

横纹肌肉瘤中融合基因阳性和阴性细胞功能学 及差异 miRNA 生物信息学分析

王晓萌¹ 李真真^{1*} 孟 莲¹ 张海俊¹ 党鸿蔚¹ 李 锋² 刘春霞¹

摘要 目的 比较横纹肌肉瘤(RMS)融合基因阳性和阴性细胞的生物学行为,结合生物信息学分析差异 miRNA,并在 RMS 细胞中验证筛选差异 miRNA 的表达。方法 分别利用 CCK-8、Transwell、流式细胞术检测 RMS 中融合基因阳性 RH30 细胞和融合基因阴性 RD 及 PLA-802 细胞的增殖、侵袭、迁移和凋亡能力;利用 GEO2R 分析融合基因阳性和阴性细胞的差异 miRNA;利用 Sangerbox 绘制差异 miRNA 火山图,运用 qRT-PCR 验证筛选的差异 miRNA。结果 RD 细胞的增殖能力高于 RH30 细胞和 PLA-802 细胞($P < 0.05$)。RH30 细胞的侵袭、迁移和抗凋亡能力高于 PLA-802 细胞和 RD 细胞($P < 0.05$)。火山图结果显示上调 miRNA(红色)多于下调 miRNA(绿色)($P < 0.05$)。根据 $|\log_2 FC| > 3$, $P < 0.05$ 筛选得到 12 个差异 miRNA(上调 miRNA: miR-1、let-7d-5p 和 let-7b-5p,下调 miRNA: miR-196a-5p、miR-455-3p、miR-21-5p、miR-193a-3p、miR-29b-3p、miR-29a-3p、miR-100-5p、miR-222-3p 和 miR-221-3p),qRT-PCR 检测 12 个差异 miRNA 的表达,其结果与生物信息学分析结果一致。结论 RMS 融合基因阳性细胞的侵袭、迁移、抗凋亡能力高于融合基因阴性细胞,融合基因阳性与阴性组间差异 miRNA 为 RMS 研究提供新的方向。

关键词 横纹肌肉瘤;侵袭;迁移;凋亡;miRNA;生物信息学中图分类号 R 738.6

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2020)12 - 1828 - 05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.12.003

横纹肌肉瘤(rhabdomyosarcoma, RMS)好发于儿童及青少年^[1],常见亚型为胚胎性横纹肌肉瘤(embryonal RMS, ERMS)、腺泡型横纹肌肉瘤(alveolar RMS, ARMS),ERMS 发病率约 60%,ARMS 发病率约 20%;由于 ARMS 中存在 PAX3/PAX7-FOXO1

融合基因,其恶性程度高,致死率更高^[2]。已在成肌细胞模型中发现 PAX3-FOXO1 的表达可以促进 RMS 的发展^[3]。因此,全面探索融合基因在 RMS 细胞中发挥的作用就显得尤为重要。

miRNA 作为一种非编码 RNA,对癌症的抑制或表达发挥重要作用。miR-27a 等不同 miRNA 可以促进 RMS 侵袭、迁移等生物学行为^[4],但尚未见在 RMS 细胞中比较融合基因阳性和阴性的生物学行为的研究,融合基因和 miRNA 的相关研究较少。因此,该文将比较 RMS 细胞融合基因阳性和阴性的生物学行为并结合生物信息学分析差异 miRNA,为后续基因及信号通路的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞系和细胞培养 人 RD 和 PLA-802 细胞系购自中国科学院细胞库;RH30 细胞系购自上海复翔生物技术有限公司;PLA-802、RH30 和 RD 细胞的培养基为含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基(美国赛默飞公司)在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.2 主要试剂 Cell Counting Kit-8 购自上海东仁化学技术有限公司;Total RNA Kit、miScript II RT Kit、miScript SYBR Green PCR Kit 均购自德国 QIAGEN 公司;Ultra SYBR Mixture(Low ROX)购自北京康为世纪公司;TIAN Script RT Kit 购自北京天根生物科技有限公司;Transwell 小室购自美国 Corning Coster 公司;Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物有限公司;miRNA 引物购自上海生工生物工程有限公司。

1.3 方法

1.3.1 CCK-8 试验 在 96 孔板中(3×10^3 个/孔)接种 RMS 细胞,分别在 0、24、48 和 72 h,向 RMS 细胞中加入 CCK-8 试剂(10 μ l/孔),并在 37 °C、5% CO₂ 的潮湿培养箱中孵育 2 h。避光使用 Biotek 酶标仪(美国 Bio-Rad)记录 450 nm 的吸光度(optical density, OD)值。

1.3.2 Transwell 试验 收集 RMS 细胞(200 μ l, 25 000 个/孔)。侵袭试验需提前 2 h 在小室内加入

2020 - 07 - 20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81660441、81960485)

作者单位:¹石河子大学医学院病理学系,石河子 832002

²首都医科大学附属北京朝阳医院病理科,北京 100020

作者简介:王晓萌,女,硕士研究生;

刘春霞,女,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: liuliu2239@sina.com;

李 锋,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: lifeng7855@126.com

* 对本文具有同等贡献

基质胶,随后更换 DMEM 培养基水化 30 min,无血清培养基重悬 RMS 细胞后置于小室内,将小室置于 20% FBS 的 600 μ l DMEM 培养基的 24 孔板中孵育 2 d,小室用 4% 多聚甲醛固定 20 min 后晾干,用 0.1% 结晶紫染色 15 min 后用棉球轻轻擦拭上层,在显微镜下拍照记录。迁移试验则无需铺基质胶,在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 24 h 后,后续实验步骤同迁移试验。利用 Image J 软件计数和 SPSS 统计分析。

1.3.3 流式细胞术 将细胞铺到 6 孔板 (1×10^4 个/孔) 中 2 d 后,消化收集 RMS 细胞,用预冷 PBS 洗涤 2 次,以 1×10^6 个/ml 的浓度重悬于 500 μ l Binding Buffer 中。向 RMS 细胞悬液中加入 Annexin VAPC/PI 双染试剂各 5 μ l。双染后 1 h 之内利用流式细胞仪检测凋亡细胞的百分比,并记录凋亡率。

1.3.4 差异 miRNA 分析 利用 GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 数据库中 GSE97553 数据集,包含患者的 PAX3-FOXO1 融合基因阴性细胞 (3 株: RD、RH2、RH18) 和 PAX3-FOXO1 融合基因阳性细胞 (5 株: RH3、RH4、RH30、RH28、RH41) 的 miRNA 芯片表达谱,运用在线软件 GEO2R 分析融合基因阳性和阴性细胞的差异 miRNA, SangerBox 分析差异 miRNA 绘制火山图, $|\log_2 FC| > 3$, $P < 0.05$, 设定筛选差异 miRNA 为有意义的阈值。

1.3.5 qRT-PCR 检测筛选 miRNA RMS 细胞铺到 12 孔板培养 2 d 后消化离心,弃上清液,加入 700 μ l

QIAzol 裂解试剂混匀静置 5 min,加入 140 μ l 三氯甲烷混匀,室温静置 15 min 后离心,吸上清液加入 1.5 倍体积的无水乙醇混匀后,吸 700 μ l 液体加入柱子上离心 10 000 r/min, 15 s, 4 $^{\circ}$ C。利用 Total RNA Kit 试剂盒提取总 RNA,将提取 miRNA 测浓度后,试剂盒 miScript II RT Kit 进行逆转录,联合 SYBR Green PCR Kit 试剂盒上样后利用 7500 实时 PCR 进行检测,统计分析结果。

1.4 统计学处理 使用 GraphPad Prism 7.0 和 SPSS 22 分析统计数据。实验均独立重复 3 次,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验和 F 检验分别评估两组及多组间的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 融合基因阳性 RH30 细胞的迁移、侵袭能力最强 RMS 细胞培养 24 h 后,统计 RH30 细胞、RD 细胞和 PLA-802 细胞的穿孔数量,结果显示 RH30 细胞的迁移能力高于 RD 细胞和 PLA-802 细胞 ($F = 226.514$, P 均 = 0.000)。RMS 细胞培养 48 h 后,统计 RH30 细胞和 RD 细胞、PLA-802 细胞的穿孔数量,结果显示 RH30 细胞的侵袭能力高于 RD 细胞和 PLA-802 细胞 ($F = 90.917$, P 均 = 0.000)。见图 1。

2.2 融合基因阴性 RD 细胞的增殖能力最强 分析 3 株 RMS 细胞在 0、24、48 和 72 h 的 OD 值,并绘制 OD 曲线。0 h 时 RD、RH30 和 PLA-802 细胞的

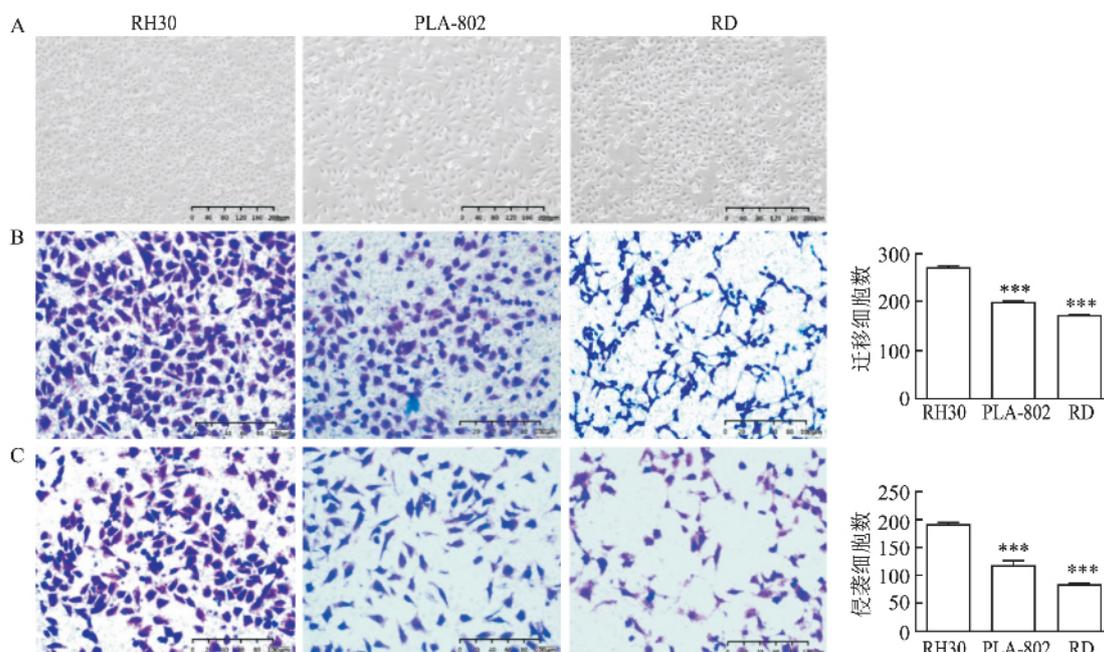


图1 3株 RMS 细胞系的迁移和侵袭能力

A: 低倍镜下观察 3 种细胞系的形态 $\times 100$; B: 3 株 RMS 细胞在迁移实验中穿孔的细胞数量 $\times 200$; C: 3 株 RMS 细胞在侵袭实验中穿孔的细胞数量 $\times 200$; 与 RH30 细胞比较: *** $P < 0.001$

OD 值曲线结果显示各组之间无差异 ($F = 0.293$, $P > 0.05$)。在 24、48、72 h 时, RD 细胞的增殖能力高于 RH30 和 PLA-802 细胞的增殖能力 ($F = 29.16$, $P_{RH30} = 0.004$, $P_{PLA-802} = 0.000$; $F = 109.726$, $P_{RH30} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.000$; $F = 56.646$, $P_{RH30} = 0.001$, $P_{PLA-802} = 0.000$) ($P < 0.05$)。此外, RH30 细胞的增殖能力高于 PLA-802 细胞的增殖能力。所有结果差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

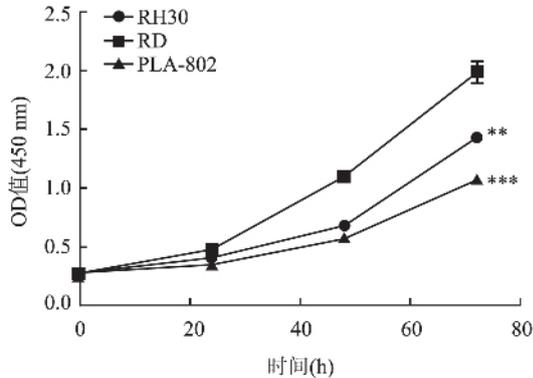


图 2 3 株细胞系的细胞增殖能力
与 RD 细胞比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.3 融合基因阳性 RH30 细胞的抗凋亡能力最强

在 RMS 细胞中加入 Annexin V - APC / PI 试剂后检测其凋亡能力, 结果显示 RH30 细胞的凋亡率低于 RD 细胞和 PLA-802 细胞 ($F = 7.415$, $P_{RD} = 0.015$, $P_{PLA-802} = 0.016$)。PLA-802 细胞与 RD 细胞之间的凋亡率差异无统计学意义 ($t = -0.040$, $P = 0.97$)。3 株 RMS 细胞中, RH30 的抗凋亡能力高于 RD 和 PLA-802。见图 3。

2.4 筛选差异 miRNA GEO2R 分析 RMS 中融合

基因阳性细胞和融合基因阴性细胞中差异 miRNA, 利用 sangerbox 中火山图分析差异 miRNA 红色代表上调 miRNA, 绿色代表下调 miRNA (图 4)。根据 $|\log_2 FC| > 3$, $P < 0.05$ 筛选得到 12 个差异 miRNA,

其中上调 miRNA 有 3 个, 分别为 miR-1、let-7d-5p 和 let-7b-5p, 下调 miRNA 有 9 个, 分别为 miR-196a-5p、miR-455-3p、miR-21-5p、miR-193a-3p、miR-29b-3p、miR-29a-3p、miR-100-5p、miR-222-3p 和 miR-221-3p (表 1)。

表 1 筛选差异 miRNA

miRNA 表达	miRNA_ID	P 值	logFC
上调 miRNA	hsa-miR-1	3.08E-03	4.79
	hsa-let-7d-5p	4.31E-04	3.27
	hsa-let-7b-5p	9.24E-03	3.08
下调 miRNA	hsa-miR-196a-5p	1.32E-03	-3.02
	hsa-miR-455-3p	2.62E-02	-3.08
	hsa-miR-21-5p	1.06E-03	-3.25
	hsa-miR-193a-3p	2.85E-05	-3.45
	hsa-miR-29b-3p	8.89E-05	-3.51
	hsa-miR-29a-3p	1.55E-03	-4.43
	hsa-miR-100-5p	4.89E-05	-4.78
	hsa-miR-222-3p	6.06E-06	-5.30
	hsa-miR-221-3p	9.38E-05	-5.67

2.5 qRT-PCR 验证差异 miRNA 在 RH30 细胞、

PLA-802 细胞、RD 细胞中利用 qRT-PCR 检测筛选出的 12 个差异 miRNA, 结果显示 miR-1 ($F = 28.908$, $P_{RD} = 0.001$, $P_{PLA-802} = 0.000$), let-7d-5p ($F = 187.469$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.000$) 和 let-7b-5p ($F = 2920.115$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.000$) 在融合基因阳性 RH30 细胞中表达高于融合基因阴性 PLA-802 细胞和 RD 细胞 (图 5); miR-196a-5p ($F = 98.196$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.001$), miR-455-3p ($F = 8.773$, $P_{RD} = 0.006$, $P_{PLA-802} = 0.040$), miR-21-5p ($F = 187.469$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.000$), miR-193a-3p ($F = 87.856$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.002$), miR-29b-3p ($F = 16.142$, $P_{RD} = 0.001$, $P_{PLA-802} = 0.044$), miR-29a-3p ($F = 16.573$, $P_{RD} = 0.006$, $P_{PLA-802} = 0.002$), miR-100-5p ($F = 13.040$, $P_{RD} = 0.002$, $P_{PLA-802} = 0.038$), miR-222-3p ($F = 53.234$,

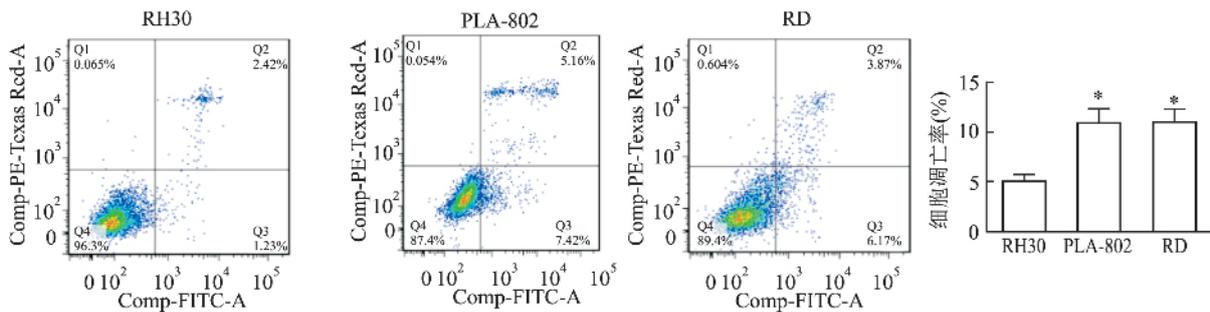


图 3 3 株细胞系的抗凋亡能力
与 RH30 细胞比较: * $P < 0.05$

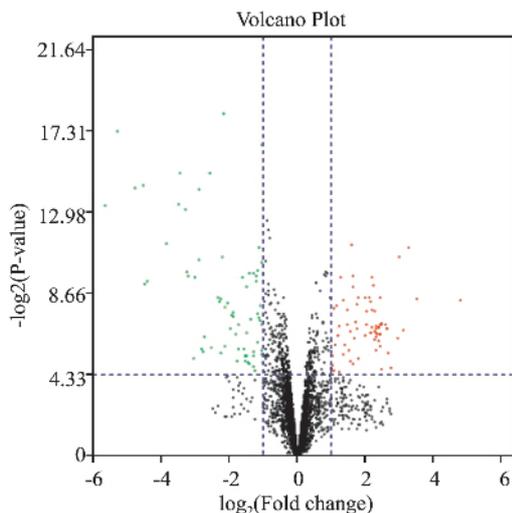


图4 火山图分析差异 miRNA

红色: 上调 miRNA; 绿色: 下调 miRNA; 黑色: 无统计学意义

$P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.003$) 和 miR-221-3p ($F = 48.550$, $P_{RD} = 0.000$, $P_{PLA-802} = 0.003$) 在融合基因阴性 RD 细胞和 PLA-802 细胞中表达高于融合基因阳性 RH30 细胞(图5)。上述结果与生物信息学分析结果一致。

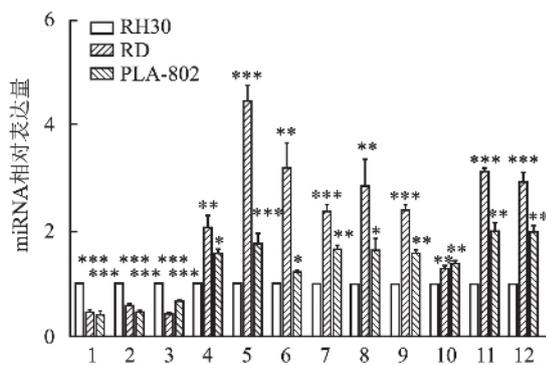


图5 qRT-PCR 分析筛选差异 miRNA 的 mRNA 表达

1: miR-4; 2: let-7d-5p; 3: let-7b-5p; 4: miR-100-5p; 5: miR-21-5p; 6: miR-29b-3p; 7: miR-222-3p; 8: miR-455-3p; 9: miR-193-3p; 10: miR-29a-3p; 11: miR-196-5p; 12: miR-221-3p; 与 RH30 细胞比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

3 讨论

ARMS 中 75% ~ 80% 存在 $t(2; 13)(q36; q14)$ / PAX3-FOXO1 或 $t(1; 13)(p36; q14)$ / PAX7-FOXO1 易位, 对 RMS 的发生发展起重要作用^[5]。Williamson et al^[6] 在 210 位 RMS 患者中运用 Kaplan - Meier 分析无病生存率和总体生存率, 结果显示融合基因阳性 RMS 患者的转移比例高于融合基因阴性的 RMS 患者, 融合基因阳性患者比融合基因阴性患者预后差。本文在 RMS 细胞学水平证实, 融合基因阳性 RH30

细胞的侵袭、迁移和抗凋亡能力高于融合基因阴性 PLA-802 细胞和 RD 细胞, 而 CCK-8 检测结果显示 RD 的增殖能力高于 RH30 和 PLA-802 融合基因可能对 RMS 细胞的侵袭、迁移及抗凋亡能力起主要作用, 对 RMS 细胞的增殖能力影响较小, 可做进一步研究, 为 RMS 的分子信号通路研究提供参考。

miRNA 不仅参与正常的细胞生物进程, 在肿瘤中同样发挥重要的作用。在乳腺癌细胞中过表达 miRNA-144 抑制 CEP55 的表达, 抑制乳腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移^[7]。在 RMS 中, 融合基因不仅影响肿瘤细胞的生物学功能, 对 miRNA 同样发挥重要作用, 过表达 PAX3-FOXO1 激活促进 miR-486-5p 的表达, 进而促进 ARMS 的发展^[8]。

本研究利用生物信息学分析 miRNA 芯片表达谱筛选 RMS 融合基因阳性和阴性的差异 miRNA 并利用 qRT-PCR 证实 miR-196a-5p、miR-455-3p、miR-193a-3p、miR-100-5p、miR-222-3p 和 miR-221-3p 等在 RMS 融合基因阳性中的表达低于融合基因阴性的 RMS, 在 RMS 融合基因阳性中可能发挥抑制作用。

Zhan et al^[9] 发现在胰腺癌中 miR-455-3p 表达降低, PDZ 结合基序(TAZ) 为 Hippo 途径的关键因子, 过表达 miR-455-3p 靶向抑制 TAZ 表达抑制胰腺癌细胞的增殖。Mohamed et al^[10] 研究表明在 RMS 中 TAZ 促进 RD(ERMS) 细胞的增殖及成肌细胞转化。Lu et al^[11] 发现在耐西妥昔单抗的大肠癌中 miR-100 过表达, lncRNA MIR100HG 可以驱动 miR-100 和 miR-125b 协调抑制 Wnt 信号通路的负调控因子, 增强 Wnt 信号表达导致耐药, 不利于肿瘤的治疗。Singh et al^[12] 在 p53 和 c-fos 双突变表达降低的小鼠模型体内发现, 与正常成肌细胞相比, ERMS 中的 Wnt 信号通路被下调。Xu et al^[13] 研究表明 miR-196a-5p 是唯一连接 LOC134466 和 TAC1 的 miRNA, 过表达 LOC134466 可抑制 miR-196a-5p, 促进 TAC1 的表达, 抑制子宫内膜癌细胞的增殖。Wang et al^[14] 在肝癌中利用生物信息学分析及实验证实 miR-221-3p/miR-222-3p 高表达, 其预测靶基因 CFBF、UBE2N 在肝癌预后预测表现良好, 可能是肝癌预后的指标。本研究 miR-221-3p/miR-222-3p 等 miRNA 在 RMS 融合基因阴性的表达高于融合基因阳性, 上述研究为 RMS 中研究差异 miRNA 提供参考, 可利用 miRNA 做进一步研究。

综上, 融合基因阳性的 RMS 细胞侵袭、迁移和抗凋亡能力高于融合基因阴性 RMS 细胞, 融合基因对差异 miRNA 的表达可能起重要作用, 这为深入研究融合基因在 RMS 的分子作用机制及靶向药物的

研究奠定基础。

参考文献

- [1] Jo V Y , Fletcher C D . WHO classification of soft tissue tumours: an update based on the 2013 (4th) edition [J]. *Pathology* , 2014 , 46(2) : 95 – 104 .
- [2] La Starza R , Nofrini V , Pierini T , et al . Molecular cytogenetics detect an unbalanced t(2; 13) (q36; q14) and PAX3-FOXO1 fusion in rhabdomyosarcoma with mixed embryonal/alveolar features [J]. *Pediatr Blood Cancer* , 2015 , 62(12) : 2238 – 41 .
- [3] Pandey P R , Chatterjee B , Olanich M E , et al . PAX3-FOXO1 is essential for tumour initiation and maintenance but not recurrence in a human myoblast model of rhabdomyosarcoma [J]. *J Pathol* , 2017 241(5) : 626 – 37 .
- [4] Tombolan L , Zampini M , Casara S , et al . MicroRNA-27a contributes to rhabdomyosarcoma cell proliferation by suppressing RARA and RXRA [J]. *PLoS One* , 2015 , 10(4) : e0125171 .
- [5] Olanich M E , Barr F G . A call to ARMS: targeting the PAX3-FOXO1 gene in alveolar rhabdomyosarcoma [J]. *Expert Opin Ther Targets* , 2013 , 17(5) : 607 – 23 .
- [6] Williamson D , Missiaglia E , De R A , et al . Fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal rhabdomyosarcoma [J]. *J Clin Oncol* , 2010 , 28(13) : 2151 – 8 .
- [7] Yin Y , Cai J , Meng F , et al . MiR-144 suppresses proliferation , invasion , and migration of breast cancer cells through inhibiting CEP55 [J]. *Cancer Biol Ther* , 2018 , 19(4) : 306 – 15 .
- [8] Hanna J A , Garcia M R , Lardinois A , et al . PAX3-FOXO1 drives miR-486-5p and represses miR-221 contributing to pathogenesis of alveolar rhabdomyosarcoma [J]. *Oncogene* , 2018 , 37(15) : 1991 – 2007 .
- [9] Zhan T , Huang X , Tian X , et al . Downregulation of microRNA-455-3p links to proliferation and drug resistance of pancreatic cancer cells *via* targeting TAZ [J]. *Mol Ther Nucleic Acids* , 2018 , 10 : 215 – 26 .
- [10] Mohamed A , Sun C , De Mello V , et al . The Hippo effector TAZ (WWTR1) transforms myoblasts and TAZ abundance is associated with reduced survival in embryonal rhabdomyosarcoma [J]. *J Pathol* , 2016 , 240(1) : 3 – 14 .
- [11] Lu Y , Zhao X , Liu Q , et al . lncRNA MIR100HG-derived miR-100 and miR-125b mediate cetuximab resistance *via* Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Nat Med* , 2017 , 23(11) : 1331 – 41 .
- [12] Singh S , Vinson C , Gurley C M , et al . Impaired Wnt signaling in embryonal rhabdomyosarcoma cells from p53/c-fos double mutant mice [J]. *Am J Pathol* , 2010 , 177(4) : 2055 – 66 .
- [13] Xu H , Sun Y , Ma Z , et al . LOC134466 methylation promotes oncogenesis of endometrial carcinoma through LOC134466/hsa-miR-196a-5p/TAC1 axis [J]. *Aging* , 2018 , 10(11) : 3353 – 70 .
- [14] Wang X , Liao X , Huang K , et al . Clustered microRNAs hsa-miR-221-3p/hsa-miR-222-3p and their targeted genes might be prognostic predictors for hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer* , 2019 , 10(11) : 2520 – 33 .

Functional and differential miRNA bioinformatics analysis of fusion gene positive and negative cells in rhabdomyosarcoma

Wang Xiaomeng , Li Zhenzhen , Meng Lian , et al

(Dept of Pathology , School of Medicine , Shihezi University , Shihezi 832002)

Abstract Objective To compare the biological behavior between rhabdomyosarcoma (RMS) fusion gene positive and negative cells , analyze differential miRNAs of RMS fusion gene positive and negative using bioinformatics , and verify the expression of differential miRNAs. **Methods** The viability , invasion , migration and apoptotic capacity of fusion gene positive RH30 cells and fusion gene negative RD and PLA-802 cells in RMS were detected by CCK-8 , Transwell , and flow cytometry , respectively. GEO2R was used to analyze the differential miRNA of the fusion gene positive and negative cells. Sangerbox was used to analyze differential miRNAs and made Volcano map. qRT-PCR was used to verify the selected differential miRNAs. **Results** The proliferation ability of RD cells was higher than that of RH30 cells and PLA-802 cells ($P < 0.05$) . The invasion , migration and anti-apoptotic ability of RH30 cells were higher than those of PLA-802 cells and RD cells ($P < 0.05$) . Volcano plot results showed that the number of up-regulated miRNAs was more than down-regulated miRNAs ($P < 0.05$) . According to $|\log_2FC| > 3$, $P < 0.05$, 12 differential miRNAs were screened (up-regulated miRNAs contained miR-1 , let-7d-5p and let-7b-5p , down-regulated miRNAs contained miR-196a-5p , miR-455-3p , miR-21-5p , miR-193a-3p , miR-29b-3p , miR-29a-3p , miR-100-5p , miR-222-3p and miR-221-3p) , and qRT-PCR results were consistent with bioinformatics analysis. **Conclusion** The ability of invasion , migration and resistant apoptosis in RMS fusion gene-positive cells is higher than that of fusion gene-negative cells. The differentially expressed miRNAs between fusion gene positive and negative groups can provide new directions for RMS research.

Key words rhabdomyosarcoma; invasion; migration; apoptosis; miRNA; bioinformatic