

• 临床检验研究论著 •

慢性粒细胞白血病患者血清 IL-21 水平检测的临床意义

宋建新,朱红艳,沙 玲

(云南省第一人民医院检验科血液病诊断室,云南昆明 650032)

摘 要:**目的** 探讨慢性粒细胞白血病(CML)患者血清 IL-21 检测的临床意义。**方法** 选取于该院诊治的 CML 患者 62 例,其中诊断为 CML 慢性期(CP)的 30 例作为 CML-CP 组,加速期(AP)的 15 例作为 CML-AP 组,急变期(BP)的 17 例作为 CML-BP 组。采用 ELISA 法测定上述 CML 患者血清 IL-21 水平,随机选取同期该院健康体检者 30 例作为对照组并进行同样的检测,对结果进行比较和统计分析。**结果** CML 各组患者血清 IL-21 水平均低于对照组($P<0.01$),CML-BP 组患者血清 IL-21 水平低于 CML-CP($P<0.01$),CML-AP 组低于 CML-CP 组($P<0.01$)。**结论** CML 患者 IL-21 水平下调与 CML 的发生、发展密切相关,可能是引起 CML 急变的原因之一;检测血浆中 IL-21 水平可为 CML 临床分期、治疗及预后判断提供更多的实验室依据。

关键词:白血病,髓系,慢性,BCR-ABL 阳性; 白细胞介素 21; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.16.018 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2013)16-2103-02

Clinical significance of serum IL-21 measurement in chronic myelocytic leukemia patients

Song Jianxin, Zhu Hongyan, Sha Lin

(the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650032, China)

Abstract:**Objective** To investigate the expression level and clinical significance of interleukin(IL)-21 in chronic myelocytic leukemia(CML) patients. **Methods** IL-21 was detected by ELISA. There were 30 patients diagnosed in chronic phase(CP), 15 patients in accelerated phase(AP) and 17 patients in acute transformation phase(BP), who were enrolled as CML-CP Group, CML-AP Group and CML-BP Group respectively. Meanwhile 30 healthy people who took physical examination were recruited as Control Group. Then the test data were compared and analysed. **Results** Compared with the Control Group, the IL-21 levels in CML patients were significantly lower(<0.01). The serum IL-21 level in CML-BP Group was lower than that in CML-CP Group($P<0.01$); the level in CML-AP Group was lower than that in CML-CP Group($P<0.01$). **Conclusion** The down regulation of IL-21 level is possibly related to the development of CML, and it is likely to be one of the causes of acute transformation. Therefore, the IL-21 level measurement could provide laboratory basis for determination of clinical stage, making treatment plan and prognosis.

Key words: leukemia, myelogenous, chronic, BCR-ABL positive; interleukin-21; enzyme-linked immunosorbent assay

慢性粒细胞白血病(CML)是起源于多能造血干细胞的恶性克隆性增殖性疾病。根据其临床病程,可分为慢性期(CP)、加速期(AP)和急变期(BP)。BP 是 CML 的晚期,其发病机制目前是国内外研究的热点。白细胞介素(IL)-21 是 I 类细胞因子,由活化的 CD4⁺ T 细胞合成,包括 133 个氨基酸残基和 4 个螺旋结构^[1],其在不同的肿瘤中发挥着不同的调节作用。体外研究发现 IL-21 还可以发挥抗白血病的作用^[2]。本文通过检测 CML 患者不同时期及健康体检者血清 IL-21 水平,探讨其在 CML 发病中的作用及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有病例均来自本院血液科门诊及住院患者,经骨髓细胞形态、细胞遗传学及染色体检查,符合 CML 各期的诊断标准^[3]。其中,CP 30 例,AP 15 例,BP 17 例(8 例为急淋变,其余为急粒变);男 40 例,女 22 例;年龄 18~52 岁,中位年龄 46 岁。30 例健康体检者作为对照组,其中,男 18 例,女 12 例;年龄 18~56 岁,中位年龄 47 岁。

1.2 方法 所有患者均采集空腹静脉血 4.0 mL 静置约 1.5 h 后以 3 000 r/min 离心 15 min,分离出血清,置 PC 管中于 -70 ℃ 保存,待全部收集完后同批检测。血清 IL-21 水平测定采用 ELISA 法,试剂盒购于生工生物工程(上海)有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学处理 数据用 SPSS 13.0 统计软件处理,计量数

据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

CML-CP、-AP、-BP 组患者血清 IL-21 水平均低于对照组($t=10.77, 16.69, 26.47, P<0.01$)。CML-BP 组患者血清 IL-21 水平高于 CML-AP 和 CML-CP 组($t=13.04, 23.36, P<0.01$);CML-AP 组患者血清 IL-21 水平高于 CML-CP 组($t=10.76, P<0.01$),见表 1。

表 1 CML 不同时期 IL-21 水平的变化 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	IL-21
对照组	30	448.83±52.03
CML-CP 组	30	323.83±36.52
CML-AP 组	15	208.67±27.49
CML-BP 组	17	101.65±18.60

3 讨 论

CML 是一种造血干细胞的恶性克隆性增殖性疾病,由 bcr/abl 融合基因激活的多个信号传导途径(如 Ras、P13K、MAPK、JAK/STAT)在 CML 的发病机制中起关键作用^[4]。髓系祖细胞向成熟粒细胞分化受阻的不断增加致使 CML 从 CP 向 BP 的临床进展。目前,许多学者认为 CML 的发展是涉

作者简介:宋建新,男,副主任医师,主要从事临床血液学与检验研究。

及包括癌基因、抑癌基因、细胞周期蛋白以及 DNA 合成、修复和重组蛋白、白血病细胞的凋亡受阻、分化障碍以及耐药发生等多基因、多途径,调控异常复杂的过程^[5-6]。

IL-21 是一种具有四螺旋束结构的 I 类细胞因子,由活化的 CD4⁺ T 细胞、自然杀伤(NK)细胞、滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)和辅助性 T 细胞(Th)产生^[7],其受体复合物是由 IL-21R 亚单位和 γ 链组成的异源二聚物,与 IL-2 家族的其他成员(IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-13 和 IL-15)共用 γ 链。IL-21R 亚单位为配体识别结合部位, γ 链为信号转导单位负责信号传导,信号传导途径为蛋白酪氨酸激酶 JAK/信号转导子和转录激动子(STAT)通路^[8]。IL-21 不仅可单独作用或与其他共刺激分子协同作用增强效应 T 细胞及活化 NK 细胞的功能,还可以通过激活 JAK1 和 JAK3,STAT-1,STAT-3 和 STAT-5 的磷酸化发挥抗血液肿瘤作用^[9]。IL-21 在 IL-2 协同作用下,可以上调人 NK 细胞表面的细胞受体的表达,包括 NKG2A、CD25、CD86 和 CD69,从而增强 NK 细胞的细胞毒作用,使其杀伤 K562 靶细胞的能力大大加强^[10],发挥抗血液肿瘤的作用。而 IL-21 对于不同的血液系统肿瘤具有的不同的作用。在对外套细胞淋巴瘤(MCL)研究^[11]中发现,IL-21 可有效诱导 STAT1 的激活、显著上调凋亡前体蛋白(Bik、Nip3 和 Harakiri)的表达,下调凋亡抑制蛋白(Bcl-2 和 Bcl-xL/S)及肿瘤坏死因子 α 的表达。对间变性大细胞淋巴瘤的研究表明,IL-21 可以增强 JAK3/STAT3 的活化,并能显著的增加间变性淋巴瘤激酶阳性的间变性大细胞淋巴瘤(ALK+ALCL)细胞系的细胞生长^[12]。在慢性淋巴细胞性白血病(CLL)细胞和其他 B 细胞淋巴瘤,IL-21 能直接诱导细胞的凋亡。大部分 CLL 细胞表面 IL-21R- α 的表达与淋巴细胞凋亡、STAT1 酪氨酸磷酸化和凋亡前体蛋白 Bim 的表达上调有关^[9];在对多发性骨髓瘤的体外研究^[13]证实,IL-21 通过 JAK/STAT、Erk/MAPK 和 Akt/PI3K 途径促进促进骨髓瘤细胞的生长和骨髓瘤细胞株集落形成。

本实验采用 ELISA 法通过对不同时期 CML 患者血清 IL-21 的检测发现 CML-CP 组患者血清 IL-21 水平明显低于对照组,CML-AP 血清 IL-21 水平明显低于对照组和 CML-CP 组,CML-BP 组明显低于 CML-CP 及 CML-AP 组。据此推断 CML 的发病及急性变可能与 IL-21 水平减低相关。提示 CML-IL-21 水平的减低反映了机体的免疫功能减低。在发病过程中,由于 IL-21 水平减低,使其诱导 CD8⁺ T 细胞增殖分化为 CTL 作用减弱,不能发挥杀伤肿瘤的细胞毒作用;同时 IL-21 下调了 NK 细胞表面的细胞受体的表达,从而降低 NK 细胞的细胞毒作用。最近的研究发现,IL-21 与转录生长因子 β (TGF- β)联用可抑制 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的主要调节者 Foxp3 的表达。减少 CD4⁺ T 细胞分化形成 Treg 细胞,起到抗肿瘤作用^[14]。由于 CML 患者 IL-21 水平降低,导致 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞产生,抑制 T 细胞对自体抗原的免疫应答,从而导致了肿瘤的免疫逃逸;随着疾病的进展,IL-2 逐渐降低,CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞逐渐升高,导致肿瘤免疫也逐步降低,使得白血病细胞大量的生长,这可能是 CML 逐步向加速、急变转化的因素之一。IL-21 的降低,也导致 IL-21/IL-21R 信号缺少,使 TGF-B 和 IL-6 诱导的 IL-17 生成细胞的数量明显减少,进一步增加了 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞产生,而不能遏制白血病的进展。至于 IL-21 的水平减低,是否存在不

能诱导 STAT1 的激活及 STAT1 酪氨酸磷酸化,上调了凋亡抑制蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xL/S,还是 IL-21 通过其他途径使白血病细胞凋亡受阻还有待于进一步研究。

总之,IL-21 与 CML 密切相关,可能通过多种调节途径参与了 CML 的发生、发展。检测血清中 IL-21 水平可为 CML 临床分期、治疗方案的制定及预后判断提供更多的实验室依据。尽管 IL-21 在 CML 发病及进展中的确切作用机制尚不清楚,需要进一步研究其与 CML 的关系,有望为 CML 的诊断、治疗、评估预后等提供一种新的策略。

参考文献

- [1] Parrish-Novak J, Foster DC, Holly RD, et al. Interleukin-21 and the IL-21 receptor: novel effectors of NK and T cell responses [J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(5): 856-863.
- [2] 赵楠. 白细胞介素 21 的免疫调节功能及其在血液肿瘤中的作用 [J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(7): 414-417.
- [3] 张之南, 沈悝. 血液病诊断及疗效标准 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997, 219-227.
- [4] Deininger MW, Goldman JM, Melo JV, et al. The molecular biology of chronic myeloid leukemia [J]. Blood, 2000, 96(10): 3343-3356.
- [5] Amin HM, Hoshino K, Yang H, et al. Decreased expression level of SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-1 (Shp1) is associated with progression of chronic myeloid leukemia [J]. J Pathol, 2007, 212(4): 402-410.
- [6] Phan CL, Megat Baharuddin PJ, Chin LP, et al. Amplification of BCR-ABL and t(3;21) in a patient with blast crisis of chronic myelogenous leukemia [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2008, 180(1): 60-64.
- [7] Monteleone G, Pallone F, Macdonald TT. Interleukin-21 (IL-21)-mediated pathways in T cell-mediated disease [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2009, 20(2): 185-191.
- [8] Asao H, Okuyama C, Kumaki S, et al. Cutting edge: the common gamma-chain is an indispensable subunit of the IL-21 receptor complex [J]. J Immunol, 2001, 167(1): 1-5.
- [9] Ma J, Ma D, Ji C. The role of IL-21 in hematological malignancies [J]. Cytokine, 2011, 56(2): 133-139.
- [10] Skak K, Frederiksen KS, Lundsgaard D. Interleukin-21 activate human natural killer cells and modulates their surface receptor expression [J]. Immunology, 2008, 123(4): 575-583.
- [11] Gelebart P, Zak Z, Anand M, et al. Interleukin-21 effectively induces apoptosis in mantle cell lymphoma through a STAT1 dependent mechanism [J]. Leukemia, 2009, 23(10): 1836-1846.
- [12] Dien Bard J, Gelebart P, Anand M, et al. IL-21 contributes to JAK3/STAT3 activation and promotes cell growth in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma [J]. Am J Pathol, 2009, 175(2): 825-834.
- [13] Menoret E, Maïga S, Descamps G, et al. IL-21 stimulates human myeloma cell growth through an autocrine IGF-1 loop [J]. J Immunol, 2008, 181(10): 6837-6842.
- [14] Kom T, Bettelli E, Gao W. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory TH17 cells [J]. Nature, 2007, 448(7152): 484-487.