

AML-M6 患者外周血 TCRV 亚家族 T 细胞 限制性增殖情况

陈少华¹, 李扬秋¹, 杨力建¹, 周羽^{1,2}, 黄梅娟¹

关键词:急性髓性白血病;T 细胞受体 V 基因;T 细胞克隆性

中图分类号:R733.74;R371.22

文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2004)10-0646-01

0 引言

多数肿瘤和白血病患者存在细胞免疫缺陷情况,通过 T 细胞受体基因分析各家族基因的表达情况,可以进一步明确患者外周血中所缺失的 T 细胞亚家族的情况,而通过 T 细胞克隆性分析,可以了解患者体内是否存在白血病抗原相关的克隆性增殖 T 细胞,从而为白血病特异性免疫治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本 收集经细胞形态学和组织化学按 FAB 诊断标准确诊的急性髓性白血病 M6 型(AML-M6)病人 3 例(编号 C1-C3),10 例正常人作为对照。外周血单个核细胞的分离, RNA 提取和 cDNA 合成均按常规方法进行。

1.2 RT-PCR 和 T 细胞克隆性分析 按我们以往研究报道的方法进行操作^[1]。首先利用 24 个 V 引物和一 C 引物分别进行 24 个 PCR 反应,了解样本中各 TCR V 亚家族的表达情况,然后利用 5'端荧光素标记的 C-fam 引物标记 PCR 产物,并进一步经 6% 聚丙烯酰胺凝胶中电泳,经 377ADNA 序列仪(ABI,PerkinElmer)的基因扫描 672 分析软件分析产物的长度和荧光素强度,从而了解所扩增 PCR 产物的特点,而确定所属 V 亚家族 T 细胞的克隆性^[1]。

2 结果

RT-PCR 扩增结果:仅在 11 个 V 亚家族中可以检测到阳性结果,3 例 M6 病人外周血分别存在 3、6 和 8 个 V 亚家族 T 细胞(表 1),缺失了大部分亚家族 T 细胞,正常人则表达全部 TCRV 亚家族。基因扫描分析结果显示:3 例 M6 病人分别在 V 1、V 16 和 V 21 出现克隆性增殖(寡克隆) T 细胞(表 1),正常人全部 PCR 产物为多克隆性。

3 讨论

利用 TCRV 亚家族基因和基因扫描方法分析

表 1 AML-M6 患者外周血 T 细胞的
TCRV 亚家族分布和克隆性增殖情况

亚家族	C1	C2	C3
V 1	poly	oligo	
V 2	poly	poly	poly
V 3	poly		poly
V 5		poly	
V 8	poly		
V 13	poly		
V 14	poly		
V 16	oligo		
V 19		poly	
V 21	poly	poly	oligo
V 23		poly	

注: poly: 多克隆, oligo: 寡克隆

T 细胞的亚家族分布和克隆性情况已应用于多种免疫性疾病、实体瘤和部分白血病患者的免疫缺陷和造血干细胞移植后免疫重建的研究中。我们的前期研究也分析了多种类型白血病患者外周血 T 细胞的 TCRV 谱系特点,但有关 AML-M6 的研究尚未见总结报道。由于 AML-M6 发病率较其他 AML 亚型低,本研究就仅收集到的 3 例患者做初步的分析,结果发现与其他类型白血病情况相似,患者同样存在多数 V 亚家族限制性利用的情况,该结果与病人存在某些特异性抗原(如白血病细胞相关抗原等)有关,另一方面,由于其它亚家族 T 细胞的减少,与病人所表现的部分细胞免疫功能缺陷有关(不同的 TCRV 亚家族 T 细胞执行不同的功能)。T 细胞的克隆性分析显示 3 例病人均出现 1 个寡克隆增殖 T 细胞,这是机体在某种特异性抗原刺激而产生的特异性反应,可能是机体对 M6 白血病细胞相关抗原的一种直接反应,该推测也曾被一有关 B-CLL 的 TCRV 克隆性 T 细胞增殖的体外扩增和细胞毒性分析的研究所证实。本初步研究结果对进一步研究 ANLL 病人细胞免疫功能和抗白血病 T 细胞克隆有一定的意义。

参考文献:

- [1] 李扬秋, 杨力建, 陈少华, 等. AML-M5 细胞诱导 TCRV (T 细胞克隆性增殖研究)[J]. 肿瘤防治研究. 2003, 30 (5): 349-353.

[编辑校对:刘红武]

收稿日期:2002-02-17; 修回日期:2004-03-17

基金资助:国家自然科学基金资助项目(39870358)、广东省自然科学基金资助项目(980705)和广州市科技攻关计划资助项目(98-z-039-01)

作者单位:1.510632 广州,暨南大学医学院血液病研究所,2.生化教研室