期骨肉瘤分子靶向治疗研究进展[J]. 现代医药卫生, 2019, 35(19): 2996-2999.
- [13] 曾红, 杨洋, 安输, 等. Ets 转录因子的生理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(12): 1645-1650.
- [14] PARDY L, ROSATI R, SOAVE C, et al. The ternary complex factor protein Elk1 is an independent prognosticator of disease recurrence in prostate cancer[J]. Prostate, 2020, 80(2): 198-208.
- [15] HU R, ZHU Z M. Elk1-activated GPC3-AS1/GPC3 axis promotes the proliferation and migration of cervical cancer cells[J]. J Gene Med, 2019, 21(8): e3099.
- [16] RODRIGUEZ-AGUAYO C, BAYRAKTAR E, IVAN C, et al. PTGER3 induces ovary tumorigenesis and confers resistance to cisplatin therapy through up-regulation Ras-MAPK/Erk-ETS1-ELK1/CFTR1 axis[J]. E Bio Medicine, 2019, 40: 290-304.
- [17] WANG L, PENG Z Q, WANG K Z, et al. NDUFA4L2 is associated with clear cell renal cell carcinoma malignancy and is regulated by Elk1[J]. Peer J, 2017, 5: e4065.
- [18] 吴子鑫, 吴申伟. PI3K/AKT/mTOR 信号通路及其与乳腺癌关系的研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60(16): 107-110.
- [19] SHI X, WANG J J, LEI Y, et al. Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer (review) [J]. Mol Med Rep, 2019, 19(6): 4529-4535.
- [20] YANG J, NIE J, MA X L, et al. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 26.
- [21] ZHANG Y, WENG Q Y, HAN J M, et al. Alantolactone suppresses human osteosarcoma through the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(2): 675-684.
- [22] 陶海, 郭卫春. 调控骨肉瘤及干细胞的相关信号通路[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(13): 2102-2107.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 徐永军, 董舒, 王昊. ELK1 调控 PI3K/Akt 信号通路促进骨肉瘤细胞增殖及其机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(11): 44-50.

Cite this article as: XU Y J, DONG S, WANG H. Function and mechanism of ELK1 regulating PI3K/Akt signaling pathway to promote osteosarcoma proliferation[J]. China Journal of Modern Medicine, 2022, 32(11): 44-50.