

转录因子PU.1的最新研究进展

谭茗 李雯 孙婴宁*

(齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 齐齐哈尔 161006)

摘要 PU.1是ETS转录因子家族(E26 transformation-specific family)的成员,在机体多种组织发育中发挥重要作用。近年来的研究发现,PU.1不仅在造血谱系的确定和分化中起作用,而且还在机体免疫、脂肪形成、组织纤维化、神经发育中发挥功能。在造血及免疫等系统中,PU.1与多个靶基因形成复杂的调节网络,并且PU.1受组蛋白修饰和非编码RNA等表观遗传的调控,参与细胞增殖、分化等多个过程,对维持细胞稳态具有一定意义。PU.1与红细胞白血病、前B细胞急性淋巴细胞白血病、急性髓细胞白血病、过敏性疾病、类风湿性关节炎、肥胖相关疾病、骨硬病、神经胶质瘤等疾病的发生相关。该文从功能方面阐述PU.1的最新研究进展,为该基因和ETS家族的后续研究提供新思路。

关键词 PU.1; 造血系统; 急性髓细胞白血病; 免疫系统; 脂肪形成

Recent Research Progress of Transcription Factor PU.1

TAN Ming, LI Wen, SUN Yingning*

(College of Life Science and Agriculture Forestry, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

Abstract Transcription factor PU.1 is one of the members of the ETS transcription factor family (E26 transformation-specific family), which plays crucial roles in diverse arrays of various systems in the organism. The research in recent years has found that PU.1 not only plays a role in the determination and differentiation of hematopoietic lineages, but also functions in body immunity, adipogenesis, tissue fibrosis, and neurodevelopment. PU.1 and multiple target genes form a complex regulatory network in hematopoietic and immune system, and PU.1 is regulated by histone modification and epigenetics such as non-coding RNA. PU.1 participates in multiple processes such as cell proliferation and differentiation, which has certain significance for maintaining cell homeostasis. In addition, PU.1 is associated with the occurrence of erythrocyte leukemia, pre-B cell acute lymphocytic leukemia, acute myeloid leukemia, allergic disease, rheumatoid arthritis, obesity-related diseases, osteopetrosis, glioma and other diseases. This review summarizes the latest research progress of PU.1 from the functional aspect, hoping to provide new ideas for the follow-up research of PU.1 and ETS family.

Keywords PU.1; hematopoietic system; acute myeloid leukemia; immune system; adipogenesis

1988年, MOREAU-GACHELIN等^[1]首次在脾病灶形成病毒(spleen focus forming virus, SFFV)诱导的小鼠急性红白血病中发现了一种原癌基因,命名

为脾病灶形成病毒前病毒整合癌基因-1/富含嘌呤盒1(spleen focus forming virus proviral integration oncogene, spi-1/purine rich box-1, PU.1)。PU.1属于 ETS

收稿日期: 2020-08-12 接受日期: 2020-11-18

国家自然科学基金(批准号: 31402061)、黑龙江省自然科学基金(批准号: YQ2019C025)和黑龙江省教育厅基本业务专项(批准号: 135209261)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13796882551, E-mail: SunYN@qqhru.edu.cn

Received: August 12, 2020 Accepted: November 18, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31402061), the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (Grant No.YQ2019C025), and the Heilongjiang Provincial Department of Education Basic Business Special Special (Grant No.135209261)

*Corresponding author. Tel: +86-13796882551, E-mail: SunYN@qqhru.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5449>

转录因子家族,该家族在人体中被发现有29个成员,小鼠中20个,果蝇中9个^[2]。ETS家族成员在多种人体组织中普遍表达,各成员发挥的生物学功能不同,除了都具有高度保守的ETS结构域外,成员之间没有广泛的序列同源性^[3]。PU.1能与富含嘌呤GGAA的PU box特异性结合,对下游基因的转录起调控作用^[4]。PU.1是造血谱系发育过程中的重要调节因子,它的异常表达会引起急性髓细胞白血病的发生^[5],在小鼠中完全敲除*PU.1*,胚胎造血功能和淋巴细胞的发育会遭到严重破坏,导致小鼠胚胎死亡^[6]。目前,已鉴定出PU.1在造血及免疫系统发育方面的多个靶基因,并且发现PU.1受组蛋白修饰^[7-13]和非编码RNA^[14-19]等表观遗传的调控。此外,*PU.1*还参与脂肪组织发育^[20-23]、成纤维细胞^[16,24-25]和破骨细胞形成^[10,12],是多种白血病、特应性皮炎、哮喘、过敏性疾病、实验性自身免疫性葡萄膜视网膜炎、类风湿性关节炎、II型糖尿病、非酒精性脂肪肝炎、骨硬病、纤维化疾病和神经胶质瘤、阿尔茨海默病等疾病的相关基因。本文主要介绍*PU.1*在造血、免疫、脂肪形成、破骨细胞发育、成纤维细胞极化和神经胶质瘤的发生等方面的最新研究进展,为该基因的深入研究提供新的思路。转录因子PU.1在多种组织和细胞中都发挥重要作用,但是它的很多功能和作用机制都不明确,亟需更多研究来揭示其在各组织中的功能,完善相关疾病的发生机制,为疾病治疗提供新的切入点。

1 *PU.1*基因概述

人类(*Homo sapiens*)*PU.1*基因(NM_001080547.1)位于11号染色体上,编码272个氨基酸。小鼠(*Mus musculus*)*PU.1*基因(NM_011355.2)位于2号染色体,编码272个氨基酸,人和小鼠*PU.1*基因的同源性约为85%^[26]。转录因子PU.1有3个功能域:在氨基端的反式激活区(transactivation domain, TAD)、PEST[proline (P), glutamic acid (E), serine (S) and threonine (T)]区和羧基端的ETS(E26 transformation-specific)区^[4](图1)。

其中TAD区是谷氨酰胺的富集区,介导PU.1与不同调节蛋白发生互作,如视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, RB)、糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)和热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)等,另外TAD区还可以募集染色质重塑复合物SWI/SNF,是PU.1控制造血谱系发育过程的关键区域^[27]。PEST区带负电荷,可有效维持PU.1蛋白稳定性,富含Pro、Glu、Ser和Thr几种氨基酸,干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)可与此区结合^[28-29]。而ETS区是PU.1的DNA结合功能域,介导PU.1核运输,并在结构上高度保守,ETS区通过静电作用识别DNA形成二聚体构象,表现为翼状螺旋-环-螺旋模式^[28,30]。

2 *PU.1*基因功能

2.1 *PU.1*与造血系统发育

转录因子PU.1是造血系统中重要的调节因子之一,可促进或抑制多种造血谱系的分化。造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)具有长期的自我更新和向多种谱系分化的功能,受转录因子的调节可以分化为髓系祖细胞、淋巴样祖细胞和类红细胞祖细胞^[32]。研究证实,PU.1在这三种细胞的分化过程中都发挥作用。

2.1.1 *PU.1*调节红细胞增殖和分化 早期研究发现,*PU.1*是红系细胞中的癌基因,在类红细胞中异位高表达的PU.1会促进红细胞增殖、抑制红细胞分化,从而高频率诱发鼠红细胞白血病(mouse erythroleukemia, MEL)^[33]。2019年,PIRES等^[34]研究转录因子对细胞命运作用时发现,PU.1是造血系统内细胞谱系发展的指导者,GATA结合蛋白-1(GATA-binding protein-1, GATA-1)则是促进者,但是调控PU.1的上游转录因子被报道的较少。在HSC中发现,PU.1与GATA-1相互作用并抑制GATA-1发挥功能,引导祖细胞进入髓系发育,抑制类红细胞转录程序;而过表达GATA-1则促进祖细胞转化为巨核细胞和红细胞^[35]。PU.1不仅与GATA-1互作对其转录活性产生影响,而且还可以招

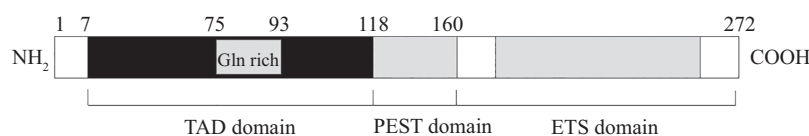


图1 *PU.1*的结构域(根据参考文献[31]修改)

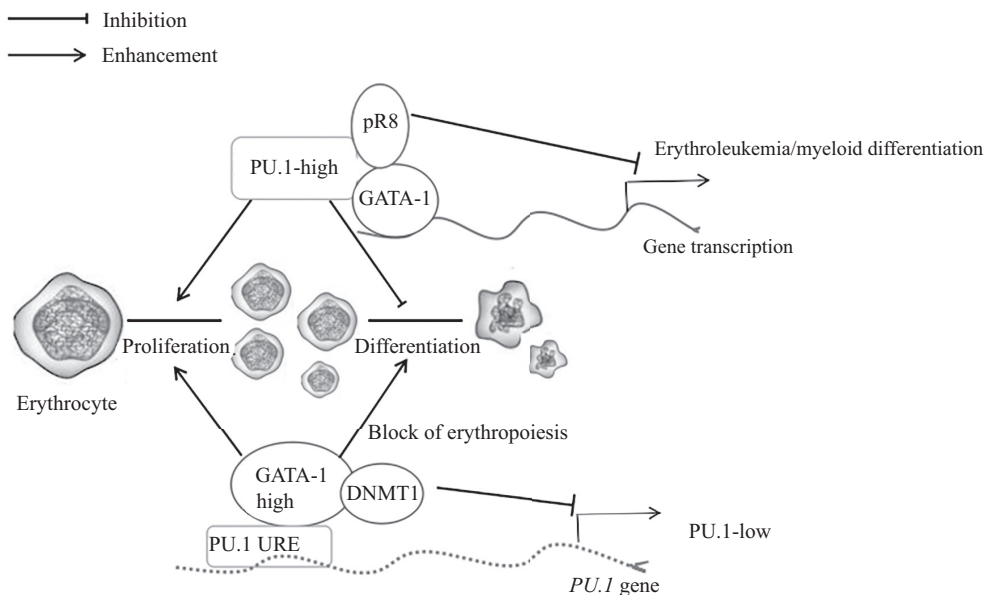
Fig.1 The domains of *PU.1* (modified from the reference [31])

募转录共调节因子视网膜母细胞瘤蛋白 (retinoblastoma protein, pRB)抑制 *GATA-1*靶基因的转录(图2)^[36]。研究发现, *GATA-1*还可以抑制*PU.1*的转录, *GATA-1*与*PU.1*上游调控元件 (upstream regulatory element, URE)区结合, 并招募DNA甲基转移酶 I(DNA methyltransferase 1, DNMT1)到URE区使其甲基化抑制*PU.1*的转录, 过表达*GATA-1*后*PU.1*的组蛋白H3第9位赖氨酸三甲基化(histone H3K9 trimethylation, H3K9me3)和乙酰化均降低^[9]。在红细胞白血病(erythroleukemia, EL)细胞系中过表达*PU.1*可上调酪氨酸激酶2(janus kinase 2, *JAK2*)、*c-MYC*(the proto-oncogene c-myc encodes a transcription factor)等基因的转录, 促进EL细胞增殖, 并激活PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)/AKT(protein kinase B)信号通路^[37]。用二甲基亚砷处理EL细胞会触发细胞凋亡, 研究人员推测二甲基亚砷是PI3K/AKT信号通路的抑制剂, 过表达*GATA-1*则会阻遏*PU.1*表达、促使EL细胞分化^[33]。综上所述, 在红细胞系中二甲基亚砷是*PU.1*磷酸化抑制剂, *GATA-1*是*PU.1*的转录阻遏物, 可以从这两个方面开发EL治疗的新方案。

2.1.2 *PU.1*参与淋巴祖细胞分化 *PU.1*在淋巴祖细胞的各种血细胞分化中是必需的, 小鼠体内敲除*PU.1*基因会导致敲除鼠缺乏淋巴系细胞^[6]。T细胞

起源于骨髓或造血干细胞, 之后迁移到胸腺, 依次经历DN1、DN2a/b、DN3a/b和DN4(CD4 CD8 double negative, DN) 4个阶段发育为成熟T细胞, 在这过程中Notch信号转导是必需的^[38-39]。*PU.1*在DN1期高表达, 但当T细胞开始谱系定型(DN2a-DN2b阶段)则急剧下降, 因为*PU.1*的持续表达会间接中断Notch信号转导(图3)^[38]。*PU.1*在DN3期沉默, CHAMPHEKAR等^[40]的实验也验证了这一点, *PU.1*的存在会延长DN2阶段使细胞的增殖能力变强, 间接延缓T细胞分化程序的开启。2019年, ROTHENBERG等^[41]对T细胞发育过程中*PU.1*的靶基因进行高通量分析, 结果显示在T细胞发育的早期阶段, 其靶基因的细胞生物学和信号传导潜能发生了深远的变化。结合上述研究, 可以推测*PU.1*对T细胞的前期增殖和后期分化有重要作用。

*PU.1*对B细胞的成熟起关键作用, 过表达*PU.1*促进pro-B细胞增殖(图3), 但敲低*PU.1*仅轻度影响B细胞的发育。其原因是在前B细胞中, *Spi-B*与*PU.1*共表达, 它和*PU.1*在生物学上功能互补, 且在B细胞基因组发育和活化相关的区域相互作用, 这种补偿机制缓解了敲除*PU.1*对B细胞发育带来的影响^[17]。BATISTA等^[42]构建的*PU.1/Spi-B*双缺陷小鼠B细胞增殖和分化都受到严重影响, 并高频率诱发前B细



GATA-1招募DNMT1到*PU.1* URE区使其甲基化抑制*PU.1*转录; *PU.1*促进红细胞增殖抑制其分化, 招募pR8抑制*GATA-1*靶基因转录。GATA-1 recruited DNMT1 to *PU.1* URE region to inhibit *PU.1* transcription by methylation; *PU.1* promoted erythrocyte proliferation and inhibited its differentiation, and recruited pR8 to inhibit *GATA-1* target gene transcription.

图2 *PU.1*和*GATA-1*在红细胞中相互抑制的分子机制(根据参考文献[9,38]修改)

Fig.2 Molecular mechanism of *PU.1* and *GATA-1* inhibiting each other in erythrocyte (modified from the references [9,38])

胞急性淋巴细胞白血病 (precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia, pre-B-ALL) 的产生。研究显示, PU.1/Spi-B 双缺陷小鼠 B 细胞中的抑癌基因 B 细胞连接蛋白 (B cell linker protein, *BLNK*) 转录水平下降, 染色质免疫共沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 法分析显示, *BLNK* 是 PU.1 和 Spi-B 调节 B 细胞分化的重要靶标之一^[43], 因此, 这一发现明确了 PU.1 和 Spi-B 在 B 细胞中抑制肿瘤的作用机制。2019 年, 对 30 位急性淋巴白血病患者进行检测发现, *PU.1* 基因表达显著下调^[44], 针对人急性淋巴白血病患者全基因组分析显示, 有一小部分患者中的 *PU.1* 发生突变^[45], 但是 *PU.1* 的突变是不是导致这些患者发病的原因还存在争议, 总的来说, *PU.1* 作为淋巴细胞中的抑癌基因, 可能会成为治疗淋巴系白血病新靶点。在 Large pre-B 向 Small pre-B 细胞发育过程中, PU.1 还参与 *Ig* 基因 (immunoglobulin gene) 重排, 过表达 PU.1 会诱导 *Igk* 重排, 并且研究发现, PU.1 与 *Igk* 基因座中的 179 个位点相互作用^[17]。2019 年, SOODGUPTA 等^[46] 研究当前 B 细胞进入分化阶段, RAG 介导 DNA 断裂后通过 SPIC 竞争 PU.1 与下游靶基因的 DNA 结合位点, 暂时地降低 PU.1 转录活性, 达到促进前 B 细胞成熟的目的 (图 3)。完成前 B 细胞的过渡后, 这种竞争机制解除, *PU.1* 的转录活性重新升高, 从而发挥维持成熟 B 细胞稳态的作用。WILLIS 等^[47] 研究发现, PU.1/Spi-B DKO 鼠的卵泡 B 细胞数量减少, 对外界刺激不敏感, 但 DKO 鼠的 B 细胞比对照组分化程度高。在进一步探索 PU.1 调控 B 细胞发育的分子机制时, 研究发现 PU.1 与 IRF 家族中的 IRF4、IRF8 分别构成复合物, 其中 PU.1 和 IRF8 复合物抑制免疫球蛋白的类别转换和浆细胞分化, 而且 PU.1/IRF4 或 PU.1/IRF8 的双缺陷小鼠同样会使 B 细胞发育严重缺陷并高频率诱发 pre-B-ALL^[48-49]。综上所述, 单独敲除 *PU.1* 或 *IRF8* 都不能引发 pre-B-ALL, 提示 PU.1 在调控 B 细胞发育过程中, 需要与其他转录因子形成复合物共同发挥功能。目前, 已经开展了大量关于 PU.1 在前期 B 细胞中的功能研究, *PU.1* 在成熟 B 细胞中同样高表达, 然而该基因在成熟 B 细胞中的功能知之甚少, 有必要开展深入的研究。

2.1.3 PU.1 调节巨噬细胞发育和成熟巨噬细胞功能 在髓系细胞中, PU.1 结合粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子受体 α (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor type alpha, *GM-CSFR α*)、

巨噬细胞集落刺激因子 (monocyte colony-stimulating factor, *M-CSF*) 受体的启动子, 调控这些基因的表达, 增加各种血细胞中的配体反应, 并且控制免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G, *IgG*) 受体的表达, 使巨噬细胞能够识别抗原^[50-51]。PU.1 在巨噬细胞发育过程中是必不可少的, 它作为巨噬细胞的主转录因子能够结合大量特异性增强子, 研究人员通过 ChIP 法鉴定了 1 000 余种 PU.1 潜在的靶基因^[52-53]。尤其在不同的巨噬细胞中, PU.1 特异性选择增强子, 并且 PU.1 与一些转录因子如 CCAAT 增强子结合蛋白 α (CCAAT enhancer-binding protein alpha, C/EBP α)、Runt 相关转录因子 1 (Runt-related factor 1, RUNX1) 等相互作用可以增加 PU.1 与增强子的结合, 造成不同组织中巨噬细胞群的差异性^[54]。PU.1 在肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 中特异性结合叶酸受体 β (folate receptor β , *FR β*) 近端增强子, 调节 FOLR2 的表达^[55]。根据 JARJOUR 等^[56] 的报道, 螺旋-环-螺旋家族成员 e40 (basic helix-loop-helix family member e40, Bhlhe40) 可调节腹膜巨噬细胞 (large peritoneal macrophage, LPM) 的增殖, 在 LPM 中与 PU.1 的结合位点重合, 推测 Bhlhe40 和 PU.1 可能存在相互作用。目前还证实 c-Jun (the proto-oncogene *c-jun* encodes a transcription factor) 和 PU.1 在巨噬细胞中相互作用, 两者互作结合到 Lipocalin 型前列腺素 D2 合成酶 (lipocalin-prostaglandin D synthase, *L-PGDS*) 启动子上, 调节 *L-PGDS* 在巨噬细胞中特异性表达^[57]。PU.1 不仅通过与其他因子互作调控巨噬细胞分化, 还通过调控 lnc-MC (long noncoding monocytic RNA) 与 miR-199a-5p 靶向结合促进巨噬细胞的分化^[58]。在成熟巨噬细胞中 PU.1 主要与炎症因子相关, 此时 PU.1 对于成熟巨噬细胞不再是必需的。在选择性活化的巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, AAM) 体外研究中, 降低 PU.1 表达后 AAM 极化的标志物 Ym-1 和 Fizz-1 的表达同样降低。小鼠体内 AAM 极化导致哮喘、气道炎症时, PU.1、Ym-1、Fizz-1 的表达升高, 而 PU.1 组织缺陷型小鼠出现极化标志物水平降低、气道炎症减弱^[59]。PU.1 对于肺巨噬细胞的作用也主要在于诱导炎症发生, 野生型和 PU.1 组织缺陷型小鼠相比, PU.1 组织缺陷型小鼠肺炎、全身炎症症状减轻, Toll 样受体 (Toll-like receptor 4, TLR4)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、单核细胞炎性蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1,

MCP-1)、肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)等的表达降低^[60]。综上所述, PU.1通过结合增强子、调节 lncRNA 和 miRNA、与协同因子相互作用来调控巨噬细胞的发育, 在成熟巨噬细胞中 PU.1 与炎症因子相关, 抑制 PU.1 表达对治疗哮喘、肺炎有显著效果。目前, 虽然了解到 PU.1 在巨噬细胞分化过程中发挥作用, 但是作为巨噬细胞的主转录因子, PU.1 有许多潜在下游靶基因仍未被证实, 在不同组织巨噬细胞中其特异调控的因子仍需继续探索。

2019年, TAKEI等^[61]发现 PU.1 表达的下调会引起急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML), 同年 BOASMAN等^[5]的团队发现, 降低 PU.1 表达引起骨髓增生异常综合征, 提示 PU.1 下调是髓系白血病的触发因素。检测 79 位 AML 患者样本发现, *PU.1*、miR-22 表达显著下调且表达呈正相关, 而逆转录病毒结合位点 1(ecotropic viral integration site 1, *EVII*)表达显著上调且与 PU.1、miR-22 负相关^[62]。之前有报道表明, *EVII* 与 GATA 结合蛋白-2(GATA-binding protein-2, GATA-2)相互作用会破坏 PU.1-cJun 复合物, 后续发现 PU.1 可以直接激活 *miR-22* 的表达、抑制 *EVII* 的表达, 有效治疗 AML 患者^[62]。另外, 少数 AML 患者中 *PU.1* 基因的 3 个功能域都存在突变情况, PU.1 功能的丧失直接影响 AML 患者的细胞分化^[63]。本文作者认为, PU.1 在造血干细胞向髓系祖细胞的分化过程中至关重要, 参与机体免疫系统的

形成, 并且 *PU.1* 表达失调会导致不同类型的白血病发生, 该基因是上述几种白血病发病的关键因素之一, 今后可以开展以 PU.1 为靶标的治疗方案, 为白血病的临床治疗、预后判断提供新方向。

2.2 PU.1与免疫系统功能

转录因子 PU.1 是免疫系统多种谱系发育所必需的, 其在多种免疫细胞中有表达, 并与许多蛋白结合形成复合物调控下游基因。目前, 通过电泳迁移率变动测定法、ChIP 法已确定有 100 种 PU.1 的下游基因, ChIP-seq 实验表明, PU.1 与数千个基因位点结合^[64], 可以推测 PU.1 在免疫系统中行使主效因子功能, 并可能在多个基因调控网络中起重要作用。PU.1 功能主要通过三种调节途径实现, 分别为调节免疫细胞, 调节相关抗体、受体及补体表达, 调节炎症细胞因子。

2.2.1 PU.1调节免疫细胞发育 PU.1 主要调节免疫系统的抗原呈递细胞-树突状细胞(dendritic cell, DC)的发育和中性粒细胞活化。PU.1 在早期造血干细胞中对 DC 发育过程是不可缺少的, PU.1 缺陷型小鼠胸腺中无法检测到巨噬细胞和胸腺 DC, 并且淋巴 DC 发育也都被破坏^[65]。2019年, CHOPIN等^[66]发现, 与浆细胞样 DC 相比, PU.1 对常规 DC 更重要, PU.1 通过直接激活转录调节剂 DC-SCRIPT(DC-specific transcript)促进常规 DC 的抗原呈递和细胞因子分泌。MENG 的团队^[15]于 2020 年在单核细胞诱导的树突状细胞(monocyte-derived dendritic cell, moDC)亚群中发现, PU.1 可以诱导 miR-148 α 的转录, 并调

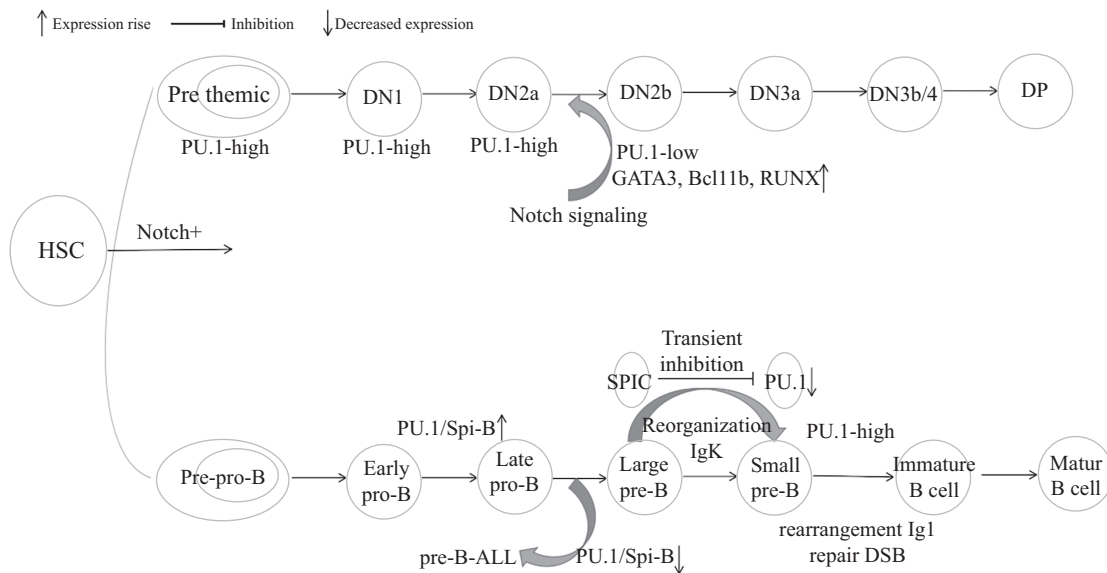


图3 PU.1参与T细胞和B细胞发育过程(根据参考文献[41,46]修改)

Fig.3 PU.1 is involved in the development of T-lymphocyte and B-lymphocyte (modified from the references [41,46])

控 miR-148 α 靶基因肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物 B(musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family B, MAFB), PU.1-miR-148 α -MAFB 通路的形成促进 moDC 的发育, 这一研究确定了 PU.1 在 moDC 中的新调控通路, 为后续在 moDC 中研究 PU.1 功能奠定基础。综合上述研究, 本文作者认为, 目前只探索了 PU.1 在部分 DC 细胞中的作用, 可以看出 PU.1 在不同 DC 细胞中作用机制不同, 其他 DC 细胞中的 PU.1 功能还有待挖掘。

PU.1 能够抑制中性粒细胞活化。2019 年, FISCHER 等^[11]发现, PU.1 可以通过招募组蛋白脱乙酰基酶 1(histone deacetylase 1, HDAC1) 阻碍炎症激活关键介体 *JunB*(transcription factor Jun B) 的激活, 同时转录组学的数据显示, PU.1 广泛地抑制中性粒细胞中的基因活化, 提示 PU.1 抑制中性粒细胞活化可有效保护宿主产生过高的免疫反应。

除了以上两种免疫细胞之外, CHEN 等^[67]在 2019 年还发现, PU.1 对一种新发现的 Th9 细胞(the T helper 9 cells, Th9) 的分化有重要影响。Th9 细胞参与多种炎症疾病, 其在人体中主要分泌 IL-9, 在小鼠中主要分泌 IL-9 以及 IL-10^[68]。Th9 细胞分泌 IL-9 建立在 PU.1 结合 *IL-9* 启动子核心区域并对其转录激活的基础上, 2020 年, VYAS 等^[69]研究发现, 维生素 D 的活性代谢产物骨化三醇在 Th9 细胞中能和 PU.1 相互作用, 阻碍 PU.1 调节 *IL-9* 的表达, 为 Th9 细胞引起的自身免疫疾病提出新解决途径。

2.2.2 PU.1 调节相关抗体、受体及补体表达 FMS 样酪氨酸激酶 3(FMS-like tyrosine kinase 3, *Flt3*) 对维持 DC 细胞数量动态平衡和发育过程至关重要^[70]。CAROTTA 等^[71]通过 ChIP 分析发现, PU.1 与 *Flt3* 启动子和第一内含子中的保守区域结合, 并以剂量依赖方式直接调节 *Flt3* 的表达。2019 年, HU 等^[72]的研究显示, 30% 的 AML 患者会发生 *Flt3* 突变(*Flt3*-ITD), 并且这部分患者预后较差。此团队用药物地西他滨(decitabine, DAC) 进行治疗, 阻碍 C/EBP α 的甲基化, 此时, C/EBP α 的表达升高上调了 *PU.1* 的转录, 降低 *Flt3*-ITD, 进而引发细胞凋亡有效遏制 AML 的发展^[72], 本文作者推测 *Flt3*-ITD 的 AML 患者中 *Flt3* 的突变影响了 PU.1 与 *Flt3* 的结合位点, PU.1 对 *Flt3*-ITD 进行负调控。PU.1 可以调节多种趋化因子及其受体, 包括 CC 趋化因子受体 3(C-C chemokine receptor type 3, *CCR3*)^[73]、CC 趋化因子受体 7(C-C chemokine receptor type 7, *CCR7*)^[74]、

CC 趋化因子 22(C-C class chemokines 22, *CCL22*) 的表达^[75](图 4)。在 DC 细胞中, PU.1 结合在 *CCR7* 的启动子上, 激活 *CCR7* 的转录, 使 DC 细胞从外周组织向淋巴结中迁移^[74]。荧光素酶报告基因和电泳迁移率变动分析显示, PU.1 与趋化因子 *CCL22* 启动子上的顺式作用元件结合, 激活 DC 和巨噬细胞中的 *CCL22* 基因, 从而诱发特异性皮炎和哮喘等以趋化因子 *CCL22* 为关键介质的疾病^[75], 这一发现提示, PU.1 可以为过敏性疾病的治疗提供新的切入点。另外, 通过检查 30 位特异性皮炎患者组织样品发现, PU.1 在患者组织中的表达远远高于对照组, 并且临床分析显示, PU.1 与患者的疾病发展相关^[76]。现已有研究证实, 抑制 PU.1 在体外及体内明显降低肥大细胞诱导的过敏反应, 在小鼠肥大细胞中 PU.1 直接调控酪氨酸激酶(spleen tyrosine kinase, SYK)^[77], 这是 PU.1 在过敏性疾病中起重要作用的又一有力证据。

2.2.3 PU.1 与炎症反应 PU.1 通过调节炎症细胞因子诱导炎症反应的发生。GHISLETTI 等^[53]对巨噬细胞进行刺激并进行全基因 ChIP-Seq, 数据显示 PU.1 可以和绝大部分增强子结合, 并能够广泛标记活化的启动子。PU.1 缺陷型小鼠中炎症基因如 *TLR4*、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, *COX-2*)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, *iNOS*) 的表达低于野生型, 且炎症细胞因子(IL-6、MCP-1、IL-1 β 、TNF- α 等) 的分泌也减少^[60](图 4)。在实验性自身免疫性葡萄膜视网膜炎(experimental autoimmune uveoretinitis, EAU) 小鼠中 PU.1 表达量高, 当敲低 *PU.1* 后炎症因子干扰素- γ (interferon-gamma, IFN- γ)、IL-2 均被抑制, 且在临床过程中发现 PU.1 的表达水平对 EAU 炎症发生程度有直接影响^[78], 这些现象表明, PU.1 参与 EAU 的炎症发生, PU.1 可能成为诊断 EAU 的新检测指标。*TLR4* 是一种先天免疫受体, 在髓系细胞中 PU.1 通过与 *TLR4* 近端启动子结合, 正向调控其表达^[79]。KORNEEV 团队^[80]于 2019 年报道, *TLR4* 3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR) 中有一个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP) 位点可增强其与 PU.1 的结合, 导致风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA) 和 II 型糖尿病的症状加重。在 RA 患者的滑膜 B 细胞中, *PU.1* 受 miR-155 的调控, 并且 RA 滤泡性滑膜炎患者中 PU.1 的表达量高于 RA 弥漫性滑膜炎患者^[81]。由于 RA 是一种自身免疫疾病, 其发生的原因复杂, 患者表型多样, 目前没有针对 RA 的良好治疗手段, RA 患者只能依靠

药物维持, PARK等^[82]通过研究RA发现, 西洛他唑以剂量依赖方式显著抑制RA患者滑膜巨噬细胞中*PU.1*的转录活性, 降低TLR4的表达, 是治疗RA新的候选药物。

2.3 PU.1与脂肪形成及肥胖相关疾病

脂肪形成是指前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞的过程, 该过程受一系列基因组成的复杂网络调控, C/EBPs、过氧化物酶体增殖剂激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)、GATA结合蛋白(GATA-binding proteins, GATAs)、Krüppel样因子(Krüppel-like factors, KLFs)等家族成员在此调控网络中起关键作用^[83]。

2.3.1 PU.1抑制哺乳动物脂肪形成 体外研究证实, *PU.1*是哺乳动物脂肪细胞分化的负调控因子。在鼠3T3-L1前脂肪细胞诱导分化0 h时, *PU.1*的mRNA水平表达很高, 随后下调; 过表达PU.1导致脂肪细胞分化受阻, 而且过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)、脂肪细胞结合蛋白2(adipocyte protein 2, aP2)均被下调(图5); 敲低*PU.1*会促进脂肪细胞的脂质积累^[21]。这些研究说明, PU.1在脂肪形成过程中发挥抑制作用。然而在小鼠白色脂肪组织中, PU.1

的蛋白表达水平与mRNA水平并不一致, 随着分化的进行, PU.1蛋白的表达水平逐渐升高^[21]。小鼠和猪PU.1的反义长链非编码RNAs(antisense long non-coding RNAs, AS lncRNAs)能够通过和*PU.1*的mRNA结合形成mRNA/AS lncRNA双链, 阻止*PU.1*的转录(图5), 从而促进脂肪生成, 解释了PU.1在脂肪组织中蛋白表达水平与mRNA水平不一致的原因^[22-23]。禽类与哺乳动物的脂肪形成过程存在差异, 然而PU.1在禽类脂肪形成中的作用还不明确, 有待深入研究。

PU.1作用机制分析显示, PU.1在C/EBP α / β -PPAR γ 通路中发挥重要作用。荧光素酶报告基因分析发现, PU.1能够抑制C/EBP α 和C/EBP β 的转录活性, 但不抑制PPAR γ 的转录活性^[21], 结合芯片分析发现, 过表达PU.1会占据大量PPAR γ 转录因子结合位点^[84](图5)。虽然尚未有研究证明在前脂肪细胞中PU.1和GATA-2存在相互作用, 但是与单独过表达PU.1或GATA-2相比, 两者共表达进一步抑制了C/EBP α 转录活性, 因此, 可以推测PU.1和GATA-2以协同方式抑制脂肪细胞分化^[21]。在绵羊原代前脂肪细胞中, 小眼畸形相关转录因子(microphthalmia-associated transcription factor, MITF)是PU.1的共激活因子, 两者共表达可以更显著地抑制C/EBP β 的

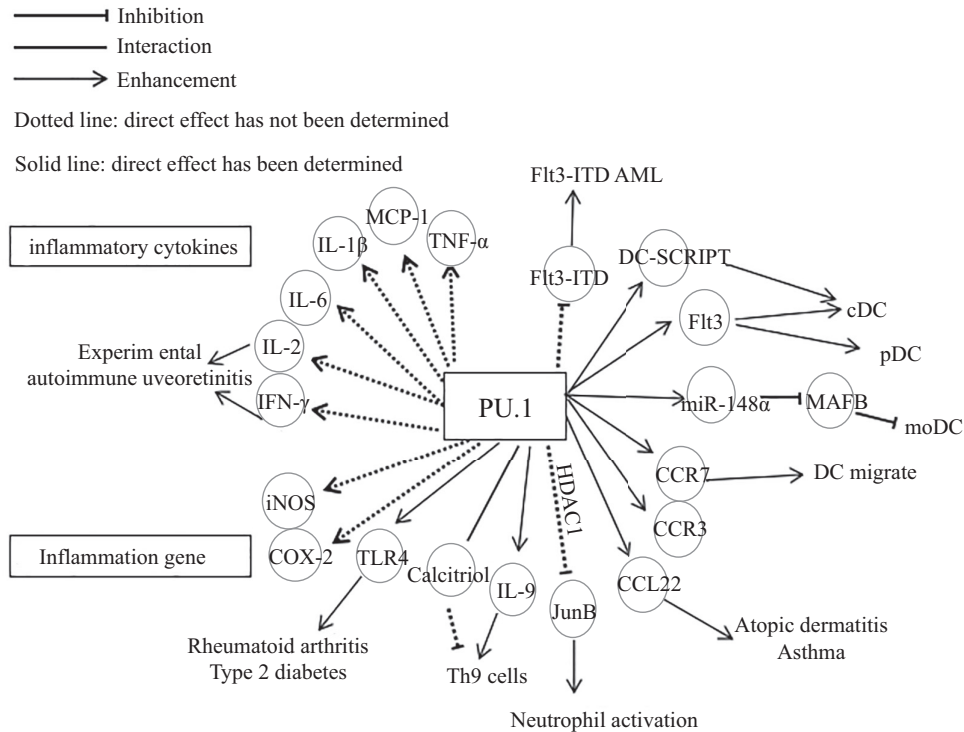


图4 PU.1在免疫系统中的调控网络

Fig.4 The regulatory network of PU.1 in the immune system

表达和脂肪形成^[85]。另外, miR-191能够通过靶向 *C/EBPβ* 的3'UTR抑制前脂肪细胞分化, 而PU.1能够促进miR-191的表达, 进而抑制脂肪生成^[19](图5)。2019年, JUNJVLIEKE等^[86]发现, 超长链脂肪酸延伸酶6(elongation of very long chain fatty acids protein 6, *ELOVL6*)在牛脂肪细胞中促进脂肪分化, *ELOVL6*^{-/-}小鼠中PPAR γ 呈低表达, PU.1可与*ELOVL6*启动子结合并调控其转录(图5)。根据上述研究推测, PU.1在脂肪组织中表达并发挥其抑制分化功能很可能是通过抑制C/EBP α/β -PPAR γ 通路实现的。本文作者通过前期ChIP-seq分析发现, 在鸡Krüppel样因子7(Krüppel-like factor 7, *KLF7*)的结合位点基序中, 存在PU.1的结合位点基序, 推测两者可能存在协同作用。在鸡脂肪组织发育过程中, PU.1和*KLF7*的表达呈现显著正相关, 而且荧光共振能量转移结果提示两者在蛋白水平互作。上述研究说明, 转录因子PU.1在脂肪形成过程中, 可能与*KLF7*结合成蛋白复合物, 共同调控下游基因的表达。

体内研究同样显示, PU.1抑制脂肪组织发育。2019年, LACKEY等^[13]在小鼠内脂肪组织特异性敲除*PU.1*(*PU.1* AKO小鼠), 高脂喂养组的敲除鼠相比于对照组小鼠全身葡萄糖耐量和胰岛素敏感性明显改善, PPAR γ 的Ser(273)位点磷酸化水平降低, PPAR γ 下游靶基因葡萄糖转运体4(glucose transporter type 4, *Glut4*)、*aP2*、脂肪酶(*lipase*)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, *Pepck*)和脂滴包被蛋白1(perilipin 1, *Plin1*)表达增加, 推测PU.1降低PPAR γ 磷酸化间接抑制PPAR γ 下游基因的表达, 抑制脂肪的发育。

2.3.2 PU.1与肥胖相关疾病 PU.1与II型糖尿病相关, PU.1能够结合在*TLR4*基因的3'UTR区, 这一区域存在一个SNP位点, 可以影响PU.1的结合, 进而导致II型糖尿病症状加重^[80]。肥胖小鼠体内的PU.1能够诱发炎症并降低胰岛素敏感性。在高脂饮食肥胖小鼠、遗传的肥胖小鼠内脏脂肪组织中, PU.1表达显著增高^[7], 2020年, LIU等^[87]结合流式细胞术和质谱技术在上述两种小鼠模型肝组织中发现, 肝组织的巨噬细胞中PU.1的表达量升高, 诱导促炎基因(*IL-6*、*IL-1β*、*TNF-α*)的表达使巨噬细胞表现出炎症, 从而促进胰岛素抵抗和非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发展。通过靶向抑制PU.1降低巨噬细胞炎症反应, NASH小鼠呈现

出炎症减弱和抗肥胖等效果, 此研究确定了PU.1是肥胖引发的肝脏代谢疾病的新致病因素, 其可能是治疗肝脏代谢、胰岛素抵抗的潜在靶点。干扰*PU.1*后, 促炎细胞因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶胞浆成分p47phox与p40phox(这两种胞浆成分直接影响NADPH氧化酶的活性)的表达显著下调(图5), NADPH氧化酶的活性降低引发活性氧(reactive oxygen species, ROS)减弱, 从而抑制c-Jun氨基末端激酶1(c-Jun N-terminal kinase 1, *JNK1*)活化和胰岛素受体底物-1(insulin receptor substrate-1, *IRS-1*)的Ser(307)位点磷酸化, 形成脂解失调^[7]。2020年, LIU等^[87]运用PU.1抑制剂进行治疗, 有效缓解了小鼠肥胖产生的NASH, 提示PU.1的下调改善了基础条件以及胰岛素刺激条件下的胰岛素信号转导、葡萄糖摄取和肝部炎症。今后, 深入研究PU.1在脂肪细胞中的作用及分子机制, 能够为肥胖带来的胰岛素抵抗、II型糖尿病和NASH提供新的切入点。

2.4 PU.1参与破骨细胞发育

PU.1在破骨细胞(osteoclasts, OC)分化的每个阶段均有表达, 在小鼠破骨细胞中下调PU.1的表达后发现成熟的OC细胞数量显著下降^[10], 提示PU.1促进破骨细胞发育。近两年, 学者们利用ChIP-seq分析破骨细胞全基因组增强子和启动子的组蛋白修饰, 结果显示PU.1结合基序富含组蛋白H3第27位赖氨酸乙酰化(histone-H3 lysine-27 acetylation, H3K27Ac)并且在破骨细胞顺式作用元件区域频繁出现^[10,12], 揭示了PU.1是调节破骨细胞发育的转录因子网络中的关键点之一。在破骨细胞中, PU.1和MITF相互作用, 其组成的复合物通过响应巨噬细胞集落刺激因子-1(colony-stimulating factor-1, *CSF-1*)/核因子 κ B受体活化因子配体(nuclear factor κ B receptor activator ligand, *RANKL*)信号调节下游抗酒石酸酸性磷酸酶5(tartrate-resistant acid phosphatase 5, *ACP5*)、组织蛋白酶K(cathepsin K, *Ctsk*)、破骨细胞相关受体(osteoclast-associated receptor, *Oscar*)和氯离子第7通道蛋白(chloride channel 7, *Clcn7*)等18个基因的表达, 对破骨细胞分化产生影响^[10,88]。学者们为了更清楚地了解PU.1-MITF复合物在破骨细胞中调节机制, 通过ChIP-seq分析发现, 脱中胚蛋白(eomesodermin, *EOMES*)的结合位点基序在PU.1和MITF的结合位点

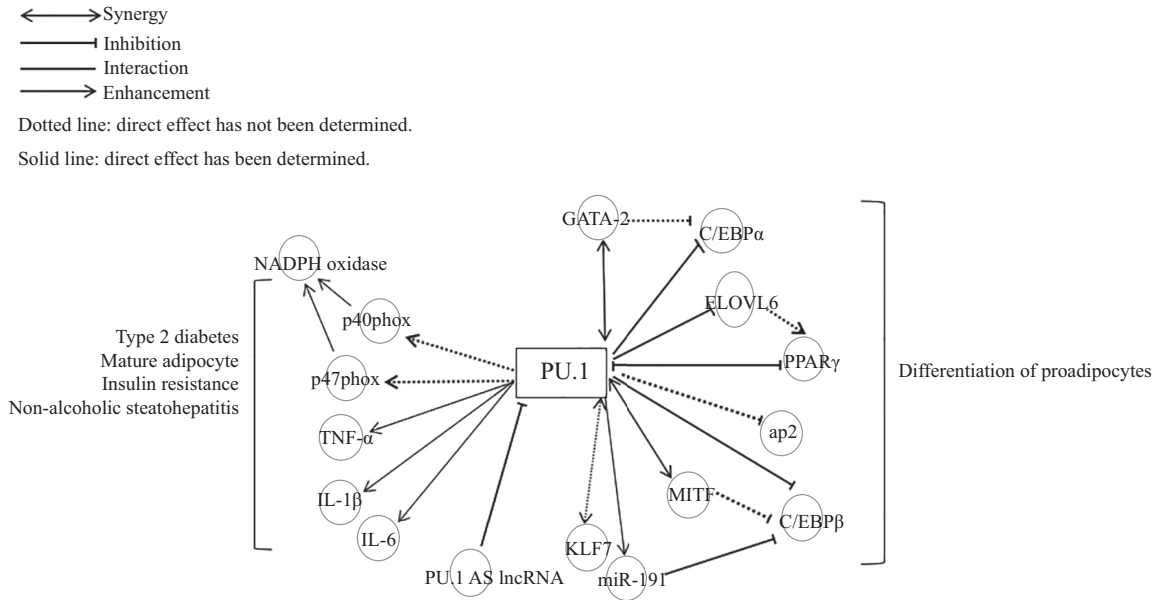


图5 PU.1调控脂肪形成及肥胖相关疾病的分子机制

Fig.5 The molecular mechanisms of PU.1 regulating adipogenesis and obesity-related diseases

基序附近频繁出现,免疫共沉淀(Co-immunoprecipitation, Co-IP)结果显示,PU.1和EOMES、MITF结合形成复合物调节OC的发育^[89]。小鼠骨硬病的发生与PU.1有关,敲低*PU.1*的表达导致小鼠牙齿和身体骨骼发育不良^[10],敲除*EOMES*会破坏PU.1-MITF复合物,影响OC的发育,最后导致小鼠骨硬病发生^[89]。研究发现,Dicer敲除鼠通过M-CSF诱导上调骨髓巨噬细胞中PU.1的表达后,仅仅表现出轻微的小鼠骨硬病,并且*PU.1*敲除鼠造成的骨硬病可以通过骨髓移植得到良好的治疗效果^[90-91],以上研究都说明,PU.1对小鼠骨硬病的发生有重要作用,PU.1及其调控的靶基因有望成为治疗骨硬病的潜在靶标。另外,PU.1在破骨细胞发育前期的作用研究结果显示,PU.1可直接结合到活化T-细胞核因子c1(nuclear factor of activated T-cells cytoplasmic 1, *NFATc1*)的启动子上,促进*NFATc1*的表达^[92]。PU.1一方面通过调控下游靶基因的表达来促进破骨细胞发育,另一方面还调控下游靶基因DNA甲基化。破骨细胞中PU.1可以分别与具有脱甲基化作用的TET2(ten-eleven translocation 2)、具有超甲基化作用的DNMT3β(DNA methyltransferase 3 beta)结合,提示PU.1可能是破骨细胞分化时DNA低甲基化、高甲基化的平衡者,通过与TET2、DNMT3β的互作满足下游靶基因对不同甲基化的要求。综上所述,PU.1对破骨细胞发育至关重要,不仅

可以通过与下游靶基因增强子的结合调节其表达,而且还调节靶基因DNA甲基化,共同实现促进破骨细胞发育的功能。

2.5 PU.1参与成纤维细胞极化

2019年,WOHLFAHRT等^[16]研究成纤维细胞调控网络发现,PU.1在促纤维化基因启动子上出现高度富集,提示PU.1参与成纤维细胞的纤维化,这一研究发现补充了PU.1在成纤维细胞纤维化功能研究中的空白。研究证实,静止的成纤维细胞中PU.1的表达量显著低于纤维化的成纤维细胞,在原代成纤维细胞中上调PU.1表达可触发细胞衰老^[93];在人类静息成纤维细胞中上调PU.1表达可诱导细胞成为高度活化的促纤维化表型,当组织特异性敲除*PU.1*时,成纤维细胞的极化被有效阻止^[16]。在呈炎性成纤维细胞中,miR-155负调控PU.1,纤维化成纤维细胞中PU.1受组蛋白甲基化的调控,并且在炎性成纤维细胞中过表达PU.1会使炎性成纤维细胞转化为纤维化成纤维细胞^[16],这一发现更加证实了PU.1促纤维化的功能。上调PU.1表达将炎性成纤维细胞转化为纤维化的原因在XIE等^[24]的研究结果中可以找到,是由于*PU.1*的3'UTR激活叉头框转录因子O3(forkhead box O3, FOXO3)的表达使miR-155表达也下调,从而减弱了一些炎症细胞因子(如IL-6和IL-1β)的释放,最终实现炎性向纤维化的转化。在纤维化疾病

如系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)患者组织中PU.1高度活跃,在纤维化小鼠中,敲除*PU.1*有效改善了组织纤维化,ChIP结果显示,PU.1可以和肌动蛋白 $\alpha 2$ (actin alpha 2, *ACTA2*)、I型胶原 $\alpha 1$ 链(collagen type I alpha 1, *COL1A1*)等几个原纤维基因结合^[25],提示PU.1可以被用作多种纤维化疾病治疗的新靶标。研究发现,PU.1不仅促进成纤维细胞的纤维化,而且还促进肝星状细胞的纤维化。肝星状细胞中PU.1直接调节miR-34a和miR-29c的表达,使SIRT1蛋白水平下降,导致肝星状细胞纤维化^[4]。总的来说,PU.1在成纤维细胞、肝星状细胞中促进细胞纤维化,而在其他组织细胞和组织(如肾间质成纤维细胞、肺组织、脂肪组织等)中PU.1是否促进纤维化仍需验证。

2.6 PU.1在神经系统中的作用

PU.1影响小胶质细胞发育,促进神经胶质瘤的侵袭。小胶质细胞是中枢神经系统的常驻巨噬细胞,维持正常的神经稳态,完全敲除*PU.1*的小鼠缺乏小胶质细胞^[94]。PU.1在小胶质细胞分化、成熟过程中持续表达^[95],之后又有报道发现,在成人大脑的小胶质细胞中存在PU.1,其中PU.1与小胶质细胞的吞噬能力息息相关^[96],提示PU.1对小胶质细胞有调控作用。利用ChIP-Seq分析,鉴定出63个PU.1调控的对小胶质细胞有功能的基因,包括*IRF8*、*RUNX1*、*CSF-1r*、*CSF-1*、*IL-34*等,其中作为小胶质细胞分化关键调节剂的*IRF8*已被证实与PU.1存在互作^[97],以上研究揭示了PU.1和下游靶基因构成一个复杂转录因子网络调控小胶质细胞。*IRF8*和PU.1对小胶质细胞的激活是必不可少的,同时这两者形成的DNA-蛋白复合物指导小胶质细胞产生应答^[98]。PU.1与神经胶质瘤的发生相关,研究发现PU.1在多名神经胶质瘤患者样品中高表达,且通过调控下游靶基因Bruton酪氨酸激酶(Bruton tyrosine kinase, *BTK*)、*IL-1 β* 、Friend白血病病毒插入位点-1(friend leukemia virus integration-1, *FLI-1*)等促进神经胶质瘤的细胞增殖、迁移、侵袭^[99],其中IL-1 β 和FLI-1在不同神经胶质瘤组织样品中表达发生变化,提示PU.1通过多种手段调节下游靶基因参与神经胶质瘤的发生,但仍缺乏PU.1被应用于神经胶质瘤治疗上的报道。现在有证据表明,PU.1的表达与阿尔茨海默病相关,通过患者组织样品分析和体外实验证实下调PU.1表达后,髓系细胞触发受体2(triggering receptor expressed on myeloid cells 2, *TREM2*)、酪氨酸激酶结合蛋白

(tyrosine kinase binding protein, *TYROBP*)、酪氨酸蛋白磷酸酶C型受体(protein-tyrosine phosphatase receptor-type C, *PTPRC*)等致病基因和 β -淀粉样蛋白表达发生改变,有效抑制了阿尔茨海默病的发展,目前已有团队开启以PU.1为阿尔茨海默病靶标的治疗方案,为患者的治疗提供新思路^[100-102]。总的来说,PU.1基因参与小胶质细胞的发育和激活,调节小胶质细胞吞噬能力,对神经胶质瘤、阿尔茨海默病具有促进作用,但其在神经系统中的调控网络尚不清晰,有待后续进一步研究。

3 展望

PU.1在造血系统、免疫系统中发挥重要作用,同时参与脂肪形成、组织纤维化、小胶质细胞发育过程。在造血谱系中,已知PU.1是指导者,多种白血病的发生与它的异常表达有关,但是调控PU.1的上游转录因子的报道较少,鉴定PU.1上游基因对造血系统基因调控网络的完善具有重大意义。另外,内环境稳态对于造血细胞发育也有影响,在成熟B细胞中PU.1起着维持稳态的作用,当细胞内环境稳态发生变化后PU.1的表达及下游靶基因的变化尚不清楚;在成熟T细胞中PU.1表达上升的原因和作用机制还需进一步研究。在免疫方面,ChIP技术分析显示,PU.1有100多种下游基因,可以调节免疫细胞、相关抗体、受体和补体表达以及调节炎症细胞因子。首先,DC的发育中PU.1是必需的,但不同DC(浆细胞样DC、常规DC、moDC)对PU.1的需求不一样,PU.1发挥的功能、调控的靶基因也有变化,针对其他DC细胞(如淋巴样树突状细胞、并指状细胞等)中的PU.1功能的认知还不完全,有待深入研究。其次,PU.1调节多种炎症细胞因子的表达,在实验性自身免疫性葡萄膜视网膜炎以及类风湿性关节炎等与炎症细胞因子表达有关的免疫疾病中针对PU.1的靶向治疗取得了重大进展。鉴于PU.1在造血系统和免疫系统中的重要作用,今后有必要利用基因编辑技术,以*PU.1*基因为切入点,开展白血病和其他造血、免疫系统疾病的靶向治疗。目前,PU.1调控脂肪组织发育分子机制的研究仍处于初步阶段,其确切机制有待深入研究,现今已有的资料均指向PU.1在脂肪组织中参与C/EBP α / β -PPAR γ 通路,但PU.1在脂肪组织中的下游基因还不清楚,接下来可以结合ChIP-seq技术深入分析PU.1在脂肪组织发育过程中的靶

基因和作用机制, 为肥胖及其相关疾病的治疗提供新的切入点。另外, PU.1在神经系统及相关肿瘤疾病中的作用研究处于初级阶段, 已经鉴定出63个PU.1在小胶质细胞中的调控基因, 揭示了PU.1和下游靶基因构成一个复杂的转录因子网络调控小胶质细胞, 但是还没有研究报道在神经系统中与PU.1蛋白互作的基因, 同时也缺乏PU.1在神经胶质瘤、阿尔茨海默病治疗方面的报道。PU.1通过多种作用机制促进破骨细胞的发育、成纤维细胞的纤维化, 后续有必要开展对PU.1在这些机体系统发育中的作用机制研究。综上所述, 全面地揭示与PU.1相关的疾病的机理, 并利用基因编辑技术改变PU.1表达有望治疗白血病、II型糖尿病、青少年肥胖、小鼠骨硬病、免疫疾病、神经胶质瘤等一系列相关疾病。

参考文献 (References)

- [1] MOREAU-GACHELIN F, TAVITIAN A, TAMBOURIN P. Spi-1 is a putative oncogene in virally induced murine erythroleukaemias [J]. *Nature*, 1988, 331(6153): 277-80.
- [2] LEPRINCE D, GEGONNE A, COLL J, et al. A putative second cell-derived oncogene of the avian leukaemia retrovirus E26 [J]. *Nature*, 1983, 306(5941): 395-7.
- [3] HOLLENHORST P C, MCINTOSH L P, GRAVES B J. Genomic and biochemical insights into the specificity of ETS transcription factors [J]. *Annu Rev Biochem*, 2011, 80(8): 437-71.
- [4] KLEMSZ M J, MCKERCHER S R, CELADA A, et al. The macrophage and B cell-specific transcription factor PU.1 is related to the Ets oncogene [J]. *Cell*, 1990, 61(4): 113-24.
- [5] BOASMAN K, SIMMONDS M J, GRAHAM C, et al. Using PU.1 and Jun dimerization protein 2 transcription factor expression in myelodysplastic syndromes to predict treatment response and leukaemia transformation [J]. *Ann Hematol*, 2019, 98(6): 1529-31.
- [6] STEIDL U, ROSENBAUER F, VERHAAK R G, et al. Essential role of Jun family transcription factors in PU.1 knockdown-induced leukemic stem cells [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(11): 1269-77.
- [7] LIN L, PANG W, CHEN K, et al. Adipocyte expression of PU.1 transcription factor causes insulin resistance through upregulation of inflammatory cytokine gene expression and ROS production [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302(12): E1550-9.
- [8] DE LA RICA L, RODRIGUEZ-UBREVA J, GARCIA M, et al. PU.1 target genes undergo Tet2-coupled demethylation and DNMT3b-mediated methylation in monocyte-to-osteoclast differentiation [J]. *Genome Biol*, 2013, 14(9): R99.
- [9] BURDA P, VARGOVA J, CURIK N, et al. GATA-1 inhibits PU.1 gene via DNA and histone H3K9 methylation of its distal enhancer in erythroleukemia [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0152234.
- [10] CAREY H A, HILDRETH B E, 3RD, GEISLER J A, et al. Enhancer variants reveal a conserved transcription factor network governed by PU.1 during osteoclast differentiation [J]. *Bone Res*, 2018, 28(6): 8-19.
- [11] FISCHER J, WALTER C, TONGES A, et al. Safeguard function of PU.1 shapes the inflammatory epigenome of neutrophils [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(5): 546-58.
- [12] IZAWA N, KUROTAKI D, NOMURA S, et al. Cooperation of PU.1 with IRF8 and NFATc1 defines chromatin landscapes during RANKL-induced osteoclastogenesis [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(6): 1143-54.
- [13] LACKEY D E, REIS F C G, ISAAC R, et al. Adipocyte PU.1 knockout promotes insulin sensitivity in HFD-fed obese mice [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 14779.
- [14] LIU Q, ZHANG Y, YANG S, et al. PU.1-deficient mice are resistant to thioacetamide-induced hepatic fibrosis: PU.1 finely regulates Sirt1 expression via transcriptional promotion of miR-34a and miR-29c in hepatic stellate cells [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(6): BSR20170926.
- [15] MENG Y, LI J, YE Z Z, et al. MicroRNA-148a facilitates inflammatory dendritic cell differentiation and autoimmunity by targeting MAFB [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(8): e133721.
- [16] WOHLFAHRT T, RAUBER S, UEBE S, et al. PU.1 controls fibroblast polarization and tissue fibrosis [J]. *Nature*, 2019, 566(7744): 344-9.
- [17] BATISTA C R, LI S K, XU L S, et al. PU.1 regulates Ig light chain transcription and rearrangement in pre-B cells during B cell development [J]. *J Immunol*, 2017, 198(4): 1565-74.
- [18] REDDY V A, IWAMA A, IOTZOVA G, et al. Granulocyte inducer C/EBPalpha inactivates the myeloid master regulator PU.1: possible role in lineage commitment decisions [J]. *Blood*, 2002, 100(2): 483-90.
- [19] JI S, LI W, BAO L, et al. PU.1 promotes miR-191 to inhibit adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451(2): 329-33.
- [20] ZHANG P, BEHRE G, PAN J, et al. Negative cross-talk between hematopoietic regulators: GATA proteins repress PU.1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(15): 8705-10.
- [21] WANG F, TONG Q. Transcription factor PU.1 is expressed in white adipose and inhibits adipocyte differentiation [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 295(1): C213-20.
- [22] PANG W J, LIN L G, XIONG Y, et al. Knockdown of PU.1 AS lncRNA inhibits adipogenesis through enhancing PU.1 mRNA translation [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(11): 2500-12.
- [23] WEI N, WANG Y, XU R X, et al. PU.1 antisense lncRNA against its mRNA translation promotes adipogenesis in porcine preadipocytes [J]. *Anim Genet*, 2015, 46(2): 133-40.
- [24] XIE Z, QU Y, SHEN P, et al. PU.1 attenuates TNFalpha-induced proliferation and cytokine release of rheumatoid arthritis fibroblastlike synoviocytes by regulating miR155 activity [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 8349-56.
- [25] BERNARD N J. PU.1 pulls the strings in fibrotic disease [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(4): 187.
- [26] NGUYEN V C, RAY D, GROSS M S, et al. Localization of the human oncogene SPI1 on chromosome 11, region p11.22 [J]. *Hum Genet*, 1990, 84(6): 542-6.
- [27] MINDERJAHN J, SCHMIDT A, FUCHS A, et al. Mechanisms governing the pioneering and redistribution capabilities of the non-classical pioneer PU.1 [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 402.
- [28] ANTONCZYK A, KRIST B, SAJEK M, et al. Direct inhibition

- of IRF-Dependent transcriptional regulatory mechanisms associated with disease [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(5): 1176-98.
- [29] XHANI S, LEE S, KIM H M, et al. Intrinsic disorder controls two functionally distinct dimers of the master transcription factor PU.1 [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(8): eaay3178.
- [30] ALBRECHT A V, KIM H M, POON G M K. Mapping interfacial hydration in ETS-family transcription factor complexes with DNA: a chimeric approach [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(20): 10577-88.
- [31] LLOBERAS J, SOLER C, CELADA A. The key role of PU.1/SPI-1 in B cells, myeloid cells and macrophages [J]. *Immunol Today*, 1999, 20(4): 184-9.
- [32] HAAS S, TRUMPP A, MILSOM M D. Causes and consequences of hematopoietic stem cell heterogeneity [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(5): 627-38.
- [33] BODDU P, BENTON C B, WANG W, et al. Erythroleukemia-historical perspectives and recent advances in diagnosis and management [J]. *Blood Rev*, 2018, 32(2): 96-105.
- [34] PIRES C F, ROSA F F, KUROCHKIN I, et al. Understanding and modulating immunity with cell reprogramming [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(12): 2809-32.
- [35] STRASSER M K, HOPPE P S, LOEFFLER D, et al. Lineage marker synchrony in hematopoietic genealogies refutes the PU.1/GATA1 toggle switch paradigm [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2697.
- [36] REKHTMAN N, CHOE K S, MATUSHANSKY I, et al. PU.1 and pRB interact and cooperate to repress GATA-1 and block erythroid differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(21): 7460-74.
- [37] VECCHIARELLI-FEDERICO L M, LIU T, YAO Y, et al. Fli-1 overexpression in erythroleukemic cells promotes erythroid differentiation while Spi-1/PU.1 exerts the opposite effect [J]. *Int J Oncol*, 2017, 51(2): 456-66.
- [38] LI P, LEONARD W J. Chromatin accessibility and interactions in the transcriptional regulation of T cells [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(11): 2738-45.
- [39] ROTHENBERG E V. Programming for T-lymphocyte fates: modularity and mechanisms [J]. *Genes Dev*, 2019, 33(17/18): 1117-35.
- [40] CHAMPHEKAR A, DAMLE S S, FREEDMAN G, et al. Regulation of early T-lineage gene expression and developmental progression by the progenitor cell transcription factor PU.1 [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(8): 832-48.
- [41] ROTHENBERG E V, HOSOKAWA H, UNGERBACK J. Mechanisms of action of hematopoietic transcription factor PU.1 in initiation of T-cell development [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(2): 228-50.
- [42] BATISTA C R, LIM M, LARAMEE A S, et al. Driver mutations in Janus kinases in a mouse model of B-cell leukemia induced by deletion of PU.1 and Spi-B [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(21): 2798-810.
- [43] XU L S, SOKALSKI K M, HOTKE K, et al. Regulation of B cell linker protein transcription by PU.1 and Spi-B in murine B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Immunol*, 2012, 189(7): 3347-54.
- [44] NAKHOST B, NASIRI M, KARIMI M, et al. Down-regulation of PU.1 gene in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients from south of Iran [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2019, 13(1): 20-4.
- [45] MULLIGHAN C G, GOORHA S, RADTKE I, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Nature*, 2007, 446(7137): 758-64.
- [46] SOODGUPTA D, WHITE L S, YANG W, et al. RAG-mediated DNA breaks attenuate PU.1 activity in early B cells through activation of a SPIC-BCLAF1 complex [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(4): 829-43.
- [47] WILLIS S N, TELLIER J, LIAO Y, et al. Environmental sensing by mature B cells is controlled by the transcription factors PU.1 and SpiB [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1426-39.
- [48] PANG S H, MINNICH M, GANGATIRKAR P, et al. PU.1 cooperates with IRF4 and IRF8 to suppress pre-B-cell leukemia [J]. *Leukemia*, 2016, 30(6): 1375-87.
- [49] WANG H, JAIN S, LI P, et al. Transcription factors IRF8 and PU.1 are required for follicular B cell development and BCL6-driven germinal center responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(19): 9511-20.
- [50] SADEGHI K, WISGRILL L, WESSELY I, et al. GM-CSF down-regulates TLR expression via the transcription factor PU.1 in human monocytes [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0162667.
- [51] LAUDANSKI K, ZAWADKA M, POLOSAK J, et al. Acquired immunological imbalance after surgery with cardiopulmonary bypass due to epigenetic over-activation of PU.1/M-CSF [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 143-55.
- [52] WEIGELT K, MOEHLE C, STEMPEL T, et al. An integrated workflow for analysis of ChIP-chip data [J]. *Biotechniques*, 2008, 45(2): 131-2, 4, 6 passim.
- [53] GHISLETTI S, BAROZZI I, MIETTON F, et al. Identification and characterization of enhancers controlling the inflammatory gene expression program in macrophages [J]. *Immunity*, 2010, 32(3): 317-28.
- [54] MURAKAMI N, HASHIDATE T, HARAYAMA T, et al. Transcriptional regulation of human G2A in monocytes/ macrophages: involvement of c/EBPs, Runx and Pu.1 [J]. *Genes Cells*, 2009, 14(12): 1441-55.
- [55] SAMANIEGO R, DOMINGUEZ-SOTO A, RATNAM M, et al. Folate receptor beta (FRbeta) expression in tissue-resident and tumor-associated macrophages associates with and depends on the expression of PU.1 [J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1445.
- [56] JARJOUR N N, SCHWARZKOPF E A, BRADSTREET T R, et al. Bhlhe40 mediates tissue-specific control of macrophage proliferation in homeostasis and type 2 immunity [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(6): 687-700.
- [57] JOO M, KWON M, CHO Y J, et al. Lipopolysaccharide-dependent interaction between PU.1 and c-Jun determines production of lipocalin-type prostaglandin D synthase and prostaglandin D2 in macrophages [J]. *Am J Physiol Lung C*, 2009, 296(5): L771-9.
- [58] CHEN M T, LIN H S, SHEN C, et al. PU.1-regulated long non-coding RNA lnc-MC controls human monocyte/macrophage differentiation through interaction with microRNA 199a-5p [J]. *Mol Cell Biol*, 2015, 35(18): 3212-24.
- [59] QIAN F, DENG J, LEE Y G, et al. The transcription factor PU.1 promotes alternative macrophage polarization and asthmatic airway inflammation [J]. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(6): 557-67.
- [60] KARPURAPU M, WANG X, DENG J, et al. Functional PU.1 in

- macrophages has a pivotal role in NF-kappaB activation and neutrophilic lung inflammation during endotoxemia [J]. *Blood*, 2011, 118(19): 5255-66.
- [61] TAKEI H, KOBAYASHI S S. Targeting transcription factors in acute myeloid leukemia [J]. *Int J Hematol*, 2019, 109(1): 28-34.
- [62] SHEN C, CHEN M T, ZHANG X H, et al. The PU.1-modulated microRNA-22 is a regulator of monocyte/macrophage differentiation and acute myeloid leukemia [J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(9): e1006259.
- [63] MUELLER B U, PABST T, OSATO M, et al. Heterozygous PU.1 mutations are associated with acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2002, 100(3): 998-1007.
- [64] TURKISTANY S A, DEKOTER R P. The transcription factor PU.1 is a critical regulator of cellular communication in the immune system [J]. *Arch Immunol Ther Ex*, 2011, 59(6): 431-40.
- [65] ANDERSON K L, PERKIN H, SURH C D, et al. Transcription factor PU.1 is necessary for development of thymic and myeloid progenitor-derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2000, 164(4): 1855-61.
- [66] CHOPIN M, LUN A T, ZHAN Y, et al. Transcription factor PU.1 promotes conventional dendritic cell identity and function via induction of transcriptional regulator DC-SCRIPT [J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 77-90.
- [67] CHEN J, GUAN L, TANG L, et al. T helper 9 cells: a new player in immune-related diseases [J]. *DNA Cell Biol*, 2019, 38(10): 1040-7.
- [68] MA C S, TANGYE S G, DEENICK E K. Human Th9 cells: inflammatory cytokines modulate IL-9 production through the induction of IL-21 [J]. *Immunol Cell Biol*, 2010, 88(6): 621-3.
- [69] VYAS S P, HANSDA A K, KAPLAN M H, et al. Calcitriol regulates the differentiation of IL-9-secreting Th9 cells by modulating the transcription factor PU.1 [J]. *J Immunol*, 2020, 204(5): 1201-13.
- [70] WASKOW C, LIU K, DARRASSE-JEZE G, et al. The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6): 676-83.
- [71] CAROTTA S, DAKIC A, D'AMICO A, et al. The transcription factor PU.1 controls dendritic cell development and Flt3 cytokine receptor expression in a dose-dependent manner [J]. *Immunity*, 2010, 32(5): 628-41.
- [72] HU X, CAI J, ZHU J, et al. Modulation of FLT3 through decitabine-activated C/EBPa-PU.1 signal pathway in FLT3-ITD positive cells [J]. *Cell Signal*, 2019, 64(12): 109409.
- [73] KONG S K, KIM B S, HWANG S M, et al. Roles of RUNX1 and PU.1 in CCR3 transcription [J]. *Immune Netw*, 2016, 16(3): 176-82.
- [74] YASHIRO T, TAKEUCHI H, NAKAMURA S, et al. PU.1 plays a pivotal role in dendritic cell migration from the periphery to secondary lymphoid organs via regulating CCR7 expression [J]. *Faseb J*, 2019, 33(10): 11481-91.
- [75] YASHIRO T, NAKANO S, NOMURA K, et al. A transcription factor PU.1 is critical for Ccl22 gene expression in dendritic cells and macrophages [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1161-70.
- [76] HAMZA A M, OMAR S S, ABO EL-WAFA R A, et al. Expression levels of transcription factor PU.1 and interleukin-9 in atopic dermatitis and their relation to disease severity and eruption types [J]. *Int J Dermatol*, 2017, 56(5): 534-9.
- [77] ODA Y, KASAKURA K, FUJIGAKI I, et al. The effect of PU.1 knockdown on gene expression and function of mast cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2005.
- [78] UMAZUME A, KEZUKA T, MATSUDA R, et al. Role of PU.1 expression as an inflammatory marker in experimental autoimmune uveoretinitis [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2018, 26(6): 951-63.
- [79] LICHTINGER M, INGRAM R, HORNEF M, et al. Transcription factor PU.1 controls transcription start site positioning and alternative TLR4 promoter usage [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(37): 26874-83.
- [80] KORNEEV K V, SVIRIAEVA E N, MITKIN N A, et al. Minor C allele of the SNP rs7873784 associated with rheumatoid arthritis and type-2 diabetes mellitus binds PU.1 and enhances TLR4 expression [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1866(3): 165626.
- [81] ALIVERNINI S, KUROWSKA-STOLARSKA M, TOLUSSO B, et al. MicroRNA-155 influences B-cell function through PU.1 in rheumatoid arthritis [J]. *Nat Commun*, 2016, 7(2): 12970.
- [82] PARK S Y, LEE S W, BAEK S H, et al. Suppression of PU.1-linked TLR4 expression by cilostazol with decrease of cytokine production in macrophages from patients with rheumatoid arthritis [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(6): 1401-11.
- [83] LEFTEROVA M I, LAZAR M A. New developments in adipogenesis [J]. *Trends Endocrinol Met*, 2009, 20(3): 107-14.
- [84] DISPIRITO J R, FANG B, WANG F, et al. Pruning of the adipocyte peroxisome proliferator-activated receptor gamma cistrome by hematopoietic master regulator PU.1 [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(16): 3354-64.
- [85] RUAN C, LI X, HU J, et al. MITF and PU.1 inhibit adipogenesis of ovine primary preadipocytes by restraining C/EBPbeta [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2017, 22(6): 2.
- [86] JUNJVLIEKE Z, MEI C G, KHAN R, et al. Transcriptional regulation of bovine elongation of very long chain fatty acids protein 6 in lipid metabolism and adipocyte proliferation [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 13932-43.
- [87] LIU Q, YU J, WANG L, et al. Inhibition of PU.1 ameliorates metabolic dysfunction and non-alcoholic steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2020, 3(20): 361-70.
- [88] SHARMA S M, BRONISZ A, HU R, et al. MITF and PU.1 recruit p38 MAPK and NFATc1 to target genes during osteoclast differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(21): 15921-9.
- [89] CAREY H A, HILDRETH B E, 3RD, SAMUVEL D J, et al. Eomes partners with PU.1 and MITF to regulate transcription factors critical for osteoclast differentiation [J]. *iScience*, 2019, 11(1): 238-45.
- [90] SUGATANI T, HRUSKA K A. Impaired micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(7): 4667-78.
- [91] TONDRAVI M M, MCKERCHER S R, ANDERSON K, et al. Osteopetrosis in mice lacking haematopoietic transcription factor PU.1 [J]. *Nature*, 1997, 386(6620): 81-4.
- [92] ISHIYAMA K, YASHIRO T, NAKANO N, et al. Involvement of PU.1 in NFATc1 promoter function in osteoclast development [J]. *Allergol Int*, 2015, 64(3): 241-7.
- [93] DELESTRE L, CUI H, ESPOSITO M, et al. Senescence is a

- Sp1-induced anti-proliferative mechanism in primary hematopoietic cells [J]. *Haematologica*, 2017, 102(11): 1850-60.
- [94] SCHULZ C, GOMEZ PERDIGUERO E, CHORRO L, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells [J]. *Science*, 2012, 336(6077): 86-90.
- [95] KIERDORF K, ERNY D, GOLDMANN T, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(3): 273-80.
- [96] SMITH A M, GIBBONS H M, OLDFIELD R L, et al. The transcription factor PU.1 is critical for viability and function of human brain microglia [J]. *Glia*, 2013, 61(6): 929-42.
- [97] SATOH J, ASAHINA N, KITANO S, et al. A comprehensive profile of ChIP-Seq-based PU.1/Sp1 target genes in microglia [J]. *Gene Regul Syst Bio*, 2014, 8(12): 127-39.
- [98] ZHOU N, LIU K, SUN Y, et al. Transcriptional mechanism of IRF8 and PU.1 governs microglial activation in neurodegenerative condition [J]. *Protein Cell*, 2019, 10(2): 87-103.
- [99] XU Y, GU S, BI Y, et al. Transcription factor PU.1 is involved in the progression of glioma [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 3753-9.
- [100] HUANG K L, MARCORA E, PIMENOVA A A, et al. A common haplotype lowers PU.1 expression in myeloid cells and delays onset of Alzheimer's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(8): 1052-61.
- [101] JIAO C, GAO F, OU L, et al. Tetrahydroxystilbene glycoside antagonizes beta-amyloid-induced inflammatory injury in microglia cells by regulating PU.1 expression [J]. *Neuroreport*, 2018, 29(10): 787-93.
- [102] RUSTENHOVEN J, SMITH A M, SMYTH L C, et al. PU.1 regulates Alzheimer's disease-associated genes in primary human microglia [J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 44.