【基础研究】

赖氨酸去甲基化酶 5B 通过调节 CTSF/BCL-2 轴促进急性髓系白血病细胞的恶性增殖

毛 丹，陈 莉，常 伟，张丛丛，李银玲，索晓慧*
（邯郸市中心医院血液内一科，河北邯郸 056001）

摘要：目的 赖氨酸去甲基化酶（lysine demethylase，KDM）5B 对急性髓系白血病（acute myeloid leukemia，AML）细胞生物学功能的影响和机制研究。**方法** 收集 23 例 AML 患者和 20 例健康捐献者的外周血及骨髓标本，比较 KDM5B 水平表达。采用 KDM5B 的短发夹核糖核酸（shorthairpinRNA，shRNA）（sh-KDM5B）和过表达载体（KDM5B），组织蛋白酶（cathepsin，CTS）F 的 shRNA（sh-CTSF）和过表达载体（CTSF），以及 B 细胞淋巴瘤（B-cell lymphoma，BCL）-2 的 shRNA（sh-BCL-2）转染 AML 细胞 HL-60。采用染色质免疫沉淀（chromatin immunoprecipitation，ChIP）分析 KDM5B 与 CTSF 启动子的结合，ChIP 分析 CTSF 与 BCL-2 蛋白的相互作用。CCK-8 检测和 Transwell 实验用于检测细胞的增殖和侵袭能力，流式细胞术分析细胞凋亡数。**结果** AML 患者外周血及骨髓标本中 KDM5B 表达明显高于健康捐献者（$P < 0.01$）；AML 细胞（HL-60、ML-1）中 KDM5B 表达较人骨髓细胞 HS-27A 表达显著上调（$P < 0.01$）。敲除 KDM5B 显著抑制 AML 细胞增殖和侵袭，诱导细胞凋亡（$P < 0.01$）。KDM5B 通过与 CTSF 启动子结合并上调 CTSF 表达，上调的 CTSF 通过与 BCL-2 蛋白相互作用抑制其蛋白表达。敲除 CTSF 抑制细胞增殖和侵袭，诱导细胞凋亡（$P < 0.01$），敲除 BCL-2 可抵消 CTSF 敲除对 AML 细胞的影响（$P < 0.05$）。**结论** KDM5B 在 AML 中显著上调，其过表达通过上调 CTSF 表达并抑制 BCL-2 表达，从而促进 AML 细胞增殖和侵袭，抑制细胞凋亡。

关键词： 急性髓系白血病；组蛋白 H3K4 甲基化；赖氨酸去甲基化酶 5B；组织蛋白酶 F；B 细胞淋巴瘤 -2
中图分类号： R-33 **文献标志码：** A **文章编号：** 1672-9188（2026）06-0601-012
引用： 毛丹, 陈莉, 常伟, 等. 赖氨酸去甲基化酶 5B 通过调节 CTSF/BCL-2 轴促进急性髓系白血病细胞的恶性增殖[J]. 世界临床药物, 2026, 47（6）: 601-612. DOI：10.13683/j.wph.2026.06.003

Lysine demethylase 5B promotes the malignant proliferation of acute myeloid leukemia cells by regulating the CTSF/BCL-2 axis

MAO Dan, CHEN Li, CHANG Wei, ZHANG Congcong, LI Yinling, SUO Xiaohui*
（*Department of Hematology and Oncology I, HanDan Central Hospital, Handan 056001, Hebei Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect and mechanism of lysine demethylase 5B（KDM 5B）on the biological function of acute myeloid leukemia（AML）cells. ***Methods*** Peripheral blood and bone marrow samples were collected from 23 AML patients and 20 healthy donors, and the expression levels of KDM5B were compared. The AML cells HL-60 were transfected with KDM5B short hairpin RNA（shRNA）（sh-KDM5B）, overexpression vector（KDM5B）, cathepsin F shRNA（sh-CTSF）and overexpression vector（CTSF）, as well as B-cell lymphoma-2 shRNA（sh-BCL-2）. Chromatin Immunoprecipitation（ChIP）was employed to analyze the binding of KDM5B to the promoter region of CTSF, while Co-immunoprecipitation（CoIP）was used to investigate the interaction between CTSF and BCL-2 proteins. The CCK-8 assay

收稿日期： 2025-07-17
作者简介： 毛丹，主治医师，研究方向：血液病研究。
通信作者： 索晓慧，主任医师，研究方向：肿瘤诊疗。

and Transwell experiment were used to detect the proliferation and invasion abilities of the cells, while flow cytometry was employed to analyze the number of apoptotic cells. ***Results*** The expression of KDM5B in the peripheral blood and bone marrow samples of AML patients was significantly higher than that in healthy donors ($P<0.01$). The expression of KDM5B in AML cells (HL-60, ML-1) was significantly higher than that in human bone marrow cells HS-27A ($P<0.01$). Silencing KDM5B significantly inhibited the proliferation and invasion of AML cells and induced cell apoptosis ($P<0.01$). KDM5B bound to the promoter of CTSF and upregulated the expression of CTSF. The upregulated CTSF then interacted with BCL-2 protein to inhibit its protein expression. Silencing CTSF inhibited cell proliferation and invasion, and induced cell apoptosis ($P<0.01$). Silencing BCL-2 can counteract the effects of CTSF silencing on AML cells ($P<0.05$). ***Conclusion*** KDM5B is significantly upregulated in AML. Its overexpression promotes the proliferation and invasion of AML cells and inhibits cell apoptosis by upregulating the expression of CTSF and inhibiting the expression of BCL-2.

Key words: acute myeloid leukemia; histone H3K4 methylation; lysine demethylase 5B; cathepsin F; B-cell lymphoma-2

急性髓系白血病（acute myeloid leukemia，AML）是一种由克隆性造血细胞不受控制增殖引起的疾病，临床表现为贫血、出血、感染和发热、脏器浸润及代谢异常等，多数病情急重，如不及时治疗可危及患者生命[1-2]。现AML治疗已有12种新药或联合方案获得批准[3]，显著改善了年轻患者的预后情况，但老年患者的预后仍然较差，且占大多数新病例[4]。因此，迫切需阐明AML的发病机制，并识别更多的预测性生物标志物，以改善AML患者的预后。赖氨酸去甲基化酶（lysine demethylase，KDM）5家族蛋白包括KDM5A、KDM5B、KDM5C和KDM5D，广泛参与多种生物过程[5]。研究[6-7]表明，KDM5B在包括乳腺癌、胃癌和肺癌在内的多种肿瘤中表达上调。研究[8]报道KDM5B的耗竭可促进AML细胞增殖。另有研究[9-11]表明，KDM5B的耗竭可抑制AML细胞的增殖并诱导细胞凋亡。为进一步探索KDM5B在AML中的功能作用，本研究拟探究KDM5B对AML细胞的调节作用及其可能的潜在作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

洛斯维·帕克纪念研究所（Roswell Park Memorial Institute，RPMI）1640培养基（12633020）购自美国Gibco公司；Lipofectamine 3000试剂（L3000015）、TaqMan RNA Reverse Transcription试剂盒（N8080234）、TaqMan Universal聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）kit（4364340）、Qproteome Mammalian Protein Prer kit（89842）均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；二喹啉甲酸（bicinchoninic acid assay，BCA）蛋白定量试剂盒（P0012S）、辣根过氧化物酶标记IgG抗体（#A0208）购自碧云天（上海）生物技术有限公司；Biotin RNA Labeling Mix、RNase-free DNase Ⅰ（EN0523）、Streptavidin agarose beads（S951）购自美国Invitrogen公司；细胞计数试剂盒（cell counting kit，CCK）-8（KTA1020）、Transwell小室（PTHT24H48）和细胞凋亡检测试剂盒（E-CK-A211）购自美国Greiner公司；Anti-KDM5B（15327，1∶1 000）、Anti-CTSF（3418，1∶1 000）、Anti-B细胞淋巴瘤（B cell lymphoma，Bcl）-2（3498，1∶1 000）、Anti-GAPDH（2118，1∶1 000）抗体和Anti-IgG抗体（7076，1∶1 000）均购自Cell Signaling Technology公司。

1.2 临床资料获取

选取在本院就诊的23例初治原发性AML患者，诊断基于世界卫生组织诊断标准[12]，男性13例、

女性 10 例，年龄（52.24±8.02）岁，收集患者骨髓标本及外周血标本保留备用。另选取 20 例年龄匹配的健康捐献者（healthy donor，HD，骨髓移植供者）的骨髓样本和外周血样本作为对照，男性 10 例，女性 10 例，年龄（50.89±7.23）岁，留取外周血标本备用。本研究完全按照《赫尔辛基宣言》的原则进行，经过医院伦理委员会批准（HDCH0025-02）。所有患者均提供书面知情同意书。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养

人骨髓细胞 HS-27A（CL-0882），AML 细胞系 HL-60（CL-0110）和 ML-1 细胞（Delf-27110），慢性髓系白血病细胞系 K562（CL-0130）和巨噬细胞 B 粒单核细胞白血病 MV4-11（CRL-9591）均购自上海细胞库（中国），在含有 15% 胎牛血清的 85% RPMI-1640 培养基中培养。细胞培养条件为 37 ℃、5% CO_2 培养箱（赛默飞，美国）。所有细胞系均进行支原体污染检测。

1.3.2 细胞转染及分组

KDM5B 的 shRNA（sh-KDM5B）和过表达载体（KDM5B），CTSF 的 shRNA（sh-CTSF）和过表达载体（CTSF），以及 Bcl-2 的 shRNA（sh-Bcl-2）在上海生物工程公司设计并合成。取生长对数期 HL-60 细胞，以每毫升 1×10^5 个的密度接种于 6 孔板中，待细胞融合至 80% 时，使用 Lipofectamine 3000 转染试剂进行细胞转染。

HL-60 细胞分组：对照组（不进行干预处理）、正常对照（normal control，NC）shRNA 组（转染 KDM5B 的阴性对照 shRNA 序列）、sh-KDM5B 组（转染 KDM5B 的 shRNA 干扰序列）、Vectot 组（转染空白载体）、oe-KDM5B 组（转染 KDM5B 过表达载体）、sh-KDM5B ＋ 5- 硫唑嘌呤（azathioprine，AZA）组（转染 KDM5B 的 shRNA 序列后用 DNA 甲基化酶抑制剂 5-AZA 处理细胞）、sh-KDM5B ＋ Vector 组（共转染 KDM5B 的 shRNA 序列和空白载体）、sh-KDM5B ＋ oe-CTSF 组（共转染 KDM5B 的 shRNA 序列和 CTSF 过表达载体）、sh-CTSF 组（转染 CTSF 的 shRNA 干扰序列）、sh-Bcl-2 组（转染 Bcl-2 的 shRNA 干扰序列）、sh-CTSF ＋ sh-Bcl-2 组（共转染 CTSF shRNA 序列和 Bcl-2shRNA 序列）。转染后 37 ℃培养 48 h，收集细胞用于后续试验。

1.3.3 实时荧光定量聚合酶链反应（real time quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）检测

用 TRIzol 试剂提取骨髓样本及细胞中总 RNA，使用 PrimeScript RT 试剂盒通过逆转录获得 cDNA。使用 SYBR Premix Ex Taq Ⅱ进行 RT-qPCR，反应条件：95 ℃变性 5 min，95 ℃退火 60 s，72 ℃延伸 35 s，共循环 40 次。引物序列如表 1 所示，β- 肌动蛋白（β-actin）作为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 RNA 的相对表达水平。

1.3.4 免疫印迹法（western blotting，WB）

使用 RIPA 裂解缓冲液（Sigma）提取总蛋白，BCA 蛋白含量测定试剂盒进行蛋白定量。通过 SDS-PAGE 分离蛋白质并转移至 PVDF 膜，将膜在 5% 脱脂牛奶封闭 1 h，加入待测蛋白一抗，4 ℃孵

表 1 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primer sequences used for RT-qPCR

项目	上游引物（5'-3'）	下游引物（5'-3'）	引物长度/bp
KDM5B	AGTGGGCTCACATATCAGAGG	CAAACACCTTAGGCTGTCTCC	225
CTSF	CGGGCTTCTTCCTTTGACT-3′	CCCAAAACCATCCAGACAA-3′	198
Bcl-2	GACGTTGAGCTGAGTGTCCA	GGTCATGTGTGTGGAGAGCG	211
β-actin	AAGCCAGCCTCCGTTATCCT	AGAAAATCTGGCACCACACC	176

育过夜，然后加入辣根过氧化物酶标记二抗 IgG 抗体室温孵育 1 h。GAPDH 蛋白作为内参，使用 ECL Plus 在化学发光成像系统曝光，Image J 软件进行定量分析。

1.3.5 染色质免疫沉淀（chromatin immunoprecipitation，ChIP）测定

将细胞用 1% 甲醛交联，裂解并超声处理，以获得大小为 200 ～ 700 bp 的染色质片段。将溶解的染色质在 ChIP 稀释缓冲液中稀释，4 ℃与抗体孵育过夜。使用蛋白 A 琼脂糖树脂捕获抗体 - 染色质复合物，后用洗涤缓冲液洗涤。富集的染色质片段在 65 ℃洗脱 10 min，65 ℃逆转交联 5 h，通过蛋白酶 K 消化、苯酚 - 氯仿提取和乙醇沉淀纯化。对纯化的 ChIP DNA 进行 qPCR 分析。

1.3.6 CCK-8 检测

根据说明书将 K562 和 HL-60 细胞培养至亚融合状态，以每孔 1×10^4 个细胞的浓度接种于 6 孔板，每孔最终体积为 200 μL，37 ℃贴壁过夜。每个孔中加入 10 μL 解冻的 CCK-8 溶液和 100 μL 新鲜杜尔贝科改良 Eagle 培养基，在相同培养箱条件下孵育 2 h。酶标仪检测 450 nm 处的吸光度值并绘制图表。

1.3.7 Transwell 侵袭实验

细胞悬浮于含有 15% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中，并置于含有 8 μm 孔径及基质胶的 Transwell 板中。上层小室中填充无血清培养基，每小室细胞浓度约为 1×10^5 个细胞，每小室最终培养基体积为 200 μL。下层小室中填充含有 10% 胎牛血清和趋化因子的培养基。37 ℃、5% CO_2 的条件下孵育 24 h 后，待细胞迁移至膜的底部，用棉签清除膜内侧细胞，并用 0.1% 结晶紫染色。在光学显微镜下，至少随机选取 5 个视野 / 孔对侵袭细胞进行成像。

1.3.8 细胞凋亡分析

按照制造商的说明，分别使用 Annexin V- 荧光素异硫氰酸酯凋亡检测试剂盒来评估细胞凋亡。通过流式细胞仪分析染色细胞，并使用 FlowJo 分析获得的数据。

1.4 统计学方法

使用 GraphPad（Prism v9.5）和 SPSS22.0 软件进行统计分析和绘图。数据经检验符合正态分布，以（$\bar{x}\pm s$）进行描述。两组间比较采用独立样本 t 检验；多组间比较采用单因素方差分析，以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义；组间进一步两两比较采用 LSD 检验，检验水准 $\alpha=0.01$，$P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KDM5B 在 AML 中的表达水平

AML 患者骨髓标本及外周血中 KDM5B 表达水平显著高于 HD 组（$P<0.001$），见表 2 和图 1A-B。与人骨髓细胞 HS-27A 相比，AML 细胞中 KDM5B mRNA 及蛋白表达水平也显著升高（$P<0.001$），见表 3 和图 1C-D。

表 2 各组骨髓标本及外周血中 KDM5B 表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of KDM5B expression levels in bone marrow specimens and peripheral blood of each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	外周血KDM5B蛋白水平	骨髓KDM5B mRNA
HD组	1.01±0.04	1.02±0.06
AML组	2.72±0.35	3.27±0.29
*t*值	21.693	34.019
*P*值	＜0.001	＜0.001

2.2 各组细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响

与对照组相比，sh-KDM5B 组细胞中 KDM5B 蛋白表达水平明显降低（$P<0.05$），NC shRNA 组 KDM5B 蛋白表达水平无统计学差异（$P>0.05$），表明敲除 KDM5B 的细胞系构建成功，见表 1。与对照组相比，NC shRNA 组 HL-60 细胞增殖、侵袭和细胞凋亡水平无统计学变化（$P>0.05$）；sh-KDM5B 组 HL-60 细胞活力降低，细胞侵袭率降低，细胞凋亡率显著升高（$P<0.001$），见表 4 和图 2。

表 3 各组 KDM5B 蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of KDM5B protein expression levels in each group（$\bar{x}\pm s$）

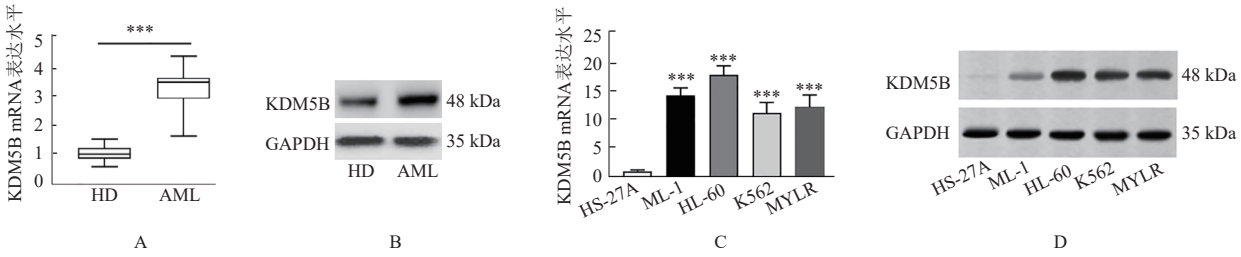
组别	KDM5B蛋白水平
HS-27A组	1.01±0.18
HL-60组	9.42±1.27***
ML-1组	3.27±0.35***
K562组	8.08±0.59***
MV4-11组	6.89±0.85***
*F*值	64.492
*P*值	＜0.001

注：与 HS-27A 细胞相比，***P ＜ 0.001。

Note: vs. HS-27A cells, ***P ＜ 0.001.

2.3 KDM5B 通过组蛋白去甲基化促进 CTSF 转录激活

研究检测 AML 患者外周血中 CTSF 表达结果显示，其 mRNA（5.12±0.29）vs.（1.00±0.08）和蛋白（3.27±0.21）vs.（1.01±0.11）水平均显著高于健康对照人群（t ＝ 64.447，43.205，P ＜ 0.001），见图 3A。与 Vectot 组相比，KDM5B 过表达显著升高 HL-60 细胞中 CTSF 蛋白水平，降低 H3K27me3 蛋白水平（P ＜ 0.001），见表 5 和图 3B。与 IgG 抗体下拉的复合物相比，CTSF 启动子在 Anti-KDM5B



注：A—HD 和 AML 组 KDM5B mRNA 表达水平比较；B—WB 检测 HD 和 AML 组外周血情况；C—各组 KDM5B mRNA 表达水平比较；D—WB 检测各组外周血情况。与 HD 或 HS-27A 细胞相比，**P ＜ 0.01，***P ＜ 0.001。

Note: A−shows the comparison of KDM5B mRNA expression levels between HD and AML groups; B−shows the peripheral blood of HD and AML groups detected by WB; C−shows comparison of KDM5B mRNA expression levels in each group; D−shows the peripheral blood of each group detected by WB. vs. HD or HS-27A cells, **P ＜ 0.01, ***P ＜ 0.001.

图 1 AML 骨髓标本、外周血及细胞中 KDM5B 蛋白表达水平比较

Figure 1 Comparison of KDM5B protein expression levels in AML bone marrow specimens, peripheral blood and cells

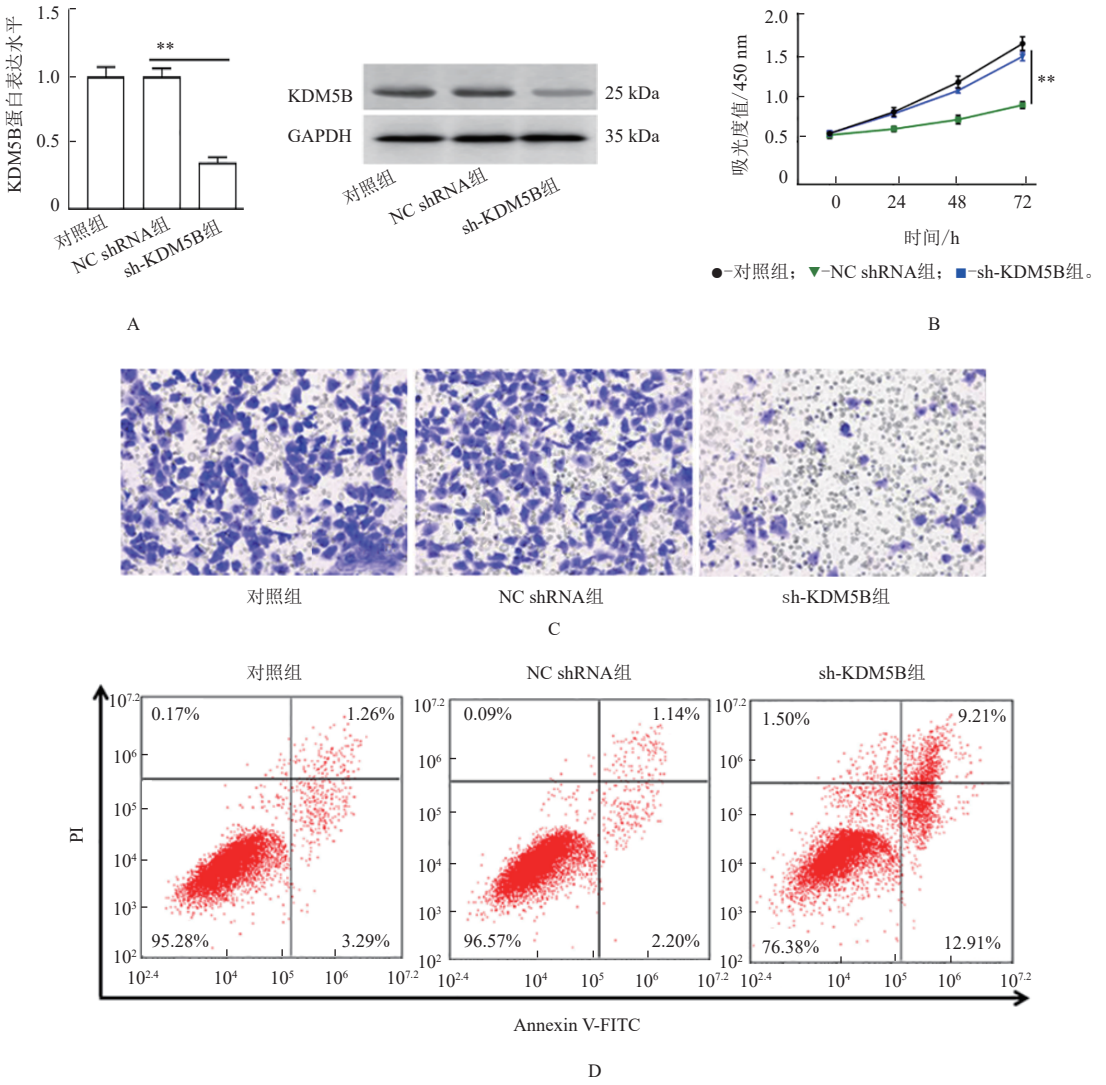
表 4 各组细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Effects of cell proliferation, invasion and apoptosis in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	KDM5B蛋白	细胞活力	细胞侵袭率/%	细胞凋亡率/%
对照组	1.02±0.04	1.62±0.25	40.41±1.85	5.12±0.78
NC shRNA组	1.00±0.02	1.54±0.20	39.89±1.97	5.07±0.64
sh-KDM5B组	0.44±0.07**	0.75±0.12**	16.84±1.01**	23.68±2.11**
*F*值	141.391	17.802	195.912	189.432
*P*值	＜0.001	0.003	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，**P＜0.01。

Note: vs. the control group, **P＜0.01.



注：A—WB 检测各组 KDM5B 蛋白水平；B—CCK-8 检测各组细胞活力；C—Transwell 法检测各组细胞侵袭力；D—流式细胞术分析各组细胞凋亡率。与对照组相比，**$P < 0.01$。

Note: A-shows KDM5B protein levels in each group measured by WB; B-shows cell viability measured by CCK-8 in each group; C-shows the Transwell method to detect cell invasion in each group; D-shows flow cytometry analysis of cell apoptosis rate in each group. vs. the control group, **$P < 0.01$.

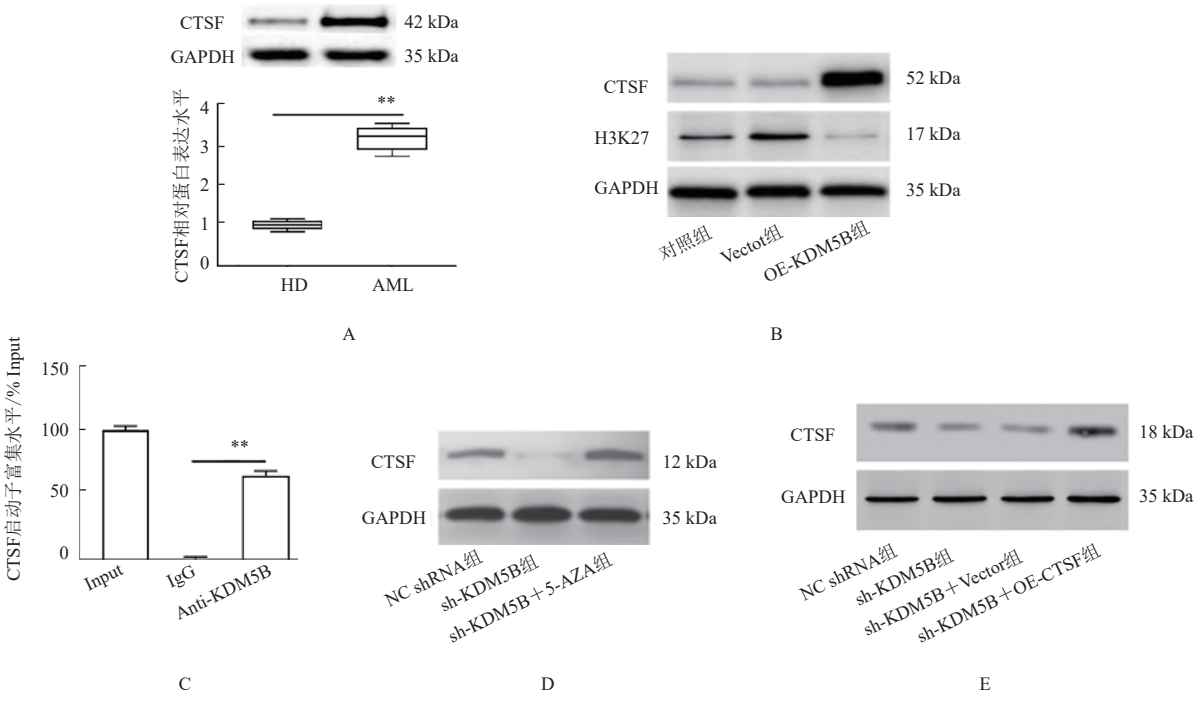
图 2　各组细胞增殖、侵袭及细胞凋亡比较

Figure 2　Comparison of cell proliferation, invasion and apoptosis in each group

抗体下拉的复合物中显著富集（56.81%±4.65%）vs.（0.97%±1.02%，$P < 0.001$），见图 3C。敲除 KDM5B 显著降低 CTSF 的 mRNA 和蛋白水平，5-AZA 处理升高 CTSF 的 mRNA 和蛋白水平（$P < 0.001$），见表 6 和图 3D。此外，过表达 CTSF 可抵消 KDM5B 敲除对 CTSF 蛋白表达的抑制作用（$P < 0.001$），图 3F。

2.4　敲除 KDM5B 和过表达 CTSF 对 AML 细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响

与 NC shRNA 组相比，sh-KDM5B 组 HL-60 细



注：A—AML 患者和健康体检者外周血中 CTSF 蛋白水平检测；B—AML 细胞中 CTSF 和 H3K27me3 蛋白水平检测；C—ChIP 分析 KDM5B 与 CTSF 启动子的结合；D—5-AZA 处理的 AML 细胞中 CTSF 蛋白水平检测；E—共转染 sh-KDM5B 和 CTSF 后 AML 细胞中 CTSF 蛋白水平检测。与对照组相比，**$P < 0.01$。

Note: A−shows detection of CTSF protein levels in the peripheral blood of AML patients and healthy individuals undergoing physical examinations; B−shows detection of CTSF and H3K27me3 protein levels in AML cells; C−shows ChIP analysis of the binding of KDM5B to the CTSF promoter; D−shows detection of CTSF protein levels in AML cells treated with 5-AZA; E−shows detection of CTSF protein levels in AML cells after co-transfection of sh-KDM5B and CTSF. vs. the control group, **$P < 0.01$.

图 3　KDM5B 通过组蛋白去甲基化促进 CTSF 转录激活

Figure 3　KDM5B promotes the transcriptional activation of CTSF through histone demethylation

表 5　过表达 KDM5B 对 CTSF 和 H3K27me3 表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5　Effects of KDM5B overexpression on the expression levels of CTSF and H3K27me3 ($\bar{x}\pm s$)

组别	CTSF mRNA	CTSF蛋白	H3K27me3蛋白
对照组	1.02±0.05	1.01±0.08	1.00±0.08
Vectot组	1.01±0.06	1.03±0.07	1.02±0.04
oe-KDM5B组	4.05±0.12**	3.51±0.45**	0.45±0.06**
*F*值	1347.995	87.003	81.181
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，**P＜0.01。

Note: vs. control group, **P＜0.01.

表 6　敲除 KDM5B 对 CTSF 表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 6　Effects of KDM5B knockout on the expression levels of CTSF ($\bar{x}\pm s$)

组别	CTSF mRNA	CTSF蛋白
NC shRNA组	1.02±0.05	1.01±0.08
sh-KDM5B组	0.42±0.06**	0.50±0.07**
sh-KDM5B+5-AZA组	0.95±0.12$^{\#\#}$	1.13±0.11$^{\#\#}$
*F*值	47.254	432.038
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与对照组相比，**$P < 0.01$；与 sh-KDM5B 组比较，$^{\#\#}P < 0.01$。

Note: vs. control group, **$P < 0.01$; vs. sh-KDM5B group, $^{\#\#}P < 0.01$.

胞活力和细胞侵袭率降低，细胞凋亡率显著升高（$P < 0.001$）；与 sh-KDM5B ＋ Vector 组相比，sh-KDM5B ＋ oe-CTSF 组 HL-60 细胞活力升高，细胞侵袭率升高，细胞凋亡率降低（$P < 0.001$），见表 7 和图 4。

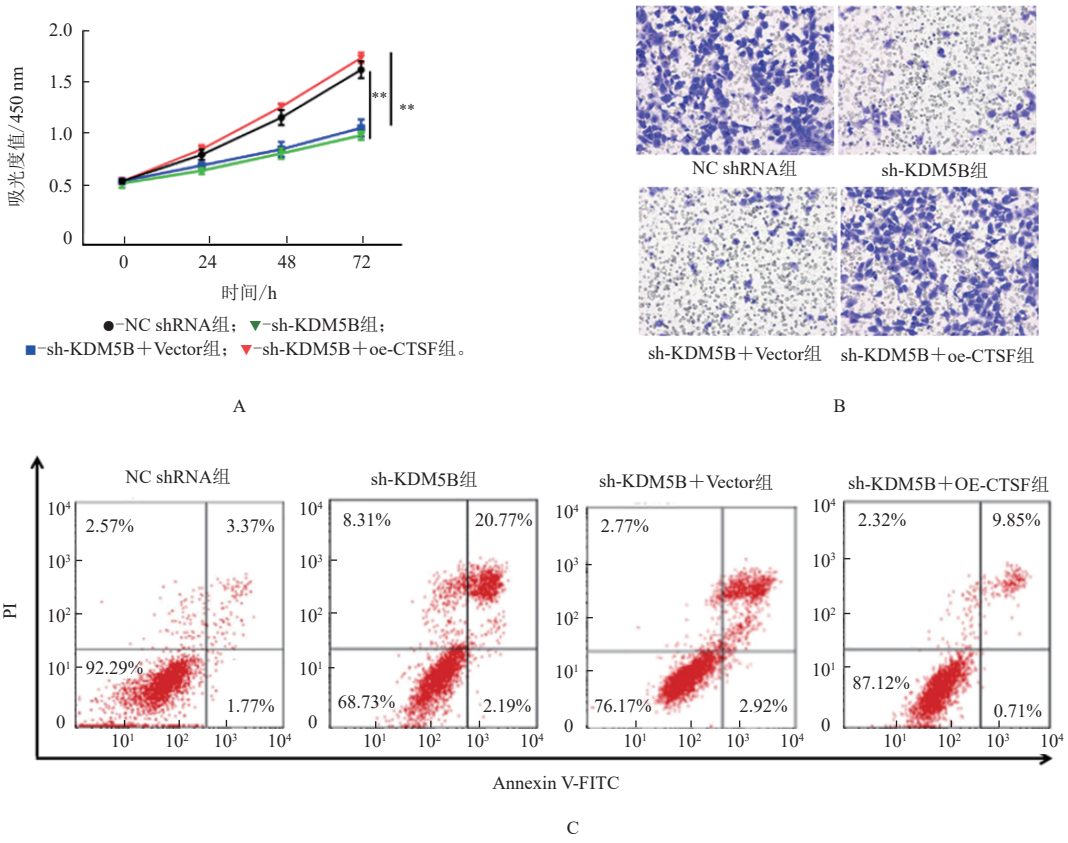
表 7　敲除 KDM5B 通过下调 CTSF 抑制 AML 细胞增殖、侵袭以及凋亡

Table 7　Knockout KDM5B inhibits the proliferation, invasion and apoptosis of AML cells by down-regulating CTSF

组别	细胞活力	细胞侵袭率/%	细胞凋亡率/%
NC shRNA组	1.54±0.20	39.89±2.71	5.07±0.64
sh-KDM5B组	0.75±0.12**	16.84±1.01**	23.68±2.11**
sh-KDM5B＋Vector组	0.91±0.15**	15.79±1.05**	22.18±2.13**
sh-KDM5B＋oe-CTSF组	1.71±0.28##	41.78±2.05##	10.11±1.29##
*F*值	16.981	176.621	90.083
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与 NC shRNA 组相比，**$P < 0.01$；与 sh-KDM5B ＋ Vector 组比较，##$P < 0.01$。

Note: vs. NC shRNA group, **$P < 0.01$; vs. sh-KDM5B ＋ Vector group, ##$P < 0.01$.



注：A—CCK-8 检测细胞活力；B—Transwell 实验检测细胞侵袭能力；C—流式细胞术分析细胞凋亡率。与对照组相比，**$P < 0.01$。

Note: A–shows cell viability was detected by CCK-8; B–shows Transwell assay was used to detect the invasion ability of cells; C–shows flow cytometry was used to analyze the apoptosis rate of cells. vs. control group, **$P < 0.01$.

图 4　敲除 KDM5B 通过下调 CTSF 抑制 AML 细胞增殖、侵袭以及凋亡

Figure 4　knockout KDM5B inhibits the proliferation, invasion and apoptosis of AML cells by down-regulating CTSF

2.5 CTSF 通过与 Bcl-2 蛋白互相作用调控其表达

细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 可能与 CTSF 蛋白相互作用，见图 5A。CoIP 分析显示，在 Anti-CTSF 抗体下拉的复合物中不仅有 CTSF 蛋白，也有 Bcl-2 蛋白，见图 5B。与 NC shRNA 组比较，sh-CTSF 组 Bcl-2 蛋白水平显著升高，而 sh-Bcl-2 组 Bcl-2 蛋白水平显著降低（$P < 0.001$）；与 sh-CTSF 组比较，sh-CTSF ＋ sh-Bcl-2 组 Bcl-2 蛋白水平明显降低（$P < 0.001$），见表 8 和图 5C。

表 8 敲除 CTSF 对 Bcl-2 蛋白表达水平的影响（$\bar{x}\pm s$）
Table 8 Effects of CTSF knockout on the protein levels of Bcl-2（$\bar{x}\pm s$）

组别	Bcl-2蛋白
NC shRNA组	1.01±0.08
sh-CTSF组	3.25±0.17**
sh-Bcl-2组	0.32±0.05**
sh-CTSF＋sh-Bcl-2组	2.13±0.11$^{\#\#}$
*F*值	398.066
*P*值	＜0.001

注：与 NC shRNA 组相比，**$P < 0.01$；与 sh-CTSF 组比较，$^{\#\#}P < 0.01$。
Note: vs. NC shRNA group, **$P < 0.01$; vs. sh-CTSF group, $^{\#\#}P < 0.01$.

2.6 敲除 CTSF 和 Bcl-2 对 AML 细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响

与 NC shRNA 组比较，sh-CTSF 组 HL-60 细胞活力显著降低，细胞侵袭率降低，细胞凋亡率显著升高（$P < 0.01$）；与 sh-CTSF 组比较，sh-CTSF ＋ sh-Bcl-2 组细胞活力升高，细胞侵袭率升高，细胞凋亡率减少（$P < 0.001$），见表 9 和图 6。

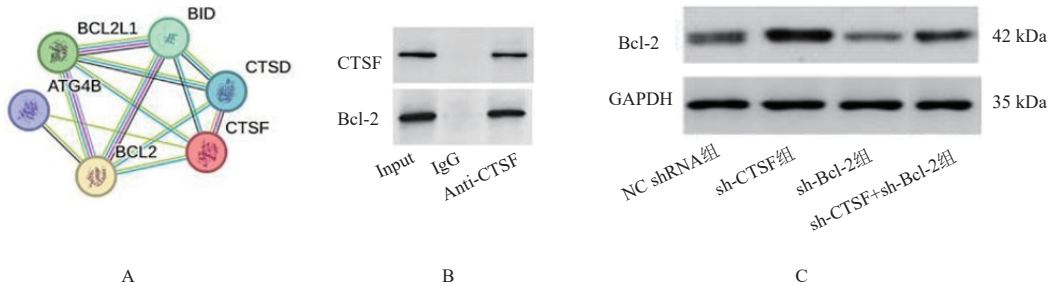
表 9 敲除 CTSF 和 Bcl-2 对 AML 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响（$\bar{x}\pm s$）
Table 9 Effects of knockout CTSF and Bcl-2 on proliferation, invasion, and apoptosis of AML cells（$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞活力	细胞侵袭数	细胞凋亡率
NC shRNA组	1.54±0.20	39.89±1.97	5.07±0.64
sh-CTSF组	0.82±0.43**	17.14±1.34**	24.85±2.07**
sh-CTSF＋sh-Bcl-2组	1.85±0.52$^{\#\#}$	36.87±2.05$^{\#\#}$	8.43±2.01$^{\#\#}$
*F*值	7.963	139.076	115.430
*P*值	0.020	＜0.001	＜0.001

注：与 NC shRNA 组相比，**$P < 0.01$；与 sh-CTSF 组比较，$^{\#\#}P < 0.01$。
Note: vs. NC shRNA group, **P<0.01; vs. sh-CTSF group, $^{\#\#}P$<0.01.

3 讨论

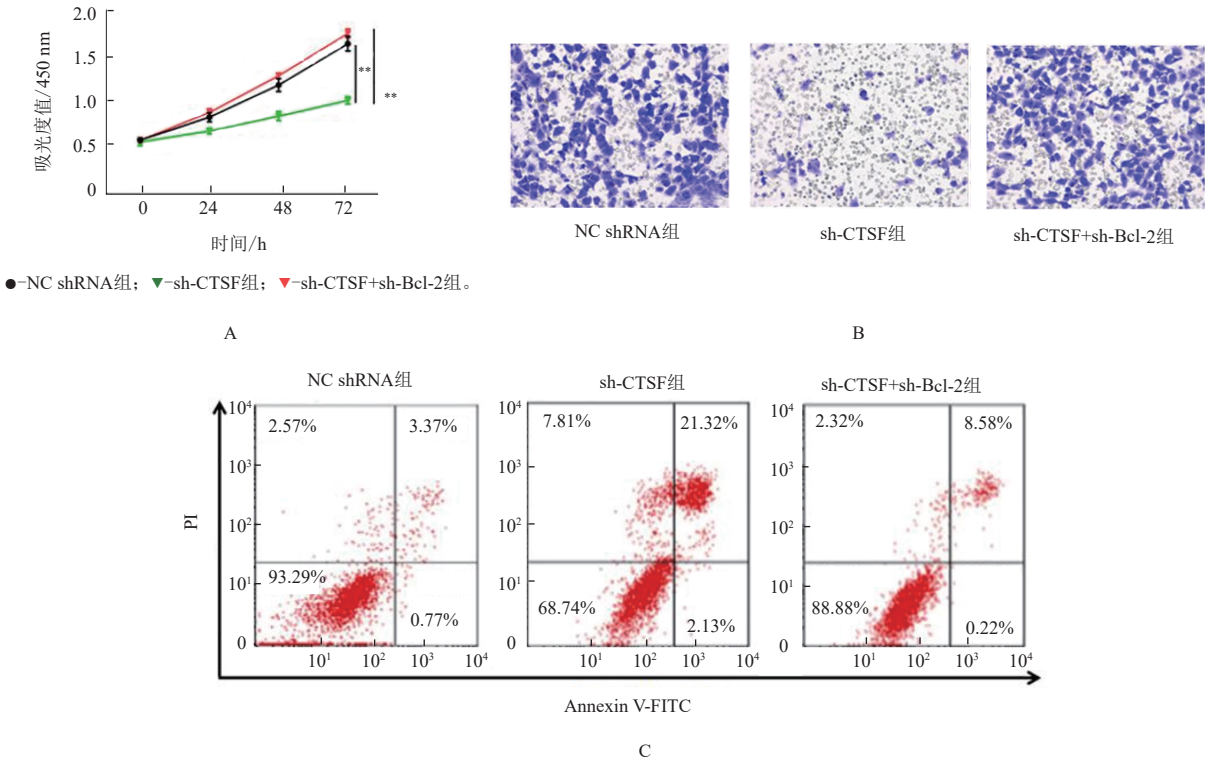
AML 是髓系造血干 / 祖细胞恶性疾病，其特征为造血干细胞异常增殖、分化受阻及凋亡抑制，患者病情进展迅速且预后差异显著[1]。尽管化疗、靶向治疗及免疫治疗取得一定进展，但高危患者 5 年生存率仍不足 30%[2]，亟需挖掘新的致病机制及治疗靶点。



A B C

注：A—STRING 数据库预测 CTSF 的互作蛋白；B—CoIP 分析 CTSF 和 Bcl-2 蛋白相互作用；C—WB 检测各组细胞 Bcl-2 蛋白水平。
Note: A–represents the interacting proteins of CTSF predicted by the STRING database; B–the CoIP analysis of the interaction between CTSF and Bcl-2 proteins; C–the WB detection of the Bcl-2 protein levels in each group of cells.

图 5 CTSF 与 Bcl-2 互相作用分析
Figure 5 Analysis of the interaction between CTSF and Bcl-2



注：A—CCK-8 检测细胞活力；B—Transwell 实验检测细胞侵袭能力；
C—流式细胞术分析细胞凋亡率。与 NC shRNA 组相比，$^{**}P < 0.01$。

Note: A-represents the CCK-8 assay for cell viability; B-represents the Transwell assay for cell invasion ability;
C-represents the flow cytometry analysis for cell apoptosis rate. vs. the NC shRNA group, $^{**}P < 0.01$.

图 6 敲除 CTSF 和 Bcl-2 对 AML 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响

Figure 6 Effects of knockout CTSF and Bcl-2 on proliferation, invasion, and apoptosis of AML cells

研究[1]表明，AML 发病机制涉及复杂的表观遗传调控异常，包括 DNA 甲基化、组蛋白甲基化修饰异常等。基于靶向表观遗传调控研究发现，组蛋白去甲基化酶作为关键调控因子是 AML 的一种新的替代治疗策略，特别是对于难治 / 复发患者[13-15]。KDM5B 可特异性催化组蛋白 H3K4me2/3 去甲基化，通过表观遗传调控参与基因转录抑制，被证实为多种肿瘤的癌基因[5]。有报道显示，KDM5B 在多种肿瘤细胞中高度上调，包括宫颈癌症[16]、乳腺癌[17]、膀胱癌[18]、肺癌[19]、结直肠癌[20]和肝细胞癌[21]。然而，目前有关 KDM5B 在 AML 中的研究存在争议，有报道[8]称，在 AML 中 KDM5B 的耗竭可促进了细胞增殖。研究[9-10]表明，KDM5B 的耗竭可诱导 AML 细胞凋亡。本研究结果显示，AML 患者骨髓标本及外周血中 KDM5B 表达水平明显升高，在 AML 细胞、慢性白血病细胞中也证实 KDM5B 表达水平高于人骨髓细胞 HS-27A。进一步发现，敲除 KDM5B 能抑制 AML 细胞的增殖和侵袭，诱导细胞凋亡，这与 HUANG 等[10]的研究相一致，提示 KDM5B 是维持 AML 细胞恶性表型的关键分子。

CTSF 是一种木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶，被发现作为生物标志物在多种肿瘤中差异表达。CTSF 通过降解抗凋亡蛋白可调控细胞凋亡，参与多种肿瘤恶性进展，如在胃癌组织和细胞中显著表达下调抑制细胞凋亡[22]。肾癌[23-24]、非小细胞肺

癌[25]组织细胞中 CTSF 表达下调均与患者预后不良密切相关，其过表达能够抑制肿瘤细胞的恶性生长。与之相反的是，宫颈癌[26]、甲状腺乳头状癌[27]和膀胱癌[28]中 CTSF 表达显著上调。本研究中，AML 患者外周血和 AML 细胞中 CTSF 表达上调，KDM5B 作为去甲基化酶与 CTSF 启动子结合，显著促进 CTSF 转录激活，并降低 H3K27me3 修饰水平抑制其转录；过表达 CTSF 能逆转 KDM5B 敲除对 AML 细胞的抑制效应，证实 CTSF 是 KDM5B 的下游靶基因。Bcl-2 是 CTSF 的下游互作蛋白，CTSF 可负向调控 Bcl-2 表达，敲除 Bcl-2 也可抵消 CTSF 敲除的抑制肿瘤作用。Bcl-2 通过抑制促凋亡蛋白发挥抗凋亡功能，已有研究提示 CTSF 可通过下调 Bcl-2 蛋白表达抑制肿瘤细胞恶性表型[28-29]。在 AML 中也曾观察到，Bcl-2 异常高表达，是白血病细胞存活及耐药的关键分子[30-31]。本研究结果丰富了 Bcl-2 家族蛋白的上游调控网络，也为理解 AML 的表观遗传致病机制提供了新视角。

本研究明确了 KDM5B 调控 AML 发病的一种可能的潜在机制，即通过调控 CTSF/Bcl-2 轴发挥作用，提示靶向 KDM5B/CTSF/Bcl-2 轴可能成为 AML 治疗及克服耐药的新策略。但该研究也存在一定局限性，临床样本量有限，未探究 KDM5B/CTSF/Bcl-2 轴在 AML 中的临床意义以及与 AML 耐药的作用关系，这也是后续研究的一个重要方向。

4 结论

综上所述，AML 中 KDM5B 高表达，通过催化 CTSF 启动子区域 H3K4me3 去甲基化促进 CTSF 转录，并下调 Bcl-2 表达，进而促进 AML 细胞的恶性表型，靶向 KDM5B/CTSF/Bcl2 轴可能成为 AML 治疗的潜在靶点。

参考文献：

[1] SHIMONY S, STAHL M, STONE RM. Acute myeloid leukemia: 2025 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. Am J Hematol, 2025, 100(5): 860-891.

[2] WYSOTA M, KONOPLEVA M, MITCHELL S. Novel therapeutic targets in acute myeloid leukemia (AML)[J]. Curr Oncol Rep, 2024, 26(4): 409-420.

[3] ROBOZ GJ, CANAANI J. How I use maintenance therapy in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2025, 145(12): 1273-1281.

[4] SHIMONY S, STAHL M, STONE RM. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. Am J Hematol, 2023, 98(3): 502-526.

[5] XHABIJA B, KIDDER BL. KDM5B is a master regulator of the H3K4-methylome in stem cells, development and cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2019, 57: 79-85.

[6] JOSE A, SHENOY GG, SUNIL RODRIGUES G, *et al*. Histone demethylase KDM5B as a therapeutic target for cancer therapy[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8): 2121.

[7] CAO Y, WU C, MA L. Lysine demethylase 5B (KDM5B): A key regulator of cancer drug resistance[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2024, 38(1): e23587.

[8] REN Z, KIM A, HUANG YT, *et al*. A PRC2-KDM5B axis sustains tumorigenicity of acute myeloid leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(9): e2122940119.

[9] LU N, HUANG X, LIANG X, *et al*. Expression, prognosis, and functional analysis: KDM5B in acute myeloid leukaemia (Non-M3)[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2025, 35(4): 426-435.

[10] HUANG J, JIN S, GUO R, *et al*. Histone lysine demethylase KDM5B facilitates proliferation and suppresses apoptosis in human acute myeloid leukemia cells through the miR-140-3p/BCL2 axis[J]. RNA, 2024, 30(4): 435-447.

[11] CHAN LH, YAN Q. Awakening KDM5B to defeat leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(13): e2202245119.

[12] 尹为华, 李小秋. 第5版WHO造血与淋巴组织肿瘤分类组织细胞/树突细胞肿瘤及淋巴组织间质源性肿瘤解读[J]. 中华病理学杂志, 2024, 53(1): 12-15.

[13] LIU L, LIU H, LIU L, *et al*. Apicidin confers promising therapeutic effect on acute myeloid leukemia cells via increasing QPCT expression[J]. Cancer Biol Ther, 2023, 24(1): 2228497.

[14] CHAKRABORTY S, PARK CY. Pathogenic mechanisms in acute myeloid leukemia[J]. Curr Treat Options Oncol, 2022, 23(11): 1522-1534.

[15] NARAYAN N, HUNTLY BJP. Targeting AML at the intersection of epigenetics and signaling[J]. Sci Signal, 2022, 15(730): eabo0059.

[16] ZHU Y, YANG W, WANG X, *et al*. AUP1 transcriptionally activated by KDM5B reprograms lipid metabolism to promote the malignant progression of cervical cancer[J]. Int J Oncol, 2024, 65(5): 107.

[17] LI L, ZHU G, TAN K, *et al*. CUX2/KDM5B/SOX17 axis affects the occurrence and development of breast cancer[J]. Endocrinology, 2022, 163(9): bqac110.

[18] ROBERTSON AG, MEGHANI K, COOLEY LF, *et al*. Expression-based subtypes define pathologic response to neoadjuvant immune-checkpoint inhibitors in muscle-invasive bladder cancer[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2126.

[19] HAO F. Systemic profiling of KDM5 subfamily signature in non-small-cell lung cancer[J]. Int J Gen Med, 2021, 14: 7259-7275.

[20] YAN G, LI S, YUE M, *et al*. Lysine demethylase 5B suppresses CC chemokine ligand 14 to promote progression of colorectal cancer through the Wnt/β-catenin pathway[J]. Life Sci, 2021, 264: 118726.

[21] LIU J, NIE C. KDM5B regulates the PTEN/PI3K/Akt pathway to increase sorafenib-resistance in hepatocellular carcinoma[J]. Anticancer Drugs, 2022, 33(9):840-849.

[22] JI C, ZHAO Y, KOU YW, *et al*. Cathepsin F knockdown induces proliferation and inhibits apoptosis in gastric cancer cells[J]. Oncol Res, 2018, 26(1): 83-93.

[23] ZHOU X, CHEN H, HUANG D, *et al*. Reduced expression of cathepsin F predicts poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 13556.

[24] FROLOVA AS, TIKHOMIROVA NK, KIREEV II, *et al*. Expression, intracellular localization, and maturation of cysteine cathepsins in renal embryonic and cancer cell lines[J]. Biochemistry (Mosc), 2023, 88(7): 1034-1044.

[25] SONG L, WANG X, CHENG W, *et al*. Expression signature, prognosis value and immune characteristics of cathepsin F in non-small cell lung cancer identified by bioinformatics assessment[J]. Bio Med Central Pulm Med, 2021, 21(1): 420.

[26] VAZQUEZ-ORTIZ G, PINA-SANCHEZ P, VAZQUEZ K, *et al*. Overexpression of cathepsin F, matrix metalloproteinases 11 and 12 in cervical cancer[J]. Bio Med Central Cancer, 2005, 5: 68.

[27] WANG Y, MEI J, ZHANG Y, *et al*. Cathepsin F genetic mutation is associated with familial papillary thyroid cancer[J]. Am J Med Sci, 2022, 364(4): 414-424.

[28] GAO D, YIN J, TIE P, *et al*. Bioinformatics analysis reveals CTSF suppresses tumor cell malignant phenotype and CD8+T cell exhaustion by downregulating Bcl-2 protein in the microenvironment of bladder cancer[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2025, 398(10): 14273-14289.

[29] FLORES-ROMERO H, GARCíA-SáEZ AJ. The incomplete puzzle of the BCL2 proteins[J]. Cells, 2019, 8(10): 1176.

[30] ZHANG Q, RILEY-GILLIS B, HAN L, *et al*. Activation of RAS/MAPK pathway confers MCL-1 mediated acquired resistance to BCL-2 inhibitor venetoclax in acute myeloid leukemia[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 51.

[31] TATARATA QZ, WANG Z, KONOPLEVA M. BCL-2 inhibition in acute myeloid leukemia: resistance and combinations[J]. Expert Rev Hematol, 2024, 17(12): 935-946.

（编辑：沈佳婕）