

文章编号: 1004-0374(2010)11-1192-04

## 多发性骨髓瘤与白细胞介素-6

王建军, 洪丽萍, 汤立军\*

(中南大学生物科学与技术学院分子生物学研究中心, 长沙 410078)

**摘要:** 白细胞介素-6是多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)瘤细胞生长和生存的关键因子,也是MM患者发病的主要因子。IL-6/IL-6R系统通过不同通路影响多发性骨髓瘤细胞生长并导致患者骨损害、类风湿性关节炎等一系列并发症。针对IL-6/IL-6R系统的治疗方法将给MM的治疗带来重大的进展。

**关键词:** IL-6/IL-6R; gp130; 多发性骨髓瘤

**中图分类号:** R551.3; R733.3 **文献标识码** A

## Multiple myeloma and interleukin-6

WANG Jian-jun, HONG Li-ping, TANG Li-jun\*

(Molecular Biology Research Center, Institute of Life Science and Technology, Central South University, Changsha 410078, China)

**Abstract:** Interleukin-6 is a key growth and survival factor, which is involved in tumorigenesis of multiple myeloma. The proliferation of malignant cells in multiple myeloma are affected through different pathways of IL-6/IL-6R, which also could lead to bone damage, rheumatoid arthritis and some other complications in patients. Treatment of MM targeted IL-6/IL-6R system will provide a new therapeutic approach based on interruption of IL-6 mediated tumor cell growth in future.

**Key words:** IL-6/IL-6R; gp130; multiple myeloma

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞异常增生的血液系统恶性肿瘤,在中老年人中发病率较高,严重危害人类健康。MM患者的临床表现主要有贫血、骨痛、感染、出血、高钙血症等症状。白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和IL-6R表达水平与MM瘤细胞生长呈正相关关系,而且人IL-6可促进骨髓瘤细胞生长,刺激破骨细胞产生溶骨性病变导致骨质损害。本文综述多发性骨髓瘤与IL-6之间的关系。

### 1 IL-6及IL-6R生物学特性

IL-6基因定位在7号染色体,其长度约为5.0 kb,有5个外显子和4个内含子。人IL-6前体含212个氨基酸,包括一段28个氨基酸的信号肽。IL-6经翻译后需发生N糖基化、O糖基化以及磷酸化修饰才能成熟。成熟IL-6含有184个氨基酸,相对分子质量为21~26 k。IL-6分子含有4个半胱氨酸残基

组成的2对二硫键,对其生物学活性极为重要。其N端23个氨基酸残基不直接与IL-6生物学活性有关,但在维持整个IL-6分子的稳定中起作用<sup>[1]</sup>。IL-6可由淋巴细胞如T细胞、B细胞和非淋巴细胞如成纤维细胞、巨噬细胞等产生,并且以上细胞受到许多因子如IL-1、IL-2、IFN- $\gamma$ 、血小板衍生因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、脂多糖、胰岛素、儿茶酚胺等刺激后使IL-6表达增加,而糖皮质激素、性激素、IL-4、IL-10则抑制IL-6表达。人IL-6氨基酸序列与小鼠IL-6氨基酸序列有

收稿日期: 2010-05-31; 修回日期: 2010-06-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(30400529); 湖南省杰出青年基金(04JJ1006); 中南大学米塔尔学生创新基金资助项目(08MX26)

\*通讯作者: E-mail: tljxie@hotmail.com; Tel: 0731-84805449

42% 同源性, 并且人 IL-6 对小鼠单核细胞等有刺激作用, 且 IL-6 与粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF) 和 IFN- $\beta$  有较高同源性, 对骨髓造血细胞和髓样白血病细胞的作用也有相似之处, 均可促进新分离骨髓瘤细胞增殖。IL-6 作为一种具有多样生物学功能的细胞因子, 除了有免疫调节、抗肿瘤、抗感染等功能外, 对造血系统也有着显著的调节作用, 特别是对机体血小板功能的恢复以及骨髓造血功能的重建具有重要的临床应用价值<sup>[2]</sup>。

细胞表面 IL-6R 以异二聚体形式存在, 由一条相对分子质量为 80 k 的  $\alpha$  链和一条相对分子质量为 130 k 的  $\beta$  链 (亦称为 gp130) 构成。人 IL-6R $\alpha$  链基因位于染色体 1q21, 其蛋白质产物为 468 个氨基酸组成的肽链, 其中含由 19 个氨基酸组成的信号肽, 穿膜区由 28 个氨基酸残基组成, 胞浆内区域由 82 个氨基酸残基组成。gp130 是细胞因子受体超家族的成员, 其胞浆区域有 277 个氨基酸残基, 近膜区有两个保守的细胞因子受体家族基序 box1 和 box2, 从近膜区开始依次有 6 个酪氨酸残基 (Y1~Y6)。IL-6R $\alpha$  链单独存在时与 IL-6 亲和力低, 而 gp130 本身并不结合 IL-6, 但 gp130 能够促进 IL-6R $\alpha$  链与 IL-6 分子结合形成高亲和力复合物。gp130 不仅是组成 IL-6 高亲和力受体成份, 也是白血病抑制因子 (leukemia inhibitory factor, LIF)、抑瘤素 M (oncostatin M, OSM)、睫状神经营养因子 (ciliary neurotrophic factor, CNTF) 和 IL-11 等受体所共用的亚单位。IL-6R 广泛分布于诸如活化 B 细胞、骨髓瘤细胞、骨髓基质细胞、破骨细胞、NK 细胞、静止期 T 细胞、单核细胞、嗜铬细胞瘤细胞、EBV 转化 B 细胞、急性淋巴瘤细胞白血病细胞等细胞膜表面。各细胞表面的 IL-6R 结构相同, 但 IL-6 在不同细胞中却会产生不同的效应, 这与细胞本身的特异性成分或信号转导途径有关, 如转染 gp130 cDNA 小鼠 pro-B 细胞在 IL-6 分子刺激下可增强增殖信号的传递<sup>[3]</sup>。分泌型白细胞介素-6 受体 (secreted IL-6 receptor, sIL-6R) 相对分子质量为 50 k。正常人尿、骨髓瘤细胞系 U266 培养上清中发现有 sIL-6R, 且感染了 I 型人类嗜 T 淋巴细胞病毒 (human T-cell lymphotropic virus type I, HTLV-I) 的细胞也分泌 sIL-6R。sIL-6R 与 IL-12 p40 亚基高度同源, 而 IL-6 与 IL-12 的 p35 亚基序列高度同源, 因此, 推测类似于 IL-6/sIL-6R 复合物的 IL-12 分子很可能也是通过一种类似于 gp130 分子的作用方式而作用于细胞。

## 2 IL-6 与 MM 及其相互作用机制

研究证实 IL-6 是 MM 细胞生长与生存的关键因子, 与 MM 的发病密切相关, 而一些细胞因子及免疫相关分子可通过调节 IL-6/IL-6R 受体系统影响 MM 的发病进程。MM 是以骨髓克隆性浆细胞异常增多为特征的 B 细胞恶性血液系统性疾病。研究表明, 初诊 MM 患者血清 IL-6 水平较正常对照组明显升高; 不同临床分期的 MM 患者血清 IL-6 水平也有显著性差异, 临床分期越晚, 血清 IL-6 水平越高, 提示 IL-6 水平升高与高肿瘤细胞负荷和病情活动有关<sup>[4]</sup>。IL-6 水平的升高与 MM 的发生和病情进展有关, 并且 IL-6 可以促进膜受体的表达, 使可溶性受体水平增高。有研究分析比较了正常人、良性骨肿瘤患者、MM 稳定期患者及 MM 进展期患者血清 IL-6 和 sIL-6R 的水平, 发现在 MM 稳定期至 MM 进展期的过程中 IL-6 和 sIL-6R 水平逐渐升高, 且可以达到良性骨肿瘤患者和正常人的 10 倍之多, 从而证实 IL-6、sIL-6R 水平与疾病的严重程度密切相关, 可以作为患者病情和预后的一项重要参数<sup>[5]</sup>。另有报道 MM 患者治疗有效组血清 IL-6 水平在治疗后明显下降, 而治疗无效组的血清 IL-6 水平无明显变化。因此, MM 患者血清 IL-6 水平变化可以作为观察患者病情、治疗反应及判断预后的辅助指标<sup>[6]</sup>。

目前两种主要流行假说分别认为 IL-6 是由 MM 细胞抑或骨髓基质细胞分泌产生。Kawano 等<sup>[7]</sup>于 1988 年提出自分泌学说, 认为骨髓瘤细胞本身分泌 IL-6, 并促进自身的增殖。该学说的依据是: (1) 他们从体外建株的骨髓瘤细胞株胞浆中检测出 IL-6 mRNA, 其培养上清可测出 IL-6 活性, 在这些培养上清中加入重组的 IL-6 可促进 MM 细胞增殖, 加入 IL-6 中和抗体则可阻断这种作用; (2) 在体内新分离的骨髓瘤细胞中发现有 IL-6 mRNA 的表达; (3) 采用免疫组织化学方法证实骨髓瘤细胞的 IL-6R 含量是正常细胞的 100 倍左右。Tomida 等<sup>[8]</sup>采用原位 PCR 方法亦证实了骨髓瘤细胞中存在 IL-6 mRNA。Zhang 等<sup>[9]</sup>于 1989 年提出了旁分泌生长学说。该学说承认 IL-6 可促进骨髓瘤细胞增殖, 但体内骨髓瘤细胞不能分泌 IL-6, 血清中升高的 IL-6 主要由骨髓中的基质细胞产生。该学说的依据是: (1) 在分离骨髓瘤细胞的过程中, 采用贴壁的方法逐步除去基质细胞, 其上清中 IL-6 活性会逐步降低; (2) 在建立骨髓瘤细胞株的过程中加入重组的 IL-6 和粒细胞-

巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 可以更容易地获得建株细胞, 并且这些细胞株是 IL-6 依赖性的。他们认为 Kawano 等的实验结果是由于采用的骨髓瘤细胞中混有基质细胞、成纤维细胞等造成的。同时, 他们认为用骨髓瘤细胞株进行实验不能完全代表体内真实情况, 建株的细胞为适应环境可能发生了某种进化而获得了分泌 IL-6 的能力。

目前已经研究清楚, 骨髓瘤细胞内生长信号的传导取决于由 2 个 IL-6 分子、2 个 IL-6R $\alpha$  分子和 2 个 gp130 分子形成的六聚体。IL-6 与 IL-6R $\alpha$  和 gp130 形成的复合物使 JAK (Janus kinase) 家族成员 Jak1、Jak2、TyK2 激活, 启动信号转导途径, 如 JAK-STAT (signal transducer and activator of transcription) 途径和 RAS-MAPK (mitogen activated protein kinases) 途径。其中 gp130 近膜区两个基序 box1 和 box2 对其激活 JAK 是必需的, 而 gp130 的酪氨酸残基 Y2 对于激活 RAS-MAPK 途径中的 SHP-2 (又称 PTP1-D、SHPTP-2、PTP2C 和 SyP) 也是必需的<sup>[10]</sup>。SHP-2 激活后通过连接蛋白依次使 SOS、RAS、ERK2 等信号蛋白激活, 促进细胞增殖。gp130 酪氨酸残基 Y3~Y6 中任一分子可激活 Stat3, 而 Stat3 激活后可诱导 bcl-2 表达来阻止瘤细胞凋亡。Stat3 与许多恶性肿瘤的发生密切相关并且对 IL-6 依赖性 MM 细胞的生存和生长是必不可少的。Loffler 等<sup>[11]</sup>研究表明, IL-6 通过活化 Stat3, 然后结合 *miR-21* 基因上游增强子序列, 从而调控 *miR-21* 基因表达。MM 细胞中 *miR-21* 高表达, 从而抑制骨髓瘤细胞凋亡。Podar 等<sup>[12]</sup>研究表明, IL-6 分子能促使骨髓瘤细胞系、MM 患者分离出来的骨髓瘤细胞及 IL-6 依赖的 B9 细胞系中 Stat1、Stat3 及 Shc 磷酸化, Shc 磷酸化后与信号蛋白 SOS 连接并磷酸化激活 MAPK, 促进骨髓瘤细胞增殖。Chatterjee 等<sup>[13]</sup>研究表明, 在骨髓基质细胞存在的条件下, 人 MM 细胞的存活不依赖于 IL-6/gp130/Stat3 信号通路, 而是通过 MM 患者骨髓基质细胞的黏附分子、细胞因子以及受体得以存活和增殖。

目前许多 MM 中关于 IL-6 及其信号转导的报道均是以 MM 细胞系为研究材料而得到的结论, 并未综合考虑 MM 患者骨髓微环境所起的作用。骨髓瘤骨病是 MM 患者常见的特征性临床表现之一, 其骨损害是由于骨髓基质细胞演变而来的成骨细胞过度表达 IL-6, 从而激活破骨细胞所造成的。MM 患者骨髓基质细胞在黏附分子、细胞因子及受体方面均

不同于正常人。MM 患者组织增生性的骨质破坏是一种与破骨细胞活化因子 (osteoclast activating factor, OAF) 作用相似的细胞因子分泌过高所致。这组细胞因子主要包括 IL-6、IL-1 和 TNF, 它们为 MM 骨质破坏的主要媒介, 刺激位于骨髓瘤细胞周围的破骨细胞而导致骨损害。IL-1 $\beta$  具有强 OAF 活性, 可以诱导骨髓瘤细胞和骨髓基质细胞表达 CD54、CD56、CD44 等黏附分子, 黏附分子的表达又会促进瘤细胞在骨髓中增殖, 然后这些单克隆的浆细胞反过来促进 IL-1 $\beta$  的表达及诱导 IL-6 旁分泌, 从而刺激破骨细胞导致溶骨性病变<sup>[14]</sup>。IL-6 是最主要的也是最直接的 OAF, 而 IL-1、TNF 则通过调节 IL-6 产生而发挥 OAF 的活性<sup>[15]</sup>。Roodman<sup>[16]</sup>还发现 IL-1 $\beta$  可通过前列腺素 E2 诱导 IL-6 的表达, 后者在体外可协助 IL-1 $\beta$  促进骨的吸收。

IL-6 亦在促进自身免疫反应和慢性炎症中发挥着病理作用。类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 表现为多克隆性浆细胞增多症, 自身抗体、C 反应蛋白 (c-reactive protein, CRP) 和血小板升高。RA 患者急性期血清以及关节的滑液中能检测到 IL-6, 且滑液中 IL-6、IgG 以及血清中 IL-6 与 CRP 之间有明显的相关性。另外, RA 患者体内 T 细胞、B 细胞、滑膜细胞以及软骨细胞均可产生 IL-6, 且患者存在一定程度的骨和软骨的破坏。这些提示 MM 细胞产生的 IL-6 可能会导致 MM 患者伴有类风湿性关节炎并发症的发生<sup>[17]</sup>。

### 3 IL-6 在 MM 诊断及治疗中的应用

IL-6 是目前被认为对 MM 疗效和预后有较大影响的因素之一。Thavasu 等<sup>[18]</sup>比较了 42 例 MM 患者治疗前后血清中 IL-6 的变化, 约 82% 的患者经治疗后 IL-6 水平有明显下降, 而当疾病出现进展时其表达又升高, 表明 IL-6 作为判断疾病疗效的指标之一具有重要意义。

IL-6 高表达能促进骨髓瘤细胞增殖, 抑制由 Fas 抗原及地塞米松介导的骨髓瘤细胞凋亡, 而蛋白酶体抑制剂硼替唑啉 (bortezomib) 亦可抑制瘤细胞增殖和诱导瘤细胞凋亡, 其主要机制是通过特异性抑制蛋白酶体 26S 亚基, 阻止 NF- $\kappa$ B 信号途径的激活, 使依赖于 NF- $\kappa$ B 合成和分泌的 IL-6 水平降低, 从而抑制由 IL-6 诱导的 RAS-MAPK 生长信号, 阻断细胞内信号系统, 最终诱导细胞凋亡<sup>[19]</sup>。抗 IL-6 的单克隆抗体 CNT0328 能通过抑制 IL-6 信号而增强硼替唑啉的细胞毒作用, 单独使用 CNT0328 或硼

替唑咪促使 IL-6 依赖细胞株的凋亡率在 8%~56%, 但两者联合使用会使约 80% 的 IL-6 依赖细胞株凋亡。另外, CNT0328 虽不能诱导非 IL-6 依赖细胞株出现凋亡, 但能增强硼替唑咪的促凋亡作用<sup>[20]</sup>。Rossi 等<sup>[21]</sup>研究发现在自体造血干细胞移植的 MM 患者中联合使用抗 IL-6 单克隆抗体与地塞米松, 抗 IL-6 单克隆抗体在体内能充分中和 IL-6 的活性, 从而抑制骨髓瘤细胞的增殖, 促进瘤细胞的凋亡。Garban 等<sup>[22]</sup>对 16 例进展期 MM 患者应用抗 IL-6 单克隆抗体、地塞米松和大剂量美法仑及造血干细胞移植联合治疗, 患者治疗后总有效率为 81.2%, 其中完全缓解率为 37.5%, 部分缓解率为 43.7%。

IL-6 刺激瘤细胞 JAK、STAT 途径活化是 MM 常见的信号异常, 特别是瘤细胞内 STAT3 分子的激活, 因而阻止 IL-6 与受体结合, 抑制 STAT 二聚体化, 应用小分子与 STAT 的 SH2 结构域或 STAT 的 DNA 结合域结合均能抑制 STAT 的生物学活性, 这些新方法目前正处于试验研究阶段。如一种 JAK 激酶抑制剂 AG490 能抑制 IL-6 介导的 JAK、STAT3 和 ERK 的活性, 阻断 IL-6 依赖的 MM 细胞增殖, 诱导细胞凋亡。

#### 4 展望

大量实验结果表明, IL-6 在细胞内复杂的细胞因子调控网络中是不可或缺的, 并在 MM 发生、发展中起着举足轻重的作用, 故我们可以从 IL-6 及其受体 IL-6R 对 MM 展开机制与治疗方面的深入研究。随着当前新型生物技术, 如反义 RNA、干扰 RNA 及基因工程产品的运用, 我们有理由相信以 IL-6 及其受体 IL-6R 和 gp130 等作为靶点的药物筛选和药物设计将为 MM 患者的治疗开辟新的途径。

#### [参 考 文 献]

- [1] Hoyland JA, Freemont AJ, Sharpe PT. Interleukin-6, IL-6 receptor, and IL-6 nuclear factor gene expression in paget's disease. *Bone Miner Res*, 1994, 9(1): 75-80
- [2] Irwin CR, Myrillas TT. The role of IL-6 in the pathogenesis of periodontal disease. *Oral Dis*, 1998, 4(1): 43-7
- [3] Gerlo S, Haegeman G, Vanden Berghe W. Transcriptional regulation of autocrine IL-6 expression in multiple myeloma cells. *Cell Signal*, 2008, 20(8): 1489-96
- [4] Wierzbowska A, Urbanska-Rys H, Robak T. Circulating IL-6 type cytokines and sIL-6R in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*, 1999, 105(2): 412-19
- [5] Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Inter Immunol*, 2010, 22(5): 347-52
- [6] Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin-6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2006, 2(12): 619-26
- [7] Kawano M, Hirano T, Matsuda T, et al. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myeloma. *Nature*, 1988, 332(6159): 83-5
- [8] Tomida M, Ohtake H, Yokota T, et al. Stat3 up-regulates expression of nicotinamide N-methyltransferase in human cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(5): 551-9
- [9] Zhang XG, Klein B, Bataille R. Interleukin-6 is a potent myeloma-cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood*, 1989, 74(1): 11-3
- [10] Lentzsch S, Ehrlich L, Roodman G. Pathophysiology of multiple myeloma bone disease. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2007, 21(6): 1035-49
- [11] Loffler D, Brocke-Heidrich K, Pfeifer G, et al. IL-6 dependent survival of multiple myeloma cells involves the Stat3-mediated induction of microRNA-21 through a highly conserved enhancer. *Blood*, 2007, 110(4): 1330-3
- [12] Podar K, Chauhan D, Anderson KC, et al. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy. *Leukemia*, 2009, 23(1): 10-24
- [13] Chatterjee M, Honemann D, Lentzsch S, et al. In the presence of bone marrow stromal cells in human multiple myeloma cells become independent of the IL-6/gp130/Stat3 pathway. *Blood*, 2002, 100(9): 3311-8
- [14] Shain KH, Yarde DN, Meads MB, et al.  $\beta$ 1-integrin adhesion enhances IL-6-mediated STAT3 signaling in myeloma cells: implications for microenvironment influence on tumor survival and proliferation. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 1009-15
- [15] Matsushita K, Iwanaga S, Oda T, et al. Interleukin-6/soluble interleukin-6 receptor complex reduces infarct size via inhibiting myocardial apoptosis. *Lab Invest*, 2005, 85(10): 1210-23
- [16] Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. *J Cell Biochem*, 2010, 109(2): 283-91
- [17] Westendorf JJ, Ahmann GJ, Armitage RJ, et al. CD40 expression in malignant plasma cells—role in stimulation of autocrine IL-6 secretion by a human myeloma cell line. *J Immunol*, 1994, 152(1): 117-28
- [18] Thavasu PW, Ganjoo RK, Maidment SA, et al. Multiple myeloma: an immunoclinical study of disease and response to treatment. *Hematol Oncol*, 1995, 13(2): 69-82
- [19] Kida H, Mucenski ML, Thitoff AR, et al. GP130-STAT3 regulates epithelial cell migration and is required for repair of the bronchiolar epithelium. *Am J Pathol*, 2008, 172(6): 1542-54
- [20] Voorhees PM, Chen Q, Kuhn DJ, et al. Inhibition of interleukin-6 signaling with CNT0328 enhances the activity of bortezomib in preclinical models of multiple myeloma. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(21): 6469-78
- [21] Rossi JF, Fegueux N, Lu ZY, et al. Optimizing the use of anti-interleukin-6 monoclonal antibody with dexamethasone and 140 mg/m<sup>2</sup> of melphalan in multiple myeloma: results of a pilot study including biological aspects. *Bone Marrow Transplant*, 2005, 36(9): 771-9
- [22] Garban F, Attal M, Moreau P, et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-03 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04 trial) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood*, 2006, 107(9): 3474-80