

骨髓增生异常综合征患者血清细胞因子表达及相关性研究

季秀成,董金巧(江苏省淮安市楚州中医院 223200)

【摘要】 目的 探讨血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-10(IL-10)和 IL-12 水平与骨髓增生异常综合征(MDS)的关系及临床意义,进而研究其在 MDS 发病中的作用,为临床防治 MDS 提供理论依据。**方法** 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 40 例 MDS 患者及 40 例健康人血清中 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平。**结果** 与健康对照组比较,MDS 患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);观察 MDS 不同分型间血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平发现,MDS 早期组和进展组患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),且进展组血清 IL-10 水平显著高于早期组,差异有统计学意义($P < 0.01$),但进展组血清 TNF- α 和 IL-12 水平低于早期组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** TNF- α 、IL-10 和 IL-12 参与 MDS 发病及病情演变,检测 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 有助于指导 MDS 分型和判断预后,并为治疗 MDS 提供新思路。

【关键词】 骨髓增生异常综合征; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-10; 白细胞介素-12

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.23.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)23-2834-02

Study on the expression and correlation of serum cytokines in patients with myelodysplastic syndrome JI Xiu-cheng, DONG Jin-qiao (The Chinese Medicine Hospital of Chuzhou, Huai'an, Jiangsu 223200, China)

【Abstract】 Objective To explore the relation between serum TNF- α , IL-10, IL-12 levels and myelodysplastic syndrome and its clinical significance. Then to study its role in the pathogenesis of MDS, which providing a theoretical basis for the prevention and treatment of MDS. **Methods** Serum levels of TNF- α , IL-10 and IL-12 were measured with ELISA in 40 cases of patients with myelodysplastic syndrome and 40 healthy subjects taken as control group. **Results** Serum TNF- α , IL-10, IL-12 levels of myelodysplastic syndrome were significantly higher than those of the healthy control group(all $P < 0.01$). We observed the serum TNF- α , IL-10 and IL-12 levels in different types of MDS. The results showed that the serum TNF- α , IL-10 and IL-12 levels in prophase group and progression group were significantly increased compared with the level of the control group($P < 0.01$). IL-10 level in progression group of MDS was higher than that in the prophase group($P < 0.01$); TNF- α and IL-12 levels in the progression group of MDS were lower than those in the prophase group($P < 0.01$). **Conclusion** TNF- α , IL-10 and IL-12 take part in the pathogenesis of MDS. Detection of TNF- α , IL-10 and IL-12 may be helpful for typing and predicting its prognosis of MDS. In addition, it may provide new clues for the treatment of MDS.

【Key words】 myelodysplastic syndrome; TNF- α ; IL-10; IL-12

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)是一组异质性较大的造血干细胞克隆性疾病,主要发生在中老年人,男性多于女性,发病率有逐年上升的趋势。以外周血一系、两系或三系减少,骨髓病态造血及可能发展成急性白血病为主要特征,具有高度异质性。MDS 的发病机制迄今不明,近年来有关细胞因子在 MDS 免疫发病机制中的作用一直是研究的热点之一,认为 MDS 的免疫发病机制与造血细胞因子分泌紊乱有密切关系^[1]。本研究随机选择了不同分期的 MDS 患者,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-10(IL-10)和 IL-12 水平变化,探讨其在 MDS 发病及预后中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院血液内科 2010 年 1 月至 2011 年 3 月住院 MDS 患者 40 例,其中男 25 例,女 15 例,年龄 15~79 岁,平均(48.6 $\pm$ 13.5)岁,均为初治患者,诊断标准符合张之南等^[2]主编的《血液病学》,排除合并其他肿瘤性疾病、肝肾功能不良及近期并发感染者。其中难治性贫血(RA)10 例,难治性贫血伴环状铁粒幼细胞(RAS)9 例,难治性贫血伴原始细胞增多(RAEB)11 例,转化型难治性贫血伴原始细胞增多(RAEB-

t)10 例,将 40 例 MDS 患者分为两组,RA、RAS 为早期组($n=19$),RAEB、RAEB-t 为进展组($n=21$)。健康对照组 40 例,均为性别、年龄相仿的健康体检者,其中男 24 例,女 16 例,年龄 16~78 岁,平均(46.2 $\pm$ 14.1)岁。所有研究对象采集标本前未用免疫抑制剂及细胞毒药物治疗,最近 30 d 未输血,采集标本时无感染表现。

1.2 方法 所有受检对象清晨空腹抽取静脉血 5 mL,3 000 r/min,离心 5 min,血清分离后放-20℃冰箱保存备用。采用 ELISA 测定血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平,ELISA 试剂盒购自深圳晶美公司,按试剂盒说明书要求操作。

1.3 统计学处理 采用的 SPSS16.0 软件分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,计量资料组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 MDS 患者和健康对照组血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平的比较 与健康对照组比较,MDS 患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

2.2 MDS 各亚组血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平的比较 MDS 早期组和进展组患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平均

高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),且进展组血清 IL-10 水平显著高于早期组,差异有统计学意义($P<0.01$),但进展组血清 TNF- α 和 IL-12 水平低于早期组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

表 1 MDS 患者和健康对照组血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平的比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

组别	<i>n</i>	TNF- α	IL-10	IL-12
健康对照组	40	72.82 $\pm$ 12.75	14.51 $\pm$ 2.93	26.39 $\pm$ 3.82
MDS 组	40	191.27 $\pm$ 30.34 ^a	77.62 $\pm$ 15.63 ^a	115.27 $\pm$ 16.71 ^a

注:与健康对照组比较,^a $P<0.01$ 。

表 2 各亚组血清 TNF- α 、IL-10 及 IL-12 水平的比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)

组别	<i>n</i>	TNF- α	IL-10	IL-12
健康对照组	40	72.82 $\pm$ 12.75	14.51 $\pm$ 2.93	26.39 $\pm$ 3.82
早期组	19	224.76 $\pm$ 39.56 ^a	47.37 $\pm$ 7.55 ^a	162.69 $\pm$ 24.36 ^a
进展组	21	161.14 $\pm$ 18.84 ^{ab}	104.16 $\pm$ 21.62 ^{ab}	72.47 $\pm$ 10.57 ^{ab}

注:与健康对照组比较,^a $P<0.01$;与早期组比较,^b $P<0.01$ 。

3 讨 论

MDS 患者临床治疗困难,目前尚无根治 MDS 的办法,治疗以支持治疗为主,预后差,急需针对其病因及发病机制的治疗策略。MDS 的病因及发病机制目前尚不完全明了,MDS 的病理变化可能是多种因素影响和多种机制并存的结果,包括造血微环境的改变、细胞凋亡的增加、染色体异常、癌基因变化、免疫功能异常、细胞因子及细胞因子受体的分泌紊乱。近年来有关细胞因子在 MDS 免疫发病机制中的作用一直是研究的热点之一。MDS 患者多种细胞因子水平发生改变,认为 MDS 凋亡增加与造血生长因子减少或造血抑制因子异常增加有关^[3]。TNF 是一类能直接造成肿瘤细胞死亡的细胞因子,分为 TNF- α 和 TNF- β ,TNF- α 主要由巨噬细胞产生。近年 TNF- α 在 MDS 发病机制中的作用受到关注,其与 MDS 的病情演变、预后判断有何相关性目前尚少见报道。研究显示,MDS 形成与过度凋亡有关,TNF- α 作为一种促凋亡因子,TNF- α 可通过上调 Fas 和 Fas 配体,并下调 Fas 的负性调节剂 Fap-1 而诱导凋亡,TNF- α 抑制剂-己酮可可碱(pentoxifylline)可改善 MDS 患者的骨髓无效造血^[4]。IL-10 又称细胞因子合成抑制因子和 B 淋巴细胞衍生的 T 淋巴细胞生长因子,是由 T 和 B 淋巴细胞、巨噬细胞、单核细胞等产生为数不多的抑制性细胞因子。IL-10 通过与其受体结合而产生免疫反应,抑制 T 淋巴细胞、巨噬细胞生物学活性,诱导 T 淋巴细胞对抗原的免疫耐受。有研究发现,MDS 患者免疫功能异常,随着疾病发展,免疫功能紊乱进一步加剧,IL-10 水平增高与 MDS 的转化有关,IL-10 可拮抗 TNF- α 等造血负调控因子的表达,在 MDS 中发挥造血正常调控因子的作用,所以 IL-10 这种免疫抑制及调控作用与 MDS 的发生及发展密切相关^[5]。IL-12 主要来源于 B 淋巴细胞和巨噬细胞,是迄今为止所发现的最有效的细胞毒性 T 淋巴细胞和自然杀伤(NK)细胞活性刺激因子。任翠爱等^[6]研究发现 MDS-RA 组患者 IL-12 水平明显高于健康对照组,而 MDS-RAEB 组患者 IL-12 水平低于健康对照组,提示 IL-12 可能与 MDS 患者不同的病理状态有关。

本研究测定 40 例 MDS 患者及 40 例健康人血清中 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平的变化,并分析它们之间的相关性,旨在

探讨它们在 MDS 发病机制中的作用及其相互关系,期望在 MDS 的治疗方面提供一些新的理论依据。

本研究结果显示,MDS 患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平较健康对照组均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),表明 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 在 MDS 的发病过程中起着一定作用。本研究结果还显示,MDS 早期组和进展组患者血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),且进展组血清 IL-10 水平显著高于早期组,差异有统计学意义($P<0.01$),但进展组血清 TNF- α 和 IL-12 水平低于早期组,差异有统计学意义($P<0.01$)。提示 MDS 可能存在造血刺激因子与造血抑制因子平衡的紊乱,血清 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 水平与 MDS 的病理状态有关,检测 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 可作为监测 MDS 病情发展的指标,对判断预后具有重要意义。对于 TNF- α 升高的原因,目前报道不一,Powers 等^[7]发现所有 MDS 患者 TNF- α 和 TNF- β 表达均明显增加,可能在 MDS 的发病机制中有重要作用。也有人采用双抗体标记免疫组织化学法发现 TNF- α 阳性细胞大多同时表达 CD68 抗原(巨噬细胞),提示造血细胞以外的细胞,如巨噬细胞等间质细胞亦参与 TNF- α 的产生。有研究表明 MDS 各亚型之间骨髓细胞凋亡有差别,大多数人认为 MDS 早期组(RA、RAS)细胞凋亡过度,TNF- α 水平更高,而 MDS 进展期组(RAEB、RAEB-t)细胞凋亡减轻,TNF- α 水平相应下降^[8],与本研究结果相符。研究发现,MDS 患者免疫功能异常,IL-10 与 MDS 免疫紊乱的发生有关,IL-10 水平可反映机体的免疫状态,随着疾病发展,免疫功能紊乱进一步加剧,IL-10 水平增高与 MDS 的转化有关,动态检测可作为病情发展的指标之一,对判断预后有重要的意义^[9]。潘岐等^[10]研究表明 IL-12 可以通过增强 NK 细胞的细胞毒性,促进细胞毒性 T 淋巴细胞对原代白血病细胞及白血病细胞株的细胞毒性反应,显著降低恶性血液病患者外周血单个核细胞中 WT1 mRNA 的表达水平,从而去除患者体内的微小残留病变。本实验中 MDS 早期组(RA、RAS) IL-12 水平明显高于 MDS 进展期组(RAEB、RAEB-t),TNF- α 水平也明显高于进展期组,说明 MDS 同时存在免疫异常,这与任翠爱等^[6]的研究推测一致。提示随着疾病的发展,机体免疫活性细胞功能受损,免疫活性细胞功能由亢进转入抑制状态,导致 IL-12 分泌降低,NK 细胞活性也降低。NK 细胞能在 IL-12 作用下合成造血细胞生成的抑制因子 TNF- α ,此外,IL-12 通过诱导产生干扰素 γ 激活巨噬细胞,诱导其 TNF- α 的分泌,故 TNF- α 与 IL-2 在 MDS 的进展中有协同作用。

总之,细胞因子 TNF- α 、IL-10 和 IL-12 与 MDS 的发生、发展密切相关,检测上述细胞因子水平能够为 MDS 患者监测病情及判断预后提供较为客观的指标,有利于指导临床用药,同时为 MDS 的免疫治疗提供了新的理论依据。

参考文献

[1] 刘瑞玉,张舜玲,许先吟,等.骨髓增生异常综合征患者血清 IL-10、IL-12 和 sFas 水平及其临床意义[J].热带医学杂志,2007,7(5):454-456.
[2] 张之南,杨天楹,郝玉书.血液病学[M].北京:人民卫生出版社,2003:1076-1095.
[3] Tsimberidou AM,Estey E,Wen S,et al.(下转第 2837 页)

表 2 DS 确诊患者两种筛查方法结果列表				
编号	年龄(岁)	NT 筛查(孕周)	血清学筛查(孕周)	确诊结果
1	29	3.6 mm(12)	1 : 120(17)	47,XY,+21
2	35	4.1 mm(13)	1 : 110(18)	47,XY,+21
3	26	1.3 mm(12)	1 : 140(17)	47,XY,+21
4	31	3.8 mm(12)	1 : 1 730(17)	47,XY,+21

3 讨 论

在我国有 1/5~1/4 的围生儿死亡是由于出生缺陷造成的,主要包括 DS、NTDs、trisomy18 等染色体病,而 DS 是新生儿中最多见的染色体异常疾病,DS 的发生是由于 21 号染色体三体型,是一种严重的不可逆的先天性愚型^[1]。AFP、β-HCG 和 u-E3 为妊娠中期筛查的传统三联标记,其胎儿 DS 的检出率为 65%~75%,1994 年美国妇产科学会正式推荐这一组合^[3]。

1985 年,Benacerraf 等报道妊娠超声检查 DS 胎儿颈后皮肤及软组织增厚,为最早用图像确认染色体病,从此 DS 胎儿超声特征逐渐被描述^[4]。NT 是覆盖胎儿颈部脊柱软组织和皮肤之间的皮下透明层,是目前常用的超声指标。在妊娠 10~14 周时,增厚的 NT 与 DS 的高风险有关^[5]。

筛出的“高风险妊娠”,一般都要复查 1 次,复查结果仍为高风险时,则建议进行羊水细胞染色体核型分析,以便确诊。但羊水细胞染色体核型分析的检查往往需预约到 2~4 周以后,检查结果又需 2 周甚至更长。孕妇从第 1 次被查出“高风险”后,心里就被压上了沉重负担,导致精神紧张。据近年国内大量筛查的统计结果表明,该法筛查实际假阳性率很高,因为筛查为“高风险”的孕妇胎儿中最后被证实是真正的 DS 异常胎儿的只有 1%~3%,这就是说“高风险孕妇”中有 97%~99%是正常孕妇,但在约 2 个多月的时间里担惊受怕,不利胎儿正常发育,并且还有一定的漏检率。因此提高 DS 产前筛查的检出率,降低假阳性率十分必要。

血清学筛查联合超声筛查可以提高检出率,并将产科超声观察测量胎儿颈项后透明带的厚度作为 DS 胎儿的辅助诊断指标^[6]。但本研究中由于羊水穿刺率低,孕期有死胎、流产等原因,筛查数据存在一定的局限性。

总之,无论孕妇血清筛查或超声技术测量胎儿颈部软组织厚度,均是无创伤性、简便、安全、有效的方法,两种方法相结合可起到互补作用,提高 DS 的检出率,降低假阳性率。

参考文献

[1] 秦秀菊. 孕中期产前筛查 9 372 例分析[J]. 中国妇幼保健杂志,2008,23(33):4684-4685.

[2] 杨华. 孕中期唐氏综合征产前筛查结果分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(17):1886-1887.

[3] Wenstrom KD,Owen J,Chu DC,et al. D-Fetoprotein,free B-human echorionic gonadotropin,and dimeric inhibin A produce the best results in a three-analyze,multiple-marker screening test for fetal Down's syndrome[J]. Am J Obstet Gynecol,1997,177(5):987-1109.

[4] Zhou QC,Zhang J,Zhang M,et al. Utilising ducrus venous Doppler wave form and four-chamber view to screen for fetal cardiac malformarion in early second trimester of pregnancy[J]. Chin Med,2005,18(21):1791-1796.

[5] 孔秋英,谢红宁. 妇产科影像诊断与介入治疗学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:112.

[6] Tsai MS,Huang YY,Hwa KY,et al. Combined measurement of fetal nuchal translucency,maternal serum free beta-hCG, and pregnancy-associated plasma protein A for first-trimester Down's syndrome screening [J]. J Formos Med Assoc,2001,100(5):319-325.

(收稿日期:2011-07-23)

(上接第 2835 页)

The prognostic significance of cytokine levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes[J]. Cancer,2008,113(7):1605-1613.

[4] Kim MK, Lee JL, Cho HS, et al. The hematologic response to anti-apoptotic cytokine therapy: results of pentoxifylline, ciprofloxacin, and dexamethasone treatment for patients with myelodysplastic syndrome[J]. J Korean Med Sci,2006,21(1):40-45.

[5] Lazarini M, Traina F, Winnischofer SM, et al. Effects of thalidomide on long-term bone marrow cultures from patients with myelodysplastic syndromes: Induction of IL-10 expression in the stromal layers[J]. Leuk Res,2011,19(3):64-72.

[6] 任翠爱,张茂宏,徐从高,等. 骨髓增生异常综合征患者血浆白细胞介素 12 的检测及临床意义[J]. 山东大学学报,

2002,40(6):516-517.

[7] Powers MP, Nishino H, Luo Y, et al. Polymorphisms in TGF beta and TNF alpha are associated with the myelodysplastic syndrome phenotype [J]. Arch Pathol Lab Med,2007,131(12):1789-1793.

[8] 高冲,高雪芝,丁家华,等. 骨髓增生异常综合征骨髓细胞凋亡和 TNF-α 关系的研究[J]. 临床血液学杂志,2003,16(3):116-118.

[9] 任翠爱,张茂宏,徐从高,等. MDS 患者血浆 IL-10 的检测及临床意义[J]. 青岛大学医学院学报,2002,38(1):32-33.

[10] 潘峻,张学军,牛志云,等. 白介素 12 降低白血病和骨髓增生异常综合征患者外周血单个核细胞 WT1 基因的表达[J]. 中国实验血液学杂志,2006,14(3):501-507.

(收稿日期:2011-07-01)