

· 临床研究 ·

白细胞介素-8 及其受体在小儿急性白血病骨髓 单个核细胞中的表达和临床意义

何莉¹, 高红²

(1. 中国医科大学附属第一医院儿科, 辽宁 沈阳 110001;

2. 中国医科大学附属第二医院卫生部小儿先天畸形重点实验室, 辽宁 沈阳 110001)

[摘要] 目的 探讨白细胞介素-8(IL-8)及受体(IL-8R)在小儿急性白血病骨髓单个核细胞中的表达和临床意义。方法 RT-PCR法检测32例急性白血病骨髓单个核细胞IL-8, IL-8R mRNA表达。结果 急性髓系白血病(AML)组中有5例表达IL-8(5/10), 4例表达IL-8R(4/10); 急性淋巴细胞白血病(ALL)组中有13例表达IL-8(13/22), 9例表达IL-8R(9/22)。IL-8在急性髓系白血病组中的表达水平高于急性淋巴细胞白血组, 差异有显著性($P < 0.05$)。AML组中M₄-M₅亚型中的表达水平高于M₂-M₃, 差异有显著性($P < 0.05$)。ALL组中B系列-ALL表达水平高于T-ALL, 差异有显著性($P < 0.05$)。化疗后患儿骨髓单个核细胞IL-8, IL-8R水平显著低于化疗前($P < 0.05$)。结论 小儿急性白血病有IL-8, IL-8R的表达, IL-8尤其在AML组M₄-M₅亚型及B系列-ALL更明显, 化疗后两者水平显著下降。

[中国当代儿科杂志, 2005, 7(4):312-314]

[关键词] 白血病; 白细胞介素-8; 白细胞介素-8受体; 儿童

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)04-0312-03

Expression of interleukin-8 and its receptor in bone marrow cells of children with acute leukemia

Li HE, Hong GAO. Department of Pediatrics, First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China (Email: synw@sina.com)

Abstract: Objective To study the expression levels of interleukin-8 (IL-8) and its receptor in bone marrow cells of children with acute leukemia. **Methods** The expressions of IL-8 and its receptor in bone marrow cells were detected using RT-PCR in 22 cases of acute lymphoblastic leukemia (ALL) and 10 cases of acute myelocytic leukemia (AML). **Results** In 5 of 10 AML patients and in 13 of 22 ALL patients, the cells expressed IL-8 mRNA. In 4 AML cases and in 9 ALL cases, the cells expressed IL-8 receptor mRNA. The IL-8 expression levels in AML patients were significantly higher than those in ALL patients ($P < 0.05$). The cells from patients with M₄-M₅ AML expressed a higher IL-8 mRNA level than those from M₂-M₃ AML patients ($P < 0.05$). Of the ALL children, the IL-8 expression levels in B-ALL children were significantly higher than those of T-ALL children ($P < 0.05$). After induction chemotherapy, the expression levels of IL-8 and its receptor in bone marrow cells of children with acute leukemia were significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusions** IL-8 and its receptor may be expressed in childhood acute leukemia. Children with M₄-M₅ AML or B-ALL can express a higher level of IL-8 mRNA in bone marrow cells. Induction chemotherapy can decrease the expression of IL-8 and its receptor.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(4):312-314]

Key words: Leukemia; Interleukin-8; Interleukin-8 receptor; Child

白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)是CXC细胞因子超家族成员, 主要介导炎症趋化活性, 改变粒细胞的粘附作用。IL-8R(interleukin-8 receptor, IL-8R)属G蛋白受体超家族, 与IL-8有高特异性亲和力^[1]。已有报道^[2] IL-8及IL-8R与急性白血病相关。我们采用RT-PCR方法检测了32例小儿急性白血病(childhood acute leukemia, CAL)骨髓单个核

细胞中IL-8 mRNA, IL-8R mRNA表达, 并探讨其临床意义。

1 对象与方法

1.1 对象

1998年5月至1999年10月住院患者32例, 男

[收稿日期] 2004-10-06; [修回日期] 2004-12-21

[作者简介] 何莉(1970-), 女, 在读博士, 主治医师。主攻方向: 儿童血液肿瘤疾病。

19例,女13例,年龄0.8~14岁,平均8岁。根据MIC分型,急性淋巴细胞白血病(ALL)22例,其中L₁型6例,L₂型16例;T-ALL 9例,B系列-ALL 13例;急性髓系白血病(AML)10例,其中M₂型4例,M₃型3例,M₄型2例,M₅型1例。20例健康体检儿童为对照组。

1.2 研究方法

1.2.1 单个核细胞的制备 肝素抗凝骨髓2 mL,Ficoll 密度梯度离心分离单个核细胞。加Trizol裂解液1 mL,混匀5 min,-70℃保存备用。

1.2.2 合成引物 应用软件Primer 5.0自行设计,由北京奥科生物有限公司合成。同时设计内参引物β₂微球蛋白(MG-2)。引物序列为:IL-8:上游引物5'-GTG CAG AGG GTT GTG GAC-3'下游引物5'-GTG AGG TAA GAT GGT GGC T-3';IL-8R:上游引物5'-GGC TCT GGA CAG GCA CTA-3'下游引物5'-TTC AAC GGG AAT GAT GGT-3';MG-2:上游引物5'-ACC CCC ACT GAA AAA GAT GA-3'下游引物5'-ATC TTC AAA CCT CCA TGA TG-3'。

1.2.3 总RNA提取 按Trizol Reagent提取总RNA,紫外分光光度计定量。2%琼脂糖凝胶电泳鉴定可见28S,18S两条带集中清晰。

1.2.4 RT-PCR 应用逆转录试剂盒合成cDNA第一链后PCR扩增。IL-8 PCR条件为:94℃变性3 min,然后94℃ 30s,55℃ 40s,72℃ 1 min,共35个循环,最后72℃ 5 min,产物614 bp;IL-8R和MG-2条件为:93℃变性3 min,然后94℃ 30s,57℃ 30s,72℃ 30s,共32个循环,最后72℃ 7 min,IL-8R产物168 bp,MG-2产物120 bp。

1.2.5 RT-PCR产物分析 电泳后,经凝胶成像分析系统摄影、扫描PCR产物,溴乙锭染色后强度用下列公式表示:IL-8 mRNA相对含量(mass值)=IL-8密度/MG-2密度;IL-8R mRNA相对含量(mass值)=IL-8R密度/MG-2密度。

1.3 统计学分析

数据采用SPSS10.0统计软件处理。

2 结果

2.1 CAL与正常骨髓单个核细胞IL-8,IL-8R mRNA表达水平及阳性率

AML组中有5例表达IL-8(5/10),4例表达IL-8R(4/10)。ALL组中有13例表达IL-8(13/22),9例表达IL-8R(9/22)。但IL-8 mRNA在AML组中的表达水平高于ALL组,差异有显著性($P < 0.05$)。

AML组中M₂-M₃ 3例表达IL-8(3/7),M₄-M₅ 2例表达IL-8(2/3),且IL-8 mRNA在M4-M5亚型中的表达水平高于M₂-M₃,差异有显著性($P < 0.05$)。ALL组中T-ALL 6例表达IL-8(6/9),B系列-ALL 7例表达IL-8(7/13),但IL-8 mRNA在B系列-ALL表达水平高于T-ALL,差异有显著性($P < 0.05$)。IL-8R在AML,ALL及各亚型间表达差异无显著性($P > 0.05$)。见表1。

表1 初诊CAL及正常组IL-8,IL-8R mRNA表达

组别	n	IL-8mRNA(+)	IL-8 mRNA	IL-8RmRNA(+)	IL-8R mRNA
		n	(mass值)	n	(mass值)
正常组	20	0	0.063 ± 0.005	0	0.049 ± 0.012
AML	10	5	0.990 ± 0.026 ^a	4	0.826 ± 0.035
M ₂ -M ₃	7	3	0.925 ± 0.023	2	0.755 ± 0.024
M ₄ -M ₅	3	2	1.055 ± 0.009 ^b	2	0.897 ± 0.013
ALL	22	13	0.942 ± 0.023	9	0.752 ± 0.074
T-ALL	9	6	0.863 ± 0.015	5	0.653 ± 0.054
B-ALL	13	7	0.985 ± 0.031 ^c	4	0.857 ± 0.096

a与ALL相比, $P < 0.05$; b与M₂-M₃相比, $P < 0.05$; c与T-ALL相比, $P < 0.05$

2.2 化疗前后CAL单个核细胞IL-8,IL-8R mRNA表达

初发CAL患儿骨髓单个核细胞IL-8mRNA,IL-8R mRNA表达水平均显著高于化疗后的骨髓单个核细胞($P < 0.05$)。见表2,图1,图2。

表2 化疗前后CAL及正常组IL-8,IL-8RmRNA表达

组别	n	IL-8mRNA(+)	IL-8 mRNA	IL-8RmRNA(+)	IL-8R mRNA
		n	(mass值)	n	(mass值)
正常对照组	20	0	0.063 ± 0.005	0	0.049 ± 0.012
患儿组化疗前	32	25	1.047 ± 0.113 ^a	27	0.971 ± 0.103 ^a
患儿组化疗后	19	6	0.891 ± 0.071	7	0.812 ± 0.098

a与化疗后相比 $P < 0.05$

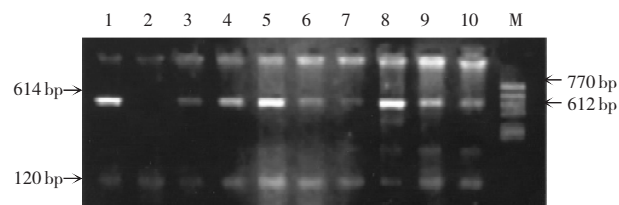


图1 CAL IL-8 RT-PCR结果

1:阳性对照;2:正常对照;3、4、8、9、10:CAL初发标本;5、6、7:CAL化疗后标本;M:X174-Hinc II

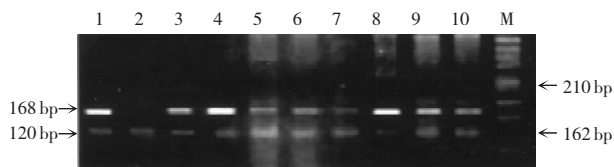


图2 CAL IL-8 RT-PCR 结果

1:阳性对照;2:正常对照;3、4、8、9、10:CAL 初发标本;5、6、7: CAL 化疗后标本;M:X174-Hinc II

3 讨论

IL-8 位于人类染色体 4q12-21,长 5.1 kb,由 4 个外显子和 3 个内含子组成,是一种糖蛋白。IL-8 具有广泛的生物学功能,包括调节着细胞膜分子的粘附和迁移过程,血管生成等^[3]。IL-8 与白血病细胞的生长模式有关^[2]。学者们发现许多白血病细胞中均能检测到 IL-8 表达,而正常组织中无 IL-8 表达。本实验结果显示,小儿急性白血病有 IL-8 的表达,并在 AML 组表达高于 ALL 组。AML 组中 M₄-M₅ 有 2 例表达 IL-8 (2/3),M₂-M₃ 有 3 例表达 IL-8 (3/7),且 M₄-M₅ IL-8 mRNA 表达水平高于 M₂-M₃ ($P < 0.05$)。体现出 AML 细胞分泌高水平 IL-8 预示有单核系分化的倾向^[4]。ALL 组中 T 系 ALL 6 例表达 IL-8 (6/9),B 系 ALL 7 例表达 IL-8 (7/13)。但 B 系 IL-8 mRNA 表达水平高于 T 系,提示依据 IL-8 mRNA 水平的差异有助于 CAL 各分型的辅助鉴别。IL-8 能被 ATRA 明显抑制,体外 APL 细胞用 ATRA 72 h 后,初始表达高水平 IL-8 开始下降,并保持低水平状态,这种变化与高白细胞血症及维甲酸综合征的发生转归关系密切,可成为 AML-M₃ 有效监测手段^[5]。

白血病细胞能自主产生和表达 IL-8^[2,6]。本组患儿于化疗前 IL-8 mRNA,IL-8R mRNA 表达均高于化疗后,差异有显著性 ($P < 0.05$)。如果 IL-8 水平在化疗后持续高表达或由低转高,其治疗效果不佳。Atkins^[7] 研究发现 HL-60 细胞 IL-8 mRNA 表达增加。HL-60R 未发现表达变化,敏感性部分恢复

的 HL-60R IL-8 mRNA 又有升高,仅用维甲酸受体突变难以解释 HL-60 对分化诱导剂不同的反应,可能有其他信号转导途径,检测 IL-8 mRNA 可用于探讨分化因子交叉耐药机制。

IL-8R 分 A,B 两型,IL-8R A 与 IL-8 亲和力高,IL-8R B 与 IL-8,GRO- α ,NAP-2 均有高亲和力。有研究表明人类髓系白血病细胞有持续的 IL-8R 的表达^[8]。髓系稳定低水平 IL-8R 表达,而淋巴系无 IL-8R 表达,IL-8R 表达伴细胞内 Ca²⁺ 浓度的变化,表达呈功能性^[2]。本研究在 AML 中共检测到 4 例 (4/10) IL-8R 表达,ALL 中 9 例 (9/22) IL-8R 表达阳性。与国外报告有一定差异,原因尚需进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 张文胜,陈槐卿. 白细胞介素-8 研究进展[J]. 生物医学工程学杂志,2002,19(4):697-702.
- [2] Tobler A, Moser B, Dewald B, Geiser T, Studer H, Baggiolini M, et al. Constitutive expression of interleukin-8 and its receptor in human myeloid lymphoid leukemia[J]. Blood, 1993, 82(8): 2517-2525.
- [3] 付浩,袁媛,孙开来. 白细胞介素-8 与肿瘤[J]. 国外医学肿瘤学分册,2000,27(2):65-67.
- [4] Vinante F, Rigo A, Tecchio C, Patuzzo C, Ricetti MM, Morosato L, et al. Preferential release of high amounts of interleukin-8 by myeloid blasts showing monocytic differentiation[J]. Haematologica, 1996, 81(3):195-200.
- [5] 鲁慧兰,陈瑞芬,张学兴. 维甲酸诱导治疗急性早幼粒细胞白血病中细胞因子表达及意义研究进展[J]. 国外医学内科学分册,1997,24(8):335-337.
- [6] Vinante F, Rigo A, Vincenzi C. IL-8 mRNA expression and IL-8 production by acute myeloid leukemia cells[J]. Leukemia, 1993, 7(10):1552-1556.
- [7] Atkins KB, Troen BR. Comparative responsiveness of HL-60, HL-60R, and HL-60R⁺ cells to retinoic acid, calcitriol, 9 cis-retinoic acid, and sodium butyrate[J]. Blood, 1995, 86(7): 2475-2480.
- [8] Zahn S, Zwirner J, Spengler HP, Gotze O. Chemoattractant receptors for interleukin-8 and C5a: expression on peripheral blood leukocytes and differential regulation on HL-60 and AML-193 cells by vitamin D3 and all-trans retinoic acid[J]. Eur J Immunol, 1997, 27(4):935-940.

(本文编辑:吉耕中)