

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.08.007

MDA-7/IL-24对Burkitt淋巴瘤细胞的诱导分化作用

马鸣^a, 杨兴肖^b, 赵连梅^c, 王雪晓^d, 张琰^c, 刘丽华^d, 单保恩^c(河北医科大学第四医院 a. 检验科, b. 感染管理科, c. 科研中心, d. 生物治疗科, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:** 研究黑色素瘤分化相关基因-7(melanoma differentiation associated gene 7, *MDA-7/IL-24*)对Burkitt淋巴瘤细胞的促分化作用并探讨其作用机制。**方法:** 构建稳定过表达*MDA-7/IL-24*的人Burkitt淋巴瘤Raji和Daudi细胞株,MTS法检测稳定转染*MDA-7/IL-24*对Raji和Daudi细胞活力的影响;Transwell小室实验检测转染*MDA-7/IL-24*对Raji和Daudi细胞侵袭和迁移能力的影响;流式细胞术检测细胞凋亡水平及免疫表型;Western blotting技术检测转染*MDA-7/IL-24*对Raji和Daudi细胞表达分化相关蛋白Myb、BLIMP1及BCL-6的影响;建立裸鼠Raji细胞移植瘤模型,检测在体内环境中稳定转染*MDA-7/IL-24*对Raji细胞生物活性的影响。**结果:** 过表达*MDA-7/IL-24*的Raji和Daudi细胞其增殖($P<0.05$)、侵袭($P<0.01$)及迁移($P<0.01$)能力均明显下降,但凋亡细胞无明显增加($P>0.05$),表达CD45及CD138的水平均明显增加($P<0.01$),而表达CD10的水平明显下降($P<0.01$)。过表达*MDA-7/IL-24*的Raji和Daudi细胞表达BLIMP1的水平明显增加($P<0.01$),而表达Myb及BCL-6的水平均明显减低($P<0.01$)。*MDA-7/IL-24*过表达组裸鼠模型Raji细胞移植瘤质量明显低于对照组[(1.23±0.21) vs (1.96±0.24)g, $P<0.01$]。**结论:** 转染*MDA-7/IL-24*可能通过诱导分化作用抑制Burkitt淋巴瘤细胞的生物活性。

[关键词] 黑色素瘤分化相关基因-7/白介素-24;诱导分化;Burkitt淋巴瘤;Myb

[中图分类号] R730.59;R733.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)08-0856-08

Differentiation-inducing effect of *MDA-7/IL-24* on Burkitt lymphoma cells

MA Ming^a, YANG Xingxiao^b, ZHAO Lianmei^c, WANG Xuexiao^d, ZHANG Cong^c, LIU Lihua^d, SHAN Baoen^c (a. Clinical Laboratory, b. Department of Infection Management, c. Research Centre, d. Biotherapy Department, the Fourth Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the differentiation-inducing effect of melanoma differentiation associated gene 7 (*MDA-7/IL-24*) on human Burkitt lymphoma cells, as well as its underlying mechanism. **Methods:** Human Burkitt lymphoma cell lines (Raji and Daudi) that stably over-expressing *MDA-7/IL-24* were constructed. The effect of *MDA-7/IL-24* transfection on cell viability of Raji and Daudi cells was assayed by MTS method; the effect on migration and invasion of Raji and Daudi cells were analyzed by Transwell assay. The apoptosis and immunophenotypes of Raji and Daudi cells with *MDA-7/IL-24* over-expression were analyzed by flow cytometry. Meanwhile, the expressions of differentiation related proteins (Myb, BLIMP1 and BCL-6) were analyzed by Western blotting. Raji cell xenograft model was established on nude mice to analyze the effect of *MDA-7/IL-24* on the bioactivity of Raji cells *in vivo*. **Results:** The cell viability, migration and invasion ability of Raji and Daudi cell lines that transfected with *MDA-7/IL-24* were obviously decreased (all $P<0.01$), however, the apoptosis cells were not increased ($P>0.05$). The expressions of CD45 and CD138 were elevated ($P<0.01$) while the expression of CD10 was decreased ($P<0.01$) in Raji and Daudi cells overexpressing *MDA-7/IL-24*. *MDA-7/IL-24* over-expression in Raji and Daudi cells significantly increased the expression of BLIMP1 ($P<0.01$), but decreased the expression of Myb and BCL-6 ($P<0.01$). The tumor mass of nude mice was significantly decreased after the treatment of *MDA-7/IL-24* [(1.23±0.21) vs [1.96±0.24]g, $P<0.01$]. **Conclusion:** Transfection with *MDA-7/IL-24* inhibited the bio-actively of Burkitt

[基金项目] 河北省卫计委指令性课题资助项目(No.20160171)。Project supported by the Medical Scientific Research Key Program of Hebei Province (No.20160171)

[作者简介] 马鸣(1983-),男,博士,主管技师,主要从事肿瘤分子诊断学研究,E-mail:maming19830419@163.com

[通信作者] 单保恩(SHAN Baoen,corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤分子生物学和肿瘤免疫学研究,E-mail:baoen-shan@yahoo.com.cn

lymphoma cells, which might be accomplished by inducing differentiation.

[Key words] melanoma differentiation associated gene 7(MDA-7)/IL-24; differentiation inducing; Burkitt lymphoma; Myb

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(8): 856-863. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.08.007]

淋巴瘤是血液系统常见的恶性肿瘤,在中国发病率呈逐年增高的趋势,其中Burkitt淋巴瘤恶性程度高、临床预后差^[1],目前临床上主要治疗手段仍以常规化疗为主,虽可暂时缓解病情,但患者5年生存率仍然较低。寻求有效的化疗替代剂,改善Burkitt淋巴瘤的疗效已成为国内外的研究热点。IL-24作为IL-10家族的成员,首先被发现表达于黑色素瘤细胞中,因此也被称为黑色素瘤分化相关基因-7(melanoma differentiation associated gene 7, MDA-7)。近年来MDA-7的抗肿瘤作用受到广泛关注,已经证实转染MDA-7/IL-24可对黑色素细胞瘤、胃癌、结肠癌、乳腺癌及白血病等多种肿瘤细胞的增殖活性产生明显抑制作用^[2-3],然而其对Burkitt淋巴瘤细胞的促分化作用,目前研究较少。因此,本研究拟通过构建稳定转染MDA-7/IL-24的Burkitt淋巴瘤细胞株Raji和Daudi,观察MDA-7/IL-24对其分化的诱导作用,并初步探讨其作用机制,为MDA-7/IL-24作为分化诱导剂应用于Burkitt淋巴瘤临床综合治疗提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 细胞株、试剂及药物

人Burkitt淋巴瘤细胞株Raji、Daudi均由河北医科大学第四医院科研中心保存。慢病毒包装质粒试剂盒(pPACKH1™ Lentivector Packaging Kit)购自System Biosciences(SBI)公司,MDA-7/IL-24质粒由上海生工公司合成,细胞周期试剂盒、AnnexinV及7-AAD双标调亡检测试剂盒及MTS均购自Sigma公司,胎牛血清购自杭州四季青公司,RPMI1640培养基购自Gibco公司,兔抗人β-actin、Myb、MDA-7/IL-24、BLIMP1、BCL-6、MMP2及MMP9单克隆抗体均购自Abcam公司,携带G418抗性基因的pLenti6.3-MCS-MDA-7/IL-24或空载质粒由Invitrogen公司合成,CD10-FITC,CD19-APC,CD138-FITC及CD45-APC抗体均购自BD公司。

1.2 慢病毒载体携带MDA-7/IL-24稳定转染Raji及Daudi细胞株

参考文献[4]方法,构建稳定过表达MDA-7/IL-24的Raji和Daudi细胞,采用Lipofectamine™2000及慢病毒包装质粒pPACKH1-REV、pPACKH1-GAG、pVSV-G将pLenti6.3-MCS-Mda-7/IL-24或空载质粒共转染于293T细胞中。收集培养上清,与对数生长

期Raji及Daudi细胞株共培养,构建稳定过表达MDA-7/IL-24的Raji及Daudi细胞,采用Western blotting技术检测未转染组、转染空载体组及转染MDA-7/IL-24的Raji及Daudi细胞MDA-7/IL-24的表达水平,并经瑞氏-姬姆萨染色后观察细胞形态改变。

1.3 MTS法检测转染MDA-7/IL-24对Raji及Daudi细胞株增殖活性的影响

未转染组、空载体组及转染MDA-7/IL-24组Raji及Daudi细胞株以10⁶/ml的浓度接种于96孔板中,培养体系为含浓度为10%胎牛血清的RPMI 1640培养基200 μl,以含浓度为10%胎牛血清的RPMI 1640培养基空白孔调零,每一组均为15个复孔,分别于0、24、48、72及96 h时,采用MTS法,用酶标仪检测3个复孔培养体系在波长492 nm处的光密度(D)值,并绘制生长曲线。

1.4 流式细胞术(FCM)检测转染MDA-7/IL-24对Raji及Daudi细胞株凋亡水平、细胞周期分布及免疫表型的影响

各组Raji及Daudi细胞株以10⁶/ml的密度与AnnexinV-FITC及7-AAD共培养15 min后,用PBS洗涤1遍,FCM检测细胞的凋亡水平。

为检测转染MDA-7/IL-24对Raji及Daudi细胞周期分布的影响,各组细胞均在70%冰乙醇中固定1 h,经RNase A处理后,与细胞打孔剂和PI共培养15 min,再用PBS洗涤1遍,重悬于PBS,上机检测细胞周期分布状态。

为检测转染MDA-7/IL-24对Raji及Daudi细胞免疫表型的影响,各组细胞均以10⁶/ml的密度与CD10-FITC及CD45-APC,CD138-FITC及CD19-APC共培养15 min,再用PBS洗涤1遍,重悬于PBS,上机检测细胞免疫表型。

1.5 Western blotting检测转染MDA-7/IL-24对Raji及Daudi细胞Myb、MDA-7/IL-24、BLIMP1、BCL-6、MMP2及MMP9蛋白表达水平的影响

收集方法1.5中制备的细胞,提取细胞总蛋白。分别取一定量蛋白与上样缓冲液混匀,100 °C水浴10 min,冷却后进行SDS-PAGE,然后将凝胶中的蛋白转移至PVDF膜,1%脱脂牛奶封闭60 min后,依次加兔抗人β-actin、Myb、MDA-7/IL-24、BLIMP1、BCL-6、MMP2及MMP9一抗,4 °C过夜,加鼠抗兔二抗,室

温避光孵育 1 h, 用 Odyssey 双色红外荧光扫描系统进行检测及灰度分析, 以目标蛋白显色条带与 β -actin 条带的灰度比值作为目标蛋白的相对表达量。实验重复 3 次。

1.6 Transwell 小室实验检测转染 MDA-7/IL-24 对 Raji 及 Daudi 细胞株侵袭及迁移能力的影响

未转染组、空载体组及转染 MDA-7/IL-24 组 Raji 及 Daudi 细胞株以无血清 RPMI-1640 培养基调整细胞密度为 $2 \times 10^6/\text{ml}$, 于每个 Transwell 小室 (8 μm pore) 内加入 100 μl 细胞悬液 (含 2×10^5 个细胞), 小室内含不同浓度 (0、10、20 及 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) CMSP, 以小室底部不加 Matrigel 胶检测结果评价 ESCC 细胞迁移能力, 以每小室底部涂 100 μg Matrigel 胶检测结果评价淋巴瘤细胞迁侵袭能力, 预先取 24 孔板每孔加入含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基 1 ml, 将加入细胞悬液的 Transwell 小室置于 24 孔板中, 常规培养 24 h, 取出小室以 4% 中性甲醇固定 10 min 后用结晶紫染色, 擦掉位于小室内面细胞, 计数 10 个 200 倍视野细胞数。实验重复 3 次。

1.7 Raji 淋巴瘤细胞裸鼠模型的建立及实验分组

取对数期空载体组及转染 MDA-7/IL-24 组 Raji 细胞株, 调整细胞数为 $10^7/\text{ml}$, 给每只裸鼠右侧肩胛部注射 0.2 ml, 观察肿瘤生长情况, 在第 7 天裸鼠可触及肿块, 每 3 天游标卡尺测量一次瘤组织体积。第 25 天, 引颈处死各组裸鼠, 剥离瘤组织, 称重。

将剥离的瘤组织在无菌生物安全柜中称取质量后, 切取部分瘤组织放在经高温、高压处理后的 120 目不锈钢网上, 下置一无菌塑料平皿, 用眼科剪刀将组织剪碎后, 用眼科镊子轻轻搓组织块, 边搓边用无胎牛血清的 RPMI1640 培养液冲洗, 直至将组织搓完为止, 将平皿中的混悬液用 300 目铜网过滤去除细胞团块, 用 PBS 洗 2 次, 获得肿瘤组织单细胞悬液, 调整细胞密度为 $10^9/\text{L}$, FCM 检测细胞的免疫表型, 方法同 1.4。

1.8 Western blotting 检测移植瘤组织 Myb、MDA-7/IL-24、BLIMP1 及 BCL-6 蛋白表达水平

取各组小鼠移植瘤组织后, 经研磨分别提取组织总蛋白, Western blotting 技术检测瘤组织表达 Myb、MDA-7/IL-24、Blimp1 及 Bcl-6 蛋白表达水平, 方法同 1.5。

1.9 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计学分析软件, 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料样本间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 转染 MDA-7/IL-24 促进 Raji 及 Daudi 细胞 MDA-7/IL-24 的表达和细胞活力

如图 1A 所示, 未转染组及空载体组 Raji 及 Daudi 细胞均可检测到极少量 MDA-7/IL-24 蛋白表达, 而转染组 Raji 及 Daudi 细胞均可检测到较高水平 MDA-7/IL-24 mRNA 和蛋白的表达 ($P < 0.01$)。如图 1B, C, D 所示, 与未转染对照组及空载体组相比, 转染组 Raji 及 Daudi 细胞增殖活性较对照组明显减弱 ($P < 0.05$); 处于 G0/G1 期的细胞明显增多 ($P < 0.01$); 但细胞凋亡水平无明显变化 ($P > 0.05$)。

2.2 转染 MDA-7/IL-24 对 Raji 及 Daudi 细胞形态及免疫表型的影响

如图 2A 所示, 经瑞氏-姬姆萨后, 未转染对照组及空载体组 Raji 及 Daudi 细胞其胞体较大、染色质疏松、核仁清晰、胞质丰富、胞质中可见空泡结构; 而转染组 Raji 及 Daudi 细胞形态出现胞体明显减小、染色质粗糙、核仁消失及胞浆中空泡结构消失等分化表现。如图 2B 所示, 与未转染对照组及空载体组相比, 转染组 Raji 及 Daudi 细胞表达 CD45、CD138 的水平均明显增加 ($P < 0.01$), 而 CD10 的表达水平明显减低 ($P < 0.01$), 但 CD19 表达水平无明显变化 ($P > 0.05$)。

2.3 MDA-7/IL-24 过表达抑制 Raji 和 Daudi 细胞的侵袭、迁移能力

如图 3 所示, 转染 MDA-7/IL-24 的 Raji 及 Daudi 细胞其侵袭和迁移能力均明显低于未转染组及空载体组 ($P < 0.01$)。同时细胞表达 MMP2 及 MMP9 的水平均明显下降 ($P < 0.01$)。

2.4 MDA-7/IL-24 对 Raji 及 Daudi 细胞表达 Myb、BLIMP1 及 BCL-6 的影响

如图 4 所示, 与未转染对照组及空载体组相比, 转染组 Raji 和 Daudi 细胞表达 BLIMP1 的水平明显增高, 而表达 Myb 及 BCL-6 的水平均明显减低 ($P < 0.05$)。

2.5 MDA-7/IL-24 过表达抑制裸鼠模型 Raji 细胞移植瘤的生长

如图 5 所示, 与空载体组相比, 转染 MDA-7/IL-24 的 Raj 细胞在裸鼠体内生长速度明显减慢。转染 MDA-7/IL-24 组瘤组织质量为 (1.23 ± 0.21) g, 明显低于空载体组的 (1.96 ± 0.24) g ($P < 0.01$)。

2.6 在体内环境中, 转染 MDA-7/IL-24 对 Raji 细胞免疫表型的影响

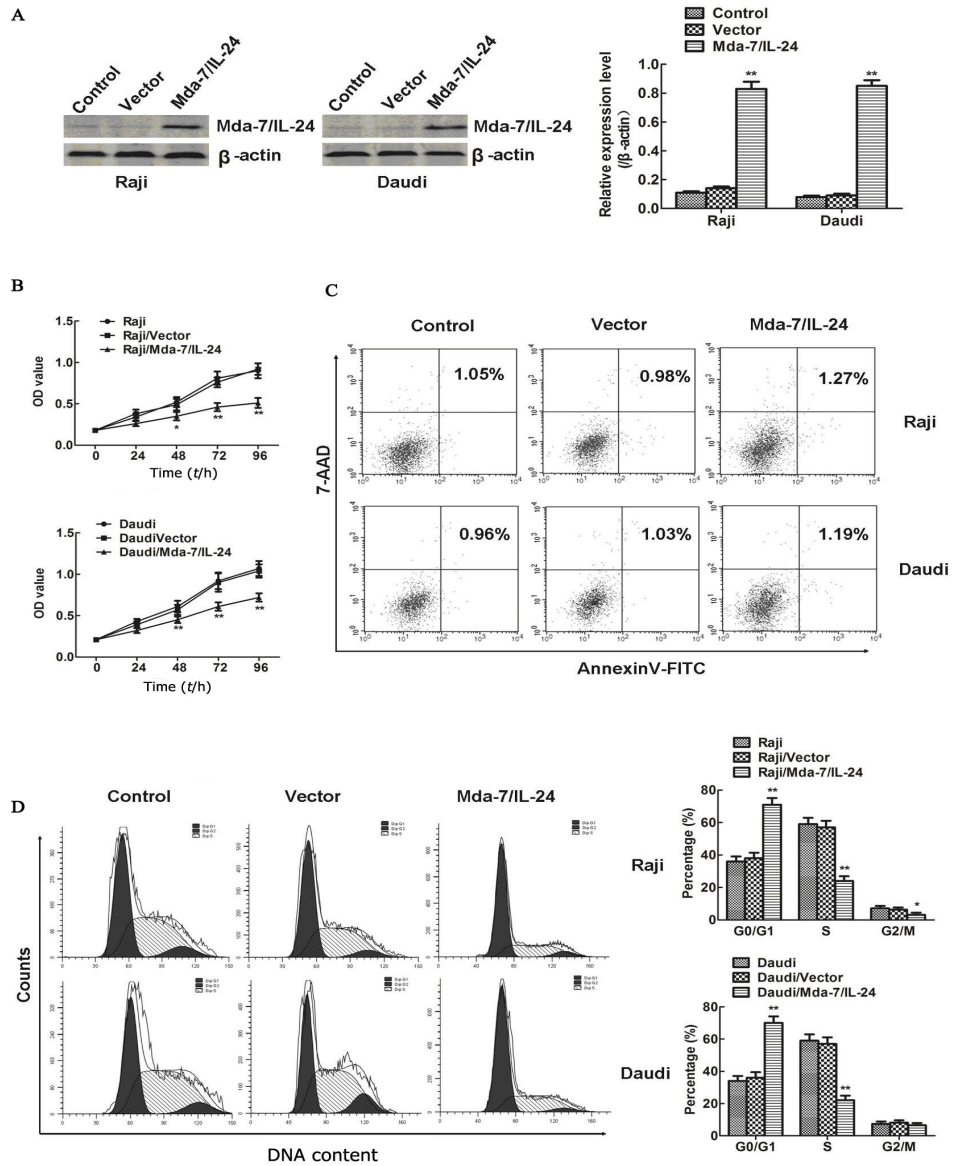
如图 6 所示, 与空载体组相比, 转染 MDA-7/IL-24 组瘤细胞表达 CD10 的水平明显减低 ($P < 0.01$), 而表达 CD45 和 CD138 水平均明显增高 ($P < 0.01$), 但 CD19 表达水平无明显变化 ($P > 0.05$)。

2.7 在体内环境中, MDA-7/IL-24 对 Raji 及 Daudi 细胞

表达 Myb、BLIMP1 及 BCL-6 的影响

如图 7 所示,与空载体组相比,转染 MDA-7/IL-24 组瘤细胞表达 MDA-7/IL-24 及 BLIMP1 的水平均

明显增高($P<0.01$),而表达 Myb 和 BCL-6 的水平均明显减低($P<0.01$),但 CD19 表达水平无明显变化($P>0.05$)。



* $P<0.05$,** $P<0.01$ vs control group

- A: MDA-7/IL-24 protein expression analyzed by western blotting;
- B: The significantly lower absorbance value (OD value) was observed in Raji and Daudi cells overexpressing MDA-7/IL-24 than non-transfected cells and cells transfected with vector alone;
- C: There was no difference in the percentage of Annexin V-FITC-positive cells between the cell lines of Raji and Daudi with and without MDA-7/IL-24 expression;
- D: Effect of MDA-7/IL-24 on the cell cycle distribution of Raji and Daudi cells was detected by FCM analysis

图 1 转染 MDA-7/IL-24 对 Raji 和 Daudi 细胞株增殖、细胞周期分布及凋亡水平的影响

Fig. 1 Effect of MDA-7/IL-24 transfection on proliferation, cell cycle distribution and apoptosis in Raji and Daudi cells

3 讨论

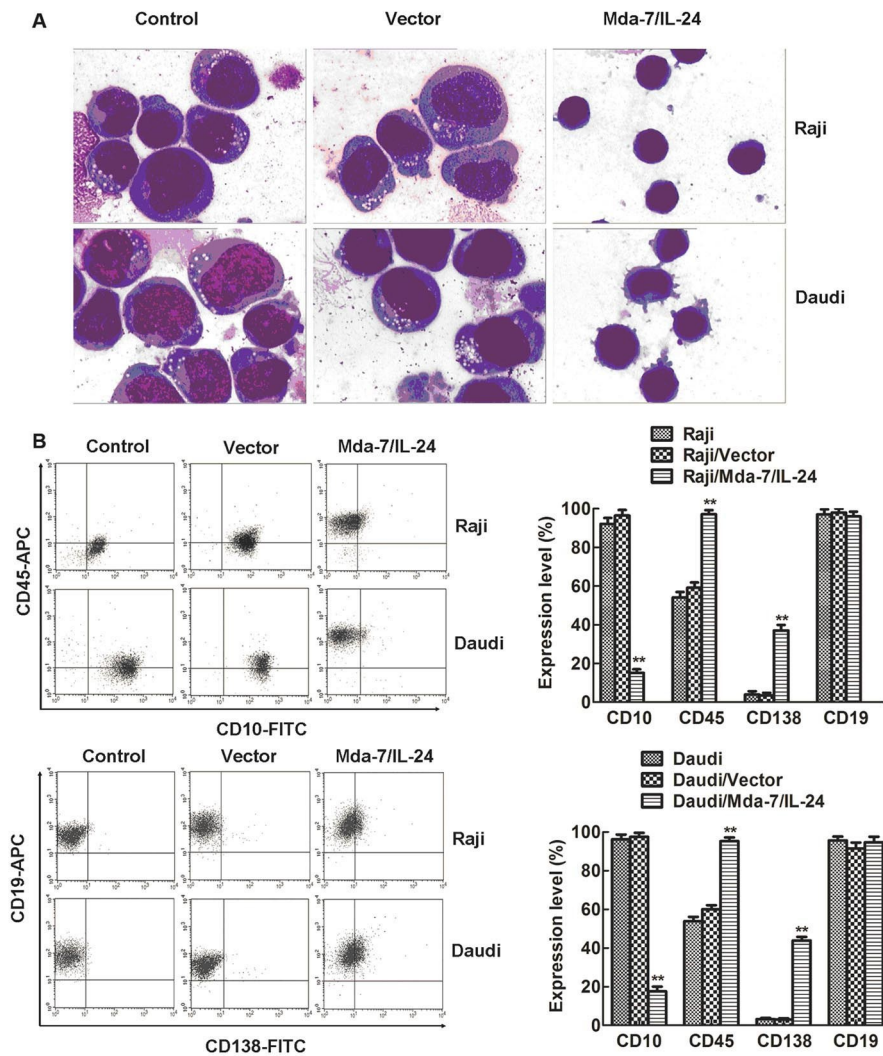
目前临床上 Burkitt 淋巴瘤的主要治疗手段仍是化疗。然而,较高的复发率及多药耐药等现象的发

生会导致化疗失败^[3-4]。因此,研究新的化疗替代策略以提高疗效尤为必要。“分化疗法”是一种新型肿瘤治疗方法,其基本策略为通过分化诱导剂促进肿瘤细胞向正常细胞方向分化,抑制其增殖、侵袭活

性,但并不杀伤肿瘤细胞,同时具有较小的毒副作用。

尽管 MDA-7/IL-24 被普遍认为是一种抑癌基因^[4-6],但其对 Burkitt 淋巴瘤分化方面的影响至今仍研究较少。近来,有报道^[7,8]显示,转染 MDA-7/IL-24

可有效促进急性髓系白血病细胞向成熟单核细胞方向分化。那么,对 Burkitt 淋巴瘤,MDA-7/IL-24 是否具有相同的作用呢? 在本研究中,我们深入探讨了转染 MDA-7/IL-24 对 B 细胞淋巴瘤细胞株 Raji 和 Daudi 生物活性的影响。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

A: Effect of transfected MDA-7/IL-24 on morphology of Raji and Daudi cells, as determined by Wright-Giemsa staining;

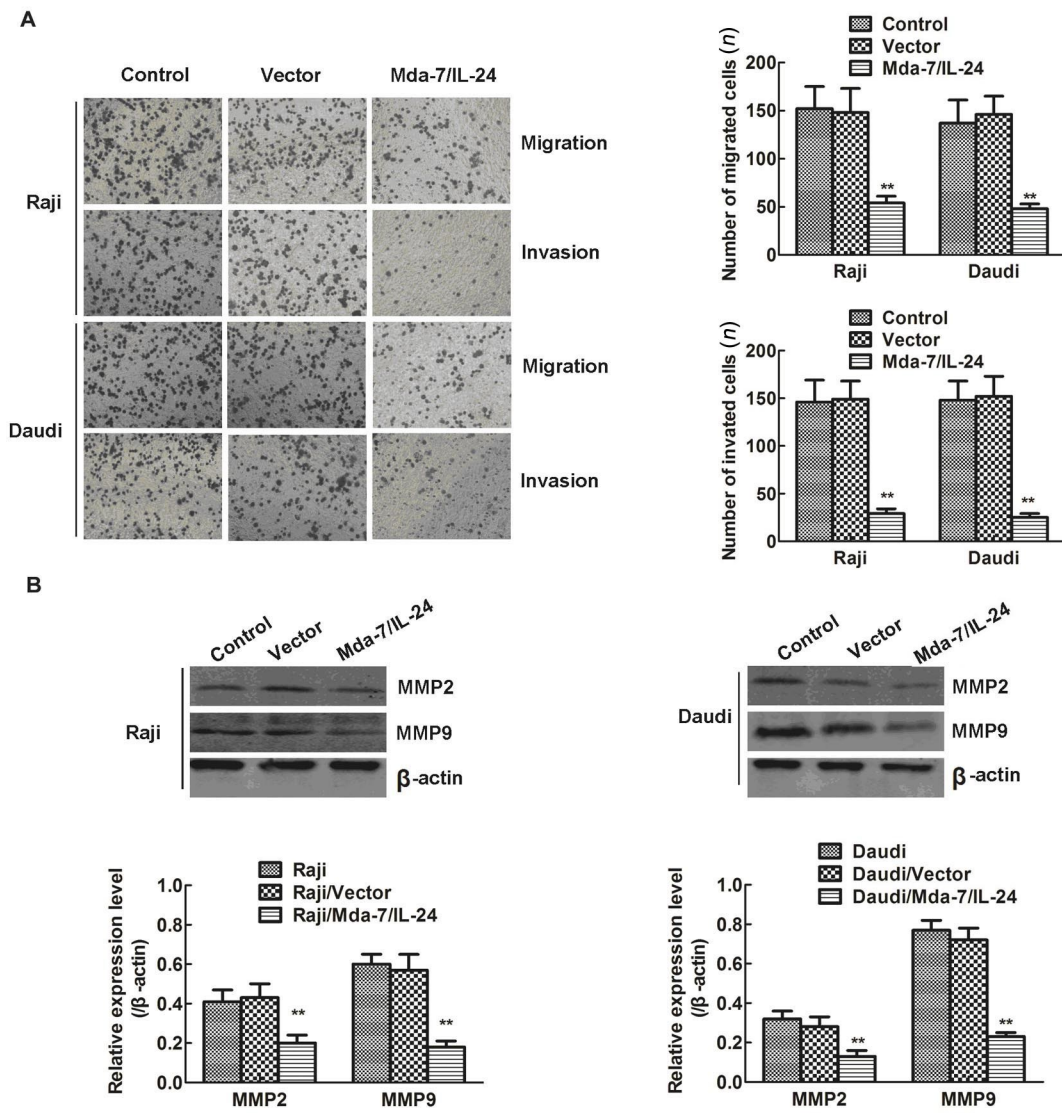
B: Effect of transfected MDA-7/IL-24 on immunophenotype of Raji and Daudi cells was detected by FCM.

图2 转染 MDA-7/IL-24 对 Raji 和 Daudi 细胞形态及免疫表型的影响($\times 1\ 000$)

Fig. 2 Effect of transfected MDA-7/IL-24 on morphology and immunophenotype of Raji and Daudi cell lines ($\times 1\ 000$)

首先,稳定转染 MDA-7/IL-24 的 Raji 和 Daudi 细胞增殖活性明显下降,细胞阻滞于 G0/G1 期,但细胞凋亡水平无明显变化。这与 Dong 等^[5]在 MDA-7/IL-24 转染 Namawal 淋巴瘤细胞株后观察到的现象是一致的。提示,转染 MDA-7/IL-24 可明显抑制 Burkitt 淋巴瘤细胞增殖,但不依赖于诱导凋亡。诱导凋亡和诱导分化是抑制肿瘤细胞增殖活性的两种主要方式,MDA-7/IL-24 并非通过诱导凋亡抑制 Raji 和 Daudi 细胞增殖活性,是否是通过诱导分化作用呢?

本研究观察了转染 MDA-7/IL-24 后, Raji 和 Daudi 细胞形态的改变,并检测了 Raji 和 Daudi 细胞表达分化相关抗原的水平。结果发现,转染 MDA-7/IL-24 后, Raji 和 Daudi 细胞形态出现了明显的分化特征;同时细胞表达幼稚 B 细胞的标志 CD10 的水平明显下降,而表达白细胞分化抗原 CD45 及浆细胞标志 CD138 的水平均明显增加,同时 CD19 表达水平无明显变化^[9-10]。这提示,转染 MDA-7/IL-24 可促进 Raji 和 Daudi 细胞向 B 细胞的终末方向分化。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

A: Effect of MDA-7/IL-24 on migration and invasion ability of Raji and Daudi cells was investigated by transwell and matrigel assay. The number of migrated and invaded was calculated;

B: Western blotting assays of the levels of MMP2 and MMP9 protein expression in Raji and Daudi cells.

图3 转染MDA-7/IL-24降低Raji和Daudi细胞的侵袭和迁移活性(×200)

Fig. 3 Inhibiting effect of MDA-7/IL-24 on migration and invasion potency of Raji and daudi cells(×200)

侵袭性是肿瘤细胞的主要恶性表型之一,转染MDA-7/IL-24后,Raji和Daudi细胞的侵袭和迁移能力显著降低,细胞表达与肿瘤细胞侵袭密切相关的MMP2及MMP9分子水平均明显下降,这也提示转染MDA-7/IL-24后,Raji和Daudi细胞的恶性表型减弱。那么,MDA-7/IL-24是通过何种机制诱导Raji和Daudi细胞分化呢?有研究表明^[11-16],BLIMP1和BCL-6分别是促进和抑制B淋巴细胞终末分化的关键调控因子,BCL-6的过度表达和BLIMP1的表达缺失是B细胞淋巴瘤发病及进展的始动因素之一。而Myb是近年来发现的一种与B细胞分化密切相关的上游转录因子,其可通过抑制BLIMP1表达,促进BCL-6表达,抑制B细胞向终末方向分化。Myb的过

度表达在Burkitt淋巴瘤的发生、发展中发挥重要的促进作用^[17-20]。本研究发现转染MDA-7/IL-24后,Raji和Daudi细胞表达Myb及BCL-6的水平明显减低,而BLIMP1表达水平明显增高。Chen等^[15]也报道,Raji和Daudi细胞中Myb的表达水平较正常淋巴细胞明显增高,如果通过siRNA敲低Myb的表达水平,则可明显促进Raji和Daudi细胞向终末B细胞方向分化,同时细胞表达BLIMP1表达水平明显增高,而BCL-6的表达水平明显减低,因此我们认为,转染MDA-7/IL-24后,Raji和Daudi细胞内表达Myb水平的下降可能是促进细胞分化的关键节点。但MDA-7/IL-24影响Myb表达的具体作用机制依然有待进一步研究。

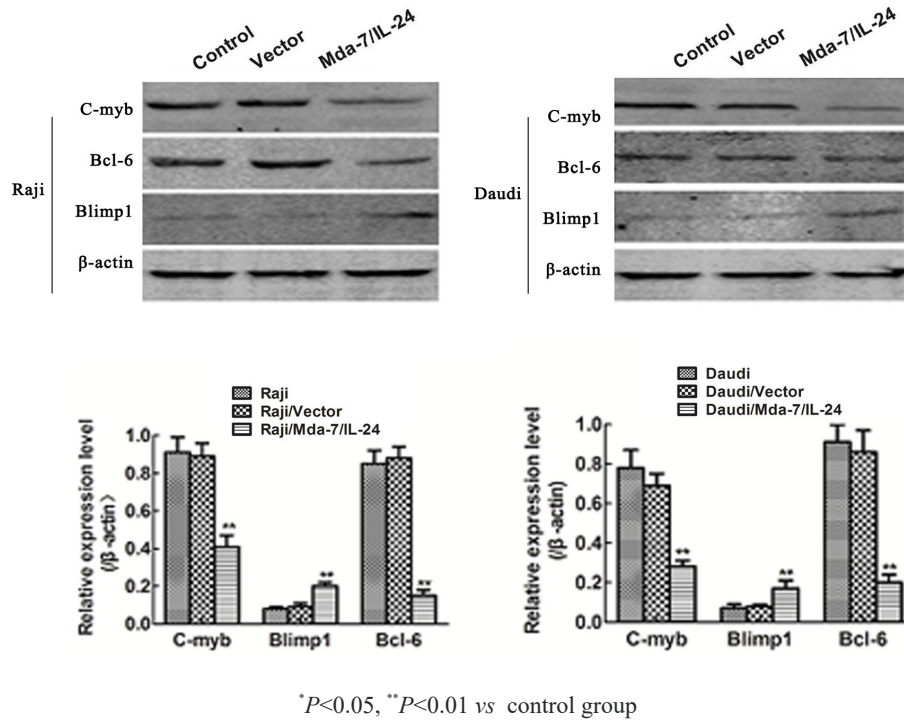


图4 转染MDA-7/IL-24对Raji和Daudi细胞株表达Myb、Blimp1及Bcl-6水平的影响

Fig. 4 Effect of transfected MDA-7/IL-24 on the expression of Myb, Blimp1 and Bcl-6 in Raji and daudi cells

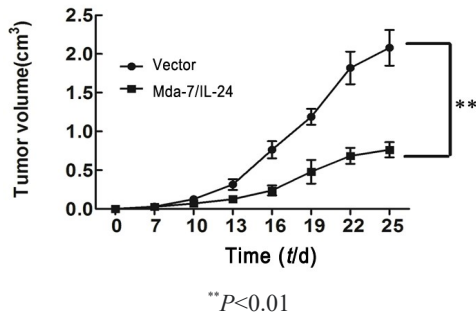


图5 转染MDA-7/IL-24抑制Raji细胞裸鼠移植瘤的生长
Fig. 5 Inhibiting effect of transfected MDA-7/IL-24 on the growth of Raji cells *in vivo*

本研究还构建了Raji细胞裸鼠移植瘤模型,观察了稳定转染空载体或MDA-7/IL-24的Raji细胞在体内环境中的生长状态,结果发现,稳定转染MDA-7/IL-24的Raji细胞在体内环境中生长速度明显减慢,瘤质量明显减轻。瘤组织细胞免疫表型的变化与体外实验结果一致。同时瘤组织表达MDA-7/IL-24及BLIMP1的水平明显增高,而Myb及BCL-6的表达水平明显减低。这提示,在体内环境中MDA-7/IL-24依然可通过诱导分化作用抑制Burkitt淋巴瘤细胞的增殖活性。

总之,本研究发现,转染MDA-7/IL-24可促进Burkitt淋巴瘤细胞向终末方向分化,提示MDA-7/IL-24具有成为肿瘤分化诱导剂的潜力,因此可能在今后Burkitt淋巴瘤的临床治疗方面具有广泛的应用空间。

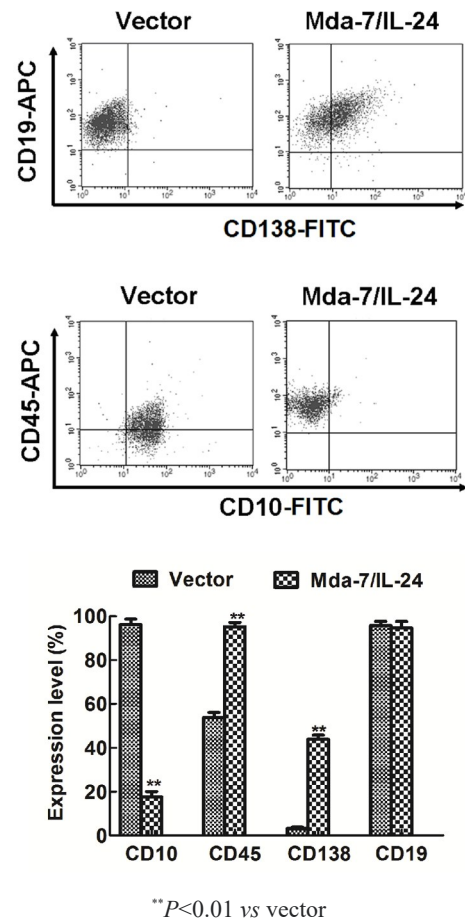
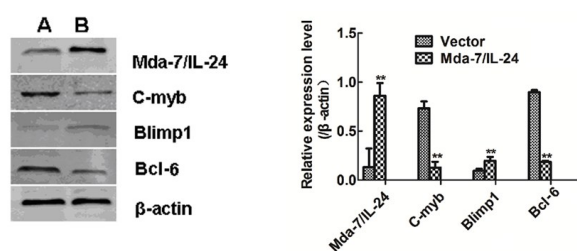


图6 在体内环境中,转染MDA-7/IL-24对Raji细胞免疫表型的影响
Fig. 6 Effect of transfected MDA-7/IL-24 on immunophenotype of Raji cells *in vivo*



** $P < 0.01$ vs vector group

A: Vector group; B: MDA-7/IL-24 group

图7 转染MDA-7/IL-24对Raji细胞在体内环境中表达分化相关蛋白水平的影响

Fig. 7 Effect of transfected MDA-7/IL-24 on differentiation related proteins expression of Raji cells *in vivo*

[参考文献]

- MORIN R D, MENDEZ-LAGO M, MUNGALL A J, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma[J]. *Nature* 2011, 476(7360): 298-303. DOI:10.1038/nature10351.
- FANG P, ZHANG X, GAO Y, et al. Reversal effect of melanoma differentiation associated gene-7/interleukin-24 on multidrug resistance in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Anat Rec*, 2012, 295(10): 1639-1646. DOI: 10.1002/ar.22551.
- MUNSHI A, RAMESH R. IL-24 modulates the high mobility group (HMG) A1/miR222/AKT signaling in lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43):70247-70263. DOI: 10.18632/oncotarget.11838.
- 马鸣, 杨兴肖, 王雪晓, 等. MDA-7/IL-24对B细胞淋巴瘤化疗敏感性的影响[J]. *免疫学杂志*, 2016, 32(2): 137-144. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20160029
- SAHOO A, IM S H. Molecular mechanisms governing IL-24 gene expression[J]. *Immune Netw*, 2012, 12(1): 1-7. DOI:10.4110/in.2012.12.1.1.
- MA M, ZHAO L, SUN G, et al. MDA-7/IL-24 enhances sensitivity of B cell lymphoma to chemotherapy drugs[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 3122-3130. DOI: 10.3892/or.2016.4622.
- DONG C Y, ZHANG F, DUAN Y J, et al. MDA-7/IL-24 inhibits the proliferation of hematopoietic malignancies *in vitro* and *in vivo*[J]. *Exp Hematol*, 2008, 36(8): 938-946. DOI: 10.1016/j.exphem.2008.03.009.
- YANG B X, DUAN Y J, DONG C Y, et al. Novel functions for mda-7/IL-24 and IL-24 delE5: regulation of differentiation of acute myeloid leukemic cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(4): 615-625. DOI: 10.1158/1535-7163.
- TSIDULKO A Y, MATSKOVA L, ASTAKHOVA L A, et al. Proteoglycan expression correlates with the phenotype of malignant and non-malignant EBV-positive B-cell lines[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(41):43529-43539. DOI: 10.18632/oncotarget.5984.
- IWATANI K, TAKATA K, SATO Y, et al. Low-grade B-cell lymphoma presenting primarily in the bone marrow[J]. *Hum Pathol*, 2014, 45(7): 1379-1387. DOI: 10.1016/j.humpath.2014.02.010.
- BARON B W, ANASTASI J, BIES J, et al. GF11B, EVI5, MYB--additional genes that cooperate with the human BCL-6 gene to promote the development of lymphomas[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 52(1):68-75. DOI: 10.1016/j.bcmd.2013.07.003.
- WANG M, YANG W, LI M, et al. Low expression of miR-150 in pediatric intestinal Burkitt lymphoma[J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 96(2):261-266. DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.02.015.
- HAN S S, SON D J, YUN H, et al. Piperlongumine inhibits proliferation and survival of Burkitt lymphoma *in vitro*[J]. *Leuk Res*, 2013, 37(2):146-154. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.11.009.
- RAHMANI M, MAYO M, DASH R, et al. Melanoma differentiation associated gene-7/Interleukin-24 potently induces apoptosis in human myeloid leukemia cells through a process regulated by endoplasmic reticulum stress[J]. *Mol Pharmacol*, 2010, 78(6): 1096-1104. DOI:10.1124/mol.110.068007.
- CHEN S, WANG Z, DAI X, et al. Re-expression of microRNA-150 induces EBV-positive Burkitt lymphoma differentiation by modulating Myb *in vitro*[J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(7):826-834. DOI: 10.1111/cas.12156.
- ZHU D, WAN X, HUANG H, et al. Knockdown of Bmi1 inhibits the stemness properties and tumorigenicity of human bladder cancer stem cell-like side population cells [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(2): 727-736. DOI: 10.3892/or.2013.2919.
- GILTAY N V, SHU G L, SHOCK A, et al. Targeting CD22 with the monoclonal antibody epratuzumab modulates human B-cell maturation and cytokine production in response to Toll-like receptor 7 (TLR7) and B-cell receptor (BCR) signaling[J/OL]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 91 [2017-04-05]. <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-017-1284-2>. DOI: 10.1186/s13075-017-1284-2.
- NAWANDAR D M, WANG A, MAKIELSKI K, et al. Differentiation-dependent KLF4 expression promotes lytic Epstein-Barr virus infection in epithelial cells[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(10): e1005195 [2017-04-05]. <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1005195>. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005195. eCollection 2015 Oct.
- CAI Q, MEDEIROS L J, XU X, et al. MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: biology, entity, differential diagnosis and clinical management[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36): 38591-38616. DOI: 10.18632/oncotarget.5774.
- SESQUES P, JOHNSON N A. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements[J]. *Blood*, 2017, 129(3): 280-288. DOI: 10.1182/blood-2016-02-636316.

[收稿日期] 2017-03-15

[修回日期] 2017-05-13

[本文编辑] 黄静怡