doi:10.11659/jjssx.07E022085

·基础研究·

CASC5通过BUB1促进乳腺癌发生发展的分子机制研究

何贵省[1],陈恒余[1],吕小玲[2],宋 韬[1],陈秀秀[1],符广华[1],吴煌福[1],陈运景[3],苏亚静[1],郑武平[1] (1.海南医学院第二附属医院乳甲外科,海南 海口 570100;2.海南医学院第二附属医院耳鼻喉科,海南 海口 570100;3.中国人民解放军联勤保障部队第九二八医院普外科,海南 海口 571199)

[摘 要] **目的** 探究易感性癌症候选基因5(CASC5)对乳腺癌发生发展的作用及其相关机制。**方法** 收集50例乳腺癌患者的肿瘤组织及其癌旁组织,采用qRT-PCR检测CASC5的表达水平,并分析其与患者临床病理特征的关系。通过脂质体转染法将si-CASC5、si-BUB1和si-NC转染至MDA-MB-231和MCF-7细胞,采用qRT-PCR和Western blot检测细胞CASC5、BUB1表达水平,CCK-8检测细胞增殖能力,Transwell检测细胞侵袭能力。利用String数据库分析CASC5相关蛋白,并在MCF7细胞中验证。通过免疫共沉淀检测CASC5与BUB1的结合情况,qRT-PCR验证BUB1在肿瘤组织和癌旁组织中的表达水平,及其与CASC5表达水平的相关性。**结果** 与癌旁组织相比,肿瘤组织中CASC5表达水平升高($P<0.05$),CASC5表达水平与患者TNM分期、淋巴结转移相关($P<0.05$)。与si-NC组相比,si-CASC5组MDA-MB-231和MCF-7细胞中CASC5表达水平降低($P<0.05$),细胞增殖能力及侵袭能力减弱($P<0.05$)。生物信息学预测CASC5可能与BUB1、NSL1、NDC80和MIS12等相互作用。与si-NC组相比,si-CASC5组MDA-MB-231细胞中BUB1表达水平降低($P<0.05$),NSL1、NDC80和MIS12表达水平无统计学差异($P>0.05$)。CASC5免疫沉淀产物中可检测到BUB1蛋白,BUB1免疫沉淀产物中可检测到CASC5蛋白。与si-NC组相比,si-BUB1组MDA-MB-231细胞中BUB1表达水平降低($P<0.05$),细胞增殖能力及侵袭能力减弱($P<0.05$)。与癌旁组织相比,肿瘤组织中BUB1表达水平升高($P<0.05$),CASC5表达水平与BUB1表达水平呈正相关($r=0.481\ 5$)。**结论** CASC5可通过与BUB1相互作用,调控BUB1蛋白表达从而促进乳腺癌发生发展。

[关键词]乳腺癌;易感性癌症候选基因5;BUB1;免疫共沉淀
[中图分类号]R737.9 [文献标识码]A [收稿日期]2022-07-22

Molecular mechanism of CASC5 promoting breast cancer development through BUB1

HE Gui-sheng[1], CHEN Heng-yu[1], LYU Xiao-ling[2], SONG Tao[1], CHEN Xiu-xiu[1], FU Guang-hua[1], WU Huang-fu[1], CHEN Yun-jing[3], SU Ya-jing[1], ZHENG Wu-ping[1] (1. Department of Breast and Thyroid Surgery, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570100, China; 2. Department of Otolaryngology, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570100, China; 3. Department of General Surgery, 928th Hospital of Joint Logistics Support Force of PLA, Haikou Hainan 571199, China)

Abstract: Objective To investigate the role of cancer susceptibility candidate 5 (CASC5) in the development of breast cancer and its related mechanisms. **Methods** Tumor tissues and paracancerous tissues from 50 breast cancer patients were collected, and the expression level of CASC5 was detected by qRT-PCR and its relationship with clinicopathological features was analyzed. si-CASC5, si-BUB1 and si-NC were transfected into MDA-MB-231 and MCF-7 cells by liposome transfection. The expression levels of cellular CASC5 and BUB1 were detected by qRT-PCR and Western blot, the proliferation ability of cells was detected by CCK-8 and the invasion ability of cells was detected by Transwell. CASC5-related proteins were analyzed by the String database and verified in MCF7 cells. Binding of CASC5 to BUB1 was detected by immunoprecipitation. qRT-PCR was used to verify the expression levels of BUB1 in tumor tissues and paracancerous tissues, and its correlation with the expression level of CASC5. **Results** Compared with paracancerous tissues, the expression level of CASC5 in tumor tissues was increased ($P<0.05$), and the expression level of CASC5 was correlated with TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). Compared with si-NC group, the expression level of CASC5 in MDA-MB-231 and MCF-7 cells of si-CASC5 group was decreased ($P<0.05$), the cell proliferation ability and the cell invasion ability were both decreased ($P<0.05$). Bioinformatics predicted that CASC5 may interact with BUB1, NSL1, NDC80 and MIS12. Compared with si-NC group, the expression level of BUB1 in MDA-MB-231 cells of si-CASC5 group was decreased ($P<0.05$), and the expression levels of NSL1, NDC80 and MIS12 were not significantly different ($P>0.05$). BUB1 protein was detected in the immunoprecipitation product of CASC5, and CASC5 protein was detected in the immunoprecipitation product of BUB1. Compared with si-NC group, the expression level of BUB1 in MDA-MB-231 cells of si-BUB1 group was decreased ($P<0.05$), the cell proliferation abil-

[基金项目]国家自然科学基金(82203813);海南省卫生健康委员会基金项目(21A200211);2021年海南省重点研发计划项目(ZDYF2021SHFZ248)
[通信作者]郑武平,E-mail:hnzwp2000@163.com

ity and the cell invasion ability were both decreased(P<0.05). The expression level of BUB1 in tumor tissues was increased compared with that in paracancerous tissues (P<0.05), and the expression level of CASC5 was positively correlated with the expression level of BUB1 (r=0.481 5). **Conclusion** CASC5 can regulate the expression of BUB1 protein by interacting with BUB1 to promote the development of breast cancer.

Keywords: breast cancer; cancer susceptibility candidate 5; BUB1; immunoprecipitation

乳腺癌是目前全球新增病例最多的癌症[1]。在我国女性人群中,乳腺癌的发病率和病死率呈逐年上升的趋势[2]。尽管针对不同的患者采取个性化治疗可以延长生存期,但仍存在较高的复发率和转移率[3]。因此控制乳腺癌的发生与发展,成为了治疗乳腺癌亟待解决的问题。

易感性癌症候选基因5(cancer susceptibility candidate 5,CASC5)最初被认为是一个参与白血病染色体易位的基因,其编码的产物是着丝点微管生成和染色体分离所需多蛋白装配体成分之一,在真核细胞周期中作为纺锤体装配检查点(spindle assembly checkpoint,SAC)蛋白支架发挥作用[4-5]。CASC5广泛表达于成人正常睾丸组织、各种肿瘤细胞系和多种肿瘤组织及胚胎组织[6]。Cui等[7]发现CASC5在16种癌症中异常表达,并且CASC5的表达失调与癌症患者的总生存期密切相关,表明CASC5可能参与了癌症的发生发展,并影响患者的预后。Fu等[8]发现CASC5在乳腺癌中高表达,说明CASC5可能参与了乳腺癌的发展,并且有望成为乳腺癌的生物标志物,但是CASC5影响乳腺癌发展的分子机制尚不清楚。纺锤体检测点蛋白BUB1是纺锤体装配和染色体正确排列所必需的蛋白,其与肿瘤的发生发展相关[9]。本研究利用Kaplanmeier-plotter数据库分析CASC5与乳腺癌的相关性及其与乳腺癌患者预后的关系,通过String数据库分析与CASC5相互作用的蛋白,并进一步研究CASC5在乳腺癌发生发展中的生物学作用及其影响机制,为乳腺癌的预防、早期诊断及治疗提供分子水平理论依据。

1 材料与方法

1.1 临床样本

收集2018年9月至2021年6月在海南医学院第二附属医院接受切除手术的50例乳腺癌患者的肿瘤组织及其癌旁组织(距肿瘤边缘≥5 mm)。TNM分期:Ⅰ~Ⅱ期22例,Ⅲ~Ⅳ期28例。其中淋巴结发生转移的有29例,未转移有21例。手术取材后将样本立即放至冻存管并置于液氮中。所有患者手术前未接受放化疗,均签署对肿瘤组织进行后期研究的知情同意书,本研究经海南医学院第二附属医院医学伦理委员会批准(K20180829138)。

1.2 细胞和主要试剂

MCF-7和MDA-MB-231细胞株购自上海谷研生物科技有限公司;RPMI 1640培养基、10%胎牛血清购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;0.25%胰酶购自武汉普诺赛生命科技有限公司;TRIzol试剂、逆转录试剂盒、qRT-PCR试剂盒、BCA试剂盒购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;si-NC、si-CASC5、si-BUB1由美国Invitrogen公司设计合成;Lipofectamine™2000购自美国Invitrogen公司;BUB1、CASC5、GAPDH抗体及山羊抗兔抗体购自美国Abcam公司;Transwell小室(孔径:8.0 μm)购自美国Corning公司;GAPDH引物、CASC5引物、BUB1引物由上海生工生物工程有限公司合成;CCK-8试剂盒购自美国Med Chem Express公司。

1.3 数据库分析

应用蛋白-蛋白相互作用数据库String(http://stringdb.org/cgi/input.pl)分析CASC5相互作用蛋白网络,探讨其可能的生物学功能。

1.4 细胞培养

MDA-MB-231和MCF-7细胞加入含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基,置于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养。细胞每2 d更换1次新鲜培养基,待细胞密度为80%~90%时,使用胰酶液消化细胞,继续传代或者将细胞接种至新的培养板。

1.5 细胞转染

将MDA-MB-231和MCF-7细胞分别分为si-NC组、si-CASC5组、si-BUB1组。按照Lipofectamine™2000说明书步骤进行转染。调整MCF-7和MDA-MB-231细胞数量为3×10^5个并接种于6孔板,使用不含抗生素的完全培养基培养,待细胞生长至70%时进行转染。制备si-CASC5、si-BUB1与脂质体的复合物,同时制备无干扰作用的si-RNA(si-NC)与脂质体的复合物,将复合物加入6孔板相应si-NC组、si-CASC5组、si-BUB1组的孔内,振荡混匀,5~6 h后将细胞培养基倒掉,PBS洗涤细胞2次,更换为RPMI 1640培养基,24 h后更换培养液。

1.6 qRT-PCR检测mRNA的表达

TRIzol试剂提取各组细胞中的总RNA。使用酶标仪检测总RNA的纯度和含量。按照qRT-PCR试剂盒实验说明,依次进行逆转录和qRT-PCR实验。qRT-PCR反应条件:95 ℃预变性30 s后,95 ℃变性7 s,55 ℃退

火30 s,72 ℃ 15 s,循环40个周期。CASC5的引物序列:正向5′-TAACTCGGCCCTGACAACAC-3′,反向5′-TGGCTCAAGACAGCTTACCTC-3′;BUB1的引物序列:正向5′-TGTCCTTCAATACATACAGTGGGT-3′,反向5′-CATGGGATGTCTCCACCACC-3′;GAPDH的引物序列:正向5′-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3′,反向5′-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3′。扩增结果根据$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算mRNA的相对表达量。

1.7 CASC5表达水平和临床病理特征相关性

根据CASC5肿瘤组织表达水平的中位数,将50例患者分为CASC5低表达组(n=25)和CASC5高表达组(n=25),分别比较2组中<60岁、≥60岁、淋巴结转移、淋巴结未转移、Ⅰ~Ⅱ期、Ⅲ~Ⅳ期患者比例。

1.8 Western blot检测蛋白的表达

提取各组细胞的总蛋白,用BCA测定浓度后,12% SDS-PAGE分离胶进行蛋白分离,转移到PVDF膜上,室温下用5%脱脂牛奶封闭1 h,分别加入BUB1(1∶1 000)、CASC5(1∶1 000)、GAPDH(1∶2 000)的一抗于4 ℃孵育过夜;之后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔(1∶5 000)室温孵育1 h,加入ECL发光液,凝胶成像仪拍照,Image J软件进行分析。

1.9 CCK-8检测细胞增殖能力

分别将si-NC组、si-CASC5组、si-BUB1组MDA-MB-231和MCF-7细胞以1×10^{4}个/孔的密度接种于96孔板。细胞继续培养0 h、24 h、48 h和72 h后,按照CCK-8试剂盒说明书在酶标仪下检测各孔细胞在450 nm波长处的光密度(optical density,OD)值。

1.10 免疫共沉淀检测CASC5与BUB1结合情况

MDA-MB-231细胞经RIPA裂解提取蛋白后,分为正向和反向免疫共沉淀组,各取裂解液分别加入1 μg的CASC5、BUB1和IgG抗体,4 ℃缓慢摇晃孵育过夜;随后加入缓冲液预处理过的10 μL二抗beads,4 ℃缓慢摇晃孵育2~4 h;免疫沉淀反应后,在4 ℃下以12 000 r/min离心30 s,将琼脂糖beads离心至管底;小心吸去上清,琼脂糖beads用1 mL裂解缓冲液洗3~4次;最后加入15~20 μL的1×SDS上样缓冲液,100 ℃煮5 min。上述样品用10%的SDS-PAGE电泳,并进行Western blot分析。

1.11 Transwell实验检测细胞侵袭能力

取50 μL基质胶铺于8 μm Transwell小室内,于37 ℃培养箱静置1 h。取各组细胞,胰酶消化后离心,然后用无血清RPMI 1640培养基重悬细胞并计数,调整细胞至2×10^4/mL,接种于Transwell小室上室,每孔200 μL。下室加入500 μL含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基,培养24 h。取出Transwell小室,用4%多聚甲醛固定15 min,0.1%结晶紫染色20 min,PBS清洗后在倒置显微镜下随机选取10个视野的细胞进行计数。

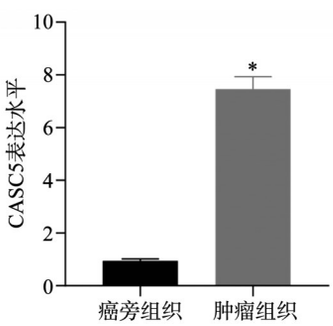
1.12 统计学分析

采用SPSS 19.0和GraphPad Prism 8.0软件对相关数据进行统计学分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析,采用*Spearman*相关性分析肿瘤组织中CASC5表达水平和BUB1表达水平的关系。P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌患者CASC5表达水平及其与临床病理特征的关系

qRT-PCR结果显示,与癌旁组织相比,肿瘤组织中CASC5表达水平显著升高(P<0.05),见图1。CASC5肿瘤组织表达水平的中位数为4.13,据此将50例患者分为CASC5低表达组(n=25)和CASC5高表达组(n=25),并分析患者CASC5表达水平与临床病理特征的关系。结果显示,CASC5表达水平与乳腺癌患者淋巴结转移、TNM分期相关(P<0.05),与年龄无关(P>0.05),见表1。



*:与癌旁组织比较,P<0.05

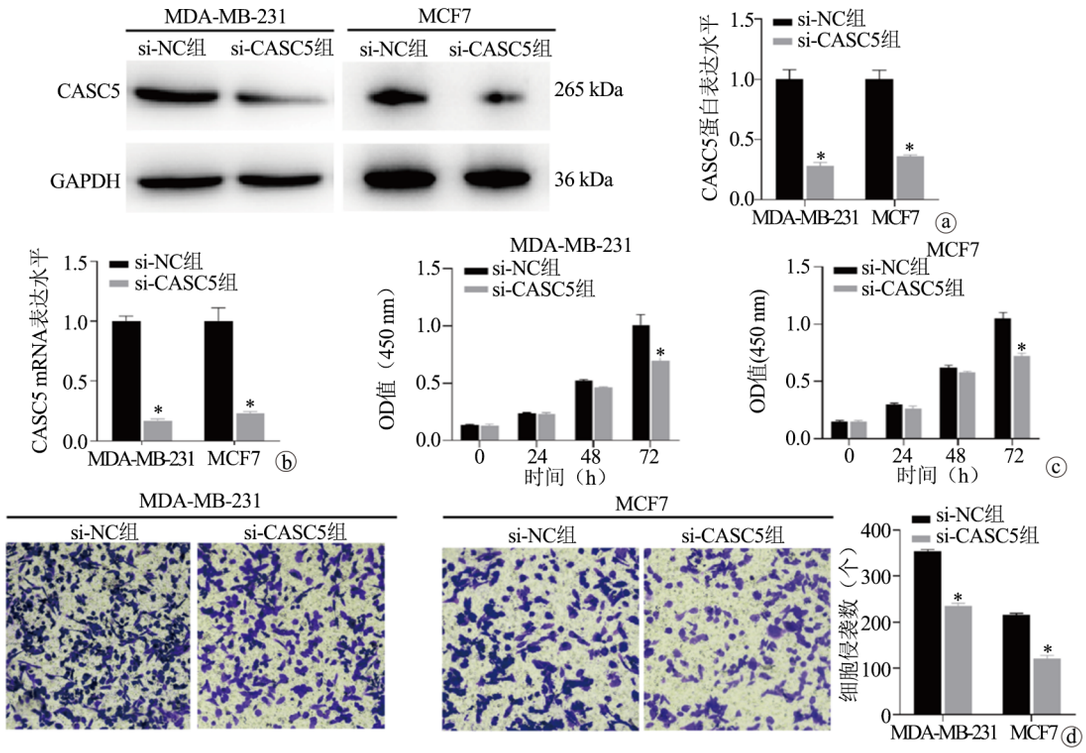
图1 乳腺癌患者CASC5表达水平

表1 CASC5表达水平与临床病理特征的关系(n=25,例)

临床特征		高表达组	低表达组	t	P
年龄	<60岁	18	16	0.843	0.536
	≥60岁	7	9	0.726	
淋巴结是否转移	是	19	10	7.164	0.012
	否	6	15	9.456	
TNM分期	Ⅰ~Ⅱ期	8	14	7.048	0.018
	Ⅲ~Ⅳ期	17	11	6.263	

2.2 沉默CASC5对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响

在MDA-MB-231和MCF7细胞中,Western blot和qRT-PCR结果显示,与si-NC组相比,si-CASC5组的CASC5蛋白和mRNA表达水平降低(P<0.05),见图2a、b。CCK-8结果显示,与si-NC组相比,si-CASC5组在72 h时细胞增殖能力显著降低(P<0.05),见图2c。Transwell结果显示,与si-NC组相比,si-CASC5组细胞侵袭能力减弱(P<0.05),见图2d。

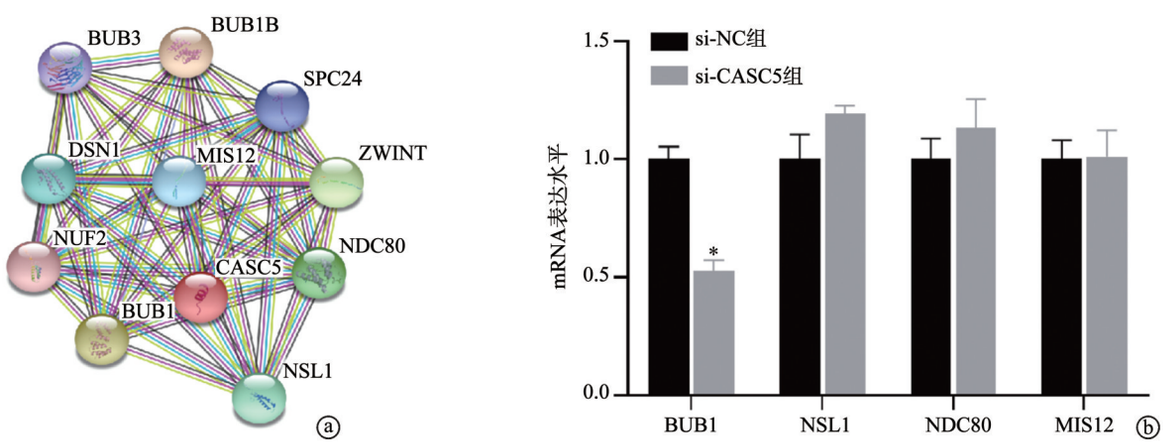


a:Western blot检测CASC5蛋白表达水平;b:qRT-PCR检测CASC5 mRNA表达水平;c:CCK-8检测细胞增殖水平;d:Transwell检测细胞侵袭水平(×200) *:与si-NC组比较,$P<0.05$

图2 沉默CASC5对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响

2.3 生物信息学预测与CASC5相关的蛋白

String数据库分析结果显示,CASC5蛋白可能与BUB1、NSL1、NDC80和MIS12等相互作用,见图3a。qRT-PCR结果显示,与si-NC组相比,si-CASC5组细胞中BUB1表达水平降低($P<0.05$);NSL1、NDC80和MIS12表达水平无统计学差异($P>0.05$),见图3b。



a:String数据库分析与CASC5相关的蛋白;b:qRT-PCR检测BUB1、NSL1、NDC80和MIS12表达水平 *:与si-NC组比较,$P<0.05$

图3 生物信息学预测与CASC5相关的蛋白

2.4 免疫共沉淀检测CASC5与BUB1的结合情况

免疫共沉淀结果显示,在MDA-MB-231细胞中,CASC5免疫沉淀产物中可检测到BUB1蛋白,BUB1免疫沉淀产物中可检测到CASC5蛋白,而IgG免疫沉淀产物中均不能检测到CASC5及BUB1,见图4。

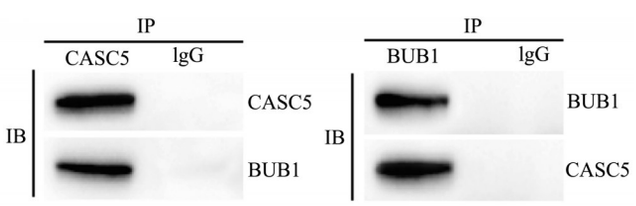


图4 免疫共沉淀检测CASC5与BUB1的结合情况

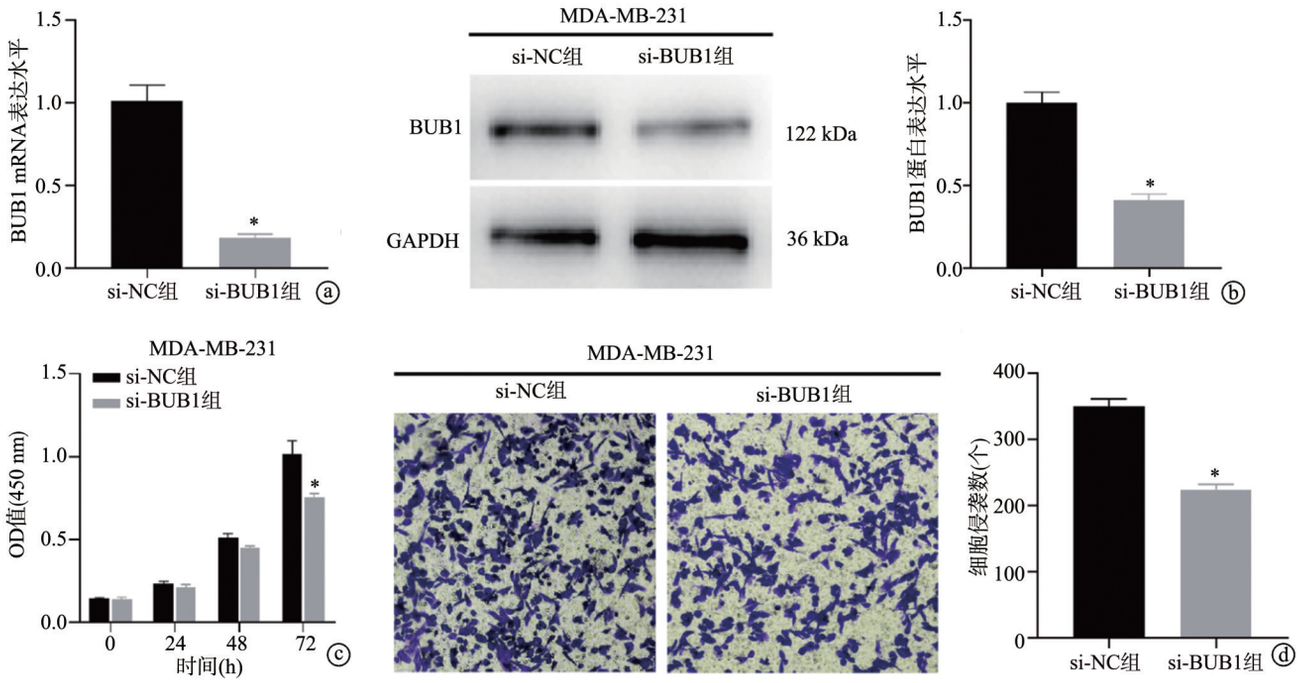
2.5 沉默BUB1对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响

qRT-PCR和Western blot结果显示,与si-NC组相

比,si-BUB1组细胞BUB1的mRNA和蛋白表达水平降低(P<0.05),见图5a、b。CCK-8结果显示,与si-NC组相比,si-BUB1组在72 h时细胞增殖能力显著减弱(P<0.05),见图5c。Transwell结果显示,与si-NC组相比,si-BUB1组细胞侵袭能力减弱(P<0.05),见图5d。

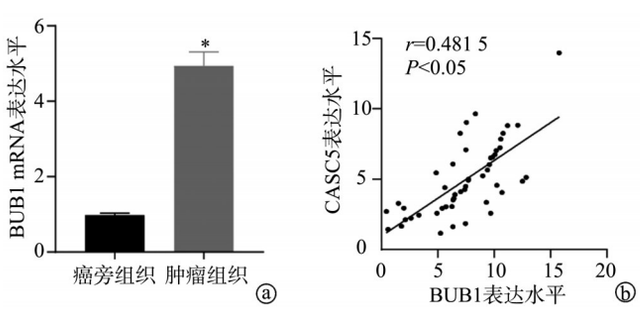
2.6 乳腺癌患者CASC5和BUB1表达水平的相关性

qRT-PCR结果显示,与癌旁组织相比,肿瘤组织中BUB1表达水平显著升高(P<0.05),见图6a。*Spearman*相关性分析结果显示,肿瘤组织中CASC5表达水平和BUB1表达水平呈正相关(r=0.481 5),见图6b。



a:qRT-PCR检测BUB1 mRNA表达水平;b:Western blot检测BUB1蛋白表达水平;c:CCK-8检测细胞增殖水平;d:Transwell检测细胞侵袭水平(×200) *:与si-NC组比较,P<0.05

图5 沉默BUB1对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响



a:qRT-PCR检测BUB1 mRNA表达水平;b:*Spearman*分析CASC5表达水平与BUB1表达水平的相关性 *:与癌旁组织比较,P<0.05

图6 乳腺癌患者BUB1表达水平及其与CASC5表达水平的相关性

3 讨论

乳腺癌是全球女性癌症死亡相关的主要原因之一。目前乳腺癌的治疗是以手术治疗为主再辅以放疗、化疗、内分泌治疗、靶向治疗等的综合治疗,但乳腺癌患者的存活率因分期不同仍有很大差异[10]。

CASC5对于细胞的生长和分裂过程至关重要,其至少可与5种不同的着丝点和2种检查点激酶相互作用[11]。姐妹染色单体的正确分离对于细胞有丝分裂周期至关重要,CASC5蛋白是确保染色体的着丝粒与纺锤体微管正确结合的关键因子,在一些疾病中,表达CASC5蛋白的基因可能参与染色体易位或基因突变体的产生[12]。另外有研究表明,CASC5在原代胶质瘤细胞系中高表达,可能与多形性胶质母细胞瘤的不良预后相关[13]。Singh等[5]发现在睾丸癌组织中存在CASC5的过表达,表明CASC5与睾丸癌之间存在相关性,通过RNA干扰技术抑制CASC5表达,不仅可以诱导癌细胞周期停滞,还可以诱导癌细胞凋亡[14]。本研究发现,乳腺癌患者肿瘤组织中CASC5表达水平显著升高,并且与患者淋巴结转移和TNM分期相关,表明CASC5参与了乳腺癌的发展并且可能影响患者的预后;当沉默CASC5后,MCF7和MDA-MB-231细胞的增殖和侵袭能力均降低,表明CASC5可能通过增加肿瘤细胞的增殖与侵袭能力促进乳腺癌的发展。

SAC是一种有丝分裂的监控机制。当基因组的完整性受损时,有丝分裂过程中的姐妹染色单体错误分

离会出现基因非整倍体,从而导致癌症的发生[15]。其中BUB基因家族具有重要的功能,BUB1是SAC信号传导和染色体正确排列所必需的[16]。BUB1在有丝分裂过程中磷酸化BUB3,当SAC被激活时,BUB1-BUB3复合物可通过抑制晚期APC/C活性并监测着丝粒蛋白活动,确保染色体正确分离来延缓疾病的发生[17]。有报道称许多癌症中存在BUB1基因失衡。如BUB1的过表达可以通过激活SMAD2的磷酸化促进肝癌细胞的增殖[18],还可以通过激活雷帕霉素复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1,mTORC1)信号通路的机制靶点来促进肝癌进展[19]。据美国国家癌症研究所称,BUB1的过表达会加速前列腺癌的生长,并与患者的不良预后相关[20]。此外,BUB1在肿瘤组织中的过表达与胰腺癌的预后不良也有关,并且与肿瘤分期晚和肿瘤发展有关[21]。研究表明,CASC5是BUB1蛋白的受体,CASC5包含多个BUB1蛋白结合位点[22]。本研究发现,乳腺癌患者肿瘤组织中CASC5与BUB1的表达呈正相关,进行String数据库分析与免疫共沉淀实验发现,CASC5可能通过结合BUB1发挥其生物学功能,沉默BUB1可抑制乳腺癌细胞的增殖与侵袭,这提示在乳腺癌中BUB1可能通过与CASC5相互作用,从而促进乳腺癌细胞增殖和侵袭。

目前国内外开展CASC5在乳腺癌领域的研究极少,CASC5在肿瘤发生发展中的作用机制也少有报道。BUB1能够磷酸化CASC5从而介导错误的纺锤体组装信号的传导,影响细胞周期和细胞增殖[23]。我们推测,BUB1通过结合并磷酸化CASC5,干扰细胞中纺锤体正确组装的信号传导,从而引发错误的有丝分裂过程,该作用机制可能是导致乳腺癌发生和发展的诱因,但仍需进一步研究来证实。

综上所述,CASC5与BUB1在乳腺癌组织中的表达高于癌旁组织,并且呈正相关性,CASC5通过与BUB1相互结合促进乳腺癌的发展。以上结果初步明确了CASC5在乳腺癌发生发展中的作用,CASC5有望成为乳腺癌的生物标志物,为进一步探讨乳腺癌的发展机制及治疗提供了新的思路。

[参考文献]

[1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: an overview[J]. Int J Cancer, 2021, 149: 778-789. doi: 10.1002/ijc.33588.

[2] Zheng Y, Jiang X, Wang M, et al. BMPR1B polymorphisms (rs1434536 and rs1970801) are associated with breast cancer susceptibility in Northwest Chinese Han females: a case-control study[J]. Clin Breast Cancer, 2022, 22(5): e641-e646. doi: 10.1016/j.clbc.2022.02.011.

[3] Mubarik S, Yu Y, Wang F, et al. Epidemiological and sociodemographic transitions of female breast cancer incidence, death, case fatality and DALYs in 21 world regions and globally, from 1990 to 2017: an age-period-cohort analysis[J]. J Adv Res, 2021, 37: 185-196. doi: 10.1016/j.jare.2021.07.012.

[4] Yue W, Wang Y, Meng TG, et al. Kinetochore scaffold 1 regulates SAC function during mouse oocyte meiotic maturation[J]. FASEB J, 2022, 36(3): e22210. doi: 10.1096/fj.202101586RR.

[5] Singh PK, Bhatt MLB, Singh P, et al. CASC5 is a potential cancer-testis gene in human urinary bladder transitional cell carcinoma[J]. Drug Discov Ther, 2021, 15(6): 331-336. doi: 10.5582/ddt.2021.

[6] Shi Y, Gao S, Zheng Y, et al. LncRNA CASC15 functions as an unfavorable predictor of ovarian cancer prognosis and inhibits tumor progression through regulation of miR-221/ARID1A axis[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 8725-8736. doi: 10.2147/OTT.S219900.

[7] Cui Y, Zhang C, Ma S, et al. CASC5 is a potential tumor driving gene in lung adenocarcinoma[J]. Cell Biochem Funct, 2020, 38(6): 733-742. doi: 10.1002/cbf.3540.

[8] Fu Y, Zhou QZ, Zhang XL, et al. Identification of hub genes using co-expression network analysis in breast cancer as a tool to predict different stages[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 8873-8890. doi: 10.12659/MSM.919046.

[9] Yu H, Zhang S, Ibrahim AN, et al. Retraction notice to "Serine/threonine kinase BUB1 promotes proliferation and radio-resistance in glioblastoma"[J]. Pathol Res Pract, 2022, 233: 153889. doi: 10.1016/j.prp.2022.153889.

[10] Shagisultanova E, Gao D, Callihan E, et al. Overall survival is the lowest among young women with postpartum breast cancer[J]. Eur J Cancer, 2022, 168: 119-127. doi: 10.1016/j.ejca.2022.03.014.

[11] Takimoto M. D40/KNL1/CASC5 and autosomal recessive primary microcephaly[J]. Congenit Anom (Kyoto), 2017, 57(6): 191-196. doi: 10.1111/cga.12252.

[12] Saadi A, Verny F, Siquier-Pernet K, et al. Refining the phenotype associated with CASC5 mutation[J]. Neurogenetics, 2016, 17(1): 71-78. doi: 10.1007/s10048-015-0468-7.

[13] Akiyama Y, Komiyama M, Miyata H, et al. Novel cancer-testis antigen expression on glioma cell lines derived from high-grade glioma patients[J]. Oncol Rep, 2014, 31(4): 1683-1690. doi: 10.3892/or.2014.3049.

[14] Urata YN, Takeshita F, Tanaka H, et al. Targeted knockdown of the kinetochore protein D40/Knl-1 inhibits human cancer in a p53 status-independent manner[J]. Sci Rep, 2015, 5: 13676. doi: 10.1038/srep13676.

[15] Koyuncu D, Sharma U, Goka ET, et al. Spindle assembly checkpoint gene BUB1B is essential in breast cancer cell survival[J]. Breast Cancer Res Treat, 2021, 185(2): 331-341. doi: 10.1007/s10549-020-05962-2.

[16] Sun SC, Kim NH. Spindle assembly checkpoint and its regulators in meiosis[J]. Hum Reprod Update, 2012, 18(1): 60-72. doi: 10.1093/humupd/dmr044.

[17] Elahi E, Suraweera N, Volikos E, et al. Five quantitative trait loci control radiation-induced adenoma multiplicity in Mom1R Apc Min/+ mice[J]. PLoS One, 2009, 4(2): e4388. doi: 10.1371/journal.pone.0004388.

[18] Zhu LJ, Pan Y, Chen XY, et al. BUB1 promotes proliferation of liver cancer cells by activating SMAD2 phosphorylation[J]. Oncol Lett, 2020, 19(5): 3506-3512. doi: 10.3892/ol.2020.11445.