

Progress in Research of miRNA in Multiple Myeloma

Fen Yang, Hong Han*

Department of Hematology, Liyuan Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, China

Email address:

15210299747@163.com (Fen Yang), hanhongy65@163.com (Hong Han)

*Corresponding author

To cite this article:

Fen Yang, Hong Han. Progress in Research of miRNA in Multiple Myeloma. *Asia-Pacific Journal of Medicine*. Vol. 3, No. 1, 2019, pp. 5-8.

Received: January 6, 2020; **Accepted:** March 3, 2020; **Published:** March 16, 2020

Abstract: Objective: Small interfering RNA (miRNA) is a kind of endogenous small RNA with 20-24 nucleotides in length. It is speculated that miRNA regulates one third of human genes. In this paper, the research status and progress of miRNA in the field of multiple myeloma (MM) were summarized to provide data for the follow-up study, and to seek breakthrough points, methods and demonstration basis. Methods: By inputting key words and so on, literatures were searched in the bibliographic databases of Cnki, PubMed, Google, etc., and read online or downloaded to analyze and summarize. Results: 419 related literatures were successfully retrieved, 57 were intensively read and 17 were cited. Conclusion: Abnormally expressed miRNAs promote the occurrence and development in Multiple Myeloma, and have very important role in diagnosis, prognosis and drug resistances in MM.

Keywords: miRNAs, Multiple Myeloma, Abnormal Expression, Diagnosis, Prognosis, Drug Resistance

小干扰RNA在多发性骨髓瘤中的研究进展

杨芬, 韩红*

华中科技大学同济医学院附属梨园医院血液内科, 武汉, 中国

邮箱

15210299747@163.com (杨芬), hanhongy65@163.com (韩红)

摘要: 目的: 小干扰RNA(miRNA)是一类内生的、长度约20-24个核苷酸的小RNA, 据推测miRNA调节着人类三分之一的基因。本文通过了解miRNA在多发性骨髓瘤(Multiple Myeloma, MM)领域的研究现状及进展, 为后续研究提资料, 并寻求突破点、方法和论证依据。方法: 通过输入关键词、作者等, 在中国知网、PubMed、谷歌学术等专业文献库里检索文献, 并在线或下载阅读, 分析总结。结果: 成功检索到了相关文献419篇, 精读57篇, 引用17篇。结论: 异常表达的miRNAs促进了MM的发生、发展, 并在MM的诊断、预后、耐药方面具有重要意义。

关键词: miRNAs, 多发性骨髓瘤, 异常表达, 诊断, 预后, 耐药

1. 引言

多发性骨髓瘤(Multiple Myeloma, MM)是浆细胞异常增生的恶性肿瘤, 是第二大最常见的血液系统肿瘤[1]。MM是由体内基因改变与骨髓微环境改变, 并相互作用而引起的一种系统性的疾病, 临床表现为骨质破坏、贫血、

肾功能损害及感染等[2]。其早期诊断率低而治疗效果仍不尽人意。新型药物蛋白酶体抑制剂(如硼替佐米、卡非佐米)、免疫调节剂(如沙利度胺、来那度胺)、蛋白酶体抑制剂与传统化疗药物联合应用、及造血干细胞移植给MM的治疗带来了十分重要的改变, 患者的完全缓解率、无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)显著提高。但到目前为止, 仍

存在耐药及复发难治等难题, 因此, MM仍然是一种不可治愈的疾病[3], 为进一步提高诊疗效果, 需要我们更加深入地揭示MM的发病机制。

小干扰RNA(miRNA)是一段由18-25个核苷酸组成的非编码蛋白质的保守序列, 通过与mRNAs的3'-UTR结合而抑制翻译或降解靶向mRNAs, 在细胞生长、增殖、分化及凋亡等方面发挥重要作用。miRNA异常表达与体内多种癌症的发生、发展有着密切的联系, 如MM、乳腺癌、胃癌、前列腺癌等。现将miRNAs在MM中的异常表达及其在MM诊断、预后及耐药中的研究进展总结如下。

2. 与MM密切相关的miRNAs

2.1. mir-15a

MM患者最常见细胞遗传学改变是13q14⁻, 约占总遗传学改变的54%, 而mir-15a定位于13q14。研究证实mir-15a作为一种抑癌基因, 在MM发病机制中起着重要的作用。Hao[4]等研究发现, 骨髓基质细胞通过抑制mir-15a的表达而发挥拮抗硼替佐米诱导的骨髓瘤细胞凋亡的作用, 即mir-15a表达受抑后, 骨髓瘤细胞凋亡受阻。Li[5]团队将该基因转染U266细胞使其表达上调后发现, mir-15a发挥抗肿瘤效应是通过以下两种方式来实现的: 一、抗血管新生: mir-15a抑制VEGF- α 转录后翻译并使其表达量下降, 进而抑制U266细胞血管的生成, 并进一步抑制U266细胞的生长; 二、抑制细胞生长: 即通过STAT3信号通路抑制bcl-2及VEGF- α 的表达, 并进一步抑制U266细胞的生长。sun[6]等研究也发现, VEGF是mir-15a影响肿瘤形成的机制之一, 此外, mir-15a通过靶向WT1及bcl-2抑制肿瘤细胞增殖。

2.2. mir-21

mir-21定位于17号染色体短臂, 研究发现作为一种癌基因, 其在包括血液系统恶性肿瘤在内的多种肿瘤中表达异常升高。mir-21在MM的发生、发展、复发及耐药过程中起着重要的作用, 同时也是判断患者预后的指标之一。Xiong[7]等发现mir-21的异常表达抑制了PIAS3的表达, 进而增强了TAT3信号通路的作用, 而PIAS3的表达下调又可增强mir-21的促癌功能, 由此形成正反馈效应导致骨髓瘤的发生; mir-21还可通过抑制PDCD4表达而激活NF- κ B途径、抑制PTEN表达而激活PI3K信号途径、通过抑制SPRY1、SPRY2、BTG2及MAPK途径促进MM瘤细胞发生发展。Munker[8]等发现硼替佐米可下调MM瘤细胞总mir-21表达, 下调的mir-21可增强肿瘤细胞对地塞米松及阿奇霉素的敏感性。与正常组相比, MM患者mir-21表达上调; 与新诊断MM患者相比, 复发难治性MM患者mir-21表达量升高更加明显。在血清 β_2 微球蛋白含量及DS分期较高的患者中, mir-21表达量较高, 这一现象提示mir-21与MM的严重程度及预后可能有着较密切的关系。

2.3. mir-29b

mir-29b是miRNA-29家族中一个重要的组成部分, 包括mir-29b-1与mir-29b-2, 前者定位于7q32.3, 而后者定位

于1q32.2。mir-29b在多种癌症中异常表达, 在少量实体瘤中充当癌基因的角色而表达增高, 如乳腺癌与胆管癌等, 而在大多数肿瘤中扮演抑癌基因的角色而表达降低, 如MM、急性粒细胞白血病、肺癌与胃癌等。其致癌作用或抑癌作用的发挥主要取决于其靶基因下游的效应分子。zhang[9]等采用基因芯片联合Q-PCR技术检测了来自骨髓的MM患者与正常对照人群的标本, 其结果是MM患者mir-29b显著下调。为了进一步探索其下调机制, 其团队以SKO-007与U266两种骨髓瘤细胞系作为研究对象, 以腺病毒作为载体, 将mir-29b基因转染到MM细胞内发现, MM细胞mir-29b表达上调, 并通过激活caspase-3而诱导肿瘤细胞凋亡; 其下游的效应分子Mcl-1与其自身的3'-UTR靶向结合后抑制了mRNA的翻译过程而介导肿瘤细胞凋亡。mir-29b还可通过细胞因子如IL-6来调节瘤细胞的凋亡过程。Amodio[10]等在对mir-29b的研究中, 也得出与zhang类似的结果, 即在体内外实验中均验证了mir-29b可抑制MM瘤细胞或瘤组织的生长及触发凋亡。mir-29b靶基因为编码SP1蛋白的基因, 通过与其靶基因结合而抑制SP1的表达, 而SP1表达水平受蛋白酶体的影响, 蛋白酶体抑制剂可抑制SP1表达。蛋白酶体抑制剂如硼替佐米可增强mir-29b对MM瘤细胞的毒性作用, 同时mir-29b可增强硼替佐米诱导的细胞毒作用, 因此mir-29b与硼替佐米具有协同抗MM作用。mir-29b还可通过影响GS3k-2b底物磷酸化而抑制PI3K-AKT信号途径, 最终实现抗肿瘤效应。至今为止, 研究发现的在诱导MM凋亡中还存的mir-29b作用的其它的靶基因有HDAC4、KDM2A、SCAP/SREBP-1等。

2.4. mir-17-92簇

mir-17-92簇是由mir-17、mir-18、mir-19a、mir-19b-1、mir-20及mir-92-1组成的、参与调节肿瘤细胞生长的基因簇, 定位于13q31.3, 既具有癌基因功能, 又具有抑癌基因功能。多项研究证实, 其在多种恶性血液病中表达增高而表现出癌基因功能, 如: 在弥漫性大B细胞淋巴瘤中可抑制相关miRNAs而引起下游凋亡蛋白表达受阻, 如PTEN、E2F1及BIM等, 因此, 可促进肿瘤细胞增殖及抑制肿瘤细胞凋亡。Chen[11]等发现mir-17-92簇与癌基因MYC共同参与MM的发病并具有协同作用, 两者协同作用主要表现为: mir-17-92簇表达上调可增强MYC的癌基因功能, 同时MYC可通过激活mir-17-92簇而抑制MM瘤细胞表达抗凋亡蛋白Bim。通过检测意义未明单克隆免疫球蛋白血症(MGUS)患者、正常健康人与MM患者mir-17-92簇表达量发现, MM标本中mir-17-92簇表达量较MGUS与正常健康人明显增高, 这提示mir-17-92簇可能参与MGUS恶性进展为MM。

3. miRNAs与MM诊断及预后

检测体内异常表达的miRNAs可以辅助MM的诊断。Kubiczkova[12]等检测了正常健康人、新诊断MM患者、复发MM患者及MGUS患者血清中具有表达差异的miRNAs, 并通过Q-PCR的方法进一步证实发现, 联合检测mir-34a及let-7e的表达可区分MM患者与正常健康人, 其

敏感性为80.6%，特异性为86.7%；其区分MGUS与正常健康人的敏感性达91.1%，特异性为96.7%。mir-29a不仅可以作为多种癌症如直肠癌、乳腺癌、霍奇金淋巴瘤、胃癌等的诊断标志物之一，而且还可作为MM的诊断标志物，其敏感性为88%，特异性为70%。和正常人相比，mir-202在MM患者中表达量明显增高，作为诊断标志物之一，其敏感性为80%，特异性为60%。

检测体内异常表达的miRNAs可以协助MM预后的判断。mir-744与let-7e可作为MM生存期的预后指标，若体内mir-744与let-7e表达量下调，MM患者生存期将缩短并且疾病进展更为迅速。mir-744与let-7e定位17q12，这可能与后者缺失有关。17q12所在区域与包括TP53、BRCA1与FBXO47等在内的肿瘤相关抑制基因区域十分靠近，17q12缺失常常提示预后较差。Yoshizawa[13]等发现在MM发病的各个阶段mir-92a表达量表达不同。Qu[14]等研究发mir-483-5p与患者PFS密切相关，mir-483-5p表达上调组的中位PFS为15个月，而mir-483-5p表达下调组的中位PFS为21个月。

4. miRNAs与MM耐药

哪些miRNAs参与了MM细胞的耐药及其在耐药机制中的作用正逐步成为肿瘤治疗研究中的新热点。Munker[15]等通过基因芯片研究了MM细胞及耐药细胞株，即RPMI8226、U266、RPMI8226（RPMI8226/Dox6与RPMI8226/LR5）及U266耐药株（U266Dox与U266/LR7）筛查出有差异的miRNAs，并用qRT-PCR进一步验证相关基因，发现RPMI8226较RPMI8226耐药株、U266较U266耐药株mir-21明显上调，这提示mir-21参与耐药株对化疗药物的耐药的发生。CDK5作为一种原癌基因在MM患者中高度表达，并且此类患者预后较差。mir-27a可通过抑制CDK5的表达增强MM瘤细胞对硼替佐米敏感，而对硼替佐米耐药的细胞系的mir-27a表达量明显下调。Zhang[16]等发现在对硼替佐米耐药的MM瘤细胞系中，多种miRNAs（mir-16-5p、mir-15a-5p、mir-20a-5p及mir-17-5p）表达下调，这就提示这些下调的miRNAs与MM瘤细胞的耐药性密切相关。另外，MM瘤细胞耐药也与一些miRNAs上调有关，mir-221/222[17]在MM患者体内表达上调，抑制马法兰耐药细胞系（U266/LR7）表达mir-221/222可增强该对马法兰的敏感性。可能与mir-221/222表达增强机制有关的基因还有BBC3/PUMA、SLC7A5/LAT1及ABCC1/MRP1，这些基因最终启动了耐药细胞系的凋亡过程。同时，当mir-221/222抑制剂（LNA-i-mir-221）联合其它药物用于治疗负载对马法兰耐药的人骨髓瘤细胞小鼠时发现，瘤细胞生长受抑。上述研究均表明miRNAs参与MM瘤细胞耐药。

5. 结论

越来越多的实验数据表明，了解体内miRNAs的异常表达对于MM诊断、评价预后及判断对药物的反应有着重要的意义，但是仍有些问题尚未解决。首先，异常表达的

miRNAs是来源于肿瘤细胞死亡溶解后产生还是来源于肿瘤细胞或是免疫细胞分泌的尚不清楚；再次，为了提高对MM及其早期（意义未明的单克隆免疫球蛋白血症，MGUS）阶段诊断及治疗后疗效评价的准确性，应当加强对miRNAs表达谱的研究；最后，研究结论来自动物或临床小样本的数据，其可靠性还需要更大数量的临床样本研究来证实。

总之，miRNA在MM发病机制中起重要作用，也是临床治疗MM的重要分子靶向目标，对其进行更加深入的研究，将为我们全面认识并攻克MM这一难题提供帮助。

参考文献

- [1] Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood* 2008; 111 (6): 2962–2972.
- [2] Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (11): 1046–1060.
- [3] Moreau P, Masszi T, Grzasko N, et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374 (17): 1621–1634.
- [4] Hao M, Zhang L, An G, et al. Bone marrow stromal cells protect myeloma cells from bortezomib induced apoptosis by suppressing mirNA-15a expression, *Leuk. Lymphoma* 52 (2011) 1787–1794.
- [5] Li F, Xu Y, Deng S, et al. MicroRNA-15a/16-1 cluster located at chromosome13q14 is down-regulated but displays different expression pattern and prognostic significance in multiple myeloma, *Oncotarget* 6 (2015) 38270–38282.
- [6] Sun CY, She XM, Qin Y, et al. mir-15a and mir-16 affect the angiogenesis of multiple myeloma by targeting VEGF, *Carcinogenesis* 34 (2013) 426–435.
- [7] Xiong Q, Zhong Q, Zhang J, et al. Identification of novel mir-21 target proteins in multiple myeloma cells by quantitative proteomics. *J Proteome Res.* 2012; 11: 2078–90.
- [8] Benetatos L, Vartholomatos G. Deregulated microRNAs in multiple myeloma. *Cancer*. 2012; 118: 878–87.
- [9] Y.K. Zhang, H. Wang, Y. Leng, et al. Overexpression of microRNA-29b induces apoptosis of multiple myeloma cells through down regulating Mcl-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 414 (2011), pp. 233–239.
- [10] N. Amodio, M.T. Di Martino, U. Foresta, et al. mir-29b sensitizes multiple myeloma cells to bortezomib-induced apoptosis through the activation of a feedback loop with the transcription factor Sp1. *Cell Death Disease*, 3 (2012), p. e436.
- [11] Chen LJ, Li CM, Zhang R, et al. mir-17-92 cluster microRNAs confers tumorigenicity in multiple myeloma. 2011, 309 (1): 62-70.
- [12] Kubiczakova L, Kryukov F, Slaby O, et al. Circulating serum microRNAs as novel diagnostic and prognostic biomarkers for multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Haematologica*, 2014, 99: 511–518.

- [13] Yoshizawa S, Ohyashiki JH, Ohyashiki M, et al. Downregulated plasma mir-92a levels have clinical impact on multiple myeloma and related disorders. *Blood Cancer J*, 2012, 2: e53
- [14] Qu X, Zhao M, Wu S, et al. Circulating microRNA 483-5p as a novel biomarker for diagnosis survival prediction in multiple myeloma. *Med Oncol*, 2014, 31: 219.
- [15] Munker R, Liu CG, Taccioli C, et al. MicroRNA profiles of drug-resistant myeloma cell lines. *Acta Haematol* 2010; 123: 201-204.
- [16] Zhang L, Pan L, Xiang B, et al. Potential role of exosome-associated microRNA panels and *in vivo* environment to predict drug resistance for patients with multiple myeloma. *Oncotarget* 2016; doi: 10.18632/oncotarget.9021.
- [17] Gulla A, Di Martino MT, Gallo Cantafio ME, et al. A 13mer LNA-i-mir-221 Inhibitor Restores Drug Sensitivity in Melphalan-Refractory Multiple Myeloma Cells. *ClinCancer Res* 2016; 22: 1222-1233.