

## 骨髓增生异常综合征患者血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$ 的表达及意义

张兴利<sup>1</sup>, 吴鹏飞<sup>1</sup>, 吴锦昌<sup>2</sup>, 邱宏春<sup>1</sup>, 孔 荣<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>江苏省昆山市第三人民医院血液肿瘤科, 江苏 昆山 215300; <sup>2</sup>南京医科大学附属苏州医院肿瘤放疗科, 江苏 苏州 215001)

**[摘要]** 目的:研究骨髓增生异常综合征(myelodysplasia syndrome, MDS)患者血清中血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1)、巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ )的表达水平,探讨其在 MDS 发病中的临床意义。方法:采用 ELISA 定量检测 31 例 MDS 患者、20 例健康者(正常对照组)、15 例初发急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)患者(疾病对照组)血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  的水平。结果:MDS 患者血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  表达水平均明显高于正常对照组( $P$ 均  $< 0.05$ ),低于 AML 组( $P$ 均  $< 0.05$ )。低危组 MDS 患者 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  表达水平与正常对照组比较无统计学差异( $P$ 均  $> 0.05$ ),而高危组 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  的表达水平明显高于低危组( $P$ 均  $< 0.05$ ),且与 AML 组无显著差别( $P$ 均  $> 0.05$ )。MDS 患者血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  表达呈正相关性( $r = 0.418, P < 0.05$ )。结论:MDS 患者血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  的表达增高,且两者具有显著相关性,提示其在 MDS 的发展、转化过程中起重要作用,联合检测有可能作为 MDS 患者临床分期及预后的参考指标。

**[关键词]** 骨髓增生异常综合征;血管生成素-1;巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$

**[中图分类号]** R733.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)11-1555-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20141120

目前大量研究表明,肿瘤的发生和发展都伴有新生的毛细血管生成。骨髓增生异常综合征(myelodysplasia syndrome, MDS)是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,WHO 分类将其归入造血系统肿瘤范围<sup>[1]</sup>。目前已经明确多种细胞因子参与 MDS 新生血管的形成,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)<sup>[2]</sup>、基质细胞衍生因子(stromal cell derived factor, SDF-1)<sup>[3]</sup>、胰岛素样生长因子 I 型受体(insulin like growth factor-1 receptor, IGF-1R)<sup>[4]</sup>等。已经证实血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1)、巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ )在肿瘤的血管新生中发挥重要作用,但其在 MDS 患者血清中表达水平方面的研究却很少。为此,本研究检测了 31 例 MDS 患者的血清 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  水平,现报道如下。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

31 例 MDS 患者均为江苏省昆山市第三人民医院血液肿瘤科 2012 年 1 月~2013 年 12 月收住入院的患者,所有患者根据 2012 版《骨髓增生异常综合征诊断与治疗专家共识》的诊断标准确诊。其中男 17 例,女 14 例,年龄 29~86 岁,中位年龄 65 岁。将

所有 MDS 患者分为两组:①低危组:包括国际预后积分系统(IPSS)积分 $\leq 1.0$ (低危和中危-1)者以及基于 WHO 的预后积分系统(WPSS)积分 $\leq 2.0$ 者,总计 18 例;②高危组:IPSS 积分 $\geq 1.5$ 者(中危-2 和高危),总计 13 例。20 例健康体检者为正常对照组,15 例初发急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)患者为疾病对照组。本研究通过昆山市第三人民医院伦理委员会批准并经入组者知情同意。

Ang-1 ELISA 试剂盒、MIP-1 $\alpha$  ELISA 试剂盒(上海蓝基生物公司)。酶标仪器(MK3, Thermo 公司,德国)。 $-80^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱(中国海尔有限公司)。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 标本采集

清晨静息状态下抽空腹静脉血 3~5 ml,标本静置 2 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冻存待测,避免反复冻溶。

##### 1.2.2 检测方法

采用 ELISA 检测每份血清中待测因子的水平,检测步骤严格按照说明书进行,尽量避免误差。①步骤:从 $-80^{\circ}\text{C}$ 海尔超低温冰箱中取出标本解冻;从 $4^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出 ELISA 试剂盒,室温放置 20 min;空白孔加标准品各 100  $\mu\text{l}$ ,空白对照孔加 100  $\mu\text{l}$  蒸馏水;各孔中加 50  $\mu\text{l}$  酶标记溶液(空白对照不加);

37℃孵箱孵育 60 min;洗板 5 次;用吸水纸把板彻底拍干;每孔依次加入显色剂 A、B 各 50 μl;室温下避光孵育 15 min;加入终止液 50 μl/孔终止反应;30 min 内在酶标仪上 450 nm 处读取吸光值。②结果判断:每个标准品和标本的吸光度值应减去空白孔的吸光度值;以标准品浓度作横(纵)坐标,吸光度值作纵(横)坐标,以平滑线连接各标准品的坐标点。根据方程式,通过标本的吸光度值可在标准曲线上计算出其浓度。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件分析。计量资料采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多个均数比较采用单因素方差分析 SNK-*q* 检验进行组间两两比较。两变量关联性分析采用线性相关分析(Pearson 积差相关系数 *r*)。0 < *r* ≤ 1 为正相关, -1 ≤ *r* < 0 为负相关。以 *P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MDS 患者血清 Ang-1、MIP-1α 表达水平

运用 Levene 检验方法对正常对照组、MDS 组、AML 组血清 Ang-1、MIP-1α 值进行方差齐性检验,结果分别为:*F* = 1.325, *P* = 0.242; *F* = 1.617, *P* = 0.207。 *P* 值均 > 0.05,符合方差齐性。MDS 患者血清 Ang-1 水平明显高于正常对照组 (*q* = 4.890, *P* < 0.05),低于 AML 组(*q* = 4.609, *P* < 0.05);血清 MIP-1α 水平明显高于正常对照组(*q* = 5.845, *P* < 0.05),低于 AML 组(*q* = 4.367, *P* < 0.05,表 1)。

表 1 各组血清 Ang-1 和 MIP-1α 表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	Ang-1(ng/ml)	MIP-1α(pg/ml)
正常对照组( <i>n</i> =20)	0.920 ± 0.280*	73.681 ± 8.490*
MDS 组( <i>n</i> =31)	1.533 ± 0.694	87.433 ± 11.957
AML 组( <i>n</i> =15)	2.168 ± 0.760*	98.701 ± 14.192*

与 MDS 组相比, \**P* < 0.05。

2.2 MDS 患者各亚型血清 Ang-1 表达水平

运用 Levene 检验方法对正常对照组、MDS 低危组、MDS 高危组、AML 组血清 Ang-1 值进行方差齐性检验,结果为:*F* = 2.16, *P* = 0.102。 *P* > 0.05,符合方差齐性。MDS 低危组患者的 Ang-1 水平与正常对照组比较无显著性差异 (*q* = 2.315, *P* > 0.05),MDS 高危组的 Ang-1 水平均明显高于正常对照组和低危组(*q* = 7.316, *q* = 5.093, *P* < 0.05),而其与 AML 组差异无统计学意义(*q* = 1.332, *P* > 0.05,表 2)。

2.3 MDS 患者各亚型血清 MIP-1α 表达水平

运用 Levene 检验方法对正常对照组、MDS 低

危组、MDS 高危组、AML 组血清 MIP-1α 值进行方差齐性检验,结果为:*F* = 2.68, *P* = 0.055。 *P* > 0.05,符合方差齐性。MDS 低危组患者的 MIP-1α 水平与正常对照组比较无显著性差异 (*q* = 2.227, *P* > 0.05),MDS 高危组的 MIP-1α 水平均明显高于正常对照组和低危组(*q* = 10.084, *q* = 7.507, *P* < 0.05),而其与 AML 组差异无统计学意义 (*q* = 0.150, *P* > 0.05,表 2)。

表 2 MDS 各亚型患者血清 Ang-1、MIP-1α 表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	Ang-1(ng/ml)	MIP-1α(pg/ml)
正常对照组( <i>n</i> =20)	0.920 ± 0.280	73.681 ± 8.490
MDS 低危组( <i>n</i> =18)	1.222 ± 0.390	79.577 ± 7.004
MDS 高危组( <i>n</i> =13)	1.965 ± 0.800**	98.311 ± 8.194**
AML 组( <i>n</i> =15)	2.168 ± 0.760	98.701 ± 14.192

与正常对照组相比, \**P* < 0.05;与低危组比较, \*\**P* < 0.05。

2.4 MDS 患者血清 Ang-1、MIP-1α 的相关性

运用 SPSS13.0 对 31 例 MDS 患者的血清 Ang-1、MIP-1α 值绘制散点图(图 1),结果显示 Ang-1、MIP-1α 值之间具有线性相关趋势。进一步做回归与相关分析,结果显示两者具有正相关性(*r* = 0.418, *P* < 0.05)。

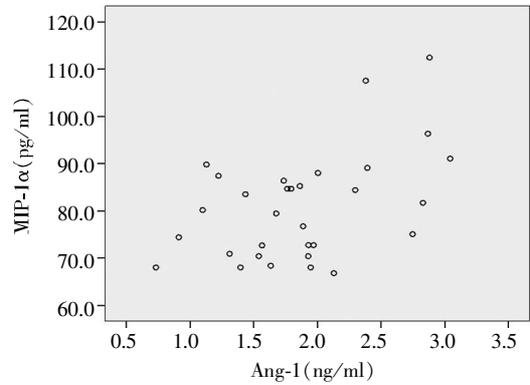


图 1 MDS 患者的血清 Ang-1、MIP-1α 值散点图

3 讨论

肿瘤的发生和发展都伴有新生的毛细血管生成,以往对血管新生的研究主要侧重于实体瘤<sup>[5-6]</sup>。近年来的研究发现,血液系统的恶性肿瘤也与血管新生有关,也存在血管新生调控因子的异常表达。已有报道,急性白血病<sup>[7]</sup>、多发性骨髓瘤<sup>[8]</sup>等患者骨髓存在血管新生。MDS 是起源于造血干细胞的一组异质性髓系克隆性疾病,特点是髓系细胞发育异常,表现为无效造血、难治性血细胞减少、造血功能衰竭,能向急性白血病转化,临床治疗效果差,WHO 分类将其归入造血系统肿瘤范围<sup>[1]</sup>。目前对 MDS 的发生

机制尚无明确解释, 多数人认为 MDS 的发生和演进是多种致病因素共同作用的结果。MDS 患者骨髓中是否也存在血管新生, 已引起广大学者的关注。

血管新生与多种因子有关, 各种促血管生长因子和抑制因子形成一个复杂的调控网络, 共同作用于新生血管形成。目前已经明确多种细胞因子参与 MDS 新生血管的形成, 如 VEGF、SDF-1、IGF-1R 等。虽然已经证实 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  在肿瘤的血管新生中发挥重要作用, 但其在 MDS 患者血清中表达水平方面的研究却很少。本研究发现, MDS 患者血清中 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  的表达水平均明显高于正常对照组, 提示 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  在 MDS 患者的疾病发展过程中可能起到一定作用。

Ang-1 是一种分泌蛋白, 基因定位于第 8 号染色体长臂上, 其受体为 Tie2, 属于受体酪氨酸激酶家族成员, 特异性地表达于内皮细胞表面和某些造血祖细胞。Ang-1/Tie2 信号转导通路在人类生理性和病理性血管生成过程中均起到重要作用。该通路是除 VEGF 之外新的信号转导通路, 对它们的研究有助于阐明血管生成机制, 并且为利用这些靶点进行相关疾病的治疗打下基础。有研究者用 ELISA 通过测定多发性骨髓瘤患者中 Ang-1/Tie2 的血清浓度, 推测其与临床及病理的关系<sup>[7]</sup>, 进而为诊断及治疗恶性肿瘤提供一种新方法。另外, Park 等<sup>[9]</sup>通过对早期肺癌切除患者的研究认为, Ang-1 血清水平可作为术后预后指标。

MIP-1 $\alpha$  属于趋化因子 C-C 家族, 是趋化因子 CCR1 的配体, 基因定位于人 17 号染色体, 作用无种属特异性。在不同因素的诱导刺激下, 体内多种细胞包括单核/巨噬细胞、中性粒细胞、活化 T 细胞、肥大细胞、成纤维细胞及某些肿瘤细胞均可分泌产生。研究证实, MIP-1 $\alpha$  通过与不同靶细胞上的多种受体结合, 发挥多向性的生物学效应, 表现在: ①免疫作用: MIP-1 $\alpha$  对多种炎性细胞如 CD4 和 CD8T 淋巴细胞、嗜酸/嗜碱性粒细胞、单核/巨噬细胞、肥大细胞具有趋化和活化效应, 因此已被证实与多种自身免疫性疾病如自身免疫性甲状腺疾病等有关<sup>[10]</sup>。②炎性作用: MIP-1 $\alpha$  在参与炎症的过程中发挥刺激新血管生成的作用, 对急性炎症向慢性炎症转变有积极意义<sup>[11]</sup>。③对血管生成的影响: Staudt 等<sup>[12]</sup>通过对小鼠的胰腺癌模型研究发现, 肿瘤局部可见单核细胞聚集, 低密度脂蛋白受体相关蛋白 LRP1 缺失的骨髓巨噬细胞高表达多种趋化因子, 其中最为显著的是 MIP-1 $\alpha$ , 提示 MIP-1 $\alpha$  在肿瘤血管生成中发挥

重要作用。近年来, 在对多发性骨髓瘤的研究中, 人们发现 MIP-1 $\alpha$  的高表达与肿瘤的血管生成、侵袭及预后不良有关<sup>[13]</sup>。至于 MIP-1 $\alpha$  调节肿瘤血管生成的作用在 MDS 患者中的作用和影响方式, 国内外尚未见报道。

本研究结果显示, 低危组 MDS 患者的 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  水平与正常对照组比较无显著性差异, 而高危组的 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  水平均明显高于低危组, 表明随着病情发展, Ang-1、MIP-1 $\alpha$  表达水平越高。这提示 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  引起的血管新生可能在 MDS 的发展转化过程中起重要作用。同时, 本研究结果显示, 高危组患者 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  表达水平与 AML 患者相比无显著性差异, 可能预示高危组患者向 AML 转化的风险更高。对这部分患者需加强随访, 有必要采取积极措施如预激方案化疗、去甲基化治疗等降低其向 AML 转化的风险, 以期延长生存期。此外, 对 Ang-1、MIP-1 $\alpha$  的水平进行相关性分析表明, 两者具有正相关性。因此, 上述结果提示, Ang-1、MIP-1 $\alpha$  可能相互作用促进 MDS 患者的血管生成, 并有可能作为 MDS 患者疾病分期以及预后等生物学行为的参考指标。同时, 研究 MDS 患者血管新生相关因子的表达对于指导临床治疗、寻求新的治疗方法具有重要意义。

#### [参考文献]

- [1] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征诊断与治疗专家共识[J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(4): 347-352
- [2] 尤学芬, 谢玉娟, 罗琼, 等. 骨髓增生异常综合征血管内皮生长因子作用的研究[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2008, 28(11): 1511-1513
- [3] 陈文明, 孙道萍, 岑建农, 等. 骨髓增生异常综合征骨髓上清骨髓基质细胞衍生因子 1 $\alpha$  检测及临床意义[J]. 医学综述, 2012, 18(2): 294-296
- [4] 贺琪, 李晓, 张征, 等. 骨髓增生异常综合征克隆细胞胰岛素样生长因子 I 型受体的表达[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(11): 744-747
- [5] 彭大勇, 李东斌, 李俊, 等. 非小细胞肺癌组织 MIP-1 表达及其与树突状细胞浸润的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16(5): 23-25
- [6] 陈明祥, 武正山, 张信强, 等. 胃癌患者血清 IL-6、CA724、VEGF 联合检测的临床意义[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2013, 33(2): 247-250
- [7] 王萍, 阮林海, 赵小强. 血管生成素-2 和血管内皮生长因子在急性白血病中的表达及意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(1): 11-14

(下转第 1578 页)