

# 神经钙黏素、可溶性细胞间黏附分子-1 与血管内皮生长因子在多发性骨髓瘤患者中的表达及临床意义

李丹 何伟锋 岳文婧

**【摘要】 目的** 探讨神经钙黏素 (N-Cadherin)、可溶性细胞间黏附分子-1 (sICAM-1), 以及血管内皮生长因子 (VEGF) 在多发性骨髓瘤患者中的表达及临床意义。**方法** 选取 70 例多发性骨髓瘤患者 (观察组) 和同期 70 名健康志愿者 (对照组) 作为研究对象, 采用流式细胞术检测 2 组血清 N-Cadherin 阳性细胞在  $CD138^{+}/CD38^{+}$  细胞中的比例以表示 N-Cadherin 的表达水平, 采用 ELISA 测定 2 组血清 sICAM-1 和 VEGF 的表达水平, 比较 N-Cadherin、sICAM-1 及 VEGF 在不同临床分期患者中的差异。**结果** 观察组血清 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 表达水平均高于对照组 ( $P$  均  $<0.05$ ); 不同临床分期患者血清 N-Cadherin 表达水平比较差异无统计学意义 ( $P >0.05$ ); 不同临床分期患者血清 sICAM-1 及 VEGF 表达水平比较差异均具有统计学意义 ( $P$  均  $<0.05$ )。**结论** N-Cadherin 在多发性骨髓瘤患者中呈高表达, 但与疾病分期无关, 而 sICAM-1 及 VEGF 水平的检测对于判断多发性骨髓瘤的发生及病程进展可能有重要参考意义。

**【关键词】** 神经钙黏素; 可溶性细胞间黏附分子-1; 血管内皮生长因子; 多发性骨髓瘤; 临床意义

**Expression levels and clinical significance of N-cadherin, soluble intercellular adhesion molecule-1 and vascular endothelial growth factor in patients with multiple myeloma** Li Dan, He Weifeng, Yue Wenjing.

The First People's Hospital of Huizhou, Huizhou 513000, China

Corresponding author, He Weifeng

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression levels and clinical significance of N-Cadherin, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with multiple myeloma. **Methods** Seventy multiple myeloma patients were assigned into the observation group and 70 healthy subjects were allocated into the control group. The percentage of serum N-Cadherin-positive cells among  $CD138^{+}/CD38^{+}$  cells was measured by flow cytometry to represent the expression level of N-Cadherin. The expression levels of serum sICAM-1 and VEGF in all subjects were quantitatively measured by ELISA. The expression of N-Cadherin, sICAM-1 and VEGF was statistically compared among patients of different clinical staging. **Results** In the observation group, the expression levels of serum N-Cadherin, sICAM-1 and VEGF were significantly up-regulated compared with those in the control group (all  $P <0.05$ ). No statistical significance was identified in the expression of serum N-Cadherin among patients of different clinical staging ( $P >0.05$ ). The expression levels of sICAM-1 and VEGF significantly differed among patients of different clinical staging (all  $P <0.05$ ). **Conclusions** N-Cadherin is highly expressed in patients diagnosed with multiple myeloma, which is not correlated with the disease staging. However, detection of sICAM-1 and VEGF is of potential significance for estimating the incidence and progression of multiple myeloma.

**【Key words】** N-Cadherin; Soluble intercellular adhesion molecule-1; Vascular endothelial growth factor; Multiple myeloma; Clinical significance

多发性骨髓瘤是一种恶性浆细胞病，多发于中老年人群，以肾功能不全、骨痛、贫血为主要临床表现<sup>[1]</sup>。多发性骨髓瘤发病较为缓慢，一般早期无明显症状，被误诊的可能性较大<sup>[2]</sup>。神经钙黏素（N-Cadherin）是一种细胞黏附分子，通过骨髓基质细胞和造血干细胞之间同型分子的黏附作用，参与维持造血干细胞自我更新潜能和干细胞特性，有文献报道其在血液系统肿瘤和上皮癌中表达异常，但临床关于其与多发性骨髓瘤的相关研究鲜有报道<sup>[3-5]</sup>。可溶性细胞间黏附分子-1（sICAM-1）在非造血和造血干细胞中广泛分布，研究显示，sICAM-1 在多发性骨髓瘤患者的血清中处于高表达<sup>[6]</sup>。血管内皮生长因子（VEGF）是一种特异性生长因子，参与血管的生成，是判断很多恶性肿瘤疗效、预后的参考指标。本研究通过检测多发性骨髓瘤患者及其不同临床分期时 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 的表达水平，分析其在多发性骨髓瘤患者发生及发展过程中的临床意义。

对象与方法

一、研究对象  
选取我院 2015 年 7 月至 2016 年 11 月收治的 70 例多发性骨髓瘤患者作为观察组，其中男 40 例、女 30 例，年龄（60.22 ± 6.78）岁。复发患者 30 例，初诊患者 40 例。Durie-Salmon 分期体系分期：Ⅰ期 4 例，Ⅱ期 19 例，Ⅲ期 47 例。选取同期在我院进行健康检查的 70 名志愿者作为对照组，其中男 41 例、女 29 例，年龄（60.52 ± 6.62）岁。2 组性别、年龄具可比性（*P* 均 > 0.05）。

二、方 法  
1. N-Cadherin 表达检测  
采集所有研究对象 1 ml 骨髓注入肝素抗凝管中，在流式试管中加入 50 μl 骨髓，并向试管中加入单克隆抗体，常温避光保存 20 min 后，向试管中加入红细胞裂解液 1 ml，室温保存 10 min，离心

处理后将上清液舍弃，在试管中加入 1.5 ml 生理盐水，再次进行离心处理后将上清液舍去，应用美国 Beckman Coulter 生产的 Epics XL 型流式细胞仪获取 100 000 个细胞，采用 CD45/SSC 和 CD38/SSC 设门法直接检测，所用抗体均来自美国 Beckman Coulter 公司，包括：抗 CD325-PE、抗 CD45-ECD、抗 CD38-PC5、抗 CD138-FITC。计算 N-Cadherin（CD325）阳性细胞在 CD38<sup>+</sup>/CD138<sup>+</sup> 细胞中的比例。

2. sICAM-1 和 VEGF 表达检测  
采集所有研究对象 5 ml 空腹静脉血，以 3 500 r/min 的速度离心 15 min，取血清并放置在零下 80℃ 的环境中保存，采用 ELISA 测定 sICAM-1 和 VEGF，试剂盒由美国晶美生物公司生产，严格按照试剂盒使用说明操作。

三、观察指标  
比较 2 组 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 表达水平，以及不同临床分期患者 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 表达水平。

四、统计学处理  
用 SPSS 18.0 软件进行数据处理，计量资料符合正态分布以  $\bar{x} \pm s$  表示，不符合正态分布以中位数（四分位数间距）表示。2 组间比较（若符合正态分布）采用独立样本 *t* 检验，否则用 Wilcoxon 秩和检验。多组间若满足正态和方差齐性，比较采用方差分析，进一步两两比较采用 LSD-*t* 法；否则用秩和检验（Kruskal-Wallis 检验法）。*P* < 0.05（双侧）为差异具有统计学意义。

结 果

一、观察组与对照组 N-Cadherin、sICAM-1 及 VEGF 表达水平的分析  
观察组血清 N-Cadherin、sICAM-1 及 VEGF 表达水平均高于对照组（*P* 均 < 0.001），见表 1。观察组中 12 例（11.5%）高表达 N-cadherin。

表 1 观察组与对照组血清 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 表达水平比较				
组 别	例数	N-Cadherin（%）	sICAM-1（μg/L）	VEGF（mg/L）
观察组	70	16.50（31.47）	365.26 ± 105.25	620.20 ± 194.50
对照组	70	0.54（0.21）	285.33 ± 80.15	119.48 ± 67.49
<i>t</i> / <i>Z</i> 值		3.807	5.055	20.238
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

二、不同临床分期多发性骨髓瘤患者血清 N-Cadherin、sICAM-1 和 VEGF 表达水平分析

不同临床分期患者 N-Cadherin 表达水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；不同临床分期患者 sICAM-1 表达水平比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ )，两两比较，差异也具有统计学意义 ( $P$

均  $< 0.05$ )；不同国际分期系统 (ISS) 分期患者的 VEGF 表达水平比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ )，两两比较，差异也具有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ )。越高表达的 sICAM-1 和 VEGF，预示越严重的多发性骨髓瘤分期。见表 2。

表 2 不同临床分期多发性骨髓瘤患者血清 N-Cadherin、sICAM-1、VEGF 表达水平比较

ISS 分期	N-Cadherin (%)	sICAM-1 (μg/L)	VEGF (mg/L)
I 期 (4 例)	9.89 (21.36)	303.58 ± 120.15 <sup>a</sup>	402.58 ± 139.59 <sup>a</sup>
II 期 (19 例)	12.37 (18.26)	387.38 ± 161.11 <sup>a</sup>	547.03 ± 189.38 <sup>a</sup>
III 期 (47 例)	11.89 (15.43)	650.65 ± 230.25 <sup>a</sup>	702.34 ± 248.31 <sup>a</sup>
H/F 值	2.857	14.357	33.346
P 值	0.332	< 0.001	< 0.001

注：两两比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$

讨 论

多发性骨髓瘤是以浆细胞在骨髓内恶性增殖并伴随单克隆抗体产生为特征的克隆性血液病，在血液恶性肿瘤中约占 10%，患者伴有肾功能损害、高钙血症以及多发性溶骨性损害，严重影响患者的生活质量。多发性骨髓瘤不同个体之间治疗反应和临床特征均存在一定的差异，是一种异质性明显的疾病，可能与蛋白水平与骨髓瘤细胞分子差异性相关<sup>[7]</sup>。骨髓微环境不仅能够维持正常造血干细胞的自我更新，而且也是维持骨髓瘤细胞生存的重要场所，骨髓微环境的异常、细胞内信号通路传导的异常等，在多发性骨髓瘤的发病过程中起了重要的作用。

N-Cadherin 是钙黏附分子家族的一员，由其介导的细胞与细胞间的黏附对细胞行为起着重要调节作用。最近研究表明，N-Cadherin 在前列腺癌、乳腺癌等多种实体肿瘤中表达水平上调，并与肿瘤的病理分级及高侵袭性有关<sup>[8-9]</sup>。Groen 等<sup>[10]</sup>认为 N-Cadherin 介导骨髓瘤细胞与成骨细胞的相互黏附，抑制成骨细胞的分化，导致骨质疏松，并参与骨髓瘤细胞的迁移、黏附及定居。本研究结果显示，与健康检查者相比，多发性骨髓瘤患者骨髓中 N-Cadherin 阳性细胞比例明显升高，这与文献报道的实体肿瘤中 N-Cadherin 表达水平上升一致<sup>[8-9]</sup>。同时本研究显示 12 例 (11.5%) 患者高表达 N-Cadherin，与文献报道的流式细胞术测得 6/15 患者骨髓瘤细胞 N-Cadherin 异常表达率不一致，可能与不同的标本数量有关<sup>[11]</sup>。我们还发现不同临

床分期患者 N-Cadherin 表达水平无明显差异，这与实体肿瘤的相关研究结果不一致<sup>[8-9]</sup>。支蕾等<sup>[12]</sup>认为 N-Cadherin 在维持白血病干细胞自我更新和抗药性的特征中起重要作用。关于 N-Cadherin 在白血病及多发性骨髓瘤等血液系统恶性疾病中的表达及临床意义的研究相对较少，仍需进行大样本的研究。

sICAM-1 属于 Ig 家族 (IGSF) 成员，存在于细胞表面，介导细胞与细胞间或细胞与基质间相互接触和结合<sup>[13]</sup>。近年来研究显示，sICAM-1 表达升高时可以选择性促进肿瘤转移过程中与浸润组织的黏附，使其定植在远隔器官，形成转移<sup>[14]</sup>。多种恶性血液病如淋巴瘤、急性髓细胞白血病等患者血清 sICAM-1 水平显著升高，并与疾病分期、分型及预后相关<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示，不同临床分期患者间 sICAM-1 表达水平具有明显差异，且越严重的临床分期，sICAM-1 的表达水平越高，这与文献研究结果是一致的<sup>[16]</sup>。

VEGF 是一种对血管内皮细胞具有特异性的肝素结合生长因子，其可诱导血管新生。VEGF 可以作为多种肿瘤的疗效和预后判定指标<sup>[17]</sup>。有学者认为多发性骨髓瘤患者的 VEGF 升高导致了微血管再生能力的增强，为多发性骨髓瘤的疾病发展提供了条件，因此不同分期患者的 VEGF 水平有所不同<sup>[18]</sup>。本研究结果显示不同临床分期患者间 VEGF 表达水平具有明显差异，且越严重的临床分期，VEGF 的表达水平也越高，这与李欣等<sup>[18]</sup>研究结果一致。

综上所述，N-Cadherin 在多发性骨髓瘤患者中

呈高表达,但与病程无明显相关性,仍需收集大样本作进一步研究;检测血清 sICAM-1 及 VEGF 水平对于判断多发性骨髓瘤的发生及疾病进展有重要意义。

# 参 考 文 献

- [1] Caers J, Withofs N, Hillengass J, Simoni P, Zamagni E, Hustinx R, Beguin Y. The role of positron emission tomography-computed tomography and magnetic resonance imaging in diagnosis and follow up of multiple myeloma. *Haematologica*, 2014, 99 (4): 629-637.
- [2] Sharma P, Madi HA, Bonshek R, Morgan SJ. Cloudy corneas as an initial presentation of multiple myeloma. *Clin Ophthalmol*, 2014, 28 (8): 813-817.
- [3] 王瑞. 神经型钙黏蛋白在骨髓微环境中的作用. *国际输血及血液学杂志*, 2014, 37 (1): 53-56.
- [4] 范琼, 鲍伟, 杨婷婷, 刘小奕, 吴丹. Twist、E-cadherin、N-cadherin 在宫颈鳞癌中的表达及意义. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2012, 32 (6): 783-787.
- [5] 马杰, 刘亚杰, 张秋堂, 余庆峰, 张占芳, 张梦颖, 王冲, 甘思林, 陈胜梅, 曹伟杰, 谢新生, 刘延方, 刘林湘, 万鼎铭, 王芳, 孙玲, 孙慧. N-cadherin 在急性白血病患者骨髓白血病细胞中的表达及意义. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24 (5): 1312-1318.
- [6] 张红梅, 赵玉峰, 刘强. 再生障碍性贫血与急性白血病患者血清 sVCAM-1、VEGF 的表达及意义. *解放军医学院学报*, 2010, 31 (8): 784-785.
- [7] 辛雪, 傅琤琤. 多发性骨髓瘤遗传学异常的研究进展. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2013, 7 (11): 5027-5029.
- [8] Jaggi M, Nazemi T, Abrahams NA, Baker JJ, Galich A, Smith LM, Balaji KC. N-cadherin switching occurs in high Gleason grade prostate cancer. *Prostate*, 2006, 66 (2): 193-199.
- [9] 曹莉, 熊正文, 黄勇, 苏红, 李伟. 乳腺浸润性导管癌中 N-cadherin mRNA 及蛋白的表达与预后分析. *临床与实验病理学杂志*, 2013, 29 (5): 490-493.
- [10] Groen RW, de Rooij MF, Kocemba KA, Reijmers RM, de Haan-Kramer A, Overdijk MB, Aalders L, Rozemuller H, Martens AC, Bergsagel PL, Kersten MJ, Pals ST, Spaargaren M. N-cadherin-mediated interaction with multiple myeloma cells inhibits osteoblast differentiation. *Haematologica*, 2011, 96 (11): 1653-1661.
- [11] Vandyke K, Chow AW, Williams SA, To LB, Zannettino AC. Circulating N-cadherin levels are a negative prognostic indicator in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*, 2013, 161 (4): 499-507.
- [12] 支蕾, 王琳, 田征, 饶青, 王敏, 王建祥. N-cadherin 在维持白血病干细胞特征中的作用. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18 (1): 7-10.
- [13] 马玲娣, 唐跃华, 董艳芬, 朱志超, 蒋丽佳, 何晓清, 刘娟. 苦参对急性白血病患者 sICAM-1 和 sVCAM-1 水平的影响. *检验医学与临床*, 2016, 13 (2): 150-152.
- [14] 杨君伶, 姚敏, 蔚丹丹, 严晓娣, 陈洁, 姚登福. sICAM-1 定量检测对肝细胞性肝癌诊断与预后的临床价值分析. *南通大学学报 (医学版)*, 2012, 32 (3): 180-182.
- [15] 杨琦, 郑雪晨, 黄涛生, 臧婷婷, 王占聚. 粘附分子 sICAM-1, sVCAM-1, sCD44 在高白细胞急性髓系白血病中的表达. *医学信息*, 2014, 27 (9): 75-76.
- [16] 王欢, 陈曦, 刘艳春, 刘庆荣. 老年多发性骨髓瘤患者血清增殖诱导配体、可溶性细胞间黏附分子-1、血小板生成素和血管内皮生长因子表达水平. *中国老年学*, 2014, 34 (22): 6489-6491.
- [17] 刘越峰, 罗卫民, 张勇, 钟晓东. miRNA-200b 通过靶向 VEGF 抑制视网膜母细胞瘤细胞生长与侵袭. *新医学*, 2016, 47 (8): 521-526.
- [18] 李欣, 魏秀珍, 刘晋玮. 多发性骨髓瘤患者血清中 VEGF 水平的临床意义. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22 (1): 108-111.

(收稿日期: 2017-02-20)

(本文编辑: 洪悦民)