

miRNA 和 Th17 相关细胞因子在 多发性骨髓瘤患者中的表达及其意义

李艳杰 李德鹏 闫志凌 齐昆明 陈丽丽 张之尧 范国琴 李护君 徐开林 李振宇

【摘要】 目的 探讨 miRNA 和 Th17 相关细胞因子在多发性骨髓瘤(MM)患者发病中的作用机制。方法 收集 27 例 MM 患者骨髓标本,以 8 名健康人为正常对照,应用荧光实时定量 PCR (qRT-PCR)法检测其 miR-15a/16、-34a、-194-2-192 簇、-181a/b 的表达情况,采用 ELISA 法检测患者血清 Th17 相关细胞因子 IL-17、IL-21、IL-22、IL-23、IL-27 的表达水平。分析 miRNA 与 Th17 相关细胞因子表达的相关性。结果 与对照组比较,MM 患者组 miR-15a/16、-34a、-194-2-192 簇表达水平降低,而 miR-181a/b 表达水平升高,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05);MM 患者血清 IL-17、IL-21、IL-27 的表达水平升高,IL-22 表达水平降低,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05);IL-23 表达水平与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。ISS 分期 III 期患者的 miR-181a/b 和 IL-17、IL-21、IL-23、IL-27 表达水平高于 I 期患者,而 miR-15a/16、-34a、-194 和 IL-22 的表达水平则低于后者,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。miR-34a 与 IL-21,miR-181a 与 IL-23,miR-192 与 IL-21、IL-27,miR-194 与 IL-27 的表达水平均呈正相关,而 miR-192 与 IL-21 呈负相关(P 值均 <0.05)。结论 miRNA 和 Th17 相关细胞因子在 MM 患者中均存在异常表达,其表达水平与 MM 患者的 ISS 分期有关,同时两者之间也存在密切的联系,提示失调的 miRNA 可能影响 Th17 细胞的分化进而参与 MM 的发生、发展。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 微小 RNAs; Th17 细胞

Potential relationship and clinical significance of miRNAs and Th17 related cytokines in patients with multiple myeloma Li Yanjie, Li Depeng, Yan Zhiling, Qi Kunming, Chen Lili, Zhang Zhiyao, Fan Guoqin, Li Hujun, Xu Kailin, Li Zhenyu. *Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Li Zhenyu, Email: lizhenyumd@163.com

【Abstract】 Objective To explore the expression and significance of miRNAs and Th17 related cytokines in patients with multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 27 MM patients and 8 health controls were enrolled in this study. The expression of miR-15a/16, miR-34a, miR-194-2-192 cluster and miR-181a/b in bone marrow were detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the levels of Th17 related cytokines interleukin-17 (IL-17), IL-21, IL-22, IL-23 and IL-27 in peripheral blood plasma. The role of miRNAs and Th17 related cytokines was analyzed in the development of MM. **Results** The expression of miR-15a/16, miR-34a, miR-194-2-192 cluster in MM patients were significantly lower than those of the health controls, while miR-181a/b were exactly the reverse ($P<0.05$). The levels of IL-17, IL-21 and IL-27 were up-regulated in MM patients compared to health controls while IL-22 was down-regulated ($P<0.05$). There was no significant difference of IL-23 between the two groups. The levels of miRNAs and Th17 related cytokines had associated with ISS but not with some clinical parameters (such as gender, age, disease classification). Higher expression of IL-17, IL-21, IL-23, IL-27, miR-181a/b and lower expression of miR-15a/16, miR-34a, miR-194 and IL-22 were observed in the end stage than the early stage of MM patients ($P<0.05$). There was a significant correlation between miRNAs and Th17 related cytokines. **Conclusions** Up-regulated IL-17, IL-21 and IL-27 may potentially down-regulate the expression of several miRNAs in MM patients. Establishment of the relationship may be useful for understanding the pathogenesis of MM and for clinical diagnosis of the disease.

【Key words】 Multiple myeloma; MicroRNAs; Th17 cells

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.02.009

作者单位: 221002 徐州医学院诊断教学实验中心(李艳杰); 徐州医学院附属医院血液科(李德鹏、闫志凌、齐昆明、陈丽丽、张之尧、范国琴、李护君、徐开林、李振宇)

通信作者: 李振宇, Email: lizhenyumd@163.com

既往的研究显示多发性骨髓瘤(MM)患者存在免疫功能缺陷和失调,在增加Th17细胞数量同时提高IL-17水平能支持MM细胞生长,并抑制机体的免疫反应^[1-2],提示Th17细胞和IL-17在抗MM和提高免疫功能方面可能成为重要的治疗靶标。MM中基因亚型和染色体的异常与某些特定的miRNA有关,50%以上的miRNA位于肿瘤相关基因组区域,如扩增区、断裂位点、脆性位点和杂合性丢失区等^[3]。同时miRNA还参与免疫调控,与适应性免疫系统的分化和功能关系密切,在Th17细胞的分化和发育中发挥重要作用^[4-7]。基于以往的研究,我们通过观察MM患者miR-15a/16、-34a、-194-2-192簇、-181a/b和Th17相关细胞因子的表达,探讨其相关性及其在MM发病中的作用机制。

病例和方法

1. 病例资料:以2012年6月至2013年6月徐州医学院附属医院血液科收治的27例初诊MM患者为研究对象,男17例,女10例,年龄(58±10)岁。所有病例参照文献[8]标准诊断。根据国际分期系统(ISS)进行疾病分期,其中I期4例,II期7例,III期16例。入院后均以T-VAD(沙利度胺+长春新碱+阿霉素+地塞米松)方案治疗4~6个疗程。正常对照组为8名本院健康体检者,男5名,女3名,年龄(56±7)岁。

2. 主要试剂及仪器:Ficoll淋巴细胞分离液购自美国Invitrogen公司,TRIzol试剂、Taq DNA聚合酶和dNTP、荧光实时定量PCR(qRT-PCR)试剂、逆转录试剂盒均购自上海艾博思生物科技有限公司。人IL-17、IL-21、IL-22、IL-23、IL-27检测试剂盒购自苏州卡尔文生物科技有限公司。

3. 标本采集与处理:分别采集患者治疗前后空腹外周血和骨髓液各5 ml, Ficoll淋巴细胞分离液提取单个核细胞及上清,分别于-80℃保存备用。

4. qRT-PCR法检测miRNA的表达水平:收集骨髓单个核细胞,用TRIzol法提取细胞总RNA,按照说明书进行反转录操作,所得cDNA于-20℃保存备用。以U6为内参照,U6及has-miRNA引物由上海艾博思生物科技有限公司提供(IBS-miR-stemloop kit IBSBIO-1978001)。采用ABI7500 qRT-PCR仪(美国ABI公司产品)进行检测,反应条件:94℃ 3 min(预变性),94℃ 20 s,62℃ 40 s,40个循环,反应结束后分析溶解曲线,2^{-ΔΔCt}法计算基因的

相对表达量。

5. ELISA法检测血清细胞因子水平:采用ELISA法检测IL-17、IL-21、IL-22、IL-23、IL-27水平,按照试剂盒说明书进行操作。

6. 统计学处理:应用SPSS16.0软件进行统计学分析。各组数据以 $\bar{x}±s$ 表示,两组间数据比较采用Student's *t*检验。资料的相关分析采用Spearman秩相关分析法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. miRNA在初诊MM患者与正常对照者中的表达:初诊MM患者骨髓单个核细胞miR-15a/16、miR-194、miR-34a相对表达量分别为0.27±0.03、0.91±0.12、0.76±0.10、0.51±0.06,较正常对照组降低(P 值均 <0.05);而miR-181a/b在MM患者中的相对表达量分别为1.43±0.22和1.62±0.52,显著高于正常对照组,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05);miR-192在两组中的表达(1.12±1.45对2.22±2.27)差异无统计学意义($P>0.05$)(图1A)。

2. Th17相关细胞因子在初诊MM患者与正常对照者中的表达:初诊MM组患者血清IL-17、IL-21、IL-27的表达水平分别为(31.28±4.24)ng/L、(123.86±20.00)ng/L、(25.86±3.93)ng/L,较正常对照组增加2~3倍(P 值均 <0.05);IL-22在MM患者中的表达水平为(223.08±44.76)ng/L,低于对照组的(288.73±45.77)ng/L,差异有统计学意义($P<0.05$);IL-23在两组中的表达[(11.62±2.79)ng/L对(11.60±3.36)ng/L]差异无统计学意义($P>0.05$)(图1B)。

3. MM患者miRNA表达与其临床特征的相关性分析:MM患者miR-15a/16、-34a、-194-2-192簇、-181a/b表达水平与其性别、年龄、亚型均无相关性(P 值均 >0.05)。ISS分期III期患者miR-15a/16、-34a、-194表达水平低于I期患者,而miR-181a/b表达水平高于I期患者(P 值均 <0.05);miR-192表达水平在各分期患者中的差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

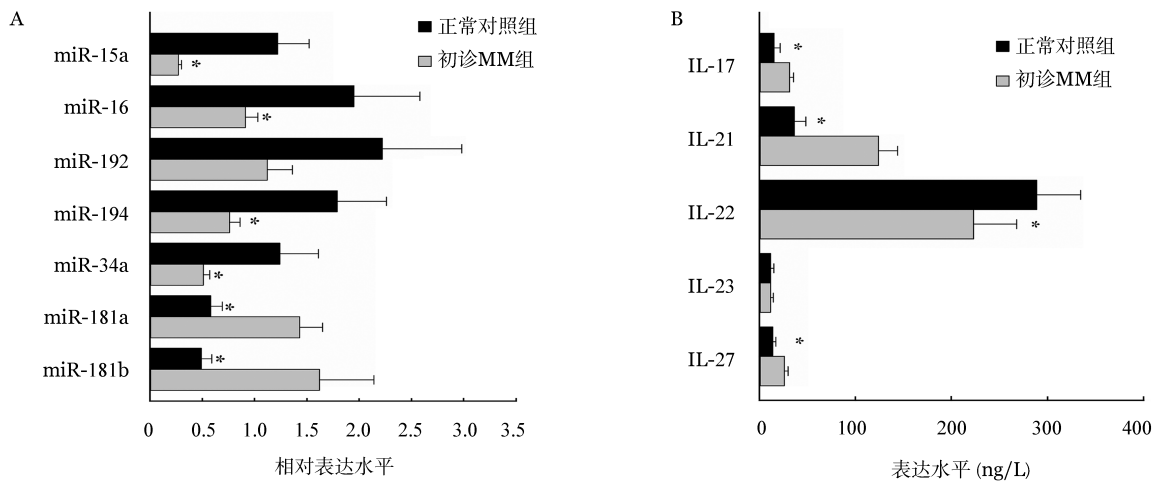
27例MM患者均接受4~6个疗程T-VAD方案化疗,其中11例缓解[包括完全缓解(CR)、非常好的部分缓解(VGPR)和部分缓解(PR)],14例病情稳定(SD),2例疾病进展(PD)。在化疗结束后分别行miRNA和Th17相关细胞因子检测,发现缓解组患者miR-15a/16、-34a表达水平明显高于SD+PD患者组,而miR-181a/b表达水平则明显低于SD+PD患

者组,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。miR-192-2-194簇表达水平在两组患者中差异无统计学意义($P>0.05$)(表1)。

4. MM患者Th17相关细胞因子表达与其临床特征的相关性分析:MM患者Th17相关细胞因子IL-17、IL-21、IL-22、IL-23、IL-27的表达水平与其性别、年龄、疾病亚型均无相关性(P 值均 >0.05)。ISS分期Ⅲ期患者IL-17、IL-21、IL-23、IL-27表达水平高于I期患者,而IL-22表达水平低于I期患者,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)(表2)。

5. 初诊MM患者中Th17相关细胞因子之间表达的相关性分析:采用Spearman相关分析发现在初诊MM患者血清中IL-17与IL-23、IL-27的表达水平呈正相关,而与IL-22的表达水平呈负相关;IL-22与IL-23、IL-27的表达水平呈负相关;IL-23与IL-27的表达水平呈正相关(P 值均 <0.05)(表3)。

6. 在初诊MM患者中miRNA表达水平与Th17相关细胞因子水平的相关性分析:结果显示MM患者miR-15a/16、-34a、-194-2-192簇与IL-17的表达水平无明显相关性(P 值均 >0.05);但miR-34a与IL-21



A: 荧光实时定量PCR法检测骨髓单个核细胞miRNA的相对表达水平; B: ELISA法检测血清Th17相关细胞因子表达水平
 图1 miRNA和Th17相关细胞因子在27例初诊多发性骨髓瘤(MM)患者和8名正常对照者中的表达水平(*两者比较, $P<0.05$)

表1 miRNA在不同临床特征多发性骨髓瘤患者中的相对表达水平($\bar{x}\pm s$)

临床特征	例数	miR-15a	miR-16	miR-192	miR-194	miR-34a	miR-181a	miR-181b
性别								
男	17	0.25±0.03	0.94±0.15	1.27±0.32	0.74±0.13	0.52±0.07	1.56±0.29	1.59±0.66
女	10	0.23±0.04	0.89±0.16	0.88±0.04	0.80±0.09	0.46±0.10	1.04±0.15	1.71±0.71
年龄								
≥65岁	8	0.27±0.10	0.66±0.13	2.31±0.77	1.09±0.26	0.66±0.06	1.90±0.68	1.64±0.73
<65岁	19	0.24±0.02	0.97±0.15	1.30±0.32	0.64±0.10	0.46±0.07	1.27±0.20	1.61±0.66
ISS分期								
I期	4	0.43±0.03	2.86±0.21	1.43±0.14	1.75±0.10	0.87±0.05	1.20±0.25	1.11±0.04
II期	7	0.24±0.05 ^a	0.85±0.21 ^a	1.31±0.51	0.83±0.13 ^a	0.80±0.24	2.03±0.65 ^a	0.49±0.03 ^a
III期	16	0.23±0.15 ^a	0.71±0.07 ^a	1.04±0.31	0.63±0.11 ^a	0.41±0.05 ^a	2.29±0.07 ^a	1.93±0.69 ^{ab}
免疫分型								
IgG	13	0.21±0.05	0.67±0.12	2.22±0.61	1.11±0.19	0.68±0.12	2.27±0.55	1.40±0.55
IgA	5	0.31±0.03	0.98±0.15	0.72±0.13	0.74±0.18	0.50±0.07	1.28±0.19	2.21±1.37
轻链	5	0.22±0.06	0.60±0.07	0.45±0.14	0.50±0.12	0.31±0.03	0.91±0.33	0.30±0.03
非分泌型	4	0.20±0.06	0.64±0.10	0.48±0.14	0.35±0.07	0.48±0.17	0.75±0.06	0.28±0.05
治疗前	27	0.27±0.03	0.91±0.12	1.12±1.45	0.76±0.10	0.51±0.06	1.43±0.22	1.62±0.52
治疗后								
缓解组	11	0.35±0.10	1.18±0.81	1.09±0.27	0.77±0.12	0.70±0.50	0.66±0.52	0.27±0.17
未缓解组	16	0.10±0.05 ^c	0.55±0.22 ^c	1.21±1.01	0.81±0.23	0.25±0.11 ^c	1.99±1.47 ^c	2.59±3.84 ^c

注:缓解组:完全缓解+非常好的部分缓解+部分缓解;未缓解组:病情稳定+疾病进展;与I期比较,^a $P<0.05$;与II期比较,^b $P<0.05$;与缓解组比较,^c $P<0.05$

表2 Th17相关细胞因子在不同临床特征多发性骨髓瘤患者中的表达水平(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

临床特征	例数	IL-17	IL-21	IL-22	IL-23	IL-27
性别						
男	17	33.33±3.79	126.10±26.59	224.94±43.19	11.68±2.77	25.47±4.10
女	10	30.83±4.32	122.10±17.62	220.85±50.62	11.37±3.12	26.37±5.34
年龄						
≥65岁	8	33.27±1.15	124.20±13.01	222.35±27.29	10.94±1.69	29.23±1.21
<65岁	19	30.97±0.78	123.81±3.33	228.09±7.77	11.71±0.48	25.15±0.77
ISS分期						
I期	4	25.62±0.61	112.09±9.41	269.20±17.52	9.06±1.61	22.26±2.47
II期	7	28.29±1.30 ^a	125.82±23.88 ^a	250.52±51.08	10.12±1.93	21.74±4.68
III期	16	33.36±3.38 ^{ab}	126.22±20.53 ^a	211.69±41.03 ^{ab}	12.57±2.74 ^{ab}	27.47±3.57 ^{ab}
免疫分型						
IgG	13	31.75±4.32	125.40±19.40	207.27±42.74	11.90±2.61	23.80±3.54
IgA	5	30.66±7.29	118.70±16.10	248.79±22.84	11.44±2.81	26.62±5.15
轻链	5	31.23±3.46	120.18±21.89	244.87±53.44	10.39±2.87	25.28±2.94
非分泌型	4	31.74±1.13	132.59±26.05	219.49±36.37	13.51±3.34	24.90±4.90
治疗前	27	30.28±4.83	127.35±22.76	239.13±45.92	11.37±2.61	26.12±2.70
治疗后						
缓解组	11	27.19±0.08	117.08±12.81	219.02±43.61	9.36±1.07	20.95±2.39
未缓解组	16	34.90±3.83 ^c	136.25±18.34 ^c	187.74±36.58 ^c	11.88±2.98 ^c	25.51±5.17 ^c

注:缓解组:完全缓解+非常好的部分缓解+部分缓解;未缓解组:病情稳定+疾病进展;与I期比较,^a $P<0.05$;与II期比较,^b $P<0.05$;与缓解组比较,^c $P<0.05$

($P=0.017$)、miR-181a与IL-23($P=0.041$)、miR-192与IL-21、IL-22(P 值分别为0.045、0.031)、miR-192-2-194簇与IL-27(P 值均为0.008)的表达水平均有相关性(P 值均 <0.05)(表4)。

表3 初诊多发性骨髓瘤患者血清Th17相关细胞因子之间表达水平的相关性

相关因素	Spearman R 值	P 值
IL-17与IL-21	0.231	0.160
IL-17与IL-22	-0.567	0.000
IL-17与IL-23	0.605	0.000
IL-17与IL-27	0.547	0.000
IL-21与IL-22	-0.353	0.032
IL-21与IL-23	0.399	0.015
IL-21与IL-27	0.236	0.160
IL-22与IL-23	-0.665	0.000
IL-22与IL-27	-0.677	0.000
IL-23与IL-27	0.522	0.010

表4 初诊多发性骨髓瘤患者miRNA与Th17相关细胞因子之间的相关性分析

相关因素	Spearman R 值	P 值
miR-34a与IL-21	0.396	0.017
miR-181a与IL-23	0.342	0.041
miR-192与IL-21	0.336	0.045
miR-192与IL-22	-0.360	0.031
miR-192与IL-27	0.438	0.008
miR-194与IL-27	0.437	0.008

讨 论

MM是一种浆细胞异常增生的恶性血液肿瘤,在其发病过程中相关细胞因子的异常表达、癌基因的异常激活和分子遗传学异常均发挥着重要的作用。在MM患者体内存在免疫系统的缺陷和失调, Th17细胞是调节肿瘤免疫的重要免疫细胞之一,研究发现MM患者骨髓中Th17细胞的比例较意义未明单克隆免疫球蛋白血症(MGUS)患者更高,提示Th17细胞可能与MM发病有关或参与疾病的进展^[9]。此外在Th17细胞的分化发育中miRNA也发挥着重要的作用^[10]。在人类自身免疫性疾病的研究中发现异常表达的miRNA可通过影响Th17细胞分化和功能而参与疾病的发展^[5-6]。因此在作为免疫效应细胞性肿瘤的MM中,miRNA和Th17细胞之间也可能存在互相调控的复杂网络,促进疾病的进展。目前关于两者在MM患者中的研究鲜有报道。

在本研究中我们发现MM患者miRNA的表达有不同程度下调,这也支持miRNA作为内源性抑癌基因其缺失可能与MM发病有关这一观点。我们的研究结果显示初诊MM患者miR-15a/16的表达明显下调,且随着疾病进展miR-15a/16呈进行性下调,说明miR-15a/16的低表达与MM高风险有关,提示miR-15a/16与MM患者的发病和进展密切相关。抑制miR-15a/16可促进MM细胞增殖、扩散和

新血管再生^[11]。miR-15a/16位于人染色体13q14,参与抗肿瘤细胞增殖和促进凋亡活动,而50%以上的MM患者有该染色体的缺失,这可能是MM患者miR-15a/16表达缺失或下调的原因之一。miR-34a和miR-194-2-192簇分别位于人染色体1p36和11q13上,受肿瘤抑制蛋白p53的直接调节,在MM患者中表达下调,可能与MM细胞中这些miRNA启动子区域超甲基化,继而发生沉默有关。下调的miR-194-2-192簇可增加p53的负性调节因子鼠双微基因mRNA(MDM2 mRNA)的表达。miR-34a和miR-194在初诊MM组较正常对照组表达明显降低($P<0.05$),可能与低表达的miR-34a和miR-194在MM疾病进程中促进MM细胞扩增、归巢和迁徙有关^[12]。在MM晚期miR-34a和miR-194的表达明显低于疾病初期,这也证实了miR-34a和miR-194与MM疾病发生和进展有关。虽然随着疾病的进展miR-192表达呈下降趋势,但差异无统计学意义,估计和研究样本数较少有关。本研究结果还显示在MM患者中miR-181a/b表达明显上调,且在疾病晚期高表达,提示miR-181a/b可能作为潜在的癌基因参与疾病发展并可作为患者预后欠佳的判断指标。这与Roccaro等^[13]的研究结果相符,为临床诊断和判断预后提供了依据。

Th17细胞能选择性分泌一些促炎症细胞因子。在研究中我们发现Th17相关细胞因子的表达水平与MM的ISS分期显著相关,同时发现Th17相关细胞因子之间存在着显著相关性,这为进一步研究Th17相关细胞因子在MM发病机制中的作用提供了依据。

IL-17是Th17细胞发挥免疫调节功能的主要效应因子,可通过上调血管内皮细胞生长因子(VEGF)促进血管新生,从而促进MM细胞增殖和存活^[14]。本研究结果显示Th17细胞的标志性细胞因子IL-17水平在MM患者中显著升高,且随着疾病的进展,表达水平持续增高,进一步证实由Th17细胞产生的IL-17可促进MM细胞增殖并抑制患者的免疫功能。IL-21是Th17细胞高表达的另一细胞因子,以自分泌的方式诱导Th17细胞分化、增殖,IL-21可通过JAK/STAT、Erk/MAPK和Akt/PI3K途径诱导MM细胞株集落形成^[15]。本研究中MM患者高表达IL-21,可能与MM中细胞增殖的最重要细胞因子IL-6通过活化STAT3信号通路促进IL-21分泌有关,证实了IL-21可促进MM细胞生长。IL-22通过激活肿瘤细胞中相关信号通路,参与调节细胞

生长和细胞周期调控。在不同类型细胞中IL-22产生不同的效应,如在人肺癌细胞中IL-22可促进肺癌细胞的存活^[16],在乳腺癌和肝癌中IL-22却能抑制肿瘤细胞增殖^[17]。目前IL-22在MM中的生物学效应尚不明确,但我们发现在MM患者血清中IL-22水平明显下降,在疾病晚期尤为明显,且与IL-17、IL-21呈负相关,因此我们推测IL-22在MM中可能对促进细胞增殖的信号通路有抑制作用,进而抑制MM细胞的生长。IL-23是产生IL-17的关键性启动因子,可诱导naïve T细胞分化成Th17细胞。但IL-23在MM患者中作用于肿瘤细胞的潜在活性尚不明确。虽然本研究中IL-23在MM和正常对照组之间的表达差异无统计学意义,但在MM疾病晚期却高表达,且与IL-17、IL-21呈正相关,因此我们推测在MM患者中内源性IL-23可能促进肿瘤生长。IL-27可促使初始CD4⁺T细胞增殖并向Th1细胞分化,同时抑制Th17细胞分化^[18]。研究发现IL-27可通过下调VEGF,上调抗血管生成因子CXCL9和CXCL10抑制新生血管生成^[19]、抑制破骨细胞分化和诱导成骨细胞增殖^[20]。我们发现MM患者IL-27表达水平较正常对照组升高,且在晚期患者中高表达,与IL-17水平呈正相关,推测在疾病进展中可能由于Th17分泌高水平IL-17导致IL-27相应增加,从而发挥抑制MM细胞生长的作用。进一步检测表明,治疗后未缓解组(SD+PD)患者IL-17、IL-21、IL-23、IL-27均较治疗后缓解组(PR+VGPR+CR)患者升高,表明Th17相关细胞因子的异常表达和功能亢进与MM患者病情密切相关,提示Th17细胞可能作为重要的参与因素导致MM患者机体免疫失调。

MM患者存在miRNA表达异常及Th17相关细胞因子血清水平异常,且两者之间存在相关性,表明它们之间存在一个互相调控的网络,上调的IL-17、IL-21和IL-27可能潜在下调某些miRNA。在MM中IL-17、IL-27调节VEGF的同时,miR-15a/16也可靶向结合VEGF,抑制其旁分泌而发挥抗新生血管生成作用^[21-22],提示VEGF可作为IL-17、IL-27和miR-15a/16的共同靶点,参与MM疾病的发展。IL-21通过促进MM细胞自分泌胰岛素样生长因子-1(IGF-1),诱导MM细胞生长^[15],同时miR-192也能直接靶向浆细胞迁徙至骨髓的关键因素IGF通路(包括IGF-1R和IGF-1),诱导MM细胞凋亡,或阻止细胞扩散;这说明IGF-1是IL-21和miR-192的共同靶点,本研究中MM患者miR-192与IL-21的正相关关系,提示两者在MM的发病中

可能存在协同作用。因为 miR-181a 在 T 细胞发育中发挥重要作用^[23], MM 患者中高表达的 miR-181a 与 IL-23 呈正相关, 我们推测内源性 IL-23 和 miR-181a 可能诱导 Th17 细胞增殖分化产生 IL-17, 增强 Th17 细胞的效应, 从而促进 MM 的发生和发展。

综上所述, miRNA 和 Th17 相关细胞因子在 MM 患者中均存在异常表达, 其表达与 MM 患者的 ISS 分期和化疗反应有关, 同时两者之间也存在密切的联系, 这进一步提示 miRNA 和 Th17 细胞可能在 MM 疾病的发生、发展中起着协同作用, 同时我们的相关分析结果也表明失调的 miRNA 至少在某种程度上影响了 Th17 细胞的分化进而参与 MM 发病。然而我们的研究样本数较少, 可能 MM 患者中两者的关系尚未完全发现。下一步我们将继续深入研究异常表达的 miRNA 在 Th17 细胞分化信号转导通路中的作用, 为 MM 的靶向治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Ritchie DS, Quach H, Fielding K, et al. Drug-mediated and cellular immunotherapy in multiple myeloma [J]. *Immunotherapy*, 2010, 2(2): 243-255.
- [2] Prabhala RH, Pelluru D, Fulciniti M, et al. Elevated IL-17 produced by TH17 cells promotes myeloma cell growth and inhibits immune function in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2010, 115(26): 5385-5392.
- [3] Kluiver J, Haralambieva E, de Jong D, et al. Lack of BIC and microRNA miR-155 expression in cases of Burkitt lymphoma [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2006, 45(2): 147-153.
- [4] Wei B, Pei G. microRNAs: critical regulators in Th17 cells and players in diseases [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(3): 175-181.
- [5] Du C, Liu C, Kang J, et al. MicroRNA miR-326 regulates TH-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(12): 1252-1259.
- [6] Liu YL, Wu W, Xue Y, et al. MicroRNA-21 and -146b are involved in the pathogenesis of murine viral myocarditis by regulating TH-17 differentiation [J]. *Arch Virol*, 2013, 158(9): 1953-1963.
- [7] Yao R, Ma Y, Du Y, et al. The altered expression of inflammation-related microRNAs with microRNA-155 expression correlates with Th17 differentiation in patients with acute coronary syndrome [J]. *Cell Mol Immunol*, 2011, 8(6): 486-495.
- [8] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 382-385.
- [9] Dhodapkar KM, Barbuto S, Matthews P, et al. Dendritic cells mediate the induction of polyfunctional human IL17-producing cells (Th17-1 cells) enriched in the bone marrow of patients with myeloma [J]. *Blood*, 2008, 112(7): 2878-2885.
- [10] Stittrich AB, Haftmann C, Sgouroudis E, et al. The microRNA miR-182 is induced by IL-2 and promotes clonal expansion of activated helper T lymphocytes [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(11): 1057-1062.
- [11] Gatt ME, Zhao JJ, Ebert MS, et al. MicroRNAs 15a/16-1 function as tumor suppressor genes in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2011, 117(26): 7188.
- [12] Pichiorri F, Suh SS, Rocci A, et al. Downregulation of p53-inducible microRNAs 192, 194, and 215 impairs the p53/MDM2 autoregulatory loop in multiple myeloma development [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(4): 367-381.
- [13] Roccaro AM, Sacco A, Thompson B, et al. MicroRNAs 15a and 16 regulate tumor proliferation in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2009, 113(26): 6669-6680.
- [14] Kryczek I, Wei S, Szeliga W, et al. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis [J]. *Blood*, 2009, 114(2): 357-359.
- [15] Ménoret E, Maïga S, Descamps G, et al. IL-21 stimulates human myeloma cell growth through an autocrine IGF-1 loop [J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 6837-6842.
- [16] Zhang W, Chen Y, Wei H, et al. Antiapoptotic activity of autocrine interleukin-22 and therapeutic effects of interleukin-22-small interfering RNA on human lung cancer xenografts [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(20): 6432-6439.
- [17] Weber GF, Gaertner FC, Erl W, et al. IL-22-mediated tumor growth reduction correlates with inhibition of ERK1/2 and AKT phosphorylation and induction of cell cycle arrest in the G2-M phase [J]. *J Immunol*, 2006, 177(11): 8266-8272.
- [18] Yoshida H, Miyazaki Y. Regulation of immune responses by interleukin-27 [J]. *Immunol Rev*, 2008, 226: 234-247.
- [19] Giuliani N, Airolidi I. Novel insights into the role of interleukin-27 and interleukin-23 in human malignant and normal plasma cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(22): 6963-6970.
- [20] Cocco C, Giuliani N, Di Carlo E, et al. Interleukin-27 acts as multifunctional antitumor agent in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(16): 4188-4197.
- [21] Keats JJ, Fonseca R, Chesi M, et al. Promiscuous mutations activate the noncanonical NF- κ B pathway in multiple myeloma [J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(2): 131-144.
- [22] Hao M, Zhang L, An G, et al. Bone marrow stromal cells protect myeloma cells from bortezomib induced apoptosis by suppressing microRNA-15a expression [J]. *Leuk Lymphoma*, 2011, 52(9): 1787-1794.
- [23] de Yébenes VG, Belper L, Pisano DG, et al. miR-181b negatively regulates activation-induced cytidine deaminase in B cells [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(10): 2199-2206.

(收稿日期: 2014-08-28)

(本文编辑: 刘志红)