

QSOX1 在骨肉瘤中的表达及其作用机制

阮铭暄* 李 阳* 黄 斐

摘要 目的 研究 QSOX1 在骨肉瘤组织和细胞中的表达及其在细胞增殖、迁移、侵袭中的作用。方法 Western blot 及免疫组化实验验证 QSOX1 在骨肉瘤组织及细胞中的表达情况并选出表达更高的细胞系 MG63。慢病毒敲低并筛选出稳定株 shQSOX1 组和 shCtrl 组, Western blot 检测转染后 MG63 中 QSOX1 蛋白表达水平; CCK-8 实验检测细胞增殖水平; 划痕实验验证细胞迁移水平; Transwell 实验检测细胞侵袭能力。Western blot 检测 shCtrl 组和 shQSOX1 组中 NF-κB 信号通路 mRNA 表达水平。结果 Western blot 及免疫组化结果表明 QSOX1 在人成骨细胞系 hFOB1.19 以及癌旁组织中低表达,而在骨肉瘤组织以及骨肉瘤细胞中高表达 ($P < 0.001$)。CCK-8 实验显示在 shQSOX1 组中,其增殖能力较 shCtrl 组受到抑制 ($P < 0.05$); 划痕实验中, shQSOX1 组迁移能力减弱 ($P < 0.001$); Transwell 实验中, shQSOX1 组侵袭能力受到影响 ($P < 0.001$); NF-κB 在 shCtrl 组高表达,在 shQSOX1 组低表达 ($P < 0.001$)。结论 QSOX1 在骨肉瘤中高表达,敲除 QSOX1 基因可以抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移、侵袭能力,且敲除 QSOX1 使得 NF-κB 信号通路失活。

关键词 骨肉瘤; QSOX1; MG63; NF-κB

中图分类号 R 738.1

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2023)10 - 1682 - 07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2023.10.013

骨肉瘤恶性程度高,属于原发性骨恶性肿瘤,在青少年中最常见。临床中骨肉瘤极易转移且复发率较高,这是其预后不佳的主要原因^[1]。虽然骨肉瘤相关的研究在近几年中有了的进展,但针对其易转移、高复发的新的有效的治疗策略仍然很少。肿瘤的发展受多基因、多方面调控,所以对骨肉瘤分子机制的研究并寻找新的治疗方法是迫切需要的。懈皮素巯基氧化酶 1 (quiescin sulfhydryl oxidase 1, QSOX1) 蛋白属于一类新的 FAD 连接的巯基氧化酶,主要存在于高尔基体中,它的主要功能是催化二硫键的形成,同时将氧气还原为过氧化氢^[2-3]。Heckler et al^[4]首次报道人 QSOX1 亚型的异源表达及其酶学性质,后续研究^[5]表明 QSOX1 还在细胞外基质的合成中扮演重要角色,并将 QSOX1 与恶性肿瘤的发生发展联系起来。为了证实 QSOX1 在骨肉瘤中的作用,该研究通过检测 QSOX1 在骨肉瘤组织及细胞中的表达,并使用慢病毒敲除骨肉瘤细胞 MG63 中的 QSOX1,验证其在骨肉瘤细胞功能学上的作用,并进一步探讨其对 NF-κB 信号通路的影响。

2023 - 05 - 10 接收

基金项目: 安徽高校自然科学研究重点项目(编号: KJ2020A0187); 2022 年度新时代育人质量工程项目(编号: 2022xsx061)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院骨科,合肥 230601

作者简介: 阮铭暄,男,硕士研究生;

黄 斐,男,博士,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: 1157448620@qq.com

* 对本文具有同等贡献

feeding until 12 weeks. FBG, FINS, IL-22 and p-STAT3/STAT3 levels were measured at baseline, week 8 and week 12 in both groups, and insulin resistance index (HOMA-IR) was calculated. The differences between the two groups were compared. **Results** ① There was no significant difference of the observation indexes between the two groups at baseline ($P > 0.05$). At 8 weeks, the levels of FBG, FINS and HOMA-IR in CIH group were higher than those in NC group ($P < 0.05$), and the levels of IL-22 were lower than those in NC group ($P < 0.05$). p-STAT3/STAT3 showed a decreasing trend, but not statistically significant. At 4 weeks of reoxygenation, there were no significant differences in FBG, FINS, HOMA-IR and IL-22 levels between the two groups ($P > 0.05$). p-STAT3/STAT3 in CIH group was significantly higher than that in NC group ($P < 0.05$). ② Spearman rank correlation analysis showed that HOMA-IR was negatively correlated with IL-22 and p-STAT3/STAT3 (all $P < 0.05$). **Conclusion** Chronic intermittent hypoxia can inhibit the expression of IL-22/STAT3 signaling pathway, IL-22/STAT3 signaling pathway may mediate insulin resistance induced by chronic intermittent hypoxia.

Key words chronic intermittent hypoxia; insulin resistance; interleukin-22; STAT3

1 材料与方法

1.1 骨肉瘤组织的采集 本研究所使用的骨肉瘤组织切片取自 2016—2021 年间安徽医科大学第一附属医院确诊的 30 例原发性骨肉瘤患者。组织学诊断由安徽医科大学附属第一医院病理科完成。组织标本收集之前均取得了患者的书面知情同意,且研究得到安徽医科大学医学伦理委员会的批准(批号: PJ-YX2022-038)。

1.2 骨肉瘤细胞 人成骨细胞系 hFOB1.19 及骨肉瘤细胞系 U-2OS、MG63 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司。骨肉瘤细胞培养基为含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基购自杭州四季青有限公司、1% 青-链霉素的高糖 DMEM 培养基购自南京生航生物有限公司。hFOB1.19 细胞培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司。骨肉瘤细胞的培养环境为 37 °C CO₂ 培养箱, hFOB1.19 培养环境为 34 °C CO₂ 培养箱。

1.3 免疫组化 将组织包埋在石蜡中,切成厚度 4~5 mm 的切片。根据以下标准对免疫组织化学染色进行评分:染色强度分为 0(无染色)、1(轻度染色)、2(中度染色)、3(强染色);染色百分比指定为 1(<25%)、2(25%~<50%)、3(50%~<75%)、4(≥75%)。通过染色强度乘以染色百分比计算半定量评分,评分<5 分为低表达组,评分≥5 分为高表达组。低表达表示阴性或弱阳性,高表达表示强阳性。随后经过烤片、脱蜡复水、抗原修复、内源性过氧化物酶阻断、血清封闭、一抗 4 °C 孵育过夜(ABCAM)、二抗孵育(中衫金桥)、DAB 显色、苏木精复染、反蓝、梯度乙醇脱水后,于正置荧光显微镜下拍照。

1.4 Western blot 检测并筛选骨肉瘤细胞中的 QSOX1 的表达水平,待细胞汇合度在 70%~80% 时,用 RIPA 裂解液、磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂配置成的细胞裂解液提取蛋白,并用 BCA 法测蛋白浓度,随后加入 Loading buffer(Loading buffer 体积:蛋白上清液体积=1:4)配置 10% SDS-PAGE 10 孔胶,经过电泳、转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育后,滴加 ECL 显影液进行显影。

1.5 shQSOX1 慢病毒转染与稳定株的筛选 慢病毒购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司,转染方法按说明书进行。具体步骤如下:选择 MG63 细胞进行实验,通过细胞计数制成 5×10^4 个/ml 的细胞悬液,每孔 1 ml 加入 6 孔板中,37 °C 培养 1 d,再

加入病毒液及增强液,37 °C 继续培养 16 h 后更换新鲜培养基培养 2 d,此时荧光显微镜下观察转染效率,若高于 80% 即说明转染有效,可进行后续实验。将 shQSOX1 组和普通 MG63 细胞同时培养于含嘌呤霉素培养基中,到普通 MG63 细胞全部死亡时,即视为筛选完成,此时嘌呤霉素浓度减半,低浓度维持培养 shQSOX1 组。靶向 QSOX1 干扰序列正向:5'-GGAAGCTTCTGGAAGTCGTG-3',反向:5'-CAAA-AGACCAGGCTCAGAGG-3'。

1.6 细胞增殖实验 取处于对数生长期的细胞制成密度为 5×10^4 个/ml 细胞悬液,每孔 100 μl 加到 4 块 96 孔板中,实验组(shQSOX1 慢病毒转染的 MG63 细胞)和对照组(shCtrl 慢病毒转染的 MG63 细胞)各设 3 个复孔,正常条件下培养 24、48、72、96 h 后加入 10 μl CCK-8 溶液,随即放入培养箱中培养 1.5 h,用酶标仪检测 490 nm 的吸光度值。

1.7 克隆形成实验 实验在 6 孔板中进行,用分裂活跃的细胞,制成单个细胞悬液,按 700 个/孔接种细胞,放在培养箱中培养 2 周,期间每 3 d 进行换液,并观察细胞状态。克隆完成后,PBS 清洗细胞 3 次,加 4% 多聚甲醛固定 20 min,去固定液,加适量结晶紫染色 5 min,然后 PBS 缓慢洗去染色液,晾干,拍照。实验重复 3 次。

1.8 细胞迁移实验 将生长状况良好的 shQSOX1 MG63 细胞和 shCtrl MG63 细胞种在 6 孔板中,待细胞汇合度达到 100% 时,用枪头垂直于细胞平面在细胞层划线,之后 PBS 清洗细胞 3 次,加入无血清 DMEM,将细胞放入培养箱,于 0、12、24、36 h 显微镜观察划痕宽度并拍照。

1.9 细胞侵袭实验 提前将基质胶放至 4 °C 冰箱过夜解冻,用预冷的无血清 DMEM 培养基按 8:1 的比例稀释基质胶,加 60 μl 基质胶于 transwell 小室上室,37 °C 放置 1 h,使基质胶凝固。取处于对数生长期的 shQSOX1 MG63 和 shCtrl MG63 饥饿处理 12 h 后,制成无血清细胞悬液,细胞浓度调整为 1.5×10^5 个/ml。向小室中加入 200 μl 细胞悬液,下室加入含有 20% 血清的 DMEM 培养基,使之能覆盖小室底部,避免产生气泡,放入培养箱孵育 24 h。孵育完毕后,取出小室,PBS 清洗 2 次,4% 多聚甲醛固定 20 min,用棉签轻擦去上层未侵袭的细胞,最后结晶紫染色 15 min,漂洗干净后,晾干拍照。实验重复 3 次。

1.10 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据比较采用独立样

本 *t* 检验或单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 QSOX1 在骨肉瘤组织和骨肉瘤细胞中的表达分析 通过免疫组化实验检测 QSOX1 在骨肉瘤组织和正常骨纤维组织的表达情况(图 1A~C), 正常骨纤维组织 QSOX1 的表达量明显低于骨肉瘤组织。组织切片被分为高表达组和低表达组, 其中高表达组有 17 例, 低表达组有 13 例, 两组之间 QSOX1 表达量差异有统计学意义 ($P < 0.001$, 图 1D)。对患者随访, 并以此绘制生存分析图, 发现高表达患者生存率明显低于低表达患者 ($P < 0.05$, 图 1E)。高表达组和低表达组在肿瘤分期、肿瘤大小和淋巴结转移等方面也有明显差异(表 1)。随即通过 Western blot 检测 QSOX1 在骨肉瘤细胞系中的表达情况, 结果显示 QSOX1 在 MG63 和 U-2OS 中高表达, 在成骨细胞 hFOB1.19 中低表达, 两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.001$, 图 2)。由于 QSOX1 蛋白在骨肉瘤细胞系 MG63 中表达高于 U-2OS, 因此选择 MG63

细胞进行后续实验。

2.2 慢病毒转染 通过慢病毒转染敲除 QSOX1, Western blot 检测 QSOX1 敲除效率, 敲除后 shQSOX1 组 QSOX1 蛋白表达量显著降低, 表明敲除有效 ($P < 0.0001$, 图 3)。

表 1 骨肉瘤临床病理特征与 QSOX1 的表达关系 ($n = 30$)

临床病理特征	低表达组	高表达组	合计	<i>P</i> 值
性别				0.785
男	6	7	13	
女	7	10	17	
年龄(岁)				0.961
≤50	9	7	16	
>50	8	6	14	
肿瘤分期				0.021
I	9	4	13	
II~III	4	13	17	
肿瘤直径(cm)				0.035
<5	8	4	12	
≥5	5	13	18	
淋巴结转移				0.004
否	10	4	14	
是	3	13	16	

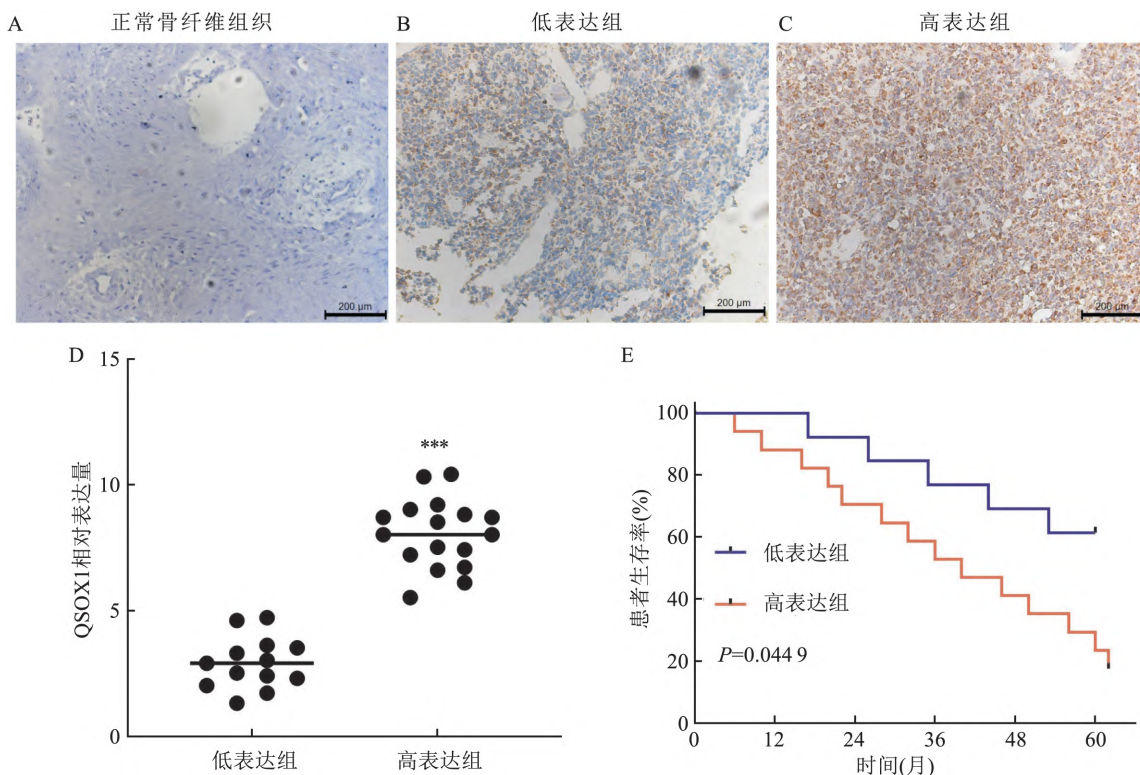


图 1 QSOX1 在骨肉瘤及正常骨纤维组织的表达情况

A: QSOX1 在正常骨纤维组织的表达 ×200; B、C: QSOX1 在骨肉瘤组织中的表达 ×200; D: 低表达组和高表达组的 QSOX1 相对表达量; E: 低表达组和高表达组的预后生存分析; 与低表达组比较: *** $P < 0.001$

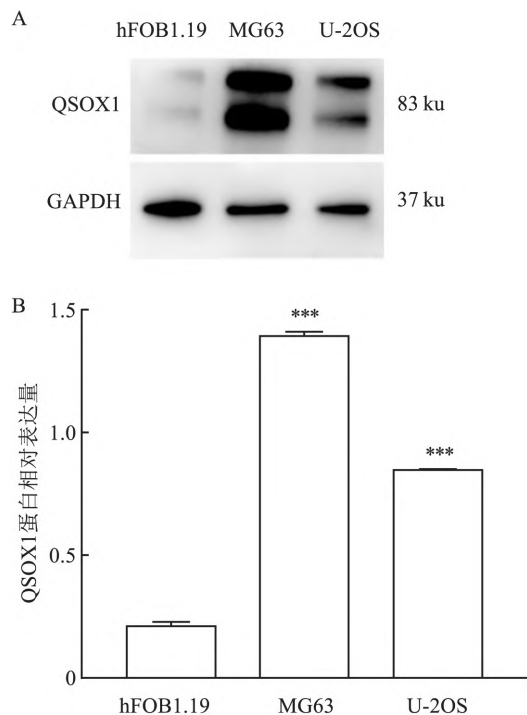


图2 QSOX1 蛋白在各细胞的表达情况

A: QSOX1 蛋白在各细胞的表达情况; B: QSOX1 蛋白在各细胞的表达量量化统计图; 与 hFOB1.19 细胞比较: *** $P < 0.001$

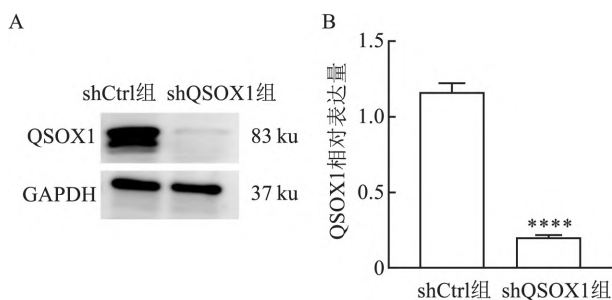


图3 慢病毒敲低 MG63 效率检测

A: 慢病毒转染后 shQSOX1 组与 shCtrl 组 QSOX1 蛋白表达量对比; B: shQSOX1 组与 shCtrl 组 QSOX1 蛋白表达量量化统计图; 与 shCtrl 组比较: **** $P < 0.0001$

2.3 shQSOX1 对 MG63 的增殖能力的影响 通过 CCK-8 实验分析敲除 QSOX1 后 MG63 细胞增殖能力的变化。与 shCtrl 组比较, shQSOX1 组 MG63 细胞的增殖速率明显降低, 差异有统计学意义(48 h: $t = 3.61, P < 0.05$; 72 h: $t = 10.65, P < 0.001$; 96 h: $t = 22.72, P < 0.0001$) 见图 4。

2.4 shQSOX1 对 MG63 的克隆能力的影响 通过克隆形成实验来验证敲除 QSOX1 后对 MG63 克隆能力的影响。在培养 14 d 后, shQSOX1 组细胞球的数量明显少于 shCtrl 组, 差异有统计学意义($t = 15.63, P < 0.001$) 见图 5。

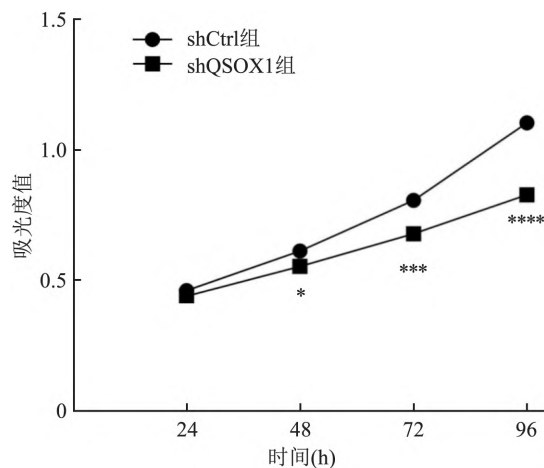


图4 shQSOX1 对 MG63 增殖的影响

与 shCtrl 组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

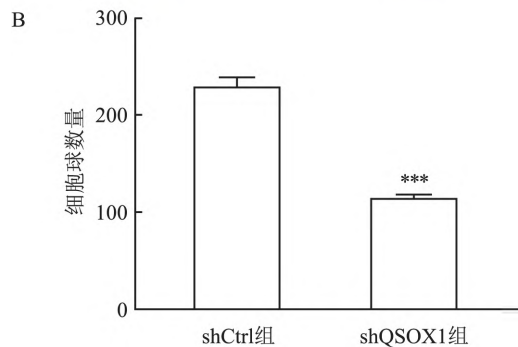
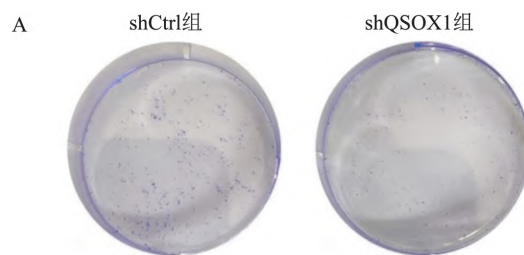


图5 shQSOX1 对 MG63 克隆的影响

A: 结晶紫染色结果; B: 细胞球数定量分析; 与 shCtrl 组比较: *** $P < 0.001$

2.5 shQSOX1 对 MG63 的迁移、侵袭能力的影响 通过划痕实验和 Transwell 实验来验证敲除 QSOX1 后 MG63 细胞的迁移、侵袭能力的变化。划痕 24 h 后, shQSOX1 组愈合面积相较于 shCtrl 组减小, 差异有统计学意义($t = 18.32, P < 0.001$) 图 6A、B); shQSOX1 组穿过滤膜的细胞数明显低于 shCtrl 组, 差异有统计学意义($t = 24.41, P < 0.0001$) 图 6C、D)。

2.6 Linked Omics 数据库分析 通过 Linked Omics 数据库筛选出与 QSOX1 相关的蛋白(图 7A), 并选出与分别与 QSOX1 呈正负相关的前 50

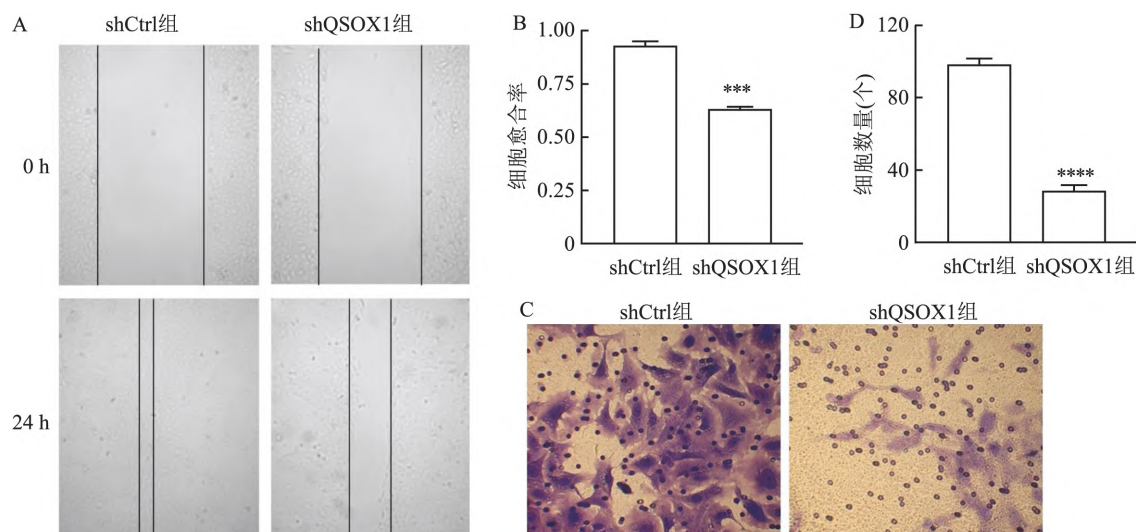


图6 shQSOX1对MG63迁移、侵袭的影响

A: 两组细胞划痕24 h后愈合情况 ×40; B: 愈合率定量分析; C: 两组细胞穿过滤膜数量情况 ×400; D: 穿过滤膜数量定量分析; 与shCtrl组比较: *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

个蛋白(图7B、C),再通过GO、KEGG通路得出QSOX1富集情况(图7D)。

2.7 敲除QSOX1对MG63中NF-κB信号通路的影响 通过Western blot检测shQSOX1组和shCtrl组中t-NF-κB及p-NF-κB表达量。与shCtrl组比较,敲除QSOX1后MG63 p-NF-κB表达量降低($t = 14.65, P < 0.001$)。t-NF-κB表达量在两组中差异无统计学意义,见图8。结果说明,敲除QSOX1使NF-κB信号通路失活。

3 讨论

肿瘤的发生发展与细胞外基质有着紧密的联系。细胞外基质结合因子与细胞表面受体相互作用,介导细胞黏附和细胞信号传递,从而调节增殖、分化、迁移、凋亡的各种过程。在肿瘤中,间质细胞外基质的重塑影响细胞信号、细胞外基质僵硬、细胞迁移和肿瘤进展^[6]。QSOX1在细胞外基质的合成中扮演着十分重要的角色,有研究^[7]表明,缺乏QSOX1的细胞外基质在支持细胞-基质黏附方面存在缺陷,并提出QSOX1在层粘连蛋白掺入细胞外基质的过程中起到极其重要的作用。目前尚无QSOX1在骨肉瘤方面的报道,但QSOX1在多种肿瘤中的作用已经被证实。Baek et al^[8]通过组织芯片免疫组化技术,证明了QSOX1在前列腺癌中高表达,并提出其高表达和肿瘤的侵袭性相关。Geng et al^[9]发现QSOX1的高表达和患者的预后不良相关,

敲低QSOX1可抑制胶质瘤细胞系的增殖、迁移和侵袭,并且敲低QSOX1后磷酸化的PI3K和Akt信号通路表达下调。还有研究^[10]认为QSOX1可能是肺癌组织来源的生物标记物,能参与肺癌的发生发展,并提出QSOX1有望作为肺癌的治疗靶点。

本研究通过免疫组化和Western blot实验证实了QSOX1在骨肉瘤组织及细胞中的高表达,选择表达更高的骨肉瘤细胞系MG63继续后续细胞学研究。使用慢病毒敲低MG63中的QSOX1,并通过Western blot实验验证敲低有效性。在后续细胞功能学实验中,CCK-8细胞增殖实验中shCtrl组细胞增殖速率明显高于shQSOX1组,划痕实验中shCtrl组细胞愈合速率明显高于shQSOX1组,Transwell侵袭实验中shCtrl组细胞穿过滤膜的数量明显高于shQSOX1组。结果表明,敲除QSOX1可以有效抑制MG63的增殖、迁移、侵袭能力,这一结论也与之前QSOX1在其他肿瘤的研究结论相一致^[7-10]。

在证明了QSOX1在MG63细胞中的功能后,本研究还进一步验证了敲除QSOX1对NF-κB信号通路的影响。NF-κB信号通路是一种经典的肿瘤通路,在大多数肿瘤中都能观察到其异常激活,NF-κB信号通路可促进肿瘤的增殖、侵袭等,开发调节NF-κB信号通路异常激活的新靶标可能对临床治疗骨肉瘤提供有效的治疗手段^[11]。有研究^[12]显示,靶点基因Bmi-1通过NF-κB信号通路抑制骨肉瘤进展。本研究结果显示,敲除了QSOX1后,p-NF-κB

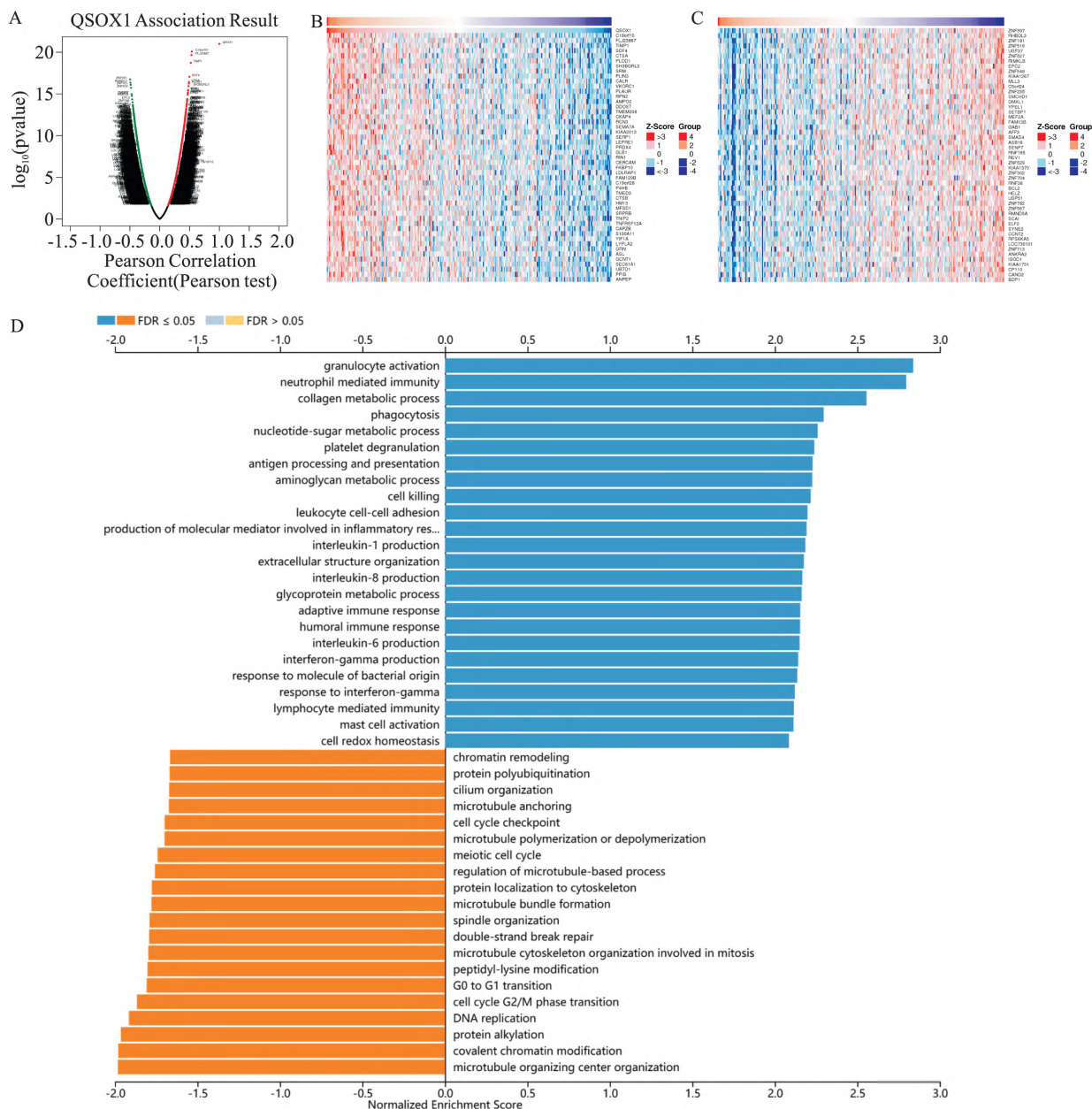


图7 Linked Omics 数据库分析

A: QSOX1 正负相关蛋白集: 曲线左边为与 QSOX1 负相关的蛋白 右边为与 QSOX1 正相关蛋白; B: 筛选出的与 QSOX1 成正相关的前 50 个蛋白热图; C: 筛选出的与 QSOX1 成负相关的前 50 个蛋白热图; D: 与 QSOX1 相关的通路

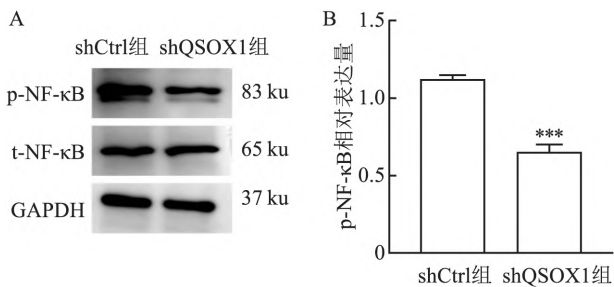


图8 shQSOX1 导致 NF-κB 信号通路失活

A: Western blot 检测两组细胞 t-NF-κB 及 p-NF-κB 表达情况; B: p-NF-κB 表达定量分析; 与 shCtrl 组比较: *** $P < 0.001$

的表达量被降低,而 t-NF-κB 表达水平无明显差异。由此得出结论,QSOX1 的敲除可通过抑制磷酸化 NF-κB 的表达来抑制 MG63 细胞的增殖、迁移、侵袭。这可能是改善骨肉瘤预后生存率的一个有效靶点。然而,骨肉瘤进展的机制涉及多个基因的相互作用^[13] 需要进一步的研究来探索。后续本课题组将进行与 QSOX1 相关的蛋白的研究,进一步揭示 QSOX1 在骨肉瘤中的作用机制,为临床治疗提供坚实的理论基础。

参考文献

- [1] Sheng G ,Gao Y ,Yang Y ,et al. Osteosarcoma and metastasis [J]. *Front Oncol* 2021 ,11: 780264.
- [2] Katchman B A ,Antwi K ,Hostetter G ,et al. Quiescin sulfhydryl oxidase 1 promotes invasion of pancreatic tumor cells mediated by matrix metalloproteinases [J]. *Mol Cancer Res* 2011 ,9(12) : 1621 - 31.
- [3] Knutsvik G ,Collett K ,Arnes J ,et al. QSOX1 expression is associated with aggressive tumor features and reduced survival in breast carcinomas [J]. *Mod Pathol* 2016 ,29(12) : 1485 - 91.
- [4] Heckler E J ,Alon A ,Fass D ,et al. Human quiescin-sulfhydryl oxidase QSOX1: probing internal redox steps by mutagenesis [J]. *Biochemistry* 2008 ,47(17) : 4955 - 63.
- [5] Lake D F ,Faigel D O. The emerging role of QSOX1 in cancer [J]. *Antioxid Redox Signal* 2014 ,21(3) : 485 - 96.
- [6] Winkler J ,Abisoye-Ogunniyan A ,Metcalf K J ,et al. Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis [J]. *Nat Commun* 2020 ,11(1) : 5120.
- [7] Ilani T ,Alon A ,Grossman I ,et al. A secreted disulfide catalyst controls extracellular matrix composition and function [J]. *Science* , 2013 ,341(6141) : 74 - 6.
- [8] Baek J A ,Song P H ,Ko Y ,et al. High expression of QSOX1 is associated with tumor invasiveness and high grades groups in prostate cancer [J]. *Pathol Res Pract* 2018 ,214(7) : 964 - 7.
- [9] Geng Y ,Xu C ,Wang Y ,et al. Quiescin sulfhydryl oxidase 1 regulates the proliferation ,migration and invasion of human glioblastoma cells via PI3K/Akt pathway [J]. *Onco Targets Ther* 2020 ,13: 5721 - 9.
- [10] Sung H J ,Ahn J M ,Yoon Y H ,et al. Quiescin sulfhydryl oxidase 1 (QSOX1) secreted by lung cancer cells promotes cancer metastasis [J]. *Int J Mol Sci* 2018 ,19(10) : 3213.
- [11] Wu Q ,Li Q ,Zhu W ,et al. TIFin 3 potentiates the NF- κ B signaling pathway to regulate apoptosis in breast cancer [J]. *Mol Med Rep* , 2022 ,25(1) : 15.
- [12] Liu J ,Luo B ,Zhao M. Bmi1-targeting suppresses osteosarcoma aggressiveness through the NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Med Rep* 2017 ,16(6) : 7949 - 58.
- [13] 李 阳 ,阮铭暄 ,王 震 等. 沉默 MFGE8 对骨肉瘤细胞 U2OS 增殖、凋亡、侵袭及迁移的影响 [J]. *安徽医科大学学报* 2022 , 57(12) : 1921 - 6.

The expression of QSOX1 in osteosarcoma and its functional study

Ruan Mingxuan ,Li Yang ,Huang Fei

(*Dept of Orthopedics ,The Second Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230601*)

Abstract *Objective* To study the expression of QSOX1 in osteosarcoma tissues and cells and its role in proliferation ,migration and invasion. *Methods* Western blot and immunohistochemistry were used to verify the expression of QSOX1 in osteosarcoma tissues and cells ,and the cell line MG63 with the highest expression was selected. Slow virus knocked down and selected stable strains shQSOX1 group and shCtrl group. Western blot was used to detect the expression level of QSOX1 protein in MG63 after transfection. CCK-8 assay was used to detect the level of cell proliferation. Scratch test verified the level of cell migration. Transwell test was used to detect the invasion ability of cells; Western blot was used to detect the mRNA expression level of NF- κ B signal pathway in shCtrl group and shQSOX1 group. *Results* Western blot and immunohistochemistry showed that QSOX1 was low expressed in human osteoblast line hFOB1. 19 and adjacent tissues ,but high expressed in osteosarcoma tissue and osteosarcoma cells ($P < 0.001$) . CCK-8 experiment showed that the proliferation ability of shQSOX1 group was inhibited compared with shCtrl group ($P < 0.05$) ; In the scratch test ,the migration ability of shQSOX1 group decreased ($P < 0.001$) ; Transwell proved that the invasive ability of shQSOX1 group was affected ($P < 0.001$) ; NF- κ B was highly expressed in shCtrl group and low expressed in shQSOX1 group ($P < 0.001$) . *Conclusion* QSOX1 is highly expressed in osteosarcoma. Knockout of QSOX1 gene can inhibit the proliferation ,migration and invasion of osteosarcoma. Knockout of QSOX1 makes NF- κ B signal pathway is deactivated.

Key words osteosarcoma; QSOX1; MG63; NF- κ B