

·短篇论著·

急性白血病患者血清中IL-32的表达及其临床意义

袁宁 吴佗 侯佩强 张志军 张荣强 倪楠 江新泉

Expression of IL-32 in serum with acute leukemia and its clinical significance Yuan Ning, Wu Tuo, Hou Peiqiang, Zhang Zhijun, Zhang Rongqiang, Ni Nan, Jiang Xinquan
Corresponding author: Jiang Xinquan, The Public Health Institute of Taishan Medical University, Tai'an 271000, China. Email: xqjiang@tsmc.edu.cn

恶性肿瘤发生时通常伴有细胞因子调控网络的失衡。1992年,Dahl等^[1]发现自然杀伤细胞转录物4(Natural killer cell transcript 4,NK4)可以选择性地在淋巴细胞中表达,而且通过丝裂原活化T细胞或IL-2活化NK细胞后表达量增加,但其功能未知。在2005年,Kim等^[2]发现NK4蛋白具有可诱导包括TNF-α、IL-1β和IL-8等在内的趋化因子和促炎症因子的生物学功能,从而表明NK4是一种炎症性的细胞因子,随后将NK4重新命名为IL-32。目前,已有文献报道IL-32与多种疾病存在联系,如胰腺癌、胃癌、食管癌等恶性肿瘤^[3-5]。然而其与急性白血病(AL)的关系尚不清楚。因此,我们检测AL患者血清IL-32蛋白水平的变化,初步探讨其临床意义。

病例和方法

1. 病例:2014年3月至2014年12月泰安市中心医院收治的AL患者66例。男36例,女30例。中位年龄47岁,其中≥60岁患者17例,<60岁患者49例。按照FAB分型标准,急性非淋巴细胞白血病(ANLL)51例,其中M₂ 6例,M₃ 15例,M₄ 9例,M₅ 14例,M₆ 7例。急性淋巴细胞白血病(ALL)15例,其中T细胞型3例,B细胞型12例。按照疾病状态分为初诊患者18例,部分缓解(PR)期患者19例,完全缓解(CR)期患者20例,复发期患者9例。健康对照30名,中位年龄42岁。本研究所有受试对象或其监护人均签署知情同意书。

2. 实验方法:所有检测对象均在早晨空腹时抽取静脉血2 ml,37℃放置1 h后,以800×g 4℃离心10 min,收集上清,在-20℃冰箱冻存待测。IL-32蛋白水平检测采用双抗体夹心ELISA法(人IL-32试剂盒购自上海瑞奇生物科技有限公司),按照试剂盒说明书进行操作。同时采集外周血进行血

常规检测。

3. 统计学处理:应用SPSS13.0软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,相关性分析采用Pearson相关分析方法,两组之间比较采用t检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. AL与正常对照组血清IL-32蛋白水平的比较:AL组、ALL组和ANLL组IL-32蛋白水平分别为(25.74±1.21)、(28.58±3.15)和(24.91±1.27)ng/L,正常对照组IL-32蛋白水平为(18.77±0.71)ng/L。AL、ALL和ANLL组的IL-32蛋白水平均明显高于正常对照组,差异有统计学意义(P 值均<0.05)。

2. ANLL组各亚型与正常对照组血清IL-32蛋白水平的比较:由表1可见,ANLL组中,M₃、M₄和M₅型与正常对照组相比IL-32蛋白水平明显升高,差异均有统计学意义(P 值均<0.05)。M₂和M₆型与正常对照组比较,差异均无统计学意义(P 值均>0.05)。

3. ALL组各免疫类型与正常对照组血清IL-32蛋白水平的比较:由表1可见,ALL组中,B细胞型与正常对照组相比IL-32蛋白水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。T细胞型与正常对照组相比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表1 急性白血病组与正常对照组血清IL-32蛋白水平比较(ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-32
正常对照组	30	18.77±0.71
ALL组	15	28.58±3.15 ^a
B细胞	12	30.84±3.66 ^a
T细胞	3	19.52±0.72
ANLL组	51	24.91±1.27 ^a
M ₂	6	19.12±1.61
M ₃	15	26.14±1.93 ^a
M ₄	9	25.94±1.83 ^a
M ₅	14	26.23±3.80 ^a
M ₆	7	23.27±1.45

注:ALL:急性淋巴细胞白血病;ANLL:急性非淋巴细胞白血病;与正常对照相比,^a $P<0.05$

4. AL疾病进程分期与正常对照组血清IL-32蛋白水平的比较:初诊组、复发组和PR组与正常对照组相比IL-32蛋白水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);CR组与正常对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)(表2)。

5. AL患者不同性别、年龄间IL-32蛋白水平比较:AL组中,男性患者血清IL-32蛋白水平为(26.88±1.77)ng/L,女性

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.10.014

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2012HL45)

作者单位:271000 泰安,山东省泰山医学院公共卫生学院(袁宁、吴佗、江新泉);泰安市疾病预防控制中心(侯佩强、张荣强、倪楠);泰安市中心医院(张志军)

通信作者:江新泉,Email:xqjiang@tsmc.edu.cn

表2 急性白血病患者不同疾病进程分期血清IL-32蛋白水平(ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-32
正常对照组	30	18.77±0.71
初诊组	18	28.04±2.84
部分缓解组	19	25.14±1.98
完全缓解组	20	20.03±0.84
复发组	9	35.13±3.08

患者为(24.39±1.62)ng/L。≥60岁患者血清IL-32蛋白水平为(25.10±1.56)ng/L, <60岁患者为(25.97±1.54)ng/L。经统计学分析, 不同性别及年龄间血清IL-32蛋白水平差异均无统计学意义(P 值均>0.05)。

6. 外周血WBC与血清IL-32蛋白水平的相关性: AL患者的外周血WBC和血清IL-32蛋白水平呈正相关($r=0.491$, $P<0.05$)。

讨 论

细胞因子作为一种低分子量可溶性蛋白质。可由免疫原、丝裂原或其他刺激剂诱导多种细胞产生。它具有多种功能, 如促进血细胞生成、促进细胞生长、修复受损的组织^[6]。在肿瘤微环境中常伴有炎症反应, 细胞因子作为参与炎症反应的重要组成部分, 对肿瘤的演进发挥着重要作用^[7]。

IL-32与多种疾病存在联系。Nishida等^[3]研究发现, 胰腺岛管细胞可以产生IL-32。在正常的胰腺导管细胞中, IL-32的表达水平较低, 而在慢性胰腺炎患者导管细胞中IL-32表达水平升高, 在胰腺癌细胞中, IL-32的表达水平显著升高。Bai等^[8]利用免疫组织化学技术, 将结核分枝杆菌感染患者的肺部组织与正常人比较, 发现前者IL-32表达水平显著升高。

本研究中我们采用ELISA方法检测AL患者血清IL-32蛋白水平变化, 结果表明, AL、ANLL、ALL患者血清中IL-32蛋白水平明显高于正常对照组($P<0.05$), 提示AL的发生可能与IL-32的参与相关。按照AL的各种亚型分析比较, ALL中B细胞型与ANLL中的M₃、M₄和M₅型同正常对照组相比血清IL-32蛋白水平明显升高($P<0.05$)。提示IL-32蛋白的表达与AL不同亚型有关。

研究表明, AML患者体内分离的CD34⁺/CD38⁻白血病干细胞NF-κB处于持续活化状态, 而在正常CD34⁺/CD38⁻骨髓干细胞中NF-κB未出现此现象^[9]。在正常造血细胞中, NF-κB信号通路通常处于非活化或低活化状态, 但在AML细胞中往往有其异常活化^[10]。IL-32通过活化细胞毒性淋巴细胞和改变细胞因子水平使NF-κB和STAT3的信号通路失活而对肿瘤的生长产生抑制作用^[11]。我们发现初诊组、复发组和PR组AL患者血清IL-32蛋白水平均明显高于正常对照组($P<0.05$), 而CR组较正常对照组相对升高, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 提示IL-32的表达与AL疾病发展进程有关, 随着病情的缓解, 其表达水平逐步下降。不同年龄、性别AL患者间血清IL-32蛋白水平比较, 差异无统计学意义

($P>0.05$), 提示AL患者血清IL-32蛋白水平不受年龄和性别影响。

IL-32可在胃癌细胞中以胞内蛋白的形式出现, 并且与肿瘤炎症的程度、淋巴结受累数量、淋巴血管侵袭度和肿瘤细胞的大小呈正相关^[4]。Yousif等^[5]用免疫组化染色法检测65例食道癌患者的癌组织与血清IL-32的表达发现, 与35名正常对照比较, 食管癌患者肿瘤组织IL-32的表达较强, 在细胞内呈颗粒状弥漫性分布。当食管肿瘤组织呈现弱阳性的时侯, 细胞核内表达更为明显。本研究显示外周血WBC和IL-32蛋白水平具有正相关性, 提示IL-32蛋白水平的变化可能会导致白细胞数量发生改变。

总之, IL-32是最近发现的一种促炎细胞因子, 在参与机体免疫调节方面发挥着重要的作用。IL-32在AL患者血清中升高, 与自身病情的进展有密切联系, 检测患者血清IL-32蛋白水平的动态变化, 有助于了解AL的进展情况。

参 考 文 献

- Dahl CA, Schall RP, He HL, et al. Identification of a novel gene expressed in activated natural killer cells and T cells [J]. J Immunol, 1992, 148(2):597-603.
- Kim SH, Han SY, Azam T, et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNFalpha[J]. Immunity, 2005, 22(1): 131-142.
- Nishida A, Andoh A, Inatomi O, et al. Interleukin-32 expression in the pancreas[J]. J Biol Chem, 2009, 284(26): 17868-17876.
- Ishigami S, Arigami T, Uchikado Y, et al. IL-32 expression is an independent prognostic marker for gastric cancer [J]. Med Oncol, 2013, 30(2): 472.
- Yousifa NG, Al-amran FG, Hadi N, et al. Expression of IL-32 modulates NF-κB and p38 MAP kinase pathways in human esophageal cancer[J]. Cytokine, 2013, 61(1): 223-227.
- Gilman A, Goodman LS, Hardman JG, et al. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics [M]. New York: Mc Graw-Hill, 2001.
- 王姗, 郑金华, 孟琰, 等. 从细胞因子角度看肿瘤微环境对免疫细胞及肿瘤细胞的影响[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(3): 237-241.
- Bai X, Ovrutsky AR, Kartalija M, et al. IL-32 expression in the airway epithelial cells of patients with Mycobacterium avium complex lung disease[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 23(11): 679-691.
- Guzman ML, Neering SJ, Upchurch D, et al. Nuclear factor-kappaB is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells [J]. Blood, 2001, 98 (8): 2301-2307.
- Lee YR, Yu HN, Noh EM, et al. TNF-alpha upregulates PTEN via NF-kappaB signaling pathways in human leukemic cells[J]. Exp Mol Med, 2007, 39(1): 121-127.
- Yun HM, Oh JH, Shim JH, et al. Antitumor activity of IL-32β through the activation of lymphocytes, and the inactivation of NF-κB and STAT3 signals[J]. Cell Death Dis, 2013, 4:e640.

(收稿日期:2015-04-21)

(本文编辑:王叶青)