

miR-363-3p 在多发性骨髓瘤中的表达意义及其与预后的关系

王玉¹ 李超¹ 满其航¹

[摘要] **目的:**分析多发性骨髓瘤(MM)患者血浆微小核糖核酸-363-3p(miR-363-3p)表达意义,并评估其与预后关系。**方法:**回顾性分析北京航天总医院 106 例 MM 患者临床资料,并纳入 32 例健康体检者作为对照组,记录 2 组血浆 miR-363-3p 表达水平差异。根据 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平分为高表达组(\geq 平均值)和低表达组($<$ 平均值),比较 2 组临床特征及疗效,并评估 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与临床特征、疗效的相关性;使用 Kaplan-Meier 生存分析法评估 2 组预后生存情况。**结果:**MM 患者血浆 miR-363-3p 相对表达量显著低于对照组($P < 0.05$)。高表达组与低表达组间性别、年龄、免疫球蛋白分型、DS 分期及血钙、血红蛋白水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);但 2 组间国际分期体系(ISS)分期存在显著差异($P < 0.05$),且高表达组临床疗效显著高于低表达组($P < 0.05$)。经 Spearman 秩相关分析发现,MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与 ISS 分期呈显著负相关($r = -0.421, P < 0.05$),与临床疗效呈显著正相关($r = 0.533, P < 0.05$)。随访 36 个月时,高表达组生存 31 例(56.36%),低表达组生存 18 例(35.29%),Kaplan-Meier 生存分析及 Log Rank 检验显示,高表达组生存率明显高于低表达组($P < 0.05$)。**结论:**miR-363-3p 在 MM 患者血浆中表达下调,其表达水平能评估 MM 患者病情及临床疗效,还能判断患者预后生存情况。

[关键词] 多发性骨髓瘤;miR-363-3p;临床特征;预后;生存时间

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.10.005

[中图分类号] R733.3 **[文献标志码]** A

Significance of plasma miR-363-3p expression in multiple myeloma and its relationship with prognosis

WANG Yu LI Chao MAN Qihang

(Department of Hematology, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing, 100076, China)

Abstract Objective: To analyze the significance of plasma microribonucleic acid-363-3p(miR-363-3p) expression in patients with multiple myeloma(MM), and evaluate its relationship with prognosis. **Methods:** The clinical data of 106 patients with MM in our hospital was retrospectively analyzed, and 32 healthy subjects with physical examination were included as healthy control group. The difference in plasma miR-363-3p expression level was recorded in patients with MM and healthy control group. The patients with MM were divided into plasma miR-363-3p expression level \geq average value group(high expression group) and miR-363-3p expression level $<$ average value group(low expression group). The clinical features and clinical efficacy were compared between the two groups, and the correlation between plasma miR-363-3p expression level and clinical features and clinical efficacy was evaluated among patients with MM. Kaplan-Meier survival analysis was used to evaluate the prognosis and survival in the two groups. **Results:** The relative expression level of plasma miR-363-3p of patients with MM was significantly lower than that in healthy control group($P < 0.05$). There were no significant differences between high expression group and low expression group in terms of gender, age, immunoglobulin typing, DS staging and levels of blood calcium and hemoglobin($P > 0.05$). But there was a significant difference in International Staging System(ISS) staging between the two groups($P < 0.05$), and the clinical efficacy of high expression group was significantly higher than that of low expression group($P < 0.05$). Spearman rank correlation analysis showed that

¹北京航天总医院血液科(北京,100076)

- [14] Shek FH, Luo R, Lam B, et al. Serine peptidase inhibitor Kazal type 1 (SPINK1) as novel downstream effector of the cadherin-17/ β -catenin axis in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Oncol (Dordr), 2017, 40(5): 443-456.
- [15] 卢昕, 孟庆彬, 邵永胜. 钙黏蛋白 17 在白介素-10 诱导胃癌细胞侵袭中的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(2): 199-201.

- [16] Fang C, Huang Q, Lu L, et al. Risk factors of early proximal gastric carcinoma in Chinese diagnosed using WHO criteria[J]. J Dig Dis, 2015, 16(6): 327-336.
- [17] 汪湃, 晋颖, 刘宏伟, 等. 全血细胞计数参数在胃癌及癌前病变中的诊断意义[J]. 临床血液学杂志, 2021, 34(2): 93-97, 101.

(收稿日期:2021-03-08)

plasma miR-363-3p expression level in patients with MM was significantly negatively correlated with ISS staging ($r = -0.421, P < 0.05$), and significantly positively correlated with clinical efficacy ($r = 0.533, P < 0.05$). At 36 months of follow-up, 31 cases (56.36%) survived in high expression group and 18 cases (35.29%) in low expression group. Kaplan-Meier survival analysis and Log Rank test showed that the survival rate of high expression group was significantly higher than that of low expression group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression of miR-363-3p is down-regulated in the plasma of patients with MM. Its expression level can evaluate the disease condition and clinical efficacy of patients with MM, as well as judge the prognosis and survival of patients.

Key words multiple myeloma; miR-363-3p; clinical features; prognosis; survival time

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是血液系统第二位常见恶性肿瘤, 为克隆性浆细胞异常增殖的恶性疾病, 目前无法获得治愈^[1]。随着诊断技术的发展及新药的不断问世, MM 诊疗得到改进及完善, 但患者预后并未显著改善, 5 年生存率仅为 30%~40%^[2]。因此, 寻找 MM 及调控 MM 细胞恶性行为的潜在机制成为近年研究的热点。微小核糖核酸 (microRNA, miR) 为 19~25 个核苷酸长度的非编码 RNA, 可参与多种实体肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡过程, 能发挥类似于癌基因或抑癌基因作用^[3]。目前, miR-363-3p 被发现与胃癌、结直肠癌、宫颈癌等恶性肿瘤发生发展相关, miR-363-3p 与 MM 的关系国内外报道均较为少见^[4]。基于此, 本研究就 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与临床特征及预后的关系展开分析, 为 MM 诊疗提供新靶点, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

回顾性分析 2015 年 2 月—2017 年 12 月我院 106 例 MM 患者临床资料。纳入标准: ①经骨髓穿刺病理学检查确诊且符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南 (2015 年修订)》^[5] 诊断标准; ②首次诊疗; ③病理检查、预后随访等资料完整。排除标准: ①合并其他血液系统疾病、恶性肿瘤; ②既往行抗肿瘤治疗; ③伴结核等感染性疾病; ④妊娠或哺乳期女性。并纳入 32 例健康体检者作为对照组。MM 患者男 58 例, 女 48 例; 年龄 39~69 (58.52 ± 9.22) 岁。对照组男 18 例, 女 14 例; 年龄 35~66 (57.03 ± 9.10) 岁。2 组性别、年龄比较差异无统计学意义, 具有可比性 ($P > 0.05$)。根据 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平不同, 又将其分为高表达组 (≥ 0.492) 55 例和低表达组 (< 0.492) 51 例。

1.2 方法

收集 MM 患者清晨空腹外周静脉血 5 mL, 对照组则收集体检时空腹静脉血 5 mL, 经 1200 r/min 离心 10 min, 分离血浆, 保存于 -80°C ; 取 200 μL 样本, 采用 Trizol 法提取血浆总 RNA, 以 1 μg 总 RNA 为模板行反转录合成互补脱氧核糖核酸 (complementary DNA, cDNA), 反转录使用反转录试剂盒 (日本 Takara Bio Inc 公司生产); 最后行实时荧光定量聚合酶链式反应 (德国 QIAGEN 公

司), U6 为内参, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 分析 miR-363-3p 表达量; 引物序列如下, miR-363-3p 上游引物 5'-ACACTCCAGCTGGGGAATTGCACGGTATCCA-3', 下游引物 5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3', U6 上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', 均由美国 Invitrogen 公司提供。

收集 MM 患者国际分期体系 (International Staging System, ISS) 分期^[6]、Durie-Salmon (DS) 分期^[7] 及血钙、血红蛋白等临床资料; MM 患者均行硼替佐米为基础的联合化疗, 以 3 周为 1 个疗程, 均接受 4~6 个疗程的化疗, 采用国际骨髓瘤工作组制定的统一疗效标准^[8] 评估疗效, 总有效率 = (完全缓解 + 部分缓解) / 总例数 $\times 100\%$; 所有患者行 36 个月的随访观察。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 21.0 进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以例 (%) 表示, 采用 χ^2 检验; 相关性分析采用 Spearman 秩评估; 使用 Kaplan-Meier 生存分析及 Log Rank 检验评估预后生存情况; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MM 组与对照组血浆 miR-363-3p 表达水平比较

MM 患者血浆 miR-363-3p 相对表达量 (0.492 ± 0.098) 显著低于对照组 (1.196 ± 0.218) ($t = 25.838, P < 0.05$)。

2.2 高表达组与低表达组临床特征比较

高表达组与低表达组在性别、年龄、免疫球蛋白分型、DS 分期及血钙、血红蛋白水平等方面比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 2 组间 ISS 分期存在显著差异 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 高表达组与低表达组临床疗效比较

高表达组临床疗效显著高于低表达组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.4 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与其临床特征、临床疗效的相关性分析

经 Spearman 秩相关分析发现, MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与 ISS 分期呈显著负相关 ($r = -0.421, P < 0.001$), 与临床疗效呈显著正相

关($r=0.533, P<0.001$)。

表 1 高表达组与低表达组临床特征比较

临床特征	例(%)		χ^2	P
	高表达组 (n=55)	低表达组 (n=51)		
性别			0.554	0.457
男	32(58.18)	26(50.98)		
女	23(41.82)	25(49.02)		
年龄			1.247	0.264
<60 岁	35(63.64)	27(52.94)		
≥60 岁	20(36.36)	24(47.06)		
分型			1.393	0.498
IgA 型	17(30.91)	11(21.57)		
IgG 型	20(36.36)	19(37.25)		
其他型	18(32.73)	21(41.18)		
ISS 分期			11.746	0.003
I 期	28(50.91)	12(23.53)		
II 期	18(32.73)	17(33.33)		
III 期	9(16.36)	22(43.14)		
DS 分期			0.904	0.636
I 期	7(12.73)	4(7.84)		
II 期	10(18.18)	8(15.69)		
III 期	38(69.09)	39(76.47)		
血钙			0.121	0.729
<2.98 mmol/L	36(65.45)	35(68.63)		
≥2.98 mmol/L	19(34.55)	16(31.37)		
血红蛋白			0.074	0.785
<100 g/L	32(58.18)	31(60.78)		
≥100 g/L	23(41.82)	20(39.22)		

表 2 高表达组与低表达组临床疗效比较

临床疗效	例(%)		Z/ χ^2	P
	高表达组 (n=55)	低表达组 (n=51)		
完全缓解	26(47.27)	17(33.33)	2.147	0.032
部分缓解	18(32.73)	11(21.57)		
病情稳定	6(10.91)	16(31.37)		
病情进展	5(9.09)	7(13.73)		
总有效	44(80.00)	28(54.90)	7.651	0.006

2.5 高表达组与低表达组预后生存情况分析

随访 36 个月时,高表达组生存 31 例(56.36%),低表达组生存 18 例(35.29%),经 Kaplan-Meier 生存分析法绘制生存曲线,见图 1;经 Log Rank 检验,高表达组生存率明显高于低表达组($\chi^2=5.719, P=0.017$)。

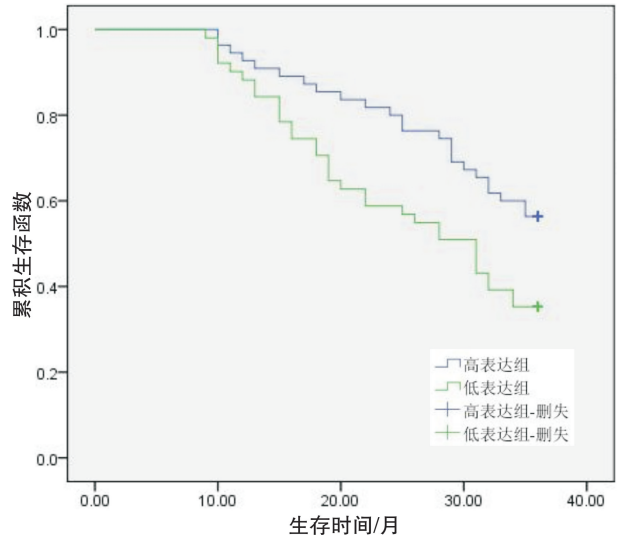


图 1 2 组生存曲线分析

3 讨论

miR 为非编码 RNA,对 50%以上蛋白质编码基因有调节作用,可与靶基因 3'UTR 区结合而发挥抑制翻译的功能,可在多种恶性肿瘤的发生发展中发挥作用^[9]。有报道认为 miR-363 的过表达可抑制人类神经母细胞瘤细胞浸润转移能力,miR-363-3p 可在胃癌等恶性肿瘤组织中呈低表达,且表达水平与分化程度、病理分期等临床特征相关^[10-11]。近年,Gowda 等^[12]及 Chen 等^[13]也发现,miR-363 在 MM 中低表达,且前列腺癌相关转录因子 1 不仅能调节 β -catenin/Akt 信号通路参与肿瘤细胞的增殖,还可通过调节 miR-363-3p/metadherin 蛋白轴参与 MM 的发生发展。然而,miR-363-3p 与 MM 之间是否存在联系,相关报道仍然较少。本研究发现,MM 患者血浆 miR-363-3p 相对表达量显著低于对照组,提示 miR-363-3p 在 MM 患者血浆中呈低表达,可能成为潜在的 MM 标志物。

本研究还就 MM 临床特征与血浆 miR-363-3p 表达水平的关系展开分析,发现高表达组与低表达组 ISS 分期存在显著差异,且 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与 ISS 分期呈显著负相关。其中 ISS 分期是 2005 年国际骨髓瘤工作组制定的分期系统,包含白蛋白及 β_2 微球蛋白 2 个简单、客观指标,MM 发病时, β_2 微球蛋白大量合成入血,可在一定程度上反映机体肿瘤负荷情况^[14]。因此,上述结果也说明 miR-363-3p 表达水平越高,MM 患者肿瘤负荷越小,miR-363-3p 在 MM 中可能发挥抑癌基因作用。另据文献报道^[15],血钙增高、贫血等也是 MM 常见骨髓瘤相关器官功能损害临床表现。本研究中,血浆 miR-363-3p 表达水平不同者血钙、血红蛋白水平比较无显著差异,提示 miR-363-3p 表达与上述 MM 常见临床表现无相关性。

硼替佐米为主的方案是 MM 的一线治疗,良好的疗效是控制 MM 病情、改善患者预后的关键。本研究结果显示,经硼替佐米为基础的治疗后,高表达组临床疗效显著高于低表达组,且 MM 患者血浆 miR-363-3p 表达水平与临床疗效呈显著正相关。这也表明,miR-363-3p 高表达者行硼替佐米为基础的联合化疗疗效更好。究其原因可能与 miR-363-3p 在 MM 中发挥抑癌基因作用,miR-363-3p 高表达者对化疗治疗更为敏感有关^[16]。不仅如此,在随访 36 个月期间,血浆 miR-363-3p 表达不同者生存情况也不同,高表达组生存率明显高于低表达组,提示 miR-363-3p 高表达者不仅能获得良好的化疗疗效,还能有更长的生存时间,预后更佳。这也与 miR-363-3p 高表达时,MM 患者肿瘤负荷越小,其抑癌基因作用也能有效控制病情进展,患者能获得更好的预后有关^[17]。然而,本研究为回顾性分析,收集资料有限,未对 miR-363-3p 作用于 MM 的相关机制做进一步分析,也是本研究存在的缺陷,还需后续前瞻性研究进行深入分析。

综上所述,MM 患者血浆 miR-363-3p 呈低表达,且表达水平与 ISS 分期呈负相关,与临床疗效呈正相关,miR-363-3p 高表达者具有更高的生存率,预后更佳,miR-363-3p 有望作为 MM 诊疗的新靶点。

参考文献

- [1] Ravi P, Kumar SK, Cerhan JR, et al. Defining cure in multiple myeloma: a comparative study of outcomes of young individuals with myeloma and curable hematologic malignancies[J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(3): 26.
- [2] Galli M, Chatterjee M, Grasso M, et al. Phase I study of the heparanase inhibitor roneparstat: an innovative approach for multiple myeloma therapy[J]. *Haematologica*, 2018, 103(10): e469-e472.
- [3] Pitchiaya S, Heinicke LA, Park JI, et al. Resolving Subcellular miRNA Trafficking and Turnover at Single-Molecule Resolution[J]. *Cell Rep*, 2017, 19(3): 630-642.
- [4] 刘会永, 李彦, 黄燕. 溃疡性结肠炎患者血浆 miR-106a 和 miR-363-3p 表达水平的变化及意义[J]. *国际消化病杂志*, 2019, 39(5): 341-346.
- [5] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015 年修订)[J]. *中华内科杂志*, 2015, 54(12): 1066-1070.
- [6] 张兵雷, 周健, 张龚莉, 等. 自体造血干细胞移植治疗多发性骨髓瘤的疗效及影响因素的回顾性分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(5): 1414-1419.
- [7] 张凯旋, 蒋端凤, 李晓鹏, 等. 157 例多发性骨髓瘤患者预后因素分析及分期评价[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(14): 2238-2242.
- [8] Hussein MA, Vrionis FD, Allison R, et al. The role of vertebral augmentation in multiple myeloma: International Myeloma Working Group Consensus Statement[J]. *Leukemia*, 2008, 22(8): 1479-1484.
- [9] Babion I, Snoek BC, Novianti PW, et al. Triage of high-risk HPV-positive women in population-based screening by miRNA expression analysis in cervical scrapes: a feasibility study[J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10: 76.
- [10] 梁亿华, 钟海波, 张敏. miR-363 通过靶向 HMGA2 调控非小细胞肺癌的细胞生长与侵袭[J]. *西部医学*, 2019, 31(1): 13-18.
- [11] Li WZ, Zou Y, Song ZY, et al. Long non-coding RNA SNHG5 affects the invasion and apoptosis of renal cell carcinoma by regulating the miR-363-3p-Twist1 interaction[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(2): 697-707.
- [12] Gowda PS, Wildman BJ, Trotter TN, et al. Runx2 Suppression by miR-342 and miR-363 Inhibits Multiple Myeloma Progression[J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(7): 1138-1148.
- [13] Chen Y, Hao JX, Zhao J, et al. Long non-coding RNA PCAT1 facilitates cell growth in multiple myeloma through an MTDH-mediated AKT/ β -catenin signaling pathway by sponging miR-363-3p[J]. *RSC Adv*, 2019, 9(58): 33834-33842.
- [14] 董亚青, 马艳萍. 外周血单核细胞/淋巴细胞比值在接受硼替佐米治疗的初诊多发性骨髓瘤患者预后中的价值[J]. *临床血液学杂志*, 2019, 32(5): 375-380.
- [15] Yu T, Chaganty B, Lin L, et al. VIS832, a novel CD138-targeting monoclonal antibody, potently induces killing of human multiple myeloma and further synergizes with IMiDs or bortezomib in vitro and in vivo[J]. *Blood Cancer J*, 2020, 10(11): 110.
- [16] Sun YL, Guan XL, Zhang P, et al. Pol-miR-363-3p plays a significant role in the immune defense of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* against bacterial and viral infection[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2020, 104: 439-446.
- [17] Zhu B, Chen H, Zhang X, et al. Serum miR-30 d as a novel biomarker for multiple myeloma and its antitumor role in U266 cells through the targeting of the MTDH/PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(5): 2131-2144.

(收稿日期: 2021-01-13)