文章编号:1000-5404(2014)22-2267-05

论著

胞质NPM1突变蛋白与AKT的相互作用及其对急性髓系白血病细胞增殖的调控

全 静,张帅帅,鲜敬荣,王 娟,陈莎娜,张 伶 (400016 重庆,重庆医科大学检验医学院,临床检验诊断学教育部重点实验室,重庆市重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨细胞质中核仁磷酸蛋白A型突变体(NPM1 mutant A,NPM1 mA)与AKT的相互作用,观察NPM1 mA联合AKT对白血病细胞增殖的影响。**方法** 免疫共沉淀实验观察胞质蛋白NPM1 mA与AKT的相互作用。通过RNA干扰技术抑制NPM1突变阳性的OCI/AML3白血病细胞株中NPM1突变蛋白的表达。不同浓度AKT抑制剂(AKT INHIBITOR Ⅳ,AKT Ⅳ)处理白血病细胞抑制磷酸化AKT蛋白表达。CCK-8法检测细胞体外增殖能力。**结果** 胞质NPM1 mA能够与内源性的AKT蛋白相互结合。干扰NPM1后,OCI/AML3细胞中NPM1 mA和野生NPM1蛋白表达明显下降($P<0.05$),白血病细胞的体外增殖能力亦明显降低($P<0.05$)。AKT Ⅳ处理后,白血病细胞体外增殖较未处理细胞显著下降($P<0.05$)。若NPM1沉默合并AKT Ⅳ处理,则OCI/AML3细胞干扰组体外增殖明显降低($P<0.05$)。**结论** 在NPM1突变的白血病细胞中,胞质NPM1 mA能够与AKT相互结合,并参与调控白血病细胞的增殖。

[关键词] 白血病;核仁磷酸蛋白;AKT;增殖
[中图法分类号] R394.3;R730.23;R733.71 [文献标志码] A

Cytoplasmic mutated NPM1 interacts with AKT and regulates proliferation in acute myeloid leukemia cells

Quan Jing, Zhang Shuaishuai, Xian Jingrong, Wang Juan, Chen Shana, Zhang Ling (College of Laboratory Medicine, Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To observe the interaction between nucleophosmin mutant A (NPM1 mA) and AKT in the cytoplasm, and to investigate the effect of NPM1 mA and AKT on the proliferation of acute myeloid leukemia (AML) cells. **Methods** Co-immunoprecipitation assay was used to explore the interaction between NPM1 mA and AKT. The expression of NPM1 and NPM1 mA in OCI/AML3 cells was knocked down by RNA interference. The expression of p-AKT was suppressed by AKT inhibitor Ⅳ (AKT Ⅳ). Cell proliferation capability was determined by CCK-8 assay. **Results** NPM1 mA interacted with AKT in OCI/AML3 cells. Transfection with the targeting plasmids significantly down-regulated the expression of NPM1 mA and NPM1 proteins in OCI/AML3 cells ($P<0.05$). The cell proliferation capability was significantly suppressed in the leukemia cells with NPM1 interference ($P<0.05$). After treated with AKT Ⅳ, the cell growth was significantly inhibited ($P<0.05$). Combination of knocking-down NPM1 and treating with AKT IV significantly inhibited the cell growth of the OCI/AML3 cells with NPM1 interference ($P<0.05$). **Conclusion** Cytoplasmic NPM1 mA interacts with AKT and regulates the proliferation of AML cells.

[**Key words**] leukemia; nucleophosmin; AKT; proliferation

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81271913) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSCT2013jcyjA10035). Corresponding author: Zhang Ling, E-mail: lingzhang@cqmu.edu.cn

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)是一种高度异质性疾病,其发病机制往往涉及多种形式的染色体改变,然而,大约45%的白血病患者初诊时不能检出染色体改变,因此寻找特异性的基因异常具有重要意义。核仁磷酸蛋白(nucleophosmin,NPM1)突变是目前髓系白血病最常见的基因突变[1]。迄今为

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271913);重庆市科委自然科学基金(CSTC2013jcyjA10035)
[通信作者] 张 伶, E-mail:lingzhang@cqmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140930.1158.012.html(2014-09-30)

止发现白血病细胞中存在50余种NPM1突变类型,其中NPM1 A型突变体(NPM1 mutant A,NPM1 mA)占75%~80%[2]。NPM1基因突变使其C末端序列获得了额外的核输出信号,导致核内的NPM1蛋白移位成为胞质NPM1蛋白(cytoplasmic NPM,NPMc+)[3]。近年来NPMc+AML作为一种独特的白血病亚群被纳入白血病新的WHO分型指南中[4]。已知野生型NPM1蛋白参与核糖体合成,调节基因稳定性,并具有分子伴侣作用。目前研究表明,NPM1突变后可携带胞核内pl9ARF[5-6]、Fbw7 gamma[7]、NF- kappa B[8]等分子发生胞质移位,参与调控白血病细胞的恶性增殖和抵抗凋亡。然而,NPMc+对胞质蛋白的影响尚待阐明。AKT是PI3K/AKT通路中的主要效应分子。PI3K在生长因子、癌蛋白等刺激下激活并合成特异PI(3,4)P_2和PI(3,4,5)P_3,后两者部分激活AKT使之从胞质转位到胞膜,进而AKT被完全活化,活化的Akt则从细胞膜上释放下来继续细胞质与细胞核内生物信号的传递[9]。临床研究发现有一半的AML初诊患者白血病细胞中存在AKT组成性激活[10]。本研究探讨携带NPM1突变的白血病细胞系中是否存在NPM1 mA与AKT蛋白的相互作用,观察下调NPM1 mA表达和抑制AKT磷酸化活性对白血病细胞体外增殖的影响,以期阐明胞质NPM1突变蛋白在白血病发生、发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 质粒与细胞系

携NPM1基因的慢病毒干扰载体Hs-shRNA-NPM1(5′-AGCAAGGTTCCACAGAAAA-3′)、空载pGIPZ、辅助载体pEnvelopep和pHelper购自美国Addgene公司。人急性髓系白血病细胞株OCI/AML3(AML M4)由美国安德森癌症研究中心惠赠。人急性髓系白血病细胞株HL60(AML M2)、KG1a(AML M0)、U937(AML M5)、THP-1(AML M5),人慢性粒细胞白血病细胞株K562和人胚肾HEK293T细胞株均购于中国科学院上海细胞库。

1.2 试剂

胎牛血清(上海普飞生物技术有限公司),RPMI1640、DMEM培养基(Gibco公司),Lipofectamine™2000转染试剂(Invitrogen公司),Cell Counting Kit(CCK-8)试剂盒(Dojindo公司),兔抗人NPM1 mA单克隆抗体(Abcam公司),小鼠抗人NPM1单克隆抗体、兔抗人Bax单克隆抗体、兔抗人Bcl-2单克隆抗体、Protein A/G PLUS-Agarose(Santa Cruz公司),兔抗人T-AKT、兔抗人pAKT(S473)及兔抗人pAKT(T308)单克隆抗体(Cell Signal Technology公司),小鼠抗人β-actin单克隆抗体、山羊抗兔IgG、山羊抗鼠IgG(北京中杉金桥公司),AKT抑制剂(AKT INHIBITOR Ⅳ、AKT Ⅳ;Calbiochem公司),细胞核蛋白与浆蛋白抽提试剂盒、小鼠IgG、兔IgG(碧云天公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 白血病细胞采用含10% 胎牛血清的RPMI1640培养基、HEK293T细胞采用含10% 胎牛血清的DMEM培养基,5% CO_2、37 ℃恒温培养箱中培养,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3.2 细胞转染 转染前1 d,将处于对数生长期的293T细胞接种于10 cm盘中,实验分3组:空白组(不转染)、空载组(pGIPZ)、实验组(sh-NPM1),参照Lipofectamine™2000转染说明书分别将pGIPZ、Hs-shRNA-NPM1转染入细胞,6 h后更换为含有10%胎牛血清的DMEM培养基继续培养。于24、48 h收集上清液,经0.45 μm滤器过滤收获病毒液,病毒液冻存于-80 ℃冰箱中备用。将OCI/AML3和HL60细胞接种于6孔板,加入制备的病毒液,同时加入终浓度为8 mg/mL的聚凝胺,扩大培养进行后续实验。

1.3.3 Western blot检测 收集各组白血病细胞,提取总蛋白,蛋白定量后取60 μg蛋白提取液进行SDS-PAGE电泳,然后将蛋白转移到PVDF膜上,5%脱脂奶粉37 ℃封闭2 h后加一抗(1∶1 000稀释)4 ℃孵育过夜,洗膜,加二抗(1∶1 000稀释)室温孵育1 h,洗涤后用化学发光试剂显色。实验设β-actin为胞浆内参,设H2A.X为核内参,结果采用Quantity One软件进行分析。

1.3.4 免疫共沉淀(Co-IP) 收集OCI/AML3细胞,设立IgG对照组和实验组。首先按细胞核蛋白与浆蛋白抽提试剂盒说明书提取细胞浆蛋白,蛋白定量后取1 mg胞浆蛋白裂解液用E1A试剂[250 mmol/L NaCl,50 mmol/L HEPES(pH 7.5),0.1% NP-40,5 mmol/L EDTA]定至1 mL体积,加入1 μg一抗(NPM1 mA或AKT抗体)或等量同源IgG抗体,4 ℃旋转孵育过夜。再加入50 μL Protein A/G PLUS-Agarose,4 ℃旋转孵育4 h,3 000×g离心2 min后弃上清。用E1A试剂彻底清洗磁珠,3 000×g离心2 min去除上清收集磁珠。30 μL 2× loading buffer重悬,95 ℃煮沸5 min,13 000×g离心2 min取上清进行蛋白电泳。

1.3.5 CCK-8法 将OCI/AML3细胞和HL60细胞分为4组:空载组(pGIPZ)、干扰组(sh-NPM1)、空载+抑制剂组(pGIPZ+Ⅳ)、干扰+抑制剂组(sh-NPM1+Ⅳ)。收集各组白血病细胞,分别以不同浓度AKT Ⅳ(0、1、2、3、4、5 μmol/L)处理白血病细胞。以5 000/孔细胞数接种于96孔细胞培养板中,每组设5个复孔,5% CO_2、37 ℃孵育,培养第0、24、48、72 h加10 μL CCK-8溶液,继续培养1 h,酶标仪检测450 nm波长处各孔的光密度值[D(450)]。

1.4 统计学分析

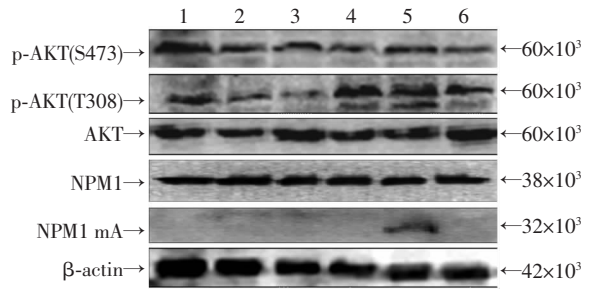
计量数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 16.0统计软件行单因素方差分析。

2 结果

2.1 白血病细胞株中NPM1及AKT蛋白的表达水平

Western blot检测显示,6株白血病细胞皆有野生NPM1蛋白表达;白血病细胞表达总AKT、pAKT(S473)和pAKT(T308)。6株细胞中仅有OCI/AML3细胞检测到NPM1 mA突

变蛋白的表达(图 1)。

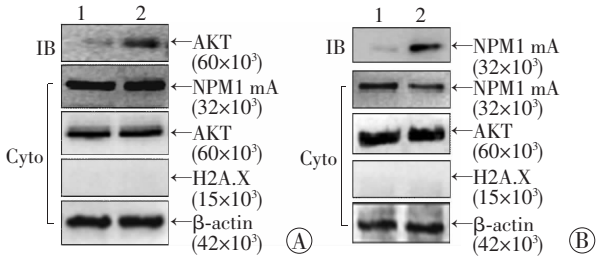


1:HL60;2:KG1a;3:U937;4:THP-1;5:OCI/AML3;6:K562

图 1 不同白血病细胞株中 NPM1 及 AKT 蛋白的表达水平

2.2 白血病细胞中 NPM1 mA 与 AKT 蛋白的相互作用

收集 OCI/AML3 细胞提取胞质蛋白,采用免疫共沉淀方法(Co-IP)检测胞内 NPM1 mA 和内源性 AKT 蛋白的相互结合。首先,利用抗 NPM1 mA 的单克隆抗体免疫沉淀含 NPM1 mA 的蛋白复合物,Western blot 检测显示,通过免疫沉淀获得的蛋白复合物中可检出 AKT 蛋白,而 IgG 对照组未检出 AKT 蛋白条带(图 2A)。其次,利用抗 AKT 的单克隆抗体进行反向免疫共沉淀,发现蛋白复合物中含有 NPM1 mA 蛋白,而 IgG 对照组未检出 NPM1 mA 蛋白条带(图 2B)。提示,在携带 NPM 突变的 OCI/AML3 白血病细胞中存在 NPM1 mA 与内源性 AKT 蛋白的相互结合。



A:Co-IP 蛋白复合物(抗 NPM1 mA)中的 AKT 蛋白 1:IgG;2:NPM1 mA;B:Co-IP 蛋白复合物(抗 AKT)中的 NPM1 mA 蛋白 1:IgG;2:AKT

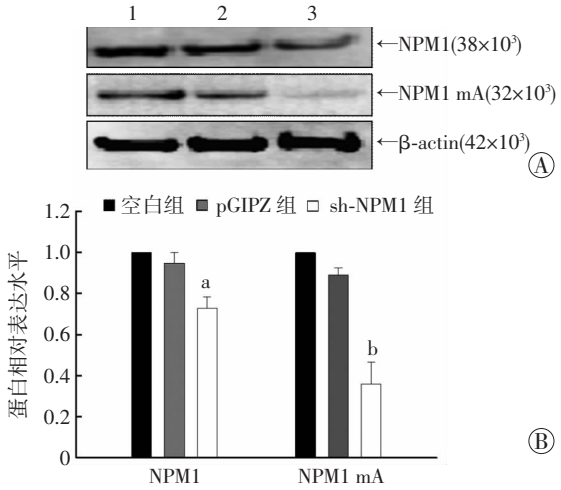
图 2 Western blot 检测白血病细胞内 NPM1 mA 与内源性 AKT 蛋白的相互作用

2.3 干扰 NPM1 对白血病细胞 NPM1 和 NPM1 mA 表达的影响

采用 RNA 干扰技术抑制 NPM1 蛋白表达,Western blot 检测显示,OCI/AML3 细胞中野生 NPM1 蛋白表达水平下降,差异有统计学意义($P<0.05$);而 NPM1 mA 蛋白条带灰度明显减弱,较对照组显著性下降($P<0.01$)。对照组 HL60 细胞(不含突变 NPM1 蛋白)野生 NPM1 蛋白的表达也明显下降($P<0.05$)。见图 3、4。

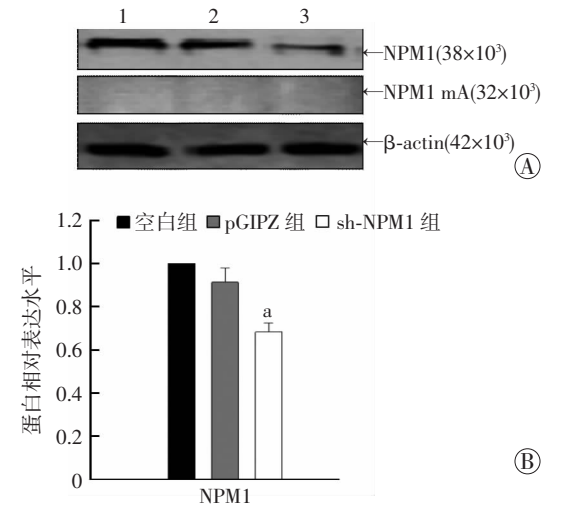
2.4 AKT 抑制剂对白血病细胞 AKT 蛋白磷酸化水平的影响

采用不同浓度 AKT Ⅳ(0、1、2、3、4、5 μmol/L)分别处理白血病细胞 6 h 后观察 AKT 蛋白磷酸化水平的改变发现,与未处理比较,处理组两种白血病细胞的磷酸化 AKT 蛋白表达[p-AKT473(S473) 和 p-AKT(T308)]呈剂量依赖性下降,而总 AKT 的蛋白表达水平没有明显的改变(图 5、6)。



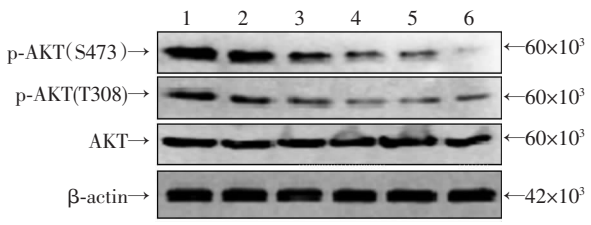
A:Western blot 检测 1:空白组;2:pGIPZ 组;3:sh-NPM1 组;B:半定量分析 a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与 pGIPZ 组比较

图 3 干扰 OCI/AML3 细胞中 NPM1 表达后 NPM1、NPM1 mA 蛋白水平改变



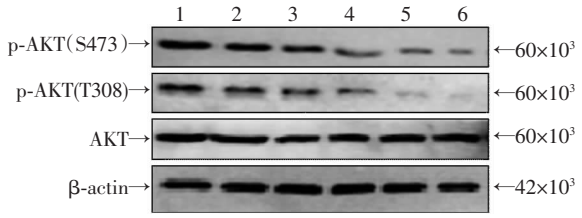
A:Western blot 检测 1:空白组;2:pGIPZ 组;3:sh-NPM1 组;B:半定量分析 a:$P<0.05$,与 pGIPZ 组比较

图 4 干扰 HL60 细胞中 NPM1 表达后 NPM1、NPM1 mA 蛋白水平改变



1~6:分别为 0、1、2、3、4、5 μmol/L AKT Ⅳ

图 5 不同浓度 AKT Ⅳ处理 OCI/AML3 细胞后 AKT 及磷酸化 AKT 的蛋白水平改变

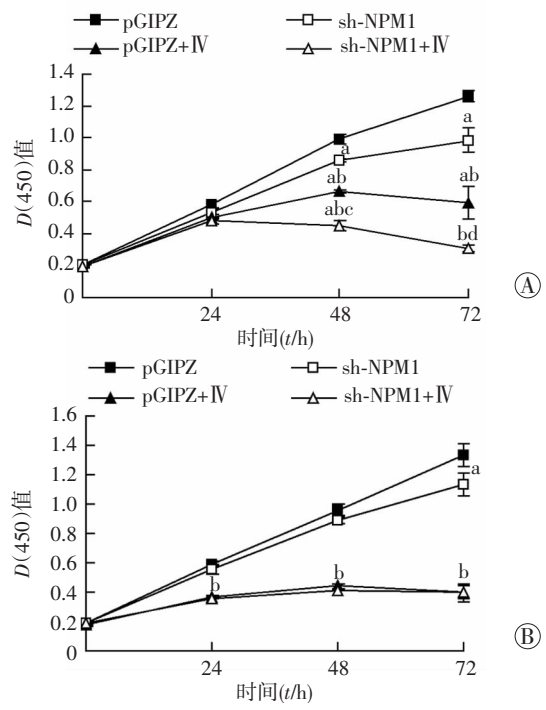


1～6：分别为0、1、2、3、4、5 μmol/L AKT Ⅳ

图6 不同浓度AKT Ⅳ处理HL60细胞后AKT及磷酸化AKT的蛋白水平改变

2.5 干扰NPM1联合AKT Ⅳ对白血病细胞体外增殖的影响

首先，观察干扰NPM1对白血病细胞体外增殖能力的影响发现，与空载组比较，OCI/AML3细胞干扰组体外培养48 h后增殖能力显著下降，而HL60细胞则在体外培养72 h时有显著差异（$P<0.05$）。其次，观察AKT Ⅳ处理对白血病细胞体外增殖能力的影响发现，AKT Ⅳ（2 μmol/L）处理48 h后，OCI/AML3细胞的体外增殖较未处理细胞显著下降，HL60细胞的增殖也较未处理细胞显著下降（$P<0.05$）。最后，观察AKT Ⅳ处理对NPM1干扰组细胞增殖能力的影响发现，经AKT Ⅳ处理48 h时OCI/AML3细胞干扰组的D(450)值显著低于空载组，OCI/AML3细胞干扰组的体外增殖能力显著降低（$P<0.05$）；而HL60细胞干扰组与空载组比较差异无统计学意义（$P>0.05$），见图7。



A：不同时间点OCI/AML3细胞各处理组增殖能力；B：不同时间点HL60细胞各处理组增殖能力 a：$P<0.05$，与pGIPZ组比较；b：$P<0.05$，与sh-NPM1组比较；c：$P<0.01$，d：$P<0.05$，与pGIPZ+Ⅳ组比较

图7 CCK-8法检测干扰NPM1联合AKT Ⅳ对白血病细胞体外增殖的影响

3 讨论

Falini等[11]自2005年首次发现白血病中存在NPM1突变以来，NPM1突变在白血病发生、发展中的作用引起人们极大的关注。目前关于NPM1突变蛋白致病机制的研究主要集中在NPM1突变后携带核蛋白出核，影响核蛋白的稳定性来调控白血病细胞的生物学效应。然而，NPMc+对细胞质中蛋白分子的影响尚不清楚。本研究探讨NPM1 mA与胞质AKT蛋白的相互作用，进一步明确NPM1 mA在调控白血病增殖和凋亡中的可能机制。

OCI/AML3白血病细胞天然携带NPM1 A型突变，并伴有胞质NPM1突变蛋白的表达，可以作为一种可靠的白血病细胞模型用于NPMc+ AML的分子生物学研究[12]。因此，本实验选择OCI/AML3作为研究靶细胞。结果表明，6株髓系白血病细胞中仅有OCI/AML3表达NPM1突变蛋白，同时存在磷酸化AKT蛋白的表达。研究报道，细胞的细胞核中AKT能够借助其PH结构域与野生型NPM1 C末端239～294残基结合，从而提高NPM1蛋白的稳定性，促进细胞生存和细胞周期[13-14]。然而，白血病细胞中NPM1突变蛋白与AKT之间是否也存在相互作用？本研究提取OCI/AML3白血病细胞的胞浆部分进行免疫共沉淀实验，发现白血病细胞中NPM1 mA蛋白能够与内源性AKT蛋白相互作用。研究显示，低血糖、血清刺激、有丝分裂因子IGF-1或PDGF刺激等均可促使AKT迁移至细胞核[15]。活性AKT通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白FOXO、Bad、MDM2、GSK-3、FKHR、Caspase9和p27等，进而调节肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡以及代谢[16]。Sussman[17]报道AKT对肿瘤细胞恶性表型的影响不仅取决于活性AKT的蛋白水平，AKT的亚细胞定位亦发挥重要作用。那么，细胞质累积的NPM1突变蛋白是直接促进AKT蛋白的激活，还是影响AKT蛋白从细胞质进入细胞核的这一过程，值得深入研究。

为了观察NPM1突变蛋白与AKT相互作用对白血病细胞生物学效应的影响，首先采用RNA干扰技术抑制白血病细胞中NPM1蛋白的表达。已知NPM1 mA是在野生型NPM1核苷酸编码序列上第956～959位上插入1个TCTG四核苷酸而形成移码突变，从而导致第288、290（或仅290）位色氨酸残基发生缺失[18]。目前由于缺乏特异性的NPM1 mA干扰载体，大多研究是利用靶向NPM1蛋白的病毒干扰载体来抑制突变型NPM1蛋白的表达。OCI/AML3细胞不仅有

NPM1突变蛋白的表达,同时还有少量野生型NPM1蛋白的表达。为此我们设立仅有野生型NPM1蛋白表达的HL60白血病细胞作为对照组。Balusu等[19]亦是采用HL60作为对照细胞来研究OCI/AML3细胞中的突变型NPM1蛋白,结果表明,慢病毒干扰载体Hs-shRNA-NPM1能够显著抑制OCI/AML3中NPM1 mA的表达水平,对OCI/AML3和HL60细胞株中野生NPM1的蛋白表达也有一定的干扰作用。AKT是介导细胞因子调节造血的中央枢纽,可以通过多种途径影响白血病细胞的增殖与凋亡[7]。AKT Ⅳ是磷酸化AKT的特异性抑制剂,可通过与PI3K下游、AKT上游激酶的ATP结合位点结合来抑制AKT的磷酸化激活。本研究中,AKT Ⅳ能够抑制白血病细胞中AKT磷酸化蛋白水平而不影响总AKT蛋白的表达,同时AKT Ⅳ能够明显抑制白血病细胞的增殖。干扰NPM1后,OCI/AML3细胞的体外增殖能力明显抑制,说明NPM1参与调控白血病细胞的体外增殖,此结果与本课题组以往关于NPM1干扰的研究[20]一致。AKT Ⅳ能够明显抑制NPM1沉默后OCI/AML3细胞的增殖,而对空载组OCI/AML3的抑制作用相对较弱,提示NPM1 mA与AKT的相互作用能够调控白血病细胞的体外增殖能力。

综上所述,白血病细胞NPM1 mA与AKT能够相互结合,并参与调控细胞的增殖。需进一步探讨胞质NPM1突变蛋白与AKT结合的结构域,以及NPM1突变蛋白影响AKT活性的可能机制。深入探讨NPM1突变蛋白与AKT的相互作用,对阐明白血病的发病机制和开拓临床靶向用药新策略具有重要意义。

参考文献:

[1] de-Jonge H J, Huls G, de-Bont ES. Gene expression profiling in acute myeloid leukaemia[J]. Neth J Med, 2011, 69(4): 167-176.

[2] Rau R, Brown P. Nucleophosmin (NPM1) mutations in adult and childhood acute myeloid leukaemia: towards definition of a new leukaemia entity[J]. Hematol Oncol, 2009, 27(4): 171-181.

[3] Federici L, Falini B. Nucleophosmin mutations in acute myeloid leukemia: a tale of protein unfolding and mislocalization[J]. Protein Sci, 2013, 22(5): 545-556.

[4] Vardiman J W, Thiele J, Arber D A, *et al*. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood, 2009, 114(5): 937-951.

[5] Cheng K, Grisendi S, Clohessy J G, *et al*. The leukemia-associated cytoplasmic nucleophosmin mutant is an oncogene with paradoxical functions: Arf inactivation and induction of cellular senescence[J]. Oncogene, 2007, 26(53): 7391-7400.

[6] den-Besten W, Kuo M L, Williams R T, *et al*. Myeloid leukemia-associated nucleophosmin mutants perturb p53-dependent and independent activities of the Arf tumor suppressor protein[J]. Cell Cycle, 2005, 4(11): 1593-1598.

[7] Bonetti P, Davoli T, Sironi C, *et al*. Nucleophosmin and its AML-associated mutant regulate c-Myc turnover through Fbw7 gamma[J]. J Cell Biol, 2008, 182(1): 19-26.

[8] Cilloni D, Messa F, Rosso V, *et al*. Increase sensitivity to chemotherapeutical agents and cytoplasmatic interaction between NPM leukemic mutant and NF-kappaB in AML carrying NPM1 mutations[J]. Leukemia, 2008, 22(6): 1234-1240.

[9] Hanada M, Feng J, Hemmings B A. Structure, regulation and function of PKB/AKT--a major therapeutic target[J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1697(1/2): 3-16.

[10] Park S, Chapuis N, Tamburini J, *et al*. Role of the PI3K/AKT and mTOR signaling pathways in acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2010, 95(5): 819-828.

[11] Falini B, Mecucci C, Tiacci E, *et al*. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype[J]. N Engl J Med, 2005, 352(3): 254-266.

[12] Quentmeier H, Martelli MP, Falini B, *et al*. Cell line OCI/AML3 bears exon-12 NPM gene mutation-A and cytoplasmic expression of nucleophosmin[J]. Leukemia, 2005, 19(10): 1760-1767.

[13] Lee S B, Xuan-Nguyen T L, Choi J W, *et al*. Nuclear Akt interacts with B23/NPM and protects it from proteolytic cleavage, enhancing cell survival[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(43): 16584-16589.

[14] Kwon I S, Lee K H, Choi J W, *et al*. PI(3,4,5)P3 regulates the interaction between Akt and B23 in the nucleus[J]. BMB Rep, 2010, 43(2): 127-132.

[15] Matsuzaki H, Yamamoto T, Kikkawa U. Distinct activation mechanisms of protein kinase B by growth-factor stimulation and heat-shock treatment[J]. Biochemistry, 2004, 43 (14): 4284- 4293.

[16] Manning B D, Cantley L C. AKT/PKB signaling: navigating downstream[J]. Cell, 2007, 129(7): 1261-1274.

[17] Sussman M. "AKT"ing lessons for stem cells: regulation of cardiac myocyte and progenitor cell proliferation[J]. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17(7): 235-240.

[18] Falini B, Bolli N, Liso A, *et al*. Altered nucleophosmin transport in acute myeloid leukaemia with mutated NPM1: molecular basis and clinical implications[J]. Leukemia, 2009, 23(10): 1731-1743.

[19] Balusu R, Fiskus W, Rao R, *et al*. Targeting levels or oligomerization of nucleophosmin 1 induces differentiation and loss of survival of human AML cells with mutant NPM1[J]. Blood, 2011, 118(11): 3096-3106.

[20] Qin F X, Shao H Y, Chen X C, *et al*. Knockdown of NPM1 by RNA interference inhibits cells proliferation and induces apoptosis in leukemic cell line[J]. Int J Med Sci, 2011, 8(4): 287-294.

(**收稿**:2014-06-15;**修回**:2014-06-26)

(编辑 汪勤俭)