

急性T淋巴细胞性白血病关键基因的筛选与验证

蒋光洁,陈燕华,郭维,张航,邹琳

重庆医科大学附属儿童医院临床分子医学中心//儿童发育疾病研究教育部重点实验室//儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地//重庆市干细胞治疗工程技术研究中心,重庆 400014

摘要:目的 筛选并验证急性T淋巴细胞性白血病关键基因,并对其进行生物信息学分析。方法 从公共数据库基因表达数据库(GEO)中下载T-ALL基因表达谱芯片GSE14317,应用R软件limma包筛选差异表达基因。利用DAVID数据库对差异基因进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,同时利用STRING数据库及Cytoscape软件构建差异蛋白互作网络,应用JASPAR数据库构建转录因子靶基因网络,利用RT-PCR验证关键基因mRNA表达水平。结果 GSE14317表达谱芯片中共有1443个差异基因,包括800个上调基因和643个下调基因,这些差异基因主要富集在细胞周期,造血细胞系,细胞因子间相互作用以及T细胞受体信号通路等。蛋白质相互作用网络图中显示节点最多的10个枢纽基因分别是CDK1,PIK3R1,CCNB1,CCNA2,CDC20,JUN,GNG11,PLK1,PCNA和CCNB1,这些基因在子网络中分别富集于趋化因子信号通路,泛素介导的蛋白降解以及细胞周期等。转录因子调节网络显示42个差异表达的转录因子,其中ELF5,HIC2和MEIS1与候选的9个关键基因启动子上游均有结合位点。RT-PCR结果显示除GNG11外其余9个关键基因表达情况与芯片结果一致,ELF5,HIC2和MEIS1表达均升高与芯片结果一致。结论 CDK1,PIK3R1,CCNB1,CCNA2,CDC20,JUN,PLK1,PCNA,CCNB1,ELF5,HIC2和MEIS1在T-ALL发生中发挥重要作用,为T-ALL的治疗和诊断提供生物学靶标。

关键词:急性T淋巴细胞白血病;生物信息学;差异表达基因;转录因子

Screening and verification of key genes in T-cell acute lymphoblastic leukemia

JIANG Guangjie, CHEN Yanhua, GUO Wei, ZHANG Hang, ZOU Lin

Center for Clinical Molecular Medicine, Children's Hospital of Chongqing Medical University/Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders/Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing/Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders, Chongqing 400014, China

Abstract: Objective To explore the key genes in T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) using bioinformatics method to better understand the pathogenic mechanisms of T-ALL. **Methods** The gene expression profiles of GSE14317 were obtained from Gene Expression Omnibus database. The differentially expressed genes (DEGs) in T-ALL were analyzed using R package Limma. The online analysis tool DAVID was used to perform the functional and pathway enrichment analysis. The protein-protein interaction network was constructed by STRING and visualized by Cytoscape. Based on the JASPAR database, the transcription factors (TFs) of the hub genes were obtained. RT-PCR was used to test the mRNA expression level of the key genes. **Results** A total of 1443 DEGs were identified, including 800 up-regulated genes and 643 down-regulated genes. These DEGs were significantly enriched in the cell cycle, hematopoietic cell lineage, cytokine-cytokine receptor interaction and T cell receptor signaling pathway. The top 10 hub genes identified from the PPI networks included CDK1, PIK3R1, CCNB1, CCNA2, CDC20, JUN, GNG11, PLK1, PCNA and CCNB2, which were enriched in chemokine signaling pathway, ubiquitin mediated proteolysis and cell cycle. In the TF-target gene network, 42 differentially expressed TFs were identified, among which ELF5, HIC2 and MEIS1 had binding sites with 9 of the candidate hub genes. RT-PCR showed that the mRNA expression level of all the candidate hub genes except for GNG11 were consistent with the gene expression profiles. **Conclusion** The hub genes CDK1, PIK3R1, CCNB1, CCNA2, CDC20, JUN, PLK1, PCNA, CCNB2, ELF5, HIC2 and MEIS1 participate in the occurrence of T-ALL. Our finding provides new insights into the pathogenesis of T-ALL.

Keywords: T-cell acute lymphoblastic leukemia; Bioinformatics analysis; differentially expressed gene; transcription factor

急性T淋巴细胞性白血病(T-ALL)起源于胸腺非成熟T淋巴细胞是一种血液系统恶性肿瘤^[1-2],分别占儿

童急性淋巴细胞白血病的15%和成人急性淋巴细胞白血病的25%左右^[3],主要表现为循环白细胞增多,肝脾肿大,出血倾向以及中枢神经浸润等^[4-5]。T-ALL的治疗主要有化疗,干细胞移植以及支持治疗,随着加强化疗的使用,T-ALL病人的预后有所改善,但5年无病生存率仍仅为60%~70%,许多T-ALL病人不能得到完全缓解最终导致复发^[6]。目前针对T-ALL的治疗仍不容乐观,缺乏对T-ALL发生发展的分子机制的认知限制了对疾

收稿日期:2017-07-09

基金项目:国家自然科学基金(81373444,81570142)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81373444, 81570142).

作者简介:蒋光洁,硕士研究生,E-mail: 306118416@qq.com

通信作者:邹琳,研究员,博士生导师,E-mail: cmmc_sm@163.com

病的治疗能力。

T-ALL 的发生发展是一个多基因多步骤协同过程,存在多种分子及信号通路异常,仅关注单个或某几个基因的研究方法已经不能满足当前研究需要。基于高通量平台的基因表达谱芯片可以检测上万种基因 mRNA 水平变化,基因芯片技术联合生物信息学使得研究多个基因表达情况成为可能,现已用于分子诊断,癌症分型,预后预测以及新药研究等^[7-9]。目前,针对 T-ALL 的基因芯片研究相对较少,在本文中,我们利用多个数据库对 T-ALL 病人基因表达谱芯片 GSE14317 进行全面综合分析,针对差异表达基因进行生物信息学分析并利用实时荧光定量 PCR 验证,旨在为临床筛选 T-ALL 的相关分子标志物及药物靶点提供理论基础。

1 资料和方法

1.1 表达谱芯片

本文自公共数据库基因表达数据库(GEO)中下载 T-ALL 基因表达谱芯片 GSE14317^[10],该芯片基于 GPL571 平台([HG- U133A_2] Affymetrix Human Genome U133A 2.0 Array),共有 26 例样本,包括 19 例 T-ALL 病人骨髓标本以及 7 例正常人胸腺 CD4⁺T 细胞

对照标本。

1.2 筛选差异表达基因

芯片数据进行数据过滤、标准化和对数化处理,将处理后的数据转化为基因表达矩阵,使用稳健多芯片平均标准化分析(RMA)方法对数据进行归一化处理。利用 R 语言 limma 包对 T-ALL 实验组与对照组比较分析,筛选差异表达基因。

1.3 芯片数据生物信息学分析

利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 在线数据库对差异基因进行 GO 功能富集分析以及 KEGG 通路富集分析。利用 STRING 等在线工具筛选交互作用评分大于 0.9(高度可信)的蛋白质构建蛋白互作网络图,并用 Cytoscape 软件构建蛋白互作子网络,并对子网络基因进行通路富集分析。

1.4 RT-PCR 验证基因表达

收集我院 5 例 T-ALL 病人骨髓标本以及 3 例正常人胸腺细胞作为对照,Trizol 法提取细胞总 RNA 并逆转录为 cDNA,利用 SYBR 荧光定量 PCR 法检测枢纽基因的 mRNA 表达水平。各基因的引物序列见表 1。最后根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值计算基因相对表达量。

表 1 引物信息

Tab.1 Sequences of the primers for RT-PCR

Primer	Forward	Reversed
CDK1	AACTACCTGGACCGCTTCCT	CCACTTGAGCTTGTT CACCA
PIK3R1	AAGTGCCAGAGTGAAGTGCC	GTCCCGTCTGCTGTATCTCG
CCNB1	TCTGCTGGGTGTAGGTCCTT	ACCAATGTCCCCAAGAGCTG
CCNA2	CTGGTGGTCTGTGTTCTGTGA	TCTTGGATGCCAGTCTTACTC
CDC20	CTTCCCTGCCAGACCGTATC	AGGATGTCACCAGAGCTTGC
JUN	CCAACCTCATGCTAACGCAGC	TCTCTCCGTCGCAACTTGTC
GNG11	TGCTTGGACCCAGTCTCAAA	GCGTCCCAGAACTGAAG
PLK1	CCGCAATTACATGAGCGAGC	GGAGACTCAGGCGGTATGTG
PNCA	AGCCATATTGGAGATGCTGTTG	ATACTGAGTGTACCCTTGACGA
CCNB2	CACAGGATACACAGAGAATG	CTTGATGGCGATGAATTTAG
ELF5	CAAGACTGTCACAGTCATAG	GTCAACCCGCTCCAAA TTC
HIC2	GCACTTCGTTTGCGGAGGC	CCGAAGAGCTTCAGGAAGC
MEIS1	CTGTTGATGGTAGGCTGTAT	CTTCTGGGACTGATGCTGGTG
GAPDH	CAGCGACACCCACTCCTCCACCTT	CATGAGGTCCACCACCCTGTTGCT

1.5 转录因子-靶基因网络构建

在 UCSC 数据库中下载核心枢纽基因启动子上游 1000 bp 序列,利用 JASPAR 数据库下载人类全基因转录因子序列,进行转录因子预测,将得到的阈值设为 90%(高度可信)。筛选有差异表达的转录因子,将转录因子和枢纽基因导入 Cytoscape 软件构建转录因子-靶

基因网络。

1.6 统计学方法

实验结果采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析,数据均以均数±标准差表示,采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因表达谱芯片数据结果

样本均一化结果显示每个样本表达量的中位数均一致,表明样本已均一化处理(图1)。本研究对样本进行贝叶斯检验,按照差异倍数>2, $P < 0.05$ 作为筛选条

件,筛选T-ALL病人表达谱芯片中差异基因。结果发现共有1443个差异表达基因,其中上调的有800个,下调的有463个,选取最有差异的50个基因做热点图反应基因表达情况(图2)。

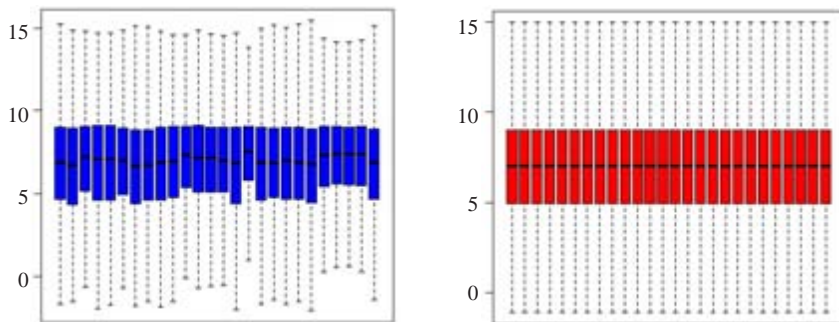


图1 标本均一化处理

Fig.1 The expression spectrum data of GSE14317 profiles before or after normalization. A: Box plots of the expression spectrum data before normalization; B: Box plots of the expression spectrum data after normalization.

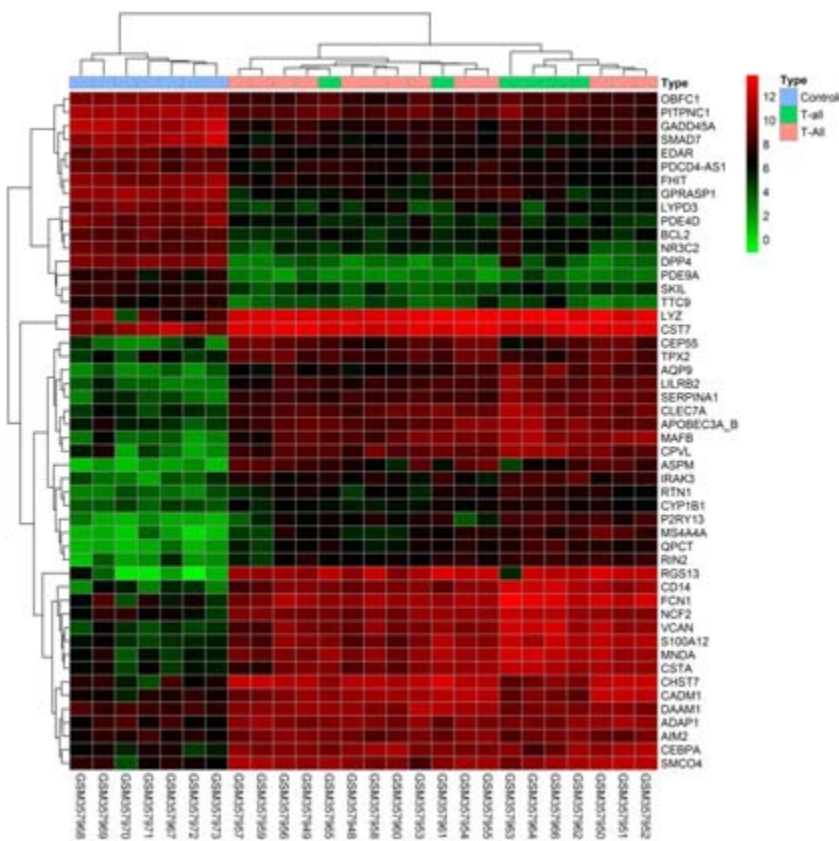


图2 最有差异的50个基因热点图

Fig.2 Heat map of the top 50 differentially expressed genes. Red: up-regulation; green: down-regulation.

2.2 GO功能富集分析与KEGG通路分析

利用DAVID数据库对差异基因进行GO功能富集分析与KEGG通路分析。GO结果($P < 0.05$ 和FDR < 0.05)显示上调的基因富集在细胞周期(GO:0007049)等,下调基因主要富集在蛋白刺激反应(GO:0051789)(表2)。KEGG结果($P < 0.05$ 和FDR < 0.05)显示上调基

因主要富集于造血细胞系(hsa04640)和细胞周期(hsa04110)等,下调基因主要富集于细胞因子间相互作用(hsa04060)和T细胞受体信号通路(hsa04630)(表3)。

2.3 蛋白质相互作用网络

对蛋白互作网络图分析发现,满足条件的共有694个节点,3348条关系,其中CDK1, PIK3R1, CCNB1,

表2 上调基因功能和通路富集分析

Tab.2 Function and KEGG pathway analysis of the up-regulated genes.

Term	Description	Count	P
up-regulated			
GO: 0007049	cell cycle	89	9.94E-16
GO: 0000278	mitotic cell cycle	57	1.48E-15
GO: 0000280	nuclear division	43	1.70E-15
GO: 0007067	mitosis	43	1.70E-15
GO: 0000087	M phase of mitotic cell cycle	43	3.32E-15
GO: 0022403	cell cycle phase	60	4.19E-15
GO: 0006955	immune response	81	6.99E-15
GO: 0048285	organelle fission	43	7.36E-15
GO: 0000279	M phase	51	4.60E-14
GO: 0022402	cell cycle process	70	4.79E-14
KEGG: hsa04640	Hematopoietic cell lineage	18	5.94E-06
KEGG: hsa04110	Cell cycle	19	2.61E-04
KEGG: hsa05332	Graft-versus-host disease	9	0.001447
KEGG: hsa04612	Antigen processing and presentation	13	0.002663
KEGG: hsa04666	Fc gamma R-mediated phagocytosis	13	0.008088
KEGG: hsa04662	B cell receptor signaling pathway	11	0.01045
KEGG: hsa05322	Systemic lupus erythematosus	13	0.011134
KEGG: hsa04620	Toll-like receptor signaling pathway	13	0.012956
KEGG: hsa04060	Cytokine-cytokine receptor interaction	25	0.015748
KEGG: hsa04650	Natural killer cell mediated cytotoxicity	15	0.020645

CCNA2, *CDC20*, *JUN*, *GNG11*, *PLK1*, *PCNA* 和 *CCNB2* 基因具有最大互作关系。利用 MCODE^[11] 构建高度蛋白互作子网络, 以发现潜在的功能模块, 筛选出最有意义的 3 个模块并进行信号通路富集分析 ($P < 0.05$ 和 $FDR < 0.05$), 结果显示模块 1 主要富集于趋化因子信号通路, 模块 2 主要富集于泛素介导的蛋白降解, 模块 3 主要富集于细胞周期(图 3)。

2.4 RT-PCR 验证结果

利用 RT-PCR 验证 *CDK1*, *PIK3R1*, *CCNB1*, *CCNA2*, *CDC20*, *JUN*, *GNG11*, *PLK1*, *PCNA* 和 *CCNB2* 在 T-ALL 病人中的 mRNA 表达情况。结果显示 *CDK1*, *CCNB2*, *CDC20*, *PLK1*, *CCNB2* 的 mRNA 表达量较正常对照组增加 ($P < 0.05$), *CCNB1*, *CCNA2*, *PCNA* 的 mRNA 表达量较正常对照组明显增加 ($P < 0.01$)。 *PIK3R1* 的 mRNA 表达量较正常对照组降低 ($P < 0.05$), *JUN* 的 mRNA 表达量较正常对照组明显降低 ($P < 0.01$), 与芯片结果数据分析一致。但 *GNG11* 的 mRNA 表达量与正常对照组相比无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 4)。

2.5 转录因子-靶基因调节网络

利用 JASPAR 数据库预测 9 个关键基因启动子上游转录因子结合位点, 筛选出 42 个差异表达转录因子, 其中 ELF5, HIC2 和 MEIS1 与候选的 9 个关键基因启动

子上游均有结合位点。将转录因子和关键基因导入 Cytoscape 软件构建转录因子-靶基因网络(图 5)。

2.6 转录因子 mRNA 表达水平

用 RT-PCR 验证 ELF5, HIC2 和 MEIS1 在 T-ALL 病人中的 mRNA 表达情况。结果显示 ELF5 和 HIC2 MEIS1 的 mRNA 表达量较正常对照组增加 ($P < 0.05$) MEIS1 的 mRNA 表达量较正常对照组明显增加 ($P < 0.01$, 图 6), 与芯片结果一致。

3 讨论

急性 T 淋巴细胞性白血病(T-ALL)是一种血液系统急进性恶性肿瘤, 占急性淋巴细胞白血病(ALL)的 15%~25%左右。目前 T-ALL 的治疗主要有化疗, 干细胞移植以及支持治疗, 近年来 T-ALL 的治疗取得了较大改善, 但仍有 25% 的患者对 T-ALL 的治疗耐受^[12] 或出现严重副作用, 探讨研究 T-ALL 发生发展的具体机制仍是当务之急。基因芯片技术联合生物信息学方法突破传统的小规模研究方式为全面综合分析多基因调控事件在 T-ALL 发生发展的作用提供了可能。通过对差异表达基因构建蛋白互作网络分析显示节点最多的 10 个基因: *CDK1*, *PIK3R1*, *CCNB1*, *CCNA2*, *CDC20*, *JUN*, *GNG11*, *PLK1*, *PCNA* 和 *CCNB1*。利用 RT-PCR 验证

表4 模块信号通路分析

Tab.4 KEGG pathway analysis of top 3 modules

Modules	GeneSet	P	FDR	Nodes
Module 1	Chemokine signaling pathway	6.49E-17	8.88E-14	<i>ADCY1, CCR1, PF4, CXCR2, GNG11, CXCR3, CXCL6, CCL5, CXCL10, CCR9, CCR7, CCR6, PPBP, CXCR5, CXCR4, CCR4</i>
	Cytokine-cytokine receptor interaction	9.71E-12	7.79E-09	<i>CCR1, PF4, CXCR2, CXCR3, CXCL6, CCL5, CXCL10, CCR9, CCR7, CCR6, CXCR5, PPBP, CXCR4, CCR4</i>
Module 2	Ubiquitin mediated proteolysis	3.73E-12	3.62E-09	<i>UBE2E3, CBLB, SOCS3, SOCS1, RBX1, CDC20, UBE2C, SMURF2, NEDD4L, FBXO2, UBA3, KEAP1</i>
Module 3	Cell cycle	4.09E-06	0.003418	<i>CCNB1, CDK1, CCNB2, PLK1, PCNA, BUB1B, CHEK1</i>

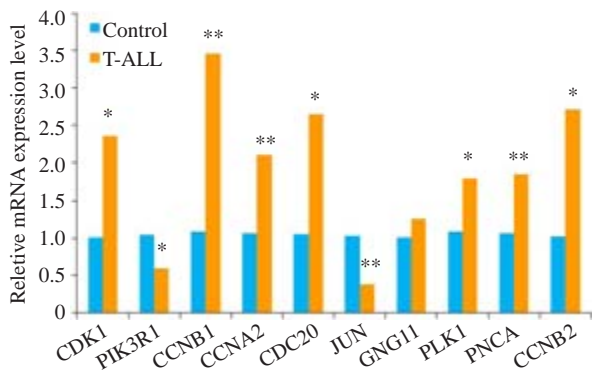


图4 各基因在T-ALL病人中mRNA表达水平的变化

Fig.4 Changes in mRNA expressions of the identified DEGs in T-ALL patients. * $P < 0.05$ vs normal control group, ** $P < 0.01$ vs normal control group.

胶质母细胞瘤中 *CDC20* 的表达受 *BRCA1* 调控与疾病的分级有关。*BRCA1* 是多种肿瘤的易感基因,在本文中 *BRCA1* 与 *CDC20* 表达均升高,据此可以推测 *BRCA1* 与 T-ALL 的分级有关,提示研究抗 *BRCA1* 的药物可以为 T-ALL 的治疗提供靶向。*PLK1* 属于 PLKs 家族成员,是一种广泛存在于真核生物中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。*PLK1* 在多种肿瘤中高表达并与预后有关,Shao 等^[16] 研究发现 *PLK1* 可以介导 Numb 的磷酸化,抑制 *P53* 的转录活性,*P53* 失去抑癌功能最终导致肿瘤的发生。*PCNA* 与细胞 DNA 合成密切相关,在细胞增殖的启动上起重要作用,目前 *PCNA* 作为诊断肿瘤增殖的指标,随疾病的进程逐渐增多^[17]。*PIK3R1* 在多种肿瘤中

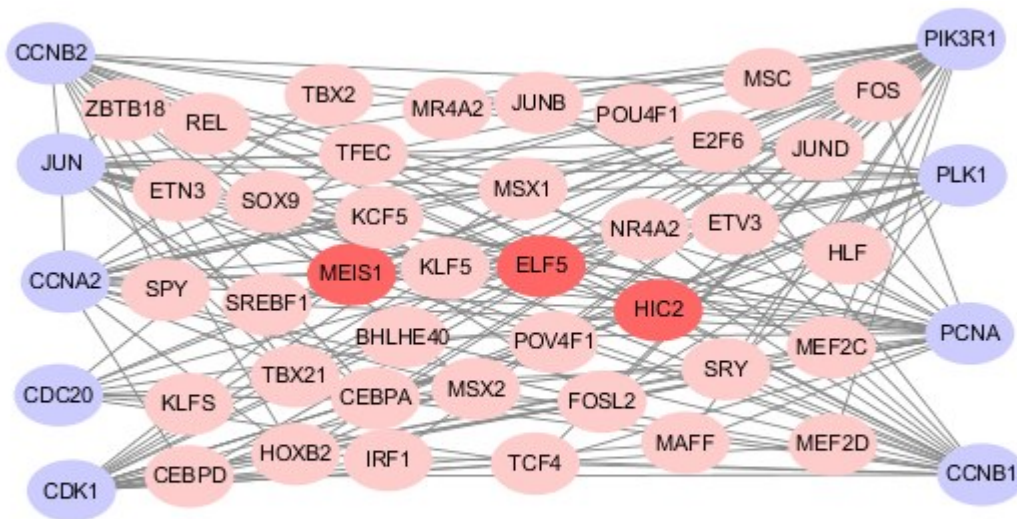


图5 转录因子-靶基因网络

Fig.5 The TFs-target genes regulatory network of T-ALL; the grey nodes represent hub genes, the pink nodes represent transcription factors and the croci nodes represent the three most significant TFs.

有较高的突变率^[18],参与 PI3K-AKT 信号通路。Remke^[19] 发现异常的 PI3K-AKT 信号通路与白血病的生成以及 T-ALL 早期治疗效果差有关。*JUN* 属于转录因子 AP-1 家族成员之一,*JUN* 和 *FOS* 共同组成异源二聚体复合物 AP-1,AP-1 在肿瘤中扮演重要的作用参与多种细胞生物过程,如细胞增殖,细胞死亡,细胞周期以及细胞分化等。Scupoli 等^[20] 报道在 T-ALL 中 *CXCL12* 可以激活

JNK/AP-1 信号通路导致 *IL-8* 增多影响 T-ALL 进程。

转录因子通过与靶基因启动子上游结合调控基因表达。因此基于 JASPAR 数据库,我们对筛选出的 9 个关键基因进行转录因子预测,共有 42 个差异表达转录因子,其中 *ELF5*,*HIC2* 和 *MEIS1* 与 9 个关键基因启动子上游均有结合位点。*ELF5* 参与细胞增殖和肿瘤形成,在急性髓性白血病中 *ELF5* 抑制 *P53/P21* 信号通路

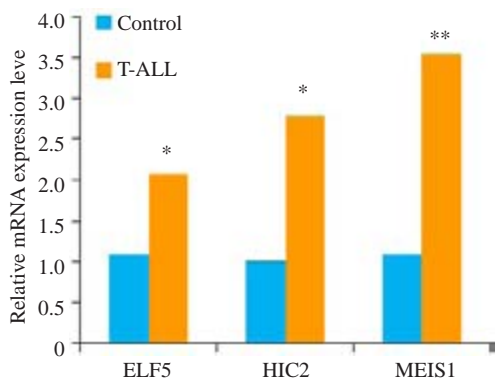


图6 转录因子在T-ALL病人中mRNA表达水平的变化
Fig.6 Changes in mRNA expressions of the identified TFs in T-ALL patients. * $P < 0.05$ vs normal control group, ** $P < 0.01$ vs normal control group.

导致白血病的发生^[21]。MEIS1属于TALE转录因子家族,在正常的胚胎造血中发挥重要作用,在儿童急性白血病中MEIS1与HOXA9共表达加速白血病进程^[22]。肿瘤高甲基化基因2(HIC2)是HIC1家族一员,研究发现启动子高甲基化与白血病的发生密切相关,去甲基化治疗是治疗白血病的又一重要途径。目前针对HIC2在T-ALL中的具体作用机制报道较少仍需进一步研究。

综上所述,应用生物信息学方法综合系统的分析了T-ALL差异表达基因,筛选并验证11个关键基因,从分子水平为探讨T-ALL发生发展机制提供了理论依据。筛选出的关键基因为T-ALL的早期诊断及治疗靶点提供了新的方向,为下一步研究T-ALL的发生机制提供了有意义的信息。

参考文献:

- [1] Girardi T, Vicente C, Cools J, et al. The genetics and molecular biology of T-ALL[J]. Blood, 2017, 129(9): 1113-23.
- [2] Karrman K, Johansson B. Pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2017, 56(2): 89-116.
- [3] Kramer AC, Kothari A, Wilson WC, et al. Dnmt3a regulates T-cell development and suppresses T-ALL transformation[J]. Leukemia, 2017, 31(11): 2479-90.
- [4] Donnellan W, Mineishi S, Wicker J, et al. Gamma-Delta T cell acute lymphoblastic leukemia: a Single-Center experience [J]. Glob J Cancer Ther, 2016, 2(1): 26-9.
- [5] Jost TR, Borga C, Radaelli EA, et al. Role of CXCR4-mediated bone marrow colonization in CNS infiltration by T cell acute lymphoblastic leukemia[J]. J Leukoc Biol, 2016, 99(6): 1077-87.
- [6] Sutton R, Shaw PJ, Venn NC, et al. Persistent MRD before and after allogeneic BMT predicts relapse in children with acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2015, 168(3): 395-404.
- [7] Hoelzer D, Thiel E, Arnold R, et al. Successful subtype oriented treatment strategies in adult T-All; results of 744 patients treated in three consecutive GMALL studies[J]. Blood, 2009, 114(22): 137.
- [8] Damavandi MD, Braconi C, Cascione LA, et al. Global gene

expression profiling of mice tumor-derived organoids identifies key microRNAs and metabolic genes involved in CRC progression[J]. Cancer Res, 2015, 75(15): 3038.

- [9] Kulasingam V, Diamandis EP. Strategies for discovering novel cancer biomarkers through utilization of emerging technologies[J]. Nat Clin Pract Oncol, 2008, 5(10): 588-99.
- [10] Pise-Masison CA, Radonovich M, Dohoney K, et al. Gene expression profiling of ATL patients: compilation of disease-related genes and evidence for TCF4 involvement in BIRC5 gene expression and cell viability[J]. Blood, 2009, 113(17): 4016-26.
- [11] Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks [J]. BMC Bioinformatics, 2003, 4(1): 2.
- [12] El Zawily A, Mcewen E, Toosi B, et al. The EphB6 receptor is overexpressed in pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia and increases its sensitivity to doxorubicin treatment[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 14767.
- [13] Lu M, Breysens H, Salter V, et al. Restoring p53 function in human melanoma cells by inhibiting MDM2 and cyclin B1/CDK1-phosphorylated nuclear iASPP[J]. Cancer Cell, 2013, 23(5): 618-33.
- [14] Wang Z, Wan L, Zhong J, et al. Cdc20: a potential novel therapeutic target for cancer treatment[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(18): 3210-4.
- [15] Bie L, Zhao G, Cheng P, et al. The accuracy of survival time prediction for patients with glioma is improved by measuring mitotic spindle checkpoint gene expression[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25631.
- [16] Shao C, Chien SJ, Farah E, et al. Plk1 phosphorylation of Numb leads to impaired DNA damage response[J]. Oncogene, 2018, 37(6): 810-20.
- [17] Juríková M, Danihel L, Polák Š, et al. Ki67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer [J]. Acta Histochem, 2016, 118(5): 544-52.
- [18] Park SW, Kang MR, Eom HS, et al. Somatic mutation of PIK3R1 gene is rare in common human cancers [J]. Acta Oncol (Madr), 2010, 49(1): 128-30.
- [19] Remke M, Pfister S, Kox C, et al. High-resolution genomic profiling of childhood T-ALL reveals frequent copy-number alterations affecting the TGF-beta and PI3K-AKT pathways and deletions at 6q15-16.1 as a genomic marker for unfavorable early treatment response[J]. Blood, 2009, 114(5): 1053-62.
- [20] Scupoli MT, Donadelli M, Cioffi F, et al. Bone marrow stromal cells and the upregulation of interleukin-8 production in human T-cell acute lymphoblastic leukemia through the CXCL12/CXCR4 axis and the NF-kappaB and JNK/AP-1 pathways [J]. Haematologica, 2008, 93(4): 524-32.
- [21] Endo A, Tomizawa D, Aoki Y, et al. EWSR1/ELF5 induces acute myeloid leukemia by inhibiting p53/p21 pathway [J]. Cancer Sci, 2016, 107(12): 1745-54.
- [22] Adamaki M, Lambrou GI, Athanasiadou AA, et al. HOXA9 and MEIS1 gene overexpression in the diagnosis of childhood acute leukemias: Significant correlation with relapse and overall survival [J]. Leuk Res, 2015, 39(8): 874-82.