

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.04.004

BCL6、*KLF5*、*NCL* 基因在儿童急性淋巴细胞白血病中异常表达的特点

朱琳¹, 郑胡镛¹, 刘潇¹, 邹丽敏¹, 杜超豪¹, 赵晓曦¹, 李志刚¹, 吴慧兰², 鲍时来^{2△}(1. 首都医科大学附属北京儿童医院血液科, 北京 100045; 2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

[摘要] 目的: 研究转录因子基因 *BCL6*、*KLF5* 及核仁蛋白基因 *NCL* 在急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL) 患儿骨髓细胞中的表达情况及其在不同疾病状态下的表达特点。方法: 选取北京儿童医院 2004 年 1 月至 2005 年 12 月住院 ALL 患儿 100 例, 另取由于骨骼畸形而在北京儿童医院进行外科手术的 5 例非 ALL 患儿作对照; 以基因芯片检测 ALL 患儿骨髓细胞中异常表达基因, GeXP 多重基因表达分析系统检测 *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 基因在另外选取的 10 例配对 ALL 患儿初诊及缓解期的表达变化。结果: 基因芯片筛查发现, 在 100 例各亚型 ALL 标本中, *BCL6* 和 *KLF5* mRNA 表达均下调, *NCL* mRNA 表达均上调。 *BCL6* 和 *KLF5* mRNA 在 10 例 ALL 初诊患儿骨髓细胞中表达较低, 完全缓解后表达升高(0.380 ± 0.16 vs 0.850 ± 0.10 , 0.074 ± 0.021 vs 0.228 ± 0.049 ; 均 $P < 0.01$); *NCL* mRNA 在 ALL 初诊患儿骨髓细胞中表达较高, 完全缓解后表达降低(0.234 ± 0.054 vs 0.151 ± 0.055 , $P < 0.01$)。在 10 例配对患者儿中, *TEL-AML1* 阳性及 *E2A-PBX1* 阳性组患儿的初诊及缓解期骨髓细胞中, 该 3 个基因在两组中的表达变化趋势一致。结论: ALL 患儿骨髓细胞中 *BCL6*、*KLF5* 基因在初诊时表达下调、在临床缓解后表达上调, *NCL* 基因初诊时上调、临床缓解后下调; 该 3 个基因似可作为白血病的分子标志物及疗效的监测指标。

[关键词] 儿童急性淋巴细胞白血病; *BCL6*; *KLF5*; *NCL*; GeXP 分析系统

[中图分类号] R733.71; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)04-0362-06

Aberrant expression of *BCL6*, *KLF5*, and *NCL* in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia

ZHU Lin¹, ZHENG Hu-yong¹, LIU Xiao¹, ZOU Li-min¹, DU Chao-hao¹, ZHAO Xiao-xi¹, LI Zhi-gang¹, WU Hui-lan², BAO Shi-lai^{2△}(1. Department of Haematology, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China; 2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of transcription factor genes *BCL6*, *KLF5* and nuclear protein gene *NCL* in the bone marrow cells of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in different ALL stages. **Methods:** A total of 100 pediatric ALL samples were selected from patients treated in Beijing Children's Hospital from January, 2004 to December, 2005. Five non-ALL patients were used as control. The aberrantly expressed genes in the bone marrow cells were examined by microarray assay; the mRNA levels of *BCL6*, *KLF5*, and *NCL* genes were detected in paired bone marrow samples during preliminary diagnosis and after complete remission by GeXP multiple gene expression analysis system. **Results:** The microarray results suggested that *BCL6* and *KLF5* mRNA levels were down-regulated and *NCL* mRNA level was up-regulated in all the 100 ALL samples, which including various subtypes. The mRNA levels of *BCL6* and *KLF5* in 10 pediatric ALL were low during preliminary diagnosis and elevated after complete remission (0.380 ± 0.16 vs 0.850 ± 0.10 , 0.074 ± 0.021 vs 0.228 ± 0.049 , both $P < 0.01$); the mRNA level of *NCL* was high during preliminary diagnosis and decreased after complete remission (0.234 ± 0.054 vs 0.151 ± 0.055 , $P < 0.01$). The

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30973239);北京市自然科学基金资助项目(No. 7102055)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30973239), and the Natural Science Foundation of Beijing (No. 7102055)

[作者简介] 朱琳(1985-),女,北京市人,硕士生,主要从事儿童白血病发病机制的研究。E-mail: keyihenkuaile@126.com

[通信作者] 郑胡镛(ZHENG Hu-yong, corresponding author), E-mail: zhenghuyong@vip.sina.com; 鲍时来(BAO Shi-lai, corresponding author), E-mail: slbao@genetics.ac.cn。△共同通信作者

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110714.1102.012.html>

expression patterns of the three genes were similar between *TEL-AML1* and *E2A-PBX1* positive ALL patients during preliminary diagnosis and after complete remission. **Conclusion:** *BCL6* and *KLF5* are down-regulated in the bone marrow cells of pediatric ALL during preliminary diagnosis and are elevated after complete remission; the expression pattern of *NCL* shows an opposite trend to those of *BCL6* and *KLF5*. The three genes have a potential to serve as predictive biomarkers for evaluating the therapeutic effect of leukemia.

[**Key words**] pediatric acute lymphoblastic leukemia; *BCL6*; *KLF5*; *NCL*; GeXP analysis system

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(4): 362-367]

急性白血病是儿童期最常见的恶性肿瘤,其中 75%~80% 为急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)。20 世纪 80 年代以来,由于多药联合化疗及强有力的支持治疗,儿童 ALL 的治愈率在世界发达国家已达 80% 以上。但近 30 年来,ALL 治疗进入了瓶颈期,治愈率无明显提高,其中最主要的原因就是儿童白血病的发病机制至今仍然不甚清楚。想要突破现有的诊治水平,发病机制的深入研究是根本,新的靶点是研究的焦点^[1-2]。转录因子基因 *BCL6*、*KLF5* 和核仁蛋白基因 *NCL* 与肿瘤的发生密切相关。*BCL6* 定位在染色体 3q27,编码转录抑制因子,在淋巴结生发中心的形成及淋巴细胞增殖、分化及功能调节中具有重要作用^[3]。*KLF5* 定位在染色体 13q21,编码转录因子,在调节细胞分化、增殖、凋亡及迁移中发挥重要作用^[4]。*NCL* 定位在染色体 2q12,编码核仁蛋白,参与染色质结构维持、rDNA 转录、rRNA 成熟、核糖体组装及核质穿梭等^[5]。本课题对 100 例 ALL 患儿骨髓细胞进行了基因表达谱芯片检测,发现各亚型 ALL 标本中,*BCL6*、*KLF5* mRNA 均表达下调,*NCL* mRNA 均表达上调;进一步以 GeXP 多重基因分析系统检测 10 例配对 ALL 患儿初诊及缓解期骨髓细胞中该 3 个表达差异基因转录水平表达的变化,探讨这些基因在 ALL 疾病不同状态下的表达特点。

1 材料与方法

1.1 病例的选择

随机选取北京儿童医院 2004 年 1 月至 2005 年 12 月 100 例 ALL 患儿(ALL 亚型分布见表 1),同时选取由于骨骼畸形而在北京儿童医院进行外科手术的 5 例非 ALL 患儿作为对照,用基因芯片检测 ALL 患儿骨髓细胞中差异表达基因。随机选取北京儿童医院 2005 年 11 月至 2009 年 4 月收治的 10 例 ALL 患儿,收集治疗前及经北京儿童医院 ALL 治疗 2003 方案(BCH-03 方案)治疗后完全缓解的骨髓标本,用 GeXP 多重基因表达系统检测基因芯片筛查到的部分差异表达基因在初诊及缓解时 mRNA 水平的

表达变化情况。10 例样本中,6 例为 *TEL-AML1* 融合基因阳性,4 例为 *E2A-PBX1* 融合基因阳性。所有 ALL 患儿均由北京儿童医院完成临床、形态学、细胞化学染色及免疫学确诊,确诊后入院进行规范化疗及定期随访。实验标本来源均为患者临床诊断后的剩余骨髓。全部研究程序得到医院伦理委员会批准和患儿及其家长的知情同意。

表 1 100 例 ALL 患儿的亚型分布
Tab.1 Subtype distribution of 100 ALL patients

ALL subtype	Number of case
<i>BCR-ABL</i>	6
<i>E2A-PBX1</i>	7
<i>MLL-AF4</i>	4
<i>T-ALL</i>	10
<i>TEL-AML1</i>	29
No fusion B ALL	44

1.2 RNA 提取和 cDNA 合成

无菌抽取骨髓 2 ml,使用乙二胺四乙酸盐(EDTA)抗凝。加入淋巴细胞分离液提取单个核细胞后,加入 TRIzol(美国 Gibco/BRL 公司)1 ml,混匀后置置于 -80 °C 冰箱备用。单个核细胞总 RNA 提取时,严格按照 TRIzol 试剂产品说明书操作。按 MMLV 逆转录酶产品说明,采用逆转录引物将 RNA 特异性逆转录为 cDNA。

1.3 基因表达谱芯片检测 ALL 患儿骨髓细胞中的差异表达基因

按照上述 TRIzol 法提取总 RNA,并对总 RNA 进行定量、质检。采用 RNA 扩增标记法合成生物素标记的 cRNA,与 HG-U133A 2.0(Affymetrix Incorporated)芯片杂交,采用 RankProd 程序识别差异表达基因。

1.4 GeXP 多重基因表达系统检测 ALL 患儿骨髓细胞中部分差异表达基因的表达水平

GeXP 多重基因表达系统共检测基因芯片筛查到的典型差异表达的 3 个基因(*BCL6*、*KLF5*、*NCL*)

的表达情况,以 GAPDH 作为内参基因。引物使用 DNASTAR 软件设计,由 Invitrogen 公司合成(表 2)。

表 2 用于 GeXP 多重基因表达系统的引物
Tab.2 Primers used for GeXP multiple gene expression analysis system

Gene	Primer sequence
<i>BCL6</i>	Sense primer: 5'-AGGTGACACTATAGAATAAGAAGAGAGACCCTCCTCGG-3'
	Reverse primer: 5'-GTACGACTCACTATAGGGAGCATTTCTGGTTGAGGCTGTT-3'
<i>KLF5</i>	Sense primer: 5'-AGGTGACACTATAGAATAAGTTTCTTCCACAACAGGCC-3'
	Reverse primer: 5'-GTACGACTCACTATAGGGAATTGTAGCAGCATAGGATGGAG-3'
<i>NCL</i>	Sense primer: 5'-AGGTGACACTATAGAATAGAGCCTGTCAAAGAAGCACC-3'
	Reverse primer: 5'-GTACGACTCACTATAGGGAAACCAGTGAGTTCCAACGCT-3'
<i>GAPDH</i>	Sense primer: 5'-AGGTGACACTATAGAATAAATCCCATCACCATCTTCCA-3'
	Reverse primer: 5'-GTACGACTCACTATAGGGATTACACCCATGACGAACAT-3'

GeXP 多重基因表达试剂盒(GenomeLab™ GeXP Start Kit)购自美国贝克曼库尔特公司。检测所用白血病病毒逆转录酶购自美国 Amersham Pharmacia Biotech 公司;GeXP 遗传分析系统为美国 Beckman Coulter 公司产品,型号为 CEQ8000。

PCR 反应体系:5'端混合引物 1 μl(引物终浓度为 200 nmol/L),3'端混合引物 1 μl(引物终浓度为 500 nmol/L),GeXP PCR Buffer 2 μl,Taq 酶 0.3 μl, Mg²⁺ 2 μl,cDNA 模板 3.7 μl。PCR 条件:95 °C 10 min,94 °C 30 s,55 °C 30 s,72 °C 1 min,共进行 35 个循环。将 1 μl PCR 产物加入 96 孔板,再将甲酰胺(sample loading solution)与内标 marker DNA 标准品 400 混匀后加入 96 孔板,进行毛细管电泳分离。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,对所得数据进行 t 检验,P < 0.05 或 P < 0.01 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ALL 患儿骨髓细胞中 *BCL6*、*KLF5* 和 *NCL* 基因的表达存在显著差异

对 100 例 ALL 患儿骨髓细胞进行了基因表达谱芯片检测,以 5 例非 ALL 患儿骨髓细胞作为对照。分析结果提示,与对照相比,在各亚型 ALL 标本中,*BCL6*、*KLF5* mRNA 表达均下调,*NCL* mRNA 表达均上调,这 3 个基因在各亚型 ALL 中的表达变化均在 1.5 倍以上。*BCL6*、*KLF5*、*NCL* 在 100 例

ALL 标本中的平均表达量(芯片探针组信号强度)分别为 156.05 ± 128.51、28.71 ± 5.88、1951.37 ± 384.61;在 5 例非 ALL 标本中的平均表达量分别为 758.36、195.70、1229.49。对这 3 个基因在 ALL 各亚型之间的表达分析显示,*BCL6*、*KLF5* 在 *MLL-AF4* 亚型组中表达量明显低于其他亚型组(P < 0.05),*NCL* 在 *MLL-AF4* 亚型组中表达量高于其他亚型组(P < 0.01),但这 3 个基因在 *MLL-AF4* 外其他各亚型组间表达的差异无统计学意义(数据未显示)。

2.2 *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 在 10 例配对 ALL 患儿初诊及缓解期骨髓细胞中表达的比较

为进一步探讨 *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 基因在 ALL 疾病不同状态下(初诊与缓解期)的表达变化情况,本研究又分别对 10 例配对 ALL 患儿初诊及缓解期骨髓细胞采用 GeXP 多重基因表达系统检测了 *BCL6*、*KLF5* 和 *NCL* mRNA 的表达水平及其变化。结果(图 1)发现,*BCL6* mRNA 在 10 例 ALL 患儿初诊骨髓细胞中均表达较低,平均表达量为 0.380 ± 0.16,经临床治疗达到完全缓解后,均表达升高,平均表达量为 0.850 ± 0.10,约为初诊表达水平的 2 倍(P < 0.05);*KLF5* mRNA 在 10 例 ALL 初诊患儿中的平均表达量为 0.074 ± 0.021,经临床治疗达到完全缓解后,平均表达量升高约 3 倍,为 0.228 ± 0.049(P < 0.05);*NCL* mRNA 在初诊 ALL 患儿骨髓细胞中平均表达量为 0.234 ± 0.054,经临床治疗完全缓解后,表达降低,平均表达量为 0.151 ± 0.055(P < 0.05)。结果说明,在 ALL 患儿骨髓细胞中,*BCL6*、

KLF5 表达初诊时较低,经临床治疗达到完全缓解后升高;*NCL* 初诊时表达较高,经临床治疗达到完全缓解后降低。

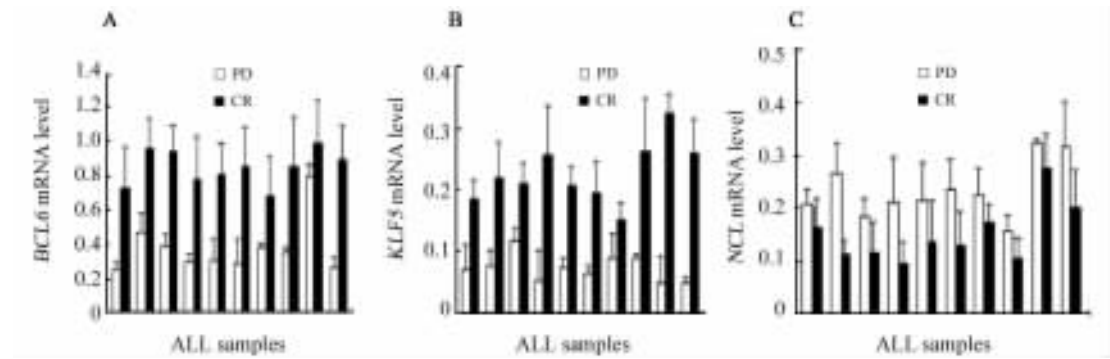


图1 10例 ALL 初诊及缓解患儿骨髓细胞中 *BCL6* (A)、*KLF5* (B)和 *NCL* (C) mRNA 的表达

Fig.1 Expressions of *BCL6* (A), *KLF5* (B) and *NCL* (C) mRNA in bone marrow cells of 10 ALL patients during preliminary diagnosis and complete remission

2.3 10例 ALL 患儿两亚型间 *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 表达的变化

本研究进一步将10例 ALL 患儿标本按不同融合基因型分为两组,其中6例为 *TEL-AML1* 阳性、4例为 *E2A-PBX1* 阳性。对两组病例的定量 PCR 数据进行分析,结果(图2)发现,在 *TEL-AML1* 阳性组或 *E2A-PBX1* 阳性组, *BCL6* mRNA 在初诊患儿骨髓细胞中均低表达,分别为 0.288 ± 0.035 和 0.510 ± 0.197 ;经临床治疗达到完全缓解后表达均升高,表达量分别为 0.820 ± 0.060 和 0.893 ± 0.143 ($P < 0.05$),但两组亚型间无差异 ($P > 0.05$)。 *KLF5* mRNA 在初诊 *TEL-AML1* 阳性组和 *E2A-PBX1* 阳性

组骨髓细胞中表达量分别为 0.067 ± 0.014 和 0.084 ± 0.028 ,完全缓解后表达升高,分别为 0.228 ± 0.035 和 0.227 ± 0.072 ,但两组亚型间无差异 ($P > 0.05$)。在 *TEL-AML1* 阳性组或 *E2A-PBX1* 阳性组,初诊患儿骨髓细胞中 *NCL* mRNA 表达水平较高 (0.224 ± 0.053 和 0.250 ± 0.058),经治疗完全缓解后表达降低 (0.138 ± 0.039 和 0.170 ± 0.076 ,均 $P < 0.05$)。但两组亚型间无差异 ($P > 0.05$)。此结果提示,无论 *TEL-AML1* 阳性组或 *E2A-PBX1* 阳性组 ALL 患儿, *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 基因在两组间的表达变化趋势一致。

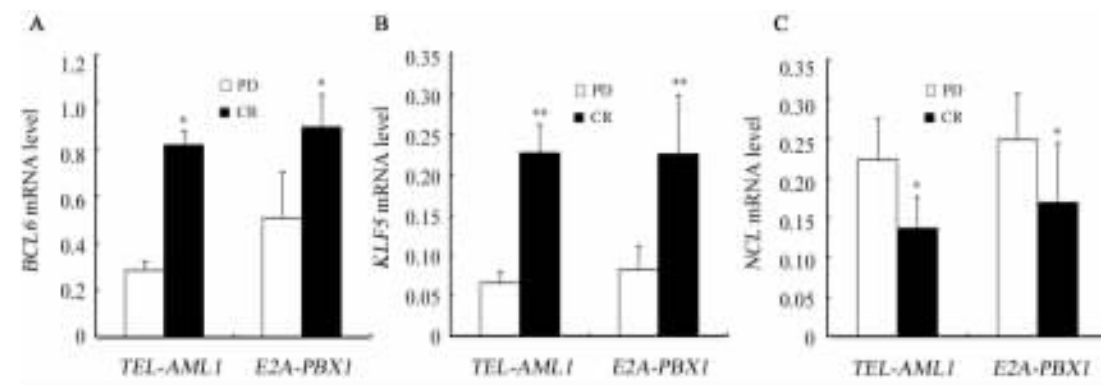


图2 *TEL-AML1* 阳性组和 *E2A-PBX1* 阳性组初诊及缓解期 ALL 患儿骨髓细胞中 *BCL6* (A)、*KLF5* (B)和 *NCL* (C) mRNA 的表达

Fig.2 Expressions of *BCL6* (A), *KLF5* (B)、*NCL* (C) mRNA in *TEL-AML1* positive or *E2A-PBX1* positive ALL patients during preliminary diagnosis and complete remission

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs PD

3 讨论

本研究基因芯片筛查结果提示,以非 ALL 患儿标本作为对照,在各亚型 ALL 标本中,*BCL6*、*KLF5* mRNA 表达均下调,*NCL* mRNA 表达上调。进一步分析发现,*BCL6*、*KLF5* 在 *MLL-AF4* 亚型组中的表达量明显低于其他亚型组 ($P < 0.05$),*NCL* 在 *MLL-AF4* 亚型组中的表达高于其他亚型组 ($P < 0.01$),但该 3 个基因在 *MLL-AF4* 亚型外的各亚型组间的表达变化无差异。但 *MLL-AF4* 组病例只有 4 例,病例数相对较少,故还需加大样本量进一步研究。

本研究进一步探讨在 ALL 疾病不同状态下(初诊与缓解时)*BCL6*、*KLF5* 和 *NCL* 基因的表达变化,以求在分子层面上进一步了解肿瘤细胞的内环境,从而探讨其与 ALL 发病是否相关,以及其能否成为 ALL 诊断、监测的指标。故又选择了 ALL 最常见的两种亚型(即 *TEL-AML1* 阳性,*E2A-PBX1* 阳性)来检测该 3 个基因在 ALL 不同疾病状态下(初诊及缓解)的表达情况。

GeXP 多重基因表达分析系统是在同一个反应体系内加入两对以上引物,通过 PCR 扩增出不同长度荧光标记的核酸片段,再采用毛细管电泳对不同长度的片段进行分离,从而对多个目的基因进行有效分析。其优势在于高效、敏感、特异、所需样本少,同时也降低了人为操作的误差。基于以上的优点,GeXP 多重基因表达分析系统已经广泛应用于生命科学研究的各个领域^[6-7]。本研究以 GeXP 系统检测 *BCL6*、*KLF5*、*NCL* 在儿童 ALL 初诊和缓解期的表达情况。

BCL6 编码的转录抑制因子参与 B 细胞分化、存活、细胞周期的调控^[8]。在淋巴瘤中,*BCL6* 能够抑制生发中心 B 细胞中 *P53* 的表达^[9]、阻止 B 细胞在 DNA 损伤后发生凋亡^[10],还能与原癌基因 *c-Myc* 相互作用^[11],协同促进淋巴瘤的发生。然而,最近一项临床研究^[12]发现,在非霍奇金淋巴瘤细胞中,*BCL6* mRNA 或蛋白水平高表达提示预后良好,这与之前发现的 *BCL6* 基因促癌作用并不一致。而 *BCL6* 基因在白血病中作用的研究尚未见报道。本研究对 100 例 ALL 患儿基因芯片分析结果发现,*BCL6* 在 ALL 骨髓细胞中表达下调;通过 GeXP 多重基因表达分析系统证实,*BCL6* mRNA 在 ALL 初诊患儿骨髓细胞中明显降低,而完全缓解后表达升高,提示 *BCL6* 参与 ALL 的发生,至于它在白血病发生中如何发挥作用,有待进一步研究。

KLF5 编码的转录因子能与多个基因启动子区

GC 盒结合,调节相应基因的表达。*KLF5* 的活性受多种信号转导通路的调节,包括 *Ras/MAPK/PKC*、*TGF β* 等信号转导通路。*KLF5* 在多种肿瘤细胞中表达异常,如在乳腺癌、鼻咽癌中表达下调^[13-14],在食管癌、胃癌中表达上调^[15-16],而 *KLF5* 基因在 ALL 中的表达情况还未见报道。本研究发现,*KLF5* mRNA 在 ALL 患儿骨髓细胞中表达初诊时明显降低、完全缓解后升高 ($P < 0.05$),提示 *KLF5* 也参与了 ALL 的发生,但具体作用机制仍不清楚。研究^[17]发现,*KLF5* 参与细胞分化:在表皮细胞中过表达 *KLF5* 可引起基底细胞肥大,从而不能分化成为成熟的皮肤组织;在骨骼肌细胞对损伤的应答反应中,*KLF5* 参与血管再生;*KLF5* 敲除的小鼠白色脂肪组织发育缺陷;在前成脂肪细胞 3T3-L1 分化的早期阶段,*KLF5* 被诱导表达,从而促进脂肪细胞分化。因此,在 ALL 细胞中,表达下调的 *KLF5* 可能通过影响细胞分化、成熟参与白血病的发生。

Nucleolin (NCL) 是多功能的 DNA、RNA 结合蛋白,参与染色质结构维持、RNA 代谢及核糖体合成。*NCL* 在多种肿瘤中高表达,如肺癌、肝癌、前列腺癌,并且 *NCL* 高表达与肿瘤患者不良预后相关。本研究发现,*NCL* 基因在 ALL 患儿初诊骨髓细胞中明显升高 (0.234 ± 0.054),而完全缓解后表达明显降低 (0.151 ± 0.055),提示 *NCL* 在 ALL 发生中也具有一定作用。已有证据表明,在 B 细胞淋巴瘤中,*NCL* 参与 *c-Myc* 基因及 EB 病毒核抗原 1 基因的激活,促进淋巴瘤的发生。另有研究^[18-20]发现,*NCL* 能够与 *P53* 基因的 5' UTR 相互作用,抑制 *P53* 表达。另外,*NCL* 也参与 CD34⁺ 造血干细胞中 CD34 及 *BCL2* 的激活,在 CD34⁺ 造血干、祖细胞的维持中具有重要作用。因此,在 ALL 患儿高表达的 *NCL* 很可能通过影响细胞凋亡及分化发挥作用:一方面 *NCL* 可能通过抑制 *P53* 表达而抑制 ALL 细胞凋亡,另一方面通过维持 CD34 细胞的持续激活,抑制淋巴细胞的分化成熟,参与 ALL 发生。

几乎 1/3 的 ALL 病例存在染色体易位,4 种主要的易位包括:*TEL-AML1* [*t*(12;21)],*E2A-PBX1* [*t*(1;19)],*BCR-ABL* [*t*(9;22)],11 号染色体 q23 上 *MLL* 基因重排。其中,最为常见的基因融合形式为 *TEL-AML1*,占 Pre-B 型 ALL 的 25%。而 *E2A-PBX1* 融合基因是一些 Pre-B 型 ALL 的重要标志^[21]。本研究将 10 例病例按照不同融合基因分为两组,即 *TEL-AML1* 阳性组及 *E2A-PBX1* 阳性组。在两组病例中,*BCL6*、*KLF5* mRNA 均表现为初诊时降低,缓解后升高;*NCL* mRNA 则为初诊时升高,缓解后降

低;且这3个基因在两组间无显著性差异。由此看来,分子生物学上的差异似乎不影响这3个基因的表达水平。

总之,本研究首次探讨了转录因子基因 *BCL6*、*KLF5* 及核仁蛋白基因 *NCL* 在儿童 ALL 细胞中转录水平的表达情况:以非 ALL 标本作为对照,在各亚型 ALL 标本中,*BCL6*、*KLF5* mRNA 表达下调,*NCL* mRNA 表达上调;且 *BCL6*、*KLF5* 初诊时表达较低,完全缓解后升高;*NCL* 则初诊时较高,完全缓解后降低。以上结果提示,*BCL6*、*KLF5* 及 *NCL* 参与了白血病的发病,并且可能作为白血病的分子标志物,对白血病的诊断、治疗都有一定的价值。

(致谢:本研究承蒙首都医科大学附属北京儿童医院血液病中心和中国科学院遗传与发育生物研究所实验材料、技术及设备方面给予的大力支持,特此感谢!)

[参 考 文 献]

- [1] Andersson A, Edén P, Olofsson T, et al. Gene expression signatures in childhood acute leukemias are largely unique and distinct from those of normal tissues and other malignancies [J]. BMC Medical Genomics, 2010, 3(6): 1755-8794.
- [2] Bruchova H, Alinova H, Brdicka R. Array-based analysis of gene expression in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Leuk Res, 2004, 28(1): 1-7.
- [3] Basso K, Dalla-Favera R. BCL6: Master regulator of the germinal center reaction and key oncogene in B cell lymphomagenesis [J]. Adv Immunol, 2010, 105: 193-210.
- [4] Mc Connell BB, Ghaleb AM, Nandan MO, et al. The diverse functions of Krüppel-like factors 4 and 5 in epithelial biology and pathobiology [J]. Bioessays, 2007, 29(6): 549-557.
- [5] Mongelard F, Bouvet P. Nucleolin: A multifaceted protein [J]. Trends Cell Bio, 2007, 17(2): 80-86.
- [6] Qin M, Wang DY, Huang F, et al. Detection of pandemic influenza A H1N1 virus by multiplex reverse transcription-PCR with a GeXP analyzer [J]. J Virol Methods, 2010, 168(1/2): 255-258.
- [7] Rai AJ, Kamath RM, Gerald W, et al. Analytical validation of the GeXP analyzer and design of a workflow for cancer-biomarker discovery using multiplexed gene-expression profiling [J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 393(5): 1505-1511.
- [8] Jardin F, Ruminy P, Bastard C, et al. The BCL6 proto-oncogene: A leading role during germinal center development and lymphomagenesis [J]. Pathologie Biologie, 2007, 55(1): 73-83.
- [9] Cerchiatti LC, Hatzi K, Caldas-Lopes E, et al. BCL6 repression of EP300 in human diffuse large B cell lymphoma cells provides a basis for rational combinatorial therapy [J]. J Clin Invest, 2010, 120(4): 1599-1607.
- [10] Ranuncolo SM, Wang L, Polo JM, et al. BCL6-mediated attenuation of DNA damage sensing triggers growth arrest and senescence through a p53-dependent pathway in a cell context-dependent manner [J]. J Biol Chem, 2008, 283(33): 22565-22572.
- [11] Wang HY, Bossler AD, Schaffer A, et al. A novel t(3;8) q27; q24. 1) simultaneously involving both the BCL6 and MYC genes in a diffuse large B-cell lymphoma [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2007, 172(1): 45-53.
- [12] Iqbal J, Greiner TC, Patel K, et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Leukemia, 2007, 21(11): 2332-2343.
- [13] Guo P, Dong XY, Zhao KW, et al. Estrogen-induced interaction between KLF5 and estrogen receptor (ER) suppresses the function of ER in ER-positive breast cancer cells [J]. Int J Cancer, 2010, 126(1): 81-89.
- [14] Fang W, Li X, Jiang Q, et al. Transcriptional patterns, biomarkers and pathways characterizing nasopharyngeal carcinoma of southern China [J]. J Transl Med, 2008, 6: 32.
- [15] Goldstein BG, Chao HH, Yang Y, et al. Overexpression of Kruppel-like factor 5 in esophageal epithelia *in vivo* leads to increased proliferation in basal but not suprabasal cells [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007, 292(6): G1784-G1792.
- [16] Kwak MK, Lee HJ, Hur K, et al. Expression of Kruppel-like factor 5 in human gastric carcinomas [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(2): 163-167.
- [17] Dong JT, Chen C. Essential role of KLF5 transcription factor in cell proliferation and differentiation and its implications for human diseases [J]. Cell Mol Life Sci, 2009, 66(16): 2691-2706.
- [18] Grinstein E, Wernet P. Cellular signaling in normal and cancerous stem cells [J]. Cell Signal, 2007, 19(12): 2428-2433.
- [19] Takagi M, Absalon MJ, McLure KG, et al. Regulation of p53 translation and induction after DNA damage by ribosomal protein L26 and nucleolin [J]. Cell, 2005, 123(1): 49-63.
- [20] Ginisty H, Sicard H, Roger B, et al. Structure and functions of nucleolin [J]. J Cell Sci, 1999, 112(6): 761-772.
- [21] William L, Carroll DB, Min DJ, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. Hematology, 2003, 2003: 102-131.

[收稿日期] 2011 - 05 - 22

[修回日期] 2011 - 06 - 20

[本文编辑] 王莹