

髓系白血病细胞中细胞因子信号转导抑制因子 1 基因启动子去甲基化对细胞增殖、凋亡的影响

陈莉¹, 李青山², 张学强³, 任利彬⁴, 索晓慧¹, 张丛丛¹

(河北省邯郸市中心医院, 1. 血液内一科, 2. 骨科, 3. 口腔颌面外科, 4. 普外科, 河北 邯郸, 056001)

摘要:目的 探讨髓系白血病(ML)细胞中细胞因子信号转导抑制因子 1(SOCS-1)基因启动子去甲基化对细胞增殖、凋亡的影响。方法 收集 78 例 ML 患者的骨髓标本(实验组)以及人 ML 细胞系 U937、HL-60、K562 为研究对象,另外收集 50 例健康捐献者的骨髓标本作为对照组。甲基化特异性聚合酶链反应(MS-PCR)检测 ML 患者骨髓标本中 SOCS-1 基因启动子甲基化状态,实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 ML 患者骨髓标本以及人 ML 细胞系中 SOCS-1 mRNA 表达;Western blot 检测 ML 患者骨髓标本以及人 ML 细胞系中 SOCS-1 蛋白表达。用 0、0.8、1.6、3.2 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨(DCA)分别处理 U937 细胞,并分别命名为空白组、DCA-L 组(DCA 低剂量)、DCA-M 组(DCA 中剂量)、DCA-H 组(DCA 高剂量)。MS-PCR 检测各组细胞中 SOCS-1 基因启动子甲基化状态;qRT-PCR 检测各组细胞中 SOCS-1 mRNA 表达;Western blot 检测各组细胞中 SOCS-1 蛋白表达;CCK-8 法检测各组细胞增殖情况;流式细胞术检测各组细胞凋亡情况。结果 SOCS-1 在 ML 患者中呈高甲基化状态,SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白在 ML 患者中的表达低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);人 ML 细胞系 U937、HL-60、K562 中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达低于人骨髓基质细胞 HS-5,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 U937 细胞中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平最低,因此,以 U937 细胞为研究对象进行后续实验。与空白组比较,DCA-L 组、DCA-M 组、DCA-H 组中 SOCS-1 甲基化水平、450 nm 处光密度值($\text{OD}_{450\text{nm}}$)(24、48、72 h)降低,SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平、细胞凋亡率升高($P < 0.05$),且随着 DCA 浓度的升高,上述指标的相应趋势越明显。结论 SOCS-1 去甲基化可抑制 ML 细胞增殖、促进细胞凋亡。

关键词: 髓系白血病; 细胞因子信号转导抑制因子 1; 甲基化; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号: R 733.7; Q 81 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2022)08-060-06 DOI: 10.7619/jcmp.20212911

Effects of suppressor of cytokine signaling 1 gene promoter demethylation on cell proliferation and apoptosis in myeloid leukemia cells

CHEN Li¹, LI Qingshan², ZHANG Xueqiang³, REN Libin⁴,
SUO Xiaohui¹, ZHANG Congcong¹

(1. the First Department of Hematology, 2. Department of Orthopedics, 3. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, 4. Department of General Surgery, Handan Central Hospital in Hebei Province, Handan, Hebei, 056001)

Abstract: Objective To investigate the effects of demethylation of the promoter of suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) in myeloid leukemia (ML) cells on cell proliferation and apoptosis. **Methods** The bone marrow specimens of 78 ML patients (experimental group) and the human ML cell lines U937, HL-60 and K562 were collected as research objects, and bone marrow specimens from 50 healthy donors were collected as control group. Methylation-specific polymerase chain reaction (MS-PCR) was used to detect the methylation status of SOCS-1 gene promoter in bone marrow specimens of ML patients, quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression of SOCS-1 mRNA in bone marrow specimens of ML patients and human ML cell lines; Western blot was used to detect the expression of SOCS-1 protein in bone marrow specimens of ML patients and human ML cell lines. U937 cells were treated with 0, 0.8, 1.6 and 3.2 $\mu\text{mol/L}$ Decitabine (DCA), and were selected as blank group, DCA-L group (DCA low-dose), DCA-M group (DCA

medium-dose) and DCA-H group (DCA high-dose). MS-PCR was used to detect the *SOCS-1* gene promoter methylation status in each group of cells; qRT-PCR was used to detect the *SOCS-1* mRNA expression in cells of each group; western blot was used to detect the SOCS-1 protein expression in each group of cells; CCK-8 method was used to detect the cell proliferation in each group; flow cytometry was used to detect the cell apoptosis in each group. **Results** *SOCS-1* was hypermethylated in ML patients, and the expressions of *SOCS-1* mRNA and SOCS-1 protein in ML patients were significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$); the expressions of *SOCS-1* mRNA and SOCS-1 protein in human ML cell lines U937, HL-60, and K562 was significantly lower than that in human bone marrow stromal cells HS-5 ($P < 0.05$), and the expression levels of *SOCS-1* mRNA and SOCS-1 protein in U937 cells were the lowest, therefore, the U937 cells were used as the research objects for follow-up experiments. Compared with the blank group, the *SOCS-1* methylation levels and optical density 450 value ($OD_{450\text{ nm}}$) at 24, 48 and 72 h in the DCA-L group, the DCA-M group and the DCA-H group were significantly reduced, and the *SOCS-1* mRNA and SOCS-1 protein expression levels as well as the apoptotic rate were significantly increased ($P < 0.05$), and the corresponding trend of the above indicators became more obvious with the increase of DCA concentration.

Conclusion *SOCS-1* demethylation can inhibit the proliferation of ML cells and promote cell apoptosis.

Key words: myeloid leukemia; suppressor of cytokine signaling 1; methylation; cell proliferation; cell apoptosis

髓系白血病(ML)是一种具有表型和遗传异质性的恶性血液病^[1]。ML是白血病中最常见的类型,病死率高,医疗费用高,给患者及其家属带来较大的经济负担^[2]。尽管化疗联合干细胞移植已被证明可有效治疗ML,但最常见的死亡原因是骨髓衰竭,只有30%~40%的年轻患者和不到20%的老年患者可以实现长期生存^[3]。相关研究^[4]显示,ML的发生发展与抑癌基因启动子高甲基化密切相关。因此,降低抑癌基因高甲基化状态或可成为治疗ML的一种新策略。细胞因子信号转导抑制因子1(*SOCS-1*)是一种肿瘤抑制因子,在肝癌和急性髓系白血病(AML)中都发现了该基因启动子区域DNA高甲基化而导致*SOCS-1*沉默的现象^[5]。但*SOCS-1*基因启动子去甲基化对ML细胞增殖、凋亡的影响尚不完全清楚。本研究利用地西他滨(DCA)构建*SOCS-1*去甲基化的U937细胞系,研究*SOCS-1*去甲基化对U937细胞增殖、凋亡的影响,旨在为ML的治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 ML骨髓标本和细胞系

选取2018年3月—2020年3月在邯郸市中心医院收集的78例ML患者的骨髓标本作为实验组,另外收集50例健康捐献者的骨髓标本作为

对照组,所有ML患者均为首次在邯郸市中心医院确诊为ML,且未接受任何治疗。该研究得到邯郸市中心医院临床研究伦理委员会批准,所有研究对象均知情并自愿签署知情同意书。人ML细胞系U937、HL-60、K562和人骨髓基质细胞HS-5购自中国科学院上海细胞库。

1.2 主要试剂与仪器

莫洛尼鼠白血病病毒(MMLV)逆转录酶购自上海雅吉生物科技有限公司;胎牛血清(FBS)、RPMI 1640培养基、BCA试剂盒均购自美国Bio-Rad公司;TransStart® Green qPCR SuperMix购自TaKaRa公司;总蛋白提取试剂盒购自艾美捷科技有限公司;Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;CCK-8试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司;SOCS-1、 β -actin兔多克隆抗体(anti-SOCS-1、anti- β -actin)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗均购自美国Abcam公司;荧光定量PCR仪购自美国ABI公司,CO₂培养箱购自上海知楚仪器有限公司。

1.3 细胞培养与处理

采用含有10% FBS的RPMI 1640培养基培养人ML细胞系U937、HL-60、K562和人骨髓基质细胞HS-5,所有细胞均在37℃、5% CO₂的培养条件下培养。取对数生长期的U937细胞,调

整细胞浓度为 1×10^5 个/mL, 接种于 6 孔板中, 培养过夜, 参照文献^[6] 及前期预实验结果用 0、0.8、1.6、3.2 $\mu\text{mol/L}$ DCA 分别处理 U937 细胞, 并分别命名为空白组、DCA-L 组 (DCA 低剂量)、DCA-M 组 (DCA 中剂量)、DCA-H 组 (DCA 高剂量), 每组设置 6 个复孔。

1.4 甲基化特异性聚合酶链反应 (MS-PCR)

检测 *SOCS-1* 基因启动子甲基化状态

采用苯酚氯仿法抽提 ML 骨髓标本和各组 U937 细胞的 DNA, 紫外分光光度计用于检测 DNA 的纯度。将 4 μL DNA 与 40 μL 去离子水混合, 加入 10 μL 氢氧化钠 (NaOH) 溶液 (3 mol/L) 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min, 再加入 30 μL 对苯二酚 (10 mmol/L) 与 520 μL 亚硫酸氢钠 (1.5 mol/L) 于 50 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 16 h。利用 DNA 纯化试剂盒回收 DNA, 最后再加入 50 μL NaOH 溶液 (1 mol/L),

室温静置 5 min 以终止修饰, 利用无水乙醇沉淀 DNA, 经离心干燥后, 加入 15 μL 去离子水保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 环境中。亚硫酸氢钠处理的 DNA 用甲基化特异性或非甲基化特异性引物扩增, 反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 进行最后的延伸步骤。聚合酶链式反应 (PCR) 产物在 3% 琼脂糖凝胶电泳后, 用溴化乙锭染色并在紫外线照射下观察目的条带。判断甲基化标准: ① 完全甲基化, 甲基化引物扩增出现阳性条带, 非甲基化引物未扩增出条带; ② 部分甲基化, 甲基化引物、非甲基化引物均扩增出阳性条带; ③ 非甲基化, 甲基化引物未扩增出现阳性条带, 非甲基化引物扩增出阳性条带。完全甲基化、部分甲基化均为甲基化阳性。所用引物序列见表 1。

表 1 *SOCS-1* 基因启动子区域甲基化引物 (*SOCS-1 M*) 与非甲基化引物 (*SOCS-1 U*)

引物	序列	产物大小/bp
<i>SOCS-1 M</i>	正向: 5'-TTCGCCTCTATTTTATAGGTCGGTG-3'	160
	反向: 5'-CGACACAACCTCTACAACGACCC-3'	
<i>SOCS-1 U</i>	正向: 5'-TTATGACTATTGTGTCTATTTTATAGTTGGTT-3'	175
	反向: 5'-CACTAACAACAACCTCTACAACAACCA-3'	

1.5 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测

SOCS-1 mRNA 表达水平

Trizol 试剂用于从 ML 患者骨髓及 ML 细胞中分离总 RNA。利用 MMLV 逆转录酶将 RNA 逆转录为 cDNA。利用 TransStart[®] Green qPCR SuperMix 在荧光定量 PCR 仪上对 *SOCS-1* 进行扩增反应, 以 *GAPDH* 为内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法计算 *SOCS-1* mRNA 相对表达水平。所用引物序列为: *SOCS-1* 正向 5'-TGCGCCTCAAGACCTTCAG-3', 反向 5'-CATCAGGCTCTCGCTTTTGA-3'; *GAPDH* 正向 5'-CTCTGGTAAAGTGGATATTGT-3', 反向 5'-CGTGAATCATATTGGAACA-3'。

1.6 Western blot 检测 *SOCS-1* 蛋白表达水平

利用总蛋白提取试剂盒提取 ML 患者骨髓及各组细胞的总蛋白。使用 BCA 试剂盒测量总蛋白浓度。利用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离 40 μg 蛋白质, 并电印迹到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。使用 5% 脱脂牛奶封闭膜, 再加入一抗 anti-*SOCS-1* (1: 2 000)、anti- β -actin (1: 3 000) 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜, 第 2 天将膜用洗膜缓冲液 (TBST) 洗涤后,

加入 HRP 标记的羊抗兔二抗, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h, 使用 ECL 发光试剂盒观察蛋白质的显色情况, 以 β -actin 为内参, 利用 Image J 分析蛋白质条带灰度值。

1.7 CCK-8 法检测细胞增殖情况

将各组细胞以 5×10^3 个/孔的密度接种到 96 孔板中。在 DCA 处理 24、48、72 h 时, 分别向每个孔中加入 10 μL CCK-8 试剂, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 4 h 后, 使用酶标仪测量 450 nm 处光密度值 ($\text{OD}_{450 \text{ nm}}$)。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡情况

将各组细胞以 5×10^4 个/孔的密度接种到 6 孔板中, 在 DCA 处理 48 h 后收集各组细胞。在室温下将各组细胞与膜联蛋白 V-FITC 和碘化丙啶染色试剂避光孵育 15 min 后, 使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.9 统计学分析

所有数据均采用 SPSS 25.0 软件和 GraphPad Prism 5.0 进行分析, 数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, t 检验用于 2 组间比较, 单因素方差分析用于多组间比较, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SOCS-1 基因启动子甲基化状态

50 例对照标本中, *SOCS-1* 基因启动子甲基化阳性率为 0%, 78 例 ML 患者标本中 *SOCS-1* 基因启动子甲基化阳性率为 83.33%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白在 ML 患者及细胞系中的表达水平

SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白在实验组中表达水平低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1、表 2。人 ML 细胞系 U937、HL-60、K562 中 *SOCS-1* mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达低于人骨髓基质细胞 HS-5, 且 U937 细胞中 *SOCS-1* mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平最低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。因此, 以 U937 细胞为研究对象进行后续实验, 见图 2、表 3。

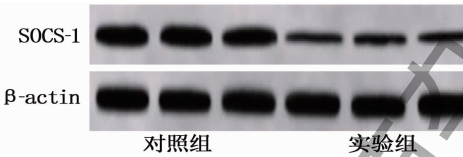
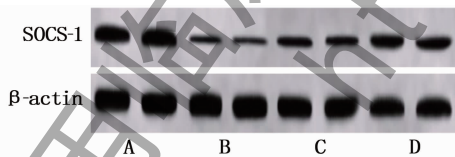


图 1 Western blot 检测 SOCS-1 蛋白表达

表 2 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白在 ML 患者和健康者中的表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOCS-1 mRNA	SOCS-1/ β -actin
对照组	50	1.03 \pm 0.14	0.86 \pm 0.11
实验组	78	0.39 \pm 0.03*	0.27 \pm 0.02*

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。



A: HS-5 细胞; B: U937 细胞; C: HL-60 细胞; D: K562 细胞。

图 2 Western blot 检测 ML 细胞系中 SOCS-1 蛋白表达

表 3 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白在 ML 细胞系中的表达水平 ($n=6$) ($\bar{x} \pm s$)

细胞	SOCS-1 mRNA	SOCS-1/ β -actin
HS-5 细胞	1.04 \pm 0.11	0.87 \pm 0.12
U937 细胞	0.38 \pm 0.04*	0.29 \pm 0.03*
HL-60 细胞	0.49 \pm 0.06*	0.36 \pm 0.07*
K562 细胞	0.56 \pm 0.07*	0.45 \pm 0.06*

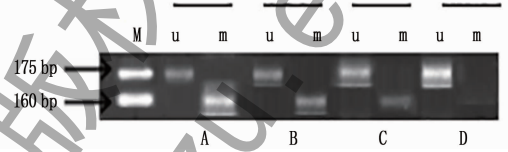
与 HS-5 细胞比较, * $P < 0.05$ 。

2.3 DCA 对 U937 细胞 SOCS-1 甲基化状态

及 SOCS-1 表达的影响

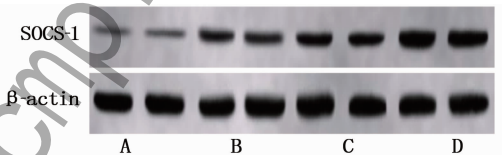
MS-PCR 结果显示, *SOCS-1* 在空白组 U937

细胞中呈高甲基化状态, 经不同浓度的 DCA 处理后, *SOCS-1* 的甲基化水平降低, 且 DCA 浓度越高, *SOCS-1* 的甲基化水平越低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。qRT-PCR 和 Western blot 结果表明, 与空白组比较, DCA-L 组、DCA-M 组、DCA-H 组中 *SOCS-1* mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达升高, 且 DCA 浓度越高, *SOCS-1* mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平越高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4、表 4。



A: 空白组; B: DCA-L 组; C: DCA-M 组; D: DCA-H 组。

图 3 MS-PCR 检测 DCA 对 U937 细胞 SOCS-1 甲基化状态的影响



A: 空白组; B: DCA-L 组; C: DCA-M 组; D: DCA-H 组。

图 4 Western blot 检测各组细胞中 SOCS-1 蛋白表达

表 4 DCA 对 U937 细胞中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达的影响 ($n=6$) ($\bar{x} \pm s$)

组别	SOCS-1 mRNA	SOCS-1/ β -actin
空白组	1.01 \pm 0.08	0.29 \pm 0.03
DCA-L 组	1.31 \pm 0.13*	0.41 \pm 0.04*
DCA-M 组	1.61 \pm 0.18**	0.58 \pm 0.06**
DCA-H 组	1.95 \pm 0.24** Δ	0.89 \pm 0.09** Δ

与空白组比较, * $P < 0.05$; 与 DCA-L 组比较, # $P < 0.05$; 与 DCA-M 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.4 各组细胞增殖能力比较

与空白组比较, DCA-L 组、DCA-M 组、DCA-H 组 U937 细胞 OD_{450 nm} 值 (24、48、72 h) 降低, 且 DCA 浓度越高, U937 细胞 OD_{450 nm} 值 (24、48、72 h) 越低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 5。

2.5 各组细胞凋亡率比较

与空白组比较, DCA-L 组、DCA-M 组、DCA-H 组 U937 细胞凋亡率升高, 且随着 DCA 浓度的升高, 细胞凋亡率逐渐升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 5、表 6。

3 讨论

ML 是一种造血干细胞恶性克隆性疾病, 其特征是未成熟髓系祖细胞的增殖失控和凋亡受

表 5 各组细胞 OD_{450 nm} 值 (24、48、72 h) 比较 (n=6) ($\bar{x} \pm s$)

组别	OD _{450 nm} 值		
	24 h	48 h	72 h
空白组	0.63 ± 0.05	1.18 ± 0.18	1.55 ± 0.15
DCA-L 组	0.52 ± 0.07*	0.85 ± 0.14*	1.19 ± 0.11*
DCA-M 组	0.41 ± 0.04*#	0.63 ± 0.12*#	0.84 ± 0.12*#
DCA-H 组	0.27 ± 0.06*#△	0.39 ± 0.03*#△	0.47 ± 0.06*#△

与空白组比较, *P<0.05; 与 DCA-L 组比较, #P<0.05; 与 DCA-M 组比较, △P<0.05。

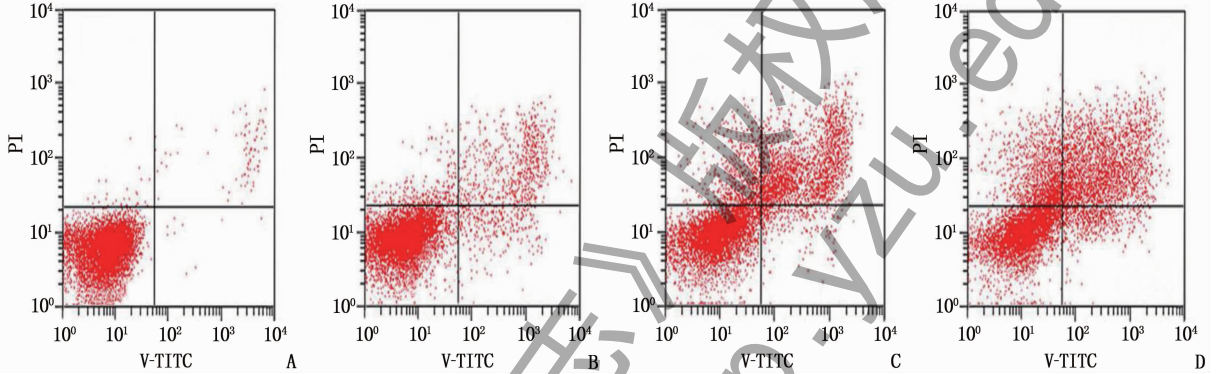


图 5 流式细胞术检测各组细胞凋亡

A: 空白组; B: DCA-L 组; C: DCA-M 组; D: DCA-H 组。

表 6 各组细胞凋亡率比较 (n=6) ($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞凋亡率/%
空白组	1.56 ± 0.23
DCA-L 组	13.87 ± 1.45*
DCA-M 组	25.72 ± 3.24*#
DCA-H 组	39.56 ± 4.61*#△

与空白组比较, *P<0.05; 与 DCA-L 组比较, #P<0.05; 与 DCA-M 组比较, △P<0.05。

阻^[7]。相关研究^[8]表明,遗传异常和表观遗传改变在 ML 的发病机制中起着至关重要的作用。DNA 甲基化异常是 ML 中最常见的表观遗传变化,该过程未涉及 DNA 序列改变,主要是通过转录前对染色体进行结构修饰,从而影响基因功能^[6]。研究^[9]证明, DNA 低甲基化和高甲基化在肿瘤发展中经常发生;基因启动子区域 CpG 岛的高甲基化通常与肿瘤抑制基因的失活有关^[10];在造血系统疾病中,异常的 DNA 高甲基化被证明与白血病的发生有关^[11]。而作为 DNA 甲基化的关键效应物 DNA 甲基转移酶(DNMT),其具有催化甲基从 S-腺苷甲硫氨酸转移到胞嘧啶 5' 位上,在 DNA 甲基化的发生中具有重要作用^[12]。因此,从抑制 DNMT 的角度出发,来减弱 DNA 甲基化成为近年来研究治疗 ML 的热门话题。

SOCS-1 是位于染色体 16p13.3 上的可编码 211 个氨基酸的基因,其能通过直接与 Janus 激酶相互作用,负向调节细胞因子信号转导通路^[13]。

据研究^[14]报告,由于启动子甲基化,SOCS-1 在许多癌症中呈低表达状态;SOCS-1 基因在成人 AML 中甲基化水平明显增高,且 SOCS-1 基因甲基化后其 mRNA 表达水平受到抑制^[15];SOCS-1 基因启动子区域甲基化可促进肝癌细胞的增殖和转移^[16]。本研究结果表明,ML 患者标本中 SOCS-1 基因启动子甲基化阳性率为 83.33%,显著高于健康对照组,且 ML 患者标本中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平显著降低,提示 SOCS-1 在 ML 中呈高甲基化状态,且 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达受到抑制;本研究还通过 qRT-PCR 检测发现人 ML 细胞系 U937、HL-60、K562 中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达显著低于人骨髓基质细胞 HS-5,且 U937 细胞中 SOCS-1 mRNA 及 SOCS-1 蛋白表达水平最低,因此以 U937 细胞为研究对象进行后续实验。

DCA 是一种新型表观遗传药物,在体内磷酸化后进入 DNA,通过抑制 DNMT 的活性,诱导 DNA 去甲基化,从而激活因启动子区域甲基化而沉默抑癌基因的表达^[17]。相关研究^[18]证实,DCA 适用于不适合高剂量治疗的老年人和移植患者,已成为老年 AML 患者的一线治疗药物;体外应用 DCA 有助于抑制 hPer3 基因甲基化,进而诱导 hPer3 基因表达和促进 AML 细胞凋亡^[19];DCA 可抑制 SHP-1 基因甲基化,进而抑制骨髓增生异

常综合征细胞的增殖,诱导其凋亡^[20]。为了进一步研究 *SOCS-1* 去甲基化对 U937 细胞增殖、凋亡的影响,本研究利用 0.8、1.6、3.2 $\mu\text{mol/L}$ DCA 构建 *SOCS-1* 去甲基化的 U937 细胞系,结果表明 *SOCS-1* 在空白组 U937 细胞中呈高甲基化状态,经不同浓度的 DCA 处理后, *SOCS-1* 的甲基化水平显著降低,且 DCA 浓度越高, *SOCS-1* 的甲基化水平越低,提示 *SOCS-1* 去甲基化的 U937 细胞系构建成功。此外,经 DCA 处理后, U937 细胞的增殖能力降低,凋亡能力增强,且 DCA 浓度越高,这种趋势越显著,提示 *SOCS-1* 去甲基化可抑制 U937 细胞增殖、促进细胞凋亡,这与张晓慧等^[21] 研究结果相一致,其研究表明在 AML 中通过将 *DNMT* 基因敲除可将 *SOCS-1* 基因去甲基化,上调 *SOCS-1* 基因表达,进而抑制肿瘤发展,促进肿瘤细胞凋亡。

综上所述, *SOCS-1* 去甲基化可抑制 U937 细胞增殖、促进细胞凋亡。因此,从降低 *SOCS-1* 甲基化角度来研究治疗 ML 可能成为一个新的策略。

参考文献

[1] LAGUNAS-RANGEL F A, CHÁVEZ-VALENCIA V, GÓMEZ-GUIJOSA M Á, *et al.* Acute myeloid leukemia-genetic alterations and their clinical prognosis[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2017, 11(4): 328-339.

[2] ZEIDAN A M, MAHMOUD D, KUCMIN-BEMELMANS I T, *et al.* Economic burden associated with acute myeloid leukemia treatment[J]. *Expert Rev Hematol*, 2016, 9(1): 79-89.

[3] KLEPIN H D, ESTEY E, KADIA T. More versus less therapy for older adults with acute myeloid leukemia, new perspectives on an old debate[J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2019, 39: 421-432.

[4] 吴明彩, 蒋明, 薛梦雅, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯促进急性髓系白血病细胞凋亡的机制[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(9): 1230-1238.

[5] TISATO V, NORCIO A, CELEGHINI C, *et al.* Upregulation of *SOCS-1* by Nutlin-3 in acute myeloid leukemia cells but not in primary normal cells[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2014, 69(1): 68-74.

[6] 张曼, 蔡林衡, 杨海平, 等. DR4 去甲基化对髓系白血病 K562 细胞增殖凋亡作用的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2021, 29(2): 422-427.

[7] DÖHNER H, WEISDORF D J, BLOOMFIELD C D. Acute myeloid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(12): 1136-

1152.

[8] LI S, MASON C E, MELNICK A. Genetic and epigenetic heterogeneity in acute myeloid leukemia[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2016, 36: 100-106.

[9] KULIS M, ESTELLER M. DNA methylation and cancer[J]. *Adv Genet*, 2010, 70: 27-56.

[10] KIM S Y, HAN Y K, SONG J M, *et al.* Aberrantly hypermethylated tumor suppressor genes were identified in oral squamous cell carcinoma (OSCC)[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 116.

[11] SCHOOF S T, MÜLLER-TIDOW C. DNA methylation as a pathogenic event and as a therapeutic target in AML[J]. *Cancer Treat Rev*, 2011, 37(Suppl 1): S13-S18.

[12] YANG L B, RAU R, GOODELL M A. DNMT3A in haematological malignancies[J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(3): 152-165.

[13] FUKUSHIMA N, SATO N, SAHIN F, *et al.* Aberrant methylation of suppressor of cytokine signalling-1 (*SOCS-1*) gene in pancreatic ductal neoplasms[J]. *Br J Cancer*, 2003, 89(2): 338-343.

[14] PRÉLE C M, IOSIFIDIS T, MCANULTY R J, *et al.* Reduced *SOCS1* expression in lung fibroblasts from patients with IPF is not mediated by promoter methylation or Mir155[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(5): 498.

[15] 庄衍, 程毅敏, 汪雷, 等. 成人急性髓系白血病 *SOCS-1* 基因及其甲基化的研究[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(18): 3417-3420.

[16] 龙云铸, 贺萧瑾, 李丹, 等. HBx 介导 *SOCS-1* 基因甲基化致肝细胞癌发生的机制[J]. *肝脏*, 2020, 25(2): 202-205.

[17] ZHU Z C, LU X Z, JIANG L J, *et al.* STAT3 signaling pathway is involved in decitabine induced biological phenotype regulation of acute myeloid leukemia cells[J]. *Am J Transl Res*, 2015, 7(10): 1896-1907.

[18] LÜBBERT M, RÜTER B H, CLAUS R, *et al.* A multicenter phase II trial of decitabine as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia judged unfit for induction chemotherapy[J]. *Haematologica*, 2012, 97(3): 393-401.

[19] 王晔恺, 周吉航, 周世权, 等. 急性髓系白血病患者 hPer3 基因启动子甲基化状态及其去甲基化对白血病细胞增殖的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(5): 317-321.

[20] 韩颖, 张晋, 季静, 等. 地西他滨抑制 *SHP-1* 基因甲基化对 MDS 细胞株 Skm-1 增殖及凋亡影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(5): 1561-1567.

[21] 张晓慧, 罗建民, 索晓慧, 等. *SOCS1* 的表观遗传学修饰与急性髓系白血病的关系[J]. *中国癌症杂志*, 2020, 30(8): 577-585.

(本文编辑:周娟)