

文章编号: 1004-0374(2010)08-0793-04

多发性骨髓瘤中 NF- κ B 作用机制研究

李江, 胡维新*

(中南大学生物科学与技术学院分子生物研究中心, 长沙 410078)

摘要: 多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是浆细胞异常增生的恶性肿瘤, 其发病机制比较复杂。研究表明, 活化 NF- κ B 具有多种生物学功能, 它既能调节细胞因子; 影响细胞周期, 又与血管发生有关, 并且与多发性骨髓瘤治疗密切相关。该文就 NF- κ B 在多发性骨髓瘤中的作用机制做一综述。

关键词: 多发性骨髓瘤; NF- κ B; 细胞因子; 细胞周期; 治疗

中图分类号: Q74; R733.3 **文献标识码:** A

The progress of NF- κ B mechanism research in multiple myeloma

LI Jiang, HU Wei-xin*

(Institute of Molecular Biology, School of Biological Science and Technology,
Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: Multiple myeloma (multiple myeloma, MM) is the abnormal proliferation of malignant plasma cells. Its pathogenesis is complex. The results show that activation of NF- κ B has a variety of biological functions, both regulating cell factors, cell cycle, angiogenesis and closely relating with treatment of multiple myeloma. Now, a review of the progress of NF- κ B mechanism in multiple myeloma was made in this article.

Key words: multiple myeloma; NF- κ B; cytokines; cell cycle; treatment

1986年, Sen等在成熟B细胞中发现核蛋白因子NF- κ B(nuclear factor- κ B)。哺乳动物中, NF- κ B家族由RelA(p65)、c-Rel、RelB、NF- κ B 1(p50)和NF- κ B 2(p52)组成, 其活化常常受到经典途径、旁路途径的调节。活化NF- κ B常以p50/RelA二聚体形式存在, 与 κ B反应元件(5'-GGGRNYYYCC-3': R为嘌呤; Y为嘧啶; N为任意核酸)结合调控基因转录。Wan等^[1]发现, 活化NF- κ B复合物另一重要亚基核糖体蛋白S3(ribosomal protein S3, RPS3), 能够增强DNA结合亲和力, 调节NF- κ B特异性。NF- κ B是骨髓瘤细胞在骨髓微环境中生长和存活的关键调节因子。多数效应因子通过NF- κ B信号通路发挥作用, 受到多环节多层次的网络调控。

1 NF- κ B作用机制与多发性骨髓瘤

1.1 NF- κ B与细胞因子

NF- κ B调节多发性骨髓瘤(multiple myeloma,

MM)细胞生长相关因子白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、粒细胞-巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)、TNF家族的B细胞活化因子(B cell activating factor belonging to the TNF family, BAFF)、趋化因子巨噬细胞炎症蛋白1(macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)表达。

在骨髓微环境中, 破骨细胞(osteoclasts, OCs)、骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)与肿瘤细胞间相互粘附产生一系列促MM细胞生长因子。在MM中, 骨髓瘤细胞自分泌及BMSCs旁分泌产生IL-6, 通过和其受体形成IL-6/IL-6R/gp130复合体, 参与JAK-STATs信号传导, 调节基因表达。同时受到多重信号血管内皮生长因子(vascular

收稿日期: 2009-11-11; 修回日期: 2010-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30770906)

*通讯作者: E-mail: weixinhu@yahoo.com.cn

endothelial growth factor, VEGF)、IL-1、肿瘤坏死因子(TNF- α)的调节,维持MM细胞增殖分化、抵抗细胞凋亡。另外,GM-CSF直接激活STAT3参与IL-6/gp130/STAT3信号途径。Lee等^[2]检测MM患者骨髓浆中白细胞介素-3(IL-3)蛋白表达增加,IL-3与MIP-1 α 或核因子 κ B受体活化因子配基(ligand of receptor activator of NF- κ B, RANKL)结合能够增强骨质吸收及破骨细胞生成。MIP-1 α 属于炎症趋化因子RANTES家族,影响吞噬细胞活性,抑制CD34⁺细胞增殖、血细胞生成,与MM患者贫血有关。另外,它作为破骨细胞刺激因子,介导骨组织破坏,引起溶骨性损伤,在活动期MM患者骨髓中高表达,同样受到NF- κ B调节。

B细胞活化因子(B-cell activating factor, BAFF, 又称BLyS)属于肿瘤坏死因子超家族(TNFSF)家族成员。在293细胞系中,BAFF受体BCMA(B cell maturation)过度表达可活化NF- κ B、Elk-1、INK和p38丝裂原活化蛋白激酶。Moreaux等^[3]发现,在13种骨髓瘤细胞株和11例骨髓瘤患者中存在BAFF受体(BCMA; transmembrane activator and CAML interactor, TACI; BAFF receptor, BAFF-R)表达。在MM患者中,BAFF血清含量是正常人5倍。在骨髓瘤细胞中,BAFF和APRIL与受体结合,活化NF- κ B、PI-3酶/AKT、MAPK激酶途径,下调Mc1-1、Bcl-2抗凋亡蛋白表达水平。结果表明,BAFF生物学功能与其信号转导通路中的NF- κ B及其下游靶基因密切相关。在MM患者,炎症因子IFN- γ 、GM-CSF、IL-10促进骨髓细胞中BAFF分泌。TRAF3(TNFR-associated factor3, TRAF3)直接与BAFF-R胞内段相互作用负调节BAFF-R介导NF- κ B活化及IL-10的产生。

1.2 NF- κ B与细胞周期

NF- κ B调节细胞周期调控子c-Myc、cyclin Ds、cyclin E、E2F3,促进细胞周期进程。Cheng等^[4]用B细胞受体(BCR)刺激c-rel^{-/-}缺陷B细胞,细胞周期阻滞于G1期,并下调Bcl-x1等多种抗凋亡蛋白表达。高表达的cyclin E通过诱导cyclin-CDK/Rb-E2F途径,与Bcl-xL相互作用,促进细胞由G1期向S期转化。另外,c-Rel直接调节转录因子e2f3a启动子/增强子,而cyclin E通过E2F3a转录激活。实验表明,c-Rel与依赖cyclin的细胞周期有关。c-Rel通过调节抗凋亡分子Bcl-X,细胞周期相关基因E2F3a、cyclin E调控成熟B细胞生长增殖。NF- κ B/

c-Rel在维持淋巴细胞生长和启动细胞周期进程中起到重要作用。细胞处于静止期时,Cyclin Ds(D1、D2、D3)表达水平低,受到生长因子刺激,在增殖细胞中,NF- κ B诱导cyclin D1表达,pRb高度磷酸化,促进细胞周期G1向S期转化。NF- κ B是cyclin D的惟一转录调控子。Bergsagel等^[5]实验发现大约40%的MM患者肿瘤细胞中,cyclin D1表达失调,在MGUS中,cyclin D1常常过表达。

1.3 NF- κ B与人类端粒酶逆转录酶(hTERT)

人类端粒酶逆转录酶(hTERT)催化亚基在转录和Akt激酶磷酸化水平调节端粒末端转移酶的活性。Akiyama等^[6]首次在MM.1S细胞中发现,hTERT蛋白直接与NF- κ B/p65相互作用。更重要的是,TNF α 诱导hTERT蛋白从细胞质进入细胞核,其启动子区域包含与 κ B元件相结合的序列,与NF- κ B/p65结合,hTERT核易位延长端粒长度,细胞有丝分裂增强,肿瘤细胞持续增殖。相反,IKK(inhibitor of NF- κ B kinase)抑制子PS-1145和NF- κ B核转位抑制子SN-50,可以阻断TNF α 诱导hTERT细胞内改变。

1.4 NF- κ B与血管发生

在所有的肿瘤中,血管发生是重要事件。血管原性的NF- κ B调节因子:血管生成素(angiopoietin-1、Ang-1)、TNF- α 、IL-6、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、IL-8。在MM发病机制中,血管内皮生长因子(VEGF)起到重要作用,MM患者骨髓血管发生增加。NF- κ B调节VEGF-C、PLGF。

Ang-1与其受体Tie-2结合,直接影响血管发生。在MM中,Ang-1高表达,其表达水平与骨髓血管发生正相关。Giuliani等^[7]和Scott等^[8]认为TNF- α 诱导Ang-1和MCP-1表达,受到NF- κ B信号通路的调控。Teferedegne等^[9]发现单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)是趋化因子家族成员,NF- κ B远端增强子和依赖Sp1启动子区域近端调节区对其表达进行调节。在未激活状态,只有远端调节区与转录因子结合。受到TNF激活,NF- κ B与远端调节区结合,募集CBP和P300聚集,CBP/P300介导组蛋白乙酰化,增强共激活因子CARM1与远端调节区的结合,最终,促进Sp1与近端调节区结合。而CARM1与远近端调节区的相互作用无关,仅调节MCP-1表达,认为NF- κ B通过MCP-1来发挥其血管原活性。Stifter等^[10]研究表明,NF- κ B上调VEGF、MCP-1、IL-6细胞因子分泌。在MM中,MCP-1表达同时也受到IL-6的调节。IL-6血管原活性机制

可能存在。在骨髓瘤细胞系和初诊MM患者肿瘤细胞中,存在MCP-1受体CCR1和CCR2的表达。IL-6诱导MCP-1表达,MCP-1可以激活MAPK途径。

在MM中,基质细胞蛋白启动破骨细胞介导骨吸收和血管生成活性改变骨髓内环境。BMSCs分泌IL-8血管原因子。Kline等^[11]认为大多数MM细胞株和MM患者浆细胞表面发现有IL-8受体CXCR1、CXCR2存在,两者相互作用,表达于MM细胞。这些受体也是NF- κ B调节因子。另外,IL-8依赖NF- κ B信号通路与MM疾病发展阶段密切相关。IL-8与骨髓中血管发生有关。

肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN),在MM骨损伤中也起到了重要作用,也是NF- κ B调节因子。Standal等^[12]研究,HGF由骨髓瘤细胞分泌,血清中HGF含量与MM患者密切相关。在体外,HGF抑制骨形态生成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)诱导骨形成。在间充质肝细胞中,抑制BMP诱导碱性磷酸酶的表达。同样,抑制破骨细胞特异性的Runx2和Osterix转录因子表达。HGF与破骨细胞活性负相关。Colla等^[13]发现,OPN在MM患者中高表达,骨髓瘤细胞活化Runx2/Cbfa1蛋白直接诱导OPN生成,诱导MM中血管发生。OPN表达水平与疾病的发生成负相关。

1.5 NF- κ B与黏附分子

骨髓瘤细胞和BMSCs相互作用,启动IKK/NF- κ B信号通路,与MM细胞生长、转移、侵袭有关。Mori等^[14]研究表明,VLA-4、VLA-5、VCAM、ICAM通过IKK/NF- κ B信号通路降解。在BMSCs中,NF- κ B调节VLA-4及其配体、VCAM和纤连蛋白表达,同样调节VLA-5和ICAM在MM中的表达。另外,NF- κ B调节MMP1、MMP9基质金属蛋白酶,MMP-1是骨质吸收激活中主要胶原酶。与多发性骨髓瘤成骨细胞相互作用,MMP-1表达增加,与骨组织损伤有一定关系。MM细胞侵袭需要MMP-9。

2 NF- κ B与多发性骨髓瘤治疗

MM溶骨性疾病病因:破骨细胞活性增强,成骨细胞功能受到抑制。MM治疗药物常用硼替佐米(Bortezomib, Btzmb)、沙立度胺、lenalidomide、三氧化二砷(As₂O₃)。Btzmb是可逆性蛋白酶体抑制剂,通过阻断NF- κ B信号通路来抑制肿瘤细胞生长^[15]。在骨髓瘤细胞中,蛋白酶体受到抑制后,

NF- κ B的抑制因子(I κ B)降解受阻。I κ B与NF- κ B结合使NF- κ B处于失活状态,不能与细胞DNA结合,从而抑制细胞增殖相关基因表达。另外,在MM患者骨质微环境中RANKL表达增加,与破骨细胞表面RANK结合而促进破骨细胞增殖,同时可溶性骨保护素(osteoprotegerin, OPG)的作用削弱,从而使骨重建过程失衡^[16]。研究表明,当跨膜蛋白RANK与RANKL结合后,RANK招募接头蛋白肿瘤坏死因子受体相关蛋白6(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6)至其尾部,通过TRAF6活化下游的信号因子,如NF- κ B、c-fos,引起破骨细胞的分化、增殖^[17]。Btzmb抑制MM与宿主骨髓基质细胞之间的相互作用,进而阻断骨髓基质细胞分泌其生长所必需的生长因子,如Btzmb通过抑制NF- κ B途径减少间质细胞分泌IL-6。在MM中,Btzmb和lenalidomide减少骨髓间质细胞中NF- κ B配体-受体激活剂的分泌。研究表明,除了抗肿瘤活性外,Btzmb也能抑制淋巴细胞和树突状细胞生长,展示了其对炎症性疾病的应用前景^[18]。As₂O₃也属于可逆性蛋白酶体抑制剂,可以选择性地与蛋白酶体活性位点苏氨酸结合,抑制蛋白酶体20S亚单位的糜蛋白酶和(或)胰蛋白酶活性。在骨髓瘤细胞中,蛋白酶体受到抑制后,NF- κ B抑制因子I κ B不再通过蛋白酶体被大量降解,I κ B与NF- κ B结合使其活性得到有效抑制,细胞增殖相关基因表达受到抑制,IL-6等骨髓瘤细胞生长因子以及黏附分子表达减少,最终使骨髓瘤细胞凋亡。

在MM中,NF- κ B通过调节细胞因子发挥生物学作用。相关药物通过直接或间接作用NF- κ B信号途径治疗MM,而且NF- κ B相关抑制子作为单一因素对某一肿瘤细胞药用量不具有毒性,与低剂量的化学疗法相结合,明显增强传统化学疗法的疗效,并且在临床上得到了很好的证实。随着新药的开发研制,将为MM治疗开拓更为广泛的研究领域。

[参 考 文 献]

- [1] Wan F, Anderson DE, Barnitz RA, et al. Ribosomal protein S3: a KH domain subunit in NF- κ B complexes that mediates selective gene regulation. *Cell*, 2007, 131: 927-39
- [2] Lee JW, Chung HY, Ehrlich LA, et al. IL-3 expression by myeloma cells increases both osteoclast formation and growth of myeloma cells. *Blood*, 2004, 103: 2308-15
- [3] Moreaux J, Legouffe E, Jourdan E, et al. BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone. *Blood*, 2004, 103: 3148-57
- [4] Cheng S, Hsia CY, Leone G, et al. Cyclin E and Bcl-xL

- cooperatively induce cell cycle progression in c-Rel^{-/-} B cells. *Oncogene*, 2003, 22: 8472-86
- [5] Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, et al. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood*, 2005, 106: 296-303
- [6] Akiyama M, Hideshima T, Hayashi T, et al. Nuclear factor- κ B p65 mediates tumor necrosis factor α -induced nuclear translocation of telomerase reverse transcriptase protein. *Cancer Res*, 2003, 63: 18-21
- [7] Giuliani N, Colla S, Lazzaretti M, et al. Proangiogenic properties of human myeloma cells: production of angiopoietin-1 and its potential relationship to myeloma-induced angiogenesis. *Blood*, 2003, 102: 638-45
- [8] Scott BB, Zaratin PF, Gilmartin AG, et al. TNF- α modulates angiopoietin-1 expression in rheumatoid synovial fibroblasts via the NF- κ B signalling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328: 409-14
- [9] Tefere degne B, Green MR, Guo Z, et al. Mechanism of action of a distal NF- κ B-dependent enhancer. *Mol Cell Biol*, 2006, 26: 5759-70
- [10] Stifter S. The role of nuclear factor κ B on angiogenesis regulation through monocyte chemoattractant protein-1 in myeloma. *Med Hypotheses*, 2006, 66: 384-6
- [11] Kline M, Donovan K, Wellik L, et al. Cytokine and chemokine profiles in multiple myeloma, significance of stromal interaction and correlation of IL-8 production with disease progression. *Leuk Res*, 2007, 31: 591-8
- [12] Standal T, Abildgaard N, Fagerli UM, et al. HGF inhibits BMP-induced osteoblastogenesis: possible implications for the bone disease of multiple myeloma. *Blood*, 2007, 109: 3024-30
- [13] Colla S, Morandi F, Lazzaretti M, et al. Human myeloma cells express the bone regulating gene Runx2/Cbfa1 and produce osteopontin that is involved in angiogenesis in multiple myeloma patients. *Leukemia*, 2005, 19: 2166-76
- [14] Mori Y, Shimizu N, Dallas M, et al. Anti α 4 integrin antibody suppresses the development of multiple myeloma and associated osteoclastic osteolysis. *Blood*, 2004, 104: 2149-54
- [15] Adams J. The proteasome: a suitable antineoplastic target. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4 (5): 349-60
- [16] Sezer O, Heider U, Zavrski I, et al. RANK ligand and osteoprotegerin in myeloma bone disease. *Blood*, 2003, 101(6): 2094-8
- [17] Boyle J, Simonet W, Lacey L. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 2003, 423 (6937): 337-42
- [18] Mattingly L H, Gault R A, Murphy J. Use of systemic proteasome inhibition as an immune modulating agent in disease. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2007, 7 (1): 29234