

· 临床论著 ·

Necdin 基因在人骨肉瘤中的表达及其临床意义[△]

武壮壮¹, 申振², 武太勇³, 王佳妮³, 李健³, 陈士伟³, 靳文轩³, 杨美菊³, 吕智^{1*}

(1. 山西医科大学第二医院, 山西太原 030001; 2. 晋城市人民医院, 山西晋城 048000; 3. 山西医科大学, 山西太原 030001)

摘要: [目的] 观察 Necdin (NDN) 基因在骨肉瘤中的表达, 探讨其与骨肉瘤患者临床病理因素及预后的关系。[方法] 回顾性研究 2009 年 10 月—2019 年 7 月手术治疗的 51 例骨肉瘤患者的临床资料, 活检术确认后行新辅助化疗, 瘤段切除与假体重建术。评价临床效果和组织 NDN 的表达。[结果] 本组 51 例患者均得到随访 38 个月以上, 术后生存时间最长为 78 个月, 最短者为 16 个月。随访过程中, 局部复发 16 例, 转移 33 例。末次随访时无瘤生存 10 例, 带瘤生存 5 例, 死亡 36 例。按末次随访结局分组比较。死亡组中 II_B、III 期所占比例明显高于无瘤生存组和带瘤生存组 ($P<0.05$), 死亡组中术前肺转移率明显高于生存组和带瘤生存组 ($P<0.05$)。而三组间年龄、性别、肿瘤大小和 NDN 检测结果的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。组织 NDN 免疫组化染色阳性率骨肉瘤组织为 29.41% (15/51), 而瘤旁正常骨组织为 80.00% (8/10), 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。Kaplan-Meier 生存期及对数等级比较表明, 不同 Enneking 分期、是否肺转移、不同肿瘤大小、是否 NDN 阳性的患者平均生存时间的差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。Cox 分析表明, Enneking 分期 (HR=1.530)、肺转移 (HR=4.662)、肿瘤大小 (HR=3.398) 是生存的危险因素, 而 NDN 阳性 (HR=0.207) 是生存的保护性因素。[结论] 瘤组织中 NDN 阳性表达显著低于瘤旁正常骨组织。术前 Enneking 分期高、肺转移、肿瘤 ≥ 5 cm 是骨肉瘤不良预后的危险因素, NDN 阳性表达是保护因素。

关键词: 骨肉瘤, Necdin, 生存, 临床意义

中图分类号: R738.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 09-0769-06

Expression of Necdin gene in human osteosarcoma and its clinical significance // WU Zhuang-zhuang¹, SHEN Zhen², WU Tai-yong³, WANG Jia-ni³, LI Jian³, CHEN Shi-wei³, JIN Wen-xuan³, YANG Mei-ju³, Lü Zhi¹. 1. The Second Hospital, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. Jincheng People's Hospital, Jincheng 048000, China; 3. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: [Objective] To observe the expression of Necdin (NDN) gene in osteosarcoma, and to explore its relationship with clinicopathological factors and prognosis of osteosarcoma. [Methods] A retrospective study was performed on 51 patients who received neoadjuvant chemotherapy, as well as tumor segment resection and prosthetic reconstruction after osteosarcoma was confirmed by biopsy in our hospital from October 2009 to July 2019. The clinical outcomes, NDN expression in tissue were evaluated. [Results] All the 51 patients were followed up for more than 38 months, with survival time of 78 months in the longest and 16 months in the shortest. During the follow-up, 16 patients got local recurrence and 33 patients had metastasis. At the latest follow-up, 10 patients were of survival with tumor-free (STF), 5 patients of survival with tumor (ST), and 36 patients died (death). In term of grouping comparison based on the outcome at the latest follow-up, the proportion of stage II_B and stage III in the death group was significantly higher than that in the tumor-free survival group and the tumor-bearing survival group ($P<0.05$), and the death group had significantly higher ratio of lung metastasis than the STF and ST groups ($P<0.05$). However, there were no significant differences in terms of age, gender, tumor size and NDN expression among the three groups ($P>0.05$). The positive rate of NDN immunohistological staining was of 29.41% (15/51) in osteosarcoma tissues, whereas 80% (8/10) in normal bone tissues around the tumor, which was statistically significant ($P<0.05$). As results of Kaplan-Meier survival analysis and log-rank test, the mean survival time proved significantly different in terms of different Enneking stage, lung metastasis, tumor size and NDN ($P<0.05$). With regarding to Cox analysis, the Enneking stage (HR=1.530), lung metastasis (HR=4.662) and tumor size (HR=3.398) were risk factors for survival, while positive NDN (HR=0.207) were protective factors for survival. [Conclusion] The osteosarcoma tissue has significantly lower positive NDN expression than the adjacent normal bone tissue. The worsened preoperative Enneking stage, lung metastasis and tu-

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.09.01

△基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81772867);山西省自然科学基金项目(编号:201801D121325);山西医科大学第二医院青年基金项目(编号:202002-4);山西省基础研究计划项目(自由探索类)(编号:20210302124419)

作者简介:武壮壮,主治医师,硕士,研究方向:骨肿瘤,(电话)18734894031,(电子信箱)175858225@qq.com

*通信作者:吕智,(电话)13934511682,(电子信箱)zhilv2013@163.com

mor ≥ 5 cm are risk factors for poor prognosis of osteosarcoma, while positive NDN expression is a protective factor.

Key words: osteosarcoma, Necdin, survival, clinical significance

骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 是最常见的原发性恶性骨肿瘤, 好发于青少年, 发病率为 3~4 例/100 万人, 其恶性程度高、侵袭性强、复发和转移率高^[1-3], 严重影响青少年的健康。近年, 随着新辅助化疗及外科技术水平的提高, OS 的治疗效果已有明显改善, 但局部复发率仍可高达 50%, 且有 15%~20% 患者在初诊时已发生影像学可见的肺转移, 50% 患者在治疗期间出现肺转移, 80% 发生转移的患者在 5 年内死亡^[4]。肿瘤细胞在人体内的转移大致经过以下几个步骤: (1) 肿瘤细胞穿过宿主的血管外基质进入血管内, 而后进入血液循环; (2) 在血液循环中得以存活; (3) 在血液循环中逃逸免疫系统的监视; (4) 到合适的靶器官后肿瘤细胞驻足并穿出血管壁; (5) 肿瘤细胞粘附在靶器官并且在靶器官的微环境中得以存活; (6) 随着细胞的扩增和肿瘤组织的长大, 新生的肿瘤位点形成新生血管系统^[5]。

以往研究表明, Necdin (NDN) 是一种多功能蛋白质, 可以直接与 DNA 结合, 发挥转录因子的作用^[6], 也可以通过与 E2F1、p53 等著名的转录因子相互作用调节其转录活性以间接调节转录^[7, 8]。Chapman 和 Knowles^[9] 研究表明, NDN 在癌细胞系和原发性肿瘤中都存在下调, 这表明 NDN 可能具有肿瘤抑制作用。本研究旨在探讨骨肉瘤患者组织中 NDN 是否表达异常及其与临床病理因素和预后之间的潜在相关性。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

纳入标准: (1) 四肢骨肉瘤; (2) 符合美国癌症联合委员会 (AJCC) 分期 II 期和 III 期; (3) 在本院行新辅助化疗和根治性手术; (4) 有活检标本, 用于免疫组织化学染色。

排除标准: (1) 继发性骨肉瘤; (2) 骨外骨肉瘤; (3) 骨膜或骨旁骨肉瘤; (4) 患者术后未复查, 无随访信息。

1.2 一般资料

2009 年 10 月—2019 年 7 月, 山西医科大学附属第二医院骨病科收治 51 例患者, 符合上述标准, 纳入本研究。其中, 男 28 例, 女 23 例; 年龄

10~67 岁, 平均 (27.04±17.40) 岁。病理诊断为普通型骨肉瘤 44 例, 软骨母细胞型骨肉瘤 2 例, 毛细血管扩张型骨肉瘤 2 例, 巨细胞型骨肉瘤 2 例, 低级别中央型骨肉瘤 1 例。Enneking 分期, II A 期 34 例, II B 期 13 例, III 期 4 例。本研究经山西医科大学第二医院伦理审查委员会的批准 [山西医科大学第二医院委员会 (2021) YX 第 (098) 号], 均征得患者本人或法定监护人的知情同意。

1.3 治疗方法

先采用切开取活检术, 取少量组织进行病检, 经病理科两位专家确诊为骨肉瘤。待伤口愈合后 2 周开始进行新辅助化疗, 盐酸表柔比星: 100 mg/m², 1 次/d, 连用 3 d; 顺铂: 20 mg/m², 1 次/d, 连用 5 d; 术前化疗 2 个疗程。然后行瘤段切除假体重建术。瘤体送病检, 并检测化疗后肿瘤的坏死率。术后 2 周伤口愈合后拆线, 并开始辅助化疗。术后化疗方案根据病检中得出肿瘤坏死率来确定, 如果坏死率 >90%, 维持原化疗方案; 如果坏死率 <90%, 改用异环磷酰胺 1.5~2 g/m² 1 次/d, 连用 5 d; 顺铂 30 mg/m², 1 次/d, 连用 5 d。

1.4 免疫组织化学检查

制备 5 μ 的石蜡切片, 常规先行 HE 染色, 显微镜下观察细胞形态。然后行免疫组织化学检测, 二甲苯脱蜡, 乙醇溶液复水, EDTA 抗原修复液高压修复。然后, 用山羊血清封闭切片, 用抗 NDN 抗体 (Santa Cruz) 在 4℃ 孵育过夜。次日, 切片用 PBS 洗涤 3 次, 再与生物素标记山羊抗小鼠/兔 IgG (北京中杉金桥, 37℃) 孵育 1 h, 滴加 SABC, 37℃ 孵育 30 min, 然后用 3, 3'-二氨基联苯胺 (DAB) 溶液 (DAB 显色试剂盒, 武汉博士德生物工程有限公司) 显影, 苏木素溶液短暂染色, 盐酸酒精返蓝, 中性树胶封片。使用 Pannorama MIDI 数字载玻片扫描仪和扫描仪控制软件 (3DHISTECH, Ltd., 布达佩斯, 匈牙利) 分析抗 NDN 染色的强度。

1.5 评价指标

从手术之日到死亡之日或直到 2021 年 3 月, 对临床结果进行跟踪观察。生存时间定义为从确诊到死于原发肿瘤相关原因的时间跨度。患者术后每 3 个月复查患肢 X 线片、胸部 CT, 每 6 个月复查全身骨扫描。记录临床病理变量, 包括年龄、性别、

初始磁共振图像上肿瘤的最大直径、Enneking分期、局部复发、肺转移。

免疫组化评定采用 Image J 图像分析系统进行阳性结果判定。NDN 分别以胞核中出现棕黄色颗粒为阳性细胞。将阳性细胞的积分光密度值 (integrated optical density, IOD) 分为: 无色为 0 分, 浅黄色为 1 分, 黄色为 2 分, 深棕色为 3 分。阳性面积百分比 (染色面积), 高倍镜 (×400) 下随机选取 5 个视野, 每个视野计数 200 个细胞, 根据平均阳性细胞百分比分为: 0%~25% 为 1 分, 26%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分。两项评分相乘: 9<强阳性≤12 分, 6<阳性≤9 分, 3<弱阳性≤6 分, 0≤阴性≤3 分。

1.6 统计学方法

应用 SAS 9.4 软件进行统计分析, 使用 Graphpad prism 7.0 软件统计图绘制。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 资料呈正态分布时, 采用独立样本 *t* 检验或单因素方差分析; 资料呈非正态分布时, 采用 Mann-whitney *U* 检验或 Krushal-Wallis *H* 检验。等级资料采用 Krushal-Wallis *H* 检验。计数资料采用 Fisher 确切概率法检验。采用 Kaplan-Meier 法估算生存率

及平均生存期, Log-rank 检验不同组别生存率的差异, Cox 比例风险回归模型进行多因素生存分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床结果

本组 51 例患者均得到随访 38 以上, 随访过程中, 局部复发 16 例, 转移 33 例。末次随访时, 无瘤生存 10 例, 带瘤生存 5 例, 死亡 36 例。术后生存时间最长为 78 个月, 最短者为 16 个月, 绝大多数患者死亡原因为肺转移以后导致的呼吸衰竭, 以及出现转移以后的全身恶病质。

按末次随访结局分组 (无瘤生存组、带瘤生存组、死亡组) 进行比较, 结果见表 1, 三组中年龄、性别、术前瘤体大小、NDN 检测差异无统计学意义 (P>0.05)。三组间骨肉瘤患者 Enneking 分期比较, 死亡组中 II_b、III 期所占比例明显高于无瘤生存组和带瘤生存组, 差异具有统计学意义 (P<0.05)。死亡组中肺转移率明显高于带瘤生存组和无瘤生存组 (P<0.05)。

表 1 按末次随访三种结局分组的资料与比较

指标	无瘤生存组 (n=10)	带瘤生存组 (n=5)	死亡组 (n=36)	P 值
术前年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	27.30±22.93	30.8±22.39	26.44±15.41	0.763
性别 (例, 男/女)	5/5	4/1	19/17	0.551
术前 Enneking 分期 (例, II _a /II _b /III)	10/0/0	4/1/0	20/12/4	0.027
术前肺转移 (例, 无/有)	10/0	5/0	3/33	<0.001
术前瘤体大小 (例, <5 cm/≥5 cm)	6/4	2/3	12/24	0.318
NDN 检测 (例, 阴性/阳性)	6/4	2/3	28/8	0.164

2.2 NDN 免疫组化结果与分组比较

显微镜下所见见图 1, NDN 表达主要位于细胞的胞核中。NDN 在骨肉瘤组织中的表达率为 29.41% (15/51), 明显低于瘤旁骨组织阳性表达率 80.00% (8/10), 两者差异有统计学意义 (P=0.002)。

按 NDN 检测阴性与阳性分两组进行临床比较, 结果见表 2。NDN 蛋白表达阴性组的术前 Enneking 分期为 II_B、III 期患者比例显著高于阳性组 (P<0.05)。两组年龄、性别、是否肺转移、肿瘤大小、是否复发、生存结局差异无统计学意义 (P>0.05)。

2.3 不同组别平均生存时间比较

不同组别平均生存时间比较结果见表 3, IIA

期、非肺部转移、肿瘤大小<5 cm、NDN 检测阳性骨肉瘤患者平均生存时间显著高于 II_b/III 期、肺部转移、肿瘤大小≥5cm、NDN 检测阴性患者 (P<0.05)。

不同骨肉瘤组织 NDN 表达阴性与阳性患者的 Kaplan-Meier 生存曲线见图 2, 可见 NDN 阳性表达患者生存时间显著长于 NDN 阴性表达患者。

骨肉瘤患者 Cox 比例风险回归分析结果见表 4, 引入水准为 0.05, 剔除水准为 0.1。结果表明, Enneking 分期 (HR=1.530)、肺转移 (HR=4.662)、肿瘤大小 (HR=3.398) 是生存的危险因素, 而 NDN 阳性 (HR=0.207) 是生存的保护性因素。

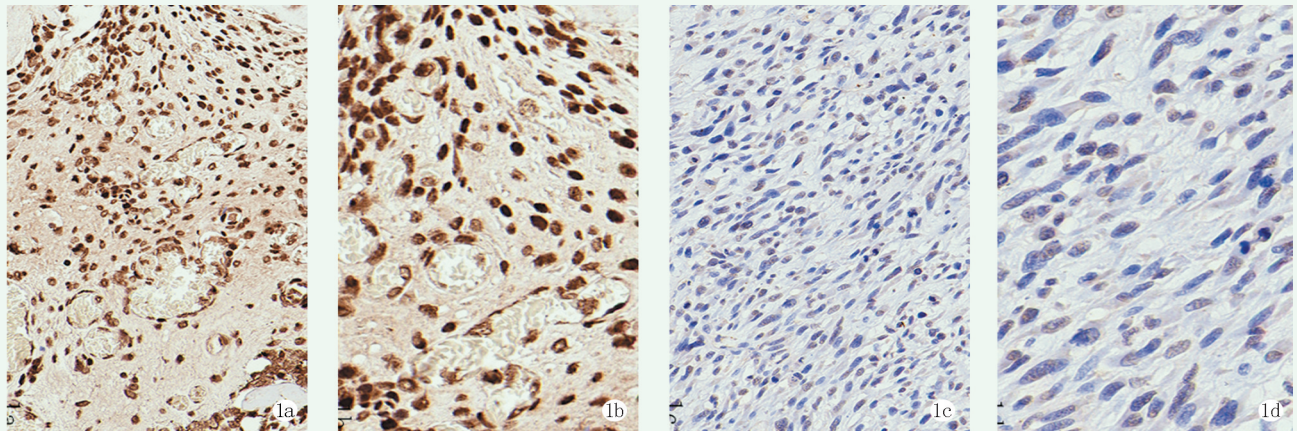


图 1 NDN 免疫组化染色所见 1a: 瘤旁正常骨组织 NDN 表达呈阳性的细胞, 被染成棕色 (×40) 1b: 高倍镜下瘤旁正常骨组织 NDN 表达阳性的细胞, 细胞核呈棕色, 胞质、胞核均被染成深棕色 (×400) 1c: 骨肉瘤组织 NDN 表达多呈阳性的细胞, 骨肉瘤细胞的细胞质、细胞核呈蓝色 (×40) 1d: 高倍镜下, 可见部分蛋白表达阳性的细胞, 胞质、胞核均被染成浅棕色 (×400)

表 2 NDN 检测阴性与阳性两组患者资料与比较

指标	阳性组 (n=15)	阴性组 (n=36)	P 值
术前年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	28.60±18.24	26.39±17.26	0.710
性别 (例, 男/女)	9/6	19/17	0.637
术前 Enneking 分期 (例, II _A /II _B /III)	15/0/0	19/13/4	<0.001
术前肺转移 (例, 无/有)	7/8	11/25	0.273
术前肿瘤大小 (例, <5 cm/≥5 cm)	8/7	12/24	0.183
复发 (例, 无/有)	8/7	25/11	0.273
结局 (例, 无瘤/带瘤/死亡)	4/3/8	5/2/28	0.125

表 3 Kaplan-Meier 生存期及对数等级分析结果

指标	平均生存时间 (月, $\bar{x} \pm s$)	Log-rank (χ^2 值)	P 值	
术前 Enneking 分期	II _A	55.93±2.79	38.197	<0.001
	II _B	30.60±2.87		
	III	26.00±6.92		
肺转移	是	41.03±2.94	14.358	<0.001
	否	45.96±1.75		
肿瘤大小 (cm)	<5	55.63±2.56	6.130	0.013
	≥5	41.26±3.69		
NDN 检测	阴性	39.50±2.73	14.818	<0.001
	阳性	63.22±3.40		

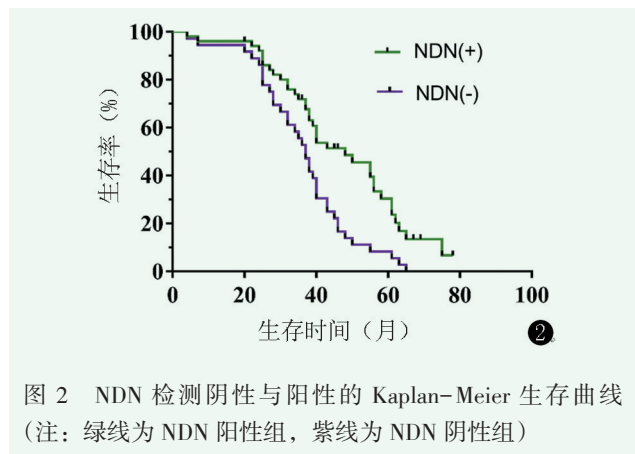
3 讨论

目前, 骨肉瘤的治疗手段主要是术前化疗, 手术治疗, 术后化疗, 但由于骨肉瘤的组织异质性、遗传不稳定性、局部强侵袭性, 大多数患者早期即出现肺转移, 预后并不满意。目前关于细胞起源的研究、OS 干细胞特征的研究、各种信号传导通路、肿瘤微环境、免疫治疗等领域的深入研究, 以及建立更好的疾病模型将会开辟治疗此肿瘤的新思路, 最终将会提

高 OS 患者的疗效^[10]。

NDN 是一种生长抑制蛋白, 首次在有丝分裂后神经元中被发现^[11]。NDN 最初被认为是有丝分裂后神经元细胞增殖的抑制因子, 由于 NDN 的构成性和终身表达, 导致分化的神经元永久退出细胞周期^[12]。编码人类 NDN 的基因位于染色体 15q11 上, 这是普拉德-威利综合征 (Prader-Willi syndrome) 的母系印记区域, 是以发育迟缓和行为异常为特征神经遗传学疾病^[11]。NDN 基因是母系印记的, 仅从父亲的等位基因转录, 在 PWS 患者中不表达。NDN 是

黑色素瘤抗原 (MAGE) 家族的成员, 该家族由 60 多个共享高度保守的 MAGE 同源结构域 (MHD) 的基因组成^[13, 14]。



Yang 等^[15] 研究发现, NDN 在正常卵巢上皮中持续表达, 在大多数卵巢癌中表达下调。NDN 的重新表达抑制了细胞的生长, 降低了细胞的运动性和迁移性。Chapman 等^[16] 的研究发现, 在 28 个膀胱癌细

胞系中有 26 个 (92.9%) 和 58 个膀胱癌肿瘤中有 35 个 (60%) NDN 转录本下调, 并观察到端粒酶催化亚单位 hTERT 可诱导正常人尿路上皮细胞 NDN 表达下调。膀胱癌细胞系和肿瘤提示 NDN 可能是肿瘤抑制基因。Hoek 等^[17] 研究发现, 与正常黑色素细胞相比, NDN 在被测试的 8 个黑色素瘤细胞株中有 6 个下调, 而在黑色素瘤细胞系中的异位重新表达导致了体外生长抑制, NDN 的低表达仍然有利于肿瘤的生长, 就像其他肿瘤抑制因子所显示的那样。Virani 等^[18] 研究发现, NDN 在一些肿瘤中高表达, 并且有致癌的作用。NDN 在不同的肿瘤中表现出不同的作用, 可能与其所在的微环境和细胞环境有关^[19], 了解其不同机制, 对于 NDN 在肿瘤方面的研究非常重要。本研究发现, NDN 在骨肉瘤组织中表达下调, 在正常骨组织中高表达, NDN 高表达的骨肉瘤患者, 其生存率明显高于 NDN 低表达的骨肉瘤患者。由此证明 NDN 在骨肉瘤中扮演着抑癌基因的角色。

表 4 骨肉瘤生存风险的 Cox 多因素分析结果

指标	偏回归系数	标准误	Wald 值	风险比 (HR)	95% CI
Enneking 分期	0.425	0.354	1.439	1.530	0.764~3.065
肺转移	1.539	0.644	5.720	4.662	1.320~16.462
肿瘤大小	1.223	0.544	5.051	3.398	1.169~9.876
NDN 检测	-1.575	0.570	7.645	0.207	0.068~0.632

骨肉瘤的转移与 Notch 通路、Wnt/ β -catenin 信号通路、Src 激酶、免疫逃逸、Fas 信号通路等有关^[20]。Lee 等^[21] 研究发现, 与正常组织相比, 乳腺癌中 NDN 的表达有所下降, 这表明 NDN 可能发挥着肿瘤抑制因子的作用, NDN 表达水平的提高抑制了高度侵袭性小鼠乳腺肿瘤细胞株的转移能力, NDN 很可能是作为转录调节因子和转移抑制因子, 在种系水平上发挥其影响。本研究应用单因素和多因素生存分析发现, NDN 表达、Enneking 分期、肺转移是影响骨肉瘤患者预后的独立因素, 这表明 NDN 也可能通过抑制骨肉瘤的肺转移来提高骨肉瘤患者的生存率。未来的研究方向应该结合临床, 将靶点的发现尽早转化为临床可用的新型靶向治疗药物以及加强对联合用药的探索以提高骨肉瘤化疗疗效。此外, 提高肿瘤局部化疗药物浓度也可能是一种可行的策略^[22]。本研究结果提示, NDN 可能作为治疗骨肉瘤肺转移的一个靶点, 其低表达是骨肉瘤患者预后不良的潜在指标。

参考文献

[1] Angelini A, Cec F, Castellucci P, et al. The role of 18F-FDG PET/CT in the detection of osteosarcoma recurrence [J]. Eur J Nuclear Med Mol Imaging, 2017, 44: 1712-1720.

[2] 王文剑, 姚阳, 余文熙, 等. 1593 例骨肉瘤流行病学及治疗的回顾性分析 [J]. 中华骨科杂志, 2018, 38 (18): 1097-1107.

[3] Klein MJ, Siegal GP. Osteosarcoma: anatomic and histologic variants. [J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125 (4): 555-581.

[4] 史景丽, 沈丹华. 成人原发性骨肉瘤的临床病理特征: 98 例 30 岁以上患者的报告 [J]. 肿瘤, 2015, 35 (8): 883-888.

[5] 赵海恩, 赵新文, 周勇, 等. 骨肉瘤转移的相关分子及临床应用研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2014, 22 (5): 434-440.

[6] Matsumoto K, Taniura H, Uetsuki T, et al. Necdin acts as a transcriptional repressor that interacts with multiple guanosine clusters [J]. Gene, 2001, 272 (1-2): 173-179.

[7] Taniura H, Taniguchi N, Hara M and Yoshikawa K. Necdin, a post-mitotic neuron-specific growth suppressor, interacts with viral transforming proteins and cellular transcription factor E2F1 [J]. J Biol Chem, 1998, 273 (2): 720-728.

[8] Hasegawa K, Yoshikawa K. Necdin regulates p53 acetylation via Sirtuin1 to modulate DNA damage response in cortical neurons [J]. J Neurosci, 2008, 28 (35): 8772-8784.

[9] Chapman EJ, Knowles MA. Necdin: a multi functional protein with

- potential tumor suppressor role [J]. *Mol Carcinog*, 2009, 48 (11) : 975-981.
- [10] 耿磊, 陈继营, 许猛, 等. 骨肉瘤的治疗进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23 (21) : 1975-1978.
- [11] Jay P, Rougeulle C, Massacrier A, et al. The human necdin gene, NDN, is maternally imprinted and located in the Prader-Willi syndrome chromosomal region [J]. *Nat Genet*, 1997, 17 (3) : 357-361.
- [12] Hayashi Y, Matsuyama K, Takagi K, et al. Arrest of cell growth by necdin, a nuclear protein expressed in postmitotic neurons [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 213 (1) : 317-324.
- [13] Barker PA, Salehi A. The MAGE proteins: emerging roles in cell cycle progression, apoptosis, and neurogenetic disease [J]. *J Neurosci Res*, 2002, 67 (6) : 705-712.
- [14] Doyle JM, Gao J, Wang J, et al. MAGE-RING protein complexes comprise a family of E3 ubiquitin ligases [J]. *Mol Cell*, 2010, 39 (6) : 963-974.
- [15] Yang HL, Das P, Yu YH, et al. NDN is an imprinted tumor suppressor gene that is downregulated in ovarian cancers through genetic and epigenetic mechanisms [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (3) : 3018-3032.
- [16] Chapman EJ, Kelly G, Knowles MA. Genes involved in differentiation, stem cell renewal, and tumorigenesis are modulated in telomerase-immortalized human urothelial cells [J]. *Molecular Cancer Research*, 2008, 6 (7) : 1154-1168.
- [17] Hoek K. Expression profiling reveals novel pathways in the transformation of melanocytes to melanomas [J]. *Cancer Res*, 2004, 64 (15) : 5270-5282.
- [18] Virani S, Bellile E, Bradford CR, et al. NDN and CD1A are novel prognostic methylation markers in patients with head and neck squamous carcinomas [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15 (1) : 825.
- [19] Lafontaine J, Rodier F, Ouellet V, et al. Necdin, a p53-target gene, is an inhibitor of p53-mediated growth arrest [J]. *PLoS One*, 2012, 7 : e31916.
- [20] 何博, 常彬, 李锋. 骨肉瘤转移的分子研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2013, 21 (2) : 159-162.
- [21] Lee M, BeGgs SM, Gildea D, et al. Necdin is a breast cancer metastasis suppressor that regulates the transcription of c-Myc [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (31) : 31557-31568.
- [22] 叶从林, 戴闽. 增强顺铂对骨肉瘤疗效的体内外研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25 (1) : 49-52.

(收稿:2021-06-01 修回:2022-03-08)

(同行评议专家: 王守丰)

(本文编辑: 郭秀婷)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊严查代写代投稿件等学术不端行为的通告

近期本刊在稿件处理过程中不断发现有涉嫌代写、代投的问题, 这种行为严重违反了《中国科协等7部门联合印发的《发表学术论文“五不准”》》要求, 在很大程度上影响了编辑部正常的工作秩序。为了维护学术尊严, 保证杂志的学术质量, 维护期刊的声誉和广大作者与读者的正当权益, 本刊郑重声明如下:

本刊坚决反对由第三方代写、代投、代为修改稿件的行为。自即日起, 凡投给本刊的所有稿件必须是作者亲自撰写的, 稿件内容和所留作者信息必须是真实的。在稿件处理过程中, 本刊的同行评议专家和编辑人员将动态地对文稿反复核对, 请作者理解并积极配合。以下情况将被判定为涉嫌代写代投等学术不端行为, 无论稿件处理至哪个阶段, 均终止稿件进一步处理或直接退稿: (1) 作者信息中提供的手机和电子信箱等联系方式非第一作者或通讯作者本人, 或无效; (2) 不回应我们的问询, 或回应不合逻辑; (2) 内容描述不专业, 或不符合逻辑, 不符合医学伦理与规范; (3) 数据或统计值不符合逻辑, 或明显错误; (4) 图片与正文描述不符合; (5) 参考文献引用与正文内容不符合。

期待广大作者与读者与我们携手, 共同反对学术不端行为, 维护医学文献库的圣洁, 打造经得起历史考验、值得信赖的诚信期刊。

《中国矫形外科杂志》编辑部

2021年8月13日