

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2017.09.003

· 基础研究 ·

## miR-223通过*Lmo2*基因和MAPK信号通路调控急性淋巴细胞白血病的恶性生物学行为

陈丽, 赵红勉(河南大学淮河医院 血液科, 河南 开封 475000)

**[摘要]** **目的:**探讨miR-223调控急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)E6-1细胞的增殖和体内成瘤能力及其作用机制。**方法:**应用实时荧光定量PCR(qPCR)检测miR-223在不同ALL细胞株中的表达水平,免疫荧光染色法检测携带miR-223mimic慢病毒感染E6-1细胞株的感染效率,双荧光素酶实验检测miR-223和*Lmo2*的相互结合关系,MTT增殖实验和克隆形成实验检测过表达miR-223对E6-1细胞株增殖和克隆形成能力的影响。裸鼠体内成瘤实验检测miR-223过表达对E6-1细胞成瘤能力的影响。Western blotting检测miR-223对MAPK信号通路相关蛋白表达的影响。**结果:**miR-223在E6-1细胞株中表达水平相对较低( $P<0.05$ ),双荧光素酶实验证实miR-223可以直接靶向结合*Lmo2*的3'UTR区序列。过表达miR-223后:(1)抑制E6-1细胞的增殖能力( $0.16\pm 0.02$  vs  $1.15\pm 0.21$ ,  $P<0.05$ );(2)抑制E6-1细胞的裸鼠体内成瘤能力[( $0.56\pm 0.08$ ) vs ( $1.69\pm 0.22$ )g,  $P<0.05$ ];(3)调控MAPK信号通路的活性。**结论:**miR-223可靶向作用*Lmo2*通过MAPK信号通路调控ALL细胞的增殖、克隆形成和体内成瘤能力。

**[关键词]** miRNA-133; *Lmo2*基因; 急性淋巴细胞白血病; E6-1细胞

**[中图分类号]** R733.71; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)09-0944-06

## miR-223 regulates malignant biological behavior of acute lymphoblastic leukemia cells through targeting *Lmo2* gene and MAPK signal pathway

CHEN Li, ZHAO Hongmian (Department of Hematology, Huaihe Hospital of Henan University, Kaifeng 475000, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect and mechanism of miR-223 regulating the proliferation and *in vivo* tumorigenesis of acute lymphoblastic leukemia (ALL) E6-1 cells. **Methods:** The expression of miR-223 in different ALL cell lines was detected by Real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR). Immunofluorescence was used to detect the transfection efficiency of miR-223mimic-lentivirus transfected E6-1 cell line. Double luciferase assay was used to detect the binding between miR-223 and *Lmo2*. MTT assay and clone formation assay were used to detect the effect of miR-223 on the proliferation and clone formation ability of E6-1 cell line. The effect of miR-223 expression on the tumorigenic ability of E6-1 cells was detected by xenograft formation in nude mice. Western blotting was used to detect the effect of miR-223 on the expressions of MAPK signal pathway related proteins. **Results:** The expression level of miR-223 in E6-1 cell line was relatively low ( $P<0.05$ ). Double luciferase assay confirmed that miR-223 could directly target the 3'UTR of *Lmo2*. Overexpression of miR-223 inhibited the proliferation ( $0.16\pm 0.02$  vs  $1.15\pm 0.21$ ,  $P<0.05$ ) and tumorigenesis [( $0.56\pm 0.08$ )g vs ( $1.69\pm 0.22$ )g,  $P<0.05$ ) of E6-1 cells and regulated the activity of MAPK signal pathway. **Conclusion:** miR-223 can regulate the proliferation, clone formation and *in vivo* tumorigenesis of ALL cells through targeting *Lmo2* and MAPK signal pathway.

**[Key words]** miR-223; *Lmo2* gene; acute lymphoblastic leukemia; E6-1 cell line; MAPK

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(9): 944-949. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.09.003]

**[作者简介]** 陈丽(1977-),女,硕士,主治医师,主要从事血液系统疾病的研究,E-mail: dorcl@126.com

**[通信作者]** 赵红勉(ZHAO Hongmian, corresponding author),硕士,副主任医师,主要从事血液系统疾病的研究,E-mail: zhm6039@163.com

**[优先发表]**

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)是血液系统常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率均高居前位<sup>[1-2]</sup>。近年来尽管早期筛查和新的治疗方式的出现,但ALL化疗后完全缓解率(CRR)仍然不高,尤其有淋巴结转移患者的预后更差<sup>[3]</sup>。miRNA是一种调节基因表达的短链内源性RNA分子,长度为20~23个核苷酸<sup>[4-5]</sup>。有研究<sup>[6]</sup>发现,miR-223主要在骨髓、粒细胞和淋巴细胞中表达。位于X染色体上短臂上,与其他基因转录方式相对独立<sup>[7]</sup>;miR-223通过视黄酸促进ALL细胞中的淋巴细胞的分化,诱导下游结合蛋白激活<sup>[8]</sup>。然而,miR-223在肿瘤进展和分化中的机制仍不清楚。早期miR-223被认为对肿瘤有一定的促进分化作用;近期有报道<sup>[9]</sup>认为,miR-223可以负调节转基因小鼠的淋巴细胞分化、抑制肿瘤的进展;miR-223在膀胱癌和复发性卵巢癌中表达下调<sup>[10-11]</sup>。*Lmo2*是LIM(LMO)蛋白家族成员之一,其基因定位于人11号染色体短臂13号带(11p13),mRNA由6个外显子组成<sup>[12]</sup>。*Lmo2*基因的作用主要是识别其他靶向因子、介导蛋白质分子间的相互作用、促进转录因子复合物的形成,在细胞的增殖分化中起重要作用<sup>[13]</sup>。*Lmo2*基因的序列呈高度保守状态,不易产生异常突变<sup>[14]</sup>。本课题通过检测ALL细胞miR-223的表达水平及miR-223对ALL细胞增殖和体外成瘤能力的影响等,探讨miR-223与*Lmo2*的关系及其在ALL细胞中的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、主要试剂和实验动物

人ALL系HuT 78、E6-1和CCRF-CEM从中科院上海细胞研究所获得,正常骨髓细胞从中科院细胞库馈赠获得。ERK(ab54230)、JNK(ab126424)和p38(ab31828)抗体均购买于美国Abcam公司,TRIzol购自美国Invitrogen公司,miR-223和U6 snRNA引物(内部对照)购自德国QIAGEN公司,miR-223-mimic和miR-223-inhibitor购自上海吉凯基因化学技术有限公司,实时荧光定量PCR(qPCR)引物、RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、PCR试剂盒均购自上海吉玛制药技术有限公司。qPCR引物由上海吉凯基因化学技术公司设计。雌性、5~6周龄BALB/c无胸腺裸鼠购自河南大学医学院动物实验中心,所有涉及动物的手术均按照NIH“实验动物护理和使用指南”和当地动物实验伦理准则进行。本实验由复旦大学上海医学院实验动物伦理委员会批准。

### 1.2 qPCR检测ALL细胞系中miR-223的表达水平

按照TRIzol说明书提取HuT 78、E6-1和CCRF-

CEM细胞总RNA,反应条件:95℃10 min,45个循环;在95℃变性10 s,在60℃下退火和延伸60 s。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算白血病细胞株中的miR-223表达水平。所用的引物序列如下:miR-223 F为5'-ACTTCTCCGGTGGCTTCAG-3',R为5'-UGAAGC-GGCCAGTGTTTAAACG-3';U6 F为5'-ATGGACTATCATATGCTTACCGTA-3',R为5'-TACCTGTAGC-TACGAATGGCATAT-3'。实验重复3次。

### 1.3 细胞培养及慢病毒载体感染E6-1细胞

将白血病HuT 78、E6-1和CCRF-CEM细胞置于含有10%胎牛血清DMEM培养基中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培育,取对数生长期的E6-1细胞,分别将编码miR-223或空载体的慢病毒感染到E6-1细胞中,以获得过表达miR-223的细胞。根据制造商提供的说明书使用Lipofectamine™ 2000(Invitrogen, Carlsbad, CA)将其转染入细胞48 h,通过免疫荧光表达选择具有稳定表达miR-223的克隆细胞株。

### 1.4 双荧光素酶实验检测miR-223和*Lmo2*的关系

通过PCR从人类基因组DNA产生全长miR-223-3'UTR,并通过退火合成的信号寡核苷酸产生突变体miR-223-3'UTR。将这些DNA片段克隆到pTK载体(肾荧光素酶)中,同时使用pGL-3.0(荧光素酶)作为内部对照。根据siPORTneoFX使用方法操作,在转染后48 h制备裂解物。后根据制造商提供的说明书,用双荧光素酶测定系统(Promega, San Luis Obispo, CA)进行荧光素酶分析。实验重复3次。

### 1.5 MTT增殖实验检测E6-1细胞的增殖

取对数期生长的E6-1细胞制成单细胞悬液,接种到96孔板( $1 \times 10^3$ 细胞/孔)中,在细胞培养7 d后,加入20 μl MTT液,每孔充分混合均匀,在37℃下孵育4~6 h。后使用无菌吸管吸出上清液,每孔加入150 μl二甲基亚砷(DMSO),室温下搅拌10 min保证晶体充分溶解。分别在24、48、72、96和120 h测定波长为490 nm处的光密度(D)值,计算E6-1细胞的增殖情况。实验重复3次。

### 1.6 克隆形成实验检测E6-1细胞的增殖能力

用胰蛋白酶消化E6-1细胞并呈单细胞悬浮状态。将 $6 \times 10^3$ 个细胞置于60 mm直径培养皿中培养14 d,固定菌落,用0.5%结晶紫染色15 min,然后洗涤3次。在光镜下观察10个随机视野,计数细胞集落数目(将多于50个细胞组成的细胞团体作为1个细胞集落),比较对照组和实验组细胞集落数目的差异。实验重复3次。

### 1.7 Western blotting检测E6-1细胞中MAPK信号通路蛋白的表达

使用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离

总蛋白,并将其转移到硝酸纤维素膜。使用5%脱脂牛奶充分封闭纤维素膜,并与ERK,JNK和p38抗体(1:2 000),内参GAPDH(1:2 000),4℃,孵育过夜。次日,TBST充分冲洗过后,使用二抗辣根酶标记物(1:5 000)孵育2 h,TBST充分冲洗后,使用增强的化学发光试剂ECL显影液检测目标蛋白的表达水平。

### 1.8 裸鼠体内成瘤模型的构建及观察

取5~6周龄的雌性BALB/c无胸腺裸鼠进行接种实验。制备细胞密度为 $5 \times 10^6$ 个/ml E6-1细胞悬液于150 ml无菌PBS中,注射到裸鼠腋下皮下,每周检查肿瘤生长情况,并通过用游标卡尺测量肿瘤的大小。6周后处死动物、取出肿瘤并称质量,并行H-E染色和GFP荧光素染色,以确认肿瘤组织结构情况及绿色荧光染色强度(miR-223的表达)。

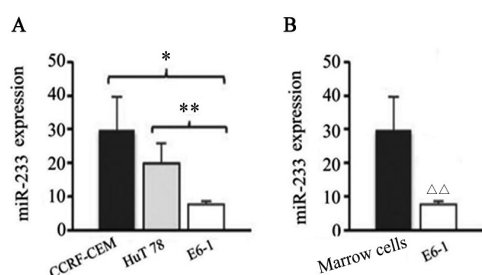
### 1.9 统计学处理

采用SPSS17.0统计软件,用秩和检验分析miR-223在ALL细胞中的差异表达,两组间比较采用 $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-223在ALL细胞株中的低表达

qPCR检测结果(图1)表明,miR-223在3种ALL细胞HuT 78、E6-1和CCRF-CEM中均呈低表达,未超过50%的相对表达量。其中E6-1细胞miR-223表达水平较其他细胞株低( $t = 11.93, P < 0.05$ ;图1A),因此选择E6-1细胞株进行后续研究。E6-1细胞中miR-223表达水平显著低于正常骨髓细胞( $t = 12.15, P < 0.01$ ;图1B)。



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs E6-1 cells;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs marrow cells

A: Different cell lines; B: Marrow cells and E6-1 cells

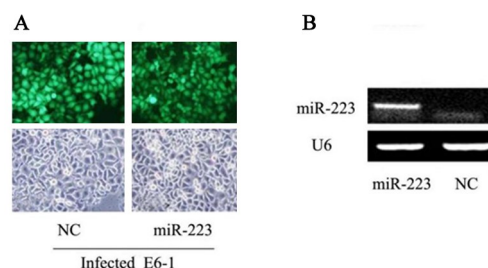
图1 miR-223在ALL细胞株和正常骨髓细胞中的表达

Fig. 1 Expression of miR-223 in different ALL cell lines and marrow cells

### 2.2 成功构建慢病毒感染miR-223过表达E6-1细胞株

使用慢病毒载体成功建立miR-223过表达E6-1细胞株,免疫荧光染色检测结果(图2A)显示,该细胞呈现由miR-223-mimic携带的绿色荧光蛋白(GFP)信号,感染效率为80%。RT-PCR检测结果(图2B)显

示,在miR-223-mimic组中miR-223表达水平显著高于NC组( $1.15 \pm 0.21$  vs  $0.16 \pm 0.02$ ;  $t = 11.62, P < 0.05$ ),前者是后者的7.19倍。因此,将miR-223-mimic转染的E6-1细胞用作稳定的miR-223过表达模型。



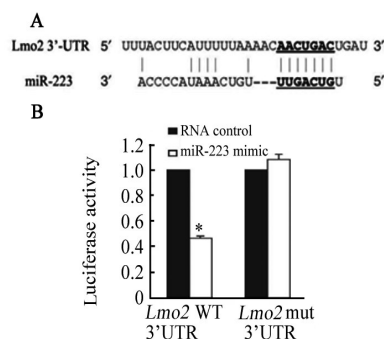
A: Luciferase staining ( $\times 10$ ); B: RT-PCR assay

图2 白血病E6-1细胞的慢病毒感染效率

Fig. 2 Lentivirus infection efficiency of leukemia E6-1 cell line

### 2.3 Lmo2是miR-223的直接靶标

通过使用在线miRNA目标数据库分析,将Lmo2鉴定为潜在的miR-223靶标基因。预测的高度保守的miR-223结合位点与Lmo2的3'-UTR匹配(图3A)。突变型的Lmo2的3'-UTR荧光素酶表达质粒相比,荧光素酶活性显著降低( $0.52 \pm 0.08$  vs  $1.00 \pm 0.00$ ;  $t = 12.06, P < 0.05$ )。此外,miR-223模拟物在野生突变型Lmo2的3'-UTR的细胞中没有诱导荧光素酶活性产生显著变化(图3B)。上述结果表明,miR-223可以结合Lmo2的3'-UTR,说明Lmo2是miR-223的直接靶标。



\* $P < 0.05$  vs Lmo2 mut

A: Binding site of miR-223 to Lmo2;

B: Double luciferase assay

图3 miR-223与Lmo2的3'-UTR序列结合位点

Fig. 3 Binding site of miR-223 to 3'-UTR of Lmo2

### 2.4 miR-223过表达抑制E6-1细胞株的增殖能力

MTT增殖实验结果(图4A)显示,miR-223过表达96和120 h时,E6-1细胞增殖活性显著低于对照组(96 h:  $0.38 \pm 0.09$  vs  $0.65 \pm 0.12$ ,  $t = 12.84, P < 0.05$ ; 120

h:  $0.45 \pm 0.15$  vs  $1.18 \pm 0.31$ ,  $t=10.98$ ,  $P<0.01$ )。克隆形成实验结果(图4B)表明,72 h时,miR-223过表达E6-1细胞的克隆数目显著低于对照组[( $52.26 \pm 8.21$ ) vs ( $153.36 \pm 22.29$ )个;  $t=13.30$ ,  $P<0.05$ ]。上述结果表明,miR-223过表达抑制白血病E6-1细胞的增殖和克隆形成能力。

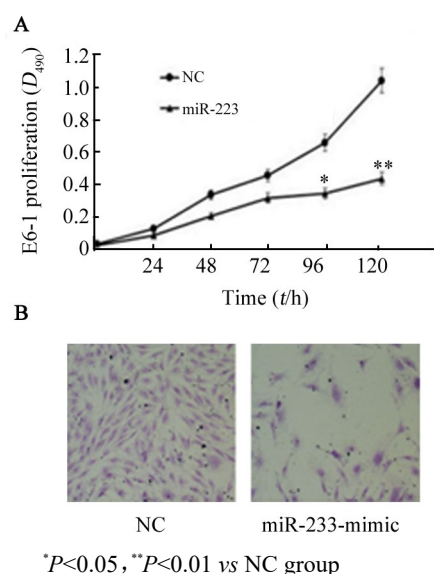


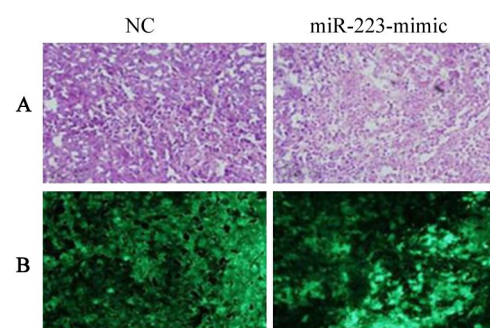
图4 miR-223过表达抑制E6-1细胞增殖和克隆形成能力的影响  
Fig. 4 Effects of miR-223 overexpression on the proliferation and clone formation of E6-1 cell line

## 2.5 miR-223过表达抑制裸鼠体内成瘤能力的影响

成功构建裸鼠E6-1细胞皮下移植瘤模型。2周时,过表达miR-223组的裸鼠肿瘤生长体积明显小于NC组。6周后处死所有小鼠,称肿瘤质量发现,过表达miR-223组裸鼠的肿瘤质量明显低于对照组[( $0.56 \pm 0.08$ ) vs ( $1.69 \pm 0.22$ ) g;  $t=11.19$ ,  $P<0.05$ ]。光镜下H-E染色结果(图5A)确认E6-1细胞移植瘤组织结构;荧光显微镜下见(图5B)绿色荧光表达miR-223在肿瘤组织中的表达水平明显升高,表明转染miR-223-mimic后对裸鼠体内成瘤有促进作用。上述结果提示,miR-223抑制裸鼠E6-1细胞移植瘤细胞的增殖能力。

## 2.6 miR-223通过MAPK通路调控下游ERK1、JNK及p38蛋白的表达

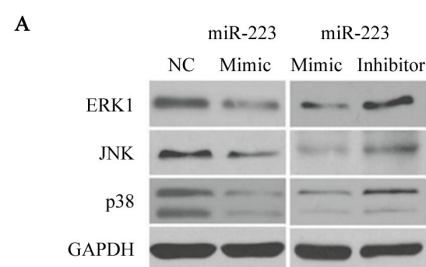
Western blotting检测结果(图6)显示,过表达miR-223后,MAPK信号通路的关键蛋白ERK1、JNK及p38表达水平明显下调( $P<0.05$ );抑制miR-223表达后,ERK1、JNK及p38蛋白表达水平恢复至原始水平。结果表明,miR-223可能通过MAPK信号通路影响下游相关靶点蛋白的表达,进而调控E6-1细胞的增殖及体内成瘤能力。



A: H-E staining; B: GFP fluorescence staining

图5 过表达miR-223抑制裸鼠移植瘤的生长( $\times 10$ )

Fig. 5 Overexpression of miR-223 suppressed growth of the transplanted xenograft in nude mice ( $\times 10$ )



\* $P<0.05$  vs NC group

图6 过表达miR-223对MAPK信号通路蛋白水平的影响  
Fig. 6 Effect of miR-223 overexpression on MAPK signal pathway related protein levels

## 3 讨论

成人ALL是血液系统恶性肿瘤最常见的疾病之一,发病率仅次于急性粒细胞白血病,其化疗后复发率相对较高<sup>[15]</sup>。有研究<sup>[16-17]</sup>显示,多种基因和转录因子在ALL中起重要作用,并对疾病进展过程有一定的调控作用。然而,对于ALL的治疗方案,目前临床上仍然局限于长期的化疗方案,生物靶向治疗尚未在临床上广泛实施,所以研究探讨进行淋巴细胞白血病的发生发展过程中的分子机制是目前的热点。有研究<sup>[18]</sup>表明,miRNA在多种恶性肿瘤中出现表达异常的情况,但是这些表达异常的miRNA是否在肿瘤的发展进程中扮演相关角色尚不清楚。本研究检测miR-223在ALL中的表达情况,并确定其如何影响ALL的发生和发展。有研究<sup>[19]</sup>显示,在早期皮肤肿瘤组织中发现miR-223表达水平显著低于正常皮

肤组织,随着疾病的进展,其水平持续降低,表明 miR-223 在皮肤肿瘤的发展或维持中起重要作用。miR-223 在 ALL 中的表达情况也有相关研究报道,但是仅仅预测了 miR-223 的表达情况与临床期别的相关性,未做更深一步的机制研究。

Lmo2 是造血系统中广泛存在的一种蛋白因子,几乎存在于所有的造血细胞中<sup>[20]</sup>。Lmo2 基因敲除小鼠实验<sup>[21]</sup>证明,Lmo2 的缺失会导致小鼠红细胞生成障碍,严重者导致其死亡,因此 Lmo2 是造血系统发育成熟所必需的。随着细胞的不断分化,Lmo2 的表达会在除红细胞以外的所有细胞系表达下调,其下调对细胞的分化发育过程非常重要。有研究<sup>[22]</sup>提示,高表达 Lmo2 可以形成异常的转录因子复合物,通过识别异于正常情况下的基因序列突变,调控基因转录的正常运行,可以影响细胞内原有的信号调节方式,以至诱导细胞无限制的增殖,导致细胞癌变。因此,笔者推测可能就是这种异常复合物的形成及其对下游基因表达的影响改变了正常细胞系的增殖。然而,Lmo2 的分子作用机制目前还不完全清楚。

MAPK 信号通路参与了许多类型的肿瘤细胞的发生发展过程<sup>[23]</sup>。MAPK 信号的异常可以直接干扰正常的细胞生长调节过程和肿瘤抑制因子诱导的促凋亡反应<sup>[24]</sup>。本研究发现,MAPK 信号通路可以被 miR-223 调控,这与以前的生物信息学预测的结果一致<sup>[25]</sup>。同时,miR-223 的表达可以影响 MAPK 通路的激活情况,且 miR-223 对 MAPK 信号通路的调控作用是可逆的。

在本研究建立了 miR-223 过表达模型,观察了 miR-223 在抑制细胞增殖、体外克隆形成和体内肿瘤发生过程中的作用。结果表明,miR-223 是细胞增殖的负调节剂或肿瘤抑制因子,这与 miR-223 在其他类型的白血病中的作用是一致的<sup>[9]</sup>。通过生物信息学网站寻找 miR-223 下游的相关的靶向基因,包括 *FBXW7*、*Lmo2*、*STMN1*、*NF1A* 等;通过双荧光素酶实验观察到 Lmo2 可以被 miR-223 调控,随着 miR-223 的表达活性相应变化;通过 Western blotting 验证 miR-223 可以调控 MAPK 及其信号转导。miR-223 作为一种肿瘤抑制因子,miR-223 在进行 ALL 细胞中是明显下调的,并可以增加细胞周期蛋白的活性水平,提高基因组不稳定性<sup>[26]</sup>。因此,miR-223 在细胞中的扮演的角色是一个双刃剑,既可以在一定程度上抑制肿瘤细胞的发生,有可能会降低细胞基因组的稳定性,导致基因突变的发生。miRNA 对细胞调节功能的主要影响可能取决于参与不同信号途径靶标的调控。据此推测,在 ALL 模型中,miR-223 可以通过影响 Lmo2 和 MAPK 信号通路,调控肿瘤细胞的

增殖和成瘤能力。

通过对 E6-1 细胞的生物学行为的检测发现,miR-233 过表达可以抑制 E6-1 细胞的增殖和成瘤能力,且可以通过影响 MAPK 信号通路激活相关的蛋白靶点发挥作用。在生理状态下,miR-223 保持稳定高表达的状态,当发生基因突变或自身微环境变化抑制 miR-223 表达时,对细胞的抑制状态减弱,细胞自身的平衡状态可能被破坏,引起部分骨髓细胞的恶性转变,诱导淋巴细胞白血病的发生,且随着病程进展,可以影响到淋巴细胞白血病细胞的生物学行为。

综上所述,本实验阐明了 miR-223/Lmo2 在 ALL 发生发展中的作用,并初步证实了其通过 MAPK 信号通路对肿瘤调控的作用机制,本研究结果有可能为 ALL 的早期诊断和基因靶向治疗提供有价值的指导意见。

## [参 考 文 献]

- [1] KANTARJIAN H, STEIN A, GÖKBUĞET N, et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(9): 836-847. DOI:10.1056/NEJMoa1609783.
- [2] HUNGER S P, MULLIGHAN C G. Acute lymphoblastic leukemia in children[J]. *New Engl J Med*, 2015, 373(16): 1541-1552. DOI: 10.1056/NEJMr1400972.
- [3] TOPP M S, GÖKBUĞET N, ZUGMAIER G, et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2014,32(36): 4134-4140.DOI:10.1200/JCO.2014.56.3247.
- [4] BAO H, CHEN H, ZHU X, et al. MiR-223 downregulation promotes glomerular endothelial cell activation by upregulating importin  $\alpha 4$  and  $\alpha 5$  in IgA nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2014, 85(3): 624-635.DOI:10.1038/ki.2013.469.
- [5] HERBERTH G, BAUER M, GASCH M, et al. Maternal and cord blood miR-223 expression associates with prenatal tobacco smoke exposure and low regulatory T-cell numbers[J/OL]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(2): 543-550[2017-05-02]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00916749>. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.06.036.
- [6] KUMAR V, PALERMO R, TALORA C, et al. Notch and NF- $\kappa$ B signaling pathways regulate miR-223/FBXW7 axis in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2014, 28(12): 2324-2335. DOI: 10.1038/leu.2014.133.
- [7] 懿玉, 周永安, 张万红, 等. DNA 去甲基化对急性 B 淋巴细胞白血病细胞株中 DNA 甲基转移酶基因及微 RNA 作用的研究[J]. *白血·淋巴瘤*, 2016, 25(2): 111-115. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2016.02.012.
- [8] MA J, FANG B, ZENG F, et al. Down-regulation of miR-223 reverses epithelial-mesenchymal transition in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(3): 1740[2017-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4359328/>.DOI:

- 10.18632/oncotarget.2714.
- [9] MANGIAVACCHI A, SORCI M, MASCIARELLI S, et al. The miR-223 host non-coding transcript linc-223 induces IRF4 expression in acute myeloid leukemia by acting as a competing endogenous RNA [J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60155-60168[2017-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5312375/>. DOI:10.18632/oncotarget.11165.
- [10] 龙潺,唐雪元,郑方英,等. miRNA-19b 在急性淋巴细胞白血病发病中的作用机制[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(19): 4724-4726. DOI:10.3969/j.issn.1005-9202.2016.19.023.
- [11] SHAPIRA I, OSWALD M, LOVECCHIO J, et al. Circulating biomarkers for detection of ovarian cancer and predicting cancer outcomes[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(4): 976-983. DOI: 10.1038/bjc.2013.795.
- [12] SINCENNES M C, HUMBERT M, GRONDIN B, et al. LMO2 regulates DNA replication in hematopoietic cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(5): 1393-1398. DOI: 10.1073/pnas.1515071113.
- [13] MENG S, MATRONE G, LV J, et al. LMO2 regulates endothelial proliferation, angiogenesis and tissue regeneration[J/OL]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(10): e004117[2017-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5121509/>. DOI:10.1161/JAHA.116.004117.
- [14] FU J, KOUL D, WU S, et al. Oncogenic activation of LMO2 by EGFR signaling regulates STAT3 phosphorylation and transcriptional activity in human glioma[J/OL]. *Cancer Res*, 2014, 2014: M2014-4170 [2017-05-02]. [http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19\\_Supplement/4170.short](http://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/4170.short). DOI:10.1158/1538-7445.
- [15] ZOUGGARI Y, AIT-OUFELLA H, BONNIN P, et al. B lymphocytes trigger monocyte mobilization and impair heart function after acute myocardial infarction[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1273-1280. DOI:10.1038/nm.3284.
- [16] KANTARJIAN H, THOMAS D, JORGENSEN J, et al. Results of inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody, in refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia[J]. *Cancer*, 2013, 119(15): 2728-2736. DOI:10.1002/cncr.28136.
- [17] LONETTI A, ANTUNES I L, CHIARINI F, et al. Activity of the pan-class I phosphoinositide 3-kinase inhibitor NVP-BKM120 in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2014, 28(6): 1196-1206. DOI:10.1038/leu.2013.369.
- [18] GARDINER E, CARROLL A, TOONEY P A, et al. Antipsychotic drug-associated gene-miRNA interaction in T-lymphocytes[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(6): 929-943. DOI:10.1017/S1461145713001752.
- [19] YAN W, XU L, SUN Z, et al. MicroRNA biomarker identification for pediatric acute myeloid leukemia based on a novel bioinformatics model[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 26424-26436[2017-05-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4694912/>. DOI:10.18632/oncotarget.4459.
- [20] RAHMAN S, MAGNUSSEN M, LEÓN T E, et al. Activation of the LMO2 oncogene through a somatically acquired neomorphic promoter in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2017, 129(24): 3221-3226. DOI:10.1182/blood-2016-09-742148.
- [21] 刘志晶. hESCs 和 hiPSCs 向红细胞分化的 DNA 甲基化谱分析及 OCT4 诱导 hHFMSCs 向红细胞分化[D]. 吉林大学, 2015.
- [22] KIM S H, KIM E J, HITOMI M, et al. The LIM-only transcription factor LMO2 determines tumorigenic and angiogenic traits in glioma stem cells[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(9): 1517-1525. DOI: 10.1038/cdd.2015.7.
- [23] YANG J, WU Z, RENIER N, et al. Pathological axonal death through a MAPK cascade that triggers a local energy deficit[J]. *Cell*, 2015, 160(1): 161-176. DOI:10.1016/j.cell.2014.11.053.
- [24] ELEVELD T F, OLDRIDGE D A, BERNARD V, et al. Relapsed neuroblastomas show frequent RAS-MAPK pathway mutations[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(8): 864-871. DOI:10.1038/ng.3333.
- [25] MATSUI S, OGATA Y. Effects of miR-223 on expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 in human gingival fibroblasts[J]. *J Oral Sci*, 2016, 58(1): 101-108. DOI:10.2334/josnusd.58.101.
- [26] NEMES K, CSÓKA M, NAGY N, et al. Expression of certain leukemia/lymphoma related microRNAs and its correlation with prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pathol Oncol Res*, 2015, 21(3): 597-604. DOI:10.1007/s12253-014-9861-z.
- [收稿日期] 2017-05-05 [修回日期] 2017-07-27  
[本文编辑] 党瑞山

· 读者·作者·编者·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》,全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定,正确使用量和单位的名称和符号。(1) 量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外),例如 *m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2) 单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示,例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3) 表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时,一般使用 L(升)作为检验组成含量单位的分母。(4) 表示用药剂量单位时,不能写成 mg/kg/d 的形式,应写成 mg/(kg·d) 或 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 的形式。(5) 单位符号常见书写错误:长度单位符号 Å(埃)已不用,应写作 0.1 nm;时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec);转速单位符号为 r/min(不是 rpm);量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N,也不是 mol/mm<sup>3</sup>);力的单位“牛顿”符号为 N[不是 dyn(达因)],kgf(千克力),换算 1 dyn=10<sup>-5</sup>N;热量单位“焦耳”符号为 J[不是 cal(卡)、kcal(千卡)],换算 1 cal=4.187 J;放射性活度单位符号为 Bq[不是 Ci(居里)],换算 1 Ci=3.7×10<sup>10</sup>Bq。

(本刊编辑部)