

# MiR-410 对多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭能力的影响

高大<sup>1</sup>,吕爱娥<sup>2</sup>,苏伊拉<sup>1</sup>,韩东海<sup>1</sup>,李慧婷<sup>1</sup>

(1. 内蒙古医科大学附属医院,内蒙古 呼和浩特 010050;

2. 呼和浩特市新城区医院,内蒙古 呼和浩特 010050)

**摘要:**[目的] 检测 miR-410 与 HMGB1 在多发性骨髓瘤中的表达水平及其对细胞增殖与侵袭能力的影响,探讨 miR-410 在多发性骨髓瘤致病中的作用。[方法] 实时荧光定量 PCR 检测多发性骨髓瘤骨髓及细胞中 miR-410 的表达水平;蛋白质印迹用于分析 HMGB1 蛋白表达水平;CCK8 实验和 Boyden 侵袭小室实验分别用于检测细胞增殖活性及侵袭能力;双荧光素酶报告实验用于检测 miR-410 与 HMGB1 之间的相互作用;通过重组质粒构建及细胞转染调节相关基因在细胞内的表达;通过建立裸鼠异位移植瘤模型,在体验证 miR-410 对肿瘤生长的影响。[结果] MiR-410 在多发性骨髓瘤骨髓及细胞中表达均下调( $P<0.01$ ),而 HMGB1 表达均上调( $P<0.01$ )。MiR-410 抑制多发性骨髓瘤细胞的增殖和侵袭( $P<0.01$ )。MiR-410 通过与 HMGB1 的 3'UTR 作用,负向调控 HMGB1 的表达。MiR-410 通过下调 HMGB1 抑制多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭( $P<0.05$ )。MiR-410 抑制多发性骨髓瘤移植瘤小鼠肿瘤生长( $P<0.05$ )。[结论] MiR-410 通过负向调控 HMGB1 表达,抑制多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭,从而抑制肿瘤发生发展。

**关键词:**多发性骨髓瘤;miR-410;HMGB1;细胞增殖;细胞侵袭

**中图分类号:**R733.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2019)02-0133-07

**doi:**10.11735/j.issn.1671-170X.2019.02.B011

## Effect of MiR-410 on Cell Proliferation and Invasion in Multiple Myeloma

GAO Da<sup>1</sup>,LYU Ai-e<sup>2</sup>,SU Yi-la<sup>1</sup>,HAN Dong-hai<sup>1</sup>,LI Hui-ping<sup>1</sup>

(1. The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China;

2. Xincheng District Hospital of Hohhot, Hohhot 010050, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the expression of miR-410 and HMGB1 in multiple myeloma(MM) and its effect on cell proliferation and invasion. [Methods] The expression level of miR-410 in bone marrow of MM patients and multiple myeloma KM3 and U266 cells was determined by qRT-PCR. The expression level of HMGB1 was analyzed by Western blot. The CCK8 assay and Boyden chamber assay was used to detect the cell proliferation and cell invasion, respectively. Dual-luciferase reporter assay was performed to determine the interaction between miR-410 and HMGB1. The expression levels of miR-410 and HMGB1 in cells were modulated by recombinant plasmid construction and cell transfection. The nude mice model of MM xenograft was established to verify the effect of miR-410 on tumor growth. [Results] MiR-410 was down-regulated and HMGB1 was up-regulated in bone marrow of MM patients and MM cell lines (all  $P<0.01$ ). MiR-410 inhibited the cell proliferation and invasion of multiple myeloma cells( $P<0.01$ ). MiR-410 negatively regulated the expression of HMGB1 through targeting 3'UTR of HMGB1. MiR-410 inhibited the growth of MM tumor in nude mice xenograft model ( $P<0.05$ ). [Conclusion] MiR-410 inhibits cell proliferation and invasion of multiple myeloma through negatively regulating HMGB1, leading to the suppression of development and progression of multiple myeloma.

**Subject words:** multiple myeloma; miR-410; HMGB1; cell proliferation; cell invasion

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种

**通信作者:**高大,副主任,主任医师,硕士;内蒙古医科大学附属医院血液科,内蒙古呼和浩特市回民区通道北街1号(010050);E-mail:gaoda72@126.com

**收稿日期:**2017-09-06; **修回日期:**2017-12-01

起源于骨髓中浆细胞的血液系统恶性肿瘤,其特征为骨髓浆细胞的异常增生,可产生大量单克隆免疫球蛋白,临床主要表现为骨痛、骨损伤、贫血、肾脏病变及细菌性感染等,严重影响患者的生活质量<sup>[1,2]</sup>。但

由于多发性骨髓瘤的发病原因不明且至今无法根治,对其病因及病理机制的研究可为寻找行之有效的治疗方法提供理论基础。已有研究表明,高迁移率族蛋白 (high mobility group protein B1, HMGB1) 在多种恶性血液病中高表达并促进疾病的发生发展,如白血病、淋巴瘤及多发性骨髓瘤<sup>[3]</sup>。长链非编码 RNA MALAT-1 通过上调 HMGB1 以促进自噬作用,最终抑制多发性骨髓瘤细胞的凋亡<sup>[4]</sup>,但 HMGB1 对肿瘤细胞增殖、侵袭能力的影响及机制尚不清楚。

通过生物信息学软件分析发现 miR-410 与 HMGB1 的 3'UTR 存在结合位点,说明两者之间可以相互结合并可能存在相互作用。已有大量研究表明 miR-410 在多种肿瘤中异常表达,并通过影响肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭或迁移而参与肿瘤进展。如 miR-410 在肝癌和结直肠癌中过表达,并通过沉默 *FHL1* (four-and-a-half LIM domains protein 1) 基因以促进肿瘤细胞生长<sup>[5]</sup>。MiR-410 在骨肉瘤中表达量降低,且体外条件下过表达的 miR-410 抑制骨肉瘤细胞增殖并诱导细胞凋亡,最终抑制肿瘤生长<sup>[6]</sup>。这些研究均表明 miR-410 通过抑制细胞增殖和侵袭而抑制肿瘤生长。因此本研究通过检测 miR-410 在多发性骨髓瘤中的表达水平,及其与 HMGB1 之间的相互作用关系,探索其对细胞增殖与侵袭能力的影响,探讨多发性骨髓瘤的病理机制,为寻找新的治疗靶点提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 一般材料

多发性骨髓瘤 (MM, n=20) 患者骨髓样本;对照组骨髓样本 (normal, n=20) 取自患有其他疾病但骨髓穿刺浆细胞正常的志愿者,已取得知情同意书,且符合内蒙古医科大学附属医院伦理委员会所制订的伦理学标准。人多发性骨髓瘤细胞系 U266 购于中科院上海细胞库;人多发性骨髓瘤细胞系 KM3 购于美国模式培养物集存库;利用淋巴细胞分离管分离人外周血单核细胞 (PBMC)。

### 1.2 细胞培养与转染

人外周血单核细胞,人多发性骨髓瘤细胞系 U266 及 KM3 置于含有 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素和 100μg/ml 链霉素的 RPMI-1640 培养基中,于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下培养。U266 和 KM3

培养过夜后,用脂质体 2000 (Lipofectamine2000) 将 miR-410 mimic, miR-410 inhibitor 等目的质粒转染进入细胞中,继续培养细胞 48h 后进行细胞活性检测。

### 1.3 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测

用 Trizol 试剂提取 PBMC、U266 和 KM3 的总 RNA,并用紫外分光光度计检测 RNA 浓度及纯度。利用 cDNA 逆转录试剂盒进行逆转得到 cDNA,并将其与 qRT-PCR 试剂盒中的 SYBR Select Master Mix 混合,使用 ABI 7900-fast 热循环仪进行 qRT-PCR 检测。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法计算相对表达水平。

### 1.4 蛋白质印迹 (Western blot) 检测

提取多发性骨髓瘤骨髓样本及各组细胞中蛋白质,并测定蛋白质浓度。在不同实验分组中取等量蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 电泳,将分离的蛋白转移至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜上,并用 5% 脱脂奶封闭液在室温下封闭 1h,与一抗 (Anti-HMGB1 antibody, 1:1000; Anti-β-actin antibody, 1:2000) 4℃ 孵育过夜,然后与 HRP 耦联的二抗于室温孵育 1h,并进行 ECL 显色。β-actin 作为内参对照以定量目的蛋白表达水平。

### 1.5 CCK8 实验

CCK8 细胞计数试剂盒用于检测多发性骨髓瘤细胞系 U266 和 KM3 细胞的增殖活性。将细胞以 1×10<sup>4</sup>/孔接种于 96 孔细胞培养板中 (100μl/孔),并向每孔加入 10μl 的 CCK 溶液,并将培养板置于培养箱中继续孵育 1~4h。用酶标仪测定各孔在 450nm 处的吸光度。

### 1.6 Boyden 侵袭小室实验

将人工基质胶 (matrigel) 用 4℃ 的 RPMI-1640 培养基稀释,并向每个侵袭小室分装 50μg。将小室用紫外照射杀菌 2h 后,将 U266 和 KM3 细胞 (2×10<sup>5</sup>) 加入侵袭小室内,每株细胞用 3 个小室。下室中加入 RPMI-1640 培养基,并将小室中的细胞置于 24 孔板上培养 12h,用甲醇固定后进行常规 HE 染色。在 400 倍光镜下将膜以水平线和垂直线分为 4 个象限,在每个象限及膜中心各取一个视野,计数滤膜下室的细胞数,并取其平均值。

### 1.7 双荧光素酶报告实验

双荧光素酶检测系统试剂盒用于检测 miR-410 与 HMGB1 的 3'UTR 之间的结合活性。将包含有 miR-410 结合位点的 HMGB1 3'UTR DNA 片段插入到 pmirGLO 载体中,并用脂质体 2000 转染进入

KM3 细胞中。转染 48h 后,用双荧光素酶检测系统试剂盒检测荧光素酶的活性。

### 1.8 质粒构建

将目的基因 *HMGB1* 用 PCR 扩增试剂扩增,并将产物进行切胶回收纯化,将纯化产物与真核表达质粒 pcDNA3.1 双酶切后用 T4 连接酶连接,构建 pcDNA-HMGB1 重组质粒。将重组质粒转入大肠杆菌 *E.coli* JM109 中,筛选阳性克隆并扩增。抽提阳性克隆的重组质粒,进行酶切鉴定及测序鉴定。经过鉴定的阳性质粒将通过脂质体 2000 转染至 U266 和 KM3 细胞中进行表达。

### 1.9 裸鼠异位移植瘤模型建立

取体外培养的处于生长对数期的骨髓瘤 U266 细胞株,用 1% 的 PBS 调整细胞浓度为  $1 \times 10^7/\text{ml}$ 。采用健康的 BALB/c-nu 裸鼠建立异位移植瘤模型,层流室无菌条件下,每只小鼠皮下注射约 0.2ml U266 细胞。在 SPF 环境饲养下观察 1 周,小鼠体内出现椭圆形肿物,成瘤率 100%,动物模型建立成功。将移植瘤模型小鼠随机分成 3 组 (6 只/组): 对照组 (小鼠皮下接种  $1 \times 10^7$  U266 细胞,然后接受瘤内注射 PBS)、pre-NC 组 (小鼠皮下接种  $1 \times 10^7$  U266 细胞,然后接受瘤内注射 pre-NC)、miR-410 mimic 组 (小鼠皮下接种  $1 \times 10^7$  U266 细胞,然后接受瘤内注射 miR-410 mimic); pre-NC 组和 miR-410 mimic 组小鼠,每隔 48h 以 10mg/kg 的剂量注射,对照组注射等量的 PBS 溶液;30d 后将动物安乐死。每隔 5d 测量每组小鼠肿瘤组织体积 ( $V = ab^2/2$ ,  $a$  为肿瘤长径,  $b$  为肿瘤宽径)及 *HMGB1* 的表达水平。

### 1.10 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件分析实验数据,数据以均数  $\pm$  标准差表

示。利用盒式图统计数据分散情况。两组之间的差异用 Student's *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MiR-410 在多发性骨髓瘤骨髓中表达情况

分别检测多发性骨髓瘤患者和志愿者骨髓样本中 miR-410 与 *HMGB1* 的表达水平。结果表明,与志愿者骨髓样本相比,miR-410 在多发性骨髓瘤患者骨髓中的表达量显著降低 (Figure 1A) ( $P < 0.001$ ); 而 *HMGB1* 在多发性骨髓瘤患者骨髓中的表达量显著升高 (Figure 1B) ( $P < 0.001$ )。

### 2.2 MiR-410 在多发性骨髓瘤细胞中表达情况

以人外周血单核细胞 PBMC 作为对照,检测人骨髓瘤细胞系 U266 和 KM3 中 miR-410 与 *HMGB1* 的表达水平。结果表明,与 PBMC 相比,miR-410 在 U266 ( $P = 0.0028$ ) 和 KM3 ( $P = 0.0039$ ) 细胞中的表达显著下调 (Figure 2A); 而 *HMGB1* 在 U266 ( $P = 0.0090$ ) 和 KM3 细胞 ( $P = 0.0037$ ) 中的表达显著上调 (Figure 2B)。

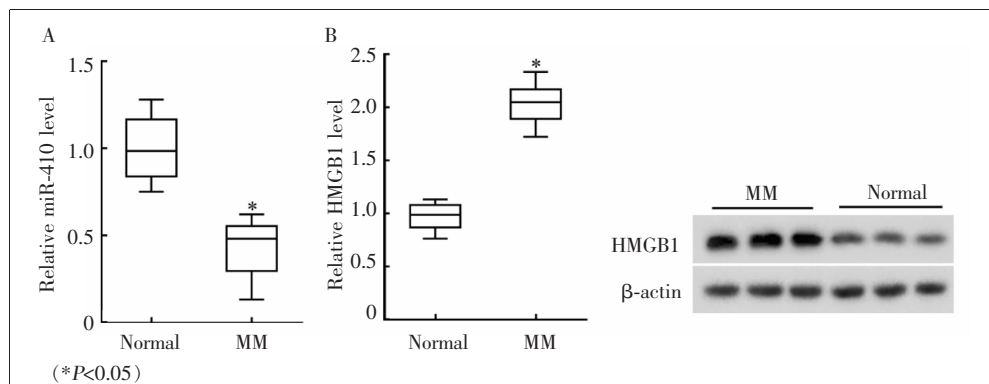


Figure 1 Expression of miR-410 and HMGB1 in bone marrow of MM patients and normal subjects

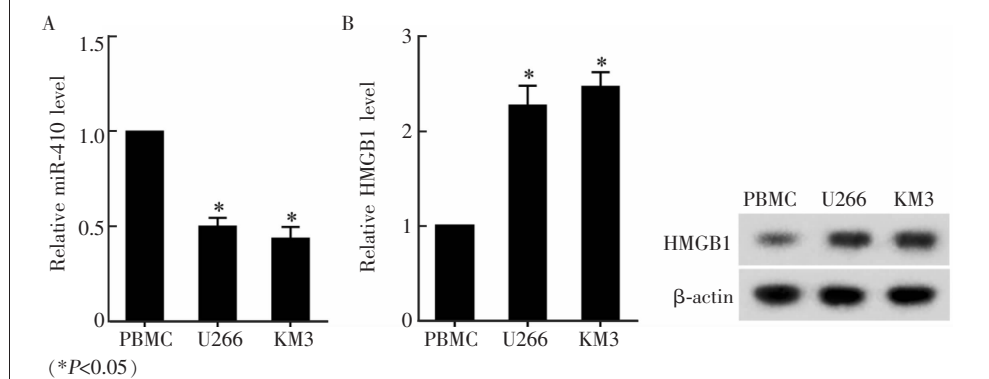


Figure 2 Expression of miR-410 and HMGB1 in cells of MM and PBMC

### 2.3 MiR-410 抑制多发性骨髓瘤细胞的增殖和侵袭

分别在 U266 和 KM3 细胞中转染 miR-410 mimic 和 pre-NC, 48h 后检测细胞增殖活性与侵袭能力。与 pre-NC 对照相比, miR-410 mimic 显著抑制 U266 ( $P < 0.001, P = 0.0012$ ) 和 KM3 细胞 ( $P = 0.0004, P = 0.0014$ ) 增殖活性和侵袭能力 (Figure 3A)。分别在 U266 和 KM3 细胞中转染 si-HMGB1 和 si-control, 48h 后检测细胞增殖活性与侵袭能力。与 si-control 对照相比, si-HMGB1 显著抑制 U266 ( $P = 0.0014, P = 0.0004$ ) 和 KM3 细胞 ( $P = 0.0013, P = 0.0020$ ) 增殖活性和侵袭能力 (Figure 3B)。

### 2.4 MiR-410 与 HMGB1 的 3' UTR 作用对 HMGB1 表达的影响

在线生物信息学方法 (TargetScan 与 microrna.org) 分析 miR-410 与 HMGB1 的 3' UTR (WT) 的靶向结合位点, 而突变型 (MUT) HMGB1 的 3' UTR 则不能与 miR-410 靶向结合 (Figure 4A); 与 pre-NC 对照相比, 在 KM3 细胞中转染报告质粒并过表达 miR-410 后, WT 组细胞内荧光素酶活性显著下降 ( $P = 0.0018$ ), 而 MUT 组细胞内荧光素酶活性无明显变化 ( $P = 0.8700$ ); 此外过表达 miR-410 显著降低细胞内 HMGB1 的表达水平 ( $P = 0.0032$ ) (Figure 4B); 在 KM3 细胞中转染报告质粒并抑制 miR-410 的表达后, WT 组细胞内荧光素酶活性显著升高 ( $P = 0.0016$ ), 而 MUT 组细胞内荧光素酶活性无明显变化 ( $P = 0.6500$ ); 此外抑制 miR-410 的表达显著增加细胞内 HMGB1 的表达水平 ( $P = 0.0044$ ) (Figure 4C)。

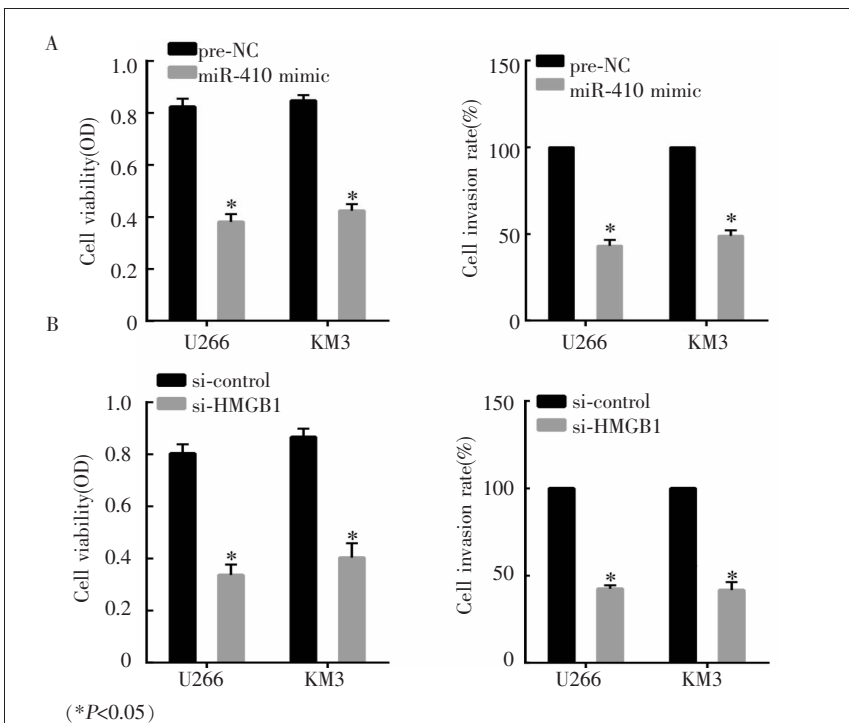


Figure 3 The effect of miR-410 on cell proliferation and invasion in MM

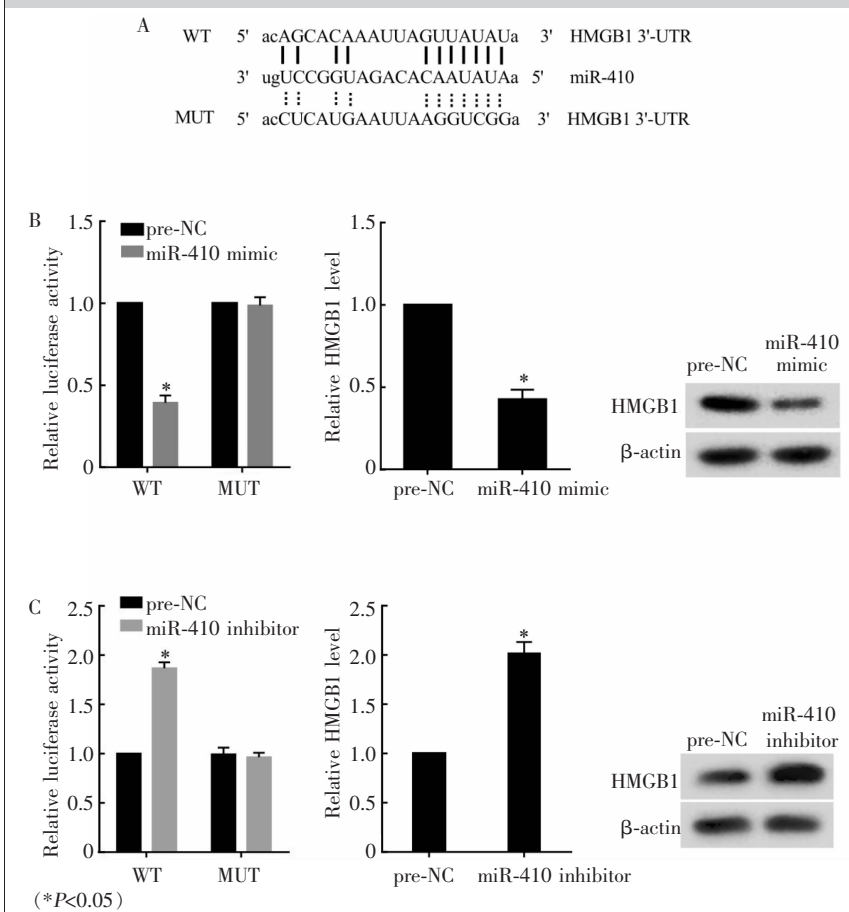


Figure 4 Verification of targeting relationship between miR-410 and HMGB1

## 2.5 MiR-410 通过 HMGB1 对多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭的影响

分别在 U266 和 KM3 细胞中转染 miR-410 mimic 和 pcDNA3.1-HMGB1, 并根据不同的处理方法将其分为 4 组: pre-NC、miR-410 mimic、miR-410 mimic + pcDNA3.1、miR-410 mimic + pcDNA3.1-HMGB1, 转染 48h 后检测细胞活性与侵袭能力。结果表明, miR-410 过表达显著抑制 U266 ( $P=0.011$ ) 和 KM3 细胞 ( $P=0.0099$ ) 的活性, 而过表达 HMGB1 则逆转 miR-410 过表达对细胞活性的抑制作用 ( $P=0.0130, P=0.0026$ ) (Figure 5A); miR-410 过表达显著抑制 U266 ( $P=0.0053$ ) 和 KM3 细胞 ( $P=0.0009$ ) 的侵袭能力, 而过表达 HMGB1 则逆转这一抑制作用 ( $P=0.0039, P=0.0016$ ) (Figure 5B)。

## 2.6 动物体内 miR-410 对肿瘤生长的作用

移植瘤小鼠肿瘤体积检测结果表明, 注射 miR-410 mimic 20d 后小鼠肿瘤体积 ( $V=169.39 \text{ mm}^3 \pm 12.9 \text{ mm}^3$ ) 明显低于对照组和 pre-NC 组 ( $P=0.0200$ ), 且随着时间的延长, 肿瘤体积差异增大 (25d:  $V=192.18 \pm 11.81, P=0.0013$ ) (Figure 6A); 与对照组和 pre-NC 组相比, miR-410 mimic 组小鼠肿瘤组织中 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达水平明显降低 ( $P=0.0029$ ) (Figure 6B)。

## 3 讨论

本研究结果表明, miR-410 在多发性骨髓瘤骨髓及细胞中表达均下调, 而 HMGB1 在多发性骨髓瘤骨髓及细胞中表达均上调。MiR-410 负向调控 HMGB1 的表达, 并通过 HMGB1 抑制多发性骨髓瘤

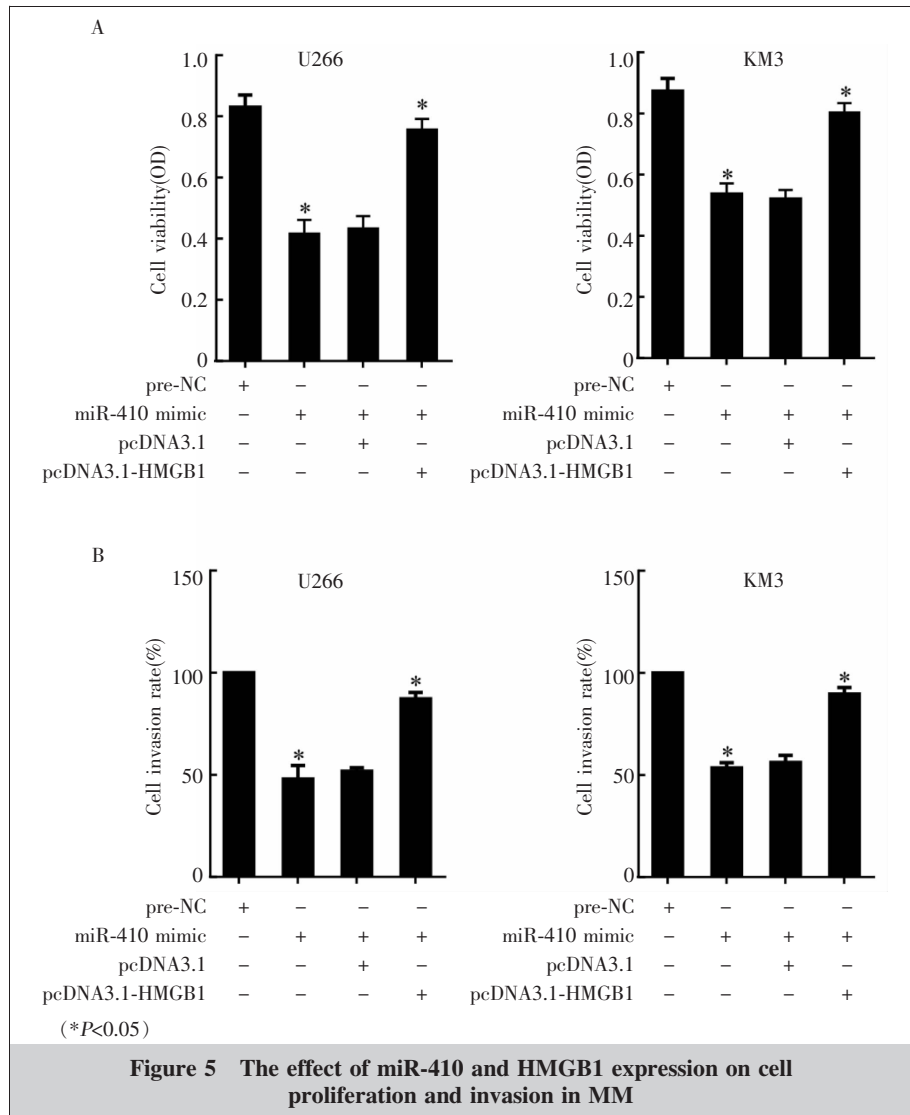
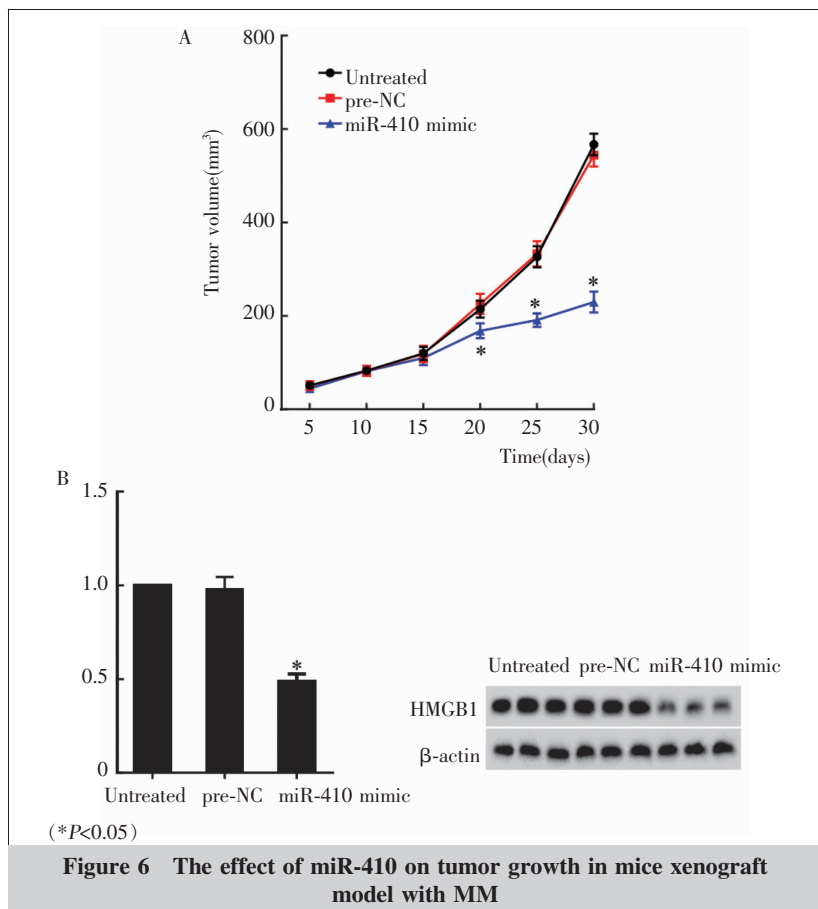


Figure 5 The effect of miR-410 and HMGB1 expression on cell proliferation and invasion in MM

细胞的增殖和侵袭。MiR-410 抑制多发性骨髓瘤移植瘤小鼠肿瘤生长。本研究证实多发性骨髓瘤中 miR-410 通过负向调控 HMGB1 表达, 抑制多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭, 从而抑制肿瘤发生发展。在分子水平上揭示了多发性骨髓瘤的致病机理及 miR-410 在其中的作用, 为多发性骨髓瘤的诊断和治疗提供了一个新的潜在分子靶点。

作为近年来新发现的基因调控因子, miRNA 通过调节相关基因的表达从而影响细胞的增殖、迁移、凋亡及细胞周期等, 其异常表达在多种肿瘤的发生、发展及耐药产生中起重要作用<sup>[7,8]</sup>。已有大量研究证实 miRNA 的异常表达在多发性骨髓瘤的发病机制中有着重要的生物学意义, 在该疾病的诊断中起重要的生物标记作用<sup>[9,10]</sup>。与正常浆细胞相比, 12%的



miRNA 在多发性骨髓瘤中差异表达,且 miRNA 的表达与细胞增殖、染色体畸变及肿瘤体积密切相关<sup>[11]</sup>。其中,miR-21 在多发性骨髓瘤中表达增加且作为原癌基因促进肿瘤的发生发展<sup>[12]</sup>,与其在多种肿瘤的原癌基因作用一致<sup>[13,14]</sup>。本研究首次证明了 miR-410 在多发性骨髓瘤患者骨髓及细胞中的表达显著降低,且在体外对多发性骨髓瘤细胞的增殖和侵袭有抑制作用,表现出 miR-410 的抑癌属性,说明多发性骨髓瘤的发病与体内 miR-410 的低表达水平有关。MiR-410 在多种肿瘤中起抑癌作用,通过抑制肿瘤细胞增殖和侵袭以抑制肿瘤生长。如 miR-410 在胃癌中表达下调,且 miR-410 可通过作用于 MDM2 基因抑制胃癌细胞的迁移和侵袭能力<sup>[15]</sup>,表现出肿瘤抑制作用。本研究所证实的 miR-410 对多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭的抑制作用,揭示了其低表达在肿瘤发生发展中的作用,不仅有利于更好地理解 miRNA 在多发性骨髓瘤中的作用,而且为多发性骨髓瘤诊断与治疗提供了新的思路。

本研究还首次发现了 HMGB1 作为 miR-410 的

目的基因,miR-410 通过下调 HMGB1 的表达而抑制多发性骨髓瘤细胞的增殖和侵袭,再次证实了 HMGB1 在恶性血液病中起重要作用。HMGB1 的表达升高促进结直肠癌细胞的增殖且与肿瘤预后不良有关<sup>[16]</sup>,且 HMGB1 的沉默则抑制体内外结直肠癌及胃癌细胞的增殖和侵袭能力<sup>[17,18]</sup>,表明 HMGB1 具有促进肿瘤生长的作用。本研究结果表明 HMGB1 在多发性骨髓瘤患者骨髓及细胞中的表达升高,也证明了其对这一恶性血液病的发生发展起促进作用。HMGB1 对多发性骨髓瘤的促进作用可能是通过激活破骨细胞生成过程而实现的,其通过结合晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products,RAGE)而诱导破骨细胞生成,从而导致进行性骨质破坏,体现了多发性骨髓瘤骨痛的临床特点<sup>[19,20]</sup>。

综上所述,本研究分析了 miR-

410 与 HMGB1 在多发性骨髓瘤中的表达水平,明确了 miR-410 表达下调引起 HMGB1 的表达上调,从而促进多发性骨髓瘤细胞增殖和侵袭,诱导多发性骨髓瘤发生发展,首次证实了 miR-410 的异常表达在多发性骨髓瘤发病中的作用,为多发性骨髓瘤致病机理的研究提供新的思路,同时为多发性骨髓瘤诊断与治疗提供新的分子靶点。

### 参考文献:

- [1] Zhao Y,Xie Z,Lin J et al. MiR-144-3p inhibits cell proliferation and induces apoptosis in multiple myeloma by targeting c-Met[J]. *Am J Transl Res*,2017,9(5):2437-2446.
- [2] Eslick R,Talaulikar D. Multiple myeloma:from diagnosis to treatment[J]. *Aust Fam Physician*,2013,42(10):684-688.
- [3] Hu YH,Yang L,Zhang CG. HMGB1-a as potential target for therapy of hematological malignancies[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*,2014,22(2):560-564.
- [4] Gao D,Lv AE,Li HP et al. LncRNA MALAT-1 elevates HMGB1 to promote autophagy resulting in inhibition of tumor cell apoptosis in multiple myeloma[J]. *J Cell Biochem*,

- 2017,18(10):3341–3348.
- [5] Wang Y, Fu J, Jiang M et al. MiR-410 is overexpressed in liver and colorectal tumors and enhances tumor cell growth by silencing FHL1 via a direct/indirect mechanism [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e108708.
- [6] Zhao D, Jia P, Wang W et al. VEGF-mediated suppression of cell proliferation and invasion by miR-410 in osteosarcoma[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 400(1–2):87–95.
- [7] Tutar Y. miRNA and cancer; computational and experimental approaches[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2014, 15(5):429.
- [8] He H, Zhang H, Li Z et al. miRNA-214: expression, therapeutic and diagnostic potential in cancer [J]. *Tumori*, 2015, 101(4):375–383.
- [9] Yang Y, Li F, Saha MN et al. miR-137 and miR-197 induce apoptosis and suppress tumorigenicity by targeting MCL-1 in multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(10):2399–2411.
- [10] Rocci A, Hofmeister CC, Pichiorri F. The potential of miRNAs as biomarkers for multiple myeloma [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(8):947–959.
- [11] Seckinger A, Meissner T, Moreaux J et al. miRNAs in multiple myeloma—a survival relevant complex regulator of gene expression[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36):39165–39183.
- [12] Ma J, Liu S, Wang Y. MicroRNA-21 and multiple myeloma: small molecule and big function [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(8):94.
- [13] Liu X, Feng J, Tang L et al. The regulation and function of miR-21-FOXO3a-miR-34b/c signaling in breast cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(2):3148–3162.
- [14] Yu Y, Nangia-Makker P, Farhana L et al. miR-21 and miR-145 cooperation in regulation of colon cancer stem cells[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14:98.
- [15] Shen J, Niu W, Zhou M et al. MicroRNA-410 suppresses migration and invasion by targeting MDM2 in gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e104510.
- [16] Zhang Z, Wang M, Zhou L et al. Increased HMGB1 and cleaved caspase-3 stimulate the proliferation of tumor cells and are correlated with the poor prognosis in colorectal cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34:51.
- [17] Li Z, Wang H, Song B et al. Silencing HMGB1 expression by lentivirus-mediated small interfering RNA (siRNA) inhibits the proliferation and invasion of colorectal cancer LoVo cells in vitro and in vivo[J]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2015, 37(9):664–670.
- [18] Zhang J, Kou YB, Zhu JS et al. Knockdown of HMGB1 inhibits growth and invasion of gastric cancer cells through the NF-kappaB pathway in vitro and in vivo[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(4):1268–1276.
- [19] Charoonpatrapong K, Shah R, Robling AG et al. HMGB1 expression and release by bone cells[J]. *J Cell Physiol*, 2006, 207(2):480–490.
- [20] Zhou Z, Han JY, Xi CX et al. HMGB1 regulates RANKL-induced osteoclastogenesis in a manner dependent on RAGE[J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(7):1084–1096.