

# LncRNA NEAT1 通过 miR-195-5p/CEBPA 轴促进骨髓瘤细胞增殖和转移机制的实验研究

王 婷<sup>a</sup>, 白 彬<sup>b</sup>, 许红月<sup>a</sup>, 张学勇<sup>a</sup> (山东省第一医科大学附属聊城市第二人民医院 a. 血液内科; b. 病理科, 山东聊城 252600)

**摘要:** 目的 探究长链非编码 RNA (LncRNA) 核富集丰富的转录本 1 (NEAT1) 通过 miR-195-5p/CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$  (CEBPA) 轴对骨髓瘤细胞增殖和转移的影响及机制。方法 ①收集 2021 年 3 月~2023 年 2 月在山东省第一医科大学附属聊城市第二人民医院血液内科住院的 40 例多发性骨髓瘤 (MM) 患者和 10 例健康骨髓供者的骨髓单个核细胞 (BMNC) 及 MM 细胞系 U266, RPMI 8226, NCI-H 929 和 MM.1S, RT-qPCR 和 Western blot 检测细胞中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 和蛋白水平。②U266 细胞分为过表达 NEAT1 组 (NEAT1 组) 及其对照组 (NC 组)、敲低 NEAT1 表达组 (sh-NEAT1 组) 及其对照组 (sh-NC 组)、过表达 NEAT1 和 miR-195-5p 组 (NEAT1+miR-195-5p 组) 及其对照组 (NEAT1+miR-NC 组)、过表达 miR-195-5p 和 CEBPA 组 (miR-195-5p+CEBPA 组) 及其对照组 (miR-195-5p+NC 组)。CCK-8 和 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷 (EdU) 染色检测细胞增殖能力; Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力; RT-qPCR 检测细胞中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 水平; Western blot 检测细胞中 CEBPA, Ki67, 增殖细胞核抗原 (PCNA), 基质金属蛋白酶 (MMP)-2, MMP-9, 磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K), p-PI3K, 蛋白激酶 B (AKT), p-AKT, 雷帕霉素靶蛋白 (mTOR), p-mTOR 蛋白水平。③20 只裸鼠分为敲低 NEAT1 表达组 (sh-NEAT1 组) 及其对照组 (sh-NC 组), 每组各 10 只。裸鼠皮下注射相应已转染的 U266 细胞悬液, 四周后测定移植瘤各项指标差异。结果 ①与正常 BMNC 相比, MM 患者和 MM 细胞系中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平升高, miR-195-5p 水平降低, 差异具有统计学意义 ( $t=11.697, 9.272, 4.352, 11.639$ , 均  $P<0.05$ )。②过表达 NEAT1 后, 与 NC 组比较, NEAT1 组细胞 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平升高, miR-195-5p 水平降低 ( $t=12.825, 5.874, 13.893, 4.797$ ); 细胞培养 72h A 值、EdU 阳性率升高, 细胞迁移、侵袭数增多 ( $t=9.425, 5.632, 8.841, 5.364$ ); Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平升高 ( $t=14.227, 7.743, 7.348, 7.803, 8.714, 8.629, 7.359$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ ); 敲低 NEAT1 表达后, 与 sh-NC 组比较, sh-NEAT1 组细胞 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平降低 ( $t=5.776, 5.001, 4.503$ ), miR-195-5p 水平升高 ( $t=4.456$ ), 细胞迁移、侵袭能力降低 ( $t=6.204, 8.792$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ ); 过表达 miR-195-5p 能够部分逆转过表达 NEAT1 对细胞上述指标的影响, 差异具有统计学意义 ( $t=4.356 \sim 10.809$ , 均  $P<0.05$ ); 过表达 CEBPA 能够部分逆转过表达 miR-195-5p 对细胞上述指标的影响, 差异具有统计学意义 ( $t=4.329 \sim 14.452$ , 均  $P<0.05$ )。③敲低 NEAT1 表达能够抑制裸鼠移植瘤生长, 差异具有统计学意义 ( $t=5.175 \sim 18.190$ , 均  $P<0.05$ )。结论 LncRNA NEAT1 通过靶向 miR-195-5p/CEBPA 表达促进 MM 细胞增殖和转移, 其可能通过激活 PI3K/AKT/mTOR 通路发挥作用。

**关键词:** 多发性骨髓瘤; 核富集丰富的转录本 1; 微小 RNA-195-5p; CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$ ; 增殖  
**中图分类号:** R733.3; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2025) 01-024-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2025.01.05

## Experimental Study on the Mechanism of LncRNA NEAT1 Promoting Proliferation and Metastasis of Myeloma Cells Through miR-195-5p/CEBPA Axis

WANG Ting<sup>a</sup>, BAI Bin<sup>b</sup>, XU Hongyue<sup>a</sup>, ZHANG Xueyong<sup>a</sup>

(a. Department of Hematology; b. Department of Pathology, the Second People's Hospital of Liaocheng, Shandong First Medical University, Shandong Liaocheng 252600, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect and mechanism of long non-coding RNA (LncRNA) nuclear enriched abundant transcript 1 (NEAT1) on proliferation and metastasis of myeloma through miR-195-5p/CCAAT enhancer binding protein  $\alpha$  (CEBPA) axis. **Methods** ① From March 2021 to February 2023, bone marrow mononuclear cells (BMNC) from 40 patients with multiple myeloma (MM) and 10 healthy bone marrow donors who were hospitalized in the Department of Hematology

**基金项目:** 山东省医药卫生科技发展计划项目 (202203040878)。

**作者简介:** 王婷 (1983-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 浆细胞疾病的病理生理及临床诊治, E-mail: wangting131@163cn.com.cn。

**通讯作者:** 张学勇 (1969-), 男, 本科, 主任医师, 研究方向: 难治性贫血, E-mail: xueyong221@163cn.com.cn。

the Second People's Hospital of Liaocheng City, Shandong First Medical University and MM cell lines U266, RPMI 8226, NCI-H929 and MM.1S were collected. RT-qPCR and Western blot were used to detect NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA and protein levels in cells. ② U266 cells were divided into overexpressing NEAT1 group (NEAT1 group) and its control group (NC group), knockdown NEAT1 expression group (sh-NEAT1 group) and its control group (sh-NC group), overexpressing NEAT1 and miR-195-5p group (NEAT1+miR-195-5p group) and its control group (NEAT1+miR-NC group), and overexpressing miR-195-5p and CEBPA group (miR-195-5p+CEBPA group) and its control group (miR-195-5p+NC group). CCK-8 and EdU staining were used to detect cell proliferation ability. Transwell assay was used to detect cell migration and invasion ability. RT-qPCR was used to detect NEAT1, miR-195-5p, and CEBPA mRNA levels in cells. Western blot was used to detect CEBPA, Ki67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, phosphoinositide 3 kinase (PI3K), p-PI3K, protein kinase B (AKT), p-AKT, mechanistic target of rapamycin (mTOR), and p-mTOR protein levels. ③ Twenty nude mice were divided into knockdown NEAT1 expression group (sh-NEAT1 group) and its control group (sh-NC group), with ten mice in each group. Nude mice were subcutaneously injected with corresponding transfected U266 cell suspension, and the differences in various indicators of transplanted tumor were measured after 4 weeks. **Results** ① Compared with normal BMNC, NEAT1, CEBPA mRNA and protein levels in MM patients and MM cell lines were increased, while miR-195-5p level was decreased, and the differences were significant ( $t=11.697, 9.272, 4.352, 11.639$ , all  $P<0.05$ ). ② After overexpression of NEAT1, NEAT1, CEBPA mRNA and protein levels in cells were increased ( $t=12.825, 5.874, 13.893$ ), while miR-195-5p level was decreased ( $t=4.797$ ), the  $A$  value and EdU positive rate after 72 hours of cell culture were increased ( $t=9.425, 5.632$ ), the number of migration/invasion cells were increased ( $t=8.841, 5.364$ ), and Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT and p-mTOR/mTOR protein levels were increased ( $t=14.227, 7.743, 7.348, 7.803, 8.714, 8.629, 7.359$ ), with significant differences (all  $P<0.05$ ). After knockdown the expression of NEAT1, NEAT1, CEBPA mRNA and protein levels in cells were decreased ( $t=5.776, 5.001, 4.503$ ), while miR-195-5p level was increased ( $t=4.456$ ), the ability of cell proliferation, invasion and metastasis was decreased ( $t=6.204, 8.792$ ), with significant differences (all  $P<0.05$ ). Overexpression of miR-195-5p could partially reverse the effects of overexpression of NEAT1 on the aforementioned cellular indicators, and the differences were significant ( $t=4.356 \sim 10.809$ , all  $P<0.05$ ). Meanwhile, overexpression of CEBPA could partially reverse the effects of overexpression of miR-195-5p on the aforementioned cellular indicators, and the differences were significant ( $t=4.329 \sim 14.452$ , all  $P<0.05$ ). ③ Knockdown NEAT1 expression could inhibit the growth of transplanted tumors in nude mice, and the differences were significant ( $t=5.175 \sim 18.190$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion** LncRNA NEAT1 promotes proliferation, invasion and metastasis of MM cells by targeting miR-195-5p/CEBPA expression, which may act by activating the PI3K/AKT/mTOR pathway.

**Keywords:** multiple myeloma; nuclear enriched abundant transcript 1; miR-195-5p; CCAAT enhancer binding protein  $\alpha$ ; proliferation

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是恶性浆细胞异常增殖的疾病, 其患病率居血液系统恶性肿瘤第二位<sup>[1]</sup>。尽管现有的治疗方法能够显著延长患者的生存期, 但 MM 仍无法治愈<sup>[2]</sup>。因此, 寻找精准分子靶向作用的治疗药物对 MM 的临床治疗具有重要意义。研究显示, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 核富集丰富的转录本 1 (nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1) 在地塞米松耐药的 MM 中呈现高表达, 且与患者不良预后相关<sup>[3]</sup>。下调 NEAT1 表达可通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶 / 蛋白激酶 B / 雷帕霉素靶蛋白 (phosphoinositide 3 kinase/protein kinase B/mechanistic target of rapamycin, PI3K/AKT/mTOR) 通路抑制 MM 进展<sup>[4]</sup>。另外, miR-195-5p 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 中发挥抑癌作用, 且 miR-195-5p 水平与 MM 患者胸椎病变存在关联, 暗示其在 MM 进展中可能发挥调控作用<sup>[5-6]</sup>。CCAAT 增强子结合蛋白  $\alpha$  (CCAAT

enhancer binding protein  $\alpha$ , CEBPA) 是正常髓系分化所必需的特异性转录因子, CEBPA 突变或表达量降低均与 MM 患者良好预后相关<sup>[7-8]</sup>。通过生物信息学分析, 我们发现 NEAT1, miR-195-5p 和 CEBPA 之间存在潜在的相互作用关系。然而, NEAT1 通过 miR-195-5p/CEBPA 轴在 MM 中的具体调控作用尚待阐明。本研究旨在从临床、细胞和动物层面深入探究 LncRNA NEAT1/miR-195-5p/CEBPA 轴对 MM 细胞增殖和转移的影响, 以及 PI3K/AKT/mTOR 通路在其中的调控作用, 以期进一步阐明 MM 的发病机理, 并为其治疗提供新的思路 and 方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

1.1.1 临床标本: 采集 2021 年 3 月 ~ 2023 年 2 月在山东省第一医科大学附属聊城市第二人民医院血液内科住院的 40 例 MM 患者及 10 例健康造血干细胞移植供者的骨髓样本, 骨髓用肝素抗凝, 使用淋

巴细胞分离液分离骨髓单个核细胞 (bone marrow mononuclear cell, BMNC), 加入细胞冻存液于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。纳入标准: 符合 2003 年国际骨髓瘤工作组制定的 MM 诊断标准; 临床资料完整; 患者知情同意。排除标准: 并发其它血液系统疾病; 合并其它恶性肿瘤; 有骨髓穿透史。病例组和对照组性别、年龄等基本情况无明显差异。患者标本采集及分析经过山东省第一医科大学附属聊城市第二人民医院伦理委员会批准 (20221017)。

1.1.2 实验细胞: 本研究选用正常骨髓样本提取的 BMNC 及 MM 细胞株 U266, RPMI 8226, NCI-H929, MM.1S 细胞系 (武汉普诺赛生命科技有限公司, 货号分别为: CL-0510, CL-0564, CL-0509, CL-0614, 培养于含 10g/dl 胎牛血清 (FB5)、1g/dl 青 / 链霉素的 RPMI-1640 培养液中, 并置于  $37^{\circ}\text{C}$ , 5% (v/v)  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。

1.1.3 实验动物: 本研究选用 20 只 8 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 裸鼠 [百奥赛图 (北京) 医药科技股份有限公司, 生产许可证号: SCXK (京) 2020-0007], 饲养于室温  $22 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $60\% \pm 2\%$ , 12/12h 光 / 暗循环环境中, 并提供高压灭菌食品和水, 饲养 1 周后实验。本研究通过山东省第一医科大学附属聊城市第二人民医院动物实验伦理委员会批准 (20220823)。

1.2 试剂与仪器 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA 引物 (上海华大基因科技有限公司); 过表达 / 敲低 NEAT1 表达的腺相关病毒质粒 (AAV-NEAT1, AAV-sh-NEAT1) 及其阴性对照 (AAV-NC, AAV-sh-NC)、过表达 miR-195-5p 的腺相关病毒质粒 (AAV-miR-195-5p) 及其阴性对照 (AAV-miR-NC)、过表达 CEBPA 的腺相关病毒质粒 (AAV-CEBPA) 及其阴性对照 (AAV-NC) (上海吉玛制药技术有限公司); NEAT1, CEBPA, Ki67, 增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA), 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) - 2, MMP-9, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, mTOR, p-mTOR 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司)。

实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); 酶标仪, 低温高速离心机 (美国 Thermo 公司); 倒置显微镜 (德国 Leica 公司); 蛋白电泳仪、转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 RT-qPCR 检测: 收集 MM 患者和健康骨髓供者的 BMNC 及 MM 细胞株 U266, RPMI 8226, NCI-H929 和 MM.1S, 加入 Trizol 裂解液裂解细胞, 离心取上清液, 加入氯仿 / 异丙醇进行 RNA 抽提,

使用 75ml/dl 乙醇洗涤 RNA 沉淀, 加入无酶水溶解 RNA, 电泳检测 RNA 质量并进行定量。利用 cDNA 反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA ( $37^{\circ}\text{C}$  15min,  $85^{\circ}\text{C}$  5s)。使用 SYBR Green 试剂盒进行 PCR 扩增 ( $95^{\circ}\text{C}$  5min,  $95^{\circ}\text{C}$  15s,  $60^{\circ}\text{C}$  40s, 40 个循环)。选择 U6, GAPDH 作为内参基因, 校正待测基因的  $C_t$  值, 利用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  公式计算 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 相对表达水平。PCR 引物序列见表 1。

表 1		PCR 引物序列
引物		序列
NEAT1	F	5'-GGTGCAGGTGGAACCGT-3'
	R	5'-GTCCCGGATTCTCTAGGT-3'
miR-195-5p	F	5'-CATGTTAGAAGACTTCAACG-3'
	R	5'-AGCCTCGGCTGATGTTAA-3'
CEBPA	F	5'-AAGGATCGTAGCGCAGCT-3'
	R	5'-ACCCTGATGCTTGAGGAGG-3'
U6	F	5'-CGCTTCGACATATACTAAAAGAAC-3'
	R	5'-GCTTCACGAACGTGTCATCCTTGC-3'
GAPDH	F	5'-GGTGTCTCTCGGCACTTCA-3'
	R	5'-CCCTAGGCCCTCTCTTAT-3'

1.3.2 Western blot 检测: 收集 MM 患者和健康骨髓供者的 BMNC 及 MM 细胞株 U266, RPMI 8226, NCI-H929 和 MM.1S, 加入 RIPA 裂解液进行细胞匀浆, 提取蛋白上清液。使用 BCA 法对蛋白浓度进行定量。将蛋白与等量上样缓冲液混匀, 并在沸水浴中变性 10 min。同时, 配制分离胶和浓缩胶, 取 10  $\mu\text{l}$  待测样品和蛋白 Marker 依次上样, 并进行 SDS-PAGE 凝胶电泳 ( $90\text{V}$  20min,  $120\text{V}$  60min)。电泳完成后, 取出胶板, 进行转膜 ( $100\text{V}$  90min)。转膜完成后, 将 PVDF 膜置于 5ml/dl 脱脂牛奶中, 室温封闭 2h, 经过含 Tween-20 的 Tris 盐酸缓冲液 (Tris Buffered Saline with Tween-20, TBST) 洗涤后, 加入 CEBPA 一抗 (1: 2 000)  $4^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 次日加入 HRP 标记的二抗 (1: 10 000) 室温孵育 2 h。TBST 洗涤后, 加入增强型电化学发光试剂 (enhanced chemiluminescence, ECL), 进行曝光、显影, Image J 软件分析各蛋白条带灰度值。

1.3.3 细胞转染与分组: U266 细胞分为过表达 NEAT1 组 (NEAT1 组) 及其对照组 (NC 组)、敲低 NEAT1 表达组 (sh-NEAT1 组) 及其对照组 (sh-NC 组)、过表达 NEAT1 和 miR-195-5p 组 (NEAT1+miR-195-5p 组) 及其对照组 (NEAT1+miR-NC 组)、过表达 miR-195-5p 和 CEBPA 组 (miR-195-5p+CEB-



PA 组)及其对照组(miR-195-5p+NC 组)。U266 细胞常规培养,待细胞融合至 70% 时进行转染。根据 LipofectamineTM<sup>3000</sup> 说明书,将腺相关病毒质粒(AAV-NEAT1, AAV-NC, AAV-sh-NEAT1, AAV-sh-NC, AAV-miR-195-5p, AAV-miR-NC, AAV-CEBPA, AAV-NC)和 Lipofectamine<sup>3000</sup> 混合溶液加入 U266 细胞中。转染 4 h 后,更换新鲜培养液;转染 24 h 后,RT-qPCR 检测是否转染成功。Western blot 检测细胞中 CEBPA, Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, mTOR, p-mTOR 蛋白相对水平。

1.3.4 生物信息学预测和双荧光素酶实验:使用 ENCORI 数据库(<https://masyu.com/encori/>)预测 NEAT1 和 miR-195-5p 的结合位点,使用 Targetscan 数据库预测 miR-195-5p 和 CEBPA 的结合位点,并扩增上述片段。将上述片段插入 psi-CHECK 荧光素酶载体,分别构建野生型 NEAT1, CEBPA 质粒(psi-CHECK-NEAT1-WT, psi-CHECK-CEBPA-WT)和突变型 NEAT1, CEBPA 质粒(psi-CHECK-NEAT1-MUT, psi-CHECK-CEBPA-MUT)。将上述质粒分别与 miR-195-5p mimic 及 mimic NC 混合,利用 Lipofectamine<sup>3000</sup> 分别将其转染至 U266 细胞,转染 48h 后,按试剂盒要求检测各组细胞荧光素酶活性。

1.3.5 细胞计数试剂盒-8(Cell Counting Kit-8, CCK-8)检测:将各组 U266 细胞培养 72 h,随后将原培养液更换成含有 10g/dl CCK-8 溶液的新鲜培养液,并置于 37℃ 下孵育 1h。采用酶标仪检测各组细胞在 450 nm 处的吸光度(A)值。

1.3.6 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-Ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)染色:将各组 U266 细胞培养 24 h,随后加入 EdU 工作液,37℃ 孵育 2.5 h,离心弃培养液,使用 4g/dl 多聚甲醛固定 15 min, Triton X-100 透化 15 min, Click 反应液避光孵育 30 min, Hoechst 33342 染色液避光孵育 10 min 后,镜检(×100)。

1.3.7 Transwell 实验:将 Transwell 小室铺设一层基质胶(迁移实验不铺胶),上室加入无血清培养液培养的 U266 细胞,下室加入含有 10ml/dl 胎牛血清的培养液,并置于 37℃ 下孵育 24h。孵育完成后,

经甲醛固定、吉姆萨染色后,镜检(×100)。  
1.3.8 裸鼠移植瘤模型制备及指标检测:将 20 只裸鼠随机分为敲低 NEAT1 表达组(sh-NEAT1 组)及其对照组(sh-NC 组),每组各 10 只。各组裸鼠于右肩皮下注射 100 μl 相应已转染腺相关病毒质粒的 U266 细胞悬液(1×10<sup>7</sup> 个/ml)。注射后使用棉签按压防止漏液。每周测量肿瘤体积。造模 4 周后,颈椎脱臼处死裸鼠,剥离肿瘤组织拍照并称重。随后,RT-qPCR 检测肿瘤组织中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 相对水平。Western blot 检测肿瘤组织中 CEBPA, Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白相对水平。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 水平, CEBPA, Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9, PI3K, p-PI3K, AKT, p-AKT, mTOR, p-mTOR 蛋白水平, 细胞存活率、EdU 阳性率、细胞迁移、侵袭数为计量资料,均符合正态分布,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验;两组间差异比较采用独立样本 t 检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MM 患者及 MM 细胞系中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA 水平 RT-qPCR, Western blot 结果显示,与健康骨髓供者 BMNC 相比,MM 患者 BMNC 中 NEAT1 (3.35±0.62 vs 0.96±0.34), CEBPA mRNA (2.84±0.55 vs 1.16±0.30) 和 蛋白 (0.48±0.13 vs 0.13±0.05) 水平明显升高,miR-195-5p 水平 (1.30±0.56 vs 3.62±0.58) 明显降低,差异具有统计学意义( $t=11.697, 9.272, 4.352, 11.639$ , 均  $P < 0.05$ )。

与正常 BMNC 细胞相比,U266, RPMI 8226, NCI-H929, MM.1S 细胞系中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平明显升高,miR-195-5p 水平明显降低,差异具有统计学意义( $t_{U266}=11.543, 7.081, 12.567, 21.947$ ;  $t_{RPMI\ 8226}=12.668, 5.793, 7.396, 24.061$ ;  $t_{NCI-H929}=5.769, 4.541, 7.584, 23.169$ ;  $t_{MM.1S}=17.942, 5.951, 11.732, 10.947$ , 均  $P < 0.05$ )。且 U266 细胞中上述指标变化最明显,见表 2。因此,选择 U266 细胞为研究对象进行转染。

表 2 MM 细胞系中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 和蛋白水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	BMNC	U266	RPMI 8226	NCI-H929	MM.1S	F 值	P 值
NEAT1	1.00±0.15	6.49±0.81	5.24±0.56	4.50±1.04	5.04±0.36	16.541	0.004
miR-195-5p	1.00±0.10	0.45±0.09	0.55±0.09	0.57±0.13	0.56±0.08	14.213	0.005
CEBPA mRNA	1.00±0.18	5.13±0.54	4.46±0.79	4.08±0.68	4.22±0.44	17.521	0.003
CEBPA 蛋白	0.05±0.03	0.90±0.06	0.86±0.05	0.83±0.05	0.59±0.08	28.541	0.001

2.2 NEAT1 靶向调控 miR-195-5p/CEBPA 轴 见图 1, 表 3。StarBase 和 TargetScan 结果显示, NEAT1

与 miR-195-5p, miR-195-5p 与 CEBPA 存在结合位点。

荧光素酶报告基因实验结果显示,与 miR-NC 组相比,miR-195-5p 组野生型 NEAT1 ( $0.45 \pm 0.10$  vs  $1.00 \pm 0.07$ ) 和 CEBPA ( $0.50 \pm 0.06$  vs  $1.00 \pm 0.11$ ) 的荧光素酶活性明显降低,差异具有统计学意义 ( $t=7.804, 6.912$ , 均  $P<0.05$ ); 而突变型 NEAT1 ( $1.03 \pm 0.09$  vs  $0.94 \pm 0.05$ ) 和 CEBPA ( $0.93 \pm 0.05$  vs  $0.99 \pm 0.10$ ) 的荧光素酶活性在两组间差异无统计学意义 ( $t=1.514, 0.930$ , 均  $P>0.05$ )。

进一步的 RT-qPCR, Western blot 结果显示,与 NC 组相比,NEAT1 组细胞中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平明显升高,而 miR-195-5p 水平明显降低,差异具有统计学意义 ( $t=12.825, 5.874$ ,

$13.893, 4.797$ , 均  $P<0.05$ ); 与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组细胞中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平明显降低,而 miR-195-5p 水平明显升高,差异具有统计学意义 ( $t=5.776, 5.001, 4.503, 4.456$ , 均  $P<0.05$ ); 与 NEAT1+miR-NC 组相比,NEAT1+miR-195-5p 组细胞中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平明显降低,而 miR-195-5p 水平明显升高,差异具有统计学意义 ( $t=6.578, 4.682, 10.809, 6.430$ , 均  $P<0.05$ ); 与 miR-195-5p+NC 组相比,miR-195-5p+CEBPA 组细胞中 NEAT1, CEBPA mRNA 和蛋白水平明显升高,而 miR-195-5p 水平明显降低,差异具有统计学意义 ( $t=5.109, 4.583, 8.779, 4.329$ , 均  $P<0.05$ )。

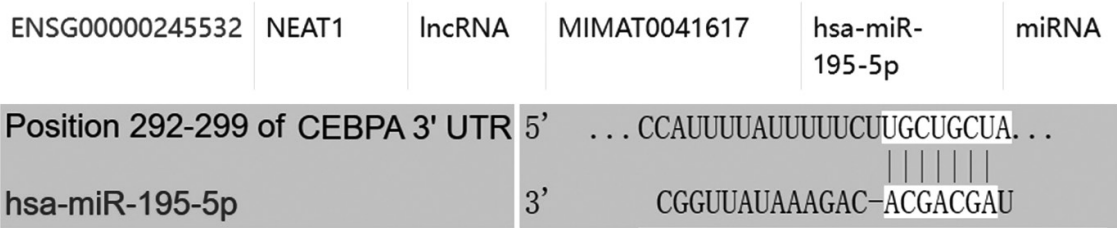


图1 NEAT1/miR-195-5p/CEBPA 结合示意图

表3 各组细胞中 NEAT1, miR-195-5p, CEBPA mRNA 和蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	NC 组	NEAT1 组	sh-NC 组	sh-NEAT1 组	NEAT1+miR-NC 组	NEAT1+miR-195-5p 组	miR-195-5p+NC 组	miR-195-5p+CEBPA 组	F 值	P 值
NEAT1	$1.00 \pm 0.15$	$3.55 \pm 0.31$	$1.02 \pm 0.13$	$0.43 \pm 0.12$	$3.50 \pm 0.32$	$1.86 \pm 0.29$	$0.62 \pm 0.11$	$1.48 \pm 0.27$	27.642	0.001
miR-195-5p	$1.00 \pm 0.12$	$0.53 \pm 0.12$	$0.98 \pm 0.12$	$1.58 \pm 0.20$	$0.62 \pm 0.12$	$1.25 \pm 0.12$	$3.90 \pm 0.42$	$2.09 \pm 0.59$	19.524	0.003
CEBPA mRNA	$1.00 \pm 0.13$	$1.60 \pm 0.12$	$1.01 \pm 0.12$	$0.54 \pm 0.11$	$1.54 \pm 0.12$	$1.10 \pm 0.11$	$0.74 \pm 0.08$	$1.31 \pm 0.20$	12.654	0.006
CEBPA 蛋白	$0.23 \pm 0.05$	$0.92 \pm 0.07$	$0.22 \pm 0.05$	$0.08 \pm 0.02$	$0.92 \pm 0.04$	$0.47 \pm 0.06$	$0.05 \pm 0.03$	$0.39 \pm 0.06$	41.025	0.001

2.3 NEAT1 靶向 miR-195-5p/CEBPA 轴对 MM 细胞株细胞增殖、转移的影响 见表4。CCK8, EdU 染色及 Transwell 实验结果显示,与 NC 组相比,NEAT1 组细胞培养 72 h A 值及 EdU 阳性率明显升高,细胞迁移、侵袭数明显增多,差异具有统计学意义 ( $t=9.425, 5.632, 8.841, 5.364$ , 均  $P<0.05$ ); 与 sh-NC 组相比,shNEAT1 组细胞培养 72 h A 值及 EdU 阳性率明显降低,细胞迁移、侵袭数明显减少,差异具有统计学意义 ( $t=4.457, 5.094, 6.204, 8.792$ , 均  $P<0.05$ ); 与 NEAT1+miR-NC 组相比,NEAT1+miR-195-5p 组细胞培养 72 h A 值及 EdU 阳性率明显降低,细胞迁移、侵袭数明显减少,差异具有统计学意义 ( $t=4.469, 4.356, 8.708, 6.359$ , 均  $P<0.05$ ); 与 miR-195-5p+NC 组相比,miR-195-5p+CEBPA 组细胞培养 72 h A 值及 EdU 阳性率明显升高,细胞迁移、侵袭数明显增多,差异具有统计学

意义 ( $t=7.192, 5.296, 5.023, 5.835$ , 均  $P<0.05$ )。

Western blot 结果显示,与 NC 组相比,NEAT1 组细胞中 Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白水平明显升高,差异具有统计学意义 ( $t=14.227, 7.743, 7.348, 7.803$ , 均  $P<0.05$ ); 与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组细胞中 Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白水平明显降低,差异具有统计学意义 ( $t=14.703, 11.719, 16.305, 16.641$ , 均  $P<0.05$ ); 与 NEAT1+miR-NC 组相比,NEAT1+miR-195-5p 组细胞中 Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白水平明显降低,差异具有统计学意义 ( $t=8.020, 10.597, 6.742, 8.632$ , 均  $P<0.05$ ); 与 miR-195-5p+NC 组相比,miR-195-5p+CEBPA 组细胞中 Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白水平明显升高,差异具有统计学意义 ( $t=6.003, 14.095, 13.620, 14.452$ , 均  $P<0.05$ )。

表 4 各组细胞培养 72 h A 值、EdU 阳性率、细胞迁移、侵袭数及增殖、转移相关蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	NC 组	NEAT1 组	sh-NC 组	sh-NEAT1 组	NEAT1+miR-NC 组	NEAT1+miR-195-5p 组	miR-195-5p+NC 组	miR-195-5p+CEBPA 组	F 值	P 值
培养 72 h A 值	1.00 ± 0.12	1.85 ± 0.10	0.99 ± 0.11	0.64 ± 0.08	1.76 ± 0.12	1.34 ± 0.11	0.81 ± 0.09	1.31 ± 0.08	19.542	0.003
EdU 阳性率 (%)	27.76 ± 3.63	45.06 ± 3.89	29.51 ± 4.75	12.26 ± 3.44	41.80 ± 5.04	26.06 ± 3.71	12.62 ± 4.26	28.48 ± 2.96	17.641	0.003
细胞迁移数 (个)	183.24 ± 28.83	375.33 ± 24.19	193.67 ± 36.77	55.67 ± 11.50	358.33 ± 31.21	163.33 ± 23.03	65.32 ± 7.02	156.54 ± 30.66	28.241	0.001
细胞侵袭数 (个)	109.67 ± 21.20	251.33 ± 40.53	106.34 ± 14.05	22.67 ± 8.62	214.31 ± 28.02	101.66 ± 12.50	32.65 ± 10.60	113.68 ± 21.59	15.246	0.004
Ki67 蛋白	0.73 ± 0.09	2.31 ± 0.17	0.77 ± 0.08	0.07 ± 0.02	1.87 ± 0.16	1.02 ± 0.09	0.41 ± 0.04	0.72 ± 0.08	31.204	0.001
PCNA 蛋白	0.77 ± 0.07	1.51 ± 0.15	0.83 ± 0.10	0.14 ± 0.02	1.52 ± 0.12	0.67 ± 0.07	0.15 ± 0.02	1.14 ± 0.12	28.614	0.001
MMP-2 蛋白	1.43 ± 0.15	2.33 ± 0.15	1.05 ± 0.10	0.09 ± 0.02	2.15 ± 0.17	1.34 ± 0.12	0.12 ± 0.02	1.31 ± 0.15	34.621	0.001
MMP-9 蛋白	0.89 ± 0.10	1.74 ± 0.16	0.95 ± 0.09	0.08 ± 0.01	2.01 ± 0.19	0.94 ± 0.10	0.07 ± 0.01	0.66 ± 0.07	25.631	0.002

2.4 NEAT1 靶向 miR-195-5p/CEBPA 轴对 U266 细胞 PI3K/AKT/mTOR 通路的影响 见表 5。Western blot 结果显示, 与 NC 组相比, NEAT1 组细胞中 p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平明显升高, 差异具有统计学意义 ( $t=8.714, 8.629, 7.359$ , 均  $P<0.05$ ); 与 sh-NC 组相比, sh-NEAT1 组细胞中 p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平明显降低, 差异具有统计学意义 ( $t=5.284, 7.746, 8.216$ , 均  $P<0.05$ ); 与

NEAT1+miR-NC 组相比, NEAT1+miR-195-5p 组细胞中 p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平明显降低, 差异具有统计学意义 ( $t=4.695, 7.327, 4.509$ , 均  $P<0.05$ ); 与 miR-195-5p+NC 组相比, miR-195-5p+CEBPA 组细胞中 p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平明显升高, 差异具有统计学意义 ( $t=6.971, 4.657, 4.503$ , 均  $P<0.05$ )。

表 5 各组细胞 p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR 蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	NC 组	NEAT1 组	sh-NC 组	sh-NEAT1 组	NEAT1+miR-NC 组	NEAT1+miR-195-5p 组	miR-195-5p+NC 组	miR-195-5p+CEBPA 组	F 值	P 值
p-PI3K/PI3K	0.31 ± 0.04	0.76 ± 0.08	0.36 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.88 ± 0.06	0.65 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.68 ± 0.08	15.647	0.004
p-AKT/AKT	0.34 ± 0.05	0.81 ± 0.08	0.33 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.83 ± 0.07	0.44 ± 0.06	0.75 ± 0.05	0.96 ± 0.06	21.354	0.002
p-mTOR/mTOR	0.45 ± 0.04	0.83 ± 0.08	0.52 ± 0.06	0.22 ± 0.02	0.77 ± 0.07	0.53 ± 0.06	0.34 ± 0.03	0.47 ± 0.04	19.524	0.003

2.5 NEAT1 对裸鼠移植瘤的影响 见图 2, 表 6。裸鼠皮下成瘤 4 周后, 与 sh-NC 组相比, sh-NEAT1 组裸鼠肿瘤体积 ( $615.24 \pm 73.49\text{mm}^3$  vs  $1\ 350.47 \pm 128.37\text{mm}^3$ ) 和重量 ( $0.53 \pm 0.20\text{g}$  vs  $1.57 \pm 0.27\text{g}$ ) 明显减小, 差异具有统计学意义 ( $t=11.114, 6.921$ , 均  $P<0.05$ )。

RT-qPCR 和 Western blot 结果显示, 与 sh-NC 组相比, sh-NEAT1 组肿瘤中 NEAT1, CEBPA mRNA 水平明显降低, miR-195-5p 水平明显升高, CEBPA, Ki67, PCNA, MMP-2, MMP-9 蛋白水平明显降低, 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。



图 2 NEAT1 对裸鼠移植瘤的影响

表 6 各组裸鼠 NEAT1, miR-195-p, CEBPA 及增殖、转移相关蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	sh-NC 组	sh-NEAT1 组	t 值	P 值
NEAT1	1.00 ± 0.12	0.53 ± 0.09	7.006	0.020
miR-195-5p	1.00 ± 0.19	2.56 ± 0.26	10.832	0.008
CEBPA mRNA	1.00 ± 0.11	0.64 ± 0.11	5.175	0.035
CEBPA 蛋白	0.86 ± 0.09	0.11 ± 0.02	18.190	0.003
Ki67 蛋白	0.35 ± 0.05	0.14 ± 0.02	8.720	0.013
PCNA 蛋白	0.38 ± 0.04	0.13 ± 0.02	12.500	0.006
MMP-2 蛋白	0.91 ± 0.08	0.36 ± 0.04	13.750	0.005
MMP-9 蛋白	0.78 ± 0.08	0.44 ± 0.06	7.603	0.017

3 讨论

LncRNA 表达异常在多种恶性血液病 (包括白血病、淋巴瘤、MM 等) 中占据重要地位<sup>[9]</sup>。研究显示, NEAT1 在急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 患者中呈现低表达, 且 NEAT1 水平降低与 AML 复发紧密相关, 表明 NEAT1 在 AML



中发挥抑癌作用<sup>[10]</sup>。然而,在弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)中,NEAT1呈现高表达状态,且敲低NEAT1表达能够降低DLBCL细胞生存能力,表明NEAT1在DLBCL中发挥致癌作用,这提高了NEAT1作为DLBCL新生标志物的可能性<sup>[11]</sup>。在MM中,NEAT1通过激活PI3K/AKT通路也起到癌基因作用<sup>[12]</sup>。与上述研究一致,本研究同样显示,NEAT1在MM患者及MM细胞系中表达显著上调,这提示NEAT1与MM发生相关;为探索NEAT1在MM细胞中的生物学功能,本研究对MM细胞系中的NEAT1进行了过表达和敲低处理,发现过表达NEAT1后,MM细胞系增殖、迁移和侵袭能力提高,说明过表达NEAT1能够促进MM细胞系增殖和转移,这与先前在DLBCL,MM中NEAT1的报道一致;相反,敲低NEAT1表达能够抑制MM细胞系上述恶性生物学行为。此外,我们也观察到敲低NEAT1表达能够抑制裸鼠体内成瘤能力。这表明NEAT1在MM中发挥促癌基因作用,抑制NEAT1表达可能是治疗MM的有效策略。

miRNA可通过类似作用于mRNA的机制对LncRNA发挥负向调控作用。先前研究显示,miR-195-5p作为一种抑癌性miRNA,在T细胞急性淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)<sup>[13]</sup>, B-ALL<sup>[14]</sup>, DLBCL<sup>[5]</sup>等恶性血液病中表达异常。然而,miR-195-5p在MM中的作用尚不明确。本研究首次发现,miR-195-5p在MM患者及MM细胞系中表达显著下调;进一步生信分析及双荧光素酶显示,NEAT1靶向负调控miR-195-5p。为探究miR-195-5p在MM中的生物学功能以及NEAT1对miR-195-5p的调控作用,本研究对MM细胞系中的NEAT1和miR-195-5p进行了过表达。实验结果显示,过表达NEAT1+miR-195-5p能够明显逆转过表达NEAT1对细胞增殖和转移的促进作用。这表明过表达miR-195-5p能够抑制MM细胞系细胞增殖和转移,NEAT1可能通过抑制miR-195-5p表达促进MM进展。

CEBPA是与正常髓系分化密切相关的转录因子<sup>[15]</sup>。在MM中,CEBPA突变及表达量降低通常与MM患者更好的预后相关<sup>[7-8]</sup>。然而,CEBPA作用于MM的具体分子机制仍不清楚。本研究显示,CEBPA在MM患者及MM细胞系中表达升高,同时miR-195-5p靶向负调控CEBPA。为进一步探究CEBPA在MM中的作用以及miR-195-5p对CEBPA的调控作用,本研究构建了过表达miR-195-5p+CEBPA的MM细胞系。发现过表达miR-195-5p+CEBPA能够明显逆转过表达miR-195-5p对细胞增殖和转移的抑制作用。这表明过表达CEBPA能够促进MM细胞系细胞增殖和转移,NEAT1可能通过miR-195-5p/CEBPA发挥作用。

PI3K/AKT/mTOR通路对肿瘤的发生、发展及预后具有重要作用。PI3K/AKT/mTOR通路可通过多途径、多靶点调控MM细胞的增殖、转移及肿瘤微环境而参与MM的复发和转移<sup>[16-18]</sup>。文献显示,抑制PI3K/AKT通路能够促进MM细胞的凋亡和自噬,从而发挥抗肿瘤作用<sup>[19]</sup>。另外,MM细胞可通过激活PI3K/AKT通路促进M2巨噬细胞极化,从而调控骨髓瘤细胞微环境<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,过表达NEAT1或CEBPA后,细胞p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-mTOR/mTOR蛋白水平升高,表明过表达NEAT1或CEBPA能够显著激活PI3K/AKT/mTOR通路;而过表达miR-195-5p能够抑制PI3K/AKT/mTOR通路的激活。这表明NEAT1/miR-195-5p/CEBPA轴对MM的影响可能与调控PI3K/AKT/mTOR通路有关。但PI3K/AKT/mTOR通路的调控是错综复杂的,NEAT1/miR-195-5p/CEBPA轴是如何具体激活PI3K/AKT/mTOR通路的分子机制,本文未进行深入探讨,为本文的不足之处,后续仍需进一步深入研究。见图3。

综上所述,LncRNA NEAT1通过靶向miR-195-5p/CEBPA表达促进MM细胞增殖和转移,其可能通过激活PI3K/AKT/mTOR通路发挥作用,NEAT1/miR-195-5p/CEBPA轴有望成为治疗MM的分子靶点。

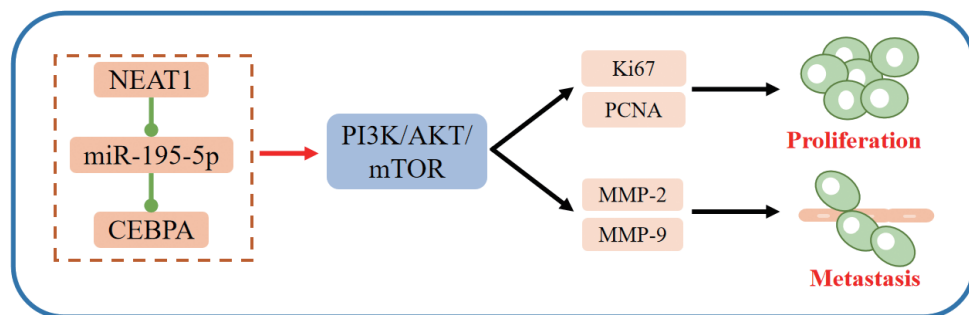


图3 LncRNA NEAT1通过miR-195-5p/CEBPA轴促进MM细胞增殖和转移的机制

#### 参考文献:

[1] STEINBACH M, NEUPANE K, AZIZ M, et al. Multiple

myeloma in young patients: a scoping review[J]. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, 2024, 24(1): 15-22.

- [2] 任梅, 石培民, 谢静, 等. 血清 CXCL9 和 IL-34 水平检测对多发性骨髓瘤患者的疗效监测及其预后价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(5): 127-132.  
REN Mei, SHI Peimin, XIE Jing, et al. Serum CXCL9 and IL-34 levels in multiple myeloma patients for monitoring efficacy and prognostic value[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(5): 127-132.
- [3] WU Yilan, WANG Han. LncRNA NEAT1 promotes dexamethasone resistance in multiple myeloma by targeting miR-193a/MCL1 pathway[J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2018, 32(1): e22008.
- [4] CHEN Ting, SUN Zhengxu, CUI Yunqi, et al. Identification of long noncoding RNA NEAT1 as a key gene involved in the extramedullary disease of multiple myeloma by bioinformatics analysis[J]. Hematology, 2023, 28(1): 2164449.
- [5] 罗蔓琳, 郑兴萍, 杨娅娟, 等. LncRNA FGD5-AS1 靶向 miR-195-5p 调控弥漫型大 B 细胞淋巴瘤细胞活性 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(18): 2240-2245.  
LUO Manlin, ZHENG Xingping, YANG Yajuan, et al. LncRNA FGD5-AS1 regulates cell activity of diffuse large B-cell lymphoma by targeting miR-195-5p[J]. Chinese Journal of Immunology, 2022, 38(18): 2240-2245.
- [6] MOURA S R, ABREU H, CUNHA C, et al. Circulating microRNAs correlate with multiple myeloma and skeletal osteolytic lesions[J]. Cancers, 2021, 13(21): 5258.
- [7] HICKEY C J, SCHWIND S, RADOMSKA H S, et al. Lenalidomide-mediated enhanced translation of C/EBP  $\alpha$ -p30 protein up-regulates expression of the antileukemic microRNA-181a in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2013, 121(1): 159-169.
- [8] SHAMSASENJAN K, OTSUYAMA K I, ABROUN S, et al. IL-6-induced activation of MYC is responsible for the down-regulation of CD33 expression in CD33<sup>+</sup> myeloma cells[J]. International Journal of Hematology, 2009, 89(3): 310-318.
- [9] 李悦, 徐焕铭, 樊华. 基于 TCGA 数据对 60 岁以上不同分层急性髓系白血病患者相关 LncRNA 的基因信息学分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(3): 20-25.  
LI Yue, XU Huanming, FAN Hua. Genetic informatics analysis of LncRNA related to patients with different stratified acute myeloid leukemia over 60 years based on TCGA database[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(3): 20-25.
- [10] YAN Huiwen, WANG Zhi, SUN Yao, et al. Cytoplasmic NEAT1 suppresses AML stem cell self-renewal and leukemogenesis through inactivation of Wnt signaling[J]. Advanced Science Weinheim Baden Wurttemberg Germany, 2021, 8(22): e2100914.
- [11] YUAN Jun, YANG Jie, WANG Ruicang, et al. LncRNA NEAT1 regulate diffuse large B-cell lymphoma by targeting miR-495-3p/PD-L1 axis[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2022, 44(3): 429-436.
- [12] XU H, LI J, ZHOU Z G. NEAT1 promotes cell proliferation in multiple myeloma by activating PI3K/AKT pathway[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2018, 22(19): 6403-6411.
- [13] LI Shengli, GUO Wenwen, GENG Huayun, et al. LINC00511 exacerbated T-cell acute lymphoblastic leukemia via miR-195-5p/LRRK1 axis[J]. Bioscience Reports, 2020, 40(5): BSR20193631.
- [14] ALMEIDA R S, COSTA E SILVA M, COUTINHO L L, et al. MicroRNA expression profiles discriminate childhood T- from B-acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematological Oncology, 2019, 37(1): 103-112.
- [15] YUAN J, HE R, ALKHATEEB H B. Sporadic and familial acute myeloid leukemia with CEBPA mutations[J]. Current Hematologic Malignancy Reports, 2023, 18(5): 121-129.
- [16] 刘青青, 李宜蓓, 程纬民. PI3K/AKT/mTOR 信号通路在多发性骨髓瘤中作用机制的研究进展 [J]. 中国实验血液学杂志, 2024, 32(1): 292-296.  
LIU Qingqing, LI Yiqiang, CHENG Weimin. Research progress on the mechanism of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in multiple myeloma[J]. Journal of Experimental Hematology, 2024, 32(1): 292-296.
- [17] CHEN Ping, WU Sungui, DONG Xiaoqing, et al. Formosanin C induces autophagy-mediated apoptosis in multiple myeloma cells through the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. Hematology, 2022, 27(1): 977-986.
- [18] HEINEMANN L, MÖLLERS K M, AHMED H M M, et al. Inhibiting PI3K-AKT-mTOR signaling in multiple Myeloma-Associated mesenchymal stem cells impedes the proliferation of multiple myeloma cells[J]. Frontiers in Oncology, 2022, 12: 874325.
- [19] DOU Renjie, QIAN Jinjun, WU Wei, et al. Suppression of steroid 5  $\alpha$ -reductase type I promotes cellular apoptosis and autophagy via PI3K/Akt/mTOR pathway in multiple myeloma[J]. Cell Death & Disease, 2021, 12(2): 206.
- [20] 彭逸伦, 李杨, 王晓桃. 多发性骨髓瘤细胞通过 PI3K/AKT 信号通路促进 M2 巨噬细胞极化的机制研究 [J]. 中国全科医学, 2024, 27(8): 978-984, 994.  
PENG Yilun, LI Yang, WANG Xiaotao. Study on the mechanisms of multiple myeloma cells promoting M2 macrophage polarization through PI3K/AKT signaling pathway[J]. Chinese General Practice, 2024, 27(8): 978-984, 994.

收稿日期: 2024-03-12

修回日期: 2024-04-10

更正: 2023 年 38 卷第 4 期 36 页图 1 更正为:

