

文章编号:1000-5404(2013)13-1357-05

论著

AG490对食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖、凋亡及放疗敏感性的影响

臧春宝¹, 万跃², 王勇¹, 侯妍利¹, 唐敏¹, 李少林¹ (400016 重庆, 重庆医科大学基础医学院放射医学教研室¹; 400030 重庆, 重庆市肿瘤医院放疗科²)

[摘要] 目的 研究 Janus 激酶抑制剂 AG490 对食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖、凋亡及放疗敏感性的影响, 并探讨其作用机制。方法 用不同浓度(0、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的 AG490 处理 Eca-109 细胞, 采用 MTT 法检测细胞增殖, Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞仪检测细胞凋亡, 克隆形成实验检测细胞放疗敏感性, Western blot 检测各组细胞 Stat3、p-Stat3、Bcl-2、Bax 蛋白表达。结果 与对照组比较, AG490 各浓度组(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)在 AG490 作用后第 1~5 天 Eca-109 细胞增殖减慢, 呈量效-时效关系($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与对照组比较, AG490 各浓度组(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)在 AG490 作用 48 h 后 Eca-109 细胞凋亡率增加, 呈量效关系($P < 0.01$)。与对照组比较, 各剂量 X 射线照射后 50 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞存活率降低, 放射生物学参数 SF_2 、 D_0 、 D_q 、 N 值均降低($P < 0.05$), SERD_0 和 SERD_q 值增加($P < 0.05$)。与对照组比较, AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ + 4Gy 组和 AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 组 p-Stat3 蛋白表达下调($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与对照组比较, AG490 各浓度(50 和 100 $\mu\text{mol/L}$)组 Bcl-2 的表达降低($P < 0.05$)、Bax 的表达增加($P < 0.05$)。结论 AG490 抑制 Eca-109 细胞增殖, 增加细胞凋亡, 增加放疗敏感性, 其机制可能是通过阻断 Stat3 蛋白的活化, 调控凋亡蛋白(Bcl-2 和 Bax)的表达。

[关键词] AG490; 食管鳞癌; Stat3; 放疗敏感性

[中图分类号] R73-36; R735.1; R977.3

[文献标志码] A

Effect of Janus kinase inhibitor AG490 on proliferation, apoptosis and radiosensitivity of human esophageal carcinoma Eca-109 cells

Zang Chunbao¹, Wan Yue², Wang Yong¹, Hou Yanli¹, Tang Min¹, Li Shaolin¹ (¹Department of Radiation Medicine, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; ²Department of Radiotherapy, Chongqing Tumor Hospital, Chongqing, 400030, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect and mechanism of Janus kinase inhibitor AG490 on the proliferation, apoptosis and radiosensitivity of human esophageal carcinoma Eca-109 cells. **Methods** Eca-109 cells were treated with different concentrations of AG490 (0, 25, 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$). Cell proliferation and apoptosis were detected by MTT assay and flow cytometry, respectively, and cell radiosensitivity was measured by colony formation assay. The expression levels of Stat3, p-Stat3, Bcl-2 and Bax were evaluated by Western blotting. **Results** Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$), the proliferation of Eca-109 cells in AG490 treatment groups (25, 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$) significantly decreased at 1-5 d after treatment in a dose- and time-dependent manner ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$), the apoptosis of Eca-109 cells in AG490 treatment groups (25, 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$) significantly increased at 48 h after treatment in a dose-dependent manner ($P < 0.01$). Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$), the cell survival fraction and radiobiological parameters (SF_2 , D_0 , D_q and N) of the AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ group significantly decreased ($P < 0.05$), and the sensitivity enhancement ratio (SERD_0 and SERD_q) significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$), the expression of p-Stat3 in AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ + 4 Gy group and AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ group significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the control group (0 $\mu\text{mol/L}$), the expression of Bcl-2 in AG490 treatment groups (50 and 100 $\mu\text{mol/L}$) significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression of Bax significantly increased ($P <$

[基金项目] 国家自然科学基金(81171365)

[通信作者] 李少林, 电话: (023)68485060, E-mail: lishaolin@cqmu.edu.cn

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130108.1049.006.html>(2013-01-08)

0.05). **Conclusion** AG490 can regulate the expression of Bcl-2 and Bax by blocking the activation of Stat3, thus inhibiting the proliferation and increasing the apoptosis and radiosensitivity of human esophageal carcinoma Eca-109 cells *in vitro*.

[**Key words**] AG490; esophageal carcinoma; Stat3; radiosensitivity

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81171365). Corresponding author: Li Shaolin, Tel: 86-23-68485060, E-mail: lishaolin@cqmu.edu.cn

食管鳞癌是当今世界上严重威胁人类生命与健康的最常见八大恶性肿瘤之一。2008年流行病学统计数据显示,全球食管鳞癌新发病例48.2万,死亡病例40.2万^[1]。我国北方是食管鳞癌高发区之一,全国每年发病人数约为25万,占全球每年发病人数一半以上^[2]。食管鳞癌预后差,5年生存率只有10%~25%,单纯放疗5年生存率不到10%^[3]。因此,提高食管鳞癌治愈率,提高食管鳞癌放疗疗效是亟待解决的问题。

Jak2/Stat3信号通路已被证实与多种肿瘤发生、发展、侵袭转移密切相关,其在食管鳞癌中高表达,且与预后呈正相关^[4]。研究^[5-6]发现,Jak2特异性阻断剂AG490可抑制Stat3的活化,抑制肿瘤细胞的增殖。而关于AG490阻断Stat3信号通路是否能够增加放疗敏感性,目前尚不清楚。本研究采用AG490作用于食管鳞癌Eca-109细胞,观察其对细胞增殖凋亡及放疗敏感性的影响,并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料及设备

人食管鳞癌Eca-109细胞购于中国科学院上海细胞库。RPMI1640培养基和胎牛血清购于HyClone;AG490(sc-202046)购于Santa Cruz;抗体Stat3、p-Stat3(pS705)购于Epitomics;抗体Bcl-2、Bax购于Santa Cruz;抗体 β -actin购于北京四正柏;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG购于联科生物;MTT试剂盒、Annexin V-FITC试剂盒、全蛋白提取试剂盒购于凯基生物;Giemsa染液购于南京建成;SDS-PAGE凝胶配制试剂盒购于碧云天。放疗使用美国Varian 21EX直线加速器;凋亡检测使用美国Becton Dickinson流式细胞仪。

1.2 细胞培养及药物配制

Eca-109细胞常规培养于含有10%胎牛血清的RPMI1640培养基中,置于37℃,5%CO₂孵箱内培养。10mg AG490溶于1mL DMSO中,按照实验分组分别配制成0、25、50、100 μ mol/L浓度。

1.3 MTT检测Eca-109细胞的增殖

将对数期Eca-109细胞接种于96孔板中,细胞密度为 5×10^3 /孔,待细胞贴壁后换成含不同浓度AG490的培养基培养,各浓度梯度设6个复孔,分别在加入AG490后1、2、3、4、5 d按照试剂盒说明加入MTT,常规培养4 h,加入DMSO 150 μ L,采用酶标仪检测各孔在490 nm波长处的光密度值 $[D(490)]$ 。

1.4 Annexin V-FITC/PI双染流式细胞仪检测细胞凋亡

将对数期Eca-109细胞接种于6孔板中,细胞密度为 1×10^6 /孔,待细胞贴壁后换成含不同浓度AG490的培养基培养,在给予AG490处理48 h后,用胰酶消化,将细胞悬液依次加入5 μ L Annexin V-FITC和10 μ L 20 g/L PI,混匀后室温避光孵育15 min,1 h后使用流式细胞仪检测。每组实验重复3次。

1.5 克隆形成实验检测细胞放射敏感性

取对数生长期细胞接种于6孔板中,待两组(AG490 0、50 μ mol/L)细胞贴壁后,分别给予0、2、4、6、8、10 Gy单次吸收剂量照射(照射条件:6 MV X射线,剂量率300 cGy/min,SSD 100 cm),每个剂量点设3个平行样本,照射后24 h各组均换成常规培养基,常规培养2周后4%,多聚甲醛固定、吉姆萨染色。将培养板在低倍显微镜下计数,大于50个细胞的克隆计为有效克隆。克隆形成率(planting efficiency, PE) = 克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$,存活分数(survival fraction, SF) = 受照射细胞的克隆形成率/对照组细胞克隆形成率 $\times 100\%$ 。采用Graph-Pad Prism 5软件,根据打击多靶模型 $SF = 1 - [1 - \exp(-D_0/D)]^N$ 拟合细胞存活曲线,获得 D_0 (平均致死剂量)、 N 、 D_q (准域剂量)、 SF_2 、SER等放射生物学参数。

1.6 Western blot检测各组细胞Stat3、p-Stat3、Bcl-2、Bax蛋白表达

采用全蛋白提取试剂盒提取各组细胞蛋白,并进行定量。按照每孔50 μ g总蛋白进行SDS-PAGE电泳,然后将蛋白转印到PVDF膜上,用含5%脱脂奶粉的PBST封闭1 h,加入一抗4℃过夜,一抗稀释比例(Stat3 1:2 000、p-Stat3 1:2 000、Bcl-2 1:500、Bax 1:500),二抗37℃孵育1 h时,ECL化学发光,Bio-Rad凝胶成像系统采集图像,Quantity One软件进行灰度值分析,每组实验重复3次。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用SPSS 14.0统计软件进行单因素方差分析和两因素重复测量资料的方差分析。

2 结果

2.1 AG490抑制Eca-109细胞的增殖

采用MTT实验检测AG490对Eca-109细胞体外增殖能力的影响,结果见表1,与对照组(0 μ mol/L)比较,AG490各浓度组(25、50、100 μ mol/L)均可抑制Eca-109细胞的增殖,且随着AG490的浓度增大、作用时间增加,抑制作用增大,呈现量效-时效关系($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

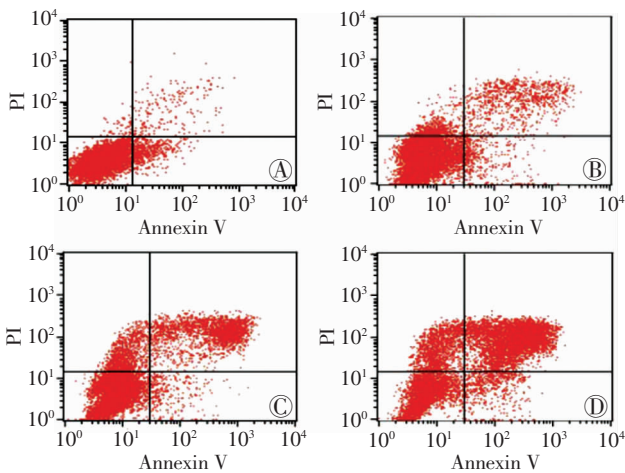
表1 不同AG490浓度对食管鳞癌Eca-109细胞增殖的影响
[D(490), n=6, $\bar{x} \pm s$]

AG490 浓度	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
0 $\mu\text{mol/L}$	0.26 \pm 0.03	0.52 \pm 0.03	0.88 \pm 0.05	1.49 \pm 0.05	2.42 \pm 0.19
25 $\mu\text{mol/L}$	0.25 \pm 0.03	0.35 \pm 0.01 ^{ac}	0.64 \pm 0.04 ^{ad}	1.27 \pm 0.06 ^{ac}	2.08 \pm 0.13 ^{af}
50 $\mu\text{mol/L}$	0.25 \pm 0.02	0.33 \pm 0.02 ^{bc}	0.51 \pm 0.04 ^{bd}	1.09 \pm 0.08 ^{bc}	1.65 \pm 0.13 ^{bf}
100 $\mu\text{mol/L}$	0.26 \pm 0.02	0.31 \pm 0.02 ^{bc}	0.44 \pm 0.02 ^{bd}	0.94 \pm 0.03 ^{bc}	1.38 \pm 0.12 ^{bf}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同时时间点 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较; c: $P < 0.05$, 与同浓度组 1 d 比较; d: $P < 0.05$, 与同浓度组 2 d 比较; e: $P < 0.01$, 与同浓度组 3 d 比较; f: $P < 0.01$, 与同浓度组 4 d 比较

2.2 AG490 增加 Eca-109 细胞凋亡

采用 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞仪检测 AG490 作用 48 h 后 Eca-109 细胞凋亡情况。结果见图 1, Jak2 抑制剂 AG490 各浓度组(25, 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$)均可诱导 Eca-109 细胞凋亡, 各浓度组凋亡率分别为: (14.61 \pm 1.06)%、(27.32 \pm 0.17)% 和 (55.97 \pm 1.47)%, 较对照组(0 $\mu\text{mol/L}$) 凋亡率 (3.75 \pm 0.47)% 明显增加 ($P < 0.01$), 随着 AG490 的浓度增大, 凋亡率增加, 呈现量效关系。



A: AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; B: AG490 25 $\mu\text{mol/L}$ 组; C: AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 组; D: AG490 100 $\mu\text{mol/L}$ 组

图1 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞仪检测不同 AG490 浓度组对食管鳞癌 Eca-109 细胞的凋亡

2.3 AG490 增加 Eca-109 细胞的放疗敏感性

应用克隆形成实验检测 AG490 是否能增加 Eca-109 细胞放疗敏感性。给予不同剂量(0, 2, 4, 6, 8, 10 Gy) X 射线照射各组(0, 50 $\mu\text{mol/L}$) Eca-109 细胞, 分析克隆形成实验结果, 计算克隆形成率(PE)和存活分数(SF), 根据打击多靶模型拟合细胞存活曲线。结果见图 2, 表 2: 与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 组在各照射剂量组存活率均降低, 放射生物学参数 SF_2 、 D_0 、 D_q 、 N 值均降低 ($P < 0.05$), $SERD_0$ 和 $SERD_q$ 分别为 1.23 和 1.53 ($P < 0.05$)。AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 提高了 Eca-109 细胞的放疗敏感性。

2.4 AG490 对 Eca-109 细胞 Stat3、p-Stat3 蛋白表达的影响

采用 Western blot 检测 AG490 对 Stat3、p-Stat3 蛋白表达的影响。由图 3A 和 B 可见, 给予 4 Gy X 射线 24 h 后 p-Stat3 的表达明显增加, 而 Stat3 表达无明显改变, X 射线活化 Stat3。给

予 Eca-109 细胞 AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 24 h 可降低 p-Stat3 的表达 ($P < 0.05$), 给予 AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 预处理, 可降低 X 射线引起的 Stat3 活化, p-Stat3 的表达降低 ($P < 0.05$)。结果表明 AG490 通过降低 X 射线引起的 Stat3 活化而增加食管鳞癌 Eca-109 细胞的放疗敏感性。

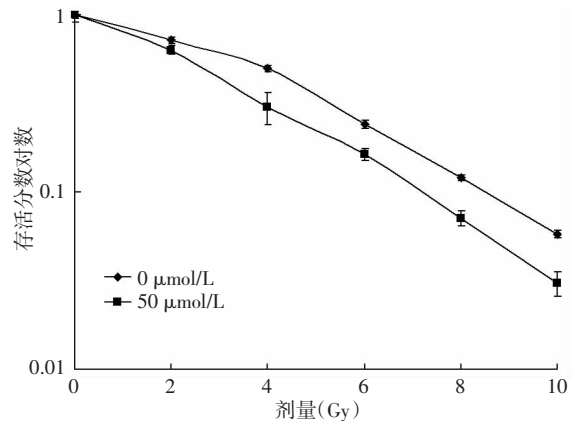
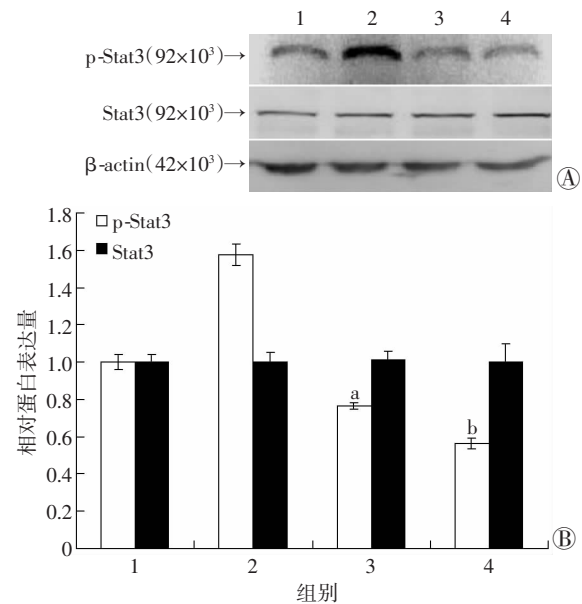


图2 单击多靶模型拟合 AG490 作用食管鳞癌 Eca-109 的细胞存活曲线分析

表2 各组细胞放射生物学参数比较 (n=3)

组别	SF_2	D_0 (Gy)	D_q (Gy)	N	$SERD_0$	$SERD_q$
IR 组	0.74 \pm 0.04	3.14 \pm 0.14	1.86 \pm 0.21	1.81 \pm 0.22	1	1
IR + 50 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.63 \pm 0.03 ^a	2.55 \pm 0.11 ^a	1.21 \pm 0.15 ^a	1.61 \pm 0.16 ^a	1.23 \pm 0.12 ^a	1.53 \pm 0.13 ^a

a: $P < 0.05$, 与 IR 组比较



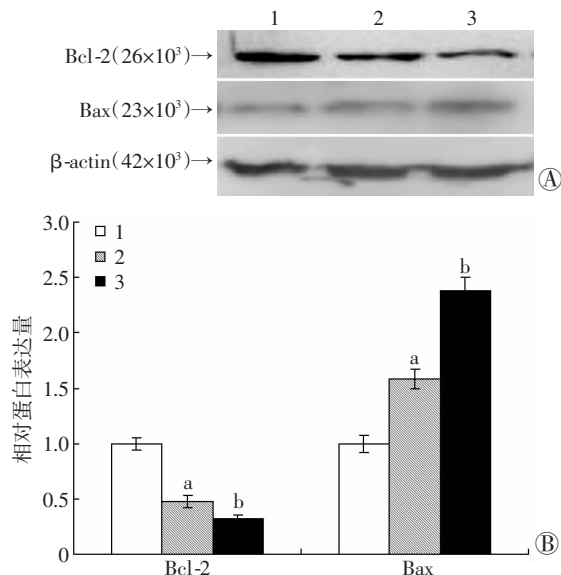
A: Western blot 检测结果; B: 半定量分析结果 1: AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; 2: AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ + 4 Gy 组; 3: AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ + 4 Gy 组; 4: AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 组 a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与 AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ + 4 Gy 组 p-Stat3 表达比较

图3 Western blot 检测不同浓度 AG490 组联合 X 射线对食管鳞癌 Eca-109 细胞 Stat3、p-Stat3 蛋白的表达

2.5 AG490 对 Eca-109 细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

采用 Western blot 检测 AG490 对抗凋亡蛋白 Bcl-2、凋亡蛋白 Bax 蛋白表达的影响。由图 4A 和 B 可见, 与对照组

(0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, 给予 Eca-109 细胞 AG490 (50、100 $\mu\text{mol/L}$) 处理 24 h 后, Bcl-2 的表达降低 ($P < 0.05$), Bax 的表达增加 ($P < 0.05$), 且表达增加呈剂量依赖性。该结果表明 AG490 通过降低抗凋亡蛋白 Bcl-2、增加凋亡蛋白 Bax 的表达而食管鳞癌 Eca-109 细胞的凋亡。



A: Western blot 检测结果; B: 半定量分析结果 1: AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; 2: AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 组; 3: AG490 100 $\mu\text{mol/L}$ 组
a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与 AG490 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较

图4 Western blot 检测不同浓度 AG490 对食管鳞癌 Eca-109 细胞 Bcl-2、Bax 蛋白的表达

3 讨论

信号转导和转录活化因子 (signal transducers and activators of transcription, Stat3s) 是 1900 年 Darnell^[7] 在研究干扰素信号通路时发现的一类由细胞因子、生长因子等多肽类配体激活的转录因子, 是酪氨酸蛋白激酶-信号转导和转录活化因子 (Jaks-Stats) 转导途径中的重要成员。Stat3 蛋白与肿瘤的发生、发展密切相关, 在细胞因子、生长因子和癌基因的作用下, 通过 Jak 或丝氨酸胰酶诱导, Stat3 被激活并形成 p-Stat3, 进入细胞核后与目的基因的启动子区域结合, 调节靶基因转录, 与肿瘤的增殖、分化、细胞凋亡、血管生成、浸润转移及免疫逃逸密切相关^[8]。Jak2/Stat3 信号通路在食管鳞癌中高表达^[4], 而其在调控食管鳞癌细胞增殖凋亡及放疗敏感性方面的作用及机制尚不明确。

AG490^[9] 是一种人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物, 是 Jak2 的特异性抑制剂, 其能够特异性抑制 Jak2 的磷酸化作用, 进一步抑制 Stat3 的磷酸化。研究^[6] 表明 AG490 通过阻断 Jak2/Stat3 信号通路, 抑制肿瘤增殖。本研究显示, AG490 各浓度组对 Eca-109 细胞均有增殖抑制作用, 且随着 AG490 的浓度增大、作用时间增加, 抑制作用增大, 呈现量效-时效关

系。AG490 各浓度组均可诱导 Eca-109 细胞凋亡, 且随着 AG490 的浓度增大, 凋亡率增加, 呈现量效关系, 该结果与文献^[6] 报道一致。

放射线作用于肿瘤细胞, 主要引起细胞 DNA 损伤, 诱导肿瘤细胞凋亡。Barry 等^[10] 报道, Stat3 调控 DNA 损伤修复途径, 提示 Stat3 可作为放射增敏的靶点。研究^[11-12] 表明, 沉默 Stat3 表达可提高肿瘤的放疗敏感性。放射生物学参数 SF₂、D₀、D_q、N 值是评价细胞放疗敏感性的重要指标。N 和 D_q 代表存活曲线的肩宽, 表示细胞对放射的亚致死损伤修复能力的大小, D₀ 表示平均致死剂量, SER 是指放射增敏比。本研究给予 Eca-109 细胞 AG490 50 $\mu\text{mol/L}$ 预处理, 放疗后细胞存活率降低, 放射生物学参数 SF₂、D₀、D_q、N 值均降低, SERD₀ 和 SERD_q 分别为增加了 1.23 和 1.53 倍, 说明阻断 Jak2/Stat3 信号通路, 食管鳞癌 Eca-109 细胞对 X 线的平均致死量变小、亚致死损伤修复能力减弱, 进而促进其对放射性的敏感性。本研究采用 Western blot 检测 AG490 联合 X 射线后 Stat3、p-Stat3 蛋白表达, 结果发现 X 射线可引起 Stat3 的活化, 而 AG490 可抑制 Stat3 的活化, 结合 Stat3 调控 DNA 损伤修复途径的理论^[10], 推测 AG490 放疗增敏的机制为抑制 Stat3 的活化, 而进一步调控放射线引起的 DNA 损伤修复, 该推测尚待进一步研究证实。

为明确 AG490 抑制食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖, 诱导凋亡的机制, 我们采用 Western blot 检测抗凋亡蛋白 Bcl-2、凋亡蛋白 Bax 蛋白表达情况。结果表明 AG490 下调 Bcl-2 表达、上调 Bax 蛋白表达。AG490 通过降低抗凋亡蛋白 Bcl-2、增加凋亡蛋白 Bax 的表达而食管鳞癌 Eca-109 细胞的凋亡。这一结果与文献^[6] 报道一致。

综上所述, 本实验证实 AG490 在体外可抑制 Eca-109 细胞增殖、增加细胞凋亡、增加放疗敏感性, 其机制可能通过阻断 Stat3 蛋白的活化, 调控凋亡相关蛋白 (Bcl-2 和 Bax) 的表达。提示 Jak2/Stat3 信号通路在食管鳞癌细胞增殖与凋亡中起到重要的作用, Jak2/Stat3 抑制剂可能有希望用于食管鳞癌的辅助治疗, 与放疗联合起到协同作用, 为提高食管鳞癌放疗疗效提供理论依据。

参考文献:

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] 钟钊, 谭家驹, 徐致祥. 食管癌流行病学病因学研究进展 [J]. 河南预防医学杂志, 2011, 22(1): 1-10, 17.
- [3] Herskovic A, Russell W, Liptay M, et al. Esophageal carcinoma advances in treatment results for locally advanced disease: review [J]. Ann Oncol, 2012, 23(5): 1095-1103.
- [4] You Z, Xu D, Ji J, et al. JAK/STAT signal pathway activation pro-

- notes progression and survival of human oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(2): 143-149.
- [5] Yu R X, Hu X M, Xu S Q, *et al.* Effects of fucoxanthin on proliferation and apoptosis in human gastric adenocarcinoma MGC-803 cells *via* JAK/STAT signal pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 657(1/3): 10-19.
- [6] Zhang H, Zhang D, Luan X, *et al.* Inhibition of the signal transducers and activators of transcription (STAT) 3 signalling pathway by AG490 in laryngeal carcinoma cells [J]. *J Int Med Res*, 2010, 38(5): 1673-1681.
- [7] Darnell J E Jr, Kerr I M, Stark G R. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signalling proteins [J]. *Science*, 1994, 264(5164): 1415-1421.
- [8] Johnston P A, Grandis J R. STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges [J]. *Mol Interv*, 2011, 11(1): 18-26.
- [9] Sansone P, Bromberg J. Targeting the interleukin-6/Jak/stat pathway in human malignancies [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(9): 1005-1014.
- [10] Barry S P, Townsend P A, Knight R A, *et al.* STAT3 modulates the DNA damage response pathway [J]. *Int J Exp Pathol*, 2010, 91(6): 506-514.
- [11] Bonner J A, Trummell H Q, Willey C D, *et al.* Inhibition of STAT-3 results in radiosensitization of human squamous cell carcinoma [J]. *Radiother Oncol*, 2009, 92(3): 339-344.
- [12] Li X, Wang H, Lu X, *et al.* STAT3 blockade with shRNA enhances radiosensitivity in Hep-2 human laryngeal squamous carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(2): 345-353.
- (收稿:2012-11-07;修回:2013-01-04)
(编辑 汪勤俭)

文章编号:1000-5404(2013)13-1361-01

个案与短篇

IgG型多发性骨髓瘤自体造血干细胞移植后复发合并急性淋巴细胞白血病1例

侯慧明,张红宾,刘林 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院血液内科)

[关键词] 多发性骨髓瘤;白血病;淋巴细胞;急性

[中图分类号] R733.71 [文献标志码] B

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)自体造血干细胞移植后复发合并急性淋巴细胞白血病临床极其罕见,目前国内外对此均缺乏系统研究。我院近期收治1例IgG型多发性骨髓瘤自体造血干细胞移植后并发急性淋巴细胞白血病患者。通过对该病例的回顾性分析,结合国内外文献报道,进一步探求该罕见疾病的发病机制、临床表现,寻找预防和治疗措施,为今后此类疾病的诊治提供经验和教训。

1 临床资料

患者,女性,51岁。因“腰骶部疼痛4⁺个月,发现红细胞减少15 d”入院。入院查体:中度贫血貌, L₁椎体及棘突压痛明显。血常规:白细胞总数 6.8 × 10⁹/L,血红蛋白 77 g/L,血小板 212 × 10⁹/L。血清蛋白电泳:γ球蛋白 43.3%,免疫球蛋白定量 IgG 88.37 g/L, IgM 0.20 g/L, IgA 0.05 g/L;尿本周蛋白阴性;血沉 160 mm/h;血清 β₂-MG 4 987 μg/L;骨穿显示浆细胞增生明显活跃,原幼浆细胞占 79%。X线检查示 L₁椎体陈旧压缩骨折, L₁₋₂椎间隙轻度狭窄,骨盆及双侧股骨骨质疏松,并可见多个大小不等局限性透亮区。诊断为多发性骨髓瘤 IgG型 III期 A组。给予 CHOD(环磷酰胺、表柔比星、长春地辛、地塞米松)方案 × 2, MOED(米托蒽醌、长春地辛、依托泊苷、地塞米松)方案 × 1 化疗后达到完全缓解,并采集自体造血干细胞,行自体外周血干细胞移植(马法兰 180 mg/m²预处理)。期间患者病情平稳,门诊随访血常规,未见其他并发症。后门诊予以

干扰素和沙利度胺维持治疗。

移植 39 个月患者因腰痛再次入院,体格检查:慢性病容,贫血貌,全身皮肤黏膜无黄染、瘀斑、瘀点,浅表淋巴结未扪及肿大,胸骨压痛(-)。余无特殊。血常规:白细胞总数 3.26 × 10⁹/L,红细胞计数 4.17 × 10¹²/L,血小板 292 × 10⁹/L,中性粒细胞百分比 27%,淋巴细胞百分比 57%,免疫球蛋白定量 IgG 18.40 g/L,复查骨髓象示浆细胞占 39%,原幼淋巴细胞占 31%;流式细胞学检查提示符合急性 B 淋巴细胞白血病(普通型 B-ALL)合并异常浆细胞增殖性疾病(浆细胞骨髓瘤可能),染色检测结果显示 46,XX[20]未见明显异常,MLL/AFX、MLL/AF6、MLL/ELL、MLL/AF1P、AML1/MDS1、BCR/ABL、PML/RARa、TEL/ABL 等融合基因检测阴性。诊断:多发性骨髓瘤复发合并急性淋巴细胞白血病 L₂型,先后予以 VTP(长春地辛、吡柔比星、泼尼松)、CHOD(环磷酰胺、表柔比星、长春地辛、地塞米松)方案化疗及对症治疗,多次复查骨髓象仍提示未缓解,后患者放弃治疗,自动出院,失去随访。

2 讨论

MM 是一种浆细胞恶性克隆性疾病,临床特征主要为骨痛、贫血、反复感染、出血、肾脏损害、异常免疫球蛋白血症、血液黏稠度增高等表现。骨髓中出现原始和/或幼稚浆细胞,血和尿中可存在单克隆免疫球蛋白。免疫学和分子生物学研究发现其恶性克隆细胞起始于早期前 B 细胞(pre-Bcell),其根据是 MM 患者除有单克隆恶变浆细胞外,还有单克隆淋巴细胞,但具体病因尚不明确。急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的发生和发展起源于 B 系或 T 系淋巴祖细胞恶变,引起恶变的危险因素包括化学物质,尤其是烷化剂被认为与人类白血病关系密切。由此可见,MM 与 ALL 在发病机制

(下转 1370 页)

[通信作者] 张红宾, E-mail: usamake@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130530.0838.003.html> (2013-05-30)