

腺病毒介导的 $PML(NLS^-)$ 对大黄素引起的 HL-60 细胞存活的影响及其机制*

高远梅^{1,2}, 刘北忠^{1,2△}, 张曦², 胡秀秀², 钟梁²

1. 重庆医科大学附属永川医院 中心实验室 (重庆 402160); 2. 重庆医科大学 临床检验诊断学教育部重点实验室 (重庆 400016)

【摘要】 目的 探讨 $PML(NLS^-)$ 对大黄素引起的人 HL-60 细胞凋亡的影响及其机制。**方法** 将构建成功的重组腺病毒 Ad- $PML(NLS^-)$ 和空载病毒 Ad-KZ 分别感染 HL-60 细胞,并设空白对照组。RT-PCR 法和 Western blot 法检测各组细胞 $PML(NLS^-)$ 基因 mRNA 和蛋白的表达水平;MTT 法分析腺病毒感染各组经 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理后的细胞的增殖能力;各组感染 HL-60 细胞经 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理后,FCM 法分析细胞周期分布和凋亡率;并用 RT-PCR 法和 Western blot 法分别检测各组细胞凋亡相关基因 $C-MYC$ 、 $BCL-2$ 和 BAX 的 mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 与空白对照组和空载病毒组比较,RT-PCR 和 Western blot 结果显示,Ad- $PML(NLS^-)$ 组细胞内的 $PML(NLS^-)$ 表达水平明显增高。各组细胞经大黄素处理后,MTT 结果显示,感染 Ad- $PML(NLS^-)$ 的 HL-60 细胞增殖能力明显提高;FCM 结果显示,感染 Ad- $PML(NLS^-)$ 的 HL-60 细胞处于 G_1 期细胞比例降低,S 期细胞比例增高 ($P < 0.05$),且凋亡率降低 ($P < 0.05$);细胞内 $BCL-2$ 和 $C-MYC$ 基因 mRNA 的转录和蛋白表达水平增高, BAX 基因 mRNA 的转录水平和蛋白表达水平均下降。**结论** 过表达 $PML(NLS^-)$ 基因能够促进经过 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理的 HL-60 细胞的增殖,可能通过上调 $BCL-2$ 和 $C-MYC$ 基因的表达、下调 BAX 基因的表达抑制细胞凋亡。

【关键词】 $PML(NLS^-)$ 基因 白血病 HL-60 细胞 凋亡

Effect of $PML(NLS^-)$ Gene Mediated by Recombinant Adenovirus Vector on Emodin-induced Apoptosis of HL-60 Cells
GAO Yuan-mei^{1,2}, LIU Bei-zhong^{1,2△}, ZHANG Xi², HU Xiu-xiu², ZHONG Liang². 1. Central Laboratory of Yongchuan Hospital Affiliated Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Key Laboratory of Laboratory of Medical Diagnostics of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

△ Corresponding author, E-mail: liubeizhong@cqmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To determine the effect and mechanism of action of $PML(NLS^-)$ gene on emodin-induced apoptosis of human HL-60 cells. **Methods** HL-60 cells were infected with recombinant adenovirus Ad- $PML(NLS^-)$ and Ad-KZ, respectively. The $PML(NLS^-)$ gene was detected by Real-time PCR(RT-PCR) and Western blot. The proliferation level of the HL-60 cells was determined by MTT method. The HL-60 cells were treated with 60 $\mu\text{mol/L}$ emodin for 72 h and then analyzed by flow cytometry for their cell cycle and apoptosis rate. The transcription levels of apoptosis-related $BCL-2$, BAX and $C-MYC$ genes were determined by RT-PCR. The translation levels of those genes were determined by Western blot. **Results** Compared with normal controls and the HL-60 cells infected with Ad-KZ, the mRNA and protein expression levels of $PML(NLS^-)$ gene increased significantly in the HL-60 cells infected with Ad- $PML(NLS^-)$. Increased proliferation levels of the Ad- $PML(NLS^-)$ infected HL-60 cells were observed in those treated with 60 $\mu\text{mol/L}$ emodin, which showed decreased percentage of cells at G_1 phase, increased percentage of cells at S phase, and decreased emodin-induced apoptosis. The levels of mRNA transcription and protein expression of BAX gene decreased, while those of $BCL-2$ and $C-MYC$ genes increased significantly. **Conclusion** The over-expression of $PML(NLS^-)$ gene might promote the proliferation and arrest the apoptosis of HL-60 cells by up-regulating the expressions of $BCL-2$ and $C-MYC$ genes and down-regulating the expression of BAX gene.

【Key words】 $PML(NLS^-)$ gene Leukemia HL-60 cells Apoptosis

有研究表明,将融合基因早幼粒细胞白血病-全反式维甲酸($PML-retinoic\ acid\ receptor\ \alpha$, $PML-$

$RAR\alpha$) 导入含有中性弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)的动物模型中,比导入不含 NE 的动物更易发展为白血病,推测 NE 介导的 $PML-RAR\alpha$ 裂解产物可能会参与白血病的发生发展,NE 可以将 bcr1 型的 $PML-RAR\alpha$ 切割为缺失 NLS 的 PML [即 $PML(NLS^-)$] 和带有 NLS 的 $RAR\alpha$ ^[1],目前国

* 国家自然科学基金(No. 81171658)和重庆市自然科学基金计划重点项目(No. 2011BA5037)资助

△ 通讯作者, E-mail: liubeizhong@cqmu.edu.cn

内外对这两种裂解产物的功能还未见相关报道。故本文对 PML(NLS⁻)的相关功能展开研究。

目前基因敲除、转基因动物和外源基因的转(感)染是研究肿瘤基因的 3 种常用手段。实验证明,腺病毒载体因其具有宿主范围广泛、感染效率高、不整合入细胞基因组等优点,在基因研究和治疗^[2]中被广泛应用,加之白血病细胞属于悬浮细胞,利用携带肿瘤基因的腺病毒感染白血病细胞株,可达到感染率高、稳定表达基因的效果。

有研究表明^[3],大黄素可有效抑制急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)细胞株 HL-60 细胞的增殖并且诱导其凋亡,因此我们利用前期构建好的携带有 PML(NLS⁻)的腺病毒感染 HL-60 细胞,并加入大黄素处理细胞,观察 PML(NLS⁻)对大黄素引起的细胞增殖和凋亡效应的影响,探讨 PML(NLS⁻)对 APL 细胞增殖与凋亡的作用,进一步阐明其基因功能及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 腺病毒与细胞系

重组腺病毒 Ad-PML(NLS⁻)和空载腺病毒 Ad-KZ 由本实验室-80 ℃保存,滴度分别为 1×10¹⁰ pfu/mL 和 1×10¹¹ pfu/mL。HL-60 细胞株购于中科院上海生命科学研究院细胞资源中心。

1.2 试剂

IMDM 培养基和优质胎牛血清购自 GIBCO 公司;高保真 Taq DNA 多聚酶和 RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司;MTT 购自 Sigma 公司;大黄素购自陕西中鑫生物有限公司;兔抗人 PML 多克隆抗体购自 Abcam 公司;鼠抗人 C-MYC、BAX 及 BCL-2 单克隆抗体均购自 Santa Cruz Biotechnology 公司;鼠抗人 β-actin 单克隆抗体、羊抗兔多克隆抗体及羊抗鼠多克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司;蛋白提取试剂盒购自北京博迈德科技发展有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 用含 20% 优质胎牛血清的 IMDM 培养基,于 37 ℃、5%CO₂ 培养箱内常规培养人 HL-60 细胞。

1.3.2 腺病毒感染细胞 实验分 3 组,重组腺病毒 Ad-PML(NLS⁻)组、空载病毒 Ad-KZ 组、空白对照组,用于后续实验。取 6 孔板,按每孔 5×10⁵ 个 HL-60 细胞接种到 1 mL 无血清、无双抗的 IMDM 培养基,8~12 h 后分别加入 3 μL、5 μL、7 μL、

10 μL、15 μL、20 μL 的重组腺病毒和空载病毒,同时加入 2 μL 的 polybrene,置于孵箱孵育 2~3 h 后,加入 1 mL 完全 IMDM 培养基,24~72 h 于倒置荧光显微镜观察荧光,检测腺病毒感染效率,确定腺病毒感染 HL-60 的最佳量。

1.3.3 各组细胞中 PML(NLS⁻)基因 mRNA 转录水平的检测 采用 RT-PCR 法。重组腺病毒 Ad-PML(NLS⁻)、Ad-KZ 分别感染 HL-60 细胞 48 h 后,用 Trizol 裂解细胞,提取 RNA,逆转录成的 cDNA 作为模板,以人 β-actin 为内参,进行半定量 PCR,RT-PCR 反应引物(由上海生工公司合成)见表 1。PCR 反应条件为:95 ℃,5 min;95 ℃,30 s,64 ℃,30 s,72 ℃,1 min 15 s,共 35 个循环;72 ℃,再延伸 5 min。产物经 10 g/L 的琼脂糖凝胶电泳后,用 Quantity One 软件分析各组条带的灰度值。

表 1 各基因的 RT-PCR 反应引物
Table 1 The sequence of RT-PCR primers for each gene

Gene	Primer sequence (5'→3')	PCR product size (bp)
PML(NLS ⁻)	Forward: ACCACCATGCCCCACCATGCCTCCCCCGA	1 268
	Reverse: ATACCACAGCCATAGGCTGGGCT	
BCL-2	Forward: TTGTGGCCTTCTTTGAGTTTCG	153
	Reverse: CACCTACCCAGCTCCGGTTAT	
BAX	Forward: GGATGCGTCCACCAAGAA	386
	Reverse: GCACTCCCGCCACAAGA	
C-MYC	Forward: CCTACCTCTCAACGACAGC	248
	Reverse: CTCTGACCTTTTGCAAGGAG	
β-actin	Forward: CACCACACCTTCTACAATGAGC	695
	Reverse: GTGATCTCCTTCTGCATCTGT	

1.3.4 各组细胞中 PML(NLS⁻)蛋白表达的检测 采用 Western blot 法。腺病毒感染 HL-60 细胞 72 h 后, RIPA 裂解细胞,收集各组细胞的蛋白,BCA 法进行蛋白定量。分别取 100 μg 蛋白,以 β-actin 为内参,经 120 g/L SDS-PAGE 分离后,半干转转移至 PVDF 膜上,50 g/L 脱脂奶粉封闭后,加入兔抗人 PML(NLS⁻)多抗(1:2 000 稀释),4 ℃过夜;TBST 洗膜,加入羊抗兔二抗(1:1 000 稀释),室温孵育 1 h;TBST 洗膜 2 次,TBS 洗膜 1 次,化学发光显色、成像。以 β-actin 作为内参。将各组蛋白条带用软件 Quantity One 分析灰度,并计算出各组 PML(NLS⁻)蛋白与内参 β-actin 蛋白条带灰度的比值。

1.3.5 MTT 法检测 HL-60 细胞的增殖能力 实验分 3 组:感染 Ad-PML(NLS⁻)组、感染 Ad-KZ 组和空白对照组,每组设 5 个复孔,另外设有一个调零孔(未接种细胞,其它处理与复孔相同)。将 HL-60 细胞以每孔 1.5×10⁵/mL 接种于 96 孔板,8~12 h 后,分别加入含有 polybrene 的重组腺病毒 Ad-

$PML(NLS^-)$ 和 Ad-KZ。同时每孔加入60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素,分别培养 1、2、3、4 d 后,加入20 μL /孔的 MTT 溶液(5 mg/mL),常规培养 4 h;加入 150 μL /孔的 DMSO,振摇 10 min。在酶联免疫检测仪上 492 nm 波长处测定各孔吸光度(A)值。以每组复孔的 A 平均值减去调零孔的 A 值为每组的校正 A 值。以时间为横坐标、每组的校正 A 值为纵坐标,绘制细胞生长曲线。实验重复 3 次。

1.3.6 流式细胞术(FCM)检测细胞周期分布和凋亡水平 将 HL-60 细胞按 $3\times 10^5/\text{L}$ 接种在六孔板中,8~12 h 后分别加入含有 polybrene 的重组腺病毒 Ad- $PML(NLS^-)$ 和 Ad-KZ,同时设置空白对照组,即未加病毒的 HL-60 细胞。每孔加入 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素,48 h 后收集各组 HL-60 细胞,经 PBS 洗涤,弃上清,先加入 300 μL PBS 溶液重悬细胞,再加入 700 μL 无水乙醇固定细胞,40 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,流式细胞仪检测细胞周期。

在腺病毒感染的各组 HL-60 细胞中,每孔加入 60 $\mu\text{mol/L}$ 的大黄素,作用 48 h 后,收集各组细胞,经 PBS 洗涤后,按凋亡试剂盒说明处理细胞,经流式细胞仪测细胞凋亡情况。

1.3.7 过表达 $PML(NLS^-)$ 对 HL-60 细胞 BCL-2、BAX、C-MYC mRNA 和蛋白影响的检测 经过 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理 48 h,收集 3 组细胞,分别提取细胞中总 RNA,逆转录成 cDNA,加入 BCL-2、BAX 和 C-MYC 相对应的引物(引物见表 1),半定量 PCR。反应条件均为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 50 s,循环 35 次;72 $^{\circ}\text{C}$ 充分延伸 10 min。PCR 产物经 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳。

经 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理 72 h,分别提取 3 组细胞的总蛋白,BCA 法定量。取 80 μg 蛋白,经 120 g/L SDS-PAGE 分离后,半干转转移至 PVDF 膜上,封闭后,加入对应的鼠抗人一抗(1 : 1 000 稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;漂洗后加入羊抗鼠 IgG(1 : 1 000 稀释),室温孵育 1 h;TBST 洗涤 3 次后,化学发光显色,并行成像分析。半定量方法同 1.3.4。

1.3.8 统计学方法 实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两两比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 腺病毒感染 HL-60 细胞的红色荧光蛋白 (red fluorescence protein, RFP) 表达情况

经过倒置荧光显微镜的观察,15 μL 重组腺病毒

Ad- $PML(NLS^-)$ 和 5 μL 空载腺病毒 Ad-KZ 感染 HL-60 细胞的荧光数量最多,感染 HL-60 细胞 48 h 后,细胞内均出现少量 RFP,约 30% 的细胞可见红色荧光,而感染 72 h 后荧光数量最多,约 70% 的细胞可见红色荧光,见图 1,后续实验均采用此剂量。

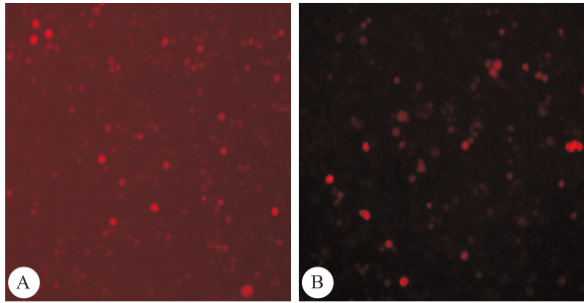


图 1 腺病毒感染 HL-60 细胞 72 h 的荧光显微镜观察。 $\times 100$
Fig 1 Fluorescence microscope examination of HL-60 cells 72 h after infected by adenovirus. $\times 100$

A: HL-60 cells infected by adenovirus Ad- $PML(NLS^-)$; B: HL-60 cells infected by adenovirus Ad-KZ

2.2 各组细胞中 $PML(NLS^-)$ mRNA 的表达

见图 2。腺病毒感染 HL-60 细胞 48 h 后,3 组细胞 cDNA 中都有 $PML(NLS^-)$ mRNA 的表达,且都在 1 000~2 000 bp 之间。与 Ad-KZ 组(0.14 ± 0.05)和空白对照组(0.13 ± 0.04)相比,Ad- $PML(NLS^-)$ 组(0.40 ± 0.01)的 $PML(NLS^-)$ 的转录水平增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 各组细胞中 $PML(NLS^-)$ 蛋白的表达

见图 3。腺病毒感染 HL-60 细胞 72 h 后,3 组细胞均有 $PML(NLS^-)$ 蛋白表达,但感染 Ad- $PML(NLS^-)$ 的 HL-60 细胞内表达 $PML(NLS^-)$ 蛋白(0.57 ± 0.06)较空白对照组(0.25 ± 0.07)和 Ad-

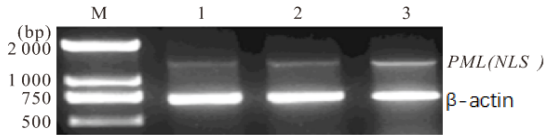


图 2 各组细胞中 $PML(NLS^-)$ 转录水平
Fig 2 $PML(NLS^-)$ transcription level of HL-60 cells
M: Marker; 1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad- $PML(NLS^-)$ group

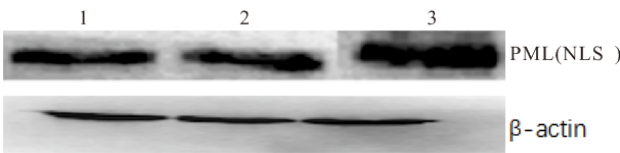


图 3 各组细胞中 $PML(NLS^-)$ 蛋白的表达
Fig 3 The expression of $PML(NLS^-)$ protein in HL-60 cells
1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad- $PML(NLS^-)$ group

KZ 组(0.28 ± 0.08)增多。说明重组腺病毒携带的 *PML(NLS⁻)* 可以在 HL-60 细胞中成功表达。

2.4 MTT 法检测 HL-60 细胞增殖能力的结果

见图 4。经过 $60\ \mu\text{mol/L}$ 大黄素的处理,与空白对照组和 Ad-KZ 组相比,各时点感染 Ad-*PML(NLS⁻)* 的 HL-60 细胞的增殖活力增强,差异有统计学意义($P<0.05$),以第 2 d 最为明显($P<0.01$)。

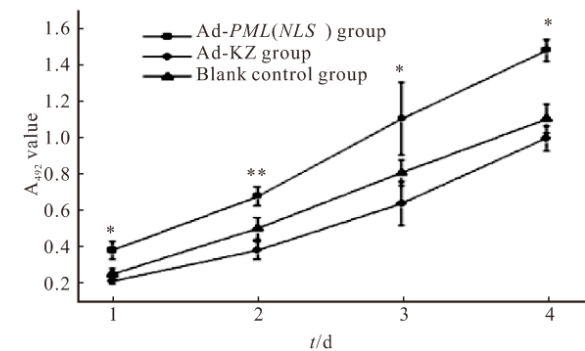


图 4 各组 HL-60 细胞的增殖水平
Fig 4 Proliferation level of HL-60 cells

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. blank control group and Ad-KZ group

2.5 FCM 法检测 HL-60 细胞周期和凋亡结果

见图 5,表 2。与空载病毒组和空白对照组相比,Ad-*PML(NLS⁻)* 组 HL-60 细胞处于 S 期细胞比例增高($P<0.05$), G_1 期细胞比例降低, G_2 期变化不明显。

与空白对照组(15%)和空载病毒组(19.98%)细胞的凋亡率相比,Ad-*PML(NLS⁻)* 组细胞的凋亡率(4.32%)显著降低($P<0.05$,图 6)。

2.6 HL-60 细胞中凋亡相关基因的 mRNA 和蛋白表达的结果

RT-PCR 结果可见,与空白对照组和空载病毒组相比,感染 Ad-*PML(NLS⁻)* 的 HL-60 细胞中的 *C-MYC* 基因和 *BCL-2* 基因的 mRNA 水平增高, *BAX* 基因的 mRNA 表达水平降低,见图 7。

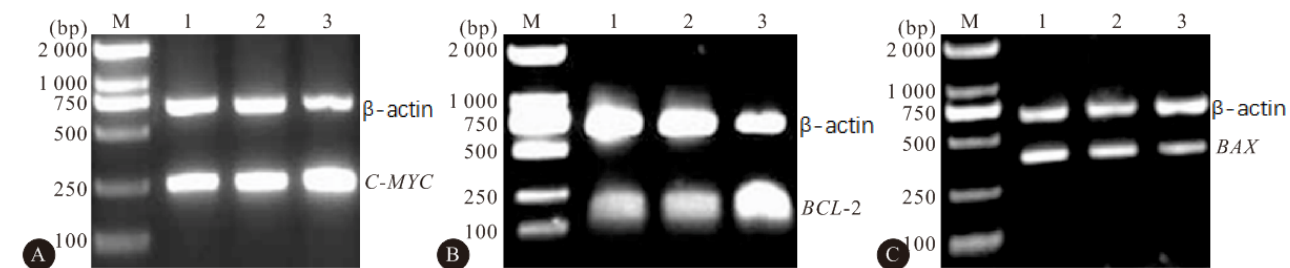


图 7 各组 HL-60 细胞中 *C-MYC*(A)、*BCL-2*(B)和 *BAX*(C)基因转录水平分析
Fig 7 Transcription levels of *C-MYC* (A), *BCL-2* (B) and *BAX* (C) genes in HL-60 cells

M: Marker; 1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad-*PML(NLS⁻)* group

Western blot 结果显示,与空白对照组相比,Ad-*PML(NLS⁻)* 组的 *C-MYC* 和 *BCL-2* 蛋白的相对表达水平增高, *BAX* 蛋白相对表达水平降低,与 RT-PCR 的结果相同,见表 3,图 8。

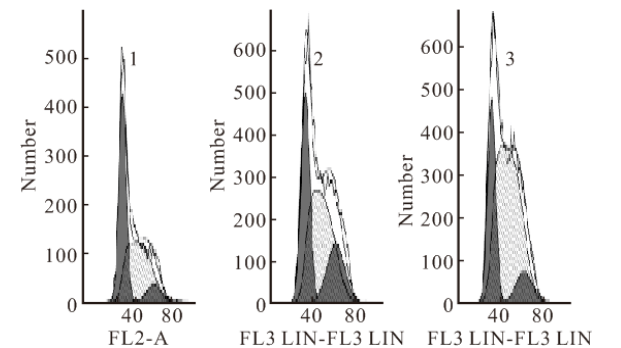


图 5 FCM 法检测 HL-60 细胞的周期
Fig 5 Cell cycle distribution of HL-60 cells determined by FCM method

1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad-*PML(NLS⁻)* group

表 2 各组 HL-60 细胞的细胞周期分布(% ,n=3)

Group	G_1	S	G_2
Ad- <i>PML(NLS⁻)</i>	26.27±1.13*	65.86±1.12*	7.87±1.48
Ad-KZ	32.94±1.38	48.74±1.22	18.32±1.21
Blank control	46.64±1.43	45.57±1.19	7.79±1.23

* $P<0.05$, vs. blank control group and Ad-KZ group

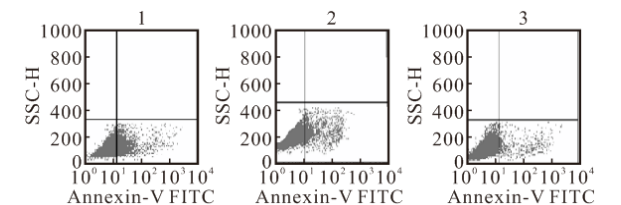


图 6 FCM 法检测各组 HL-60 细胞的凋亡
Fig 6 Apoptosis of HL-60 cells detected by flow cytometry
1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad-*PML(NLS⁻)* group

表 3 凋亡相关基因的 mRNA 和蛋白表达
Table 3 Expressions of mRNA and protein of apoptosis-related genes

Group	C-MYC		BCL-2		BAX	
	mRNA	Protein	mRNA	Protein	mRNA	Protein
Blank control	0.86±0.11	0.90±0.12	0.54±0.04	0.53±0.14	0.77±0.15	0.74±0.16
Ad-KZ	0.88±0.12	1.10±0.14	0.60±0.04	0.62±0.13	0.75±0.14	0.76±0.15
Ad- $PML(NLS^-)$	1.60±0.11	1.70±0.11	1.13±0.03	1.12±0.13	0.46±0.13	0.50±0.14

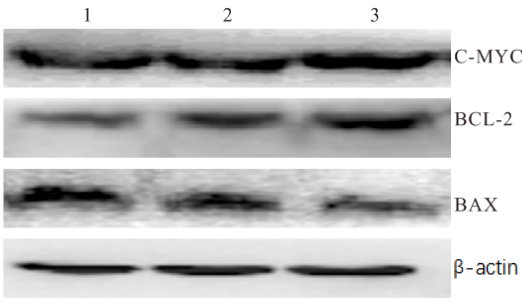


图 8 各组 HL-60 细胞中 C-MYC、BCL-2 和 BAX 蛋白相对表达水平
Fig 8 The relative expression levels of C-MYC, BCL-2 and BAX protein in HL-60 cells

1: Blank control group; 2: Ad-KZ group; 3: Ad- $PML(NLS^-)$ group

3 讨论

APL 是造血系统的恶性肿瘤之一，传统的治疗方法包括 CT、ATRA、ATO、SCT，由于存在很多副作用，所以研究其分子发生机制，为基因治疗打下基础尤为重要^[3-6]。

HL-60 细胞株是急性粒细胞白血病细胞系，含有少量的 $PML(NLS^-)$ ，本实验以携带有 $PML(NLS^-)$ 的腺病毒感染 HL-60 细胞，实验性干预 HL-60 细胞中 $PML(NLS^-)$ 基因。MTT 实验结果表明，过表达 $PML(NLS^-)$ 可以增强经过 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理的 HL-60 细胞的增殖能力；FCM 法结果显示，与空白对照组和 Ad-KZ 组相比，经过 60 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素处理后，感染 Ad- $PML(NLS^-)$ 的 HL-60 细胞 S 期细胞比例增高， G_1 期细胞比例降低 ($P<0.05$)，同时凋亡率减低 ($P<0.05$)，说明过表达 $PML(NLS^-)$ 基因，可以使得胞内 DNA 合成能力增强，提示 $PML(NLS^-)$ 可能通过促进细胞周期进程，增强 HL-60 细胞的体外增殖能力，从而有效减轻大黄素对 HL-60 细胞的凋亡效应。

由此可知，过表达 $PML(NLS^-)$ 会促进 APL 细胞的增殖和阻滞细胞发生凋亡，这与人的野生型 PML 抑制细胞生长^[7] 和促进其凋亡作用^[8] 相反。究其原因，可能与二者蛋白的定位不同有关。野生型 PML 因带有 NLS 而定位在胞核，与肿瘤抑制因子 p53^[9]、泛素相关小修饰蛋白-1 (SUMO-1)^[10]、Daxx、p300 等共定位在 PML 核体上并发生相互作用。而发生了异位的 $PML(NLS^-)$ ，猜测其可能缺

乏与这些蛋白的相互作用而无野生型 PML 的功能。

细胞凋亡是细胞在受到体内外生理或病理因素刺激所触发的程序性死亡，主要通过死亡受体途径和线粒体途径两条通路而实现作用。BCL-2 家族为众多调控细胞凋亡发生的成员之一，常作为肿瘤治疗的靶点。其中，BAX 和 BCL-2 是一对具有相反作用的基因，BAX/BCL-2 比例是影响细胞凋亡的关键因素。本实验通过 RT-PCR 和 Western blot 检测发现过表达 $PML(NLS^-)$ 可以抑制 HL-60 细胞中 BAX 表达，促进 BCL-2 的表达，BAX/BCL-2 比值减小。C-MYC 作为双向调控凋亡的基因，在病理情况下，其过表达可以促进细胞的增殖，抑制细胞的凋亡。本实验结果也表明了过表达 $PML(NLS^-)$ 会使得 C-MYC 表达增高，从而促进了细胞的增殖。

总之，过表达 $PML(NLS^-)$ 可能通过上调 BCL-2 和 C-MYC 基因的表达，下调 BAX 基因的表达，促进 HL-60 细胞增殖，并阻止细胞凋亡。

参 考 文 献

- 1 Lane AA, Ley TJ. Neutrophil elastase is important for PML -retinoic acid receptor α activities in early myeloid cells. *Mol Cell Biol*,2005;25(1):23-33.
- 2 Leung D. Adenoviridae: gene therapy and the molecular biology of the adenovirus. *The Meducator*,2012;1(1):15-16.
- 3 郑合勇, 胡建达, 郑志宏等. 大黄素可能通过抑制 Akt 信号通路诱导 HL-60 细胞凋亡. *药学报*,2007;42(11):1142-1146.
- 4 Tallman MS. Treatment of relapsed or refractory acute promyelocytic leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*,2007;20(1):57-65.
- 5 Wang L, Zhou GB, Liu P, *et al.* Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia. *PNAS*,2008;105(12):4826-4831.
- 6 Zhou GB, Zhang J, Wang ZY, *et al.* Treatment of acute promyelocytic leukaemia with all-trans retinoic acid and arsenic trioxide: a paradigm of synergistic molecular targeting therapy. *Phil Trans R Soc B*,2007;362(1482):959-971.
- 7 Krieghoff-Henning E, Hofmann TG. Role of nuclear bodies in apoptosis signalling. *Biochim Biophys Acta*,2008;1783(11):2185-2194.
- 8 Bernardi R, Papa A, Pandolfi PP. Regulation of apoptosis by PML and the PML-NBs. *Oncogene*,2008;27(48):6299-6312.
- 9 Shima Y, Shima T, Chiba T, *et al.* PML activates transcription by protecting HIPK2 and p300 from SCFFbx3-mediated degradation. *Mol Cell Biol*,2008;28(23):7126-7138.
- 10 苏臻贞, 丁其诚, 李 稻. SUMO-1 与 PML-NB. *生命的化学*,2008;28(3):272-274.