

# Septin-9 在 ALL 病儿骨髓组织中的表达及意义

汪玉芳<sup>1</sup> 柯善栋<sup>1</sup> 郑芳<sup>2</sup>

(1 鄂东医疗集团黄石市中心医院(湖北理工学院附属医院)血液内科,湖北 黄石 435000; 2 武汉市协和医院血液内科)

**[摘要]** **目的** 探讨 Septin-9 在急性淋巴细胞白血病(ALL)病儿骨髓组织中的表达及对 Jurkat 细胞生物学功能的影响。**方法** 选取 2014 年 2 月—2017 年 8 月在我院门诊就诊或住院治疗的 ALL 病儿 94 例,其中初诊病儿 63 例,缓解病儿 20 例,复发病儿 11 例。选取同期行骨科矫治手术的病儿 16 例作为对照组。采用实时荧光定量 PCR 技术检测骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 的表达;培养 Jurkat 细胞并分为 Septin-9 干扰组(C 组)、阴性对照组(B 组)和空白组(A 组),采用 Western blot 方法检测细胞中 Septin-9 蛋白表达;采用 MTT 法检测细胞增殖能力;采用流式细胞术检测细胞周期;采用划痕实验检测细胞迁移能力;采用 Transwell 小室检测细胞侵袭能力。**结果** 初诊病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量高于对照组,差异具有统计学意义( $t=7.283, P<0.05$ );初诊病儿中,B-ALL 和 T-ALL 病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量差异无统计学意义( $t=0.812, P>0.05$ );标危组、中危组和高危组病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量比较差异均有统计学意义( $F=108.770, P<0.05$ );初诊病儿、缓解病儿和复发病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量比较差异均有统计学意义( $F=51.456, P<0.05$ );C 组细胞中 Septin-9 蛋白相对表达量及 24、48、72 和 96 h 细胞吸光度值均低于 B 组和 A 组( $F=7.349\sim 62.232, P<0.05$ );C 组 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例高于 B 组和 A 组,而 S 期细胞比例低于 B 组和 A 组( $F=7.887, 8.148, P<0.05$ );C 组 24 和 48 h 划痕愈合率以及侵袭细胞数均低于 B 组和 A 组( $F=42.444\sim 97.442, P<0.05$ )。**结论** Septin-9 在 ALL 病儿骨髓单个核细胞中呈高表达,特异性抑制 Jurkat 细胞中 Septin-9 mRNA 表达,可抑制细胞迁移和侵袭能力,可能通过改变细胞周期而抑制细胞增殖。

**[关键词]** 前体细胞淋巴瘤母细胞白血病淋巴瘤;SEPT9 蛋白,人;骨髓细胞;细胞增殖;细胞运动

**[中图分类号]** R733.711

**[文献标志码]** A

**EXPRESSION OF SEPTIN-9 IN THE BONE MARROW TISSUE OF CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA AND ITS SIGNIFICANCE** WANG Yufang, KE Shandong, ZHENG Fang (Department of Hematology, Edong Medical Group Huangshi Central Hospital (Hospital Affiliated to Hubei Polytechnic University), Huangshi 435000, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the expression of Septin-9 in the bone marrow tissue of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and its effect on the biological function of human Jurkat cells. **Methods** A total of 94 children with ALL who were treated at the outpatient service or were hospitalized in our hospital from February 2014 to August 2017 were enrolled, among whom 63 were diagnosed for the first time, 20 had remission, and 11 had recurrence. A total of 16 patients who underwent orthopedic surgery were enrolled as control group. Quantitative real-time PCR was used to measure the mRNA expression of Septin-9 in bone marrow mononuclear cells. Human Jurkat cells were cultured and divided into blank group (group A), negative control group (group B), and Septin-9 interference group (group C), and Western blot was used to measure the protein expression of Septin-9 in these cells. MTT assay was used to assess cell proliferation, flow cytometry was used to determine cell cycle, wound healing assay was used to evaluate cell migration ability, and Transwell chamber was used to evaluate cell invasiveness. **Results** The group of newly diagnosed children had significantly higher relative mRNA expression of Septin-9 in bone marrow mononuclear cells than the control group ( $t=7.283, P<0.05$ ). In the newly diagnosed children, there was no significant difference in the relative mRNA expression of Septin-9 in bone marrow mononuclear cells between the children with B-lineage ALL and those with T-cell ALL ( $t=0.812, P>0.05$ ). There was a significant difference in the relative mRNA expression of Septin-9 in bone marrow mononuclear cells between the standard risk group, the intermediate risk group, and the high risk group ( $F=108.770, P<0.05$ ). There was also a significant difference in the relative mRNA expression of Septin-9 in bone marrow mononuclear cells between the newly diagnosed children, the children with remission, and the children with recurrence ( $F=51.456, P<0.05$ ). Compared with groups A and B, group C had significantly lower relative protein expression of Septin-9 and absorbance values at 24, 48, 72, and 96 hours ( $F=7.349\sim 62.232, P<0.05$ ), a significantly higher proportion of cells in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase and a significantly lower proportion of cells in S phase ( $F=7.887, 8.148, P<0.05$ ), and significantly lower wound healing rates at 24 and 48 hours and number of invasive cells ( $F=42.444\sim 97.442, P<0.05$ ). **Conclusion** Septin-9 is highly expressed in bone marrow mononuclear cells in children with ALL. Specific inhibition of Septin-9 mRNA expression in human Jurkat cells can inhibit cell migration and invasion and inhibit cell proliferation by altering cell cycle.

**[收稿日期]** 2018-10-22; **[修订日期]** 2018-12-17

**[基金项目]** 湖北省卫生计生厅青年科技人才项目(QJX2012-06)

**[通讯作者]** 柯善栋, Email: 1541421042@qq.com

**[KEY WORDS]** Precursor cell lymphoblastic leukemia-lymphoma; SEPT9 protein, human; Bone marrow cells; Cell proliferation; Cell movement

急性淋巴细胞白血病(ALL)作为一种儿童时期常见的血液系统恶性肿瘤,是由于骨髓中的原始幼稚细胞发生克隆性异常增殖并抑制正常造血功能导致的,严重威胁儿童生命健康<sup>[1-2]</sup>。目前,随着临床上 ALL 化疗技术的不断进展,多数患儿预后比较好,但是仍有 20%~30% 的患儿化疗后会出现复发<sup>[3-5]</sup>,而复发病儿再次化疗缓解率较低,预后不佳<sup>[6]</sup>。因此,积极探讨影响 ALL 复发的相关机制对改善患儿预后具有重要意义。胞裂蛋白(Septin)作为一种进化上高度保守的具有 GTPase 活性的基因家族,广泛存在于真核生物体内,在细胞分裂、细胞周期调控、细胞内物质转运、细胞凋亡等多种生物学功能中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。Septin-9 是 Septin 家族的重要成员,有研究表明,Septin-9 参与了多种恶性肿瘤恶性化过程,且与肿瘤复发密切相关<sup>[8]</sup>。本研究拟观察 ALL 患儿骨髓组织中 Septin-9 表达的变化,并分析 Septin-9 表达变化对 ALL 细胞增殖和侵袭力的影响,以探讨其在儿童 ALL 发病机制中的作用,并为临床上的靶向治疗提供新的靶点。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2014 年 2 月—2017 年 8 月在我院门诊就诊或住院治疗的 ALL 患儿共 94 例,其中初诊患儿 63 例,男 37 例,女 26 例,年龄 1.4~14.2 岁,平均(6.4±2.8)岁;包括急性 B 系淋巴细胞白血病(B-ALL)44 例和急性 T 系淋巴细胞白血病(T-ALL)19 例;根据中国儿童血液病研究组 2008 方案组(CCLG-08 组)分组标准分为标危组 17 例,中危组 22 例,高危组 24 例。缓解患儿 20 例,男 11 例,女 9 例,年龄 2.5~13.4 岁,平均(7.7±3.6)岁。复发病儿 11 例,其中男 7 例,女 4 例,年龄 1.8~14.5 岁,平均(7.7±4.3)岁。另选取同时期进行骨骼矫治手术的患儿 16 例作为对照组,其中男 9 例,女 7 例,年龄 2.7~12.8 岁,平均(7.2±3.1)岁;均排除血液系统疾病及其他恶性肿瘤。各组患儿性别、年龄比较差异无显著性( $P>0.05$ )。

### 1.2 主要试剂和设备

淋巴细胞分离液购自中科院生物医学工程研究所;人 Jurkat 细胞系购自上海中乔新舟生物科技公司;RPMI 1640 培养基、体积分数为 0.10 胎牛血清、胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司;Trizol 总 RNA 提取试剂盒和 Lipofectamine 2000 转染液购自美国 Invitrogen 公司;逆转录和 PCR 扩增试剂盒购自美国

Applied Biosystems 公司;Septin-9 和内参序列由上海生工生物工程有限公司设计合成;Septin-9 干扰序列和阴性对照序列由上海吉玛制药技术公司设计合成;兔抗人 Septin-9 多克隆抗体购买自美国 Santa Cruz 公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)液和二甲基亚砷(DMSO)购自美国 Sigma 公司;细胞周期检测试剂盒购买于南京凯基生物科技发展有限公司;Transwell 小室购自美国 Corning 公司;Matrigel 基质胶购买于美国 BD 公司,实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司;凝胶电泳分析系统购买于日本 Kodark 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 所有研究对象均抽取新鲜骨髓样品 2~5 mL,肝素抗凝,加入淋巴细胞分离液;用离心机 2 000 r/min 离心 25 min,留取界面层单个核细胞,PBS 冲洗 2 次,计数并分装于无菌离心管内,于-80℃冰箱冻存备用。

**1.3.2 实时荧光定量 PCR 技术检测单个核细胞中 Septin-9 mRNA 表达** 按照 Trizol 总 RNA 提取试剂盒说明完成操作,提取单个核细胞中总 RNA,利用 BIO 分光光度计对总 RNA 纯度和浓度进行检测,以  $A_{260}/A_{280}$  在 1.80~2.20 且浓度  $\geq 200$  mg/L 为合格。按逆转录试剂盒说明将总 RNA 逆转录为单链 cDNA,以 cDNA 为模板,按照 PCR 试剂盒进行荧光定量 PCR 扩增。引物序列如下。Septin-9 上游引物:5'-CCAAGTGACCAGGGAAGTGT-3',下游引物:5'-AAGGCACGGGTAGATCAACAG-3',GAPDH 上游引物:5'-AGCCACATCGCTCAG-ACAC-3',下游引物:5'-GCCCAATACGACCAAA-TCC-3'。PCR 反应条件:95℃ 3 min,94℃ 30 s,94℃ 30 s,58℃ 30 s,75℃ 30 s,循环 38 次,每个样品设 3 个平行复孔。用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算单个核细胞中 Septin-9 mRNA 的相对表达量。

**1.3.3 细胞培养和处理** 将 Jurkat 细胞用含体积分数为 0.01 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养,于 37℃、饱和湿度、含体积分数 0.05 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。24 h 后胰酶消化,传代培养。取对数生长期的细胞,接种于 24 孔板中,细胞浓度  $2 \times 10^8$  个/L。用 Lipofectamine 2 000 转染液对细胞进行分组转染:①Septin-9 干扰组(C 组):转染 Septin-9 小分子 RNA 干扰序列,正义链:5'-AGGCGUACCGUG-UGAAGCGCCUCAA-3',反义链:5'-UUGAGGC-GCUUCACACGGUACGCCU-3';②阴性对照组(B 组):转染阴性对照序列,正义链:5'-TTTGCCTC-

TTCGGATCTTTAGCTCTTGATATCCGGAGCT-AAAGATCCGAAGAGTTTTTTT-3', 反义链: 5'-C-TAGAAAAAACTCTTCGGATCTTTAGCTCCG-GATATCAAGAGCTAAAGATCCGAAGAGCG-3';  
③空白组(A组): 不作任何处理。各组细胞转染完成后恒温培养 48 h, 完成后续实验。

**1.3.4 Western blot 方法检测各组细胞中 Septin-9 蛋白表达** 取转染后培养 48 h 细胞, 用细胞裂解液裂解, 用总蛋白提取试剂盒提取细胞中总蛋白, 用聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)蛋白浓度检测试剂盒对蛋白进行定量检测。行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上, 将膜在含有 50 g/L 脱脂奶粉的 PBS 中封闭 60 min。加入一抗(稀释比例 1:800), 4℃ 孵育过夜; 洗膜 3 次, 加入二抗, 室温孵育 120 min; 洗膜 3 次, 暗室下用化学发光试剂显影、定影。以 GAPDH 为内参照, 采用 Image J 图像分析软件进行分析, 以获得目的蛋白条带相对表达量。

**1.3.5 MTT 法检测细胞增殖能力** 取各组细胞, 胰酶消化, 制备单细胞悬液, 密度为  $5 \times 10^9$  个/L。取 200  $\mu$ L 单细胞悬液接种于 96 孔板中, 每组设 6 个复孔, 恒温培养, 于 37℃、饱和湿度、含体积分数 0.05 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。分别于培养 24、48、72、96 h 时, 向各孔加入 MTT 液(5 g/L)20  $\mu$ L, 继续培养 4 h, 弃培养液, 各孔加入 DMSO 液 150  $\mu$ L, 充分振荡 15 min, 采用酶标仪于 490 nm 波长处检测各孔吸光度 A 值。

**1.3.6 流式细胞术检测各组细胞周期** 取各组转染后培养 48 h 细胞, 预冷 PBS 冲洗 3 次, 室温下 1 000 r/min 离心 6 min; 弃上清液, 4℃ 下用冰乙醇过夜固定; 室温下 1 000 r/min 离心 6 min, 弃乙醇, PBS 冲洗 2 次。根据试剂盒说明操作, 加入 RNase A, 室温下静置 1 h, 后以 1 000 r/min 离心 6 min; 弃上清液, 加入碘化丙啶(PI)500  $\mu$ L, 避光反应 0.5 h; 上机检测  $2 \times 10^4$  个细胞, 用 CellQuest 软件对细胞周期进行分析。

**1.3.7 划痕实验检测细胞迁移能力** 取各组细胞, 胰酶消化, 离心留取细胞沉淀, 按  $5 \times 10^4$ /孔细胞接种于 6 孔板。待细胞铺满皿底后, 用移液枪枪头垂直于孔板尽量画直线, 用 PBS 冲洗 3 次, 加入不含血清的培养液, 恒温培养, 于 37℃、饱和湿度、含体积分数 0.05 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。分别于 0、24 和 48 h 时拍照, 计算划痕愈合率(%)=(0 h 划痕宽度-24 h/48 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 $\times 100\%$ 。重复

实验 3 次。

**1.3.8 Transwell 小室检测细胞侵袭能力** 将 Matrigel 基质胶稀释后平铺于 Transwell 上室, 4℃ 风干备用。取各组细胞, 胰酶消化, 离心留取细胞沉淀, 用无血清培养基重悬细胞, 调整细胞密度为  $1 \times 10^9$  个/L。取 200  $\mu$ L 细胞悬液加入小室上室, 将 500  $\mu$ L 含体积分数为 0.10 胎牛血清的培养液加入小室下室, 置于 37℃、饱和湿度、含体积分数 0.05 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养。24 h 后, 将小室取出, 以 40 g/L 的甲醛固定, 结晶紫染色, PBS 冲洗 3 次, 用棉签轻轻将散落的细胞去除, 显微镜下观察并计算穿膜细胞数。实验重复 3 次。

## 1.4 统计学分析

利用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 初诊患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 表达

初诊患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 的相对表达量为  $1.77 \pm 0.33$ , 高于对照组的  $1.15 \pm 0.11$ , 差异有统计学意义( $t = 7.283, P < 0.05$ ); 初诊患儿中, B-ALL 和 T-ALL 患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量分别为  $1.74 \pm 0.34$  和  $1.82 \pm 0.29$ , 差异无显著统计学意义( $t = 0.812, P > 0.05$ )。标危组、中危组和高危组患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 的相对表达量分别为  $1.42 \pm 0.17$ 、 $1.72 \pm 0.14$  和  $2.05 \pm 0.21$ , 组间比较差异均有统计学意义( $F = 108.770, P < 0.05$ )。

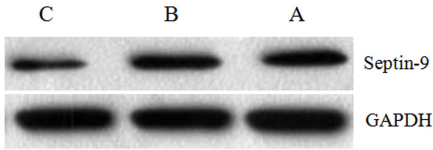
### 2.2 不同病程患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 的表达

初诊患儿、缓解患儿和复发病患儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 的相对表达量分别为  $1.77 \pm 0.33$ 、 $1.37 \pm 0.07$  和  $2.26 \pm 0.16$ , 各组间比较差异均有统计学意义( $F = 51.456, P < 0.05$ )。

### 2.3 各组细胞中 Septin-9 蛋白表达

C、B 和 A 组细胞中 Septin-9 蛋白相对表达量分别为  $0.31 \pm 0.06$ 、 $0.75 \pm 0.11$  和  $0.86 \pm 0.10$ , 差异有统计学意义( $F = 62.232, P < 0.05$ ); B 组和 A 组细胞中 Septin-9 蛋白相对表达量比较差异无显著性( $t = 1.846, P > 0.05$ ); C 组细胞中 Septin-9 蛋白的相对表达量低于 B、A 组, 差异具有统计学意义( $t = 8.719, 12.159, P < 0.05$ )。见图 1。





A:A 组;B:B 组;C:C 组。

图 1 各组细胞中 Septin-9 蛋白的表达

2.4 各组细胞增殖能力比较

C、B 和 A 组 24、48、72 和 96 h 细胞增殖能力比较,差异具有统计学意义( $F=7.349\sim32.761, P<0.05$ );B 组和 A 组 24、48、72 和 96 h 细胞增殖能力比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),C 组 24、48、72 和 96 h 细胞增殖能力低于 B、A 组,差异有统计学意义( $t=2.842\sim48.371, P<0.05$ )。见表 1。

2.5 各组细胞周期的变化

C、B 和 A 组  $G_0/G_1$  期和 S 期细胞比例比较差异均具有显著性( $F=7.887、8.148, P<0.05$ );B 组和 A 组  $G_0/G_1$  期和 S 期细胞比例比较差异无显著性( $t=0.365、0.874, P>0.05$ );C 组  $G_0/G_1$  期细胞比例高于 B 组和 A 组,而 S 期细胞比例低于 B 组和 A 组,差异具有显著统计学意义( $t=3.112\sim4.157, P<0.05$ );C、B 和 A 组  $G_2/M$  期细胞比例比较差异无显著性( $F=0.785, P>0.05$ )。见表 2、图 2。

表 1 各组细胞增殖能力比较(A,  $n=6, x\pm s$ )

| 组别  | 24        | 48        | 72        | 96 (t/h)  |
|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|
| A 组 | 0.27±0.05 | 0.55±0.04 | 0.61±0.10 | 0.89±0.11 |
| B 组 | 0.31±0.06 | 0.53±0.09 | 0.70±0.07 | 0.87±0.17 |
| C 组 | 0.17±0.05 | 0.29±0.02 | 0.51±0.05 | 0.62±0.11 |

表 2 各组细胞周期变化( $\chi/\%, n=6, x\pm s$ )

| 组别  | $G_0/G_1$ 期 | $G_2/M$ 期  | S 期        |
|-----|-------------|------------|------------|
| A 组 | 60.91±6.70  | 15.23±2.30 | 23.86±4.09 |
| B 组 | 63.59±4.04  | 14.61±3.73 | 21.80±4.08 |
| C 组 | 71.23±3.82  | 13.06±2.67 | 15.71±2.52 |

2.6 各组细胞迁移和侵袭能力

划痕实验结果显示,C、B 和 A 组 24 和 48 h 划痕愈合率比较差异具有显著性( $F=42.444、97.442, P<0.05$ )。B 组和 A 组 24 和 48 h 划痕愈合率比较差异无显著性( $t=0.583、0.972, P>0.05$ ),C 组 24 和 48 h 划痕愈合率低于 B、A 组,差异具有显著意义( $t=7.299\sim13.964, P<0.05$ )。结果见表 3 和图 3。Transwell 实验结果显示,C、B 和 A 组侵袭细胞数比较差异有显著性( $F=66.073, P<0.05$ );B 组和 A 组侵袭细胞数比较差异无显著性( $t=1.287, P>0.05$ );C 组侵袭细胞数低于 B、A 组,差异具有显著性

( $t=11.062、9.496, P<0.05$ )。见表 3 和图 4。

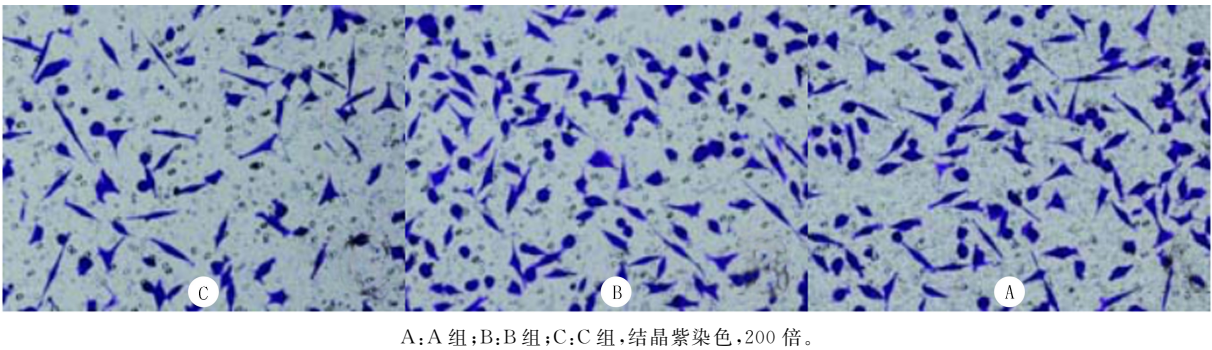
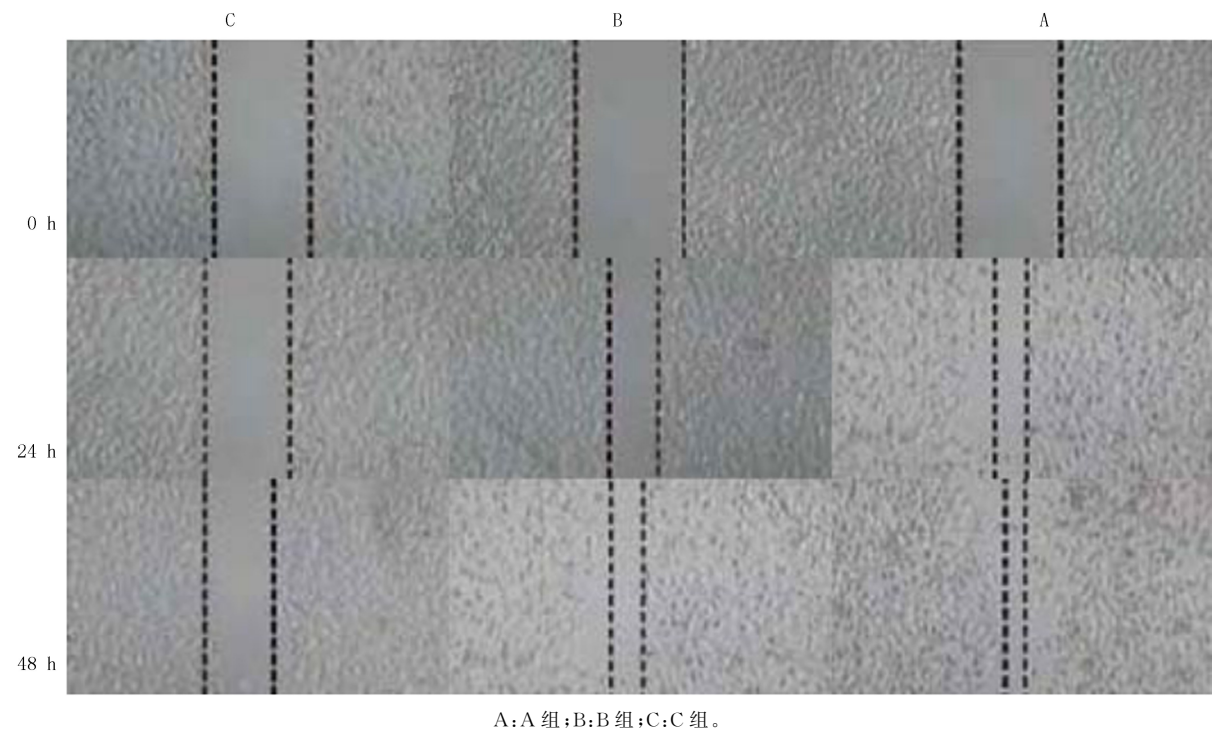
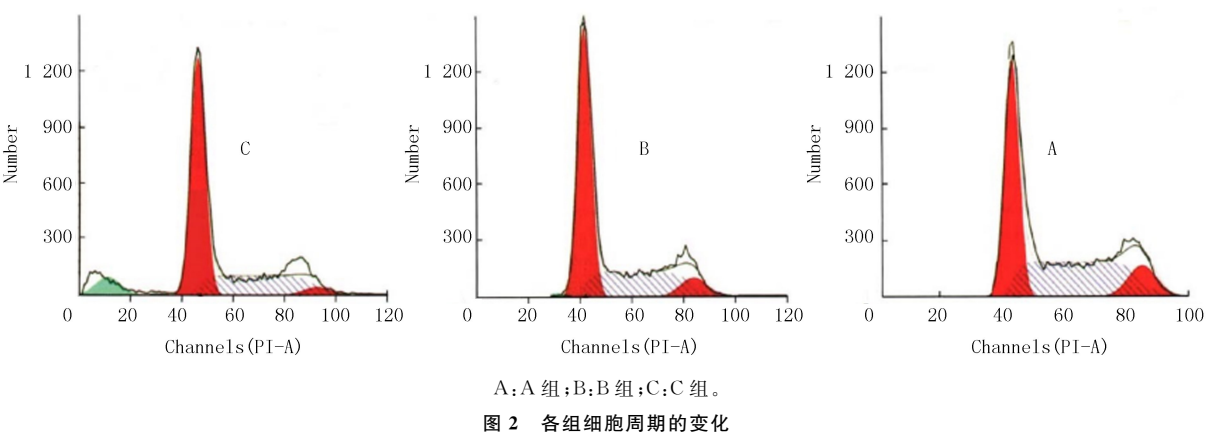
表 3 各组细胞迁移和侵袭能力比较( $n=6, x\pm s$ )

| 组别  | 划痕愈合率( $\chi/\%$ ) |            | 侵袭细胞数       |
|-----|--------------------|------------|-------------|
|     | 24 h               | 48 h       |             |
| A 组 | 37.21±2.39         | 82.21±6.82 | 119.76±6.60 |
| B 组 | 36.26±3.21         | 78.42±6.68 | 124.62±6.46 |
| C 组 | 24.45±2.33         | 40.55±2.62 | 87.42±5.10  |

3 讨 论

白血病是导致儿童期病儿死亡的常见的恶性肿瘤之一,其中以 ALL 最为常见,约占白血病类型的 75%以上<sup>[9-10]</sup>。目前,随着化疗方案的不断优化,儿童 ALL 总体 5 年无事件生存率约为 90%<sup>[11-12]</sup>;但仍有部分病儿最终出现复发,而复发病儿再次缓解失败风险高、生存时间缩短,预后极差<sup>[13-16]</sup>。因此,发现和确定儿童 ALL 发生、进展及复发相关的高危 mRNA,对指导治疗及提供治疗靶点具有重要意义。Septin-9 mRNA 位于人染色体 17q25.3,在细胞质分裂、细胞极化、细胞膜重构等多种生物学过程中发挥重要作用<sup>[17-18]</sup>;Septin-9 是潜在的原癌基因,其异常表达可引起细胞极性丢失、形态改变,增加了细胞癌变风险<sup>[19-21]</sup>;且与肿瘤细胞异常增殖及凋亡密切相关<sup>[22-23]</sup>。现有研究表明,Septin-9 在乳腺癌、人肾细胞癌及肝癌等多种恶性肿瘤组织中表达异常<sup>[21,24-26]</sup>。本研究结果显示,初诊病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量高于对照组,说明 Septin-9 mRNA 在 ALL 病儿骨髓单个核细胞中表达异常增加,可能参与了 ALL 发病;同时,随着临床危险度分级升高,Septin-9 mRNA 相对表达量逐渐升高,提示 Septin-9 mRNA 表达与危险度分级有关,可作为评估 ALL 病儿危险度分级的指标。本研究结果还显示,复发病儿骨髓单个核细胞中 Septin-9 mRNA 相对表达量高于初诊和缓解病儿,且初诊病儿高于缓解病儿。说明 Septin-9 在 ALL 病儿骨髓单个核细胞中表达与病儿治疗效果有关。

为进一步观察 Septin-9 对 ALL 细胞生物学功能的影响,本研究利用小分子 RNA 干扰技术特异性抑制人 Jurkat 细胞中 Septin-9 mRNA 表达。结果显示,C 组细胞中 Septin-9 蛋白相对表达量低于 B、A 组,提示 C 组细胞中 Septin-9 mRNA 表达被成功抑制。本研究结果显示,C 组 24、48、72 和 96 h 细胞增殖能力低于 B、A 组,表明特异性抑制了人 Jurkat 细胞中 Septin-9 mRNA 表达,可有效抑制细胞增殖,提示 Septin-9 可能参与了细胞增殖过程<sup>[27]</sup>。



细胞周期检测结果显示, C 组  $G_0/G_1$  期细胞比例高于 B、A 组, 而 S 期细胞比例低于 B、A 组, 表明抑制 Septin-9 mRNA 表达可抑制细胞周期由  $G_0/G_1$  期转化为 S 期, 提示 Septin-9 可能通过改变细胞周期而参与调节细胞增殖<sup>[28-29]</sup>。本研究结果显示, C 组

24 和 48 h 划痕愈合率、侵袭细胞数均低于 B、A 组, 表明抑制 Septin-9 mRNA 表达可有效抑制细胞迁移和侵袭能力<sup>[30]</sup>, 提示 Septin-9 可能参与了人 Jurkat 细胞迁移和侵袭过程。

综上所述, Septin-9 在 ALL 患儿骨髓单个核细

胞中呈高表达,且与临床危险度分级和复发有关,特异性抑制人 Jurkat 细胞中 Septin-9 mRNA 表达,可能通过改变细胞周期而抑制细胞增殖;同时,可抑制细胞迁移和侵袭能力,有望为 ALL 发病机制研究及 mRNA 靶向治疗提供新的靶点。

### [参考文献]

- [1] XU D, XU G, XU L, et al. Acute lymphocytic leukemia mimicking spondyloarthritis in an adolescent: A case report and review of the literature[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2):1143-1145.
- [2] 薛玉娟,吴珺,左英熹,等. 儿童 Ph 染色体阳性急性淋巴细胞白血病的预后因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(3): 219-224.
- [3] VROOMAN L M, SILVERMAN L B. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: Prognostic factors and clinical advances[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2016, 11(5):385-394.
- [4] 任媛媛,邹尧,常丽贤,等. 泼尼松反应在 CCLG-ALL 2008 方案中预后价值的探讨[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(3): 642-646.
- [5] 韩星,刘之岱,刘姗,等. 建立 HPLC 法检测血清尿酸并探讨其对儿童白血病的意义[J]. *基础医学与临床*, 2017, 37(7): 939-944.
- [6] PIERRO J, HOGAN L E, BHATLA T, et al. New targeted therapies for relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2017, 17(8):725-736.
- [7] BRIDGES A A, GLADFELTER A S. Septin form and function at the cell cortex[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(28):17173-17180.
- [8] SONG L, YU H, JIA J, et al. A systematic review of the performance of the SEPT9 gene methylation assay in colorectal cancer screening, monitoring, diagnosis and prognosis [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 18(4):425-432.
- [9] 张素琴,王春关,刘玉峰,等. 急性淋巴细胞白血病患儿骨髓白血病细胞中 microRNA-195 及 Bcl-2 mRNA 表达的意义[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2017, 32(15):1170-1173.
- [10] 石连霞. 急性淋巴细胞白血病微小残留病诊断研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(9):682-685.
- [11] 唐雪. 儿童 Ph-like 急性淋巴细胞白血病的进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19(11):1213-1218.
- [12] FRISHMAN-LEVY L, IZRAELI S. Advances in understanding the pathogenesis of CNS acute lymphoblastic leukaemia and potential for therapy[J]. *Br J Haematol*, 2017, 176(2): 157-167.
- [13] SANTIAGO R, VAIRY S, SINNETT D, et al. Novel therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2017, 18(11):1081-1099.
- [14] 唐威,王松咪,王雅琴,等. 复发急性淋巴细胞白血病患儿的 36 例临床特征及预后分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2018, 33(3):196-199.
- [15] 许丽亭,王超,郑胡镭. CD19CAR-T 细胞治疗急性淋巴细胞白血病患者复发机制的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(8): 629-631.
- [16] 姬利云. 儿童急性淋巴细胞白血病复发与分子遗传学相关性研究[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2017, 22(1):37-41.
- [17] 吕訥男,姚洪文,肖汀,等. 卵巢上皮癌患者外周血中 septin-9 和 clusterin 蛋白的表达及其意义[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(9):679-684.
- [18] 余智操,吴晋,张琼,等. SEPT 9 基因与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(2):297-301.
- [19] 司晓辉,孙攀兴. Septin-9 在子宫内膜癌组织中的表达及意义[J]. *中国妇幼健康研究*, 2017, 28(2):140-141.
- [20] 李丹,苏光建,肖燕萍,等. 外周血甲基化 Septin-9 检测对结肠癌诊断价值的 Meta 分析[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33(10):1547-1551.
- [21] 庄伟,陈家璧,李毅宁,等. Septin-9 在人肾细胞癌组织的表达及临床意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(6):1471-1473.
- [22] 杨谨,李旭,田美娟,等. 应用比较蛋白质组学技术筛选肾透明细胞癌细胞差异表达蛋白的初步研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2012, 34(8):571-576.
- [23] ZHANG M, HE Y, ZHANG X, et al. A pooled analysis of the diagnostic efficacy of plasmic methylated septin-9 as a novel biomarker for colorectal cancer[J]. *Biomed Rep*, 2017, 7(4):353-360.
- [24] CONNOLLY D, HOANG H G, ADLER E, et al. Septin 9 amplification and isoform-specific expression in peritumoral and tumor breast tissue[J]. *Biol Chem*, 2014, 395(2):157-167.
- [25] LEE H S, HWANG S M, KIM T S, et al. Circulating methylated septin 9 nucleic acid in the plasma of patients with gastrointestinal cancer in the stomach and colon[J]. *Jr and Oncol*, 2013, 6(3):290-296.
- [26] WU Y, BU F, YU H, et al. Methylation of Septin9 mediated by DNMT3a enhances hepatic stellate cells activation and liver fibrogenesis[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 315(1):35-49.
- [27] GOLAN M, MABJEESH N J. Imaging of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and septin 9 interaction by bimolecular fluorescence complementation in live cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19):31830-31841.
- [28] SONG L L, LI Y M. Current noninvasive tests for colorectal cancer screening: An overview of colorectal cancer screening tests[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2016, 8(11):793-800.
- [29] SONG L, LI Y. Progress on the clinical application of the SEPT9 gene methylation assay in the past 5 years[J]. *Biomark Med*, 2017, 11(6):415-418.
- [30] 安邦,刘支义,章思维,等. 多普勒超声参数与子宫内膜癌病灶内血管新生、癌细胞生长的相关性[J]. *海南医学院学报*, 2018, 24(2):283-285, 288.

(本文编辑 厉建强)