

# microRNA-202 激活 JNK/SAPK 信号通路增强多发性骨髓瘤细胞药物敏感性的研究

张艳 申娟娟 吴信华 丛辉 倪红兵 鞠少卿 苏建友

**【摘要】** 目的 研究 microRNA-202(miR-202)对多发性骨髓瘤(MM)细胞生长的影响,并初步探讨 miR-202 在 MM 细胞药物敏感性中的作用机制。方法 荧光定量 PCR 检测 miR-202 及其靶基因 B 淋巴细胞刺激因子(BAFF)在 MM 细胞中的表达水平。将 miR-202 模拟物、miR-202 抑制物、BAFF 干扰质粒(siBAFF)及其阴性对照转染 U266 细胞,Western blot 检测 Bcl-2 家族和 MAPK 信号通路蛋白的表达。WST-1 法、流式细胞术(Annexin V-FLUOS)分别检测转染后 U266 细胞的增殖和凋亡情况。结果 U266 细胞、MM 患者 CD138<sup>+</sup>细胞中 miR-202 mRNA 表达(分别为  $0.052 \pm 0.009$ 、 $0.304 \pm 0.354$ )均低于健康对照组( $3.550 \pm 1.126$ ) ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.009$ ),BAFF 表达水平( $5.700 \pm 0.734$ ,  $9.576 \pm 2.887$ )均高于健康对照组( $1.819 \pm 0.853$ ) ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.006$ )。miR-202 模拟物转染组细胞增殖抑制率高于对照组 [ $(56.04 \pm 0.02)\%$  对  $(18.89 \pm 0.32)\%$ ,  $P = 0.002$ ]。Western blot 结果显示,转染 miR-202 模拟物后,U266 细胞 Bcl-2 表达下调约 24%,而 Bax 蛋白的表达上调约 1.24 倍,miR-202 模拟物组细胞凋亡率高于对照组 [ $(49.60 \pm 4.89)\%$  对  $(26.20 \pm 1.28)\%$ ,  $P = 0.029$ ]。硼替佐米和 miR-202 模拟物联合组细胞凋亡率为  $(51.23 \pm 5.41)\%$ ,高于硼替佐米单独处理组  $(31.70 \pm 4.40)\%$  和硼替佐米与模拟物对照联合处理组 [ $(51.23 \pm 5.41)\%$  对  $(31.70 \pm 4.40)\%$ ,  $P = 0.047$ ;  $(51.23 \pm 5.41)\%$  对  $(27.94 \pm 4.04)\%$ ,  $P = 0.028$ ],而 miR-202 模拟物联合沙利度胺和地塞米松与 miR-202 模拟物对照组相比差异无统计学意义 [ $(11.66 \pm 1.91)\%$  对  $(10.63 \pm 1.74)\%$ ,  $P = 0.700$ ;  $(16.35 \pm 1.32)\%$  对  $(17.43 \pm 1.95)\%$ ,  $P = 0.400$ ]。miR-202 模拟物联合硼替佐米对 U266 细胞的增殖抑制率高于硼替佐米单独处理组 [ $(36.93 \pm 5.98)\%$  对  $(18.18 \pm 4.10)\%$ ,  $P = 0.029$ ]。miR-202 模拟物及硼替佐米处理 U266 细胞后,p-JNK 蛋白表达水平下调。结论 miR-202 模拟物和硼替佐米可协同抑制 MM 细胞增殖、诱导其凋亡,可能通过 miR-202 负向调控靶基因 BAFF 的表达、抑制 JNK/SAPK 信号通路的活化来实现的。

**【关键词】** 多发性骨髓瘤; 微RNAs; 抗药性,肿瘤; 信号通路

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目(81271920、81301498); 江苏省重点研发专项(BE2015654); 江苏省卫计委科研课题(H201422、H201526)

**miR-202 contributes to sensitizing MM cells to drug significantly via activating JNK/SAPK signaling pathway** Zhang Yan<sup>\*</sup>, Shen Xianjuan, Wu Xinhua, Cong Hui, Ni Hongbing, Ju Shaoqing, Su Jianyou<sup>\*</sup>.  
<sup>\*</sup>Laboratory Medicine Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong Jiangsu 226001, China  
Corresponding author: Su Jianyou, Email: jianyousu@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the role of miR-202 in multiple myeloma (MM) cells, and study the regulation of miR-202 on drug sensitivity of MM cells. **Methods** miR-202 and BAFF mRNA levels were detected by real-time PCR. U266 cells were transfected with miR-202-mimics, miR-202-inhibitor, siBAFF and their negative controls. After above treatments, protein levels of Bcl-2 family and MAPK signaling pathway were detected by Western blot analysis, and the proliferation and apoptosis ability of MM cells were examined by WST-1, Annexin V-FLUOS assay, respectively. **Results** The results showed that the expression of miR-202 in CD138<sup>+</sup> MM cells ( $0.304 \pm 0.354$ ) and U266 cells ( $0.052 \pm 0.009$ ) were lower than in normal controls ( $3.550 \pm 1.126$ ) ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.009$ ), whereas BAFF mRNA

levels ( $5.700 \pm 0.734$ ,  $9.576 \pm 2.887$ ) were higher than in normal controls ( $1.819 \pm 0.853$ ) ( $P < 0.001$ ,  $P = 0.006$ ). The proliferation ability of U266 cells transfected with miR-202 mimics was significantly inhibited than in control group [ $(56.04 \pm 0.021)\%$  vs  $(18.89 \pm 0.32)\%$ ,  $P = 0.002$ ]. The result of Western blot showed that the expression of Bcl-2 decreased by about 24%, and the expression of Bax increased by about 124% in cells transfected with miR-202 mimics. The apoptosis rate in cells transfected with miR-202 mimics was significantly more than in control group [ $(49.60 \pm 4.89)\%$  vs  $(26.20 \pm 1.28)\%$ ,  $P = 0.029$ ]. The apoptosis rate in miR-202 mimics combined with Bort group ( $51.23 \pm 5.41\%$ ) was higher as compared with Bort treatment alone ( $31.70 \pm 4.40\%$ ) or miR-202 mimics control combined with Bort group ( $27.94 \pm 4.04\%$ ), ( $P = 0.047$ ,  $P = 0.028$ ), whereas the apoptosis rate in miR-202 mimics combined with Thal or Dex had no significant difference compared with miR-202 mimics control [ $(11.66 \pm 1.91)\%$  vs  $(10.63 \pm 1.74)\%$ ,  $P = 0.700$ ;  $(16.35 \pm 1.32)\%$  vs  $(17.43 \pm 1.95)\%$ ,  $P = 0.400$ ]. The inhibitory rate of cell growth in miR-202 mimics combined with Bort group was higher as compared with Bort treatment alone [ $(36.93 \pm 5.98)\%$  vs  $(18.18 \pm 4.10)\%$ ,  $P = 0.029$ ]. The expressions of p-JNK protein decreased in U266 cells transfected with miR-202 mimics and treated with Bort. **Conclusion** miR-202 mimics combined with Bort could inhibit proliferation and induce apoptosis of U266 cells through negative regulating target gene BAFF, which further inhibited the JNK/SAPK signaling pathway.

**【Key words】** Multiple myeloma; MicroRNAs; Drug resistance, neoplasm; Signaling pathway

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81301498, 81271920); Key Project of Jiangsu Province (BE2015654); Scientific Research Foundation for Jiangsu Provincial Commission of Health and Family Planning (H201422, H201526)

多发性骨髓瘤(MM)是一种目前仍不可治愈的浆细胞恶性肿瘤<sup>[1-2]</sup>。目前研究报道MM细胞的耐药机制主要包括NF- $\kappa$ B、JAK/Stat3、MEK/MAPK等信号通路的活化<sup>[3]</sup>。microRNA(miRNA)是一类包含21~25个核苷酸的小非编码RNA家族。近年来是肿瘤研究领域的研究热点,主要通过部分或完全互补至靶基因mRNA的3' UTR,抑制或降解靶基因mRNA,从而在转录后水平调节基因表达<sup>[4]</sup>。miRNA除了在正常生理过程中发挥作用,还参与许多疾病的发生发展<sup>[5-6]</sup>。通过基因芯片技术在MM患者样本和细胞株发现了miR-181、miR-21、miR-17-92、miR-202和miR-9等许多miRNA分子。我们前期研究发现MM患者外周血单个核细胞中表达miR-202及其靶基因B淋巴细胞刺激因子(BAFF),但是两者的功能及相互作用尚不清楚<sup>[7-8]</sup>。Gao等<sup>[9]</sup>研究发现miRNA能调节白血病细胞株对药物的敏感性和耐药性。本研究旨在观察miR-202联合硼替佐米、沙利度胺和地塞米松对MM细胞增殖及凋亡的影响并探讨MAPK信号通路在miR-202调节MM细胞耐药中的作用。

## 材料与方法

1. 主要试剂:Bax、Bcl-2、 $\beta$ -Actin抗体购自上海碧云天生物技术有限公司南通分公司;c-Jun氨基末端激酶(JNK)、磷酸化c-Jun氨基末端激酶(p-JNK)、p38、p-p38、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、磷酸化细

胞外调节蛋白激酶(p-ERK)抗体为美国Cell Signaling公司产品;Annexin V-FLUOS Staining kit、Cell Proliferation Reagent WST-1为德国Roche公司产品;lipo2000、逆转录试剂为立陶宛Fermentas公司产品;FBS为美国Hyclone公司产品;RPMI1640培养基、Opti-MEM Reduced Serum Medium为美国Gibco公司产品;B淋巴细胞刺激因子干扰质粒(siBAFF,BAFF-homo-708)为上海吉玛制药技术有限公司产品;TRIzol、has-miR-202模拟物、has-miR-202抑制物、阴性对照、抑制物阴性对照为Invitrogen公司产品。

2. 样本来源及细胞培养:骨髓标本来自2013年9月至2014年12月南通大学附属医院就诊的7例初诊MM患者[男4例,女3例,中位年龄60(50~65)岁]和3名志愿者[男2名,女1名,中位年龄54(48~60)岁]。本研究经南通大学附属医院伦理委员会批准,所有受试者均知情同意。人MM细胞系U266细胞购于上海拜力生物科技有限公司,悬浮生长于含10%胎牛血清、1%链霉素-青霉素、1%谷氨酰胺的RPMI 1640培养基中,置于37℃、含5%CO<sub>2</sub>的培养箱中进行培养。

3. 细胞转染:收集对数生长期细胞,按每孔(2~8) $\times 10^5$ 的密度接种于6孔板,6h后分别将miR-202模拟物(5'-AGAGGUAUAGGGCAUGGGAA-3'、5'-CCCAUGCCCUAUACCUCUUU-3')、阴性对照(5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'、5'-ACGUGA-

CACGUUCGGAGAATT-3')、miR-202 抑制物(5'-UUCCCAUGCCCUAUACCUCU-3')、siBAFF(5'-CAUGGCUUCUCAGCUUUAATT-3'、5'-UUAAA GCUGAGAAGCCAUGTT-3')转染入U266细胞中,培养48~72 h后分别提取总RNA和蛋白。

4. 逆转录PCR将U266细胞及MM患者CD138<sup>+</sup>浆细胞中RNA逆转录成cDNA: TRIzol法提取细胞总RNA,用紫外分光光度计测得总RNA浓度,取5 μg RNA进行逆转录。反应条件:42 ℃ 60 min,70 ℃ 5 min。逆转录产物于-20 ℃保存。

5. 荧光定量PCR检测U266细胞及MM患者CD138<sup>+</sup>浆细胞miR-202及BAFF mRNA的表达水平:BAFF引物序列:5'-TGTCACCGCGGGACT-GAAAATCT-3'(上游引物),5'-TGTCTGCAAT-CAGTTGCAAGCAGT-3'(下游引物),以GAPDH和U6作为内参基因。miR-202引物购自广州锐博生物科技有限公司。反应体系:SYBR Green I mix (Rox) 10 μl, cDNA 3 μl, 上、下游引物各0.5 μl, RNase-free水补足至20 μl。反应条件:95 ℃ 10 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 15 s,72 ℃ 31 s,40个循环。

6. Western blot检测U266细胞转染miR-202模拟物、抑制物、siBAFF及其对照后凋亡相关蛋白及MAPK信号通路中蛋白表达水平:用RIPA裂解液(含1%PMSF)提取细胞总蛋白,紫外分光光度计检测蛋白浓度,取400 μg总蛋白进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(80 V 40 min,100 V 60 min),并将蛋白从SDS-PAGE凝胶转至PVDF膜(300 mA 120 min)。50 g/L脱脂奶粉/TBST液封闭2 h。按1:600稀释一抗(Bcl-2、Bax、JNK、p-JNK、p38、p-p38、ERK、p-ERK),按1:1 000稀释β-actin抗体,4 ℃孵育过夜。按1:1 000稀释二抗(山羊抗兔IgG、山羊抗鼠IgG),室温孵育2 h,用增强化学发光液进行显影。

7. WST-1细胞增殖检测:收集对数生长期U266细胞,按3 000细胞/孔的密度种入96孔板,6 h后转染miR-202模拟物、miR-202抑制物、siBAFF及其对照,培养基补足至每孔100 μl,24~72 h后每孔加入10 μl WST-1试剂,继续培养2 h后,用酶标仪测量各孔450 nm(650 nm参考)的吸光度(A)值。每组设5个复孔,实验重复3次,结果取均数。按以下公式计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率}(\%)=1-\left(\frac{A_{\text{目的孔}}}{A_{\text{空白对照孔}}}\right)\times 100\%$$

8. 流式细胞术(Annexin V-FLUOS)检测细胞凋

亡:细胞种板,6 h后转染miR-202模拟物及其对照,48 h后收集6孔板内细胞,移入2 ml EP管中,离心后1×PBS洗涤2次,按试剂盒说明书配制细胞染液,室温孵育10~15 min,混匀进行流式细胞术检测。实验重复3次,结果取均数。此外,用50 nmol/L硼替佐米、200 μmol/L沙利度胺、10 nmol/L地塞米松单药及联合50 nmol/L miR-202模拟物作用于U266细胞,采用上述方法检测细胞凋亡率。

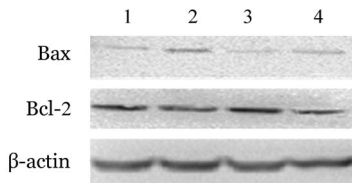
9. 统计学处理:应用SPSS 17.0软件进行分析。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用Mann-Whitney U检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. U266细胞及MM患者CD138<sup>+</sup>浆细胞miR-202 mRNA及BAFF的表达:流式细胞术分选MM患者及健康人骨髓来源CD138<sup>+</sup>浆细胞。提取U266细胞株及CD138<sup>+</sup>浆细胞的总RNA进行逆转录及荧光定量PCR。U266细胞、MM患者CD138<sup>+</sup>浆细胞miR-202 mRNA相对表达量分别为 $0.052\pm 0.009$ 、 $0.304\pm 0.354$ ,均低于健康对照组( $3.550\pm 1.126$ )( $P<0.001$ , $P=0.009$ )。通过检索microRNA.org与DIANA-miT生物信息学工具预测发现B淋巴细胞刺激因子(BAFF)是miR-202潜在的靶基因,荧光素酶报告基因进一步证实两者之间的调控关系<sup>[8]</sup>。实时荧光定量PCR检测结果显示U266细胞、MM患者CD138<sup>+</sup>浆细胞BAFF表达分别为 $5.700\pm 0.734$ 、 $9.576\pm 2.887$ ,均高于健康对照组( $1.819\pm 0.853$ )( $P<0.001$ , $P=0.006$ )。

2. miR-202对U266细胞生长和凋亡的影响:U266细胞转染miR-202模拟物(mimics)、miR-202抑制物(Inhibitor)、siBAFF及其对照。WST-1实验发现miR-202模拟物转染组细胞增殖抑制率为( $56.04\pm 0.02$ )%,与对照组[( $18.89\pm 0.32$ )%]相比,差异有统计学意义( $P=0.002$ ),提示miR-202可通过靶向BAFF抑制U266细胞增殖。Western blot结果显示,转染miR-202模拟物后,Bcl-2表达下调约24%,Bax蛋白表达上调约1.24倍(图1),提示miR-202能够诱导U266细胞凋亡。此外,流式细胞术结果显示,miR-202模拟物组细胞凋亡率高于对照组[( $49.60\pm 4.89$ )%对( $26.20\pm 1.28$ )%, $P=0.029$ ],siBAFF组、miR-202抑制物组细胞凋亡率分别为( $30.70\pm 1.44$ )%、( $40.40\pm 1.34$ )%,与对照组相比差异无统计学意义( $P$ 值分别为0.200、0.310)(图2),提

示 miR-202 模拟物抑制 U266 细胞增殖、促进细胞凋亡。



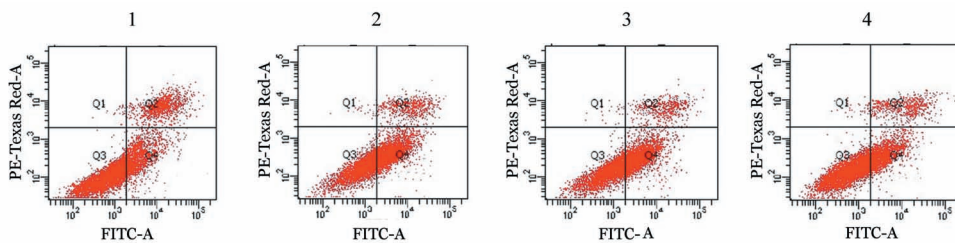
1: 对照组; 2: miR-202 模拟物; 3: miR-202 抑制物; 4: BAFF 干扰质粒 (siBAFF)

图1 Western blot 法检测转染 miR-202 模拟物对 U266 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

3. 流式细胞术检测 miR-202、硼替佐米、沙利度胺、地塞米松对 U266 细胞凋亡的影响: 为了研究 miR-202 在抗骨髓瘤药物诱导的 MM 细胞凋亡中作用, 我们单独使用 miR-202 模拟物或抗骨髓瘤药物以及两者联合处理 U266 细胞后, 用流式细胞术检

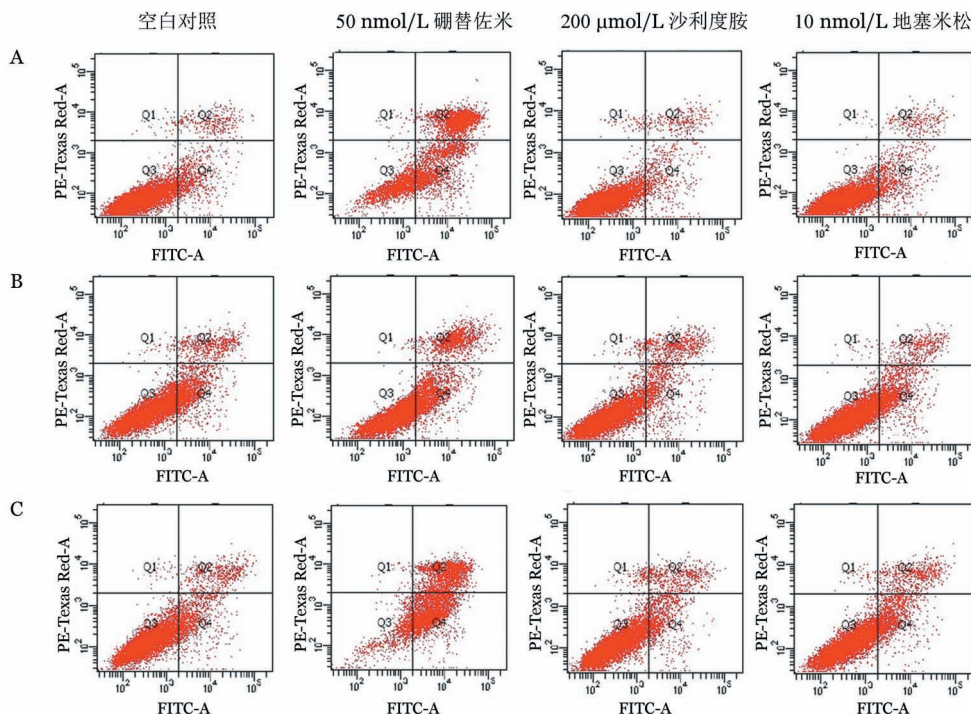
测细胞凋亡情况。如图 3 所示, 硼替佐米和 miR-202 模拟物联合组凋亡率 [(51.23±5.41)%] 高于硼替佐米单独处理组 [(31.70±4.40)%, P=0.047] 和硼替佐米与模拟物对照联合处理组 [(27.94±4.04)%, P=0.028]。然而, 模拟物对照组与 miR-202 模拟物联合沙利度胺、地塞米松组的细胞凋亡率差异无统计学意义 [(11.66±1.91)% 对 (10.63±1.74)%, P=0.700; (16.35±1.32)% 对 (17.43±1.95)%, P=0.400], 提示 miR-202 模拟物增加了 U266 细胞对硼替佐米的敏感性, 也就是说 MM 中 miR-202 的低表达与 MM 对硼替佐米的耐药相关。

4. miR-202 模拟物对 U266 细胞药物敏感性的影响: 硼替佐米、miR-202 模拟物对 U266 细胞增殖抑制率分别为 (18.18±4.10)%、(15.38±1.90)%, 两者联合的抑制率为 (36.93±5.98)%, 与单独使用硼替佐米相比差异有统计学意义 (P=0.029)。单独用地塞



1: 对照组; 2: miR-202 模拟物; 3: miR-202 抑制物; 4: BAFF 干扰质粒 (siBAFF)

图2 流式细胞术检测 miR-202 对 U266 细胞凋亡的影响

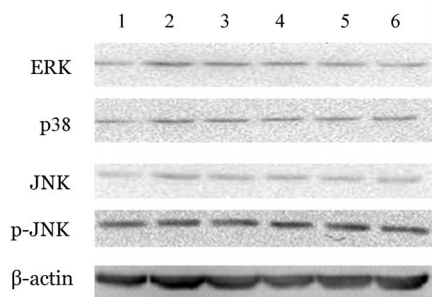


A: 未转染; B: 转染 miR-202 对照; C: 转染 miR-202 模拟物

图3 流式细胞术分析 miR-202 与抗多发性骨髓瘤药物对 U266 细胞凋亡的影响

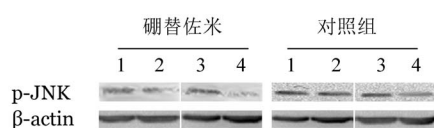
米松、miR-202模拟物对U266细胞增殖抑制率分别是(17.47±4.92)%、(15.50±2.31)%,两者联合的抑制率为(26.67±2.89)%,与单独使用地塞米松相比差异无统计学意义( $P=0.100$ )。沙利度胺单独、联合miR-202对U266细胞增殖抑制率差异无统计学意义[(15.68±2.27)%对(20.55±4.90)%, $P=0.200$ ]。以上结果提示miR-202表达的上调使U266细胞对硼替佐米更敏感。

5. Western blot 检测 miR-202 对 MAPK 信号通路的影响:U266 细胞中有 ERK、p38、JNK 和 p-JNK 表达,未检测到 p-ERK 和 p-p38 表达且 miR-202 模拟物组 p-JNK 表达水平下调约 20% (图 4),表明 JNK/SAPK 信号通路参与了 miR-202 的表达调控。我们进一步检测了硼替佐米处理 48 h 后 U266 细胞 p-JNK 的表达水平。结果显示与对照组相比,miR-202 模拟物组和 siRNA-BAFF 组的 p-JNK 表达水平分别下调 52%、67% (图 5),表明 miR-202 模拟物与 siRNA-BAFF 有类似的作用。这些结果提示 miR-202 能够负向调控 BAFF 的表达,进一步抑制 JNK/SAPK 信号通路的活化,从而增强了 MM 细胞对硼替佐米敏感性。



1: BAFF 干扰质粒; 2: 抑制物; 3: 抑制物阴性对照; 4: 模拟物; 5: 模拟物阴性对照; 6: 对照组

图 4 Western blot 检测 miR-202 对 MAPK 信号通路的影响



1: 对照组; 2: miR-202 模拟物; 3: BAFF 干扰质粒对照; 4: BAFF 干扰质粒

图 5 Western blot 分析经硼替佐米处理 48 h 后 U266 细胞 p-JNK 水平

## 讨 论

MM 是一种克隆 B 细胞恶性疾病,以骨髓中浆细胞异常和不可控制的增殖、骨损伤和免疫缺陷为特征。浆细胞的恶性增殖产生大量无功能的单克隆免疫球蛋白或片段,临床表现为贫血、肾损伤、骨

损伤和感染。目前,MM 患者由于耐药的产生而缺乏有效的治愈方案<sup>[10]</sup>。

BAFF 通过连接受体 B 细胞成熟抗原 (BCMA)、转膜蛋白复合物 (TACI) 和 BAFF 受体 (BAFF-R/BR3) 在调节 B 细胞和 T 细胞增殖与生存中发挥重要作用。越来越多的证据显示 BAFF 影响恶性 B 细胞的生长和生存,促进 MM 细胞增殖和生存,与 MM 发展和进程密切相关<sup>[11]</sup>。我们的前期研究表明 MM 患者外周血及 MM 细胞株中 BAFF 及其受体的表达显著高于正常对照组<sup>[12-13]</sup>,提示 BAFF 在 MM 起始和进展中发挥重要作用。近来有研究表明 BAFF 参与 MM 耐药的发生<sup>[14]</sup>。然而,BAFF 在 MM 发病机理和耐药中的生物学作用并不十分清楚。

前期研究发现 MM 患者血清 miR-202 表达水平显著升高,且与血清  $\beta_2$  微球蛋白和  $\kappa$  链浓度有一定相关性<sup>[15]</sup>。本研究中 MM 患者 CD138<sup>+</sup> 细胞和 U266 细胞株中 miR-202 mRNA 低表达,与前期研究相反,可能由于骨髓基质细胞 (BMSC) 分泌高水平 BAFF<sup>[16]</sup>,具体机制仍需进一步研究。

尽管 MM 患者对硼替佐米最初反应总体很好,但随着时间的推移许多患者会产生耐药,MM 患者对硼替佐米药物敏感性和耐药性的准确调节机制仍未阐明<sup>[17]</sup>。本研究的结果提示,miR-202 模拟物使 U266 细胞对硼替佐米敏感且联合 miR-202 模拟物对 MM 细胞生存的抑制作用更为显著。这些结果提示 miR-202 表达的调节机制可能是 MM 治疗的一个潜在靶点。

许多研究表明不同的药物通过改变 MAPK 信号通路的活化发挥其抑制 MM 细胞增殖和生存的能力<sup>[18-19]</sup>。我们在前期研究中发现 BAFF 能激活 JNK/SAPK 信号通路,BAFF siRNA 抑制 JNK/SAPK 信号通路,提示 JNK/SAPK 信号通路的活化程度与 BAFF 表达水平呈正相关<sup>[19]</sup>。本研究中我们发现 U266 细胞转染 miR-202 模拟物后 MAPK 信号通路中 p-JNK 表达下调,提示 miR-202 抑制 JNK/SAPK 信号通路,且 JNK/SAPK 信号通路参与 miR-202 对 BAFF 的调控。同时对硼替佐米治疗反应性的提高可能由于 miR-202 对 BAFF 介导的信号通路的抑制作用,进而阻碍 JNK/SAPK 信号通路的再活化,提示 miR-202 靶向 BAFF 可能为 MM 患者的治疗提供新的选择。

## 参 考 文 献

[1] Cömert M, Güneş AE, Sahin F, et al. Quality of life and support-

- ive care in multiple myeloma[J]. Turk J Haematol, 2013, 30(3): 234-246. doi: 10.4274/Tjh.2012.0192.
- [2] Andrews SW, Kabrah S, May JE, et al. Multiple myeloma: the bone marrow microenvironment and its relation to treatment[J]. Br J Biomed Sci, 2013, 70(3):110-120.
- [3] Fuchs O. Targeting of NF-kappaB signaling pathway, other signaling pathways and epigenetics in therapy of multiple myeloma [J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2013, 13(1):16-34. doi: 10.2174/1871529X11313010003.
- [4] Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6 (11):857- 866. doi:10.1038/nrc1997.
- [5] Kong YW, Ferland- McCollough D, Jackson TJ, et al. micro RNAs in cancer management [J]. Lancet Oncol, 2012, 13 (6): e249-258. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70073-6.
- [6] Corsini LR, Bronte G, Terrasi M, et al. The role of microRNAs in cancer: diagnostic and prognostic biomarkers and targets of therapies[J]. Expert Opin Ther Targets, 2012, 16 Suppl 2: S103-109. doi: 10.1517/14728222.2011.650632.
- [7] 张霞, 王旭东, 申娟娟, 等. 多发性骨髓瘤患者外周血单个核细胞 miR-202 的表达及意义[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34 (10): 931-934. doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2011.10.014.
- [8] Shen X, Guo Y, Yu J, et al. miRNA-202 in bone marrow stromal cells affects the growth and adhesion of multiple myeloma cells by regulating B cell-activating factor[J]. Clin Exp Med, 2016, 16(3):307-316. doi: 10.1007/s10238-015-0355-4.
- [9] Gao SM, Xing CY, Chen CQ, et al. miR- 15a and miR- 16- 1 inhibit the proliferation of leukemic cells by down- regulating WT1 protein level [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30:110. doi: 10.1186/1756-9966-30-110.
- [10] Fonseca R, Monge J, Dimopoulos MA. Staging and prognostication of multiple myeloma[J]. Expert Rev Hematol, 2014, 7(1): 21-31. doi: 10.1586/17474086.2014.882224.
- [11] Fragioudaki M, Boula A, Tsirakis G, et al. B cell- activating factor: its clinical significance in multiple myeloma patients [J]. Ann Hematol, 2012, 91 (9):1413- 1418. doi: 10.1007/s00277-012-1470-x.
- [12] Jiang P, Yueguo W, Huiming H, et al. B-Lymphocyte stimulator: a new biomarker for multiple myeloma [J]. Eur J Haematol, 2009, 82(4):267-276. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01203.x.
- [13] Ju S, Wang Y, Ni H, et al. Correlation of expression levels of BLYS and its receptors with multiple myeloma [J]. Clin Biochem, 2009, 42 (4- 5):387- 399. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.10.024.
- [14] Podar K, Chauhan D, Anderson KC. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy [J]. Leukemia, 2009, 23(1):10-24. doi: 10.1038/leu.2008.259.
- [15] Yu J, Qiu X, Shen X, et al. miR-202 expression concentration and its clinical significance in the serum of multiple myelomapatients [J]. Ann Clin Biochem, 2014, 51 (Pt 5):543- 549. doi: 10.1177/0004563213501155.
- [16] Tai YT, Li XF, Breitkreutz I, et al. Role of B- cell-activating factor in adhesion and growth of human multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment[J]. Cancer Res, 2006, 66 (13):6675-6682.
- [17] Coppo R. Proteasome inhibitors in progressive renal diseases [J]. Nephrol Dial Transplant, 2014, 29 (Suppl 1):i25- i30. doi: 10.1093/ndt/gft271.
- [18] Wen J, Feng Y, Huang W, et al. Enhanced antimyeloma cytotoxicity by the combination of arsenic trioxide and bortezomib is further potentiated by p38 MAPK inhibition [J]. Leuk Res, 2010, 34(1):85-92. doi: 10.1016/j.leukres.2009.05.024.
- [19] Xu G, Shen XJ, Pu J, et al. BLYS expression and JNK activation may form a feedback loop to promote survival and proliferation of multiple myeloma cells [J]. Cytokine, 2012, 60(2):505-513. doi: 10.1016/j.cyto.2012.06.317.

(收稿日期:2016-04-01)

(本文编辑:徐茂强)

·读者·作者·编者·

## 作者投稿须知

1. 按本刊要求写作:登录《中华血液学杂志》网站(<http://www.hematoline.com>),参见首页作者中心栏中的“投稿须知”及“写作指导”栏目。

2. 作者注册:请打开本刊网站首页点击“在线投稿”即进入中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)。在网站首页注册并申请为杂志作者(用户名和密码为您在中华医学会统一的登录信息,请牢记!忘记密码可通过电子信箱索取)。

3. 投稿:注册成功后进入“业务中心”。点击【远程稿件管理系统】,相应的功能即显示在下方。点击“作者投稿”,按要求填写内容,摘要在字数允许范围内尽可能详细,并上传原稿(点击“暂存”稿件进入【我的草稿】模块)。选择《中华血液学杂志》,并点击“投稿”。

4. 邮寄纸稿及介绍信:请在投稿平台上下载论文投送介绍信及授权书,签字盖章后连同原稿打印件(注明稿件编号)一并寄至本刊编辑部。

本刊编辑部