

## 巨噬细胞炎症蛋白-1 在多发性骨髓瘤中的表达

王晓桃<sup>1,2</sup>, 罗绍凯<sup>2</sup>, 莫汉有<sup>1</sup>, 李娟<sup>2</sup>, 莫东华<sup>1</sup>, 周润华<sup>1</sup>

(1. 桂林医学院附院血液科, 广西 桂林 541004; 2. 中山大学附属第一医院血液科, 广东 广州 510080)

**摘要:** 【目的】探讨巨噬细胞炎症蛋白-1 (MIP-1) 在多发性骨髓瘤中的表达及临床意义。【方法】夹心酶联免疫吸附法(ELISA)定量检测实验组 43 例患者、15 例对照组, 以及随访 37 例治疗 3 疗程后骨髓血浆 MIP-1 的水平。【结果】65.1% 患者 MIP-1 水平增高, 其中实验组明显高于对照组( $t=3.569, P=0<0.01$ ), 实验组中的活动进展期患者明显高于稳定期、正常人及其他血液病患者( $P$ 均 $<0.05$ ); 骨质破坏 $>2$  处患者明显高于骨质破坏 $\leq 2$  处的患者( $t=5.56, P=0<0.01$ )。有效组经治疗 3 个疗程后 MIP-1 水平明显下降( $t=3.237, P=0<0.05$ )。MIP-1 与红细胞计数、白蛋白、 $\alpha_2$ -微球蛋白、骨损分、Durie-Salmon 分期相关( $P$ 均 $<0.05$ )。【结论】大部分多发性骨髓瘤患者骨髓 MIP-1 水平增高, MIP-1 可作为反映骨质破坏及瘤负荷的一项指标, 动态监测 MIP-1 可预测近期疗效。

关键词: 多发性骨髓瘤; 巨噬细胞炎症蛋白-1; 骨质破坏; 瘤负荷

中图分类号: R73

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)02-0152-03

## Level of MIP-1 in Marrow Plasma of Patients with Multiple Myeloma

WANG Xiao-tao, LUO Shao-kai, MO Han-you, LI Juan, MO Dong-hua, ZHOU Run-hua

(1. Department of Hematology, The Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541004, China; 2. Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】To investigate the levels of macrophage inflammatory protein (MIP)-1 $\alpha$  in the marrow plasma of the patients with multiple myeloma and the clinic significance. 【Methods】MIP-1 was quantified using ELISA assay in 43 multiple myeloma, 15 controls, and 37 post therapy of three course. 【Results】About 65.1% patients with multiple myeloma had increased levels of MIP-1. A significantly larger proportion of multiple myeloma patients had increased levels of MIP-1 compared to the control ( $t=3.569, P=0<0.01$ ), a significantly larger proportion of multiple myeloma patients with active disease had increased levels of MIP-1 compared to normal controls, other hematological diseases controls and patients with multiple myeloma with inactive disease ( $P<0.05$ ). A significantly larger proportion of multiple myeloma patients with more than 2 sites bone destruction had increased levels of MIP-1 compared to the less 2 sites bone destruction ( $t=5.56, P=0$ ). (2) The levels of MIP-1 in responded patients with multiple myeloma after 3 course of treatment was much higher than those in unresponded patients ( $t=3.237, P=0<0.05$ ). MIP-1 levels significantly correlated with red blood cell, albumin,  $\alpha_2$ -microglobulin, the presence of bone lesions and Durie-Salmon stages ( $P<0.05$ ). 【Conclusion】Most of patients with multiple myeloma had increased levels of MIP-1 in marrow plasma. The levels of MIP-1 can indicate bone disease and myeloma burden. The levels of MIP-1 quantified regularly can forecast curative efficiency.

Key words: multiple myeloma; macrophage inflammatory protein (MIP)-1 $\alpha$ ; bone lesions; myeloma burden

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(2):152-154;157]

多发性骨髓瘤是浆细胞的恶性肿瘤, 可引起骨质进行性破坏。骨质破坏主要是指骨质重吸收增加而骨质形成减少, 多数学者认为其机制是瘤细胞同基质细胞相互黏附产生的多种破骨细胞激活因子如 IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等起作用。然而

Choi 等<sup>[1]</sup>发现在部分新诊断的伴骨质破坏的早期患者瘤细胞培养上清液中 IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-6 的水平并不增高, 且在临床上用抗 IL-6、IL-1 单克隆抗体治疗多发性骨髓瘤的疗效并不显著。这表明还存在其它因子在多发性骨髓瘤的发病机制中

收稿日期: 2006-04-23

基金项目: 2001 年度广东省科技计划资助项目(092022)

作者简介: 王晓桃(1975-), 女, 湖南永州人, 医学硕士, 讲师; 罗绍凯, 教授, 博士生导师, 通讯作者。E-mail: Luoshaokai@163.com

起重要作用。近来有学者发现 MIP-1 在骨髓微环境里参与破骨细胞的征集、分化, 对多发性骨髓瘤骨病的发生起重要作用<sup>[2]</sup>。我们旨在通过检测多发性骨髓瘤患者骨髓血浆中 MIP-1 水平, 进而探讨 MIP-1 在多发骨髓瘤中的临床意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

实验组病例为 2003 年 1 月至 2004 年 3 月在中山大学附属第一医院血液科住院的据国内统一标准确诊的多发性骨髓瘤患者 43 例<sup>[3]</sup>, 男 29 例, 女 14 例, 中位年龄 53(24~73) 岁, 其中包括难治复发病例 7 例, 浆细胞白血病 1 例。活动进展期 15 例, 稳定期 28 例。免疫分型中 IgG 型 25 例, IgA 型 6 例, IgD 型 2 例, IgE 型 1 例, 轻链型 5 例, 轻链型 4 例。骨髓中各期浆细胞占 0.07~0.84。2-微球蛋白(5 273.5 ± 725.4) μg/L。多发性骨髓瘤骨病分级参考文献<sup>[4]</sup>报道, 骨质破坏以 X 线为标准, 其中 1 级 6 例 (14%), 2 级 15 例 (35%), 3 级 22 例 (51%)。随访 37 例于化疗 3 疗程后复查相关指标, 据国内统一标准判断疗效<sup>[3]</sup>。有效组 30 例 (部分缓解 11 例, 进步 19 例), 无效组 7 例。15 例对照组中男 9 例, 女 6 例, 中位年龄 49(17~56) 岁, 其中正常健康人 6 名, 特发性血小板减少性紫癜 6 例, 急性粒-单核细胞白血病 3 例。

实验抽取研究对象骨髓 2 mL, 肝素抗凝, 常规离心取上清。

### 1.2 检测方法

用 ELISA 定量检测方法, 步骤严格按照 MIP-1 ELISA 试剂盒 (购自 ENDOGEN 公司) 的说明书进行。

### 1.3 统计学分析

数据均用 SPSS11.0 统计软件包处理。参数检验的计量资料以均数 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两均数比较用 t 检验; 变量之间的关系用线性相关、多重线性回归分析, 性别的比较用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 病人基线资料

实验组及对照组在年龄 ( $t=1.546$ ,  $P=0.053$ ) 及性别 ( $\chi^2=2.31$ ,  $P=0.067$ ) 上的差别无统计学意义。

### 2.2 实验组和对照组 MIP-1 水平

MIP-1 水平高于正常值上限 +2s 为显著增高, 实验组 MIP-1 水平 (113.2 ± 40.5) pg/mL, 28 例增高, 占 65.1%, 对照组 MIP-1 水平 (43.3 ± 11.2) pg/mL, 6 名健康正常人无 1 例增高, 9 例血液系统其它疾病中有 3 例 (20%) 增高, 均为急性粒-单核细胞白血病患者。实验组明显高于对照组 ( $t=3.569$ ,  $P=0 < 0.01$ )。实验组中处于活动进展期患者 (223.7 ± 87.8) pg/mL 明显高于稳定期 (99.8 ± 46.4) pg/mL、正常人 (37.5 ± 9.7) pg/mL、其它血液病 (51.9 ± 12.8) pg/mL ( $t$  分别为 3.42, 7.56, 6.04;  $P$  值分别为 0.002, 0, 0)。

### 2.3 骨髓 MIP-1 水平与骨病间的关系

实验组中, 骨质破坏 2 处的患者 17 例, MIP-1 水平为 (67.5 ± 55.9) pg/mL; 骨质破坏 >2 处的患者 26 例, MIP-1 水平为 (216.3 ± 21.6) pg/mL; 差异有统计学意义 ( $t=5.56$ ,  $P=0 < 0.01$ )。

### 2.4 治疗前后 MIP-1 水平

有效组化疗前 MIP-1 水平 (209.2 ± 86.4) pg/mL, 化疗 3 疗程后 MIP-1 水平 (134.4 ± 54.6) pg/mL, 除 3 例轻微升高外, 其余 27 例均有不同程度的下降, 下降幅度在 (9.6~137.9) pg/mL, 差异有统计学意义 ( $t=3.237$ ,  $P=0 < 0.05$ )。无效组化疗前 MIP-1 水平 (274.6 ± 94.6) pg/mL, 化疗 3 疗程后 MIP-1 水平 (228.6 ± 74.5) pg/mL, 其中有 4 例下降, 下降幅度在 4.6~62.37 pg/mL, 其余 2 例有轻度上升, 差异无统计学意义 ( $t=0.889$ ,  $P=0.209 > 0.05$ )。

### 2.5 MIP-1 水平与实验室指标及临床特征的关系

骨髓血浆 MIP-1 水平与患者性别、年龄、白细胞计数、红细胞计数、乳酸脱氢酶、2-微球蛋白、白蛋白、血沉、血钙、碱性磷酸酶、骨损分、Durie-Salmon 分期及疗效分别做相关分析、多重线性回归分析。结果表明 MIP-1 水平与红细胞计数、2-微球蛋白、白蛋白、骨损分、Durie-Salmon 分期相关 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。多元直线回归分析只有红细胞计数、2-微球蛋白、白蛋白、骨损分进入回归模型, 该模型的  $R^2$  为 0.69,  $F$  为 32.42,  $SE$  为 68.91。其方程式为  $Y=337.26 - 4.98$  (白蛋白) + 46.2(2-微球蛋白) - 0.017(红细胞计数) + 85.03(骨损分)。

表 1 多发性骨髓瘤患者骨髓血浆 MIP-1 水平与其血清学指标的关系

Tble 1 Relation between marrow plasma MIP-1 level of the patients with multiple myeloma and serum parameters

Item	Relation		Multiple linear regression		
	r	p	t	p	
Red blood cell	-0.531	0	-2.288	0.01	-0.357
2- microglobulin	0.58	0.001	3.457	0.001	0.464
Albumin	-0.425	0.012	-3.146	0.006	-0.393
Bone lesions	0.537	0.003	4.143	0.003	0.541
Durie- Salmon stage	0.552	0.004			
Curative efficiency	0.298	0.073			

### 3 讨 论

MIP-1 既是一种趋化因子,也是一种破骨细胞激活因子。我们发现约 65% 多发性骨髓瘤患者骨髓 MIP-1 水平增高,这与其他学者报道基本一致<sup>[1,5]</sup>。其中处于活动进展期患者的 MIP-1 明显高于正常人、其它血液病及稳定期患者,增高的程度与疾病的活动度相关。同时 MIP-1 增高的程度与骨质破坏的程度呈正相关,3 级患者明显高于 1、2 级患者,说明骨质破坏越严重骨髓 MIP-1 水平越高,与其他报道一致<sup>[6-8]</sup>。其原因可能是骨质破坏越严重,局限区域里破骨细胞激活因子越多,破骨细胞激活因子可能通过旁分泌途径刺激瘤细胞增殖,从而促进多发性骨髓瘤细胞分泌的 MIP-1 增多。MIP-1 诱导骨质破坏的机制可能是与破骨细胞表达的 CCR1、CCR5 受体结合后作用于破骨细胞分化的最后一阶段,增强破骨细胞的活性,导致溶骨性的破坏<sup>[7,10]</sup>。

随访 37 例患者,有效治疗可使多发性骨髓瘤患者 MIP-1 水平下降,其原因可能有:有效治疗杀灭部分多发性骨髓瘤细胞,由多发性骨髓瘤细胞分泌的 MIP-1 减少;多发性骨髓瘤细胞减少,MIP-1 水平下降,阻断由 MIP-1 促进多发性骨髓瘤进展的自分泌和旁分泌途径。动态监测骨髓 MIP-1 可反映近期疗效。治疗前 MIP-1 水平与近期疗效不相关,说明治疗前 MIP-1 水平不能反映近期疗效。

骨髓 MIP-1 水平与红细胞计数呈负相关,这与 Moller 等<sup>[9]</sup>学者报道相一致,其机制是因为骨髓 CD34<sup>+</sup>红系祖细胞表达 CCR1 受体,MIP-1 与 CCR1 受体结合后抑制红系形成<sup>[9]</sup>。MIP-1 水平与白蛋白呈负相关,白蛋白作为负性急性期蛋白,

其血清浓度与骨髓瘤细胞生长因子白介素-6 的活性、患者的体能状态呈负相关。而多发性骨髓瘤骨病是影响病人体能状态的主要因素,进一步验证 MIP-1 与骨病相关。血 2-微球蛋白主要是由 B 细胞系、单核细胞系等表达,在多发性骨髓瘤时 2-微球蛋白大量合成并进入血液循环,能较好地反映体内瘤负荷;DS 分期系统是最常用的分期系统,该系统侧重评估患者的总体瘤负荷。MIP-1 与 2-微球蛋白、Durie-Salmon 分期相关,从而可推测 MIP-1 能反映体内瘤负荷,但多元直线回归分析发现 Durie-Salmon 分期末进入回归模型。

大部分多发性骨髓瘤患者骨髓 MIP-1 水平增高,MIP-1 在多发性骨髓瘤发病机制中可能起重要作用,这值得进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] HASHIMOTO T, ABE M, OSHIMA T, et al. Ability of myeloma cells to secrete macrophage inflammatory protein (MIP)-1 alpha and MIP-1 beta correlates with lytic bone lesions in patients with multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2004, 125(1):38-41.
- [2] LENTZSCH S, GRIES M, JANZ M, et al. macrophage inflammatory protein -1 triggers migration and signaling cascades mediating survival and proliferation in multiple myeloma cells[J]. Blood, 2003, 101(9):3568-3573.
- [3] 张之南,沈 悌.血液病诊断及疗效标准[M].2 版.北京:科学出版社,1998:373-379.
- [4] MICHAEL G. ALEXANDRAKIS A, FREDA H, et al. Evaluation of bone disease in multiple myeloma: a correlation between biochemical markers of bone metabolism and other clinical parameters in untreated multiple myeloma patients [J]. Clin Chim Acta, 2002, 325(1-2): 51-57.

(下转第 158 页 to page 158)

从而促进血管生长,因此不能否认 VEGF 在内膜异位种植过程中的作用。有关在早期子宫内膜种植时 VEGF 升高的时间目前也有争议, Kressin P<sup>[10]</sup>应用正常妇女的子宫内膜放置在鸡绒毛膜上作体外 EMs 模型观察,发现在体外培养中 24h 明显升高 10 倍,并且持续 72h。而 Nisolle<sup>[11]</sup>则发现在将正常妇女的子宫内膜种植在裸鼠腹腔后,于种植第 1、3、5 d 并未见到腺上皮内 VEGF 蛋白含量增多,至第 5d 才在基质发现其含量升高。因此在异位种植的内膜中 VEGF 的升高的时间以及除缺氧诱导与雌激素调控外是否存在 Grb10 的作用机制仍需进一步实验证实。

#### 参考文献:

- [1] 王宁宁,姚书忠,庄广伦,等.裸鼠人子宫内膜异位症模型建立与病灶血管形成相关检测 [J]. 中山大学学报:医学科学版,2004,25(3 增刊):43-45.
- [2] 王宁宁,庄广伦,黄建昭,等.卵巢子宫内膜异位症微血管密度及血管内皮生长因子表达 [J]. 中山大学学报:医学科学版,2004,25(3):264-267.
- [3] LIPSHUTZ R J, FODOR S P, GINGERAS T R, et al. High density synthetic oligonucleotide arrays [J]. Nat Genet, 1999, 21(1 Suppl):20-24.
- [4] EYSTER K M, BOLES A L, BRANNIAN J D, et al. DNA microarray analysis of gene expression markers of endometriosis[J].Fertil Steril. 2002,77(1):38-42.
- [5] MATSUZAKI S,CANIS M, POULY J L, et al. Differential expression of genes in eutopic and ectopic endometrium from patients with ovarian endometriosis [J]. Fertil steril, 2006, 86(3):548-553.
- [6] MATSUZAKI S, CANIS M, VAURS-BARRIERE C, et al. DNA microarray analysis of gene expression in eutopic endometrium from patients with deep endometriosis using laser capture microdissection [J]. Fertil steril, 2005, 84 Suppl 2:1180-9110.
- [7] MATSUZAKI S, CANIS M, VAURS-BARRIERE C, et al. DNA microarray analysis of gene expression profiles in deep endometriosis using laser capture microdissection [J]. Molecular Human Reproduction, 2004,10(10):719-728.
- [8] GIORGETTI-PERALDI S, MURDACA J, MAS J C, et al. The adapter protein, Grb10, is a positive regulator of vascular endothelial growth factor signaling [J]. Oncogene, 2001,20(30):3959-3968.
- [9] Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptor [J]. Biochemical Society Transaction,2003,31(1):20-24.
- [10] KRESSIN P, WOLBER E M, WODRICH H, et al. Vascular endothelial growth factor mRNA in eutopic and ectopic endometrium[J]. Fertil Steril, 2001,76(6):1220-1224.
- [11] NISOLLE M, CASANAS-ROUX F, DONNEZ J. Early-stage endometriosis: adhesion and growth of human menstrual endometrium in nude mice [J]. Fertil Steril, 2000,74(2):306-312.

(编辑 张恩健)

(上接第 154 页 from page 154)

- [5] OYAJOB I B O,FRANCHIN G,WILLIAS P J,et al. Dual effects of macrophage inflammatory protein-1alpha on osteolysis and tumor burden in the murine 5TGM1 model of myeloma bone disease[J].Blood, 2003, 102(1):311-319.
- [6] ABE M, HIURA K, WILDE J, et al. Role for macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma[J]. Blood,2002,100(6):2195-2202.
- [7] UNEDA S, HATA H, MATSUNO F,et al. Macrophage inflammatory protein-1 alpha is produced by human multiple myeloma (MM) cells and its expression correlates with bone lesions in patients with MM[J].Br J Haematol, 2003, 120(1):53-55.
- [8] TERPOS E,POLITOU M,VINIYOU N,et al. Significance of macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha) in multiple myeloma[J]. Leuk Lymphoma, 2005, 46(12):1699-1707.
- [9] MOLLER C, STROMBERG T, JUREMAM M, et al. Expression and function of chemokine receptors in human multiple myeloma[J].Leuke,2003,17(1):203-210.
- [10] OBA Y, LEE J W, EHRLICH L A, et al. MIP-1alpha utilizes both CCR1 and CCR5 to induce osteoclast formation and increase adhesion of myeloma cells to marrow stromal cells[J]. Exp Hematol, 2005,33(3):272-278.

(编辑 黄小延)