

hDOT1L 基因在急性白血病发病机制中的作用及其临床意义

牛志云,王颖,张敬宇,王艳,王鹏彬
(河北医科大学第二医院,河北石家庄 050000)

摘要: [目的] *hDOT1L* 基因在白血病发病机制中的作用和临床意义,并分析其可能的作用机理,以期揭示白血病治疗的新靶点。 [方法] 收集和提取非恶性血液病患者和各组白血病患者的骨髓单个核细胞 (BMMNC)。 RT-PCR 检测各组细胞内 *hDOT1L*、*HOXA9*、*HOXA10*、*MLL-AF10* (*MLLT10*) 的 mRNA 表达水平。应用 Western blot 法检测各组细胞内 *hDOT1L* 蛋白的表达及 H3K79 双甲基化蛋白表达水平,并检测各组 p-MAPK、p-AKT 和 PI3K 蛋白的表达水平。 [结果] RT-PCR 结果显示,急性髓系白血病 (AML) 组、急性淋巴细胞白血病 (ALL) 组及急性白血病复发 (AL-relapse) 组 BMMNC 中 *hDOT1L*、*HOXA9*、*HOXA10*、*MLL-AF10* 基因在 mRNA 水平明显高于对照组和急性白血病缓解组 (AL-CR 组),且差异显著 ($P<0.01$); AML 组、ALL 组及 AL-relapse 组组间比较及 AL-CR 组与对照组比较均无明显差异 ($P>0.05$)。 Western blot 检测结果表明,AML 组和 ALL 组及 AL-relapse 组 BMMNC 中 *hDOT1L* 和 H3K79-me2 (双甲基) 蛋白表达水平及 AKT、p-AKT 和 PI3K 蛋白显著高于对照组和 AL-CR 组,并有统计学意义 ($P<0.01$); AML 组和 ALL 组及 AL-relapse 组之间比较及 AL-CR 组与对照组比较上述蛋白表达水平均无统计学差异 ($P>0.05$)。 [结论] *hDOT1L* 是一种新型的组蛋白赖氨酸甲基转移酶,它可能通过提高 H3K79 的甲基化水平,诱导其下游 *HOXA9*、*HOXA10*、*MLL-AF10* 基因的表达,及影响细胞内其他信号通路参与急性白血病的发生,并与疾病的预后息息相关;阻断此通路可能是治疗白血病的一个新思路。

关键词: *hDOT1L*; H3K79; 甲基化; 急性白血病

中图分类号: R733.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2018)03-0229-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2018.03.A013

Expression of *hDOT1L* Gene in Acute Leukemia and Its Clinical Significance

NIU Zhi-yun, WANG Ying, ZHANG Jing-yu, et al.

(The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of *hDOT1L* in acute leukemia and its clinical significance. [Methods] Real time-PCR (RT-PCR) was used to detect the expression levels of intracellular *HOXA9*, *HOXA10*, *MLL-AF10*, and *hDOT1L* mRNA in bone marrow mononuclear cells (BMMNC) of 60 acute leukemia patients and 15 non-malignant hematological patients (control group). Western blot was used to detect the expression levels of *hDOT1L*, H3K79-me2, P-MAPK, p-AKT and PI3K proteins. [Results] RT-PCR results indicated that the expression levels of *HOXA9*, *HOXA10*, *MLL-AF10*, and *hDOT1L* mRNA in acute myeloid leukemia (AML, n=15), acute lymphoblastic leukemia (ALL, n=15) and acute leukemia relapse (AL-relapse, n=15) patients were higher than those in the control group and complete remission of acute leukemia patients (AL-CR, n=15) ($P<0.01$). There were no significant differences in these genes expression levels between AL-CR patients and the control group ($P>0.05$), and among AML, ALL and AL-relapse groups ($P>0.05$). Western blot results displayed that the expression levels of *hDOT1L*, PI3K, P-MAPK, p-AKT and H3K79-me2 in AML group, ALL group and AL-relapse group were higher than those in the control group and AL-CR group ($P<0.01$). There were no significant differences in expression levels of those molecules between AL-CR group and control group ($P>0.05$), and among AML, ALL and AL-relapse groups ($P>0.05$). [Conclusion] The study indicates that as a new type of histone lysine methylation transferase, *hDOT1L* pathway may be involved in the pathogenesis and prognosis of acute leukemia.

Key words: *hDOT1L*; H3K79; methylation; acute leukemia

白血病是一类遗传学高度异质性的血液系统恶

性疾病,常发生染色体异常和基因突变,是细胞遗传和表观遗传共同改变的结果。DNA 甲基化和组蛋白修饰是两种最重要的表观遗传学修饰途径,在白血

收稿日期: 2017-06-22; 修回日期: 2017-08-10
基金项目: 河北省科技厅支持项目 (132077118D)
通讯作者: 王颖, E-mail: wangying730@126.com

病的发病机制中扮演着重要角色。DNA 去甲基化药物与化疗药物联合应用在白血病临床治疗中已经取得了可喜的成绩,但白血病的复发仍不可避免,进一步揭示白血病的作用机理,研发新的靶向药物仍迫在眉睫。

众所周知,组蛋白的甲基化修饰主要发生在赖氨酸残基和精氨酸残基,分别由含有 SET 结构域的甲基转移酶家族和蛋白精氨酸甲基转移酶家族催化。DOT1 是首次从啤酒酵母中发现的无 SET 结构域的组蛋白赖氨酸甲基转移酶,能催化核心球体部位的组蛋白 H3 第 79 位赖氨酸 (histone H3 lysine 79, H3K79) 发生甲基化^[1],代表了一类新的组蛋白赖氨酸甲基转移酶。研究证实, DOT1 的过量表达可以扰乱端粒的沉默^[2],并通过催化 H3K79 甲基化和上调相关分子的表达参与肿瘤的发生,并在多种肿瘤的信号网络中起着关键的作用^[3]。研究表明,人类 DOT1 酶 (hDOT1L) 在混合系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 基因 *MLL-AF10* 介导的急性髓系白血病发生中起着重要的作用^[4]。两者相互作用形成复合物,上调一些与白血病相关的同源盒基因 (homeobox gene, *HOX*) 即 *HOX* 基因的 H3K79 的甲基化水平,从而上调这些基因的表达,参与白血病的发生^[5]。白血病发生时, hDOT1L 是如何改变 H3K79 甲基化水平,并通过哪些关键分子参与白血病发病机制的有待深入研究。MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号通路是白血病发生的重要途径,在白血病的发病机制中发挥着举足轻重的作用。此信号途径与 hDOT1L 诱导的一系列信号转导过程是否有相关性值得我们进一步探索。

1 资料与方法

1.1 标本和材料

骨髓标本均来自于 2014~2016 年河北医科大学第二医院住院患者共 60 例,急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 即 AML 组 15 例,急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 即 ALL 组 15 例,急性白血病复发 (acute leukemia relapse, AL-relapse) 即 AL-relapse 组 15 例,其中 AML-relapse 8 例, ALL-relapse 7 例,急性白血病缓解 (acute leukemia complete remission, AL-CR)

即 AL-CR 组 15 例,其中 AML-CR 8 例, ALL-CR 7 例,所有患者的诊断均符合 2008 年 WHO 对急性白血病诊断标准。15 例来自门诊的非恶性血液病患者作为对照组。实验组共 60 例,男性 32 例,女性 28 例,年龄 19~69 岁,中位年龄 43.5 岁,对照组共 15 例,男性 8 例,女性 7 例,年龄 25~63 岁,中位年龄 45 岁。上述标本的收集通过了我院伦理委员会的审批,且患者本人签署了知情同意书。

Trizol 试剂和 real-time PCR 试剂购自广州复能基因有限公司。兔抗人 H3K79 双甲基化 (di-methy) 单克隆抗体、兔抗人 DOT1L 单克隆抗体、兔抗人 PI3K 多克隆抗体、兔抗人 p-MAPK 多克隆抗体、兔抗人 p-AKT 多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司。管家基因引物由北京赛百盛公司合成, *hDOT1L*, *HOXA9*, *HOXA10* 和 *MLL-AF10* (*MLLT10*) 基因引物均由广州复能基因有限公司合成。辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 由北京康为世纪生物科技有限公司提供,其余试剂购自上海素莱宝生物有限公司。

1.2 Real-time PCR (RT-PCR) 检测各组目的基因在 mRNA 水平上的表达

在无菌状态下,留取各组患者骨髓液 2~4ml,提取骨髓单个核细胞 (bone marrow mononuclear cells, BMMNC)。按产品说明书用 Trizol 提取细胞总 RNA,用 NanoDrop ND-1000 紫外/可见光光度计进行 RNA 纯度及浓度计算,测得 RNA 浓度,260/280 比值在 1.8~2.0 范围内,保存在 -80℃ 冰箱备用。计算总 RNA 浓度的公式为:总 RNA 浓度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) = 浓度读数 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \times 稀释倍数 / 1000。以 β -actin 为内参照,利用 RT-PCR 检测 BMMNC 细胞内 *hDOT1L*, *HOXA9*, *HOXA10* 和 *MLL-AF10* (*MLLT10*) mRNA 的表达水平。

逆转录条件:37℃ 持续 60min, 95℃ 反应 5min 后

Table 1 Primer sequences for PCR

Primer	Sequence	Size(bp)
<i>HOXA10</i>	F: 5'-GGATTCCCTGGGCAATTCCA-3'	162
	R: 5'-CTAATCTCTAGGCGCCGCTC-3'	
<i>HOXA9</i>	F: 5'-TTGCACCAGACGAAACAGTGA-3'	161
	R: 5'-AGCCCAATGGCGGTTTCATA-3'	
<i>MLLT10</i>	F: 5'-GACTAGAGGGTCAGAGGGCA-3'	121
	R: 5'-AGGAAAAGGGC-TAGCTGCTG-3'	
<i>hDOT1L</i>	F: 5'-CCGCCTAGCATGCTGCG-3'	122
	R: 5'-TTTATCGTAGACCGGCAGCG-3'	
β -actin	F: 5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3'	285
	R: 5'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-3'	

停止反应 cDNA 进行 PCR 扩增。PCR 引物序列见表 1 (Table 1)。RT-PCR 总反应体系为 20 μ l, 逆转录产物去 2.0 μ l, 2.5 \times RealMastermix/20 \times SYBR Solution 取 9 μ l, 上游引物、下游引物各 1.0 μ l, 余用去离子水补足至 20 μ l。HOXA10、HOXA9、MLL-AF10、hDOT1L 及 β -actin RT-PCR 热循环参数为: 95 $^{\circ}$ C 10min, 然后 3 步反应: 95 $^{\circ}$ C 10s, 60 $^{\circ}$ C 20s, 72 $^{\circ}$ C 15s, 进行 40 个循环, 于每个循环的第 3 步即 72 $^{\circ}$ C 15s 收集荧光信号。在 PCR 反应体系中加入荧光基因, 在整个过程中连续收集荧光信号, 反应结束后根据扩增曲线和溶解曲线进行分析。Ct 值为扩增产物量达到临界阈值时所对应的循环数。计算公式为 $F=2^{-[\Delta Ct(T)-\Delta Ct(N)]}=2^{-\Delta\Delta Ct}$, 其中 $\Delta Ct(T)=\Delta Ct(\text{待测})=\text{实验组目的基因 Ct 值}-\text{实验组管家基因 Ct 值}$, $\Delta Ct(N)=\Delta Ct(\text{对照})=\text{对照组目的基因 Ct 值}-\text{对照组管家基因 Ct 值}$ 。

1.3 Western blot 法检测 hDOT1L、PI3K、p-MAPK 和 p-AKT 表达及 H3K79 甲基化水平

收集各组患者 BMMNC 后, 按细胞裂解液说明书提取细胞蛋白。用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量, 根据定量结果对蛋白质样本进行校正, 保存在 -80 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

加入样品溶解液和样品, 95 $^{\circ}$ C 水浴 5min, 迅速冰上冷却。聚丙烯酰胺凝胶电泳 (10% 聚丙烯酰胺分离胶和 5% 聚丙烯酰胺浓缩胶), 电压 90V, 进入分离胶后改为 120V, 40min, 指示剂至分离胶底部, 电泳完毕。蛋白通过电转移至 PVDF 膜, 电流为 190mA, 依据蛋白分子量的大小选择适当的转膜时间, 37 $^{\circ}$ C, 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h, 滴加一抗 (H3K79 双甲基化单抗, hDOT1L 单抗及 PI3K、p-MAPK 和 p-AKT 多抗) 4 $^{\circ}$ C 过夜。1 \times TBS-T 洗膜 10min \times 3 次, 加入 1:800

用 1 \times TBS 稀释的封闭辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG, 37 $^{\circ}$ C 1h, 1 \times TBS-T 洗膜 10min \times 3 次, ECL 发光法进行显色、定影和扫描。显色条带扫描后用 Bio1D 软件测定产物条带的密度值。以目的蛋白与 β -actin 的光密度比值表示目的基因在蛋白水平的表达。

1.4 统计学处理

所有数据采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。数据资料为计量资料者, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 两两比较采用最小显著性差异法 (least-significant difference, LSD), 以 $P<0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

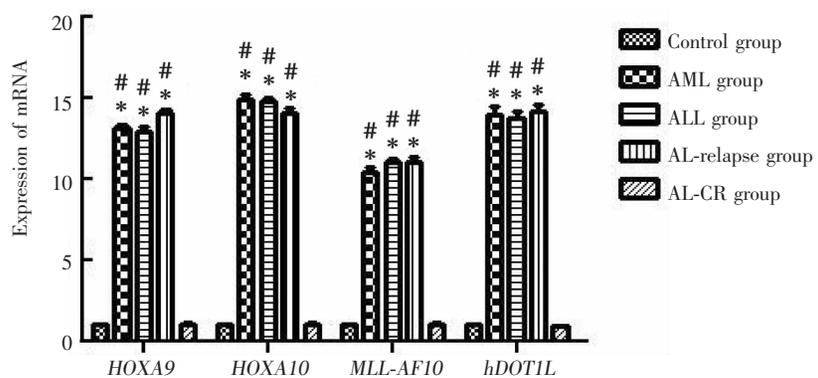
2.1 hDOT1L、HOXA9、HOXA10 和 MLL-AF10 的 mRNA 表达水平

RT-PCR 检测结果显示, 与对照组相比, AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组患者 BMMNC 中

Table 2 The expression levels of HOXA9, HOXA10, MLL-AF10 and hDOT1L mRNA in different experimental groups compared with those of the control group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	HOXA9	HOXA10	MLL-AF10	hDOT1L
Control	15	0.9947 \pm 0.3780	0.9843 \pm 0.2825	1.0268 \pm 0.3590	1.0032 \pm 0.3935
AML	15	13.1875 \pm 2.2548 ^{#*}	14.9043 \pm 2.5601 ^{#*}	11.4917 \pm 2.7032 ^{#*}	14.0307 \pm 2.5422 ^{#*}
ALL	15	12.9281 \pm 2.2225 ^{#*}	14.8566 \pm 2.4161 ^{#*}	11.0331 \pm 3.1326 ^{#*}	13.8207 \pm 3.2845 ^{#*}
AL-relapse	15	13.0435 \pm 2.7106 ^{#*}	14.1028 \pm 2.8580 ^{#*}	11.0184 \pm 2.7959 ^{#*}	14.1862 \pm 3.5493 ^{#*}
AL-CR	15	1.1092 \pm 0.2971	1.0789 \pm 0.2971	1.0924 \pm 0.3597	0.9499 \pm 0.3983

Note: *: Compared with control group, $P<0.01$; #: compared with AL-CR group, $P<0.01$.



Note: *: Compared with control group, $P<0.01$; #: compared with AL-CR group, $P<0.01$.

Figure 1 The expression levels of HOXA9, HOXA10, MLL-AF10 and hDOT1L mRNA in different experimental groups

hDOT1L、*HOXA9*、*HOXA10* 和 *MLL-AF10* 的 mRNA 水平明显升高,并有统计学差异 ($P<0.01$);经标准方案化疗后达完全缓解组上述表达明显下降,且差异显著 ($P<0.01$)。而 AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组组间比较及 AL-CR 组与对照组之间比较上述结果无统计学差异 ($P>0.05$) (Table 2; Figure 1)。

2.2 组蛋白 H3K79 甲基化水平

AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组患者 BMMNC 中双甲基化组蛋白 H3K79 表达水平明显高于对照组和 AL-CR 组,并有统计学差异 ($P<0.01$);AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组组间比较及 AL-CR 组与对照组之间比较无显著差异 ($P>0.05$) (Table 3; Figure 2)。

2.3 hDOT1L、p-MAPK、p-AKT 及 PI3K 蛋白表达水平

Western blot 法检测检测结果显示,与对照组和 AL-CR 组相比,AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组患者 BMMNC 中 *hDOT1L*、p-MAPK、p-AKT 及 PI3K 蛋白的表达水平均显著升高,差异具有统计学意义 ($P<0.01$);AML 组、ALL 组和 AL-relapse 组组间比较及 AL-CR 组与对照组之间比较差异不明显 ($P>0.05$) (Table 3; Figure 2)。

Table 3 The expression levels of H3K79, p-MAPK, p-AKT, PI-3K and hDOT1L proteins in different experimental groups compared with those of the control group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	N	H3K79	P-MAPK	P-AKT	PI-3K	hDOT1L
Control	15	0.0994±0.0274	0.0994±0.0067	0.0985±0.0128	0.1004±0.0134	0.1092±0.0246
AML	15	0.3840±0.0542 [#]	0.7220±0.0360 [#]	0.6949±0.0688 [#]	0.4740±0.0287 [#]	0.5772±0.0514 [#]
ALL	15	0.3933±0.0544 [#]	0.7143±0.0554 [#]	0.7061±0.0506 [#]	0.4875±0.0473 [#]	0.6150±0.0406 [#]
AL-relapse	15	0.4103±0.0366 [#]	0.7584±0.0544 [#]	0.7211±0.0385 [#]	0.4971±0.0348 [#]	0.5918±0.0257 [#]
AL-CR	15	0.0890±0.0157	0.1542±0.0426	0.1136±0.0275	0.1037±0.0348	0.1099±0.0367

Note: *: Compared with control group, $P<0.01$; #: compared with AL-CR group, $P<0.01$.

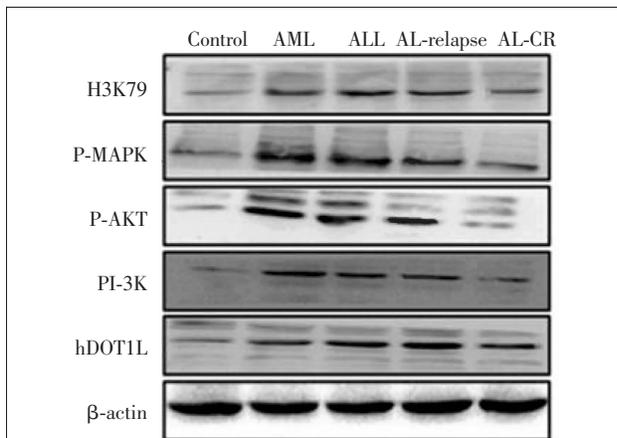


Figure 2 Western blot analysis of the expressions of H3K79, p-MAPK, p-AKT, PI-3K and hDOT1L proteins in different groups

3 讨论

急性白血病是在造血干/祖细胞分化过程的不同阶段发生分化阻滞、凋亡障碍、恶性增殖而引起的一组血液系统恶性肿瘤。*MLL* 基因是一种转录调控因子,发生重排后与“伙伴基因”组成转录复合物,干扰下游 *HOX* 基因的表达,而 *HOX* 基因作为一类调节胚胎和细胞分化的主控基因,参与了造血干/祖细胞的增殖、分化与成熟,其表达异常可诱发血液系统恶性肿瘤^[6-8]。*MLL* 融合蛋白能够结合于多种 *HOX* 家族基因的启动子区域,*MLL* 基因的功能正常与 *HOX* 基因的正常表达与维持密切相关^[9]。多项研究证实,*MLL* 相关白血病病程进展迅速,缓解率低,预后较没有 *MLL* 基因重排的患者差且更容易出现疾病复发。因此,激励着更多的血液病专家针对此类白血病的治疗探索新的靶向药物,以减少化疗药耐药性的出现,改善患者的预后。北卡罗莱纳州大学的研究人员发现的 *hDOT1L* 酶能将甲基添加到组蛋白 H3K79 上,活化与其相关的促白血病的一系列基因,使其发生过甲基化^[5]。研究表明,H3K79 甲基转

移酶 *hDOT1L* 通过和 AF10 的相互作用形成复合物,上调 *HOX* 基因的 H3K79 甲基化水平,进而上调这些基因的表达,参与

了白血病的发病机制,将组蛋白甲基化有缺陷的 *hDOT1L* 引入白血病细胞内细胞生长受到抑制^[4,10]。这不仅加深了我们对细胞如何整合与转录相关的信号的理解,而且意识到如何治疗复发/难治急性白血病仍是一项亟待解决的难题。

我们的研究结果提示,AML 和 ALL 初治患者及白血病复发患者的 BMMNC 中 *hDOT1L*、*HOXA9*、*HOXA10* 和 *MLL-AF10* 表达水平及 H3K79 的甲基化水平明显高于对照组,经标准方案化疗达完全缓解后上述分子的表达和 H3K79 的甲基化水平显著下降。再次证实了 *hDOT1L* 在急性白血病中存在高表达,可能通过催化 H3K79 甲基化使其发生过甲基化,诱导 *HOXA9*、*HOXA10* 和 *MLL-AF10* 表达上调,

影响白血病细胞的分化成熟,增殖和凋亡过程,从而参与白血病的发生和发展。当白血病缓解患者出现疾病复发后上述分子表达水平再次升高,因此检测此信号通路中关键分子的表达有利于更好地监测疾病的缓解状态和缓解深度,也为 hDOT1L 抑制剂或组蛋白 H3K79 去甲基化药物的临床应用提供了新思路。但我们需要扩大样本量进行更深入地研究,才能为白血病的多点靶向治疗提供更多的有力证据。

急性白血病的发生发展是一个多因素的过程,除基因重组、突变等传统遗传修饰之外,DNA 和组蛋白的甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等表观修饰同样具有非常重要的作用。因此,它存在着多种异常包括表观遗传通路失调、基因突变、细胞表面标志、信号转导通路和骨髓微环境等,均可成为治疗的靶点。白血病发生时各种信号通路之间的“cross talk”交织在一起,我们已知 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号通路在白血病发生时有密切联系,我们的研究表明 PI3K/AKT 信号通路中的关键分子磷酸化 MAPK(p-MAPK)和 PI3K、磷酸化 AKT(p-AKT)与 hDOT1L 信号通路中的关键分子在不同组的表达趋势是一致的,上述分子在白血病初治患者的 BMMNC 中表达明显升高,缓解后表达下降,复发后再次升高。我们推测两者之间可能存在一定联系。我们可以通过体外实验沉默 hDOT1L 再检测 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号通路中 p-MAPK 和 PI3K、p-AKT 水平的变化,也可应用 PI3K 抑制剂干预白血病细胞株进一步检测 hDOT1L 信号通路中的关键分子的变化来证实上述通路之间的相关性。有研究证实,Wnt 信号通路通过 β -catenin 上调 CyclinD1 的表达,在白血病的发生发展中与 HOX 信号途径有协同作用^[11],Wnt 信号通路是否也与 hDOT1L 信号通路有关需要进一步探讨。总之,揭示白血病信号网络中各种通路间的内在联系及各分子的上下游关系,寻找它们之间的桥梁分子为白血病的治疗提供新策略,提高急性白血病化疗缓解率,减少复发,改善患者预后,广大血液病研究者肩负着艰巨的使命。

参考文献:

- [1] Feng Q,Wang H,Ng HH,et al. Methylation of H3-lysine 79 is mediated by a new family of HMTases without a SET domain [J]. *Curr Biol*,2002,12(12):1052-1058.
- [2] Singer MS,Kahana A,Wolf AJ,et al. Identification of high-copy disruptors of telomeric silencing in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Genetics*,1998,150(2):613-632.
- [3] Vlaming H,van Leeuwen F. The upstreams and downstreams of H3K79 methylation by DOT1L [J]. *Chromosoma*,2016,125(4):593-605.
- [4] Wang X,Chen CW,Armstrong SA. The role of DOT1L in the maintenance of leukemia gene expression [J]. *Curr Opin Genet Dev*,2016,36:68-72.
- [5] Zhang W,Xia X,Jalal DI,et al. Aldosterone-sensitive repression of ENaC α transcription by a histone H3 lysine-79 methyltransferase [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*,2006,290(3):C936-C946.
- [6] Marschalek R. Mechanisms of leukemogenesis by MLL fusion proteins [J]. *Br J Haematol*,2011,152(2):141-154.
- [7] Deshpande AJ,Deshpande A,Sinha AU,et al. AF10 regulates progressive H3K79 methylation and HOX gene expression in diverse AML subtypes [J]. *Cancer Cell*,2014,26(6):896-908.
- [8] Li Z,Huang H,Li Y,et al. Up-regulation of a HOXA-PBX3 homeobox-gene signature following down-regulation of miR-181 is associated with adverse prognosis in patients with cytogenetically abnormal AML [J]. *Blood*,2012,119(10):2314-2324.
- [9] Bernt KM,Zhu N,Sinha AU,et al. MLL-rearranged leukemia is dependent on aberrant H3K79 methylation by DOT1L[J]. *Cancer Cell*,2011,20 (1):66-78.
- [10] Vlaming H,Molenaar TM,van Welsem T,et al. Direct screening for chromatin status on DNA barcodes in yeast delineates the regulome of H3K79 methylation by Dot1[J]. *Elife*,2016,5:e18919.
- [11] Sengupta A,Banerjee D,Chandra S,et al. Dereglulation and cross talk among Sonic hedgehog,Wnt,Hox and Notch signaling in chronic myeloid leukemia progression [J]. *Leukemia*,2007,21(5):949-955.