

. 实验研究 .

ITGB2 促进胶质瘤细胞增殖并受 E2F2 调控

陈思思 吴宇 朱馨艺 邓钢

【摘要】目的 探讨整合素亚单位 $\beta 2$ (ITGB2)在胶质瘤中的表达、功能及其调控机制。**方法** 收集 2018 年 6 月至 2019 年 6 月手术切除的 25 例胶质瘤组织样本以及其邻近的非肿瘤脑组织样本,采用实时定量 PCR 检测 ITGB2 mRNA 的表达。体外培养正常人小胶质细胞系(HMC3)和胶质瘤细胞系(A172、T98G、U138-MG),转染 E2F2、ITGB2 小干扰 RNA 调控细胞基因表达,CCK-8 法和 EdU 染色法检测细胞增殖,利用流式细胞术检测细胞周期分布,双荧光素酶报告基因实验验证 E2F2 与 ITGB2 启动子区域的结合关系,利用免疫印迹法检测 E2F2 对 ITGB2 蛋白表达的影响。**结果** 与瘤周非肿瘤脑组织相比,胶质瘤组织 ITGB2 mRNA 表达明显上调。敲低 ITGB2 表达抑制体外培养胶质瘤细胞的增殖,并诱导细胞发生周期阻滞。E2F2 结合于 ITGB2 启动子区域,过表达 E2F2 促进 ITGB2 蛋白表达,敲低 E2F2 抑制 ITGB2 蛋白表达。过表达 E2F2 逆转敲低 ITGB2 对胶质瘤细胞生长的抑制作用。**结论** ITGB2 在胶质瘤细胞中高表达,且促进胶质瘤细胞增殖,其高表达受 E2F2 调控。

【关键词】 胶质瘤;整合素亚单位 $\beta 2$ (ITGB2);E2F2;细胞增殖;细胞周期

【文章编号】 1009-153X(2024)08-0478-05 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41

ITGB2 promotes the proliferation of glioma cells and is regulated by E2F2

CHEN Si-si^{1,2}, ZHU Xin-yi¹, WU Yu¹, DENG Gang¹. 1. Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2. Department of Plastic Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

【Abstract】 Objective To explore the expression, function and regulatory mechanism of integrin subunit beta 2 (ITGB2) in glioma. **Methods** The expressions of ITGB2 mRNA in glioma tissue and adjacent non-tumor brain tissue samples which were collected from 25 patients with glioma undergoing surgical resection from June 2018 to June 2019 was detected by real-time quantitative PCR. Glioma cell lines (A172, T98G, U138-MG) were cultured in vitro. E2F2 and ITGB2 small interfering RNAs were transfected to regulate the gene expression of cells. Cell proliferation was detected by CCK-8 assay and EdU staining, and cell cycle distribution was detected by flow cytometry. The binding relationship between E2F2 and the promoter region of ITGB2 was verified by dual luciferase reporter gene assay, and the influence of E2F2 on the expression of ITGB2 protein was detected by Western blotting. **Results** Compared with the non-tumor brain tissues adjacent to the tumor, the expression of ITGB2 mRNA in glioma tissues was significantly upregulated. Knockdown of ITGB2 expression inhibited the proliferation of glioma cells in vitro and induced cell cycle arrest. E2F2 bound to the promoter region of ITGB2. Overexpression of E2F2 promoted the expression of ITGB2 protein, and knockdown of E2F2 inhibited the expression of ITGB2 protein. Overexpression of E2F2 reversed the inhibitory effect of knockdown of ITGB2 on the growth of glioma cells. **Conclusion** ITGB2 is highly expressed in glioma tissues and promotes glioma cell proliferation, and its high expression is regulated by E2F2.

【Key words】 Glioma; Integrin subunit $\beta 2$ (ITGB2); E2F2; Cell proliferation; Cell cycle

胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,占颅内肿瘤的 40%~50%,手术联合放化疗是主要的治疗手段,由于胶质瘤生长迅速且具有很强的侵袭性,最终会出现疾病进展或术后复发^[1]。研究表明,胶质瘤的发生发展与多种致癌基因或抑癌基因有关。整合素亚单位 $\beta 2$ (integrin subunit beta 2, ITGB2)基因,又称 CD18 基因,是黏附分子中整合素家族的重要成

员。ITGB2 作为一种跨膜细胞表面受体,参与细胞与细胞外基质的交互作用,具有内外双向信号传导能力^[2]。研究表明,ITGB2 能促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[3]。胶质瘤 ITGB2 呈高表达,并与病人的不良预后相关^[4]。但是,ITGB2 在胶质瘤中的生物学功能和异常表达机制目前尚未完全阐明。

转录因子是一类具有序列特异性的 DNA 结合蛋白,在信号的传递、相关功能基因的表达调控以及发育阶段的调控中起着重要的作用。研究证实 E2F 转录因子 2(E2F transcription factor 2, E2F2)在胶质瘤组织中的表达显著增高,与胶质瘤的进展有关^[5]。

我们通过生物信息学分析发现 E2F2 可能与 ITGB2 的启动子区域结合,因此,本研究探索 ITGB2

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2024.08.008

基金项目:武汉市知识创新专项曙光计划项目(2022020801020483)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(陈思思、吴宇、朱馨艺、邓钢),整形美容外科(陈思思)

通信作者:邓钢,Email:gang.deng@whu.edu.cn

在胶质瘤中的表达特征及生物学功能,以及验证E2F2是否可以调控ITGB2的表达。

1 材料与方法

1.1 组织标本的来源 收集2018年6月至2019年6月手术切除的25例胶质瘤组织样本以及其邻近的非肿瘤脑组织样本。所有肿瘤样本均经过术后病理检查确认为胶质瘤。纳入本研究的病人在手术前未接受过放疗或化疗。

1.2 细胞培养 正常人小胶质细胞系(HMC3)和胶质瘤细胞系(A172、T98G、U138-MG)购自美国典型培养物保藏中心,采用含有10%胎牛血清(美国Gibco公司)的DMEM培养基中培养。

1.3 细胞转染 E2F2小干扰RNA(si-E2F2)、ITGB2小干扰RNA(si-ITGB2#1、si-ITGB2#2)及对照siRNA(si-NC)、ITGB2过表达质粒(ITGB2)、E2F2过表达质粒(E2F2)及空载质粒(NC)购自Genomeditech(中国)。使用Lipofectamine™ 2000试剂盒(美国Invitrogen公司)将上述质粒或siRNA转染至细胞中。转染48 h后,采用实时定量PCR检测转染效率,收集细胞用于后续分析。

1.4 qRT-PCR 使用TRIzol试剂提取胶质瘤组织和细胞系总RNA。然后,使用SuperScript IV First-Strand试剂盒(德国Qiagen GmbH公司)逆转录成cRNA。使用SYBR Green PCR试剂盒(美国Quanta Biosciences公司)在StepOnePlus实时PCR系统上进行样本扩增。扩增条件:95 °C/10 min;95 °C/15 s,56 °C/1 min,循环30次;95 °C/15 s,60 °C/1 min,95 °C/15 s。GAPDH作为内参,使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算ITGB2 mRNA的表达。引物序列:GAPDH上游5'-ACAGT-CAGCCGCATCTTCTT-3',下游5'-AAATGAGCCCCAGCCTTCTC-3';ITGB2上游5'-AGTGCAGGGTCCGAGGTATT-3',下游5'-ACCAGAGCAGACCGCA-3'。

1.5 CCK-8法检测细胞增殖 使用CCK-8试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)检测A172、T98G细胞增殖活性。收集转染后的细胞,以 1×10^3 个/孔接种于96孔板中,每孔加入100 μ l细胞悬液继续培养1、2、3 d,去除原培养基,各孔加入10 μ l CCK-8试剂和90 μ l培养基,继续培养3 h,使用酶标仪检测450 nm波长的光密度值。

1.6 EdU染色检测细胞增殖 将细胞以 2×10^4 个/孔接种在24孔板中培养,待细胞贴壁生长后每孔加入50 μ mol/L EdU试剂(广州锐博生物技术有限公司)继续培养24 h, PBS冲洗,用4%甲醛固定30 min,加入2

mg/ml甘氨酸继续孵育5 min。随后,每孔加入100 μ l含0.5%的Triton X-100的PBS,摇床上脱色孵育10 min, PBS洗2次,每次5 min。Apollo染料室温避光染色30 min, $1 \times$ Hoechst 33342 DNA染色液室温避光孵育细胞30 min。再次使用PBS清洗细胞后,在荧光显微镜下观察细胞。

1.7 细胞周期的检测 收集转染后的细胞,75%乙醇固定过夜。PBS洗涤3次,用500 μ l碘化丙啶染液室温避光孵育细胞30 min。再次使用PBS清洗细胞后,使用流式细胞仪检测细胞周期,使用FlowJo软件分析数据。

1.8 双荧光素酶报告基因实验 将ITGB2与E2F2启动子区域上的结合位点扩增并克隆到含有萤火虫荧光素酶基因报告PsiCHECK-2载体(美国Promega公司),构建ITGB2野生型载体(ITGB2-WT)和ITGB2突变型载体(ITGB2-MUT)。随后,使用Lipofectamine™ 2000试剂盒(美国Invitrogen公司),将上述载体和E2F2过表达质粒、小干扰RNA及空白质粒共转染到细胞中。转染48 h后,使用Dual-Glo荧光素酶报告系统(美国Promega公司)检测萤火虫荧光素酶活性。

1.9 免疫印迹法检测蛋白表达 使用RIPA裂解液提取总蛋白,用BCA蛋白检测试剂盒测量蛋白浓度。将50 μ g蛋白样品进行SDS-PAGE电泳,随后转至PVDF膜(美国Millipore公司)上。然后把膜放置5%脱脂牛奶中封闭2 h,随后加入一抗E2F2(1:1 000;美国Abcam公司)、cyclin D1(1:1 000;美国Abcam公司)和GAPDH(1:1 000;美国Abcam公司)于4 °C下孵育过夜。次日加入二抗(1:2 000;美国Abcam公司)置于室温下孵育2 h。随后,用ECL发光试剂(美国Abcam公司)显色成像,并使用ImageJ软件通过光密度分析进行量化。

1.10 统计学分析 使用GraphPad Prism 8.0软件分析;定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验和单因素方差分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ITGB2在胶质瘤中的表达及其对胶质瘤增殖的影响 与非肿瘤脑组织相比,胶质瘤组织ITGB2 mRNA的表达水平显著增高($P < 0.05$;图1A)。细胞实验结果显示,与小胶质细胞(HMC3)相比,胶质瘤细胞系(A172、T98G、U138-MG)ITGB2 mRNA的表达水平也显著增加($P < 0.05$;图1B)。qRT-PCR验证转染的效果显示,si-ITGB2#2的敲低效率更高,因

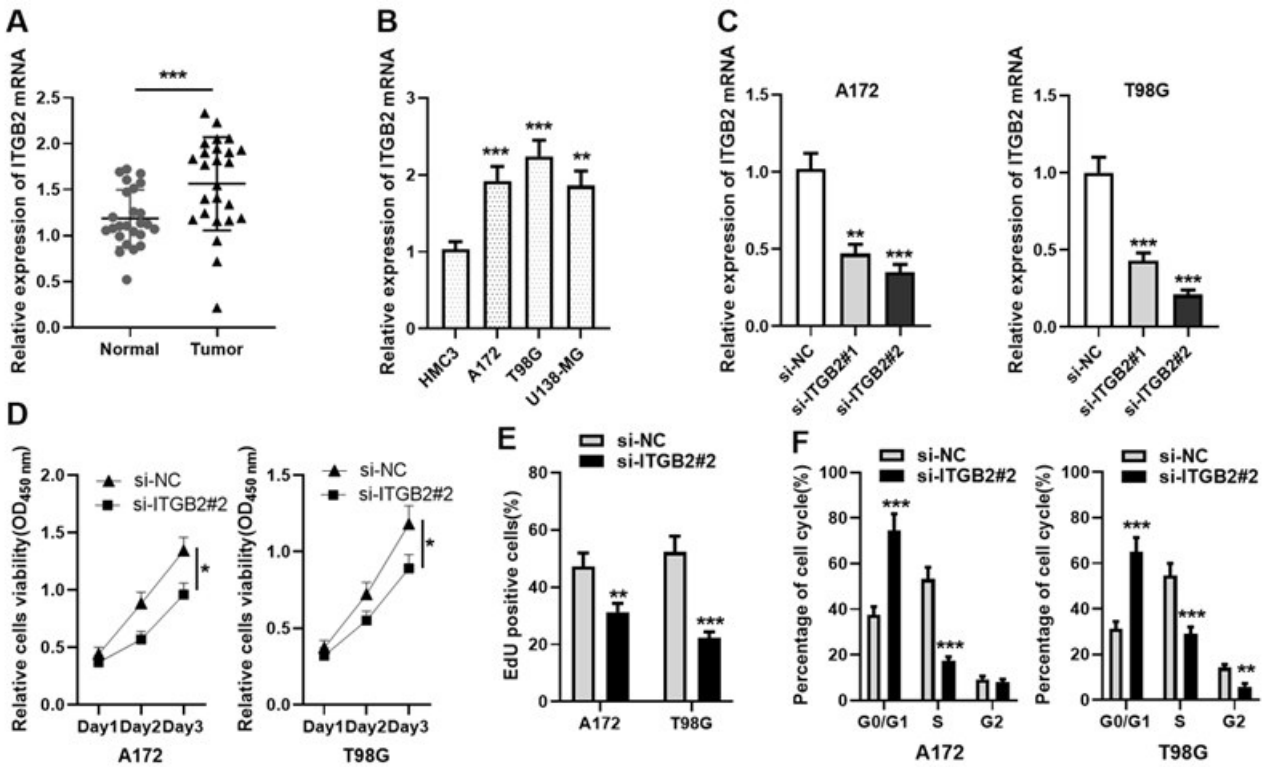


图1 ITGB2在胶质瘤组织中的表达及其对体外培养的胶质瘤细胞系细胞增殖的影响

A. 胶质瘤组织和瘤周非肿瘤脑组织ITGB2 mRNA的表达; B. 正常人小胶质细胞系(HMC3)和胶质瘤细胞系(A172、T98G、U138-MG)ITGB2 mRNA的表达; C. si-NC、si-ITGB2#1和si-ITGB2#2分别转染A172和T98G细胞的转染效率; D、E. 敲低ITGB2对A172和T98G细胞活力和增殖的影响; F. 敲低ITGB2对A172和T98G细胞周期的影响; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

Figure 1 Expression of ITGB2 in glioma tissues and its impact on cell proliferation of glioma cell lines cultured in vitro

A: Expression of ITGB2 mRNA in glioma tissues and peritumoral non-tumor brain tissues. B: Expression of ITGB2 mRNA in normal human microglia cell line (HMC3) and glioma cell lines (A172, T98G, U138-MG). C: Transfection efficiencies of si-NC, si-ITGB2#1, and si-ITGB2#2 in A172 and T98G cells. D-E: Effects of knockdown of ITGB2 on the viability and proliferation of A172 and T98G cells. F: Effects of knockdown of ITGB2 on the cell cycle of A172 and T98G cells. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

此选择 si-ITGB2#2 用于后续实验(图 1C)。CCK-8 和 EdU 实验结果显示,敲低 ITGB2 显著抑制 A172 和 T98G 细胞的增殖能力($P < 0.05$;图 1D、1E)。流式细胞术检测结果发现,敲低 ITGB2 表达,与对照组相比,G0/G1 期比例明显增多($P < 0.001$;图 1F)。

2.2 E2F2 靶向结合 ITGB2 启动子区域 使用 PROMO 数据库分析预测调控 ITGB2 的转录因子结果显示 E2F2 与 ITGB2 启动子区域存在结合位点(图 2A)。双荧光素酶报告基因实验结果显示,A172 和 T98G 细胞过表达 E2F2 显著增强 ITGB2-WT 的荧光素酶活性,而敲低 E2F2 则显著降低 ITGB2-WT 的荧光素酶活性,然而,过表达或敲低 E2F2 对 ITGB2-MUT 的荧光素酶活性没有显著影响(图 2B、2C)。免疫印迹法检测发现过表达 E2F2 可以促进 ITGB2 的表达,而敲低 E2F2 则降低 ITGB2 的表达(图 2D、2E)。

2.3 ITGB2 协同 E2F2 调控胶质瘤细胞的增殖和细胞周期进展 将 si-ITGB2#2 和 E2F2 过表达质粒一起转

染到 A172 和 T98G 细胞,qRT-PCR 检测转染效率结果显示转染成功(图 3A)。CCK-8 实验、EdU 实验和流式细胞术结果显示,敲低 ITGB2 显著抑制 A172 和 T98G 细胞的增殖能力,并导致细胞发生周期阻滞在 G0/G1 期。然而,过表达 E2F2 可以逆转上述生物学效应(图 3B~D)。

3 讨论

胶质瘤侵袭性强,肿瘤组织与周围脑组织之间的分界不明显,这使得手术切除变得困难。因此,在手术后通常需要辅助放疗或化疗。然而,大多数病人对常规放、化疗不敏感,这导致胶质瘤的复发率仍然很高。此外,由于某些胶质瘤位于特殊的解剖位置,很多肿瘤难以完全切除。

整合素是人类细胞表面上普遍存在的重要细胞黏附分子,可以介导细胞间以及细胞和细胞外基质之间的信号传递。很多整合素家族成员具有调控人

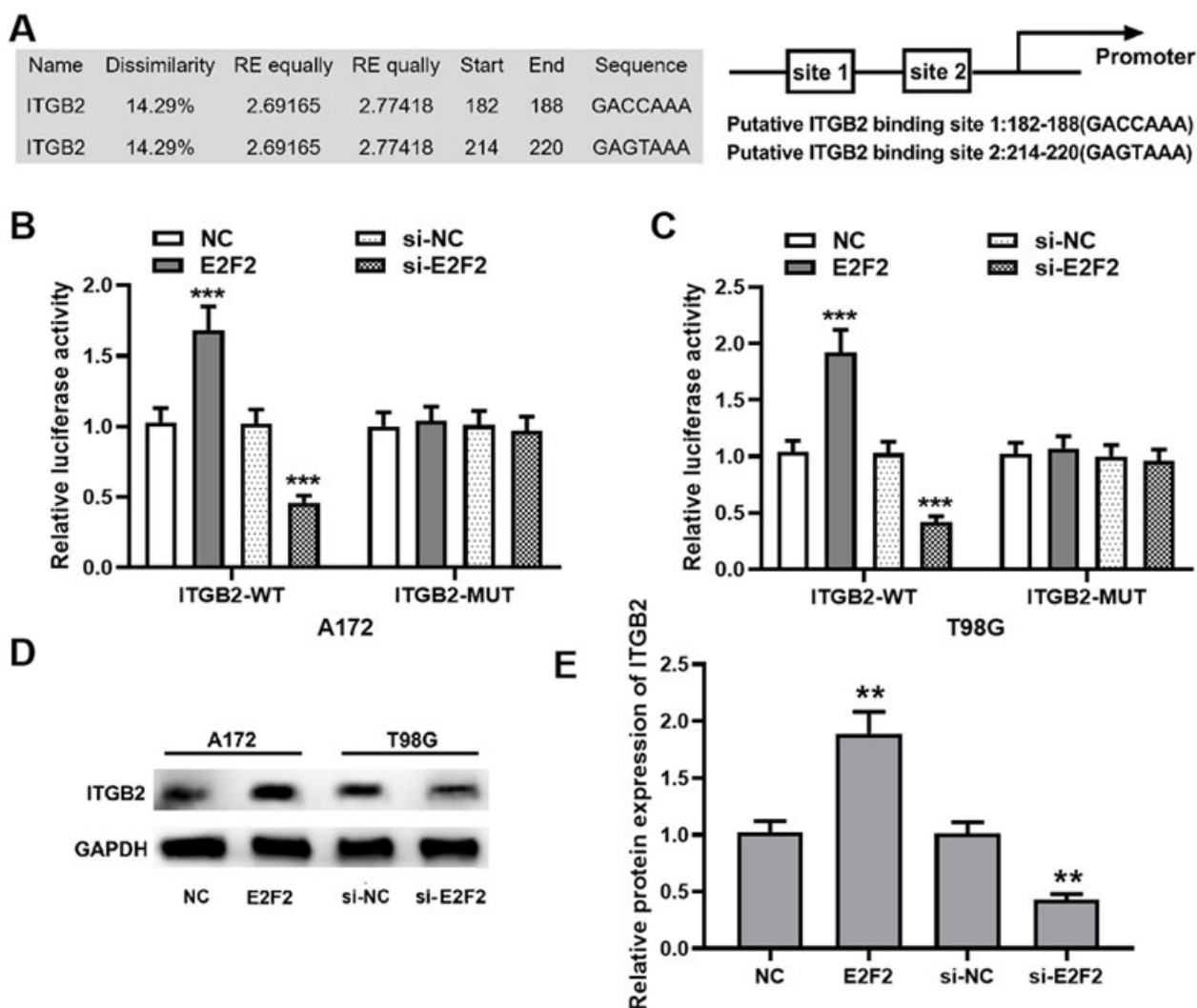


图2 E2F2靶向结合ITGB2启动子区域

A. PROMO 数据库预测 E2F2 与 ITGB2 启动子区域的结合位点;B、C. 双荧光素酶报告基因实验验证过表达或敲低 E2F2 对 ITGB2-WT 和 ITGB2-MUT 荧光素酶活性的影响;D、E. 免疫印迹法检测过表达或敲低 E2F2 对 ITGB2 蛋白表达的影响; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

Figure 2 E2F2 targets the promoter region of ITGB2

A: The binding site of E2F2 to the promoter region of ITGB2 predicted by the PROMO database. B-C: The dual luciferase reporter gene assay verifies the effects of overexpression or knockdown of E2F2 on the luciferase activities of ITGB2-WT and ITGB2-MUT. D-E: Western blotting detects the effects of overexpression or knockdown of E2F2 on the expression of ITGB2 protein. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

类疾病发病和进展的功能。有研究表明,ITGB2 通过多种方式促进肿瘤的进展^[6]。在乳腺癌中,长非编码 RNA ITGB2-AS1 通过上调 ITGB2,激活 FAK 信号通路,从而促进癌细胞的迁移和侵袭^[7]。另外,ITGB2 与黑色素瘤病人的高病理分期和不良预后密切相关^[8]。ITGB2 的单核苷酸多态性与胶质瘤的发病风险相关,高表达的 ITGB2 提示胶质瘤病人预后不良,并且与免疫治疗的反应性有关^[9]。我们发现胶质瘤组织和胶质瘤细胞系 ITGB2 的表达显著上调;此外,敲低 ITGB2 能够显著抑制胶质瘤细胞的增殖能力,并且可以诱导细胞周期阻滞。这提示 ITGB2

在胶质瘤中可能发挥促癌作用,可能成为胶质瘤治疗的靶点。

E2F2 是 E2F 转录因子家族的一员,是一种调控细胞有丝分裂的核转录因子。E2F2 通过调节细胞分裂周期相关基因来控制细胞的生长、分化和增殖^[10]。研究证实,E2F2 与多种肿瘤的形成和发展密切相关。E2F2 与 PFKFB4 启动子结合,增强其转录,从而激活 PI3K/AKT 通路,进而促进胶质瘤的恶性进展^[5]。E2F2 是 miR-128 的直接靶点,miR-128 通过下调 E2F2 的表达来抑制胶质瘤细胞的生长^[11]。研究发现,长非编码 RNA FLVCR1-AS1 通过上调 E2F2 的

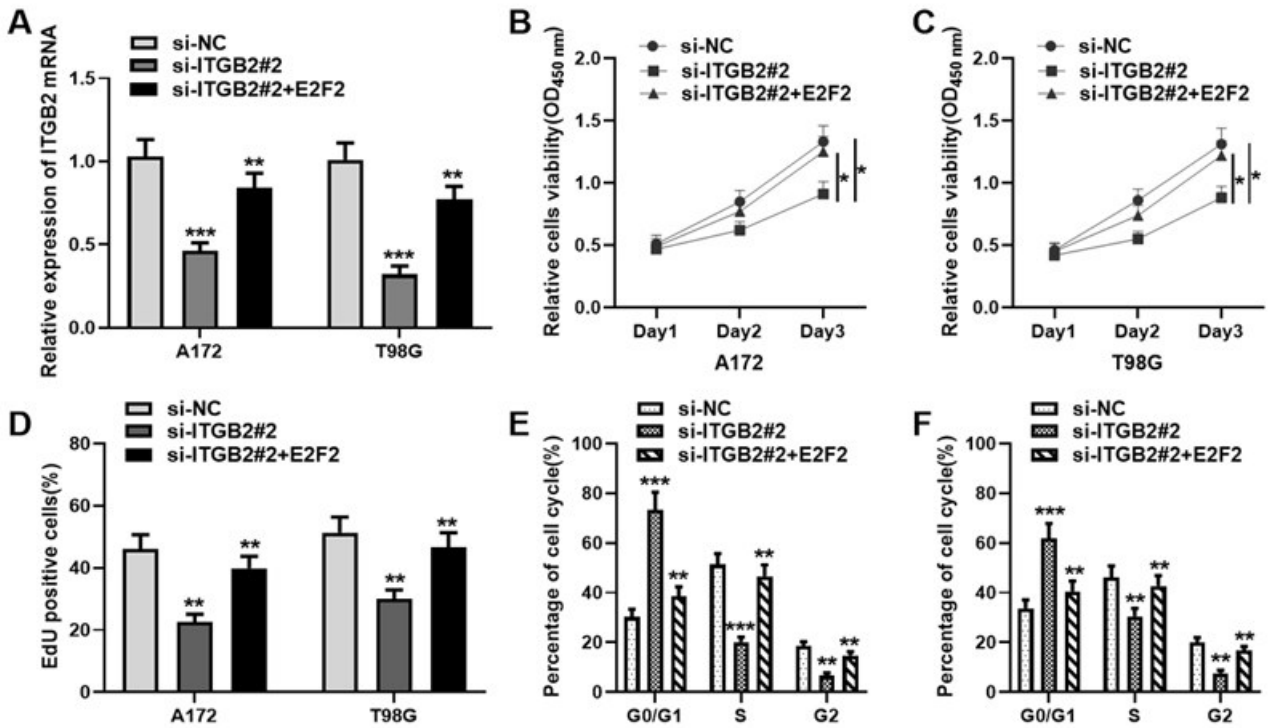


图3 E2F2过表达拮抗ITGB2敲低对胶质瘤细胞增殖和细胞周期的影响

A. si-ITGB2#2、si-ITGB2#2+E2F2过表达质粒转染A172和T98G细胞的转染效率;B. 转染后si-ITGB2#2、si-ITGB2#2+E2F2过表达质粒A172和T98G细胞活力;C. 转染后si-ITGB2#2、si-ITGB2#2+E2F2过表达质粒A172和T98G细胞增殖能力;D. 转染后si-ITGB2#2、si-ITGB2#2+E2F2过表达质粒A172和T98G细胞周期分布情况;* P<0.05,** P<0.01,*** P<0.001

Figure 3 E2F2 overexpression antagonizes the effects of ITGB2 knockdown on glioma cell proliferation and cell cycle

A: Transfection efficiency of si-ITGB2#2 and si-ITGB2#2+E2F2 overexpression plasmids transfected into A172 and T98G cells. B: Cell viability of A172 and T98G cells after transfection with si-ITGB2#2 and si-ITGB2#2+E2F2 overexpression plasmids. C: Proliferation ability of A172 and T98G cells after transfection with si-ITGB2#2 and si-ITGB2#2+E2F2 overexpression plasmids. D: Cell cycle distribution of A172 and T98G cells after transfection with si-ITGB2#2 and si-ITGB2#2+E2F2 overexpression plasmids. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

表达来促进胶质瘤的生长^[12]。我们发现E2F2能够与ITGB2启动子区域结合并促进其转录,这提示E2F2可能通过促进ITGB2的表达来促进胶质瘤的发展。

综上所述,ITGB2在胶质瘤中的表达上调,调控胶质瘤细胞的恶性表型,可能具有作为胶质瘤诊断的潜在生物标记物和新的治疗靶点的潜力。此外,E2F2是调控ITGB2表达的上游转录因子,这为解释ITGB2在胶质瘤中异常表达的机制提供了新的线索。

【伦理学声明】:本研究遵循《赫尔辛基宣言》,所有病人和/或家属均签署知情同意书。本研究方案于2021年7月29经武汉大学人民医院伦理委员会审批,批号为WDRY2021-K109。

【利益冲突声明】:本文不存在任何利益冲突。

【作者贡献声明】:本文由邓钢完成研究设计;由陈思思、吴宇、朱馨艺和邓钢完成实验;邓钢、陈思思和吴

宇进行数据分析和文章撰写;邓钢对文章进行审校。

【参考文献】

- [1] OSTROM QT, BAUCHET L, DAVIS FG, et al. The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review [J]. Neuro Oncol, 2014, 16(7): 896-913.
- [2] FATHALLAH DM, JAMAL T, BARBOUCHE MR, et al. Two novel frame shift, recurrent and de novo mutations in the ITGB2 (CD18) gene causing leukocyte adhesion deficiency in a highly inbred north african population [J]. J Biomed Biotechnol, 2001, 1(3): 114-121.
- [3] SUN Z, DANG Q, LIU Z, et al. LINC01272/miR-876/ITGB2 axis facilitates the metastasis of colorectal cancer via epithelial-mesenchymal transition [J]. J Cancer, 2021, 12(13): 3909-3919.
- [4] XU H, ZHANG A, HAN X, et al. ITGB2 as a prognostic indicator and a predictive marker for immunotherapy in gliomas [J]. Cancer Immunol Immunother, 2022, 71(3): 645-660.

Neurosci, 2011, 2011: 879716.

[17] HEDRICH T, PELLEGRINO G, KOBAYASHI E, *et al.* Comparison of the spatial resolution of source imaging techniques in high-density EEG and MEG [J]. *NeuroImage*, 2017, 157: 531-544.

[18] VANKLINK N, MOOIJ A, HUISKAMP G, *et al.* Simultaneous MEG and EEG to detect ripples in people with focal epilepsy [J]. *Clin Neurophysiol*, 2019, 130(7): 1175-1183.

[19] XIANG J, WANG Y, CHEN Y, *et al.* Noninvasive localization of epileptogenic zones with ictal high-frequency neuromagnetic signals [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2010, 5(1): 113-122.

[20] MIAO A, XIANG J, TANG L, *et al.* Using ictal high-frequency oscillations (80 - 500Hz) to localize seizure onset zones in childhood absence epilepsy: a MEG study [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 566: 21-26.

[21] VELMURUGAN J, NAGARAJAN SS, MARIYAPPA N, *et al.* Magnetoencephalographic imaging of ictal high-frequency oscillations (80-200 Hz) in pharmacologically resistant focal epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2018, 59(1): 190-202.

[22] LUO L, ZHU HT, XU HH, *et al.* Application of magnetoencephalographic accumulated source imaging in preoperative assessment of patients with refractory temporal lobe epilepsy [J]. *Chin J Clin Neurosurg*, 2021, 26(2): 72-76.
罗磊, 朱海涛, 徐宏浩, 等. MEG 累积源成像在药物难治性颞叶癫痫术前评估中的应用[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2021, 26(2): 72-76.

[23] YIN C, ZHANG X, CHEN Z, *et al.* Detection and localization of interictal ripples with magnetoencephalography in the presurgical evaluation of drug-resistant insular epilepsy [J]. *Brain Res*, 2019, 1706: 147-156.

[24] FOLEY E, QUITADAMO LR, WALSH AR, *et al.* MEG detection of high frequency oscillations and intracranial-EEG validation in pediatric epilepsy surgery [J]. *Clin Neurophysiol*, 2021, 132(9): 2136-2145.

[25] TAMILIA E, DIRODI M, ALHILANI M, *et al.* Scalp ripples as prognostic biomarkers of epileptogenicity in pediatric surgery [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2020, 7(3): 329-342.

[26] VELMURUGAN J, NAGARAJAN SS, MARIYAPPA N, *et al.* Magnetoencephalography imaging of high frequency oscillations strengthens presurgical localization and outcome prediction [J]. *Brain*, 2019, 142(11): 3514-3529.

[27] XU N, SHAN W, QI J, *et al.* Presurgical Evaluation of epilepsy using resting-state meg functional connectivity [J]. *Front Hum Neurosci*, 2021, 15: 649074.

[28] NISSEN IA, VANKLINK NE, ZIJLMANS M, *et al.* Brain areas with epileptic high frequency oscillations are functionally isolated in MEG virtual electrode networks [J]. *Clin Neurophysiol*, 2016, 127(7): 2581-2591.

[29] MENG L. A magnetoencephalography study of pediatric interictal neuromagnetic activity changes and brain network alterations caused by epilepsy in the high frequency (80-1000 Hz) [J]. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng*, 2019, 27(3): 389-399.

[30] YIN C, ZHANG X, XIANG J, *et al.* Altered effective connectivity network in patients with insular epilepsy: a high-frequency oscillations magnetoencephalography study [J]. *Clin Neurophysiol*, 2020, 131(2): 377-384.

(2022-05-14 收稿, 2024-01-03 修回)

(上接第 482 页)

[5] ZHANG L, LIU Z, DONG Y, *et al.* E2F2 drives glioma progression via PI3K/AKT in a PFKFB4-dependent manner [J]. *Life Sci*, 2021, 276: 119412.

[6] LI J, ZHANG Z, FENG X, *et al.* Stanniocalcin-2 promotes cell EMT and glycolysis via activating ITGB2/FAK/SOX6 signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2022, 38(2): 259-272.

[7] LIU M, GOU L, XIA J, *et al.* LncRNA ITGB2-AS1 could promote the migration and invasion of breast cancer cells through up-regulating ITGB2 [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 1866.

[8] NURZAT Y, SU W, MIN P, *et al.* Identification of therapeutic targets and prognostic biomarkers among integrin subunits in the skin cutaneous melanoma microenvironment [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 751875.

[9] XU H, ZHANG A, HAN X, *et al.* ITGB2 as a prognostic indicator and a predictive marker for immunotherapy in gliomas [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2022, 71(3): 645-660.

[10] XIE L, LI T, YANG LH. E2F2 induces MCM4, CCNE2 and WHSC1 upregulation in ovarian cancer and predicts poor overall survival [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(9): 2150-2156.

[11] ZHANG Y, HAN D, WEI W, *et al.* MiR-218 inhibited growth and metabolism of human glioblastoma cells by directly targeting e2f2 [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(8): 1165-1173.

[12] YAN Z, ZHANG W, XIONG Y, *et al.* Long noncoding RNA FLVCR1-AS1 aggravates biological behaviors of glioma cells via targeting miR-4731-5p/E2F2 axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(3): 716-720.

(2023-07-18 收稿, 2024-04-04 修回)