

## 干扰素- $\alpha$ 对嗜酸性粒细胞抗白血病免疫效应的增强作用

孙黎飞, 韩冰, 马向杉, 吴强强, 郝红峰, 王冬青(解放军第148中心医院 济南军区肿瘤诊疗专科中心, 山东 淄博 255300)

### 创新点评: 嗜酸性粒细胞在 CML 中的细胞免疫功能

慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)患者骨髓中嗜酸性粒细胞(eosinophil granulocyte, EOS)增多的原因一直不明。既往对于EOS增多的研究,多为对CML伴有EOS增多患者基因变异的探讨,而这些研究的结果都不能很好地解释CML中EOS增多的机制。虽然有研究认为,CML伴有EOS增多的原因与CML的恶性细胞克隆产生IL-3、IL-5和GM-CSF等细胞因子有关,但增多的EOS在CML患者骨髓中所具有的免疫学作用,以及相关机制的研究未见报道。

本期刊登的孙黎飞等人的研究论文,作者应用细胞化学、ELISA和免疫荧光技术从细胞免疫的角度探讨了EOS在CML中的生物学作用,发现CML患者骨髓中增多的EOS处于活化状态,能通过黏附、捕获和释放过氧化物酶( peroxylase, POX)强阳性的特异性颗粒攻击白血病细胞。他们还发现EOS特异性颗粒高表达IL-12、IL-17A和甘露糖受体(mannose receptor, MR),且与血清中IL-6、IL-12和IL-17的含量密切相关。此外,活化的EOS能通过MR捕获和吞噬白血病细胞。作者还观察到干扰素- $\alpha$ (interferon, IFN- $\alpha$ )联合羟基脲(hydroxycarbamide, OHU)治疗,能减轻OHU对EOS活性的抑制作用,使CML患者骨髓中处于活化状态的EOS数量增多,抗白血病细胞的细胞免疫学效应增强。

该研究探讨了CML患者伴发EOS增多的原因,以及IFN- $\alpha$ 治疗CML的作用机制,从肿瘤免疫的角度有了新的发现和突破,为CML的免疫治疗及其分子机制研究提供了新的观点和研究思路。

第二军医大学附属长海医院血液科主任、博士生导师,军队医学科委会血液病分会主任委员,上海市医学会血液病分会主任委员,全军血液病研究所所长



[摘要] 目的:观察干扰素- $\alpha$ (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )在羟基脲(hydroxycarbamide, OHU)治疗慢性粒细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)中对嗜酸性粒细胞(eosinophile granulocyte, EOS)抗白血病免疫效应的增强作用,并探讨其相关的免疫机制。方法:收集2010年1月至2012年2月间解放军第148中心医院诊治的46例BCR-ABL阳性的CML初治患者,分为OHU单独治疗组(20例)和OHU联合IFN- $\alpha$ 治疗组(26例),两组患者的性别比例、年龄范围和疾病分期等基本均衡;同时采集本院查体中心30名健康志愿者的标本作为对照。ELISA法检测患者治疗前后血清中IL-6、IL-12、IL-17和IFN- $\gamma$ 的水平;细胞化学染色法检测患者骨髓细胞中过氧化物酶(peroxydase, POX)的活性,免疫荧光(immunofluorescence, IF)染色检测CML患者骨髓中IL-12、IL-17A和甘露糖受体(mannose receptor, MR)的表达情况。结果:CML患者血清IL-6、IL-12和IL-17含量较健康志愿者显著升高[(116.13 $\pm$ 15.16) vs (90.98 $\pm$ 12.32)pg/ml, (189.26 $\pm$ 22.14) vs (96.60 $\pm$ 4.92)pg/ml, (34.42 $\pm$ 2.16) vs (23.74 $\pm$ 1.36)pg/ml;均 $P < 0.05$ ]。单纯OHU治疗后,CML患者血清中IL-6、IL-12和IL-17的水平显著下降[分别为

[基金项目] 济南军区“十二五”科技发展计划重点支持项目(No. JN11L017)。Project supported by the Major Science and Technology Development Program of “12<sup>th</sup> Five-year Plan” of Ji’nan Military Area Command (No. JN11L017)

[作者简介] 孙黎飞(1958-),女,江苏省徐州市人,博士,硕士生导师,主要从事肿瘤免疫与血液免疫的研究。E-mail: sunlifei\_2007@163.com

[通信作者] 孙黎飞(SUN LI-fei, corresponding author), E-mail: sunlifei\_2007@163.com

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120727.1125.007.html>

( $87.14 \pm 13.37$ )、( $60.22 \pm 20.16$ )、( $17.03 \pm 2.16$ )pg/ml,均  $P < 0.05$ ];与单纯 OHU 治疗组相比,OHU 联合 IFN- $\alpha$  组患者血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的水平显著上调[( $122.04 \pm 10.25$ )、( $101.12 \pm 27.16$ )和( $40.16 \pm 4.11$ )pg/ml, $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  ]。CML 患者骨髓中 EOS 阳性表达 IL-12、IL-17A 和 MR。IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗能减轻 OHU 对 EOS 的免疫抑制效应,患者骨髓中 IL-12、IL-17A 水平和 MR 阳性 EOS 数量较单纯 OHU 治疗组显著增加,且 POX 活性增强。**结论:**CML 患者的 EOS 能分泌 IL-12 和 IL-17,并表达 MR。IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗能增强 EOS 的抗白血病效应,减轻 OHU 对 EOS 的免疫抑制作用。

[关键词] 慢性粒细胞白血病;嗜酸性粒细胞;干扰素- $\alpha$ ;羟基脲;IL-12;IL-17A;甘露糖受体

[中图分类号] R730.51; R733.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)04-0348-07

## Interferon- $\alpha$ enhances anti-leukemia immunological effect of eosinophils granulocytes

SUN Li-fei, HAN Bing, MA Xiang-shan, WU Qiang-qiang, HAO Hong-feng, WANG Dong-qing (Department of Tumor Research and Treatment Centrality of Ji'nan Military Area Command, The 148<sup>th</sup> Hospital of PLA, Zibo 255300, Ji'nan, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the immunological enhancement effect of interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) on anti-leukemia activity of eosinophils granulocytes (EOSs) in patients with chronic myelogenous leukemia (CML) after hydroxycarbamide (OHU) therapy, and to investigate the related immunologic mechanism. **Methods:** Forty-six BCR-ABL positive CML patients (from Jan. 2010 to Feb. 2012) admitted in the 148<sup>th</sup> Hospital of PLA were included in this study, and were divided into OHU group (20 cases) and OHC combined IFN- $\alpha$  group (26 cases) with a balance in sex ratio and age range. Meanwhile, specimens of 30 healthy volunteers from the Regular Physical Examination Center of the hospital were collected as control. ELISA was used to determine the concentrations of cytokines IL-6, IL-12, IL-17 and IFN- $\gamma$  in serum of the CML patients. Cytochemistry staining was used to observe the peroxidase (POX) expression of immunocyte in bone marrow. Immunofluorescence (IF) staining was used to observe cytokines IL-12 and IL-17A expression levels as well as the expression of mannose receptor (MR). **Results:** The serum concentrations of IL-6, IL-12 and IL-17 were increased significantly in CML patients compared with the healthy control group [( $116.13 \pm 15.16$ ) vs ( $90.98 \pm 12.32$ ) pg/ml; ( $189.26 \pm 22.14$ ) vs ( $96.60 \pm 4.92$ ) pg/ml; ( $34.42 \pm 2.16$ ) vs ( $23.74 \pm 1.36$ ) pg/ml,  $P < 0.05$ ]. After OHU treatment, the serum concentrations of IL-6, IL-12 and IL-17 in the CML patients decreased to ( $87.14 \pm 13.37$ ), ( $60.22 \pm 20.16$ ) and ( $17.03 \pm 2.16$ ) pg/ml, respectively ( $P < 0.05$ ). Compared with the OHU treatment group, the serum IL-6, IL-12 and IL-17 concentrations in the OHU combined IFN- $\alpha$  treatment group were significantly up-regulated [( $122.04 \pm 10.25$ ), ( $101.12 \pm 27.16$ ) and ( $40.16 \pm 4.11$ ) pg/ml,  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ]. EOS in bone marrow of CML patients expressed IL-12, IL-17A and MR. OHU treatment combined with IFN- $\alpha$  could decrease immunosuppressive effect of OHU therapy, the quantity of EOS with positive IL-12, IL-17A and MR expressions was increased obviously, and the POX activity of EOS was also increased. **Conclusion:** EOS can secrete cytokines IL-12 and IL-17 and express MR. OHU treatment combined with IFN- $\alpha$  can enhance the anti-leukemia immunological effect of EOS and decrease the immunosuppressive effect of OHU therapy on EOS.

[Key words] chronic myelogenous leukemia; eosinophils granulocyte; interferon- $\alpha$ ; hydroxycarbamide; IL-12; IL-17A; mannose receptor

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(4): 348-354]

干扰素- $\alpha$  (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ ) 联合羟基脲 (hydroxycarbamide, OHU) 治疗慢性粒细胞白血病 (chronic myelocytic leukemia, CML) 的疗效已经得到临床实践的证实,但其相关免疫机制至今有争议<sup>[1-2]</sup>。CML 患者骨髓和外周血中嗜酸性粒细胞 (eosinophile granulocyte, EOS) 比例增多的原因及其

在 CML 疾病进程中的作用也不甚明了<sup>[1-3]</sup>。本研究观察了 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗前后 CML 患者血清中 IL-6、IL-12、IL-17 和 IFN- $\gamma$  浓度,以及患者骨髓中 EOS 比例、过氧化物酶 (peroxydase, POX) 活性和 IL-12、IL-17A 和甘露糖受体 (mannose receptor, MR) 的表达情况,探讨 CML 患者骨髓中 EOS 的抗白血

病效应,分析 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗对 EOS 抗白血病活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

收集 2010 年 1 月至 2012 年 2 月间解放军第 148 中心医院诊治的 46 例 *BCR-ABL* 融合基因阳性的 CML 初治患者,其中男性 26 例、女性 20 例,年龄为 25~50 岁,中位年龄为 40.5 岁。入院时患者的骨髓和临床分期为“慢粒-加速期”,均符合中华医学会编著的《临床诊断指南—血液学分册》中的 CML 诊断标准。健康志愿者 30 名,选自解放军第 148 中心医院查体中心,年龄范围 25~55 岁,中位年龄为 42.2 岁,男性 17 名、女性 13 名。所有被检和治疗人员均已签署知情同意书。

### 1.2 ELISA 法检测患者血清细胞因子的水平

留取 CML 患者空腹静脉血,分离血清,置  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。细胞因子 IL-6、IL-12、IL-17 和 IFN- $\gamma$  ELISA 试剂盒为美国 RD 公司产品。检测时每种标本设 3 孔,按说明书要求操作,然后用 Bio-Rad 公司 550 酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的 *D* 值,取 3 孔均值,利用标准曲线计算各标本浓度。

### 1.3 骨髓细胞化学染色法检测免疫细胞 POX 活性

选择制备良好的 CML 患者骨髓涂片,用联苯胺法检测 POX 活性,瑞氏染液复染,显微镜下观察骨髓片中中性粒细胞、单核-巨噬细胞和 EOS 胞质内 POX 染色情况。

### 1.4 免疫荧光法检测 EOS 表面免疫分子的表达

小鼠抗人 IL-12(AF488)、IL-17A(FITC)和小鼠抗人 MR(CD206,PE)单克隆免疫荧光抗体均购自美国 Santa Cruz 公司,按说明书操作步骤进行免疫荧光染色。用 Olympus 公司 BX51 荧光显微镜观察骨髓涂片中 EOS 和其他免疫细胞的免疫分子表达情况,以缺铁性贫血骨髓片作为阴性对照。

### 1.5 药物治疗方案

46 例患者常规口服 OHU 片,1~3 g/d(药品规格为 0.5 g/片,山东齐鲁制药厂生产),根据血象调整 OHU 用量,维持 WBC、HB 和 PLT 在正常范围。其中 26 例患者同时联合 IFN- $\alpha$ ( $3.0 \times 10^6$  U/d,皮下注射,药品规格为  $3.0 \times 10^6$  U/支,北京双鹭制药生产)治疗。两组患者男女比例、年龄范围和病情分期基本均衡。所有入组患者定期复查血液指标,药物治疗 2 周后检测血清中 IL-6、IL-12、IL-17 和 IFN- $\gamma$  浓度;复查骨髓象,分析 EOS 中 POX 活性和免疫荧光染色的变化。

## 1.6 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 统计软件,组间比较用 *t* 检验。 $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IFN- $\alpha$ 治疗减轻 OHU 对 CML 患者骨髓 EOS 的免疫抑制作用

治疗前,CML 患者骨髓和外周血中 EOS 比例分别为( $10.2 \pm 2.56$ )%和( $8.1 \pm 3.12$ )%,显著高于对照组的( $2.1 \pm 1.2$ )%和( $2.4 \pm 1.6$ )%(均  $P < 0.05$ )。且半数 CML 患者骨髓涂片和外周血中 EOS 黏附和吞噬白血病细胞现象增多(图 1A、B),表现为活化的 EOS 胞质中特异性颗粒 POX 染色均为强阳性,而被攻击的白血病细胞 POX 染色减弱或阴性(图 1C)。

单纯应用 OHU 治疗后,CML 患者骨髓中 EOS 比例较治疗前减少至( $5.1 \pm 2.6$ )%,POX 活性受抑(图 1D);而 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗后,患者骨髓中 EOS 比例显著上调,达( $16.2 \pm 3.24$ )%( $P < 0.05$ ),并可见到较多 POX 活性高的 EOS 黏附、捕获和攻击白血病细胞现象(图 1E、F)。结果提示,IFN- $\alpha$  能减轻 OHU 对 EOS 的免疫抑制作用。

### 2.2 IFN- $\alpha$ 减轻 OHU 对 CML 患者血清中细胞因子分泌的抑制作用

治疗前,CML 患者血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的含量分别为( $116.13 \pm 15.16$ )、( $189.26 \pm 22.14$ )和( $34.42 \pm 2.16$ )pg/ml,显著高于正常对照组的( $90.98 \pm 12.32$ )、( $96.60 \pm 4.92$ )和( $23.74 \pm 1.36$ )pg/ml(均  $P < 0.05$ );而血清中 IFN- $\gamma$  的含量为( $7.13 \pm 2.25$ )pg/ml,与对照组的( $8.87 \pm 1.90$ )pg/ml 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

单纯 OHU 治疗 15 d 的 CML 患者,血清中上述细胞因子的浓度均显著降低,但 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗组则较单纯 OHU 治疗组的 4 种细胞因子血清含量明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ,表 1)。结果说明,OHU 治疗抑制 CML 患者血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的分泌;联合 IFN- $\alpha$  治疗后,患者血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的分泌水平显著上调,提示联合 IFN- $\alpha$  治疗可减轻 OHU 对血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的抑制效应。

### 2.3 IFN- $\alpha$ 增强 CML 患者骨髓中 EOS 表达细胞因子和 MR

免疫荧光染色结果显示:缺铁性贫血患者对照组骨髓中巨噬细胞胞质中仅少量灶性表达 IL-12(图

2A),EOS 特异性颗粒阳性表达 IL-12;而 CML 患者骨髓中 EOS 特异性颗粒与胞质中 IL-12 呈分泌状表达(图 2B)。单纯 OHU 治疗后,CML 患者骨髓中表

达 IL-12 的 EOS 数量减少(图 2C);而 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗则显著增强 CML 患者骨髓中 EOS 的数量和 IL-12 的荧光表达强度(图 2D)。

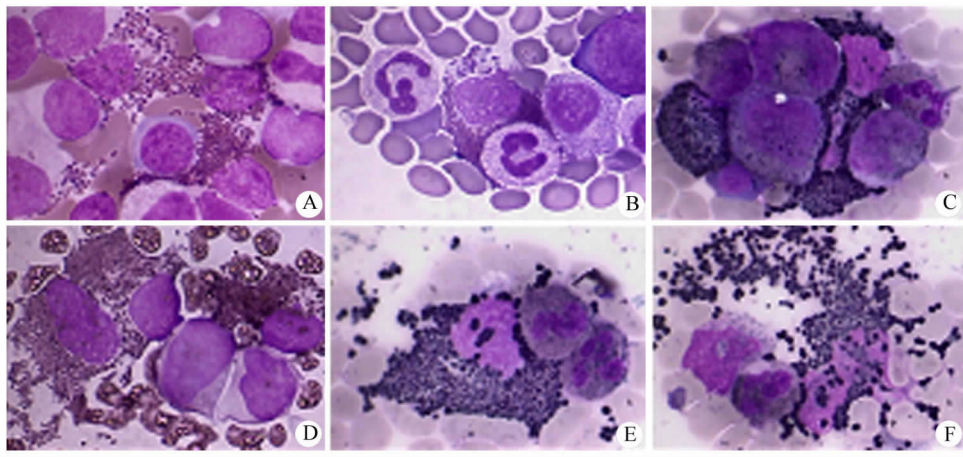


图 1 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗后 CML 患者骨髓中活化的 EOS 攻击白血病细胞(  $\times 1\ 000$  )

Fig. 1 EOS attacking leukemia cells found in the bone marrow of CML patients after IFN- $\alpha$  + OHU treatment (  $\times 1\ 000$  )

- A: EOS adhering and attacking leukemia cells; B: EOS adhering and capturing leukemia cells; C: Activated-EOS showed strongly positive POX expression, and the staining of POX in leukemia cells attacked by EOS obviously decreased;
- D: OHU inhibited POX staining of EOS; E: In the IFN- $\alpha$  + OHU group, POX positive EOS effectively attacked leukemia cells; F: After IFN- $\alpha$  + OHU treatment, POX activity of leukemia cells attacked by EOS was impaired obviously

表 1 IFN- $\alpha$  减轻 OHU 对 CML 患者血清中 IL-6、IL-12 和 IL-17 的抑制作用(  $\rho_B/\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$  )

Tab.1 IFN- $\alpha$  decreased the inhibitory effect of OHU on serum IL-6, IL-12 and IL-17 in CML patients(  $\rho_B/\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$  )

Group	IL-6	IL-12	IL-17	IFN- $\gamma$
Control( $n = 30$ )	90.98 $\pm$ 12.32	96.60 $\pm$ 4.92	23.74 $\pm$ 1.36	8.87 $\pm$ 1.90
Pretherapy ( $n = 46$ )	116.13 $\pm$ 15.16 <sup>△</sup>	189.26 $\pm$ 22.14 <sup>△</sup>	34.42 $\pm$ 2.16 <sup>△</sup>	7.13 $\pm$ 2.25
OHU( $n = 20$ )	87.14 $\pm$ 13.37	60.22 $\pm$ 20.16	17.03 $\pm$ 2.16	4.37 $\pm$ 1.09
OHU + IFN- $\alpha$ ( $n = 26$ )	122.04 $\pm$ 10.25*	201.12 $\pm$ 27.16**	40.16 $\pm$ 4.11*	18.95 $\pm$ 3.64**

<sup>△</sup>  $P < 0.05$  vs control group; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs OHU group

IL-17A 的染色结果显示,缺铁性贫血患者对照组骨髓中 EOS 特异性颗粒阳性表达 IL-17A(图 2E),部分树突状细胞和巨噬细胞为阴性;伴有感染活化状态的树突状细胞和巨噬细胞则为阳性表达。CML 患者骨髓中活化的 EOS 特异性颗粒 IL-17A 呈阳性表达(图 2F)。单纯 OHU 治疗后,患者骨髓中 IL-17A 阳性 EOS 数量显著减少(图 2G);而 IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗后,骨髓中 IL-17A 阳性 EOS 以及黏附和捕获白血病细胞的 EOS 数量增多(图 2H)。

MR 的染色结果显示,缺铁性贫血患者骨髓中

EOS 不或微弱表达 MR(图 2I),活化的巨噬细胞和树突状细胞阳性表达 MR;而 CML 患者骨髓中活化的 EOS 阳性表达 MR(图 2J),由于大量的白血病细胞浸润,巨噬细胞和树突状细胞少见。单纯 OHU 治疗组患者骨髓中表达 MR 的吞噬状态的 EOS 数量减少,荧光强度减弱(图 2K);IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗组患者骨髓中,表达 MR 的 EOS 的数量增多,荧光强度显著增强,且可见 MR 阳性 EOS 吞噬白血病细胞(图 2L)。上述实验结果表明,IFN- $\alpha$  可促进 EOS 特异性颗粒分泌 IL-12 和 IL-17A,增强 MR 的表达。

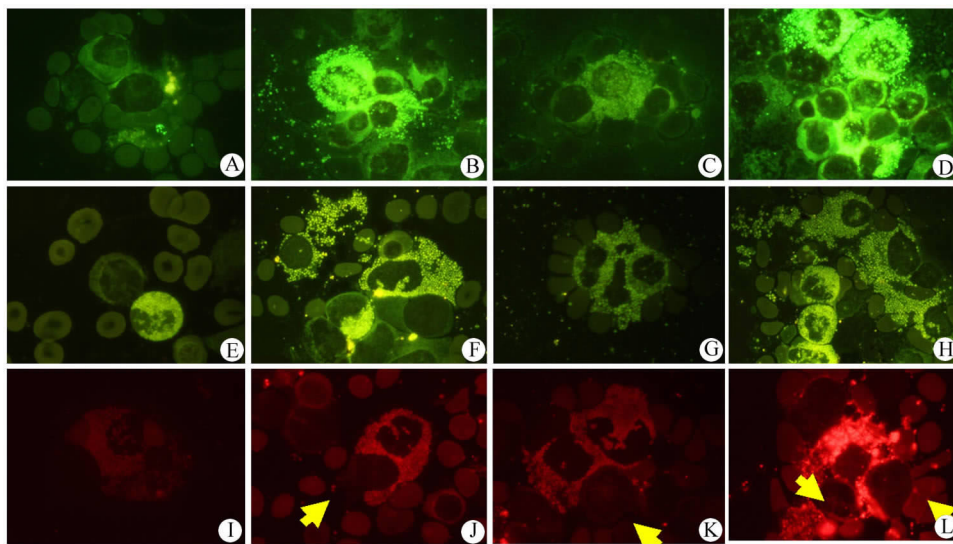


图2 IFN-α联合OHU治疗对EOS分泌IL-12、IL-17A和表达MR的影响(×1000)

Fig. 2 IFN-α combined OHU treatment influenced IL-12, IL-17A secretion and MR expression in EOS (×1000)

A: Macrophages weakly expressed IL-12 in iron deficiency anemia patients; B: IL-12 positive EOS capturing leukemia cells; C: OHU therapy inhibited IL-12 expression on EOS; D: After IFN-α + OHU treatment, IL-12 positive EOS attacking leukemia cells; E: EOS weakly expressed IL-17A in iron deficiency anemia patients; F: Two IL-17A positive EOS attacking leukemia cells; G: OHU therapy inhibited IL-17A expression on EOS; H: After IFN-α + OHU treatment, lots of IL-17A positive EOS attacking leukemia cells; I: EOS weakly expressed MR in iron deficiency anemia patients; J: MR positive EOS swallowing leukemia cells (yellow arrow); K: OHU therapy inhibited MR expression on EOS; L: After IFN-α + OHU treatment, MR expression on EOS was increased

### 3 讨论

CML是一种发生在多能造血干细胞上的恶性骨髓增殖性疾病(获得性造血干细胞克隆性疾病),主要累及粒细胞和单核细胞等髓系细胞。临床表现为持续性、进行性外周血白细胞数增高,以中幼粒以下偏成熟的粒细胞为主。本病的发病机制为患者的第9号与第22号染色体长臂相互易位,形成t(9;22)(q34;q11)特征性费城染色体,导致22号染色体的BCR基因与9号染色体的ABL融合,产生了BCR-ABL融合基因。BCR-ABL融合基因编码的BCR-ABL蛋白是局限于细胞质内的活性酪氨酸激酶的主要成分,此酶增高则会激活细胞有丝分裂信号途径,促进细胞增殖,形成CML<sup>[1-3]</sup>。CML骨髓中的粒单细胞克隆由于发生基因变异,单核-巨噬细胞的分化和成熟受阻,故其抗肿瘤细胞免疫功能障碍。大量增殖的CML白血病克隆浸润,使骨髓的有效造血面积减少,抑制了来自骨髓的淋巴细胞和其他造血细胞的生成,影响患者的自身抗肿瘤免疫功能。

EOS是人体的固有免疫细胞,具有多种功能,主要参与抗寄生虫感染,对I型超敏反应具有拮抗和

调节作用,在某些变态反应性炎症的病理过程中,通过释放炎性介质发挥着重要的生物学效应。EOS的特异性颗粒包括细胞毒性的POX、碱性蛋白、EOS阳离子蛋白(eosinophil cationic protein,ECP)和乙二醇二硝酸酯(ethylene dinitrate,EDN)。EOS代谢过程中生成的氧化性产物,能单独或与POX联合作用,破坏靶细胞。EOS还能产生IL-1、IL-6、IL-8、TNF-α和TGF-β等多种炎性细胞因子,活化免疫细胞<sup>[4-6]</sup>。对于EOS在急性粒细胞白血病和CML等骨髓增殖性疾病中比例增多的原因,目前研究<sup>[7-12]</sup>认为其与恶性细胞克隆产生IL-3、IL-5和GM-CSF,并刺激EOS增多有关;同时发现,在EOS增多的急性白血病亚型中伴有染色体异位和基因的异常,而CML中EOS抗白血病效应的相关研究未见报道。

本实验发现,部分CML患者骨髓中EOS形态处于活化状态,能通过黏附、捕获和释放POX强阳性特异性颗粒攻击白血病细胞。EOS特异性颗粒高表达IL-12、IL-17A和MR,并与其血清中IL-6、IL-12和IL-17的含量密切相关。结果表明,EOS可能通过分泌IL-12和IL-17A,活化Th1细胞对CML白血病细胞的细胞免疫作用;同时还能介导对CML白血

病细胞变态反应性炎症损伤<sup>[13-14]</sup>,达到杀伤白血病细胞的效果。

IL-17 是 CD4<sup>+</sup> Th17 细胞分泌的炎性因子,在自身免疫性疾病、慢性炎症和肿瘤的发生和发展过程中起着重要作用。IL-17 家族中的 IL-17A、E 和 F 是重要的炎性介质,尤以 IL-17A 的促炎反应最强,通常文献所言的 IL-17 即为 IL-17A<sup>[15-16]</sup>。IL-17A 与其受体结合后,主要通过活化丝裂原活化蛋白活化核转录因子 NF- $\kappa$ B,促进机体局部产生 IL-8 和单核细胞趋化蛋白-1 等趋化因子,提高 CXC 家族趋化因子的表达,有利于单核-巨噬细胞和中性粒细胞等炎性细胞的聚集,并刺激组织产生 IL-6、前列腺素 2,增强炎症的局部反应。IL-17 还能诱导 G-CSF 和 GM-CSF 的生成,促进正常髓系细胞的增殖,诱导树突状细胞分化成熟,并能与 TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  和 IL-1 $\beta$  等细胞因子相互作用,产生协同免疫效应<sup>[13-14,17]</sup>。

MR 是 C 型凝集素超家族成员,广泛表达在巨噬细胞、树突状细胞、内皮细胞、支气管平滑肌、肾血管系膜细胞、小胶质细胞和胎盘蜕膜巨噬细胞。MR 可通过胞外区识别和结合细胞表面或病原体上的多种糖分子,通过受体介导的内吞作用和吞噬作用,在维持内环境的稳定和机体的固有免疫与适应性免疫中发挥重要的生物学效应。MR 还参与树突状细胞的抗原提呈过程。未成熟的树突状细胞表达大量的 MR,这些 MR 能通过笼形蛋白介导受体和配体的内吞作用,摄取并提呈抗原至 MHC II 类分子小室,参与树突状细胞的抗原提呈过程。IL-4、IL-10、IL-13 等炎性因子能上调 MR 的表达<sup>[18-21]</sup>。本研究发现,CML 患者骨髓中活化的 EOS 表达 MR,且与 IL-17 水平升高密切相关,提示作为炎性介质的 IL-17 可上调 MR 在 EOS 的表达。而这些表达 MR 的 EOS 呈现活化状态,对白血病细胞的捕获和吞噬现象明显增加,表明 MR 在介导 EOS 对 CML 白血病细胞的细胞免疫过程中起着重要的作用。

OHU 为核苷酸还原酶抑制剂,是目前治疗 CML 的经典药物,其主要作用机制为抑制核苷酸二磷酸还原酶、阻止核苷酸还原为脱氧核苷酸,从而抑制脱氧核苷酸的合成,杀死增殖的白血病细胞。但 OHU 又是重要的免疫抑制剂,对髓系来源的单核-巨噬细胞和 EOS 等免疫细胞的活性均有抑制作用。

通常认为,IFN- $\alpha$  治疗 CML 的机制主要与以下几种因素有关<sup>[1-3]</sup>:(1)IFN- $\alpha$  抗细胞增殖作用。IFN- $\alpha$  与其受体结合,经过一系列生化反应激活 RNA 酶,降解某些促细胞生长癌基因的 mRNA,或降解某些生长因子。(2)IFN- $\alpha$  能上调肿瘤细胞表

面 MHC I 类分子的表达,介导免疫细胞与靶细胞的结合。(3)IFN- $\alpha$  调整骨髓基质细胞的某些细胞因子表达,纠正 CML 干细胞的黏附功能缺陷,抑制白血病细胞释放到外周血中。

本实验发现,IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗,能减轻 OHU 对 EOS 活性的抑制作用,使 CML 患者骨髓中处于活化状态的 EOS 数量增多,增强对白血病细胞的黏附和捕获,通过释放 POX,介导对白血病细胞的杀伤。IF 染色结果显示,与单纯 OHU 治疗组相比,IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗组患者骨髓 EOS 特异性颗粒表达 MR 的强度增强,且活化的 EOS 吞噬白血病细胞现象多见。结果提示,IFN- $\alpha$  联合 OHU 在杀伤白血病细胞时,既可上调白血病细胞表面的 MHC I 类分子表达,促进 EOS 的抗肿瘤免疫应答;又可逆转 EOS 被 OHU 抑制的免疫功能,介导和促进 EOS 对白血病细胞的杀伤效应。综上所述,CML 患者骨髓中 EOS 数量的增多与其抗肿瘤免疫功能的增强有关。活化的 EOS 表达 MR,可能通过黏附和捕获表达肿瘤抗原的白血病细胞,释放 POX 或其他阳离子酶等,直接杀伤白血病细胞;或通过分泌 IL-6、IL-12 和 IL-17 等细胞因子,介导炎症反应,间接杀伤白血病细胞。IFN- $\alpha$  联合 OHU 治疗 CML,不仅能增强肿瘤细胞 MHC I 类分子的表达<sup>[1]</sup>,还可减轻 OHU 对 EOS 的免疫抑制,促进 EOS 分泌 IL-12 和 IL-17,在 CML 患者体内发挥重要的抗白血病免疫效应。

## [参考文献]

- [1] Zang H, Trachootham D, Lu W, et al. Effective killing of gleevec-resistant CML cells with T3151 mutation by a natural compound PEITC through redox-mediated mechanism [J]. *Leukimia*, 2008, 22(6): 1191-1199.
- [2] Rosti G, Palandri F, Castagnetti F, et al. Nilotinib for the front-line treatment of Ph<sup>+</sup> chronic myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2009, 114(24): 4933-4938.
- [3] Kantarjian HM, Giles F, Gattermann N, et al. Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase following imatinib therapy [J]. *Blood*, 2007, 110(10): 3540-3546.
- [4] Padigel UM, Lee JJ, Nolan TJ, et al. Eosinophils can function as antigen-presenting cells to induce primary and secondary immune responses to strongyloides stercoralis [J]. *Infect Immun*, 2006, 74(6): 3232-3238.
- [5] Yanagisawa T, Inomata T, Watanabe I, et al. Clinical significance of corticosteroid therapy for eosinophilic myocarditis [J]. *Int Heart J*, 2011, 52(2): 110-113.
- [6] Katsunori K, Gen O, Koichi K, et al. Chronic eosinophilic pneu-

- monia with subpleural curvilinear shadow [ J ]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2011, 54(1): 45-48.
- [ 7 ] Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: Secondary, clonal and idiopathic [ J ]. *Br J Haematol*, 2006, 133(5): 468-492.
- [ 8 ] Metgeroth G, Walz C, Score J, et al. Recurrent finding of the FIP1L1-PDGFR fusion gene in eosinophilia-associated acute myeloid leukemia and lymphoblastic T-cell lymphoma [ J ]. *Leukemia*, 2007, 21(6): 1183-1188.
- [ 9 ] Toffalini F, Kallin A, Vandenberghe P, et al. The fusion proteins TEL-PDGFR beta and FIP1L1-PDGFR alpha escape ubiquitination and degradation [ J ]. *Haematologica*, 2009, 94(8): 1085-1093.
- [ 10 ] Lahortiga I, Akin C, Cools J, et al. Activity of imatinib in systemic mastocytosis with chronic basophilic leukemia and a PRKG2-PDGFRB fusion [ J ]. *Haematologica*, 2008, 93(1): 49-56.
- [ 11 ] 张艳, 何琦, 黄晓军, 等. EOS 增多症的细胞遗传学研究 [ J ]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(3): 454-457.
- [ 12 ] Curtis CE. Two novel imatinib responsive PDGFR fusion genes in chronic eosinophilic leukemia [ J ]. *Br J Haematol*, 2007, 138(1): 77-78.
- [ 13 ] Onishi RM, Gaffen SL. Interleukin-17 and its target genes: Mechanisms of interleukin-17 function in disease [ J ]. *Immunology*, 2010, 129(3): 311-321.
- [ 14 ] 龚胜蓝, 邱慧颖, 王健民. 原发性EOS增多症发病机制的最新研究进展 [ J ]. *中华血液学杂志*, 2010, 31(11): 781-783.
- [ 15 ] Bettelli E, Korn T, Oukka M, et al. Induction and effector function of Th17 cells [ J ]. *Nature*, 2008, 453(7198): 1051-1057.
- [ 16 ] Zhang J, Ma D, Zhu X, et al. Elevated profile of Th17, Th1 and Tc1 cells in patients with immune thrombocytopenic purpura [ J ]. *Haematologica*, 2009, 94(9): 1326-1329.
- [ 17 ] Zou W, Restifo NP. Th17 cells in tumor immunity and immunotherapy [ J ]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(4): 248-256.
- [ 18 ] Linehan SA. The mannose receptor is expressed by subsets of APC in non-lymphoid organs [ J ]. *BMC Immunol*, 2005, 6(1): 4.
- [ 19 ] Crespo H, Jauregui P, Glaria I, et al. Mannose receptor may be involved in small ruminant lentivirus pathogenesis [ J ]. *Vet Res*, 2012, 43(1): 43.
- [ 20 ] Giraldo-Guimaraes A, de Freitas HT, Coelho Bde P, et al. Bone marrow mononuclear cells and mannose receptor expression in focal cortical ischemia [ J ]. *Brain Res*, 2012, 1452: 173-184.
- [ 21 ] Liu Z, Ma Y, Moyer MP, et al. Involvement of the mannose receptor and p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway of the microdomain of the integral membrane protein after enteropathogenic *Escherichia coli* infection [ J ]. *Infect Immun*, 2012, 80(4): 1343-1350.
- [ 收稿日期 ] 2012-05-18 [ 修回日期 ] 2012-07-15  
[ 本文编辑 ] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 常见参考文献著录格式示例

### 1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [ M ]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

### 2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [ 1 ] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [ M ]//Soderman WA Jr, Soderman WA. *Pathologic physiology: Mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

### 3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页.

- [ 1 ] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and -2 [ J ]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21370-21381.

### 4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [ 1 ] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PiK), 其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [ P ]. 2010-10-14.

### 5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [ 1 ] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [ D ]. 郑州, 郑州大学, 2007.

### 6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页(更新或修改日期)[引用日期]. 获取和访问路径.

- [ 1 ] Christine M. *Plant physiology: Plant biology in the genome era* [ J/OL ]. *Science*, 1998, 281: 331-332 [ 1998-09-23 ]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatormp>.
- [ 2 ] Hopkinson A. UNIMARC and metadata: Dublin core [ EB/OL ]. [ 1999-12-08 ]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.