

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.06.012

探讨 suPAR 与 IL-27 对多发性骨髓瘤总体生存时间的预测效能*

黄艳平,黄锦雄,杨飞燕,韦 夙

(柳州市人民医院血液科,广西柳州 545006)

[摘要] **目的** 探讨可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体(suPAR)与白细胞介素 27(IL-27)对多发性骨髓瘤(MM)总体生存时间(OS)的预测效能。**方法** 通过 ELISA 法检测 41 例初治 MM 患者(观察组)和 40 例健康体检者(对照组)血浆 suPAR 及 IL-27 的表达,并进行比较;随访 MM 患者的 OS,分析 suPAR 及 IL-27 与 OS 的关系。**结果** 观察组 suPAR、IL-27 水平为(23.30±5.25)ng/mL、(11.23±2.55)ng/L,对照组 suPAR、IL-27 水平为(14.99±4.97)ng/mL、(18.32±6.70)ng/L,两组比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。suPAR 与年龄、血红蛋白、清蛋白、血肌酐、乳酸脱氢酶、 β_2 微球蛋白均无明显相关性,而 IL-27 只与血红蛋白呈正相关($P<0.05$)。随访时间 15(7~40)个月,在 OS<15 个月组与 OS \geq 15 个月组,suPAR、IL-27 在两组中比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。suPAR<23 ng/mL 组与 \geq 23 ng/mL 组 OS 比较差异无统计学意义($P>0.05$),IL-27<11 ng/L 组与 \geq 11 ng/L 组 OS 比较差异亦无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 在初治 MM 中,suPAR 表达上升而 IL-27 表达下降,未发现二者对 OS 有预测效能。

[关键词] 多发性骨髓瘤;尿纤溶酶原激活物;受体,细胞表面;白细胞介素 27;总体生存时间

[中图分类号] R552

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)06-0760-03

Study on prediction efficiency of suPAR and IL-27 to overall survival time in multiple myeloma*

Huang Yanping, Huang Jinxiong, Yang Feiyan, Wei Su

(Department of Hematology, Liuzhou Municipal People's Hospital, Liuzhou, Guangxi 545006, China)

[Abstract] **Objective** To explore the prediction efficiency of serum urokinase plasminogen activation receptor(suPAR) and interleukin-27(IL-27) to the overall survival(OS) time in the patients with multiple myeloma(MM). **Methods** The ELISA method was adopted to detect the plasma suPAR and IL-27 expressions in 41 newly diagnosed patients with MM(observation group) and 40 persons undergoing the physical examination. The detection results were compared between the two groups. OS of MM patients were followed up and its relation with suPAR and IL-27 was analyzed. **Results** The levels of suPAR and IL-27 in the observation group were (23.30±5.25)ng/mL and (11.23±2.55)ng/L, which in the control group were(14.99±4.97)ng/mL and (18.32±6.70)ng/L respectively, there were statistically significant differences between the two groups ($P<0.05$). suPAR had no significant correlation with age, hemoglobin, albumin, serum creatinine, lactate dehydrogenase and β_2 microglobulin(β_2 -MG), while IL-27 had only positive correlation with hemoglobin($P<0.05$). The follow-up time was 15(7~40) months, the levels of suPAR and IL-27 had no statistical difference between the OS<15 months group and the OS \geq 15 months group ($P>0.05$). OS had no statistical difference between the suPAR<23 ng/mL group and the suPAR \geq 23 ng/mL group, so did OS between the IL-27<11ng/L group and the IL-27 \geq 11ng/L group($P>0.05$). **Conclusion** The suPAR expression is elevated and the IL-27 expression is decreased in the newly diagnosed MM patients, their prediction efficiency to OS is not found.

[Key words] multiple myeloma; urinary plasminogen activator; receptors, cell surface; interleukin-27; overall survival

可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体(serum urokinase plasminogen activation receptor, suPAR)是尿激酶型纤溶酶原激活物受体(urokinase plasminogen activation receptor, uPAR)的可溶形式^[1],白细胞介素 27(interleukin-27)是一种新的 IL-6/IL-12 细胞因子家族成员^[2],二者抗肿瘤作用逐渐受到关注,本实验通过检测初治多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者 suPAR 及 IL-27 的表达,探讨二者对 MM 患者总体生存时间(overall survival, OS)的预测效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 3 月至 2014 年 3 月本院初治的 MM 患者共 41 例(观察组),其中男 23 例,女 18 例;年龄 37~

79 岁,中位 62 岁。MM 患者中 I 期 3 例、II 期 20 例、III 期 18 例;IgG 型 20 例、IgA 型 13 例、轻链型 5 例、未分泌型 3 例。合并高血压者 18 例、糖尿病的 6 例、冠心病者 10 例、乙型肝炎病毒携带者 2 例、陈旧性脑梗死 7 例(包括腔隙性脑梗死)、肾功能不全 13 例。入组标准:(1)MM 患者的诊断的疗效评定均符合 2011 年 MM 诊治指南^[3];(2)确诊后应用 MP(美法仑+醋酸泼尼松)、M2(美法仑+醋酸泼尼松+环磷酰胺+司莫司汀+长春新碱)、VAD(长春新碱+多柔比星+地塞米松)、BD(利妥昔单抗+地塞米松)联合沙利度胺,或使用来那度胺联合地塞米松治疗,并配合改善骨质疏松等辅助支持治疗;(3)患者均规律化疗 4 个疗程以上,排除化疗期间出现严重感染而导致不

* 基金项目:广西壮族自治区卫生厅科研资助项目(Z-2012578)。 诊治研究。

作者简介:黄艳平(1982-),主治医师,硕士研究生,主要从事血液病的

能按时化疗者；(4)患者入院时均完善肺部 CT 检查，在无肺部、肠道等其他部位感染情况下采血；(5)MM 中合并高血压、糖尿病的患者，血压、血糖均稳定在正常范围。排除标准：采血时无严重感染及合并自身免疫性疾病的患者，无孕产妇。另选同期来本院健康体检者 40 例(对照组)，其中男 24 例，女 16 例；年龄 44~72 岁，中位 60 岁。

1.2 方法 清晨采集初治 MM 患者化疗前空腹静脉全血及体检者的空腹静脉全血，用柠檬酸抗凝管，于 2 h 内离心，4 000 r/min 离心 5min，分离血浆，分装后至 -80 ℃ 低温冰箱保存，应用 ELISA 检测血浆 suPAR 及 IL-27 的水平，ELISA 试剂盒购自上海劲马生物有限公司。按照试剂盒中说明书的步骤进行操作：在待测样本孔中加入样品稀释液 40 μL 及待测样品 10 μL，在 37 ℃ 温育 30 min，重复洗涤 5 次，加入酶标试剂 50 μL，再次温育洗涤，加入显色剂，避光显色 10 min，加入终止液，用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度(A)值，建立标准曲线，根据标准曲线计算样本 suPAR、IL-27 水平。根据 OS 情况将 MM 患者分为 OS<15 个月与 OS≥15 个月组，根据 suPAR 水平将 MM 患者分为 suPAR<23 ng/mL 及 suPAR≥23 ng/mL 组，根据 IL-27 水平将 MM 患者分为 IL-27<11 ng/L 与 IL-27≥11 ng/L 组。比较各组对象 suPAR、IL-27 水平。

1.3 统计学处理 所得数据采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用独立样本 *t* 检验，组间相关性采用 Spearman 相关分析，生存分析采用 Kaplan-Meier 法，以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 观察组与对照组 suPAR、IL-27 水平比较 观察组 suPAR、IL-27 水平为 (23.30±5.25)ng/mL、(11.23±2.55)ng/L，对照组 suPAR、IL-27 水平为 (14.99±4.97)ng/mL、(18.32±6.70)ng/L，二者比较差异均有统计学意义 (*t*=0.825, *P*=0.032; *t*=25.87, *P*=0.000)。

2.2 MM 患者 suPAR、IL-27 水平与各临床特征的相关性 在治疗前，suPAR 与患者年龄、血红蛋白、清蛋白、血肌酐、乳酸脱氢酶及 β2 微球蛋白均无相关性 (*P*>0.05)。而 IL-27 只与血红蛋白呈正相关 (*P*<0.05)，见表 1。

表 1 MM 患者 suPAR、IL-27 水平与各临床特征的相关性

项目	suPAR(ng/mL)		IL-27(ng/L)	
	<i>r_s</i>	<i>P</i>	<i>r_s</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	0.034	0.831	0.009	0.956
血红蛋白(g/L)	-0.245	0.123	0.316	0.044
清蛋白(g/L)	-0.047	0.772	-0.222	0.163
血肌酐(μmol/L)	0.024	0.880	0.010	0.950
乳酸脱氢酶(U/L)	0.213	0.182	0.235	0.139
β2 微球蛋白(mg/L)	0.078	0.627	-0.036	0.824

2.3 OS<15 个月与 OS≥15 个月患者 suPAR、IL-27 水平比较 病例随访至 2015 年 3 月 31 日，随访时间 7~40 个月，中位随访时间 15 个月，死亡 17 例，存活 24 例，总生存率 58.54%。suPAR 在 OS<15 个月组为 (22.60±4.18)ng/mL；OS≥15 个月组为 (24.68±5.90)ng/mL，两者比较差异无统计学意义 (*t*=3.283, *P*=0.078)。IL-27 在 OS<15 个月组为

(11.17±2.84)ng/L，OS≥15 个月组为 (10.75±0.97)ng/L，两者比较差异无统计学意义 (*t*=2.211, *P*=0.145)。

2.4 MM 患者不同 suPAR、IL-27 亚组的 OS 比较 在初治 MM 患者，suPAR 平均值为 23.30 ng/L，将 suPAR 分为 <23 ng/mL 及 ≥23 ng/mL 组。suPAR<23 ng/mL 组 24 例，生存时间为 (16.63±2.21)个月；≥23 ng/mL 组 17 例，生存时间为 (22.09±4.86)个月，两者比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.244$, *P*=0.621)。IL-27 的平均值为 11.12 ng/L，将 IL-27 分为 <11 ng/L 与 ≥11 ng/L 组，IL-27<11 ng/L 组 11 例，生存时间为 (13.27±2.54)个月；≥11 ng/L 组为 30 例，生存时间为 (21.74±3.35)个月，二者比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.036$, *P*=0.154)。

3 讨 论

MM 是一种浆细胞异常增生的恶性肿瘤，临床表现复杂，影响因素众多。年龄、肾功能、血红蛋白、乳酸脱氢酶、β2 微球蛋白、骨髓浆细胞浸润程度及疾病分期，疗效等均可作为 MM 预后的影响因子^[4]。尿激酶型纤溶酶原复合物 (urokinase plasminogen activation, uPA) 与 uPAR 蛋白水解系统在肿瘤的浸润及转移中发挥着重要作用^[5]。suPAR 在血液系统恶性肿瘤中明显升高，与疾病的总体生存时间有关^[6]。本研究发现，suPAR 在 MM 患者中明显升高，与对照组比较差异有统计学意义 (*P*<0.05)，和国内外相关研究一致^[6-7]。既往研究表明，suPAR 主要通过降解细胞外基质成分或活化其他的蛋白酶原而促使肿瘤细胞的扩散，suPAR 与 uPA 结合，使血浆纤维蛋白溶解酶原活化为纤维蛋白溶解酶，其进一步降解纤维蛋白，从而促进肿瘤细胞的浸润及远处转移^[1]。在 MM 中，uPA 系统还可参与肝细胞生长因子转化成活性形式，活化的肝细胞生长因子又可诱导 IL-11 的分泌，从而刺激破骨细胞的增殖，进一步参与骨髓组织的重构，影响骨髓基质的降解、浆细胞的转移与归巢^[8]。由于 suPAR 在 MM 中高表达，因此，评价其对患者远期预后有无影响则尤为重要。Rigolin 等^[9]发现在多发性骨髓瘤中，suPAR 与 sCD138、血肌酐、β2 微球蛋白、疾病分期、髓外浸润明显相关，而与 C 反应蛋白和第 13 号染色体长臂缺失无关，多因素分析显示第 13 号染色体长臂缺失与血浆 suPAR、sCD138 均可作为疾病预后的独立危险因素。国内沈杰等^[7]通过检测 40 例初治 MM 患者 suPAR，发现其与疾病分期、肾功能、C 反映蛋白、β2 微球蛋白呈正相关，生存期大于 2 年的患者 suPAR 均值显著低于生存期小于 2 年者，suPAR 表达高是导致患者生存期小于 2 年的独立因素，而且高 suPAR 表达还能早期预测髓外转移。而本研究并未发现 suPAR 与年龄、血红蛋白、白蛋白、血肌酐、乳酸脱氢酶及 β2 微球蛋白有明显相关性。suPAR 在 OS<15 个月组与 OS≥15 个月组间差异亦无统计学意义 (*P*>0.05)，初治 MM 患者 suPAR 不同浓度组 OS 差异亦无统计学意义 (*P*>0.05)。本研究随访 MM 患者中，总生存率只有 58.54%，而沈杰等^[7]研究中患者总生存率可达 85%，可能与本资料患者年龄较大，合并症多，化疗耐受性差有关，也可能与本研究随访时间短有关，故还需进一步扩大样本量及延长随访时间。

IL-27 是一种新的 IL-6/IL-12 细胞因子家族成员由抗原提呈细胞产生，包括细胞因子 p28 与 EB13 亚单位^[2]。在抗感染^[9]、抗肿瘤^[10-11] 及自身免疫性疾病^[12] 中发挥着重要作用。

本研究发现 IL-27 在 MM 患者中明显下降,与 Song 等^[13]研究一致,提示其具有抗 MM 的作用。既往研究证实 IL-27 可显著抑制原代 MM 细胞和 MM 细胞系生长,同时原代 MM 细胞表面可表达 IL-27 受体,从 MM 患者分选出来的破骨祖细胞亦显著表达 IL-27 受体,IL-27 可直接抑制破骨细胞分化和溶骨活性^[14],同时还可下调 IL-6、血管内皮生长因子 D 和趋化因子 CCL 的活性,并且可上调抗血管活性因子 CXCL9、CXCL10 的活性,从而抑制血管新生^[15],故可推测,因 IL-27 抑制 MM 细胞增殖及抗血管新生的能力受到破坏,再者 IL-27 对 IL-17 的抑制作用减弱,亦可导致 MM 细胞的增殖,从而导致 MM 的进展。而夏天等^[16]研究有不同的结果,其通过检测 20 例初治 MM 患者血浆中 IL-27、IL-6 的水平,发现在 MM 患者二者的表达均高于对照组,但其不能解释为何 IL-27 与 IL-6 既然共享受体亚单位 gp130,而在 MM 中二者却均升高,故 IL-27 在初治 MM 患者中是否升高有待进一步探讨。本研究进一步分析 IL-27 与临床指标的关系,发现 IL-27 与血红蛋白呈正相关,而与年龄、肾功能、血红蛋白、乳酸脱氢酶、 β_2 微球蛋白无明显相关性。血红蛋白作为 MM 预后不良因素之一,贫血越重,MM 愈后越差^[4],IL-27 与血红蛋白的相关性提示 IL-27 可作为预后不良指标。从而本实验进一步分析 IL-27 与 OS 的关系,发现在 OS<15 个月组与 OS \geq 15 个月组间 IL-27 差异不明显,IL-27 不同水平组 OS 比较亦无明显差异,故本研究尚不能证明 IL-27 与 OS 有关。Song 等^[13]也发现虽然 IL-27/IL-17 的比值与疾病无进展生存时间有关,比值越高疾病无进展时间越长,但也未发现单独 IL-27 及 IL-17 与 OS 和疾病无进展生存时间有明确的关系,故 IL-27 与 MM 的 OS 是否有关还需大样本量的研究。

综上所述,suPAR 在初治 MM 患者升高,而 IL-27 反而下降,提示 IL-27 有抗肿瘤的作用,为开发新的抗 MM 治疗药物提供了理论依据,但 suPAR 与 IL-27 是否与患者的 OS 有关有待更大样本量及更长时间的随访研究。

参考文献

- [1] Kjellman A, Akre O, Gustafsson O, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a prognostic marker in men participating in prostate cancer screening[J]. *J Intern Med*, 2011, 269(3): 299-305.
- [2] Wojno ED, Hunter CA. New directions in the basic and translational biology of interleukin-27[J]. *Trends Immunol*, 2012, 33(2): 91-97.
- [3] 中国多发性骨髓瘤工作组. 中国多发性骨髓瘤诊治指南[J]. *中华内科杂志*, 2011, 50(10): 892-896.
- [4] 翟洪顺, 林丽淑, 邹德学, 等. 多发性骨髓瘤的实验室诊断指标对临床治疗和预后的意义[J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(4): 675-677.
- [5] Langkilde A, Hansen TW, Ladelund S, et al. Increased plasma Soluble uPAR level is a risk marker of respiratory cancer in initially cancer-free individuals[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2011, 20(4): 609-618.
- [6] Rigolin GM, Tieghi A, Ciccone M, et al. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) as an independent factor predicting worse prognosis and extra-bone marrow involvement in multiple myeloma patients [J]. *Br J Hematol*, 2003, 120(6): 953-959.
- [7] 沈杰, 王娟, 潘岐, 等. 监测可溶性尿激酶型纤溶酶原激活物受体在预测多发性骨髓瘤患者髓外浸润及预后中的作用[J]. *临床血液学杂志*, 2011, 24(2): 168-170.
- [8] Hjertner O, Torgersen ML, Seidel C, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) induces interleukin-11 secretion from osteoblasts: a possible role for HGF in myeloma-associated osteolytic bone disease [J]. *Blood*, 1999, 94(11): 3883-3888.
- [9] Sandguist M, Wong HR. Biomarkers of sepsis and their potential value in diagnosis, prognosis and treatment[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014, 10(10): 1349-1356.
- [10] Di Cario E, Sorrentino C, Zorzoli A, et al. The antitumor potential of interleukin-27 in prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(21): 10332-13341.
- [11] Yoshimoto T, Chiba Y, Furusawa J, et al. Potential clinical application of interleukin-27 as an antitumor agent [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(9): 1103-1110.
- [12] Xia LP, Li BF, Shen H, et al. Interleukin-27 and interleukin-23 in patients with systemic lupus erythematosus: possible role in lupus nephritis [J]. *Scand J Rheumatol*, 2015, 44(3): 200-205.
- [13] Song XN, Yang JZ, Sun LX, et al. Expression levels of IL-27 and IL-17 in multiple myeloma patients: a higher ratio of IL-27; IL-17 in bone marrow was associated with a superior progression-free survival [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(9): 1094-1099.
- [14] Cocco C, Giuliani N, Di Carlo E, et al. Interleukin-27 acts as multifunctional antitumor agent in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(16): 4188-4197.
- [15] Giuliani N, Airolidi I. Novel insights into the role of interleukin-27 and interleukin-23 in human malignant and normal plasma cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(22): 6963-6970.
- [16] 夏天, 李建平, 李文倩, 等. IL-27 在多发性骨髓瘤患者及骨髓瘤细胞系中的表达 [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(7): 626-628.

(收稿日期: 2015-09-18 修回日期: 2015-11-25)

欢迎投稿

欢迎订阅