

伴环状铁粒幼红细胞增多的骨髓增生异常综合征中 IL-1 β /Caspase-1 介导的细胞焦亡的作用

尹婉宜,张丽红,马 兵,沈 扬,刘清池,张慧敏

(河北医科大学第一医院 血液内科,河北 石家庄 050031)

【摘要】目的 探讨白细胞介素-1 β /半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-1(interleukin-1 β , IL-1 β)/ (cysteinyl aspartate specific protease-1, Caspase-1)介导的细胞焦亡在伴环状铁粒幼红细胞增多的骨髓增生异常综合征中(MDS-RS)的机制。方法 选取2020年1月至2021年7月我院收治的MDS-RS患者30例,为MDS-RS组;同时选取查体中心健康查体者30例作为对照组。比较两组caspase-1、IL-1 β 、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ 干扰素(IFN- γ)。MDS-RS按预后积分系统分为较低危组($n=18$)和较高危组($n=12$),较低危组给予免疫抑制剂治疗或去甲基化药物治疗,比较患者治疗前、治疗后3个月、治疗后6个月caspase-1、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平。结果 MDS-RS组Caspase-1、IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平高于对照组,IL-4水平低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。MDS-RS组治疗前后Caspase-1、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平差异有统计学意义($P<0.05$),随着治疗时间延长,患者Caspase-1、IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 水平逐渐降低,IL-4水平逐渐升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 Caspase-1和IL-1 β 在MDS-RS患者血清中高表达,IL-1 β /Caspase-1介导的细胞焦亡可能参与了MDS-RS的发生发展,可作为临床评价其预后的重要指标。

【关键词】伴环状铁粒幼红细胞增多的骨髓增生异常综合征;半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-1;白细胞介素-1 β ;细胞焦亡

中图分类号: R43

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2022)05-0522-04

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是源自突变的克隆造血细胞扩增的肿瘤,其特征是由于无效造血、异常血细胞发育和骨髓细胞形态异常,以及克隆进化和进展为急性髓性白血病而导致的造血细胞减少^[1]。MDS病因及发病机制至今仍没有得到完全阐明,骨髓微环境和造血干细胞生态位的改变、分子遗传学与体细胞基因突变、DNA甲基化和组蛋白修饰与MDS发生进展具有相关性^[2]。细胞焦亡(pyroptosis)是近年来由Brennan MA等命名的一种新的程序性细胞死亡,由半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-1(cysteinyl aspartate specific protease-1, Caspase-1)依赖性介导,促使白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)和白细胞介素-18的成熟和释放,诱发级联放大的炎症反应,是机体天然性免疫防御反应的组成部分^[3]。随着对细胞焦亡的深入研究发现,细胞焦亡参与了多种疾病的发生与发展过程,特别是细胞焦亡进程中形成的炎性体、相关细胞因子所形成的炎性微环境

有可能促进肿瘤的发生发展^[4]。最新的研究表明^[5],细胞焦亡可能是MDS骨髓无效造血的原因之一。MDS具有明显的疾病异质性,不同类型的MDS的致病因素存在着明显差异。伴环状铁粒幼红细胞增多的骨髓增生异常综合征(MDS-with ring siderocytosis, MDS-RS)是MDS中的一个类型,治疗手段极为有限,治疗效果差,生活质量不佳。及时根据MDS-RS患者病情发展程度给予合理的对症治疗是提高临床治疗效果的关键。本研究旨在通过Caspase-1、IL-1 β 细胞因子在MDS-RS患者中的表达及MDS-RS与细胞焦亡相关性研究,进一步探讨MDS的发病机制,以期为治疗提供新的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2020年1月至2021年7月我院收治的MDS-RS患者30例,男性21例、女性9例;年龄37~

收稿日期:2021-12-24;修回日期:2022-09-28

基金项目:河北省卫健委医学科学研究项目(20200125)

第一作者:尹婉宜(1979-),女,硕士,副主任医师。研究方向:血液病诊治。E-mail:51900288@qq.com

79岁,平均年龄(68.22 ± 7.81)岁;MDS-RS-SLD10例(33.3%,10/30),MDS-RS-MLD 20例(66.7%,20/30);粒细胞<10%9例(30.0%,9/30)粒细胞≥10%21例(70.0%,21/30);红细胞比例<10%14例(46.7%,14/30),红细胞比例≥10%16例(53.3%,16/30);RS 5%~15%患者3(10.0%,3/30),RS≥15%患者27例(90.0%,27/30)。

纳入标准:(1)符合《骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南》(2019版)中MDS-RS诊断标准^[6];(2)年龄≥18周岁;(3)未经造血干细胞移植;(4)患者知情同意自愿参加本研究。

排除标准:(1)合并重要器官脏器疾病及自身免疫性疾病;(2)近期使用过免疫抑制剂;(3)对治疗药物存在药物禁忌证。

同时选取查体中心年龄、性别相匹配的健康查体者30例作为对照组,男性17例、女性13例;年龄33~75岁,平均年龄(67.83 ± 6.59)岁。

1.2 研究方法

1.2.1 分组与治疗 MDS-RS患者按预后积分系统分为较低危组($n=18$)和较高危组($n=12$)。较低危组给予免疫抑制剂治疗或去甲基化药物治疗,5-阿扎胞苷75 mg·m⁻²·d × 7 d,皮下注射,28 d为1个疗程。较高危组采用支持治疗、去甲基化药物治疗和化疗。5-阿扎胞苷75 mg·m⁻²·d × 7 d,皮下注射,28 d为1个疗程。化疗治疗可采取AML标准3+7诱导方案或预激方案。

1.2.2 疗效判定 根据相关文献,疗效分为完全缓解、部分缓解、疾病稳定和治疗失败。完全缓解:骨髓原始细胞≤5%且所有细胞系成熟正常,外周血

HGB≥110 g/L,ANC≥1.0 × 10⁹ g/L,PLT≥100 × 10⁹ g/L,原始细胞为0;部分缓解:外周血绝对值必须持续至少2个月,其他条件均达到完全缓解标准,但骨髓原始细胞仅较治疗前减少≥50%,但仍>5%;疾病稳定:未达到部分缓解的最低标准但至少8周以上无疾病进展证据;治疗失败:治疗期间死亡或病情进展,表现为血细胞减少加重、骨髓原始细胞增高或较治疗前发展为更进展的FAB型。

1.2.3 血液样品的采集与检测 采集治疗前、治疗后3个月、治疗后6个月的空腹静脉血,静置20 min,3500 r/min,离心20 min,取上层血清,应用酶联免疫吸附法检测血清Caspase-1、IL-1β水平。采用流式细胞术检测研究对象白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、γ干扰素(IFN-γ)。

1.3 统计学方法

数据应用SPSS 20.0统计学软件分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验。检验水准为 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组细胞因子水平比较

MDS-RS组患者IL-2、TNF-α、IFN-γ、IL-10、IL-6水平高于对照组,IL-4水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表1)。

表1 两组细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

	IL-2	IL-4	TNF-α	IFN-γ	IL-10	IL-6
对照组($n=30$)	4.72 ± 1.07	13.63 ± 3.71	5.37 ± 1.86	5.83 ± 1.25	6.59 ± 1.83	18.96 ± 3.68
MDS-RS组($n=30$)	8.35 ± 2.17	3.56 ± 0.83	9.36 ± 2.35	13.89 ± 3.73	17.62 ± 3.91	57.21 ± 7.17
t	8.218	15.089	7.350	11.222	13.994	25.995
P	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01

2.2 血清Caspase-1、IL-1β水平比较

MDS-RS患者血清Caspase-1、IL-1β水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表2)。

表2 血清Caspase-1、IL-1β水平比较($\bar{x} \pm s$)

	Caspase-1(ng/L)	IL-1β(ng/L)
对照组($n=30$)	1.16 ± 0.37	7.35 ± 1.82
MDS-RS组($n=30$)	8.26 ± 1.03	38.69 ± 6.83
t	35.533	24.285
P	< 0.01	< 0.01

2.3 MDS-RS患者临床效果评估

治疗后3个月MDS-RS患者完全缓解、部分缓解、疾病稳定、治疗失败各5例、6例、11例和8例。治疗后6个月完全缓解、部分缓解、疾病稳定、治疗失败各8例、15例、4例和3例(见表3)。

表3 MDS-RS患者临床效果评估

	完全缓解	部分缓解	疾病稳定	治疗失败
治疗后3个月($n=30$)	5	6	11	8
治疗后6个月($n=30$)	8	15	4	3

2.4 MDS-RS组患者治疗前后血清Caspase-1、IL-1β水平比较

MDS-RS组患者治疗前、治疗后血清Caspase-1、IL-1β水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。随着治疗时间延长,Caspase-1、IL-1β水平逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表4)。

2.5 MDS-RS组患者治疗前后细胞因子的水平比较

MDS-RS组患者治疗前、治疗后血清Caspase-1、IL-1β水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。随

表4 MDS-RS组患者治疗前后血清Caspase-1、IL-1β水平比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

	Caspase-1	IL-1β
治疗前	8.26 ± 1.03	38.69 ± 6.83
治疗后3个月	6.17 ± 0.72 ^a	25.63 ± 4.37 ^a
治疗后6个月	4.31 ± 0.56 ^{ab}	13.65 ± 3.28 ^{ab}
<i>F</i>	185.669	184.516
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:^a与治疗前比较, $P < 0.05$,^b为与治疗3个月比较, $P < 0.05$ 。

随着治疗时间延长,Caspase-1、IL-1β水平逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表5)。

表5 MDS-RS组患者治疗前后细胞因子的水平比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

	IL-2	IL-4	TNF-α	IFN-γ	IL-10	IL-6
治疗前	8.35 ± 2.17	3.56 ± 0.83	9.33 ± 2.31	13.89 ± 3.73	17.62 ± 3.91	57.21 ± 7.17
治疗后3个月	6.83 ± 1.17 ^a	6.52 ± 1.79 ^a	7.58 ± 1.82 ^a	10.56 ± 2.71 ^a	10.39 ± 2.63 ^a	37.87 ± 5.85 ^a
治疗后6个月	5.31 ± 0.96 ^{ab}	10.25 ± 2.29 ^{ab}	6.62 ± 1.05 ^{ab}	6.21 ± 1.75 ^{ab}	8.12 ± 1.85 ^{ab}	25.62 ± 3.61 ^{ab}
<i>F</i>	29.708	110.698	17.426	106.738	86.436	231.937
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a与治疗前比较, $P < 0.05$,^b为与治疗3个月比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

美国MDS年发病率约为4.0/100000万,并且发病率随着年龄的增长而大幅上升,尽管研发了很多新药及新技术并增加了同种异体造血干细胞移植的使用,但总体5年生生存率仍然相对较低,约为31%^[7]。寻找有效的实验室检测指标为监测患者治疗期间的变化提供有效的帮助具有重要的临床治疗意义。本研究对MDS-RS患者及治疗后体内Caspase-1及IL-1β的表达水平进行分析,并探讨Caspase-1/IL-1β轴对MDS-RS的影响,从而为MDS-RS的临床诊断及治疗提供相关参考。

在癌症生物学中,促肿瘤炎症和炎症微环境在疾病发病机制中起着至关重要的作用。MDS的发病是一个多步骤的过程,主要包括染色体畸变、癌基因或抑癌基因的活化或抑制、骨髓造血干细胞异常克隆、表观遗传学改变及细胞免疫紊乱等^[8,9]。恶性克隆和骨髓微环境中的异常先天免疫激活和促炎信号是MDS的关键致病驱动因素^[10]。细胞焦亡是通过炎性体形成,由核苷酸结合域和富含亮氨酸的重复模式识别受体(NLR)组成的胞质多蛋白复合物来执行的。细胞焦亡的分子机制主要包括由Caspase-1介导的经典途径和由Caspase-4、Caspase-5、Caspase-11引发的非经典途径。Caspase-1

激活多个细胞过程,包括核凝聚,炎性细胞因子IL-1β、IL-18的前体转化为其活性形式,以及孔隙形成导致阳离子流入导致细胞肿胀和渗透裂解,损害MDS中HSPC的存活^[11]。IL-1β能募集、激活其他免疫细胞,增加多种细胞因子和黏附因子的合成、表达与释放,进一步形成不同炎症因子之间互相交错激活的炎症反应^[12]。通过对血液肿瘤中细胞焦亡机制的深入探究,这或将成为血液肿瘤的临床诊断、靶向治疗、预后评估的新方向^[13]。最近的研究表明,造血干细胞/祖细胞中NLRP3炎症小体的激活是MDS中的关键信号,随后通过Caspase-1成熟导致克隆扩增和细胞焦亡^[14]。

本研究结果显示,MDS-RS组患者IL-2、TNF-α、IFN-γ、IL-10、IL-6、Caspase-1、IL-1β水平高于对照组,IL-4水平低于对照组,提示血清细胞因子、Caspase-1、IL-1β水平与MDS-RS有紧密的联系,免疫细胞因子的数量及功能紊乱都会影响MDS-RS的发展过程,且该过程有可能通过细胞焦亡途径实现。研究发现^[15],TNF和IL-6基因多态性可能在MDS血细胞减少症的严重程度方面发挥关键作用,并且可能有助于制订细胞因子靶向疗法。IL-1β(rs16944)的GG基因型增加MDS的发生风险,IL-1β(rs16944)GG基因型可能作为MDS的新生物标志物和潜在靶标^[16]。

本研究结果显示, MDS-RS组患者治疗前后细胞因子、Caspase-1、IL-1 β 水平差异有统计学意义($P < 0.05$), 随着患者细胞因子、Caspase-1、IL-1 β 水平的改善, MDS-RS患者的临床症状明显缓解、血液学指标好转, 提示IL-1 β /Caspase-1介导的细胞焦亡机制在MDS-RS发生、发展中发挥重要作用。通过减少IL-1 β 、Caspase-1表达可有明显的血液学缓解, 干预IL-1 β 、Caspase-1有可能成为MDS-RS治疗的新途径。研究显示, Caspase-1表达与MDS患者中性粒细胞和单核细胞计数直接相关, 而血细胞计数通常与疾病状态相关, Caspase-1和PD-L1共表达模式对于诊断和评估低危和高危MDS预后方面具有重要的临床意义, 这将允许个性化靶向免疫疗法。

综上所述, IL-1 β /Caspase-1介导的细胞焦亡在MDS-RS的发生、发展中有重要作用, 并在MDS-RS的治疗中发挥一定作用。但本研究还存在以下不足, 研究样本量小, 未行不同危险分层MDS患者细胞因子、IL-1 β 和Caspase-1水平对比研究。后续研究将分析不同危险分层MDS-RS细胞因子、IL-1 β 和Caspase-1水平。

参考文献

- [1] Steensma DP. Myelodysplastic syndromes current treatment algorithm 2018[J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(5):47
- [2] 许鸣, 陆嘉惠. 骨髓增生异常综合征发病机制研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(6): 1800-1807
- [3] 席兴宇, 王红亮. Caspase-1介导的细胞焦亡生物学通报[J]. *中国基层医药*, 2017, 52(6): 4-5
- [4] 谢天裕, 刘云, 廖世杰, 等. 细胞焦亡与恶性肿瘤治疗的研究进展[J]. *南昌大学学报: 医学版*, 2020, 60(6): 94-98
- [5] Basiorka AA, McGraw KL, Eksioglu EA, et al. The NLRP3 inflammasome functions as a driver of the myelodysplastic syndrome phenotype[J]. *Blood*, 2016, 128(25): 2960-2975
- [6] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(2): 89-97
- [7] Zeidan AM, Shallis RM, Wang R, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: why characterizing the beast is a prerequisite to taming it[J]. *Blood Rev*, 2019, 34: 1-15
- [8] Ganguly BB, Kadam NN. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): an update[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2016, 769: 47-62
- [9] Hellström LE, Tobiasson M, Greenberg P. Myelodysplastic syndromes: moving towards personalized management[J]. *Haematologica*, 2020, 105(7): 1765-1779
- [10] Sallman DA, List A. The central role of inflammatory signaling in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes[J]. *Blood*, 2019, 133(10): 1039-1048
- [11] Graf JR, Forster S, Bruehl FK, et al. Diagnostic and prognostic implications of caspase-1 and PD-L1 co-expression patterns in myelodysplastic syndromes[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(22): 5712
- [12] Kim RY, Pinkerton JW, Essilfie AT, et al. Role for NLRP3 inflammasome-mediated, IL-1 β -dependent responses in severe, steroid-resistant asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196(3): 283-297
- [13] 郑虹, 赵明一, 杨明华. 焦亡的分子机制及其在血液肿瘤中的研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2021, 14(2): 121-126
- [14] Sallman DA, Cluzeau T, Basiorka AA, et al. Unraveling the pathogenesis of MDS: the NLRP3 inflammasome and pyroptosis drive the MDS phenotype[J]. *Front Oncol*, 2016, 6: 151
- [15] Bestach Y, Nagore VP, Flores MG, et al. Influence of TNF and IL6 gene polymorphisms on the severity of cytopenias in argentine patients with myelodysplastic syndromes[J]. *Ann Hematol*, 2011, 96(8): 1287-1295
- [16] Yin C, He N, Li P, et al. Polymorphisms of interleukin-1 β rs16944 confer susceptibility to myelodysplastic syndromes[J]. *Life Sci*, 2016, 165: 109-112

(上接第521页)

- [15] Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke[J]. *BMJ*, 1997, 315(7114): 980-988
- [16] Jo F, John R, Stephanie SW, et al. Alcohol consumption and risk of lung cancer: a pooled analysis of cohort studies[J]. *Am J Clin Nutr*, 2005, 82(3): 657-667
- [17] Wang Y, Li F, Wang Z, et al. Fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies[J]. *Lung Cancer*, 2015, 88(2): 124-130
- [18] Tarrazo AM, Ruano RA, Abal AJ, et al. Fruit and vegetable consumption and lung cancer risk: a case-control study in Galicia, Spain[J]. *Nutr Cancer*, 2019, 66(6): 1030-1037