

· 论 著 ·

人类巨细胞病毒对粒系祖细胞分化过程中 HOXA9 基因表达的影响*

陈 艾, 陈红英, 刘文君[△]

(泸州医学院附属医院儿科, 四川 646000)

摘要:目的 探讨脐血造血干祖细胞(HSPC)向粒系祖细胞(CFU-G)增殖过程中 HOXA9 基因表达情况,并且用人类巨细胞病毒(HCMV)进行干扰,探讨 HCMV 对 HOXA9 基因的影响。**方法** 体外定向培养 CFU-G,经 MTT 法检测后,HCMV-AD₁₆₉ 滴度为 10⁶ 蚀斑形成单位(PFU)/mL,按 0.1 mL 10⁵ PFU/mL 接种培养体系。采用 RT-PCR 技术测定 HOXA9 基因表达。**结果** 随时间推移,HOXA9 基因在增殖分化的第 7 天表达最强烈,第 12 天表达明显减弱;HOXA9 基因受 HCMV 影响下调($P < 0.05$)。**结论** HOXA9 基因在脐血粒系祖细胞发育过程中呈规律表达,提示 HOXA9 基因与粒系造血活动有相关性;HCMV 下调 HOXA9 表达的同时,HCMV 干扰细胞集落生成较正常组差,提示 HCMV 可能通过调控 HOXA9 基因表达异常引起 HSPC 增殖分化异常。

关键词:巨细胞病毒;粒系祖细胞;HOXA9 基因

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.15.003

中图分类号:R373;R551

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)13-1942-03

Expression of HOXA9 homeobox gene in Granulocyte differentiation infected with HCMV*

CHENG Ai, CHEN Hong-ying, LIU Wen-jun[△]

(Department of pediatrics, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of HOXA9 gene on the differentiation of hematopoietic stem-progenitor cell to colony forming unit-granulocyte of normal group and HCMV group. **Methods** Normal CFU-G culture was used as blank control. After MTT detection, HCMV of 10⁶ PFU (plaque formation unit, PFU) /ml was diluted to 0.1 mL 10⁵ PFU/mL and added into the infected group. The expression of HOXA9 gene by Real-time Quantitative Polymerase chain Reaction method. **Results** Compared with the expression on day 3, the level of HOXA9 was obviously higher on day 7 and lower on day 12 respectively in each group ($P < 0.05$). Compared with the normal group, the expression of HOXA9 of were down-regulated by HCMV ($P < 0.05$). **Conclusion** Homeobox genes (HOX) have a regulatory function in the differentiation process of hematopoiesis. The HOXA9 gene significantly play a important role in the process of Granulocyte differentiation. HCMV (0.1 mL 10⁵ PFU /mL) can down-regulate the expression of HOXA9 and lead a suppression effect on the cell morphology, which confirm the theory that the normal hematopoietic lineage determination and maturation rely on the stable and consistently expression of Homeobox genes.

Key words: human cytomegalovirus; colony forming unit-granulocyte; HOXA9 homeobox gene

人类巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)感染较为普遍,大量研究显示,HCMV 几乎可感染人体所有组织和器官^[1],造血系统是其感染的主要受累部位之一。造血干祖细胞(hematopoietic stem-progenitor cell, HSPC)是 HCMV 感染和潜伏的主要靶细胞。体外实验已证实,HCMV 能感染骨髓造血祖细胞,抑制其增殖和分化,导致造血干细胞移植失败。因此,研究 HCMV 对脐血 HSPC 抑制作用的机制具有十分重要的意义。

同源盒基因(homeobox genes, HOX)家族是一类在进化过程中高度保守的基因,在时间和空间上对生物体生长发育进行调控,是 HSPC 增殖分化的主控基因,参与造血调控,影响 HSPC 的增殖分化。HCMV 可诱导 HOX 基因表达的改变^[2],但是否影响祖细胞 HOX 基因表达变化,目前尚不清楚。

本文主要探讨 HSPC 向脐血粒系祖细胞(colony forming unit-granulocyte, CFU-G)分化过程中 HOXA9 基因表达情况,以及 HCMV 对此基因的影响,以进一步明确 HOXA9 基因是否是粒系的主控基因之一;HCMV 是否能影响 HOX 基因的表达来抑制脐血 CFU-G 增殖分化,在基因层次上初步了解

HCMV 导致血液系统疾病发生的机制。

1 材料与方

1.1 材料 所有脐血标本由本院产科提供,取自正常足月顺产新生儿断脐后胎盘段脐血(经产妇和家属书面同意)。其母亲健康,且血常规正常,HBsAg 阴性,常规 ELISA 检测抗 HCMV-IgM 及 PCR 检测 HCMV-DNA 均为阴性。HCMV-AD₁₆₉ 株由中国预防医学科学院病毒研究所提供,滴度为 10⁶ 蚀斑形成单位(plaque formation unit, PFU)/mL。应用前将部分病毒原液以单倍 IMDM 分别稀释 10 倍以获取 10⁵ PFU/mL 病毒液, -70 °C 低温冰箱保存备用(10⁶ PFU/mL 稀释 10 倍后为 10⁵ PFU/mL 与结果部分不符)。PCR 扩增仪(GeneAmp PCR System 9600)购自美国 PERKIN 公司,FTC2000 实时荧光定量基因扩增仪购自加拿大枫岭公司,TransferMan NK2 悬浮细胞显微操作系统购自德国 Eppendorf 公司,IMDM 培养基购自美国 SIGMA 公司(批号 12100-36),Trizol 裂解液购自美国 Gibco 公司,重组人粒细胞刺激因子由杭州九源基因工程有限公司生产(批号 20070301)。

1.2 研究方法

* 基金项目:四川省教育厅重点科研基金资助项目(2004A058)。

[△] 通讯作者,电话:(0830)3165610;E-Mmail:lwjlyfy@yahoo.com.cn。

表 1 目的基因及 TAQ man 探针引物序列

基因	Primer F	primer R	TAQ man 探针
HOXA9	5'-CTTTGTCCTGACTGACTATG-3'	5'- TGGCTGCTGGGTTATTGG-3'	5'-FAM- CCCAGCGAAGGCGCCTTCTCT- TAMRA- 3'
GAPDH	5'-CCTCAAGATCATCAGCAAT-3'	5'-CCATCCACAGTCTTCTGGGT-3'	5'- FAM- ACCACAGTCCATGCCAT CAC- TAMRA- 3'

1.2.1 脐血单个核细胞(CBMC)的分离 将新鲜抗凝脐血用缓冲液对等稀释,混匀后轻轻加于 3 mL 淋巴细胞分离液上离心(离心半径 25.53 cm,2 000 r/min 离心 20 min),吸取淋巴细胞分离液表面上的云雾状有核细胞层,用缓冲液混匀后,离心洗涤 2 次(离心半径 25.52 cm,800 r/min 离心 10 min),弃上清液,用培养液 IMDM 混匀细胞,计数后调整细胞浓度为 2×10^6 /mL。

1.2.2 CFU-G 培养方法 按照本室建立的方法进行,胎牛血清体外细胞培养法加以改进。培养体系为 CBMC 悬液 3×10^9 /mL,30%胎牛血清、G-CSF(100 ng/mL)、 9×10^{-4} mmol/L 2-巯基乙醇(2-ME)、0.1 mL 10^5 PFU/mL HCMV-AD₁₆₉ 病毒液,适量 DMEM/F12。每孔总体积为 1.1 mL,设置 6 孔复孔,以便细胞总量能达到提取 RNA 细胞数。分为 2 组:空白对照组不加 HCMV 病毒液,代以等量 DMEM/F12 培养液;HCMV 组加 HCMV-AD₁₆₉,滴度为 10^6 PFU/mL,按 0.1 mL 10^5 PFU/mL 接种于培养体系中。

1.2.3 细胞总 RNA 提取 将收集的各组第 3、7、12 天细胞抽提总 RNA 溶于 DEPC-H₂O 中,用分光光度计定量,取 9 μ L 经 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测,各组总 RNA 分别标记后 -80 $^{\circ}$ C 冷冻保存。

1.2.4 cDNA 制备 根据 HOXA9 序列设计引物和 TaqMan 探针序列,由 TaKaRa 公司合成并经质量检测,用 Primer5.0 软件设计。开盖前短暂离心,稀释至 10 pmol/ μ L 备用。2 μ L 总 RNA,0.9 μ L 核糖核酸酶抑制剂,2 μ L 引物,1 μ L MmuLV 逆转录酶,加 DEPC-H₂O 至总体积为 8 μ L。按常规步骤逆转录为 cDNA,见表 1。

1.2.5 PCR 标准品制备 用体外扩增第 3 天分离的粒系细胞 RNA 制备得的 cDNA 作为标准品,用分光光度计定量,然后逐级按 10^0 、 10^1 、 10^2 、 10^3 稀释,设其相对拷贝数为 1×10^4 、 1×10^3 、 1×10^2 、 1×10^1 /mL。以样品拷贝数的对数为横坐标,Ct 值为纵坐标,拟合标准曲线。

1.2.6 适时荧光定量聚合酶链反应 将 5 μ L 模板 cDNA 反应液加入 0.2 mL 无菌薄壁 PCR 管中,顺序加入 5 μ L $10 \times$ PCR Buffer,5 μ L 25 mM MgCl₂,1 μ L 25 mM dNTP Mix,10 μ M 上、下游引物各 2 μ L,1 μ L Taq DNA 聚合酶(5 u/ μ L)及 DEPC-H₂O,总体系为 50 μ L。设定扩增条件,扩增循环 39 次。

1.3 统计学方法 数据由 ABI PRISM7000 自带软件完成,通过相应的程序计算出所有标准品、样品的标准品及样本 Ct 值,再用比较阈值法计算扩增倍数,用传统算法计算相对拷贝数。DNA 相对拷贝数以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 TWO-WAY AONVA 进行方差分析,显著水平为 0.05。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。组间均数两两比较用 LSD 法。由 SPSS13.0 统计软件完成。

2 结 果

2.1 细胞培养情况 CFU-G 培养 24 h 后在倒置显微镜下可见双细胞,第 3 天可见小集落,以后集落逐渐增大,第 7 天达高峰,然后集落逐渐崩解,细胞逐渐死亡。当集落形成后,倒置显微镜用毛细吸管小心取单个集落置于载玻片上,用力吹散,用

瑞氏染色法光镜观察,鉴定细胞为粒细胞。

2.2 基因表达情况

2.2.1 目的基因扩增电泳图 与 Marker 比较,扩增产物大小:HOXA9 为 144 bp,GAPDH 为 141 bp,与预定理论值大小符合(图 1)。cDNA 条带清晰,且没有杂带,RT-PCR 扩增成功。

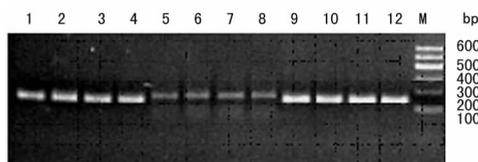


图 1 HOXA9 基因电泳图(1~4 泳道)

2.2.2 HOXA9 基因的表达 与正常组比较,HCMV 组 HOXA9 基因表达量明显下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HOXA9 基因表达有时间上的规律性,第 7 天比第 3、12 天表达量明显上调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而第 3 天与第 12 天比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 HOXA9 基因表达情况(相对拷贝数, $\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

时间(d)	空白对照组	HCMV 组	t	P
3	0.786 7 \pm 0.019 2*	0.710 8 \pm 0.018 3*#	5.78	0.034
7	0.922 5 \pm 0.096 5*	0.780 0 \pm 0.070 1*#	6.04	0.016
12	0.827 5 \pm 0.024 5*	0.749 2 \pm 0.123 2*#	5.24	0.029

#:与空白对照组比较, $P < 0.05$;*:同组不同时间点两两比较, $P < 0.05$ 。

3 讨 论

3.1 HCMV 感染能引起粒系 HSPC 的损害 HCMV 是人群中广泛存在的感染因子,人是 HCMV 的惟一宿主。HCMV 感染的特征是出现典型的胞浆及核内包涵体的巨大细胞,其在人体组织中可形成肥大的细胞,引起巨细胞包涵体病。HCMV 是可以透过胎盘传递的最常见病毒之一,引起先天性 HCMV 感染。在大多数发达国家,10%~20% 儿童在青春期后被感染,抗 HCMV-IgG 阳性率在成年后持续增加,成人中抗 HCMV-IgG 阳性率达 40%~100%^[3]。随着对 HCMV 研究的深入,发现在新生儿、器官移植受者、获得性免疫综合征等免疫功能低下人群,HCMV 可以引起严重临床症状。HCMV 主要潜伏在整个造血系统尤其是 HSPC,通过抑制细胞免疫、诱导细胞凋亡、逃避吞噬细胞溶酶体的降解而潜伏性感染,并且经过转移活化刺激、细胞分化和细胞因子等作用再激活,导致骨髓抑制、血小板减少和免疫功能紊乱等。

本实验选取 HOXA9 基因为目的基因,用 HCMV 干扰人脐血 HSPC 向粒系定向增殖分化过程,以观察 HCMV 是否能作用于上述两基因的表达。结果显示,用滴度为 10^6 PFU/mL HCMV-AD₁₆₉,按 0.1 mL 10^5 PFU/mL 接种培养体系后,HCMV 组集落数较空白对照组明显减少,集落维持时间明显缩

短;其基因表达量与空白对照组比较,明显下调。进一步证实了 HCMV 导致造血功能异常与其对基因表达的调控有关,提示 HCMV 可能通过对 HOXA9 基因表达的调控产生对 CFU-G 损伤。

国外研究发现,HCMV 可直接或间接抑制所有 HSPC 集落形成。HCMV-AD₁₆₉ 可抑制 CFU-G、CFU-E、CFU-Mix 及 CFU-MK 的分化和增殖;HCMV 感染可以引起粒单系 HSPC 姐妹染色体互换(sister chromatid exchange,SCE)^[4],提示 HCMV 对 HSPC 的 DNA 或染色体有直接损害作用。可能是 HCMV 感染导致粒细胞和血小板减少及贫血的原因之一^[5]。本研究发现,在 HSPC 培养体系中加入不同滴度 HCMV-AD₁₆₉ 后,培养脐血 CFU-G,发现 HCMV 对 CFU-G 集落形成有明显抑制作用,且抑制程度随 HCMV 滴度不同而有差异,集落数随病毒感染滴度的增高而减少,抑制率随病毒感染滴度的增高而逐渐增加;集落维持时间在 HCMV 感染组较空白对照组明显缩短,提示 HCMV 能明显抑制脐血粒-巨噬祖细胞的增殖^[6]。

3.2 HOXA9 基因在造血细胞分化中的作用 HOX 基因编码一类转录因子,以种系特异性和阶段特异性的方式参与造血干细胞的发育和分化调控。39 个人类 HOX 基因形成 4 簇,即 HOXA、HOXB、HOXC、HOXD,分别位于染色体 7p14、17q21、12q13 和 2q3。HOXA 位于 5'末端的 4 个亚基因簇(HOXA9、10、11、12)不在红系中表达,而在粒细胞和淋巴细胞系及巨核系中表达。HOXA 簇基因主要表达于粒单系。有研究表明,HOXA9 基因在正常 CD34⁺ 干细胞中有表达,但随细胞不断分化表达水平逐渐下降。敲除 HOXA9 基因的小鼠出现髓系、淋系及红系的三系造血障碍;骨髓细胞中 HOXA9 的过表达则会导致细胞的过度增生^[7]。这些实验说明,造血过程中 HOX 基因的表达受到严格的调控,其异常表达对造血细胞的增殖、分化及凋亡都有影响。HOXA9 基因作为调控因子参与了早期的造血活动。Chiba^[8] 也证明,大鼠 HOXA9 基因表达被阻止后可引起髓系、红系和 B 细胞祖细胞数量明显减少。人类 HSC 包括慢分化细胞和快分化细胞,HOXA9 参与慢分化细胞的自我更新,有助于维持造血干细胞(HSC)的数量^[9]。在粒-单细胞集落刺激因子(GM-CSF)或白介素 3 存在的条件下,HOXA9 表达增加可使鼠的骨髓原代单核细胞系祖细胞永生,并显示前髓细胞的转录特征,表达其相应蛋白^[10]。Magnusson 等^[11] 采用竞争性增殖法和免疫荧光激活细胞分选技术,对通过 HOXB3/HOXB4^{-/-} 小鼠和 HOXA9^{-/-} 小鼠杂交形成 HOXA9/B3/B4^{-/-} 突变小鼠,检测造血干细胞的功能时发现:HOXA9/B3/B4^{-/-} 小鼠体重较小,脾脏细胞明显减少,粒-巨噬细胞集落形成单位和脾集落形成单位正常,但 HOXA9/B3/B4^{-/-} 骨髓造血干细胞的免疫表型(Lin⁺、c-kit⁺、Sca-1⁺、CD150⁺)明显增多。进一步发现重组 HOXA9^{-/-} 的造血干细胞并没有比 HOXA9/B3/B4^{-/-} 造血干细胞多。这些研究结果表明,HOXA9 对造血干细胞的增殖与分化起到重要的作用。HOXA9 在髓系细胞中与 CYBB 基因近端启动子中的顺式元件结合诱导其转录。HOXA9 永生化的髓系祖细胞在粒系细胞集落刺激因子(G-CSF)的诱导下分化形成成熟的中性粒细胞并表达多种基因。HOXA9 也是调节祖细胞数量的分子开关之一,该分子开关在不同细胞素的刺激下调节着造血过程^[12]。HOXA9 在正常骨髓 CD34 阳性细胞均有表达,而随原始细胞的分化成熟,其表达下调^[13]。Lawence 等^[14] 用定

点诱变(targeted interruption)的方法造成小鼠 HOXA9 基因缺失,则小鼠外周血白细胞与淋巴细胞总数减少 30%~40%,粒细胞对 G-CSF 的反应性降低,小鼠胸腺和脾脏的体积明显变小,骨髓中粒系、红系和前 B 祖细胞数目也显著减少。但混合集落,如培养 12 d 的脾集落形成单位(CFU-spleen)或长期培养的起始细胞(long-term-culture initiating cells,LTC-IC)则无明显减少,提示 HOXA9 基因去表达不改变早期 HSC 数量而主要是影响定向造血祖细胞(HPC)水平。用亚致死量的放射线照射 HOXA9 基因缺失的小鼠,则全血细胞减少。若用逆转录病毒将 HOXA9 导入,则能明显增强 HSPC 的增殖分化,表明 HOXA9 是造血细胞正常分化所必需的基因^[15]。

本实验采用液体培养 CFU-G 集落细胞,以 HCMV-AD₁₆₉ 株作为攻击病毒持续性感染 HSPC,同时用空白对照组作对照,通过对 HCMV 影响脐血 CFU-G 集落数和生长时间的研究,并在一定时间内收集细胞,采用荧光定量 PCR 技术研究人 HSPCHOXA9 基因的表达状态及 HCMV 感染后的人 HSPCHOXA9 基因的表达状态,结果发现 HCMV 在体外与空白对照组比较,能明显缩短 CFU-G 集落维持时间,抑制集落的形成,且 HOXA9 基因的表达在第 3、7、12 天与空白对照组比较均明显下调。说明 HCMV 可能是通过调控 HOXA9 基因的表达,从而影响 HSPC 的正常发育、增殖和分化,进而导致机体造血功能的损害。

参考文献:

- [1] Bissinger AL, Sinzger C, Kaiserling E, et al. Human cytomegalovirus as a direct pathogen: correlation of multiorgan involvement and cell distribution with clinical and pathological findings in a case of congenital inclusion disease[J]. J Med Virol, 2002, 67: 200.
- [2] 戴橄, 陈利玉, 李太存, 等. 人类巨细胞病毒对 U251 细胞 HoxB1 表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2003, 15(15): 7.
- [3] 刘文君, 郭渠莲, 杨燕玲. 人巨细胞病毒感染对人骨髓粒-单系祖细胞生长的影响[J]. 中国实用儿科杂志, 2000, 19(2): 91.
- [4] Jong MD, Galasso GJ, Gazzard B, et al. Summary of the II international symposium on cytomegalovirus[J]. Antiviral Res, 1998, 39(3): 141.
- [5] 张迎春, 李守超, 段全纪, 等. 人巨细胞病毒感染对脐血粒-单祖细胞集落染色体 SCE 的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 13(9): 32.
- [6] 何政贤, 潘思年, 陈健良, 等. 人巨细胞病毒对造血系统的影响[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(5): 321.
- [7] Vanden-Heuvel GB, Brantley JG. Hepatomegaly in transgenic mice expressing the homeobox gene Cux-1[J]. Mol Carcinog, 2009, 43(1): 18.
- [8] Chiba S. Homeobox genes in normal hematopoiesis and leukemogenesis [J]. Int J Hematol, 1998, 68(4): 343.
- [9] Sykes, Mark P, Kamps. Estrogen-dependent E2a/Pbx1 myeloid cell lines exhibit conditional differentiation that can be arrested by other leukemic oncoproteins [J]. Blood, 2001, 98: 2308.
- [10] Thorsteinsdottir U, Mamo A, Kroon E, (下转第 1947 页)

用^[7],而且抑制胰腺癌、前列腺癌、胃癌和乳腺癌细胞的迁移^[8-11]。然而对 PKD1 参与的肿瘤生长、侵袭和迁移的信号通路的精确调节机制还了解甚少。因此对 PKD1 下游靶分子的调控研究,尤其对转录因子激活的研究将有助于阐明 PKD1 在肿瘤发生和进展中的机制,并为治疗提供新的途径。

AP1 是多种信号通路的下游转录因子,可以被包括 PMA 在内的多种刺激所诱导活化,从而与基因上游调控序列中的 TPA 反应元件(TRE)结合,激活许多与肿瘤有关的基因,如细胞周期素、金属蛋白酶、胶原酶等的表达,调控细胞生长、凋亡等多种生理过程^[4-5]。本研究利用双色荧光素酶报告基因系统,探讨 PKD1 对 AP1 转录因子报告基因的转录激活作用,首次证实人类 HeLa 细胞中 PKD1 过表达明显增强 AP1 转录激活(图 2),而与 pcDNA-PKD1 过表达比较,pcDNA-PKD1-DN 则显著降低 AP1 转录激活(图 2)。由于 pcDNA-PKD1-DN 是在其催化结构域 733 位点进行 D733A 定点突变,不能结合 ATP,因而丧失了 PKD1 的激酶活性^[12]。上述结果提示 PKD1 对 AP1 的转录激活部分依赖于 PKD1 的激酶活性。

siRNA 的靶向特异性是抑制或敲低内源性基因表达的关键。为此作者利用 Invitrogen 公司设计并证实具有抑制作用的 PKD1 Validated Stealth TM RNAi DuoPak 与 AP1 的萤火虫荧光素酶报告质粒 pAP1-luc 及海肾荧光素酶报告质粒 pRL-SV40 共转染人 HeLa 细胞,结果表明,si-PKD1 明显敲低 HeLa 细胞中内源性 PKD1 表达(图 3),而且双色荧光素酶报告基因检测表明,敲低内源性 PKD1 表达可明显降低 HeLa 细胞 AP1 转录激活(图 4)。上述结果进一步证实,PKD1 通过其激酶活性增强 AP1 转录激活作用,提示 PKD1 通过激活 AP1 转录激活而调节相关靶基因表达。但 PKD1 调控的 AP1 靶基因以及在肿瘤发生、进展及侵袭和迁移中的作用尚有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Wang QJ. PKD at the crossroads of DAG and PKC signaling[J]. Trends Pharmacol Sci, 2006, 27(6): 317.
- [2] Rozengurt E, Rey O, Waldron RT. Protein kinase D signaling[J]. J Biol Chem, 2005, 280(14): 13205.
- [3] Jaggi M, Du C, Zhang W, et al. Protein kinase D1: a pro-tein of emerging translational interest[J]. Front Biosci, 2007, 12: 3757.
- [4] Lopez-Bergami P, Lau E, Ronai Z. Emerging roles of ATF2 and the dynamic AP1 network in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(1): 65.
- [5] Shaulian E. AP-1—The Jun proteins: Oncogenes or tumor suppressors in disguise[J]. Cell Signal, 2010, 22(6): 894.
- [6] Eferl R, Wagner EF. AP-1: a double-edged sword in tumorigenesis[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(11): 859.
- [7] Trauzold A, Schmiedel S, Sipos B, et al. PKCmu prevents CD95-mediated apoptosis and enhances proliferation in pancreatic tumour cells [J]. Oncogene, 2003, 22(55): 8939.
- [8] Eiseler T, Schmid MA, Topbas F, et al. PKD is recruited to sites of actin remodelling at the leading edge and negatively regulates cell migration[J]. FEBS Lett, 2007, 581(22): 4279.
- [9] Jaggi M, Rao PS, Smith DJ, et al. E-cadherin phosphorylation by protein kinase D/protein kinase C{mu} is associated with altered cellular aggregation and motility in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2005, 65(2): 483.
- [10] Eiseler T, Doepler H, Yan IK, et al. Protein Kinase D1 regulates MMP expression and inhibits breast cancer cell invasion[J]. Breast Cancer Res, 2009, 11(1): R13.
- [11] Kim M, Jang HR, Kim JH, et al. Epigenetic inactivation of protein kinase D1 in gastric cancer and its role in gastric cancer cell migration and invasion[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(3): 629.
- [12] Iglesias T, Cabrera-Poch N, Mitchell MP, et al. Identification and cloning of Kidins220, a novel neuronal substrate of protein kinase D [J]. J Biol Chem, 2000, 275(51): 40048.

(收稿日期:2010-06-29)

(上接第 1944 页)

- et al. Overexpression of the myeloid leukemia-associated HXOA9 gene in bonGiampaolo A, Felli N, Diverio D, et al. Expression pattern of HOXB6 homeobox gene in myelomonocytic differentiation and acute myeloid leukemia [J]. Leukemia, 2002, 16(7): 1293.
- [11] Magnusson M, Brun AC, Lawrence HJ, et al. HXOA9/hoxb3/hoxb4 compound null mice display severe hematopoietic defects[J]. Exp Hematol, 2007, 35(9): 1421.
- [12] Wagner W, Ansorge A, Wirkner U, et al. Molecular evidence for stem cell function of the slow dividing fraction among human Hematopoietic progenitor cells by genome-wide analysis[J]. Blood, 2004, 104(3): 675.
- [13] Calvo KR, Sykes DB, Pasillas M, et al. Hoxa9 immortalizes a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-

dependent promyelocyte capable of biphenotypic differentiation to neutrophils or macrophages, independent of enforced meis expression [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(9): 3274.

- [14] Lawrence HJ, Sauvageau G, Ahmadi N, et al. Stage- and lineage-specific expression of the HoxA10 homeobox gene in normal and leukemic hemtopoietic cells[J]. Exp Hematol, 1995, 2(11): 1160.
- [15] Calvo KR, Knoepfler PS, Sykes DB, et al. Meis 1a suppresses differentiation by G-CSF and promotes proliferation by SCF: Potential mechanisms of cooperativity with Hoxa9 in myeloid leukemia [J]. PNAS, 2001, 98(23): 13120.

(收稿日期:2009-06-23 修回日期:2010-01-13)