

miR-381-3p 在急性髓系白血病中的表达 及对白血病细胞增殖和凋亡的影响

张红霞,王奎,吴广胜

摘要 **目的** 探讨 miR-381-3p 在急性髓系白血病(AML)中的表达、临床意义、进展与预后,以及对 AML 细胞增殖和凋亡的影响,为治疗 AML 提供理论依据。**方法** 利用生物信息学分析寻找差异性表达的 miRNAs,收集 AML 患者的临床资料和血液样本,测定纳入患者骨髓液中 miRNA 的表达水平,进一步阐明 miRNA 与 AML 的关系,并对纳入患者进行随访,计算总生存期(OS)和无病生存期(DFS);体外培养 AML 细胞,构建 miR-381-3p 的质粒,使 AML 过表达 miR-381-3p 和敲低 miR-381-3p,分为 control、miR-381 mimics、mimics NC、miR-381 inhibitor、inhibitor NC 五组,采用 CCK-8 及流式细胞术检测 AML 细胞的增殖及凋亡情况。**结果** 使用生物信息学分析发现差异性表达的 miRNAs 并最终确定 miR-381-3p 为研究分子,纳入 AML 患者共 90 例,AML 患者 miR-381 表达水平低于对照组,且各 FAB 分型患者均低于正常组;miR-381 表达水平的高低与 AML 患者的年龄、性别、外周血白细胞、淋巴细胞、FAB 分型均无关系,且高表达的 miR-381 患者 OS 及 DFS 显著延长,差异有统计学意义($P < 0.05$);体外实验表明敲低 miR-381 后,可抑制 AML 细胞的凋亡,促进增殖,当过表达 miR-381 后,可促进 AML 细胞的凋亡,抑制增殖。**结论** miR-381-3p 在 AML 患者中低表达,其过表达患者可显著延长 OS 和 DFS,miR-381-3p 可以促进

AML 细胞的凋亡,抑制增殖,有望成为治疗 AML 的靶向分子。

关键词 急性髓系白血病;miR-381-3p;预后;增殖;凋亡

中图分类号 R 557

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1164-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.017

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种累积遗传突变所导致的常见血液系统恶性肿瘤^[1],发病率和病死率在所有恶性肿瘤中居第 13 位和第 9 位^[2]。AML 常导致出血、致命感染或器官侵犯^[3]。临床上对 AML 的治疗通过多药联合化疗及造血干细胞移植,但 5 年总生存率仍低于 30%^[4]。因此,有必要寻找新的生物标志物用于肿瘤的早期诊断、预后判断和治疗指导。

微小 RNA(microRNAs, miRNAs)是一种含有约 22 个核苷酸的内源性非编码小 RNA 分子,通过与靶 mRNA 的 3'-非翻译区(3'untranslated region, 3'-UTR)结合,调节转录后水平靶基因的表达,翻译抑制或 mRNA 降解参与基因沉默^[5]。在 AML 的发生发展中,miRNA 通过多种方式最终失调 miRNA 导致疾病的发生^[6]。因其高度的保守性、稳定性以及广泛存在于组织和血液中^[7],miRNAs 作为多种疾病的临床诊断和预后的生物标志物已被广泛研究^[8]。该研究旨在探讨血清 miR-381 在 AML 中的表达、临床价值及其对细胞生物学行为的调节作用,旨在为治疗 AML 的临床诊断和预后提供新的靶点。

2023-06-09 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860374);石河子大学 2021 年兵团财政科技计划项目(编号:2021CA002);石河子大学 2021 年度自主资助支持校级科研项目(编号:ZZZC202186)

作者单位:石河子大学第一附属医院血液科,石河子 832000

作者简介:张红霞,女,硕士,副主任医师;

吴广胜,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail:hematology@126.com

TLR4 low expression on the expression of VE-cadherin, F-actin and RhoA and the permeability of endothelial cells.

Results After continuous blood treatment, the serum levels of TLR4, RhoA, interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) significantly decreased. The expression levels of VE-cadherin, F-actin, TLR4 and RhoA in the serum intervention group after continuous hemofiltration treatment significantly decreased, and the cell permeability significantly decreased. Low expression of TLR4 significantly promoted the expression of VE-cadherin and F-actin, and inhibited the expression of RhoA protein. **Conclusion** TLR4/RhoA signaling pathway is involved in the regulation of changes in vascular endothelial cell permeability induced by septic serum after continuous hemofiltration treatment.

Key words sepsis; Toll-like receptor 4; RhoA; continuous hemofiltration therapy; endothelial cell; burn

1 材料与方法

1.1 AML 患者的纳入 收集 2014 年 6 月—2016 年 10 月石河子大学医学院第一附属医院门诊及新住院确诊但未经系统治疗的 AML 患者 90 例作为实验组(AML 组),男 62 例,女 28 例,16~85 岁,中位年龄 49 岁,其中 <60 岁 39 例,≥60 岁 51 例;骨髓原始细胞 <60% 的 16 例,≥60% 的 17 例;染色体异常 57 例。所有患者均符合 FAB 国际分型诊断标准,按照 FAB 分类:M0 型 3 例,M1 型 6 例,M2 型 30 例,M3 型 5 例,M4 型 2 例,M5 型 41 例,M6 型 3 例。同时,选取健康骨髓捐赠者 30 例作为对照组(正常组),其中男 17 例,女 13 例。本研究通过石河子大学医学院第一附属医院伦理委员会批准(伦理号:A2021-074-01),入组患者均知情同意,临床资料均从门诊和住院病历资料中获取。骨髓穿刺术在无菌条件下进行,留取 3~5 ml 骨髓液,EDTA 抗凝管保存备用。

1.2 miRNA 和总 RNA 的提取 按照 miRNA 和总 RNA 提取试剂盒的方法提取单个核细胞中 miRNA 和总 RNA,利用 Taqman MicroRNA 反转录试剂盒和普通反转录试剂盒反转录得到 cDNA,以 U6 内参按照 Taqman miRNA 试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行 qRT-PCR 反应,得到数据用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行处理,计算 miR-381-3p 的表达量。

1.3 miR-381 的表达与临床指标之间的关系 收集纳入研究对象的年龄、性别、白细胞计数、淋巴细胞、FAB 分型等,对患者进行长期随访了解无病生存期(disease-free survival,DFS)、总生存期(overall survival,OS),分析 miR-381 表达的高低与患者预后的关系。

1.4 细胞的培养 液氮罐中取出冻存管中 AML 细胞于水浴锅中融化,后移至离心机中以 800 r/min 进行离心,沉淀细胞使用 10% 胎牛血清 DMEM 培养基重悬后再次离心,后得到沉淀细胞,再次用 DMEM 培养基重悬细胞后培养。当细胞到达 80% 以上时进行传代,使用 1 ml 胰蛋白酶消化细胞,再用 DMEM 培养基终止消化过程,后离心得到沉淀培养基重悬后按照 1:3 比例接种至新的培养瓶中;取对数期生长的细胞离心后取沉淀细胞,使用细胞冻存液重悬细胞,放置入细胞冻存盒中置于 -80 ℃ 冰箱中,次日移至液氮罐中进行冻存。

1.5 细胞转染及分组 使用 Lipofectamine 3000 转染 miR-381-3p 后,分为过表达组 miR-381-3p mim-

ics、敲低组 miR-381-3p inhibitor 以及各自对应的阴性对照。待转染入 24 h 进行换液处理,48 h 后收集细胞用于后续实验,具体序列见表 1。

表 1 质粒序列

质粒	序列(5'-3')
miRNA-381 mimics	F:CCAGAUCGUAAGUGGUACCGUU R:CUCUACACCGAACUAUAUCAGU
mimics NC	F:UCCUCCGUUCAGGUCACCUAA R:ACUCAACUCGCGGAGUUTA
miRNA-381 inhibitor	TATCCGACTTGTAGCATTAAC
inhibitor NC	CTATCCUUUUGUGUGGUAAGU
NC	F:GAGGACAUUUCUGUGCAACAA R:AAGCACUAUUCGAAUGUGCUG

1.6 qRT-PCR 按照 miRNA 提取试剂盒和总 RNA 提取试剂盒说明书提取 RNA 后,使用 qRT-PCR 的方法测定各组中 miR-381-3p 的表达量。使用 Nanodrop 测定 RNA 含量,根据体积与浓度调至一致后逆转录成 cDNA,反应条件:37 ℃ 2 min,42 ℃ 60 min,70 ℃ 5 min,4 ℃ 保存。将所得 cDNA 按照 Taqman miRNA kit 试剂盒和 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒进行实时荧光定量 PCR,所用 PCR 引物序列详见表 2。扩增条件为:95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 30 s,循环次数 40 次。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算公式得出 miRNA、mRNA 的表达量。

表 2 引物序列

引物	引物序列(5'-3')
miRNA-381-3p	F:UAUACAAGGCAAGCUCUCUGU R:Inquiry kit
U6	F:CTCGCTTCGGCAGCACATATACT R:ACGCTTCACGAATTTGCGTGTCT
GAPDH	F:TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG R:TCCTTGGAGGCCATGTGGCCAT

1.7 流式细胞术 按 5×10^5 /ml 密度将 AML 细胞种植在 6 孔板中,按照 1.5 项处理后的 AML 细胞使用预冷的 PBS 冲洗干净后,加入胰酶消化后收集细胞,以 800 r/min 离心 5 min 获得沉淀,使用 PBS 重悬细胞后分装,分别加入 PI 和 Annexin V-FITC 抗体后,设置对照组,避光情况下上机检测。

1.8 CCK-8 检测细胞增殖能力 取对数期生长的 AML 细胞按 5×10^5 /ml 密度种植在 24 孔板中并设置空白组,培养 12 h 后,每组设置 3 个对照组,按照 1.5 项处理细胞,每孔加入 25 μ l CCK-8 试剂,避光,37 ℃ 条件中孵育 1.5 h,测定酶标仪在 450 nm 吸光度时的吸光度(absorbance,A)值,计算细胞的增殖

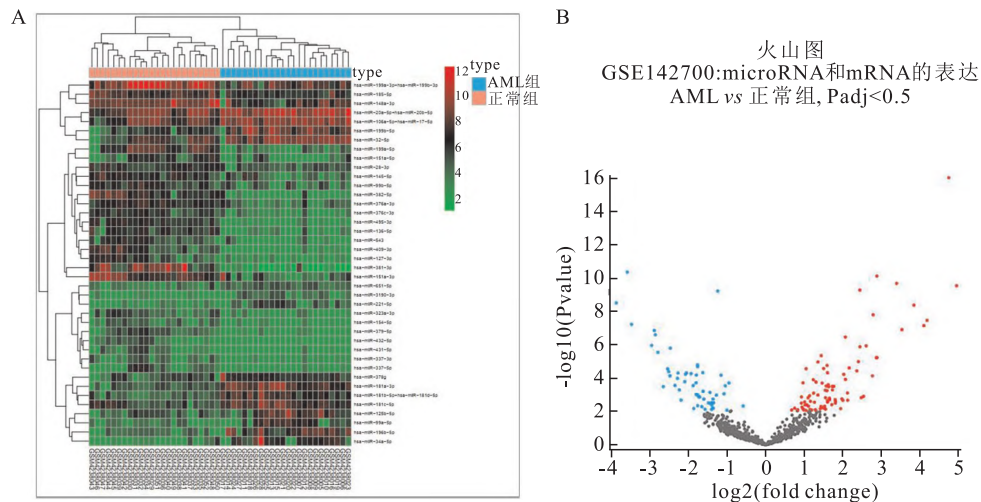


图1 生物信息学分析正常组与 AML 组中差异性表达的 microRNAs

A:差异性表达 microRNAs 的 heatmap; B:差异性表达 microRNAs 的火山图

率。计算方法:增殖率 = $(A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.9 统计学处理 统计学分析使用 SPSS 22.0 软件,作图采用 GraphPad Prism 5 软件。计量资料进行正态性检验,正态分布资料以 $\bar{x} \pm SD$ 表示;非正态分布资料为 M(upper quartile, lower quartile)。正态分布且方差齐的组间比较采用 Student's *t* 检验,三组之间的比较采用方差分析;不服从正态分布且方差不齐的两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,非正态分布采用秩和检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。使用 SPSS 绘制 DFS、OS。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生物信息学分析正常组与 AML 组中差异性表达的 microRNAs 通过在 GEO 数据库中下载关于 AML 的 microRNA 表达矩阵,确定数据库为 GSE142700,在众多差异性表达的 microRNA 中找到 miR-381-3p,可以观察到与正常组比较,AML 组中 miR-381-3p 呈现低表达,见图 1A、1B。

2.2 患者血清及 FAB 分期中 miR-381-3p 的表达

与正常组比较,AML 组中 miR-381 表达较低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 2A。又通过对 AML 组进行 FAB 分期,分为 4 组,与正常组比较,各分期中 miR-381 的表达均较低,其中 M2 型的 AML 患者表达最低,与正常组相比,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),见图 2B。

2.3 miR-381-3p 的表达与 AML 患者临床资料之

间的关系 为了分析 miR-381 表达与 AML 临床资料之间的相关性,将整个纳入患者按照对照组中定义为“平均值 + 2 × 标准差”的区间值分为两组。miR-381 的表达在 AML 患者中与年龄、性别未见明显差异 ($P > 0.05$)。两组外周白细胞、淋巴细胞、FAB 分型比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 3。

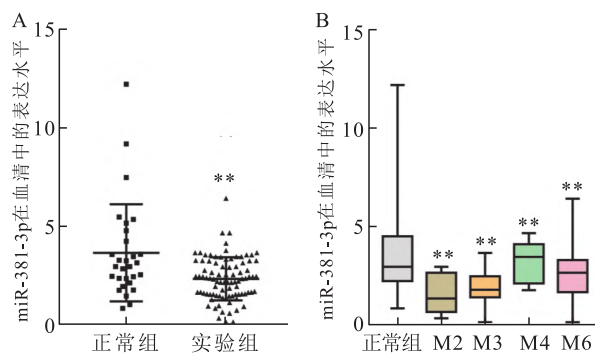


图2 纳入人群血清中在 AML 患者及

FAB 分期中 miR-381 的表达情况

A:两组 miR-381 的表达情况; B: AML 患者不同分期中 miR-381 的表达情况;与正常组比较: ** $P < 0.01$

2.4 miR-381 表达与 AML 临床结果的相关性

在 90 例患者中获得了 OS、DFS 的生存数据。在 AML 患者中,与低表达 miR-381 的患者相比,miR-381 高表达的患者具有较长的 OS 且两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3A。此外,按照此分类计算 PFS 时间内与 miR-381 的表达存在的关系,结果显示与低表达 miR-381 的患者相比,miR-381 高表

表3 miR-381 的表达与患者临床资料之间的关系

指标	总人群 (n=90)	miR-381-3p		P 值	χ^2 值
		低表达 (n=71)	高表达 (n=19)		
年龄(岁)				0.520	0.413
≤60	39	32	7		
>60	51	39	12		
性别				0.104	2.638
男	62	46	16		
女	28	25	3		
WBC($\times 10^9/L$)				0.654	0.201
≤10	42	34	8		
>10	48	37	11		
淋巴细胞($\times 10^5/L$)				0.557	0.344
≤10 000	48	39	9		
>10 000	42	32	10		
FAB 分型				0.286	7.396
M1	3	2	1		
M2	6	4	2		
M3	30	15	15		
M4	5	3	2		
M5	2	2	0		
M6	41	31	10		
M7	3	1	2		

达的患者具有较长的 DFS 且两组差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3B)。

2.5 AML 细胞和转染后 miR-381 的表达 与 HS5 组相比较,AML 细胞系 HL-60 和 KG-1a 中 miR-381 均低表达,差异有统计学意义($P < 0.05$) (图 4A)。在 HL-60 细胞系中转染 48 h 后检测胞内 miR-381 的表达量,发现与 control 组比较,miR-381 mimics 组表达升高,miR-381 inhibitor 组表达下降($P < 0.05$) (图 4B)。而 mimics NC 组与 inhibitor NC 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 KG-1a 细胞系中检测 miR-381 的表达,结果与上述细胞系结果一致,差异有统计学意义($P < 0.05$) (图

4C)。

2.6 过表达 miR-381 后促进 K562 细胞凋亡 如图 5 所示,AML 细胞系 HL-60 通过质粒转染的方法将 miR-381 过表达后,与 control 组比较,miR-381 mimics 组凋亡增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),miR-381 inhibitor 组的凋亡比例降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。在 KG-1a 细胞系中发现高表达 miR-381 会促进 AML 细胞的凋亡,而使 miR-381 表达降低,会抑制 AML 细胞的凋亡。

2.7 过表达 miR-381 后抑制 K562 细胞增殖 图 6 显示,在 AML 细胞系 HL-60 中转染质粒 48 h,与 miR-381 mimics 组比较,miR-381 inhibitor 组、mimics NC 组、inhibitor NC 组、control 组均可促进 HL-60 细胞增殖($P < 0.05$);而通过过表达或敲低 miR-381 后,与 control 组相比较,miR-381 mimics 组增殖减弱,miR-381 inhibitor 组细胞增殖明显,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

3 讨论

在大数据的背景下,microRNA 的研究作用逐渐被挖掘,microRNA 在肿瘤中的研究也逐渐增多^[9-10],因此本研究通过生信分析寻找差异性表达的 miRNAs,在此基础上得到 miR-381-3p 在 AML 中低表达,与临床资料分析相结合,得出 miR-381 的表达影响 AML 患者的预后,并通过细胞学实验发现 miR-381 可以抑制 AML 细胞的增殖并促进其凋亡。表明 miR-381 可以控制 AML 细胞的活性和增殖,为治疗白血病提供新依据。

miR-381-3p 在许多肿瘤中都呈现出低表达,大量研究显示 miRNA-381 在各种类型的癌症中具有肿瘤抑制作用,包括胰腺癌^[11]、结直肠癌^[12]、肝细

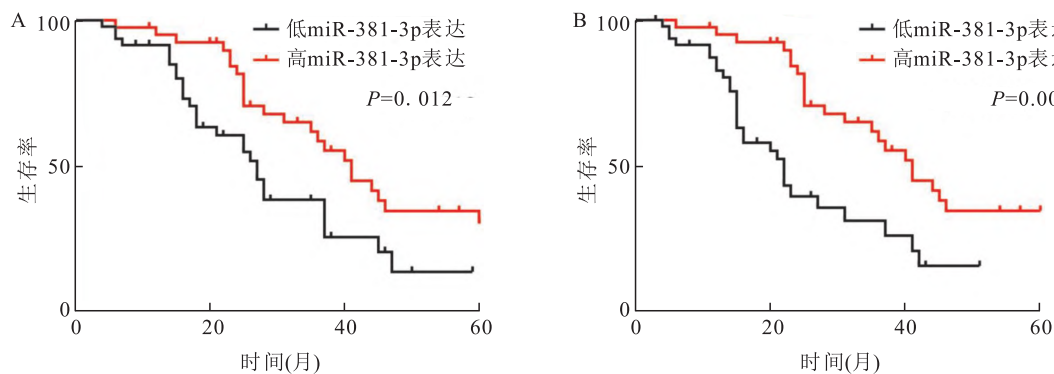


图3 AML 患者长期 OS 与 PFS

A: AML 患者 60 个月的 OS; B: AML 患者 60 个月的 PFS

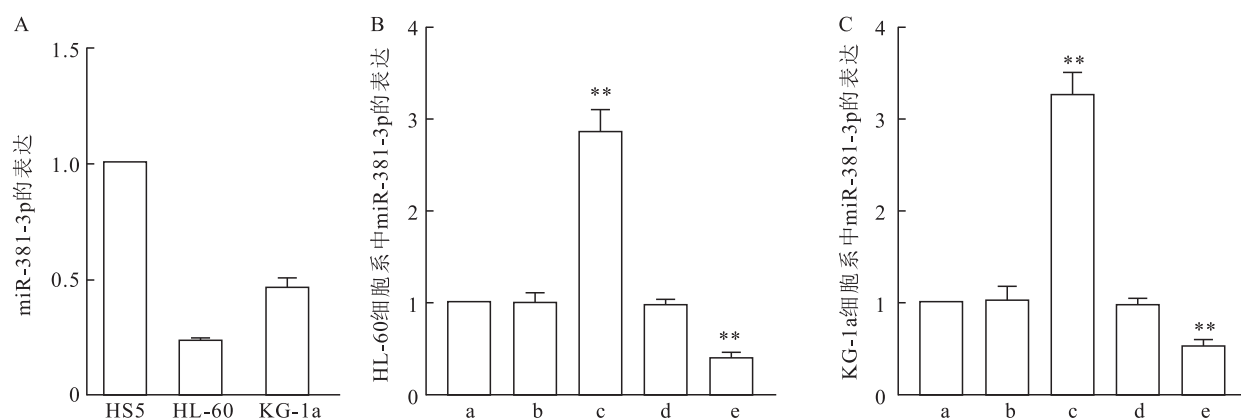


图4 不同细胞系及不同处理组中 miR-381 表达情况

A:不同细胞系中 miR-381 表达情况;B:HL-60 转染后 miR-381 表达情况;C:KG-1a 转染后 miR-381 表达情况;a:control 组;b:mimics NC 组;c:miR-381 mimics 组;d:inhibitor NC 组;e:miR-381 inhibitor 组;与 control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

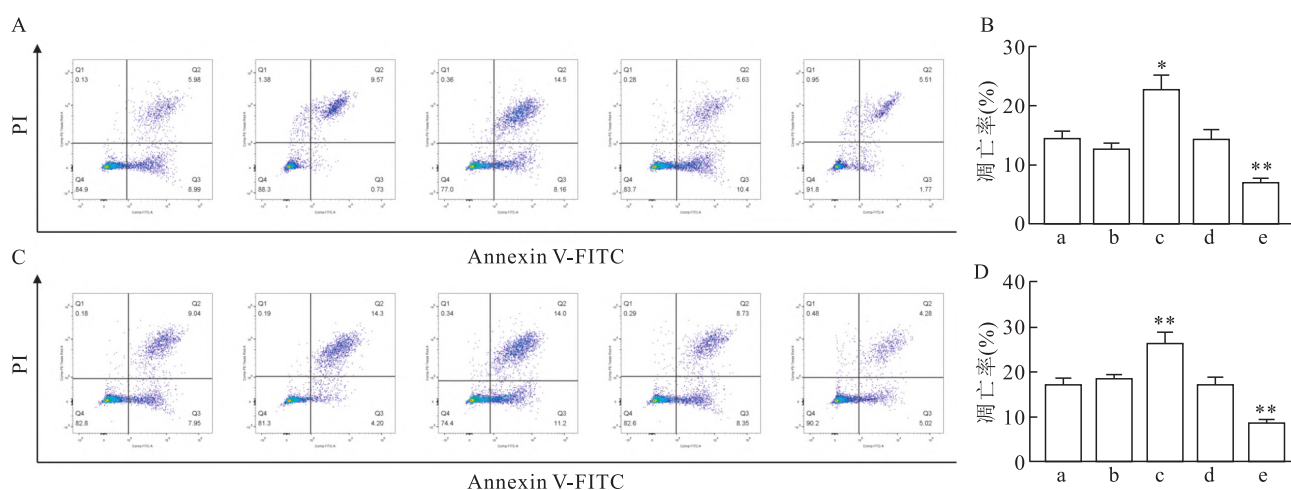


图5 不同处理组 AML 细胞凋亡情况

A,B:HL-60 细胞系不同处理组凋亡情况;C,D:KG-1a 细胞系不同处理组凋亡情况;a:control 组;b:mimics NC 组;c:miR-381 mimics 组;d:inhibitor NC 组;e:miR-381 inhibitor 组;与 control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

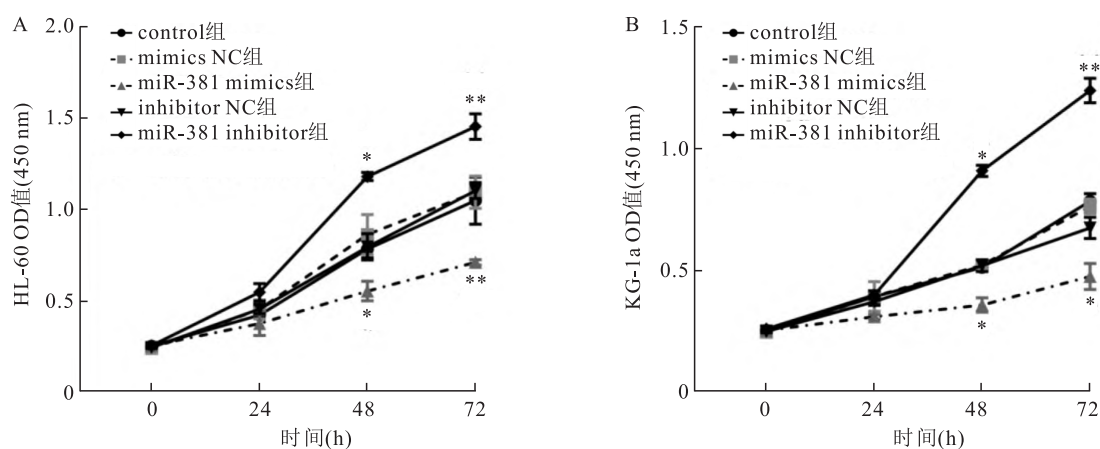


图6 不同处理组 K562 细胞增殖情况

A:HL-60 细胞系不同处理组增殖情况;B:KG-1a 细胞系不同处理组增殖情况;与 control 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

胞癌^[13]、肺癌^[14]、前列腺癌^[15]和乳腺癌^[16]。但在上皮内肉瘤中发现 miR-381-3p 呈高表达^[17],与本研究在 AML 中结论相反,其原因可能是不同类型的肿瘤,组织来源不同,作用机制各异。为了进一步验证 miR-381-3p 在 AML 中的表达,本研究显示 AML 患者 miR-381-3p 的表达显著低于正常对照组人群,且通过对 AML 分类也得到了相同的结果,无论哪一分类的 AML 患者 miR-381-3p 的表达均低于正常对照组。该结果符合前期生物信息学分析的结果,均证明 miR-381-3p 在 AML 患者中低表达,提示 miR-381-3p 在临床中具有较高的诊断价值。为了进一步探讨 miR-381-3p 的表达在 AML 患者中表达的意义,本研究发现 miR-381-3p 的表达与患者的年龄、性别以及外周血白细胞、淋巴细胞之间均无关,这与 Li et al^[18]在胃癌中的研究结果相一致。与本研究结果相一致,出现这些阴性结果的原因可能是以上因素影响效果很低,较小的影响因素结果并不会引起 miR-381-3p 的变化,因此可以更好地消除这些混杂因素来测定 miR-381-3p 对 AML 的影响。为进一步验证 miR-381-3p 与 AML 患者预后的关系,本研究随访患者 60 个月发现 miR-381-3p 的表达与患者的 OS、PFS 呈现正相关,miR-381-3p 的高表达与 AML 患者 OS 和 DFS 延长有关,进一步证明 miR-381-3p 的低表达与 AML 的不良预后具有相关性。这与 Huang et al^[19]发现在甲状腺癌中低表达 miR-381 患者具有较差的预后结果相一致。以上研究结果表明 miR-381-3p 的表达与患者的预后密切相关,但具体机制需进一步阐明。

为了进一步验证 miR-381-3p 对 AML 的影响,通过体外培养 AML 细胞测定过表达或敲低 miR-381-3p 对细胞增殖和凋亡的影响。发现与 control 组比较,敲低 miR-381-3p 后可抑制 AML 细胞凋亡,促进增殖,而过表达 miR-381-3p 可以促进 AML 细胞的凋亡,抑制增殖。以上结果与 Qiao et al^[11]在胰腺癌中发现 miR-381 可通过调节 PI3K/AKT 通路抑制细胞的增殖、迁移和侵袭的结果相一致,前期研究 Fang et al^[20]也发现 miR-381 靶向 CUL4B 从而抑制胃癌细胞的增殖和侵袭, Kong et al^[21]也发现 miR-381 靶向 LRP6 抑制甲状腺乳头状癌细胞的增殖、迁移和侵袭,本研究结果均与之相一致。对于 miR-381 在 AML 过程中的确切作用及机制需进一步阐明。

综上所述,miR-381-3p 在多种肿瘤中发挥了重要作用,本研究主要观察其在 AML 中的表达、预后及对 AML 细胞增殖和凋亡的影响,这为后期研究 miRNA 在 AML 的作用机制提供思路,为靶向治疗 AML 提供新方向。

参考文献

- [1] Burnett A, Wetzler M, Löwenberg B. Therapeutic advances in acute myeloid leukemia[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(5):487-94.
- [2] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [3] Li Y, Zhu B. Acute myeloid leukemia with DNMT3A mutations[J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55(9):2002-12.
- [4] Döhner H, Estey E H, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults; recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia-Net[J]. Blood, 2010, 115(3):453-74.
- [5] Liu B, Li J, Cairns M J. Identifying miRNAs, targets and functions[J]. Brief Bioinform, 2014, 15(1):1-19.
- [6] Saliminejad K, Khorram Khorshid H R, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs; Biology, functions, therapeutics, and analysis methods[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5):5451-65.
- [7] Parizi P K, Yarahmadi F, Tabar H M, et al. MicroRNAs and target molecules in bladder cancer[J]. Med Oncol, 2020, 37(12):118.
- [8] Ali Syeda Z, Langden S S S, Munkhzul C, et al. Regulatory mechanism of microRNA expression in cancer[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(5):1723.
- [9] Zhang B, Pan X, Cobb G P, et al. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors[J]. Dev Biol, 2007, 302(1):1-12.
- [10] Sur S, Steele R, Shi X, et al. MiRNA-29b inhibits prostate tumor growth and induces apoptosis by increasing bim expression[J]. Cells, 2019, 8(11):1455.
- [11] Qiao G, Li J, Wang J, et al. miR-381 functions as a tumor suppressor by targeting ETS1 in pancreatic cancer[J]. Int J Mol Med, 2019, 44(2):593-607.
- [12] Zhang W, Li X, Zhang W, et al. The LncRNA CASC11 promotes colorectal cancer cell proliferation and migration by adsorbing miR-646 and miR-381-3p to upregulate their target RAB11FIP2[J]. Front Oncol, 2021, 11:657650.
- [13] Zhang Q, Zhao S, Pang X, et al. MicroRNA-381 suppresses cell growth and invasion by targeting the liver receptor homolog-1 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2016, 35(3):1831-40.
- [14] Jin D, Guo J, Wu Y, et al. Metformin-repressed miR-381-YAP-snail axis activity disrupts NSCLC growth and metastasis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1):6.
- [15] Hu J, Wu X, Yang C, et al. Anticancer effect of icaritin on prostate cancer via regulating miR-381-3p and its target gene UBE2C

- [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(18): 7833–45.
- [16] Mi H, Wang X, Wang F, et al. SNHG15 contributes to cisplatin resistance in breast cancer through sponging miR-381 [J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13: 657–66.
- [17] Papp G, Krausz T, Stricker T P, et al. SMARCB1 expression in epithelioid sarcoma is regulated by miR-206, miR-381, and miR-671-5p on Both mRNA and protein levels [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2014, 53(2): 168–76.
- [18] Li Y, Sun H, Guan J, et al. Serum microRNA-381: A potential marker for early diagnosis of gastric cancer [J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(8): 720–6.
- [19] Huang T, Yi D, Xu L, et al. Downregulation of miR-381 is associated with poor prognosis in papillary thyroid carcinoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10(12): 11610–6.
- [20] Fang Z, Zhong M, Wang Y, et al. miR-381 and miR-489 suppress cell proliferation and invasion by targeting CUL4B via the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(2): 733–43.
- [21] Kong W, Yang L, Li P P, et al. MiR-381-3p inhibits proliferation, migration and invasion by targeting LRP6 in papillary thyroid carcinoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(12): 3804–11.

The expression of miR-381-3p in acute myeloid leukemia and its effect on the proliferation and apoptosis of leukemia cells

Zhang Hongxia, Wang Kui, Wu Guangsheng

(Dept of Hematology, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000)

Abstract *Objective* To investigate the expression, clinical significance, progression, and prognosis of miR-381-3p in acute myeloid leukemia (AML), as well as its impact on AML cell proliferation and apoptosis, in order to provide theoretical basis for the treatment of AML. *Methods* Bioinformatics analysis was used to identify differentially expressed miRNAs, clinical data and blood samples of AML patients were collected, and the expression levels of miRNAs in the bone marrow fluid of the included patients were measured to further elucidate the relationship between miRNAs and AML. The included patients were followed up to calculate overall survival (OS) and disease-free survival (DFS); AML cells were cultured *in vitro*, miR-381-3p plasmids were constructed, miR-381-3p was overexpressed and miR-381-3p was knocked down in AML, and they were divided into five groups: control, miR-381 mimics, mimics NC, miR-381 inhibitor, inhibitor NC. The proliferation and apoptosis of AML cells were detected using CCK-8 and flow cytometry. *Results* Differentially expressed miRNAs were identified using bioinformatics analysis, and miR-381-3p was ultimately determined as the study molecule. A total of 90 AML patients were included. The expression level of miR-381 in AML patients was lower than that in the control group, and all FAB subtypes were lower than those in the normal group. The expression level of miR-381 was not related to the age, gender, peripheral blood leukocytes, lymphocytes, and FAB typing of AML patients, and the OS and DFS of miR-381 patients with high expression were significantly prolonged, with statistically significant differences. *In vitro* experiments had shown that knocking down miR-381 could inhibit apoptosis and promote proliferation of AML cells. Overexpression of miR-381 could promote apoptosis and inhibit proliferation of AML cells. *Conclusion* MiR-381-3p is low expressed in AML patients, and its overexpression can significantly prolong OS and DFS. miR-381-3p can promote apoptosis of AML cells, inhibit proliferation, and may become a targeted molecule for the treatment of AML.

Key words acute myeloid leukemia; miR-381-3p; prognosis; proliferation; apoptosis