DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.08.039
第22卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 8
804 2000年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2000

临床研究

文章编号:1000-5404(2000)08-0804-03

急性白血病患者血清及骨髓 TGF-β1 及其Ⅰ、Ⅱ型受体水平测定的临床意义

史占忠[1],王庆余[1],张朋彬[2],杨朝霞[1],张 曦[1],常 城[1],彭贤贵[1],曹正怀[1] (第三军医大学附属新桥医院:[1]血液内科;[2]消化内科;重庆 400037)

提 要:目的 探讨转化生长因子-β1(TGF-β1)及其Ⅰ、Ⅱ型受体(TGFR1,TGFR2)对白血病预后的意义。方法 采用SABC免疫组织化学方法观察TGF-β1及TGFR1,TGFR2在急性白血病患者的表达情况,并用ELISA法测定白血病患者血清及骨髓TGF-β1水平。结果 白血病细胞TGF-β1表达水平与对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。初诊患者的TGFR1及TGFR2表达水平非常显著低于对照组($P<0.01$),急性非淋巴白血病(ANLL)和急性淋巴白血病(ALL)之间差别无显著性($P>0.05$)。经治疗达完全缓解(CR)后,这2型受体的表达水平上升至接近正常,病情复发时则又降低。结论 TGF-β1及其Ⅰ、Ⅱ型受体水平的测定有助于判断白血病的预后。

关键词:急性白血病;转化生长因子-β;转化生长因子-β受体
中图法分类号:R392.11;R733.71 文献标识码:A

Clinical significance of expression of TGF-β1 and its 2 receptors (TGFR1 and TGFR2) in serum and bone marrow of patients with acute leukemia

SHI Zhan-zhong, WANG Qing-yu, ZHANG Peng-bin, YANG Zhao-xia, ZHANG Xi, CHANG Cheng, PENG Xian-gui, CAO Zheng-huai (Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To study the prognostic significance of TGF-β1 and its 2 receptors (TGFR1 and TGFR2) in patients with acute leukemia. Methods The expression of TGF-β1 and its 2 receptors, TGFR1 and TGFR2 in the leukemic cells was detected with SABC immunocytochemical staining and the TGF-β1 level in the serum and bone marrow of the patients with acute leukemia was observed with ELISA. Results No significant difference of TGF-β1 expression could be seen between the leukemic cells and the control ($P>0.05$), but the level of TGF-β1 in the serum and bone marrow and the positive expression of TGFR1 and TGFR2 in the new cases of leukemia were significantly lower than that in the control ($P<0.01$). They would increase to nearly the normal level when remission occurred and decrease again when leukemia relapsed. There was no significant differenc of the expression of TGFR1 and TGFR2 in acute nonlymphocytic leukemia with that in acute lymphocytic leukemia ($P>0.05$). Conclusion The determination of the level of TGF-β1 and its 2 receptors is of prognostic significance for the patients with acute leukemia.

Key words: acute leukemia; TGF; TGF-β receptor

转化生长因子-β(Transforming growth factor β,TGF-β)是广泛存在于体内的具有强大生物学活性的多效细胞因子,对原始造血干/祖细胞和各系定向祖细胞都有显著抑制作用,TGF-β还可抑制白血病细胞的生长[1]。以往的研究多侧重于TGF-β1及对各类白血病细胞的抑制作用和诱导分化作用。本研究观察了TGF-β1及其受体在白血病细胞的表达情况,并测定了白血病患者血清TGF-β1水平以探讨TGF-β1及其TGFR1,TGFR2对白血病预后的意义。

1 材料与方法

1.1 病人资料

1997年1月至1998年12月初诊急性非淋巴细胞白血病

作者简介:史占忠(1966—),男,河北省高阳县人,硕士,主治医师,主要从事急性白血病的诊断治疗方面的研究。电话:(023)65211182-74609

收稿日期:1999-10-08;修回日期:1999-12-22

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(ANLL)38 例, 其中 M_1 9 例, M_2 8 例, M_3 6 例, M_4 6 例, M_5 5 例, M_6 3 例, M_7 1 例; 急性淋巴细胞白血病(ALL)18 例, 均为住院病人, 年龄 13～69 岁, 中位数年龄 36 岁, 经骨髓细胞形态学、细胞化学染色确诊, 部分病例经免疫组化确诊。

1.2　标本采集

化疗前采集患者的骨髓和外周血标本, 肝素抗凝, 并于当天用常规方法分离单个核细胞, 制备细胞涂片, BAF 固定后进行免疫组织细胞化学染色或保存于－20℃备用。骨髓上清液及血清标本保存于－70℃备用。

1.3　正常对照

正常骨髓标本 16 份, 取自非血液系统疾病的创伤病人手术时的肋骨骨髓, 正常血清标本 20 份, 取自正常献血员。

1.4　免疫组织化学检测

采用 SABC 法, TGF-β_1 及其Ⅰ、Ⅱ型受体即用型抗体和 SABC 试剂盒购自武汉博士德公司。染色步骤如下: 用 1%马血清封闭非特异性反应, 加第一抗体 4℃过夜, 0.01 mol/L PBS 洗 5 min×3 次, 加生物素化二抗于 37℃孵育 1 h, PBS 洗涤, 加 SABC 于 37℃孵育 30 min, PBS 洗涤, DAB 显色, 镜下控制反应时间(一般为 10 min), 水洗, 干后用 Mayer 苏木精复染液复染 2 min, 封片、镜检。每次实验均设立阴性对照。

阳性结果判断: 以胞浆和胞膜出现棕黄色颗粒为染色阳性细胞。随意计数 500 个细胞, 观察其阳性表达率, 阴性为(－), 1%～25%为(＋), 26%～50%为(＋＋), 51%～75%为(＋＋), 75%以上为(＋＋＋)。

1.5　血清及骨髓上清液 TGF-β_1 水平测定

采用 ELISA 法, TGF-β_1 ELISA 试剂盒为美国 Genzyme 公司产品, 按试剂盒的说明要求进行实验操作。

1.6　统计学分析

采用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　白血病细胞 TGF-β_1 表达水平

与对照组比较差异不显著。14 例急性白血病患者经治疗完全缓解(CR)后骨髓 TGF-β_1 水平与初诊时及对照组比较差异不显著($P>0.05$), 见表 1。

表 1　白血病细胞 TGF-β_1 表达情况

Tab 1　Expression of TGF-β_1 in leukemic cells

	ANLL(First visit) (n=38)	ALL(First visit) (n=18)	CR (n=14)	Control (n=16)
－				
＋	2	1		
＋＋	4	2	2	3
＋＋	26	11	10	10
＋＋＋	6	4	2	3
Total positive rate(%)	60.2	56.2	61.4	64.4

2.2　白血病细胞 TGF-β_1Ⅰ型及Ⅱ型受体表达情况

初诊急性白血病患者其细胞的 TGF-β_1Ⅰ型受体($TGFR_1$)及Ⅱ型受体($TGFR_2$)表达率明显低于对照组($P<0.01$), 表现在(＋＋)及以上阳性者明显少于对照组。ALL 和 ANLL 相比, 差别无显著性($P>0.05$)。完全缓解后, 这 2 型受体的表达率又上升至接近正常, 见表 2。

表 2　白血病细胞 $TGFR_1$ 和 $TGFR_2$ 表达情况

Tab 2　Expression of $TGFR_1$ and $TGFR_2$ in leukemic cells

	ANLL(First visit) (n=38)		ALL(First visit) (n=18)		CR (n=14)		Control (n=16)	
	$TGFR_1$	$TGFR_2$	$TGFR_1$	$TGFR_2$	$TGFR_1$	$TGFR_2$	$TGFR_1$	$TGFR_2$
－	5	6	3	5				
＋	29	28	13	12			1	
＋＋	4	4	2	1	3	1	2	2
＋＋					9	11	11	10
＋＋＋					2	2	2	4
Total positive rate(%)	11.2	8.4	9.2	10.4	65.8	62.8	72.4	69.6

2.3　白血病人血清及骨髓上清中 TGF-β_1 水平

初诊急性白血病人血清及骨髓上清液中 TGF-β_1 水平较对照组显著降低($P<0.01$), 以血清中的水平更低, 但血清中和骨髓中 TGF-β_1 水平差异无显著性($P>0.05$)。ALL 和 ANLL 患者的血清及骨髓上清中 TGF-β_1 水平差异无显著性($P>0.05$)。ANLL 中, M_4、M_5、M_6, M_7 患者血清中和骨髓中 TGF-β_1 水平较 ANLL 其它亚型及 ALL 患者为低, 但差异不显著($P>0.05$)。经治疗达到完全缓解后, 血清中和骨髓中 TGF-β_1 水平恢复至接近正常。复发时则又降低, 见表 3。ANLL $M_{4\sim7}$ 患者血清及骨髓中 TGF-β_1 水平较其它亚型为低, 其完全缓解率也低, 分别为(46%和 47%)。对照组骨髓和血清中 TGF-β_1 水平近似。

表 3　白血病患者血清及骨髓中 TGF-β_1 水平(ρ_B/μg·L^{-1})

Tab 3　TGF-β_1 level in blood and bone marrow of leukemia patients(ρ_B/μg·L^{-1})

Group	n	Serum	Bone marrow supernatant
ANIL(First visit)			
M_1	9	30.4±3.1	36.2±4.3
M_2	8	28.2±2.6	31.7±2.6
M_3	6	31.1±4.7	32.2±3.8
$M_{4\sim7}$	15	18.4±3.7	20.3±4.1
ALL(First visit)	18	23.4±5.1	26.1±2.9
ANIL(CR)	24	85.2±4.2	88.3±2.8
ALL(CR)	11	82.6±2.1	88.9±5.1
Control	36	91.2±7.7	94.2±4.4

3　讨论

TGF-β 作为多效细胞因子, 其生物学功能主要有: ①刺激成纤维细胞生长、细胞外基质形成, 修复创伤。②与白细胞介素和其它细胞因子相互作用, 参与免疫、炎症和造血调节。③抑制多种细胞(如内皮细胞、角质

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

细胞、部分恶性肿瘤细胞)的增殖[2]。目前已知的TGF-β有5种,分别为TGF-$\beta_{1\sim5}$,存在于哺乳动物的主要为前3种。TGF-β_1在TGF-β家族中发现最早且生物活性最为明显,在造血方面主要起负调控作用[3]。它是目前已知的作用最强的血细胞增殖的负调控因子,多种正常血细胞如单核细胞、淋巴细胞、血小板等均能产生TGF-β_1。TGF-β_1可抑制白血病细胞的增殖[7],且对白血病细胞有诱导分化作用[8]。

现已发现TGF-β有4型受体,其中Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型普遍存在于人类正常细胞,Ⅳ型受体仅在大鼠垂体细胞发现。不同细胞的受体类型和亲和力不同。转化和恶性细胞的受体常变化,如人白血病细胞系HL-60仅有Ⅰ型受体,U937缺Ⅱ型[2]。在TGF-β的3种受体中,Ⅱ型受体($TGFR_2$)与TGF-β_1有较高亲和力[4]。

正常骨髓中的巨核细胞、各种类型的白血病细胞(HEL、HL-60、K562、U937、DAMI、MEG-01、HUT78等)及CA细胞除均能表达TGF-β_1及其受体mRNA外,还表达$TGFR_2$。本研究发现,初诊急性白血病患者TGF-β_1表达水平未见下降,但其Ⅰ、Ⅱ型受体的表达明显低于对照组,经治疗达到完全缓解后,$TGFR_1$及$TGFR_2$表达水平又趋于正常。一般认为,TGF-β在信号传导时首先与其Ⅱ型受体结合,二者形成复合体,之后Ⅰ型受体也加入该复合体并被Ⅱ型受体磷酸化而活化,活化的Ⅰ型受体通过激活细胞内的信使而指导目的基因的转录。在该过程中,Ⅰ型受体需要Ⅱ型受体与配体结合,Ⅱ型受体则需要Ⅰ型受体向下进一步传导信号,二者缺一不可[9]。任何一种受体的缺失均可使信号传递中断。白血病病人$TGFR_1$及$TGFR_2$表达水平明显下降,使TGF-β的信号传递中断,从而使白血病细胞逃脱了这种抑制因子的控制而恶性增殖。这可能解释在白血病患者为何TGF-β_1表达水平未见下降而$TGFR_1$及$TGFR_2$表达水平明显下降。提示TGF-β_1及其Ⅰ、Ⅱ型受体在白血病的发生、发展中起一定作用。

急性白血病患者血清及骨髓上清中TGF-β_1水平越低,其完全缓解率也越低,有可能作为判断急性白血病预后的一个指标。今后尚需积累更多的病例资料以进一步证实。

参考文献:

[1] Massague J. The transforming growth factor-β family[J]. Annu Rev Cell Biol, 1990, 6: 597—641.

[2] 吴克复. 造血系统的重要调节因子—TGF-β[J]. 中华血液学杂志, 1993, 14(6): 329—330.

[3] Wu K F, Zhu Y M, Li M, *et al*. TGF-β and its role in hematopoietic regulation[A]. In: Murphy M J ed. Blood cell growth factors: Their present and future use in hematology and oncology [M]. Ortho Biotech, Dayton USA: Alpha Med Press, 1991. 235.

[4] Lin H Y, Wang X F, Ng Eaton E, *et al*. Expression cloning of TGF-β type Ⅱ receptor, a functional transmembrane Serine/Threonine Kinase[J]. Cell, 1992, 68(6): 775—785.

[5] 陈元仲, 吕联煌, 汪 玲, 等. 白血病细胞TGF-β_1及其受体基因表达与白血病患者TGF-β_1测定及其意义[J]. 中华血液学杂志, 1998, 19(11): 576—580.

[6] Thorpe R, Wadhwa M, Bird C R, *et al*. Detection and measurement of cytokines[J]. Blood Rev, 1992, 6(3): 133—148.

[7] Tessier N, Hooang T. Transforming growth factor β inhibits the proliferaation of the blast cells of acute myeloblastic leukemia[J]. Blood, 1988, 72(1): 159—164.

[8] 冯 茹, 沈素芸. 转化生长因子β_1对人原代白血病细胞的诱导分化作用[J]. 中华内科杂志, 1994, 33(5): 295—297.

[9] Wrana J L, Attisano L, Wieser R, *et al*. Mechanism of activation of the TGF-β receptor[J]. Nature, 1994, 370(6 488): 341—347.

(编辑 薛国文)

(上接803页)

莫通有关。结果表明:钙离子拮抗剂对脑外伤所致的继发性肺损害,尤其是肺水肿发生确实起到了抑制和治疗作用。病理检查也肯定了这一点。

关键词: 钙离子拮抗剂; 脑外伤; 肺损伤

中图法分类号: R651.15 文献标识码: B

参考文献:

[1] 范润金, 王宪荣. 钙离子在脑外伤后继发性肺损害中的作用[J]. 中华创伤杂志, 1998, (1): 37—39.

[2] Levasseur J E, Patterson J L Jr, Garcia C I, *et al*. Effect of neonatal capsaicin treatment on neurogenic pulmonary edema from fluid-precussion brain injury in the adult rat[J]. J Neurosurg, 1993, 78(4): 610—618.

[3] 卢步峰, 黄诒森, 鲁友明. 用Fura-2双波长荧光法测定神经细胞内游离钙[J]. 生物化学与生物物理学进展, 1994, 21(3): 275.

[4] Kim-Lee M H, Stokes B T, Anderson D K. Intracellular calcium dynamics and cerebral injury: modeling various insults *in vitro* [J]. Brain Res, 1993, 613(1): 156—159.

[5] 易声禹, 费 舟, 徐如祥. 尼莫地平救治重型颅脑损伤的理论基础与临床研究[J]. 中华神经外科杂志, 1994, 10(1): 28.

(编辑 王 红)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net