

• 临床检验研究 •

急性白血病患者化疗前后外周血淋巴细胞 CR1 的表达

陈 莉, 吴丽娟, 胡宗海, 熊怡淞, 彭 燕, 李继红, 栗群英
(成都军区总医院检验科, 成都 610083)

摘 要:目的 观察急性白血病患者化疗前、后外周血淋巴细胞(PBL)CR1 表达的改变情况,探讨 CR1 测定在化疗疗效监测中的意义。方法 采用免疫黏附法和 ELISA 法检测 56 例健康体检者和临床确诊的 48 例急性白血病患者 PBL CR1 活性及含量,并对急性白血病患者化疗前、后的结果进行分析比较。结果 48 例急性白血病患者 PBL CR1 活性为 36.8 ± 11.6 ;PBL CR1 含量为 0.73 ± 0.18 ,均低于健康对照组(65.1 ± 16.8)和(1.16 ± 0.22),差异显著($P < 0.05$)。化疗后 39 例完全缓解者 PBL CR1 活性及含量水平回升(53.6 ± 13.2)及(0.98 ± 0.16),接近健康对照组($P > 0.05$),与化疗前比较差异也均有统计学意义($P < 0.05$),11 例未缓解者 PBL CR1 活性和 PBL CR1 含量分别为(41.2 ± 12.7)和(0.80 ± 0.19),与化疗前比较略有升高,但无统计学意义($P > 0.05$)。结论 急性白血病患者 PBL CR1 表达明显受到抑制,化疗缓解后 PBL CR1 活性及含量均有回升。检测外周血淋巴细胞 CR1 活性及含量可为临床急性白血病患者免疫监测以及疗效评估、预后判断提供有价值的参考指标。

关键词:急性白血病; 外周血; 淋巴细胞; 补体 1 型受体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)04-0406-02

The expression of CR1 in peripheral blood lymphocytes in patients with acute leukemia before and after chemotherapy

Chen Li, Wu Lijuan, Hu Zonghai, Xiong Yisong, Peng Yan, Li Jihong, Li Qunying

(Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract: Objective To determine the expression of CR1 in peripheral blood lymphocytes(PBL) in acute leukemia patients before and after chemotherapy, and to investigate the significance of monitoring CR1 in acute leukemia chemotherapy. **Methods** Immune adherence and ELISA were used to detect PBL CR1 activity and content, respectively, in 56 healthy individuals and 48 patients with definite diagnosis of acute leukemia. The expression of CR1 in acute leukemia patients before and after chemotherapy were also determined and analyzed. **Results** PBL CR1 activity and content in 48 patients with acute leukemia were 36.8 ± 11.6 and 0.73 ± 0.18 , respectively, both lower than 65.1 ± 16.8 and 1.16 ± 0.22 in healthy controls, respectively ($P < 0.05$). In 39 complete remission patients after chemotherapy, PBL CR1 activity and content were 53.6 ± 13.2 and 0.98 ± 0.16 , respectively, close to those in healthy controls ($P > 0.05$) and higher than those before chemotherapy ($P < 0.05$). Furthermore, in 11 patients without remission, PBL CR1 activity and content were 41.2 ± 12.7 and 0.80 ± 0.19 , respectively, slightly higher than those before chemotherapy, but had no statistically significance ($P > 0.05$). **Conclusion** The expression of PBL CR1 in acute leukemia was obviously inhibited. However, in remission patients after chemotherapy, both PBL CR1 activity and content returned to normal level. Therefore, measurement of PBL CR1 activity and content might provide valuable information for immune status monitoring, treatment assessment and prognosis evaluation in acute leukemia patients.

Key words: acute leukemia; peripheral blood; lymphocytes; complement receptor type 1

急性白血病是一种常见的血液系统恶性肿瘤,其特征是造血干/祖细胞恶性克隆性增生,其发生、发展与机体免疫功能状态关系密切^[1-2]。淋巴细胞是机体抗肿瘤免疫的重要活性细胞,为观察急性白血病免疫功能变化的临床意义,本文对 48 例急性白血病(AL)患者及 56 例健康体检者外周血淋巴细胞 CR1(PBL CR1)活性及含量进行检测,并对急性白血病患者化疗前后的结果进行分析比较。

1 资料与方法

1.1 一般资料 48 例 AL 均为本院 2008 年 9 月至 2011 年 5 月住院患者,其中男 26 例,女 22 例,年龄 17~65 岁,平均年龄 42 岁;急性髓细胞性白血病(AML)27 例,急性淋巴细胞性白血病(ALL)21 例。诱导缓解治疗:AML 患者采用柔红霉素+阿糖胞苷(DA)方案或柔红霉素+阿糖胞苷+足叶乙甙(DAE)方案,ALL 患者采用长春新碱+柔红霉素+环磷酰胺+强的松(VDCP)方案或长春新碱+柔红霉素+左旋门冬酰胺酶+强的松(VDLP)方案。48 例 AL 患者分别于化疗前、化疗后 3~4 周采集外周静脉血 4 mL,枸橼酸钠抗凝。56 例健康体检者为对照组。所有病例的诊断、分型及疗效判定均参考

文献[3]标准。

1.2 主要试剂和仪器 淋巴细胞分离液(中国医学科学院血液研究所);RPMI1640 培养液和小牛血清(美国 GIBCO 公司);补体致敏酵母菌(第二军医大学长海医院免疫室赠);鼠抗人 CR1 单克隆抗体和碱性磷酸酶标记羊抗人 IgG 抗体(美国 Sigma 公司);双目显微镜(BH-2,OLYMPUS);上海 MK3 全自动酶标分析仪。

1.3 PBL CR1 活性测定 参照文献[4]方法进行检测。取枸橼酸钠抗凝血,用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞,RPMI 1640 培养液洗 2 次,并用含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 液重悬,调整细胞浓度(1.0×10^7 /mL),取 0.2 mL 于 24 孔培养板中,加入补体致敏酵母菌(Y-C3b)液(1×10^8 /mL)0.2 mL,轻轻混匀,37℃孵育 30 min,加 0.25%戊二醛 0.2 mL,混匀,涂片,吹干,瑞士染色,镜检,计数 200 个淋巴细胞细胞,以连接上 2 个以上酵母菌的淋巴细胞为一个花环,计算花环率(即 PBL CR1 活性水平)。

1.4 PBL CR1 含量测定 参照文献[5]方法并加以改进。取枸橼酸钠抗凝血,分离淋巴细胞,用 S/BSA 液重悬,调整细胞

浓度(1.0×10^7 /mL),取 100 μ L 细胞悬液加于已包被抗 CR1 单抗的微孔板中,37 $^{\circ}$ C 水浴 60 min,洗板 3 次,加入碱性磷酸酶标记羊抗人 IgG 抗体 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 60 min,洗板 3 次,加入底物 100 μ L 显色 30 min,于 405 nm 波长测定 A(OD)值。

1.5 统计学处理 应用 SPSS12.0 统计软件处理数据,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,PBLCR1 活性用卡方检验、PBLCR1 含量用 t 检验比较各组间差异。

2 结 果

48 例初诊的急性白血病患者 PBL CR1 活性及数量均较健康对照组明显降低,差异显著($P<0.05$);化疗后 37 例缓解者水平回升,接近健康对照组($P>0.05$),与化疗前比较差异也均有统计学意义($P<0.05$);11 例未缓解者较化疗前略有升高,但无统计学意义($P>0.05$),结果见表 1。

表 1 急性白血病患者 PBL CR1 活性及含量测定结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	PBL CR1 活性(%)	PBL CR1 含量(OD 值)
初诊 AL 组	48	36.8 $\pm$ 11.6 [#]	0.73 $\pm$ 0.18 [#]
缓解 AL 组	37	53.6 $\pm$ 13.2 [*]	0.98 $\pm$ 0.16 [*]
未缓解组	11	41.2 $\pm$ 12.7 [#]	0.80 $\pm$ 0.19 [#]
健康组	58	65.1 $\pm$ 16.8	1.16 $\pm$ 0.22

与健康组比较,[#]: $P<0.05$;^{*}: $P>0.05$ 。

3 讨 论

淋巴细胞是构成免疫系统的主要细胞,具有高度异质性,其膜表面具有许多重要的膜分子,参与淋巴细胞不同的病理生理功能。免疫应答过程中,由于抗原的刺激导致淋巴细胞活化,进而进一步分化和增殖,在淋巴细胞膜表面出现一些静止状态下没有的膜分子,执行相应的免疫功能,维持机体内环境的稳定。细胞免疫功能缺陷,免疫监督不力是血液肿瘤形成的一大原因,急性白血病患者存在淋巴细胞数量上的改变和功能上的损害^[6-7]。CR1 是一种单链多态性跨膜糖蛋白,相对分子质量为($160\sim260$) $\times10^3$,有 4 种同种异型体,但其功能相同,广泛表达于红细胞、粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、滤泡树突状细胞等。CR1 具有多种重要的免疫功能,如具有 I 因子辅因子活性(FICA)和 C3/C4 转化酶衰变加速作用(DAA),可调节 2 条补体途径的激活;补体调理的抗原物质可经补体受体与巨噬细胞的结合,促进吞噬且有利于巨噬细胞对抗原信息的传递,刺激其他免疫细胞而扩大免疫效应;通过免疫黏附对循环免疫复合物具有强大的辅助清除作用;以及促进 T、B 细胞活化的功能^[8-9]。CR1 分子数量与其黏附免疫复合物功能显著正相关,其数量变化主要是由密度相关基因决定的。影响 CR1 分子数量的主要因素是疾病病情严重程度,其原因是循环免疫复合物产生的速度和持续时间的长短,以及血液循环中的免疫抑制因子和促进因子比例的变化等^[10-11]。T、B 淋巴细胞上都有 CR1,与淋巴细胞对抗原的免疫反应密切相关。CR1 分子表达的变化与免疫相关性疾病的发生、发展与转归有明显的相关性。因此,检测患者外周血淋巴细胞膜 CR1 表达的改变,有助

于了解急性白血病患者免疫功能异常,在疾病诊断与疗效检测中具有重要意义。

本研究结果显示,48 例初诊急性白血病患者外周血 PBL CR1 表达下降,化疗缓解后水平回升,说明白血病患者确实存在细胞免疫功能失调,且经过化疗后免疫功能有较明显的改善,免疫应答的正调节占优势,提示 PBL CR1 表达水平与 AL 病情发展相关。化疗前患者 PBL CR1 活性和含量较健康人显著降低,可能与患者病情加重、机体免疫功能下降,CR1 被代谢产物在体内形成的免疫复合物所封闭有关,也可能是由于免疫功能受到抑制造成 CR1 活性降低,或者是由于血液中的免疫复合物增多,覆盖并黏附到 CR1 上,造成 CR1 空位减少,因而表现出活性下降。

总之,本组研究结果表明急性白血病患者 PBL CR1 表达下降,提示 PBLCR1 可能与 AL 疾病的发生及病情的发展有关,检测 AL 患者 PBL CR1 分子的表达,对了解患者的免疫状况、病情进展、以及进行免疫治疗提供实验依据。但对于 PBL CR1 如何参与 AL 疾病发生、发展的机制有待进一步深入研究。

参考文献

[1] 吴朝阳,吴雅荣,王法春,等. 急性白血病患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞水平检测及临床意义[J]. 江苏大学学报(医学版),2008,18(5):432-434.

[2] 包书萌,李永哲. 急性白血病预后不良相关基因研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(9):819-821.

[3] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京:北京科学出版社,1998:168-169.

[4] 陈莉,李素华,谢秩勋,等. 外周血淋巴细胞 CR1 检测方法建立及临床应用 初探[J]. 上海医学检验杂志,1998,13(2):76.

[5] 陈莉,邹自英,朱敏,等. 外周血淋巴细胞 CR1 分子定量测定及临床应用[J]. 四川医学,2008,29(3):346-347.

[6] 李杨秋. 血液肿瘤免疫治疗学-基础研究与临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:168-169.

[7] 江雁,穆红,唐志琴,等. 急性白血病系列特异性抗原表达分析[J]. 国际检验医学杂志,2009,30(6):532-534.

[8] 郭峰,钱宝华,许育,等. 红细胞 CR1 密度相关基因组多态性与血细胞免疫活性相关性研究[J]. 中国输血杂志,2002,15(1):12-14.

[9] 王海滨,张景萍,王辉,等. 红细胞 CR1 分子的定量测定及其临床意义[J]. 中华微生物学与免疫学杂志,2000,20(4):381-384.

[10] Nuutila J. Quantitative analysis of complement receptors, CR1 (CD35) and CR3 (CD11b), on neutrophils improves distinction between bacterial and viral infections in febrile patients; comparison with standard[J]. Immunol Methods, 2006, 25 (1, 2): 191-201.

[11] 王海滨,张景萍,郭峰,等. 血细胞天然免疫黏附肿瘤细胞的现象及意义[J]. 中华微生物与免疫学杂志,2001,21(3):263-266.

(收稿日期:2011-10-09)