

急性 B 淋巴细胞白血病的差异 microRNA 综合调控网络的生物信息学分析

曾妙娜 马文丽 郑文岭

【摘要】 目的 通过生物信息分析途径,从系统水平揭示参与急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)发病的分子机制,为研究提供新的思路。方法 从公共数据库 GEO 中下载 B-ALL 的 microRNA (miRNA) 芯片数据,利用 Qlucore Omics Explorer 3.0 软件筛选差异表达 miRNA,再分析得到差异 miRNA 与靶基因、长链非编码 RNA 和转录因子各自的调控数据,然后构建以差异 miRNA 为中心的综合调控网络。另外,功能富集分析有功能的靶基因。结果 共筛选出 15 个差异 miRNA,其中 7 个 miRNA 表达上调,8 个 miRNA 表达下调。通过差异 miRNA 为中心的综合调控网络可知,hsa-miR-126 和 hsa-miR-486-3p 调控大量的靶基因,其中 hsa-miR-126 的靶基因包括 MYC 基因。hsa-miR-29a、hsa-miR-130a 和 hsa-miR-181c 调控大量的长链非编码 RNA,包括 XIST。hsa-miR-181a-2、hsa-miR-181b-2 和 hsa-miR-663 调控大量的转录因子,包括 CDX2、YY1 等。hsa-miR-126 靶基因的通路分析显示富集到 Wnt 通路。结论 通过生物信息学方法分析得出,hsa-miR-29a、hsa-miR-126 和 hsa-miR-181 家族是 B-ALL 的核心差异 miRNA,及其转录因子 CDX2、长链非编码 RNA XIST 和靶基因 MYC 基因在 B-ALL 的发生发展中起重要作用,可能为潜在的治疗靶点。

【关键词】 白血病,B 细胞; 微 RNAs; 计算生物学; 转录因子,CDX2; XIST

基金项目:国家自然科学基金(39880032);广东省领军人才基金(C1030925)

Bioinformatics analysis of microRNA comprehensive regulatory network in B-cell acute lymphoblastic leukemia Zeng Miaona, Ma Wenli, Zheng Wenling. Institute of Genetic Engineering, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Zheng Wenling, Email:gendustry@foxmail.com

【Abstract】 **Objective** To reveal the involvement of molecules in the pathogenesis of B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) by bioinformatics analyses. **Methods** The microarray data of B-ALL were downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database and Qlucore Omics Explorer software was used to screen differentially expressed miRNA. Based on the differentially expressed miRNAs, we predicted the target genes, long non-coding RNAs (lncRNA) and transcription factors (TFs). Then we constructed the miRNAs-centered comprehensive regulatory network. In addition, we performed functional enrichment analysis to analyze the functions of target genes. **Results** Of all the 15 differentially expressed miRNAs, 7 miRNAs were of overexpression, 8 miRNAs underexpressed. From the miRNAs comprehensive regulatory network, we found that hsa-miR-486-3p and hsa-miR-126 regulated a large number of target genes, hsa-miR-126 including target genes MYC. The hsa-miR-29a, hsa-miR-130a and hsa-miR-181c regulated a lot of lncRNAs containing X-inactive-specific transcript (XIST). The hsa-miR-181a-2, hsa-miR-181b-2 and hsa-miR-663 were regulated by a host of TFs including caudal-related homeobox transcription factor 2 (CDX2). Additionally, the target genes of hsa-miR-126 were enriched in Wnt pathways. **Conclusions**

The expression of hsa-miR-29a, hsa-miR-126 and hsa-miR-181 family were significantly different in B-ALL. Target gene of MYC, TFs of CDX2 and lncRNA of XIST may play important roles in the development of B-ALL, serving as a potential therapeutic target.

【Key words】 Leukemia, B-cell; MicroRNAs; Computational biology; Transcription factor, CDX2; XIST

Fund program: National Natural Science Foundation of China (39880032); the Guangdong Foundation for Leading Talented Scientists (C1030925)

急性 B 淋巴细胞白血病 (B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) 是一种由 B 淋巴细胞在血液或骨髓中异常增殖引起的恶性血液疾病, 是急性淋巴细胞白血病最常见的类型; 主要发生在儿童, 成人中相对少见^[1-2]。目前, 公认急性淋巴细胞白血病是由多基因参与, 并形成复杂网络共同作用的结果^[3], 其中 microRNA (miRNA)^[4-6]、长链非编码 RNA^[7] (long non-coding RNA, lncRNA) 和转录因子 (transcription factor, TF) 对基因表达的调控, 是其复杂网络中的重要组成部分。miRNA 芯片及其相关生物信息学的发展, 为我们从综合调控网络方面去分析 B-ALL 发病机制提供基础。因此, 在本研究中我们运用生物信息学方法, 以差异 miRNA 为切入点, 综合分析差异 miRNA 和靶基因、lncRNA、TF 的调控关系, 并以此构建和分析以差异 miRNA 为中心综合调控网络。从系统水平揭示在 B-ALL 发生发展中起核心作用的分子, 为 B-ALL 诊断和治疗提供了理论依据和新的生物靶标。

对象与方法

一、数据

从 GEO 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 中下载 miRNA 表达芯片数据集 (GSE51908), 该数据集由美国马里兰大学巴尔的摩分校基因组科学研究所 Civin CI 提交。此数据集包括了 29 份 B-ALL 样本, 11 份健康对照样本。为了控制 B-ALL 组与健康对照组样本的一致性, 不同血液来源的样本保留外周血的, 同一样本两次检测保留表达偏差小的。最终用 13 份 B-ALL 样本、10 份健康对照样本进行差异 miRNA 分析。

二、方法

1. 数据处理及差异 miRNA 分析: 利用 Qlucore Omics Explorer 3.0 软件, 先对数据信息进行标准化处理 (平均数为 0, 标准差为 1), 再对数据进行三维主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 图像转化; 然后采用两组样本 *t* 检验方法筛选差异表达 miRNA, 其筛选条件: ≥ 2 fold change, $P \leq 8.4e-7$, $Q \leq 5.1832e-5$; 并做相应的聚类热图。

2. miRNA 与靶基因的调控分析: MiRTarBas^[8] (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>) 是专门收录已有文献发表实验证明 miRNA 与基因的靶向关系的数据库; 靶基因分为强证据 (实验 Q, 主要为 Luciferase reporter assay、GFP reporter assay 等报告实验证明)、弱证据 (实验 R, 主要是 qRT-PCR、Western blot、

HITS-CLIP、PAR-CLIP 及 Microarray 等其他实验证明)。数据库 StarBase^[9] 是通过 CLIP-Seq 实验数据、mRNA 降解组测序数据以及整合 TargetScan、MiRanda、PITA、PicTar、RNA22 五个流行的预测软件预测数据支持的 miRNA 靶基因数据库; 预测靶基因 (预测) 取 ≥ 4 种预测软件交集的结果。此次研究 miRNA 靶基因是采用实验证明与综合预测的组合分析: 根据有预测靶基因, 则按实验 QU (预测 \cap 实验 R), 反之则实验 RU 实验 Q 筛选; 去除冗余的, 得到最终的差异 miRNA 靶基因结果。

3. miRNA 与 lncRNA 的调控分析: StarBase v2.0^[10] (<http://starbase.sysu.edu.cn/>) 是以 37 项独立研究产生的 108 组 CLIP-Seq (HITS-CLIP、PAP-CLIP、iCLIP、CLASH) 数据, 从而集中系统地鉴定 RNA-RNA 相互作用网络。从 starBase v2.0 中下载 miRNA 与 lncRNA 的相互作用关系表, 从中得到差异 miRNA 与 lncRNA 调控数据。

4. miRNA 与 TF 的调控分析: ChIPBase^[11] (<http://deepbase.sysu.edu.cn/chipbase/>) 是通过分析高通量 ChIP-Seq 实验数据得到数以万计的转录因子结合位点 (TFBS), 鉴定了 TF 与 miRNA 调控关系。按 TFBS 结合范围为编码 miRNA 基因启动子上游 5 kb 区和下游 1 kb 区域, 从 ChIPBase 数据库下载 miRNA 与 TF 调控关系, 从中选出差异 miRNA 与 TF 的调控数据。

5. 以 miRNA 为中心的综合调控网络构建: Cytoscape 3.1.1^[12] (<http://www.cytoscape.org/>) 是开源的网络可视化和分析软件, 可依据分子间相互作用数据构建为可视化的网络。利用 Cytoscape 软件将上述得到差异 miRNA 与靶基因, TF 和 lncRNA 调控数据, 构建可视化的以差异 miRNA 为中心综合调控网络。

6. 综合调控网络的核心靶标分析: 连接度 (degree) 是指网络中与该节点相连的边数。少部分连接边数较多的节点为核心节点 (hub node); 大部分连接边数很少的节点则是非核心节点。在调控网络中, 核心节点非常重要, 在生物系统中通常起着关键的作用, 成为研究重点。本研究, 由于是以 miRNA 为中心的综合调控网络, 所以定义节点 (Gene、lncRNA、TF) 连接 miRNA 的边数 ≥ 5 为核心靶标。

7. miRNA 靶基因的生物学通路分析: 生物学信息注释数据库 (the database for annotation, visualization and integrated discovery, DAVID, <http://david>.)

niaid.nih.gov)^[13]为大规模的基因提供系统综合的生物功能注释信息,能找出最显著富集的生物学注释。本研究将miRNA的靶基因上传至DAVID在线软件,选择DAVID中基因功能注释,对miRNA靶基因进行了生物学通路分析。

结 果

1. 差异表达miRNA分析结果:从GSE51908数据集中筛选出13个差异miRNA探针,其中5个表达上调,8个表达下调;其PCA图(图1)所示,每个点代表一个样本,其中点与点的距离代表着样本之间的差异。其聚类分析如图2。根据差异miRNA探针所对应miRNA的情况表(表1)可知,共有15个差异表达miRNA,其中7个表达上调,8个表达下调。

2. 差异miRNA为中心的综合调控网络:根据以差异miRNA为中心的综合调控网络图(图3)可知,hsa-miR-126和hsa-miR-486-3p调控大量的靶基因,其中hsa-miR-126的靶基因包括MYC基因。hsa-

miR-29a、hsa-miR-130a和hsa-miR-181c调控大量的lncRNA,包括XIST。Hsa-miR-181a-2、hsa-miR-181b-2和hsa-miR-663调控大量的TF,包括CDX2、YY1等。

由核心靶标情况表(表2)可知,分析到20个核心靶标:只有1个是lncRNA为XIST,剩下的19个为TF。最特殊是作为转录因子CDX2的节点,其连接度为11,即连接11个差异miRNA,包括了hsa-miR-181c。而作为靶基因CDX2节点时只连接到hsa-

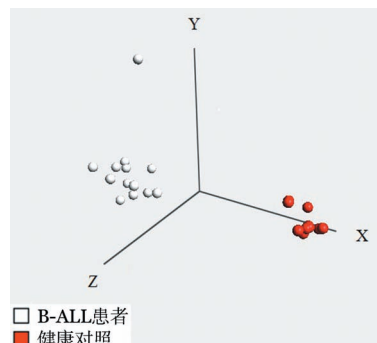


图1 差异miRNA探针的三维主成分分析(PCA)图

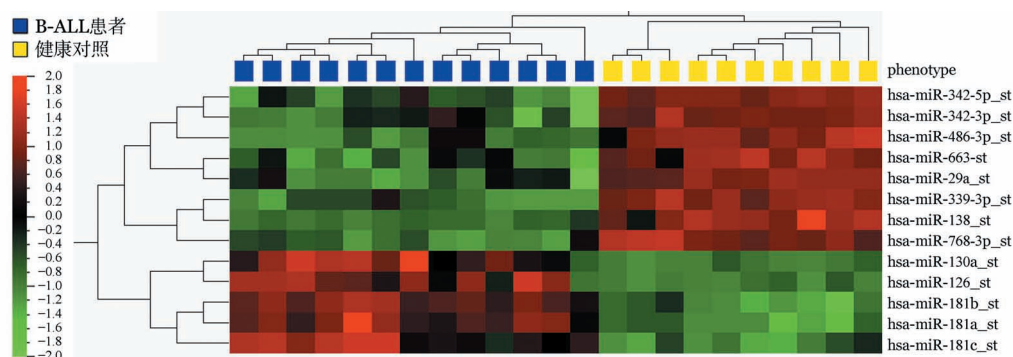
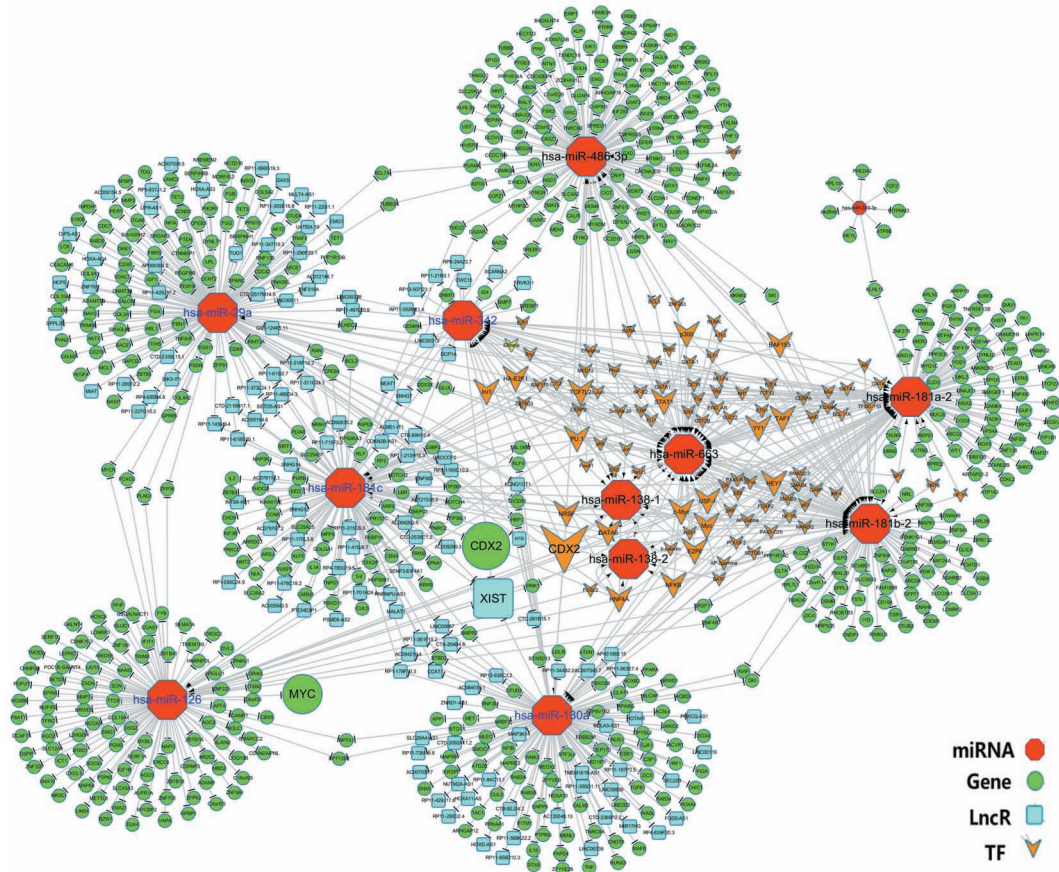


图2 差异miRNA探针的聚类分析热图

表1 差异miRNA探针号对应miRNA情况表

miRNA 探针号	miRNA 名称	表达差异情况	序列
hsa-miR-126-st	hsa-miR-126	上调	UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG
hsa-miR-130a-st	hsa-miR-130a	上调	CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU
hsa-miR-181a-st	hsa-miR-181a-1	上调	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU
	hsa-miR-181a-2	上调	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU
hsa-miR-181b-st	hsa-miR-181b-1	上调	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU
	hsa-miR-181b-2	上调	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU
hsa-miR-181c-st	hsa-miR-181c	上调	AACAUUCAACCGUCGGUGAGU
hsa-miR-138-st	hsa-miR-138-1	下调	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG
	hsa-miR-138-2	下调	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG
hsa-miR-29a-st	hsa-miR-29a	下调	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA
hsa-miR-339-3p-st	hsa-miR-339-3p	下调	UGAGCGCCUCGACGACAGAGCCG
hsa-miR-342-3p-st	hsa-miR-342	下调	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU
hsa-miR-342-5p-st	hsa-miR-342	下调	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA
hsa-miR-486-3p-st	hsa-miR-486-3p	下调	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU
hsa-miR-663-st	hsa-miR-663	下调	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCCG
hsa-miR-768-3p-st	hsa-miR-768-3p	下调	UCACAAUGCUGACACUCAAACUGCUGAC



图中红色八边形代表 miRNA,绿色圆形代表 Gene,蓝色正方形代表 lncRNA,棕色 V 形代表 TF。图中 11 个大八边形为 CDX2 连接的差异 miRNA;其中 5 个名称为深蓝色的 miRNA 为 XIST 连接的差异 miRNA。图中形状大于同类的节点核心靶标分别为 MYC、XIST、CDX2

图3 以差异 miRNA 为中心的综合调控网络图

表2 急性 B 淋巴细胞白血病差异 microRNA 的核心靶标情况表

核心靶标	连接度	类型 (TF/lncR/Gene)
CDX2	11	TF
HNF4A	10	TF
GATA6	7	TF
HEY1	7	TF
TCF7L2	7	TF
USF-1	6	TF
NF-κB	6	TF
NRSF	6	TF
p300	6	TF
XIST	5	lncR
PU.1	5	TF
TAF1	5	TF
YY1	5	TF
c-MYC	5	TF
E2F6	5	TF
MYC	5	TF
BAF155	5	TF
HA-E2F1	5	TF
Ini1	5	TF
STAT1	5	TF

miR-181c。核心靶标中仅有 lncRNA XIST,其连接度为 5,即连接 5 个差异 miRNA,包括了 hsa-miR-29a、hsa-miR-181c 和 hsa-miR-126。

3. hsa-miR-126 靶基因的通路分析结果: hsa-miR-126 靶基因的生物学通路分析结果显示,其靶基因富集在 Wnt 通路、结直肠癌和肿瘤通路。其中, Wnt/β-catenin 通路差异有统计学意义 ($P < 0.05$),而且富集 4 个靶基因包括 MYC 基因。

讨论

公认 B-ALL 发生发展是由多基因参与并形成复杂的作用网络共同调控的结果,其中 miRNA、lncRNA 和 TF 对基因表达的调控是其复杂网络中的重要组成部分。本研究构建及分析差异 miRNA 综合调控网络,发现 hsa-miR-126 调控大量的靶基因包括 MYC 基因; hsa-miR-29a 调控大量的 lncR 包括 XIST; hsa-miR-181a-2 和 hsa-miR-181b-2 调控大量的 TF 包括 CDX2、YY1 等;得到 20 个核心靶标,其中 1 个为 lncR XIST,剩余 19 个为 TF,包括了 PU.1、

YY1、p300、NF- κ B 和 CDX2 等。我们认为这些核心分子在 B-ALL 发生发展中起重要的作用。

在正常造血分化中,造血细胞定向分化成不同系细胞是由特定组合 TF 的不同表达所决定的^[14]。这与网络分析得到核心靶标大部分为 TF 是相符的。在核心靶标中转录因子 PU.1, Iwasaki 等^[15]和 Staber 等^[16]研究发现它对造血干细胞的自我更新和血细胞的生成均起到非常重要的作用。转录因子 PU.1 在造血干细胞选择向淋巴系的细胞谱系发育过程也起着重要作用,PU.1 表达缺失可同时导致造血干细胞向淋巴系和髓系前体细胞分化障碍^[17-18]。PU.1 表达紊乱可使血细胞发育受阻并引发人类急性白血病。这些有关 PU.1 的研究结果与我们分析认为核心靶标在 B-ALL 的发生发展起到重要作用是相符合的。

表观遗传主要指 DNA 和组蛋白化学修饰,包括乙酰化、甲基化、磷酸化和泛素化等修饰对基因表达、DNA 复制和修复的调控。Rb 蛋白通过调节 E2F 转录因子家族,来调控细胞周期的 G₁/S 期。p300 对 G₁/S 期有两种调节作用,p300 与 Rb 结合抑制了 CDK6 介导的 Rb 磷酸化,从而低磷酸化的 Rb 可结合转录因子 E2F,抑制 E2F 对相关靶基因的转录,从而抑制细胞从 G₁ 期进入 S 期,使细胞停留在 G₁ 期。G₁ 后期,p300 参与了 Rb 的磷酸化,pRb 不能与 E2F 相互作用,使得 E2F 游离激活 S 期所需要的基因。另外,p300/CBP 作为辅助激活因子,被 YY1 募集到靶启动子,通过组蛋白乙酰化作用使染色质变得更加松散,刺激转录因子与启动子结合。p300、YY1、E2F 家族均在分析得到的核心靶标内,与分析结果是符合的。

由调控网络可知,核心靶标 CDX2 连接到 11 个差异 miRNA,是最为核心靶标。Scholl 等^[19]和 Rice 等^[20]研究发现,CDX2 若异常表达,会引起 HOX 基因家族表达紊乱,使造血祖细胞恶性增殖,导致急性白血病发生。而且 Riedt 等^[21]和 Thoene 等^[22]的研究结果显示,CDX2 表达水平与儿童和成人 ALL 中 CDX2 预后不良有关。网络分析发现:CDX2 转录因子调控 hsa-miR-181 家族,CDX2 基因作为 hsa-miR-181c 靶基因,因此 hsa-miR-181 与 CDX2 之间是反馈调控方式。在肿瘤研究中发现,CDX2 与 Wnt 通路密切相关。Ji 等^[23]研究发现,NLK (NEMO-Like Kinase) 基因是 miR181 家族靶基因而且负调控 Wnt 通路。因此认为:hsa-miR-181 与 CDX2 相互调节,且通过 NLK 分子介导对 Wnt 通路

的调控,进而影响到 B 细胞增殖和凋亡。另外分析可知,MYC 基因是 hsa-miR-126 靶基因,还是 Wnt 通路下游靶基因。综合以上认为:hsa-miR-181 家族通过 CDX2 调控 NLK 基因和 hsa-miR-126,从而调控 Wnt 通路及其下游靶基因参与了 B-ALL 的发生发展。

越来越多的研究表明,几乎在造血的每个阶段发展(包括髓细胞、淋巴细胞和红细胞的分化)都有 lncRNA 调控,那么异常表达的 lncRNA 可能会阻止血细胞分化,从而导致不同的血液病。Yildirim 等^[24]研究发现,XIST 缺失会导致 X 染色体再激活(X-reactivation),诱导 X 连锁基因(X-linked gene)异常表达,包括了低表达造血调控因子如 FLT3 和 c-kit。网络分析可知,hsa-miR-29a 负调控核心靶标中 XIST。Jeon 等^[25]研究发现,YY1 通过特异性结合位点与 XIST 结合,促进 XIST 结合到 X 染色体上,使该 X 染色体失活。Wang 等^[26]在横纹肌肉瘤样本中,发现高表达的 YY1 和 NF- κ B 抑制 miR-29 的表达,促进肿瘤细胞生长,抑制其分化,加速了横纹肌肉瘤的发生发展。因此认为:hsa-miR-29a 通过 NF- κ B、YY1 相互作用调控 XIST 对 X 染色体失活的调控,从而影响 X-linked 基因异常表达,参与 B-ALL 的发生发展。

综上所述:hsa-miR-126、hsa-miR-29a 和 hsa-miR-181 家族是 B-ALL 的核心差异 miRNA,及其 CDX2, XIST 和 MYC 基因在 B-ALL 的发生发展过程中起到重要的作用,可能为潜在的治疗靶点。本研究我们利用 miRNA 芯片筛选差异 miRNA,综合分析出差异 miRNA 与靶基因、lncRNA 和 TF 的调控模块;以此构建和分析差异 miRNA 的综合调控网络。综合调控网络根本在于差异 miRNA 相关的调控数据,而这受限于数据库的存储量,使得这调控关系有一定的滞后性。由于生命系统的复杂性,疾病发生与基因并不是单一的对对应关系,二者之间的复杂关系无法由某单个基因的变化来解释。细胞完成生理活动过程是需要基因、RNA 和很多种蛋白等分子参与信号传导、代谢等通路实现的。综合调控网络分析方法,可从整体调控网络上,系统水平去分析疾病中各种分子间的调控关系,从而深入了解疾病的发生发展,找出特异的靶标以改进疾病治疗或诊断。

参考文献

- [1] Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic

- leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350 (15):1535-1548. doi: 10.1056/NEJMra023001.
- [2] Mullighan CG. Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122 (10):3407-3415. doi: 10.1172/JCI161203.
- [3] Armstrong SA, Look AT. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23 (26):6306-6315. doi: 10.1200/JCO.2005.05.047.
- [4] Zanette DL, Rivadavia F, Molfetta GA, et al. miRNA expression profiles in chronic lymphocytic and acute lymphocytic leukemia [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2007, 40(11):1435-1440.
- [5] Mi S, Li Z, Chen P, et al. Aberrant overexpression and function of the miR-17-92 cluster in MLL-rearranged acute leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (8):3710-3715. doi: 10.1073/pnas.0914900107.
- [6] Mu P, Han YC, Betel D, et al. Genetic dissection of the miR-17~92 cluster of microRNAs in Myc-induced B-cell lymphomas [J]. *Genes Dev*, 2009, 23(24):2806-2811. doi: 10.1101/gad.1872909.
- [7] Fang K, Han BW, Chen ZH, et al. A distinct set of long non-coding RNAs in childhood MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia: biology and epigenetic target [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(12):3278-3288. doi: 10.1093/hmg/ddu040.
- [8] Chou CH, Chang NW, Shrestha S, et al. miRTarBase 2016: updates to the experimentally validated miRNA-target interactions database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44 (D1): D239-247. doi: 10.1093/nar/gkv1258.
- [9] Yang JH, Li JH, Shao P, et al. starBase: a database for exploring microRNA-mRNA interaction maps from Argonaute CLIP-Seq and Degradome-Seq data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue):D202-209. doi: 10.1093/nar/gkq1056.
- [10] Li JH, Liu S, Zhou H, et al. starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42 (Database issue):D92-97. doi: 10.1093/nar/gkt1248.
- [11] Yang JH, Li JH, Jiang S, et al. ChIPBase: a database for decoding the transcriptional regulation of long non-coding RNA and microRNA genes from ChIP-Seq data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue):D177-187. doi: 10.1093/nar/gks1060.
- [12] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13 (11):2498-2504. doi: 10.1101/gr.1239303.
- [13] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4 (1):44-57. doi: 10.1038/nprot.2008.211.
- [14] Tenen DG, Hromas R, Licht JD, et al. Transcription factors, normal myeloid development, and leukemia [J]. *Blood*, 1997, 90 (2):489-519.
- [15] Iwasaki H, Somoza C, Shigematsu H, et al. Distinctive and indispensable roles of PU.1 in maintenance of hematopoietic stem cells and their differentiation [J]. *Blood*, 2005, 106 (5):1590-1600. doi: 10.1182/blood-2005-03-0860.
- [16] Staber PB, Zhang P, Ye M, et al. Sustained PU.1 levels balance cell-cycle regulators to prevent exhaustion of adult hematopoietic stem cells [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(5):934-946. doi: 10.1016/j.molcel.2013.01.007.
- [17] Rosenbauer F, Owens BM, Yu L, et al. Lymphoid cell growth and transformation are suppressed by a key regulatory element of the gene encoding PU.1 [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(1):27-37.
- [18] Scott EW, Fisher RC, Olson MC, et al. PU.1 functions in a cell-autonomous manner to control the differentiation of multipotential lymphoid-myeloid progenitors [J]. *Immunity*, 1997, 6 (4): 437-447.
- [19] Scholl C, Bansal D, Döhner K, et al. The homeobox gene CDX2 is aberrantly expressed in most cases of acute myeloid leukemia and promotes leukemogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (4): 1037-1048. doi: 10.1172/JCI30182.
- [20] Rice KL, Licht JD. HOX deregulation in acute myeloid leukemia [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (4):865-868. doi: 10.1172/JCI31861.
- [21] Riedt T, Ebinger M, Salih HR, et al. Aberrant expression of the homeobox gene CDX2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2009, 113(17):4049-4051. doi: 10.1182/blood-2008-12-196634.
- [22] Thoene S, Rawat VP, Heilmeyer B, et al. The homeobox gene CDX2 is aberrantly expressed and associated with an inferior prognosis in patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2009, 23(4):649-655. doi: 10.1038/leu.2008.355.
- [23] Ji J, Yamashita T, Budhu A, et al. Identification of microRNA-181 by genome-wide screening as a critical player in EpCAM-positive hepatic cancer stem cells [J]. *Hepatology*, 2009, 50(2): 472-480. doi: 10.1002/hep.22989.
- [24] Yildirim E, Kirby JE, Brown DE, et al. Xist RNA is a potent suppressor of hematologic cancer in mice [J]. *Cell*, 2013, 152 (4):727-742. doi: 10.1016/j.cell.2013.01.034.
- [25] Jeon Y, Lee JT. YY1 tethers Xist RNA to the inactive X nucleation center [J]. *Cell*, 2011, 146 (1):119-133. doi: 10.1016/j.cell.2011.06.026.
- [26] Wang H, Garzon R, Sun H, et al. NF-kappaB-YY1-miR-29 regulatory circuitry in skeletal myogenesis and rhabdomyosarcoma [J]. *Cancer Cell*, 2008, 14(5):369-381. doi: 10.1016/j.ccr.2008.10.006.

(收稿日期:2016-01-04)

(本文编辑:王叶青)