

莪术醇对体外多发性骨髓瘤细胞生物学行为的影响

孙 红¹ 李凌云² 周湘明¹ 傅晋翔³

摘要 **目的** 观察莪术醇对体外多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)细胞生物学行为的影响,为莪术醇临床治疗 MM 提供理论依据。**方法** 以骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs)和骨髓瘤 8226 细胞株(multiple myeloma cell line 8226, RPMI 8226)为研究对象,分为 RPMI 8226 单独培养组(RPMI 8226)和 BMSCs RPMI 8226 细胞共培养组(BMSCs + RPMI 8226),分别加入不同浓度(0.1、0.5、1、10 $\mu\text{g/mL}$)的莪术醇,采用流式细胞术检测莪术醇对各组 RPMI 8226 增殖、周期及凋亡的影响;应用逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测 BMSCs 成骨分化基因核因子 κB 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor κB ligand, RANKL)及骨保护素(osteoprotegerin, OPG)的表达水平。**结果** 莪术醇可诱导 RPMI 8226 细胞周期阻滞,且对单独培养组 RPMI 8226 细胞的周期阻滞明显高于 BMSCs 共培养组;莪术醇能明显抑制 RPMI 8226 细胞增殖,诱导 RPMI 8226 细胞凋亡(均 $P < 0.01$),BMSCs 可明显降低莪术醇诱导的 RPMI 8226 细胞凋亡;莪术醇可下调骨髓瘤骨病相关基因 RANKL 表达,上调 OPG 表达。**结论** 莪术醇能干扰 MM 细胞周期,诱导细胞凋亡,在下调 RANKL 表达的同时,上调 OPG 表达;BMSCs 共培养明显抑制莪术醇诱导的 MM 细胞凋亡,可能与 MM 细胞耐药有关。

关键词 莪术醇;多发性骨髓瘤;生物学行为;耐药

Effect of Curcumol on the Biological Behavior of Multiple Myeloma Cells SUN Hong¹, LI Lingyun², ZHOU Xiang-ming¹, and FU Jin-xiang³ 1 Department of Traditional Chinese Medicine, Second Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu (215004); 2 Department of Central Lab, Second Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu (215004); 3 Department of Hematology, Second Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu (215004)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of curcumol on the biological behavior of multiple myeloma (MM) cells, thus studying its possible mechanisms for MM treatment. **Methods** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) and multiple myeloma cell line 8226 (RPMI 8226) were taken as subjects, which were then divided into the RPMI 8226 group (cultured by RPMI 8226 alone) and the BMSCs + RPMI 8226 group (cultured by BMSCs and RPMI 8226). Curcumol in different concentrations (0.1, 0.5, 1.0, 10.0 $\mu\text{g/mL}$) was added to cells in the two groups respectively. Cell proliferation, cell cycle, and apoptosis induced by curcumol were examined by flow cytometry. The expressions of receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL) and osteoprotegerin (OPG) were detected using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Curcumol induced arrested cell cycle of RPMI 8226. The arrest of RPMI 8226 cell cycle was more obviously in the RPMI 8226 group than in the BMSCs + RPMI 8226 group. After curcumol treatment the cell proliferation of RPMI 8226 was significantly inhibited ($P < 0.01$) and its apoptosis was increased ($P < 0.01$). Co-cultured with BMSCs decreased curcumol induced apoptosis of RPMI 8226. Curcumol down-regulated the expression of osteogenic differentiation re-

基金项目:苏州市科技发展计划资助项目(No.SYSD2812139)

作者单位:1.苏州大学附属第二医院中医科(江苏 215004);2.苏州大学附属第二医院实验中心(江苏 215004);3.苏州大学附属第二医院血液科(江苏 215004)

通讯作者:傅晋翔, Tel:0512-67783485, E-mail: fujx3000@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.10.1229

lated gene RANKL, and up-regulated the expression of OPG. Conclusions Curcumol disturbed the cell cycle and induced apoptosis of RPMI 8226 cells. Curcumol up-regulated the expression of OPG as well as down-regulated the expression of RANKL. Co-culture with BMSCs could obviously inhibit curcumol induced apoptosis of MM cells, which might be associated with drug resistance of MM cells.

KEYWORDS curcumol; multiple myeloma; biological behavior; drug resistance

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是以骨髓中单克隆浆细胞大量增生为显著特征的恶性疾病,临床上以贫血、骨痛或溶骨性骨质破坏、高钙血症和肾功能不全为主要特征^[1]。目前研究表明,MM 细胞的增殖和耐药均与骨髓微环境密切相关^[2]。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)是组成骨髓微环境的主要细胞,具有多向分化潜能,是骨髓基质细胞的前体细胞^[3]。BMSCs 对肿瘤细胞的作用复杂多变,通过调节细胞凋亡、血管形成及免疫功能对肿瘤细胞的存活产生影响^[4]。莪术醇(Curcumol)为我国传统中药莪术的一种活性成分,是近年来发现的具有抗肿瘤活性的中药单体之一,对胃癌、妇科肿瘤、肝癌、肺癌、鼻咽癌等具有较好的治疗作用^[5]。本研究在体外观察莪术醇对 MM RPMI 8226 细胞株细胞生物学行为的影响,并建立 MM RPMI 8226 细胞与 BMSCs 共培养体系,探讨 BMSCs 对莪术醇体外诱导 RPMI 8226 细胞株凋亡及增殖的影响。

材料与方法

1 MM 细胞及成人骨髓来源 MM RPMI 8226 细胞株由苏州大学生物技术研究所张学光教授惠赠。正常成人骨髓由苏州大学附属第二医院研究生捐献,所有标本均经骨髓细胞形态学确认为正常骨髓象,本实验经苏州大学附属第二医院伦理委员会批准。

2 药物 莪术醇购自中国食品药品检定研究院(批号:100185-201310),纯度 99%。配制方法如下:称取 10 mg 莪术醇,溶于适量无水乙醇,振摇溶解,待全部溶解后,加无水乙醇稀释至 5 mL,混合均匀使浓度至 2 mg/mL。用细胞培养液分别稀释为终浓度 0.1、0.5、1、10 $\mu\text{g/mL}$ 备用。

3 试剂及仪器 RPMI-1640 培养基(批号:1002646)、低糖 DMEM 培养基(批号:8115395)及胎牛血清(批号:1456396)均购自美国 GIBCO 公司;488 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(批号:495047)购自美国 Invitrogen 公司;MTT(批号:072M1430V)购自美国 Sigma-aldrich 公司;6 孔板和 96 孔板购自美国 COSTAR 公司。

4 BMSCs 分离、培养及鉴定 参照参考文献

[6], 无菌条件下,于人髂后上棘处抽取 4 mL 骨髓,肝素抗凝。淋巴细胞分离液 Ficoll 分离单个核细胞,用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤 2 次,以 $4 \times 10^8/\text{L}$ 浓度接种于 25 mL 培养瓶内,置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 饱和湿度,体积分数为 0.05% 的 CO_2 培养箱中培养。培养液为含 10% FBS 的低糖 DMEM 完全培养液,72 h 后换液去除悬浮细胞,置于倒置显微镜下观察培养细胞形态和活性情况,以后每 3 天换液 1 次。

取生长旺盛的 BMSCs F3 代细胞,用胰酶消化后, PBS 洗涤 3 次,调整细胞浓度为 $2.0 \times 10^5/\text{mL}$, 取 100 mL 该浓度的细胞悬液,分别加入 PE 标记的同型 IgG, 室温下孵育 30 min, PBS 洗涤 2 次,加入 300 μL PBS 重悬细胞,流式细胞术分析,选用 CD29-PE、CD106-PE、CD105-PE、CD73-PE、CD45-PE、CD34-FITC、CD14-FITC 及 HLADR-FITC 等鉴定 BMSCs。

5 BMSCs 与 RPMI 8226 细胞共培养 BMSCs 细胞培养于 37 $^{\circ}\text{C}$, 饱和湿度, 0.05% 的 CO_2 培养箱。培养液为含 10% 胎牛血清的 PRMI-1640 培养基。将对数期生长的 BMSCs 按 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 6 孔板或 96 孔板中, 4 h 后待细胞贴壁后吸弃上清,然后将 RPMI 8226 细胞按 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 接种于已接种 BMSCs 的 6 孔板或 96 孔板中共同培养,进行后续实验。

6 观察指标与检测方法

6.1 莪术醇干预下单独培养 RPMI 8226 细胞及与 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞周期检测 细胞实验分为 RPMI 8226 单独培养组(RPMI 8226)、RPMI 8226 与 BMSCs 共培养组(RPMI 8226 + BMSCs), 分别加入不同浓度(0、0.1、0.5、1、10 $\mu\text{g/mL}$)的莪术醇,作用 8 h 后收集悬浮细胞, PBS 洗涤后,制成 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的单细胞悬液,转移至 -20 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 4 mL 无水乙醇中, -20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 30 min 后离心去上清,加入 5 mL PBS 缓冲液重悬,水合 15 min 后离心,弃上清后加入 1 mL 细胞周期检测试剂孵育 30 min 后行流式细胞仪检测。

6.2 莪术醇干预下单独培养的 RPMI 8226 及与 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞增殖水平检测

细胞分组同前,在 96 孔板内进行。根据前述实验结果,选择 1 $\mu\text{g/mL}$ 为莪术醇处理浓度,分别于给药后 24、48、72、96 h,加入 10 μL MTT,各时间点设 5 个复孔,放置 4 h 后向其中加入 100 μL 酸化 SDS (10%的 SDS 与 1 mmol/L 的盐酸按 99:1 的比例合成),振荡 10 min,充分溶解结晶物,在波长 570 nm 处读取吸光度值(A_{570}),测定各孔的光吸收值并取平均值。

6.3 不同浓度莪术醇诱导的 RPMI 8226 细胞凋亡水平检测 实验分组同前,在 96 孔板内进行,每孔加入不同浓度(0、0.1、0.5、1、10 $\mu\text{g/mL}$)的莪术醇。实验设 3 个复孔,24 h 后收集悬浮细胞,分别加入 5 μL Annexin V-FITC 及 10 μL 碘化丙啶(propidium iodide,PI)混匀,室温、避光反应 15 min,采用流式细胞仪检测 RPMI 8226 凋亡情况。

6.4 骨髓瘤骨病(myeloma bone disease, MBD)相关基因表达水平检测 采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)法。取 F3 代骨髓 BMSCs 以 1.0×10^5 /孔浓度接种在 6 孔板中待其生长至汇合后分 3 组,BMSCs 单独培养组、RPMI 8226 与 BMSCs 共培养组及 RPMI 8226 与 BMSCs 共培养并加入莪术醇(1 $\mu\text{g/mL}$)组。根据细胞周期和细胞凋亡实验确定 1 $\mu\text{g/mL}$ 为莪术醇处理浓度。共培养 24 h 后分别收集 BMSCs 进行成骨分化基因 NF- κB 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor κB ligand, RANKL)及骨保护素(osteoprotegerin, OPG)表达水平检测。操作按试剂盒说明进行,采用 RNeasy Kit(Qiagen)试剂盒提取 RNA 样本,每次取 1 μg RNA 进行逆转录,按等量 cDNA 进行 PCR 反应(TopTaq Master Mix Kit Qiagen)。引物序列由上海生物工程公司设计并合成,以 β -actin 为内参(表 1)。取 4 μL PCR 产物及 3.5 μL Marker 分别加样于 2.0% 琼脂糖凝胶中电泳(电压 100 V)30 ~ 60 min,紫外投射仪观察目标条带并获取图像,Smartview 2001 图象分析软件分析并处理结果。

表 1 目的基因引物序列

基因	引物序列	退火温度	产物长度
RANKL	上游:5'-AGCAGAGAAAGCGATGGT-3'	55 $^{\circ}\text{C}$	340 bp
	下游:5'-GGGTATGAGAACTTGGGATT-3'		
OPG	上游:5'-TCAAGCAGGAGTGCAATCG-3'	57 $^{\circ}\text{C}$	341 bp
	下游:5'-AGAATGCCTCCTCACACAGG-3'		
β -actin	上游:5'-TCCTGTGGCATCCACGAAACT-3'	55 $^{\circ}\text{C}$	306 bp
	下游:5'-GAAGCATTTGCGGTGGACGAT-3'		

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用 One-Way ANOVA 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

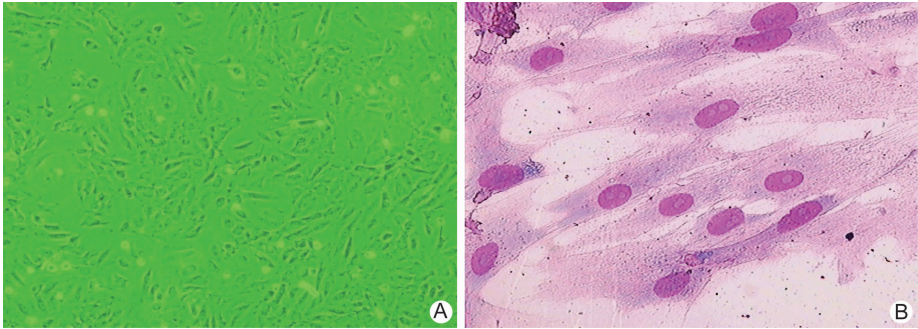
1 BMSCs 鉴定(图 1、2) 采用常规贴壁法获得较纯的 BMSCs,细胞经培养 72 h 可见单个或少量呈集落生长的贴壁细胞,7 天后形成集落生长,呈现成纤维细胞梭形外观,约 14 ~ 21 天铺满整个瓶底。BMSCs 的表面高表达 CD29、CD73、CD105 及 CD106,不表达 CD14、CD34、CD45 及 HLA-DR 等造血细胞表面标志,经鉴定为 BMSCs。

2 不同浓度的莪术醇干预下单独培养 RPMI 8226 细胞及与 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞周期比较(表 2) 在 RPMI 8226 单独培养和 RPMI 8226 与 BMSCs 共培养的体系中,分别加入不同浓度的莪术醇 24 h 后,结果显示,莪术醇对单独培养、共培养的 RPMI 8226 周期阻滞作用均随莪术醇浓度升高而逐渐增强,且对单独培养 RPMI 8226 周期阻滞作用更明显;当浓度为 1、10 $\mu\text{g/mL}$ 时,莪术醇对单独培养组细胞周期的阻滞作用明显强于共培养组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 莪术醇干预下单独培养及 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞增殖水平比较(表 3) 在 RPMI 8226 单独培养和 RPMI 8226 与 BMSCs 共培养的体系中,分别加入 1 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇,MTT 结果显示,莪术醇可抑制单独培养的 RPMI 8226 及 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 增殖,且随着作用时间增加,其抑制程度呈逐渐上升趋势。此外,莪术醇对单独培养 RPMI 8226 细胞增殖的抑制作用较 BMSCs 共培养 RPMI 8226 细胞的抑制作用明显($P < 0.01$)。

4 不同浓度的莪术醇诱导下两组 RPMI 8226 细胞凋亡率比较(表 4) 不同浓度的莪术醇作用于单独培养及与 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞 24 h 后,RPMI 8226 活细胞比例减少,呈浓度依赖性,以 10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的活细胞最少,凋亡率最高。在单独培养组和共培养组,莪术醇各浓度组与 0 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),且在 0.5、1、10 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇浓度干预下,共培养组的细胞总凋亡率明显低于单独培养组($P < 0.05$)。

5 各组 BMSCs MBD 相关基因表达水平比较(图 3) 与 BMSCs 单独培养组比较,RPMI 8226 与



注:A 为 BMSCs 原代培养 10 天;B 为瑞氏染色油镜下观察

图 1 培养 10 天的 BMSCs 形态学观察

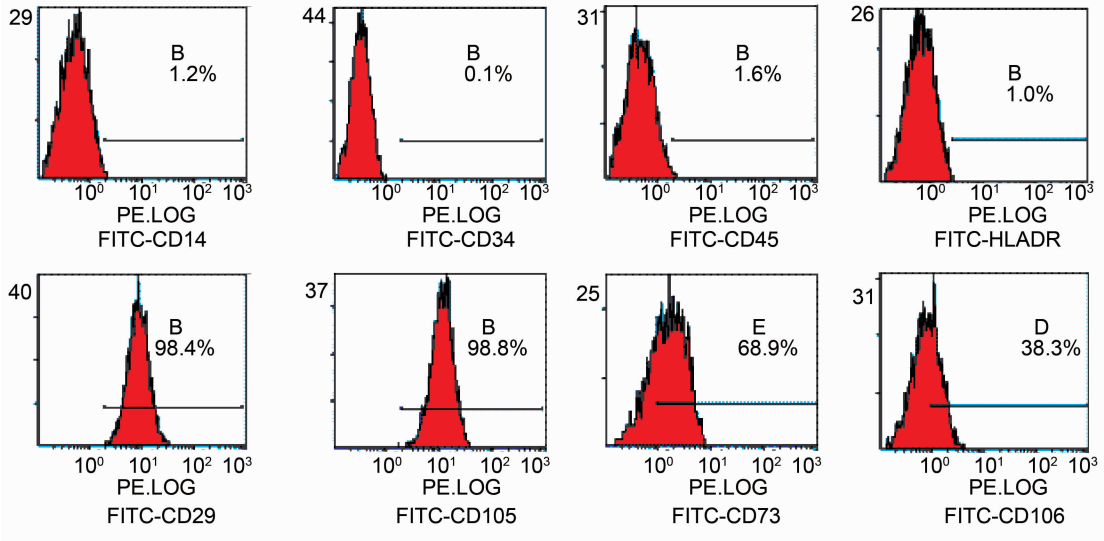


图 2 BMSCs 免疫表型图

表 2 不同浓度莪术醇干预下单独培养 RPMI 8226 及 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞周期比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	莪术醇浓度 (μg/mL)				
	0	0.1	0.5	1	10
RPMI 8226					
G1	47.09 ± 0.78	51.72 ± 1.01	54.47 ± 0.67	57.96 ± 1.25	86.16 ± 0.29
S	52.88 ± 1.01	45.37 ± 0.74	43.64 ± 1.29	37.61 ± 0.91	8.21 ± 0.86
G2	0.03 ± 0.04	2.90 ± 0.69	1.87 ± 1.68	4.42 ± 0.42	5.62 ± 1.16
RPMI 8226 + BMSCs					
G1	45.11 ± 0.71	49.22 ± 1.02	52.47 ± 0.63	55.68 ± 1.41	80.16 ± 1.56
S	54.66 ± 1.01	48.72 ± 0.64	45.62 ± 1.11	41.61 ± 0.73	16.13 ± 0.53
G2	0.13 ± 0.04	2.06 ± 0.78	1.91 ± 1.64	2.71 ± 0.52 *	3.71 ± 1.03 **

注:与单独培养组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

表 3 莪术醇干预下单独培养及 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞吸光度值比较 (A_{570} , $\bar{x} \pm s$)

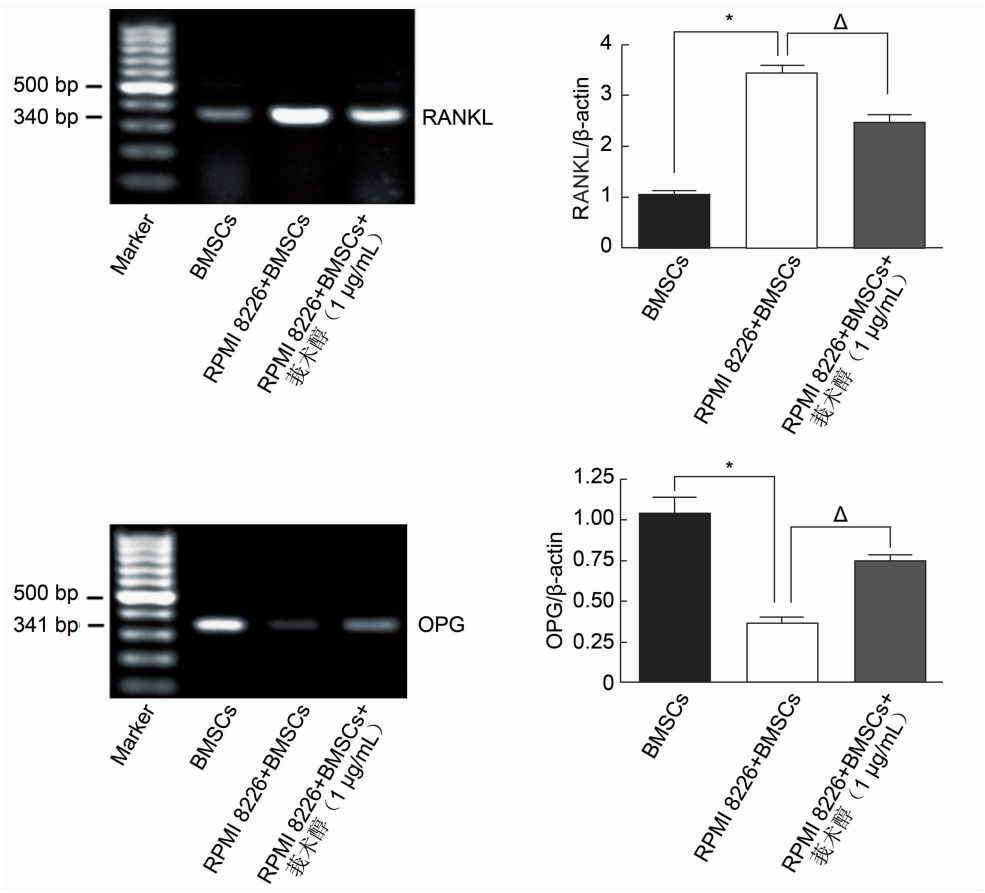
组别	时间				
	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
RPMI 8226	0.37 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.47 ± 0.02	0.47 ± 0.03
RPMI 8226 + BMSCs	0.35 ± 0.02	0.41 ± 0.04	0.46 ± 0.51	0.67 ± 0.07	0.66 ± 0.04 *

注:与 RPMI 8226 组比较,* $P < 0.01$

表 4 不同浓度的莪术醇诱导下两组 RPMI 8226 细胞凋亡率比较 (%, $\bar{x} \pm s$)

浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	RPMI 8226			RPMI 8226 + BMSCs		
	早期凋亡	晚期凋亡	总凋亡	早期凋亡	晚期凋亡	总凋亡
0	2.52 ± 0.13	2.81 ± 0.23	5.33 ± 0.15	2.11 ± 0.71	2.66 ± 0.45	4.77 ± 0.07
0.1	4.89 ± 0.34	9.23 ± 0.68	$14.12 \pm 0.77^*$	4.22 ± 1.02	6.72 ± 0.64	$11.06 \pm 0.76^*$
0.5	5.93 ± 0.87	17.54 ± 1.29	$23.47 \pm 1.18^*$	5.47 ± 0.63	12.62 ± 2.11	$18.09 \pm 1.44^{*\Delta}$
1	7.47 ± 1.25	30.35 ± 1.91	$37.83 \pm 1.42^*$	6.68 ± 1.41	20.61 ± 1.73	$27.29 \pm 2.52^{*\Delta}$
10	8.16 ± 1.39	36.21 ± 2.46	$44.37 \pm 1.65^*$	7.56 ± 1.76	26.13 ± 2.53	$33.69 \pm 2.63^{*\Delta}$

注:与本组 0 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇组比较, $^*P < 0.05$; 与同浓度 RPMI 8226 组比较, $^\Delta P < 0.05$



注:与 BMSCs 单独培养组比较, $^*P < 0.05$; 与 RPMI 8226 + BMSCs 共培养组比较, $^\Delta P < 0.05$

图 3 各组 BMSCs MBD 相关基因表达水平比较

BMSCs 共培养组 RANKL mRNA 表达上调, OPG mRNA 表达下调($P < 0.05$); 在 RPMI 8226 与 BMSCs 共培养中加入 1 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇,能下调共培养诱导的 RANKL 表达,并上调 OPG 表达 ($P < 0.05$)。

讨 论

莪术醇是莪术挥发油中抗菌、抗病毒、抗肿瘤等作用的重要有效成分^[5],其既能针对多种肿瘤细胞发挥直接破坏的作用,又能促使机体免疫系统特异性增强,从而获得明显抗肿瘤效应。本实验以多发

性骨髓瘤株为研究对象,应用莪术醇干预单独培养及与 BMSCs 共培养的 RPMI 8226 细胞,结果发现,莪术醇通过干预 RPMI 8226 的细胞周期,抑制 RPMI 8226 细胞增殖($P < 0.01$),且随着药物浓度增加,细胞增殖抑制越明显,呈现时间—浓度依赖性;莪术醇作用 24 h 后,RPMI 8226 活细胞数的比例不断减少,凋亡逐渐增加,以 10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的活细胞最少,凋亡率最高,药物处理组与 0 $\mu\text{g/mL}$ 莪术醇组凋亡率比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),表明莪术醇具有明显的抑制 MM 细胞增殖作用,并可诱导

细胞凋亡,具有明显的抗 MM 活性。

MSC 是骨髓微环境中重要的基质细胞成分,主要通过基质细胞间、基质细胞与造血细胞间频繁的信号转导参与造血调控^[7,8]。BMSCs 作为骨髓微环境中一种长期生存的细胞,在 MM 患者体内出现多种生物学异常。本实验发现,当莪术醇干预与 BMSCs 共培养的骨髓瘤株 RPMI 8226 细胞后,虽然莪术醇也能抑制细胞增殖,抑制作用也呈现时间—浓度依赖性,但抑制作用明显减轻;流式细胞仪检测结果表明,BMSCs 能明显抑制莪术醇诱导多发性骨髓瘤细胞凋亡,提示 BMSCs 的存在有利于 MM RPMI 8226 的生存,降低 RPMI 8226 对莪术醇的敏感性,拮抗莪术醇对 MM 细胞的杀伤作用,从而促进 MM 细胞的生长存活,介导 MM 细胞耐药。

NF- κ B 是一种调控许多与细胞存活、凋亡相关基因的重要转录因子,其 RANKL/OPG 主要是由成骨细胞产生的一对分别促进骨吸收和抑制骨吸收的因子。近来研究发现,RANKL/OPG 与 MM 发病关系密切。MM 中存在 RANKL/OPG 比率失衡,RANKL 表达上调,OPG 表达下降与 MM 骨病的发生有关^[9]。RANKL/OPG 比率不仅可作为 MM 骨病的标志,还可反映 MM 患者的总体生存情况,为 MM 重要的预后指标^[10]。本研究表明,莪术醇能下调 MM 与 BMSCs 细胞共同培养的 RANKL 表达水平,上调 OPG 表达水平,表明莪术醇对 MM 的作用可通过调整 BMSCs MBD 相关基因实现。

综上所述,莪术醇通过干扰 MM 细胞周期,抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,调节 RANKL/OPG 比率,发挥其抗肿瘤作用,在骨髓微环境中 BMSCs 可保护 MM 细胞免于莪术醇介导的杀伤作用,抑制其诱导的 MM 细胞凋亡,并促进 MM 细胞的增殖,可能和 MM 细胞耐药相关。

参 考 文 献

- [1] Hideshima T, Anderson KC. Preclinical studies of novel targeted therapies [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2007, 21(6): 1071–1091.
- [2] Podar K, Chauhan D, Anderson KC. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy [J]. Leukemia, 2009, 23(1): 10–24.
- [3] 孙谕, 顾军, 张宏, 等. 骨髓间充质干细胞对再生障碍性贫血免疫损伤修复的影响 [J]. 江苏医药, 2012, 38(1): 18–20.
- [4] 张蕴玉, 庞东生, 傅晋翔. 骨髓间充质干细胞与肿瘤关系的研究进展 [J]. 中华临床医师杂志, 2013, 7(17): 136–137.
- [5] 秦铁城, 文海斌, 陈珮, 等. 莪术醇抗肿瘤研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(18): 2043–2045.
- [6] 傅晋翔, 张晓惠, 张建华, 等. 不同来源间充质干细胞生物学特征的比较 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(24): 4661–4665.
- [7] Li ZW, Dalton WS. Tumor microenvironment and drug resistance in hematologic malignancies [J]. Blood Rev, 2006, 20(6): 333–342.
- [8] Tai YT, Li XF, Breitkreutz I, et al. Role of B-cell activating factor in adhesion and growth of human multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment [J]. Cancer Res, 2006, 66: 6675–6682.
- [9] Giuliani N, Bataille R, Mancini C, et al. Myeloma cell induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment [J]. Blood, 2001, 98(13): 3527–3533.
- [10] Terpos E, Szydlo R, Apperley JF, et al. Soluble receptor activator of nuclear factor Kappa B ligand osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index [J]. Blood, 2003, 102(3): 1064–1069.

(收稿: 2015-05-14 修回: 2016-06-20)