

LncRNA MALAT1靶向miR-92a对急性单核细胞白血病细胞SKM-1增殖、侵袭能力的影响

邓凯¹ 罗敏娜^{2*}

(¹西安交通大学第一附属医院检验科, 西安 710061; ²西安交通大学第一附属医院血液内科, 西安 710061)

摘要 该文探究了肺腺癌转移相关转录本1(LncRNA MALAT1)靶向微小RNA-92a(miR-92a)对急性髓系白血病(AML)亚型急性单核细胞白血病细胞增殖、侵袭的影响。采用qRT-PCR检测血清和AML细胞系中的LncRNA MALAT1、miR-92a水平,筛选最佳细胞,双荧光素酶实验确定LncRNA MALAT1与miR-92a间的靶向关系。体外培养人急性单核细胞白血病SKM-1细胞,将其分为Control组、sh-NC组、sh-MALAT1组、sh-MALAT1+anti-NC组、sh-MALAT1+anti-miR-92a组。Edu染色和Transwell实验检测SKM-1细胞增殖、迁移、侵袭水平,Western blot检测CDK1、MMP-2、MMP-9蛋白表达情况。结果显示,在AML患儿血清以及AML细胞系中miR-92a表达水平下降,LncRNA MALAT1表达水平上升($P<0.05$),选择SKM-1细胞进行后续实验。LncRNA MALAT1、miR-92a之间有靶向关系,在AML中LncRNA MALAT1能够负调控miR-92a表达。与sh-NC组比较,sh-MALAT1组Edu阳性率、迁移细胞数目、侵袭细胞数目下降,LncRNA MALAT1、CDK1、MMP-2、MMP-9表达水平下降,miR-92a表达水平升高($P<0.05$);与sh-MALAT1+anti-NC组比较,sh-MALAT1+anti-miR-92a组Edu阳性率、迁移细胞数目、侵袭细胞数目升高,CDK1、MMP-2、MMP-9表达水平升高,miR-92a表达水平下降($P<0.05$)。总之,抑制LncRNA MALAT1表达能够靶向miR-92a对SKM-1细胞的增殖、迁移、侵袭等恶性行为进行抑制。

关键词 急性髓系白血病;长链非编码RNA肺腺癌转移相关转录本1;微小RNA-92a;增殖;侵袭

The Effects of LncRNA MALAT1 on Proliferation and Invasion Abilities of Acute Monocytic Leukemia Cell SKM-1 by Targeting miR-92a

DENG Kai¹, LUO Minna^{2*}

(¹Department of Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China;

²Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract This study investigated the effects of LncRNA MALAT1 (long chain non coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) on the proliferation and invasion of acute monocytic leukemia cells of AML (acute myeloid leukemia) subtype by targeting miR-92a (microRNA-92a). The levels of LncRNA MALAT1 and miR-92a in serum and AML cell lines were detected by qRT-PCR to screen for the optimal cells, and the targeting relationship between LncRNA MALAT1 and miR-92a was determined by dual-luciferase assay. Human acute myeloid leukemia SKM-1 cells were cultured *in vitro* and divided into Control group, sh-NC group, sh-MALAT1 group, sh-MALAT1+anti NC group, and sh-MALAT1+anti miR-92a group. The proliferation, migration, and in-

收稿日期: 2025-02-28

接受日期: 2025-05-26

*通信作者: Tel: 13571993346, E-mail: maria1204@163.com

Received: February 28, 2025

Accepted: May 26, 2025

*Corresponding author. Tel: +86-13571993346, E-mail: maria1204@163.com

vasion abilities of SKM-1 cells were detected by Edu staining and Transwell assay, and Western blot was used to detect the protein expressions of CDK1, MMP-2 and MMP-9. The results showed that the expression level of miR-92a decreased in the serum and AML cell lines of AML patients, while the expression level of LncRNA MALAT1 increased ($P<0.05$). SKM-1 cells were selected for subsequent experiments. There was a targeting relationship between LncRNA MALAT1 and miR-92a, and in AML, LncRNA MALAT1 was able to negatively regulate miR-92a expression. Compared with the sh-NC group, the positive rate of Edu, number of migrating cells, and number of invasive cells in the sh-MALAT1 group decreased, while the expression levels of LncRNA MALAT1, CDK1, MMP-2, and MMP-9 decreased, and the expression level of miR-92a increased ($P<0.05$). Compared with the sh-MALAT1+anti NC group, the positive rate of Edu, number of migrating cells, and number of invasive cells in the sh-MALAT1+anti-miR-92a group increased, while the expression levels of LncRNA MALAT1, CDK1, MMP-2, and MMP-9 increased, and the expression level of miR-92a decreased ($P<0.05$). In conclusion, inhibiting the expression of LncRNA MALAT1 can target miR-92a to inhibit the proliferation, migration, invasion and other malignant behaviors of SKM-1 cells.

Keywords acute myeloid leukemia; long chain non coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1; microRNA-92a; proliferation; invasion

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种造血干细胞和祖细胞(hematopoietic stem cells and progenitor cells, HSPC)的克隆性疾病,其特征是未成熟髓细胞异常生长、分化阻断和积累。临床表现包括各种类型的全血细胞减少症(及其并发症)以及全身症状。AML是成人急性白血病最常见的形式,存在于不同年龄组中,但主要见于老年人^[1]。AML的特点是存活率低、复发率高^[2]。尽管目前有许多药物用于治疗AML,但仍有不良反应大、疗效不佳等缺陷。目前对于复发/难治性AML患者,除了少数可以进行同种异体造血细胞移植外,其他的治疗方法均无法治愈^[3]。因此,寻找AML的关键靶点对于探索新的有效治疗方法尤为重要。

长链非编码RNA肺腺癌转移相关转录本1(long chain non coding RNA metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, LncRNA MALAT1)是癌症中研究较多的LncRNA之一,其在多种人类癌症中表达上调,进而发挥致癌作用^[4]。近些年研究显示,LncRNA MALAT1在AML患者骨髓中高表达,敲低其表达能够抑制Kasumi-1、THP-1细胞增殖,诱导细胞凋亡^[5-6]。但是LncRNA MALAT1在AML中的作用及分子机制仍未被阐明。

微小RNA(microRNA, miRNA)被认为是人类癌症中转录本的表现遗传调节因子,其作为AML诊断/预后的生物标志物和治疗靶点的潜在用途被广泛探索^[7]。研究发现,AML患者血清外泌体miR-92a-

3p表达水平显著下降,并且miR-92a-3p诊断AML的灵敏度和特异度均较高,可用作早期AML的临床诊断^[8]。在神经母细胞瘤细胞中,miR-92a-3p被证实为LncRNA MALAT1的下游靶点^[9],但二者的关系尚未在AML中得到证实。本研究将采用人AML细胞SKM-1细胞作为实验对象,初步对LncRNA MALAT1靶向调控miR-92a对AML细胞的增殖、侵袭的影响进行探究,为AML的临床诊治提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床标本 收集30例在本院检查确诊并接受治疗的AML患儿作为研究对象,年龄范围1.26~14.32岁,平均年龄(7.56 ± 2.08)岁,男/女为17/13例,其AML亚型均为单核细胞白血病(M5)。同时选择30名健康儿童作为对照组,年龄范围1.41~14.55岁,平均年龄(7.47 ± 2.12)岁,男/女为18/12人。两组人员的年龄和性别均无明显差异,具有可比性。采集两组人员外周血,分离血清,保存备用。AML患儿在研究开始前均未接受任何治疗。本研究通过西安交通大学第一附属医院伦理委员会审核,批号:2024HY0019,患儿监护人知情、同意,并在知情同意书上签字。

1.1.2 细胞 人急性髓系白血病细胞SKM-1(CMH759)购于上海盖宁生物科技有限公司;U-937(HT-X1626)、HL-60(HT-X1614)购于深圳市豪地华拓生

物科技有限公司;人骨髓基质细胞HS-5(CC-Y1744)购于上海酶研生物公司。

1.1.3 主要试剂 sh-NC、sh-LncRNA MALAT1、anti-NC、anti-miR-92a、miR-NC质粒、荧光定量PCR试剂盒(KM11259659)购于温州科森生物公司;LncRNA MALAT1、miR-92a、U6、GAPDH引物序列购于亚太恒信生物公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(KTA8010)购于亚科因(武汉)生物公司;EdU细胞增殖检测试剂盒(远红荧光)(XY6046S)购于上海烜雅生物公司;兔抗CDK1(MA5-16356)、MMP-2(436000)、MMP-9(PA5-13199)抗体购于美国ThermoFisher Scientific公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将SKM-1、U-937、HL-60、HS-5细胞放置于37℃、5% CO₂环境中进行48 h常规培养,分别提取细胞RNA,检测细胞中LncRNA MALAT1、miR-92a水平。选取与HS-5细胞相比LncRNA MALAT1、miR-92a表达差异较大的SKM-1细胞作为实验研究对象。

1.2.2 细胞分组及转染 将SKM-1细胞随机分为Control组、sh-NC组、sh-MALAT1组、sh-MALAT1+anti-NC组、sh-MALAT1+anti-miR-92a组,除Control组外,其他组使用Lipofectamine™ 3000转染试剂转染相应质粒48 h,质粒浓度2 μg/μL, Lipofectamine™ 3000与质粒的比例是1:1。转染完成后进行后续实验。使用qRT-PCR检测各组细胞LncRNA MALAT1、miR-92a表达,以鉴定LncRNA MALAT1、miR-92a的转染效果。

1.2.3 qRT-PCR检测LncRNA MALAT1、miR-92a表达水平 提取各组血清、细胞中RNA,检测浓度和纯度,逆转录,以cDNA为模板扩增,LncRNA MALAT1、miR-92a分别以GAPDH、U6作内参,引物序列如下所示:LncRNA MALAT1正向引物5'-GTT CTG ATC CCG CTG CTA TT-3',反向引物5'-TCC TCA ACA CTC AGC CTT TAT C-3';miR-92a正向引物5'-CTC CCT ATT GTA AAC TTG T-3',反向引物5'-ATA GGG TTC ATT CCC ATA CG-3';U6正向引物5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3',反向引物5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3';GAPDH正向引物5'-CTG GGC TAC ACT GAG CAC C-3',反向引物5'-AAG TGG TCG TTG AGG GCA ATG-3';用2^{-ΔΔCt}法计算LncRNA MALAT1、miR-92a相对表达

水平。

1.2.4 数据库分析 经Starbase数据库在线预测,确定LncRNA MALAT1与miR-92a的结合关系。

1.2.5 双荧光素酶实验 构建LncRNA MALAT1野生型(MALAT1-WT)和突变型(MALAT1-MUT)报告载体,将其分别与miR-NC、miR-92a mimics共转染SKM-1细胞48 h,收集并裂解SKM-1细胞,检测相对荧光素酶活性。

1.2.6 细胞增殖活性检测 接种各组转染的SKM-1细胞至96孔培养板,24 h培养,根据试剂盒步骤,加入含Edu培养基,在37℃、5% CO₂条件下孵育2 h,4%多聚甲醛室温固定30 min,避光下,加DAPI荧光染料。用显微镜观察,拍照,用Image-Pro Plus软件统计阳性率。

1.2.7 细胞侵袭和迁移能力检测 将转染后的SKM-1细胞接种于包被或不包被基质胶Transwell小室的上室,下室加FBS培养基,培养24 h。室温条件下,用多聚甲醛固定15 min,然后用结晶紫染色30 min。显微镜下观察,用ImageJ软件统计侵袭和迁移数目。

1.2.8 蛋白表达检测 收集各组SKM-1细胞,用细胞裂解液处理,提取细胞总蛋白,BCA法检测蛋白浓度,电泳分离蛋白,湿转至PVDF膜,5%脱脂牛奶室温封闭2 h,加CDK1、MMP-2、MMP-9一抗(均1:1 000),4℃过夜孵育,加二抗(1:2 000),37℃孵育1 h,避光显色;用Image-Pro Plus软件分析蛋白条带灰度值。

1.3 统计分析

SPSS 25.0分析数据,以($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,独立样本t检验比较两组间差异,单因素方差分析比较多组间差异,SNK-q检验比较多组间差异。 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 LncRNA MALAT1、miR-92a在血清中的表达

采用qRT-PCR检测血清中LncRNA MALAT1、miR-92a表达水平,结果(图1)显示,与对照组相比,AML组LncRNA MALAT1水平升高,miR-92a水平降低($P < 0.05$)。

2.2 LncRNA MALAT1、miR-92a在AML细胞系中的表达

采用qRT-PCR检测不同AML细胞系中LncRNA MALAT1、miR-92a表达水平,结果(图2)显示,与HS-5细胞相比,AML细胞系中LncRNA MALAT1水

平升高, miR-92a水平降低 ($P<0.05$); 但 SKM-1 细胞中 LncRNA MALAT1、miR-92a 表达差异最为显著, 因此选用 SKM-1 细胞作为后续研究对象。

2.3 LncRNA MALAT1、miR-92a 靶向结合关系检测

使用 Starbase 数据库预测到 LncRNA MALAT1 与 miR-92a 之间的靶向结合位点, 见图 3A。双荧光素酶实验结果显示, 与 MALAT1-WT+miR-NC 组比较, MALAT1-WT+miR-92a mimics 组相对荧光素酶活性降低 ($P<0.05$), 见图 3B。

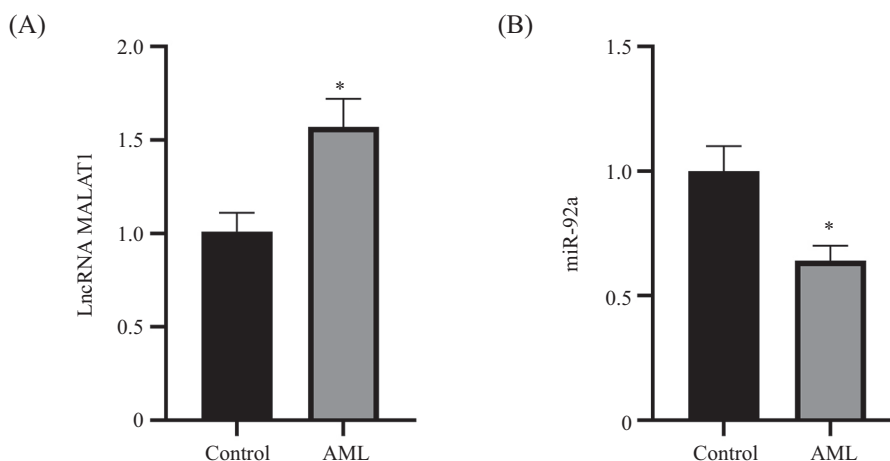
2.4 各组细胞 LncRNA MALAT1、miR-92a 表达水平

采用 qRT-PCR 检测不同 SKM-1 细胞中 LncRNA MALAT1、miR-92a 表达水平, 结果 (图 4) 显示, 与

sh-NC 组比较, sh-MALAT1 组细胞 LncRNA MALAT1 表达水平降低, miR-92a 表达水平升高 ($P<0.05$); 与 sh-MALAT1+anti-NC 组比较, sh-MALAT1+anti-miR-92a 组 miR-92a 表达水平下降 ($P<0.05$)。

2.5 LncRNA MALAT1 靶向 miR-92a 对 SKM-1 细胞增殖、迁移、侵袭的影响

采用 Edu 染色和 Transwell 实验检测各组 SKM-1 细胞增殖和迁移侵袭能力, 结果 (图 5) 显示, 与 sh-NC 组比较, sh-MALAT1 组 Edu 阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数目下降 ($P<0.05$); 与 sh-MALAT1+anti-NC 组比较, sh-MALAT1+anti-miR-92a 组 Edu 阳性率、划痕愈合率、侵袭细胞数目升

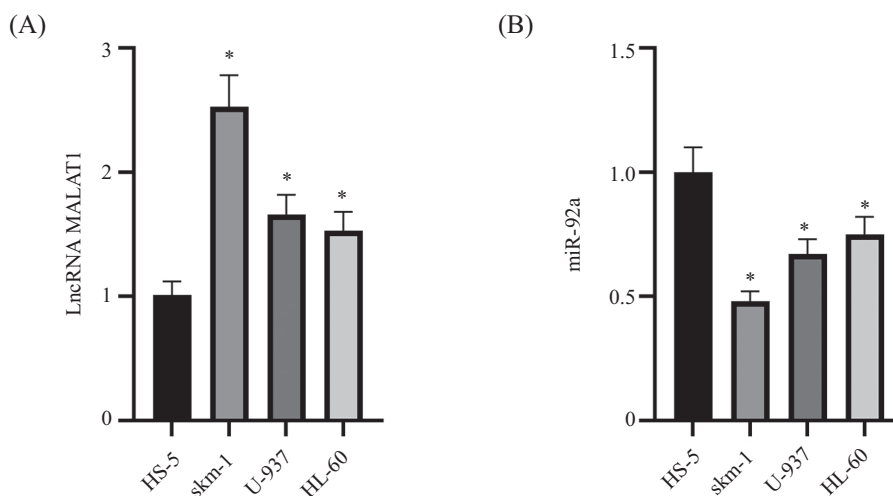


A: 血清 LncRNA MALAT1 表达水平; B: 血清 miR-92a 表达水平。n=30; * $P<0.05$, 与对照组比较。

A: serum LncRNA MALAT1 expression; B: serum miR-92a expression. n=30; * $P<0.05$ compared with control group.

图1 LncRNA MALAT1、miR-92a 在血清中的表达情况

Fig.1 Expression of LncRNA MALAT1 and miR-92a in serum



A: AML 细胞系中 LncRNA MALAT1 表达水平; B: AML 细胞系中 miR-92a 表达水平。n=6; * $P<0.05$, 与 HS-5 组比较。

A: LncRNA MALAT1 expression in AML cell lines; B: expression of miR-92a in AML cell lines. n=6; * $P<0.05$ compared with HS-5 group.

图2 LncRNA MALAT1、miR-92a 在 AML 细胞中的表达情况

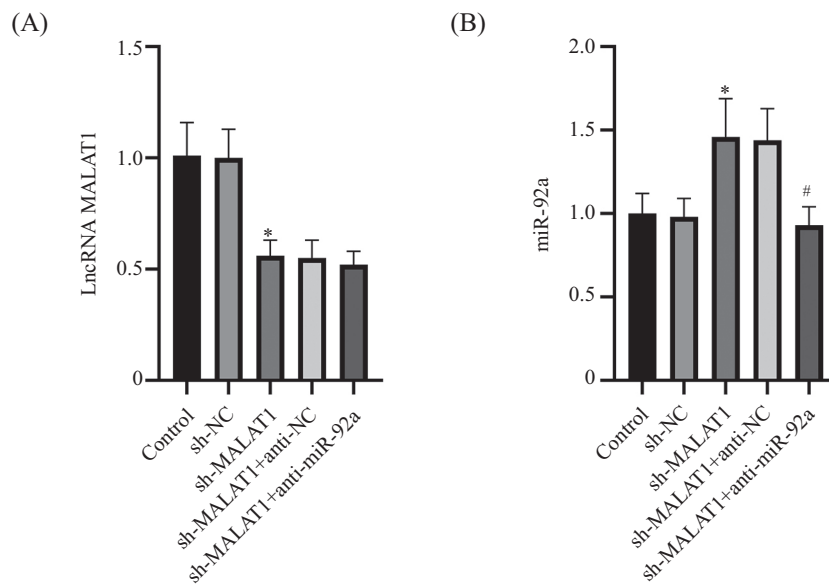
Fig.2 Expression of LncRNA MALAT1 and miR-92a in AML cells



A: LncRNA MALAT1与miR-92a结合位点; B: LncRNA MALAT1与miR-92a靶向关系检测结果。n=6; *P<0.05, 与MALAT1-WT+miR-NC组比较。
A: LncRNA MALAT1 binding site to miR-92a; B: detection results of the targeting relationship between LncRNA MALAT1 and miR-92a. n=6; *P<0.05 compared with MALAT1-WT+miR-NC group.

图3 LncRNA MALAT1与miR-92a在SKM-1细胞中的靶向作用验证

Fig.3 Verification of the targeting effect of LncRNA MALAT1 and miR-92a in SKM-1 cells



A: SKM-1细胞中LncRNA MALAT1表达水平; B: SKM-1细胞中miR-92a表达水平。n=6; *P<0.05, 与sh-NC组比较; #P<0.05, 与sh-MALAT1+anti-NC组比较。

A: LncRNA MALAT1 expression in SKM-1 cells; B: expression of miR-92a in SKM-1 cells. n=6; *P<0.05 compared with sh-NC group; #P<0.05 compared with sh-MALAT1+anti-NC group.

图4 比较SKM-1细胞中LncRNA MALAT1、miR-92a表达水平

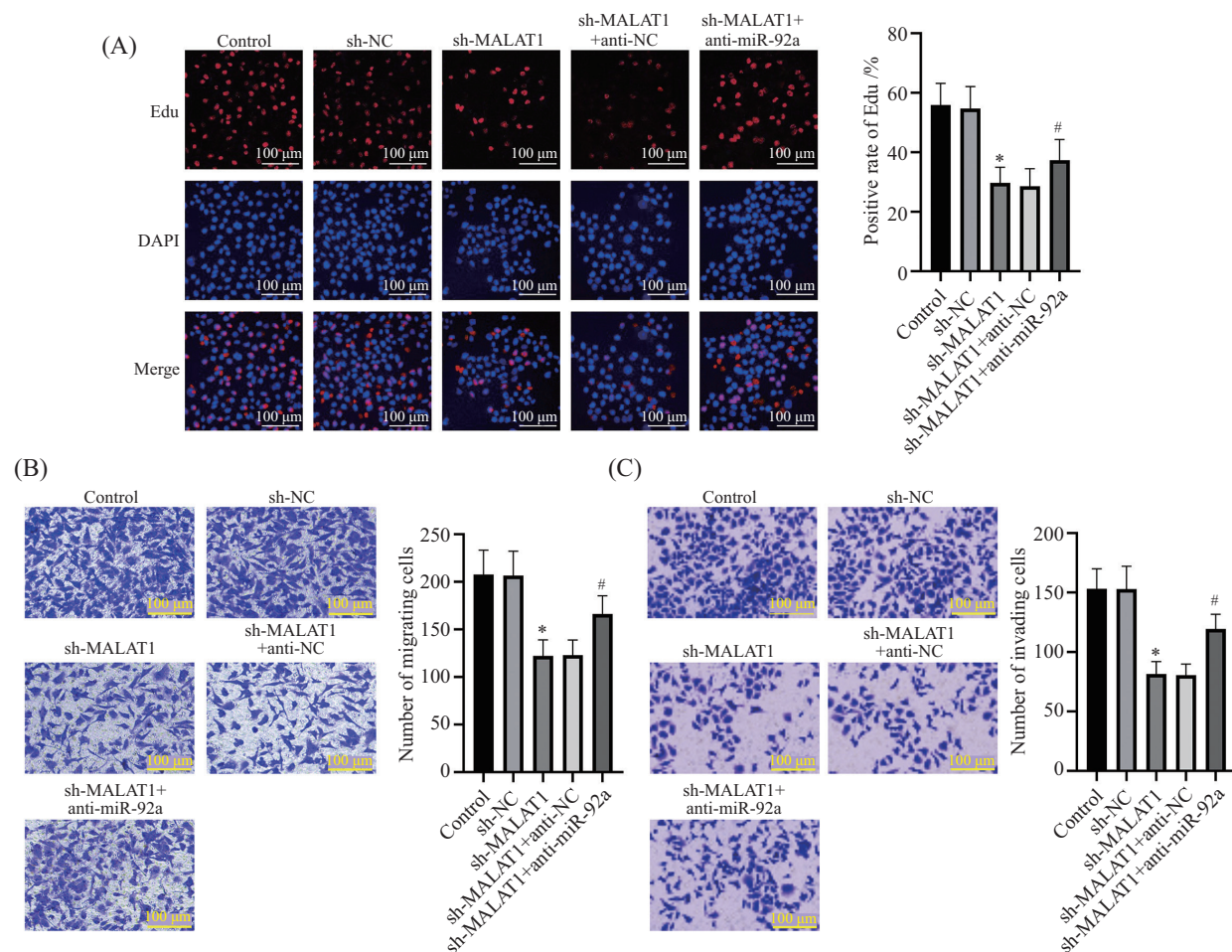
Fig.4 Comparison of the expression levels of LncRNA MALAT1 and miR-92a in SKM-1 cells

高(P<0.05)。

2.6 LncRNA MALAT1靶向miR-92a对SKM-1细胞增殖、侵袭相关蛋白的影响

CDK1是细胞增殖标志物, MMP-2、MMP-9是细胞迁移侵袭标志蛋白, 为探讨LncRNA MALAT1靶向miR-92a对SKM-1细胞增殖、侵袭的潜在机

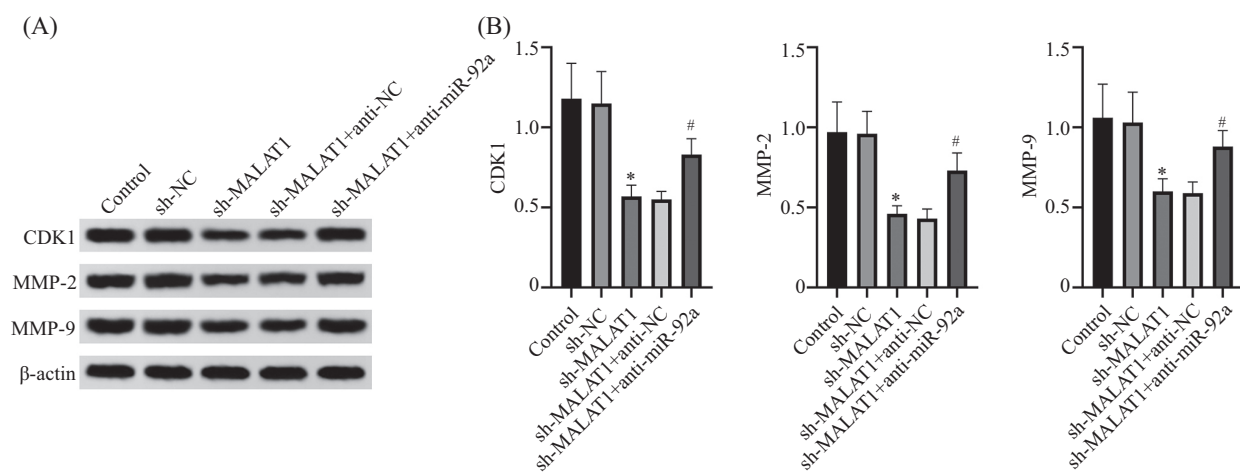
制, 采用Western blot法测量细胞中CDK1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平, 结果(图6)显示, 与sh-NC组比较, sh-MALAT1组CDK1、MMP-2、MMP-9表达水平下降(P<0.05); 与sh-MALAT1+anti-NC组比较, sh-MALAT1+anti-miR-92a组CDK1、MMP-2、MMP-9表达水平升高(P<0.05)。



A: 各组细胞增殖情况; B: 各组细胞迁移情况; C: 各组细胞侵袭情况。n=6; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较; # $P<0.05$, 与sh-MALAT1+anti-NC组比较。
A: cell proliferation in each group; B: cell migration in each group; C: cell invasion in each group. n=6; * $P<0.05$ compared with sh-NC group; # $P<0.05$ compared with sh-MALAT1+anti-NC group.

图5 比较各组SKM-1细胞增殖、迁移、侵袭能力

Fig.5 The proliferation, migration and invasion abilities of SKM-1 cells in each group were compared



A: SKM-1细胞中CDK1、MMP-2、MMP-9蛋白条带图; B: SKM-1细胞中CDK1、MMP-2、MMP-9表达情况。n=6; * $P<0.05$, 与sh-NC组比较; # $P<0.05$, 与sh-MALAT1+anti-NC组比较。

A: protein strip map of CDK1, MMP-2 and MMP-9 in SKM-1 cells; B: expressions of CDK1, MMP-2 and MMP-9 in SKM-1 cells. n=6; * $P<0.05$ compared with sh-NC group; # $P<0.05$ compared with sh-MALAT1+anti-NC group.

图6 CDK1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平检测

Fig.6 Detection of CDK1, MMP-2 and MMP-9 protein expression

3 讨论

AML是一种侵袭性白细胞恶性肿瘤,具有高度异质性,其特征是异常增殖和分化,可导致骨髓衰竭和器官浸润等相关症状^[10-11]。除大剂量化疗外,同种异体骨髓移植是目前最有效的治疗方法,但并非适用于所有患者,且并不能完全消除肿瘤细胞^[12]。AML是从骨髓发展而来的,随着疾病发展,AML细胞会迅速进入血液,甚至移动到淋巴结和人体的许多重要器官,如脾脏、肝脏、睾丸,甚至中枢神经系统,从而导致患者预后不良^[13-14]。总体而言,该病发病快、进展快、危害严重,导致患者预后不良,尤其是老年患者。因此,寻找针对AML的特异性和新颖的治疗靶点从而改善AML临床治疗效果迫在眉睫。

近年来,非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA),包括LncRNA和miRNA,因其在AML发病机制中的关键作用而受到越来越多的关注。研究表明,LncRNA在几乎所有人类恶性肿瘤中异常表达,并参与广泛的生物过程,包括细胞增殖、细胞凋亡和转移等^[15],且LncRNA失调可能导致包括AML在内的多种肿瘤出现化疗耐药^[16]。寻找新的治疗AML的靶点和药物仍然是一个需要克服的主要障碍。LncRNA MALAT1是一种癌基因,常促进人类癌症进展^[17]。LncRNA MALAT1是LncRNA家族的重要成员,与肿瘤增殖、侵袭、转移和其他生物学行为密切相关。研究发现,在AML中,LncRNA MALAT1通过海绵化miR-146a可以调节AML细胞中CXCR4的表达从而调节细胞迁移、增殖和凋亡^[18]。敲减MALAT1可抑制AML细胞系U937细胞增殖,促进凋亡相关蛋白Caspase-3表达^[19]。本研究中,LncRNA MALAT1在AML患儿血清、AML细胞中均上调表达,提示在AML中LncRNA MALAT1可能作为促癌基因发挥致癌作用进一步参与AML发生发展。功能验证实验发现,沉默LncRNA MALAT1表达可以降低Edu阳性率、迁移侵袭细胞数目,说明通过沉默LncRNA MALAT1表达能够对AML细胞的增殖、迁移、侵袭进行抑制,且沉默LncRNA MALAT1对SKM-1细胞增殖的抑制作用与其在Kasumi-1、THP-1^[6]、HL60^[18]、U937^[19]细胞中的作用一致,提示LncRNA MALAT1在不同AML亚型细胞中可能发挥相同的作用,揭示了LncRNA MALAT1可能是治疗AML的潜在靶点。CDK1属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族。既往研究表明,CDK1存在于AML等许多肿瘤调节

细胞黏附的细胞周期中,驱动哺乳动物细胞周期,并可能作为非小细胞肺癌、结直肠癌、乳腺癌和卵巢癌潜在的细胞增殖标志物^[20]。MMP-2和MMP-9在内的金属蛋白酶通过消化细胞外基质屏障在各种实体瘤的迁移与侵袭过程中发挥重要作用,上调MMP-2、MMP-9表达,促进AML细胞迁移和侵袭;下调MMP-9和MMP-2的表达,抑制AML细胞的转移效力^[21]。本研究发现,沉默LncRNA MALAT1降低了SKM-1细胞中的CDK1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平,证实了沉默LncRNA MALAT1可能通过调节增殖、迁移侵袭标志蛋白水平来抑制AML细胞增殖、侵袭和迁移。

miRNA是一类基因调节因子,其表达水平的改变与癌症等许多疾病的发病密切相关。GADO等^[22]研究发现,miR-92a-3p在AML患者的骨髓穿刺物中显著下调表达,miR-92a作为抗肿瘤因子,可能具有作为AML非侵入性诊断生物标志物的潜力。还有研究表明,miR-92a可能是预测AML患者的预后标志物^[23]。胡敏利等^[24]研究证实,在急性T淋巴细胞白血病中,miR-92a-3p可靶向调控NOTCH信号通路通过诱导细胞周期,从而阻滞抑制SupT1细胞增殖。饶琦等^[25]研究说明,在急性B淋巴细胞白血病中miR-92a-3p表达量下降,干扰circRNA MYLK表达能够靶向调控miR-92a-3p表达,诱导急性B淋巴细胞白血病细胞凋亡,同时抑制细胞增殖。以上研究说明miR-92a作为抑癌因子在白血病中发挥抑癌作用。本研究中,miR-92a在AML患儿血清和细胞中表达水平下降,与上述研究相同,提示miR-92a在AML中发挥抑癌作用。本研究进一步用PCR定量分析和双荧光素酶实验发现,LncRNA MALAT1与miR-92a存在靶向结合位点,二者具有靶向调控关系,LncRNA MALAT1能够对miR-92a进行负调控,提示LncRNA MALAT1可能靶向miR-92a从而调节AML细胞的增殖、迁移、侵袭,具体表现为下调miR-92a表达可以逆转抑制LncRNA MALAT1表达对AML细胞的增殖、迁移、侵袭行为的抑制作用。目前,AML的诊断方法是细胞遗传学和流式结合,核型分析时间长,检测成本较高,而LncRNA MALAT1/miR-92a通过qRT-PCR检测,检测速度快,成本低,且可定期进行外周血检测。既往研究表明,miR-92a与FAB分类呈显著相关性,且ROC证明miR-92a对AML具有较高的诊断价值^[26];MALAT1在M₅ AML亚型患者中表达上调,但在

其他亚型中未观察到显著差异,其表达与较高的白细胞计数显著相关,且敲除MALAT1通过上调AML细胞中的miR-96水平抑制增殖并增强阿糖胞苷化疗敏感性^[27-28]。以上研究说明,LncRNA MALAT1、miR-92a具有作为AML诊断标志物和治疗靶点的潜力,但距其应用于临床还有一定距离。近年来研究表明,PTEN^[29]、G3BP2^[30]、GATA3^[31]等关键调控因子均可作为miR-92a的下游靶标参与多种肿瘤的进展调控。然而,在AML中,miR-92a是否通过调控上述靶分子影响白血病细胞的恶性生物学行为,目前尚未得到充分验证,其具体作用机制有待进一步阐明。

综上,在AML-M5患儿血清中LncRNA MALAT1表达上调,进而发挥致癌作用,LncRNA MALAT1可能是治疗AML的潜在靶点,其机制可能与靶向负调控miR-92a表达有关。尽管此前研究报道了LncRNA MALAT1在AML中的促癌作用,但本研究首次初步揭示其在AML-M5亚型中通过miR-92a调控细胞恶性生物学行为的机制,但由于AML具有高度异质性,不同AML亚型的细胞和基因表达可能存在较大差异,虽然对AML的细胞系进行了初步筛选,但是本研究仅选取同一亚型的AML患者且仅用一种细胞系进行实验可能无法全面反映AML的复杂性,未来需通过多细胞系及原代细胞实验进一步验证结论的普适性,并且进一步证实LncRNA MALAT1与miR-92a的靶向关系以及miR-92a的下游靶点。

参考文献 (References)

- [1] MISHRA S K, MILLMAN S E, ZHANG L. Metabolism in acute myeloid leukemia: mechanistic insights and therapeutic targets [J]. *Blood*, 2023, 141(10): 1119-35.
- [2] XIE X, ZHANG W, XIAO M, et al. TREM2 acts as a receptor for IL-34 to suppress acute myeloid leukemia in mice [J]. *Blood*, 2023, 141(26): 3184-98.
- [3] BEWERSDORF J P, ABDEL-WAHAB O. Translating recent advances in the pathogenesis of acute myeloid leukemia to the clinic [J]. *Genes Dev*, 2022, 36(5/6): 259-77.
- [4] HAO L, WU W, XU Y, et al. LncRNA-MALAT1: a key participant in the occurrence and development of cancer [J]. *Molecules*, 2023, 28(5): 2126.
- [5] HUANG J, FANG J, CHEN Q, et al. Epigenetic silencing of E-cadherin gene induced by lncRNA MALAT-1 in acute myeloid leukaemia [J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(8): e24556.
- [6] 高云飞. LncRNA MALAT1在急性髓系白血病患者中的表达及与髓系白血病细胞生物学关系的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2024.
- [7] CONTE M, DELL' AVERSANA C, SGUEGLIA G, et al. HDAC2-dependent miRNA signature in acute myeloid leukemia [J]. *FEBS Lett*, 2019, 593(18): 2574-84.
- [8] 王涵, 张亚丽, 全海薇, 等. 急性髓系白血病患者血清外泌体中miR-92a-3p的表达及其意义[J]. 吉林大学学报(医学版) (WANG H, ZHANG Y L, QUAN H W, et al. Expression of miR-92a-3p in exosome in serum of patients with acute myeloid leukemia and its significance [J]. *Journal of Jilin University, Medicine Edition*), 2023, 49(2): 467-72.
- [9] ZHANG Y, HU R, XI B, et al. Mechanisms of senescence-related NKG2D ligands release and immune escape induced by chemotherapy in neuroblastoma cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 829404.
- [10] STUBBINS R J, FRANCIS A, KUCHENBAUER F, et al. Management of acute myeloid leukemia: a review for general practitioners in oncology [J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(9): 6245-59.
- [11] 彭志元, 杨春秀, 伞景辉, 等. 外周血Th17、IL-23的表达及其与急性髓细胞白血病患者免疫表型的关系分析[J]. 中国实验血液学杂志(PENG Z Y, YANG C X, SHAN J H, et al. Expression of Th17 and IL-23 in peripheral blood and their relationship with immunophenotype in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Journal of Experimental Hematology*), 2022, 30(4): 1056-62.
- [12] ALBINGER N, PFEIFER R, NITSCHKE M, et al. Primary CD33-targeting CAR-NK cells for the treatment of acute myeloid leukemia [J]. *Blood Cancer J*, 2022, 12(4): 61.
- [13] FLOREN M, GILLETTE J M. Acute myeloid leukemia: therapy resistance and a potential role for tetraspanin membrane scaffolds [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2021, 137: 106029.
- [14] 张文芳, 周娟, 许莹, 等. 长非编码RNA FBXL19-AS1对急性髓细胞白血病THP-1细胞增殖与侵袭的影响[J]. 中国临床药理学杂志(ZHANG W F, ZHOU J, XU Y, et al. Effects of long non-coding RNA FBXL19-AS1 on the proliferation and invasion of acute myeloid leukemia THP-1 cells [J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*), 2021, 37(19): 2652-4, 2667.
- [15] XIE K Y, CHEN S Z, WANG Y, et al. Establishment and validation of a prognostic immune-related lncRNA risk model for acute myeloid leukemia [J]. *Transl Cancer Res*, 2023, 12(12): 3693-702.
- [16] LI H, TIAN X, NIE T, et al. LncRNA SCIRT is downregulated in acute myeloid leukemia and sponges miR-21 in cytoplasm to increase chemosensitivity to doxorubicin [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2022, 32(3): 61-9.
- [17] WANG Z, WANG X, ZHANG T, et al. LncRNA MALAT1 promotes gastric cancer progression via inhibiting autophagic flux and inducing fibroblast activation [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4): 368.
- [18] SHENG X F, HONG L L, LI H, et al. Long non-coding RNA MALAT1 modulate cell migration, proliferation and apoptosis by sponging microRNA-146a to regulate CXCR4 expression in acute myeloid leukemia [J]. *Hematology*, 2021, 26(1): 43-52.
- [19] 王婷婷, 吴燕珍, 吴梅姐, 等. LncRNA MALAT1对急性髓系白血病U937细胞增殖的影响[J]. 生物化工(WANG T T, WU Y Z, WU M J, et al. Effects of lncRNA MALAT1 on the proliferation of acute myeloid leukemia U937 cells [J]. *Biological Chemical Engineering*), 2023, 9(2): 11-5.
- [20] MANOOCH EHRABADI S, TALEBI M, PASHAIEFAR H, et al. Upregulation of lnc-FOXO2-AS1, CDC45, and CDK1 in patients with primary non-M3 AML is associated with a worse prognosis

- [J]. Blood Res, 2024, 59(1): 4.
- [21] ZHU G, SHEN Q, JIANG H, et al. Curcumin inhibited the growth and invasion of human monocytic leukaemia SHI-1 cells *in vivo* by altering MAPK and MMP signalling [J]. Pharm Biol, 2020, 58(1): 25-34.
- [22] GADO M M, MOUSA N O, BADAWEY M A, et al. Assessment of the diagnostic potential of miR-29a-3p and miR-92a-3p as circulatory biomarkers in acute myeloid leukemia [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20(12): 3625-33.
- [23] RASHED R A, HASSAN N M, HUSSEIN M M. MicroRNA-92a as a marker of treatment response and survival in adult acute myeloid leukemia patients [J]. Leuk Lymphoma, 2020, 61(10): 2475-81.
- [24] 胡敏利, 应双伟, 罗文达. miR-92a-3p靶向调控NOTCH信号通路对T-ALL细胞增殖的影响机制[J]. 重庆医学(HU M L, YING S W, LUO W D. Mechanism of effect of target regulation of NOTCH signaling pathway by miR-92a-3p on T-ALL cells proliferation [J]. Chongqing Medicine), 2021, 50(9): 1456-60.
- [25] 饶琦, 王丹丹, 罗婷. circRNA_MYLK靶向miR-92a-3p调控急性B淋巴细胞白血病细胞增殖及凋亡[J]. 河北医学(RAO Q, WANG D D, LUO T. circRNA_MYLK regulating the proliferation and apoptosis of acute lymphoblastic leukemia cells by targeting miR-92a-3p [J]. Hebei Medicine), 2023, 29(7): 1080-8.
- [26] ELHAMAMSY A R, EL SHARKAWY M S, ZANATY A F, et al. Circulating miR-92a, miR-143 and miR-342 in plasma are novel potential biomarkers for acute myeloid leukemia [J]. Int J Mol Cell Med, 2017, 6(2): 77-86.
- [27] HUANG J L, LIU W, TIAN L H, et al. Upregulation of long non-coding RNA MALAT-1 confers poor prognosis and influences cell proliferation and apoptosis in acute monocytic leukemia [J]. Oncol Rep, 2017, 38(3): 1353-62.
- [28] HU N, CHEN L, WANG C, et al. MALAT1 knockdown inhibits proliferation and enhances cytarabine chemosensitivity by up-regulating miR-96 in acute myeloid leukemia cells [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 112: 108720.
- [29] DENG X, WU H, XIONG L, et al. MiR-92a regulates PTEN/Akt signaling axis to promote paclitaxel resistance in ovarian cancer cells [J]. Acta Biochim Pol, 2023, 70(1): 169-74.
- [30] SHENG Z, WANG X, DING X, et al. Exosomal miRNA-92a derived from cancer-associated fibroblasts promote invasion and metastasis in breast cancer by regulating G3BP2 [J]. Cell Signal, 2024, 119: 111182.
- [31] YADOLLAHI FARSANI M, AMINI FARSANI Z, TEIMURI S, et al. Deregulation of miR-1245b-5p and miR-92a-3p and their potential target gene, GATA3, in epithelial-mesenchymal transition pathway in breast cancer [J]. Cancer Rep, 2024, 7(2): e1955.