

急性白血病血清白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子的检测

戴丽君^{1,①} 罗绍凯¹ 陈永雄² 洪文德¹

(中山医科大学附属第一医院 1 血液病研究室 2 肾病研究所; 广州, 510080)

摘要 采用敏感的白细胞介素 6(IL-6) 依赖细胞株 KD₈₃ 增殖实验检测 60 例急性白血病(AL) 患者血清 IL-6 活性, 同时用 ELISA 法测定相应患者血清肿瘤坏死因子(TNF) 水平, 发现 AL 患者血清 IL-6 和 TNF 水平明显高于正常对照 ($P < 0.01$), 并与白血病的分型有关。动态观察 46 例 AL 患者, 发现疗效不同 IL-6 和 TNF 的水平及变化情况也不同。本研究提示, IL-6 和 TNF 可能参与了 AL 的发病过程, 测定 AL 患者血清 IL-6 和 TNF 水平可能对病情监测和疗效判断有一定的参考价值。

主题词 白血病, 非淋巴细胞性, 急性; 白血病, 淋巴细胞性, 急性; 白细胞介素 6/ 血液; 肿瘤坏死因子/ 血液
中图分类号 R 63.923

白细胞介素 6(IL-6) 和肿瘤坏死因子(TNF) 都是具有多种生物学活性的细胞因子, 它们除了发挥正常的生理功能外, 还参与了某些免疫性疾病、肿瘤和血液病的发生、发展过程。近年来研究表明, IL-6 和 TNF 的异常表达在某些类型白血病的发病过程中起一定作用^[1]。本研究检测急性白血病(AL) 患者血清 IL-6 和 TNF 水平, 以期从细胞因子角度探索白血病的发病机理以及这两种细胞因子的临床价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象

病例共 60 例, 男 40 例, 女 20 例, 年龄 14~71 岁。其中急性非淋巴细胞白血病(ANLL) 36 例, 急性淋巴细胞白血病(ALL) 24 例。全部患者采血时体温均低于 38℃, 无并发症。按 FAB 分型, 在 ANLL 中, M₁~M₂ 型 19 例, M₃ 型 9 例, M₄~M₅ 型 8 例。对 46 例 AL 患者化疗后追踪观察 2~12 个月, 取得疗效后再次或多次采血, 根据疗效标准^[2] 判断, 治疗有效(CR+PR) 24 例, 无效(NR) 22 例。健康学生和体检正常者 30 例作对照, 男 18 例, 女 12 例, 年龄 20~61 岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 静脉血 5 mL, 离心后吸取血清, 分装保存于一 30℃, 待测。

1.2.2 血清 IL-6 活性测定 参照文献[3] 的方法并改进。血清标本于 56℃ 灭活 30 min, 经 0.22 μm 的滤膜过滤灭菌。取生长状态良好的 KD₈₃ 细胞(来自北京医科大学免疫学教研室), 经 Hank's 液洗涤 3 次(1 000 r/min, 5 min), 离心收集 KD₈₃ 细胞。用 RPMI 1640 培养液调整细胞浓度为 $5 \times 10^7/L$, 加入 96 孔平底培养板, 100 μL/孔, 每份标本设双复孔, 同时设不含 IL-6 的 RPMI 1640 培养液为阴性对照, 不同稀释度的重组 IL-6 为阳性对照, 以及空白对照; 在 37℃, 5% CO₂ 培养箱中共育 48 h, 加入 1 g/L 四甲基偶氮唑蓝(MTT, 瑞士 Fluka 公司产品) 50 μL/孔, 继续培养 4 h; 用酸化异丙醇溶解形成甲臜颗粒, 在 MR5000 型自动酶标仪(英国 Dynatech 公司生产) 上测定结果。

1.2.3 血清肿瘤坏死因子(TNF) 水平测定 用 TNF 酶联免疫检测盒(中国人民解放军军事医学科学院提供) 检测 TNF 水平。

1.2.4 统计学处理 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间差异用方差分析或 *t* 检验, 两变量相关关系用相关分析, 以 $P < 0.05$ 为显著性差异界限。

2 结果

2.1 血清 IL-6 和 TNF 水平

ANLL 和 ALL 组患者血清 IL-6 活性较正常

① 第一作者, 1964 年出生, 女, 硕士, 主治医师

对照组明显增高($P < 0.01$), ANLL 和 ALL 两组间无显著性差异。在 ANLL 中, M_3 型、 $M_4 \sim M_5$ 型组血清 IL-6 活性均高于 $M_1 \sim M_2$ 型组($P < 0.05$), ANLL 和 ALL 组患者血清 TNF 水平亦高于正常对照组($P < 0.01$), 两组间无显著性差异。在 ANLL 中, $M_4 \sim M_5$ 型组血清 TNF 水平高于 $M_1 \sim M_2$ 及 M_3 型组($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 AL 患者血清 IL-6、TNF 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6(吸光度 A)	TNF($\mu\text{g/L}$)
NORMAL	30	0.06 \pm 0.04	2.14 \pm 2.21
ANLL	36	0.26 \pm 0.11 ¹⁾	15.8 \pm 10.7 ¹⁾
$M_1 \sim M_2$	19	0.20 \pm 0.09 ¹⁾	12.9 \pm 4.60 ¹⁾
M_3	9	0.30 \pm 0.11 ²⁾	14.4 \pm 4.61 ¹⁾
$M_4 \sim M_5$	8	0.35 \pm 0.08 ²⁾	24.2 \pm 19.4 ²⁾
ALL	24	0.28 \pm 0.11 ³⁾	14.4 \pm 14.1 ³⁾

1)与正常对照组比较, $P < 0.01$; 2)与 $M_1 \sim M_2$ 型组比较, $P < 0.05$; 3)与 ANLL 组比较, $P > 0.05$

表 2 AL 患者治疗前、后血清 IL-6、TNF 水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

	有效组(24例)		无效组(22例)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
IL-6(吸光度 A)	0.21 \pm 0.10	0.10 \pm 0.08	0.32 \pm 0.11	0.27 \pm 0.13
TNF($\mu\text{g/L}$)	10.0 \pm 3.8	4.8 \pm 3.4	17.4 \pm 4.8	13.3 \pm 6.8

3 讨论

近年来, IL-6 和 TNF 等细胞因子与血液病的关系越来越受到人们的重视, IL-6 和 TNF 的异常表达在多发性骨髓瘤和白血病的发生、发展中起重要作用。有研究表明, IL-6 对人类白血病细胞增殖主要起促进作用, 并与 GM-CSF 和 IL-3 等细胞因子协同, 共同刺激 ANLL 原始细胞克隆的形成, 同时也能促进某些类型白血病细胞的分化。TNF 作为一种重要的造血负调节因子及抗肿瘤因子, 对白血病细胞的生长、增殖及分化起重要的调节作用。我们的研究表明, ANLL 和 ALL 患者血清 IL-6 活性高于正常对照组, 与 Solary 的报道^[4]相符; M_3 型、 $M_4 \sim M_5$ 型血清 IL-6 活性显著高于 $M_1 \sim M_2$ 型, 这种差异是否有一定临床意义, 还需进一步探讨。

我们对 46 例 AL 患者动态观察, 发现治疗有效组与无效组治疗前血清 IL-6 活性, 差异有统计学意义, 提示治疗前血清 IL-6 活性高者, 治疗效果差。在 ANLL 和 ALL 中分别采用基本相同的化疗方案,

2.2 AL 患者治疗前后血清 IL-6 和 TNF 水平的变化

动态观察 46 例 AL 患者, 其中 ANLL 患者 29 例, ALL 患者 17 例。采用基本相同的化疗方案(ANLL 以高三尖杉酯碱+阿糖胞苷为基本方案, ALL 以长春新碱+强的松为基本方案), 有效组治疗后血清 IL-6 和 TNF 水平显著低于治疗前($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$), 无效组治疗前后相比, 血清 IL-6 和 TNF 水平无显著性差异($P > 0.05$)。无效组治疗前 IL-6 和 TNF 水平显著高于有效组($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$)。我们还观察了 4 例患者治疗前、缓解后及复发时血清 IL-6 和 TNF 水平的变化, 发现完全缓解后血清 IL-6 和 TNF 水平明显下降, 复发后两者再次升高, 甚至高于初治的水平。

有效组治疗后血清 IL-6 活性显著下降, 而无效组治疗前后无明显变化, 提示治疗后 IL-6 下降幅度大, 预后较好。在 24 例治疗有效的 AL 患者中, 有 4 例在治疗完全缓解后血清 IL-6 活性明显下降, 复发后 IL-6 活性又升高, 甚至高于治疗前水平, 表明急性白血病患者在治疗过程中血清 IL-6 活性有一定的变化趋势, 测定 AL 患者血清 IL-6 活性可能对病情监测和疗效判断有一定的参考价值, 但由于我们观察例数不多, 尚不能得出结论, 有待进一步增加例数观察。

AL 患者血清 IL-6 的来源有自分泌和旁分泌两种^[5]。本研究中, AML 患者血清 IL-6 活性在 M_4 型、 M_5 型最高, 与分型有关, 提示单核细胞分化的白血病细胞可通过自分泌产生高水平的 IL-6, 但 M_1 型、 M_2 型及 ALL 中 IL-6 活性也有不同程度升高, 说明除 M_4 型、 M_5 型外, 其他类型的白血病细胞也可能通过自分泌或旁分泌途径产生 IL-6, 并对白血病细胞的生长起着支持和促进作用。

急性白血病患者血清 TNF 水平的检测结果表明, 在 ANLL 和 ALL 中, 血清 TNF 水平都明显升高, 并与 ANLL 分型有关, 动态观察结果与血清

IL-6 活性变化相似,提示血清 TNF 水平与 IL-6 一样,可能对白血病的病情监测和疗效判断有一定的参考价值。

综上所述,本研究结果提示,监测白血病患者血清 IL-6 和 TNF 水平,可能对白血病的病情监测和疗效判断有一定的参考价值,但仍需增加例数进一步观察。应用抗 IL-6 抗体可抑制 IL-6 活性异常升高,国外已有在多发性骨髓瘤病例中应用的报道^[6],并获得初步疗效。进一步研究对 IL-6、TNF 等分泌异常的细胞因子进行调控(如抗 IL-6 疗法和 TNF 疗法),可能会对某些类型白血病的治疗具有一定的实际意义。

参 考 文 献

- 1 Hoang T, Heman A, Goncalves D, *et al.* Interleukin-6 enhances growth factor dependent proliferation of the blast cells of acute myeloblastic leukemia. *Blood* 1988, 72(2): 823
- 2 张之南主编. 血液病诊断及疗效标准. 天津:天津科学技术出版社, 1991. 190~192
- 3 Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T, *et al.* Establishment of an interleukin-6 (IL-6)/B cell stimulatory factor 2-dependent cell line and preparation of anti-IL-6 monoclonal antibody. *Eur J Immunol* 1988, 18:951
- 4 Solary E, Guiguet M, Zeller V, *et al.* Radioimmunoassay for the measurement of serum IL-6 and its correlation with tumor cell mass parameters in multiple myeloma. *Am J Hematol* 1992, 39:163
- 5 Ellen C, Jansen B, Poorte M, *et al.* Interleukin-6 and interleukin-1 production in acute leukemia with monocytoid differentiation. *Blood* 1989, 74(6):2081
- 6 Zhang XG, Klein B, Bataille R, *et al.* Interleukin-6 is a potent myeloma cell growth factor in patient with aggressive multiple myeloma. *Blood* 1989, 74(1):11

(1996-03-22 收稿 1996-09-23 修回)

THE MEASUREMENT OF SERUM INTERLEUKIN-6 AND TUMOR NECROSIS FACTOR IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

Dai Lijun Hong Wende Chen Yongxiong Luo Shaokai

(Laboratory of Haematology, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Serum IL-6 activities were determined in 60 patients with acute leukemia(AL) by the sensitive IL-6 dependent cell lines KD83 proliferation experiment, and the ELISA method was used to measure serum TNF level. The results demonstrated that serum IL-6 activity and TNF levels in AL patients were significantly higher than those in control group, and were correlated with the type of acute leukemia. Through the follow-up observation of 46 previously untreated AL patients, it was found that different serum IL-6 and TNF levels and changes happened in patients with different effectiveness of treatment. These results suggested that serum IL-6 activities and TNF levels may have some clinical significance in monitoring the progress of disease and evaluating the effectiveness of therapy for patients with AL.

Subject headings leukemia, nonlymphocytic, acute; leukemia, lymphocytic, acute; interleukin-6/blood; tumor necrosis factor/blood