

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.01.005

## miR-17-5p 通过靶向 SETD2 调控骨髓增生异常综合征 SKM-1 细胞的增殖与凋亡

张永晓, 李英华(衡水市人民医院 血液内科, 河北 衡水 053000)

**[摘要]** **目的:** 探讨 miR-17-5p 和含 SET 结构域蛋白 2 (SETD2) 对骨髓增生异常综合征 (MDS) SKM-1 细胞增殖与凋亡的影响及其作用机制。 **方法:** 收集 2019 年 3 月至 2021 年 5 月衡水市人民医院就诊的 35 例 MDS 患者的骨髓标本 (MDS 组)、35 例健康体检者的骨髓标本 (对照组), 以及 MDS 细胞系 SKM-1。用 qPCR 法检测 MDS 骨髓和 SKM-1 细胞中 miR-17-5p、SETD2 mRNA 的表达水平。双荧光素酶报告基因实验验证 miR-17-5p 与 SETD2 的靶向关系。利用脂质体转染技术, 分别将 si-miR-NC、si-miR-17-5p、miR-NC、miR-17-5p mimic、pcDNA、pcDNA-SETD2、si-miR-17-5p+si-NC、si-miR-17-5p+si-SETD2 等转染至 SKM-1 细胞, CCK-8 法、流式细胞术检测细胞的增殖和凋亡水平, WB 法检测细胞中 SETD2、C-caspase-3、C-caspase-9 的表达。 **结果:** 与对照组相比, MDS 组骨髓中 miR-17-5p 表达水平显著升高, SETD2 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低 (均  $P < 0.01$ )。与 si-miR-NC 组相比, si-miR-17-5p 组 SKM-1 细胞增殖能力显著降低、凋亡率显著升高, 细胞中 C-caspase-3 和 C-caspase-9 表达显著升高 (均  $P < 0.01$ )。miR-17-5p 明显抑制野生型 SETD2 细胞的荧光素酶活性 ( $P < 0.01$ ), 并负向调控 SETD2 的表达。过表达 SETD2 可显著抑制 SKM-1 细胞的增殖并促进细胞凋亡, 同时干扰 SETD2 表达则可部分逆转干扰 miR-17-5p 对 SKM-1 细胞的增殖抑制和凋亡促进作用。 **结论:** MDS 骨髓中 miR-17-5p 呈高表达, 干扰 miR-17-5p 可抑制 SKM-1 细胞增殖并促进细胞凋亡, 其机制与 miR-17-5p 靶向负调控 SETD2 的表达有关。

**[关键词]** 骨髓增生异常综合征; SKM-1 细胞; miR-17-5p; 含 SET 结构域蛋白 2; 增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R551.31; R733.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2022)01-0030-07

## miR-17-5p regulates the proliferation and apoptosis of myelodysplastic syndrome SKM-1 cells by targeting SETD2

ZHANG Yongxiao, LI Yinghua (Department of Hematopathology, Hengshui People's Hospital, Hengshui 053000, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of miR-17-5p and SET domain containing 2 (SETD2) on proliferation and apoptosis of myelodysplastic syndrome (MDS) SKM-1 cells and its mechanism. **Methods:** Bone marrow samples of 35 MDS patients (MDS group) and 35 healthy persons (control group) who had treatment or health checkup in Hengshui People's Hospital from March 2019 to May 2021 were collected; in addition, MDS cell line SKM-1 was also collected for this study. The mRNA expression levels of miR-17-5p and SETD2 in MDS bone marrow and SKM-1 cells were detected by qPCR. The targeting relationship between miR-17-5p and SETD2 was verified using dual-luciferase reporter gene assay. si-miR-NC, si-miR-17-5p, miR-NC, miR-17-5p mimics, pcDNA, pcDNA-SETD2, si-miR-17-5p+si-NC, and si-miR-17-5p+si-SETD2 were respectively transfected into SKM-1 cells using liposome transfection technology. CCK-8 method and flow cytometry were used to detect proliferation and apoptosis of SKM-1 cells, and WB method was used to detect the expression of SETD2, C-caspase-3 and C-caspase-9. **Results:** Compared with the control group, the expression level of miR-17-5p in bone marrow of MDS group significantly elevated, while the mRNA and protein expression levels of SETD2 significantly decreased (all  $P < 0.01$ ). Compared with si-miR-NC group, the proliferation ability of SKM-1 cells in si-miR-17-5p group decreased significantly, while the apoptosis rate and the expression of C-caspase-3 and C-caspase-9 increased significantly (all  $P < 0.01$ ). miR-17-5p significantly inhibited the luciferase activity of the cells with wild-type SETD2 ( $P < 0.01$ ), and negatively regulated the expression of SETD2. Overexpression of SETD2 significantly inhibited the proliferation and promoted apoptosis of SKM-1 cells, while simultaneously interfering with the expression of SETD2 partially reversed the proliferation inhibition and apoptosis promotion effect of miR-17-5p knockdown on SKM-1 cells. **Conclusion:** miR-17-5p is highly expressed in MDS bone marrow. Knockdown of

**[基金项目]** 河北省医学科学研究重点课题计划项目 (No. 20181567)

**[作者简介]** 张永晓 (1985—), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事血液系统肿瘤综合治疗的研究, E-mail: aoxkumg9p@21cn.com

**[通信作者]** 李英华, E-mail: 33104206@qq.com

miR-17-5p can inhibit proliferation and promote apoptosis of SKM-1 cells, the mechanism of which may be related to the negative regulation of SETD2 expression by miR-17-5p.

**[Key words]** myelodysplastic syndrome (MDS); SKM-1 cell; miR-17-5p; SET domain containing 2 (SETD2); proliferation; apoptosis  
[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(1): 30-36. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.01.005]

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)是一种异质性血液系统恶性肿瘤,以细胞减少为特征并伴有转化为急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)的危险<sup>[1-2]</sup>。miRNA 是一类长度为18~22个核苷酸的非编码微小RNA,通过与3' UTR不完全碱基互补配对在转录后抑制靶基因的表达,导致靶基因mRNA的翻译阻滞<sup>[3-4]</sup>。miRNA广泛参与人类多种疾病的发生与发展,其中包括MDS<sup>[5-6]</sup>。miR-17-5p作为miR-17家族成员之一,参与调节神经母细胞瘤、AML和MDS等多种肿瘤的进展<sup>[7-9]</sup>。有研究结果<sup>[10]</sup>显示,含SET结构域蛋白2(SET domain containing 2, SETD2)参与AML的发病机制,虽其在MDS中的作用也有相关报道,但其潜在的调控机制仍尚未明了。本课题观察MDS患者骨髓中miR-17-5p和SETD2的表达,探讨MDS细胞SKM-1中干预miR-17-5p、过表达SETD2、干预SETD2处理后细胞的增殖与凋亡水平,以揭示miR-17-5p调控MDS细胞增殖与凋亡的机制,为临床MDS的精准治疗提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集2019年3月至2021年5月衡水市人民医院就诊的35例MDS患者的骨髓组织标本,患者确诊依据为《骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南》(2019年版),标记为MDS组,所有患者均为未进行任何治疗的初诊原发性MDS。同时收集35例健康体检者的骨髓组织标本,标记为对照组。所有标本采集前均告知患者并签署知情同意书。MDS细胞系SKM-1来自本医院。

CCK-8试剂盒购自日本同仁公司,Annexin V/FITC细胞凋亡检测试剂盒购自日本TaKaRa公司,Lipofectamine™3000转染试剂购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,兔抗SETD2、cleaved caspase-3(C-caspase-3)、C-caspase-9抗体购自上海艾博抗(Abcam)贸易有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购自北京博尔西科技有限公司,实验中所有引物、核酸序列均由上海吉玛基因股份有限公司提供。

### 1.2 细胞培养、分组与转染

将SKM-1细胞置于含有10%胎牛血清的DMEM

培养液中,于37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养,每2d更换一次培养液。

将培养48h的SKM-1细胞分为NC组(不做任何处理)、si-miR-17-5p组(转染si-miR-17-5p mimic)、si-miR-CN组(转染si-miR-CN)、miR-17-5p组(转染miR-17-5p mimic)、miR-CN组(转染miR-CN)、pcDNA组(转染pcDNA)、pcDNA-SETD2组(转染pcDNA-SETD2)、si-SETD2组(转染siSETD2)、si-NC(转染siRNA)、si-miR-17-5p+si-CN组(共转染si-miR-17-5p和si-CN)、si-miR-17-5p+si-SETD2组(共转染si-miR-17-5p和si-SETD2)。按照Lipofectamine™3000转染试剂说明书方法,将各个重组质粒转染至SKM-1细胞中,转染12h时更换新鲜培养液。qPCR或WB实验检测转染效率,确定转染成功后方可进行后续研究。

### 1.3 qPCR法检测SKM-1细胞中miR-17-5p和SETD2 mRNA的表达

用RNA抽提试剂盒提取各组待检测细胞中总RNA,再用逆转录试剂逆转录成cDNA,最后用qPCR试剂盒检测cDNA中miR-17-5p、SETD2 mRNA的表达水平。引物序列:miR-17-5p F为5'-TCTAGATCCCGA GGACTG-3',R为5'-ATCGTGACCTGAACC-3';SETD2 F为5'-AACGGGAGGCTCAGAAACAA-3',R为5'-GTGGGTAACCAGCAAAGGGA-3';U6 F为5'-AAC GCTTCACGAATTTGCGT-3',R为5'-CCAAGC TTATGACAGCCATCATC-3';GAPDH F为5'-TGAGATCAACGTGTTCCAGTG-3',R为5'-ACC AGATGAAATG TGCCCC-3'。qPCR反应条件:95℃预变性2min;95℃变性30s,60℃退火30s,72℃延伸50s,共进行41个循环;最后72℃保持5min。以U6、GAPDH为内参,以2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算miR-17-5p和SETD2 mRNA的相对表达量。

### 1.4 WB法检测SKM-1细胞中SETD2、C-caspase-3和C-caspase-9的表达

取各组对数生长期细胞,用RIPA细胞裂解液冰上裂解30min,提取细胞总蛋白。对蛋白进行定量、变性处理,离心取上清用于蛋白电泳上样,进行10%SDS-PAGE,将蛋白质转移至PVDF膜上,用含有2.5%脱脂奶粉的封闭液37℃下处理2h。将PVDF膜浸入稀释的兔抗SETD2(1:1000)、C-caspase-3(1:1000)、C-caspase-9(1:1500)、β-actin(1:800)一抗中,4℃下处理过夜。次日,充分清洗后,加入HRP

标记的山羊抗兔二抗(1:500), 37 °C下处理 2 h。清洗后, 用 ECL 电化学发光法显影、曝光。ImageJ 软件分析蛋白条带的灰度值, 以目的蛋白与内参蛋白的灰度值之比表示目的蛋白的相对表达量。

### 1.5 CCK-8 法检测 SKM-1 细胞的增殖能力

将各组细胞密度调整至  $1 \times 10^5$  个/mL, 取 100  $\mu$ L 加入 96 孔板中, 依次加入 20  $\mu$ L CCK-8 溶液, 分别在 24、48 和 72 h 时, 上酶标仪检测 490 nm 波长处每孔的光密度(D)值, 以 D 值表示细胞的增殖能力。

### 1.6 流式细胞术检测 SKM-1 细胞的凋亡水平

将各组细胞用 600  $\mu$ L 结合缓冲液悬浮后, 依次加入 Annexin V/FITC、PI 染色液各 5  $\mu$ L, 避光下放置 20 min 后, 快速上流式细胞仪检测 SKM-1 细胞的凋亡率。细胞总凋亡率=早期凋亡率+晚期凋亡率。

### 1.7 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-17-5p 与 SETD2 的靶向关系

通过 TargetScan 软件预测 miR-17-5p 与 SETD2 之间存在的互补结合位点。将含有野生型(WT)或突变型(MUT)SETD2 3' UTR 中含 miR-17-5p 结合位点的核苷酸序列克隆到 pGL3 荧光素酶报告质粒载体。将对数生长期 SKM-1 细胞接种在 24 孔板( $2 \times 10^5$  个/孔), 然后用 Lipofectamine™3000 将 miR-17-5p mimic、miR-NC 与 WT 或 MUT 报告质粒共转染至

SKM-1 细胞, 继续培养 48 h, 使用双荧光素酶试剂盒测定细胞的荧光活性。

### 1.8 统计学处理

qPCR、WB、CCK-8 和流式细胞术等实验均重复 3 次。采用 SPSS22.0 统计学软件对实验数据进行处理。符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组数据间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组数据间比较采用单因素方差分析, miR-17-5p 与 SETD2 mRNA 表达之间的关系采用 Pearson 相关性分析, 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MDS 骨髓组织中 miR-17-5p 高表达而 SETD2 mRNA 低表达

qPCR 和 WB 法检测结果显示, 与对照组相比, MDS 骨髓组织中 miR-17-5p 表达水平显著升高 ( $11.65 \pm 4.69$  vs  $1.00 \pm 0.32$ ,  $t = 13.403$ ,  $P < 0.01$ ), SETD2 mRNA 和蛋白表达均显著降低 ( $0.41 \pm 0.22$  vs  $1.00 \pm 0.34$ ,  $t = 8.619$ ,  $P < 0.01$ ;  $0.21 \pm 0.07$  vs  $0.68 \pm 0.14$ ,  $t = 9.008$ ,  $P < 0.01$ ; 图 1A)。Pearson 相关性分析结果(图 1B)显示, MDS 骨髓组织中 miR-17-5p 表达与 SETD2 mRNA 表达之间呈显著负相关( $r = -0.546$ ,  $P < 0.01$ )。

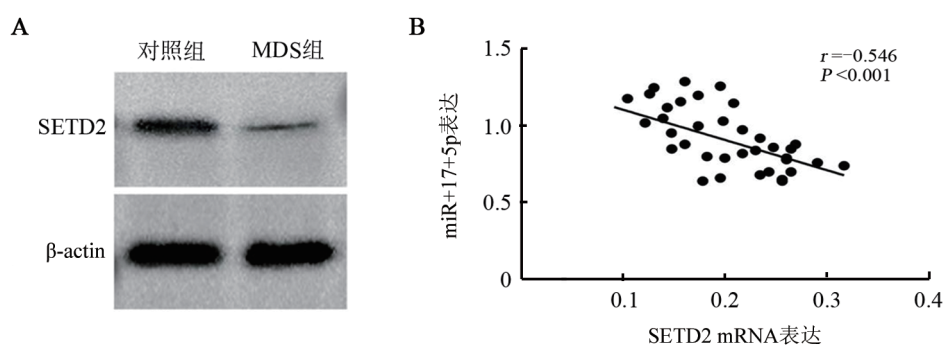


图 1 MDS 骨髓组织中 SETD2 表达(A)和 miR-17-5p 与 SETD2 mRNA 表达的相关性分析(B)

### 2.2 干扰 miR-17-5p 可抑制 SKM-1 细胞的增殖能力

CCK-8 法检测结果显示, 与 NC 组和 si-miR-NC 组相比, si-miR-17-5p 组 SKM-1 细胞中 miR-17-5p 表达显著降低 ( $0.24 \pm 0.05$  vs  $1.00 \pm 0.07$ 、 $0.98 \pm 0.12$ ,  $F = 234.349$ ,  $P < 0.01$ ); 在转染 24、48 和 72 h 时, 细胞增殖能力均显著降低 ( $t_{24h}$ :  $0.32 \pm 0.04$  vs  $0.39 \pm 0.04$ 、 $0.38 \pm 0.05$ ,  $F = 6.789$ ,  $P < 0.01$ ;  $t_{48h}$ :  $0.45 \pm 0.05$  vs  $0.67 \pm 0.08$ 、 $0.65 \pm 0.06$ ,  $F = 31.968$ ,  $P < 0.01$ ;  $t_{72h}$ :  $0.73 \pm 0.09$  vs  $1.12 \pm 0.13$ 、 $1.14 \pm 0.14$ ,  $F = 32.348$ ,  $P < 0.01$ )。结果表明, 干扰 miR-17-5p 表达可显著降低 SKM-1 细胞的增殖能力。

### 2.3 干扰 miR-17-5p 可诱导 SKM-1 细胞凋亡

流式细胞术检测结果显示, 与 NC 组和 si-miR-NC 组相比, si-miR-17-5p 组 SKM-1 细胞凋亡率显著升高 [ $(13.36 \pm 2.54)\%$  vs  $(3.26 \pm 0.60)\%$ 、 $(3.46 \pm 0.69)\%$ ,  $F = 123.533$ ,  $P < 0.01$ ; 图 2A]。WB 法检测结果显示, si-miR-17-5p 组 SKM-1 细胞中 C-caspase-3、C-caspase-9 表达水平显著升高 ( $0.37 \pm 0.05$  vs  $0.15 \pm 0.03$ 、 $0.13 \pm 0.04$ ,  $F = 95.760$ ,  $P < 0.01$ ;  $0.43 \pm 0.07$  vs  $0.08 \pm 0.03$ 、 $0.11 \pm 0.04$ ,  $F = 137.311$ ,  $P < 0.01$ ; 图 2B)。结果表明, 干扰 miR-17-5p 表达可诱导 SKM-1 细胞凋亡。

### 2.4 miR-17-5p 靶向调控 SETD2 表达

通过预测软件 TargetScan 预测到 miR-17-5p 与 SETD2 之间存在连续 6 个互补的核苷酸结合位点(图

3A)。双荧光素酶报告基因实验结果(图3B)显示,与miR-NC组相比,转染miR-17-5p mimic后,WT组细胞的荧光素酶活性显著降低( $t=13.389, P<0.01$ ),而MUT组细胞的荧光素酶活性变化不显著( $t=0.651, P>0.05$ )。WB法检测结果显示,与miR-NC组相比,miR-17-5p mimic组细胞中SETD2蛋白表达显著降低

( $0.06\pm 0.01$  vs  $0.24\pm 0.05, t=10.590, P<0.01$ );与si-miR-NC组相比,si-miR-17-5p mimic组细胞中SETD2蛋白表达显著升高( $0.43\pm 0.07$  vs  $0.21\pm 0.05, t=7.672, P<0.01$ ;图3C)。结果表明,miR-17-5p靶向负调控SETD2蛋白的表达。

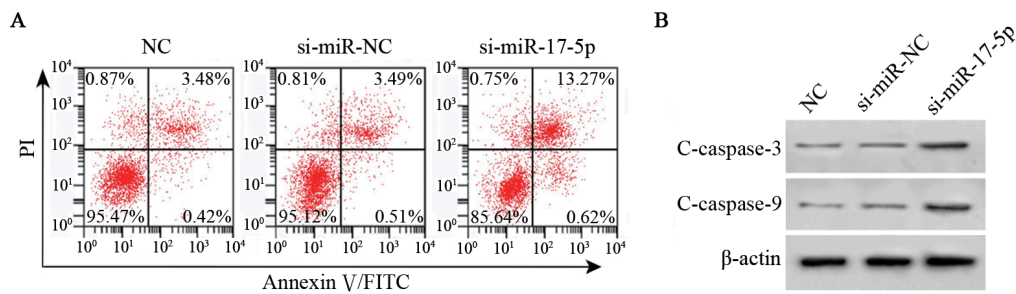
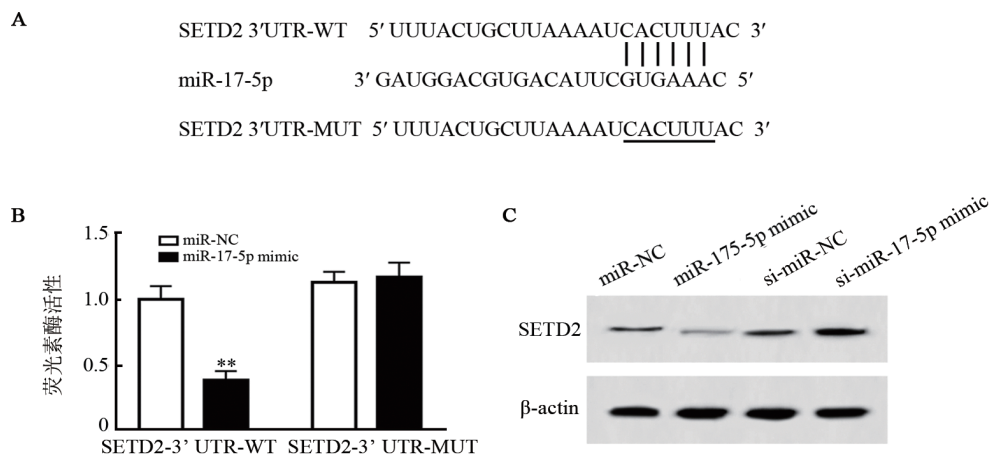


图2 干扰miR-17-5p对SKM-1细胞凋亡(A)及其相关蛋白表达(B)的影响



与miR-NC组比较, \*\* $P<0.01$

A: miR-17-5p与SETD2之间的核苷酸结合位点; B: 荧光素酶报告基因实验; C: WB法检测miR-17-5p对SETD2蛋白表达的调控

图3 SKM-1细胞中miR-17-5p靶向调控SETD2的表达

### 2.5 过表达SETD2可降低SKM-1细胞的增殖活力并促进细胞凋亡

转染pcDNA-SETD2后, WB、CCK-8和流式细胞术检测结果(表1和图4)显示,与NC组和pcDNA组相比,pcDNA-SETD2组SKM-1细胞中SETD2蛋白表达显著

升高(均 $P<0.01$ ),转染后24、48和72 h时细胞增殖活力均显著降低(均 $P<0.01$ )、细胞凋亡率显著升高( $P<0.01$ ),细胞中C-caspase-3和C-caspase-9表达均显著升高(均 $P<0.01$ )。结果表明,过表达SETD2可明显降低SKM-1细胞的增殖能力并促进细胞凋亡。

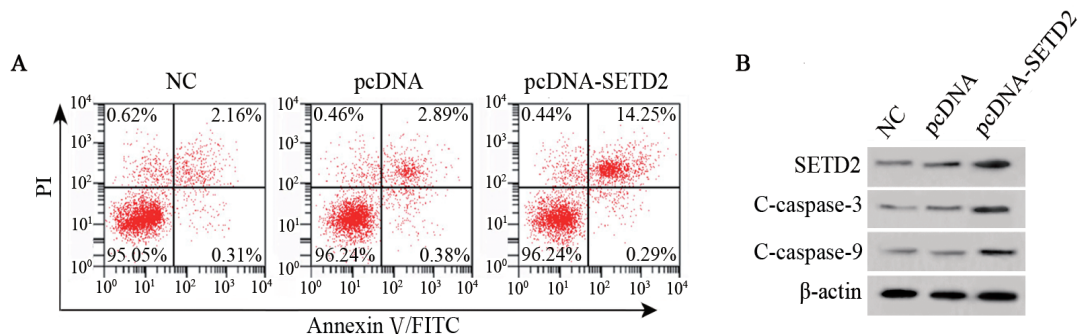


图4 过表达SETD2对SKM-1细胞凋亡(A)及SETD2、C-caspase-9和C-caspase-3表达(B)的影响

表1 过表达SETD2对SKM-1细胞增殖、凋亡及其相关蛋白表达的影响

分组	SETD2	细胞增殖活力( $D_{490}$ )			细胞凋亡率(%)	C-caspase-3	C-caspase-9
		24 h	48 h	72 h			
NC	0.17±0.03	0.38±0.06	0.68±0.09	1.18±0.11	5.43±0.57	0.11±0.03	0.16±0.03
pcDNA	0.16±0.04	0.37±0.05	0.65±0.06	1.14±0.13	5.09±0.74	0.13±0.04	0.15±0.04
pcDNA-SETD2	0.54±0.05	0.31±0.04	0.43±0.07	0.77±0.09	18.63±2.85	0.43±0.05	0.39±0.06
<i>F</i>	253.260	5.026	30.307	37.198	172.943	173.520	81.590
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

2.6 沉默 SETD2 可部分逆转干扰 miR-17-5p 对 SKM-1 细胞的增殖抑制和凋亡促进作用

转染 si-miR-17-5p 后, WB、CCK-8 法和流式细胞术检测结果(表 2 和图 5)显示, 与 si-miR-NC 组相比, si-miR-17-5p 组细胞中 SETD2 蛋白表达显著升高 ( $P<0.01$ ); 在 24、48 和 72 h 时细胞的增殖能力均显著降低(均  $P<0.01$ ), 细胞凋亡率显著升高 ( $P<0.01$ ), 细胞中 C-caspase-3 和 C-caspase-9 表达均显著升

高(均  $P<0.01$ ); 与 si-miR-17-5p+si-NC 组相比, si-miR-17-5p+si-SETD2 组细胞中 SETD2 蛋白的表达水平显著降低 ( $P<0.01$ ), 在 24、48、72 h 细胞增殖能力均显著升高(均  $P<0.01$ ), 细胞凋亡率显著降低 ( $P<0.01$ ), C-caspase-3 和 C-caspase-9 表达均显著降低(均  $P<0.01$ )。结果表明, 沉默 SETD2 可部分逆转干扰 miR-17-5p 对 SKM-1 细胞的增殖抑制、凋亡促进作用。

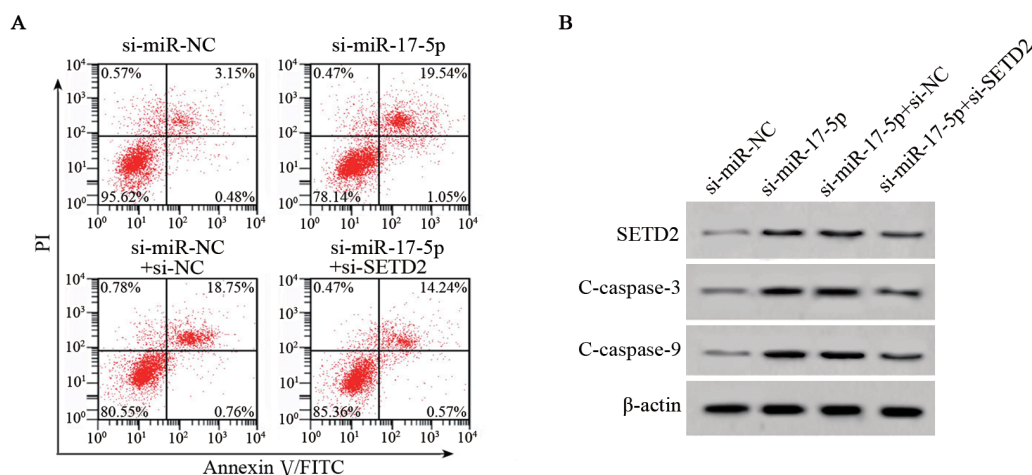


图5 同时干扰 SETD2 和 miR-17-5p 对 SKM-1 细胞凋亡(A)及其相关蛋白表达(B)的影响

表2 同时干扰 SETD2 和 miR-17-5p 对 SKM-1 细胞增殖和凋亡及其相关蛋白表达的影响

分组	SETD2	细胞增殖活力( $D_{490}$ )			细胞凋亡率(%)	C-caspase-3	C-caspase-9
		24 h	48 h	72 h			
si-miR-NC	0.12±0.03	0.41±0.05	0.76±0.07	1.24±0.12	4.24±0.65	0.13±0.04	0.16±0.02
si-miR-17-5p	0.44±0.06	0.34±0.03	0.51±0.08	0.88±0.011	17.53±2.59	0.43±0.06	0.45±0.07
<i>t</i>	14.311	3.601	7.055	8.962	14.930	12.481	11.950
<i>P</i>	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
si-miR-17-5p+si-CN	0.46±0.05	0.33±0.02	0.52±0.07	0.94±0.09	19.16±2.85	0.46±0.06	0.41±0.06
si-miR-17-5p+si-SETD2	0.29±0.06	0.37±0.03	0.67±0.08	1.12±0.15	13.54±1.17	0.27±0.04	0.23±0.04
<i>t</i>	6.53	3.3287	4.233	3.087	5.473	7.904	7.488
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

MDS 是一种以造血功能低下为特征的克隆性干细胞疾病, 具有向 AML 转化的高风险<sup>[1]</sup>。miRNA 在

多种肿瘤中作为抑癌基因或致癌基因发挥其作用, 调控细胞的增殖与凋亡<sup>[12-14]</sup>, 也可能在 MDS 的发生发展中起重要作用。近期的研究结果<sup>[15]</sup>显示, miR-17-5p 作为 lncRNA HOTAIR 在 AML 中表达异常升高并促

进AML细胞的分化,其机制为靶向抑制下游miR-17-5p表达而上调p21。HE等<sup>[16]</sup>研究发现,miR-17/20a参与缺氧诱导因子1介导的MDS细胞的分化过程。VASILATOU等<sup>[17]</sup>研究发现,miR-17-5p在高危MDS患者中的表达水平显著高于低危MDS患者,并且其表达水平与MDS患者的总生存率有关。本研究结果发现,miR-17-5p在MDS骨髓组织中高表达,这与前述研究者的研究结论相一致。为了探究miR-17-5p参与MDS发展的调控机制,研究者<sup>[18]</sup>还检测了干扰miR-17-5p表达对MDS细胞增殖与凋亡的影响,结果发现干扰miR-17-5p表达显著抑制MDS细胞的增殖并促进细胞凋亡,同时还下调凋亡相关蛋白C-caspase-3和C-caspase-9的表达。研究结果揭示了miR-17-5p在MDS发生发展过程中起重要作用。进一步研究发现,SETD2在MDS中作为miR-17-5p的靶基因而表达失调,这也许与miR-17-5p在MDS中的调控作用存在一定的相关性。

MDS发展为AML与基因突变有关。据报道<sup>[18]</sup>,含有2个SETD2变异体的SET结构域为AML患者预后不良的危险因素。但是SETD2在MDS中的作用机制仍有待深入研究。LI等<sup>[19]</sup>研究发现,SETD2基因低表达与MDS患者不良预后密切相关,并且其可通过上调骨髓细胞中散乱蛋白3的表达促进MDS转化为AML。CHEN等<sup>[20]</sup>也报道,SETD2在MDS中低表达与患者生存期缩短显著相关,其具有促进MDS向AML转化的功能,提示SETD2是治疗MDS转化为AML的潜在靶点。上述研究结果均表明,SETD2在MDS中扮演致病基因的角色。本研究结果发现,SETD2在MDS中呈显著低表达,这与上述研究者的研究结果相一致。此外本研究还发现,过表达SETD2的MDS细胞增殖能力显著下降、凋亡能力明显增强,而沉默SETD2却可以显著逆转干扰miR-17-5p对MDS细胞增殖抑制和凋亡促进作用。研究结果说明,不仅miR-17-5p可负向调控SETD2在MDS组织中的表达,SETD2也具有逆向调控miR-17-5p表达的作用。

综上所述,本研究结果表明MDS骨髓中miR-17-5p高表达,其作用是调控MDS细胞的增殖与凋亡能力,产生这种作用的机制与miR-17-5p靶向负调控SETD2相关,此结果为MDS的治疗提供了新的靶点。

#### [参考文献]

- [1] HASSERJIAN R P. Myelodysplastic syndrome updated[J]. *Pathobiology*, 2019, 86(1): 7-13. DOI:10.1159/000489702.
- [2] FENAUX P, PLATZBECKER U, ADES L. How we manage adults with myelodysplastic syndrome[J]. *Br J Haematol*, 2020, 189(6): 1016-1027. DOI:10.1111/bjh.16206.
- [3] RAMZAN F, VICKERS M H, MITHEN R F. Epigenetics, microRNA and metabolic syndrome: a comprehensive review[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 5047[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8126218/>. DOI:10.3390/ijms22095047.
- [4] WEN J, HUANG Y, LI H Y, *et al.* Over-expression of miR-196b-5p is significantly associated with the progression of myelodysplastic syndrome[J]. *Int J Hematol*, 2017, 105(6): 777-783. DOI:10.1007/s12185-017-2201-9.
- [5] CHOI Y, HUR E H, MOON J H, *et al.* Expression and prognostic significance of microRNAs in Korean patients with myelodysplastic syndrome[J/OL]. *Korean J Intern Med*, 2019, 34(2): 390-400[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6406090/>. DOI:10.3904/kjim.2016.239.
- [6] VERYASKINA Y A, TITOV S E, KOVYNEV I B, *et al.* MicroRNAs in the myelodysplastic syndrome[J/OL]. *Acta Naturae*, 2021, 13(2): 4-15[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8327150/>. DOI:10.32607/actanaturae.11209.
- [7] CHEN W M, HAO X W, YANG B Y, *et al.* MYCN-amplified neuroblastoma cell-derived exosomal miR-17-5p promotes proliferation and migration of non-MYCN amplified cells[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4): 245[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7893779/>. DOI:10.3892/mmr.2021.11884.
- [8] YU X B, HU Y Y, WU Y F, *et al.* The c-Myc-regulated miR-17-92 cluster mediates ATRA-induced APL cell differentiation[J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2019, 15(6): 364-370. DOI:10.1111/ajco.13225.
- [9] ZHAO Y S, WU D, FEI C M, *et al.* Down-regulation of Dicer1 promotes cellular senescence and decreases the differentiation and stem cell-supporting capacities of mesenchymal stromal cells in patients with myelodysplastic syndrome[J/OL]. *Haematologica*, 2015, 100(2): 194-204[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4803146/>. DOI:10.3324/haematol.2014.109769.
- [10] WANG S W, YUAN X Q, LIU Y Z, *et al.* Genetic polymorphisms of histone methyltransferase SETD2 predicts prognosis and chemotherapy response in Chinese acute myeloid leukemia patients[J/OL]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 101[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437967/>. DOI:10.1186/s12967-019-1848-9.
- [11] BALIAKAS P, FORSBERG L A. Chromosome Y loss and drivers of clonal hematopoiesis in myelodysplastic syndrome[J/OL]. *Haematologica*, 2021, 106(2): 329-331[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7849334/>. DOI:10.3324/haematol.2020.266601.
- [12] HE B X, ZHAO Z Y, CAI Q D, *et al.* miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in cancer[J/OL]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(14): 2628-2647[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7415433/>. DOI:10.7150/ijbs.47203.
- [13] FERRAGUT CARDOSO A P, UDOH K T, STATES J C. Arsenic-induced changes in miRNA expression in cancer and other diseases[J/OL]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 409: 115306[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7772821/>. DOI:10.1016/j.taap.2020.115306.
- [14] LU T X, ROTHENBERG M E. MicroRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-1207. DOI:10.1016/j.jaci.2017.08.034.
- [15] HU L H, LIU J, MENG Y, *et al.* Long non-coding RNA HOTAIR regulates myeloid differentiation through the upregulation of p21

- via miR-17-5p in acute myeloid leukaemia[J/OL]. *RNA Biol*, 2021, 18(10): 1434-1444[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8489933/>. DOI:10.1080/15476286.2020.1854520.
- [16] HE M, WANG Q Y, YIN Q Q, *et al.* HIF-1 $\alpha$  downregulates miR-17/20a directly targeting p21 and STAT3: a role in myeloid leukemic cell differentiation[J/OL]. *Cell Death Differ*, 2013, 20(3): 408-418[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3569981/>. DOI: 10.1038/cdd.2012.130.
- [17] VASILATOU D, PAPAGEORGIU S G, KONTSIOTI F, *et al.* Expression analysis of miR-17-5p, miR-20a and let-7a microRNAs and their target proteins in CD34<sup>+</sup> bone marrow cells of patients with myelodysplastic syndromes[J]. *Leuk Res*, 2013, 37(3): 251-258. DOI:10.1016/j.leukres.2012.11.011.
- [18] ZHU X F, HE F H, ZENG H M, *et al.* Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia[J/OL]. *Nat Genet*, 2014, 46(3): 287-293[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4440318/>. DOI:10.1038/ng.2894.
- [19] LI J M, PENG Z P, LUO F X, *et al.* SET domain containing 2 deficiency in myelodysplastic syndrome[J/OL]. *Front Genet*, 2020, 11: 794[2021-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7423969/>. DOI:10.3389/fgene.2020.00794.
- [20] CHEN B Y, SONG J, HU C L, *et al.* SETD2 deficiency accelerates MDS-associated leukemogenesis via S100a9 in NHD13 mice and predicts poor prognosis in MDS[J]. *Blood*, 2020, 135(25): 2271-2285. DOI:10.1182/blood.2019001963.

[收稿日期] 2021-07-23

[修回日期] 2021-11-29

[本文编辑] 党瑞山