

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.013

· 临床研究 ·

实时荧光定量 PCR 分析 CML 患者 *HMGA2* 基因的表达及其临床意义

王霜¹, 刘晓力¹, 欧阳凌云¹, 许娜¹, 杜庆锋², 刘志¹, 欧阳昭¹ (1. 南方医科大学南方医院血液科; 2. 南方医院临床医学教育中心, 广东广州 510515)

[摘要] 目的: 分析慢性髓系白血病(chronic myeloid leukemia, CML)患者外周血中高迁移率蛋白 A2 基因(high mobility group A2, *HMGA2*) mRNA 的表达及其相关临床特征, 探讨它们在 CML 演进中的作用及临床意义。方法: 采集 2006 年 1 月至 2008 年 2 月在南方医科大学南方医院血液科就诊的 24 例 CML 和 5 例健康对照的骨髓和外周血标本(所有参与试验及贡献骨髓和外周血标本的患者均知情同意, 并经伦理委员会批准), 以荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)技术检测 CML 骨髓标本间期细胞 *BCR/ABL* 融合基因的表达, 实时荧光定量(real-time fluorescence quantitative)PCR(RTQ-PCR)技术对 *HMGA2* mRNA 的表达进行相对定量分析, 采用秩和检验比较 CML 患者不同阶段 *HMGA2* 转录水平, 以 Spearman 方法分别对 *HMGA2* 转录水平与 *BCR/ABL* 融合基因水平、外周血液学参数进行相关性分析。结果: 12 例 CML-CP 患者 *BCR/ABL* 阳性细胞率为(58.08 ± 39.21)%, *HMGA2* 相对定量为 2.39 ± 1.86; 12 例 CML-AP/BP 患者 *BCR/ABL* 阳性细胞率为(87.50 ± 16.21)%, *HMGA2* 相对定量为 91.78 ± 14.07。CML-AP/BP 患者 *HMGA2* 转录水平与 CML-CP 患者之间的差异有统计学意义($Z = -4.157, P < 0.01$), CML-AP/BP 患者 *HMGA2* 转录水平与外周血原幼细胞数呈正相关关系($r = 0.636, P = 0.017$)。结论: CML 患者 *HMGA2* 转录水平在 AP/BP 期显著高于 CP 期, *HMGA2* 有可能成为预测 CML 疾病演变、判断预后和指导临床治疗的可靠指标。

[关键词] 高迁移率蛋白 A2 基因(*HMGA2*); 慢性髓系白血病; 慢性期; 急变期; 加速期; *BCR/ABL*; 实时荧光定量 PCR

[文献标志码] A **[文章编号]** 1007-385X(2010)02-0183-07

Real-time fluorescence quantitative PCR in analysis of *HMGA2* expression in CML patients and its clinical significance

WANG Shuang¹, LIU Xiao-li¹, OU-YANG Ling-yun¹, XU Na¹, DU Qing-feng², LIU Zhi¹, OU-YANG Zhao¹ (1. Department of Hematology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 2. Education Center of Clinical Medicine, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To examine the expression of high mobility group A2 (*HMGA2*) mRNA in the peripheral blood of chronic myeloid leukemia (CML) patients and the related clinical characteristics, and to explore its role and clinical significance in CML progress. **Methods:** Peripheral blood samples of 24 CML patients and 5 volunteers, who had been diagnosed in our hospital from Jan. 2006 to Feb. 2008, were collected in the present study (all the patients and volunteers signed paper of informed consent and the study was approved by ethics committee). *BCR/ABL* fusion gene expression in CML bone samples was detected by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *HMGA2* mRNA expression was examined by real-time fluorescence quantitative PCR (RTQ-PCR). Rank sum test was used to assess the *HMGA2* gene transcription differences between CML-CP and CML-AP/BP patients. Correlation analyses were done using Spearman's correlation test to explore the correlation between *HMGA2* expression, *BCR/ABL* fusion gene expression, and hematological parameters in peripheral blood of CML patients. **Results:** We found that (58.08 ± 39.21)% leukemia cells were *BCR/ABL* fusion gene-positive in 12 CML-CP patients, and the relative quantitative expression of *HMGA2* gene was 2.39 ± 1.86. Meanwhile, (87.50 ± 16.21)% leukemia cells were *BCR/ABL* fusion gene-positive in 12 CML-AP/BP patients, and *HMGA2* gene relative quantitative expression was 91.78 ± 14.07. *HMGA2* gene transcriptions between CML-CP and CML-AP/BP patients were significantly different ($Z = -4.157, P < 0.01$). *HMGA2* gene transcription in CML-AP/BP patients was

[基金项目] 广东省科技攻关计划重点引导项目资助(No. 2006Z3-E0401)。Project supported by the Science and Technology Key Task Program of Guangdong Province(No. 2006Z3-E0401)

[作者简介] 王霜(1982-),女,湖南郴州人,硕士研究生,主要从事血液肿瘤基础和临床方面的研究

[通信作者] 刘晓力(LIU Xiao-li, corresponding author), E-mail: lx12405@126.com

positively correlated with the numbers of blast cells in the peripheral blood ($r = 0.636$, $P = 0.017$). **Conclusion:** *HMG2* gene transcription level in CML-AP/BP patients is higher than that in CML-CP patients, indicating *HMG2* may be a reliable indicator in estimating the development, prognosis and clinical treatment outcome of CML patients.

[**Key words**] high mobility group A2 (*HMG2*); chronic myeloid leukemia (CML); chronic phase; accelerated phase; blastic phase; *BCR/ABL*; real-time fluorescence quantitative PCR (RTQ-PCR)

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 183-189]

慢性髓系白血病(chronic myeloid leukemia, CML)是首个发现具有固定细胞遗传学异常表型的恶性肿瘤,费城染色体(Philadelphia chromosome, Ph)及*BCR/ABL*融合基因为其特征性恶性克隆标志。CML的自然病程分为慢性期(chronic phase, CP)、加速期(accelerated phase, AP)和急变期(blastic phase, BP)。CML-CP可能维持1~4年,进入CML-AP或者CML-BP后,患者对多种治疗反应差,病情往往迅速恶化,最终导致死亡^[1]。CML急变机制目前尚未完全清楚,现认为CML急变涉及基因组不稳定性、分化障碍、端粒缩短、癌基因活化及抑癌基因失活等,是一个涉及到多基因、多途径的复杂过程^[2]。因此,探讨CML疾病进展的机制,了解CML发生、发展倾向对CML演变、转白潜能与预后的评估具有重要价值。近年来,发现高迁移率蛋白A2基因(high mobility group A2, *HMG2*)与肿瘤的发生、转移及预后等有一定关系^[3]。基于以上认识,本研究采用TaqMan探针和实时荧光定量PCR(real time fluorescence quantitative PCR, RTQ-PCR)技术,以CML患者和正常人的外周血和骨髓标本为研究对象,通过检测*HMG2*在CML中的表达量,分析*HMG2*基因表达与CML疾病进展相关参数间的关系,旨在为CML的急变诊断、治疗和预后提供有参考价值的指标。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择2006年1月至2008年2月我院初诊或复查的CML患者24例,全部诊断均经MICM分型求证。其中男性14例,女性10例;最小年龄为18岁,最大年龄为63岁,中位年龄为39.5岁。CML诊断及分期标准参照血液病诊断及疗效标准^[4]。其中CML-CP 12例, CML-AP/BP 12例;7例CML-BP中有3例急淋变,4例急粒变。既往分别采用羟基脲(Hu)、伊马替尼(IM)、尼罗替尼(AMN107)治疗。参与本研究提供骨髓和外周血标本的患者均签署知情同意书并报院伦理委员会批准。患者具体临床资料见表1及表2。

1.2 主要试剂和仪器

人淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限责任公司,TRIzol、焦炭酸二乙酯(DEPC)购自广州市博理生物科技有限公司,Taq酶购自美国MBI公司,dNTP购自美国Promega公司。DNA Marker、PMD 18-T载体、PrimeScript RT试剂盒购自大连宝生物公司,AxyPrep质粒DNA小量抽提试剂盒购自美国Axygen公司,real-time PCR试剂盒购自日本Toyobo公司,AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒购自Toyobo公司。引物及探针由上海英俊公司合成。*HMG2*上游引物为5'-AGTCCCTCTAAAGCAGCTCAAAAG-3',*HMG2*下游引物为5'-GCCATTTCTAGGTCTGCCTC-3'。内参照*GAPDH*上游引物序列为5'-ACGGATTTGGTCGTATTGGG-3',下游引物序列为5'-TGATTTTGGAGGGATCTCGC-3',用来排除RNA的降解。

MX3000p型定量PCR仪购自美国Stratagene公司,PTC-200 PCR仪购自美国Bio-Rad公司。Universal 32低温高速台式离心机购自德国Hettich公司,Anke低速离心机购自上海安亭公司,TGL-16高速离心机购自上海摩速公司。紫外分光光度计购自美国Pharmacia Biotech公司,Rosi-1000恒温摇床购自美国,ABI 3730测序仪购自美国ABI公司。

1.3 骨髓及外周血细胞形态学检查和染色体分析

1.3.1 骨髓及外周血细胞形态学检查 在髂后上棘行骨髓穿刺采集患者骨髓,并采集指尖血,制备骨髓及血涂片数张,采用瑞氏染色。骨髓涂片分类计数200个有核细胞,分别计算各系各阶段细胞所占百分率并观察细胞形态。外周血涂片分类计数100个白细胞,计算各阶段白细胞百分率。怀疑CML急变者加做细胞化学染色:过氧化酶染色、碱酶染色、糖原染色、非特异性酯酶及加氟化钠抑制染色等。通过染色结果判断急变类型。

1.3.2 染色体核型分析 于髂后上棘行骨髓穿刺采集骨髓,肝素抗凝,短期培养法制备骨髓染色体,制片及G显带,按人类细胞遗传学国际命名标准进行描述。计数30个细胞的染色体数,分析3~5个分裂相细胞的核型,对核型异常者增加计数和分析。

表 1 CML 患者的临床特征
Tab.1 Clinical characteristics of CML patients

No.	Gender	Age	GR	Therapy	WBC ($\times 10^9/L$)	Myeloblast	Karyotype	BCR/ABL (%)
1	Female	23	CP	Hu/IM/AMN107	5.35	0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[2]	17
2	Male	55	CP	No therapy	200.40	5.0	46,xy,t(9;22)(q34;q11) ^[4]	87
3	Male	54	CP	Hu/IM	5.50	0	46,xy ^[10]	0
4	Male	46	CP	Hu/IM	3.40	0	Normal	83
5	Male	36	CP	Hu/IM	3.20	0	Normal	8
6	Female	40	CP	No therapy	32.40	4.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[5] /46,xx,t(3;12)t(9;22) ^[4]	95
7	Female	23	CP	Hu/IFN	6.34	0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[1]	93
8	Male	63	CP	Hu/IM	5.43	1.0	46,xy,t(9;22)(q34;q11) ^[6]	85
9	Female	43	CP	No therapy	154.30	6.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[5]	92
10	Female	23	CP	Hu/IM	5.80	2.5	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[2]	27
11	Male	22	CP	Hu	28.60	4.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[12]	90
12	Female	33	CP	Hu/IM	7.60	0.5	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[5]	20
13	Male	39	AP	Hu/IM/AMN107	8.65	7.0	Normal	97
14	Male	46	AP	Hu/IM	3.06	0.5	50,xy+8+8+19+20,t(9;22) ^[11] /46,xy,t(9;22) ^[2]	95
15	Male	18	AP	Hu/IM	29.60	5.5	Normal	100
16	Female	39	BP to ALL	Hu/IM	47.10	79.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[14] /45,xx-1,t(9;22) ^[1]	96
17	Female	23	BP to AML	Hu/IM	24.03	25.0	53,xx+8+9+13+14+17+21+21,t(9;22) ^[11]	88
18	Female	52	BP to ALL	Hu/IM	28.60	89.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[2]	44
19	Female	37	AP	Hu/IM	3.69	6.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[17]	96
20	Male	43	BP to AML	Hu/IM	100.00	48.0	46,xy,inv(3)(q21;q26)t(9;22) ^[5]	98
21	Male	45	BP to AML	Hu/IM	53.95	24.0	46,xy,t(9;22)(q34;q11) ^[3] /45,xy,-16,t(9;22) ^[1]	70
22	Male	44	BP to AML	Hu/IM/AMN107	8.50	23.0	46,xy,t(9;22)(q34;q11) ^[14]	90
23	Male	41	BP to ALL	Hu/IM/AMN107	85.58	68.0	46,xx,t(9;22)(q34;q11) ^[4]	96
24	Male	35	AP	Hu	31.65	12.0	46,xx,t(1;8)t(9;22) ^[4]	80

表 2 CML 患者分组的临床资料
Tab.2 Clinical data of CML patients in different groups

Group	N	Gender (M/F)	Age	WBC ($\times 10^9/L$)	Myeloblast	Primitive lymphocyte	BCR/ABL (%)
CML-CP	12	6/6	38(22~63)	38.19 \pm 66.45	0.75(0~6)	0.046(0~10.02)	58.08 \pm 39.21
CML-AP/BP	12	8/4	40(18~52)	32.03 \pm 33.41	23.5(50~89)	4.90(0.015~58.19)	87.50 \pm 16.21
Total	24	14/10	39.5(18~63)	35.11 \pm 51.53	5.25(0~89)	1.22(0~58.19)	72.79 \pm 32.97

1.3.3 荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)检测间期细胞 *BCR/ABL* 融合基因 将骨髓标本进行低渗处理,固定细胞并重悬细胞,滴片并风干,划定杂交区域,将 10 μ l *BCR/ABL* 双色单融合探针装入 0.5 ml 离心管中置 73 $^{\circ}$ C 水浴箱中变性。将探针加在划定的杂交区域内,加盖玻片,封片,置湿盒 37 $^{\circ}$ C 杂交 12~16 h。洗脱玻片,加 DAPI 液 10 μ l 复染。在荧光显微镜下通过三色滤光片(DAPI/TRITC/FITC)观察计数 500 个间期细胞中荧光信号并记录。红色信号为 *BCR*,绿色信号为 *ABL*。正常细胞间期核可见 2 红 2 绿彼此分离的 4 个杂交信号;具有 t(9;22)易位的间期细胞核中,可见 1 红 1 绿 2 个杂交信号及 1 个黄色的融合信号。

1.3.4 RTQ-PCR 检测 *HMGA2* 基因 取抗凝静脉血 2 ml 分离单个核细胞,应用 TRIzol 试剂盒,按说明书提取总 RNA。按照 TaKaRa 的 PrimeScript RT 试剂盒说明书合成 cDNA。分别进行 *HMGA2* 及 *GAPDH* 的 PCR 反应。使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒纯化回收常规 PCR 产物,构建质粒标准品。RTQ-PCR 反应体系总体积为 50 μ l(master mix 25 μ l,上游引物 1 μ l,下游引物 1 μ l, TaqMan 探针 2 μ l, cDNA 模板 5 μ l, 双蒸水 16 μ l)。扩增条件:95 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 10 s, 共 40 个循环,每份标本同时检测 *HMGA2* 及内对照 *GAPDH*, 同时设 1 个空白对照组(由双蒸水替代)及标准品组。每次实验将各个已经梯度稀释的质粒标准品的拷贝数作为横坐标,其对应得到的循环阈值(threshold cycle value, Ct)作为纵坐标,定量 PCR 仪自动绘制标准曲线。将各个样本的平均 Ct 值代入各自相应的标准曲线,就可求出 *HMGA2* 和 *GAPDH* 的拷贝数。对高中低不同浓度质粒在同一次 RTQ-PCR 反应中各测 6 个平行管,计算变异系数(CV)。连续 5 d 每天检测标本 1 次,计算 CV 值。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 11.0 统计软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。CML 患者不同阶段 *HMGA2* 转录水平比较采用秩和检验;*HMGA2* 转录水平分别与 *BCR/ABL* 融合基因水平、外周血血液学参数相关性分析采用 Spearman 法。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CML 患者 *BCR/ABL* 融合基因的表达情况

FISH 检测所有 CML 患者 *BCR/ABL* 阳性细胞百分率,其中 12 例 CML-CP 患者 *BCR/ABL* 阳性细胞率为(58.08 \pm 39.2)%(0%~95%),12 例 CML-AP/BP 患者 *BCR/ABL* 阳性细胞率为(87.50 \pm 16.21)%(40%~100%),可见 CML-AP/BP 患者 *BCR/ABL* 融合基因数目高于 CML-CP 患者。FISH 检测 *BCR/ABL* 融合基因表达的典型图例见图 1。

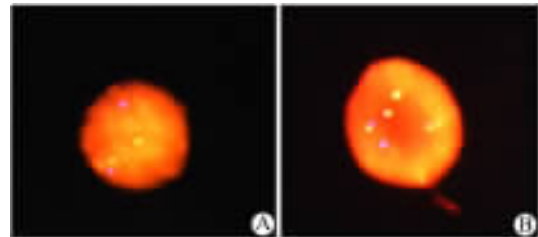


图1 FISH 法检测 CML 患者 *BCR/ABL* 融合基因信号($\times 100$)

Fig.1 *BCR/ABL* fusion gene signals of CML patients as detected by FISH($\times 100$)

A: *BCR/ABL* fusion gene was negative(case 3);
B: *BCR/ABL* fusion gene was positive(case 14)

2.2 CML 患者 *HMGA2* 基因的表达情况

2.2.1 RTQ-PCR 检测 *HMGA2* 表达的标准曲线 目的基因 *HMGA2* 及内参基因 *GAPDH* 的 PCR 产物构建重组质粒,测序,显示插入片段与预期片段序列一致,RTQ-PCR 检测 *HMGA2* 标准曲线的建立(图 2,3,4)。

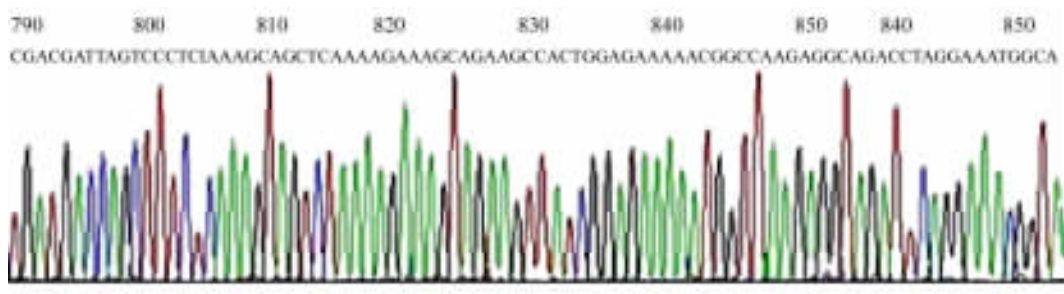


图2 *HMGA2* 重组质粒测序结果

Fig.2 Sequencing result of *HMGA2* recombinant plasmid

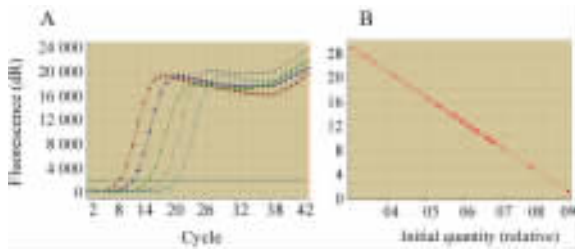


图3 标准品 *GAPDH* 的 RTQ-PCR 扩增曲线(A)及标准曲线(B)

Fig. 3 Amplification (A) and standard curves (B) of standard *GAPDH* as detected by PTQ-PCR

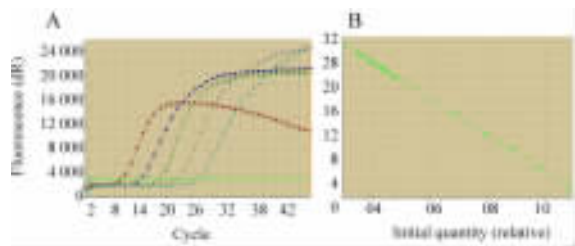


图4 待测样品 *HMGA2* 的 RTQ-PCR 扩增曲线(A)及标准曲线(B)

Fig. 4 Amplification (A) and standard curves (B) of *HMGA2* in experimental samples as detected by PTQ-PCR

2.2.2 RTQ-PCR 重复检测的 CV 值 批内差异:高、中、低浓度质粒模板的同一次 RTQ-PCR 反应中的 Ct 值分别为 10.91 ± 0.18 、 17.43 ± 0.32 、 26.48 ± 0.67 , CV 分别为 1.65%、1.84%、2.53%。批间差异:连续 5 d 检测上述质粒标本, CV 分别为 3.80%、3.21%、4.88%。

2.2.3 CML 患者的 *HMGA2* 转录水平 用 *HMGA2* 拷贝数/*GAPDH* 拷贝数的比值来表示 *HMGA2* 相对转录水平,最终结果按健康对照者 *HMGA2* 转录水平平均值作基准校正,结果见图 5。其中 X 轴表示标本编号, Y 轴表示 *HMGA2* 转录相对水平。X 轴第 1~5 格为正常对照组,其值已用平均值代替;第 6~17 格表示 CML-CP 患者 *HMGA2* 表达水平,第 18~29 格表示 CML-AP/BP 患者 *HMGA2* 表达水平。结果显示,12 例 CML-CP 患者 *HMGA2* 相对表达量为 2.39 ± 1.86 , 12 例 CML-AP/BP 患者 *HMGA2* 相对表达量为 91.78 ± 14.07 , 其中第 20、21、22 及 25 格中 *HMGA2* 表达较其他格有明显升高。

2.3 CML 患者不同阶段 *HMGA2* mRNA 表达水平的比较

转录水平经检验不服从正态分布,因此不同疾病阶段水平比较采用秩和检验。12 例 CML-AP/BP

患者的转录水平平均秩次为 6.5, 12 例 CML-CP 患者的转录水平平均秩次为 18.5。CML-AP/BP 患者的转录水平与 CML-CP 患者之间的差异有统计学意义($Z = -4.157, P < 0.01$)。CML-CP 患者与 5 例正常对照之间比较,正常对照者转录水平平均秩次为 6.8, CML-CP 患者平均秩次为 9.92, 两者差异无统计学意义($Z = -1.160, P = 0.246$)。

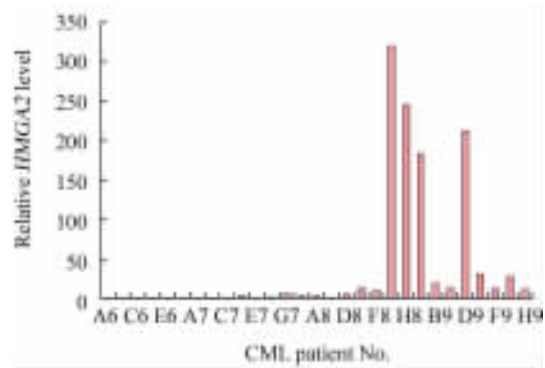


图5 CML 患者 *HMGA2* 表达的相对定量水平

Fig. 5 Relative quantities of *HMGA2* expression levels of CML patients

表3 CML-CP 与 CML-AP/BP 患者 *HMGA2* 转录水平比较
Tab.3 Comparison of *HMGA2* transcription levels between CML-CP and CML-AP/BP patients

Group	N	Average rank	Rank sum	Z	P
CML-CP	12	6.5	78.00	-4.157	<0.01
CML-AP/BP	12	18.5	222.00		

2.4 CML 患者 *HMGA2* 转录水平与 *BCR/ABL* 融合基因水平、外周血血液学参数的相关性

BCR/ABL 融合基因水平用 FISH 检测阳性细胞百分率表示。结果显示, CML 患者 *HMGA2* 转录水平与 *BCR/ABL* 融合基因水平之间不存在相关关系($r = 0.078, P = 0.471$); CML 患者 *HMGA2* 水平与其外周血白细胞数无相关关系($r = -0.067, P = 0.0654$)。在 CML-AP/BP 患者中, *HMGA2* 转录水平与外周血原幼细胞数(血常规白细胞数乘血涂片原幼细胞百分比的乘积)呈正相关关系($r = 0.636, P = 0.017$)。

3 讨论

HMGA2 又称 HMGIC (high mobility group protein isoform I-C) 蛋白, 是一种小分子核染色质结合

蛋白,为高迁移蛋白家族成员之一,位于12号染色体12q15区,全长109个氨基酸,其氨基端含有3个短的基础重复序列编码结构域,能与DNA分子小沟内的A-T丰富区结合,称之为AT-hooks结构。*HMGA2*基因本身没有转录活性,但可作为构筑因子,与DNA结合并改变其空间结构,通过复杂的蛋白质-DNA、蛋白质-蛋白质相互作用网络,统筹核蛋白复合物的装配,从而调控多种基因转录,已成为目前研究的热点。

多种恶性肿瘤组织中均发现*HMGA2*异常表达。本研究采用实时荧光定量PCR检测CML各期患者外周血细胞中*HMGA2*的表达,结果显示,在CML不同进展时期,*HMGA2*转录水平有显著性差异。*HMGA2*在正常人和CML-CP期不表达或是低表达,而在AP/BP期表达异常增高,这可能与急变过程中大量原始幼稚白血病细胞增殖有关。本结果与Meyer等^[5]研究结果相类似,具体机制有待进一步研究。CML-AP/BP患者疾病严重程度越高[同时出现附加异常核型的患者往往易进入急变期(4/6)],*HMGA2*表达水平也随之越高(图5第20、21、22及25格)。由此提示,*HMGA2*表达水平在一定程度上反映着疾病的进展及严重程度。*HMGA2*异常表达常常与早期转移、高度恶性表型、预后不良及较短的生存期相关^[3]。

目前认为,*HMGA2*参与肿瘤发生、发展的机制^[6-9]包括:(1)抑制DNA修复系统激活;(2)通过多种途径干扰正常细胞周期;(3)通过上皮间质转化作用诱导肿瘤发生;(4)染色体重排诱发肿瘤。近期研究^[10-12]表明,*HMGA*蛋白可作为构筑因子,通过改变DNA分子结构参与调节大量下游靶基因的转录;此外,*HMGA2*基因启动子区含有大量转录调控位点,在肿瘤发生过程中受其上游转录因子的调控^[13-15]。因此,可进一步研究*HMGA2*基因的调控通路及其对白血病发生的影响。另外,大量研究^[16-18]表明,*HMGA*蛋白可接受磷酸化、甲基化、乙酰化等翻译后修饰,进而影响其生物学功能。目前*HMGA2*已在某些肿瘤的鉴别诊断、预后判断中显示了一定的价值^[19],其可能成为有价值的分子标记。利用反义技术体内外实验中阻遏*HMGA2*表达,也显示了抑制肿瘤转化或生长的效果^[20]。还有研究^[21]发现,*HMGA2*表达增高可增强肿瘤对包括多柔比星、顺铂等化疗药物在内的拓扑异构酶2抑制剂的敏感性,提示*HMGA2*的检测可为选择化疗方案提供参考依据。

本实验虽然未发现*HMGA2*基因转录水平与

*BCR/ABL*融合基因水平、外周血白细胞数之间具有相关性,但是可见有相关性的趋势;提示在CML疾病进展中,*HMGA2*与*BCR/ABL*可能通过不同途径发挥作用,也可能与临床标本量不多有关。另外,CML急性期阶段其他因子,如急性期各种炎症因子也可诱使*HMGA2*蛋白表达增高^[22]。本实验中所选临床病例无感染表现,CRP、血沉、前降钙素等均不高,可基本排除炎症因子的干扰。

有关CML患者外周血中*HMGA2*表达检测的国内研究较少。实时荧光定量PCR检测CML患者外周血中*HMGA2*的表达具有较高的敏感性和特异性,不同于常规细胞遗传学分析易受到分裂相数量、质量及细胞生长状态、分带技术等影响,且操作方便。因此,*HMGA2*检测有望在CML急变监测上发挥作用,也可能在CML治疗上成为新的靶点。

[参考文献]

- [1] 吴德沛. 慢性髓细胞白血病[M]//陆再英,钟南山. 内科学. 7版. 北京:人民卫生出版社,2008:609-613.
- [2] 朱红倩,张嵩,刘晓力. 慢性髓系白血病急变期分子遗传学研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2008,17(1):217-221.
- [3] 陈珊珊. 慢性粒细胞白血病[M]//张之南,沈梯. 血液病诊断及疗效标准. 3版. 北京:科学出版社,2008:135-136.
- [4] Meyer B, Krisponeit D, Junghanss C, Escobar MH, Bullerdiek J. Quantitative expression analysis in peripheral blood of patients with chronic myeloid leukaemia: correlation between *HMGA2* expression and white blood cell count [J]. *Leuk Lymphoma*, 2007, 48(10): 2008-2013.
- [5] Huang ML, Chen CC, Chang LC. Gene expressions of *HMGI-C* and *HMGI(Y)* are associated with stage and metastasis in colorectal cancer [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2009, 24(11): 1281-1286.
- [6] Santulli B, Kazmierczak B, Napolitano R, Caliendo I, Chiappetta G, Rippe V, et al. A 12q13 translocation involving the *HMGI-C* gene in richter transformation of a chronic lymphocytic leukemia [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2000, 119(1): 70-73.
- [7] Pierantoni GM, Santulli B, Caliendo I, Pentimalli F, Chiappetta G, Zanesi N, et al. *HMGA2* locus rearrangement in a case of acute lymphoblastic leukemia [J]. *Int J Oncol*, 2003, 23(2): 363-367.
- [8] Andrieux J, Demory JL, Dupriez B, Quief S, Plantier I, Roumier C, et al. Dysregulation and overexpression of *HMGA2* in myelofibrosis with myeloid metaplasia [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2004, 39(1): 82-87.
- [9] Otero MD, Grand FH, Iqbal S, Ross F, Roman JP, Vizmanos JL, et al. Disruption and aberrant expression of *HMGA2* as a consequence of diverse chromosomal translocations in myeloid malignancies [J]. *Leukemia*, 2005, 19(2): 245-252.
- [10] Cleynen I, Van de Ven WJ. The *HMGA* proteins: a myriad of functions [J]. *Int J Oncol*, 2008, 32(2): 289-305.
- [11] Bormann L, Schwanbeck R, Heyduk T, Seebeck B, Rogalla P,

- Bullerdiek J, *et al.* High mobility group A2 protein and its derivatives bind a specific region of the promoter of DNA repair gene ERCC1 and modulate its activity [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31 (23): 6841-6851.
- [12] Adair JE, Maloney SC, Dement GA, Wertzler KJ, Smerdon MJ, Reeves R. High mobility group A1 proteins inhibit expression of nucleotide excision repair factor xeroderma pigmentosum group A [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(13): 6044- 6052.
- [13] Giannini G, Cerignoli F, Mellone M, Massimi I, Ambrosi C, Rinaldi C, *et al.* High mobility group A1 is a molecular target for MYCN in human neuroblastoma [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (18): 8308-8316.
- [14] Borrmann L, Wilkening S, Bullerdiek J. The expression of HMGA genes is regulated by their 3'UTR [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (33): 4537-4541.
- [15] Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(9): 1025-1030.
- [16] Di Agostino S, Fedele M, Chieffi P, Fusco A, Rossi P, Geremia R, *et al.* Phosphorylation of high-mobility group protein A2 by Nek2 kinase during the first meiotic division in mouse spermatocytes [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(3): 1224-1232.
- [17] Zhang Q, Zhang K, Zou Y, Perna A, Wang Y. A quantitative study on the *in vitro* and *in vivo* acetylation of high mobility group A1 proteins [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18(9): 1569-1578.
- [18] Zou Y, Webb K, Perna AD, Zhang Q, Clarke S, Wang Y. A mass spectrometric study on the *in vitro* methylation of HMGA1a and HMGA1b proteins by PRMTs: methylation specificity, the effect of binding to AT-rich duplex DNA, and the effect of C-terminal phosphorylation [J]. *Biochemistry*, 2007, 46(26): 7896-7906.
- [19] Belge G, Meyer A, Klemke M, Burchardt K, Stern C, Wosniok W, *et al.* Upregulation of HMGA2 in thyroid carcinomas: a novel molecular marker to distinguish between benign and malignant follicular neoplasias [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2008, 47 (1): 56-63.
- [20] Chau KY, Manfioletti G, Cheung-Chau KW, Fusco A, Dhomen N, Sowden JC, *et al.* Derepression of HMGA2 gene expression in retinoblastoma is associated with cell proliferation [J]. *Mol Med*, 2003, 9(5-8): 154-165.
- [21] Boo LM, Lin HH, Chung V, Zhou B, Louie SG, O'Reilly MA, *et al.* High mobility group A2 potentiates stress in part through the modulation of basal and DNA damage-dependent phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase activation [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6622-6630.
- [22] Wang H, Yang H, Tracey KJ. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis [J]. *J Intern Med*, 2004, 255 (3): 320-331.
- [收稿日期] 2009 - 11 - 15 [修回日期] 2010 - 01 - 28
[本文编辑] 韩 丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

正确使用数的修约规则

在生物医学领域的各种研究中,对实验检测和计算所得的数据往往都要进行修约。过去习惯使用“四舍五入法”进行数的修约,该方法是不正确的,我们应将其废除。根据国家标准《出版物上数字用法的规定》,数的修约应遵照“四舍六入”的法则进行,具体介绍如下:

(1) 数的修约规则的简明口诀: 4 舍 6 入 5 看后, 5 后有数便进 1, 5 后为 0 看左数, 左数奇进偶舍弃。

(2) 数的修约操作示例见表 1。

表 1 数的修约操作示例

口 诀	示 例	
	已知数	修约数(设保留 1 位小数)
4 舍 6 入 5 看后	5.741 8	5.7
	5.761 8	5.8
5 后有数便进 1	5.751 8	5.8
5 后为 0 看左数		
左为奇数要进 1	5.750 0	5.8
左为偶数则舍弃	5.650 0	5.6
	5.050 0	5.0(0 为偶数)
无论舍弃多少位	5.745 46	5.7(不是由 5.7455→
均须一次修完毕		5.746→5.75→5.8)

(本刊编辑部)