

[25] Jordan SC, Toyoda M, Kahwaji J, et al. Clinical aspects of intravenous immunoglobulin use in solid organ transplant recipients[J]. *Am J Transplant*, 2011, 11(2): 196-202.

(收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-09-26)

· 综 述 ·

微小 RNA-21 与多发性骨髓瘤的相关性

丁江华¹综述, 袁利亚², 陈国安^{1△}审校

(1. 南昌大学第一附属医院血液科, 江西南昌 330006; 2. 江西省医学科学研究院血液研究所, 江西南昌 330006)

关键词: 微 RNAs; 多发性骨髓瘤; 信号转导; 耐药

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.01.032

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)01-0085-04

多发性骨髓瘤是骨髓浆细胞恶性疾病, 平均发病年龄为 65 岁。随着人口老龄化的加剧, 多发性骨髓瘤已逐渐成为威胁老年人健康的主要疾病之一。复发耐药性多发性骨髓瘤患者缺乏有效的治疗方案, 是目前该病的主要死亡原因。尽管治疗策略已从传统的化疗、自体造血干细胞移植演变为以沙利度胺与硼替佐米为代表的新型靶向药物治疗, 多发性骨髓瘤的预后得到了显著的改善, 但至今为止, 多发性骨髓瘤仍是一种不可治愈的疾病。微小 RNA (microRNA, miRNA) 作为一种长度为 19~24 个核苷酸的非编码 RNA, 具有高度保守性, 通过识别特定的靶基因 mRNA, 在转录后水平发挥负调控作用。在许多恶性肿瘤的发生、发展中发挥着癌基因或抑癌基因的功能。近期研究表明 miRNA-21 作为一个较广泛存在的原癌基因, 在多发性骨髓瘤的发生与耐药中起着重要的作用。

1 miRNA-21 的生物学特性

2001 年 Lagos-Quintana 等^[1]发现脊椎动物和非脊椎动物存在分别含 22 个和 21 个核苷酸的 lin-4 和 let-7 小 RNA 分子, 结构上高度保守, 遂命名为 miRNA, 其中包括 miRNA-21。此后人们相继在胚胎肝组织与人类和小鼠的神经元细胞中检测到 miRNA-21 的存在。Mourelatos 等^[2]发现人宫颈癌细胞系 HeLa 细胞表达 miRNA-21。此后许多学者开始了对 miRNA-21 与肿瘤发生、发展关系的研究。

miRNA-21 是 miRNA 家族的重要成员, 其合成过程与其他 miRNA 基本相同。miRNA-21 由 17q23.2 脆性位点 (fragile site, Fra) 17B 上的单基因编码, 含有 22 个核苷酸, 位于重叠跨膜蛋白 49 基因 (transmembrane protein 49, TMEM49) 的内含子部位, 其转录起始部位的上游约 800 bp 处含有 2 个高度保守的信号转导子和转录激活子 3 (signal transducers and activators of transcription 3, STAT3) 的结合序列。研究显示 miRNA-21 与原癌基因 STAT3 的表达存在正反馈调节^[3], 却与 TMEM49 基因的表达互不干扰^[4]。

业已证明, 在多种血液肿瘤 [如弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)、慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL)、急性白血病等] 与实体瘤 (如胰腺癌、乳腺癌、肺癌、前列腺癌、胃癌、肝癌及脑胶质瘤等) 中均检测到 miRNA-21 过表达^[5]。miRNA-21 是目前惟一发现的在几乎所有恶性肿瘤中过表达的 miRNA。miRNA-21 作为一种原癌基因已被视为脑胶质瘤、DLBCL、CLL 等多种恶性肿瘤的不良预后标志。

2 miRNA-21 与多发性骨髓瘤的发生

目前认为多发性骨髓瘤呈多步骤阶段式发展模式, 即经历意义不明的单克隆丙种球蛋白病 (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)、多发性骨髓瘤到浆细胞白血病的演变。MGUS 在 50 岁以上人群中的患病率达 3%, 其中每年约 1% 的患者进展为多发性骨髓瘤。关于从 MGUS 发展到多发性骨髓瘤的机制尚未完全弄清。至今尚未找到确切鉴别 MGUS 与多发性骨髓瘤的遗传标志, 仅发现约 40%~55% 的多发性骨髓瘤存在 K-Ras 与 N-Ras 的密码子 12、13 和 61 突变, 而上述突变仅存在于 5% 的 MGUS。新近研究发现 miRNA-21 在 MGUS、多发性骨髓瘤患者和多发性骨髓瘤细胞株中的表达均明显高于其在正常浆细胞中的表达, 这表明 miRNA-21 与多发性骨髓瘤的发病和疾病进展相关^[6]。miRNA-21 异常表达导致与多发性骨髓瘤发病相关的信号转导异常, 包括酪氨酸激酶 (Janus kinase, JAK)/STAT/核因子 (nuclear factor, NF)、磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)、Ras-丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/细胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase, ERK) 激酶 (MAPK/ERK kinase, MEK) 1/2-ERK1/2 与 NF kappa B (NF-κB) 等。

2.1 miRNA-21 与酪氨酸激酶 (Janus kinase, JAK)/STAT 3

JAK 是一类非受体酪氨酸激酶家族, 已发现 4 个成员, 即 JAK1、JAK2、JAK3 和酪氨酸激酶 (tyrosine kinase, TYK) 1, 其结构 C 段具有两个相连的激酶区。JAK 的底物为 STAT, 包括 6 个成员即 STAT1~6。STAT 被 JAK 磷酸化后发生二聚化, 然后穿过核膜进入核内调节相关基因的表达, 这条信号通路称为 JAK/STAT 途径。该途径与细胞生长、增殖及分化十分密切, 在血液肿瘤中具有重要的作用。多种恶性血液病中检测出 STAT1、3、5 和 6 的持续性活化, 这导致 JAK/STAT 通路的持续激活^[7-8]。

白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是多发性骨髓瘤发病的关键因子, IL-6 的信号主要通过 JAK/STAT 途径引起浆细胞的恶性转化。Brocke-Heidrich 等^[3]在人多发性骨髓瘤细胞株中发现 IL-6 可诱导 STAT3 直接结合到 miRNA-21 转录起始部位上游的 STAT3 结合区, 从而转录激活 miRNA-21 的表达, 促进多发性骨髓瘤细胞生长。同样, miRNA-21 的高表达又有助于 STAT3 促进多发性骨髓瘤细胞的生存并抑制其凋亡, 提示 miRNA-21 与 STAT3 存在相互作用的正反馈调节。进一步利用定位诱变或 RNA 干扰技术抑制 STAT3 表达, 结

果发现 miRNA-21 表达亦降低。Munker 等^[9]证实,在无 IL-6 存在的情况下,高表达 miRNA-21 足以维持 IL-6 依赖性多发性骨髓瘤细胞株的增殖。杨瑞芳等^[10]将多发性骨髓瘤细胞株与破骨细胞共同培养后,检测发现多发性骨髓瘤细胞株中 miRNA-21 表达较培养前显著增高,提示破骨细胞可能是通过对 miRNA-21 的调控而促进多发性骨髓瘤的发生。

2.2 miRNA-21 与 PI3K/AKT PI3K 由催化亚基 P110 和调节亚基 P85 构成。PI3K 的 P110 亚基与蛋白激酶具有同源性,催化磷脂酰肌醇 D-3 位的磷酸化。AKT 又称蛋白激酶 B,是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。AKT 可直接活化下游的靶分子,包括 NF- κ B 及促凋亡蛋白 Bad、Caspase-9 等。PI3K 依赖的 AKT 活化后使 Bad 和 Caspase-9 磷酸化而失活,同时激活抑制性 kappa B 蛋白(inhibitory kappa B, I κ B)激酶(I κ B kinase, IKK),间接活化 NF- κ B,启动抗凋亡基因,如 bcl-2、bcl-XL 的表达,发挥抗凋亡作用,该途径为 PI3K/AKT 信号通路。PI3K/AKT 信号通路为生物体内重要的生存信号通路。第 10 号染色体同源缺失性磷酸酶-张力蛋白基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)作为一种新的抑癌基因,主要是通过使 PI3K 的下游靶分子磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)的第 3 位脱磷酸转变为 PIP2,抑制 AKT 活性,从而阻断 PI3K/AKT 信号通路,调控细胞分化与凋亡,故又称为 PTEN/PI3K/AKT 信号转导通路。

研究证实多发性骨髓瘤中存在 PI3K/AKT 传导通路的持续激活与 PTEN 的突变或缺失^[11],PTEN 的失活必然导致 PI3K/AKT 通路活化。由此可见,PTEN/PI3K/AKT 信号转导通路的失调与多发性骨髓瘤的发生、发展密切相关。Meng 等^[12]在肝癌细胞株中发现抑癌基因 PTEN 可能为 miRNA-21 的靶基因之一。Liu 等^[13]在人前列腺癌细胞株中通过细胞转染技术,发现过表达 PTEN 可减少 miRNA-21 诱导的血管生成,提示 PTEN 参与 miRNA-21 诱导的肿瘤血管生成过程,进一步证实抑癌基因 PTEN 是 miRNA-21 的靶基因之一。同时在 miRNA-21 诱导的肿瘤血管生成实验中,观察到 AKT 的活化、缺氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达上调。表明 miRNA-21 可通过激活 AKT,上调 HIF-1、VEGF 的表达来诱导肿瘤新生血管生成。肿瘤新生血管生成在多发性骨髓瘤中起着极其重要的作用,以沙利度胺为代表的抗血管生成药物在多发性骨髓瘤的治疗中具有重要地位。上述研究提示干扰或下调 miRNA-21 在多发性骨髓瘤中的表达,有可能是沙利度胺等抗血管生成药物作用的机制之一,值得进一步研究。

2.3 miRNA-21 与 Ras-MEK1/2-ERK1/2 Ras/Raf/MEK/ER 通路的异常与肿瘤的发生密切相关。几乎所有的细胞因子受体都可以促使 Ras 结合 GTP 而活化,Ras 活化后激活 Raf,然后使 MEK1/2 磷酸化,并活化其惟一的底物 ERK1/2。活化的 ERK 形成二聚体,转入细胞核,参与细胞的增殖、存活、分化和凋亡。该通路一旦持续激活,则细胞增殖失控、凋亡受阻。

IL-6、胰岛素样生长因子 1 与 VEGF 均可激活 Ras-MEK1/2-ERK1/2 通路,介导细胞抗凋亡,促进多发性骨髓瘤细胞增殖。约 40%~50% 的多发性骨髓瘤存在 K-Ras 或 N-Ras 突变。Frezza 等^[14]在非小细胞肺癌中发现 Ras 基因可通过 Ras-MAPK 与 PI3K 两条途径诱导 miRNA-21 表达。Hu

等^[15]亦证实,在多发性骨髓瘤细胞中 PI3K/AKT 途径是 Ras 下游的靶分子之一。Hatley 等^[16]在荷瘤小鼠中亦发现 Ras 可上调 miRNA-21 表达,进一步研究发现 miRNA-21 可通过抑制 Ras-MEK1/2-ERK1/2 通路的负调控因子,即 Sprouty-1、Sprouty-2、B 细胞迁移基因 2(B-cell translocation gene 2, Btg2)与程序性细胞死亡 4(programmed cell death 4, PDCD4),进而刺激肿瘤新生血管生成。Liu 等^[13]在 miRNA-21 诱导的肿瘤血管生成实验中还观察到 ERK 的活化,提示 miRNA-21 还可通过激活 ERK 诱导肿瘤新生血管生成。上述研究表明 Ras-MEK1/2-ERK1/2 可能是 miRNA-21 的靶标之一。

2.4 miRNA-21 与 NF- κ B NF- κ B 是细胞内最重要的核转录因子,以同源或异源二聚体形式存在。静息细胞中 NF- κ B 二聚体与其抑制蛋白 I κ B 结合而分散在细胞质内。细胞激活后 NF- κ B 由细胞质进入细胞核,与 DNA 上的特异蛋白结合,参与多种基因的表达和调控,诱导特异 mRNA 的产生,最后转录,产生和释放各种细胞因子。促进肿瘤生长的因子,如表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及其受体,二者结合能激活 NF- κ B,导致肿瘤细胞增殖。

NF- κ B 的持续活化所介导的 IL-6 分泌和黏附分子的表达是多发性骨髓瘤发生的主要机制之一。硼替佐米的抗多发性骨髓瘤作用部分归因于抑制 NF- κ B 信号通路。NF- κ B 是 Ras 与 AKT 的下游靶分子。Ras 可诱导 miRNA-21 表达,miRNA-21 可激活 AKT,继而激活 NF- κ B^[13,15]。研究炎症反应时发现,在上皮细胞中 miRNA-21 通过下调 PTEN 而增加 NF- κ B 的表达;但是在脂多糖激惹的巨噬细胞中,miRNA-21 通过下调 PDCD4 激活 NF- κ B^[17]。总之,无论经哪条途径,miRNA-21 均可诱导 NF- κ B 的表达。

3 miRNA-21 与多发性骨髓瘤的耐药

新诊断的多发性骨髓瘤患者,约 20% 的患者原发耐药。即使一线方案治疗有效的多发性骨髓瘤患者,大多数在数月甚至数年后也难免会复发,进入耐药阶段。因此,复发与耐药严重制约了多发性骨髓瘤患者的生存期。目前认为多发性骨髓瘤耐药机制,包括细胞内药物靶点改变(如糖皮质激素受体改变^[18])、细胞凋亡机制改变(如凋亡抑制蛋白 Survivin 过表达^[19])及骨髓微环境改变^[10]等。

近期研究表明 miRNA-21 参与胰腺癌对吉西他滨、急性白血病对阿糖胞苷与乳腺癌对曲妥珠单抗等耐药的发生^[20-22]。Munker 等^[9]研究人骨髓瘤 RPMI 8226、U266 细胞株分别对美法仑及多柔比星的耐药机制,发现前者有 3 种 miRNA(let7、miRNA-21、miRNA-155)表达上调,后者只有 miRNA-21 表达上调。提示 miRNA-21 参与了多发性骨髓瘤耐药机制的过程。

4 小 结

多发性骨髓瘤作为来源于浆细胞的恶性肿瘤,尽管治疗策略从传统化疗发展到新型靶向药物治疗,但仍然是一种不可治愈的疾病。近期发现 miRNA-21 作为一个“广谱”表达的原癌基因,参与了多发性骨髓瘤疾病的发生、发展与耐药的过程。miRNA-21 过表达导致 JAK/STAT-3、PI3K/AKT、Ras-MEK1/2-ERK1/2 与 NF- κ B 等多条信号转导通路异常激活。上述研究提示通过干扰或下调多发性骨髓瘤的 miRNA-21 表达,可作为一种潜在的治疗策略,而且还可能逆转多发性骨髓瘤的耐药,为复发与难治性多发性骨髓瘤提供新的思路。

参考文献:

[1] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identifi-

- fication of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294(5543): 853-858.
- [2] Mourelatos Z, Dostie J, Paushkin S, et al. miRNPs; a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(6): 720-728.
- [3] Brocke-Heidrich K, Kretzschmar AK, Pfeifer G, et al. Interleukin-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer [J]. *Blood*, 2007, 110(4): 1330-1333.
- [4] Kumarswamy R, Volkmann I, Thum T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease [J]. *RNA Biol*, 2011, 8(5): 706-713.
- [5] Selcuklu SD, Donoghue MT, Spillane C. miR-21 as a key regulator of oncogenic processes [J]. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(Pt 4): 918-925.
- [6] Pichiorri F, Suh SS, Ladetto M, et al. MicroRNAs regulate critical genes associated with multiple myeloma pathogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(35): 12885-12890.
- [7] Meier C, Hoeller S, Bourgau C, et al. Recurrent numerical aberrations of JAK2 and deregulation of the JAK2-STAT cascade in lymphomas [J]. *Mod Pathol*, 2009, 22(3): 476-487.
- [8] Zhong Y, Chen B, Feng J, et al. The associations of Janus kinase-2 (JAK2) A830G polymorphism and the treatment outcomes in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2010, 51(6): 1115-1120.
- [9] Munker R, Liu CG, Taccioli C, et al. MicroRNA profiles of drug-resistant myeloma cell lines [J]. *Acta Haematol*, 2010, 123(4): 201-204.
- [10] 杨瑞芳, 陈丽娟, 李建勇, 等. 骨髓微环境对多发性骨髓瘤细胞 microRNA-21 和 microRNA-30b 表达的影响 [J]. *中华血液学杂志*, 2010, 13(1): 38-41.
- [11] Chang H, Qi XY, Claudio J, et al. Analysis of PTEN deletions and mutations in multiple myeloma [J]. *Leuk Res*, 2006, 30(3): 262-265.
- [12] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular Cancer [J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2): 647-658.
- [13] Liu LZ, Li C, Chen Q, et al. MiR-21 induced angiogenesis through AKT and ERK activation and HIF-1 α expression [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19139.
- [14] Frezzetti D, De Menna M, Zoppoli P, et al. Upregulation of miR-21 by Ras in vivo and its role in tumor growth [J]. *Oncogene*, 2011, 30(3): 275-286.
- [15] Hu L, Shi Y, Hsu JH, et al. Downstream effectors of oncogenic ras in multiple myeloma cells [J]. *Blood*, 2003, 101(8): 3126-3135.
- [16] Hatley ME, Patrick DM, Garcia MR, et al. Modulation of K-Ras-dependent lung tumorigenesis by MicroRNA-21 [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(3): 282-293.
- [17] Ma X, Becker Buscaglia LE, Barker JR, et al. MicroRNAs in NF-kappaB signaling [J]. *J Mol Cell Biol*, 2011, 3(3): 159-166.
- [18] Sánchez-Vega B, Gandhi V. Glucocorticoid resistance in a multiple myeloma cell line is regulated by a transcription elongation block in the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) [J]. *Br J Haematol*, 2009, 144(6): 856-864.
- [19] 李娟, 赵莹, 张殿宝, 等. Survivin 在多发性骨髓瘤患者骨髓细胞中的表达及其临床意义 [J]. *癌症*, 2005, 24(12): 1522-1526.
- [20] Gong C, Yao Y, Wang Y, et al. Up-regulation of miR-21 mediates resistance to trastuzumab therapy for breast Cancer [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(21): 19127-19137.
- [21] Bai H, Xu R, Cao Z, et al. Involvement of miR-21 in resistance to daunorubicin by regulating PTEN expression in the leukaemia K562 cell line [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(2): 402-408.
- [22] Meng F, Henson R, Lang M, et al. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(7): 2113-2129.

(收稿日期: 2012-07-30 修回日期: 2012-11-05)

• 综 述 •

高强度聚焦超声在肝癌微创治疗中的应用

黄军伟 综述, 郑 军 Δ 审校

(重庆医科大学附属第一医院肝胆外科, 重庆 400016)

关键词: 高强聚焦; 肝肿瘤; 外科手术; 微创性; 治疗应用

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.01.033

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)01-0087-05

肝癌是最常见的恶性肿瘤之一, 手术切除被认为是其治疗首选及最有效的手段^[1]。但由于发病初期多无特殊表现, 早期诊断困难, 所以临床上大多数肝癌患者就诊时已进入中、晚期, 多数已丧失手术机会, 目前仅有 20%~30% 的肝癌

患者适合手术治疗^[2]。因而, 非手术治疗已成为多数肝癌患者的重要治疗手段。由于微创治疗具有创伤小、恢复快、痛苦轻、并发症少等优点, 因此, 关于肝癌的微创治疗成为近些年国内、外学者研究的热点。高强度聚焦超声 (high intensity focused