

Notch信号通路相关的非编码RNA在骨肉瘤中的研究进展

李文强¹, 白锐²

¹内蒙古医科大学研究生院, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古医科大学第二附属医院儿童骨科医学中心, 内蒙古 呼和浩特

收稿日期: 2024年1月18日; 录用日期: 2024年2月11日; 发布日期: 2024年2月19日

摘要

骨肉瘤是临床最常见的恶性成骨性肿瘤之一, 具有发病率高、治愈率低的特点。Notch信号通路在调控骨肉瘤细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移、血管生成, 维持稳态等方面起重要作用, 可能是预防骨肉瘤侵袭和转移的新型治疗策略。有研究证实非编码RNA如miRNA、lncRNA、circRNA等通过靶向Notch信号通路调控骨肉瘤的发生和发展, 为治疗骨肉瘤提供一定的理论基础。本文章综述了Notch信号通路的组成, 并重点阐述了相关非编码RNA靶向Notch信号通路在OS中的作用, 对骨肉瘤的临床治疗和预后具有重要的临床意义。

关键词

骨肉瘤, Notch信号通路, miRNA, lncRNA, circRNA, 非编码RNA

Research Progress of Non-Coding RNA Related to Notch Signaling Pathway in Osteosarcoma

Wenqiang Li¹, Rui Bai²

¹Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

²Children's Orthopedic Medical Center, The Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Received: Jan. 18th, 2024; accepted: Feb. 11th, 2024; published: Feb. 19th, 2024

Abstract

Osteosarcoma is one of the most common malignant osteogenic tumors in clinic. It has the charac-

teristics of high incidence rate and low cure rate. Notch signaling pathway plays an important role in regulating osteosarcoma cell proliferation, apoptosis, invasion, migration, angiogenesis and maintaining homeostasis. It may be a new therapeutic strategy to prevent osteosarcoma invasion and metastasis. Some studies have confirmed that noncoding RNAs such as miRNA, lncRNA and circRNA regulate the occurrence and development of osteosarcoma by targeting Notch signal pathway, which provides a theoretical basis for the treatment of osteosarcoma. This article reviews the composition of Notch signaling pathway, and focuses on the role of related non coding RNA targeted Notch signaling pathway in OS, which has important clinical significance for the clinical treatment and prognosis of osteosarcoma.

Keywords

Osteosarcoma, Notch Signaling Pathway, miRNA, lncRNA, circRNA, Non-Coding RNA

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨肉瘤(Osteosarcoma, OS)是临床最常见的恶性成骨性肿瘤之一,可以发生于任何年龄段的人,但大多数发生在儿童、青少年和青壮年[1] [2]。根据国家癌症研究所人口为基础的监测、流行病学调查得出最终结果,约53%的骨肉瘤患者年龄 < 24岁,并且男孩比女孩多见,25~59岁患者占28%,剩下19%的骨肉瘤患者是60岁以上老年人。全球每年OS的发病率为3.4/百万人,相对于年龄呈双峰分布模式:在10~14岁达到第一次高峰,在60岁后出现第二次高峰。在20世纪70年代引入辅助化疗之前,骨肉瘤患者的标准治疗方法是截肢[3] [4]。到1990年,随着新辅助化疗和外科手术技术的发展,OS患者的5年生存率从20%提高到约55%至70% [5]。到20世纪90年代,基因治疗成为研究热点,这也为OS患者的治疗提供了新的见解。骨肉瘤患者的预后和生活质量在过去的几十年里得到了显著的改善,20世纪70年代初,应用大剂量甲氨蝶呤、长春新碱和亚叶酸等手术辅助化疗把患者的存活率提高了3倍,然而,转移性或复发性骨肉瘤患者的生存率在过去30年中几乎没有变化,因此该疾病的分子信号机制仍有待深入研究[6]。目前,许多研究已经证实Notch、Wnt、Hedgehog、PI3/Akt等信号通路在骨肉瘤的生理和病理过程中起重要作用[7],Notch通路机制在不断被揭示,目前已成为OS基因治疗研究的热点之一,参与骨肉瘤的增殖、凋亡以及侵袭迁移,促使骨肉瘤的耐药和再生,在骨肉瘤发生和发展过程中扮演重要角色[8]。

Notch通路是多细胞生物发育过程中进化保守的信号通路,在骨肉瘤中发挥重要作用,影响多种细胞过程,包括决定细胞命运,调控OS细胞增殖、凋亡、迁移、血管生成,维持稳态等[9]。自1917年Morgan在Notch果蝇突变体中首次描述Notch信号以来,人们一直在努力了解它在决定细胞命运、增殖、凋亡和分化中的多种功能[10]。在果蝇遗传学的早期阶段之后,也就是20世纪80年代,Notch信号通路的研究进入了分子时代。Michael Young和Spyros Artavanis-Tsakonas的研究小组[11]克隆了果蝇Notch受体基因,通过苍蝇遗传学和生物化学的结合进行研究,这是Notch信号研究中里程碑式的突破。在这些研究奠定的基础上,有研究通过动物模型阐明了Notch信号通路与骨肉瘤的发生发展存在着密切关系,在这篇综述中,我们简要介绍了Notch信号通路及其信号转导机制,并重点关注了Notch信号通路在骨肉瘤中的重要作用。

2. Notch 信号通路组成及表达

Notch 信号通路包括 Notch 配体、受体、负性和正性修饰物以及 Notch 靶向转录因子。在哺乳动物中, 有 4 个 Notch 受体(Notch1-4)、5 个 Notch 配体(JAG1、2、DLL1、3、4)、核转录因子[12] [13]。Notch 受体是一个由异源二聚体组成的单一跨膜分子, 其配体也是一个跨膜分子。与大多数受体、配体有所不同的是, Notch 受体和 Notch 配体都是膜蛋白, 通过相邻细胞通信。Notch 受体在内质网中产生, 当 Notch 受体与其配体结合时, Notch 信号被激活, Notch 受体作为异二聚体靶向到细胞膜表面, 改变了其特定配体激活 Notch 信号的能力, 与邻近细胞呈现的配体结合而被激活。Notch 受体在到达质膜的过程中被高尔基体内的 furin 样转化酶处理(S1 裂解), 形成成熟的 Notch 受体并迁移至细胞的表面, 再被 ADAM 金属蛋白酶的配体相互作用处理(S2 裂解), 受体被 γ -分泌酶复合体水解(S3 裂解), 最终产生 Notch (NICD)的胞内结构域。Notch 胞内结构域(NICD)是 Notch 受体激活的最终产物, 一旦 NICD 被 γ -分泌酶释放, 它就会易位到细胞核中, 调控包含 DNA 结合蛋白 CBF1/RBPjk/Su(H)/Lag1 (CSL)的转录复合物。在细胞核中, NICD 与 DNA 结合蛋白 CSL 和 MAML 形成三聚体复合物, 将 CSL 从阻遏物转化为激活因子, 并启动 Notch 下游靶基因的转录; 在 NICD 缺失的情况下, CSL 也可以与转录辅抑制蛋白结合来抑制基因表达。这种核心信号转导途径用于大多数 Notch 依赖的过程, 因此被称为“典型”途径[14]。一项对 12 例骨肉瘤患者的队列研究显示, Notch 1 信号通路在肿瘤组织中显著上调, Notch (NICD)的胞内结构域和 Notch 靶基因 Hes1 的高表达与化疗反应不良相关。但 Notch 2 和 Notch 3 在骨肉瘤中的表达及其临床意义尚未见报道。Notch 信号还可以在信号级联的许多不同阶段被修饰, 作用于 Notch 受体本身、它们的配体、配体介导的蛋白质切割或随后的 NICD 核转位和激活[15] [16]。值得一提的是, OS 发病机制与 Notch 信号传导激活相关, 近年来已经有许多研究和动物模型阐明了 Notch 信号的生理和病理作用, 包括 OS 的体内模型, 已经表明 Notch 受体(Notch-1、Notch-2)、配体和细胞内信号传导分子(hey-1、hes-1)的水平增加与 OS 转移能力有关[17]; 在体外研究中, Tanaka 等人[18]研究发现 Notch2 和 Jagged1 在 OS 标本中高表达, OS 的侵袭和转移能力受到 Notch 相关基因和蛋白质水平的显著影响, 其决定 OS 病例的存活, 抑制该途径可能是预防 OS 发展的有益方法[19]。总之, Notch 信号通路在促进骨肉瘤中起重要作用, 并且其异常激活而不是失活加速了恶性进展。因此, 检测其表达水平和功能状态对预测骨肉瘤的发生发展和预后具有重要意义。

3. miRNA 通过靶向 Notch 信号通路在 OS 中的表达与作用

Notch 信号通路是进化过程中高度保守的细胞信号转导系统, 调控细胞增殖、凋亡和分化, 在胚胎发育、机体维持动态平衡、免疫调节和疾病发生等生理病理过程中发挥重要作用[20] [21]。目前, 许多 miRNAs 已被证实在骨肉瘤组织和细胞中有差异表达, 并且参与了 OS 的发展[22], 例如, 作为研究充分的 miRNAs, miR-34 家族成员(miR-34a、miR-34b 和 miR-34c)具有较高的序列相似性[23], Yan 等人的研究[24]首次报道了 miR-34a 过表达抑制骨肉瘤细胞的体内外生长和迁移, 他们推测 miR-34a 靶基因可能介导 miR-34a 诱导的骨肉瘤肿瘤生长和迁移的抑制。由 miR-34a 衍生的 miR-34a-5p 被发现可以抑制细胞的侵袭和迁移, miR-34a-5p 通过抑制 Notch 通路的配体 Delta-like 配体 1 (DLL1)基因来促进 OS 的多重化疗耐药, 与 OS 的化疗耐药呈负相关[25] [26]。随后, Tian 等人[27]通过研究 miR-34b 与 OS 的危险性及迁移状态, 预测 miR-34b 可能是一种新的 OS 生物标志物和潜在的治疗靶点。但是我们还需要进一步深入了解 miR-34 家族靶向 Notch 通路的作用机制以提供 OS 的治疗策略。

Pan 等人[28]的研究认为过表达 miR-340 通过下调 CTNBN1 (原癌基因)灭活 Notch 信号通路, 从而抑制 OS 细胞的增殖、迁移和侵袭, 促进 OS 细胞的凋亡。因此得出结论, miR-340 是保护 OS 所必需的。有研究检测了 OS 样本、配对非肿瘤组织及骨肉瘤细胞系中 miR-1296-5p 的表达, 发现 OS 样本中的

miR-1296-5p 水平明显低于相应的非癌组织,通过功能获得分析证实 Notch2 信使 RNA 水平与 miR-1296-5p 水平呈负相关, miR-1296-5p 反向调节 OS 细胞中的 Notch2, miR-1296-5p 过表达抑制 OS 细胞的增殖、迁移和侵袭[29]。miR-26a 过表达也同样抑制 OS 细胞的生长,不同之处是 miR-26a 直接靶向 Notch 配体之一 Jagged1,其肿瘤抑制作用是通过抑制 Jagged1/Notch 信号通路介导的[30]。

也有 miRNA 的过表达会加速 OS 的进展,如 Cai 等人[31]进行了一系列的挽救实验,研究证实 Notch3 是 miRNA-206 的靶基因,miRNA-206 的过表达会通过靶向 Notch3 加速 OS 细胞的增殖和迁移,从而加速 OS 的恶性进展。

Kyu Yeoun Won 等人[32]提出 miRNA-199b-5p 参与了骨肉瘤中的 Notch 信号通路,然而,miR-199b-5p 在骨肉瘤中 Notch 信号通路中的作用尚未被研究。为了进一步探索 miR-199b-5p 在人骨肉瘤细胞中的作用,Zeng 等人[33]首次提供了令人信服的证据,他们的研究证实 miR-199b-5p 表达的增加可能在人骨肉瘤的侵袭性进展和不良预后中发挥关键作用。虽然已经在该领域取得了巨大进展,但仍面临着许多挑战。

4. Notch 信号通路相关 lncRNA 在 OS 中的表达与作用

大多数 lncRNA 本身似乎并不像信号转导分子那么重要,然而,它们在调节信号通路上是至关重要的[34][35]。目前在骨肉瘤中已经鉴定出几种遗传缺陷,其中包括 p53 和 Rb 肿瘤抑制基因的失调、非整倍性和染色体排列调节中的巨大干扰,这表明 DNA 修复机制中的主要缺陷可能是骨肉瘤的根本原因。与此同时,大量的研究表明,在骨肉瘤临床标本和已建立的细胞系中,长链非编码 RNA (lncRNA)存在异常调控,基于 lncRNA 在 DNA 完整性监测中的重要作用,这些转录物被认为是骨肉瘤发病机制的重要因素。据报道,lncRNAs 可以作为 microRNAs 的竞争性内源性 RNA (ceRNAs),可以动过海绵效应将 miRNA 吸附到 lncRNA 的长链上发挥调控作用,从而调控骨肉瘤的发生发展。Chen 等人[36]体外构建了过表达 lncRNA MEG3 的骨肉瘤细胞,在 lncRNA MEG3 过表达的骨肉瘤细胞中,Notch 信号通路受到抑制,过表达 lncRNA MEG3 可显著降低骨肉瘤细胞中 Jagged1、Notch1 和 NICD1 的蛋白表达,并显著增加 OS 细胞中凋亡相关蛋白的表达,从而有效抑制增殖,促进骨肉瘤细胞凋亡。另有研究发现 lncRNACEBPA-AS1 和 NCOR2 (核受体辅抑制因子 2)在 OS 组织和细胞中均弱表达,lncRNACEBPA-AS1 通过上调 miR-10b-5p 介导的 NCOR2,抑制 Notch 信号通路,抑制增殖和迁移,加速 OS 细胞凋亡[37]。这些发现提示 lncRNA MEG3 和 lncRNACEBPA-AS1 都可以通过抑制 Notch 信号通路,抑制骨肉瘤的进展,为今后 OS 的治疗研究提供新的思路。Zhou 等人[38]一项关于 Notch2 受体的研究证实阻断细胞周期可以影响 OS 的生物学功能,他们发现通过阻断 G0/G1 期的细胞周期进程下调 lncRNA SNHG12,削弱细胞的侵袭和迁移能力来抑制细胞增殖。进一步研究发现 lncRNA SNHG12 可以通过激活 Notch2 促进骨肉瘤的肿瘤发生和迁移。lncRNA 在基因表达调控中的巨大多效性作用以及它们对 DNA 修复机制和基因组完整性的影响表明它们的失调可以显著地影响癌发生。lncRNA 在基因表达调控中的一种重要作用模式是它们作为 miRNA 的竞争性内源 RNA (ceRNA)的功能,以降低 miRNA 的生物利用度,因此增加其靶 mRNA 的水平。以上研究表明 lncRNA 与骨肉瘤的生物学行为有着密切的联系,通过研究其作用机制为骨肉瘤的精准治疗提供了依据。

5. Notch 信号通路相关 circRNA 在 OS 中的表达与作用

环状 RNA (circRNA)是一种新型的内源性非编码 RNA,在骨肉瘤的进展过程中,circRNA 可以作为 miRNA 海绵和转录调控因子,调节靶 miRNA 和蛋白的表达,从而调节骨肉瘤细胞的增殖、侵袭和迁移[39],沉默 hsa_circRNA_0008035 通过加速 miR-375 对 Notch 信号通路具有抑制作用,对 OS 的生长和迁移也具有抑制作用[39][40],但具体机制仍不清楚,有待我们进一步探索。

Notch 信号通路和 MAPK 信号通路都可以单独调控骨肉瘤, 近年来有一项研究表明 Notch 信号通路通过调控 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的活性来调控肿瘤细胞的生物学功能, Qin 等人[41] [42]认为 DAPT (γ 分泌酶抑制剂)可以通过抑制 Notch 活性来降低 Erk 磷酸化水平, 从而降低小鼠骨肉瘤的体内外增殖和迁移。使用 DAPT 治疗骨肉瘤, ALDH (醛脱氢酶)活性和 Notch 信号通路的表达会显著降低, 因此他们认为 Notch 信号通路与 OS 细胞中 ALDH 的活性和迁移行为的增加相关, DAPT 可能是具有高迁移潜能的 OS 细胞特异性治疗靶点[43] [44]。因此, 抑制 Notch 激活导致 Erk 通路磷酸化下调可作为临床治疗的潜在途径, 为改善骨肉瘤预后提供了新思路。这些研究表明 Notch 信号在骨肉瘤的起始和进展中起着主导作用。

Notch 通路是肿瘤治疗的潜在靶标, 积极参与肿瘤生长、转移、化学抗性、肿瘤免疫和其他功能。目前的治疗策略主要是抑制 Notch 途径以发挥抗肿瘤作用, 主要有两种类型的 Notch 抑制剂: 选择性和非选择性抑制剂。选择性抑制剂包括反义 RNA、干扰 RNA 和单克隆抗体的应用, 而非选择性抑制剂包括配体阻断剂、 γ -分泌抑制剂和一些天然化合物。选择性抑制剂特异性强, 副作用小, 不易诱导耐药性, 而非选择性抑制剂毒性较大。然而, 考虑到癌症中 Notch 途径的多样性, 这些抑制剂在某些情况下具有更大的临床价值。这些结果为以 Notch 信号通路为靶点的骨肉瘤治疗提供了新的思路, 具有一定的应用价值和广阔的应用前景。在治疗上靶向 Notch 途径通常被认为是复杂的, 然而, 集中于抑制该途径的临床试验已经证明了在骨肉瘤治疗中的显著功效。Notch 通路为骨肉瘤患者的治疗提供了一个有价值的分子靶点, 特别是在具有化疗耐药性和远处转移的晚期疾病患者中, 然而, 在靶向 Notch 信号通路的骨肉瘤疗法的临床应用中存在某些挑战。

总之, Notch 通路的研究日益受到重视, 并且也在一些领域有所成就, 许多非编码 RNA 通过靶向 Notch 通路调控骨肉瘤的研究已经证实, Notch 信号通路在调节 OS 细胞的增殖、凋亡、侵袭和迁移方面发挥重要作用, 但 Notch 信号促进肿瘤发生的下游机制仍有待揭示, 而且还有许多治疗靶点未被研究明确, 有待于在不久的将来进一步探索。

参考文献

- [1] Ren, S., Zhang, X., Hu, Y., *et al.* (2020) Blocking the Notch Signal Transduction Pathway Promotes Tumor Growth in Osteosarcoma by Affecting Polarization of TAM to M2 Phenotype. *Annals of Translational Medicine*, **8**, 1057. <https://doi.org/10.21037/atm-20-3881>
- [2] Zhang, X., Bian, H., Wei, W., *et al.* (2021) DLX5 Promotes Osteosarcoma Progression via Activation of the NOTCH Signaling Pathway. *American Journal of Cancer Research*, **11**, 3354-3374.
- [3] Yang, J. and Zhang, W. (2013) New Molecular Insights into Osteosarcoma Targeted Therapy. *Current Opinion in Oncology*, **25**, 398-406. <https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e3283622c1b>
- [4] Dana, P.M., Sadoughi, F., Asemi, Z., *et al.* (2022) Molecular Signaling Pathways as Potential Therapeutic Targets in Osteosarcoma. *Current Medicinal Chemistry*, **29**, 4436-4444. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220209110009>
- [5] Cui, J., Dean, D., Hornicek, F.J., *et al.* (2020) The Role of Extracellular Matrix in Osteosarcoma Progression and Metastasis. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **39**, Article No. 178. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01685-w>
- [6] Rojas, G.A., Hubbard, A.K., Diessner, B.J., *et al.* (2021) International Trends in Incidence of Osteosarcoma (1988-2012). *International Journal of Cancer*, **149**, 1044-1053. <https://doi.org/10.1002/ijc.33673>
- [7] Banaszek, N., Kurpiewska, D., Kozak, K., *et al.* (2023) Hedgehog Pathway in Sarcoma: From Preclinical Mechanism to Clinical Application. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **149**, 17635-17649. <https://doi.org/10.1007/s00432-023-05441-3>
- [8] Rothzerg, E., Erber, W.N., Gibbons, C.L.M.H., *et al.* (2023) Osteohematology: To Be or Notch to Be. *Journal of Cellular Physiology*, **238**, 1478-1491. <https://doi.org/10.1002/jcp.31042>
- [9] Ji, Z., Shen, J., Lan, Y., *et al.* (2023) Targeting Signaling Pathways in Osteosarcoma: Mechanisms and Clinical Studies. *MedComm* (2020), **4**, e308. <https://doi.org/10.1002/mco2.308>

- [10] Menéndez, S.T., Gallego, B., Murillo, D., *et al.* (2021) Cancer Stem Cells as a Source of Drug Resistance in Bone Sarcomas. *Journal of Clinical Medicine*, **10**, Article No. 2621. <https://doi.org/10.3390/jcm10122621>
- [11] Chen, S., Lee, B.H. and Bae, Y. (2014) Notch Signaling in Skeletal Stem Cells. *Calcified Tissue International*, **94**, 68-77. <https://doi.org/10.1007/s00223-013-9773-z>
- [12] Nirala, B.K., Yamamichi, T. and Yustein, J.T. (2023) Deciphering the Signaling Mechanisms of Osteosarcoma Tumorigenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 11367. <https://doi.org/10.3390/ijms241411367>
- [13] Zhang, J., Li, N., Lu, S., *et al.* (2021) The Role of Notch Ligand Jagged1 in Osteosarcoma Proliferation, Metastasis, and Recurrence. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, **16**, Article No. 226.
- [14] Ongaro, A., Pellati, A., Bagheri, L., *et al.* (2016) Characterization of Notch Signaling during Osteogenic Differentiation in Human Osteosarcoma Cell Line MG63. *Journal of Cellular Physiology*, **231**, 2652-2663. <https://doi.org/10.1002/jcp.25366>
- [15] Farnood, P.R., Pazhooh, R.D., Asemi, Z., *et al.* (2022) Targeting Signaling Pathway by Curcumin in Osteosarcoma. *Current Molecular Pharmacology*, **16**, 71-82.
- [16] Yu, L., Fan, Z., Fang, S., *et al.* (2016) Cisplatin Selects for Stem-Like Cells in Osteosarcoma by Activating Notch Signaling. *Oncotarget*, **7**, 33055-33068. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8849>
- [17] Lu, K.H., Lu, P.W., Lu, E.W., *et al.* (2023) Curcumin and Its Analogs and Carriers: Potential Therapeutic Strategies for Human Osteosarcoma. *International Journal of Biological Sciences*, **19**, 1241-1265. <https://doi.org/10.7150/ijbs.80590>
- [18] Hijioka, H., Setoguchi, T., Miyawaki, A., *et al.* (2010) Upregulation of Notch Pathway Molecules in Oral Squamous Cell Carcinoma. *International Journal of Oncology*, **36**, 817-822. <https://doi.org/10.3892/ijo.00000558>
- [19] Zhang, H., Chen, G., Lyu, X., *et al.* (2021) A Novel Predictive Model Associated with Osteosarcoma Metastasis. *Cancer Management and Research*, **13**, 8411-8423. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S332387>
- [20] Meurette, O. and Mehlen, P. (2018) Notch Signaling in the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*, **34**, 536-548. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.07.009>
- [21] Tang, X.F., Cao, Y., Peng, D.B., *et al.* (2019) Overexpression of Notch3 Is Associated with Metastasis and Poor Prognosis in Osteosarcoma Patients. *Cancer Management and Research*, **11**, 547-559. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S185495>
- [22] Xu, N., Wang, X., Wang, L., *et al.* (2022) Comprehensive Analysis of Potential Cellular Communication Networks in Advanced Osteosarcoma Using Single-Cell RNA Sequencing Data. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article ID: 1013737. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1013737>
- [23] Bae, Y., Zeng, H.C., Chen, Y.T., *et al.* (2022) MiRNA-34c Suppresses Osteosarcoma Progression *in Vivo* by Targeting Notch and E2F. *JBMR Plus*, **6**, e10623. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10623>
- [24] Yan, K., Gao, J., Yang, T., *et al.* (2012) MicroRNA-34a Inhibits the Proliferation and Metastasis of Osteosarcoma Cells both *in Vitro* and *in Vivo*. *PLOS ONE*, **7**, e33778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033778>
- [25] Pu, Y., Zhao, F., Wang, H., *et al.* (2017) MiR-34a-5p Promotes Multi-Chemoresistance of Osteosarcoma through Down-Regulation of the DLL1 Gene. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 44218. <https://doi.org/10.1038/srep44218>
- [26] Li, C., Guo, D., Tang, B., *et al.* (2016) Notch1 Is Associated with the Multidrug Resistance of Hypoxic Osteosarcoma by Regulating MRP1 Gene Expression. *Neoplasma*, **63**, 734-742. https://doi.org/10.4149/neo_2016_510
- [27] Tian, Q., Jia, J., Ling, S., *et al.* (2014) A Causal Role for Circulating MiR-34b in Osteosarcoma. *European Journal of Surgical Oncology*, **40**, 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2013.08.024>
- [28] Pan, B.L., Wu, L., Pan, L., *et al.* (2018) Up-Regulation of MicroRNA-340 Promotes Osteosarcoma Cell Apoptosis While Suppressing Proliferation, Migration, and Invasion by Inactivating the CTNNB1-Mediated Notch Signaling Pathway. *BioScientific Reports*, **38**, BSR20171615. <https://doi.org/10.1042/BSR20171615>
- [29] Wang, L., Hu, K., Chao, Y., *et al.* (2020) MicroRNA-1296-5p Suppresses the Proliferation, Migration, and Invasion of Human Osteosarcoma Cells by Targeting NOTCH2. *Journal of Cellular Biochemistry*, **121**, 2038-2046. <https://doi.org/10.1002/jcb.29438>
- [30] Lu, J., Song, G., Tang, Q., *et al.* (2017) MiR-26a Inhibits Stem Cell-Like Phenotype and Tumor Growth of Osteosarcoma by Targeting Jagged1. *Oncogene*, **36**, 231-241. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.194>
- [31] Cai, W.T., Guan, P., Lin, M.X., *et al.* (2020) MiRNA-206 Suppresses the Metastasis of Osteosarcoma via Targeting Notch3. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, **34**, 775-783.
- [32] Won, K.Y., Kim, Y.W., Kim, H.S., *et al.* (2013) MicroRNA-199b-5p Is Involved in the Notch Signaling Pathway in Osteosarcoma. *Human Pathology*, **44**, 1648-1655. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.01.016>
- [33] Zeng, H., Zhang, Z., Dai, X., *et al.* (2016) Increased Expression of MicroRNA-199b-5p Associates with Poor Progno-

- sis through Promoting Cell Proliferation, Invasion and Migration Abilities of Human Osteosarcoma. *Pathology and Oncology Research*, **22**, 253-260. <https://doi.org/10.1007/s12253-015-9901-3>
- [34] Han, J. and Shen, X. (2020) Long Noncoding RNAs in Osteosarcoma via Various Signaling Pathways. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **34**, e23317. <https://doi.org/10.1002/jcla.23317>
- [35] Kushlinskii, N.E., Fridman, M.V. and Braga, E.A. (2020) Long Non-Coding RNAs as Competitive Endogenous RNAs in Osteosarcoma]. *Molecular Biology (Mosk)*, **54**, 776-801. <https://doi.org/10.1134/S0026893320050052>
- [36] Chen, L., Wang, J., Li, J.W., *et al.* (2020) LncRNA MEG3 Inhibits Proliferation and Promotes Apoptosis of Osteosarcoma Cells through Regulating Notch Signaling Pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **24**, 581-590.
- [37] Xia, P., Gu, R., Zhang, W., *et al.* (2020) LncRNA CEBPA-AS1 Overexpression Inhibits Proliferation and Migration and Stimulates Apoptosis of OS Cells via Notch Signaling. *Molecular Therapy—Nucleic Acids*, **19**, 1470-1481. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.10.017>
- [38] Zhou, S., Yu, L., Xiong, M., *et al.* (2018) LncRNA SNHG12 Promotes Tumorigenesis and Metastasis in Osteosarcoma by Upregulating Notch2 by Sponging MiR-195-5p. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **495**, 1822-1832. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.12.047>
- [39] Ghafouri-Fard, S., Khoshbakht, T., Bahrani, A., *et al.* (2021) CircMTO1: A Circular RNA with Roles in the Carcinogenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **142**, Article ID: 112025. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112025>
- [40] Gong, G., Han, Z., Wang, W., *et al.* (2020) Silencing Hsa_CircRNA_0008035 Exerted Repressive Function on Osteosarcoma Cell Growth and Migration by Upregulating MicroRNA-375. *Cell Cycle*, **19**, 2139-2147. <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1792636>
- [41] Dai, G., Deng, S., Guo, W., *et al.* (2019) Notch Pathway Inhibition Using DAPT, a γ -Secretase Inhibitor (GSI), Enhances the Antitumor Effect of Cisplatin in Resistant Osteosarcoma. *Molecular Carcinogenesis*, **58**, 3-18. <https://doi.org/10.1002/mc.22873>
- [42] Qin, J., Wang, R., Zhao, C., *et al.* (2019) Notch Signaling Regulates Osteosarcoma Proliferation and Migration through Erk Phosphorylation. *Tissue Cell*, **59**, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.07.002>
- [43] Belayneh, R. and Weiss, K. (2020) The Role of ALDH in the Metastatic Potential of Osteosarcoma Cells and Potential ALDH Targets. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1258**, 157-166. https://doi.org/10.1007/978-3-030-43085-6_10
- [44] Dai, G., Liu, G., Zheng, D., *et al.* (2021) Inhibition of the Notch Signaling Pathway Attenuates Progression of Cell Motility, Metastasis, and Epithelial-to-Mesenchymal Transition-Like Phenomena Induced by Low Concentrations of Cisplatin in Osteosarcoma. *European Journal of Pharmacology*, **899**, Article ID: 174058. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174058>