

骨髓增殖性肿瘤病人外周血中细胞因子水平的表达及其意义

徐海涛, 姚福生

作者单位: 安庆市立医院血液科, 安徽 安庆 246003

通信作者: 姚福生, 男, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为血液病, E-mail: yfsh6693@sina.com

摘要: **目的** 探讨细胞因子在骨髓增殖性肿瘤(MPN)病人外周血中的水平及其意义。**方法** 采用免疫荧光法检测 2013 年 5 月至 2017 年 2 月安庆市立医院血液科收治的 68 例 MPN 病人, 包括真性红细胞增多症(PV)22 例, 原发性血小板增多症(ET)16 例, 原发性骨髓纤维化(PMF)11 例, 慢性粒细胞白血病(CML)19 例及 20 例健康对照者。检测外周血中白介素(IL)-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及 IL-10 表达水平。**结果** PMF 组中, IL-2R、IL-6、IL-8 及 IL-10 水平较对照组明显升高, 均 $P < 0.05$; PV 及 ET 组中, IL-2R 及 IL-8 较对照组明显升高, 均 $P < 0.05$; CML 组中, IL-2R、IL-6 及 IL-8 水平较对照组明显升高, 均 $P < 0.05$ 。与 ET 组和 PV 组相比, PMF 组表现出更高的 IL-2R、IL-6 和 IL-10 浓度, 分别为 $(3\,769.32 \pm 25.46)$ 、 (7.40 ± 1.42) 、 (16.55 ± 3.13) ng/L。与 ET 和 PV 相比, CML 组 IL-6 的浓度也更高 $[(7.21 \pm 1.35)$ ng/L]。与 CML 组相比, PMF 病人表现出更高浓度的 IL-2R $[(3\,769.32 \pm 25.46)$ ng/L]。PV 组 IL-2R 与血红蛋白(HGB)浓度呈正相关; ET 组 IL-2R 与白细胞、血小板数值均呈正相关; PMF 组 IL-2R 与白细胞计数、红细胞输注次数及 JAK2V617 突变均呈正相关。**结论** MPN 病人中细胞因子的表达出现失调, 可能是导致 MPN 发生、发展的重要因素之一。

关键词: 骨髓增殖性肿瘤; 外周血; 细胞因子

Expression and significance of cytokines in peripheral blood of patients with myeloproliferative neoplasm

XU Haitao, YAO Fusheng

Author Affiliation: Department of Hematology, Anqing Municipal Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Anqing, Anhui 246003, China

Abstract: **Objective** To investigate the level and significance of cytokines in peripheral blood of patients with myeloproliferative neoplasm (MPN). **Methods** The levels of interleukin (IL)-1 β , IL-2R, IL-6, IL-8, tumor necrosis Factor- α (TNF- α) and IL-10 in peripheral blood of 68 patients with MPN admitted to the Department of Hematology, Anqing Municipal Hospital from May 2013 to February 2017 and 20 healthy controls were detected by immunofluorescence. MPN patients included 22 cases of polycythemia vera (PV), 16 cases of essential thrombocythemia (ET), 11 cases of primary myelofibrosis (PMF) and 19 cases of chronic myeloid leukemia (CML). **Results** The levels of IL-2R, IL-6, IL-8 and IL-10 in the PMF group were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). In the PV and ET groups, IL-2R and IL-8 levels were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The levels of IL-2R, IL-6 and IL-8 were significantly higher in the CML group than in the control group (all $P < 0.05$). Compared with the ET group and the PV group, the PMF group showed higher concentrations of IL-2R, IL-6 and IL-10, respectively, with $(3\,769.32 \pm 25.46)$, (7.40 ± 1.42) , (16.55 ± 3.13) ng/L. The concentration of IL-6 in the CML group was also higher $[(7.21 \pm 1.35)$ ng/L] than those in the ET and PV groups. PMF patients showed higher concentrations of IL-2R $(3\,769.32 \pm 25.46)$ ng/L compared to CML group. There was a positive correlation between IL-2R level and hemoglobin (HGB) concentration in PV group. IL-2R level in ET group was positively correlated with white blood cell and platelet count. The level of IL-2R in PMF group was positively correlated with white blood cell count, red blood cell infusion and JAK2V617 mutation. **Conclusions** The expression of cytokines in patients with MPN was maladjusted, which may be one of the important factors that lead to the occurrence and development of MPN.

Key words: Myeloproliferative neoplasm; Peripheral blood; Cytokines

骨髓增殖性肿瘤(MPN)中最常见的4种亚型分别是慢性粒细胞白血病(CML)、真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)和原发性骨髓纤维化(PMF)。细胞因子是一类可溶性蛋白质,在

许多生物过程中发挥重要的调节作用^[1]。已有研究表明,一些异常细胞因子的产生以及部分细胞因子水平的失调,参与许多疾病包括肿瘤的发生和发展^[2]。国外有一些研究发现部分细胞因子水平在

MPN 病人中同样出现失调^[3,4]。但国内 MPN 病人细胞因子水平情况报道较少。本文拟对 MPN 病人外周血细胞因子水平进行检测,并对其在 MPN 发病机制中的作用进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2013 年 5 月至 2017 年 2 月安庆市立医院血液科收治的 68 例骨髓增殖性肿瘤(MPN)病人作为研究对象,其中男性 37 例,女性 31 例,年龄(51 ± 6)岁,年龄范围为 14~79 岁。按照世界卫生组织的诊断标准^[5],其中 PMF 组 11 例,PV 组 22 例,ET 组 16 例,CML 组 19 例;另选择同期院内体检健康职工 20 例为对照组,其中男性 11 例,女性 9 例,年龄(47 ± 5)岁,年龄范围为 27~76 岁。排除标准:(1)合并感染的病人;(2)免疫缺陷或免疫抑制的病人。本研究获安庆市立医院伦理委员会批准,病人或近亲属对研究方案均签署知情同意书。

1.2 标本采集 收集病人和健康体检者空腹静脉血 4 mL,检测细胞因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及 IL-10 等。

1.3 细胞因子水平的检测 细胞因子 IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、TNF- α 及 IL-10 均采用免疫荧光法进行检测,试剂由美国 luminex 公司提供。由安庆市立医院免疫实验室于采血当日进行检测。

1.4 统计学方法 采用统计软件 SPSS 20.0 进行分析。观测资料均为正态计量资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两两比较为 LSD-*t* 检验。变量/指标间的相关关系采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血细胞因子水平的比较 PMF 组中,IL-2R、IL-6、IL-8 及 IL-10 平均值较对照组明显升高,差异有统计学意义($P = 0.001$ 、 0.021 、 0.031 、 0.026);PV 组中,IL-2R 及 IL-8 平均值较对照组明显升高

($P = 0.012$ 、 0.046),其余细胞因子差异无统计学意义($P > 0.05$);ET 组中,IL-2R 及 IL-8 平均值较对照组明显升高($P = 0.026$ 、 0.017),其余细胞因子差异无统计学意义($P > 0.05$);CML 组中,IL-2R、IL-6 及 IL-8 平均值较对照组明显升高($P = 0.031$ 、 0.026 、 0.019),其余细胞因子差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 ET 和 PV 相比,PMF 病人表现出更高的 IL-2R、IL-6 和 IL-10 浓度。与 ET 和 PV 相比,CML 病人 IL-6 的浓度也更高。与 CML 相比,PMF 病人表现出更高浓度的 IL-2R,具体数据见表 1。

2.2 MPN 各亚组间 IL 水平与临床特征的关系

检测了 MPN 各亚组间年龄、性别、白细胞计数(WBC)、血红蛋白(HGB)、血小板计数(PLT)、乳酸脱氢酶(LDH)、脾大、红细胞输注次数、JAK2V617 突变与不同 IL 水平之间的相关性,结果发现,MPN 各亚组间年龄、性别、脾大、LDH 与不同 IL 水平间均无相关性;PV 组 IL-2R 与 HGB 呈正相关;ET 组 IL-2R 与 WBC、PLT 均呈正相关;PMF 组 IL-2R 与 WBC、红细胞输注次数及 JAK2V617 突变均呈正相关。

3 讨论

MPN 是获得性造血干细胞发生变化导致外周血细胞(包括红细胞,白细胞或血小板)产生失调的血液病^[6]。现已证实 JAK2V617F 基因突变是 MPN 发病的一个主要机制^[7]。Janus 激酶/信号转导与转录激活子(JAK/STAT)信号通路的活化与 MPN 发生密切相关,而 JAK/STAT 信号通路是细胞因子信号通路的主要介导者^[8],因此,细胞因子与 MPN 同样密切相关。但国内相关研究报道较少。虽然细胞因子水平有显著的异质性,但本研究表明:MPN 病人中,IL-2R 及 IL-8 水平较对照组明显升高。此外,不同 MPN 各亚组间细胞因子水平也明显不同:与 ET 组和 PV 组相比,PMF 组病人表现出更高的

表 1 初诊 MPN 病人与对照组外周血细胞因子浓度比较/(pg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-1 β	IL-2R	IL-6	IL-8	TNF- α	IL-10
对照组	20	2.12 $\pm$ 0.18	534.87 $\pm$ 5.47	2.41 $\pm$ 0.25	8.52 $\pm$ 1.71	6.54 $\pm$ 1.38	7.67 $\pm$ 1.65
PMF 组	11	2.06 $\pm$ 0.22	3 769.32 $\pm$ 25.46 ^a	7.40 $\pm$ 1.42 ^a	20.36 $\pm$ 4.33 ^a	7.63 $\pm$ 1.54	16.55 $\pm$ 3.13 ^a
PV 组	22	1.93 $\pm$ 0.19 ^a	1 770.52 $\pm$ 14.35 ^{ab}	1.57 $\pm$ 0.12 ^{ab}	16.27 $\pm$ 3.20 ^{ab}	8.59 $\pm$ 1.76 ^a	8.54 $\pm$ 1.71 ^b
ET 组	16	1.85 $\pm$ 0.20 ^{ab}	2 020.47 $\pm$ 17.21 ^{abc}	1.93 $\pm$ 0.17 ^b	23.46 $\pm$ 4.72 ^{abc}	9.27 $\pm$ 1.90 ^{ab}	7.49 $\pm$ 1.50 ^b
CML 组	19	2.14 $\pm$ 0.22 ^{cd}	1 880.61 $\pm$ 15.98 ^{abcd}	7.21 $\pm$ 1.35 ^{acd}	22.68 $\pm$ 4.56 ^{ac}	6.86 $\pm$ 1.42 ^{cd}	9.81 $\pm$ 1.96 ^{abd}
F 值		7.086	76 970.885	214.994	50.184	9.283	46.474
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:两两比较为 LSD-*t* 检验,a、b、c、d 分别为和对照组、PMF 组、PV 组、ET 组比较, $P < 0.05$

IL-2R、IL-6 和 IL-10 浓度, CML 病人 IL-6 的浓度也更高。IL-2R 与 MPN 各亚组的临床特征相关: PV 组 IL-2R 与 HGB 呈正相关, ET 组 IL-2R 与 WBC、PLT 均呈正相关, PMF 组 IL-2R 与 WBC、红细胞输注次数及 JAK2V617 突变均呈正相关。

Tefferi 等^[4]对 127 例 PMF 的外周血细胞因子进行测定, 结果发现: IL-2R、IL-6、IL-8 及 IL-10 的浓度较健康对照组明显升高, 这与我们的研究一致, 但 IL-1 β 及 TNF- α 的浓度较对照组也显著升高。同时, 他们研究还发现, IL-2R 及 IL-8 与较短的生存期相关。并且 IL-8 与 PMF 的全身症状有关, IL-12 和 IL-2R 浓度的升高提示需要输注红细胞, IL-8 与 IL-2R 水平的升高与白细胞增多密切相关。Pourcelot 等^[3]对 17 例 PV 和 21 例 ET 的细胞因子进行检测发现, 除 IL-1 β 外, IL-4、IL-6、IL-8、IL-10 及 TNF- α 的浓度均明显升高; PV 组与 ET 组相比, ET 组 IL-8 明显升高, IL-6、IL-10 及 TNF- α 两组间差异无统计学意义。Pardanani 等^[9]对 PMF 病人的外周血细胞因子及相关临床特征进行研究, 结果表明 IL-2R 及 IL-8 与较短的生存周期及白血病转化有关, 而且 IL-8 可能通过新生血管形成促使肿瘤微环境的形成。

国外已有研究证实, JAK2V617 突变几乎在所有的 PV 以及 55%~65% ET 或 PMF 中都有表达。在 JAK2V617F 的已知下游效应物中, STAT5 转录因子在 MPN 的发病中起关键作用。当 STAT5 转录靶标出现失调时, MPN 就处于疾病活化状态。与 STAT5 在 MPN 病理生理学中的重要作用一致, JAK2V617F 表达无法在 STAT 5a/b 缺陷小鼠中产生疾病^[10]。在 JAK2V617 表达的 MPN 小鼠模型中, STAT3 的缺失, 导致小鼠的临床症状加重^[11], 生存期缩短^[12]。此外, STAT3 通过激活 JAK 途径, 还激活 IL-6 及 IL-10 等细胞因子参与 MPN 的发生、发展^[13]。

综上所述, MPN 病人中细胞因子的表达出现失调, 不同 MPN 亚组间各种细胞因子的表达水平也不尽相同, 但 MPN 各亚型的 IL-2R 及 IL-8 水平较对照组均明显升高, 并且细胞因子水平与 MPN 临床特征存在一定的相关性, 细胞因子介导的 JAK/STAT 信号通路的持续激活可能是导致 MPN 发生、发展的重要因素。但由于我们的病例数较少, 因此还需进一步研究。

参考文献

- [1] AITTO MÄKI S, PESU M. Therapeutic targeting of the Jak/STAT pathway[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2014, 114(1): 18-23.
- [2] GRIVENNIKOV SI, GRETEN FR, KARIN M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. Cell, 2010, 140(6): 883-899.
- [3] POURCELOT E, TROCME C, MONDET J, et al. Cytokine profiles in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients: clinical implications[J]. Exp Hematol, 2014, 42(5): 360-368.
- [4] TEFFERI A, VAIDYA R, CARAMAZZA D, et al. Circulating interleukin (IL)-8, IL-2R, IL-12, and IL-15 levels are independently prognostic in primary myelofibrosis: a comprehensive cytokine profiling study[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(10): 1356-1363.
- [5] VARDIMAN JW, THIELE J, ARBER DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood, 2009, 114(5): 937-951.
- [6] KLAMPFL T, HARUTYUNYAN A, BERG T, et al. Genome integrity of myeloproliferative neoplasms in chronic phase and during disease progression[J]. Blood, 2011, 118(1): 167-176.
- [7] TEFFERI A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1[J]. Leukemia, 2010, 24(6): 1128-1138.
- [8] 陈怡欣, 李英, 张凌岩, 等. 骨髓增殖性肿瘤患者外周血细胞中 JAK2V617F 突变和 p-STAT5 蛋白表达及其与临床特征的相关性[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(6): 1398-1404.
- [9] PARDANANI A, BEGNA K, FINKE C, et al. Circulating levels of MCP-1, sIL-2R, IL-15, and IL-8 predict anemia response to pomalidomide therapy in myelofibrosis[J]. Am J Hematol, 2011, 86(4): 343-345.
- [10] WALZ C, AHMED W, LAZARIDES K, et al. Essential role for Stat5a/b in myeloproliferative neoplasms induced by BCR-ABL1 and JAK2 (V617F) in mice[J]. Blood, 2012, 119(15): 3550-3560.
- [11] YAN D, JOBE F, HUTCHISON RE, et al. Deletion of Stat3 enhances myeloid cell expansion and increases the severity of myeloproliferative neoplasms in Jak2V617F knock-in mice[J]. Leukemia, 2015, 29(10): 2050-2061.
- [12] GRISOUARD J, SHIMIZU T, DUEK A, et al. Deletion of Stat3 in hematopoietic cells enhances thrombocytosis and shortens survival in a JAK2-V617F mouse model of MPN[J]. Blood, 2015, 125(13): 2131-2140.
- [13] HASSELBALCH HC. Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer[J]. Blood, 2012, 119(14): 3219-3225.

(收稿日期: 2017-03-28, 修回日期: 2017-04-21)