

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.03.005

## 亚砷酸诱导分化的急性早幼粒细胞白血病细胞浸润人脑膜组织的体外模拟及其分子机制研究\*

孔德胜<sup>1</sup> 吴 闯<sup>2</sup> 于 雪<sup>3</sup> 赵红丽<sup>1</sup> 贾垂明<sup>4</sup> 崔 喆<sup>5</sup> 马琳娜<sup>6</sup> 胡龙虎<sup>5Δ</sup>

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 南京市青龙山精神病院 江苏 南京 210000;

3 黑龙江省农垦总局总医院 黑龙江 哈尔滨 150080; 4 哈尔滨医科大学附属第三医院 黑龙江 哈尔滨 150081;

5 哈尔滨医科大学附属第一医院 黑龙江 哈尔滨 150001; 6 哈尔滨市第四医院 黑龙江 哈尔滨 150026)

**摘要 目的:**探讨急性早幼粒细胞白血病(Acute promyelocytic leukemia, APL)合并中枢神经系统白血病的发病机制。**方法:**采用流式细胞术检测亚砷酸(Arsenious acid, ATO)诱导分化前后的 APL 细胞及人 APL 细胞株 NB4 细胞表面 CD56、CXCR4 的表达;用荧光染料-羧基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯标记 ATO 分化的 APL(APL/ATO)、NB4 细胞(NB4/ATO);用微重力旋转培养法体外模拟 APL 细胞浸润人脑膜组织,观察组织学及超微结构。**结果:**ATO 诱导后,APL/ATO 细胞表面 CXCR4 的表达明显高于诱导前( $35.2 \pm 9.5\%$  vs.  $18.6 \pm 4.9\%$ );NB4/ATO 细胞表面 CXCR4 的表达明显高于诱导前( $39.6 \pm 2.6\%$  vs.  $21.0 \pm 7.3\%$ );APL/ATO 细胞表面 CD56 的表达明显高于诱导前( $36.6 \pm 8.9\%$  vs.  $25.8 \pm 5.15\%$ );NB4/ATO 细胞表面 CD56 的表达明显高于诱导前( $44.6 \pm 8.4\%$  vs.  $25.6 \pm 2.4\%$ )。组织学实验结果显示对照组脑膜组织未见 NB4、APL 细胞浸润,实验组可见 APL/ATO、NB4/ATO 细胞浸润到人脑膜组织中;荧光显微镜下可见被标记的 APL/ATO、NB4/ATO 细胞浸润到人脑膜组织中,扫描电镜见 APL/ATO、NB4/ATO 细胞浸润到脑膜组织中。**结论:**本研究采用微重力旋转培养系统体外模拟了 ATO 诱导分化的异常早幼粒细胞浸润人脑膜组织,APL 细胞和 NB4 细胞 CXCR4、CD56 的表达升高可能是 ATO 诱导治疗 APL 所致的中枢神经系统浸润的分子机制之一。

**关键词:**急性早幼粒细胞白血病;中枢神经系统白血病;CD56;CXCR4

中图分类号:R733.71 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2019)03-420-05

## In Vitro Simulation Experiment of APL Specialized by Arsenic Trioxide Acid infiltra Ting into the Human Meninges and its Molecular Mechanism\*

KONG De-sheng<sup>1</sup>, WU Chuang<sup>2</sup>, YU Xue<sup>3</sup>, ZHAO Hong-li<sup>1</sup>, JIA Chui-ming<sup>4</sup>, CUI Zhe<sup>5</sup>, MA Lin-na<sup>6</sup>, HU Long-hu<sup>5Δ</sup>

(1 The Fourth Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Qing Longshan Psychiatric Hospital of Nanjing, Nanjing, Jiangsu, 210000, China;

3 The General Hospital of Agriculture Reclamation of Heilongjiang Provincial, Harbin, Heilongjiang, 150080, China;

4 The Third Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

5 The First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

6 The Fourth Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang, 150026, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the pathogenesis and preventive measure of acute promyelocytic leukemia complicated with central nervous system leukemia. **Methods:** The expression of CXCR4 and CD56 on differentiated APL were detected by using flow cytometry (FCM). The differentiated APL and NB4 were labeled by 5, 6-car-boxyfluorescein diacetate succinimidyl ester(CFSE); Rotary cell culture system (RCCS) was used to model APL infiltration meninges to observe the histology and ultramicrostructure in vitro. **Results:** The average expression rate of CXCR4 on the ATO differentiated APL were  $35.2 \pm 9.5\%$ , which was significantly higher than that before induction ( $18.6 \pm 4.9\%$ ). The average expression rate of CXCR4 on the ATO differentiated NB4 was  $39.6 \pm 2.6\%$ , which was significantly higher than that before induction ( $21.0 \pm 7.3\%$ ). The average expression rate of CD56 on the ATO differentiated APL was  $36.6 \pm 8.9\%$ , which was significantly higher than that before induction ( $25.8 \pm 5.15\%$ ). The average expression rate of CD56 on the ATO differentiated NB4 was  $44.6 \pm 8.4\%$ , which was significantly higher than that before induction ( $25.6 \pm 2.4\%$ ). The differentiated APL and NB4 infiltrated into meninges was observed in the trial groups but it can not be observed in the control group. Under the fluorescence microscope, the differentiated APL and NB4 were labeled by CFSE infiltrated into meninges in the trial groups. Under the electron microscope observation, the differentiated APL and NB4 infiltrated into meninges in the trial groups. **Conclusion:** The expression of CXCR4 and CD56 were increased after ATO induced differentiation of APL and NB4 cells. The abnormal differentiated

\* 基金项目:黑龙江省卫生计生委科研项目(2016-145)

作者简介:孔德胜(1981-),男,内科学博士,主要研究方向:白血病的发病机制,E-mail: sheng190@163.com

Δ 通讯作者:胡龙虎(1963-),男,硕士生导师,教授,主要研究方向:白血病的发病机制,E-mail: hulonghu1963@163.com,电话:13030047963

(收稿日期:2018-10-10 接受日期:2018-11-07)

APL and NB4 can infiltrate human meninges using RCCS in vitro, which provide a cytology basis for approaching pathogenesis of central nervous system infiltration in treatment of APL using ATO.

**Key words:** Acute promyelocytic leukemia; Central nervous system leukemia; CD56; CXCR-4

**Chinese Library Classification (CLC):** R733.71 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2019)03-420-05

## 前言

急性早幼粒细胞白血病 (Acute promyelocytic leukemia, APL) 是一种独特的急性髓系白血病 (Acute myelogenous leukemia, AML) 亚型, 占 AML 的 10-15%。以往被认为是最致命的白血病类型之一。全反式维甲酸 (All-trans retinoic acid, ATRA) 和亚砷酸 (Arsenious acid, ATO) 的应用改变了 APL 的预后<sup>[1]</sup>, 但仍有一部分患者复发, 特别是髓外复发, 最常见的髓外复发部位是中枢神经系统 (Central nervous system, CNS)。CNS 复发目前还没有公认的解决方案<sup>[2-4]</sup>。据报道 CD56 (神经粘附因子) 和趋化因子受体 CXCR4 的高表达可能与白血病细胞迁移浸润的能力增强有关, 提示 CD56、CXCR4 的表达可能是影响白血病细胞体内传播的重要因素<sup>[5-8]</sup>。因此, 本研究以 ATO 诱导分化后的 APL 细胞株 NB4 和初发或复发 APL 患者的原代细胞为研究对象, 通过微重力体外模拟浸润脑膜试验及流式细胞术 (FCM) 检测 CXCR4、CD56 的表达, 初步探讨了 APL 合并中枢神经系统白血病 (Central nervous system leukemia, CNSL) 发病的分子机制, 旨在为 APL 合并 CNSL 的防治提供新的靶点。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料和试剂

藻红蛋白 (PE) 标记 CXCR4 单抗、IgG1 阴性对照抗体 (均购自 BD PharMingen)、PE 标记的 CD56 单抗及同型对照抗体 (美国 Santa Cruz)、荧光染料 - 羧基荧光素二醋酸琥珀酰亚胺酯 (5, 6-carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, CFSE, Dojindo, Kumamoto, Japan)、亚砷酸 (ATO, 哈尔滨伊达药业)、微重力旋转培养系统 (SYNTHCON)。哈尔滨医科大学附属第一医院确诊的 APL 病人 32 例, 男 17 例, 女 15 例, 年龄 8~56 岁, 均为初发或复发的本院住院病例。7 例脑膜及脑组织均为非血液病、非肿瘤、无感染及炎症的脑外伤手术病人, 所有患者知情同意并签署知情同意书。

### 1.2 实验方法和步骤

**1.2.1 ATO 分化的 NB4 细胞及 APL 细胞的制备** 化疗前及应用 ATO 前取 APL 患者 EDTA 抗凝的骨髓 3 mL, 用淋巴细胞分离液获取单个核细胞。制备 ATO 分化的 NB4 细胞及 APL 细胞方法文献<sup>[9]</sup>取以  $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ATO 诱导培养 48 h 的 APL、NB4 细胞作为研究靶细胞即所谓的 ATO 诱导分化的 APL、NB4 细胞。

**1.2.2 ATO 诱导分化的 APL 和 NB4 细胞 CXCR4 的表达** 收集 ATO 诱导分化的 APL、NB4 细胞即为 NB4/ATO, APL/ATO 细胞, 调整细胞密度, 使每管细胞数达到  $1 \times 10^6/\text{L}$ , 取各份细胞悬液各 40  $\mu\text{L}$  加入 10  $\mu\text{L}$  PE 标记 CXCR4 单抗及 IgG1 做阴性对照, 振荡混匀后, 避光 4 $^{\circ}\text{C}$  反应 45 min, 再加 500  $\mu\text{L}$  鞘液, 上流式细胞仪检测。

**1.2.3 ATO 诱导分化的 APL 和 NB4 细胞 CD56 的表达** 收集  $5 \times 10^5/\text{L}$  数量级 NB4/ATO 细胞或取  $5 \times 10^5/\text{L}$  数量级 APL 细胞 100  $\mu\text{L}$  分别置于 2 个试管中。一管加入 10  $\mu\text{L}$  PE 标记的抗 CD56 抗体, 另一管加入 10  $\mu\text{L}$  同型对照抗体。室温下避光孵育 30 min。加入 200  $\mu\text{L}$  PBS 液悬浮, 上流式细胞仪检测。

**1.2.4 CFSE 细胞染色 (避光操作)** 用 DMSO 制备  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 CFSE 溶液。用 PBS 或适当的缓冲液将其稀释成 50  $\mu\text{M}$  的 CFSE 溶液。将 300  $\mu\text{L}$  的 CFSE 溶液加入到 5 mL 细胞培养基中。在 37 $^{\circ}\text{C}$  培养细胞 20 分钟后用 4 mL 血清终止染色。用 PBS 洗涤细胞 3 次以上, 待用。

**1.2.5 诱导分化的 APL/NB4 细胞浸润人脑膜组织的体外模拟试验** 在无菌条件下取脑膜组织, 将脑膜组织切成约 0.4  $\text{mm}^3$  大小的碎块, 并移入容积为 50 mL 旋转细胞培养系统的培养室内, 将含有 CFSE 标记 APL/ATO (或 NB4/ATO) 的 RPMI1640 培养液 (含 20% 小牛血清和 10% 9 天鸡胚提取液) 2 mL 反复吹打混匀, 做细胞计数后将其注入 RCCS 培养室内与脑膜组织块混合, 加入 RPMI1640 培养液 (含 20% 小牛血清和 10% 9 天鸡胚提取液) 以充满培养室, 细胞密度在  $5.0 \times 10^5/\text{mL}$ , 灌满并排净气泡, 用胶塞封紧瓶口, 置于微重力旋转培养仪上, 调整转速, 约 20 r/min, 使脑膜组织处于悬浮状态。置于 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ +95% 空气, 100% 湿度的培养箱内, 培养 72 h 后取出脑膜组织块, 固定、脱水、包埋、切片后 HE 染色, 镜检、照片。扫描电镜试验将标本制备成 10  $\text{mm} \times 8 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$  大小放入 RCCS 中与 ATO 分化的 APL 细胞或 NB4 细胞共培养 (试验条件同上)。培养 72 h 取出后 PBS 液反复冲洗, 标记正反面后固定于 2.5% 戊二醛溶液中 (4 $^{\circ}\text{C}$  固定 3-12 h) 送电镜室。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, 同一病例治疗前后比较应用配对资料的 t 检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ATO 诱导分化的 APL 和 NB4 细胞 CXCR4 的表达明显升高

既往研究表明 CXCR4 的高表达与浸润脾、肝、淋巴结、中枢神经系统和睾丸有关<sup>[10]</sup>。为了验证 CXCR4 在 APL 合并 CNSL 中的作用, 我们应用流式细胞术检测了 ATO 诱导分化前后 APL 细胞及 NB4 细胞 CXCR4 的表达。结果显示: ATO 诱导分化后的 APL 细胞表面 CXCR4 表达平均荧光强度 (MFI) 为  $(35.2 \pm 9.5)\%$ , 明显高于诱导前  $(18.6 \pm 4.9)\%$ 。ATO 诱导分化后的 NB4 细胞表面 CXCR4 表达平均荧光强度 (MFI) 为  $(39.6 \pm 2.6)\%$ , 明显高于诱导前  $(21.0 \pm 7.3)\%$  (图 1A, B)。

### 2.2 ATO 诱导分化的 APL 和 NB4 细胞 CD56 的表达

APL 大型临床试验报道中枢神经系统是最常见的髓外复发部位。Specchia 和他的同事报告了意大利 GIMEMA 进行的

AIDA-0493 试验的数据。CNS 是最常见的髓外复发部位,8% 的患者在 CNS 复发。为什么 CNS 是髓外复发最常见的部位? 这可能与 CD56(神经嵴粘附因子)在 APL 细胞上的表达增加有关<sup>[3]</sup>。我们应用流式细胞术检测了 ATO 诱导分化前后 APL 细胞及 NB4 细胞 CD56 的表达。结果显示:ATO 诱导分化后的 APL 细胞表面 CD56 表达平均荧光强度 (MFI) 为 (36.6 ±

8.9)%, 明显高于诱导前 (25.8 ± 5.1)%。ATO 诱导分化后的 NB4 细胞表面 CD56 表达平均荧光强度 (MFI) 为 (44.6 ± 8.4)%, 明显高于诱导前(25.6 ± 2.4)% (图 1C,D)。以上结果表明:ATO 能升高 APL 和 NB4 细胞表面的 CXCR4 和 CD56 的表达水平。

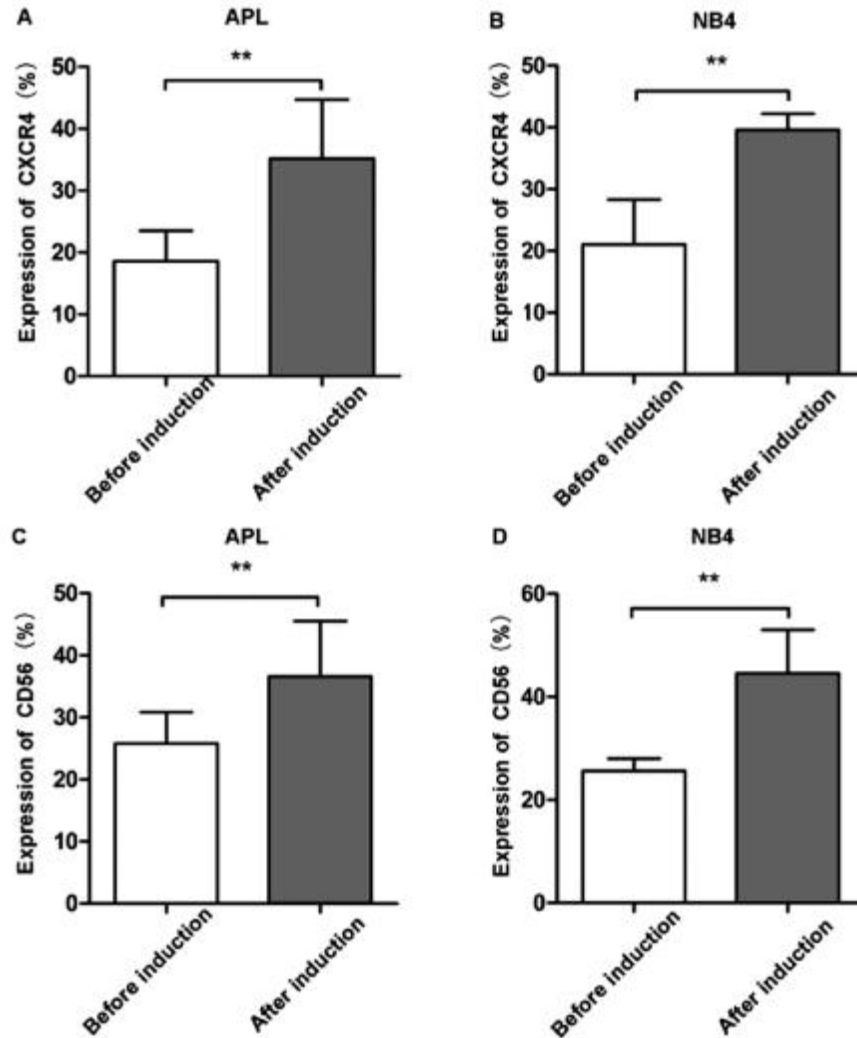


图 1 ATO 诱导前后 APL、NB4 细胞 CXCR4、CD56 的表达

Fig.1 CXCR4 and CD56 expression of APL and NB4 cells before and after ATO induction

Note: Data are expressed as  $\bar{x} \pm SD$ , n=3. \*\* $P < 0.01$ , compared with before ATO induction.

### 2.3 ATO 诱导分化的 APL 和 NB4 细胞浸润人脑膜组织

接下来,为了验证 ATO 诱导分化后的 APL、NB4 细胞对人脑膜组织的影响,从而探讨 APL 合并 CNSL 的发生机制。我们应用微重力旋转培养系统,在 RPMI1640 培养液(含 20% 小牛血清和 10% 9 天鸡胚提取液)中,将 ATO 诱导分化 48 h 后的 APL、NB4 细胞与人脑膜组织块(0.4 mm<sup>3</sup>)共培养 72 h。HE 染色可见对照组(加入未经 ATO 分化的 APL、NB4 细胞)中脑膜组织结构正常(图 2A、2B, HE 染色 400 倍),未见 APL 细胞及 NB4 细胞浸润,而 ATO 诱导组可见 ATO 诱导的 APL 和 NB4 细胞明显地浸润到脑膜组织中(图 2C、2D, HE 染色 400 倍)。

为了证实浸润人脑膜中的细胞为 ATO 诱导的 APL、NB4

细胞,我们应用 CFSE 将 ATO 诱导的 APL、NB4 细胞染色追踪细胞,然后应用荧光显微镜观察脑膜组织中的细胞。结果显示,荧光显微镜下可见被标记的 ATO 诱导的 APL 和 NB4 细胞浸润到人脑膜组织中(图 2E、2F)。

为了进一步验证 ATO 诱导的 APL、NB4 细胞可浸润脑膜组织,我们应用微重力旋转培养系统,在 RPMI1640 培养液(含 20% 小牛血清和 10% 9 天鸡胚提取液)中,将 ATO 诱导分化 48 h 后的 APL、NB4 细胞与人脑膜组织块(10 mm × 8 mm × 2 mm)共培养 72 h,应用扫描电镜观察,结果显示:对照组扫描电镜中可见由大量排列规整的胶原纤维构成的致密结缔组织(图 3A、3B,电压 10.0 kv,放大倍数 500 倍,标尺 100 μm)。实验组扫描电镜中见胶原纤维排列紊乱,ATO 诱导分化的 APL、NB4

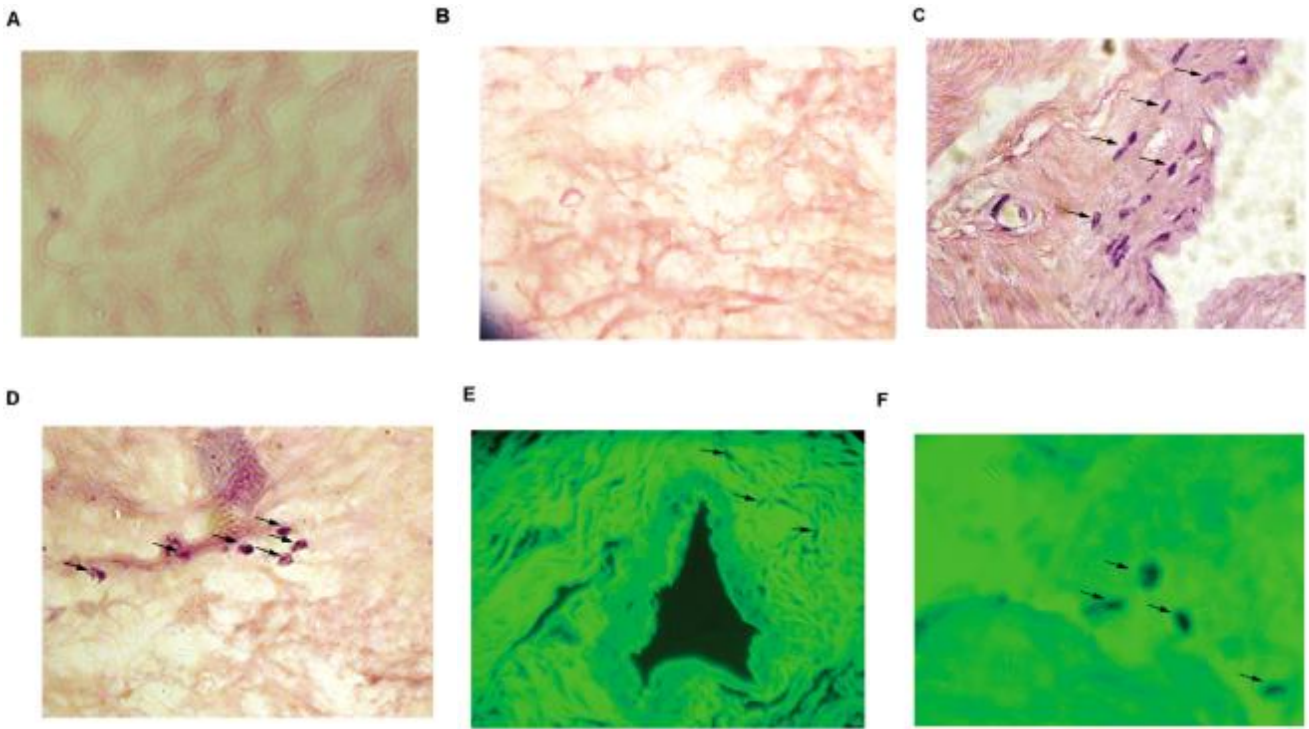


图 2 ATO 诱导后的 APL、NB4 细胞浸润人脑膜组织

(A, B) ATO 诱导前的 APL、NB4 细胞未浸润脑膜组织; (C, D) ATO 诱导后的 APL、NB4 细胞浸润脑膜组织;  
(E, F) 荧光显微镜可见 ATO 诱导后的 APL、NB4 细胞浸润脑膜组织。

Fig.2 APL and NB4 cells after ATO induction infiltrated human meningeal tissue

(A, B) APL and NB4 cells were not infiltrated into the meninges before ATO induction. (C, D) infiltration of APL and NB4 cells into the meninges after ATO induction; (E, F) fluorescence microscopy showed infiltration of APL and NB4 cells into the meninges after ATO induction.

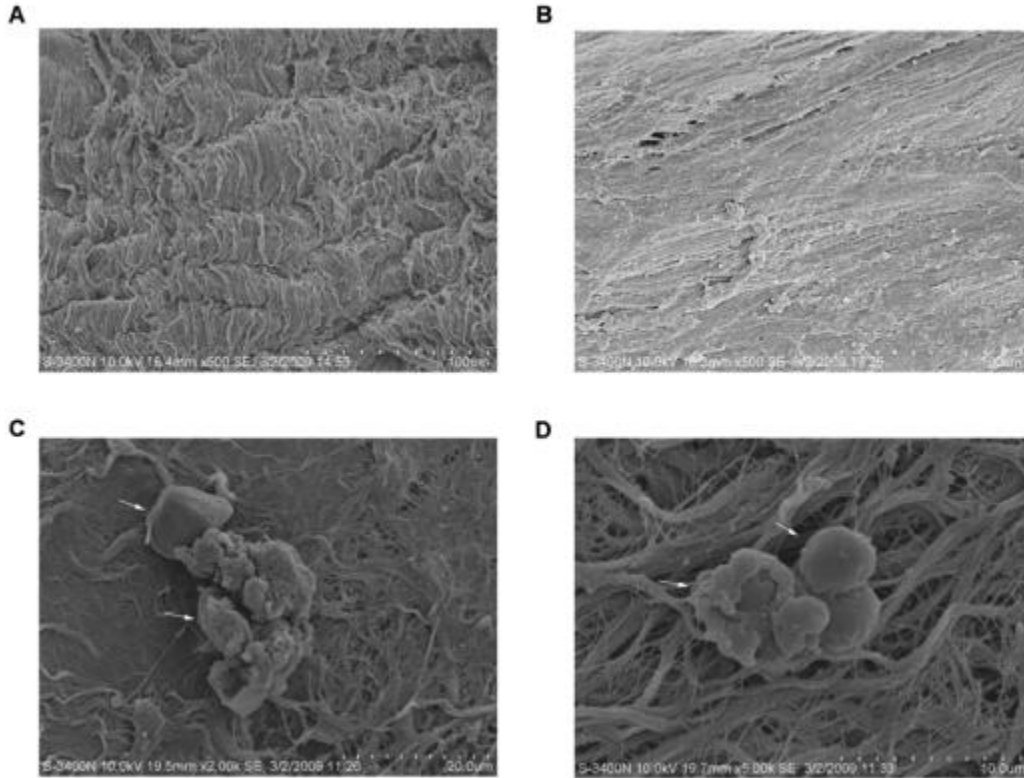


图 3 扫描电镜显示 ATO 诱导后的 APL、NB4 细胞浸润人脑膜组织

(A, B) 扫描电镜显示 ATO 诱导前的 APL、NB4 细胞未浸润脑膜组织; (C, D) 扫描电镜显示 ATO 诱导后的 APL、NB4 细胞浸润脑膜组织。

Fig.3 Scanning electron microscopy showed APL and NB4 cells after ATO induction infiltrated human meningeal tissue

(A, B) scanning electron microscopy showed that APL and NB4 cells were not infiltrated into the meninges before ATO induction.

(C, D) scanning electron microscopy showed infiltration of APL and NB4 cells into the meninges after ATO induction.

细胞浸润到人脑膜组织中(图 3C、3D,电压 10.0 kv,放大倍数 5000 倍,标尺 10.0  $\mu\text{m}$ )。以上结果表明:ATO 诱导分化后的 APL 及 NB4 细胞可浸润人脑膜组织。

### 3 讨论

ATRA 诱导分化或 ATO 诱导分化、凋亡联合蒽环类药物治疗使 APL 的 CR 率达到 94.6%,五年无病生存率达到 80%<sup>[10]</sup>。但仍有部分急 APL 患者因出现 CNSL 而引起髓外复发,进而导致全面复发,甚至治疗失败和死亡。近年临床急性早幼粒细胞白血病合并中枢神经系统白血病发生率有所增高,发病率报道不一<sup>[12-14]</sup>。因此,探索急性早幼粒细胞白血病合并中枢神经系统白血病的发病机制仍是十分必要的。

CXCR4 是一种趋化因子受体,研究表明其可能与至少 20 种恶性肿瘤的转移浸润有关。CXCR4 的高表达水平与人 T-ALL 细胞系 Jurkat 和 Molt-3 向 CXCL12 趋化相关。在 T-ALL 患者中,CXCR4 的高表达也与肝、脾浸润相关。用 Jurkat 或 CEM 细胞株异种移植 NSG 小鼠,表明二者均能以相似的比例浸润 CNS,拮抗 CXCR4 可预防该疾病的临床特征和 T-ALL 细胞趋化性<sup>[10]</sup>。与 T-ALL 一样,B-ALL 细胞中也存在高 CXCR4 表达,与较高的复发率相关。此外,CXCR4 高表达与浸润脾、肝、淋巴结、中枢神经系统和睾丸有关<sup>[10]</sup>。在 AML 中,与 CXCR4 水平较低的患者相比,CXCR4 高表达与整体生存率较低相关<sup>[10]</sup>。我们前期的实验结果显示 APL/ATO 细胞可明显浸润正常人肺组织,APL/ATO 细胞表面 CXCR4 表达水平明显高于诱导前的 APL 细胞<sup>[9]</sup>,CXCR4 的高表达可能是 APL/ATO 细胞引起人肺组织浸润的分子机制之一。本实验中,ATO 诱导分化的 APL 细胞和 NB4 细胞流式细胞仪的实验结果显示:APL/ATO、NB4/ATO 表面 CXCR4 表达平均荧光强度明显高于诱导前,提示 ATO 诱导分化后的 APL 细胞表面 CXCR4 表达增强,APL/ATO 细胞可能利用脑膜组织表达的 CXCL12 所产生的趋化作用浸润中枢神经系统。由此,我们推测 APL/ATO 细胞表面 CXCR4 表达的增强可能是 ATO 诱导分化的 APL 细胞浸润 CNS 的分子机制之一。CXCR4 抑制剂 AMD3100 可抑制 CXCR4 信号转导,在此过程中通过 CXCL12 的趋化刺激可显著增加转导。因此,应用 AMD3100 阻断 CXCL12/CXCR4 信号<sup>[15]</sup>可能成为防治 APL 合并 CNSL 的有效方法。

CD56 是 140 000 的神经细胞粘附分子(NCAM),属于免疫球蛋白超家族成员,是一组密切相关的唾液酸糖蛋白,介导同质细胞粘附。多项研究表明 CD56 与多种实体肿瘤的侵袭转移密切相关与白血病等非实体肿瘤的转移浸润也有其相关性<sup>[16,17]</sup>。在 AML 中,CD56 高表达已经被广泛研究,其被认为是无病生存和整体生存不良的重要独立危险因素<sup>[18]</sup>。在 APL 中,大约 10-15% 的初发患者出现 CD56 阳性。为了解释 CD56 在急性白血病中预后较差的原因,人们提出了不同的假设,包括与髓外浸润及多药耐药有关。最近研究结果显示 CD56 表达与 APL 中枢神经系统受累的风险增高有关<sup>[6,7,19]</sup>。本研究中,APL/ATO、NB4/ATO 表面 CD56 表达平均荧光强度均明显高于诱导前,提示 ATO 诱导分化后 APL 细胞表面 CD56 的表达增强可能是 ATO 诱导分化的 APL 细胞浸润中枢神经系统的另

一个分子机制。

微重力旋转培养系统以其低剪切力、高效的物质传递效率和独特的微重力环境等优势为体外细胞和组织培养提供更稳定、更接近生物体内的体外培养环境,为体外细胞培养最大限度地保持细胞正常形态、结构、分化等生物学功能和遗传特性提供了一种新手段,是目前国际上细胞培养的最新装置<sup>[20,21]</sup>。本研究用微重力旋转培养系统成功模拟了分化的 APL 细胞可以浸润人的脑膜组织,为研究 APL 合并 CNSL 提供了研究平台,并直接证实了经 ATO 诱导分化的 APL 细胞、NB4 细胞表现出对人脑膜组织较强的浸润能力,为研究 ATO 诱导分化治疗 APL 导致中枢神经系统浸润的发病机制奠定了细胞学基础。

综上所述,本研究结果表明亚砷酸诱导分化后的 APL 细胞和 NB4 细胞 CXCR4、CD56 的高表达可能是 ATO 诱导治疗 APL 所致的中枢神经系统白血病发病的重要分子基础。开发及应用 CXCR4、CD56 的功能阻断抗体、阻滞剂及其反义核苷酸技术、其 RNA 沉默技术有可能成为防治诱导分化治疗所致中枢神经系统白血病的新的治疗靶点。但目前关于 ATO 诱导治疗 APL 所引起的中枢神经系统白血病及其他部位髓外浸润的分子机制十分复杂,尚不完全清楚,均还有待于进一步研究。

#### 参考文献(References)

- [1] Zhang X, Zhang H, Chen L, et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid (ATRA) treatment for acute promyelocytic leukemia in all risk groups: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Trials*, 2018, 19(1): 476
- [2] Wang H, Cao F, Li J, et al. Arsenic trioxide and mannitol for the treatment of acute promyelocytic leukemia relapse in the central nervous system [J]. *Blood*, 2014, 124(12): 1998-2000
- [3] Stein EM, Tallman MS. Searching the central nervous system for relapsed acute promyelocytic leukemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(12): 2584-2585
- [4] Ohanian M, Rozovski U, Ravandi F, et al. Very high levels of lactate dehydrogenase at diagnosis predict central nervous system relapse in acute promyelocytic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2015, 169(4): 595-597
- [5] Kumode M, Ohira Y, Usui A, et al. A case of central nervous system relapse in acute promyelocytic leukemia [J]. *Clin Case Rep*, 2016, 56(4): 273-276
- [6] Maenhout TM, Moreau E, Van Haute I, et al. Minimal Coexpression of CD34<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> in Acute Promyelocytic Leukemia Is Associated With Relapse [J]. *Am J Clin Pathol*, 2015, 144(2): 347-351
- [7] Hu W, Wang X, Yang R, et al. Expression of CD56 is a risk factor for acute lymphocytic leukemia with central nervous system involvement in adults [J]. *Hematology*, 2017, 22(2): 81-87
- [8] Peled A, Hardan I, Trakhtenbrot L, et al. Immature leukemic CD34<sup>+</sup>CXCR4<sup>+</sup> cells from CML patients have lower integrin-dependent migration and adhesion in response to the chemokine SDF-1 [J]. *Stem Cells*, 2002, 20(3): 259-266
- [9] 周晋,胡龙虎,王桂芳,等.亚砷酸诱导分化的急性早幼粒细胞白血病细胞浸润人肺组织的体外模拟试验研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2007, 12: 950-953

(下转第 419 页)

- non-coding RNA point of view[J]. RNA Biol, 2012, 9(6): 703-719
- [7] Mattick JS. The genetic signatures of noncoding RNAs [J]. PLoS Genet, 2009, 5(4): e1000459
- [8] Collins JF. Long noncoding RNAs and hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2015, 148(2): 291-294
- [9] Zhou M, Zhang XY, Yu X. Overexpression of the long non-coding RNA SPRY4-IT1 promotes tumor cell proliferation and invasion by activating EZH2 in hepatocellular carcinoma [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85: 348-354
- [10] Wang Y, Hu Y, Wu G, et al. Long noncoding RNA PCAT-14 induces proliferation and invasion by hepatocellular carcinoma cells by inducing methylation of miR-372 [J]. Oncotarget, 2017, 8 (21): 34429-34441
- [11] Zhao B, Hou X, Zhan H. Long non-coding RNA PCAT-1 over-expression promotes proliferation and metastasis in non-small cell lung cancer cells [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (10): 18482-18487
- [12] Mang Y, Li L, Ran J, et al. Long noncoding RNA NEAT1 promotes cell proliferation and invasion by regulating hnRNP A2 expression in hepatocellular carcinoma cells [J]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 1003-1016
- [13] Li SP, Xu HX, Yu Y, et al. LncRNA HULC enhances epithelial-mesenchymal transition to promote tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma via the miR-200a-3p/ZEB1 signaling pathway[J]. Oncotarget, 2016, 7(27): 42431-42446
- [14] Richards EJ, Zhang G, Li ZP, et al. Long non-coding RNAs (LncRNA) regulated by transforming growth factor (TGF) beta: LncRNA-hit-mediated TGFbeta-induced epithelial to mesenchymal transition in mammary epithelia [J]. J Biol Chem, 2015, 290 (11): 6857-6867
- [15] Jia X, Wang Z, Qiu L, et al. Upregulation of LncRNA-HIT promotes migration and invasion of non-small cell lung cancer cells by association with ZEB1[J]. Cancer Med, 2016, 5(12): 3555-3563
- [16] Stroehl YW, Letzen BS, van Breugel JM, et al. Intra-arterial therapies for liver cancer: assessing tumor response [J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2017,17(2): 119-127
- [17] Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(4): 203-217
- [18] El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma [J].N Engl J Med, 2011, 365 (12): 1118-1127
- [19] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 2008, 359(4): 378-390
- [20] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904-914
- [21] Wang J, Liu X, Wu H, et al. CREB up-regulates long non-coding RNA, HULC expression through interaction with microRNA-372 in liver cancer[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(16): 5366-5383
- [22] Hammerle M, Gutschner T, Uckelmann H, et al. Posttranscriptional destabilization of the liver-specific long noncoding RNA HULC by the IGF2 mRNA-binding protein 1 (IGF2BP1)[J]. Hepatology, 2013, 58(5): 1703-1712
- [23] Lai MC, Yang Z, Zhou L, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation[J]. Med Oncol, 2012, 29(3): 1810-1816
- [24] Yang F, Zhang L, Huo XS, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans [J]. Hepatology, 2011, 54(5): 1679-1689

(上接第 424 页)

- [10] Vadillo E, Dorantes-Acosta E, Pelayo R, et al. T cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL): New insights into the cellular origins and infiltration mechanisms common and unique among hematologic malignancies[J]. Blood Rev, 2018, 32(1): 36-51
- [11] Mi JQ, Li JM, Shen ZX, et al. How to manage acute promyelocytic leukemia[J]. Leukemia, 2012, 26(8): 1743-1751
- [12] 张鹏, 王树叶, 胡龙虎, 等. 三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病七年总结 -- 附 242 例分析[J]. 中华血液学杂志, 2000, 02: 10-13
- [13] Colin O, Julian A, Puyade M, et al. Relapse of acute promyelocytic leukemia in the central nervous system revealed by isolated dementia [J]. Rev Med Interne, 2016, 37(12): 844-848
- [14] Gupta V, Gonsalves W, Patnaik M, et al. Central nervous system relapse in acute promyelocytic leukemia: a single institution experience[J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54(12): 2728-2730
- [15] Marz M, Meyer S, Erb U, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia-Conquering the CNS across the choroid plexus [J]. Leuk Res, 2018, 71: 47-54
- [16] Lima M. Extranodal NK/T cell lymphoma and aggressive NK cell leukaemia: evidence for their origin on CD56+bright CD16-/dim NK cells[J]. Pathology, 2015, 47(6): 503-514
- [17] Yap LW, Brok J, Pritchard-Jones K. Role of CD56 in Normal Kidney Development and Wilms Tumorigenesis [J]. Fetal Pediatr Pathol, 2017, 36(1): 62-75
- [18] Testa U, Lo-coco F. Prognostic factors in acute promyelocytic leukemia: strategies to define high-risk patients [J]. Ann Hematol, 2016, 95(5): 673-680
- [19] Ono T, Takeshita A, Kishimoto Y, et al. Expression of CD56 is an unfavorable prognostic factor for acute promyelocytic leukemia with higher initial white blood cell counts [J]. Cancer Sci, 2014, 105(1): 97-104
- [20] Lei X, Deng Z, Duan E. Uniform Embryoid Body Production and Enhanced Mesendoderm Differentiation with Murine Embryonic Stem Cells in a Rotary Suspension Bioreactor [J]. Methods Mol Biol, 2016, 1502: 63-75
- [21] Zhang S, Zheng D, Wu Y, et al. Simulated Microgravity Using a Rotary Culture System Compromises the In Vitro Development of Mouse Preantral Follicles[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151062