



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2026.04.014

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2026.04.014

· 临床研究 ·

# 长链非编码 RNA 钾离子电压门控通道亚家族 Q 成员 1 重叠转录本 1 通过微小 RNA-1179/性别决定区 Y 框蛋白 12 轴调控急性髓系白血病细胞增殖与凋亡

张欣 胡微 柯善栋 陆亚岚 安宏玉 刘娟

**[摘要]** **目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)钾离子电压门控通道亚家族 Q 成员 1 重叠转录本 1(KCNQ1OT1)通过调控微小 RNA-1179(miR-1179)/性别决定区 Y 框蛋白 12(SOX12)轴影响急性髓系白血病(AML)细胞增殖和凋亡的机制。**方法** 将 K562 细胞分为 NC 组、sh-NC 组、sh-KCNQ1OT1 组、miR-NC 组、miR-1179 mimics 组、sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组、sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组、miR-1179 mimics + pc-NC 组、miR-1179 mimics + pc-SOX12 组;采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测 AML 患者和非 AML 患者单核细胞及 AML 细胞中 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 的表达水平;验证 miR-1179 与 KCNQ1OT1 和 SOX12 的靶向关系。检测 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 表达水平、细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、SOX12、增殖细胞核抗原(PCNA)、E-cadherin、cleaved caspase-3、N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平。**结果** 与 NC 组和 sh-NC 组比较,sh-KCNQ1OT1 组 K562 细胞 miR-1179 表达水平、凋亡率、cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平升高,KCNQ1OT1 和 SOX12 mRNA 表达水平、细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率、侵袭细胞数量、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、N-cadherin、vimentin、PCNA 和 SOX12 蛋白表达水平降低;与 miR-NC 组比较,miR-1179 mimics 组 K562 细胞 miR-1179 表达、凋亡率、cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平升高,SOX12 mRNA 表达水平、细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率、侵袭细胞数量、CXCL-2 和 CXCL-8 水平、N-cadherin、PCNA、vimentin 和 SOX12 蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ )。**结论** 沉默 lncRNA KCNQ1OT1 可通过上调 miR-1179 表达,靶向抑制 SOX12 转录,进而促进 K562 细胞凋亡,降低细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率及侵袭细胞数量,抑制细胞上皮间质转化和免疫逃逸。

**[关键词]** 钾离子电压门控通道亚家族 Q 成员 1 重叠转录本 1; miR-1179/SOX12 轴; 急性髓系白血病; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R733.71 [文献标识码] A

**Long non-coding RNA potassium ion voltage-gated channel subfamily Q member 1 overlapping transcript 1 regulates the proliferation and apoptosis of acute myeloid leukemia cells through the microRNA-1179/sex-determining region Y-box protein 12 axis**

Zhang Xin, Hu Wei, Ke Shandong, Lu Yalan, An Hongyu, Liu Juan. Department of Hematology, Huangshi Central Hospital, Graduate Training Base of Medical School, Wuhan University of Science and Technology, Huangshi 435000, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism by which long non-coding RNA (lncRNA) potassium voltage-gated channel subfamily Q member 1 overlapping transcript 1 (KCNQ1OT1) affects the proliferation and apoptosis of acute myeloid leukemia (AML) cells through regulating microRNA-1179 (miR-1179)/sex-determining region Y-box protein 12 (SOX12) axis. **Methods** K562 cells were divided into NC group, sh-NC group, sh-KCNQ1OT1 group, miR-NC group, miR-1179 mimics group, sh-

基金项目:湖北省自然科学基金(2022CFB797)

作者单位:435000 湖北黄石,武汉科技大学医学部黄石市中心医院研究生培养基地血液内科(张欣、柯善栋);武汉科技大学医学部医学院(胡微),科教科(刘娟);黄石市中心医院血液内科(陆亚岚、安宏玉)

通信作者:柯善栋,E-mail:keshandong@126.com

KCNQ1OT1 + anti-NC group, sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 group, miR-1179 mimics + pc-NC group and miR-1179 mimics + pc-SOX12 group. Reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) was used to detect monocytetes in both AML and non-AML patients, and the expression levels of KCNQ1OT1, miR-1179 and SOX12 mRNA in AML cells. The targeting relationship between miR-1179 and KCNQ1OT1 and SOX12 was verified. The expression levels of KCNQ1OT1, miR-1179 and SOX12 mRNA, cell proliferation, apoptosis, migration, invasion, CXCL-2 and CXCL-8 levels and the expression levels of SOX12, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), E-cadherin, cleaved caspase-3, N-cadherin and vimentin proteins were detected. **Results** Compared with NC group and sh-NC group, the expression level of miR-1179, apoptosis rate, cleaved caspase-3 and E-cadherin protein expression levels were increased in sh-KCNQ1OT1 group of K562 cells, while the expression levels of KCNQ1OT1 and SOX12 mRNA, cell viability, colony formation rate, scratch healing rate, number of invasive cells, CXCL-2 and CXCL-8 levels, N-cadherin, vimentin, PCNA and SOX12 protein expression levels were decreased; compared with miR-NC group, the expression level of miR-1179, apoptosis rate, cleaved caspase-3 and E-cadherin protein expression were increased in miR-1179 mimics group of K562 cells, while the expression level of SOX12 mRNA, cell viability, colony formation rate, scratch healing rate, number of invasive cells, CXCL-2 and CXCL-8 levels, N-cadherin, PCNA, vimentin and SOX12 protein expression levels were decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Silencing lncRNA KCNQ1OT1 can promote the apoptosis of K562 cells, reduce cell viability, colony formation rate, scratch healing rate and the number of invasive cells, and inhibit cell epithelial-mesenchymal transition and immune escape by up-regulating the expression of miR-1179 and targeting inhibition of SOX12 transcription.

[Key words] Potassium ion voltage-gated channel subfamily Q member 1 overlapping transcript 1; MiR-1179/SOX12 axis; Acute myeloid leukemia; Proliferation; Apoptosis

急性髓系白血病(AML)是源于髓系干/祖细胞的恶性血液肿瘤,其发生与基因突变所致细胞分化阻滞、异常增殖及正常造血抑制密切相关<sup>[1-2]</sup>。当前化疗与干细胞移植为 AML 的主要疗法,但化疗耐药与干细胞移植的适用局限及移植物抗宿主病等风险,严重制约疗效<sup>[3]</sup>。因此,研究 AML 的发病机制并开发新疗法十分必要。相关研究显示,长链非编码 RNA (lncRNA) 在人类恶性肿瘤中存在差异表达,可参与肿瘤发生发展过程<sup>[4]</sup>。敲低钾离子电压门控通道亚家族 Q 成员 1 重叠转录本 1 (KCNQ1OT1) 表达可抑制 AML 细胞增殖,促进细胞凋亡<sup>[5-6]</sup>。lncRNA 发挥生物调控作用主要是调控微小 RNA (miRNA, miR) 表达实现的。研究显示,过表达 miR-1179 可抑制肝细胞癌和骨髓瘤细胞存活、增殖、迁移和侵袭<sup>[7-8]</sup>。SOX12 是一种转录因子,在 AML 患者血浆中高表达,敲低其表达可抑制 AML 细胞增殖,阻滞细胞周期<sup>[9]</sup>。SOX12 高表达可促进 AML 细胞增殖,抑制细胞凋亡<sup>[10]</sup>。Starbase 数据库分析结果显示,miR-1179 与 KCNQ1OT1 和 SOX12 存在结合位点。基于此,本研究探讨 KCNQ1OT1 与 AML 细胞增殖和凋亡的相关性,并就 miR-1179/SOX12 轴探讨其可能的作用机制。

### 材料与方法

1. 材料:收集本院 2022 年 1 月~2024 年 12 月期间收治的 29 例 AML 患者骨髓样本(AML 组)和 29 例非 AML 患者的血清样本(对照组),并提取单个核细胞。本研究已通过我院伦理委员会审核批准(2021-247),所有参与者均知情同意。人骨髓基质细胞 HS-

5、AML 细胞系 K562、U-937、THP-1 和 KG1a 细胞(杭州美森细胞生物科技有限公司,编号:CTCC-009-0022、CTCC-001-0024、CTCC-001-0027、CTCC-001-0044、CTCC-001-0288)。KCNQ1OT1 低表达(sh-KCNQ1OT1)及其阴性对照(sh-NC)、miR-1179 过表达(miR-1179 mimics)及其阴性对照(miR-NC)、miR-1179 低表达(anti-miR-1179)及其阴性对照(anti-NC)、SOX12 过表达(pc-SOX12)及其阴性对照(pc-NC)质粒(上海经科化学科技有限公司);Transwell 小室、RNA、逆转录(RT)-PCR、二喹啉甲酸(BCA)和细胞凋亡试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);vimentin、 $\beta$ -actin、E-cadherin、增殖细胞核抗原(PCNA)、N-cadherin、cleaved caspase-3、SOX12 抗体和二抗 IgG(英国 Abcam 公司);Gentier X3 荧光定量 PCR 仪(西安天隆科技有限公司);PLUS 多功能酶标仪(广州进科驰安科技发展公司)。

### 2. 方法

(1) 细胞处理:人骨髓基质细胞 HS-5、AML 细胞系 K562、U-937、THP-1 和 KG1a 细胞置于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,于 37℃、95% 空气 + 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱培养,以 1:3 的比例进行传代培养,取第三代细胞进行后续实验。

(2) RT-PCR 实验:提取细胞总 RNA,将 RNA 逆转录为 cDNA,采用 RT-PCR 法对 cDNA 扩增。以<sup>2- $\Delta\Delta$ CT</sup>法计算相关基因表达水平。

(3) 双荧光素酶报告实验:首先构建 KCNQ1OT1 基因野生型(WT)和突变型(MUT)重组载体(KCNQ1OT1-WT、KCNQ1OT1-MUT),然后将 miR-1179 mimic 和 miR-NC 分别与上述载体共转染至 K562 细胞系(miR-NC +

KCNQ1OT1-WT 组、miR-1179 mimic + KCNQ1OT1-WT 组、miR-NC + KCNQ1OT1-MUT 组、miR-1179 mimic + KCNQ1OT1-MUT 组);再构建 SOX12 基因的野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 重组载体 (SOX12-WT、SOX12-MUT),然后将 miR-1179 mimic 和 miR-NC 分别与上述载体共转染至 K562 细胞系 (miR-NC + SOX12-WT 组、miR-1179 mimic + SOX12-WT 组、miR-NC + SOX12-MUT 组、miR-1179 mimic + SOX12-MUT 组)。培养 48 h 后,测定各组细胞的荧光素酶活性。

(4)细胞分组:将 K562 细胞分为 9 组,分别为 NC 组、sh-NC 组、sh-KCNQ1OT1 组、miR-NC 组、miR-1179 mimic 组、sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组、sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组、miR-1179 mimic + pc-NC 组及 miR-1179 mimic + pc-SOX12 组。采用脂质体转染试剂 Lipofectamine2000 将 sh-NC、sh-KCNQ1OT1、miR-NC、miR-1179 mimic、anti-NC、anti-miR-1179、pc-NC、pc-SOX12 分别转染至各组细胞。转染 48 h 后,通过 qRT-PCR 检测 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 信使 RNA (mRNA) 表达水平,以确认转染效率。

(5)细胞增殖检测:将各组细胞以  $2 \times 10^2$  个/孔的密度接种于 96 孔板培养 14 d,培养期间每 3 d 更换一次新鲜培养基,培养结束后,用 4% 多聚甲醛固定,再用结晶紫染色,拍照记录细胞克隆的形态并进行计数。克隆形成率 (%) = 克隆数/接种细胞数  $\times 100\%$ 。

(6)CCK-8 实验:将各组细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔的密度接种于 96 孔板,分别在培养 48 h 后,每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂,37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h,酶标仪在 450 nm 波长处测定吸光值 (OD),计算细胞活力。

(7)细胞凋亡检测:收集各组细胞并进行重悬,加入 5  $\mu$ l 的 Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ l 的碘化丙啶 (PI) 染色液,室温避光孵育 15 min,30 min 内用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

(8)细胞迁移和侵袭能力检测:取对数生长期的 K562 细胞,以  $2 \times 10^5$  个/孔的密度接种于 6 孔板。待细胞完全融合后,用无菌枪头垂直划痕,测量 0 h 宽度,更换无血清培养基后继续培养 24 h,再次测量划痕宽度,并计算划痕愈合率。划痕愈合率 (%) = (0 h 宽度 - 24 h 宽度)/0 h 宽度  $\times 100\%$ 。将 Matrigel 基质胶铺于 Transwell 上室,37  $^{\circ}$ C 孵育使其凝固,然后取 100  $\mu$ l 密度为  $5 \times 10^5$  个/ml 的 K562 细胞悬液加入上室,下室加入 600  $\mu$ l 培养基,培养 24 h 后取出,用 4% 多聚甲醛固定,再用 0.1% 结晶紫染色 20 min,倒置显微镜下观察 ( $\times 100$ ),每个小室随机选取 5 个视野计数穿透细胞数,取平均值作为最终结果。

(9)CXCL-2 和 CXCL-8 水平检测:收集细胞上清

液,取 100  $\mu$ l 上清液和标准品加入酶标板,再加入 ELISA 试剂盒中相关反应试剂,反应结束后用酶标仪 450 nm 处测定吸光值,根据标准曲线,计算 CXCL-2 和 CXCL-8 水平。

(10)蛋白表达水平检测:提取细胞总蛋白,采用 BCA 法分析蛋白浓度,然后置于 100  $^{\circ}$ C 水中孵育 5 min,电泳分离蛋白后转至 PVDF 膜,封闭 2 h,添加 cleaved caspase-3、N-cadherin、 $\beta$ -actin、E-cadherin、SOX12、vimentin 和 PCNA 一抗 (1:5 000) 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜,二抗 (1:1 500) 室温孵育 2 h,ECL 溶液显色,曝光处理后以  $\beta$ -actin 为内参分析蛋白条带灰度值。

3. 统计学处理:使用 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-Q 检验。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

1. 不同细胞中 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 表达水平比较:miR-1179 表达水平比较:AML 组 KCNQ1OT1 和 SOX12 mRNA 表达水平均高于对照组,miR-1179 表达水平低于对照组 ( $P < 0.05$ )。AML 细胞系中 (K562、THP-1、U-937 和 KG1a) KCNQ1OT1 和 SOX12 mRNA 表达水平高于 HS-5 细胞,miR-1179 表达水平低于 HS-5 细胞 ( $P < 0.05$ )。选基因表达变化最显著的 K562 细胞为后续研究对象,见表 1 和 2。

表 1 AML 组和对照组中 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 29$ )

组别	KCNQ1OT1	miR-1179	SOX12 mRNA
对照组	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
AML 组	1.92 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	2.14 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

表 2 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 在 AML 细胞系和 HS-5 细胞中表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	KCNQ1OT1	miR-1179	SOX12 mRNA
HS-5	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
U-937	1.81 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.93 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
THP-1	1.94 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.18 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
KG1a	1.75 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.45 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.84 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
K562	2.16 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	2.35 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>

注:与 HS-5 细胞比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

2. miR-1179 与 KCNQ1OT1 和 SOX12 的靶向关系验证:miR-1179 与 KCNQ1OT1 和 SOX12 的结合位点见图 1 (Starbase 网站)。miR-1179 mimic + KCNQ1OT1-WT 组荧光素酶活性 (0.40  $\pm$  0.03) 低于 miR-NC + KCNQ1OT1-WT 组 (1.05  $\pm$  0.06; $P < 0.05$ )。miR-1179

mimic + SOX12-WT 组荧光素酶活性(0.39 ± 0.03) 低于 miR-NC + SOX12-WT 组(1.03 ± 0.05;  $P < 0.05$ )。



图 1 miR-1179 与 KCNQ1OT1 和 SOX12 的结合位点

3. 各组 K562 细胞中 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 表达水平比较: sh-KCNQ1OT1 组 K562 细胞 KCNQ1OT1 和 SOX12 mRNA 表达水平低于 NC 组和 sh-NC 组, miR-1179 表达水平高于 NC 组和 sh-NC 组; miR-1179 mimics 组 K562 细胞 miR-1179 表达水平高于 miR-NC 组, SOX12 mRNA 表达水平低于 miR-NC; sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组 miR-1179 表达水平低于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组, SOX12 mRNA 表达水平高于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组( $P < 0.05$ ); miR-1179 mimics + pc-SOX12 组 SOX12 mRNA 表达水平高于 miR-1179 mimics + pc-NC 组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 各组 K562 细胞中 KCNQ1OT1、miR-1179 和 SOX12 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	KCNQ1OT1	miR-1179	SOX12 mRNA
NC 组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
sh-NC 组	1.01 ± 0.03	1.03 ± 0.03	1.02 ± 0.04
sh-KCNQ1OT1 组	0.34 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.91 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.37 ± 0.03 <sup>ab</sup>
miR-NC 组	1.02 ± 0.05	1.01 ± 0.03	1.03 ± 0.04
miR-1179 mimics 组	1.03 ± 0.03	1.93 ± 0.08 <sup>c</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>c</sup>
sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组	0.33 ± 0.03	1.90 ± 0.07	0.30 ± 0.04
sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组	0.35 ± 0.03	1.38 ± 0.06 <sup>d</sup>	0.67 ± 0.05 <sup>d</sup>
miR-1179 mimics + pc-NC 组	1.02 ± 0.04	1.95 ± 0.08	0.32 ± 0.03
miR-1179 mimics + pc-SOX12 组	1.03 ± 0.03	1.97 ± 0.09	0.71 ± 0.05 <sup>e</sup>

注:与 NC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-NC 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-NC 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-1179 mimics + pc-NC 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

4. 各组 K562 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力比较: sh-KCNQ1OT1 组 K562 细胞凋亡率高于 NC 组和 sh-NC 组, 细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率和侵袭细胞数量低于 NC 组和 sh-NC 组; miR-1179 mimics 组 K562 细胞凋亡率高于 miR-NC 组, 细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率和侵袭细胞数量低于 miR-NC 组; sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组 K562 细胞凋亡率低于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组, 细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率和侵袭细胞数量高于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组; miR-1179 mimics + pc-SOX12 组 K562 细胞凋亡率低于 miR-1179 mimics + pc-NC 组, 细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率和侵袭细胞数量高于 miR-1179 mimics + pc-NC 组( $P < 0.05$ ); 见表 4。

5. 各组 K562 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平比较: sh-KCNQ1OT1 组 K562 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平低于 NC 组和 sh-NC 组; miR-1179 mimics 组 CXCL-2 和 CXCL-8 水平低于 miR-NC 组; sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组 CXCL-2 和 CXCL-8 水平高于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组; miR-1179 mimics + pc-SOX12 组 CXCL-2 和 CXCL-8 水平高于 miR-1179 mimics + pc-NC 组( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 各组 K562 细胞 CXCL-2 和 CXCL-8 水平比较 (pg/ml,  $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	CXCL-2	CXCL-8
NC 组	159.48 ± 14.62	108.53 ± 11.97
sh-NC 组	157.23 ± 17.19	106.47 ± 12.56
sh-KCNQ1OT1 组	64.71 ± 7.28 <sup>ab</sup>	45.65 ± 5.31 <sup>ab</sup>
miR-NC 组	158.46 ± 18.57	111.80 ± 12.74
miR-1179 mimics 组	61.82 ± 9.34 <sup>c</sup>	43.21 ± 5.83 <sup>c</sup>
sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组	65.39 ± 8.76	46.76 ± 5.49
sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组	118.57 ± 13.42 <sup>d</sup>	81.24 ± 9.35 <sup>d</sup>
miR-1179 mimics + pc-NC 组	60.94 ± 8.25	42.36 ± 5.18
miR-1179 mimics + pc-SOX12 组	121.65 ± 13.81 <sup>e</sup>	83.92 ± 8.61 <sup>e</sup>

注:与 NC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-NC 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-NC 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-1179 mimics + pc-NC 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

表 4 各组 K562 细胞中增殖、凋亡、迁移和侵袭能力比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	凋亡率(%)	细胞活力(%)	克隆形成率(%)	划痕愈合率(%)	侵袭细胞数量(个)
NC 组	2.87 ± 0.41	100.00 ± 0.00	83.52 ± 6.94	79.64 ± 6.48	217.43 ± 25.82
sh-NC 组	2.94 ± 0.43	98.53 ± 3.43	84.31 ± 7.26	80.38 ± 6.72	224.56 ± 27.93
sh-KCNQ1OT1 组	39.68 ± 4.51 <sup>ab</sup>	41.76 ± 4.82 <sup>ab</sup>	42.65 ± 3.82 <sup>ab</sup>	37.56 ± 4.29 <sup>ab</sup>	89.74 ± 12.56 <sup>ab</sup>
miR-NC 组	3.02 ± 0.47	97.48 ± 3.96	83.96 ± 7.41	80.24 ± 7.51	221.86 ± 27.43
miR-1179 mimics 组	38.95 ± 4.36 <sup>c</sup>	40.64 ± 4.27 <sup>c</sup>	40.87 ± 3.65 <sup>c</sup>	36.82 ± 3.94 <sup>c</sup>	83.62 ± 11.71 <sup>c</sup>
sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组	40.26 ± 4.18	42.67 ± 3.81	43.28 ± 4.07	37.91 ± 4.18	92.37 ± 12.68
sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组	22.57 ± 2.64 <sup>d</sup>	71.85 ± 5.63 <sup>d</sup>	62.74 ± 5.83 <sup>d</sup>	60.38 ± 5.74 <sup>d</sup>	174.53 ± 21.34 <sup>d</sup>
miR-1179 mimics + pc-NC 组	39.31 ± 4.72	42.38 ± 4.01	41.56 ± 3.74	35.79 ± 4.63	82.91 ± 12.48
miR-1179 mimics + pc-SOX12 组	21.84 ± 2.59 <sup>e</sup>	73.29 ± 6.18 <sup>e</sup>	65.13 ± 5.98 <sup>e</sup>	62.47 ± 6.05 <sup>e</sup>	180.15 ± 23.37 <sup>e</sup>

注:与 NC 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-NC 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-NC 组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-1179 mimics + pc-NC 组比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$

表 6 各组 K562 细胞相关蛋白表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	cleaved caspase-3	E-cadherin	N-cadherin	vimentin	PCNA	SOX12
NC 组	0.14 ± 0.03	0.25 ± 0.04	1.16 ± 0.14	0.95 ± 0.12	1.37 ± 0.16	0.77 ± 0.10
sh-NC 组	0.15 ± 0.03	0.26 ± 0.04	1.14 ± 0.13	0.97 ± 0.13	1.39 ± 0.18	0.79 ± 0.10
sh-KCNQ1OT1 组	0.73 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.83 ± 0.11 <sup>ab</sup>	0.38 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.30 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.52 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>ab</sup>
miR-NC 组	0.16 ± 0.03	0.27 ± 0.04	1.17 ± 0.15	0.96 ± 0.13	1.38 ± 0.17	0.80 ± 0.11
miR-1179 mimics 组	0.76 ± 0.10 <sup>c</sup>	0.85 ± 0.11 <sup>c</sup>	0.36 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.28 ± 0.04 <sup>c</sup>	0.49 ± 0.07 <sup>c</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>c</sup>
sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组	0.74 ± 0.09	0.82 ± 0.11	0.39 ± 0.06	0.29 ± 0.04	0.53 ± 0.07	0.20 ± 0.03
sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组	0.42 ± 0.06 <sup>d</sup>	0.47 ± 0.07 <sup>d</sup>	0.88 ± 0.12 <sup>d</sup>	0.70 ± 0.09 <sup>d</sup>	1.08 ± 0.13 <sup>d</sup>	0.54 ± 0.07 <sup>d</sup>
miR-1179 mimics + pc-NC 组	0.78 ± 0.10	0.86 ± 0.12	0.35 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.48 ± 0.07	0.20 ± 0.04
miR-1179 mimics + pc-SOX12 组	0.40 ± 0.06 <sup>e</sup>	0.45 ± 0.06 <sup>e</sup>	0.91 ± 0.12 <sup>e</sup>	0.73 ± 0.09 <sup>e</sup>	1.12 ± 0.14 <sup>e</sup>	0.58 ± 0.07 <sup>e</sup>

注:与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-NC 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-NC 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与 miR-1179 mimics + pc-NC 组比较,<sup>e</sup> $P < 0.05$

6. 各组 K562 细胞相关蛋白表达水平比较: sh-KCNQ1OT1 组 K562 细胞 cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平高于 NC 组和 sh-NC 组, N-cadherin、vimentin、PCNA 和 SOX12 蛋白表达水平低于 NC 组和 sh-NC 组; miR-1179 mimics 组 K562 细胞 cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平高于 miR-NC 组, N-cadherin、vimentin、PCNA 和 SOX12 蛋白表达水平低于 miR-NC 组; sh-KCNQ1OT1 + anti-miR-1179 组 K562 细胞 cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平低于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组, N-cadherin、vimentin、PCNA 和 SOX12 蛋白表达水平高于 sh-KCNQ1OT1 + anti-NC 组; miR-1179 mimics + pc-SOX12 组 K562 细胞 cleaved caspase-3 和 E-cadherin 蛋白表达水平低于 miR-1179 mimics + pc-NC 组, N-cadherin、vimentin、PCNA 和 SOX12 蛋白表达水平高于 miR-1179 mimics + pc-NC 组( $P < 0.05$ )。见表 6。

## 讨 论

AML 是一种高度异质性和血液系统的恶性肿瘤, 其特点是未分化的骨髓祖细胞在外周血和骨髓中积累<sup>[11]</sup>。干细胞移植和化疗仍然是 AML 的当前主要治疗方法, 但对于处于晚期且有复发和转移的患者, 治疗效果不令人满意<sup>[12]</sup>。因此, 探讨 AML 发生发展的分子机制, 寻找新型治疗靶点具有重要临床价值<sup>[13]</sup>。

本研究发现 AML 患者单个核细胞及 AML 细胞系中, KCNQ1OT1 和 SOX12 mRNA 表达水平显著升高, 而 miR-1179 表达水平显著降低, 且 K562 细胞中基因表达变化最为显著, 故选择 K562 细胞进行后续机制探讨。沉默 KCNQ1OT1 表达后, K562 细胞凋亡率显著升高, 细胞活力、克隆形成率、划痕愈合率及侵袭细

胞数量明显降低, 同时 CXCL-2、CXCL-8 趋化因子水平下调, cleaved caspase-3、E-cadherin 蛋白表达上调, N-cadherin、vimentin、PCNA 蛋白表达下调。表明沉默 KCNQ1OT1 可直接抑制 K562 细胞的恶性生物学行为。韦庆成等<sup>[14]</sup>研究发现敲低 KCNQ1OT1 可抑制 AML 细胞增殖、迁移并促进凋亡, Sun 等<sup>[15]</sup>证实敲低 KCNQ1OT1 能降低 AML 细胞化疗耐药性, 本实验结果与上述文献结论一致, 进一步验证了 KCNQ1OT1 在 AML 中的促癌作用。

lncRNA 通过对靶基因 miRNA 的表达水平或功能进行调控, 参与癌症发生发展过程<sup>[4]</sup>。STARBASE 数据库分析显示, miR-1179 与 KCNQ1OT1 存在结合位点, miR-1179 可能是 KCNQ1OT1 下游靶基因。本研究中, AML 患者和 AML 细胞 miR-1179 表达水平明显降低。上调 miR-1179 表达可抑制 K562 细胞增殖、迁移和侵袭, 促进细胞凋亡。荧光素酶活性实验发现 miR-1179 与 KCNQ1OT1 可能存在靶向调控关系。本研究设置回复实验, 在沉默 KCNQ1OT1 表达的同时下调 miR-1179 表达, 结果发现, 下调 miR-1179 表达可降低沉默 KCNQ1OT1 表达对 K562 细胞恶性生物学行为的抑制作用。提示 KCNQ1OT1 可能通过吸附 miR-1179 来发挥促癌作用。Zhang 等<sup>[16]</sup>研究显示 miR-1179 在胰腺癌中低表达, 其表达升高时可抑制细胞恶性生物学行为。Ji 等<sup>[17]</sup>研究显示下调 miR-1179 表达可促进胃癌细胞恶性生物学行为。本研究中 miR-1179 在 AML 中的抑癌功能与上述研究相符, 进一步证实了 miR-1179 在恶性肿瘤中的作用机制。

为了明确 miR-1179 的下游靶基因, 本研究通过 Starbase 数据库分析结果发现, miR-1179 与 SOX12 存在结合位点, SOX12 可能是 miR-1179 下游靶基因。

SOX12 是 SOX 转录因子家族成员,能够维持许多组织特异性干细胞自我更新和增殖能力,在肿瘤的增殖和转移过程中发挥重要调控作用<sup>[9]</sup>。本研究中,SOX12 在 AML 患者和 AML 细胞系表达水平明显升高,与文献报道一致。沉默 KCNQ1OT1 表达或上调 miR-1179 表达时,SOX12 表达水平降低。荧光素酶活性实验证实 miR-1179 和 SOX12 可能存在靶向调控关系。回复实验结果表明,在上调 miR-1179 表达的同时过表达 SOX12,结果显示过表达 SOX12 可减弱上调 miR-1179 表达对 K562 细胞的抑制作用。提示 miR-1179 可能通过调控 SOX12 表达来抑制 K562 细胞恶性生物学行为。Li 等<sup>[18]</sup>研究显示过表达 SOX12 可促进 AML 细胞生长。Dabiri 等<sup>[19]</sup>研究显示敲低 SOX12 表达可抑制 AML 细胞增殖,诱导细胞凋亡。本实验结果与上述研究一致,明确了 SOX12 在 AML 中的促癌功能。

本研究进一步分析了该调控轴的潜在临床价值,KCNQ1OT1 在 AML 患者中高表达、miR-1179 低表达,推测 KCNQ1OT1 和 miR-1179 可作为 AML 的潜在诊断标志物,且 KCNQ1OT1 高表达可能提示患者预后不良,可作为评估 AML 患者预后的分子指标;化疗耐药是 AML 治疗失败的主要原因,相关研究表明 lncRNA-miRNA-mRNA 轴参与肿瘤化疗耐药机制<sup>[20]</sup>,本研究中 KCNQ1OT1/miR-1179/SOX12 轴可调控 AML 细胞的恶性生物学行为,推测该轴可能参与 AML 细胞化疗耐药形成,为逆转 AML 化疗耐药提供新的干预靶点。

综上所述,沉默 KCNQ1OT1 表达可能通过调控 miR-1179/SOX12 轴抑制 AML 细胞恶性生物学行为。局限性:未开展体内动物实验,无法验证该调控轴在活体环境中的作用及安全性;后续将构建 AML 动物模型,开展体内实验验证该轴的抑癌效果及生物安全性。

## 参 考 文 献

- [1] Xu Y, Wang Y. lncRNA TMEM147-AS1 promotes acute myeloid leukemia development by regulating miR-873-3p/ZFX axis [J]. J Mol Histol, 2025, 56(5): 334-342.
- [2] Liu S, Zhan W, He X, et al. ATPR induces acute promyelocytic leukemia cells differentiation and cycle arrest via the lncRNA CONCR/DDX11/Pml-RAR $\alpha$  signaling axis [J]. Gene, 2024, 917(2): 148443-148454.
- [3] Jiang Z, Liu T, Wang Y, et al. Effect of lncRNA XIST on acute myeloid leukemia cells via miR-142-5p-PFKP axis [J]. Hematology, 2024, 29(1): 2306444-2306153.
- [4] Liu Y, Zhu XY, Liao LL, et al. Silencing LINC00987 ameliorates adriamycin resistance of acute myeloid leukemia via miR-4458/HMGA2 axis [J]. BiolDirect, 2024, 19(1): 49-58.
- [5] Tang D, Luo Y, Jiang Y, et al. lncRNA KCNQ1OT1 activated by c-Myc promotes cell proliferation via interacting with FUS to stabilize MAP3K1 in acute promyelocytic leukemia [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(9): 795-806.
- [6] Cheng P, Lu P, Guan J, et al. lncRNA KCNQ1OT1 controls cell proliferation, differentiation and apoptosis by sponging miR-326 to regulate c-Myc expression in acute myeloid leukemia [J]. Neoplasia, 2020, 67(2): 238-248.
- [7] Wang D, Song X, Zhang N, et al. MiR-1179 represses cell proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma through suppression of NUA2 [J]. Am J Transl Res, 2022, 14(1): 223-239.
- [8] Liu X, Qin L, Li W, et al. MicroRNA-1179 targets Epiregulin (EREG) regulates the proliferation and metastasis of human multiple myeloma cells [J]. Acta Biochim Pol, 2023, 70(2): 389-393.
- [9] Wang Y, Guo X, Wang L, et al. miR-342-3p Inhibits Acute Myeloid Leukemia Progression by Targeting SOX12 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022(1): 1275141-1275153.
- [10] Shang Z, Ming X, Wu J, et al. Downregulation of circ\_0012152 inhibits proliferation and induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells through the miR-625-5p/SOX12 axis [J]. Hematol Oncol, 2021, 39(4): 539-548.
- [11] 安晋婷, 赵晨曦, 胡文雅, 等. 美国东部肿瘤协作组体力状况评分与造血干细胞移植合并症指数评分对老年急性髓系白血病患者化疗耐受性的动态评估价值比较 [J]. 临床内科杂志, 2025, 42(9): 772-774.
- [12] Vadakekolathu J, Rutella S. Escape from T-cell-targeting immunotherapies in acute myeloid leukemia [J]. Blood, 2024, 143(26): 2689-2700.
- [13] Zhou H, Qin D, Xie C, et al. Combinations of HDAC Inhibitor and PPAR Agonist Induce Ferroptosis of Leukemic Stem Cell-like Cells in Acute Myeloid Leukemia [J]. Clin Cancer Res, 2024, 30(23): 5430-5444.
- [14] 韦庆成, 罗培春, 李慧珍, 等. lncRNA KCNQ1OT1 靶向 miR-324-5p 对急性髓系白血病细胞恶性生物学行为的影响 [J]. 河北医学, 2025, 31(3): 353-362.
- [15] Sun H, Sun Y, Chen Q, et al. lncRNA KCNQ1OT1 contributes to the progression and chemoresistance in acute myeloid leukemia by modulating Tspan3 through suppressing miR-193a-3p [J]. Life Sci, 2020, 241(3): 117161-117173.
- [16] Zhang J, Li J, Xiong Y, et al. Circ\_0000284 upregulates RHPN2 to facilitate pancreatic cancer proliferation, metastasis, and angiogenesis through sponging miR-1179 [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2023, 37(3): e23274-e23283.
- [17] Ji Z, Diao W, Shang J. Circular RNA circ\_0000592 elevates ANXA4 expression via sponging miR-1179 to facilitate tumor progression in gastric cancer [J]. Anticancer Drugs, 2022, 33(1): e644-e654.
- [18] Li C, Gao Q, Wang M, et al. lncRNA SNHG1 contributes to the regulation of acute myeloid leukemia cell growth by modulating miR-489-3p/SOX12/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J]. J Cell Physiol, 2021, 236(1): 653-663.
- [19] Dabiri A, Sharifi M, Sarmadi A. Knockdown of SOX12 Expression Induced Apoptotic Factors is Associated with TWIST1 and CTNBN1 Expression in Human Acute Myeloid Leukemia Cells [J]. Int J Mol Cell Med, 2021, 10(4): 249-258.
- [20] Khalafizadeh A, Hashemizadegan SD, Shokri F, et al. Competitive endogenous RNA networks; Decoding the role of long non-coding RNAs and circular RNAs in colorectal cancer chemoresistance [J]. J Cell Mol Med, 2024, 28(7): e18197-e18209.

(收稿日期:2025-08-04)

(本文编辑:余晓曼)