

• 临床检验研究 •

多发性骨髓瘤患者转化生长因子- β_1 及 IL-6 的观察陈浩全¹, 曾嫚妮²

(1. 广西省玉林市骨科医院检验科 537000; 2. 广西省玉林市第一人民医院检验科 537000)

摘要:目的 研究多发性骨髓瘤患者(MM)血清中转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)及白细胞介素 6(IL-6)的含量与临床分期及预后的关系。方法 用双抗体夹心 ELISA 方法,分别检测 65 例多发性骨髓瘤患者及 65 例对照组血浆中 TGF- β_1 及 IL-6 含量,并观察其与 MM 的临床分期、肿瘤量分级的关系,及对病情预后判断的意义。结果 MM 患者血清中的 TGF- β_1 及 IL-6 含量较对照组均明显升高($P < 0.01$)。I 期、II 期 MM 患者的血清 TGF- β_1 及 IL-6 明显低于 III 期患者($P < 0.01$), I 期、II 期患者的血清 TGF- β_1 及 IL-6 含量差异有统计学意义($P < 0.01$);随着临床分期增加含量呈递增趋势。TGF- β_1 及 IL-6 水平在临床参数 Hb、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)异常组高于对照组($P < 0.05$)。结论 TGF- β_1 及骨髓基质细胞分泌的 IL-6 可能与 MM 的疾病进程有关,其水平升高是 MM 的预后不良的因素。

关键词:多发性骨髓瘤; 转化生长因子 β_1 ; 白细胞介素-6

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)20-2351-02

Observation of transforming growth factor- β_1 and IL-6 in patients with multiple myelomaChen Haoquan¹, Zeng Manni²

(1. Department of Laboratory Medicine, Yulin City Orthopaedics Hospital, Guangxi 537000, China;

2. Department of Laboratory Medicine, the First People's Hospital of Yulin, Guangxi 537000, China)

Abstract: Objective To study the relationship of serum transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and IL-6 levels with clinical stage and prognosis in patients with multiple myeloma(MM). **Methods** TGF- β_1 and IL-6 levels of 65 patients with multiple myeloma and control group were detected by double-antibody sandwich ELISA method, meanwhile these were observed with MM clinical stage, tumor volume between classification and prognosis of the disease determine the prediction. **Results** MM patients with serum TGF- β_1 and IL-6 levels compared with the control group were significantly higher ($P < 0.01$). The serum of MM patients in I, II phases with TGF- β_1 and IL-6 was significantly lower than patients in III phase($P < 0.01$), serum TGF- β_1 and IL-6 levels were also found significant differences between I and II phases ($P < 0.01$); with the clinical stage increased gradually as the content increasing. TGF- β_1 and IL-6 levels in the clinical parameters of Hb, β_2 -MG abnormal group were higher than the control group($P < 0.05$). **Conclusion** TGF- β_1 and IL-6 in bone marrow stromal cells may be related to the process with the MM, and its levels are poor prognostic factors of MM.

Key words: multiple myeloma; transforming growth factor beta1; interleukin-6

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是以恶性浆细胞在骨髓中克隆性增生为特点的 B 细胞性肿瘤。有学者认为骨髓基质细胞旁分泌及自分泌的 IL-6 是 MM 瘤细胞生长和存活的关键因子^[1],同时近年来研究表明骨髓微血管密度与恶性浆细胞的增生程度密切相关,恶性 B 细胞自分泌产生 B 细胞活化因子(BAFF),在 MM 发病过程中起重要作用^[2],骨髓瘤细胞的生长是肿瘤环境中的生长因子、黏附分子和其他一些细胞因子共同作用的结果^[3],从无痛向疾病暴发的恶性转化,恶性浆细胞的增生极度活跃^[4-6],是一个由 B 细胞系内多个遗传事件的累积所引起的逐步发生的过程^[7]。本研究检测 46 例 MM 患者的转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)及白细胞介素 6(IL-6)水平,分析两者间关系及在 MM 疾病进程中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 65 例 MM 患者均为本院就诊患者,其中男 45 例,女 20 例,平均年龄(56.3±10.9)岁,均排除其他肿瘤的可能。MM 由本实验室常规 M 蛋白鉴定结合临床资料、病理检查明确诊断,并分为 IgG(45 例)、IgA(7 例)、IgM(5 例)、IgD(2 例)、轻链(6 例)。临床分期: I_A 期 17 例, II_A 期 18 例, II_B 期 5 例, III_A 期 18 例, III_B 期 7 例。结合血 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)、Hb 水平的 Alexanian-Dimopoulos 肿瘤量分级标准^[8]: 高肿瘤量 32 例,中肿瘤量 17 例,低肿瘤量 16 例。65 例对照

组均为本市献血中心献血员,其中男 33 例,女 32 例,平均年龄(39.5±10.0)岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 分别抽取 MM 患者和正常献血者全血 5 mL,3 003 g 离心 10 min,分离血浆用于 TGF- β_1 和 IL-6 浓度测定。同时,送相关生化检查,包括血常规、肝肾功能、血钙、免疫球蛋白及血 β_2 -MG。

1.2.2 实验试剂与器材 BIO-RAD680 型酶标仪, TGF- β_1 及 IL-6 检测试剂盒购自晶美生物公司。

1.2.3 检测方法 TGF- β_1 及 IL-6 均采用 ELISA 法进行检测,操作步骤严格按试剂说明书进行。具体为:将抗人 TGF- β_1 及 IL-6 单抗分别包被于酶标板上,加入标本、标准品和生物素化的检测抗体,两抗体与标准品、标本中 TGF- β_1 及 IL-6 形成“抗体-TGF- β_1 -抗体”或“抗体-IL-6-抗体”复合物。再加入辣根过氧化物酶标记的亲合素,生物素与亲合素特异性结合,加入显色剂与终止液,用全自动酶标仪在 450 nm 波长处测吸光度(A)值,通过绘制标准曲线,计算出 TGF- β_1 及 IL-6 浓度。

1.3 统计学处理 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较用 t 检验,不同组别之间经方差分析后两两比较亦采用 t 检验。所有数据均用 GraphPad Prism 软件分析进行处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MM 患者组与对照组血清 TGF-β₁、IL-6 含量比较 MM 患者血清中的 TGF-β₁ 及 IL-6 含量较对照组均明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 MM 组与对照组的血清 TGF-β₁ 及 IL-6 含量比较

组别	n	TGF-β ₁ (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
对照组	65	7.18 ± 5.26	35.26 ± 12.36
MM 组	65	17.32 ± 10.26	156.32 ± 61.25

2.2 MM 不同临床分期 TGF-β₁ 和 IL-6 含量比较 根据 MM 临床分期标准对 MM 患者进行临床分期, 不同临床分期的 MM 患者血清 TGF-β₁ 含量存在差异。Ⅲ期患者血清 TGF-β₁ 含量均值高达 25.32 ng/mL, 显著高于 I 期、II 期 MM 患者的血清 TGF-β₁ 含量 ($P < 0.01$); 同时 II 期患者血清 TGF-β₁ 含量亦比 I 期患者高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。随着临床分期增加, MM 患者血清 IL-6 含量增加, 各期比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 2 MM 不同临床分期组 TGF-β₁ 和 IL-6 含量比较

临床分期	n	TGF-β ₁ (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
I 期	17	13.32 ± 4.25	127.36 ± 45.36
II 期	23	18.12 ± 5.13	150.35 ± 41.58
III 期	25	30.35 ± 6.32	249.14 ± 68.29

2.3 MM 不同肿瘤量分级 TGF-β₁ 和 IL-6 含量比较 处于不同肿瘤量分级患者血清 TGF-β₁ 和 IL-6 含量差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 肿瘤量高的患者体内 TGF-β₁ 和 IL-6 含量高于低肿瘤量患者 ($P < 0.01$)。不同肿瘤量分级患者血清 TGF-β₁ 和 IL-6 含量的变化与其疾病分期基本一致, 见表 3。

表 3 MM 不同肿瘤量分级 TGF-β₁ 和 IL-6 含量比较

肿瘤量分级	n	TGF-β ₁ (ng/mL)	IL-6 (pg/mL)
低肿瘤量	16	12.65 ± 3.65	128.35 ± 42.65
中肿瘤量	20	19.35 ± 5.36	152.34 ± 42.17
高肿瘤量	29	31.58 ± 6.58	250.36 ± 68.14

3 讨 论

TGF-β₁ 由多种细胞如外周血单个核细胞、造血细胞、内皮细胞等产生和分泌, 对免疫反应具有抑制作用, 对 B 淋巴细胞的增殖、分化、成熟以及凋亡具有重要的调节作用。TGF-β₁ 对静息 B 细胞增殖可以起到明显的抑制作用, 但对活化的 B 细胞则丧失这种抑制作用, 而且这种状态的细胞反过来可以分泌高浓度的 TGF-β₁ 分子, 因此, 一些 B 细胞恶性增殖性患者的血清或细胞培养液中的 TGF-β₁ 分子显著增高^[9-10]。骨髓基质细胞旁分泌及自分泌的 IL-6 是 MM 瘤细胞生长和存活的关键因子。本研究结果显示, MM 患者血清 TGF-β₁ 和 IL-6 含量明显高于对照组, 提示 TGF-β₁ 和 IL-6 与 MM 的发生存在密切关系。在 MM 进展期 TGF-β₁ 和 IL-6 水平明显升高, 并与乳酸脱氢酶 (LDH)、β₂-MG 水平正相关, 成为 MM 的预后指标之一^[11-12]。实验结果显示, MM 患者血清中 TGF-β₁ 和 IL-6

含量变化与 MM 病程具有高度的一致性与同步性, 且与疾病的严重程度平行, 提示这两种细胞因子水平升高是 MM 的预后不良因素。TGF-β₁ 和 IL-6 与 MM 的发生、发展密切相关, 研究认为, TGF-β₁ 和 IL-6 协同 TNF 家族蛋白、Wnt 及 Notch 家族成员, 在骨髓微环境中形成围绕间充质干细胞 (BMSCs) 的一个细胞因子网络, 介导 MM 肿瘤细胞生长、生存、耐药及迁移^[13-14]。因此, 阻断这些细胞因子级联信号传导的 MM 靶位治疗具有极大的应用前景, 新的研究发现, 组蛋白去乙酰基转移酶抑制剂 ITF2357 可抑制 BMSCs 分泌 TGF-β₁ 和 IL-6, 在体内外均可促进 MM、白血病细胞凋亡。

参考文献

- [1] 王晓波, 许咏清. VEGF 对多发性骨髓瘤骨髓基质细胞分泌 IL-6 的影响[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(4): 458-460.
- [2] 袁宏香, 鞠少卿. B 淋巴细胞刺激因子及其受体与多发性骨髓瘤 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 831-833.
- [3] 李治国, 曹妍, 何丽, 等. 多发性骨髓瘤中 PTEN 蛋白及血管新生调控因子的表达及意义[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(4): 296-297.
- [4] 张济, 刘小军, 余海仁, 等. 60 例多发性骨髓瘤的形态学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(7): 671-672.
- [5] 马海梅, 孟瑞芳, 邹文蓉, 等. 208 例多发性骨髓瘤细胞形态学与血清免疫球蛋白比分析[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(5): 718-720.
- [6] 关建民, 徐华. 多发性骨髓瘤细胞形态学及临床特点分析[J]. 临床医学, 2010, 30(8): 6-7.
- [7] Hall M, Leif Bergsagel P, Aderson KC. Multiple myeloma: in-creasing evidence for a multisteps transformation process[J]. Blood, 1998, 91(1): 3-21.
- [8] 沈文怡, 陆化, 唐宇宏, 等. 多发性骨髓瘤骨髓间充质干细胞多种细胞因子的异常表达[J]. 南京医科大学学报, 2005, 25(4): 239-242.
- [9] Altiock A, DiRenzo L, Altiock E. Influence of transforming growth factor-beta on the immunoglobulin production by EBV-infected B-cell culture[J]. Immunol Lett, 1944, 43(3): 395-404.
- [10] Babcock GJ, Decker LL, Volk M, et al. EBV persistence in memory B cells in vivo[J]. Immunity, 1998, 9(3): 395-404.
- [11] Hotta K, Funshashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel adipose specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(6): 1595-1599.
- [12] Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, et al. Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population[J]. Lancet, 2002, 360(9326): 57-58.
- [13] Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, et al. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population[J]. Clin Sci, 2002(103): 137-142.
- [14] Tschritter O, Fritsche A, Thamer C, et al. Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism[J]. Diabetes, 2003, 52(2): 239-243.

(收稿日期: 2011-07-09)