

Research Progress of miRNA in Multiple Myeloma

Linlin Liu^{1,2}, Hongling Hao^{2*}

¹Graduate School, North China University of Science and Technology, Tangshan Hebei

²Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang Hebei

Email: *h0707@163.com

Received: Nov. 19th, 2019; accepted: Dec. 2nd, 2019; published: Dec. 9th, 2019

Abstract

MicroRNA (miRNA) is endogenous non-coding small RNA involved in post-transcriptional gene expression regulation. With the increasing recognition of miRNA, it has been found to affect the development and progression of multiple myeloma by affecting the growth, proliferation, clonal formation and apoptosis of MM cell. This review summarizes current research advances about roles of miRNA in the biological mechanism of multiple myeloma, including pathogenesis, diagnostic value, treatment, and prognosis.

Keywords

MicoRNAs, Multiple Myeloma

miRNA在多发性骨髓瘤中的研究进展

刘琳琳^{1,2}, 郝洪岭^{2*}

¹华北理工大学研究生学院, 河北 唐山

²河北省人民医院血液科, 河北 石家庄

Email: *h0707@163.com

收稿日期: 2019年11月19日; 录用日期: 2019年12月2日; 发布日期: 2019年12月9日

摘 要

微小RNA(miRNA)是内源性非编码小RNA, 参与转录后基因表达调控, 随着对miRNA认识的不断增加, 发现其通过影响骨髓瘤细胞的生长、增殖、克隆形成、凋亡, 参与了多发性骨髓瘤的发生发展, 本文总结了当前关于miRNA在多发性骨髓瘤发病机制、诊断价值、治疗及预后中的相关研究进展。

*通讯作者。

关键词

微小RNAs, 多发性骨髓瘤

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种异质性很强的浆细胞来源的恶性肿瘤, 约占血液系统恶性肿瘤的10%。越来越多的研究表明, 微小RNA (microRNA, miRNA)在MM的发生、发展等过程中发挥了关键的作用。miRNA是长度为18~24个单链非编码RNA, 通过与靶基因mRNA非翻译区(3'UTR)特异性结合, 直接调控转录后基因表达。本文就miRNA在MM中的异常表达及意义作一综述。

2. miRNA与MM发病机制

大量研究表明, MM的发病机制与miRNA异常表达有关。Qi等[1]对87例MM患者进行研究, 观察到miR-335表达下降。基于miRNA表达减少可能与启动子高甲基化有关这一观点, Qi等人利用生物信息学软件分析miR-335的启动子, 定位出许多容易发生甲基化修饰的CpG岛, 检测U266和正常人骨髓基质细胞HS-5细胞的甲基化水平, 发现U266细胞中甲基化水平(78.8%)显著高于HS-5细胞(57.5%)。进一步检测MM患者和健康对照的甲基化状态, 结果示87例MM患者中11例MM患者的miR-335启动子完全甲基化, 76例患者miR-335启动子部分甲基化, 而健康对照组甲基化miR-335的比例仅为50%。用5-氮杂胞苷处理MM细胞株, 观察到miR-335的表达水平显著增加。在MM细胞株中转染miRNA-335模拟物和miRNA-335抑制剂, 发现转染miRNA-335模拟物的细胞株迁移能力显著下降, 但并未影响细胞的增殖和凋亡, 通过生物信息学方法和荧光素酶报告基因法证实miR-335的靶基因是IGF-1R。简言之, miR-335在MM中通过靶向IGF-1R抑制细胞转移, 但启动子高甲基化抑制了miR-335表达。

Long等[2]对27例MM患者和11例健康者的骨髓穿刺液进行研究, 发现MM患者的miR-765显著升高。将miR-765抑制剂转染到MM细胞株, 在不同时间点进行细胞计数, 发现miR-765的下调在48小时和72小时显著抑制了U266和RPMI-8226细胞株增殖, 通过流式细胞术分析发现转染miR-765抑制剂的U266和RPMI-8226细胞的凋亡率明显升高, 表明miR-765可能在MM的发生发展中起致癌作用。通过生物信息学和荧光素酶试验证实miR-765的直接靶基因是SOX6, 该基因参与多种类型人类肿瘤的发生发展。

Zhang等[3]对30例MM患者和10例健康人进行研究, 发现MM患者miR-15a和miR-16的表达是明显下降。将miR-15a和miR-16转染MM细胞株, 通过RT-qPCR和蛋白质印迹技术发现CABIN1 mRNA和蛋白质水平均减低。CABIN1的过表达可抑制p53在靶基因的转录活性, 包括CDKN1A[4]。进一步将miR-15、miR-16和CABIN1 siRNA分别转染MM细胞株, 应用蛋白印迹技术发现miR-15、miR-16或CABIN1 siRNA均降低了MM细胞株CABIN1和p53下游基因CDKN1A的表达, 表明miR-15a和miR-16的下调促进CABIN1表达, 参与了MM的发生发展。

Lu 等[5]观察到 MM 患者 miR-320a 的表达下降。通过研究 miR-320a 在 MM 中的生物学功能, 结果显示 miR-320a 过表达可显著抑制 MM 细胞生存和克隆形成, 诱导 MM 细胞凋亡。蛋白印迹分析发现在 MM 细胞株中过表达 miR-320a 可显著提高细胞凋亡蛋白(活化凋亡蛋白多聚 ADP-核糖聚合酶、活化半胱氨酸蛋白酶蛋白-3)的水平, 且发现 miR-320a 的靶基因是 PBX3, 提示 miR-320a 在 MM 中是一种抑癌基因。

miR-17-92 簇是编码 6 个 miRNA (miR-17、miR-18a、miR-19a、miR-19b、miR-20a 和 miR-92) 的多顺反子基因, 它被认为在许多癌症的发挥了关键作用。Wang 等[6]发现 MM 患者 miR-19b 明显升高。将 miR-19b 模拟物转染 MM 肿瘤干细胞, 发现 miR-19b 模拟物可促进 MM 肿瘤干细胞克隆、增殖, 且通过调节活化的细胞凋亡蛋白酶 3 的表达抑制 MM 肿瘤干细胞凋亡, 并且证实了 miR-19b 的靶基因是 TSC1。通过定量逆转录 PCR 和蛋白印迹分析发现 MM 患者的 TSC1 mRNA 水平明显低于健康受试者, 而 p-S6K 蛋白水平明显高于健康受试者, 说明 miR-19b 通过调控 TSC1 和 p-S6K 的表达诱导 MM 的肿瘤形成。Zhang 等[7]对 MM 细胞株和正常骨髓细胞进行了研究, 发现 MiR-19a 在 MM 细胞株中明显升高。将 miR-19a 模拟物/抑制剂转染 MM 细胞株, 结果显示 miR-19a 增强 MM 细胞的增殖及侵袭性, 降低了药物诱导凋亡的敏感性。深入研究发现 miR-19a 通过调节 PTEN/AKT/pAKT 途径调节 MM 细胞凋亡和耐药性, 说明 miR-19a 在 MM 的发生发展中扮演了致癌基因的作用。Yuan 等[8]检测了新诊断的 MM (newly diagnosed MM, NDMM) 患者、复发难治性 MM (relapsed refractory MM, RRMM) 患者、完全缓解 (complete remission, CR) 患者和健康受试者血清中 miR-19b/20a 的表达水平, 结果显示与健康受试者相比, NDMM 和 RRMM 患者 miR-19b/20a 的表达明显升高; 与 NDMM 患者相比, CR 时 miR-19b/20a 的表达明显降低。进一步研究发现 NDMM 患者骨髓活检标本 CD138+ 细胞 miR-19b/20a 表达明显高于健康对照组。通过细胞转染技术, 发现 miR-19b/20a 的过表达增强了 U266 细胞株的增殖、迁移和抗凋亡能力。并且证实了 miR-19b 和 miR-20a 直接靶向 PTEN 基因, 说明 miR-19b/20a 在 MM 中是通过抑制 PTEN 发挥致癌作用。

3. miRNA 与 MM 相关基础研究

表观遗传学异常在血液系统恶性肿瘤中很常见, 组蛋白去乙酰化酶 (HDACs) 是调节组蛋白和非组蛋白乙酰化状态的关键酶, 早期研究表明 HDAC 调控参与癌症发生发展基因的表达。HDAC 的过度表达促进癌细胞的侵袭, 迁移, 血管生成, 降低细胞的粘附和凋亡。Nicola Amodio 等[9]研究了 miR-29b 在抑制异常 HDAC 活性的作用, 以及 miR-29b 的表达是否可以通过乙酰化来控制, 证实 miR-29b 可抑制 HDAC4 表达, 且 HDAC4 抑制引起 miR-29a/b-1 启动子区域内组蛋白 H4 的高乙酰化, 导致 miR-29b 表达增加。miR-29b 和 HDAC4 之间存在负反馈调节, 在小鼠 MM 移植模型中, 观察 HDAC4 抑制剂的疗效, 结果显示各组疗效依次为 HDAC4 抑制剂联合 miR-29b 模拟物组 > miR-29b 模拟物组 > HDAC4 抑制剂 > 阴性对照组。

Wu 等[10]发现 MiR-34a 过表达抑制 MM 细胞增殖、克隆形成, 且促进 MM 细胞凋亡。在非肥胖糖尿病合并重度免疫缺陷的小鼠移植模型中, 发现 MM 肿瘤干细胞中 miR-34a 的过度表达降低了小鼠的致瘤性和溶骨性病变, 并且证实 miR-34a 的直接靶基因是 TGIF2。

Nicola Amodio 等[11]发现 miR-155 在 MM 细胞中下调, 将 miR-155 模拟物转染 MM 细胞株, 结果显示 miR-155 通过增加细胞周期抑制剂 p21 的表达抑制 MM 细胞生长, 通过增加天冬氨酸蛋白水解酶-3 (caspase-3) 和天冬氨酸蛋白水解酶-7 (caspase-7) 的裂解诱导 MM 细胞凋亡, 进一步研究发现 miR-155 过表达可以增强硼替佐米抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡的作用。进一步体内实验, 将携带 miR-155 的慢病毒转导 OPM2 细胞株移植到小鼠体内, 结果显示 miR-155 可以增强硼替佐米抑制 MM 肿瘤的生长作用。

用。

Yuan 等[12]发现 MM 耐药细胞株 8266-BR 和 H929-BR 的耐药相关蛋白 MDR1 表达明显升高。进一步研究发现在耐药细胞株 8266-BR 和 H929-BR 中 miR-520g 和 miR-520h 表达显著下降。miR-520g 和 miR-520h 均位于人类 19 号染色体上, 通过结合位点的在线数据库及荧光素酶报告实验证实 miR-520g 和 miR-520h 靶向 APE1。将 miR-520g + miR-520h 的慢病毒载体转染 RPMI-8226R5 MM 细胞, 皮下注射到小鼠体内, 结果示 miR-520g + miR-520h 的慢病毒载体转染 RPMI-8226R5 MM 细胞组生长较阴性对照组慢, 说明 miR-520g 和 miR-520h 的联合过表达抑制了小鼠模型中硼替佐米耐药 MM 肿瘤的生长, 为治疗硼替佐米耐药的 MM 提供了新的靶点。

Yuan 等[8]将 miR-20a 慢病毒载体和 miR-20a 抑制剂慢病毒载体分别稳定转染 U266 细胞, 并注射到小鼠体内, 发现 miR-20a 可以在小鼠体内促进肿瘤生长, miR-20a 抑制剂可以抑制小鼠体内的肿瘤形成。进一步研究发现在接受空载体 U266 细胞的小鼠相比, 注射慢病毒-miR-20a 抑制剂转染的 U266 细胞的小鼠的寿命显著延长, 提示 miR-20a 抑制剂具有抗肿瘤作用。肿瘤切除标本的免疫组织化学分析显示, 与接受空载体 U266 细胞的小鼠相比, 注射慢病毒-miR-20a 抑制剂转染的 U266 细胞的小鼠的肿瘤组织 Ki67 表达更低, Bcl-2 表达更高。

Xu 等[13]将 MM 的 LP1 细胞株皮下注射到雌性裸鼠体内, 当肿瘤可触及时, 将小鼠随机分为两组, 分别将 miR-26a 模拟物或阴性对照注入到肿瘤, 试验结束后将肿瘤组织切除, 结果显示相比阴性对照, 注射 miR-26a 模拟物的肿瘤重量轻, 提示 miRNA-26a 可抑制肿瘤生长。

4. miRNA 在 MM 中的诊断及预后价值

4.1. miRNA 在 MM 中的诊断价值

有研究表明硫酸软骨素蛋白聚糖在 MM 的诊断中具有较高的敏感性和特异性, 且发现其表达受 miRNA 的调节。Nidhi Gupta 等[14]研究了 miRNA (miR-143, miR-144, miR-199, miR-203)和硫酸软骨素蛋白聚糖在 MM 中的表达, 结果示随着疾病的进展, 硫酸软骨素蛋白聚糖水平越高, 则 miRNA 水平越低, 通过 ROC 曲线, 发现 miR-203 对 MM 的诊断具有较高的敏感性和特异性。

Jiang 等[15]对 35 例 MM 患者进行研究, 发现 MM 患者血清 miR-125b-5p 显著升高, miR-125b-5p 能够准确区分 MM 患者和健康受试者, 通过 ROC 曲线分析, 结果显示 miR-125b-5p 的曲线下面积为 0.954, 敏感性为 86%, 特异性为 96% (95%置信区间: 0.901~1.006; $P < 0.001$), 证明 miR-125b-5p 在 MM 中具有较高的诊断意义。

Qi 等[1]利用 ROC 曲线探索 miR-335 的诊断作用, 曲线下面积为 0.7786 (95%CI: 0.7010~0.8562), 临界值为 34.86 时, 敏感性为 60.92%, 特异性为 89.13%, 对部分患者进行随访, 发现接受化疗的 18 例 MM 患者, 化疗后 miR-335 表达升高, 25 例 MM 患者复发后, miR-335 的表达降低。因此 miR-335 可用于 MM 的诊断和预测疾病进展。

4.2. miRNA 在 MM 中的预后价值

Che 等[16]发现 MM 患者的 miR-27 明显升高, 分析显示高表达 miR-27 的患者具有更高的风险分层 (IMWG 及 IPSS), 提示 miR-27 表达越高则预后越差。

Ren 等[17]发现 MM 患者 miRNA-720 和 miRNA-1246 表达明显增加, 研究表明化疗后 miRNA-720 和 miRNA-1246 水平下降的患者无进展生存为 17.84 个月, 而升高的患者无进展生存为 12.40 个月, 提示 miRNA-720 和 miRNA-1246 水平越高, 患者预后越差。治疗前后动态监测对临床预后具有指导意义。

Hao 等[18]观察到 MM 患者血清中 miR-214 和 miR-135b 明显增高。收集 104 例新诊断的 MM 患者的全身 X 线扫描资料, 以 X 线结果作为有无溶骨性损害的依据, 结果显示相比没有溶骨性病变的 MM, 有溶骨性病变患者血清中的 miR-214 和 miR-135b 水平更高。进一步研究发现 miR-214 越高, 患者的无进展生存期和总生存期越短。

5. 结语

自 1993 年 miRNAs 被发现以来, 人们对其在多发性骨髓瘤发病和进展中作用的认识逐渐提高, 但目前的研究报道大多样本量偏小, 尚需更多的研究进一步证明 miRNAs 在 MM 的发病机制、诊断、治疗及预后中的作用。

参考文献

- [1] Qi, J., Shi, L.Y., Wu, Y., *et al.* (2019) Epigenetic Silencing of miR-335 Induces Migration by Targeting Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor in Multiple Myeloma. *Leukemia & Lymphoma*, **13**, 1-11. <https://doi.org/10.1080/10428194.2019.1627534>
- [2] Long, S., Long, S., He, H., *et al.* (2019) MicroRNA-765 Is Pregulated in Multiple Myeloma and Serves an Oncogenic Role by Directly Targeting SOX6. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **17**, 4741-4747. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7473>
- [3] Zhang, L., Zhou, L., Shi, M., *et al.* (2018) Downregulation of miRNA-15a and miRNA-16 Promote Tumor Proliferation in Multiple Myeloma by Increasing CABIN1 Expression. *Oncology Letters*, **15**, 1287-1296. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7424>
- [4] Jang, H., Choi, S.Y., Cho, E.J., *et al.* (2009) Cabin1 Restrains p53 Activity on Chromatin. *Nature Structural & Molecular Biology*, **16**, 910-915. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1657>
- [5] Lu, Y., Wu, D., Wang, J., *et al.* (2016) miR-320a Regulates Cell Proliferation and Apoptosis in Multiple Myeloma by Targeting Pre-B-Cell Leukemia Transcription Factor 3. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **473**, 1315-1320. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.069>
- [6] Wang, N., Liang, X., Yu, W., *et al.* (2018) Differential Expression of MicroRNA-19b Promotes Proliferation of Cancer Stem Cells by Regulating the TSC1/mTOR Signaling Pathway in Multiple Myeloma. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **50**, 1804-1814. <https://doi.org/10.1159/000494821>
- [7] Zhang, X., Chen, Y., Zhao, P., *et al.* (2017) MicroRNA-19a Functions as an Oncogene by Regulating PTEN/AKT/pAKT Pathway in Myeloma. *Leukemia & Lymphoma*, **58**, 932-940. <https://doi.org/10.1080/10428194.2016.1213827>
- [8] Yuan, J., Su, Z., Gu, W., *et al.* (2019) MiR-19b and miR-20a Suppress Apoptosis, Promote Proliferation and Induce Tumorigenicity of Multiple Myeloma Cells by Targeting PTEN. *Cancer Biomark*, **24**, 279-289. <https://doi.org/10.3233/CBM-182182>
- [9] Amodio, N., Stamato, M.A., Gullà, A.M., *et al.* (2016) Therapeutic Targeting of miR-29b/HDAC4 Epigenetic Loop in Multiple Myeloma. *Molecular Cancer Therapeutics*, **15**, 1364-1375. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0985-T>
- [10] Wu, S., He, X., Li, M., *et al.* (2016) MiRNA-34a Overexpression Inhibits Multiple Myeloma Cancer Stem Cell Growth in Mice by Suppressing TGIF2. *American Journal of Translational Research*, **8**, 5433-5443.
- [11] Amodio, N., Gallo Cantafio, M.E., Botta, C., *et al.* (2019) Replacement of miR-155 Elicits Tumor Suppressive Activity and Antagonizes Bortezomib Resistance in Multiple Myeloma. *Cancers (Basel)*, **11**, 236. <https://doi.org/10.3390/cancers11020236>
- [12] Yuan, X., Ma, R., Yang, S., *et al.* (2019) miR-520g and miR-520h Overcome Bortezomib Resistance in Multiple Myeloma via Suppressing APE1. *Cell Cycle*, **18**, 1660-1669. <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1632138>
- [13] Xu, Y.Y., Song, Y.Q., Huang, Z.M., *et al.* (2019) MicroRNA-26a Inhibits Multiple Myeloma Cell Growth by Suppressing Cyclin-Dependent Kinase 6 Expression. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, **35**, 277-283. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12057>
- [14] Gupta, N., Kumar, R., Seth, T., *et al.* (2019) Clinical Significance of Circulatory microRNA-203 in Serum as Novel Potential Diagnostic Marker for Multiple Myeloma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **145**, 1601-1611. <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02896-1>
- [15] Jiang, Y., Luan, Y., Chang, H., *et al.* (2018) The Diagnostic and Prognostic Value of Plasma microRNA-125b-5p in

Patients with Multiple Myeloma. *Oncology Letters*, **16**, 4001-4007. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9128>

- [16] Che, F., Wan, C., Dai, J., *et al.* (2019) Increased Expression of miR-27 Predicts Poor Prognosis and Promotes Tumorigenesis in Human Multiple Myeloma. *Bioscience Reports*, **39**, BSR20182502. <https://doi.org/10.1042/BSR20182502>
- [17] Ren, Y., Li, X., Wang, W., *et al.* (2017) Expression of Peripheral Blood miRNA-720 and miRNA-1246 Can Be Used as a Predictor for Outcome in Multiple Myeloma Patients. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, **17**, 415-423. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2017.05.010>
- [18] Hao, M., Zang, M., Zhao, L., *et al.* (2016) Serum High Expression of miR-214 and miR-135b as Novel Predictor for Myeloma Bone Disease Development and Prognosis. *Oncotarget*, **7**, 19589-19600. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7319>