

竞争性内源性 RNA 在急性髓系白血病中的研究进展

刘睿, 王玉明 (昆明医科大学第二附属医院检验科, 昆明 650101)

摘要: 急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是多种因素引起的造血系统恶性疾病, 具有很高的复发率及死亡率。非编码 RNA 在 AML 的发生发展过程中发挥着重要作用。竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 观点指出, 不同的非编码 RNA 可通过作用于相同的 miRNA 反应元件 (MRE) 从而调控基因的表达。目前越来越多的研究表明, 非编码 RNA 作为 ceRNA 在调控 AML 的增殖、凋亡、侵袭和耐药等生物学过程中发挥关键作用。该文主要对 ceRNA 在 AML 生物学过程中的调控作用, 以及治疗和预后中的临床意义作一综述。

关键词: 急性髓系白血病; 竞争性内源性 RNA

中图分类号: R557; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 03-198-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.03.041

Research Progress of Competitive Endogenous RNA in Acute Myeloid Leukemia

LIU Rui, WANG Yuming (Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Kunming 650101, China)

Abstract: Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant disease of the hematopoietic system caused by a variety of factors, with a high recurrence rate and mortality rate. Non-coding RNA plays an important role in the occurrence and development of AML. Competing endogenous RNA (ceRNA) point of view points out that different non-coding RNAs can regulate gene expression by acting on the same miRNA response element (MRE). At present, more and more studies have shown that non-coding RNA as ceRNA plays a key role in regulating the biological processes of AML such as proliferation, apoptosis, invasion and drug resistance. This article mainly reviews the regulatory role of non-coding RNA as ceRNA in the biological process of AML, as well as its clinical significance in treatment and prognosis.

Keywords: acute myeloid leukemia; competing endogenous RNA

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是最常见且进展迅速的造血系统恶性肿瘤之一, 约占急性白血病的 70% ~ 80%, 其特征是未成熟的髓系细胞异常增殖和分化受阻, 对患者生命造成了严重的威胁^[1-2]。尽管近些年 AML 的研究已取得显著进展, 但患者中普遍存在化疗耐药性和复发率高等问题, 预后一般较差^[3-4]。人类基因组测序分析显示, 70% 基因组序列能够转录成 RNA, 然而只有约 2% 的 RNA 具有翻译为编码蛋白的能力, 绝大部分 RNA 都是非编码 RNA^[5]。随着高通量测序技术的不断发展, 非编码 RNA 在癌症的发生发展、诊断和治疗方面的重要作用已被逐渐挖掘。同时, 单基因或单一通路已不能完全阐明疾病发生的机制, 现在研究者把注意力转移到多基因调控网络上, 随着研究的深入, 发现了一种新的竞争性内源性 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 网络。现就近期发现的 ceRNA 在 AML 中的研究进展作一综述。

1 ceRNA 假说

2011 年, SELMENA 等^[6]提出了 ceRNA 假说,

揭示了一种新的基因表达调控模式。该假说指出 mRNA 之间可以通过 miRNA 反应元件 (miRNA response element, MRE) 竞争性结合相同的 miRNA 来调节彼此的表达, 这种竞争性结合 miRNA 的作用又被叫做“miRNA 海绵作用” (microRNA sponges)^[7]。目前 ceRNA 包括长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)、环状 RNA (circRNA)、假基因、人工 miRNA 抑制剂及病毒 miRNA 抑制剂等, miRNA 反应元件 (miRNA response element, MRE) 多数位于它们的 3' 非翻译区, 也可出现在 5' 非翻译区, 甚至编码序列。各类 RNA 之间存在通信网络, 它们之间共有的 MRE 数量越多, 共同调节靶基因的可能性也就越大。ceRNA 不是一种新发现的 RNA 分子, 而是一种庞大而精细的基因表达调控机制^[6], 其表达水平受多种因素的影响, 例如 ceRNA 的亚细胞定位, miRNA 与其海绵的结合亲和力等, 这些因素的异常可能对癌症的发生、维持或进展产生深远的影响^[8-9]。大量实验证实了 ceRNA 网络在不同肿瘤中广泛存在, 早期胃癌研究^[10]中发现了 lncRNA HOTAIR 可作为一种

基金项目: 昆明医科大学研究生创新基金 (2021S211), 云南省科技计划项目昆医联合项目 (201901B070092)。

作者简介: 刘睿 (1997-), 女, 硕士, 研究方向: 主要从事临床检验诊断学研究, E-mail: 782738758@qq.com。

ceRNA, 通过海绵结合 miR-331-3p 来调节 HER2 在胃癌中的表达, 除此之外, 在肝癌^[11]、乳腺癌^[12]、

胆管癌^[13]、结直肠癌^[14] 等中都有相关报道。

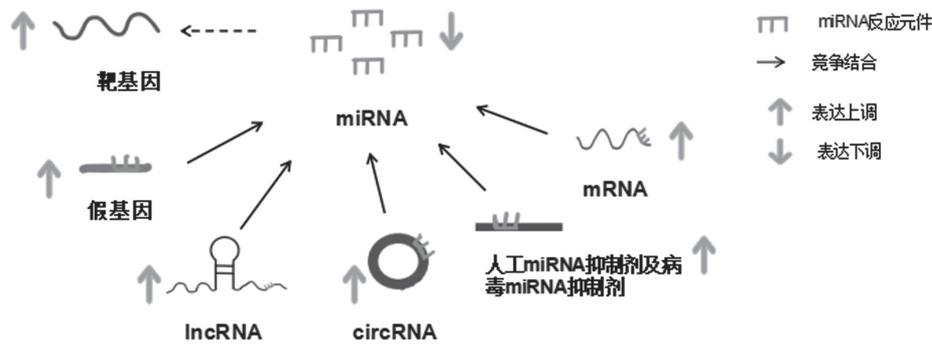


图1 ceRNA 相互作用示意图

2 lncRNA 作为 ceRNA 在 AML 中的作用

lncRNA 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA, 广泛存在于基因组中, 因存在多种外显子转录, 所以大部分不能被翻译成特定蛋白发挥作用。但可以与 DNA, RNA 和蛋白质结合^[15], lncRNA 参与转录和转录后调控等多种细胞过程, 功能上涉及调节蛋白质的活性和定位、RNA 降解、支架、海绵等作用^[16-18]。随着基因组分析技术的发展, 目前已鉴定出许多与生物学相关的 lncRNA 在各种类型的肿瘤细胞中均存在异常表达, 揭露了 lncRNA 在 AML 中的关键作用^[17,19]。

近期研究表明, lncRNA 作为 ceRNA 中的一员, 与 AML 的发生和发展密切相关。LI 等^[20]的研究表明, 在 AML 患者的骨髓样本中, RAET1K 和 miR-503-5p 的表达呈显著负相关, 而体外实验结果显示, RAET1K 下调后可通过竞争性吸附 miR-503-5p 来上调 INPP4B 的表达, 进而抑制白血病的发生。另有研究表明^[21], AML 中可能存在UCA1/miR-126/RAC1 调控网络影响 AML 的进程, 敲低 lncRNA UCA1 可抑制 AML 细胞的迁移、侵袭, 促进 AML 细胞的凋亡, 因此UCA1 可作为 AML 的潜在治疗靶点。同样, XING 等人^[22]发现 lncRNA HOTAIR 这一致癌基因在 AML 细胞系中显著过表达, 它通过竞争性结合 miR-193a 来调节 AML 细胞中 c-Kit 的表达, 而 miR-193a 是一种重要的肿瘤抑制性 miRNA, HOTAIR 与结合 miR-193a 进一步抑制了其功能, 导致了疾病的发生及恶化。CHEN 等^[23]报道了 lncRNA 作为 ceRNA 与自噬之间的潜在联系, 生物信息学分析表明 lncRNA HOTAIRM1 可能具有 ceRNA 的功能, 实验结果显示 HOTAIRM1 可以与 miR-20a, miR-106b 和 miR-125b 结合, 这三种 miRNA 分别对应的靶基因 ULK1, E2F1 和 DRAM2 都是自噬过程中不可或缺的基因,

HOTAIRM1 通过自噬相关途径促进了 PML-RARA 融合基因的降解, 当细胞中 HOTAIRM1 的表达量下调时, 自噬小体形成也会受到抑制。这些研究揭示了一个在 AML 进展中的新的 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络, 为 lncRNA 介导的 ceRNA 机制与 AML 发展之间的联系提供了证据。

化疗耐药性是影响 AML 患者生存和导致治疗失败的重要原因之一^[24]。lncRNA 已被证实参与白血病耐药性相关的生物学功能。在 AML 的临床治疗中, 阿霉素这类的蒽环类化疗药物常表现出较低的化疗敏感性。值得注意的是, ZHANG 等人^[25]观察到了抗阿霉素的 AML 细胞和经过阿霉素治疗后的儿童 AML 患者骨髓样本中, UCA1 的表达都异常上调, 功能学结果显示, 敲除UCA1 可抑制 miR-125a/HK2 途径的糖酵解, 从而抑制儿童 AML 细胞的耐药性, 在克服儿童 AML 化疗耐药中起着积极作用, 有助于更好地理解 AML 化疗耐药的分子机制。同样, 有研究发现 lncRNA HOXA-AS2 通过 miR-520c-3p /S100A4 途径增加了 AML 细胞对阿霉素的耐药性^[26]。SUN 等^[24]报道了 lncRNA KCNQ1OT1 在阿霉素耐药机制的研究, KCNQ1OT1 通过吸附阿霉素耐药的 AML 细胞中 miR-193a-3p 来诱导 Tspan3 表达, 从而促进 AML 细胞的进展和对阿霉素的药物抗性。综上所述, 越来越多的研究表明, 基于 lncRNA 介导 ceRNA 网络的研究为 AML 克服耐药性提出了新的理论思路, 阐明相关的分子机制有助于制定合理有效的治疗策略。

此外, 越来越多的研究开始使用癌症基因组图谱 (the cancer genome atlas, TCGA)、基因表达综合数据库 (gene expression omnibus, GEO) 等公共数据库来构建更全面的 ceRNA 调控网络并挖掘更准确的预后标记物。为了确定在青少年和

儿童患者中 lncRNA 是否与细胞遗传学正常的急性髓系白血病 (cytogenetically normal AML, CN-AML) 的预后相关, YIN 等^[27] 从 TCGA 数据库选择了 27 例 18 岁以下 CN-AML 患者, 构建了一个生存特异性 ceRNA 网络, 并分析了这些 ceRNA 网络与患者临床信息的关联性。同时, 为了更好地了解 AML 的异常基因表达调控并寻找可能的预后标志物, CHENG 等^[28] 从 TCGA, GEO 等数据库获得了 AML 患者和正常样本的转录组数据, 建立了 6 个 circRNA, 32 个 lncRNA, 8 个 miRNA 和 6

个 mRNA 共同参与的预后 ceRNA 网络, 全面阐明 AML 的转录后调控机制, 并找到了更有效的诊断、治疗和预后预测指标。虽然上述结果仅基于公共数据库分析得到, 后期仍需要更多的基础研究来证实, 但这些研究仍体现了 ceRNA 在判断 AML 患者预后中的重要作用。

越来越多的研究基于 ceRNA 机制证实了 lncRNA 在调控 AML 疾病进程中占据重要地位, 为揭开 lncRNA 调控功能带来更多可靠的证据, 见表 1。

表 1 AML 中 lncRNA 介导的 ceRNA 调控网络

lncRNA	miRNA	mRNA	调控作用	参考文献
lncRNA SBF2-AS1	miR-188-5p	ZFP91	影响 AML 细胞的增殖	3
lncRNA CCAT1	miR-155	c-Myc	影响 AML 细胞的分化、增殖	29
LINC01268	miR-217	SOS1	影响 AML 细胞的增殖、凋亡	30
LINC00152	miR-193a	CDK9	影响 AML 细胞的增殖、凋亡, 诱导细胞周期停滞	31
LINC00899	miR-744-3p	YY1	影响 AML 细胞的增殖、凋亡	32
lncRNA MALAT1	miR-146a	CXCR4	影响 AML 细胞的迁移、增殖和凋亡	33
	miR-96	—	影响 AML 细胞的增殖、凋亡和对阿糖胞苷药物的敏感性	34
lncRNA TUG1	miR-655-3p	CCND1	影响 AML 细胞对阿糖胞苷药物的敏感性	35

注: 一为无此项数据。

3 circRNA 作为 ceRNA 在 AML 中的作用

circRNA 是一类特殊的非编码 RNA, 其长度为数百至数千个核苷酸, 其结构与线性 RNA 不同, 既没有 5' 至 3' 端极性, 也没有多聚腺苷酸尾, 通过反式剪切使 3' 端和 5' 端首尾相连, 形成共价闭环结构^[36-37]。由于 circRNA 这种特殊的结构, 使其不易被 RNA 酶识别及降解, 因此具有高度稳定性、保守性等特点, 是肿瘤中生物标志物的理想选择, 在各种癌症中具有潜在的诊断价值。circRNA 也可通过 MRE 与 miRNA 结合, 成为 ceRNA 家族中又一个新的研究热点, 在 AML 发生、进展、预后中发挥着重要的作用^[38]。

研究发现^[39], 儿童 AML 患者的血液样本和 AML 细胞中 circ_0005774 的表达明显升高, 作为 miR-192e5p 的海绵, 通过调节 miR-192e5p/ULK1 轴部分地抑制 AML 细胞增殖和促进 AML 细胞凋亡。YUAN 等^[40] 分析了儿童 AML 患者和健康对照的各 6 份骨髓样本, 发现儿童 AML 患者中有 273 个 circRNA 上调, 296 个 circRNA 下调。进一步研究发现, circ-0004136 在儿童 AML 患者中显著上调, 可通过充当 miR-142 的海绵促进细胞增殖, 是诊断儿童 AML 患者的生物标志物。另有研究指出^[41], circ_0002232 低表达的患者有更好的总生存率, 并揭示了 AML 患者中潜在的 ceRNA 网

络, circ_0002232 可能通过海绵吸附 miR-92a-3p 影响 PTEN 的表达和 AML 的进程。PTEN 是一个双重特异性磷酸酶活性的抑癌基因, 位于染色体 10q 23.3, 具有 9 个外显子和 8 个内含子, PTEN 的表达对多种肿瘤的发生、发展有着重要影响。另外, PING 等^[42] 研究发现, 与缺铁性贫血患者相比, AML 患者骨髓样本中 circ_0009910 显著上调, 这可用于预测 AML 患者的不良风险及预后, 敲除 circ_0009910 能抑制 AML 细胞增殖, 并通过海绵吸附 miR-20a-5p 诱导细胞凋亡。

除此之外, circRNA 与发生基因突变的 AML 患者也有潜在联系。FLT3 基因定位于染色体 13q12, FLT3-ITD 是 AML 最常见的突变之一, 约占世界所有 AML 病例的 25%, 这类患者易复发、预后相对较差且生存率低, 因此与 FLT3-ITD 有关的靶向治疗成为研究热点。ZHANG 等^[43] 研究发现 circ_0000370 在 FLT3-ITD 阳性的 AML 中显著增加, 并且 circ_0000370 可以通过在 AML 细胞系中吸附 miR-1299 来调节 S100A7A 的表达, 进而影响 FLT3-ITD 阳性 AML 的进展, 该结果为 FLT3-ITD 阳性 AML 患者提供了多种治疗靶点和诊断生物标志物。

目前, circRNA 在介导 AML 化疗耐药中的作用仍知之甚少, 需要进一步研究。SHANG 等^[44] 构

建了对阿霉素耐药的 THP-1 细胞系,通过分析其与普通 THP-1 细胞系的基因表达谱发现, circPAN3 在阿霉素耐药的 THP-1 细胞系中显著上调,同样,在难治性和复发性的 AML 患者中也得到了验证。生物信息学和荧光素酶分析结果证实, circPAN3 依赖于 miR-153-5p/miR-183-5p-XIAP 轴来介导 AML 细胞的耐药性, circPAN3 可以作为预测 AML 患者化疗效果的重要指标。这些结果说明 circRNA 是 AML 化学耐药性的关键分子,但仍需要更多数据来阐明其具体机制。

不同的 RNA 参与竞争 miRNA,形成复杂的以 miRNA 为核心的调控网络, lncRNA 和 circRNA 在此调控网络中引入了更为复杂交错的关系。例如, lncRNA HOTAIRM1 和 circ_0009910 可以与相同的 miR-20a 相互结合,从而在 AML 中发挥不同的功能。但是,目前尚不清楚 lncRNA 和 circRNA 如何相互竞争以结合相同 miRNA,因此有必要进一步探讨 AML 中 lncRNA 与 circRNA 之间的关系,阐明 AML 的发病机制。总结来说,异常表达 lncRNA 和 circRNA 参与 AML 的发生发展,且与患者预后和治疗耐药性密切相关,是 AML 潜在的治疗靶点。

4 假基因作为 ceRNA 在 AML 中的作用

假基因也称伪基因,是进化过程中的不具有编码功能的残留物。这类基因与功能基因序列相似,因终止密码子提前、碱基缺失或者插入等原因而丧失了编码功能蛋白质能力。长期以来假基因被认为是一类“垃圾序列”,但目前已发现假基因在多种恶性肿瘤中可以发挥关键和多方面的作用^[45]。同样,假基因与其相应的编码基因类似,包含 miRNA 结合位点,能够发挥“miRNA 海绵作用”,导致 miRNA 水平和活性下降,进而上调靶基因的表达,是理想的一类 ceRNA。

PTENP1 是 PTEN 的假基因,其序列与 PTEN 呈高度同源性,通过共享的 MRE 结构,PTENP1 可以与抑癌基因 PTEN 竞争性结合多种 miRNA 分子,进而影响肿瘤的发展进程^[46]。王翠翠等^[47]证实急性白血病患者中 PTEN 及 PTENP1 基因的表达均低于正常对照组,两者的表达水平呈正相关,并指出该结果可能是 PTEN mRNA 及 PTENP1 转录产物通过竞争同一种 miRNA 实现的。在原发性肾透明细胞癌的研究中, YU 等^[48]研究发现,由于甲基化作用,PTENP1 在原发性肾透明细胞癌的组织 and 细胞中低表达或不表达,PTENP1 和 PTEN 的表达是相关的,并且两种表达都与 miR21 的表达呈负相关,在细胞中过表达 PTENP1 可以调控 miR21,进而抑制肾透明细胞癌细胞的增殖、侵袭和转移,并增强肾透明细胞癌细胞对顺铂和吉西他滨等化疗药物的敏

感度。这些结果表明, PTENP1 在恶性肿瘤的进展中作为一种 ceRNA 发挥作用。目前假基因在急性白血病的研究尚处于初步阶段,国内外研究报道较少,相信会有更多的学者关注假基因,阐明它在基因调控水平上影响肿瘤发生发展的作用机制,发掘新的肿瘤标志物。

5 人工 miRNA 抑制剂及病毒 miRNA 抑制剂

人工 miRNA 抑制剂主要包含两类:人工合成的 miRNA 反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)和基于载体表达的 miRNA 吸附物^[49]。前者与细胞内天然的 miRNA 吸附物不同,主要是由和 miRNA 几乎完全互补的小单链 RNA 寡核苷酸组成的,可通过 2'-O-甲基化或形成一个发夹结构来增强其稳定性。后者可以表达 3'UTRs(富集多个 miRNA 结合位点)的基因载体,可在哺乳细胞内的强启动子的作用下进行稳定表达,其转录产物能够起到 miRNA“海绵”的作用,结合目的 miRNA 并抑制其功能^[49-50]。

病毒 miRNA 抑制剂,是病毒产生的非编码 RNA,在病毒感染宿主时其能与机体内的 miRNA 相结合,引起疾病的发生^[51]。病毒可通过多种机制来控制宿主基因表达,研究表明病毒也可产生非编码 RNA 来调控 S 宿主靶基因表达。如在疱疹病毒转染的 T 细胞中高表达的富含尿嘧啶的 HSURs,具有多个宿主 miRNA 家族(miR-16, miR-27a 和 miR-142-3p)的结合位点,可调节目的基因表达水平^[50]。由此可见,虽然相关研究报道较少,但人工 miRNA 抑制剂及病毒 miRNA 抑制剂为临床研究提供了新思路。

6 展望与小结

通过 ceRNA 调控机制,各类 RNA 分子之间可以通过竞争性结合 miRNA 来实现相互调控, ceRNA 假说赋予了非编码 RNA 更全面、更广泛的生物学功能。AML 是一种发病率和复发率较高的复杂疾病,大多数患者存在治疗中产生耐药,缓解后仍会复发,预后不理想等问题。所以有必要探索用于 AML 诊断、预测和治疗靶点的新生物标志物,以制定更有效的监测和治疗方案。相较于假基因, lncRNA 和 circRNA 是作为 ceRNA 参与 AML 发展进程研究最多的非编码 RNA,在急性白血病治疗靶点的发掘及临床转化中极具潜力。现目前对 ceRNA 机制的研究仍处于初期,部分研究仅通过生物信息学验证了靶向关系,且每种 ceRNA 调控网络研究的例子较少, ceRNA 参与肿瘤的发病机制是复杂的,希望这些预测在未来的实验中得到充分验证,后继仍需更多深入全面的研究阐明相关机制,并探索临床应用的可行性。

自 ceRNA 假说提出以来,有大量实验证实了 ceRNA 网络在疾病中广泛存在,但仍存在部分争议,认为大多数活跃 miRNA 不易受到 ceRNA 竞争的影响, ceRNA 变化不足以抑制 miRNA 活性^[50]。尽管如此, ceRNA 假说作为调节基因表达的一种合理的通用机制目前已被广泛认可并运用。总之, ceRNA 在肿瘤中发挥的作用不容忽视,不仅为 AML 深入研究提供了全新的视角,同时也为寻找肿瘤新型的生物标志物及潜在的靶向治疗提供了理论基础。

参考文献:

- [1] THOMAS D, MAJETI R. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Blood*, 2017, 129(12): 1577-1585.
- [2] LI Mingyu, CUI Xianglun, GUAN Hongzi. Micro RNAs: pivotal regulators in acute myeloid leukemia[J]. *Annals of Hematology*, 2020, 99(3): 399-412.
- [3] TIAN Yunjiao, WANG Yanhua, XIAO Aiju, et al. Long noncoding RNA SBF2-AS1 act as a ceRNA to modulate cell proliferation via binding with miR-188-5p in acute myeloid leukemia[J]. *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology (Print)*, 2019, 47(1): 1730-1737.
- [4] ZHUANG M F, LI L J, MA J B. LncRNA HOTTIP promotes proliferation and cell cycle progression of acute myeloid leukemia cells[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(7): 2908-2915.
- [5] MORLANDO M, BALLARINO M, FATICA A, et al. The role of long noncoding RNAs in the epigenetic control of gene expression[J]. *Chem Med Chem*, 2014, 9(3): 505-510.
- [6] SALMENA L, POLISENO L, TAY Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language[J]. *Cell*, 2011, 146(3): 353-358.
- [7] ABDOLLAHZADEH R, DARAEI A, MANSOORI Y, et al. Competing endogenous RNA(ceRNA)cross talk and language in ceRNA regulatory networks:A new look at hallmarks of breast cancer[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(7): 10080-10100.
- [8] QI Xiaolong, ZHANG Dahong, WU Nan, et al. ceRNA in cancer: possible functions and clinical implications[J]. *Journal of Medical Genetics*, 2015, 52(10): 710-718.
- [9] SANCHEZ-MEJIASA, TAY Y. Competing endogenous RNA networks: tying the essential knots for cancer biology and therapeutics[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2015, 8: 30.
- [10] LIU Xianghua, SUN Ming, NIE Feng-qi, et al. Lnc RNA HOTAIR functions as a competing endogenous RNA to regulate HER2 expression by sponging miR-331-3p in gastric cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2014, 13: 92.
- [11] 张振, 李芬. ceRNA与肿瘤 [J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(4):128-130.
- [12] MA Lifei, SONG Guiqin, LI Meiyu, et al. Construction and comprehensive analysis of a ceRNA network to reveal potential novel biomarkers for Triple-Negative breast cancer[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 2020(12): 7061-7075.
- [13] LONG Junyu, XIONG Jianping, BAI Yi, et al. Construction and investigation of a lncRNA-associated ceRNA regulatory network in cholangiocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9:649.
- [14] LIU Jingwei, LI Hao, ZHENG Bowen, et al. Competitive endogenous RNA (ceRNA) regulation network of lncRNA-miRNA-mRNA in colorectal carcinogenesis[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2019, 64(7): 1868-1877.
- [15] DISTEFANO J K. The emerging role of long noncoding RNAs in human disease[J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2018, 1706: 91-110.
- [16] SHI Jie, DAI Rongqin, CHEN Yuqing, et al. LncRNA LINP1 regulates acute myeloid leukemia progression via HNF4 α /AMPK/WNT5A signaling pathway[J]. *Hematological Oncology*, 2019, 37(4): 474-482.
- [17] TANG Ying, CHEUNG B B, ATMADIBRATA B, et al. The regulatory role of long noncoding RNAs in cancer[J]. *Cancer Letters*, 2017, 391(391): 12-19.
- [18] MORLANDO M, BALLARINO M, FATICA A, et al. The role of long noncoding RNAs in the epigenetic control of gene expression[J]. *Chem Med Chem*, 2014, 9(3):505-510.
- [19] CHEETHAM S W, GRUHL F, MATTICK J S, et al. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer[J]. *British Journal of Cancer*, 2013, 108(12): 2419-2425.
- [20] LI Li, WAN Dingming, LI Lin, et al. lncRNA RAET1K promotes the progression of acute myeloid leukemia by targeting miR-503-5p/INPP4B axis[J]. *Onco Targets and Therapy*, 2021, 14: 531-544.
- [21] SUN M D, ZHENG Y Q, WANG L P, et al. Long noncoding RNA UCA1 promotes cell proliferation, migration and invasion of human leukemia cells via sponging miR-126[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(8): 2233-2245.
- [22] XING Chongyun, HU Xiaoqu, XIE Feiyan, et al. Long non-coding RNA HOTAIR modulates c-KIT expression through sponging miR-193a in acute myeloid leukemia[J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(15): 1981-1987.
- [23] CHEN Zhenhua, WANG Wentao, HUANG Wei, et al. The lncRNA HOTAIRM1 regulates the degradation of PML-RARA oncoprotein and myeloid cell differentiation by enhancing the autophagy pathway[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2017, 24(2): 212-224.
- [24] SUN Huifang, SUN Yongfa, CHEN Qing, et al. LncRNA KCNQ1OT1 contributes to the progression and chemoresistance in acute myeloid leukemia by modulating Tspan3 through suppressing miR-193a-3p[J]. *Life Sci*, 2020, 241:117161.
- [25] ZHANG Zhen, LI Fen. CeRNA and tumour[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(4):128-130.

- [25] ZHANG Yuan, LIU Yufeng, XU Xueju. Knockdown of lncRNA-UCA1 suppresses chemoresistance of pediatric AML by inhibiting glycolysis through the microRNA-125a/hexokinase 2 pathway[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018, 119(7): 6296-6308.
- [26] DONG Xiaoya, FANG Zhigang, YU Mingxue, et al. Knockdown of long noncoding RNA HOXA-AS2 suppresses chemoresistance of acute myeloid leukemia via the miR-520c-3p/S100A4 axis[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 51(2): 886-896.
- [27] YIN Xuejiao, HUANG Sui, ZHU Ruiqi, et al. Identification of long non-coding RNA competing interactions and biological pathways associated with prognosis in pediatric and adolescent cytogenetically normal acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Cell International*, 2018, 18: 122.
- [28] CHENG Yaqi, SU Yaru, WANG Shoubi, et al. Identification of circRNA-lncRNA-miRNA-mRNA competitive endogenous RNA network as novel prognostic markers for acute myeloid leukemia[J]. *Genes*, 2020, 11(8): 868.
- [29] CHEN Lianxiang, WANG Wei, CAO Lixia, et al. Long non-coding RNA CCAT1 acts as a competing endogenous RNA to regulate cell growth and differentiation in acute myeloid leukemia[J]. *Molecules and Cells*, 2016, 39(4): 330-336.
- [30] CHEN Beili, LI Yuchuan, NIE Yuwei, et al. Long non-coding RNA LINC01268 promotes cell growth and inhibits cell apoptosis by modulating miR-217/SOS1 axis in acute myeloid leukemia[J]. *Braz J Med Biol Res*. 2020, 53(8):e9299.
- [31] ZHANG Xingxia, TAO Weiguo. Long noncoding RNA LINC00152 facilitates the leukemogenesis of acute myeloid leukemia by promoting CDK9 through miR-193a[J]. *DNA and Cell Biology*, 2019, 38(3): 236-242.
- [32] DONG Xuemei, XU Xin, GUAN Yanping. LncRNA LINC00899 promotes progression of acute myeloid leukaemia by modulating miR-744-3p/YY1 signalling[J]. *Cell Biochemistry and Function*, 2020, 38(7): 955-964.
- [33] SHENG Xianfu, HONG Lili, LI Hui, et al. Long non-coding RNA MALAT1 modulate cell migration, proliferation and apoptosis by sponging microRNA-146a to regulate CXCR4 expression in acute myeloid leukemia[J]. *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*, 2021, 26(1): 43-52.
- [34] HU Ning, CHEN Li, WANG Chao, et al. MALAT1 knockdown inhibits proliferation and enhances cytarabine chemosensitivity by upregulating miR-96 in acute myeloid leukemia cells[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 112: 108720.
- [35] ZHANG B, SUN Y F, ZHANG X M, et al. TUG1 weakens the sensitivity of acute myeloid leukemia cells to cytarabine by regulating miR-655-3p/CCND1 axis[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2020, 24(9): 4940-4953.
- [36] VERDUCI L, STRANO S, YARDEN Y, et al. The circRNA-microRNA code: emerging implications for cancer diagnosis and treatment[J]. *Molecular Oncology*, 2019, 13(4): 669-680.
- [37] ZHANG Siyuan. The characteristics of circRNA as competing endogenous RNA in pathogenesis of acute myeloid leukemia[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 277.
- [38] PATOP I L, WÜST S, KADENER S. Past, present, and future of circRNAs[J]. *The EMBO Journal*, 2019, 38(16): e100836.
- [39] LI Qinghua, LUAN Qingxia, ZHU Hailing, et al. Circular RNA circ_0005774 contributes to proliferation and suppresses apoptosis of acute myeloid leukemia cells via circ_0005774/miR-192-5p/ULK1 ceRNA pathway[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 551: 78-85.
- [40] YUAN D M, MA J, FANG W B. Identification of non-coding RNA regulatory networks in pediatric acute myeloid leukemia reveals circ-0004136 could promote cell proliferation by sponging miR-142[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(21): 9251-9258.
- [41] SU Xiaoyu, ZHAO Qiao, KE Jinming, et al. Circ_0002232 acts as a potential biomarker for AML and reveals a potential ceRNA network of circ_0002232/miR-92a-3p/PTEN[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12: 11871-11881.
- [42] LEI Ping, CHEN Jianjun, LIAO Chushu, et al. Silencing of circ_0009910 inhibits acute myeloid leukemia cell growth through increasing miR-20a-5p[J]. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 2019, 75: 41-47.
- [43] ZHANG Lingyan, BU Zibin, SHEN Juan, et al. A novel circular RNA (hsa_circ_0000370) increases cell viability and inhibits apoptosis of FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia cells by regulating miR-1299 and S100A7A[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 122: 109619.
- [44] SHANG Jin, CHEN Weimin, WANG Zhihong, et al. CircPAN3 mediates drug resistance in acute myeloid leukemia through the miR-153-5p/miR-183-5p-XIAP axis[J]. *Experimental Hematology*, 2019, 70: 42-54.e3.
- [45] POLISENO L. Pseudogenes: newly discovered players in human cancer[J]. *Science Signaling*, 2012, 5(242): re5.
- [46] TANG Jingsi, NING Ruihong, ZENG Bo, et al. Molecular evolution of PTEN pseudogenes in mammals[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167851.
- [47] 王翠翠, 怀磊, 张翠萍, 等. 抑癌基因 PTEN 与其假基因 PTENP1 在急性白血病细胞中的表达及其相关性研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(11): 896-901.
- WANG Cuicui, HUAI Lei, ZHANG Cuiping, et al. Study on expression of PTEN gene and its pseudogene PTENP1 in acute leukemia and correlation

- between them[J]. Chinese Journal Hematology, 2021, 33(11):896-901.
- [48] YU Gan, YAO Weimin, GUMIREDDY K, et al. Pseudogene PTENP1 functions as a competing endogenous RNA to suppress Clear-Cell renal cell carcinoma progression[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2014, 13(12): 3086-3097.
- [49] 刘涛, 宋红丽, 王玉亮, 等. 微RNA 抑制物: 竞争性内源 RNA 和人工 miRNA 吸附物 [J]. 生命的化学, 2014, 34(6):757-764.
- LIU Tao, SONG Hongli, WANG Yuliang, et al. MicroRNA inhibitors: competing endogenous RNAs and artificial miRNA sponges[J]. Chemistry of Life. 2014, 34(6):757-764.
- [50] THOMSON D W, DINGER M E. Endogenous microRNA sponges: evidence and controversy[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17(5): 272-283.
- [51] 钱傅燕雯, 冯凡, 许文林. ceRNA 在肿瘤中的研究进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(7):1237-1240.
- QIAN Fuyanwen, FENG Fan, XU Wenlin. Reserch progress of ceRNA in cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2019, 27(7):1237-1240.
- 收稿日期: 2021-11-04
修回日期: 2021-12-01

(上接 151 页)

付涛等^[6]人研究未考虑不同生物对同义密码子的偏好性, 稀有密码子的存在严重影响外源蛋白的表达量^[7]。我们利用密码子优化技术, 合成 PCT 蛋白全长密码子优化基因, 构建了 PCT 蛋白高效表达体系。庄锡伟等^[8]人研究采用热诱导 PCT 蛋白的表达, 产生了大量包涵体。本研究采用 PCT 蛋白和 MBP 助溶蛋白共表达联合低温诱导的方式, 克服了常见的包涵体问题, 获得了高溶解度的 PCT 蛋白, MBP 融合蛋白的切除可借助位点特异性蛋白酶^[9-10]。

本体系大大提升了可溶性 PCT 蛋白的表达效率和产量, 所获得 PCT 蛋白纯品能够在低温长时间稳定储存且均匀性良好, 为临床实验室 PCT 参考品的研发及 PCT 蛋白的功能研究奠定了良好基础。

参考文献:

- [1] MARUNA P, NEDELNIKOVA K, GURLICH R. Physiology and genetics of procalcitonin[J]. Physiological Research, 2000, 49(1): S57-S61.
- [2] 周仲雪, 黄福达, 陈康. 血清 PCT 定量检测对术后血流感染早期诊断及抗菌药物应用中的指导价值 [J]. 检验医学与临床, 2021, 18(17):2512-2516.
- ZHOU Zhongxue, HUANG Fuda, CHEN Kang. The value of quantitative detection of serum PCT in the early diagnosis of postoperative bloodstream infection and the application of antibiotics[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2021, 18(17): 2512-2516.
- [3] 何家花, 余成强, 李步荣. 血流感染病原学分析及与相关炎症因子的应用价值研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4): 139-142.
- HE Jiahua, YU Chengqiang, LI Burong. Pathogen analysis of bloodstream infection and study on the application value of related inflammatory factors [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(4):139-142.
- [4] 付彬彬, 王文芳, 叶婷婷, 等. 血清 HMGB1 及 PCT 水平检测对新生儿坏死性小肠结肠炎诊断和病情评估的价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6): 87-89, 171.
- FU Binbin, WANG Wenfang, YE Tingting, et al. Value of serum HMGB1 and PCT levels in diagnosis and evaluation of neonatal necrotizing enterocolitis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(6):87-89,171.
- [5] 刘卿, 汪慧, 卢叶, 等. 人降钙素原的原核表达及其单克隆抗体的制备 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2019, 29(3): 242-247.
- LIU Qing, WANG Hui, LU Ye, et al. Prokaryotic expression of human procalcitonin and preparation of its monoclonal antibody [J]. Journal of Jiangsu University(Medicine Edition), 2019, 19(3):242-247.
- [6] 付涛, 苏丹华, 刘原, 等. 人降钙素原的原核表达、纯化和鉴定 [J]. 临床检验杂志, 2017, 35(3):226-229.
- FU Tao, SU Danhua, LIU Yuan, et al. Prokaryotic expression, purification and identification of human procalcitonin [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2017, 35(3):226-229.
- [7] ZOU Lihui, SU Wen, WANG Meng, et al. Characterization of a functional recombinant human creatine kinase-MB isoenzyme prepared by tandem affinity purification from *Escherichia coli*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(14): 5639-5644.
- [8] 庄锡伟, 岳赞, 杨锡琴, 等. 高稳定性降钙素原的克隆表达及初步应用 [J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(13): 1916-1918, 1921.
- ZHUANG Xiwei, YUE Yun, YANG Xiqin, et al. The clone expression and primary application of procalcitonin with high stability [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, 27(13):1916-1918, 1921.
- [9] MISHRA V. Affinity Tags for protein purification[J]. Current Protein & Peptide Science, 2020, 21(8): 821-830.
- [9] SANCHEZ M I, TING A Y. Directed evolution improves the catalytic efficiency of TEV protease[J]. Nature Methods, 2020, 17(2): 167-174.
- 收稿日期: 2021-12-29
修回日期: 2022-02-18