

RNA 腺苷脱氨酶在 MLL-AF9 诱导的小鼠急性髓系白血病发病中的作用

彭路芸 杨鑫 张英驰 胡甜园 王伟丽 汪晓敏 许静 程涛 袁卫平 高瀛岱

【摘要】 目的 建立敲除 RNA 腺苷脱氨酶 1 (ADAR1) 的小鼠 MLL-AF9 融合基因急性髓系白血病 (AML) 模型, 初步探讨 ADAR1 对 AML 发病的影响。方法 采用免疫磁珠法富集介导雌激素受体-重组酶 Cre (ER-Cre) 的 ADAR1^{lox/lox} 及其对照 ADAR1^{lox/lox} 小鼠骨髓 Lineage⁻ (Lin⁻) 细胞, 用携带 MSCV-MLL/AF9-IRES-GFP 的逆转录病毒感染上述 Lin⁻ 细胞, 流式细胞术检测感染效率, 移植相同数量细胞至致死剂量和半致死剂量照射受体小鼠中, 建立 MLL-AF9 诱导的 AML 模型。移植 48 h 后诱导 ADAR1 敲除, 体内实验分为实验组 (ER-Cre; ADAR1^{lox/lox}+他莫昔芬) 和对照组 (① ER-Cre; ADAR1^{lox/lox}+空载体、② ADAR1^{lox/lox}+他莫昔芬、③ ADAR1^{lox/lox}+空载体), 第 10、15、20 天分别检测小鼠外周血 GFP⁺ 细胞比例, 观察各组小鼠的存活情况。体外实验分组同上, 将他莫昔芬改为 4-羟基他莫昔芬, 观察各组 AML 细胞并检测其凋亡情况。结果 成功建立敲除 ADAR1 的 MLL-AF9 融合基因 AML 小鼠模型。与对照组比较, 体内实验中实验组 AML 小鼠在各时间点外周血 GFP⁺ 细胞比例均降低, 存活时间明显延长, 差异均有统计学意义 (P 值均 <0.05); 体外实验中实验组细胞总数、GFP⁺ 细胞比例均降低, Annexin V⁺7-AAD⁺ 和 Annexin V⁺ 细胞比例均升高, 差异均有统计学意义 (P 值均 <0.05)。结论 敲除 ADAR1 可减缓 AML 的发病, 增加 AML 细胞凋亡。ADAR1 在 MLL-AF9 诱导的 AML 发生和维持过程中起关键作用。

【关键词】 腺苷脱氨酶; 重组融合蛋白质类; 白血病, 髓样, 急性; 基因敲除技术; 小鼠, 转基因

Effect of ADAR1 on the development of MLL-AF9 induced murine AML Peng Luyun^{*}, Yang Xin, Zhang Yingchi, Hu Tianyuan, Wang Weili, Wang Xiaomin, Xu Jing, Cheng Tao, Yuan Weiping, Gao Yingdai^{*}.
^{*}State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Gao Yingdai, Email: ydgao@ihcams.ac.cn

【Abstract】 Objective To establish the ADAR1 (adenosine deaminase that act on RNA 1) knockout MLL-AF9 acute myeloid leukemia (AML) mouse model, and to preliminarily investigate the effects of ADAR1 deletion on the development of AML. **Methods** The lineage⁻ (Lin⁻) cells of ER-CreADAR1^{lox/lox} mice and their ADAR1^{lox/lox} counterparts were enriched by magnetic activated cell sorting (MACS) and then transduced with retrovirus carrying MSCV- MLL/AF9- IRES- GFP fusion gene. The efficiency of transduction was detected by flow cytometry, and equal number of GFP⁺ cells were transplanted into lethally irradiated recipient mice. The recipient mice were treated with tamoxifen at 48 hours after transplantation to induce ADAR1 knockout and divided into following groups: experimental group (ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+tamoxifen), control groups (① ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+vechile, ② ADAR1^{lox/lox}+tamoxifen, ③ ADAR1^{lox/lox}+vechile). The percentage of GFP⁺ cells in peripheral blood was examined at 10, 15 and 20 days respectively after transplantation and the survival of the recipient mice was observed. In vitro study, ER-Cre;ADAR1^{lox/lox} and ADAR1^{lox/lox} AML cells were cultured and the apoptosis rates of these cells 48 hours after 4-hydroxytamoxifen treatment were examined. **Results** The ADAR1 deletion MLL-AF9 AML mouse model was successfully established. Deletion of ADAR1 could decrease the percentage

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.05.006

基金项目: 科技部国家 973 项目 (2012CB966601、2013BAI01B09); 国家自然科学基金 (81090413、81470280、81328003)

作者单位: 300020 天津, 中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院; 实验血液学国家重点实验室 (彭路芸、张英驰、胡甜园、王伟丽、汪晓敏、许静、程涛、袁卫平、高瀛岱); 山东省德州市人民医院 (杨鑫)

通信作者: 高瀛岱, Email: ydgao@ihcams.ac.cn

of GFP⁺ cells in the peripheral blood and significantly prolong the survival rate of recipient mice ($P < 0.05$). In vitro study showed that the cultured total cell number, percentage of GFP⁺ cells decreased and the apoptosis rate of AML cells increased. **Conclusion** Ablation of ADAR1 could delay the progression of AML in recipient mice. ADAR1 plays a critical role in the development and maintenance of murine MLL-AF9 AML.

【Key words】 Adenosine deaminase; Recombinant fusion proteins; Leukemia, myeloid, acute; Gene knockout techniques; Mice, transgenic

RNA腺苷脱氨酶1(Adenosine deaminase that act on RNA 1, ADAR1)是一种双链RNA编辑酶,能够实现转录后RNA A-to-I的编辑。前期的研究发现,ADAR1在造血系统调节中起到重要的作用,敲除ADAR1会引起造血祖细胞分化受阻并发生凋亡^[1],在儿童急性白血病及小鼠急性T淋巴细胞白血病模型中发现ADAR1的两种同工型蛋白P110和P150表达异常^[2-3]。另外,有文献报道在慢性髓性白血病细胞中敲除ADAR1会造成白血病细胞的显著减少^[4]。这些研究表明ADAR1对正常造血以及血液系统疾病的发生至关重要,但是目前ADAR1在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)中的作用还不清楚。在本研究中我们采用可诱导全身敲除ADAR1的雌激素受体-重组酶Cre(ER-Cre); ADAR1^{lox/lox}小鼠,建立小鼠混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)-AF9融合基因AML小鼠模型,并在体内、外敲除ADAR1以观察其对AML发病的影响。

材料和方法

1. 主要材料和试剂: B6.Cg-Tg(CAG-cre/Esr1) 5Amc/J(ER-Cre)小鼠和ADAR1^{lox/lox}小鼠购自美国Jackson实验室, C57BL/6J(B6)小鼠来自本所实验动物中心,所有小鼠均饲养于SPF级动物室; 293 T细胞、MSCV-MLL/AF9-IRES-GFP、pKat及pCMV-VSVG由本实验室保存; Opti-MEM培养基购自美国Gibco公司; 多聚季铵盐、他莫昔芬、4-羟基他莫昔芬及玉米油购自美国Sigma-Aldrich公司;

Lipofectamine2000购自美国Invitrogen公司; 纤维连接蛋白购自日本TaKaRa公司; 重组小鼠干细胞生长因子(mSCF)、重组小鼠白细胞介素-3(mIL-3)及重组小鼠白细胞介素-6(mIL-6)均购自美国PeproTech公司; DNA提取试剂盒购自德国Qiagen公司; PCR试剂购自北京全式金生物技术有限公司; Lin⁻磁珠抗体购自德国美天旆生物技术有限公司; 流式细胞仪及其相关抗体购自美国BD Bioscience公司。

2. PCR法检测ADAR1基因表达: ①鉴定小鼠基因型: ER-Cre; ADAR1^{lox/lox}小鼠基因结构模式图见图1, 小鼠出生后3周左右, 剪取0.3~0.5 cm鼠尾置于1.5 ml离心管中, 加入300 μl鼠尾裂解液55℃裂解过夜, 再将裂解液80℃失活10 min。离心后行PCR检测。引物序列见表1, 反应条件: 95℃预变性2 min, 95℃变性30 s, 57℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 共35个循环。反应结束后, 取7 μl扩增产物行15 g/L的琼脂糖凝胶电泳, 最后用凝胶成像系统拍照。②检测ADAR1在其基因组中的敲除情况: 连续5 d对ER-Cre; ADAR1^{lox/lox}小鼠用他莫昔芬或玉米油空载体进行腹腔注射, 之后取小鼠骨髓细胞用PCR法检测ADAR1在其基因组中的敲除情况, 反应条件同上。所用引物为图1中所示的引物P1和P3, 如果敲除了ADAR1的第12到15个外显子, 通过引物P1和P3就能够扩增出大小为500 bp的特异性片段, 如果没有敲除, 则会得到一系列的非特异性片段。

3. Western blot法检测ADAR1蛋白表达: 收集

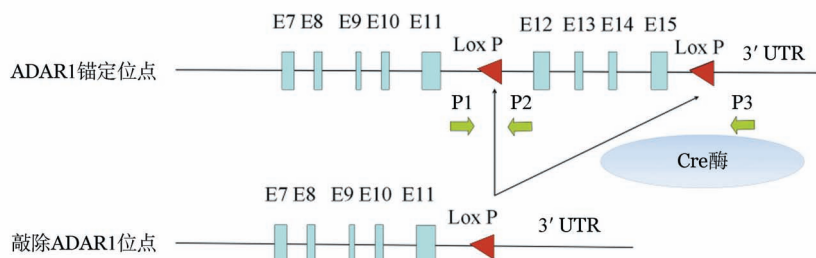


图1 ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}小鼠基因结构模式图(E:外显子,P:引物)

表1 PCR扩增引物序列

引物	序列(5'→3'方向)
Cre 上游引物	GCGGTCTGGCAGTAAAACTATC
Cre 下游引物	GTGAAACAGCATTGCTGTCACTT
7338	CTAGGCCACAGAATTGAAAGATCT
7339	GTAGGTGGAAATTCTAGCATCATCC
P 1	CGGGATCCCCAAGGTGGAGAATGGTGAGTGTA
P 2	GCTCTAGAAGAGGGCACAGCCACAGCAGGAC
P 3	GCTCTAGAGAATCAAACCCACAAGAGGCCAGTG

注:P1:LoxP引物1;P2:LoxP引物2;P3:LoxP引物3

5×10⁶个细胞,裂解细胞后提取蛋白上清,取100 μg蛋白上清行80 g/L SDS-PAGE,用半干转膜的方法将蛋白转移至硝酸纤维膜,加入兔抗小鼠ADAR1抗体和GAPDH抗体4℃过夜后加入羊抗兔二抗孵育,TBS-T漂洗3次,每次5 min,加入显色剂后显影,检测ADAR1蛋白表达。

4. 包装逆转录病毒:脂质体Lipofectamine2000共转染MSCV-MLL/AF9-IRES-GFP、pKat、VSVG至293 T细胞,48、72 h后可分别在荧光显微镜下观察到绿色荧光,收集病毒上清过滤后-80℃冻存备用。

5. 免疫磁珠法富集小鼠骨髓Lin⁻细胞:取6~8周ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}及ADAR1^{lox/lox}小鼠,颈椎脱臼法处死后,取其双下肢分离股骨、胫骨和腓骨,常规分离和收集骨髓单个核细胞(MNC)。将1×10⁸个MNC过LS磁柱(内部充填Lin⁻磁珠),收集Lin⁻细胞。

6. 逆转录病毒感染小鼠骨髓Lin⁻细胞:将富集的Lin⁻细胞用IMDM(含15%FBS、50 ng/ml mSCF、10 ng/ml mIL-3、10 ng/ml mIL-6)培养液培养6~8 h后转入用纤维连接蛋白处理过的24孔板中,细胞密度为5×10⁵/ml,加入病毒上清、6 μg/ml多聚季铵盐,450×g离心90 min,置于37℃,5% CO₂孵箱中培养8~10 h,换新鲜培养基培养48 h。收集感染过的细胞置于荧光显微镜下观察病毒感染情况。

7. 小鼠移植实验:P₀代受体小鼠用X射线放射源照射2次(4.75 Gy/次,剂量率为1.25 Gy/min),每次照射间隔4 h,照射完毕4 h后其作为受体小鼠可进行移植实验。采用流式细胞分选术分选感染成功的GFP⁺细胞,取5×10⁵个GFP⁺细胞和2×10⁵个ADAR1^{lox/lox}小鼠骨髓细胞(保护细胞)通过尾静脉注射移植至受体小鼠内,移植后给予抗生素预防感染。P₁~P₃代受体小鼠只接受4.75 Gy照射1次,后续实验与P₀代移植类似。实验流程如图2所示。

8. 流式细胞术检测小鼠骨髓和脾脏中GFP⁺细胞数量及表型:取受体小鼠外周血、骨髓或脾脏中单个核细胞,每5×10⁵个细胞加入CD3-PE、B220-PerCP-Cy5.5、Mac-1-APC、Gr-1-PE-Cy7各1 μl冰上孵育30 min,PBS洗涤1次,PBS重悬样本,过膜后,上流式细胞仪进行分析。每次实验设3个复孔,实验重复3次。

9. 他莫昔芬诱导Cre表达:

体内诱导实验:实验分为实验组(ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+他莫昔芬)和对照组(①ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+空载体、②ADAR1^{lox/lox}+他莫昔芬、③ADAR1^{lox/lox}+空载体)。ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}小鼠和ADAR1^{lox/lox}小鼠在均给予他莫昔芬和玉米油(空载体对照)处理的条件下,只有ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}小鼠可以敲除ADAR1故作为实验组,其余三组不能敲除ADAR1故作为对照组。将他莫昔芬溶解于玉米油中,浓度为25 mg/ml,各组小鼠分别以150 mg·kg⁻¹·d⁻¹他莫昔芬或相同剂量玉米油连续5 d腹腔注射处理。第10、15、20天分别检测小鼠外周血GFP⁺细胞比例,观察各组小鼠的存活情况。各组鼠数为3只。

体外诱导实验:体外诱导实验分组同上,将他莫昔芬改为4-羟基他莫昔芬。将4-羟基他莫昔芬粉末溶解于无水乙醇中,储存液浓度为20 mg/ml。将移植后发病的P₃代小鼠骨髓细胞取出,5×10⁵个细胞

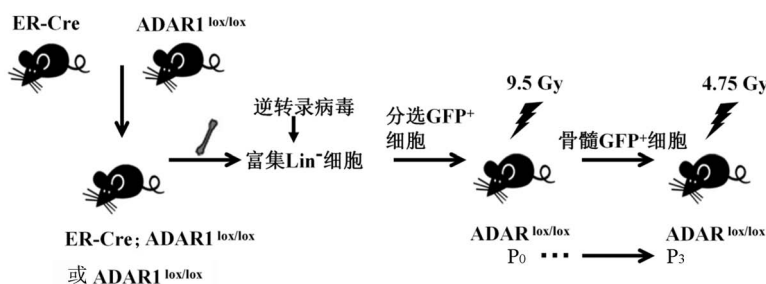


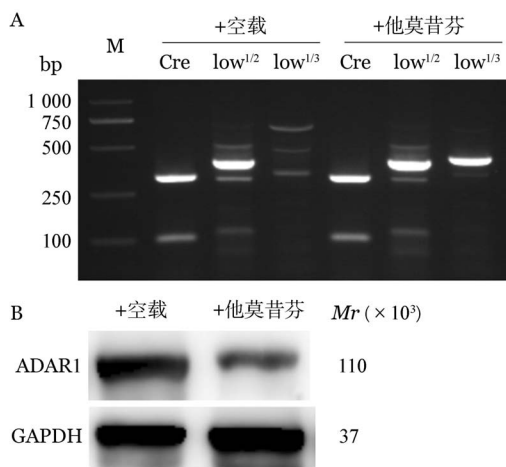
图2 建立MLL-AF9诱导的急性髓系白血病小鼠模型实验流程图

置于IMDM+10% FBS(SCF/IL-3/IL-6)培养基中培养,各组分别加入 2.5 μmol/L 4-羟基他莫昔芬或相同剂量无水乙醇(空载体对照)处理。采用流式细胞术检测各组 AML 细胞总数、GFP⁺细胞比例、Annexin V⁺7-AAD⁺和 Annexin V⁺细胞比例。每次实验设3个复孔,实验重复3次。

10. 统计学处理:采用SPSS 10.0软件进行统计学分析。所有数据均采用均数±标准差表示。两组独立样本之间差异的比较采用配对 *t* 检验, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 他莫昔芬对 ADAR1 表达的影响:用他莫昔芬处理 ER-Cre;ADAR1^{lox/lox} 小鼠后,PCR 法检查结果显示小鼠骨髓细胞 ADAR1 的第 12 到 15 个外显子可被有效敲除(图 3A)。Western blot 法检测结果显示,小鼠骨髓细胞 ADAR1 蛋白表达水平较对照组明显减少(图 3B)。



M: Marker; Cre: Cre 酶 cDNA 扩增片段; lox^{1/2}: P1/P2 间 cDNA 扩增片段; lox^{1/3}: P1/P3 间 cDNA 扩增片段

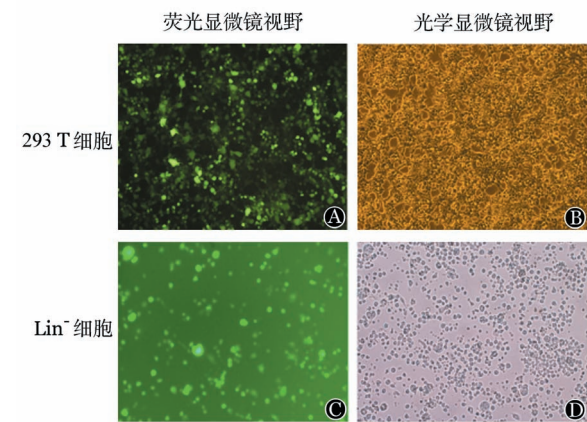
图 3 PCR 法(A)及 Western blot 法(B)检测他莫昔芬对 ADAR1 表达的影响

2. 成功构建可诱导敲除 ADAR1 的小鼠 MLL-AF9 白血病模型:首先包装携带 MSCV-MLL/AF9-IRES-GFP 的逆转录病毒,293 T 细胞形态由梭型变成饱满的球型并融汇集形成一片,荧光显微镜下可见视野中大片绿荧光(图 4A、B),表明其正在产生病毒;之后用产生的逆转录病毒分别感染 ER-Cre; ADAR1^{lox/lox} 小鼠和 ADAR1^{lox/lox} 小鼠骨髓 Lin⁻细胞(图 4C、D)。随后分选 GFP⁺细胞并移植至致死剂量照射的 P₀代受体小鼠中。受体小鼠以外

周血中 GFP⁺细胞比例大于 30%、小鼠出现白血病发病症状、解剖发现脾增大为发病标准。结果显示 P₀代受体小鼠在移植后 50~70 d 全部死亡,发病期间出现行动迟缓、弓背、竖毛等症状,濒死前解剖可见脾脏较野生对照组明显增大(图 5);外周血白细胞计数为(6.8±0.9)×10¹⁰/L,较对照组小鼠[(2.0±0.2)×10¹⁰/L]明显增高,差异有统计学意义(*P*<0.05);骨髓和脾脏中 GFP⁺细胞数大于 70%,且这群 GFP⁺细胞高表达髓系标识 Mac-1 和 Gr-1,不表达 B 细胞标识 B220 和 T 细胞标识 CD3(图 6),符合 MLL-AF9 白血病的发病特征。

3. 体内敲除 ADAR1 对 MLL-AF9 白血病小鼠发病的影响:他莫昔芬处理后 ER-Cre; ADAR1^{lox/lox} AML 受体小鼠在各时间点外周血中 GFP⁺细胞比例均低于其他对照组,其存活时间与对照组相比明显延长,差异均有统计学意义(*P*值均<0.05)(图 7)。

4. 体外敲除 ADAR1 对 AML 细胞增殖、凋亡的影响:移植后发病的 P₃代小鼠骨髓细胞开始培养时,ER-Cre;ADAR1^{lox/lox} 组 GFP⁺细胞比例为 64%,



A、B:包装携带 MSCV-MLL/AF9-IRES-GFP 逆转录病毒的 293 T 细胞;C、D:逆转录病毒感染 Lin⁻细胞

图 4 包装逆转录病毒及用产生的病毒感染 Lin⁻细胞(×200)

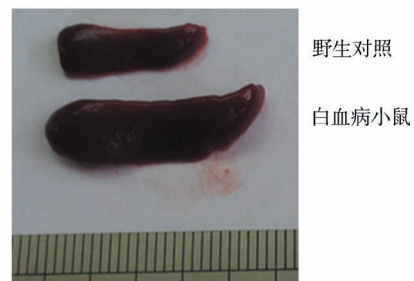


图 5 构建可诱导敲除 ADAR1 的 MLL-AF9 急性髓系白血病小鼠模型与野生对照小鼠脾脏比较

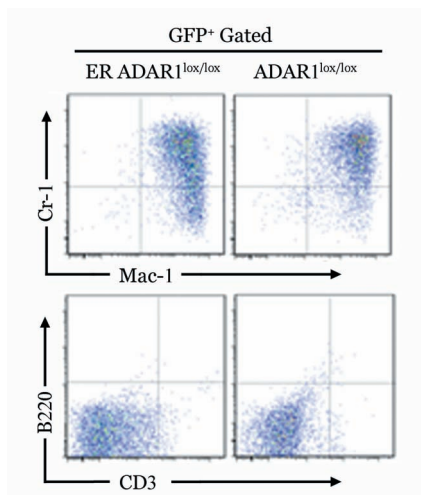


图6 流式细胞术检测构建可诱导敲除ADAR1的MLL-AF9急性髓系白血病小鼠模型GFP⁺细胞表型

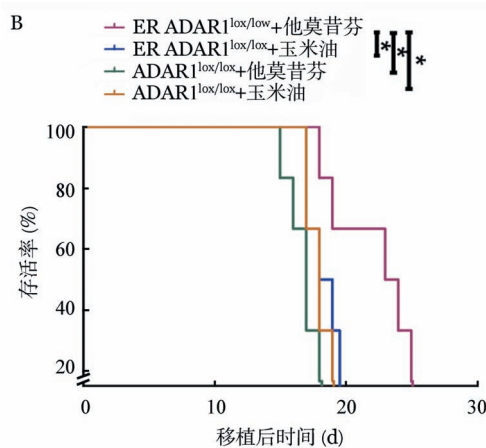
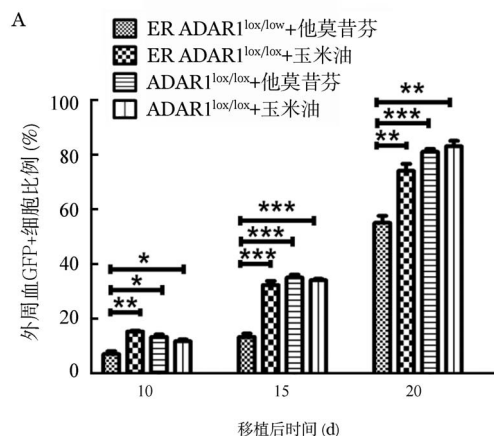
ADAR1^{lox/lox}组为60%。每组分别用4-羟基他莫昔芬及相同剂量乙醇处理后,实验组细胞总数、GFP⁺细胞比例均较对照组降低,Annexin V⁺7-AAD⁺和Annexin V⁺细胞比例均升高,差异均有统计学意义(P值均<0.05)(表2)。

讨论

ADAR1最早是作为一种RNA编辑酶被发现并命名的,它能够将转录后形成的双链RNA上的腺嘌呤脱氨基变成次黄嘌呤,完成碱基A到I的转换。ADAR1的RNA编辑作用可以影响RNA的结构、稳定性及其剪接作用,并且可导致多种同工型蛋白的产生^[5-6]。另外,ADAR1可不依赖其编辑活性发挥作用,它能通过影响胞质内其他双链RNA结合蛋白的活性改变细胞功能^[7-8]。

Cre/lox重组系统须包括Cre重组酶和lox位点两个要素,Cre重组酶才能特异识别并催化两个lox位点之间的片段进行重组。我们在前期研究中建立了lox位点锚定ADAR1基因催化结构域的ADAR1^{lox/lox}小鼠,在本项研究中我们首次将ER-Cre小鼠与ADAR1^{lox/lox}小鼠交配,成功得到了ER-Cre;

ADAR1^{lox/lox}小鼠(结果在本文中未显示)。ER-Cre;



A:各组小鼠外周血中GFP⁺细胞比例比较;B:各组小鼠生存曲线比较;与实验组(ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+他莫昔芬)比较,*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001

图7 体内敲除ADAR1对MLL-AF9白血病小鼠发病的影响

ADAR1^{lox/lox}小鼠是将经过突变改造的ER的配体结合区置于Cre前,ER在结合雌激素类似物4-羟基他莫昔芬后能够诱导重组酶Cre的表达,敲除两个lox位点之间的片段,最终介导ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}小鼠中ADAR1的敲除。其通过腹腔注射他莫昔芬或体外采用4-羟基他莫昔芬处理,可诱导ADAR1从基因组中敲除,因此它可以作为研究ADAR1的工具小鼠。而他莫昔芬体外溶解性差,但溶于玉米油,在体内经肝脏代谢后可以转化为其活化形式4-

表2 流式细胞术检测4-羟基他莫昔芬(4-HTAM)处理48 h后对细胞增殖和凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞总数($\times 10^5$)		GFP ⁺ 细胞比例(%)		Annexin V ⁺ 7-AAD ⁺	Annexin V ⁺
	0 h	48 h	0 h	48 h	细胞比例(%)	细胞比例(%)
ER-Cre;ADAR1 ^{lox/lox} +4-HTAM	5.0	5.2±0.9	64	48.0±0.6 ^a	32.2±2.5	56.2±4.1
ER-Cre;ADAR1 ^{lox/lox} +乙醇空载体	5.0	10.8±0.4 ^a	64	65.5±1.7 ^b	12.6±0.8 ^d	27.3±2.2 ^d
ADAR1 ^{lox/lox} +4-HTAM	5.0	8.5±0.4 ^a	60	62.7±0.6 ^b	22.4±2.2 ^c	43.9±4.9 ^e
DAR1 ^{lox/lox} +乙醇空载体	5.0	11.0±0.5 ^a	60	66.9±7.4 ^c	12.4±0.7 ^d	26.7±1.1 ^d

注:与0 h组比较,^aP<0.001,^bP<0.01,^cP<0.05;与ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}+4-HTAM组比较,^dP<0.001,^eP<0.01,^fP<0.05

羟基他莫昔芬发挥功能,因此常用于腹腔注射的方式使用^[9],而4-羟基他莫昔芬溶于乙醇且体外稳定性好,常用于体外实验^[10]。

MLL基因相关白血病在临床上多数恶性程度高、预后不良且常易复发的特点,因此其研究结果具有非常重要的意义。MLL基因常可与多种基因发生融合,而MLL融合基因能使祖细胞获得干细胞特性,诱发白血病。其中80%的MLL基因相关白血病由MLL-AF4、MLL-AF9、MLL-ENL、MLL-AF10及MLL-AF6这五种最常见的融合基因所导致^[11]。近几年,利用逆转录病毒诱导构建小鼠白血病模型的方法具有发病周期短,可移植传代及诱导效率高特点^[12],尤其是构建的MLL-AF9融合基因小鼠模型。在本实验中,我们通过用携带MLL-AF9融合基因的逆转录病毒感染小鼠骨髓的Lin⁻细胞,体外检测后,将被感染的Lin⁻细胞移植入致死剂量照射或半致死剂量照射的小鼠体内,建立白血病模型,结果显示可100%诱导发病且形成AML。

在本实验中,我们首先利用ER-Cre;ADAR1^{lox/lox}小鼠建立了MLL-AF9诱导的AML模型,应用此模型可以获得大量的AML细胞,并且能将ADAR1在小鼠体内外分别诱导敲除以研究对AML发病的影响。体内试验结果表明,敲除ADAR1后显示白血病进展的GFP⁺细胞比例在各监测时间点低于对照组,敲除组小鼠的存活时间也较对照组延长。体外实验进一步证明敲除组的AML细胞在培养基中培养48 h后,细胞总数没有增加,GFP⁺细胞比例及总数均低于对照组,且GFP⁺细胞凋亡比例显著高于对照组。以上研究结果显示ADAR1对于MLL-AF9诱导的AML细胞的发生和维持起关键作用。

目前,体内研究得出比较明确结论的几个ADAR1作用底物大多是神经转移受体和离子通道受体的mRNA^[13-15],而ADAR1在AML细胞及造血细胞中的作用底物至今没有相关报道。我们的实验结果说明MLL-AF9诱导的AML发生过程中需要ADAR1,因此ADAR1可能成为一种潜在的治疗AML的药物靶点。进一步研究ADAR1在AML中的作用靶点,揭示其对于AML作用的分子机制,从而开发可以作用于ADAR1的小分子药物,可能为临床治疗AML提供新的方向。

参考文献

[1] XuFeng R, Boyer MJ, Shen H, et al. ADAR1 is required for

hematopoietic progenitor cell survival via RNA editing[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(42): 17763-17768.

- [2] Ma CH, Chong JH, Guo Y, et al. Abnormal expression of ADAR1 isoforms in Chinese pediatric acute leukemias [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 406(2): 245-251.
- [3] 马翠花, 田晨, 种靖慧, 等. ADAR1同工型基因在小鼠急性T淋巴细胞白血病模型中的表达[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(3): 566-569.
- [4] Steinman RA, Yang Q, Gasparetto M, et al. Deletion of the RNA-editing enzyme ADAR1 causes regression of established chronic myelogenous leukemia in mice [J]. Int J Cancer, 2013, 132(8): 1741-1750.
- [5] Herbert A, Alfken J, Kim YG, et al. A Z-DNA binding domain present in the human editing enzyme, double-stranded RNA adenosine deaminase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997, 94(16): 8421-8426.
- [6] Herbert A, Schade M, Lowenhaupt K, et al. The Zalpha domain from human ADAR1 binds to the Z-DNA conformer of many different sequences [J]. Nucleic Acids Res, 1998, 26(15): 3486-3493.
- [7] Ota H, Sakurai M, Gupta R, et al. ADAR1 forms a complex with Dicer to promote microRNA processing and RNA-induced gene silencing [J]. Cell, 2013, 153(3): 575-589.
- [8] Nemlich Y, Greenberg E, Ortenberg R, et al. MicroRNA-mediated loss of ADAR1 in metastatic melanoma promotes tumor growth [J]. J Clin Invest, 2013, 123(6): 2703-2718.
- [9] Hoshii T, Tadokoro Y, Naka K, et al. mTORC1 is essential for leukemia propagation but not stem cell self-renewal [J]. J Clin Invest, 2012, 122(6): 2114-2129.
- [10] Hayashi S, McMahon AP. Efficient recombination in diverse tissues by a tamoxifen-inducible form of Cre: a tool for temporally regulated gene activation/inactivation in the mouse [J]. Dev Biol, 2002, 244(2): 305-318.
- [11] Yokoyama A, Somerville TC, Smith KS, et al. The menin tumor suppressor protein is an essential oncogenic cofactor for MLL-associated leukemogenesis [J]. Cell, 2005, 123(2): 207-218.
- [12] Fortier JM, Graubert TA. Murine models of human acute myeloid leukemia [J]. Cancer Treat Res, 2010, 145: 183-196.
- [13] Hoopengardner B, Bhalla T, Staber C, et al. Nervous system targets of RNA editing identified by comparative genomics [J]. Science, 2003, 301(5634): 832-836.
- [14] Holmgren M, Rosenthal JJ. Regulation of Ion Channel and Transporter Function Through RNA Editing [J]. Curr Issues Mol Biol, 2014, 17: 23-36.
- [15] Dabiri GA, Lai F, Drakas RA, et al. Editing of the GLuR-B ion channel RNA in vitro by recombinant double-stranded RNA adenosine deaminase [J]. EMBO J, 1996, 15(1): 34-45.

(收稿日期:2014-11-07)

(本文编辑:刘志红)