

·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, Taian 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-1 β 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 急性白血病患者与正常对照组血清 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 M_3 、 M_4 和 M_5 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- κ B 处于持续活化的状态,而在正常 CD34⁺/CD38⁻骨髓干细胞中 NF- κ B 未出现此现象^[9]。在正常造血细胞中,NF- κ B 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 β 通过活化细胞毒性淋巴细胞和改变细胞因子水平使 NF- κ B 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的影响。

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候,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

- [1] 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.
- [2] Kim SH, Han SY, Azam T, et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNF α [J]. Immunity, 2005, 22(1): 131-142.
- [3] Nishida A, Andoh A, Inatomi O, et al. Interleukin-32 expression in the pancreas [J]. J Biol Chem, 2009, 284(26): 17868-17876.
- [4] 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.
- [5] Yousifa NG, Al-amran FG, Hadi N, et al. Expression of IL-32 modulates NF- κ B and p38 MAP kinase pathways in human esophageal cancer [J]. Cytokine, 2013, 61(1): 223-227.
- [6] Gilman A, Goodman LS, Hardman JG, et al. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics [M]. New York: Mc Graw-Hill, 2001.
- [7] 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.
- [8] 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 Immunol, 2011, 23(11): 679-691.
- [9] Guzman ML, Neering SJ, Upchurch D, et al. Nuclear factor- κ B is constitutively activated in primitive human acute myelogenous leukemia cells [J]. Blood, 2001, 98(8): 2301-2307.
- [10] Lee YR, Yu HN, Noh EM, et al. TNF- α upregulates PTEN via NF- κ B signaling pathways in human leukemic cells [J]. Exp Mol Med, 2007, 39(1): 121-127.
- [11] Yun HM, Oh JH, Shim JH, et al. Antitumor activity of IL-32 β through the activation of lymphocytes, and the inactivation of NF- κ B and STAT3 signals [J]. Cell Death Dis, 2013, 4:e640.

(收稿日期:2015-04-21)

(本文编辑:王叶青)