

WWP1在慢性淋巴细胞白血病中的异常表达及临床意义

杨常青¹ 曹蕾¹ 皇荣¹ 刘海玲¹ 吴雨洁¹ 乔纯¹ 徐卫¹ 李建勇^{1,2} 范磊¹

¹南京医科大学第一附属医院,江苏省人民医院血液科,南京 210029;²浦口慢性淋巴细胞白血病诊疗中心,南京 211899

通信作者:范磊,Email:fanlei3014@126.com

【摘要】 目的 检测E3泛素连接酶(WWP1)在慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者中的表达,分析其与经典预后指标TP53、CD38、IGHV突变等的相关性及预后价值。方法 48例初诊CLL患者肿瘤细胞WWP1的mRNA水平通过实时定量PCR(qPCR)检测,以9名年龄匹配的正常人作为对照组,分析其临床意义。结果 对照组WWP1 mRNA表达中位数为0.007(95% CI 0.005~0.010),CLL组表达水平为0.031(95% CI 0.019~0.044),两者的差异有统计学意义($P < 0.001$)。WWP1相对高转录者和低转录者中位诊断至第一次治疗的时间分别为24个月和35个月,两者的差异有统计学意义($P = 0.022$)。进一步亚组分析显示WWP1 mRNA表达水平与CD38表达和ZAP-70表达相关:CD38、ZAP-70阳性CLL患者较CD38、ZAP-70阴性患者的WWP1 mRNA表达水平显著升高(P 值分别为0.012和0.029)。结论 WWP1在CLL患者中存在异常高表达,而且与CLL临床预后因素ZAP-70和CD38的表达密切相关。

【关键词】 白血病,淋巴细胞,慢性; 逆转录聚合酶链反应; E3泛素连接酶; 预后

基金项目:国家自然科学基金国际合作与交流项目(81720108002);国家科学和技术重大专项(2018ZX09734-007)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.09.006

Abnormal expression of WWP1 in chronic lymphocytic leukemia and its clinical significance

Yang Changqing¹, Cao Lei¹, Huang Rong¹, Liu Hailing¹, Wu Yujie¹, Qiao Chun¹, Xu Wei¹, Li Jianyong^{1,2}, Fan Lei¹

¹Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China; ²Pukou CLL Center, Nanjing 211899, China

【Abstract】 Objective This study aims to investigate the expression of E3 ubiquitin-ligase (WWP1) in chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients and analyze its correlation with clinical prognostic indicators (TP53, CD38, IGHV mutation) and its prognostic value. **Methods** A total of 48 CLL patients and 9 age-matched normal subjects were enrolled in the study. The WWP1 expression was detected by SYBR Green-based real-time PCR, and the clinical relationship was analyzed by GraphPad Prism software. **Results** The WWP1 median expression was 0.007 (95% CI 0.005 - 0.010) in the normal control group and 0.031 (95% CI 0.019 - 0.044) in the CLL group ($P < 0.001$). A sub-groups analysis implicated a statistically significant result ($P = 0.022$), showing that the median time from a relatively high and low transcription level of WWP1 to the first treatment was 24 months and 35 months, respectively. Positive CD38 and ZAP-70 expressions were associated with a higher WWP1 expression ($P = 0.012$ and 0.029, respectively). **Conclusion** An abnormal WWP1 mRNA expression was found in CLL patients with significant correlation with ZAP-70 and CD38 expressions, and WWP1 may become a new supplement of CLL prognostic markers.

【Key words】 Chronic lymphocytic leukemia; Reverse transcription polymerase chain reaction; E3 ubiquitin ligase; Prognosis

Fund program: International cooperation and exchange program of National Natural Science Foundation of China (81720108002); National Science and Technology Major Project of China (2018ZX09734-007)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.09.006

慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 是以 CD5 阳性、形态成熟的小淋巴细胞在外周血、骨髓、脾脏和淋巴结聚集为特征, 主要发生在中老年人群中的一种成熟 B 淋巴细胞克隆增殖性肿瘤^[1]。CLL 患者的预后呈高度异质性, 预后因素包括年龄、临床分期、细胞遗传学及分子遗传学等实验和临床指标^[2]。E3 泛素连接酶 (WWP1) 是近年来发现的重要致癌基因, 与肿瘤的发生和发展密切相关。Sanarico 等^[3]发现 WWP1 在急性髓系白血病 (AML) 患者原代细胞和细胞系中高表达, 抑制 WWP1 表达可以增加底物蛋白 p27 Kip1 并激活自噬以抑制肿瘤细胞生长, 然而在 CLL 中 WWP1 的表达及临床意义尚未见报道。本研究采用定量 PCR 技术 (qPCR) 分析了 48 例 CLL 患者外周血肿瘤细胞中 WWP1 基因 mRNA 表达及其与临床预后因素的相关性, 为 CLL 患者的精准和个体化治疗提供理论依据。

病例与方法

1. 病例: 回顾性分析 2011–2018 年南京医科大学第一附属医院 (江苏省人民医院) 血液科收治的 48 例初诊 CLL 患者的临床资料。所有患者均符合 CLL 诊断标准^[4], 包括细胞形态学、免疫学 (流式细胞术检测免疫表型)、细胞遗传学 (常规染色体核型分析或 FISH 检测) 以及分子生物学在内的综合诊断。收集本院体检中心年龄匹配的外周血标本 9 份作为正常对照。患者的一般临床数据包括性别、年龄、Rai 分期、血清白蛋白和 β_2 -微球蛋白 (β_2 -MG) 水平, 初始淋巴细胞计数、CD38 和 ZAP-70 表达、p53 基因的缺失、p53 和免疫球蛋白重链可变区 (IGHV) 基因突变等均纳入分析, 并将 TP53 突变及缺失归为 TP53 基因异常。随访截至 2019 年 12 月, 中位随访 31 (1~91) 个月。

2. RNA 提取和转录: 收集 CLL 患者外周血标本 3~4 ml, 用 PBS 等体积稀释, 然后使用 Ficoll 人淋巴细胞分离液 (灏洋生物制品科技有限公司产品) 分离单个核细胞。使用 TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司产品) 提取细胞总 RNA, NanoDrop 2000 超微量分光光度计 (美国赛默飞世尔科技有限公司产品) 定量 RNA 浓度及纯度, 吸光度 (A) A_{260}/A_{280} 为 1.8~2.0。cDNA 合成: 取 0.5~1 mg 总 RNA, 应用 PrimeScript™ RT Master Mix 逆转录试剂盒 (日本 Takara 公司产品) 进行逆转录, 20 ml 体系如下: 5× PrimeScript T Master Mix 4 ml, RNA 1 mg, RNase

Free dH₂O 补至 20 ml。设置逆转录条件为: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 冷却, -20 °C 保存。

3. qPCR 检测 WWP1 mRNA 表达水平: 使用 ABI7300 RQ-PCR 仪进行检测, 并分析 WWP1 基因与内参 (β -actin) 的扩增曲线和分离曲线。根据基因扩增动力学得到各个标本的 Ct 值, 目的基因 mRNA 的相对表达量 = $2^{-\Delta Ct} \times 100\%$, ΔCt = 目的基因 Ct 值 - β -actin Ct 值。qPCR 使用 SYBR Premix Ex Taq™ II 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司产品), 上海生工生物有限公司设计并合成了两对目的基因引物, PCR 引物序列分别为: WWP1 上游引物: 5'-TGCTTCACCAAGGTCTGATACT-3', 下游引物: 5'-GCTGTCCGAACCAGTTCTTT T-3'; 内参 β -actin 上游引物: 5'-GTGGCCGAGGACTTTGATTG-3', 下游引物: 5'-CCTGTAACAACGCATCTCATATT-3'。引物设计及优化使用 Primer 6.1 软件和 blast 对比, 确保 qPCR 溶解曲线清晰, 无其他异常波形出现且产物单一。反应体系为 20 ml, 包括 SYBR Premix Ex taq™ 10 ml, cDNA 2 ml (相当于 1000 ng RNA), 上下游引物 (10 mmol/L) 各 0.5 ml, ROX Reference Dye 0.5 ml, RNase-Free ddH₂O 6.5 ml。反应条件: 先 95 °C 预变性 30 s, 然后 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。每个反应设 2 个复孔, 冰上操作。

4. 流式细胞术分析 CLL 细胞中 CD38 和 ZAP-70 蛋白的表达: CD5 与 CD19 双阳性细胞设门 (CLL 细胞) 分析 CD38 和 ZAP-70 的表达率, ZAP-70 和 CD38 的 cut-off 值分别为 30% 和 20%。具体操作参照文献^[5]。

5. IGHV 突变检测: IGHV 基因引物和 IGH 体细胞超突变凝胶检测分析试剂盒 (InVivoScribe) 用于多个 FCR 和序列测定, 以检测 IGHV 基因突变。具体操作参照文献^[6]。Sanger 测序检测 p53 基因突变。

6. 细胞培养: 细胞系 MEC1 和 JVM3 (南京科佰生物科技有限责任公司产品) 培养于含 10% FBS、50 μ g/ml 链霉素和 50 U/ml 青霉素 (美国 Gibco 公司产品) 的 IMDM (Hyclone) 培养基中, 置于 5% CO₂ 培养箱内, 37 °C 条件下培养。

7. 慢病毒载体转染及 CCK-8 细胞增殖实验: 慢病毒载体介导的 WWP1 shRNA1 和空载 shRNA-NC (汉恒生物科技有限公司产品) 分别加入 JVM3 和 MEC1 细胞中, 在 24 孔板中设置实验组和对照组,

细胞密度为 $2 \times 10^5/\text{ml}$, 24 h后细胞换液, 转染5~7 d后, 在培养基中加入嘌呤霉素($1 \mu\text{g}/\text{ml}$)筛选稳定细胞株。分别收集JVM3和MEC1实验组和对照组的细胞, 细胞接种于96孔板中($100 \mu\text{l}$), 密度 $1 \times 10^4/\text{孔}$ 。分别于2、24、48、72 h向每孔加入 $10 \mu\text{l}$ CCK-8溶液, 酶标仪检测450 nm处的A值。

8. 流式细胞术检测细胞周期和凋亡: Rnase A: PI(江苏凯基生物技术股份有限公司产品)以1:9体积配备工作液, PBS洗涤细胞后, 调整细胞密度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 制成细胞悬液, 每管加入70%冷乙醇 $500 \mu\text{l}$ 固定2 h, 每管加入配置好的 $500 \mu\text{l}$ 工作液, 室温避光45 min, 用流式细胞仪检测, 记录激发波长488 nm处红色荧光: 收集实验组和对照组细胞 $5 \times 10^5/\text{ml}$ ($600 \times \text{g}$, 5 min), 用PBS洗涤细胞两次, 加入 $500 \mu\text{l}$ 结合缓冲液悬浮细胞, 加入 $5 \mu\text{l}$ Annexin V-APC和7-AAD染液, 混匀, 室温避光15 min, 流式细胞仪检测。实验重复3次。

9. Western blot: 用RIPA裂解液(江苏凯基生物技术股份有限公司产品)提取总蛋白。用BCA试剂盒(碧云天生物技术股份有限公司)测定蛋白浓度。等量的蛋白质样品($35 \mu\text{g}$ 每孔)在10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 后110V电压2 h转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜, 使用快速封闭液(生物技术股份有限公司)室温中封闭1 h, 用 $1 \times \text{TBST}$ 洗涤两次, 然后将PVDF膜依次放置在一抗、二抗稀释液中, 一抗孵育条件为 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜, 二抗孵育条件为室温下结合1 h。一抗和二抗分别以1:1000和1:5000稀释。最后通过ECL试剂(美国Millipore公司产品)对膜进行显色。以 β -actin作为内参分析目的蛋白表达。

10. 统计学处理: 使用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析。使用Mann-Whitney U检验分析组间非正态分布样本的均值。检测值以样本均数和95%可信区间表示。计数资料间的比较采用 χ^2 检验。生存分析使用Kaplan-Meier法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。使用X-tile软件判断WWP1表达量的最佳界值。

结 果

1. 临床特征: 共分析48例CLL初治患者, 男30例, 女18例, 中位年龄60(46~78)岁。 > 60 岁患者26例(54.2%)。根据Rai临床分期系统, 0~1期21例(43.8%), 2~4期27例(56.2%)。26例(54.2%)

患者 β_2 -MG高于正常水平(正常值 $\leq 3.0 \text{ mg}/\text{L}$), 22例(45.8%)患者初始时白蛋白低于正常水平(正常值 $\geq 40 \text{ g}/\text{L}$)。流式细胞术分析外周血淋巴细胞, CD38和ZAP-70阳性患者分别为15例(31.3%)和25例(52.1%)。6例(12.5%)患者p53基因异常, 27例(56.3%)患者IGHV基因突变。

2. WWP1 mRNA在CLL中的表达和预后: qPCR检测到48例CLL患者WWP1 mRNA的中位表达水平为0.031(95%CI 0.019~0.044), 正常对照样本WWP1 mRNA的中位表达水平为0.007(95%CI 0.005~0.010), 两者的差异有统计学意义($P < 0.001$)(图1), 提示WWP1在CLL患者中存在异常高表达。WWP1 mRNA相对高表达患者的中位诊断至首次治疗的时间(TTFT)较WWP1 mRNA相对低表达患者缩短(24个月对35个月, $P = 0.022$)。

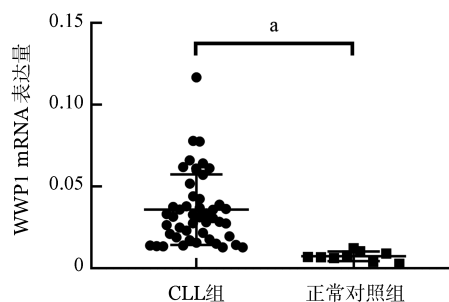


图1 定量PCR法分析48例初治慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者(CLL组)和9名健康成人(正常对照组)WWP1 mRNA的表达水平($P < 0.001$)

3. WWP1 mRNA的表达水平与临床特征、分期、预后因素间的关系: 分组分析显示, WWP1 mRNA的表达量与ZAP-70、CD38是否表达相关(P 值分别为0.029和0.012), 余预后因素与WWP1 mRNA的表达水平无明显相关性, 具体数据详见表1。

4. Western blot法检测CLL患者与对照组WWP1蛋白表达水平: 随机抽取3例CLL患者, 再抽取3名正常人作为对照组, Western blot法结果显示CLL患者的WWP1蛋白表达水平明显高于对照组(图2)。

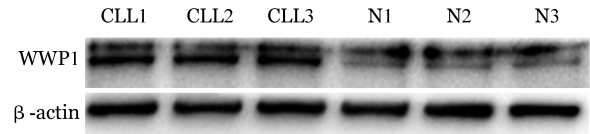
5. CCK-8法检测抑制WWP1对MEC1和JVM3细胞株增殖活性的影响: 结果显示, 抑制两株细胞的WWP1基因表达后均出现增殖活性的降低且降低组和对照组在48 h、72 h的增殖差异均具有统计学意义(表2、3)。

表 1 48例慢性淋巴细胞白血病患者WWP1 mRNA表达水平与临床特征、分期、预后因素间的关系

因素	例数	WWP1 mRNA表达量 [M(95% CI)]	P值
年龄			0.291
≤60岁	22	0.040(0.029~0.051)	
>60岁	26	0.032(0.025~0.040)	
性别			0.110
男	30	0.034(0.025~0.042)	
女	18	0.039(0.030~0.049)	
Rai分期			0.677
0~1	21	0.034(0.026~0.043)	
2~4	27	0.037(0.027~0.047)	
白蛋白			0.192
正常	26	0.032(0.025~0.039)	
下降	22	0.041(0.030~0.052)	
β ₂ -MG			0.179
正常	22	0.031(0.023~0.039)	
异常	26	0.040(0.030~0.050)	
CD38			0.012
<30%	33	0.032(0.025~0.038)	
≥30%	15	0.045(0.032~0.059)	
TP53异常			0.263
是	6	0.046(0.019~0.073)	
否	42	0.034(0.028~0.041)	
IGHV突变			0.294
是	27	0.033(0.026~0.041)	
否	21	0.039(0.028~0.050)	
ZAP-70表达			0.029
<20%	23	0.029(0.022~0.036)	
≥20%	25	0.042(0.032~0.052)	
初始淋巴细胞计数			0.529
>30×10 ⁹ /L	23	0.039(0.028~0.050)	
≤30×10 ⁹ /L	25	0.033(0.026~0.040)	

注:WWP1:E3泛素连接酶;β₂-MG:β₂-微球蛋白;IGHV:免疫球蛋白重链可变区

6. 流式细胞术检测敲低 WWP1 后两细胞株的细胞周期分布情况:MEC1 细胞株敲低 WWP1 后停止分裂时期(G₀期)/DNA 合成前期(G₁期)细胞百分比空白对照组升高 [(63.6±1.4)% 对 (56.2±1.3)% ,P<0.05],DNA 合成期(S期)细胞百分比空白对照组降低 [(30.0±0.8)% 对 (38.4±0.6)% ,P<0.001],而两组分裂期(M期)细胞百分比的差异无统计学意义 [(6.4±1.8)% 对 (5.4±1.6)% ,P=0.510]。在 JVM3 细胞株中也观察到同样的趋势,WWP1 抑制组的 G₀期/G₁期细胞百分比空白对照



N1、N2、N3:对照组;CLL1、CLL 2、CLL 3:患者;β-actin:内参
图 2 Western blot 法检测慢性淋巴细胞白血病 (CLL) 患者与正常对照 E3 泛素连接酶 (WWP1) 蛋白表达水平

表 2 CCK-8 法检测下调 E3 泛素连接酶 (WWP1) 对 MEC1 细胞增殖的影响 [细胞活力 (A₄₅₀, $\bar{x} \pm s$)]

组别	样本量	下调 WWP1 后检测时间			
		0 h	24 h	48 h	72 h
SH-NC	3	0.11±0.01	0.32±0.02	0.58±0.04	0.92±0.07
SH-WWP1	3	0.12±0.01	0.18±0.01	0.35±0.02	0.61±0.06
t 值		1.23	10.84	8.91	5.82
P 值		0.300	<0.001	<0.001	0.004

注:SH-NC:转染空白质粒载体组;SH-WWP1:转染敲低 WWP1 慢病毒组

表 3 CCK-8 法检测下调 E3 泛素连接酶 (WWP1) 对 JVM3 细胞增殖的影响 [细胞活力 (A₄₅₀, $\bar{x} \pm s$)]

组别	样本量	下调 WWP1 后检测时间			
		0 h	24 h	48 h	72 h
SH-NC	3	0.11±0.01	0.22±0.02	0.44±0.04	0.79±0.08
SH-WWP1	3	0.11±0.01	0.19±0.01	0.36±0.02	0.53±0.04
t 值		0	2.32	3.10	5.04
P 值		>0.900	0.080	0.040	0.007

注:SH-NC:转染空白质粒载体组;SH-WWP1:转染敲低 WWP1 慢病毒组

组显著升高 [(66.2±1.8)% 对 (55.3±1.3)% ,P=0.001],且 S 期细胞百分比显著降低 [(38.2±0.6)% 对 (26.6±2.2)% ,P=0.001],两组 M 期细胞百分比的差异无统计学意义 [(6.5±1.8)% 对 (7.2±2.5)% ,P=0.710]。细胞周期结果表明,在 CLL 细胞株中敲低 WWP1 可抑制细胞增殖,使处于 G₀期/G₁期的细胞数增多,S 期的细胞数减少。

8. 流式细胞术检测细胞凋亡水平:在 MEC1 细胞株中,抑制 WWP1 组和对照组总凋亡率分别为 (24.0±1.1)% 和 (11.4±1.8)% ,差异有统计学意义 (P=0.001)。JVM3 细胞株中,抑制 WWP1 组和对照组总凋亡率分别为 (23.6±1.6)% 和 (11.8±1.4)% ,差异有统计学意义 (P=0.001)。因此抑制 WWP1 基因促进了 MEC1 和 JVM3 细胞凋亡。

讨 论

泛素-蛋白酶体系是蛋白质降解的主要调控途径,在细胞分裂、基因转录、信号转导等多个生物学过程中发挥重要作用,其成员在多种癌症中存在异常表达^[7]。WWP1基因位于人类染色体8q21,是HECT的一个亚家族,属于Nedd4 E3泛素连接酶家族。泛素连接酶通过特异性识别蛋白质底物并通过泛素化降解调节靶蛋白的含量,在蛋白质的翻译修饰中起关键作用。功能研究发现,WWP1的异常表达与细胞增殖、凋亡、转录和蛋白质降解等密切相关^[8-9]。越来越多的证据表明,WWP1与肿瘤进展直接相关,并且已被认为是部分肿瘤的致癌基因,包括胃癌^[10]、肝癌^[11]、口腔癌^[12]等。Chen等^[13]研究发现WWP1在结直肠癌患者中高表达,且与不良预后显著相关,进一步研究表明过表达WWP1可以促进肿瘤细胞增殖,抑制WWP1有相反的作用。Li等^[14]研究发现miR-584-5p可以与WWP1直接结合,抑制胃癌细胞增殖并促进细胞凋亡。它可以作用于具有抑癌活性的多种底物,包括Smads、RNF11、p27、p53等^[9],有助于肿瘤进展。Cheng等^[11]发现内源性WWP1下调显著抑制了肝癌细胞的生长,诱导细胞凋亡,并促进凋亡相关蛋白(激活的caspase-3和p53)的表达。Wang等^[15]发现硼替佐米可以通过降低Smurf1、Smurf2和WWP1的表达抑制前列腺癌及其骨转移。Lee等^[16]研究发现WWP1负调控PTEN-Akt途径,抑制WWP1可以使PTEN重新激活进而杀伤肿瘤。因此,抑制WWP1将间接增加肿瘤抑制因子的表达,对于多种肿瘤可能是一种有前途的治疗策略。

迄今为止,对血液恶性肿瘤中WWP1异常表达的研究主要局限于AML,目前国际上尚无在CLL中表达的报道。本文着重探讨CLL细胞中WWP1的异常表达及其临床意义,并通过qPCR检测发现,CLL患者中WWP1 mRNA的表达水平明显高于正常人群($P < 0.001$),亚组分析显示WWP1相对高表达患者TTFT短于WWP1相对低表达的CLL患者,差异有统计学意义,提示WWP1可能参与CLL的发生发展。进一步的分析显示,CLL患者中WWP1的表达与疾病分期、年龄和初始淋巴细胞计数无显著相关性,而与CD38和ZAP-70的表达相关,CD38和ZAP-70阳性CLL患者WWP1的表达显著增高,提示WWP1可能与CLL预后不良相关。

总之,本研究发现WWP1 mRNA在CLL细胞

中异常高表达,且与CLL预后因素CD38和ZAP-70的表达相关,生存分析提示WWP1高表达的患者TTFT较短,疾病进展较快,提示WWP1可能成为新的CLL预后因素。Li等^[17]的研究表明,WWP1可以负向调控P53及家族成员P63的功能。在约90%的CLL初诊病例中,TP53基因在诊断时处于野生型状态,TP53异常的患者往往预后不佳。而在CLL中,WWP1调控TP53的机制还需要进一步研究。此外,抑制WWP1过表达可以诱导肿瘤细胞生长受抑和凋亡,也可成为CLL的潜在治疗靶点,为CLL的靶向治疗提供理论途径。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组,中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会,中国慢性淋巴细胞白血病工作组.中国慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤的诊断与治疗指南(2018年版)[J].中华血液学杂志,2018,39(5):353-358. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.05.001.
- [2] Nabhan C, Raca G, Wang YL. Predicting Prognosis in Chronic Lymphocytic Leukemia in the Contemporary Era [J]. JAMA Oncol, 2015, 1(7):965-974. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.0779.
- [3] Sanarico AG, Ronchini C, Croce A, et al. The E3 ubiquitin ligase WWP1 sustains the growth of acute myeloid leukaemia [J]. Leukemia, 2018, 32 (4): 911- 919. DOI: 10.1038/leu.2017.342.
- [4] 李建勇,邱录贵.中国慢性淋巴细胞白血病诊断与治疗专家共识[J].中华血液学杂志,2010,31(2):141-144. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2010.02.020.
- [5] Xu W, Li JY, Wu YJ, et al. CD38 as a prognostic factor in Chinese patients with chronic lymphocytic leukaemia [J]. Leuk Res, 2009, 33(2):237-243. DOI: 10.1016/j.leukres.2008.06.026.
- [6] Xu W, Li JY, Wu YJ, et al. Prognostic significance of ATM and TP53 deletions in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. Leuk Res, 2008, 32(7):1071-1077. DOI: 10.1016/j.leukres.2007.10.009.
- [7] Crusio KM, King B, Reavie LB, et al. The ubiquitous nature of cancer: the role of the SCF(Fbw7) complex in development and transformation [J]. Oncogene, 2010, 29 (35):4865- 4873. DOI: 10.1038/onc.2010.222.
- [8] Ingham RJ, Gish G, Pawson T. The Nedd4 family of E3 ubiquitin ligases: functional diversity within a common modular architecture [J]. Oncogene, 2004, 23 (11):1972-1984. DOI: 10.1038/sj.onc.1207436.
- [9] Zhi X, Chen C. WWP1: a versatile ubiquitin E3 ligase in signaling and diseases [J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(9):1425-1434. DOI: 10.1007/s00018-011-0871-7.
- [10] Zhang L, Wu Z, Ma Z, et al. WWP1 as a potential tumor oncogene regulates PTEN- Akt signaling pathway in human gastric carcinoma [J]. Tumour Biol, 2015, 36 (2):787- 798. DOI: 10.1007/s13277-014-2696-0.

[11] Cheng Q, Cao X, Yuan F, et al. Knockdown of WWP1 inhibits growth and induces apoptosis in hepatoma carcinoma cells through the activation of caspase3 and p53 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 448(3): 248-254. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.04.117.

[12] Lin JH, Hsieh SC, Chen JN, et al. WWP1 gene is a potential molecular target of human oral cancer [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2013, 116(2):221-231. DOI: 10.1016/j.oooo.2013.05.006.

[13] Chen JJ, Zhang W. High expression of WWP1 predicts poor prognosis and associates with tumor progression in human colorectal cancer [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(2):256-265.

[14] Li Q, Li Z, Wei S, et al. Overexpression of miR-584-5p inhibits proliferation and induces apoptosis by targeting WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 in gastric cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1):59. DOI: 10.1186/s13046-017-0532-2.

[15] Wang Z, Wang J, Li X, et al. Bortezomib prevents oncogenesis and bone metastasis of prostate cancer by inhibiting WWP1, Smurf1 and Smurf2 [J]. Int J Oncol, 2014, 45(4):1469-1478. DOI: 10.3892/ijo.2014.2545.

[16] Lee YR, Chen M, Lee JD, et al. Reactivation of PTEN tumor suppressor for cancer treatment through inhibition of a MYC-WWP1 inhibitory pathway [J]. Science, 2019, 364(6441) DOI: 10.1126/science.aau0159.

[17] Li Y, Zhou Z, Chen C. WW domain-containing E3 ubiquitin protein ligase 1 targets p63 transcription factor for ubiquitin-mediated proteasomal degradation and regulates apoptosis [J]. Cell Death Differ, 2008, 15(12): 1941-1951. DOI: 10.1038/cdd.2008.134.

(收稿日期:2020-04-10)
(本文编辑:律琦)

·读者·作者·编者·

2020年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

血红蛋白 HGB	辅助性T淋巴细胞 Th细胞	半乳甘露聚糖检测 GM试验
红细胞计数 RBC	调节性T淋巴细胞 Treg细胞	酶联免疫吸附实验 ELISA
白细胞计数 WBC	细胞毒性T淋巴细胞 CTL细胞	噻唑蓝实验 MTT实验
血小板计数 PLT	自然杀伤细胞 NK细胞	磷酸盐缓冲液 PBS
中性粒细胞绝对计数 ANC	白细胞介素 IL	胎牛血清 FBS
丙氨酸转氨酶 ALT	嵌合抗原受体T细胞 CAR-T细胞	乙二胺四乙酸 EDTA
天冬氨酸转氨酶 AST	肿瘤坏死因子 TNF	二甲基亚砷 DMSO
谷氨酰转移酶 GGT	干细胞生长因子 SCF	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE
碱性磷酸酶 ALP	粒细胞集落刺激因子 G-CSF	美国国家综合癌症网络 NCCN
乳酸脱氢酶 LDH	粒-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF	国际预后积分系统 IPSS
凝血酶原时间 PT	巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF	国际预后指数 IPI
部分激活的凝血活酶时间 APTT	粒-巨噬细胞集落形成单位 CFU-GM	异基因造血干细胞移植 allo-HSCT
红细胞生成素 EPO	弥散性血管内凝血 DIC	自体造血干细胞移植 auto-HSCT
血小板生成素 TPO	实时荧光定量PCR RQ-PCR	移植物抗宿主病 GVHD
乙型肝炎病毒 HBV	磁共振成像 MRI	人类白细胞抗原 HLA
丙型肝炎病毒 HCV	正电子发射断层扫描 PET	受试者工作特征曲线 ROC曲线
人类免疫缺陷病毒 HIV	荧光原位杂交 FISH	常见不良反应事件评价标准 CTCAE
核因子-κB NF-κB	(1,3)-β-D葡聚糖检测 G试验	本刊编辑部