



郝牧, 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室研究员、博士生导师。研究方向为浆细胞肿瘤分子发病机制及逆转策略。承担并完成国家自然科学基金面上项目、青年项目, 中国医学科学院科技创新工程项目, 中国医学科学院青年医学人才奖励项目, 天津市自然科学基金等多项国家级及省部级科研项目; 参与国家自然科学基金(国际合作项目、重点项目)的课题研究及管理。获国家发明专利1项, 教育部科技进步二等奖(排名第二)。先后在*J Clin Invest*、*Clin Cancer Res*、*Leukemia*、*J Hematol Oncol*、*Cancer Res*等高水平SCI收录杂志上发表研究论文40多篇。将多项研究结果在美国血液学年会(ASH)、国际骨髓瘤大会(IMS)等国际会议上进行口头报告。目前担任中国免疫学会血液免疫分会委员、中国抗癌协会血液肿瘤专委会浆细胞疾病学组副组长、中国病理生理学会实验血液学青委会委员、中国多发性骨髓瘤研究联盟委员及秘书、国家自然科学基金评审专家, 以及*Front Oncol*、《中华血液学杂志》等杂志评审专家及通讯编委。

多发性骨髓瘤肿瘤生物学研究进展

郝牧* 邱录贵

(中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020)

摘要 在过去的20年里, 新药的治疗使多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者的生存期显著延长, 使其总生存期从之前的2~3年延长至现在的8~10年。对MM肿瘤生物学的深入了解促进了MM临床诊断、预后评估和疗效监测方面的进展, 特别是为分子靶向药物和免疫治疗药物的研发提供了生物学基础及新的靶点。然而, 目前MM仍旧是一个不能被治愈的血液系统肿瘤。现对国内外MM生物学研究相关进展进行综述。

关键词 多发性骨髓瘤; 生物学研究; 信号通路; 发病机制

Recent Progress in the Biology of Multiple Myeloma

HAO Mu*, QIU Lugui

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

Abstract Over the past 20 years, novel agents have led to a significant improvement in survival of patients with MM (multiple myeloma), with overall survival increasing from 2-3 years to 8-10 years. The in-depth understanding of MM tumor biology has promoted the progression of clinical diagnosis, prognosis evaluation and thera-

收稿日期: 2021-11-5 接受日期: 2021-11-29

国家自然科学基金(批准号: 82170194、81920108006)和中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(批准号: 2018PT31006)资助的课题

*通讯作者。Tel: 022-23909231, E-mail: haomu@ihcams.ac.cn

Received: November 5, 2021 Accepted: November 29, 2021

This work was supported by the National Science Foundation of China (Grant No.82170194, 81920108006) and the Non-Profit Central Research Institute Fund of the Chinese Academy of Medical Sciences (Grant No.2018PT31006)

*Corresponding author. Tel: +86-22-23909231, E-mail: haomu@ihcams.ac.cn

peutic effect. It also provides biological basis and new targets for the development of molecular targeted anti-MM drugs and immunotherapy strategies. Unfortunately, MM is still an incurable malignancy so far. Here, the research progression of MM biology is reviewed.

Keywords multiple myeloma; biological research; signal pathway; pathogenesis

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种骨髓浆细胞克隆增殖性疾病,主要好发于中老年人。其发病率具有明显的地域和人种差异,MM发病人数占血液肿瘤患者总数的10%,是仅次于恶性淋巴瘤的第二常见的血液系统恶性肿瘤^[1]。骨髓瘤患者血、尿中出现单克隆免疫球蛋白或其片段(又称M蛋白),造成骨髓造血、肾脏、骨骼等相关靶器官功能损害;临床主要表现为贫血、骨痛和溶骨性破坏、肾功能不全、反复感染等。MM细胞复杂的遗传学改变和染色体不稳定性,以及肿瘤细胞与骨髓微环境间的相互作用,共同促进了MM细胞增殖存活、抵抗药物杀伤。深入理解MM细胞肿瘤生物学特征,明确MM发生发展相关的生物学机理,进而发现新的早期预警、精确诊断生物标志物以及潜在药物靶点,可为改善MM临床诊疗策略,尤其是复发患者的治疗选择提供实验及理论基础。

1 基因组不稳定与多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤的病因迄今尚不明确,基因组不稳定是MM的一大特征。MM的发病是一个累及多基因、多阶段、多步骤的过程,几乎所有患者都经历从一个相对良性的过程,即单克隆免疫球蛋白增多症(monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)到冒烟型骨髓瘤(smoldering multiple myeloma, SMM),再到活动性骨髓瘤(active MM, 即MM)的发展过程^[1],在此过程中基因组不稳定导致遗传学异常事件的积累,部分MM染色体改变,如13号染色体单体与14q32易位,在MGUS阶段就已存在。然而尚未发现任何一种遗传学异常在MM发病中起主导作用^[2]。

1.1 细胞遗传学异常与多发性骨髓瘤发生关系密切

遗传学异常是MM发生、发展的内在推动力。遗传学异常已成为对MM进行危险分层的主要依据之一^[3]。根据染色体结构和数目的异常大致可以将MM患者分为两类:超二倍体(50%~60%)和非超二倍体(40%~50%),超二倍体往往发生奇数号染色体三体,主要包括+3(3号染色体三体)、+5、+7、

+9、+11、+15、+19、+21;非超二倍体往往伴有免疫球蛋白重链(IgH)基因与其他染色体之间的易位,常见5个重现性易位位点,分别影响不同的癌基因:11q13(*cyclinD1*)、4p16.3(*FGFR3/MMEST*)、6q21(*cyclinD3*)、16q23(*c-maf*)、20q11(*mafB*)。通常认为,超二倍体和非超二倍体患者具有不同的发病过程,但是其具体的分子机理尚不清楚。MM具有很强的异质性,整体而言超二倍体患者预后较非超二倍体好。我们通过对近1 200例初诊和400例复发/难治MM患者进行大系列研究,发现中国MM患者的遗传学特征整体与国外患者相似,但1q21扩增比例明显高于西方患者,而1q21扩增、17p缺失是MM患者不良预后因素^[4-5]。染色体异常往往导致多种细胞周期相关基因,如*CCND1*、*CCND2*、*CCND3*等表达水平升高,促进长生存浆细胞(long-lived plasma cell, LLPC)获得持续增殖活性,是MM疾病发生的重要原因之一^[6-7]。位于17p13.1的*TP53*是导致del17p预后不良的关键基因,然而17p13.1片段的缺失可能也靶向其他基因。XU等^[8]研究发现,位于17p13.3上的*YWHAE*(14-3-3ε蛋白的编码基因)是导致MM细胞产生耐药性及难治的关键基因之一。14-3-3ε参与调解mTORC1信号通路,影响蛋白合成起始复合物的形成及蛋白合成,14-3-3ε的表达水平能够用于预测MM对蛋白酶体抑制剂的敏感性,*YWHAE*可能成为调节MM细胞对蛋白酶体抑制剂的敏感性的潜在靶点。

1.2 基因表达谱变化与多发性骨髓瘤发生发展及患者预后不良密切相关

由于基因组不稳定,导致在MM发生过程中伴随着众多基因表达异常、基因结构变异、信号通路失调和基因组的表观遗传学改变。研究者采用基因芯片检测技术对MM患者肿瘤细胞基因表达谱进行了系统研究,研究结果显示根据基因表达谱可将初诊MM患者分为7个亚组(PR、LB、MS、HY、CD-1、CD-2、MF),7个亚组患者肿瘤细胞增殖活性、药物敏感性等生物学特征以及患者生存时间存在明显差异^[9]。MM细胞普遍存在染色体

不稳定(chromosome instability, CIN), 高表达多种染色体不稳定基因, 如*NEK2*、*TOP2A*、*AURKA*、*CCNB1*等。进一步研究发现这些CIN基因的高表达参与MM疾病的发生及发展^[10]。CIN基因*NEK2*在MM患者肿瘤细胞中的表达明显升高, 在疾病复发时的肿瘤细胞中*NEK2*表达量进一步升高, *NEK2*通过激活下游Akt、NF- κ B、Wnt等多条信号通路促进MM细胞增殖存活, 并通过上调*ABCB1*、*ABCG2*、*ABCC1*等基因表达介导MM细胞对多种药物产生耐药性^[10]。XIA等^[11]报道, *NEK2*的高表达还可通过稳定自噬相关蛋白Beclin-1表达促进MM细胞对蛋白酶体抑制剂的耐药性的产生。研究还发现, MM细胞通过高表达*NEK2*调控骨病相关因子*HSPE*的表达水平, MM细胞大量产生并分泌HSPE, HSPE与位于骨髓微环境中的破骨细胞前体细胞表面受体结合, 诱导破骨细胞的成熟分化, 从而促进骨髓瘤骨病的发生和发展^[12-13]。这些结果都说明, MM细胞染色体不稳定导致CIN基因的异常高表达, 在加速MM细胞增殖活性、抵抗药物杀伤中发挥关键性调控作用。

2 表观遗传学异常与多发性骨髓瘤

在MM疾病发生发展过程中, 肿瘤细胞的表现遗传学改变(包括miRNAs的异常表达、DNA甲基化、组蛋白甲基化、乙酰化等)发挥着重要作用^[14]。miRNAs分子在包括MM在内的多种肿瘤细胞中表达水平普遍较低, 但是其分子机制尚未完全阐明, 有研究报道miR-34a/b/c、miR-124-1、miR-194-2、miR-192、miR-203、miR-152和miR-10b-5p在MM细胞中的低表达受表观遗传调控^[15-17]。我们在MM细胞染色体异常参与MM发病的分子机理研究中发现, 定位在13q14、1p12、17p等染色体脆性位点的miRNAs分子在MM细胞中的表达存在明显异常^[18-22], 并参与促进MM细胞增殖以及其对治疗药物的抵抗, miR-15a/-16低表达与MM患者较差的预后明显相关。miR-15a可靶向表观遗传调控分子PHF19, 导致组蛋白H3K27甲基转移酶EZH2磷酸化失活, 降低H3K27甲基化水平, 使其下游抗凋亡蛋白Bcl-xL、McL-1表达水平增加, 从而在表观遗传水平促进MM细胞存活及其耐药性的产生^[20]。染色体异常导致表观遗传因子的异常也参与了MM的发生和发展。t(14:16)染色体易

位直接导致转录因子c-Maf的高表达, 且在50%以上的多发性骨髓瘤细胞中高表达, 与多发性骨髓瘤的发生发展、患者的不良预后密切相关。MAO等^[23]研究发现, 泛素连接酶HERC4介导转录因子c-Maf的多聚泛素化, 可延缓裸鼠模型中多发性骨髓瘤的生长。有意思的是, 他们也同时发现了去泛素化酶USP5能与c-Maf相互作用, 并使HERC4介导的c-Maf多聚泛素链发生水解, 提示USP5和HERC4能促进c-Maf的稳定和功能发挥。

我们的研究还证实这些定位在染色体脆性位点的miRNAs分子是MM治疗的潜在靶点。锁核酸(locked nucleic acid, LNA)是经过修饰的RNA核苷类似物, 对DNA、RNA有很好的识别能力和强大的亲和力和, 热稳定性高, 是反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)、miRNAs分子等RNA的理想修饰方式^[24]。锁核酸修饰可以增强miRNAs分子的稳定性, 通过病毒转染的方法使得miR-15a在MM细胞中稳定高表达, 体外及体内实验结果均证实外源性补充miR-15a可明显抑制MM细胞增殖活性, 增强MM细胞对硼替唑米治疗的敏感性、降低荷瘤小鼠肿瘤增殖活性、减轻小鼠肿瘤负荷、延长小鼠的生存时间^[25]。GAYAN等^[26]也发现, 经过锁核酸修饰后的miR-92b可通过恢复PTEN的表达抑制肺癌细胞的增殖活性。ZAHRA等^[27]也报道了外泌体介导的有活性的miRNAs在乳腺癌细胞中高表达可抑制肿瘤的生存。以上研究都证实包括miRNAs分子在内的表观遗传调控分子可作为MM治疗潜在靶点。

3 骨髓微环境与多发性骨髓瘤

多数研究认为细胞染色体不稳定性的增强导致细胞遗传学发生改变(称为初始细胞遗传学改变), 进而导致正常浆细胞发生恶性病变、克隆永生; 随后的其他细胞遗传学改变使MM肿瘤细胞获得了增殖优势。骨髓微环境是MM细胞生长的庇护场所, 骨髓微环境与MM细胞相互作用共同促进了MM的发生和发展^[28]。

3.1 肿瘤微环境与多发性骨髓瘤细胞增殖存活

骨髓微环境内成分复杂, 可由骨髓基质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)、破骨细胞(osteoclasts, OCs)、成骨细胞(osteoblasts, OBs)及间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)、巨噬细胞、免疫细胞等多种细胞成分以及细胞因子、趋化

因子、生长因子、细胞外基质等非细胞成分共同组成^[29]。MM细胞与骨髓微环境中的非肿瘤细胞之间可以通过细胞与细胞的直接接触、分泌可溶性细胞因子进行信号传递使肿瘤细胞获得生长信号,同时有利于免疫抑制肿瘤微环境的形成;此外微环境中的免疫细胞功能异常在MM的发病中也发挥了关键作用^[30](图1)。在疾病早期MGUS阶段,每年平均1.0%~1.5%的MGUS患者可进展为活动性骨髓瘤,这说明机体免疫系统与肿瘤细胞的相互作用决定了MM的最终演变^[31-32]。MGUS中的异常浆细胞可以影响细胞归巢、细胞因子分泌、免疫细胞功能、血管新生等骨髓微环境中多种生物学进程,而微环境的稳态失衡也可以进一步促进浆细胞恶性增殖。

骨髓微环境与MM细胞之间存在复杂的信号传导,这些信号在MM增殖存活、药物耐药、MM骨病和贫血等的发生发展中都发挥了关键作用。我们发现MM微环境中的基质细胞(BMSCs)可促进MM细胞增殖,并促进MM细胞抵抗药物诱导的细胞凋亡。研究发现BMSCs细胞可分泌高水平的IL-6等细胞因子,细胞因子IL-6呈剂量依赖性地与IL-6R结合后直接促进MM细胞的增殖存活,同时高水平的IL-6还可以抑制MM细胞中miR-15a、miR-16等miRNAs分子

的表达,导致miR-15a/-16靶基因*Bcl-2*、*PHF19*的转录增强,使得这些促进MM细胞增殖、存活的基因高水平表达,最终促进MM细胞的增殖活性并介导其治疗药物产生耐药性^[22,33-34]。

3.2 肿瘤微环境对非肿瘤细胞功能影响

贫血是MM患者突出的临床表现,约见于70%的MM患者,有一半以上(55.2%)的MM患者在疾病诊断时即存在中、重度的贫血,而且随着MM严重程度的增加,贫血也逐渐加重,严重影响患者的生存时间和生存质量。我们最近的研究表明,MM细胞可影响骨髓微环境中造血干祖细胞(haematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs)的分化潜能,这是骨髓瘤患者贫血发生的分子机制之一^[35-36]。与健康供者骨髓中HSPCs相比,MM微环境中的HSPCs向红系分化潜能明显受到抑制,骨髓瘤小鼠也出现不同程度的贫血。与正常对照比较,MM微环境中存在高水平的细胞因子CCL3,其通过与MM微环境中HSPCs表面的CCL3受体:CCR1或CCR5结合,从而抑制HSPCs中参与红系分化的关键转录因子GATA-1、KLF-1的表达,抑制HSPCs向红系分化,导致MM患者贫血的发生。CCL3高表达患者的贫血程度较低表达患者更重,其生存时间也更短^[37]。研究证实,

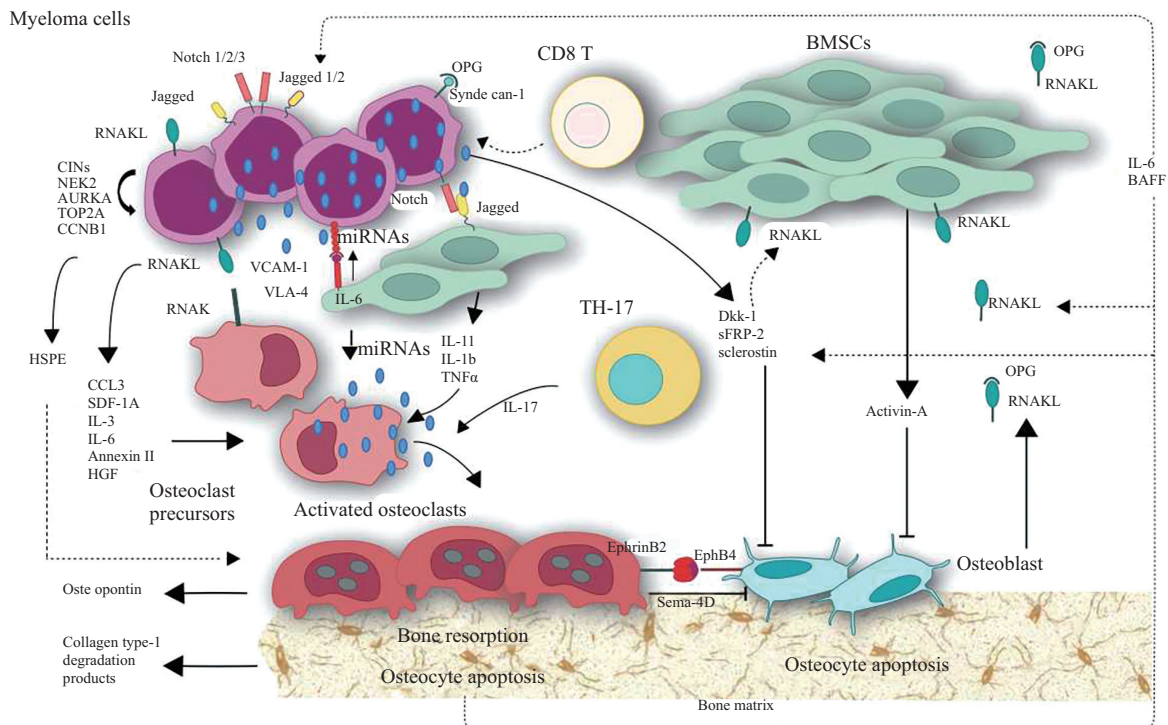


图1 多发性骨髓瘤微环境(根据参考文献[30]修改)

Fig.1 Bone marrow microenvironment of MM (modified from the reference [30])

MM细胞分泌产生高水平的CCL3, CCL3可作用于微环境中的破骨细胞前体, 促进破骨细胞分化成熟, 同时抑制骨髓MSCs的成骨细胞分化, 导致成骨与破骨活性的失衡以及骨髓瘤骨病的发生^[38-40]。

我们的研究结果以及越来越多的证据表明, 破骨细胞还具有重要的免疫调节作用^[41-42]。破骨细胞和巨噬细胞在细胞起源、空间分布、细胞功能及活性调控方面存在很多相似之处。破骨细胞和巨噬细胞均起源于造血干细胞单核细胞前体; 两者均具有组织降解功能; 破骨细胞表面表达较多的免疫分子, 具有一定的抗原递呈作用; 目前认为破骨细胞是一种驻扎在骨骼中的固有免疫细胞。存在于肿瘤骨髓微环境中的固有免疫细胞, 如巨噬细胞、树突状细胞、肥大细胞, 往往可被肿瘤细胞所改造, 帮助肿瘤细胞逃逸免疫监视。阐明破骨细胞的免疫功能, 为我们解读MM微环境中大量激活的破骨细胞提供了新的视角。

3.3 免疫抑制微环境与多发性骨髓瘤

除了存在宏观的免疫缺陷之外, 更为重要的是MM细胞能够产生免疫抑制的局部微环境, 从而帮助MM发生免疫逃逸。最近, 单细胞测序技术的发展和广泛应用, 使得我们对MM免疫抑制微环境的形成以及功能失调有了进一步深入的认识^[43-44]。MM肿瘤细胞通过对肿瘤微环境的重塑, 建立免疫抑制肿瘤微环

境, 从而促进MM的发生发展^[45-46]。Treg是一群异质性的T淋巴细胞, 大部分肿瘤(除了胃癌和结直肠癌)中FOXP3⁺ Treg细胞的浸润与预后不良密切相关。而肿瘤微环境中的炎症状态可以使正常生理性Treg转变为对肿瘤有利的病理性Treg, 引起局部的免疫耐受和免疫抑制^[47-48]。研究发现MM微环境中T细胞功能和数量均存在异常, MM患者循环Treg比例较正常供者显著升高。而MM患者中CD8⁺ T细胞数量较正常对照明显降低, 并且对抗原刺激普遍不敏感。与正常对照比较, MM骨髓中的T细胞对于抗原刺激表现为一种无应答或者是减低应答的状态, 导致T细胞活性被抑制, 甚至呈现T细胞耗竭(T cell exhaustion)状态, 是机体无法清除肿瘤细胞的关键^[49]。此外, T细胞和MM细胞增加免疫检查点分子PD-1和PD-L1的表达也参与介导了MM细胞的免疫逃逸。同样, 髓系来源的抑制细胞、Th17细胞、肿瘤相关巨噬细胞、基质细胞和破骨细胞也参与调控MM肿瘤免疫逃逸和免疫抑制的临床状态^[42]。目前针对MM免疫抑制微环境已开发多种靶向治疗策略^[50](图2)。

最近, MADELON等^[29]通过单细胞转录组研究发现, 骨髓瘤微环境中存在特异性炎症间充质干细胞(inflammatory MSCs, iMSCs), iMSCs与MM细胞和免疫细胞空间共定位, 并促进MM存活和参与MM

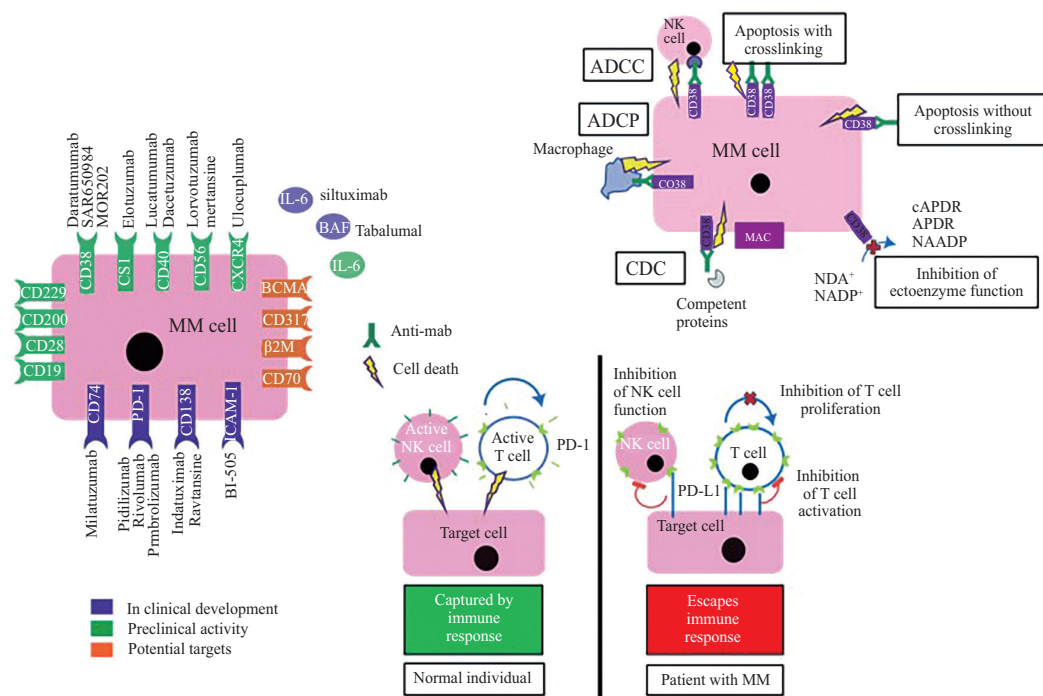


图2 多发性骨髓瘤靶向治疗及作用机制(根据参考文献[50]修改)

Fig.2 The mechanism of target therapy in MM (modified from the reference [50])

细胞免疫调节基因的表达。免疫细胞亚群分析表明,干扰素应答效应T细胞(interferon-responsive effector T cells)和干细胞样CD8⁺记忆T细胞(CD8⁺ stem cell memory T, Tscm)是激活iMSCs细胞所需细胞因子的潜在来源。对个体间质炎症的追踪显示,目前的抗肿瘤疗法无法逆转骨髓的炎症微环境,炎症间充质细胞的存在导致疾病无法被完全清除。少量残留的肿瘤细胞会在合适的时机死灰复燃,导致疾病复发。如果能够逆转MM免疫抑制微环境,可有助于清除微小残留病灶,使得治愈MM成为可能^[51-52]。随着免疫疗法在多发性骨髓瘤治疗中的异军突起,阐明MM免疫抑制微环境的形成过程及分子机制,对于改善免疫治疗的疗效有重要的临床实际意义。

综上,我们认为染色体不稳定导致最初的遗传学改变使浆细胞发生恶变、克隆永生,随后免疫抑制微环境的形成使其获得了增殖优势。MM细胞进一步通过对周围骨髓微环境进行重塑,并从微环境基质细胞获得生长信号,最终导致MM疾病的发生及进展。

4 多发性骨髓瘤骨病发病机制

骨病是MM患者突出的临床症状。80%的MM患者在诊断时即出现多部位的溶骨性损害,严重影响患者生活质量和生存时间。近年来新药的广泛应用使得MM临床缓解率有了很大提高,然而患者的骨质破坏并未得到有效的治疗和改善^[30,53]。

骨髓瘤细胞与微环境的相互作用在骨病的发生中扮演了重要的角色。生理骨重塑高度依赖于骨基质、骨细胞、破骨细胞、成骨细胞和免疫细胞之间的精细相互作用。然而MM细胞与微环境细胞通过直接接触,分泌细胞因子RANKL、DKK-1、CCL3、SDF-1、IL-17等^[38,54],进而活化Notch^[55]、Wnt^[56]等信号通路,导致破骨细胞的过度激活并抑制成骨细胞活性,是导致多发性骨髓瘤骨病发生的重要环节^[57-58]。MM细胞可诱导骨细胞发生凋亡,改变骨髓微环境,为肿瘤细胞转移提供空间^[59]。更重要的是,MM细胞与破骨细胞之间的相互作用可能为MM细胞提供了一个独特的微环境,使得MM细胞维持静息的状态且成为MM复发的根源^[60]。反过来,破骨细胞通过促进Th17淋巴细胞和髓系来源抑制性细胞的扩增,抑制细胞毒性T细胞和NK细胞抗肿瘤活性,促进了免疫抑制微环境的形成,有利于MM细

胞的增殖存活^[42,61]。

此外,骨髓瘤细胞可促进骨髓微环境中破骨细胞前体细胞——单核巨噬细胞内Akt信号通路异常激活,增强转录因子ATF4的表达,促进RANK在破骨前体细胞表面的过度表达,导致破骨细胞的大量激活和骨质破坏^[62]。研究发现miR-214参与调控Akt信号通路的活化这一过程,过表达miR-214可上调Akt信号通路活性^[63],促进破骨细胞分化成熟。miR-214在骨髓瘤患者微环境中的表达水平异常升高,且与患者骨病严重程度呈正相关,生存分析显示miR-214高表达患者预后不良^[64-65]。治疗后残留的耐药MM细胞参与调控破骨细胞活性,是导致骨髓瘤骨病持续存在的重要原因。我们的研究发现,耐药的MM细胞高表达染色体不稳定基因NEK2是导致病人临床症状缓解之后,骨质破坏仍旧无法修复的重要原因^[12,66]。序贯基因表达谱分析表明,即使取得非常好的部分缓解(very good partial response, VGPR)和完全缓解(complete remission, CR)的患者体内仍然存在难以清除的耐药MM细胞,NEK2在MM耐药克隆中的表达量进一步增加并与患者骨质破坏、骨病严重程度具有明显相关性。我们的研究还发现,染色体不稳定基因NEK2通过活化NF- κ B信号通路,增加了HSPE基因转录水平及蛋白表达量,微环境中高水平的HSPE促进破骨细胞的分化成熟,导致骨病的发生发展;抑制HSPE活性可逆转NEK2介导的骨质破坏,改善MM患者的生存质量,延长其生存时间^[12,66]。上述结果证实,MM细胞可通过多种途径,促进破骨细胞的分化成熟。这些结果对于阐明MM细胞激活破骨细胞介导MM骨病发生的分子机制、明确MM细胞与破骨细胞相互作用的关键分子靶点、研发新的抗MM骨病治疗方法,以及靶向抑制骨髓微环境对MM细胞增殖存活的促进作用具有重要的理论及临床实际意义。

5 多发性骨髓瘤新的生物标志物

多发性骨髓瘤是一种异质性很强的血液系统肿瘤。骨髓瘤存在散在分布的特征,身体不同部位的肿瘤微环境存在明显异质性,髓内骨髓瘤和髓外骨髓瘤的微环境和肿瘤生物学都存在显著差异^[67]。由于肿瘤细胞及微环境空间异质性,导致同一个病人不同位置的肿瘤细胞群,对于相同治疗的反应存在显著差别,单一位点骨髓穿刺并不能反映患者肿

瘤细胞的总体特征,这也成为MM病情评价欠准确的重要原因^[68]。

包括液体活检在内的循环生物标志物的开发已成为肿瘤研究的热点之一,血清中游离轻链水平的检测能够快速准确地反映疾病变化。除此而外,近年许多研究证实体液中稳定存在miRNA分子,并且血浆miRNA表达具有肿瘤细胞特异性。由于血浆样本采集容易且可重复获取,有利于临床对疾病的追踪观察,并且miRNA分子具有稳定性好、不易降解的优点,因此循环miRNA被认为是理想的非侵入性生物标志物,有着重要的应用价值和前景。我们的研究比较了MM患者与正常对照的外周血miRNA表达谱,结果表明MM患者外周血与正常人外周血miRNA表达谱存在明显差异,并且miRNA表达谱变化与疾病进展关系密切^[65]。MM患者外周血中循环miR-19a、miR-214、miR-135b等表达水平可作为MM疾病理想的生物标志物^[69]用于MM疾病的早期诊断、预后评估以及疗效评价。然而由于大多数miRNA在血清中呈低水平表达,如何对其进行稳定检测是目前亟需解决的关键问题。

最近许多研究关注MM患者外周血循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)^[70]、循环游离DNA(circulating cell-free DNA, cfDNA)^[71]、循环肿瘤DNA(circulating tumour DNA, ctDNA)^[72]等外周血中存在的肿瘤细胞附属产物,研究表明CTC和cfDNA均带有自身MM细胞所特有的遗传学特征;CTC、cfDNA等是MM疾病早期预警理想的生物标志物。然而,这些新型生物标志物检测的灵敏度和特异性还有待进一步提高。我们相信随着检测技术的不断提升,血清生物标志物终将进入临床应用。

6 小结

综上,在发病机制上,MM具有两个显著的特征:(1) MM肿瘤细胞基因组不稳定,肿瘤细胞克隆异质性明显,优势克隆和多个亚克隆同时存在,MM基因组处于动态演进过程中;(2) MM与微环境相互作用,肿瘤细胞通过对微环境的重塑,形成免疫抑制的微环境,在浆细胞恶性转变、增殖存活、抵抗药物杀伤、决定优势克隆以及骨髓瘤贫血、骨病等病理生理过程中均扮演着重要的角色。我们的研究发现和文献报道,都很好地解释了多发性骨髓瘤细胞遗传学的改变、肿瘤微环境与肿瘤细胞之间的相互作用共同

导致了多发性骨髓瘤的发生和发展。因此,MM的理想治疗策略应同时靶向MM细胞、破坏肿瘤细胞与微环境之间的相互作用。针对MM这两个基本的生物学特征开展研究,对于阐明MM的发生、发展和耐药机制,探索克服MM耐药的新策略,最终治愈MM具有十分重要的意义。

参考文献 (References)

- [1] KUMAR S K, RAJKUMAR V, KYLE R A, et al. Multiple myeloma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17046.
- [2] NEUSE C J, LOMAS O C, SCHLIEMANN C, et al. Genome instability in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 2887-97.
- [3] KUMAR S K, RAJKUMAR S V. The multiple myelomas - current concepts in cytogenetic classification and therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(7): 409-21.
- [4] AN G, XU Y, SHI L, et al. Chromosome 1q21 gains confer inferior outcomes in multiple myeloma treated with bortezomib but copy number variation and percentage of plasma cells involved have no additional prognostic value [J]. *Haematologica*, 2014, 99(2): 353-9.
- [5] AN G, LI Z, TAI Y-T, et al. The impact of clone size on the prognostic value of chromosome aberrations by fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2148-56.
- [6] NUTT S L, HODGKIN P D, TARLINTON D M, et al. The generation of antibody-secreting plasma cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(3): 160-71.
- [7] HALLILEY J L, TIPTON C M, LIESVELD J, et al. Long-lived plasma cells are contained within the CD19⁺CD38^{hi}CD138⁺ subset in human bone marrow [J]. *Immunity*, 2015, 43(1): 132-45.
- [8] XU Y, FULCINITI M, SAMUR M K, et al. YWHAE/14-3-3 ϵ expression impacts the protein load, contributing to proteasome inhibitor sensitivity in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2020, 136(4): 468-79.
- [9] ZHAN F, HUANG Y, COLLA S, et al. The molecular classification of multiple myeloma [J]. *Blood*, 2006, 108(6): 2020-8.
- [10] ZHOU W, YANG Y, XIA J, et al. NEK2 induces drug resistance mainly through activation of efflux drug pumps and is associated with poor prognosis in myeloma and other cancers [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(1): 48-62.
- [11] XIA J, HE Y, MENG B, et al. NEK2 induces autophagy-mediated bortezomib resistance by stabilizing Beclin-1 in multiple myeloma [J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(4): 763-78.
- [12] FRANQUI-MACHIN R, HAO M, BAI H, et al. Destabilizing NEK2 overcomes resistance to proteasome inhibition in multiple myeloma [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(7): 2877-93.
- [13] AN G, YAN Y, XU Y, et al. Monitoring the cytogenetic architecture of minimal residual plasma cells indicates therapy-induced clonal selection in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2020, 34(2): 578-88.
- [14] HANDA H, MURAKAMI Y, ISHIHARA R, et al. The role and function of microRNA in the pathogenesis of multiple myeloma [J]. *Cancers*, 2019, 11(11): 1738.
- [15] ZHANG W, WANG Y E, ZHANG Y, et al. Global epigenetic

- regulation of microRNAs in multiple myeloma [J]. PLoS One, 2014, 9(10): e110973.
- [16] MISIEWICZ-KRZEMINSKA I, KRZEMINSKI P, CORCHETE L A, et al. Factors regulating microRNA expression and function in multiple myeloma [J]. Noncoding RNA, 2019, 5(1): 9.
 - [17] TATEKAWA S, CHINEN Y, RI M, et al. Epigenetic repression of miR-375 is the dominant mechanism for constitutive activation of the PDPK1/RPS6KA3 signalling axis in multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2017, 178(4): 534-46.
 - [18] QIN Y, ZHANG S, DENG S, et al. Epigenetic silencing of miR-137 induces drug resistance and chromosomal instability by targeting AURKA in multiple myeloma [J]. Leukemia, 2017, 31(5): 1123-35.
 - [19] HAO M, ZHANG L, AN G, et al. Suppressing miRNA-15a/-16 expression by interleukin-6 enhances drug-resistance in myeloma cells [J]. J Hematol Oncol, 2011, 4: 37.
 - [20] YU T, DU C, MA X, et al. Polycomb-like protein 3 induces proliferation and drug resistance in multiple myeloma and is regulated by miRNA-15a [J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(7): 1063-73.
 - [21] LI F, HAO M, FENG X, et al. Downregulated miR-33b is a novel predictor associated with disease progression and poor prognosis in multiple myeloma [J]. Leuk Res, 2015, 39(7): 793-9.
 - [22] LI F, XU Y, DENG S, et al. MicroRNA-15a/16-1 cluster located at chromosome 13q14 is down-regulated but displays different expression pattern and prognostic significance in multiple myeloma [J]. Oncotarget, 2015, 6(35): 38270-82.
 - [23] ZHANG Z, TONG J, TANG X, et al. The ubiquitin ligase HERC4 mediates c-Maf ubiquitination and delays the growth of multiple myeloma xenografts in nude mice [J]. Blood, 2016, 127(13): 1676-86.
 - [24] ZHANG Y, WANG Z, GEMEINHART R A. Progress in microRNA delivery [J]. J Control Release, 2013, 172(3): 962-74.
 - [25] LI Z, LIU L, DU C, et al. Therapeutic effects of oligo-single-stranded DNA mimicking of hsa-miR-15a-5p on multiple myeloma [J]. Cancer Gene Ther, 2020, 27(12): 869-77.
 - [26] MIRIHANA ARACHCHILAGE G, KHAREL P, REID J, et al. Targeting of G-quadruplex harboring pre-miRNA 92b by LNA rescues PTEN expression in NSCL cancer cells [J]. ACS Chem Biol, 2018, 13(4): 909-14.
 - [27] NASERI Z, OSKUEE R K, JAAFARI M R, et al. Exosome-mediated delivery of functionally active miRNA-142-3p inhibitor reduces tumorigenicity of breast cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Nanomedicine, 2018, 13: 7727-47.
 - [28] PAWLYN C, MORGAN G J. Evolutionary biology of high-risk multiple myeloma [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(9): 543-56.
 - [29] DE JONG M M E, KELLERMAYER Z, PAPAIZIAN N, et al. The multiple myeloma microenvironment is defined by an inflammatory stromal cell landscape [J]. Nat Immunol, 2021, 22(6): 769-80.
 - [30] TERPOS E, NTANASIS-STATHOPOULOS I, DIMOPOULOS M A. Myeloma bone disease: from biology findings to treatment approaches [J]. Blood, 2019, 133(14): 1534-9.
 - [31] NAKAMURA K, SMYTH M J, MARTINET L. Cancer immunoeediting and immune dysregulation in multiple myeloma [J]. Blood, 2020, 136(24): 2731-40.
 - [32] NAKAMURA K, KASSEM S, CLEYNEN A, et al. Dysregulated IL-18 is a key driver of immunosuppression and a possible therapeutic target in the multiple myeloma microenvironment [J]. Cancer Cell, 2018, 33(4): 634-48, e5.
 - [33] 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): 1787-94.
 - [34] 藏美蓉, 李菲, 安刚, 等. 多发性骨髓瘤患者骨髓基质细胞调节 miRNA-15a/-16 表达在骨髓瘤细胞耐药中的作用及机制 [J]. 中华医学杂志 (Regulation of miRNA-15a/-16 expression on the drug resistance of myeloma cells [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi), 2012, 92(16): 1100-3.
 - [35] BOUCHNITA A, EYMARD N, MOYO T K, et al. Bone marrow infiltration by multiple myeloma causes anemia by reversible disruption of erythropoiesis [J]. Am J Hematol, 2016, 91(4): 371-8.
 - [36] BRUNS I, CADEDDU R P, BRUECKMANN I, et al. Multiple myeloma-related deregulation of bone marrow-derived CD34⁺ hematopoietic stem and progenitor cells [J]. Blood, 2012, 120(13): 2620-30.
 - [37] LIU L, YU Z, CHENG H, et al. Multiple myeloma hinders erythropoiesis and causes anaemia owing to high levels of CCL3 in the bone marrow microenvironment [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 20508.
 - [38] VALLET S, POZZI S, PATEL K, et al. A novel role for CCL3 (MIP-1 α) in myeloma-induced bone disease via osteocalcin downregulation and inhibition of osteoblast function [J]. Leukemia, 2011, 25(7): 1174-81.
 - [39] DAIRAGHI D J, OYAJOB I B O, GUPTA A, et al. CCR1 blockade reduces tumor burden and osteolysis *in vivo* in a mouse model of myeloma bone disease [J]. Blood, 2012, 120(7): 1449-57.
 - [40] LOMAS O C, TAHRI S, GHOBRIAL I M. The microenvironment in myeloma [J]. Curr Opin Oncol, 2020, 32(2): 170-5.
 - [41] CHARLES J F, ALIPRANTIS A O. Osteoclasts: more than 'bone eaters' [J]. Trends Mol Med, 2014, 20(8): 449-59.
 - [42] AN G, ACHARYA C, FENG X, et al. Osteoclasts promote immune suppressive microenvironment in multiple myeloma: therapeutic implication [J]. Blood, 2016, 128(12): 1590-603.
 - [43] PAPALEXI E, SATIJA R. Single-cell RNA sequencing to explore immune cell heterogeneity [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(1): 35-45.
 - [44] ZAVIDIJ O, HARADHVALA N J, MOUHIEDDINE T H, et al. Single-cell RNA sequencing reveals compromised immune microenvironment in precursor stages of multiple myeloma [J]. Nat Cancer, 2020, 1(5): 493-506.
 - [45] MINNIE S A, HILL G R. Immunotherapy of multiple myeloma [J]. J Clin Invest, 2020, 130(4): 1565-75.
 - [46] CASEY M, NAKAMURA K. The cancer-immunity cycle in multiple myeloma [J]. Immunotargets Ther, 2021, 10: 247-60.
 - [47] LOPEZ-PASTRANA J, SHAO Y, CHERNAYA V, et al. Epigenetic enzymes are the therapeutic targets for CD4⁺CD25⁺highFoxp3⁺ regulatory T cells [J]. Transl Res, 2015, 165(1): 221-40.
 - [48] YANG W Y, SHAO Y, LOPEZ-PASTRANA J, et al. Pathological conditions re-shape physiological Tregs into pathological Tregs [J]. Burns Trauma, 2015, 3: 1.
 - [49] JERBY-ARNON L, SHAH P, CUOCO M S, et al. A cancer cell program promotes T cell exclusion and resistance to checkpoint

- blockade [J]. *Cell*, 2018, 175(4): 984-97, e24.
- [50] LONIAL S, DURIE B, PALUMBO A, et al. Monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma: current status and future perspectives [J]. *Leukemia*, 2016, 30(3): 526-35.
- [51] 龚莉欣, 邱录贵, 郝牧. 多发性骨髓瘤患者骨髓微环境中CD4⁺T细胞亚群生物学特征及其作用的研究现状 [J]. *国际输血及血液学杂志 (Research status of biological characteristics and roles of CD4⁺T cell subsets in bone marrow microenvironments of multiple myeloma patients [J]. *Int J Blood Transfus Hematol*), 2021, 44(1): 1-6.*
- [52] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 1-10.
- [53] SILBERMANN R, ROODMAN G D. Current controversies in the management of myeloma bone disease [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(11): 2374-9.
- [54] NOONAN K, MARCHIONNI L, ANDERSON J, et al. A novel role of IL-17-producing lymphocytes in mediating lytic bone disease in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2010, 116(18): 3554-63.
- [55] DELGADO-CALLE J, ANDERSON J, CREGOR M D, et al. Bidirectional Notch signaling and osteocyte-derived factors in the bone marrow microenvironment promote tumor cell proliferation and bone destruction in multiple myeloma [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(5): 1089-100.
- [56] BARON R, KNEISSEL M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments [J]. *Nat Med*, 2013, 19(2): 179-92.
- [57] NAKASHIMA T, HAYASHI M, FUKUNAGA T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression [J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1231-4.
- [58] TERPOS E, MORGAN G, DIMOPOULOS M A, et al. International Myeloma Working Group recommendations for the treatment of multiple myeloma-related bone disease [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(18): 2347-57.
- [59] TROTTER T N, FOK M, GIBSON J T, et al. Osteocyte apoptosis attracts myeloma cells to bone and supports progression through regulation of the bone marrow microenvironment [J]. *Blood*, 2016, 128(22): 484.
- [60] CHEN Z, ORLOWSKI R Z, WANG M, et al. Osteoblastic niche supports the growth of quiescent multiple myeloma cells [J]. *Blood*, 2014, 123(14): 2204-8.
- [61] MUKAIHARA K, SIU K T, PANARONI C, et al. The pleiotropic immunosuppressive role of osteoclasts in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2018, 132: 4447.
- [62] CAO H, ZHU K, QIU L, et al. Critical role of AKT protein in myeloma-induced osteoclast formation and osteolysis [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(42): 30399-410.
- [63] YIN G, CHEN R, ALVERO A B, et al. TWISTing stemness, inflammation and proliferation of epithelial ovarian cancer cells through MIR199A2/214 [J]. *Oncogene*, 2010, 29(24): 3545-53.
- [64] SHENDER V, ARAPIDI G, BUTENKO I, et al. Peptidome profiling dataset of ovarian cancer and non-cancer proximal fluids: Ascites and blood sera [J]. *Data Brief*, 2019, 22: 557-62.
- [65] HAO M, ZANG M, ZHAO L, et al. Serum high expression of miR-214 and miR-135b as novel predictor for myeloma bone disease development and prognosis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 19589-600.
- [66] HAO M, FRANQUI-MACHIN R, XU H, et al. NEK2 induces osteoclast differentiation and bone destruction via heparanase in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2017, 31(7): 1648-50.
- [67] RASCHE L, KORTÜM K M, RAAB M S, et al. The impact of tumor heterogeneity on diagnostics and novel therapeutic strategies in multiple myeloma [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1248.
- [68] LEVIN A, HARI P, DHAKAL B. Novel biomarkers in multiple myeloma [J]. *Transl Res*, 2018, 201: 49-59.
- [69] HAO M, ZANG M, WENDLANDT E, et al. Low serum miR-19a expression as a novel poor prognostic indicator in multiple myeloma [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(8): 1835-44.
- [70] GARCÉS J J, BRETONES G, BURGOS L, et al. Circulating tumor cells for comprehensive and multiregional non-invasive genetic characterization of multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 3007-18.
- [71] DESHPANDE S, TYTARENKO R G, WANG Y, et al. Monitoring treatment response and disease progression in myeloma with circulating cell-free DNA [J]. *Eur J Haematol*, 2021, 106(2): 230-40.
- [72] KIS O, KAEDBEY R, CHOW S, et al. Circulating tumour DNA sequence analysis as an alternative to multiple myeloma bone marrow aspirates [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15086.