

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.15.003

文章编号: 1005-8982(2020)15-0013-08

临床研究·论著

## 初发与复发急性 B 淋巴细胞白血病患者 单核细胞 microRNA 表达谱分析\*

邱丽娟, 世淑兰, 蒲刚玲, 夏世梅, 房建铭, 田新

[昆明市儿童医院(昆明医科大学附属儿童医院), 云南省儿童重大疾病研究重点实验室,  
云南 昆明 650228]

**摘要:** **目的** 筛选初发和复发急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)患儿血液中单核细胞差异表达的 microRNA。**方法** 分离初发和复发 B-ALL 患儿及正常儿童单核细胞, 提取核酸行 HiSeq 测序。筛选差异表达的 microRNA 并预测与之相关的候选靶基因和信号通路。**结果** 初发组/复发组共检出差异表达的 microRNA 20 个, 10 个上调, 10 个下调。其中差异最显著的是 has-miR-30a-3p, has-miR-30a-5p, has-miR-30c-2-3p, has-miR-139-5p, has-miR-99b-5p。富集到的候选靶基因功能主要集中在细胞成分和蛋白结合方面, 即细胞质、细胞内组分、蛋白结合、细胞内、细胞质部分。**结论** 复发是儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)治疗难题, 从 microRNA 水平研究儿童 ALL 在初发和复发之间的差异。为 ALL 的病理机制研究提供数据基础, 为诊断、治疗和预后寻找新的靶点。

**关键词:** 淋巴细胞白血病; 儿童; 微小核糖核酸

**中图分类号:** R733.7

**文献标识码:** A

## Analysis of microRNA expression profile of monocytes in children with recurrent B-ALL and primary B-ALL\*

Li-juan Qiu, Shu-lan Shi, Gang-ling Pu, Shi-mei Xia, Jian-ming Fang, Xin Tian

[Kunming Children's Hospital (Kunming Medical University Affiliated Children's Hospital), Yunnan Key Laboratory of Children's Major Disease Research, Kunming, Yunnan 650228, China]

**Abstract:** **Objective** To screen differentially expressed microRNAs between children with recurrent B-ALL (acute lymphoblastic leukemia) blood and primary B-ALL blood. **Methods** Mononuclear cells from children with B-ALL newly diagnosed and recurrently diagnosed were isolated, and nucleic acid was extracted for HiSeq sequencing. Differentially expressed microRNAs are screened out. In addition, candidate gene and signaling pathways associated with them were predicted. **Results** There were 20 differentially expressed microRNAs in the recurrent/primary group, 10 up-regulated and 10 down-regulated, in which has-miR-30a-3p, has-miR-30a-5p, has-miR-30c-2-3p, has-miR-139-5p, has-miR-99b-5p showed significant difference. The enriched candidate target gene functions mainly focus on cell component and protein binding. **Conclusion** Recurrence is a difficult problem in the treatment of childhood ALL. The study investigated the differences between recurrent and primary childhood ALL at microRNA level, which provides a data base for the pathological mechanism of ALL and explores new targets for

收稿日期: 2020-02-03

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81760032, 81960461); 云南省医疗卫生单位内设研究机构科研项目(No: 2017NS113); 昆明市卫生科技人才培养项目暨"十百千"工程[2018-SW(后备)-8]; 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项资金项目(2018FE001-270)

[通信作者] 田新, E-mail: tianxin@etyy.cn; Tel: 13668757522

treatment, diagnosis and prognosis.

**Keywords:** leukemia, lymphoid; child; microRNAs

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 是由于原始及幼稚淋巴细胞在造血组织异常增殖并可侵犯各组织脏器的一种造血系统恶性克隆性疾病。根据白血病细胞的免疫表现型, 分为急性 B 淋巴细胞白血病 (B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) 和急性 T 淋巴细胞白血病 (T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL), 统计显示其中 80% 为 B-ALL<sup>[1]</sup>。ALL 的发病人群年龄最常见于 <5 岁及 >50 岁, 其中 80% 为儿童<sup>[2]</sup>。ALL 患儿治疗后可完全缓解, 5 年生存率可达到 80%, 远高于成人 ALL 患者 30% ~ 40% 的 3 年总生存率<sup>[3-4]</sup>。即使如此, 由于个体差异和化疗药物耐药等问题, 仍然存在部分 ALL 患儿在诱导治疗后复发, 继而面临更差的预后结果。所以探索治疗后的预后指征, 以及初发与复发患者间的差异, 对临床治疗具有重要的指导意义。

MicroRNA (miRNA) 作为非编码 RNA 分子, 可以在转录和转录后水平上调调控基因的表达, 参与细胞的生命活动, 继而影响疾病的发生、发展。大量研究证实 miRNA 能够影响造血细胞的分化以及多种肿瘤细胞增殖、分化和凋亡, 与白血病密切相关。在 B-ALL 中, 下调 miR-3173 能通过蛋白酪氨酸蛋白激酶 2 促进细胞的浸润<sup>[5]</sup>。miR-196b 在 B-ALL 及 T-ALL 中均低表达, 可以通过结合 *C-myc* 癌基因的 3'-端调控期转录<sup>[6]</sup>。同时, miR-196b/miR-1290 能通过调节 ALL 中胰岛素样生长因子结合蛋白-3 的表达, 参与白藜芦醇的抗肿瘤作用<sup>[7]</sup>。在融合基因型 t(2:11)(p21:q23) 白血病和 t(11:14)(q24:q32) B-ALL 中 miR-125b 高表达, 与白血病的发生紧密相关<sup>[8]</sup>。结合临床分析发现, miR-125b 与儿童 ALL 的德国柏林法兰克福蒙特化疗方案的不良疗效相关<sup>[9]</sup>。miR-16 在生存期长的患者组表达, 高于生存期短的患者组, 可作为 T-ALL 的候选预后指示靶标<sup>[10]</sup>。回顾以往研究, 多种 miRNA 参与 ALL 的发病, 影响药物的治疗效果, 甚至与预后相关<sup>[10]</sup>。但还没有针对儿童 B-ALL 初发和复发患者血液中的单核细胞 miRNA 表达谱差异的研究, 而这些差异表达的 miRNA 可能成为临床治疗的靶标分子和判断预后的辅助指标。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采集 3 例初发 B-ALL [初发组 (EX1): EX1 1、EX1 2、EX1 3]、3 例复发 B-ALL 患者 [复发组 (EX2): EX2 1、EX2 2、EX2 3] 及 3 例无血液疾病的健康儿童 [对照组 (control): control 1 (NS815619)、control 2 (NS706165)、control 3 (NS596963)] 的外周血。ALL 分型采用细胞形态学和免疫表型诊断。诊断标准满足骨髓中原始/幼稚淋巴细胞比例  $\geq 20\%$ , 疾病分型参照 WHO 2016 版分类标准, 免疫分型采用多参数流式细胞术。形态学: 细胞大小不一, 胞浆量少, 核浆比较高; 胞浆呈蓝色, 可见空泡; 核呈圆形或不规则形, 偶见切迹及凹陷; 染色质细致-粗超; 可见核仁 1~3 个。标志物: CD19<sup>+</sup>、人类白细胞抗原-DR (HLA-DR)<sup>+</sup>、末端脱氧核苷酸转移酶 (TdT)<sup>+</sup>、cCD79a<sup>+</sup>。复发诊断标准: ①骨髓原始淋巴细胞+幼稚淋巴细胞  $>5\% \sim <20\%$ , 经过抗白血病治疗 1 个疗程仍未达到骨髓完全缓解者; ②骨髓原始淋巴细胞+幼稚淋巴细胞  $>20\%$  者; ③髓外白血病细胞浸润者; 有其中三者之一视为复发。

### 1.2 方法

**1.2.1 分离细胞** 3 ml EDTA 抗凝血中加入等体积 Ficoll 分离液 (德国 Sigma 公司, 10771), 1 400 r/min 离心 20 min, 取上、中层界面的单个核细胞层, 用 D-Hank's 液 (北京百奥莱博科技有限公司, SJ0724) 洗涤、1 050 r/min 离心 5 min, 重复 1 次, 取部分细胞重悬于生理盐水中检测细胞数及红细胞的分离效果。剩余部分加入 Trizol [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 15596-026] 混匀后保存于超低温冰箱备用。

**1.2.2 核酸提取及建库** 通过 Trizol 裂解细胞, 采用酚/氯仿抽提分离 DNA 和 RNA, 吸取水相层与异丙醇混匀沉淀 RNA, 75% 乙醇洗涤 2 次获得细胞总 RNA。琼脂糖电泳分析 RNA 降解程度, Nanodrop [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司] 检测 OD260/OD280 比值。使用 Small RNA Sample pre Kit (中国北京 Illumina 有限公司, RS200-0012) 构建文库, Qubit [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司] 定量 RNA 浓度, Agilent 2100 [安捷伦科技 (中国) 有限公司] 精确检测 RNA 完整性, 上机进行 HiSeq 检测。

### 1.3 统计学方法

高通量测序平台下机的原始数据, 结合对测序序列 (reads)、比对 (mapped) 和测序质量的综合分析, 对筛选得到的 sRNA 进行种类和数量分析。其中, 利用 miR Evo-v1.1 分析已知 miRNA 数, 整合 miR Evo-v1.1 和 miR deep2-0-0-5 预测新 miRNA。差异表达分析使用基于负二项分布的 DESeq2<sup>[11]</sup>, 进一步进行 K-means/SOM 聚类分析。利用 miRanda、PITA 和 RNAhybrid 取交集行靶基因预测, 然后通过 GO<sup>[12]</sup> 和 KEGG<sup>[13]</sup> 进行富集分析。Student-*t* 检验计算不同样本间各参数的差异, 针对有生物重复的同一实验组内的样本, 使用 DESeq R package (1.8.3) 对不同组进行差异表达分析。*P* 值使用 Benjamini-Hochberg 方法进行矫正, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各个标本 miRNA 检测结果

对测序获得的原始数据进行筛选并选择长度在 18 ~ 35 nt 的 sRNA, 与 miR Base 数据库中指定范围序列进行比对, 获得匹配上的 sRNA 信息, 包括比对上的 miRNA 成熟体, miRNA 前体, sRNA 种类, sRNA 个数。最终鉴定到的已知 miRNA 成熟体 (mature) 和前体 (hairpin) 及 novel miRNA (新的非同源 miRNA) 成熟体和前体的个数。见表 1。

表 1 鉴定的 miRNA 及预测的相关 miRNA

样本	已知 miRNA 成熟体 (Mapped mature)	已知 miRNA 前体 (Mapped hairpin)	Novel miRNA 成熟体 (Mapped mature)	Novel miRNA 前体 (Mapped hairpin)
总数	1 657	1 334	146	152
初发组 1 (EX1 1)	964	852	47	54
初发组 2 (EX1 2)	1 113	967	69	79
初发组 3 (EX1 3)	1 163	1 005	66	77
复发组 1 (EX2 1)	1 053	933	54	57
复发组 2 (EX2 2)	1 127	994	78	87
复发组 3 (EX2 3)	1 181	1 016	76	87
Control 3 (NS596963)	846	740	39	43
Control 2 (NS706165)	777	723	38	39
Control 1 (NS815619)	735	678	37	41

### 2.2 差异 miRNA 的筛选

B-ALL 疾病组与对照组的 miRNA 表达谱存在差异。统计测序所得 miRNA 表达量 (已知 miRNA 及新 miRNA), 并利用每百万条 reads 的转录本 (transcripts per million, TPM) 进行表达量归一化处理 (公式为: 单一 miRNA reads 数  $\times 10^6$  / 总 reads 数), 来校准 miRNA 的表达量, 根据 TPM 密度分布, 各样本的基因表达模式见图 1A。通过计算 Pearson 相关系数的平方, 反映实验组内独立样本间基因表达水平相关性, 结果显示每组内的 3 个独立样本的相似度较高 (见图 1B)。其中, 对照组的  $R^2 > 0.922$ , 复发组的  $R^2 > 0.886$ , 初发组的  $R^2 > 0.896$  (1.00, 完全相关; 0.70 ~ < 1.00, 高度相关; 0.40 ~ < 0.70 中度相关; 0.10 ~ < 0.40, 低度相关; < 0.10, 微弱或无相关)。

通过差异倍数 (fold change) 和校正后的水平 (校正后 Padj / Qvalue) 评估每组样本之间 miRNA 的表达差异, 筛选出差异的 miRNA, 结果显示 EX1 VS control, 173 miRNA 上调, 193 miRNA 下调, EX2 VS control, 176 miRNA 上调, 201 miRNA 下调, 存在较多差异表达的 miRNA。但是 EX1 vs EX2, 10 miRNA 上调, 10 miRNA 下调, 存在表达差异 (见图 2)。

每个实验组均含有 3 个样本 (初发组、复发组、对照组), 即生物学重复, 所以根据校正后 *P* < 0.05 的条件筛选获得 20 个差异表达的 miRNAs, 其中差异较大的 5 个 miRNA 分别为 has-miR-30a-3p, has-miR-30a-5p, has-miR-30c-2-3p, has-miR-139-5p, has-miR-99b-5p。见表 2。

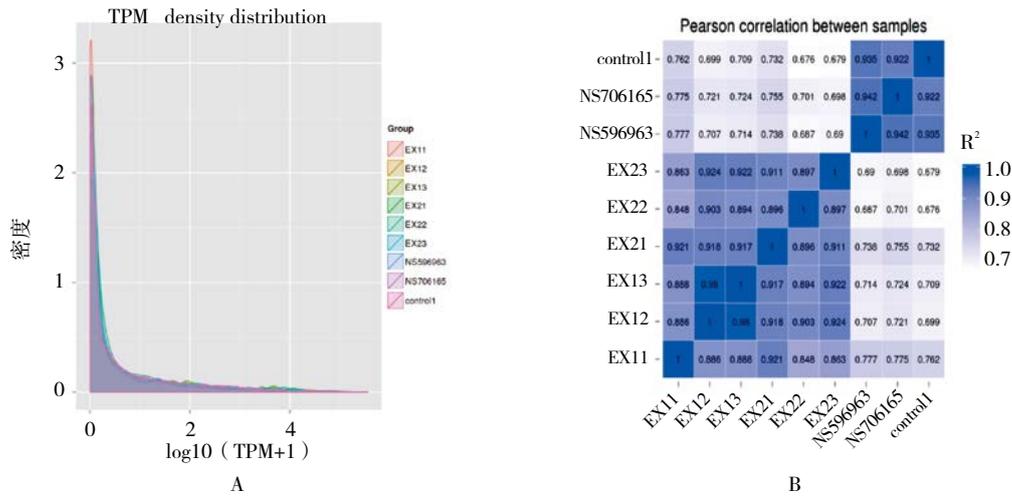
### 2.3 差异 miRNA 分析

利用疾病组和对照组之间的两两比较所得 miRNA 集的并集在每个组 / 样本中的 TPM 值, 进行层次聚类分析 (见图 3A)。将差异 miRNA 进行统计, 绘制差异 miRNA 维恩图, 反映各组样本的 miRNA 差异表达集 (见图 3B)。

### 2.4 靶基因预测及富集分析

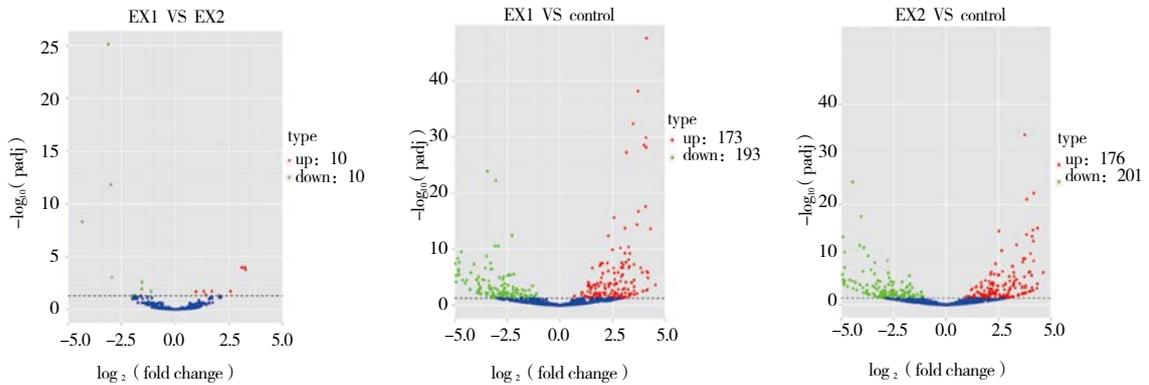
根据基因功能国家标准分类体系, 结合筛选到的差异表达 miRNA 靶基因 (候选靶基因), 获得 Gene Ontology 富集分析结果 (见表 3)。差异表达 miRNA 对应靶基因主要功能集中在细胞质、细胞内组分、蛋白结合、细胞内、细胞质部分。

结合 3 种基本分类 [生物学过程 (BP)、细胞成分 (CC)、分子功能 (MF)], 针对 EX1 VS EX2, 大部分的



A: 横坐标为 miRNA 的 log<sub>10</sub> (TPM+1) 值, 纵坐标为对应 log<sub>10</sub> (TPM+1) 的密度; B: 横坐标与纵坐标分别为为样品的 log<sub>10</sub> (TPM+1)。

图 1 样本 miRNA 表达量 TPM 密度分布及样品间相关性



横坐标代表 miRNA 表达的倍数变化, 纵坐标代表 miRNA 差异有统计学意义的程度, 各个散点代表 miRNA, 蓝色: 差异无统计学意义的 miRNA, 红色: 上调的差异有统计学意义的 miRNA, 绿色: 下调的差异有统计学性意义的 miRNA。

图 2 差异 miRNA 的火山图

表 2 miRNA 表达差异分析结果 (前 5)

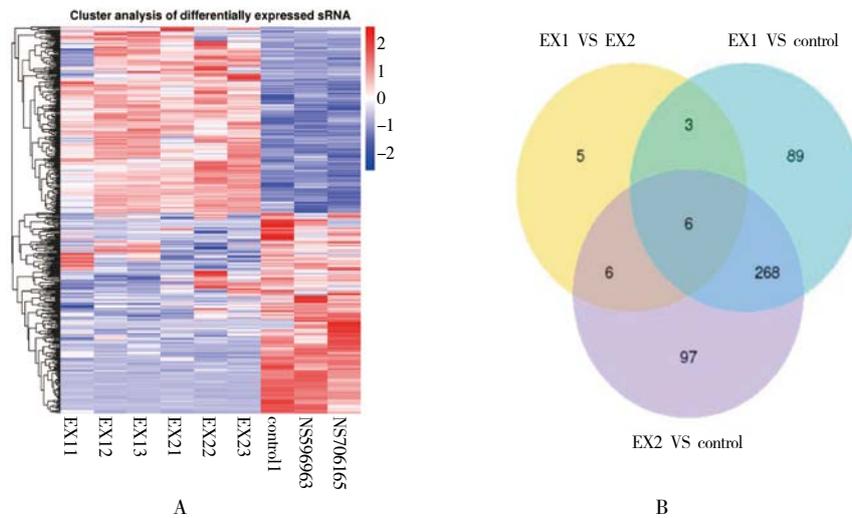
sRNA	EX1 readcount	EX2 readcount	Log2 变化倍数	P 值	校正后的 P 值
has-miR-30a-3p	52.790246	499.766637	-3.1165	1.3095e28	7.4117e-26
has-miR-30a-5p	1 114.982975	10 472.623854	-2.9947	5.3004e15	1.5e-12
has-miR-30c-2-3p	1.2679210	109.840907	-4.3355	2.5493e11	4.8096e-09
has-miR-139-5p	546.558824	22.454908	3.2442	9.0356e07	1.0228e-4
has-miR-99b-5p	4 053.329157	234.223653	3.1013	7.6603e07	1.0228e-4

注: sRNA (small RNA) 为小 RNA; readcounts 为测序反应中出现的数量。

候选靶基因功能为 CC, 少数为 BP 和 MF (见图 4)。

根据 KEGG 公共数据库, 基于复发组和初发组差异表达 miRNA 对应的候选基因, 富集的 Pathway 前 4

名包括糖代谢、AMPK 信号通路、甘氨酸 / 丝氨酸 / 苏氨酸代谢、mTOR 信号通路, 但校正后的 P 值差异无统计学意义 (见表 4)。

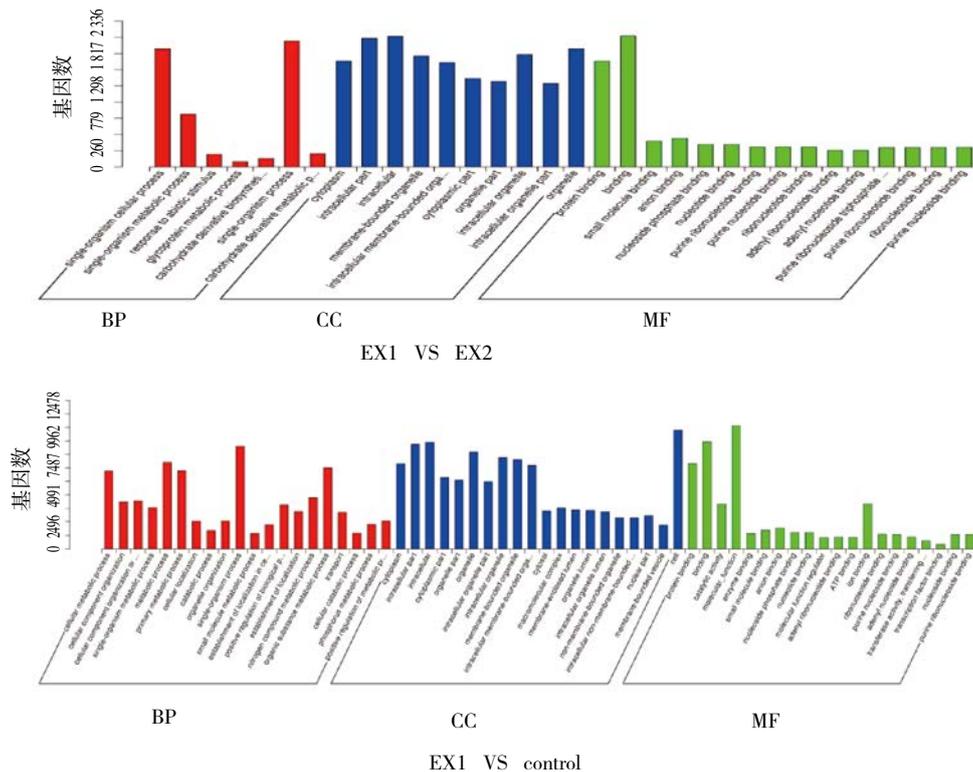


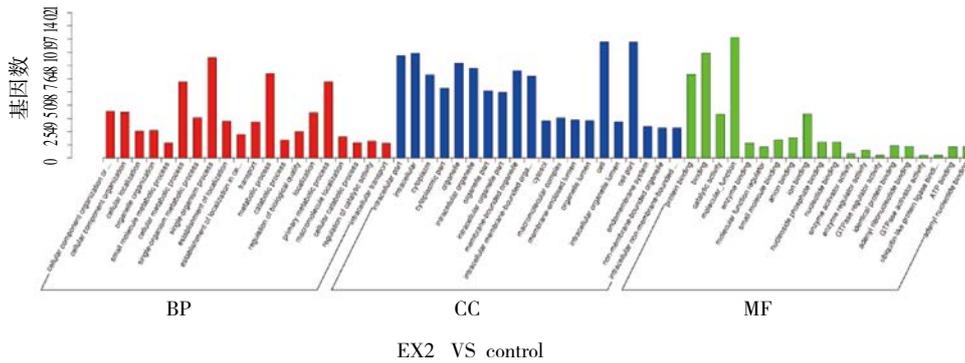
A: 红色表示高表达 miRNA, 蓝色表示低表达 miRNA; B: 大圈代表该比较组合的差异 miRNA 总个数, 交集的部分表示组合之间共有的差异 miRNA 个数。

图 3 差异表达 miRNA 集及其聚类分析

表 3 样品中候选靶基因的 Gene Ontology 富集列表 (前 5)

GO 检索号	描述	类别	富集分析统计学显著水平	校正后的 P 值
GO : 0005737	细胞质	细胞成分	6.8749e-47	1.4596e-42
GO : 0044424	细胞内组分	细胞成分	5.8918e-46	6.2545e-42
GO : 0005515	蛋白结合	分子功能	3.9017e-45	2.7612e-41
GO : 0005622	细胞内	细胞成分	2.1021e-44	1.1157e-40
GO : 0044444	细胞质部分	细胞成分	9.7178e-37	4.1264e-33





纵坐标为注释到该 term 下的候选靶基因个数及占被注释上的候选靶基因总数的比例

图 4 候选靶基因 GO 富集柱状图

表 4 候选靶基因 KEGG 显著性富集列表 (前 4)

类别	ID	基因数	背景基因数	P 值	校正后 P 值
糖代谢	Hsa00051	14	32	0.001	0.3407
AMPK 信号通路	Hsa04152	25	104	0.019	0.8947
甘氨酸 / 丝氨酸 / 苏氨酸代谢	Hsa00260	12	40	0.027	0.8947
mTOR 信号通路	Hsa04150	16	60	0.027	0.8947

### 3 讨论

ALL 疾病的发生是多种遗传学与分子生物学异常的综合结果,目前其临床治疗以化疗为主,儿童 ALL 治疗缓解率较高。但是一旦出现复发,患儿的治疗效果会明显降低,甚至死亡。另外,研究发现 miRNA 参与包括 DNA 修复、病毒防御、发育、造血过程、细胞增殖、细胞凋亡等很多生物过程,研究 ALL 发病中 miRNA 的作用机制具有重要意义。miRNA 可以为 ALL 分型提供参考,有研究组通过对比 T-ALL 和 B-ALL 的 miRNA 表达情况,筛选获得不同型急性淋巴细胞白血病的差异表达 miRNA<sup>[14]</sup>。同时,有研究提出可将 miRNA 作为区分判断急性髓系白血病和 ALL 的参考因素<sup>[15]</sup>。针对 B-ALL,还有研究专门针对儿童发病人群,筛选到发病预测分子靶标 (miR-326)。本研究通过对比复发和初发患者 miRNA 表达谱,分析 miRNA 在复发的 ALL 病例中的差异变化,发现 20 个差异表达的 miRNA,可能为筛选今后区分复发和初发 ALL 患者的靶标提供参考,为白血病发病机制研究提供新思路。

除此以外,miRNA 与 ALL 的疾病发展和临床治疗密切相关。在动物模型中,共表达 miR-125b 和 Bcr/Abl 融合基因能使小鼠患白血病<sup>[8]</sup>,提示 miRNA

直接参与了白血病的发病。通过统计分析 397 例 ALL 儿童患者不同药物的化疗效果和其 miRNA 表达情况,发现 miRNA 与药物疗效之间密切关联<sup>[16]</sup>。本研究发现,复发患者和初发患者差异表达的 5 个 miRNAs: has-miR-30a-3p, has-miR-30a-5p, has-miR-30c-2-3p, has-miR-139-5p, has-miR-99b-5p。其中,miR-30a 被证实在 ALL 中和 MYC 及 MYBL2 癌基因的调控相关<sup>[17-18]</sup>。miR-30a-5p 在乳腺癌、肠癌和非小细胞肺癌中的异常表达,影响癌症的发展和治疗效果<sup>[19-22]</sup>,提示 miR-30a 可以作为肿瘤治疗的候选靶点。miR-139-5p 在髓系白血病和 T-ALL 中表达受到抑制,可能作为肿瘤候选治疗靶点<sup>[23-25]</sup>。并且 miR-30a 和 miR-139-5p 均在肿瘤中参与 P53 信号的调控<sup>[23, 26]</sup>。本研究结果显示, B-ALL 复发组与初发组中 miR-30a 和 miR-139-5p 的差异表达,提示复发 B-ALL 中 P53 信号通路可能发挥重要作用。has-miR-30c-2-3p 和 has-miR-99b-5p 与白血病相关的研究报道较少,有研究发现慢性粒细胞白血病中检测到 miR-99b 下调,在 1 项筛选白血病相关的研究中发现髓系白血病中 miR-30c 下调<sup>[26-27]</sup>。结合本研究结果中 miR-30c 和 miR-99b 表达量在初发和复发组之间发生改变,提示其可能在 B-ALL 复发期间分别发挥抑制或促进作用。

差异表达的 miRNA 候选靶基因在疾病组与正常对照组和复发组与初发组间的富集结果存在差异, 值得注意的是, 复发组与初发组间候选靶基因 GO 富集结果提示大部分基因属于细胞成分分类。提示复发与初发期比较, 包括细胞质、细胞内、细胞表面蛋白结合等细胞结构可能发生变化。同时, 糖代谢异常是影响白血病预后的因素之一, 本研究中复发组与初发组间的差异预示糖代谢在复发过程中发挥促进作用<sup>[28]</sup>。结合 LKBI-AMPK-mTOR 信号通路在调节细胞代谢、生长、增殖和凋亡中发挥重要作用的前期研究结论<sup>[29]</sup>, 即使矫正  $P > 0.05$ , 但其调控 miRNA 变化倍数大于 2, 可推测其参与 B-ALL 的复发, 但具体的调控作用, 需进一步的研究。总的来说, 对复发 B-ALL 与初发 B-ALL 的区别研究, 将为更准确地探讨 ALL 发病机制提供思路, 筛选其差异表达 miRNA 谱从 miRNA 水平为 B-ALL 的研究提供了数据基础。

#### 参 考 文 献:

- [1] ULTIMO S, MARTELLI A M, ZAULI G, et al. Roles and clinical implications of microRNAs in acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(8): 5642-5654.
- [2] HUNG T, WANG Y L, LIN M F, et al. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(7): 621-629.
- [3] KLOOS R Q H, PIETERS R, van DEN BOS C, et al. The effect of asparaginase therapy on methotrexate toxicity and efficacy in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 2019, 60(12): 1-9.
- [4] PELLAND MARCOTTE M C, HWEE J, POLE J D, et al. Incidence of infections after therapy completion in children with acute lymphoblastic leukemia or acute myeloid leukemia: a systematic review of the literature[J]. *Leuk Lymphoma*, 2019, 60(9): 1-11.
- [5] TIAN L J, CAO J H, JI Q, et al. The downregulation of miR-3173 in B-cell acute lymphoblastic leukaemia promotes cell invasion via PTK2[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(3/4): 569-574.
- [6] BHATIA S, KAUL D, VARMA N. Functional genomics of tumor suppressor miR-196b in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 346(1/2): 103-116.
- [7] ZHOU W, WANG S Q, YING Y, et al. miR-196b/miR-1290 participate in the antitumor effect of resveratrol via regulation of IGFBP3 expression in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2): 1075-1083.
- [8] BOUSQUET M, HARRIS M H, ZHOU B, et al. MicroRNA miR-125b causes leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(50): 21558-21563.
- [9] PIATOPOULOU D, AVGERIS M, MARMARINOS A, et al. miR-125b predicts childhood acute lymphoblastic leukaemia poor response to BFM chemotherapy treatment[J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(6): 801-812.
- [10] XI Y F, LI J, ZAN L K, et al. Micro-RNA-16 expression in paraffin-embedded specimen correlates with overall survival of T-lymphoblastic lymphoma/leukemia[J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(6): 1011-1016.
- [11] LOVE M I, HUBER W, ANDERS S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 550.
- [12] CHEN C M, LU Y L, SIO C P, et al. Gene ontology based housekeeping gene selection for RNA-seq normalization[J]. *Methods*, 2014, 67(3): 354-363.
- [13] KANEHISA M, ARAKI M, GOTO S, et al. KEGG for linking genomes to life and the environment[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Database issue): D480-484.
- [14] FULCI V, COLOMBO T, CHIARETTI S, et al. Characterization of B- and T-lineage acute lymphoblastic leukemia by integrated analysis of microRNA and mRNA expression profiles[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009, 48(12): 1069-1082.
- [15] de LEEUW D C, van DEN ANCKER W, DENKERS F, et al. MicroRNA profiling can classify acute leukemias of ambiguous lineage as either acute myeloid leukemia or acute lymphoid leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(8): 2187-2196.
- [16] SCHOTTE D, de MENEZES R X, AKBARI MOQADAM F, et al. MicroRNA characterize genetic diversity and drug resistance in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2011, 96(5): 703-711.
- [17] FUSTER O, LLOP M, DOLZ S, et al. Adverse prognostic value of MYBL2 overexpression and association with microRNA-30 family in acute myeloid leukemia patients[J]. *Leuk Res*, 2013, 37(12): 1690-1696.
- [18] ORTEGA M, BHATNAGAR H, LIN A P, et al. A microRNA-mediated regulatory loop modulates NOTCH and MYC oncogenic signals in B- and T-cell malignancies[J]. *Leukemia*, 2015, 29(4): 968-976.
- [19] DI GENNARO A, DAMIANO V, BRISOTTO G, et al. A p53/miR-30a/ZEB2 axis controls triple negative breast cancer aggressiveness[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(12): 2165-2180.
- [20] ZHANG R, WANG Z, YU Q, et al. Atractylenolide II reverses the influence of lncRNA XIST/miR-30a-5p/ROR1 axis on chemoresistance of colorectal cancer cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3151-3165.
- [21] ZHU J J, ZENG Y Y, LI W, et al. CD73/NT5E is a target of miR-30a-5p and plays an important role in the pathogenesis of non-small cell lung cancer[J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 34.
- [22] PARK D, KIM H, KIM Y, et al. miR-30a regulates the expression of CAGE and p53 and regulates the response to anti-cancer drugs[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(4): 299-309.
- [23] QIN L, DENG H Y, CHEN S J, et al. miR-139 acts as a tumor suppressor in T-cell acute lymphoblastic leukemia by targeting

- CX chemokine receptor 4[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9): 4059-4070.
- [24] EMMRICH S, ENGELAND F, EL-KHATIB M, et al. miR-139-5p controls translation in myeloid leukemia through EIF4G2[J]. *Oncogene*, 2016, 35(14): 1822-1831.
- [25] ZHANG R H, TANG P, WANG F, et al. Tumor suppressor miR-139-5p targets Tspan3 and regulates the progression of acute myeloid leukemia through the PI3K/Akt pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 4423-4432.
- [26] YAP E, NORZIHA Z A, SIMBUN A, et al. MicroRNAs that affect the fanconi anemia/BRCA pathway are downregulated in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients without detectable BCR-ABL kinase domain mutations[J]. *Leuk Res*, 2017, 8(59): 32-40.
- [27] RUSS A C, SANDER S, LUCK S C, et al. Integrative nucleophosmin mutation-associated microRNA and gene expression pattern analysis identifies novel microRNA - target gene interactions in acute myeloid leukemia[J]. *Haematologica*, 2011, 96(12): 1783-1791.
- [28] SISK A P J, van DER WINDT G J, KISHTON R J, et al. Suppression of glut1 and glucose metabolism by decreased Akt/mTORC1 signaling drives T cell impairment in B cell leukemia[J]. *J Immunol*, 2016, 197(6): 2532-2540.
- [29] VARA-CIRUELOS D, DANDAPANI M, RUSSELL F M, et al. Phenformin, but not metformin, delays development of T cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma via cell-autonomous AMPK activation[J]. *Cell Rep*, 2019, 27(3): 690-698.

(王荣兵 编辑)

本文引用格式：邱丽娟，世淑兰，蒲刚玲，等. 初发与复发急性 B 淋巴细胞白血病患者单核细胞 microRNA 表达谱分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(15): 13-20.