



电子、语音版

·论著·

B3-微管蛋白Ⅲ类在儿童髓母细胞瘤中的表达及其机制研究

符星¹, 金晨², 刘景平¹, 吴水华¹, 文海涛¹, 苏君¹, 李浩¹

1. 湖南省儿童医院神经外科, 湖南长沙 410000

2. 中南大学湘雅医院小儿神经外科, 湖南长沙 410000

摘要:目的 探讨β3-微管蛋白Ⅲ类(TUBB3)在儿童髓母细胞瘤中的表达及其机制。方法 免疫组织化学检测TUBB3、程序性死亡受体配体1(PD-L1)及肿瘤干细胞标志物在儿童髓母细胞瘤中的表达,并分析其相关性。CCK-8及Transwell法检测TUBB3对髓母细胞瘤细胞增殖和侵袭的影响。免疫印迹法(Western blotting)分析P53对TUBB3表达的影响。结果 TUBB3阳性表达率为82.1%。TUBB3表达与组织分化程度、淋巴结转移及雌激素受体水平有关。Kaplan-Meier分析显示,TUBB3高表达与髓母细胞瘤术后总生存率低有关。敲低TUBB3表达能抑制Daoy和D341细胞增殖侵袭。儿童髓母细胞瘤中TUBB3与CD44、CD133、PD-L1及P53表达呈正相关。免疫印迹法显示,p53基因敲低使TUBB3表达上调。结论 TUBB3在儿童髓母细胞瘤中发挥致癌作用,是儿童髓母细胞瘤的潜在生物标志物和治疗靶点。

关键词:髓母细胞瘤;儿童;β3-微管蛋白Ⅲ类;P53;肿瘤干细胞;程序性死亡受体配体1

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.01.001

Expression and mechanism of β-tubulin isotype III in children with medulloblastoma

FU Xing¹, JIN Chen², LIU Jingping¹, WU Shuihua¹, WEN Haitao¹, SU Jun¹, LI Hao¹

1. Department of Neurosurgery, Hunan Children's Hospital, Changsha, Hunan 410000, China

2. Department of Pediatric Neurosurgery, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410000, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression and mechanism of β-tubulin isotype III (TUBB3) in children with medulloblastoma. **Methods** Immunohistochemistry was used to measure the expression of TUBB3, programmed death-ligand 1 (PD-L1), and tumor stem cell markers in children with medulloblastoma, and their correlation was analyzed. CCK-8 assay and Transwell assay were used to observe the effect of TUBB3 on the proliferation and invasion of medulloblastoma cells, and Western blotting was used to analyze the influence of P53 expression on TUBB3 expression. **Results** The positive rate of TUBB3 was 82.1%. The expression of TUBB3 was associated with the degree of tissue differentiation, lymph node metastasis, and the level of estrogen receptor. A Kaplan-Meier analysis showed that the high expression of TUBB3 was associated with the low overall survival rate of medulloblastoma after surgery. Knockdown of TUBB3 inhibited the proliferation and invasion of Daoy and D341 cells. TUBB3 was positively correlated with the expression of CD44, CD133, PD-L1, and P53 in children with medulloblastoma. Western blotting showed that the expression of TUBB3 was upregulated by p53 gene knockdown. **Conclusion** TUBB3 plays a carcinogenic role in children with medulloblastoma and is a potential biomarker and therapeutic target for medulloblastoma in children.

Keywords: medulloblastoma; children; β-tubulin isotype III; P53; tumor stem cells; programmed death-ligand 1

髓母细胞瘤(Medulloblastoma, MB)是儿童最常见的恶性脑肿瘤,占全世界儿童脑肿瘤的20%~25%^[1-2]。MB的临床治疗仅限于神经外科切除和放射治疗,并结合化

疗^[3]。近年来,对MB的基因分型及其预后意义的研究已达成共识,将MB分成4个分子亚型:WNT、SHH、Group 3和Group 4,4个亚型的组织起源、年龄分布、分子特征和

收稿日期:2024-07-22;修回日期:2025-01-16

作者简介:符星(1983—),男,副主任医师,硕士研究生,主要从事儿童肿瘤的研究。

临床结局均有不同^[4]。近年来,随着神经外科手术技术的精进、放疗技术的革新、化疗药物的广泛应用以及治疗方案的日益规范化,MB的死亡率及致残率均明显下降,目前,其5年生存率在50%~70%,10年生存率在30%~50%^[5]。尽管取得了很大的进步,但仍有相当一部分患者死于肿瘤的复发和转移。而且过度的放疗及化疗对小儿生理、心理及精神方面的损害使得相当一部分生存患者的生活质量低下^[6]。尽管高通量测序技术帮助科学家们对儿童MB转录和翻译机制有所了解^[7-8],但儿童MB发生发展的具体分子机制目前仍不清楚,因此,深入了解儿童MB发生发展的分子机制具有重要的临床意义。

微管是具有多种功能的细胞骨架蛋白,参与细胞形状、细胞内运输、减数分裂和有丝分裂等生理过程。微管由 α -和 β -微管蛋白组成^[9]。B3-微管蛋白Ⅲ类(tubulin beta 3 class III, TUBB3)由TUBB3基因编码,是一种正常表达于神经细胞的微管蛋白^[10]。TUBB3在神经系统发育和轴突维持中发挥重要作用,且与非小细胞肺癌^[11-12]、前列腺癌^[13]等肿瘤患者预后不佳有关。目前关于儿童MB中TUBB3的作用及其与P53、肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)标志物和程序性死亡受体配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)间关系的研究较少。本研究分析TUBB3在儿童MB中的表达及其对MB细胞株生物学行为的影响,此外还探讨TUBB3、P53、CSC标志物和PD-L1间的关系。

1 材料与方法

1.1 组织样品

纳入2020年1月—2022年12月湖南省儿童医院神经外科行手术切除的67例儿童MB组织及相应癌旁组织(距肿瘤组织边缘5 cm以上)标本。年龄2~11岁,平均(5.2±1.3)岁。术前所有患者均未进行放化疗及内分泌治疗,排除临床资料不完整、合并其他恶性肿瘤患者。术后儿童MB组织标本经病理组织学确诊,由湖南省儿童医院神经外科病理科2名副主任医师审阅。

1.2 免疫组织化学检测儿童MB组织中TUBB3、PD-L1、CD44、CD133和P53的表达^[14]

组织切片用抗TUBB3抗体(1:100),抗CD44抗体(1:100),抗CD133抗体(1:100),抗P53抗体(1:50)和抗PD-L1抗体(1:3 000)在室温下孵育1 h。TUBB3、CD44、CD133、P53及PD-L1抗体均购自美国Santa Cruz公司。将TUBB3、PD-L1、CD44、CD133、P53在所有肿瘤中的表达分为阳性或阴性。当超过10%的肿瘤细胞染色时,认为标本表达阳性(根据中位数截止值四舍五入到最接近的10%)。由2名对临床结果不知情的病理科副主任医师判断结果。

1.3 细胞培养和shRNA慢病毒转染^[15]

Daoy、D341及293TN细胞株购自中南大学细胞生物

中心。培养基及胎牛血清购自美国赛默飞公司。shRNA慢病毒购自上海吉玛生物科技有限公司。Daoy和D341细胞以 3×10^6 个/10 cm的密度接种;用脂质体将含有shRNA p53或shRNA_Scramble的慢病毒表达载体共转染293TN细胞。48 h后,收集含有慢病毒的上清液,与PEG-it[™]病毒沉淀液混合。将含有上清液和溶液的混合物在3 000转/min下4℃离心30 min,然后将颗粒重悬在冰冷的RPMI-1640培养基中。细胞转导前一天,将细胞以 10^5 个孔的速度接种于12孔板中。在转导当天,用5 μ g/mL的聚苯乙烯加入慢病毒颗粒到Daoy和D341细胞中。次日,用含puromycin(3 μ g/mL)的培养基替换稳定克隆。实验分为2组:shRNA p53细胞株及Control细胞株(未经慢病毒转染细胞株)。

1.4 CCK 8法检测TUBB3敲低对Daoy和D341细胞增殖的影响^[16]

采用siRNA转染构建TUBB3表达敲低的Daoy和D341细胞。转染的前一天,取对数生长期的Daoy和D341细胞传代于6孔板并继续培养24 h,等待细胞汇合达60%~70%时,严格按照脂质体Lipofectamine 3000试剂说明书操作。分别用250 μ L Opti-MEM培养基稀释siRNA-TUBB3、NC干扰试剂各4 μ g,各组再加入常温保存5 min的250 μ L Opti-MEM培养基和脂质体10 μ L的混合液,即制成转染复合物。转染复合物并加入细胞中后分成3组:siTUBB3-1组、siTUBB3-2组和siRNA NC组(阴性对照组即转染阴性对照siRNA),每组均设3个复孔。为了检测siRNA是否转染导入Daoy和D341细胞,48 h后收集各组细胞,

采用qRT-PCR和Western blotting法检测TUBB3 mRNA和蛋白表达情况。采用Cell Counting Kit-8(CCK-8, Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan)测定细胞增殖状况。细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种至96孔板,培养24 h后,每孔加入10 μ L CCK-8溶液,孵育2 h。使用酶联免疫吸附法(Tecan Sunrise, 美国)读卡器,连续4 d每天观察孔的光密度值(OD)。

1.5 Transwell侵袭小室实验检测细胞体外侵袭移动能力^[17]

用50 μ L含5 μ g纤维粘连蛋白(fibronectin, FN)的PBS处理Transwell小室聚碳酸滤膜,Matrigel用冷的无血清的RPMI 1640培养基稀释成1.25 mg/mL,50 μ L加入滤膜上表面(60 μ g/滤膜),37℃孵育4~5 h,形成胶状。细胞悬液加入至上室,37℃、5% CO₂条件下培养20~24 h。采用MTT法检测下室细胞的光密度值(OD)来表示肿瘤细胞的侵袭能力。

1.6 qRT-PCR法检测Daoy和D341细胞中TUBB3 mRNA的表达

采用TRIzol试剂(大连Takara公司)提取各组细胞总

RNA,利用 Moloney 小鼠白血病病毒(M-MLV)逆转录酶合成 cDNA。采用 Bio-Rad CFX96 qRT-PCR 检测系统进行实时荧光定量 PCR。引物序列:β-actin,正向 5'-GACAGGATGCAGAAGGAGATTACT-3',反向 5'-TGATCCACATCTGCTGGAAGGT-3',扩增片段长 318 bp;TUBB3,正向 5'-CCCCGACTCCCTTGAACAG-3',反向 5'-CAGAACTGTGGACGCCTGTC-3',扩增片段长 211 bp。反应程序:94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 30 s,59 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 1 min,72 °C 再延伸 5 min,共 30 个循环。扩增产物置于 1% 琼脂糖凝胶中电泳。

1.7 Western blotting 检测各组细胞中 TUBB3 及 P53 蛋白表达量

各组细胞样品的蛋白裂解物采用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。然后将蛋白质转移到 0.45 μm 聚偏二氟乙烯膜上。将膜与一抗(TUBB3, 1:200; β-actin, 1:500; P53, 1:300)在 4 °C 下孵育过夜。洗涤后,用辣根过氧化物酶偶联的二抗(根据一抗抗兔或抗小鼠)化学发光显像。

1.8 肿瘤球形成试验

取转染后的各组细胞,消化、离心、重悬后以密度 1×10³ 个/孔接种于 6 孔板中,用含有 DMEM/F12、2% B27、0.4% 牛血清白蛋白、20 pg/L 表皮生长因子、20 pg/L 重组人碱性成纤维细胞生长因子的无血清培养基进行培养,3 d 加 1 次生长因子,12 d 后显微镜下观察肿瘤球直径。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 20.0 进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用例(%)表示,组间比较采用 χ² 检验。相关性分析采用 Person 法。采用 Kaplan-Meier 曲线进行生存率分析,并采用 Log-rank 检验进行组间比较。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

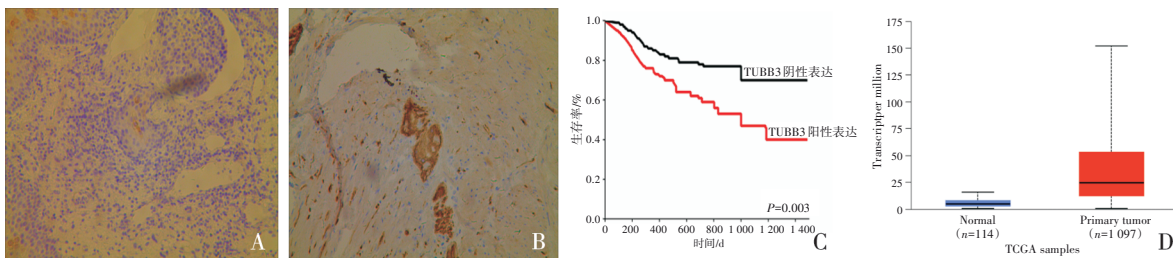
2.1 TUBB3 在儿童 MB 中的表达

免疫组织化学分析显示 TUBB3 在儿童 MB 癌旁组织

中呈弱阳性表达或阴性表达,而在儿童 MB 组织中呈阳性及强阳性表达(图 1A, 1B)。67 例儿童 MB 组织中,TUBB3 阳性表达率为 82.1%(55/67)。TUBB3 表达与组织分化类型、肿瘤侵袭或转移、新辅助化疗后手术前(post-treatment extent of disease, POST-TEXT)分期有关(均 P<0.05)(表 1)。Kaplan-Meier 分析显示,TUBB3 阳性儿童 MB 患者总生存期较 TUBB3 阴性儿童 MB 患者差(P=0.003; HR: 2.18; 95%CI: 1.14~3.98;图 1C)。TCGA 数据库中,MB 中 TUBB3 表达高于癌旁组织(图 1D),但该数据库中 MB 患者平均年龄 18.9 岁,高于本研究患儿年龄。

表 1 TUBB3 表达与临床病理特征的关系

参数	TUBB3 表达 例(%)		χ ² 值	P 值
	阳性	阴性		
年龄				
≤5 岁(n=41)	36(87.8)	5(12.2)	0.782	0.478
>5 岁(n=26)	19(73.1)	7(26.9)		
分化类型				
双向分化(n=31)	23(74.2)	8(25.8)	3.278	0.013
单向分化(n=19)	16(84.2)	3(15.8)		
未分化(n=17)	16(94.1)	1(5.9)		
肿瘤直径				
≤2 cm(n=38)	31(81.6)	7(18.4)	0.589	0.371
>2 cm(n=29)	24(82.8)	5(17.2)		
肿瘤侵袭或转移				
否(n=42)	32(76.2)	10(23.8)	4.829	0.021
是(n=25)	23(92.0)	2(8.0)		
分子分型				
WNT4(n=24)	18(75.0)	6(25.0)	1.874	0.062
SHH(n=13)	10(76.9)	3(23.1)		
Group3(n=11)	8(72.7)	3(27.3)		
Group4(n=19)	10(52.6)	9(47.4)		
POST-TEXT 分期				
I、II(n=34)	24(70.6)	10(29.4)	2.982	0.028
III、IV(n=33)	31(93.9)	2(6.1)		



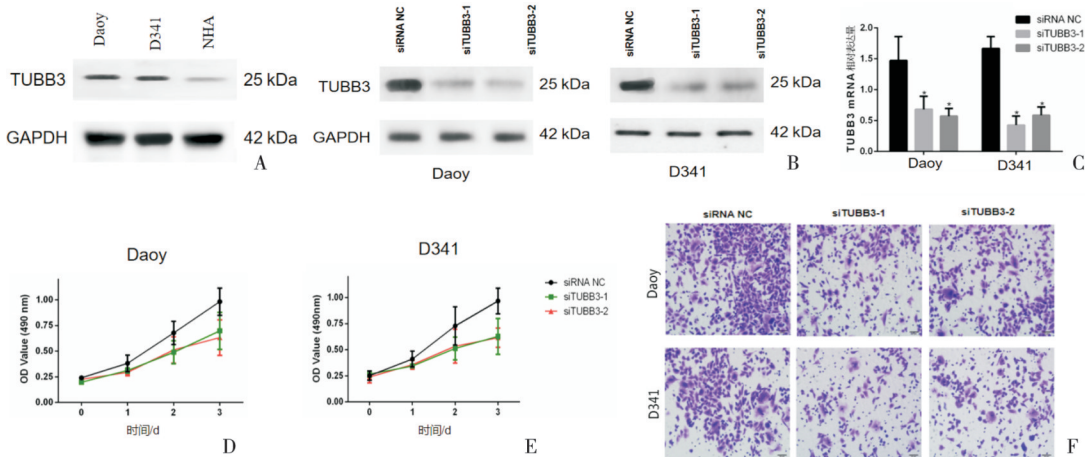
A:TUBB3 在癌旁组织中的表达; B:TUBB3 在儿童 MB 组织中的表达; C:Kaplan-Meier 生存曲线; D:TCGA 数据库中,MB 组织中 TUBB3 表达高于癌旁组织。

图 1 TUBB3 在儿童 MB 组织中的表达

2.2 TUBB3表达儿童MB细胞增殖和侵袭的影响

蛋白质免疫印迹法检测显示,儿童MB细胞株 Daoy 和 D341 中 TUBB3 的表达高于人星形胶质细胞 NHA (图 2A)。蛋白质免疫印迹法和 qRT-PCR 检测结果显示,与转染 siRNA 阴性对照的 Daoy 和 D341 细胞相比,

TUBB3 表达被抑制(图 2B,2C)。MTT 实验显示, *TUBB3* 敲低抑制 Daoy 和 D341 细胞增长(图 2D,2E)。此外, Transwell 实验显示, *TUBB3* 敲低抑制 Daoy 和 D341 细胞的侵袭能力(图 2F)。



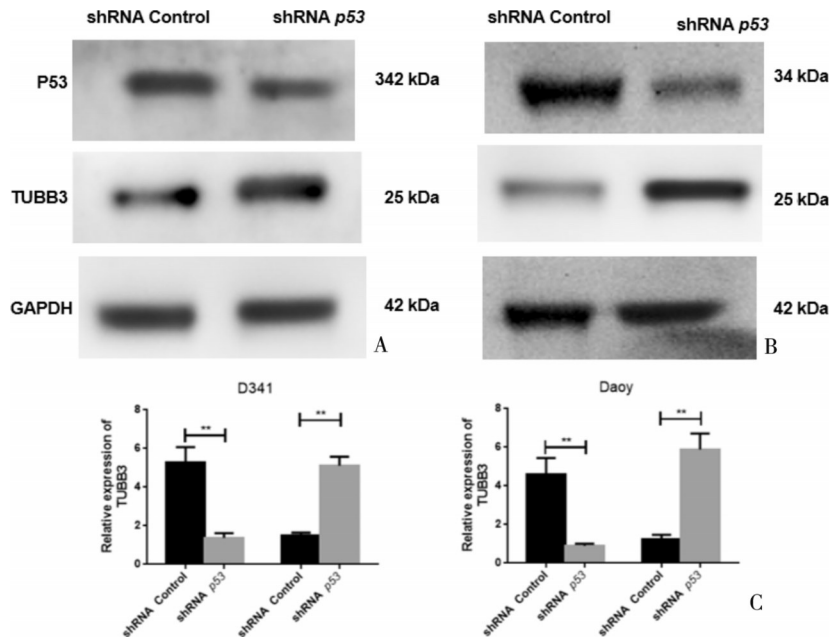
A: Western blotting 检测 TUBB3 在儿童 MB 细胞 Daoy 和 D341 及人星形胶质细胞 NHA 中的表达; B: Western blotting 检测转染 siRNA TUBB3 后, Daoy 和 D341 细胞中 TUBB3 蛋白的表达; C: qRT-PCR 检测转染 siRNA TUBB3 后, Daoy 和 D341 细胞中 TUBB3 mRNA 的表达; D: *TUBB3* 敲低对 Daoy 细胞增殖的影响; E: *TUBB3* 敲低对 D341 细胞增殖的影响; F: *TUBB3* 敲低对 Daoy 和 D341 侵袭能力的影响。*:与 siRNA NC 比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图 2 *TUBB3* 敲低对儿童 MB 细胞增殖和侵袭的影响

2.3 TUBB3和核p53表达的关系

免疫组织化学显示,核 *p53* 表达与分化类型、肿瘤侵袭或转移和 TUBB3 表达相关(表 2)。Western blotting 检

测显示, *p53* 敲低增强 TUBB3 表达(图 3A,3B), qRT-PCR 检测也发现, *p53* 敲低增强了 TUBB3 mRNA 表达(图 3C)。



A: Daoy; B: D341; C: qRT-PCR 检测 *p53* 表达对 TUBB3 mRNA 表达影响。**:组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

图 3 *p53* 调控儿童 MB 细胞株中 TUBB3 的表达

表2 核p53表达与临床病理特征的关系

参数	核p53表达 例(%)		χ^2 值	P值
	阳性	阴性		
年龄				
≤5岁(n=41)	6(14.6)	35(85.4)	0.382	0.524
>5岁(n=26)	7(26.9)	19(73.1)		
分化类型				
双向分化(n=31)	2(6.5)	29(93.5)	3.729	0.008
单向分化(n=19)	5(26.3)	14(73.7)		
未分化(n=17)	6(35.3)	11(64.7)		
肿瘤直径				
≤2cm(n=38)	5(13.2)	33(86.8)	0.628	0.386
>2cm(n=29)	8(27.6)	21(72.4)		
肿瘤侵袭或转移				
否(n=42)	1(2.4)	41(97.6)	2.178	0.018
是(n=25)	12(48.0)	13(52.0)		

续表2

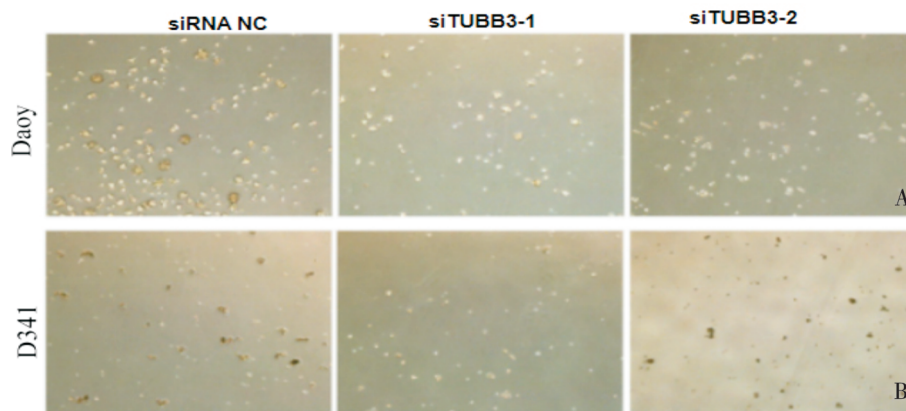
参数	核p53表达 例(%)		χ^2 值	P值
	阳性	阴性		
分子分型				
WNT 4(n=24)	8(33.3)	16(66.7)	0.826	0.145
SHH(n=13)	4(30.8)	9(69.2)		
Group 3(n=11)	3(27.3)	8(72.7)		
Group 4(n=19)	5(26.3)	14(73.7)		
POST-TEXT分期				
I、II(n=34)	6(17.6)	28(82.4)	0.798	0.267
III、IV(n=33)	7(21.2)	26(78.8)		
TUBB3表达				
阳性(n=55)	1(1.8)	54(98.2)	4.728	0.009
阴性(n=12)	11(55.0)	1(45.0)		

2.4 TUBB3对儿童MB肿瘤球形成能力的影响

敲低TUBB3抑制儿童MB细胞株Daoy和D341的肿瘤球形成能力(图4A,4B)。

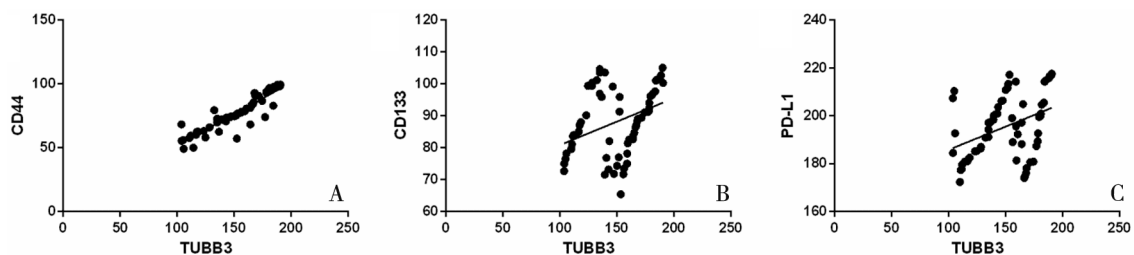
2.5 儿童MB中TUBB3表达与CSC标志物及PD-L1表达的关系

TUBB3表达与CD44(P=0.022)、CD133(P=0.011)及PD-L1(P=0.018)表达呈正相关(图5)。



A:Daoy; B:D341。

图4 敲低TUBB3表达对儿童MB细胞株肿瘤球形成能力的影响



A:CD44;B:CD133;C:PD-LI。

图5 TUBB3表达与CSC标志物及PD-L1表达的相关性分析

3 讨论

本组 67 例儿童 MB 患者中 TUBB3 的阳性表达率为 82.1%(55/67),TUBB3 高表达与儿童 MB 患者肿瘤切除术后总生存率低有关。国内已有学者报道了 TUBB3 在乳腺癌中表达的临床意义。李文涛等^[18]报道 *TUBB3* 基因在肿瘤组织的表达与腋淋巴结转移、脉管癌栓、肿瘤直径、组织学分级、临床分期、Ki-67、Her-2 有关,与 ER、PR 等无相关,*TUBB3* 基因的异常表达可能在儿童 MB 耐药、发生、发展中发挥作用。钟科^[19]研究表明,TUBB3 mRNA 表达在年龄、是否绝经以及雌激素受体、孕激素受体、人表皮生长因子受体 2 是否阳性上无差异,在是否发生淋巴结转移、组织学分级上有差异。这些研究结果显示 TUBB3 均具有促进肿瘤细胞增殖侵袭的作用,与本研究结果一致。

本研究表明,TUBB3 促进儿童 MB 细胞生长侵袭,但 TUBB3 促进儿童 MB 细胞生长侵袭的机制仍不清楚。多项研究表明,TUBB3 与第 10 号染色体上缺失与张力蛋白同源的磷酸酶基因(PTEN)相互作用参与细胞生长^[20-22]。还有研究表明,TUBB3 能够促进上皮-间质转化^[23]。课题组未来将进一步探讨儿童 MB 中 TUBB3 与 PTEN 的相互作用以及 TUBB3 在儿童 MB 癌细胞上皮向间质转化中的作用。

以往研究表明,TUBB3 在肿瘤中的表达受到多种因素调控^[24-25]。Sekino 等^[26]研究表达,敲低前列腺癌细胞中 *PTEN* 表达后,TUBB3 表达上调,而磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)抑制剂能够抑制前列腺癌细胞中 TUBB3 的表达。这些研究表明,TUBB3 在肿瘤生物学特征中发挥一定作用。本研究免疫组化结果显示 TUBB3 和核 *p53* 表达呈正相关,且敲低 *p53* 表达能够增强 TUBB3 在 D341 和 Daoy 细胞中的表达,提示 *p53* 能够调控 TUBB3 表达。而 *p53* 通过调节其下游靶基因转录在人类肿瘤中发挥重要作用^[27]。虽然还需要进一步研究,但本研究结果将有助于分析 TUBB3 在儿童 MB 中表达的调控机制。

Majzner 等^[28]在 40 例小儿 MB 样本未发现 PD-L1 表达,而 Murata 等^[29]在 16 例 MB 标本中检测到 9 例 PD-L1 高表达。不同研究中表达差异的原因可能是由于抗体敏感性和染色条件的差异^[30]。本研究免疫组织化学显示儿童 MB 中 TUBB3 表达与 PD-L1 表达相关。然而,TUBB3 和 PD-L1 表达间的相关机制仍未阐明。目前部分研究已经发现了肿瘤中 PD-L1 表达的调控因素^[31]。有研究表明,TUBB3 与膀胱癌遗传不稳定性有关^[32]。虽然还需要进一步研究,但这些发现表明 TUBB3 可以调节 PDL1 表达。更重要的是,研究发现基因组不稳定性与免疫治疗反应有关^[33]。总之,这些结果表明,TUBB3 是儿童 MB 治疗的潜在生物标志物。

本研究具有一定的局限性。首先,本研究是回顾性

分析,因此有必要对更多的儿童 MB 患者进行前瞻性分析,以验证本研究结果。其次,尽管 TUBB3 与 CSC 标志物相关,但其基本机制仍不清楚。

总之,本研究显示,TUBB3 高表达与儿童 MB 预后不良有关。敲低 TUBB3 表达可抑制儿童 MB 细胞生长侵袭。敲低儿童 MB 细胞中 *P53* 表达后,TUBB3 表达上调。TUBB3 与 CSC 标志物和 PD-L1 相关,这些研究结果提示 TUBB3 是潜在有效的儿童 MB 生物标志物和治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] JACKSON K, PACKER RJ. Recent advances in pediatric medulloblastoma[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2023, 23(12): 841-848.
- [2] GOLD MP, ONG W, MASTELLER AM, et al. Developmental basis of SHH medulloblastoma heterogeneity[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 270.
- [3] HOFMAN DA, RUIZ-ORERA J, YANNUZZI I, et al. Translation of non-canonical open reading frames as a cancer cell survival mechanism in childhood medulloblastoma[J]. *Mol Cell*, 2024, 84(2): 261-276.e18.
- [4] WANG YRJ, WANG PC, YAN ZH, et al. Advancing presurgical non-invasive molecular subgroup prediction in medulloblastoma using artificial intelligence and MRI signatures[J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(7): 1239-1257.e7.
- [5] PEYRL A, CHOCHOLOUS M, SABEL M, et al. Sustained survival benefit in recurrent medulloblastoma by a metronomic antiangiogenic regimen: a nonrandomized controlled trial[J]. *JAMA Oncol*, 2023, 9(12): 1688-1695.
- [6] LOSPINOSO SEVERINI L, LORICCHIO E, NAVACCI S, et al. SALL4 is a CRL3^{REN/KCTD11} substrate that drives sonic hedgehog-dependent medulloblastoma[J]. *Cell Death Differ*, 2024, 31(2): 170-187.
- [7] KUMAR D, JAIN S, COULTER DW, et al. PRMT5 as a potential therapeutic target in MYC-Amplified medulloblastoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(24): 5855.
- [8] ZHOU H, WANG YX, WU M, et al. FANCD2 deficiency sensitizes SHH medulloblastoma to radiotherapy via ferroptosis[J]. *J Pathol*, 2024, 262(4): 427-440.
- [9] MCKENNA ED, SARBANES SL, CUMMINGS SW, et al. The tubulin code, from molecules to health and disease[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2023, 39: 331-361.
- [10] DONG BQ, GU YL, SUN XJ, et al. Targeting TUBB3 suppresses anoikis resistance and bone metastasis in prostate cancer[J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(28): e2400673.
- [11] XIE XM, LASTER KV, LI J, et al. OSGIN1 is a novel TUBB3 regulator that promotes tumor progression and gefitinib resistance in non-small cell lung cancer[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(9): 272.
- [12] ZHAO D, DESHPANDE R, WU KR, et al. Identification of TUBB3 as an immunotherapy target in lung cancer by genome

- wide *in vivo* CRISPR screening[J]. *Neoplasia*, 2024, 60: 101100.
- [13] SUN XC, ZHANG Y, XIN SY, et al. NOTCH3 promotes docetaxel resistance of prostate cancer cells through regulating TUBB3 and MAPK signaling pathway[J]. *Cancer Sci*, 2024, 115(2): 412-426.
- [14] 侯玉玲, 豆秀娟, 李壹. 基因 TOPO II α 、TUBB3、ERCC1 在小儿肾母细胞瘤组织中的表达及其临床意义[J]. *实用癌症杂志*, 2023, 38(2): 217-219.
- [15] 迟言邦, 王璉, 孙静莉. 短夹 RNA 介导调节 S100A4 表达对子宫内膜癌 KLE 细胞增殖和凋亡的影响[J]. *发育医学电子杂志*, 2021, 9(1): 32-37.
- [16] 蒋子寅, 韩昌鹏. 基于网络药理学、分子对接和实验验证探讨蛇床子素治疗结直肠癌的作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(21): 5752-5761.
- [17] 郑雅心, 亢俊楠, 陈泽慧, 等. 骨髓基质细胞通过 TSP-1/CD36 通路对急性髓系白血病细胞影响的初步研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2023, 50(4): 167-171.
- [18] 李文涛, 贾琳娇, 丁超, 等. 三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2 和 β -微管蛋白 III 基因在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(5): 947-949.
- [19] 钟科. β 微管蛋白 III 基因在乳腺癌组织中表达及与化疗疗效的关系[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2017, 31(5): 440-443.
- [20] CHEN GL, SUN LS, HAN JJ, et al. RILPL2 regulates breast cancer proliferation, metastasis, and chemoresistance via the TUBB3/PTEN pathway[J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(8): 1583-1606.
- [21] YANG ZH, LIU Y, SHI CZ, et al. Suppression of PTEN/AKT signaling decreases the expression of TUBB3 and TOP2A with subsequent inhibition of cell growth and induction of apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells via ATP and caspase-3 signaling pathways[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2): 1011-1019.
- [22] MCCARROLL JA, GAN PP, ERLICH RB, et al. TUBB3/ β III-tubulin acts through the PTEN/AKT signaling axis to promote tumorigenesis and anoikis resistance in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(2): 415-425.
- [23] SOBIERAJSKA K, WIECZOREK K, CISZEWSKI WM, et al. β -III tubulin modulates the behavior of Snail overexpressed during the epithelial-to-mesenchymal transition in colon cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(9): 2221-2233.
- [24] FORDE JC, PERRY AS, BRENNAN K, et al. Docetaxel maintains its cytotoxic activity under hypoxic conditions in prostate cancer cells[J]. *Urol Oncol*, 2012, 30(6): 912-919.
- [25] XIAO M, TANG Y, CHEN WW, et al. Tubb3 regulation by the Erk and Akt signaling pathways: a mechanism involved in the effect of arginine ADP-ribosyltransferase 1 (Art1) on apoptosis of colon carcinoma CT26 cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(2): 2353-2363.
- [26] SEKINO Y, HAN XR, KAWAGUCHI T, et al. TUBB3 reverses resistance to docetaxel and cabazitaxel in prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 3936.
- [27] LANE D, LEVINE A. p53 research: the past thirty years and the next thirty years[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(12): a000893.
- [28] MAJZNER RG, SIMON JS, GROSSO JF, et al. Assessment of programmed death-ligand 1 expression and tumor-associated immune cells in pediatric cancer tissues[J]. *Cancer*, 2017, 123(19): 3807-3815.
- [29] MURATA D, MINEHARU Y, ARAKAWA Y, et al. High programmed cell death 1 ligand-1 expression: association with CD8+ T-cell infiltration and poor prognosis in human medulloblastoma[J]. *J Neurosurg*, 2018, 128(3): 710-716.
- [30] LI S, POOLEN GC, VAN VLIET LC, et al. Pediatric medulloblastoma express immune checkpoint B7-H3[J]. *Clin Transl Oncol*, 2022, 24(6): 1204-1208.
- [31] SUN C, MEZZADRA R, SCHUMACHER TN. Regulation and function of the PD-L1 checkpoint[J]. *Immunity*, 2018, 48(3): 434-452.
- [32] HINSCH A, CHAKER A, BURDELSKI C, et al. β III-tubulin overexpression is linked to aggressive tumor features and genetic instability in urinary bladder cancer[J]. *Hum Pathol*, 2017, 61: 210-220.
- [33] GONG Z, YANG Y, ZHANG JY, et al. Evaluation of 30 DNA damage response and 6 mismatch repair gene mutations as biomarkers for immunotherapy outcomes across multiple solid tumor types[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(4): 1080-1091.

责任编辑:王荣兵