基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000849

PCDH10减少多发性骨髓瘤细胞逃避表阿霉素杀伤

袁海汀，陈建斌，许永会，杨泽松
（重庆医科大学附属第一医院血液科，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨原钙黏蛋白 10(protocadherin-10，PCDH10)对表阿霉素杀伤多发性骨髓瘤(multiple myeloma，MM)细胞的影响及机制。**方法**：采用脂质体法将 PCDH10 基因转染入人 MM 细胞株 RPMI8226 细胞，RT-PCR 和 Western blot 法检测 PCDH10 基因和蛋白的表达；CCK-8 法检测表阿霉素对 RPMI8226 细胞的增殖抑制作用，求得半数抑制浓度(half-maximal inhibitory concentration，IC_{50})；Transwell 法检测表阿霉素和 PCDH10 对 RPMI8226 细胞迁移的影响；流式细胞术检测 CXC 族趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor 4，CXCR4)蛋白表达；Western blot 方法检测 Ras 同源家族成员 A(ras homolog gene family member A，RhoA)和基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase-9，MMP-9)蛋白表达情况。**结果**：PCDH10 基因成功转染入 RPMI8226 细胞，并成功表达；PCDH10 转染组表阿霉素 IC_{50} 为(0.87 ± 0.07) μg/ml，明显低于空质粒转染组(1.27 ± 0.02) μg/ml(F=77.93，P=0.000)；PCDH10 减少表阿霉素所致的细胞迁移(F=34.943，P=0.000)并抑制 CXCR4(F=117.269，P=0.000)、RhoA(F=1 818.250，P=0.000)和 MMP-9(F=523.764，P=0.000)蛋白表达。**结论**：PCDH10 一方面可增强 MM 细胞对表阿霉素的敏感性，另一方面可通过抑制 CXCR4、RhoA、MMP-9 蛋白的表达来减少 MM 细胞逃避表阿霉素的杀伤，从而增强了表阿霉素的抗骨髓瘤效应。

【关键词】多发性骨髓瘤；PCDH10 基因；表阿霉素；CXC 族趋化因子受体 4；Ras 同源家族成员 A；基质金属蛋白酶 9
【中图分类号】R73-362 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2015-03-11

作者介绍：袁海汀，Email：1615486936@qq.com，
研究方向：多发性骨髓瘤的发生机制研究。
通信作者：陈建斌，Email：cqchenjianbin2007@126.com。
基金项目：重庆市卫生局医学科研计划资助项目(编号：2011-1-032)。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160109.2130.042.html
(2016-01-09)

证了构建的 GRP78 腺病毒载体能够高效感染HepG2细胞并且大量表达 GRP78 蛋白，证明了 GRP78 蛋白对肝癌细胞的促增殖影响。为进一步研究GRP78的功能和一些肿瘤细胞的临床诊断和治疗奠定了基础。

参 考 文 献

[1] Zhang K，Kaufman RJ. Identification and characterization of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in vivo[J]. Methods Enzymol，2008(442)：395-419.

[2] Li J，Lee B，Lee AS. Endoplasmic reticulum stress induced apoptosis：multiple pathways and activation of p53-up-regulated modulator of apoptosis (PUMA) and NOXA by p53[J]. J Biol Chem，2006，281(11)：7260-7270.

[3] Chen WT，Zhu G，Pfaffenbach K，et al. GRP78 as a regulator of liver steatosis and cancer progression mediated by loss of the tumor suppressor PTEN[J]. Oncogene，2014，33(42)：4997-5005.

[4] Mintz PJ，Kim J，Do KA，et al. Fingerprinting the circulating repertoire of antibodies from cancer patients[J]. Nat Biotechnol，2003(21)：57-63.

[5] Luo JY，Deng ZL，Luo XJ，et al. A protocol for rapid generation of recombinant adenoviruses using the AdEasy system[J]. Nature，2007，2(5)：1236-1247.

[6] Koomagi R，Mattern J，Volm M. Glucose-related Protein(GRP78) and its relationship to the drug-resistance P170，GST-pi，LRP56 and angiogenesis in non-small cell lung carcinomas[J]. Anticancer Res，1999，19(5B)：4333-4336.

[7] Wu C，Wang WC，Chen MF，et al. Glucose-regulated protein 78 mediates hormone-independent? prostate cancer? Progression and metastasis through maspin and COX-2 expression[J]. Tumour Biol，2014，35(1)：195-204.

[8] Gazit G，Lu J，Lee AS. Deregulation of GRP stress protein expression in human breast cancer cell lines[J]. Breast Cancer Res Treat，1999，54(2)：135-146.

[9] Dong D，Ni M，Li J，et al. Critical role of the stress chaperone GRP78/BiP in tumor proliferation，survival in transgene-induced mammary tumor development[J]. Cancer Res，2008，68(2)：498-505.

[10] Slotta-Huspenina J，Berg D，Bauer K，et al. Evidence of prognostic relevant expression profiles of heat-shock proteins and glucose-regulated proteins in oesophageal adenocarcinomas[J]. PLoS One，2012，7(7)：e41420.

[11] 陈娜娜，向冬喜，郑丛龙. 腺病毒及其研究进展[J]. 大连医科大学学报，2010，32(5)：4-7.

（责任编辑：冉明会）

PCDH10 prevents multiple myeloma cell escape from epirubicin-induced cytotoxicity

Yuan Haiting, Chen Jianbin, Xu Yonghui, Yang Zesong

(Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】***Objective***: To explore the influence and mechanism of PCDH10 on the chemotherapy of epirubicin in multiple myeloma (MM). ***Methods***: The PCDH10 expression was regulated by transfecting pcDNA3.1(+) PCDH10 in RPMI8226 cells. RT-PCR and Western blot were used to test the transfection effect. The CCK-8 assay was used to evaluate cell proliferation. The Boyden chamber and matrigel glue were used to construct migration and invasion model for detecting the influence of PCDH10 on epirubicin-induced cell escape. Flow cytometry was used to test the CXCR4 protein expression. Western blot was used to assess the expression of RhoA and MMP-9. ***Results***: The mRNA and protein expressions of PCDH10 were significantly up regulated by pcDNA3.1(+)-PCDH10. Epirubicin could inhibit cell proliferation in a dose-ependent manner but the IC_{50} for PCDH10-transfected cells (0.87 ± 0.07) μg/ml was much lower than that for vector-transfected cells (1.27 ± 0.02) μg/ml (F=77.93, P=0.000). The effect that epirubicin could induce cell escape could be inhibited by PCDH10 (F=34.943, P=0.000). The expression of CXCR4 which could be stimulated by epirubicin was decreased by PCDH10 (F=117.269, P=0.000). PCDH10 could also reduce the expression of RhoA (F=1 818.250, P=0.000) and MMP-9 (F=523.764, P=0.000) obviously. ***Conclusion***: PCDH10 could sensitize RPMI8226 cells to epirubicin and inhibit epirubicin-induced cell escape. The down-regulating of CXCR4, RhoA and MMP-9 may act as an important mechanism.

【Key words】multiple myeloma; protocadherin-10; epirubicin; CXC chemokine receptor 4; ras homolog gene family member A; matrix metalloproteinase-9

多发性骨髓瘤（multiple myeloma, MM）是起源于后生发中心 B 细胞的恶性克隆性浆细胞疾病。新药应用及化疗方案改善使其治疗缓解率有所提高，但化疗过程中肿瘤耐药及化疗后肿瘤复发仍较为常见。研究发现，MM 细胞可快速迁移至骨髓龛中以躲避化疗药物的杀伤作用，提示细胞迁移能力增强可能与肿瘤复发及耐药密切相关。而基质细胞衍生因子 1（stromal cell derive factor-1, SDF-1）与 CXC 族趋化因子受体 4（CXC chemokine receptor 4, CXCR4）构成的 SDF-1/CXCR4 轴与该现象有着密切联系[1-3]。近年来研究发现，原钙黏蛋白-10（protocadherin-10, PCDH10）可抑制肿瘤细胞的迁移侵袭。

PCDH10 基因在多种肿瘤中因启动子甲基化而沉默，其表达下调与肿瘤细胞的增殖、侵袭等恶性生物学行为密切相关，被认为是一种抑癌基因[4]。Narayan 等[5]发现 PCDH10 沉默的急性淋巴细胞白血病细胞对常规的化疗药物不敏感。本课题组前期研究表明，在 MM 细胞中 PCDH10 因启动子甲基化而完全沉默[6]。基于以上研究，本实验将探讨PCDH10 对表阿霉素杀伤 MM 细胞的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

人 MM 细胞株 RPMI8226 由侯健教授（上海第二军医大学长征医院血液科）惠赠。pcDNA3.1(+)PCDH10 和 pcDNA3.1(+)质粒由陶谦教授（香港中文大学）惠赠。RPMI1640、胎牛血清（Gibco 公司，美国），二甲基亚砜（DMSO, Sigma 公司），SDF-1α（Sigma 公司），质粒 DNA 提取试剂盒（Omega 公司，美国），Lipofectamine2000 脂质体转染试剂（Invitrogen 公司，美国），DNA Marker2000（天根生物公司），Trizol reagent、逆转录、PCR 试剂盒及引物合成（TaKaRa 公司）。CCK-8 试剂盒（七海生物），表阿霉素（辉瑞制药）。Boyden 小室（Milliproe 公司，美国）。抗 PCDH10 抗体（Santa Cruz 公司），Matrigel 胶、抗 RhoA 抗体和 PE 标记 CXCR4 流式抗体购自美国 Becton Dickinson 公司。抗 MMP-9 抗体（Abcam 公司），抗 β-actin 抗体及 HRP 标记的羊抗鼠、兔 IgG 二抗（Cell Signaling Technology 公司）。CO_2 培养箱，倒置显微镜，核酸定量仪，全波长酶标仪，流式细胞仪。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 细胞培养、基因转染及筛选

RPMI8226 细胞于含 10%胎牛血清（Gibico 公司，美国）的 RPMI1640 培养基中，在 37 ℃、5%的 CO_2、饱和湿度条件下培养传代。取对数生长期的细胞，采用脂质体法将重组质粒 pcDNA3.1(+)PCDH10 以及 pcDNA3.1(+)空质粒稳定转

染入 RPMI8226 细胞，并筛选出稳定转染细胞。具体方法见参考文献[4]。

1.3 RT-PCR 检测转染后 PCDH10 基因的表达

Trizol 法提取未转染、空质粒转染和 PCDH10 转染组细胞总 RNA，按逆转录试剂盒（TaKaRa 公司）说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。PCR 总反应体系为 12.5 μl，反应条件及引物序列见参考文献[4]。

1.4 CCK-8 法检测表阿霉素对 RPMI8226 细胞的增殖抑制作用

取对数期未转染组、空质粒转染、PCDH10 转染组细胞接种于 96 孔培养板中，每孔 1×10^4 个细胞。各组细胞分别加入终浓度为 0、0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 μg/ml 的表阿霉素，各浓度设置 3 个复孔。培养 24 h 后，每孔加 CCK-8 10 μl，继续培养 4~6 h 后，以 450 nm 双波长测定吸光度（absorbance，A）值，计算增殖抑制率（inhibition rate，IR）。绘制细胞增殖抑制曲线，得出半数抑制浓度（half-maximal inhibitory concentration，IC_{50}）值。后续实验所用表阿霉素浓度均为 PCDH10 转染组 IC_{50}。$IR(\%)=(1-A_{实验组}值/A_{对照组}值)\times\%$。

1.5 Transwell 实验

用无血清 RPMI 1640 培养基按 5:1 比例稀释 Matrige 胶，将其均匀包被在 Boyden 小室底部，每个小室约需 40 μl，超净工作台内紫外灯照过夜。将包被好的 Transwell Boyden 小室嵌入 24 孔培养板孔内，向小室内加入浓度为 1×10^5 个/ml 的细胞悬液 400 μl，在小室外加入 600 μl 含 SDF-1α 的新鲜 RPMI1640 培养基。

1.5.1 迁移现象最佳观察时间点的选择 实验设对照组、表阿霉素组。孵箱内常规孵育，分别在 2、6 h 和 12 h 取出 24 孔板，400 倍显微镜下分别计数迁移到小室外细胞数目，每个小室取 5 个视野，以确定该迁移侵袭现象的最佳观察时间点。后续表阿霉素作用时间均为此时间。

1.5.2 表阿霉素及 PCDH10 基因对 RPMI8226 细胞迁移的影响 实验设空质粒转染组、空质粒转染+表阿霉素组、PCDH10 转染组、PCDH10 转染+表阿霉素组。孵育最佳时间取出 24 孔板，400 倍显微镜下计数迁移到小室外细胞数目，每个小室取 5 个视野。

1.6 流式细胞术检测细胞膜表面 CXCR4 的表达

表阿霉素作用后，收集各实验组细胞 4×10^6 个，每个实验组分别分成 2 管，一管加 10 μl PE 标记的抗 CXCR4 单克隆抗体，另一管加同型对照 mouse lgG2a PE，室温避光孵育 45 min 后进行流式细胞检测。

1.7 Western blot 方法检测 PCDH10、MMP-9 和 RhoA 蛋白表达情况

用蛋白提取试剂（碧云天公司）提取各组细胞总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，沸水浴 5 min 后，取 60 μg 蛋白上样。按上述 Western blot 方法，将蛋白转至 PVDF 膜上。5%脱脂牛奶室温封闭 1 h 后，一抗抗 PCDH10、RhoA、MMP-9 抗体以 1:200 稀释，内参 β-actin 1:2 000 稀释，4 ℃孵育过夜。次日用 TBST 洗膜，HRP 酶标山羊抗鼠、兔二抗 1:2 000 稀释，分别 37 ℃孵育 1 h 后，ECL 化学发光试剂（碧云天公司）显色，暗室曝光显影。用 Fusion 图象分析软件进行分析。

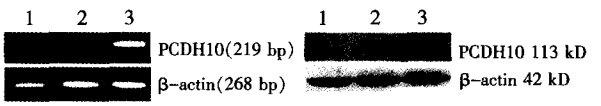
1.8 统计学方法

所有实验均重复至少 3 次，采用 SPSS 19.0 软件进行分析，正态分布计量资料数据以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。IC_{50} 数据采用单因素方差分析，同时进行两两比较；不同时间 Transwell 数据采用重复测量设计方差分析；4 组间 Transwell 数据、CXCR4、RhoA、MMP-9 数据采用析因设计方差分析；两组间比较采用两独立样本 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 PCDH10 基因成功转染入 RPMI8226 细胞并成功表达

RT-PCR（A）和 Western blot（B）检测结果示 PCDH10 转染组 RPMI8226 细胞中 PCDH10 mRNA 和蛋白高表达，较未转染组和空质粒转染组明显增强，而各组细胞中内参 β-actin 表达恒定（图 1）。此结果表明：PCDH10 基因被成功转染入 RPMI8226 细胞中，并在细胞中稳定表达。



1. 未转染组；2. 空质粒转染组；3. PCDH10 转染组

图 1 PCDH10 基因成功转染入 RPMI8226 细胞并成功表达

Fig.1 PCDH10 expression regulated by transfection in RPMI8226 cells

2.2 PCDH10 增强表阿霉素对 RPMI8226 细胞的增殖抑制作用

3组 RPMI8226 细胞在不同浓度表阿霉素处理后，细胞增殖均受到抑制，并且呈浓度依赖性（图 2）。3 组细胞表阿霉素 IC_{50} 有统计学差异（$F=77.93$，$P=0.000$），对数据进行两两比较，PCDH10 转染组明显低于空质粒转染组（$P=0.000$）和未转染组（$P=0.000$）；空质粒转染组和未转染组差异无统计学意义（$P=0.062$）（表 1）。

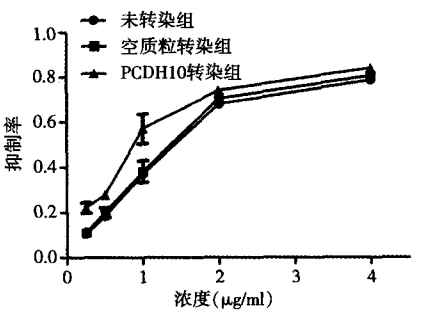


图 2 PCDH10 增强表阿霉素对 RPMI8226 细胞的增殖抑制作用

Fig.2 Inhibition effect of epirubicin on RPMI8226 cells proliferation augmented by PCDH10

表 1 PCDH10 减低表阿霉素作用于 RPMI8226 细胞的 IC_{50}

Tab.1 IC_{50} of epirubicin on RPMI8226 cells reduced by PCDH10

组别	例数	IC_{50} 水平（μg/ml）
未转染组	3	1.37 ± 0.06
空质粒转染组	3	1.27 ± 0.02
PCDH10转染组	3	0.87 ± 0.07

2.3 PCDH10 减少表阿霉素所致的 RPMI8226 细胞迁移

在 2、6 h 及 12 h 进行观察，结果表明：表阿霉素可促进 RPMI8226 细胞迁移（F=9.381，P=0.038），迁移至下室的细胞数目随着时间的延长而增加（F=63.915，P=0.000），分组与时间无交互作用（F=2.260，P=0.167），确定 6 h 为观察细胞迁移的最佳时间（表 2）。

表 2 表阿霉素作用后逃逸至下室细胞数（个）

Tab.2 Number of epirubicin-induced escape cells

时间	对照组	表阿霉素组
2 h	13.33 ± 3.51	19.33 ± 2.08
6 h	25.33 ± 6.81	41.67 ± 6.11
12 h	38.00 ± 7.81	49.00 ± 5.29

在 6 h 时观察 4 组细胞迁移情况，结果显示：表阿霉素增加 RPMI8226 细胞迁移（F=6.208，P=0.028），而 PCDH10 减少 RPMI8226 细胞迁移（F=34.943，P=0.000），二者不存在交互效应（F=4.012，P=0.068）；PCDH10 转染+表阿霉素组相比空质粒转染+表阿霉素组，下室的细胞数目明显减少（t=5.913，P=0.001）（表 3）。

表 3 PCDH10 减少表阿霉素所致的 RPMI8226 细胞迁移

Tab.3 PCDH10 inhibited epirubicin-induced escape in RPMI8226 cells

组别	例数	下室的细胞数目（个）
空质粒转染组	4	30.75 ± 6.02
空质粒转染 + 表阿霉素组	4	42.25 ± 5.85
PCDH10 转染组	4	20.75 ± 4.65
PCDH10 转染 + 表阿霉素组	4	22.00 ± 3.56

2.4 PCDH10 抑制表阿霉素处理过的 RPMI8226 细胞 CXCR4 表达

流式细胞术检测各组细胞 CXCR4 表达情况显示：表阿霉素可上调 RPMI8226 细胞 CXCR4 的表达（F=8.469，P=0.020）；PCDH10 基因对 RPMI8226 细胞 CXCR4 的表达有下调作用（F=117.269，P=0.000），二者不存在交互效应（F=3.077，P=0.117）；PCDH10 转染+表阿霉素组相比空质粒转染+表阿霉素组，CXCR4 阳性细胞比例明显下降（t=8.047，P=0.012）（表 4）。

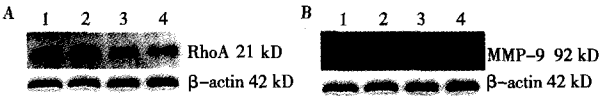
2.5 PCDH10 下调表阿霉素处理过的 RPMI8226 细胞 RhoA 和 MMP-9 蛋白表达

相对空质粒转染组，空质粒转染+表阿霉素组、PCDH10 转染组和 PCDH10 转染+表阿霉素组 RhoA 的表达率分别为 1.54 ± 0.03、0.53 ± 0.04、0.52 ± 0.04，MMP-9 的表达率分别为 1.47 ± 0.07、0.50 ± 0.07、0.50 ± 0.05。对数据分析发现，表阿霉素促进 RPMI8226 细胞 RhoA（F=229.621，P=0.000）和 MMP-9（F=54.059，P=0.000）的表达；PCDH10 基因抑制 RPMI8226 细胞 RhoA（F=1818.250，P=0.000）和 MMP-9（F=523.764，P=0.000）的表达；PCDH10 转染+表阿霉素组相比空质粒转染+表阿霉素组，RhoA（t=37.205，P=0.000）和 MMP-9（t=19.822，P=0.000）的表达明显下降（图 3）。

表 4 PCDH10 抑制表阿霉素处理过的 RPMI8226 细胞 CXCR4 表达

Tab.4 PCDH10 inhibited the expression of CXCR4 in RPMI8226 cells

组别	例数	CXCR4阳性细胞比例（%）
空质粒转染组	3	62.98 ± 7.58
空质粒转染 + 表阿霉素组	3	81.47 ± 2.20
PCDH10 转染组	3	27.00 ± 4.08
PCDH10 转染 + 表阿霉素组	3	31.58 ± 10.47



1. 空质粒转染组；2. 空质粒转染 + 表阿霉素组；
3. PCDH10 转染组；4. PCDH10 转染 + 表阿霉素组

图 3 PCDH10 下调表阿霉素处理过的 RPMI8226 细胞 RhoA 和 MMP-9蛋白表达

Fig.3 PCDH10 down-regulated the expression of RhoA and MMP-9 in RPMI8226 cells

3 讨 论

目前，单药或联合化疗仍无法解决 MM 复发问题；除了与耐药密切相关，微小残留病灶所致的复发也是一个关键因素[7]。在 MM 中，Lv 等研究发现，阿糖胞苷可促进 MM 细胞迁移，从而使 MM 细胞免于阿糖胞苷杀伤[8]。考虑到阿糖胞苷不是治疗 MM的常用药物，选用表阿霉素来进行本实验研究。首先用 Boyden 小室及 matrigel 胶等建立迁移侵袭模型，用 SDF-1α 作为诱导趋化因素，观察表阿霉素对 MM 细胞迁移的影响。结果发现，表阿霉素可增强MM 细胞迁移，这与 Lv 等的研究结果[8]一致。研究表明，肿瘤细胞中 PCDH10 基因常因启动子甲基化而沉默，PCDH10 基因再表达可抑制肿瘤的迁移、侵袭[4]，

PCDH10 沉默的急性淋巴细胞白血病细胞对常规的化疗药物不敏感[5]。本实验也证明通过 pcDNA3.1(+)PCDH10 转染可以恢复 RPMI8226 细胞中PCDH10 基因的表达，并能增加 RPMI8226 细胞对表阿霉素的化疗敏感性，同时抑制表阿霉素诱导的细胞迁移。接下来的实验中对其机制进行了探讨。

侵袭和转移是一个多步骤、多阶段、多基因参与的复杂过程[9]，近年来研究表明，SDF-1/CXCR4 轴不仅参与干细胞归巢、动员过程，而且在肿瘤迁移、侵袭方面也有着重要的作用[10-11]。此外，肿瘤细胞的自身运动能力和对细胞外基质的降解能力也是血液系统恶性肿瘤发生浸润的两个重要因素[12-13]。Rho 家族（Ras homolog gene family）作为 Ras 家族中重要成员，它参与了肿瘤发生发展的多个环节，包括调节细胞骨架、改变细胞粘附和运动能力、调控细胞外基质的降解等方面[14-15]。MMP-9 是一种重要的蛋白水解酶，其主要通过降解破坏细胞外基质成分，促使肿瘤细胞发生浸润、转移[16]。对 MM 细胞 CXCR4、RhoA、MMP-9 蛋白表达进行了检测，发现表阿霉素可上调 3 种蛋白的表达，这可能是化疗过程中肿瘤细胞快速迁移入骨髓龛躲避化疗药物杀伤的机制之一。本实验结果发现 PCDH10 可以抑制表阿霉素的这种作用，从而减少 MM 细胞逃避表阿霉素的杀伤。

综上所述，PCDH10 一方面可增强 MM 细胞对表阿霉素的敏感性，另一方面可通过抑制 CXCR4、RhoA、MMP-9 蛋白的表达来减少 MM 细胞逃避表阿霉素的杀伤，从而增强表阿霉素的抗骨髓瘤效应，这为临床上提高化疗药物的作用效率提供了理论基础。本课题组前期实验还发现 PCDH10 可通过抑制 NF-κB 通路活性促进 MM 细胞凋亡[4]；通过下调 PI3K/AKT 通路活性抑制 MM 细胞增殖、迁移和侵袭[17]。由此本课题组得出结论：PCDH10 作为 MM 中的一种抑癌基因，通过抑制多条通路的活性发挥其生物学作用，其系统的作用机制有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Matsunaga T, Takemoto N, Sato T, et al. Interaction between leukemic-cell VLA-4 and stromal fibronectin is a decisive factor for minimal residual disease of acute myelogenous leukemia[J]. Nat Med, 2003, 9(9): 1158-1165.

[2] Williams DA. A new mechanism of leukemia drug resistance?[J]. N Engl J Med, 2007, 357(1): 77-78.

[3] Kato I, Niwa A, Heike T, et al. Identification of hepatic niche harboring human acute lymphoblastic leukemic cells via the SDF-1/CXCR4 axis[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27042.

[4] Li Z, Yang Z, Peng X, et al. Nuclear factor-κB is involved in the protocadherin-10-mediated pro-apoptotic effect in multiple myeloma [J]. Mol Med Rep, 2014, 10(2): 832-838.

[5] Narayan G, Freddy AJ, Xie D, et al. Promoter methylation-mediated inactivation of Pcdh10 in acute lymphoblastic leukemia contributes to chemotherapy resistance[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2011, 50(12): 1043-1053.

[6] Li Y, Yang ZS, Song JJ, et al. Protocadherin-10 is involved in angiogenesis and methylation correlated with multiple myeloma[J]. Int J Mol Med, 2012, 29(4): 704-710.

[7] Laubach JP, Mitsiades CS, Mahindra A, et al. Management of relapsed and relapsed/refractory multiple myeloma[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2011, 9(10): 1209-1216.

[8] Lv JL, Xiao Q, Wang L, et al. Fucoidan prevents multiple myeloma cell escape from chemotherapy-induced drug cytotoxicity[J]. Fitoterapia, 2013(84): 257-263.

[9] 苏柏华，王锦锋，佘 林，等. CDH12 基因 siRNA 对涎腺腺样囊性癌细胞侵袭力的影响[J]. 重庆医科大学学报，2011(1)：11-15.

[10] Chatterjee S, Azad BB, Nimmagadda S, et al. The intricate role of CXCR4 in cancer[J]. Adv Cancer Res, 2014(124): 31-82.

[11] Beider K, Bitner H, Leiba M, et al. Multiple myeloma cells recruit tumor-supportive macrophages through the CXCR4/CXCL12 axis and promote their polarization toward the M2 phenotype[J]. Oncotarget, 2014, 5(22): 11283-11296.

[12] Ghobrial IM. Myeloma as a model for the process of metastasis: implications for therapy[J]. Blood, 2012, 120(1): 20-30.

[13] Azab AK, Hu J, Quang P, et al. Hypoxia promotes dissemination of multiple myeloma through acquisition of epithelial to mesenchymal transition-like features[J]. Blood, 2012, 119(24): 5782-5794.

[14] Struckhoff AP, Rana MK, Kher SS, et al. Pdz-rhogef is essential for Cxcr4-driven breast tumor cell motility through spatial regulation of RhoA[J]. Journal of Cell Science, 2013, 126(19): 4514-4526.

[15] Aguilar-Rojas A, Huerta-Reyes M, Maya-Núñez G, et al. Gonadotropin-releasing hormone receptor activates GTPase RhoA and inhibits cell invasion in the breast cancer cell line MDA-MB-231[J]. BMC Cancer, 2012(12): 550.

[16] Vilen S, Salo T, Sorsa T, et al. Fluctuating roles of matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma[J]. Scientific World Journal, 2013(2013): 920595.

[17] 彭 曦，陈建斌，李 珍，等. PCDH10 基因在多发性骨髓瘤细胞中的作用[J]. 第三军医大学学报，2014，36(20)：2093-2097.

（责任编辑：冉明会）