

## · 临床研究 ·

IL-3R $\alpha$  在急性白血病中的表达及意义

彭 鹏, 宋玉华

(东南大学医学院附属南京市第二医院肿瘤科 221003)

**摘要:**目的 探讨白细胞介素-3 受体  $\alpha$  亚基(IL-3R $\alpha$ )在急性白血病(AL)中的表达及意义。方法 建立 AL 患者标本,采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测 IL-3R $\alpha$  的表达,分别予以观察 IL-3R $\alpha$  mRNA 表达与 AL 和 CD34 的相关性。结果 对照组未检测到 IL-3R $\alpha$  表达;AML 和 B-ALL 患者 IL-3R $\alpha$  阳性表达显著高于对照组,T-ALL 患者未检测到 IL-3R $\alpha$  的表达,M1~M5 各型患者的阳性率差异无统计学意义( $P>0.05$ );AML 和 B-ALL 患者的 IL-3R $\alpha$  阳性表达与 CD34 显著相关,差异有统计学意义( $P<0.05$ );患者中 IL-3R $\alpha$  阳性表达的患者 CR 率低于阴性者,且与外周血白细胞计数、骨髓中原始细胞比例有关。结论 IL-3R $\alpha$  在 AML 和 B-ALL 发病中有一定作用,检测 IL-3R $\alpha$  有助于 ALL 的 T 和 B 两型的鉴别。IL-3R $\alpha$  基因可能是 AML、B-ALL 的一个不良预后因素。

**关键词:** 白细胞介素 3 受体  $\alpha$  亚单位;急性白血病;基因

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.36.016

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)36-3840-03

The expression of IL-3R $\alpha$  in acute leukemia and its clinical significancePeng Peng, Song Yuhua<sup>△</sup>

(Department of Oncology, Affiliated Nanjing Second Hospital of the Medical College of Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210003, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the expression of IL-3R $\alpha$  and its clinical significance in acute leukemia(AL) patients. **Methods** The AL specimens of patients was established. The expression of IL-3R $\alpha$  mRNA in bone marrow or peripheral blood mononuclear cells from 94 AL patients were detected by RT-PCR method. The correlation of IL-3R $\alpha$  mRNA expression with AL and CD34 were observed respectively. **Results** 10 healthy subjects didn't express IL-3R $\alpha$  mRNA. The expression of IL-3R $\alpha$  in AML and B-ALL patients were higher than that in control group. IL-3R $\alpha$  mRNA didn't express in T-ALL. IL-3R $\alpha$  mRNA was expressed in all AML subtypes, and there was no significant difference between AML subtypes( $P>0.05$ ). The expression of IL-3R $\alpha$  in AML and B-ALL was significantly correlated with CD34 positive expression( $P<0.05$ ). The CR rate of IL-3R $\alpha$  + cases was lower than that of IL-3R $\alpha$  (-) cases, and the expression of IL-3R $\alpha$  mRNA related to white blood count and blast cells ratio. **Conclusion** IL-3R $\alpha$  gene might play an important role in the pathogenesis of AML and B-ALL. It might be helpful to distinguish B-ALL from T-ALL. IL-3R $\alpha$  gene might convey adverse prognosis of AML and B-ALL.

**Key words:** interleukin-3 receptor alpha subunit; acute leukemia; gene

人类白细胞介素-3 受体  $\alpha$  亚基(IL-3R $\alpha$ )基因定位于拟常染色体区域 Xp22.3 和 Yp11.3, 编码 378 个氨基酸组成的蛋白质,表达一个相对分子质量  $70 \times 10^3$  的糖蛋白,参与配体-受体的特异性识别与低亲和力结合,参与活化信号的传递<sup>[1]</sup>。研究表明,IL-3R $\alpha$  阳性细胞可在免疫缺陷小鼠体内建立和保持白血病细胞群,IL-3R $\alpha$  可作为未分化白血病干细胞的一个特异性标志<sup>[2]</sup>。国外的研究初步表明,急性白血病(AL)患者 IL-3R $\alpha$  的表达增高<sup>[3]</sup>。本实验检测了 AML、ALL 各亚型白血病患者 IL-3R $\alpha$  的表达,并结合患者临床资料,以探讨检测 IL-3R $\alpha$  表达在 AL 中的临床意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集徐州医学院附属医院血液科和儿科 AL 患者共 94 例,其中,男 57 例,女 37 例;中位年龄 35 岁;AML 患者 52 例,ALL 患者 44 例,初治患者 80 例、复发患者 14 例。所有患者均符合 FAB 或 MICM 分型诊断标准。除 M3 以外的 AML 患者接受标准的 DA(柔红霉素、阿糖胞苷)、TA(吡柔比星、阿糖胞苷)、NA(米托蒽醌、阿糖胞苷)联合化疗方案,M3 患者主要用维 A 酸和/或三氧化二砷治疗。ALL 病例均接受标准的 VDC(L)P(长春新碱、柔红霉素、环磷酰胺、L-门冬酰胺酶、泼尼松)或 VMC(L)P(长春新碱、米托蒽醌、环磷酰胺、L-

门冬酰胺酶、泼尼松)化疗方案。对照组选取 10 名健康者,为健康献血员和骨髓移植供髓者,其中男 5 名,女 5 名;中位年龄 29 岁。

## 1.2 方法

**1.2.1 主要试剂** RNA 酶抑制剂、逆转录酶购自 Promega 公司;TRIzol 抽提试剂盒、引物及相关试剂购自上海生工生物工程有限公司。

**1.2.2 标本处理** 清晨空腹采集患者外周血 5 mL(肝素抗凝)或抽取患者骨髓液 2 mL,采用淋巴细胞分离液离心标本获取单个核细胞(MNC),计数  $5 \times 10^7$  个 MNC 用于细胞总 RNA 的抽提,应用 TRIzol 抽提试剂盒提取总 RNA,置于  $-80^\circ\text{C}$  保存。

**1.2.3 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法测定 IL-3R $\alpha$  mRNA 的表达** 提取的总 RNA 利用反转录试剂盒进行 cDNA 的合成,进一步行 PCR 扩增,IL-3R $\alpha$  扩增片段长度为 555 bp,其引物序列如下:上游引物:5'-TCT CCA GCG GTT CTC AAA GTT CCC ACA TCC-3';下游引物:5'-CCC AGA CCA CCA GCT TGT CGT TTT GGA AGC-3'。扩增反应条件如下:94  $^\circ\text{C}$  预变性 5 min,94  $^\circ\text{C}$  变性 40 s,56  $^\circ\text{C}$  退火 45 s,72  $^\circ\text{C}$  延伸 90 s,35 个循环后 72  $^\circ\text{C}$  再延伸 7 min 终止反应。PCR 扩增产物

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel:13951778658; E-mail: doctorss@qq.com.

经纯化后酶切鉴定,应用 PST1 酶酶切,酶切片段长度为 459 bp 和 96 bp,酶切产物由凝胶电泳鉴定。以 GAPDH 作为内参,将同一标本 IL-3R $\alpha$  和 GAPDH 的 PCR 扩增产物混匀,抽取混匀产物 7 l 加样于 1.7% 琼脂糖凝胶上,80 V 恒压电泳 1 h,在凝胶成像系统下观察并摄片,观察电泳结果。

**1.2.4 免疫表型测定** 采集患者骨髓液或外周血(幼稚细胞比例大于或等于 50%),肝素抗凝。流式细胞仪型号为 FACS Calibur,激发光为 488 nm 氩离子,FITC 滤光片 525 nm,PE 滤光片 575 nm。采用全血单抗双标记法,检测 10 000 个以上细胞,CD45-SSC 设门法分析结果,所用干/祖细胞单抗为 CD34。CD34 抗原阳性细胞大于或等于 20% 为标准。

**1.3 统计学分析** 采用 SPSS11.5 软件进行分析,计量资料采用 *t* 检验、Levene 方差齐性检验及秩和检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验、Fisher 确切概率法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 IL-3R $\alpha$  mRNA 表达与 AL 的相关性** 对照组 10 例未检测到 IL-3R $\alpha$  的表达。T-ALL 患者未检测到 IL-3R $\alpha$  的表达,其余 AML 各组与 B-ALL 表达阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。AML 和 B-ALL 初治、复发患者阳性率分别是 39.13% (27/69),50.00% (6/12),两组阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物的 PST1 酶酶切结果(图 1)。部分 AML、ALL 患者 IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物电泳,见图 2、3。

表 1 AL 患者 IL-3R $\alpha$  表达与 AL 各型的关系[n(%)]

AL 类型	n	IL-3R $\alpha$ 阳性
AML	52	21(40.38)
AML-M1	6	4(66.67)
AML-M2	28	9(32.14)
AML-M3	10	3(30.00)
AML-M4	3	1(33.33)
AML-M5	5	4(80.00)
ALL	42	12(28.57)
T-ALL	13	0(00.00)*
B-ALL	29	12(41.38)

\* :  $P < 0.05$ ,与其他各组比较。

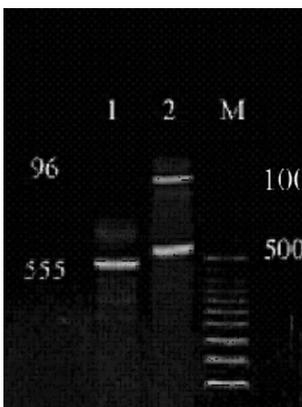


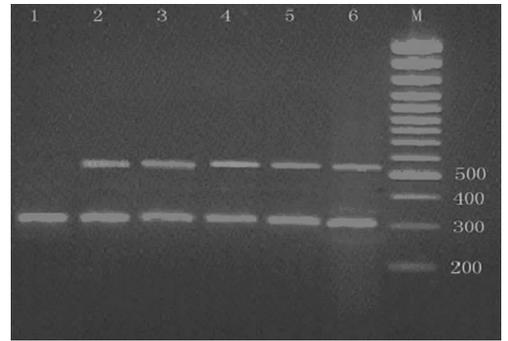
图 1 IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物 PST1 酶酶切结果  
1: IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物;2: PST1 酶酶切后产物;M: 100 bp 对照组。

图 1 IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物 PST1 酶酶切结果

**2.2 IL-3R $\alpha$  表达与 CD34 的相关性** AML 和 B-ALL 患者中 IL-3R $\alpha$  表达和 CD34 表达高度相关,CD34<sup>+</sup> 组的 IL-3R $\alpha$  的表达显著高于 CD34<sup>-</sup> 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

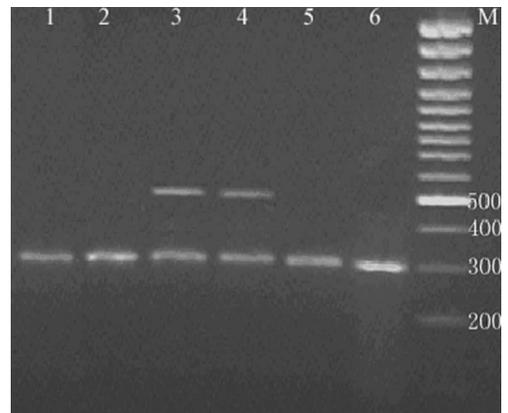
**2.3 IL-3R $\alpha$  表达与 AL 临床预后的相关性** IL-3R $\alpha$  阳性表

达的 AML 和 B-ALL 患者白细胞计数、骨髓中原始细胞数较阴性表达组增高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。IL-3R $\alpha$  阳性组经标准化疗 1~2 个疗程后 CR 率低于用类似化疗的 IL-3R $\alpha$  阴性患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。



1: 对照样本;2~6: AML 患者样本;M: 100 bp 对照组。

图 2 AML 患者 IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物电泳图



1,2: 对照样本;3,4: B-ALL 患者样本;5,6: T-ALL 患者样本;M: 100 bp 对照组。

图 3 ALL 患者 IL-3R $\alpha$  PCR 扩增产物电泳图

表 2 CD34<sup>+</sup> 组与 CD34<sup>-</sup> 组患者 IL-3R $\alpha$  表达情况

组别	n	IL-3R $\alpha$ 阳性率[n(%)]
CD34 <sup>+</sup> AML	15	10(66.67)
CD34 <sup>-</sup> AML	37	11(29.73)*
CD34 <sup>+</sup> B-ALL	8	6(75.00)
CD34 <sup>-</sup> B-ALL	20	5(25.00)*

\* :  $P < 0.05$ ,与相应的 CD34<sup>+</sup> 组比较。

**3 讨论**

白血病是造血系统的恶性肿瘤,AL 细胞可增殖存活,但极少分化成熟。IL-3 可诱导血液系统淋系和髓系细胞自主增殖从而在白血病发病中有重要意义,IL-3 还能促进祖细胞的分化,提示白血病是在表达 IL-3R 的前体细胞阶段发生的<sup>[5]</sup>。IL-3 通过与受体 IL-3R 结合发挥作用,而 IL-3R $\alpha$  决定了两者结合的特异性。因此,笔者认为 IL-3R $\alpha$  可能是白血病发病的重要分子之一。Jordan 等<sup>[2]</sup> 研究认为 IL-3R $\alpha$  可以作为未分化白血病干细胞的一个特异性标志。近来研究指出,在 AL 患者中 IL-3R $\alpha$  表达有所增高<sup>[3]</sup>。

AML 是成人 AL 的一种主要类型,其在临床上及细胞遗传学上均具有异质性<sup>[4]</sup>。为进一步了解 AL 患者外周血 IL-3R $\alpha$  mRNA 表达的情况,本研究采用 RT-PCR 方法检测其 mRNA 的表达。本研究中,AML 患者 IL-3R $\alpha$  阳性率为 40.38%,M1~M5 各亚型的表达无明显差异。B-ALL 患者

IL-3R $\alpha$  阳性率为 41.38%，而健康人和 T-ALL 患者未检测到 IL-3R $\alpha$  表达。有关 IL-3R $\alpha$  表达与 AML FAB 分型相关性，Munoz 等<sup>[5]</sup>研究发现，M7 患者不表达 IL-3R $\alpha$ ，其余 AML 各型均有表达。Testa 等<sup>[6]</sup>研究表明 IL-3R $\alpha$  在各个 FAB 亚型 (M0~M7) 的 AML 患者中均表达，而且分型与表达强弱程度无关。笔者没有收集到 M0、M6 和 M7 的患者，未能进一步分析。本研究结果证实了 AML 和 B-ALL 患者 IL-3R $\alpha$  表达增高，这与 Munoz 等<sup>[5]</sup>、Giudice 等<sup>[7]</sup>、Du 等<sup>[8]</sup>研究报告相一致。由此，检测 IL-3R $\alpha$  有助于 B-ALL 和 T-ALL 的鉴别，IL-3R $\alpha$  在 AML 和 B-ALL 发病中有一定作用。

CD34 抗原参与早期造血干/祖细胞的调控，研究认为在急性白血病细胞中 CD34 的高表达是急性白血病不良预后的一个重要因素<sup>[9]</sup>。与国外研究相似<sup>[10-11]</sup>，本研究结果也证实 IL-3R $\alpha$  的表达与 CD34 的表达相关，提示其可能表达于分化发育较早期的白血病细胞。

研究表明，IL-3R $\alpha$  基因的异常高表达使造血细胞获取增殖优势，进而导致白血病的发生发展。Testa 等<sup>[6]</sup>研究提出，高表达 IL-3R $\alpha$  的患者化疗后 CR 率低、生存期短。本研究结果表明，AML 和 B-ALL 患者中 IL-3R $\alpha$  的阳性表达者的外周白血细胞计数、骨髓中白血病原始细胞比例增高，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，而 IL-3R $\alpha$  的阳性表达与性别、年龄、血红蛋白水平、血小板计数无关，提示了 IL-3R $\alpha$  的表达有可能促进白血病细胞的增殖。本研究还进一步分析了 IL-3R $\alpha$  表达与 AL 患者化疗疗效的相关性。在 AML 和 B-ALL 患者中，IL-3R $\alpha$  阳性表达组标准化疗 1~2 个疗程后 CR 率低于阴性表达组，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因而，笔者认为 IL-3R $\alpha$  阳性表达可能是 AML、B-ALL 患者的一个不良预后因素。

#### 参考文献:

- [1] Chen J, Olsen J, Ford S, et al. A new isoform of interleukin-3 receptor alpha with novel differentiation activity and high affinity binding mode[J]. *Biol Chem*, 2009, 284(9): 5763-5773.
- [2] Jordan CT, Upchurch D, Szilvassy SJ, et al. The interleukin-3 receptor alpha chain is a unique marker for human acute myelogenous leukemia stem cells [J]. *Leukemia*, 2000, 14(10): 1777-1784.
- [3] Kim HP, Frankel AE, Hogge DE. A diphtheria toxin interleukin-3 fusion protein synergizes with tyrosine kinase inhibitors in killing leukemic progenitors from BCR/ABL positive acute leukemia[J]. *Leuk Res*, 2010, 34(8): 1035-1042.
- [4] 刘宁, 赖永榕. 急性白血病 FLT3/ITD、C-K it 基因突变预后相关性的研究[J]. *中外医学研究*, 2011, 9(15): 29-30.
- [5] Munoz L, Nomdedeu JF, Lopez O, et al. Interleukin-3 receptor alpha chain (CD123) is widely expressed in hematologic malignancies [J]. *Haematologica*, 2001, 86(12): 1261-1269.
- [6] Testa U, Riccioni R, Militi S, et al. Elevated expression of IL-3R $\alpha$  in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis[J]. *Blood*, 2002, 100(8): 2980-2988.
- [7] Giudice ID, Matutes E, Morilla R, et al. The diagnostic value of CD123 in B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes[J]. *haematologica*, 2004, 89(3): 303-308.
- [8] Du W, Li XE, Sipple J, et al. Overexpression of IL-3R $\alpha$  on CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> stem cells defines leukemia-initiating cells in Fanconi anemia AML[J]. *Blood*, 2011, 117(16): 4243-4252.
- [9] Thomas X, Archimbaud E, Charrin C, et al. CD34 expression is associated with major adverse prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 1995, 9(2): 249-253.
- [10] Dyer KD, Garcia-Crespo KE, Percopo CM, et al. Defective eosinophil hematopoiesis ex vivo in inbred Rocky Mountain White (IRW) mice [J]. *Leukoc Biol*, 2011, 90(6): 1101-1109.
- [11] Mori Y, Iwasaki H, Kohno K, et al. Identification of the human eosinophil lineage-committed progenitor; revision of phenotypic definition of the human common myeloid progenitor[J]. *Exp Med*, 2009, 206(1): 183-193.

(收稿日期: 2012-09-13 修回日期: 2012-10-25)

(上接第 3839 页)

- [11] Funk GC, Kirchheiner K, Burghuber OC, et al. Classifying the severity of COPD; are the new severity scales better than the old [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009, 13(6): 783-790.
- [12] Cote CG, Celli BR. BODE index; a new tool to stage and monitor progression of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Pneumonol Alergol Pol*, 2009, 77(3): 305-313.
- [13] Reda AA, Kotz D, Kocks JW, et al. Reliability and validity of the clinical COPD questionnaire and chronic respiratory questionnaire[J]. *Respir Med*, 2010, 104(11): 1675-1682.
- [14] Jones RC, Donaldson GC, Chavannes NH, et al. Derivation and validation of a composite index of severity in chronic obstructive pulmonary disease; the DOSE Index [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180(12): 1189-1195.
- [15] 姚婉贞, 徐永健, 钟南山. 慢性阻塞性肺疾病[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 626-627.
- [16] Azarisman MS, Fauzi MA, Faizal MP, et al. The SAFE (SGRQ score, air-flow limitation and exercise tolerance) Index; a new composite score for the stratification of severity in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Postgrad Med J*, 2007, 83(981): 492-497.
- [17] Puhon MA, Garcia-Aymerich J, Frey M, et al. Expansion of the prognostic assessment of patients with chronic obstructive pulmonary disease; the updated BODE index and the ADO index[J]. *Lancet*, 2009, 374(9691): 704-711.

(收稿日期: 2012-07-09 修回日期: 2012-08-22)