DOI:10.16016/j.1000-5404.202104159

hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值在儿童急性 B 淋巴细胞白血病诊断及分型中的价值

付立芳[1,2],何 霞[2],李 佳[2],张 航[1,3],邹 琳[1,4] 400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院临床分子医学中心[1];625000 四川 雅安,雅安市人民医院检验科[2];610000 成都,成都市第三人民医院实验医学科临床检验部[3];200062 上海,上海交通大学附属儿童医院临床研究中心[4]

[摘要] **目的** 探讨 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 在儿童急性 B 淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMNC)中的拷贝数比值及其在儿童 B-ALL 诊断及分型中的临床意义。**方法** 利用 T-A 克隆构建包含 hsa_circ_0001708 反向剪接位点的重组质粒,梯度稀释重组质粒作为标准品建立检测 hsa_circ_0001708 的绝对 RT-qPCR 方法。收集 2016 年 1 月至 2019 年 1 月重庆医科大学附属儿童医院血液科初诊的 159 例 B-ALL 患儿骨髓标本为研究对象。对照组为同期就诊的 17 例非恶性血液病患儿的骨髓标本。采用绝对 RT-qPCR 方法检测 B-ALL 患儿和对照患儿 BMNC 中 hsa_circ_0001708 和 IKZF1 的绝对拷贝数,按患者年龄、性别、外周血白细胞数、分子生物学、遗传学、免疫分型、随访期是否复发及随访期末是否生存等临床特点进行分组。回顾性分析 hsa_circ_0001708 和 IKZF1 的比值在各组中的表达情况及与以上各因素的相关性。**结果** 建立精确定量 hsa_circ_0001708 拷贝数的绝对 RT-qPCR 方法。与非血液肿瘤对照患儿相比,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值在儿童 B-ALL 中升高($P<0.01$),ROC 曲线下面积为 0.793 6。相关性分析结果提示,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值在外周血高白细胞数组、外周血高原始细胞数组、免疫分型 pre-B 组和细胞遗传学预后较差组中升高($P<0.05$)。**结论** hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值对儿童 B-ALL 有潜在诊断价值,且与 B-ALL 患儿的 MIC 分型密切相关。

[关键词] hsa_circ_0001708;急性 B 淋巴细胞白血病;诊断

[中图法分类号] R394.2; R730.43; R733.7 [文献标志码] A

Clinical significance of diagnosis and classification of ratio of hsa_circ_0001708 to IKZF1 for pediatric B-ALL

FU Lifang[1,2], HE Xia[2], LI Jia[2], ZHANG Hang[1,3], ZOU Lin[1,4] [1]Center for Clinical Molecular Medicine, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400014; [2]Department of Clinical Laboratory, Ya'an People's Hospital, Ya'an, Sichuan Province, 625000; [3]Department of Laboratory Medicine, the Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu, Sichuan Province, 610000; [4]Center for Clinical Research, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200062, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the clinical significance of the ratio of hsa_circ_0001708 to IKZF1 in bone marrow mononuclear cells (BMNC) in pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL). **Methods** T-A clone was used to construct the recombinant plasmid containing the back-spliced junction of hsa_circ_0001708, regarding the gradient diluted recombinant plasmid as standard substance to establish the absolute fluorescence quantitative PCR (qPCR) for the detection of hsa_circ_0001708. Bone

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81570142)

[通信作者] 邹 琳,E-mail:zoulin74@126.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

marrow samples from 159 newly diagnosed pediatric B-ALL patients and 17 patients with non-malignant hemotologic diseases in their matched control group admitted in the Children's Hospital of Chongqing Medical University from January 2016 to January 2019. The copy number of hsa_circ-0001708 and IKZF1 in BMNC of B-ALL children were determined by absolute fluorescence qPCR. The patients were divided into different groups according to their age, gender, peripheral blood leukocyte count, molecular biology, genetics, immune classification, and whether relapse and survive during the follow-up period. The ratio of hsa_circ_0001708 to IKZF1 in different groups and the correlation with these clinical characteristics were analyzed retrospectively. **Results** The absolute RT-qPCR was established that can accurately quantify the copy number of hsa_circ_0001708. The ratio of hsa_circ_0001708 to IKZF1 was significantly increased in pediatric B-ALL ($P<0.01$) when compared with the controls, and the area under the ROC curve (AUC) was 0.793 6. The correlation analysis indicated that the ratio was significant increased in these groups of high leukocyte count, high blast cell count of peripheral blood, pre-B and poor prognosis in cytogenetics ($P<0.05$). **Conclusion** The ratio of hsa_circ_0001708 to IKZF1 has potential diagnostic value and is related to the MIC classification for pediatric B-ALL.

[**Key words**] hsa_circ_0001708; B-cell acute lymphoblastic leukemia; diagnosis

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81570142). Corresponding author: ZOU Lin, E-mail: zoulin74@126.com

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)是儿童和青少年最常见的肿瘤疾病,其中,急性B淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)占比超过85%[1]。IKZF1基因编码转录因子IKAROS调控淋巴细胞生成,IKAROS功能缺失与ALL的发生有关,是与B-ALL相关的主要抑癌基因[2-3]。研究发现,IKZF1的缺失或突变与ALL较差的预后和复发高风险强烈相关[4]。

环状RNAs(circular RNAs, circRNAs)近年作为RNA家族新兴分子在包括肿瘤在内多种疾病的诊断与预后中成为研究热点。有研究报道,circRNAs可能参与造血分化过程,并在白血病诊断与治疗中扮演重要角色[5]。Hsa_circ_0001708是IKZF1基因1、2号外显子反向剪接成环形成的circRNA,目前尚缺乏其在儿童B-ALL中的研究。本研究旨在探讨hsa_circ_0001708在B-ALL患儿骨髓单个核细胞中的表达,并进一步分析hsa_circ_0001708与其亲本基因IKZF1的比值在儿童B-ALL诊断及分型中的临床意义,为完善B-ALL的分子生物学信息及B-ALL的危险分级提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2016年1月至2019年1月就诊于重庆医科大学附属儿童医院血液科的159例初诊住院B-ALL患儿和17例同期住院就诊的非恶性血液病患儿纳入研究,B-ALL患儿的诊断符合WHO(2016)急性白血病诊断标准。收集其骨髓单个核细胞保存于液氮中备用。按患者年龄、性别、外周血白细胞数、分子生物学、遗传学、免疫分型、随访期是否复发及随访期末是否生存等临床特点进行分组。其中随访时间为2016年1月至2019年1月,中位随访时间为15(1~32)个月。本研究获得重庆医科大学附属儿童医院伦理委员会批准(028/2015)以及患儿家属知情同意。

1.2 试剂与仪器

淋巴细胞分离液[美德太平洋(天津)生物科技股份有限公司],TRIzol试剂(Invitrogen公司),逆转录体系(NEB公司),引物(重庆擎科公司),Premix *Taq*™、TB GreenTM Premix *Ex Taq*™ Ⅱ(TaKaRa公司),胶纯化试剂盒、T-A克隆试剂盒(天根公司),质粒提取试剂盒(Magen公司)。高速台式冷冻离心机(Thermo公司),化学发光凝胶成像仪(gene公司),电泳仪、荧光定量PCR仪(Bio-Rad公司)。

1.3 方法

1.3.1 建立检测hsa_circ_0001708拷贝数的qPCR方法 采用HMy2.CIR细胞系作为构建标准质粒的cDNA来源。使用TRIzol试剂提取细胞总RNA,M-MuLV反转录酶用于反转录。对cDNA进行普通PCR扩增,扩增后产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。切胶纯化cDNA后,经T-A克隆构建重组质粒,以重组质粒10倍梯度稀释为标准品,经qPCR获得标准曲线。

1.3.2 骨髓标本处理 患儿骨髓源于乙二胺四乙酸盐(EDTA)抗凝的流式细胞检查剩余部分,采用

Ficoll 法分离骨髓单个核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMNC),存于液氮中备用。

1.3.3　标本 RNA 的提取、逆转录、绝对定量 PCR　使用 TRIzol 法提取 B-ALL 患儿 BMNC 总 RNA,采用 M-MuLV 反转录酶,按照试剂说明书,对提取出来的细胞总 RNA 进行逆转录。此步骤具体方法参照文献[6]。Hsa_circ_0001708 定性和定量 PCR 为同一引物,实验所用引物序列见表 1。

1.4　统计学分析

运用 GraphPad Prism V7.0 软件对数据进行分析。各组数据经 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验示均为偏态分布,以 $M(P_{25}-P_{75})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用受试者工作曲线(ROC)和曲线下面积(AUC)评估 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值对儿童 B-ALL 的诊断价值。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

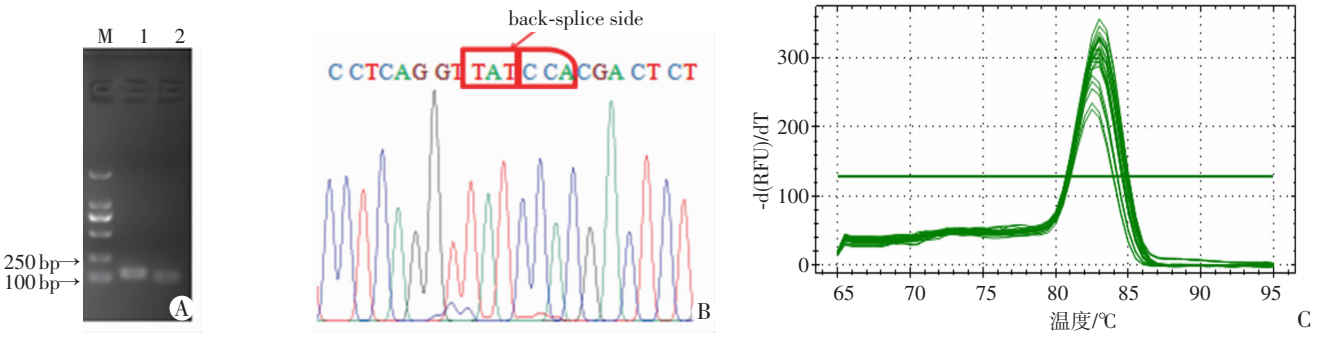
2.1　建立 hsa_circ_0001708 标准曲线

提取 HMy2.CIR 细胞的 cDNA,用针对 hsa_circ_0001708 反向剪接位点的背靠背反向剪接引物进行普通 PCR,经琼脂糖凝胶电泳,扩增出 90 bp 大小的产物。产物经回收后构建质粒测序,测序结果显示,产物确为包含 hsa_circ_0001708 反向剪接位点的特征片段,测序图谱、熔解曲线见图 1。

将包含 hsa_circ_0001708 反向剪接点的重组质粒作为标准品,梯度稀释后进行 RT-qPCR 扩增,获得 hsa_circ_0001708 的扩增曲线(图 2)和标准曲线方程:y=-3.078 6x+42.464[以扩增起始拷贝数取 10 为底的对数值为横坐标(x),对应循环数为纵坐标(y)]。可通过测定 RT-qPCR 的循环数 Ct 值,计算一定量总 RNA(1 000 ng)中 hsa_circ_0001708 的拷贝数,成功建立检测 hsa_circ_0001708 拷贝数的绝对 RT-qPCR 方法。

表 1　hsa_circ_0001708、IKZF1 和 GAPDH 引物序列

基因名称	正向(5′→3′)	反向(5′→3′)
hsa_circ_0001708	GACCTCTCCACCACCTCG	TTGACCCTCATCAGCATCCA
IKZF1	ACCATGGATGCTGATGAGGG	CTTGGAGCTTTGCTGTCCTC
GAPDH	CAGCGACACCCACTCCTCCACCTT	CATGAGGTCCACCACCCTGTTGCT



M:DNA Marker;1:GAPDH;2: hsa_circ_0001708

图 1　hsa_circ_0001708 电泳图(A)、测序图谱(B)和熔解曲线(C)

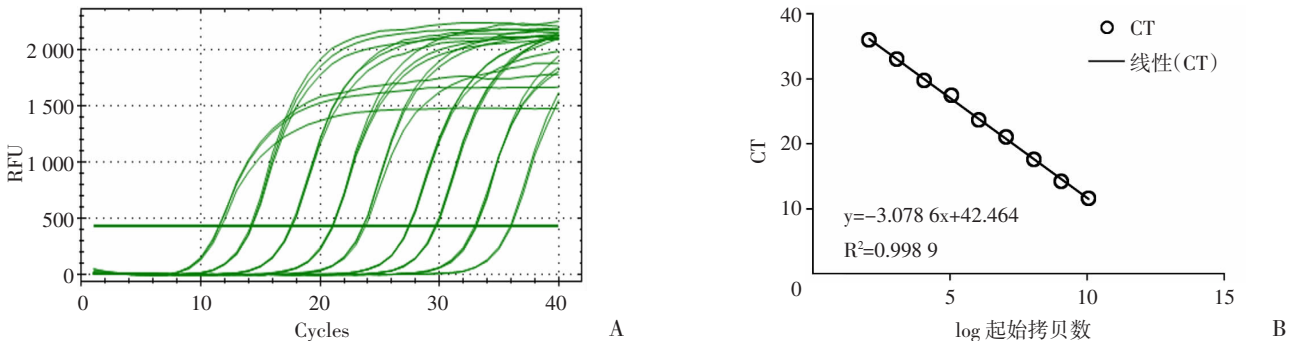


图 2　hsa_circ_0001708 标准曲线扩增图(A)和标准曲线图(B)

2.2 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 在儿童 B-ALL 中的表达

RT-qPCR 法检测 159 名 B-ALL 患儿和 17 名非血液肿瘤对照患儿中 hsa_circ_0001708 及其亲本基因 IKZF1 的绝对拷贝数,结果显示,与非血液肿瘤对照患儿相比,hsa_circ_0001708 及其亲本基因 IKZF1 在 B-ALL 患儿中的表达无明显差异,见图 3。

2.3 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 拷贝数的比值可作为儿童 B-ALL 的潜在生物标志物

2.3.1 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 拷贝数的比值对儿童 B-ALL 有潜在诊断价值 RT-qPCR 结果显示,与非血液肿瘤对照患儿相比,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的拷贝数比值在 B-ALL 患儿中升高($P<0.01$)。ROC 曲线分析显示,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值对 B-ALL 患儿有潜在诊断价值(AUC=0.793 6, 95%*CI*: 0.704 0-0.883 1, $P<0.01$),见图 4。

2.3.2 hsa_circ_0001708 和 IKZF1 拷贝数的比值与 B-ALL 患儿形态学、免疫学、细胞遗传学、分子生物学(MICM)实验室检查结果的相关性分析 相关性分析提示,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值在外周血白细胞总数≥50×10^9/L 的患儿组($P=0.011\ 1$)、外周血原始细胞数占比≥60%的患儿组($P=0.003\ 2$)中升高;与 common-B 相比,比值在 pre-B 中升高($P=0.006\ 9$),而在 pro-B 与 common-B,pro-B 与 pre-B 中无统计学差异;在预后较好的遗传学分组(组 2)中的比值低于预后较差的遗传学分组(组 1)($P=0.027\ 9$)和遗传学正常组(组 3)($P=0.004\ 9$)。而与患儿的年龄、性别、2015-危险分级、骨髓原始细胞数、第 19 天(D19)和第 46 天(D46)的微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)、FAB 分型和分子生物学分型无关(表 2)。

2.3.3 hsa_circ_0001708 和 IKZF1 拷贝数的比值与预后的相关性分析 随访时间与病例收集时间均由 2016 年 1 月至 2019 年 1 月,其中位随访时间为 15 个月(区间为 1~32 个月)。以 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值的中位数(0.033 9)作为比值升高和降低的临界值,159 名 B-ALL 患儿被分为两组,一组为 hsa-circ_0001708 与 IKZF1 的比值升高($n=79$),一组为比值降低($n=80$)。生存曲线分析显示,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值升高或降低与生存率无关。进一步分析不同遗传学分组的生存曲线,发现在随访期内,不同遗传学分组的生存率差异也无统计学意义,见图 5。

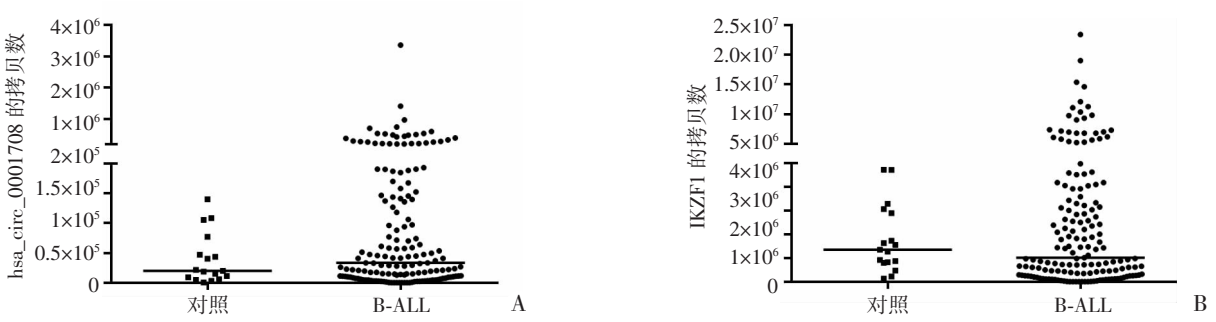
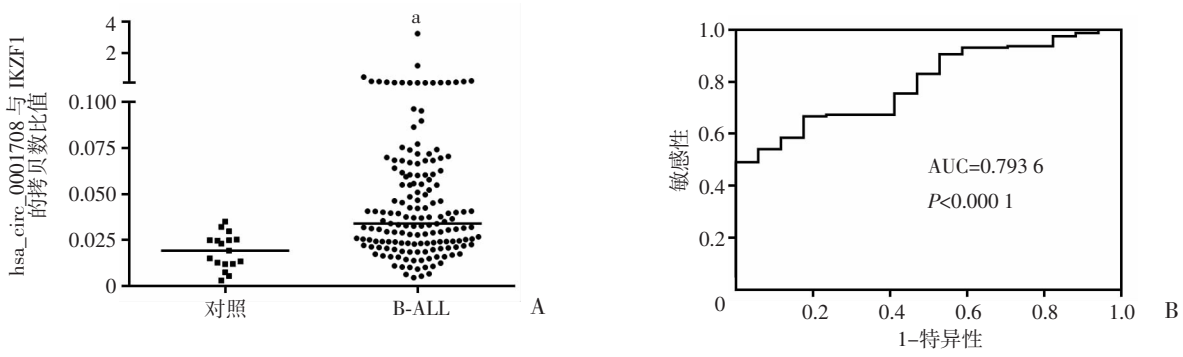


图 3 hsa_circ_0001708(A)及 IKZF1(B)在 B-ALL 和对照患儿中的表达



a: $P<0.000\ 1$,与对照比较

图 4 B-ALL 和对照患儿中 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值(A)及其 ROC 曲线(B)

表 2 B-ALL 患儿 BMNC 中 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值 [$M(P_{25}$-$P_{75})$]

特征	n	hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值	P 值		特征	n	hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值	P 值	
病人总数	159	0.033 9(0.023 1-0.060 7)			遗传学分组[a]				
性别					组 1	29	0.033 9(0.022 9-0.057 6)	Ref.	
男	90	0.036 0(0.020 3-0.058 3)	Ref.		组 2	18	0.022 4(0.014 5-0.033 0)	0.027 9	Ref.
女	69	0.032 7(0.024 0-0.068 2)	0.501 3		组 3	69	0.040 7(0.023 7-0.067 4)	0.554 2	0.004 9
年龄(岁)					分子生物学分型[b]				
1~10	135	0.033 9(0.023 1-0.067 1)	Ref.		组 1	74	0.030 0(0.020 8-0.059 7)	Ref.	
<1 或>10	24	0.033 8(0.021 5-0.042 0)	0.311 2		组 2	27	0.046 6(0.026 0-0.070 5)	0.068 4	Ref.
FAB 分型					组 3	44	0.036 3(0.021 7-0.061 5)	0.610 6	0.190 6
L1	55	0.037 1(0.024 3-0.064 1)	Ref.		危险分级				
L2	92	0.032 2(0.020 7-0.059 9)	0.189 9	Ref.	标危组	79	0.031 3(0.020 9-0.060 3)	Ref.	
L3	9	0.040 7(0.016 2-0.082 3)	0.685 1	0.976 2	中危组	63	0.036 5(0.023 1-0.061 7)	0.334 6	
初诊 WBC($\times10^9$/L)					高危组	2	0.052 8(0.037 5-0.068 2)		
<50	114	0.032 0(0.021 1-0.059 6)	Ref.		MRD(D19)				
≥50	45	0.042 4(0.028 5-0.073 6)	0.011 1		<1%	128	0.037 4(0.022 9-0.065 9)	Ref.	
外周血原始细胞比例(%)					≥1%	10	0.024 0(0.020 5-0.036 3)	0.061 7	
<60	91	0.028 9(0.019 8-0.052 3)	Ref.		MRD(D46)				
≥60	64	0.041 5(0.028 1-0.065 9)	0.003 2		<1%	128	0.037 0(0.023 1-0.062 4)	Ref.	
骨髓原始细胞比例(%)					≥1%	2	0.033 7(0.021 2-0.046 1)	无	
<60	10	0.028 3(0.018 0-0.045 5)	Ref.		是否复发				
≥60	146	0.035 2(0.023 3-0.061 9)	0.302 5		是	16	0.042 3(0.024 4-0.069 2)	Ref.	
免疫分型					否	126	0.033 6(0.021 7-0.060 5)	0.410 6	
Pro-B	14	0.039 1(0.030 1-0.078 1)	Ref.		是否生存				
Common-B	127	0.031 5(0.021 8-0.055 7)	0.154 6	Ref.	是	111	0.035 0(0.024 0-0.067 1)	Ref.	
Pre-B	15	0.057 8(0.0406-0.104 0)	0.197 9	0.006 9	否	23	0.032 7(0.016 4-0.045 1)	0.269 2	

部分因未检测或无记录资料不在表中体现;

a:组 1:亚二倍体、21 三体、t(1;19)、t(10;11)、t(9;22)、t(X;9)、t(4;11)、复杂核型;组 2:高二倍体;组 3:正常核型

b:组 1: BCR/ABL1 阳性、MLL 重排、BCR/ABL 样(CRLF2 过表达)、iAMP21 阳性、E2A/PBX1 阳性、TCF3/PBX1 阳性、HOX11 阳性、PAX5/TPM4 阳性;组 2:ETV6/RUNX1 阳性;组 3:融合基因阴性或无临床预后意义的融合基因(如 TLS/ERG)

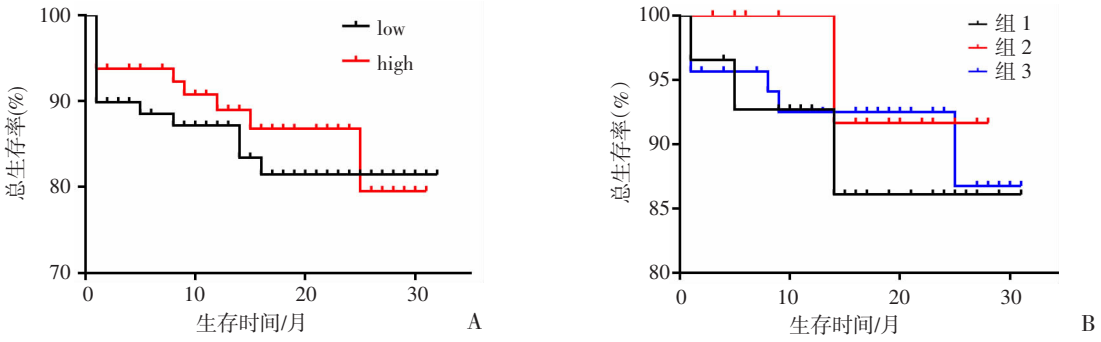


图 5 儿童 B-ALL 不同 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值(A)及不同遗传学分组(B)的生存曲线

3 讨论

ALL 是儿童和青少年最常见的恶性肿瘤,其特征是广泛的临床和生物学异质性,这种异质性主要由白血病在发生、发展过程获得的遗传畸变不同作为背景支撑[7-11],尽管如此,分级治疗使儿童 ALL 目前治愈率超过 85%[7,10]。根据中国儿童癌症协作组(Chinese Children Cancer Group, CCCG)-ALL-2015 方案[12],目前 ALL 的危险度分组主要基于年龄、初发白细胞数、细胞遗传学、分子生物学特征以及对治疗的反应。然而,有相当比例的复发患者在诊断时没有已知的较差危险因素,新的分子生物标志物的发现有助于进一步

完善危险分级和个体化精准治疗的发展,对进一步提高复发难治性白血病患儿的治愈率大有裨益。

IKZF1 定位于 7p12.2,含有 8 个外显子,编码 519 个氨基酸。研究显示 15%~30% 的儿童 ALL 存在 IKZF1 改变[13],且在高危和成人 ALL 中 IKZF1 改变率更高[14],但 IKZF1 形成的 circRNA,目前尚未见在 ALL 中的相关研究报道。

circRNA 在白血病中日益成为研究热点。血浆 circRNA、circ-RPL15 可作为促进慢性淋巴细胞白血病进展的新型致癌驱动因子[15]。融合基因 PML-RARA 和 MLL-AF9 可分别形成融合 circRNA(f-circPR 和 f-circM9),其在白血病细胞中表达可促进白血病细胞增殖和克隆,促进体内白血病进程[16]。Hsa_circ_0004277 随 AML 病程规律变化,在新诊断的 AML 中表达下调,在完全缓解的患者中表达升高,在复发或难治病例中再次下调[17]。与无 FLT3-ITD 突变的 AML 患者相比,circMYBL2 在 FLT3-ITD 突变的 AML 患者中表达升高,并通过增加 PTBP1 与 FLT3 信使 RNA 的结合来提高 FLT3 激酶的翻译效率,具有成为 FLT3-ITD 阳性 AML 治疗靶点的潜能[18]。由此可见,对于伴发高频率基因改变的白血病而言,circRNA 的研究将对探索白血病发病机制、分子标志物及个体化治疗靶点具有重要的临床意义和广阔的应用前景。因此,本研究选择在 ALL 中具有较高改变频率的 IKZF1 作为研究对象,深入探讨 IKZF1 基因的 1、2 号外显子形成的 circRNA、hsa_circ_0001708 在儿童 B-ALL 的诊断和分型中的临床意义。

本研究显示 hsa_circ_0001708 和 IKZF1 在 B-ALL 患儿和非血液肿瘤对照患儿中的绝对拷贝数差异无统计学意义,考虑到关键基因的环状与线性剪接失衡可参与白血病发生、发展[19],因此,我们选择 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的拷贝数比值作为 B-ALL 患儿诊断和分型的研究指标。结果发现,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的拷贝数比值与外周血白细胞数、免疫分型和细胞遗传学分型均相关,且在较好预后的遗传学分组中降低,而与分子生物学分组无关。由此,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的拷贝数比值可能作为独立危险因素成为儿童 B-ALL 潜在的分子标志物纳入 B-ALL 患儿的分子分型依据。此外,本研究发现在随访期内(中位随访时间为 15 个月,区间为 1~32 个月),hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的拷贝数比值与患儿危险分级、第 19 天 MRD、第 46 天 MRD、随访期内是否复发和生存率无关,结合本研究发现,随访期内不同遗传学分组患儿的生存率差异亦无统计学意义。综上,考虑可能是因为目前儿童 B-ALL 是一种相对预后较好的肿瘤疾病,治愈率超过 85%,因此短期(1~3 年)随访可能无法体现出 B-ALL 患儿预后的差异。另外,hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值可能随病程动态变化,因此初诊时该指标的高低可能并不能完全反映患儿的预后情况。此外,扩大样本量进行验证也是必要的。若要对儿童 B-ALL 中该比值的预后意义做出更准确的结论,还需扩大样本量,继续随访患儿病情并在随访期完善 hsa_circ_0001708 与 IKZF1 的比值测定。

参考文献:

[1] SUN W, MALVAR J, SPOSTO R, *et al*. Outcome of children with multiply relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia: a therapeutic advances in childhood leukemia & lymphoma study[J]. Leukemia, 2018, 32(11): 2316-2325. DOI: 10.1038/s41375-018-0094-0.

[2] KASTNER P, CHAN S. Role of Ikaros in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. World J Biol Chem, 2011, 2(6): 108-114. DOI: 10.4331/wjbc.v2.i6.108.

[3] REBOLLO A, SCHMITT C. Ikaros, Aiolos and Helios: transcription regulators and lymphoid malignancies[J]. Immunol Cell Biol, 2003, 81(3): 171-175. DOI: 10.1046/j.1440-1711.2003.01159.x.

[4] MULLIGHAN C G, SU X, ZHANG J, *et al*. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia[J]. N Engl J Med, 2009, 360(5): 470-480. DOI: 10.1056/nejmoa0808253.

[5] 付立芳, 邹琳. 环状 RNAs 在白血病诊治中的研究进展[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(10): 767-770. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2018.10.12.
FU L F, ZOU L. Research progress of circular RNAs in diagnosis and treatment of leukemia[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2018, 36(10): 767-770. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2018.10.12.

[6] 付立芳, 张航, 吕文琼, 等. hsa_circ_0004123 绝对定量 PCR 方法的建立及验证[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(11): 906-911. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2019.11.02.
FU L F, ZHANG H, LYU W Q, *et al*. Establishment and validation of hsa_circ_0004123 absolute quantitative PCR method[J]. Med J Chin PLA, 2019, 44(11): 906-911. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2019.11.02.

[7] PUI C H, YANG J J, HUNGER S P, *et al*. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(27): 2938-2948. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.1636.

[8] IACOBUCCI I, MULLIGHAN C G. Genetic basis of acute lymphoblastic leukemia[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(9): 975-983. DOI: 10.1200/jco.2016.70.7836.

[9] STARY J, ZUNA J, ZALIOVA M. New biological and genetic classification and therapeutically relevant categories in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. F1000Res, 2018, 7: F1000 Faculty Rev-1569. DOI: 10.12688/f1000research.16074.1.

[10] VROOMAN L M, SILVERMAN L B. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic factors and clinical advances[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2016, 11(5): 385-394. DOI: 10.1007/s11899-016-0337-y.

[11] HUNGERS P, MULLIGHAN C G. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine[J]. Blood, 2015, 125(26): 3977-3987. DOI: 10.1182/blood-2015-02-580043.

[12] CAI J Y, YU J, ZHU X F, *et al*. Treatment abandonment in childhood acute lymphoblasticleukaemia in China: a retrospective cohort study of the Chinese Children's Cancer Group[J]. Arch Dis Child, 2019, 104(6): 522-529. DOI: 10.1136/archdischild-2018-316181.

[13] MULLIGHANC G, GOORHA S, RADTKE I, *et al*. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia[J]. Nature, 2007, 446(7137): 758-764. DOI: 10.1038/nature05690.

[14] VAIRY S, TRAN T H. IKZF1 alterations in acute lymphoblastic leukemia: The good, the bad and the ugly[J]. Blood Rev, 2020, 44: 100677. DOI: 10.1016/j.blre.2020.100677.

[15] WU Z J, SUN H D, LIU W J, *et al*. Circ-RPL15: a plasma circular RNA as novel oncogenic driver to promote progression of chronic lymphocytic leukemia[J]. Leukemia, 2020, 34(3): 919-923. DOI: 10.1038/s41375-019-0594-6.

[16] GUARNERIO J, BEZZI M, JEONG J C, *et al*. Oncogenic role of fusion-circRNAs derived from cancer-associated chromosomal translocations[J]. Cell, 2016, 165(2): 289-302. DOI: 10.1016/j.cell.2016.03.020.

[17] LI W, ZHONG C Q, JIAO J, *et al*. Characterization of hsa_circ_0004277 as a new biomarker for acute myeloid leukemia *via* circular RNA profile and bioinformatics analysis[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(3): E597. DOI: 10.3390/ijms18030597.

[18] SUN Y M, WANG W T, ZENG Z C, *et al*. circMYBL2, acircRNA from MYBL2, regulates FLT3 translation by recruiting PTBP1 to promote FLT3-ITD AML progression[J]. Blood, 2019, 134(18): 1533-1546. DOI: 10.1182/blood.2019000802.

[19] GAO Y, WANG J F, ZHAO F Q. CIRI: an efficient and unbiased algorithm for de novo circular RNA identification[J]. Genome Biol, 2015, 16: 4. DOI: 10.1186/s13059-014-0571-3.

(收稿:2021-04-24;修回:2021-07-04)

(编辑 邓强庭)