

LMO4 的异位表达对 NB4 细胞增殖和分化的影响

秦宇¹, 陈琼琼¹, 翟志敏², 夏瑞祥³, 周海胜¹

摘要 目的 探讨 LMO4 对急性早幼粒白血病细胞系 NB4 细胞增殖和分化的影响。方法 利用 qRT-PCR 和 Western blot 法检测 NB4 中 LMO4 表达; 利用慢病毒介导 LMO4 的 cDNA 感染 NB4 细胞后, 建立过量表达 LMO4 的 NB4 细胞株; 采用 MTT 法检测细胞增殖; 使用全反式维甲酸(ATRA) 诱导 NB4 细胞分化 0 ~ 48 h, 瑞氏染色观察分化的细胞特性; 流式细胞术分析 NB4 细胞分化后产生 CD11b 阳性的细胞比例。结果 qRT-PCR 和 Western blot 结果均提示 NB4 中 LMO4 表达增加; ATRA 诱导 NB4 分化时, LMO4 的表达降低; MTT 结果证实过量表达 LMO4 促进 NB4 增殖; 瑞氏染色和流式细胞术结果均显示, 过量表达 LMO4 能够促进 ATRA 诱导 NB4 细胞分化。结论 LMO4 参与调节 NB4 细胞的增殖, 并能增加 NB4 细胞对 ATRA 的敏感性, 促进其分化。

关键词 急性早幼粒细胞白血病; NB4; LMO4; 全反式维甲酸

中图分类号 R 34; R 733.71

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)10-1394-06

LMO4 和 LMO2 同属 LIM 基因家族成员, 通过其特有的 LIM 结构域与其它转录因子相互作用, 调节基因的转录, 参与调控细胞增殖和分化等^[1]。研究^[2]表明 LMO2 参与调控早期红系细胞的发育和分化; 研究^[3]显示定位于人 11 号染色体的 LMO2 发生易位突变 t(11;14)(p13;q11), 导致 T 淋巴细胞内 LMO2 基因的异位激活而异常表达, 诱发 T 细胞型急性淋巴细胞白血病。而 LMO4 广泛表达于胚胎组织和成体组织^[4]; 在乳腺癌组织中 LMO4 表现为高表达^[5]。但是, 由于 LMO2 和 LMO4 结构上的高度同源性, 因此两者都能与共同的转录因子 LIM 结构域结合蛋白 1(LIM domain binding protein 1, LDB1) 组成蛋白复合体共同调控目的基因表达^[6]。LMO4 蛋白可能存在类似 LMO2 蛋白的功能, 参与造血细

胞的发生、发育和分化。早在 2006 年 Meier 研究团队在对小鼠红系白血病细胞系 MEL 细胞的研究^[7]中同时得到与 LDB1 结合的 LMO2 蛋白复合体和 LMO4 蛋白复合体; 同时证实 LMO4 蛋白复合体参与了调控斑马鱼后期造血细胞发生。而有关 LMO4 对人造血细胞增殖和分化等方面的作用, 目前鲜有报道。该研究选择急性早幼粒白血病(acute promyelocytic leukemia, APL) 细胞系 NB4 作为研究对象, 研究 LMO4 在其分化过程中表达规律以及 LMO4 的过量表达对 NB4 细胞增殖和分化的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞株和载体 NB4 细胞由上海交通大学陈宇博士惠赠。含人 LMO4 基因 cDNA 表达框的慢病毒表达载体 GV287-LMO4 购自上海吉凯基因公司。

1.2 试剂 RPMI-1640 细胞培养基、100 × 青霉素链霉素双抗混合液、PBS 均购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清购自美国 Gibco 公司; Taq 酶、逆转录试剂盒、PCR 试剂盒、SYBR 荧光定量试剂盒、DNA Marker 购自日本 TaKaRa 公司; TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; 兔源抗体 LMO4 单克隆抗体; β -actin 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司; PE 标记 CD11b 抗体购自美国 BD 公司; HRP 标记的 IgG 羊抗鼠、羊抗兔二抗购自北京中杉金桥公司; 全反式维甲酸(all trans retinoic acid, ATRA) 购自美国 Sigma 公司; 氯化硝基四氮唑蓝(nitro tetrazolium blue chloride, NBT)、佛波醋酸酯(tetradecanoylphorbol acetate, TPA)、SDS-PAGE 凝胶试剂盒购自上海碧云天公司; Annexin V-APC/PI 试剂盒购自美国 eBioscience 公司。

1.3 方法

1.3.1 引物设计 根据 NCBI 数据库查询基因组序列, 使用在线 Primer-BLAST 引物设计软件设计检测用引物, 内参基因 β -actin (Genbank 号: NM_001101) 上游引物: 5'-TGGACATCCGCAAAGAC-3', 下游引物: 5'-AAGGGTGTAAACGCAACTAA-3', PCR 产物为 302 bp; LMO4 (Genbank 号: NM_006769.3) 上游引物: 5'-CGGACCGCTTTCTGCTCTAT-3', 下游引物: 5'-CACTCGCAGGAATCGACTGT-3', PCR 产物

2015-06-02 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81172591)

作者单位: ¹安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 合肥 230032

²安徽医科大学第二附属医院血液科, 合肥 230601

³安徽医科大学第一附属医院血液内, 合肥 230022

作者简介: 秦宇, 男, 硕士研究生;

周海胜, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: haishengs@ahmu.edu.cn

为 201 bp。引物由上海生工生物公司合成。

1.3.2 细胞培养 NB4 细胞系用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 细胞培养基于 5% CO₂、37 °C 培养。为体外诱导 NB4 细胞分化,培养基中加入 1 μmol/L ATRA 分别作用 0、24、48、72 h,收集细胞,提取总蛋白,进行 Western blot 分析。

1.3.3 建立稳定过表达 LMO4 的 NB4 细胞株 利用含有人 LMO4 基因 cDNA 表达框的慢病毒表达载体 GV287-LMO4,按照常规包装病毒,载体自带绿色荧光蛋白基因。病毒采用复感染指数(multiplicity of infection, MOI) 值为 10 的条件感染 NB4 细胞,72 h 后观察绿色荧光强度,获得稳定细胞克隆,扩大培养并保存细胞。设置实验分组:正常 NB4 细胞为对照组;转入 LMO4 基因的 NB4 细胞为实验组。

1.3.4 qRT-PCR 法检测 根据参考文献^[8]操作如下:根据 TRIzol Reagent 说明书提取细胞的总 RNA,按照逆转录酶说明书操作进行逆转录,获得 cDNA,以此为模板进行 PCR。PCR 反应条件为:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 60 s,32 个循环,最后 72 °C 继续延伸 7 min,反应终止。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。按照 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 试剂盒说明书进行 qRT-PCR 检测,实验重复 3 次。

1.3.5 Western blot 法检测 根据参考文献^[9],收集细胞,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液,冰上裂解 30 min,100 °C 水浴煮沸 10 min 使蛋白变性。Bradford 法分析蛋白浓度,10% SDS-PAGE 中分离蛋白,恒流 200 mA、1.5 h 将蛋白湿转到 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭 40 min,孵育一抗兔抗 LMO4 抗体(1:2 000 稀释)、鼠抗 β-actin 抗体(1:3 000 稀释),4 °C 过夜,次日 1% TBST 洗膜,室温孵育二抗(1:5 000 稀释)6 h,洗膜,增强化学发光法 X 线片曝光显影。

1.3.6 MTT 法检测 取对数生长期的细胞,制备细胞悬液,调整细胞浓度为 2.5 × 10⁴ /ml;每孔加入 100 μl 细胞悬液,分别培养 12、24、48、72 h;每孔加入 10 μl MTT 溶液(5 mg/ml),于 37 °C 继续孵育 4 h;每孔加入 100 μl 的甲臞(Formazan)溶解液,在培养箱内继续孵育,直至普通光学显微镜下观察发现甲臞蓝紫色结晶全部溶解,用酶标仪在 490 nm 测定光密度(optical density, OD) 值,计算两种细胞间增殖是否有差异,并作图。

1.3.7 NBT 还原实验检测细胞分化 将细胞按照 1 × 10⁵ /ml 接种到 6 孔板,每孔加入 ATRA(终浓度

为 1 μmol/L),诱导分化 NB4 细胞,分别在 12、24、48 h 收集细胞,计数。取 500 μl 细胞悬液加入 12 孔板,加 0.5 ml NBT 反应液(0.2% NBT、100 μg/ml TPA),37 °C 培养 30 min,拍照。计数 200 个细胞,重复 5 次,计算 NBT 阳性率。NBT 阳性率(%) = (NBT 阳性细胞数/细胞总数) × 100%。

1.3.8 流式细胞术检测分化 将对数期细胞接种于 6 孔板,加入 1 μmol/L ATRA 诱导分化;分别收集 0、12、24、48 h 的细胞,1 000 r/min 离心 5 min;PBS 洗涤 1 次,100 μl PBS 重悬细胞后加入 PE 标记的 CD11b 抗体 10 μl,4 °C 避光孵育 30 min;PBS 洗涤 1 次,加 400 μl PBS 重悬细胞,进行流式细胞术分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用方差分析和独立样本 *t* 检验。

2 结果

2.1 NB4 细胞分化过程中 LMO4 表达 结果显示 LMO4 在未分化的早幼粒细胞中具有较高的表达;经过 ATRA 诱导后,NB4 细胞中 LMO4 的表达降低,与 0 h 比较,差异有统计学意义($t = 10.579、7.594、5.226, P < 0.01$),见图 1。

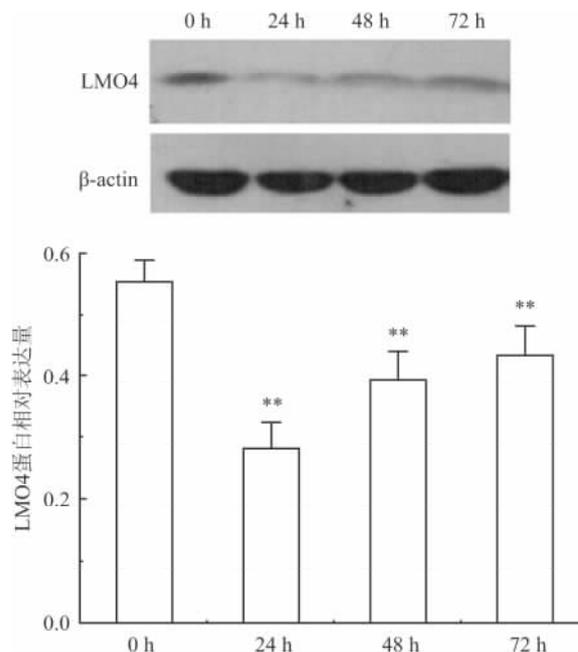


图 1 Western blot 法检测 LMO4 在 NB4 细胞及其分化过程中的表达

与 0 h 比较: ** $P < 0.01$

2.2 过量表达 LMO4 的 NB4 细胞株的建立 为

了进一步研究 LMO4 对 NB4 细胞增殖和分化的影响,拟建立稳定过量表达 LMO4 的 NB4 细胞株 (NB4/LMO4)。选用含有人 LMO4 基因 cDNA 的慢病毒感染 NB4 细胞。感染 48~72 h 后,荧光显微镜观察绿色荧光,细胞阳性率在 90% 以上(图 2)。收集对数生长期的 NB4 和 NB4/LMO4 细胞,分别提取总 RNA 和蛋白。利用总 RNA 进行 qRT-PCR 分析,结果显示过量表达 LMO4 的 NB4/LMO4 细胞中 LMO4 基因的 mRNA 水平较对照 NB4 细胞明显增高,差异有统计学意义($t = 21.92, P < 0.01$),见图 3; Western blot 显示 NB4/LMO4 细胞株中 LMO4 蛋白比正常 NB4 细胞明显增高,见图 4。已成功构建过量表达 LMO4 的 NB4 细胞株。

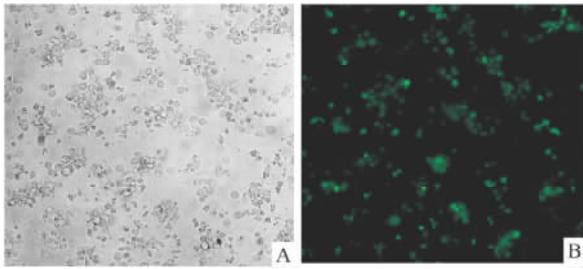


图 2 慢病毒感染后的 NB4 细胞 ×200
A: 感染 72 h 后 NB4 细胞相差视野; B: 绿色荧光视野

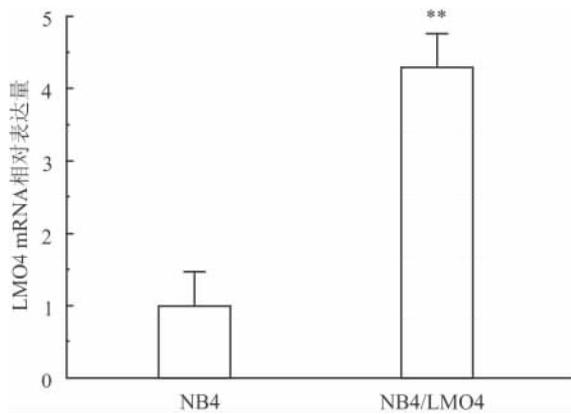


图 3 qRT-PCR 法检测 LMO4 表达
与 NB4 细胞比较: ** $P < 0.01$

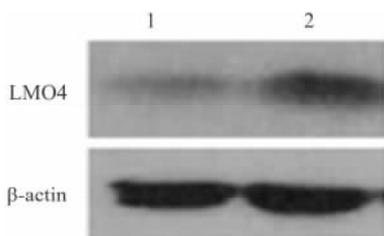


图 4 Western blot 法检测 LMO4 蛋白表达水平
1: NB4; 2: NB4/LMO4

2.3 过量表达 LMO4 对 NB4 细胞增殖的影响

采用 MTT 法检测 LMO4 过量表达对 NB4 细胞增殖的影响。接种 NB4 细胞和 NB4/LMO4 细胞,分别测定 12~72 h 的 OD₄₉₀ 值。与对照组 NB4 细胞比较,增殖 24 h 时过量表达 LMO4 的 NB4 细胞增殖速度明显增加,差异有统计学意义($t = 3.124, P < 0.05$),48 h 和 72 h 时,两者的增殖速度差异有统计学意义($t = 10.562, 6.495, P < 0.01$),见图 5。过量表达 LMO4 促进 NB4 细胞增殖。

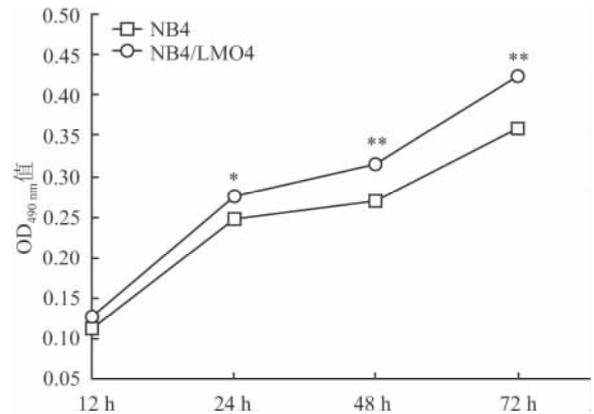


图 5 MTT 法检测细胞增殖
与 NB4 细胞比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 过量表达 LMO4 对 ATRA 诱导 NB4 细胞分化的影响

NB4 细胞在 ATRA 诱导下分化为成熟的粒细胞,其特异性标记分子 CD11b 高表达;且在 NBT 还原实验中细胞内可见蓝黑色颗粒。选择 NB4 细胞和 NB4/LMO4 细胞,利用 ATRA 分别诱导 12、24、48 h,结果显示 NB4/LMO4 细胞显示蓝黑色的阳性率分别为 7.8%、15.1%、21.3%,而对照组 NB4 细胞的分化阳性率分别为 1.3%、6.3%、15.2%,两者比较差异有统计学意义($t = 5.719, 6.361, 3.555, P < 0.01$),见图 6、7;为进一步证实 LMO4 的过量表达对 NB4 细胞分化的影响,利用流式细胞术分析成熟粒细胞的标记分子 CD11b⁺ 细胞的比例。结果显示,诱导分化 12、24、48 h,过量表达 LMO4 的 NB4 细胞中,CD11b⁺ 细胞分别为 11.9%、32.4%、66.0%;而对照组 NB4 细胞中 CD11b⁺ 细胞分别为 3.45%、15.3%、43.7% (图 8)。可见 CD11b⁺ 细胞随着诱导时间增加而增加,过量表达 LMO4 时,有利于促进 NB4 的分化。

3 讨论

APL 是急性髓细胞白血病的 M3 亚型,大多数

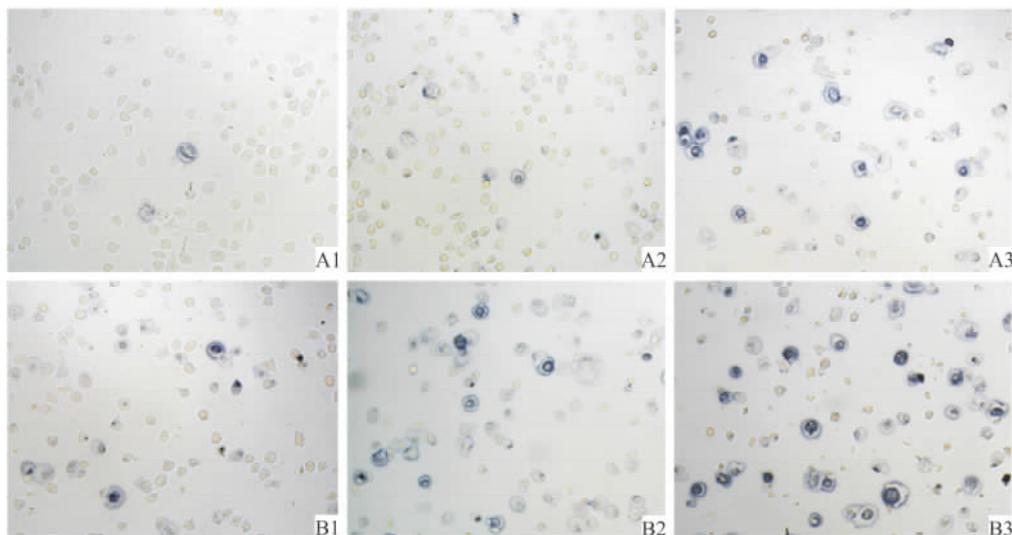


图6 NBT还原实验蓝黑染色细胞的相差视野 ×200

A: NB4; B: NB4/LMO4; 1: 12 h; 2: 24 h; 3: 48 h

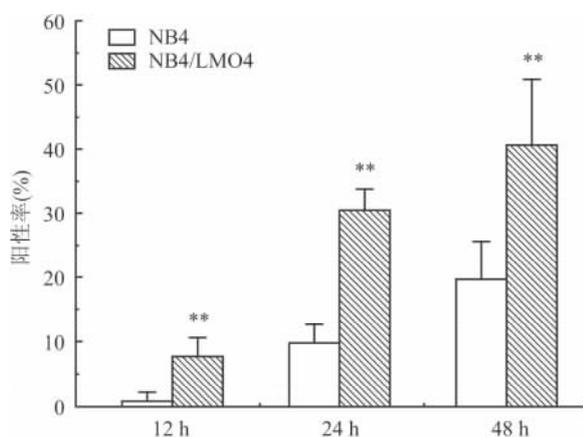


图7 染色细胞的阳性率细胞比较

与NB4细胞比较: ** $P < 0.01$

APL患者是由于t(15;17)染色体发生移位导致维A酸受体(RAR α)与早幼粒细胞白血病基因(promyelocytic leukemia, PML)形成PML-RAR α 融合基因,进而编码PML-RAR α 融合蛋白。这种融合蛋白通过显性负抑制作用抑制早幼粒细胞分化成熟并促进细胞增殖,其主要特点是骨髓和外周血中有大量未分化成熟的早幼粒白血病细胞^[10]。目前临床多采用ATRA和三氧化二砷联合治疗APL,前者作用机制是诱导早幼粒细胞分化成熟;后者主要作用机制是诱导白血病细胞凋亡^[11]。NB4细胞是早期从APL患者分离出来的永生化的细胞系,在体外可以通过ATRA诱导其分化变成成熟粒细胞,表现为NBT还原实验显示阳性、CD11b⁺等特点;同时在体

外使用三氧化二砷可以诱导其发生凋亡。因此,NB4细胞常常作为研究造血细胞分化和增殖的细胞模型^[12]。

人LMO4基因定位于1号染色体,其编码产物LMO4蛋白是一种调控上皮细胞分化和增殖的重要转录因子,与LMO2蛋白具有高度同源性,都具有2个串联LIM结构域,在细胞核内同样发挥桥分子的作用,通过以LDB1蛋白为核心组成的蛋白复合体,结合协同调节不同转录因子的活性,在造血细胞分化过程中发挥了重要作用^[13]。Meier et al^[7]在小鼠白血病细胞系中已经证实了LDB1与LMO4结合形成一种大蛋白复合体,同时结合了LMO2、细胞周期蛋白依赖性激酶9(cyclin-dependent protein kinase 9, CDK9)等多种转录因子。这种大蛋白复合体存在于未分化状态细胞并维持细胞的增殖;当细胞发生分化时,大蛋白复合体发生解聚失去CDK9而形成LDB1-LMO2-LMO4为核心的小蛋白复合体,调控细胞分化。研究^[8]证实在成血管细胞中过量表达LMO2,促进成血管细胞增殖,同时在诱导分化时也促进造血细胞分化,特别是有利于红系细胞的分化;而对于粒系、髓系和单核系血细胞形成作用不明显。

本研究显示LMO4在早幼粒细胞中高表达;利用ATRA诱导NB4细胞分化后,LMO4表达降低,提示LMO4参与调节NB4的增殖;在分化过程中LMO4具有负调控作用。通过建立过量表达LMO4的NB4细胞株并进行MTT实验,结果证实,与对照组NB4细胞比较,过量表达LMO4,促进NB4的增殖。利用ATRA诱导分化NB4细胞,NBT还原实验

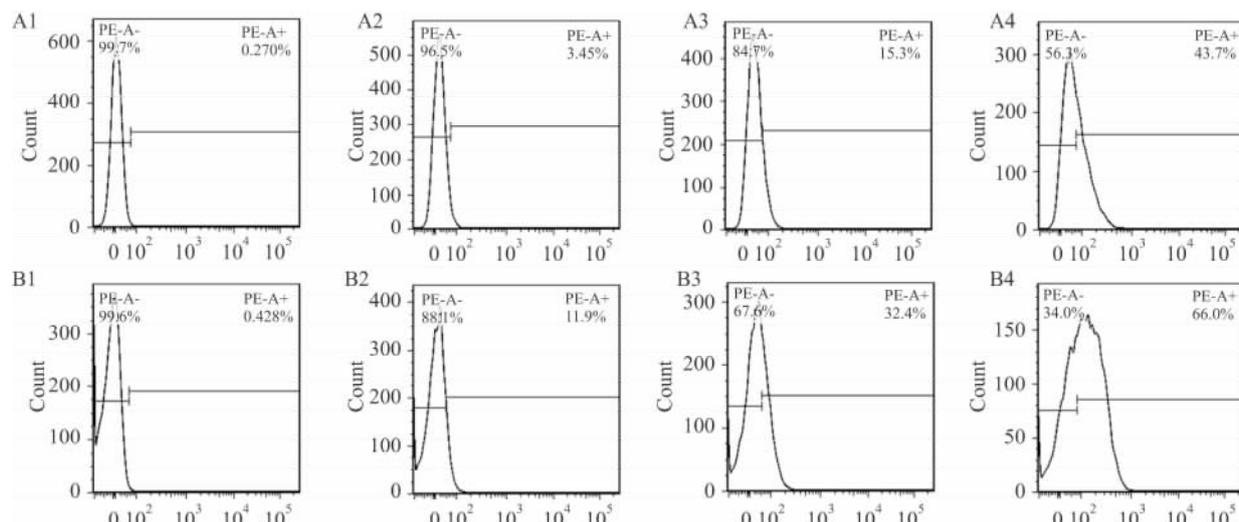


图8 流式细胞术检测 ATRA 诱导分化后 CD11b⁺ 细胞比例

A: NB4; B: NB4/LMO4; 1: 0 h; 2: 12 h; 3: 24 h; 4: 48 h; PE-A⁺ : CD11b⁺; PE-A⁻ : CD11b⁻

结果显示过量表达 LMO4 时, 蓝黑色细胞比例较对照组细胞明显增加; 流式细胞分析同时也证实过量表达 LMO4 的 NB4 在诱导分化后产生 CD11b⁺ 细胞的比例较对照组明显增高。因此, 异位过量表达 LMO4, 可能在诱导分化时, 导致大蛋白复合体的解离形成小蛋白复合体, 从而增加了 NB4 细胞对 ATRA 的敏感性, 有利于 NB4 细胞的分化。尽管临床同时使用三氧化二砷治疗 APL, 以促进白血病细胞的凋亡, 但与对照组 NB4 细胞比较, 过量表达 LMO4 时, 三氧化二砷诱导细胞凋亡的作用没有明显变化 (结果未示)。因此, LMO4 在 NB4 细胞高表达可能导致 APL 的白血病细胞过度增殖; 同时也可能是临床使用 ATRA 治疗 APL 而增加白血病细胞对 ATRA 敏感性, 有利于未成熟的原始幼稚粒细胞分化和成熟, 其调控的分子机制有待进一步研究。

参考文献

[1] Matthews J M, Lester K, Joseph S, et al. LIM-domain-only proteins in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 111 - 22.
 [2] Hansson A, Zetterblad J, van Duren C, et al. The Lim-only protein LMO2 acts as a positive regulator of erythroid differentiation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 364(3): 675 - 81.
 [3] Boehm T, Foroni L, Kaneko Y, et al. The rhombotin family of cysteine-rich LIM-domain oncogenes: distinct members are involved in T-cell translocations to human chromosomes 11p15 and 11p13 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(10): 4367 - 71.
 [4] Kenny D A, Jurata L W, Saga Y, et al. Identification and characterization of LMO4, an LMO gene with a novel pattern of expression during embryogenesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(19): 11257 - 62.

[5] Sang M, Ma L, Sang M, et al. LIM-domain-only proteins: multi-functional nuclear transcription coregulators that interacts with diverse proteins [J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(2): 1067 - 73.
 [6] Grutz G, Forster A, Rabbits T H. Identification of the LMO4 gene encoding an interaction partner of the LIM-binding protein LDB1/NLII: a candidate for displacement by LMO proteins in T cell acute leukaemia [J]. Oncogene, 1998, 17(21): 2799 - 803.
 [7] Meier N, Krpic S, Rodriguez P, et al. Novel binding partners of Ldb1 are required for haematopoietic development [J]. Development, 2006, 133(24): 4913 - 23.
 [8] 周海胜, 李春, 查晓军, 等. 过量表达 LMO2 对成血管细胞增殖和造血分化的作用 [J]. 中国医学科学院学报, 2013, 35(2): 177 - 84.
 [9] Xiang Q, Huang L, Guo S, et al. A method mediated AAVS1 recombination with Rep mRNA and homologous arms [J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2012, 44(12): 1015 - 22.
 [10] Kakizuka A, Miller W H Jr, Umesono K, et al. Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR α with a novel putative transcription factor, PML [J]. Cell, 1991, 66(4): 663 - 74.
 [11] 黄震琪, 夏瑞祥, 曾庆曙. 维甲酸联合三氧化二砷对 NB4 细胞 NF- κ B、ROS 表达的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2006, 41(3): 250 - 3.
 [12] Csomós K, Németh I, Fésüs L, et al. Tissue transglutaminase contributes to the all-trans-retinoic acid-induced differentiation syndrome phenotype in the NB4 model of acute promyelocytic leukemia [J]. Blood, 2010, 116(19): 3933 - 43.
 [13] Wadman I A, Osada H, Grütz G G, et al. The LIM-only protein Lmo2 is a bridging molecule assembling an erythroid, DNA-binding complex which includes the TAL1, E47, GATA-1 and Ldb1/NLI proteins [J]. EMBO J, 1997, 16(11): 3145 - 57.

microRNA-21 对裸鼠人胆管癌细胞移植瘤 EMT 的影响

晋志远^{1,2}, 黄 强¹, 刘臣海¹, 刘 振^{1,2}, 林先盛¹, 谢 放¹

摘要 **目的** 观察 microRNA-21 (miR-21) 对裸鼠人胆管癌细胞移植瘤生长及上皮间质转化 (EMT) 进程的影响。**方法** 在两组裸鼠侧腹部皮下注射对数生长期的胆管癌细胞 QBC939 和稳定表达 miR-21 的 QBC939-miR-21 细胞, 建立裸鼠移植瘤模型。采用 Western blot、免疫组化及实时定量 RT-PCR 法检测 EMT 的上皮细胞标志物 E-钙粘蛋白 (E-cadherin) 和间质标志物 N-钙粘蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 的表达。**结果** QBC939-miR-21 组移植瘤体积大于 QBC939 组 ($P < 0.05$), 且 E-cadherin 相对表达量降低, Vimentin、N-cadherin 相对表达量增加。**结论** miR-21 促进了裸鼠胆管癌细胞移植瘤生长和 EMT 进程, 为进一步研究

miR-21 在胆管癌中的功能及作用机制奠定了基础。

关键词 胆管癌; microRNA-21; 上皮间质转化; 移植瘤**中图分类号** R 73-37**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2015)10-1399-05

胆管癌是一种恶性度极高的起源于胆管上皮的肿瘤, 手术切除率较低, 术后复发率高, 对于放、化疗不敏感, 导致该疾病预后较差^[1]。大多数胆管癌患者在确诊时已是晚期, 术后肿瘤的复发率非常高, 这往往与患者早期即发生肿瘤浸润转移有关。miRNA-21 (miR-21) 是 miRNA 大家族中一个具有多种功能也是研究较多的 miRNA, 其被发现在大量肿瘤中表达升高^[2-3]。上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 被认为和癌症的转移及复发息息相关, 其重要特征之一是上皮细胞标志物 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达缺失和间质标志物波形蛋白 (Vimentin) 和 N-钙黏蛋白 (N-cadherin) 表达升高。而 miR-21 可以通过诱导 EMT 进程而促进

2015-05-22 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81272397); 安徽省自然科学基金 (编号: 1208085MH176)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院¹ 普通外科、² 肝胆胰外科安徽省重点实验室, 合肥 230001

作者简介: 晋志远, 男, 硕士研究生;

黄 强, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: hq-sohu@.com

Ectopic expression of LMO4 regulates NB4 cells proliferation and differentiation

Qin Yu¹, Chen Qiongqiong¹, Zhai Zhimin², et al¹Dept of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032;²Dept of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract **Objective** To investigate potential functions of LMO4 in regulating proliferation and differentiation of acute promyelocytic leukemia cells (NB4). **Methods** The expression of LMO4 in the acute promyelocytic leukemia cell line (NB4) was detected using qRT-PCR and Western blot, respectively. Depending on lentivirus transduction, NB4 cells with overexpression of LMO4 were established. The MTT assay was performed to detect proliferation; NB4 cells were induced by all trans retinoic acid (ATRA) to differentiate into mature granulocytes, which could be detected by using NBT test or flow cytometry for analysis of CD11b⁺ cells. **Results** Western blot analysis showed that LMO4 ectopically expressed in NB4 cells, and expression level of LMO4 decreased during differentiation induced by ATRA. After transduced by lentivirus containing human LMO4 cDNA, the NB4 cell line with LMO4 overexpression was obtained according to detection of LMO4 expression using qRT-PCR and Western blot analysis. Compared to the control cells, the MTT assay showed LMO4 overexpression in NB4 cell could improve cells proliferation; meanwhile, both NBT tests and flow cytometry analysis indicated that LMO4 overexpression could also increase NB4 differentiation efficiency depending on ATRA induction. **Conclusion** Ectopic expression of LMO4 in NB4 cells promotes cell proliferation, and increases differentiation potency of NB4 cells due to being available of sensitiveness to ATRA.

Key words acute promyelocytic leukemia; NB4; LMO4; ATRA