



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: 敲除 IRF2BP2 对急性髓系白血病细胞增殖的影响及机制研究
作者: 周碧, 汤晓冬, 李迎, 张永平, 胡绍燕
网络首发日期: 2025-08-19
引用格式: 周碧, 汤晓冬, 李迎, 张永平, 胡绍燕. 敲除 IRF2BP2 对急性髓系白血病细胞增殖的影响及机制研究[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250819.1450.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

敲除 *IRF2BP2* 对急性髓系白血病细胞增殖的影响及机制研究

周 碧¹, 汤晓冬¹, 李 迎¹, 张永平², 胡绍燕²

(¹安徽医科大学附属宿州医院儿科, 宿州 234000; ²苏州大学附属儿童医院血液科, 苏州 215000)

摘要 目的 探索干扰素调节因子 2 结合蛋白 (*IRF2BP2*) 对 AML 细胞增殖的影响及分子机制。**方法** 使用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术在人 AML 细胞株 Kasumi-1 和 U937 中敲除 *IRF2BP2*, Western blot 检测 *IRF2BP2* 蛋白的敲除效率。使用显微镜观察、CCK-8、集落形成实验和流式细胞仪检测细胞表型, RNA-Seq 检测 U937 细胞株中 *IRF2BP2* 敲除组和对照组的差异基因, 基因富集分析 (GSEA) 探讨其下游分子机制, Western blot 检测下游差异基因的表达。使用靶向切割标签技术 (CUT&Tag) 鉴定 *IRF2BP2* 蛋白的直接靶点, 并用集成基因组学查看器 (IGV) 可视化分析相应的结合信号。**结果** 与对照组相比, 敲除 *IRF2BP2* 后, CCK-8 实验显示 AML 细胞增殖受抑 ($P<0.05$); *IRF2BP2* 敲除组细胞集落数减少 ($P<0.05$)、G₁ 期比例延长 ($P<0.05$); 在 U937 细胞株中敲除 *IRF2BP2*, 差异基因显著富集到与 *MYC* 相关的信号通路, 通路分子 *MYC*、*CDK4* 和 *CDK2* 的蛋白表达水平随 *IRF2BP2* 的下调而降低; 使用 *IRF2BP2* 抗体在 U937 细胞株中进行 CUT&Tag 实验, IGV 可视化分析显示 *MYC* 启动子区域存在显著的信号峰升高。**结论** *IRF2BP2* 通过靶向调控 *MYC* 影响 AML 细胞周期和细胞增殖。

关键词 急性髓系白血病; *IRF2BP2*; 转录调控; 细胞增殖; 细胞周期; CUT&Tag; *MYC*

中图分类号 R 72

文献标志码 A

Investigation of the impact and mechanism of *IRF2BP2* knockdown on the proliferation in acute myeloid leukemia cells

Zhou Bi¹, Tang Xiaodong¹, Li Ying¹, Zhang Yongping², Hu Shaoyan²

(¹Dept of Pediatric, Suzhou Hospital of Anhui Medical University, Suzhou 234000;

²Dept of Hematology, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215000)

Abstract Objective To explore the effect of interferon regulatory factor 2 binding protein (*IRF2BP2*) on the proliferation of AML cells and its molecular mechanism. **Methods** The CRISPR-Cas9 gene editing technology was used to knock out *IRF2BP2* in human AML cell lines

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81970163); 安徽医科大学校科研基金项目 (编号: 2022xkj074)

作者简介: 周 碧, 男, 硕士, 主治医师;

胡绍燕, 女, 主任医师, 博士生导师, 通信作者, E-mail: hushaoyan@suda.edu.cn

Kasumi-1 and U937, and Western blot was performed to detect the knockout efficiency of IRF2BP2 protein. Cell morphology was observed using a microscope. Cell phenotypes were analyzed by CCK-8 assay, colony formation experiments, and flow cytometry. RNA-Seq was performed to identify differentially expressed genes between the IRF2BP2 knockout group and the control group in the U937 cell line. Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) was conducted to explore the downstream molecular mechanisms. Western blot was used to detect the expression of downstream differentially expressed genes. The Cleavage Under Targets and Tagmentation (CUT&Tag) technique was applied to identify the direct targets of the IRF2BP2 protein, and the corresponding binding signals were visualized using the Integrated Genomics Viewer (IGV).

Results Compared with the control group, after knocking out *IRF2BP2*, the CCK-8 experiment showed that AML cell proliferation was inhibited ($P<0.05$); the number of colonies in the *IRF2BP2* knockout group decreased ($P<0.05$), and the proportion of G1 phase was prolonged ($P<0.05$); in U937 cell lines, knocking out *IRF2BP2* resulted in significant enrichment of differential genes in MYC-related signaling pathways, and the protein expression levels of pathway molecules MYC, CDK4, and CDK2 decreased with the downregulation of IRF2BP2; using IRF2BP2 antibodies in U937 cell lines for CUT&Tag experiments, IGV visualization analysis showed a significant increase in signal peaks in the MYC promoter region. **Conclusion** IRF2BP2 affects the cell cycle and proliferation of AML cells by targeting and regulating MYC.

Key words acute myeloid leukemia; *IRF2BP2*; transcriptional regulation; cell proliferation; cell cycle; CUT&Tag; MYC

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81970163); Scientific Research Project of Anhui Medical University (No. 2022xkj074)

Corresponding author Hu Shaoyan, E-mail: hushaoyan@suda.edu.cn

白血病大约占有儿童恶性肿瘤的 30%，其中 15%~20%为急性髓系白血病（acute myeloid leukemia, AML），其特点是髓系细胞分化受阻和癌性增殖。在过去的几十年里，儿童 AML 的预后有了显著的改善，目前长期生存率可达到 70%以上^[1-2]，但复发率并没有显著下降，24%~40%的患儿复发，复发患儿长期生存的概率仅为 30%左右^[3]。

AML 病因尚不明确，异常转录是癌生物学的基本特征，干扰素调节因子 2 结合蛋白 2（interferon regulatory factor 2 binding protein 2, IRF2BP2）作为转录共调节因子，在人类恶

性肿瘤的发生和进展中发挥重要作用，其参与细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡等表型^[4]，调控胃癌^[5]、肝癌^[6]和口腔鳞状细胞癌^[7]等多种肿瘤的发生。*IRF2BP2* 与血液系统亦关系密切，研究显示在 *IRF2BP2* 基因敲除小鼠的肝脏中发现造血干细胞富集的转录因子 (*ETV6*、*FLI1*、*IKZF1* 和 *RUNX1*) 表达增加，*IRF2BP2* 基因敲除的成年小鼠存在有自发淋巴瘤的倾向^[8]；*IRF2BP2* 也能通过影响炎症反应启动白血细胞的凋亡^[9]。本研究旨在进一步探究 *IRF2BP2* 在 AML 中的表达和作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 *IRF2BP2* 抗体 (美国 Sigma 公司, 货号: HPA027815); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (美国 Abcam 公司, 货号: ab128915); MYC 抗体、细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 抗体、细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号: 67447-1-Ig、22060-1-AP、66950-1-Ig); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、RPMI 1640 培养基 (上海道鹏生物科技有限公司, 货号: VC-FBS-500、VC-LM-1640-500); 青-链霉素、细胞周期试剂盒、4%多聚甲醛、吉姆萨染色液 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: P1400-100、C1052、P0099、C0131); MycoAlert Kit 检测试剂盒 (瑞士 Lonza 公司, 货号: LT07-318); CCK-8 试剂盒 (上海伟寰生物科技有限公司, 货号: K1018); 靶向剪切及转座酶实验 (cleavage under targets and tagmentation, CUT&Tag) 试剂盒、FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司, 货号: S602、RC112-01)。高速/低速台式离心机 (美国赛默飞世尔科技公司, 型号: X1/X4F Pro); DNA 凝胶成像分析仪 (美国通用电气医疗公司, 型号: ImageQuant 800); 成像系统 (美国思拓凡公司, 型号: Typhoon); 实时定量 PCR 仪 (瑞士罗氏集团, 型号: LightCycler® 96 real-time PCR system); 流式分析仪 (美国贝克曼库尔特有限公司, 型号: CytoFLEX®); 酶标仪 (BioTek Instruments, 型号: Synergy H1 Hybrid Reader)。

1.2 细胞培养 人类髓系白血病细胞株, 包括 HL60、MV4-11、U937、MOLM16、Kasumi-1、HEL、NB4、MOLM13 和 K562 均来源于中国科学院细胞文库, 经短串联重复实验鉴定。细胞在含有 10% FBS 和 1% 青-链霉素的 RPMI 1640 培养基中培养 (37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱), 实验过程中定期对细胞株进行支原体感染的常规检测。

1.3 慢病毒感染 使用 CRISPR-Cas9 技术, 建立 *IRF2BP2* 稳定敲除的细胞株, 首先将 Kasumi-1 和 U937 细胞感染 Cas9 载体, 嘌呤霉素筛选后使用 sgRNA-*IRF2BP2* 非靶向对照病

毒感染 Cas9 细胞，病毒来自吉凯基因（上海）。敲除靶序列信息：sgIRF2BP2-1#（sg-1#）：
5'-CGTAGACTTCGTCA-TCGAGA-3' 、 sgIRF2BP2-2# （ sg-2# ） ：
5'-CCAACG-GGTAGCGCCTCCAAG-3' ； sgIRF2BP2-3# （ sg-3# ） ：
5'-GCGGCAGT-CGTGCTACC-TGT-3'。

1.4 细胞增殖实验 使用 CCK-8 测量细胞存活率，将实验组与对照组的细胞种植在不同的 96 孔板中（每孔 2 000 个细胞/200 μ L 体系），种植当天和接下来的 2、4、6 d 加入 CCK-8 试剂 20 μ L，细胞培养箱内孵育 3 h，酶标仪检测 450 nm 处的吸光度，以评估细胞增殖率。

1.5 集落形成实验 制备琼脂糖（1.2%和 0.7%），高压灭菌锅灭菌，配置包含 2 $\times$ 青霉素、20%胎牛血清和链霉素的 2 $\times$ RPMI 1640 的培养基。下层凝胶：将 1.2%的琼脂糖凝胶和等体积的培养基按照 1:1 混合，6 孔板中每孔加入 1.5 mL，放置于室温下固化；上层凝胶：将 2 $\times$ 培养基与 0.7%的琼脂糖凝胶等按照体积充分混合后，加入 100 μ L 细胞悬液（5 000 个细胞）。将 6 孔板放入 37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱中，每 2 天加入新入 100 μ L 细胞培养基，集落形成后用 4%多聚甲醛固定，吉姆萨染色后计算集落数量。

1.6 细胞周期分析 准备细胞周期试剂盒，收集细胞，预冷的 PBS 洗涤后加入 75%乙醇中固定过夜（4 $^{\circ}$ C），第 2 天使用预冷的 PBS 洗涤细胞，随后加入染色液，在室温下避光孵育 15 min。流式分析仪进行细胞周期实验，使用 Flowjo（V10）软件分析数据。

1.7 Western blot 检测目的蛋白的表达 蛋白质裂解物经过 4%~20%预制胶电泳分离，然后转移到 0.45 μ m PVDF 膜，随后在含 5%脱脂奶的 TBST（1 $\times$ TBS，0.1% Tween 20）中常温下孵育 1.5 h，置于目的分子一抗（IRF2BP2、MYC、CDK4、CDK2、GAPDH）中 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜，一抗浓度 1:1 000；第 2 天回收一抗并常温孵育二抗（1:5 000）1 h，显影。

1.8 RNA-Seq 和数据处理 提取细胞样本中的总 RNA，RNA-seq 依据按照天津诺禾致源生物信息技术有限公司的方案实施。第一步将总 RNA 逆转录成 cDNA 构建文库，第二步对完成构建的 cDNA 文库进行相关序列测定，使用转录物剪接比对的分级索引过滤原始读取数并映射干净读取数，然后计算基因表达水平（每千碱基外显子长度的读取数，归一化到每百万映射读取），采用 DESeq2 分析，鉴定了差异表达的基因（ $P < 0.05$ 和 $\text{Log}_2|\text{fold change}| > 0.5$ ），差异表达的基因进行 GSEA。

1.9 CUT&Tag 准备 CUT&Tag 试剂盒，收集 1×10^6 个 U937 细胞，ConA 磁珠孵育，随后与稀释至 1:100 的二抗共同孵育过夜（4 $^{\circ}$ C），随后室温下加入 Pa/g-Tnp，将样本中的 DNA 进行片段化并提取，上机（Illumina 平台）测序。使用 Bowtie2（v2.4.4）将原始的 CUT&Tag 数据与 UCSC hg38 参考基因组比对，参数设置为：-p 4 -q -x，通过 MACS3（v3.0）在以下

参数下识别兴趣区域（以峰值表示）：-f BAMPE，-g hs，-B，-q 0.01，以及--SPMR。

1.10 集成基因组学查看器（integrated genomics viewer, IGV）可视化 打开 IGV 软件，顶部菜单选择 "Genomes" → "Load Genome from Server"，选择参考基因组版本 hg38，在搜索框输入目的基因名，添加参照轨迹，识别信号峰。

1.11 目的基因表达及预后分析 使用在线生信工具仙桃学术 (<https://www.xiantaozi.com/>) 和 Kaplan-Meier Plotter (<https://kmplot.com/analysis/>) 分析 *IRF2BP2* 在癌症和对照组的表达差异及与预后的关系。

1.12 统计学处理 每个生物学实验均进行 3 次以上的重复验证，数据分析及图形绘制均使用 GraphPad PRISM 9.0 软件来操作，独立样本 *t* 检验和单因素方差分析用来比较组间数据差异。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *IRF2BP2* 在肿瘤中的表达及对 AML 预后的影响 生信分析结果显示（图 1A），*IRF2BP2* 在 LAML 患者中的表达量明显高于正常对照组（*P*<0.001）；但 *IRF2BP2* 高、低表达组 AML 患者的预后无差异（*P*>0.05，图 1B）；考虑到样本容量及随访时间的影响因素，随后使用 Kaplan-Meier Plotter 工具分析显示 224570_S_at 数据集中高表达 *IRF2BP2* 的 AML 病人的预后更差（*P*<0.05，图 1C）；使用 Western blot 检测不同髓系白血病细胞株中 *IRF2BP2* 蛋白的表达水平，结果显示其在 MV4-11、U937、Kasumi-1 和 NB4 细胞株中的表达量较高（图 1D），排除 AML-M3 细胞株 NB4，选择常用的单核细胞/巨噬细胞谱系的 U937 和粒细胞谱系的 Kasumi-1 细胞株进行进一步研究。

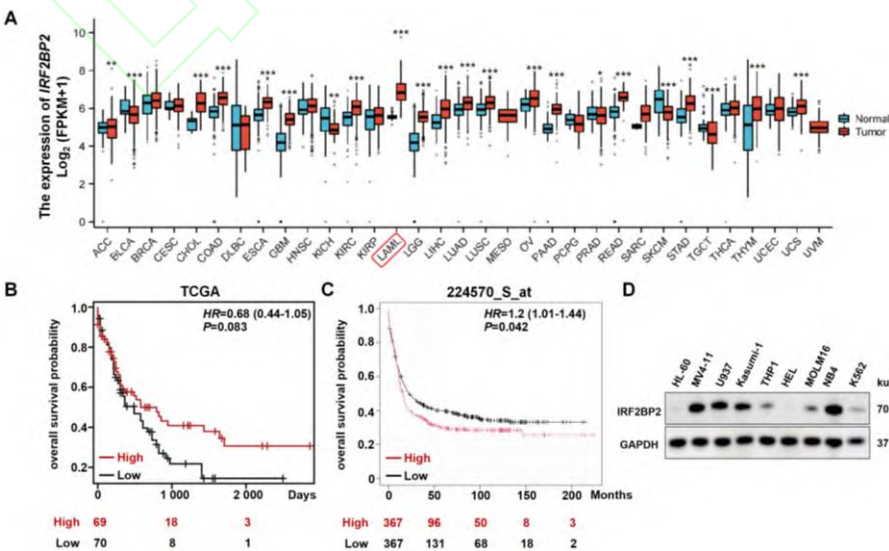


图1 IRF2BP2 在肿瘤中的表达及其对急性髓系白血病（AML）预后的影响

Fig.1 The expression of IRF2BP2 in tumors and its prognostic impact in AML

A: *IRF2BP2* expression in pan-cancer VS normal controls; B: Prognostic significance of *IRF2BP2* expression in AML (TCGA dataset); C: Prognostic relevance of *IRF2BP2* expression in AML (224570_S_at dataset); D: *IRF2BP2* protein expression at different myeloid leukemia cell lines; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Normal group.

2.2 敲除 *IRF2BP2* 对 AML 细胞增殖、集落形成和细胞周期的影响 Western blot 结果显示, *sgIRF2BP2*-1#、*sgIRF2BP2*-2#和 *sgIRF2BP2*-3#均能在 Kasumi-1 和 U937 细胞株中有效敲除 *IRF2BP2*, 其中 *sgIRF2BP2*-1#的敲除效率最高 (图 2A)。与对照组相比, 敲除 *IRF2BP2* 后, CCK-8 显示 Kasumi-1 和 U937 细胞株中 *sg*-1#组 ($t=16.01$ 、 18.07 , 均 $P < 0.001$) 和 *sg*-2#组 ($t=9.48$ 、 16.59 , 均 $P < 0.001$) 细胞增殖速率均在第 6 天受到抑制, (图 2B)。集落形成实验显示 (图 2C), *IRF2BP2* 敲除组集落数减少, Kasumi-1 细胞株中 *sg*-NC 组和 *sg*-1#组的集落数分别为 627.33 ± 45.65 和 157.67 ± 17.39 ($t=16.652$, $P < 0.05$), U937 细胞株中 *sg*-NC 组和 *sg*-1#组的集落数分别为 571.33 ± 38.07 和 163.00 ± 26.21 ($t=15.302$, $P < 0.05$)。细胞周期分析显示 (图 2D-2E), *IRF2BP2* 敲除组细胞 G_1 期比例延长, Kasumi-1 细胞中 *sg*-NC 组和 *sg*-1#组 G_1 期比例分别为 $34.90\% \pm 2.65\%$ 和 $41.13\% \pm 2.70\%$ ($t=2.856$, $P < 0.05$), U937 细胞中 *sg*-NC 组和 *sg*-1#组 G_1 期比例分别为 $33.13\% \pm 2.14\%$ 和 $41.13\% \pm 1.18\%$ ($t=5.673$, $P < 0.01$)。

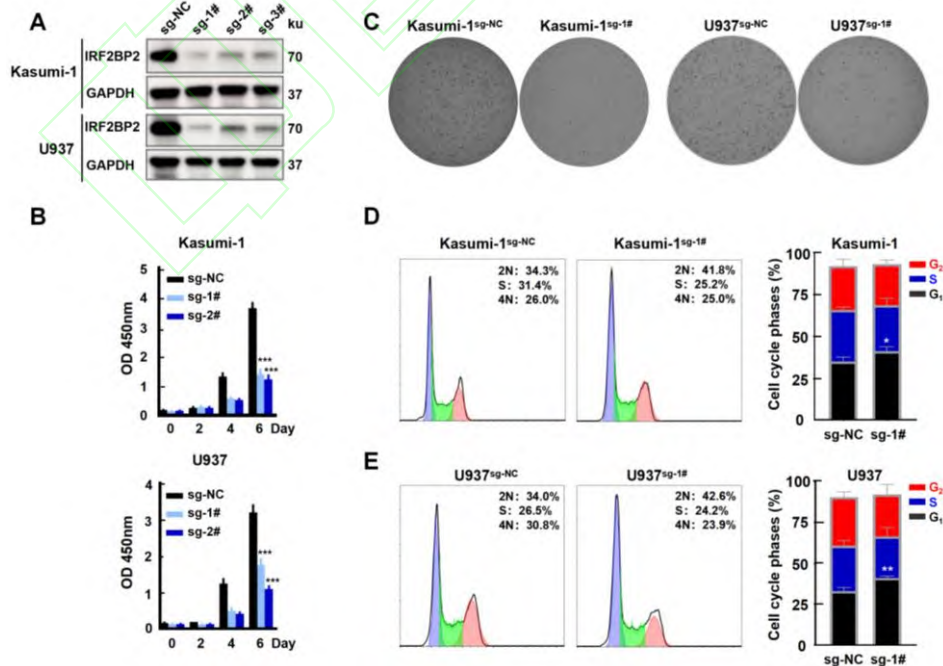


图2 敲除 *IRF2BP2* 后 AML 细胞株的表型改变

Fig.2 Phenotypic alterations in AML cell lines after *IRF2BP2* depletion

A: Western blot validation of *IRF2BP2* knockdown efficiency; B: Proliferation rate of AML cells after *IRF2BP2* knockout measured by CCK-8 assay; C: Colony formation capacity of AML cells upon *IRF2BP2* depletion analyzed by colony formation assay; D-E: G₁ phase arrest in AML cells upon *IRF2BP2* knockout.

2.3 敲除 *IRF2BP2* 后下游基因的改变 使用 CRISPR-Cas9 系统在 U937 细胞株中敲除 *IRF2BP2* 后进行 RNA-Seq, 结果显示差异表达基因中上调 1 857 个、下调 2 092 个 ($P < 0.05$ 和 $\text{Log}_2[\text{fold change}] > 0.5$), GSEA 后归一化富集得分 (normalized enrichment score, NES) 最高为 MYC_TARGETS_V1 通路, MYC、CDK4 和 CDK2 等基因属于差异基因 (图 3A-3B), 其蛋白水平也随着 *IRF2BP2* 蛋白的下降而下调 (图 3C)。

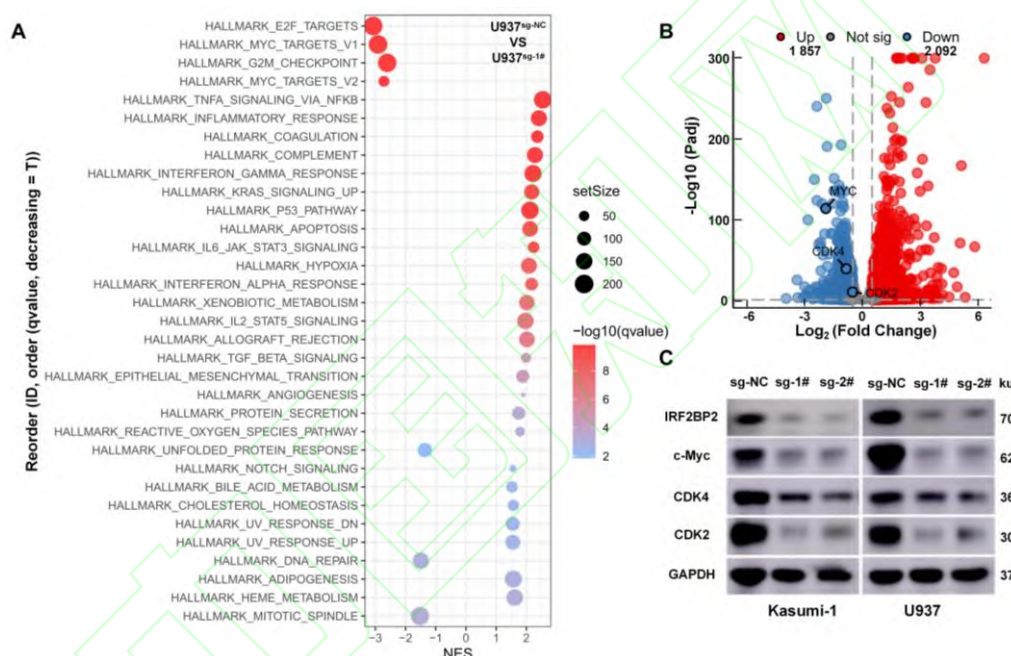


图 3 U937 细胞中敲除 *IRF2BP2* 后下游基因的变化

Fig.3 Downstream gene alterations in U937 cells after *IRF2BP2* knockout

A: RNA-Seq analysis and Hallmark gene set enrichment analysis of differentially expressed genes post-*IRF2BP2* knockout; B: Volcano plot illustrating significantly differentially expressed genes ($|\text{Log}_2\text{FoldChange}| > 0.5$ and $P < 0.05$); C: Western blot validation of representative differentially expressed genes.

2.4 *IRF2BP2* 蛋白特异性结合 MYC 启动子区域 使用 *IRF2BP2* 抗体在 U937 细胞株中进行 CUT&Tag 实验, IGV 可视化分析显示 MYC 启动子区域存在显著的信号峰升高, 表明 *IRF2BP2* 蛋白在该位置具有特异性结合。见图 4。

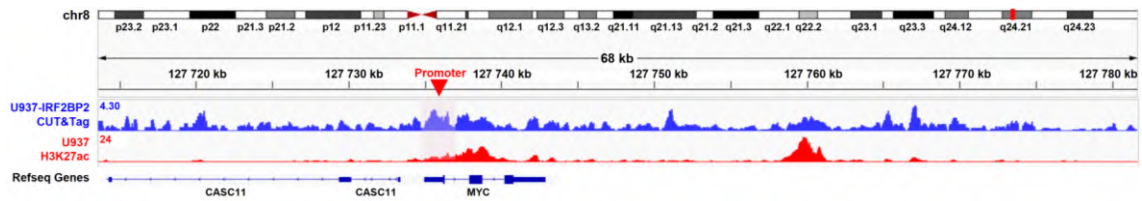


图4 IGV 可视化分析显示 *MYC* 启动子区域存在显著的信号峰升高

Fig.4 Elevated signal peaks in the *MYC* promoter region revealed by IGV visualization analysis

3 讨论

IRF2BP2 是 *IRF2BP* 基因家族中的其中一个，其余两个为 *IRF2BP1* 和 *IRF2BPL*。最初认为 *IRF2BP2* 是一个依赖于干扰素调节因子 2（interferon regulatory factor 2, *IRF2*）的转录共抑制因子，后来发现其在多种人类肿瘤中广泛表达，通过不同的细胞信号传导途径发挥作用，并在不表达 *IRF2* 的生物体中也发挥功能，参与细胞周期、细胞死亡、血管生成、炎症和免疫应答等，维持细胞稳态^[4]。

作为重要的转录共调节因子，*IRF2BP2* 的表达失调与多种癌症的发生、进展有关。Yao et al^[5]发现，胃癌患者中 *IRF2BP2* 蛋白高表达者生存率较低，敲低 *IRF2BP2* 可抑制胃癌细胞系的增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition, EMT）；在口腔鳞状细胞癌（oral squamous cell carcinoma, OSCC）中，*IRF2BP2* 的过表达与其淋巴结转移相关，沉默 *IRF2BP2* 抑制了 OSCC 细胞的淋巴转移、EMT 和脂肪酸氧化速率^[7]；而在肝癌细胞中，过表达 *IRF2BP2* 后通过影响 Hippo 通路活性而抑制肿瘤形成，揭示了 *IRF2BP2* 在肝癌中的抑癌作用^[6]。以上研究表明，*IRF2BP2* 在不同类型肿瘤中发挥不同效应，本研究通过敲除 *IRF2BP2* 后，发现 AML 细胞增殖和集落形成能力均受抑，*IRF2BP2* 可能是 AML 的促癌基因。

作为 *IRF2* 的结合蛋白，*IRF2BP2* 在炎症反应中发挥重要功能，Fang et al^[10]研究表明肝细胞特异性 *IRF2BP2* 缺失小鼠发生肝脂肪变性、胰岛素抵抗和炎症，相反，过表达 *IRF2BP2* 则显著缓解了小鼠全身的炎症反应。白血病细胞即功能异常的免疫细胞，Ellegast et al^[9]发现，*IRF2BP2* 是 NF- κ B 介导的 TNF α 信号转导的阻遏因子，当其被干扰时炎症反应加剧并导致 AML 细胞凋亡，*IRF2BP2* 在 AML 中发挥促癌作用，本研究结果与其一致。

Ellegast et al^[9]证明，*IRF2BP2* 通过 NF- κ B 介导的 TNF α 信号通路参与细胞凋亡，本研究结果表明，敲除 *IRF2BP2* 后，MYC_TARGETS_V1 是下调基因最突出的富集通路，*MYC* 是重要的转录因子，在包括 AML 的多种人类肿瘤中发挥重要促癌作用，与细胞周期关系密

切^[11-13]。研究^[13-14]表明, *MYC* 可以促进细胞周期的进程, 特别是在 G_1/S 期, 它可以通过激活细胞周期相关蛋白 (如 *CDKs*、*cyclins* 等) 的表达, 推动细胞从 G_1 期进入 S 期, 促进 DNA 合成和细胞增殖。Hu et al^[15]通过构建咪唑类化合物库, 筛选出双咪唑衍生物 (*BIM-1* 和 *BIM-2*), 通过双靶向下调 *MYC* 和 *BCL-2*, 诱导 AML 细胞发生 G_0/G_1 期周期阻滞和凋亡。本研究结果也显示, *MYC*、*CDK4* 和 *CDK2* 蛋白水平随 *IRF2BP2* 的敲除而下调, AML 细胞周期亦阻滞在 G_1 期。考虑到 *MYC* 在 AML 中明确的促癌作用, 本研究试图通过 CUT&Tag 实验进一步鉴定 *MYC* 是否为 *IRF2BP2* 的下游靶点, IGV 可视化分析显示 *MYC* 启动子区域存在显著的信号峰升高, 表明 *IRF2BP2* 蛋白在该位置具有特异性结合, *IRF2BP2* 通过调控 *MYC* 影响 AML 细胞表型。

综上, 本研究证明 *IRF2BP2* 通过靶向调控 *MYC* 影响 AML 细胞周期和细胞增殖, 后续将在 AML 患者样本和动物体内对 *IRF2BP2* 进一步探究, 为评估其在 AML 的诊疗潜能提供科学依据。

参考文献

- [1] Tomic N, Marjanovic I, Lazic J. Pediatric acute myeloid leukemia: Insight into genetic landscape and novel targeted approaches[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 215: 115705. doi: 10.1016/j.bcp.2023.115705.
- [2] Elgarten C W, Aplenc R. Pediatric acute myeloid leukemia: updates on biology, risk stratification, and therapy[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2020, 32(1): 57-66. doi: 10.1097/MOP.0000000000000855.
- [3] Ruan M, Liu L P, Zhang A L, et al. Improved outcome of children with relapsed/refractory acute myeloid leukemia by addition of cladribine to re-induction chemotherapy[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(3): 956-64. doi: 10.1002/cam4.3681.
- [4] Pastor T P, Peixoto B C, Viola J P B. The transcriptional co-factor *IRF2BP2*: a new player in tumor development and microenvironment[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 655307. doi: 10.3389/fcell.2021.655307.
- [5] Yao Y, Wang Y, Li L, et al. Down-regulation of interferon regulatory factor 2 binding protein 2 suppresses gastric cancer progression by negatively regulating connective tissue growth factor[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8076-89. doi: 10.1111/jcmm.14677.
- [6] Feng X, Lu T, Li J, et al. The tumor suppressor interferon regulatory factor 2 binding protein 2

- regulates hippo pathway in liver cancer by a feedback loop in mice[J]. *Hepatology*, 2020, 71(6): 1988-2004. doi: 10.1002/hep.30961.
- [7] Pang X, Li T J, Shi R J, et al. IRF₂BP₂ drives lymphatic metastasis in OSCC cells by elevating mitochondrial fission-dependent fatty acid oxidation[J]. *Mol Carcinog*, 2024, 63(1): 45-60. doi: 10.1002/mc.23635.
- [8] Vilmundarson R O, Heydarikhorneh N, Duong A, et al. Savior siblings might rescue fetal lethality but not adult lymphoma in Irf2bp2-null mice[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 868053. doi: 10.3389/fimmu.2022.868053.
- [9] Ellegast J M, Alexe G, Hamze A, et al. Unleashing cell-intrinsic inflammation as a strategy to kill AML blasts[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(7): 1760-81. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-0956.
- [10] Fang J, Ji Y X, Zhang P, et al. Hepatic IRF₂BP₂ mitigates nonalcoholic fatty liver disease by directly repressing the transcription of ATF3[J]. *Hepatology*, 2020, 71(5): 1592-608. doi: 10.1002/hep.30950.
- [11] Gao F Y, Li X T, Xu K, et al. c-MYC mediates the crosstalk between breast cancer cells and tumor microenvironment[J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 28. doi: 10.1186/s12964-023-01043-1.
- [12] Tang R, Cheng A, Guirales F, et al. c-MYC amplification in AML[J]. *J Assoc Genet Technol*, 2021, 47(4): 202-12.
- [13] Jiang Y, Peng X, Ji Y, et al. The novel RET inhibitor SYHA1815 inhibits RET-driven cancers and overcomes gatekeeper mutations by inducing G₁ cell-cycle arrest through c-Myc downregulation[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(11): 2198-206. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-21-0127.
- [14] La T, Chen S, Guo T, et al. Visualization of endogenous p27 and Ki67 reveals the importance of a c-Myc-driven metabolic switch in promoting survival of quiescent cancer cells[J]. *Theranostics*, 2021, 11(19): 9605-22. doi: 10.7150/thno.63763.
- [15] Hu M H, Yu B Y, Wang X, et al. Drug-like biimidazole derivatives dually target c-MYC/BCL-2 G-quadruplexes and inhibit acute myeloid leukemia[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104264. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104264.