

地塞米松提高 TRAIL 基因修饰脐带间充质干细胞对急性 T 淋巴细胞白血病细胞杀伤作用及机制研究

李欣^{1,2}, 王立华³, 米一^{1,2}, 苗丽^{1,2}, 徐立强^{1,2}, 张晨亮^{1,2}, 刘拥军^{1,2}, 刘广洋^{1,2*}

1. 北京贝来生物科技有限公司, 北京 100176

2. 北京市亦创生物技术产业研究院 干细胞与再生医学研究所, 北京 100176

3. 河北医科大学第二医院 血液科, 河北 石家庄 053600

摘要: 目的 构建肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TRAIL) 基因修饰的脐带间充质干细胞 (TRAIL-MSCs), 并检测其联合地塞米松 (DEX) 对急性 T 淋巴细胞白血病细胞系 (Jurkat) 的影响。方法 通过慢病毒载体将 SPD-TRAIL 基因转染脐带间充质干细胞 (UC-MSCs) 构建 TRAIL-MSCs, 使其能够表达十二聚体 TRAIL 蛋白 (dTRAIL)。通过 CCK-8 法、流式细胞术检测 UC-MSCs、TRAIL-MSCs、DEX (200 $\mu\text{mol/L}$)、DEX (200 $\mu\text{mol/L}$) + UC-MSCs 和 DEX (200 $\mu\text{mol/L}$) + TRAIL-MSCs 对 Jurkat 细胞增殖、凋亡的影响; 显微镜光镜下观察细胞形态及密度; 通过实时荧光定量 PCR 及 Western blotting 法检测各组 Jurkat 细胞表面死亡受体 DR4、DR5 mRNA 和蛋白表达水平。结果 CCK-8 结果显示, 各处理组均可以抑制 Jurkat 细胞的增殖, 与对照组比较有显著性差异 ($P < 0.01$); 同时, DEX 可以提高 TRAIL-MSCs (抑制率约 20%) 对 Jurkat 细胞的增殖抑制作用, 抑制率提高至 60%, 与 TRAIL-MSCs 组比较差异显著 ($P < 0.01$)。显微镜观察结果发现, DEX 与 TRAIL-MSCs 联合组对肿瘤细胞 Jurkat 的杀伤作用最明显; 流式细胞术结果显示, TRAIL-MSCs 对 Jurkat 细胞有促进凋亡的作用, 凋亡率达 10%, 单独使用 DEX 后, 凋亡率约 20%, 与对照组比较差异显著 ($P < 0.01$); DEX 联合 TRAIL-MSCs 作用于 Jurkat 细胞 48 h 后, 细胞凋亡率为 38%, 较 TRAIL-MSCs 组显著提高 ($P < 0.01$)。TRAIL-MSCs 组 DR4、DR5 的 mRNA、蛋白水平较对照组显著降低 ($P < 0.01$), DEX 组 DR4、DR5 的 mRNA、蛋白水平较对照组显著升高 ($P < 0.01$), DEX 与 TRAIL-MSCs 联合作用后, DR4、DR5 的 mRNA、蛋白水平较 DEX 组显著降低 ($P < 0.01$)。结论 DEX 可以提高肿瘤细胞 Jurkat 对 TRAIL-MSCs 的敏感性, 增强 TRAIL-MSCs 对肿瘤细胞的杀伤作用, 可能与提高 DR4、DR5 表达有关。

关键词: 脐带间充质干细胞; 急性 T 淋巴白血病; 地塞米松; 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体受体 4/5; 联合治疗

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2021) 10-2074-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.10.004

Killing effect of TRAIL gene-modified umbilical cord mesenchymal stem cells enhanced by dexamethasone and its mechanism on acute T lymphoblastic leukemia

LI Xin^{1,2}, WANG Lihua³, MI Yi^{1,2}, MIAO Li^{1,2}, XU Liqiang^{1,2}, ZHANG Chenliang^{1,2}, LIU Yongjun^{1,2}, LIU Guangyang^{1,2}

1. Beijing Baylx Biotech Co., Ltd., Beijing 100176, China

2. Stem Cell Biology and Regenerative Medicine Institution, Yi-Chuang Institute of Bio-Industry, Beijing 100176, China

3. Department of Hematology, The Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 053600, China

Abstract: **Objective** Genetically modified mesenchymal stem cells (TRAIL-MSCs) expressing TRAIL were constructed and combined with dexamethasone (DEX) to detect the effect on acute T lymphoblastic leukemia cell line (Jurkat). **Methods** The proliferation inhibition, apoptosis, cell density and morphology of Jurkat cells induced by DEX (200 $\mu\text{mol/L}$) combined with TRAIL-MSCs were detected by CCK-8, flow cytometry and microscope observation. At the same time, qRT-PCR and Western blotting

收稿日期: 2021-08-01

基金项目: 北京市科技计划课题 (Z211100002521006)

第一作者: 李欣, 研究方向为干细胞基础与转化医学研究。E-mail: 397044807@qq.com

*通信作者: 刘广洋 E-mail: liugy04@163.com

techniques were used to detect the expression of DR4 and DR5 in Jurkat cells at nucleic acid level and protein level. **Results** The results of CCK-8 showed that TRAIL-MSCs could inhibit the proliferation of tumor cells, with an inhibition rate of about 20%, which was significantly different from that of the control group ($P < 0.01$). DEX could improve the inhibitory effect of TRAIL-MSCs on the proliferation of tumor cell Jurkat, and the inhibition rate was increased to 60%. Compared with TRAIL-MSCs group, the difference was significant ($P < 0.01$). The results of microscopic observation showed that the killing effect of DEX combined with TRAIL-MSCs on tumor cell Jurkat was the most obvious. The results of apoptosis detected by flow cytometry showed that TRAIL-MSCs could promote the apoptosis of tumor cell Jurkat, but after the combination of DEX and TRAIL-MSCs, the apoptosis rate increased from 10% to 38%, which was significantly different from that of the control group and DEX group ($P < 0.01$). The effects of different treatments on the nucleic acid level and protein level of DR4 and DR5 in Jurkat cells were detected by qPCR and WB respectively. The results showed that the expression of DR4 and DR5 in TRAIL-MSCs group was significantly lower than that in control group ($P < 0.01$). DEX can promote the expression of DR4 and DR5, which is significantly different from that of the control group ($P < 0.01$). After the treatment of DEX and TRAIL-MSCs, the expression of DR4 and DR5 was significantly lower than that of DEX group ($P < 0.01$). **Conclusion** DEX can enhance the sensitivity of tumor cell Jurkat to TRAIL-MSCs and enhance the killing effect of TRAIL-MSCs on tumor cells, which may be related to the increase of DR4 and DR5 expression in tumor cells by DEX.

Key words: umbilical cord mesenchymal stem cells; T acute lymphocytic leukemia; dexamethasone; DR4/5; combination therapy

急性淋巴细胞白血病(ALL)是一种异质性血液病,其特征是骨髓、外周血和其他器官中未成熟的淋巴样细胞增殖^[1],75%~80%的患者是在儿童时期发展起来的^[2]。在临床试验中,抗白血病药物的最佳使用和改善的支持性护理提高了发达国家儿童的5年存活率,均在85%以上^[3]。然而,大多数(80%)的复发发生在确诊后的2年内,复发后的预后很差,5年生存率不到10%。急性T淋巴细胞白血病(T-ALL)是最具侵袭性的血液系统恶性肿瘤之一,是由T细胞前体细胞的恶化引起,占儿童和青少年所有白血病的10%~15%,成人病例的25%^[4]。目前,T-ALL在临床上多采用大剂量的化疗药物进行治疗,使儿童治愈率提高到75%以上,成人治愈率提高到50%^[5],但由于微小残留病(MRD)的存在,许多T-ALL患者经历了原发性化疗耐药和白血病复发,这些问题仍然是治疗T-ALL的主要挑战。

细胞凋亡是维持生物体中的细胞群和机体内环境平衡非常重要的环节,而这一过程的改变会导致细胞死亡和细胞增殖之间失衡,并导致各类疾病的产生,例如肿瘤^[6]。肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)属于肿瘤坏死因子(TNF)超家族,通过细胞外源性途径诱导多种肿瘤细胞的凋亡,并且这种凋亡过程不依赖于p53^[7]。TRAIL是一种II型跨膜蛋白,与细胞表面受体结合而发挥作用,这些受体包括 TRAIL-R1 (DR4)、TRAIL-R2 (DR5)、TRAIL-R3 (DcR1)、TRAIL-R4 (DcR2)以及可溶性受体-骨保护素(OPG),DR4和DR5含有死亡结构域(DD),可以传递死亡信号,因此被称为死亡受体,

而DcR1、DcR2不能诱导细胞凋亡,被称为诱骗受体^[8-9]。当TRAIL与细胞膜上死亡受体结合后,通过DD招募死亡域蛋白(FADD),激活为caspase-8、caspase-3,最终导致细胞的凋亡。由于TRAIL对正常细胞的毒性较低,开发具有TRAIL活性的药物引起很多研究人员的关注^[10]。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类促进组织修复和功能恢复的细胞,已被证明可以分化为血液中几乎所有的细胞类型^[11]。除了其分化能力外,MSCs还介导免疫调节作用,抑制T细胞、B细胞、树突状细胞(DC)和自然杀伤细胞(NK)等免疫细胞群的效应功能。特别是MSCs可以诱导细胞分裂阻滞而不是凋亡来抑制T细胞的增殖^[12],同样,在B细胞^[13]和DC细胞^[14]上也观察到了类似的结果。

糖皮质激素(glucocorticoids, GCs)具有抗炎、抗毒素、抑制免疫和抗休克等作用,可以诱导G₁期阻滞和淋巴样细胞凋亡,在ALL患者的传统治疗方案中,GCs是首选药物,如VP(长春新碱+泼尼松)、VDP(VP+柔红霉素)、VDLP(VDP+左旋天门冬酰胺酶)^[15]。GCs与胞浆糖皮质激素受体(GRs)的直接结合可以诱导后者从其蛋白复合体中释放出来,随后发生二聚化,进而诱导细胞凋亡和周期停滞的基因表达^[16]。

本研究将地塞米松(DEX)与TRAIL基因修饰的MSCs(TRAIL-MSCs)联合使用,研究其对T-ALL系细胞Jurkat的增殖、凋亡作用及对DR4、DR5表达的影响,为开发针对复发性难治的T-ALL的新治疗方法提供参考。

1 材料

1.1 细胞

Jurkat 细胞购自中国医学科学院基础医学研究所。

1.2 主要试剂

DEX 购于美国默克公司(货号 D4902-25 mg, 批号 WXBC9325V, 质量分数 $\geq 97\%$); RPMI 1640 培养液、DMEM/F-12 培养液、胎牛血清等购于美国 Thermo Fisher 公司; 第四代慢病毒载体系统购自美国 AddGene 公司; RNA 提取、逆转录试剂盒及 SYBR Green qPCR 试剂盒购于美国 Thermo Fisher 公司; 引物 DR4、DR5、 β -actin 由苏州金唯智生物科技有限公司合成; CCK-8 试剂盒及 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购于东仁化学科技有限公司; RIPA、PMSF 购于 CST 公司; loading buffer 购于中科瑞泰生物有限公司; Marker 购于 Bio-Rad 公司; DR4、DR5、GAPDH、Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP) 购于 Abcam 公司。

1.3 主要仪器

SW-CJ-ZFD 超净工作台, 苏州安泰集团; ST16R 台式冷冻离心机, 赛默飞世尔科技公司; SPX-70BIII 生化培养箱, 泰斯特仪器有限公司; 311 细胞培养箱, 赛默飞世尔科技公司; CX41 倒置显微镜, 奥林巴斯株式会社; 51119300 酶标仪, 赛默飞世尔科技公司; Calibur 双激光四色流式细胞仪, 美国 BD 公司; IC1000 自动细胞计数仪, 上海思默生物科技有限公司; 7500FAST 荧光定量 PCR 仪, 美国应用生物系统公司; CL1500 成像系统, 赛默飞世尔科技公司; FACSCalibur 流式细胞仪购于美国 BD 公司。

2 方法

2.1 TRAIL-MSCs 的制备与检测

复苏冻存的人脐带间充质干细胞(UC-MSCs)种子库细胞, 通过慢病毒转染的方法制备可以稳定表达 TRAIL 的 TRAIL-MSCs, 具体操作方法参照文献方法^[17]。

2.2 DEX 对 Jurkat 细胞增殖的抑制作用

将 Jurkat 细胞以 1×10^4 /孔接种于 96 孔板中, 置于 37°C 、 5% CO_2 培养箱中培养, 分为对照组(不加药)和 DEX(25、50、100、200、400 $\mu\text{mol/L}$)组, 每组设置 6 个复孔。培养 24 h 后, 采用 CCK8 的方法检测 DEX 对 Jurkat 细胞的增殖抑制情况, 检测细胞 450 nm 处吸光度(A)值, 计算细胞增殖抑制率。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{DEX}}/A_{\text{对照}}$$

2.3 DEX 联合 TRAIL-MSCs 对 Jurkat 细胞的增殖抑制作用

将 Jurkat 细胞分为对照组、UC-MSCs 组、TRAIL-MSCs 组、DEX 组、DEX+UC-MSCs 组和 DEX+TRAIL-MSCs 组, 每组 6 个复孔。Jurkat 细胞按照 6.25×10^4 /孔接种于 24 孔 Transwell 板下室中, 6 h 后对照组、UC-MSCs 组和 TRAIL-MSCs 组换正常培养基, DEX 组、DEX+UC-MSCs 组和 DEX+TRAIL-MSCs 组换含有浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 的 DEX 的培养基, 继续培养 24 h。将 3.13×10^4 /孔的 UC-MSCs 分别接种于 UC-MSCs、DEX+UC-MSCs 组的 Transwell 上室中, 将 3.13×10^4 /孔的 TRAIL-MSCs 接种于 TRAIL-MSCs、DEX+TRAIL-MSCs 组的 Transwell 上室中, 与 Jurkat 细胞共培养 48 h, 共培养结束后弃上室, 取下室 Jurkat 细胞接种于 96 孔板, CCK-8 法检测细胞 450 nm 处 A 值, 计算各组细胞增殖抑制率。

2.4 DEX 联合 TRAIL-MSCs 对 Jurkat 细胞凋亡的影响

将 Jurkat 细胞按照 3×10^5 /孔接种于 6 孔 Transwell 板下室中, 操作步骤和分组同“2.3”项, 每组设置 3 个复孔。DEX 药物作用 24 h 后, 1.5×10^5 /孔的 UC-MSCs、TRAIL-MSCs 分别接种于 UC-MSCs/DEX+UC-MSCs 组及 TRAIL-MSCs/DEX+TRAIL-MSCs 组的 Transwell 上室中, 与肿瘤细胞共培养 48 h 后, 弃上室, 取下室 Jurkat 细胞, 流式法检测细胞凋亡情况。

2.5 DEX 联合 TRAIL-MSCs 对 Jurkat 细胞中 DR4、DR5 表达的影响

细胞接种及分组给药同“2.3”项, 每组设置 3 个复孔。共培养 24 h 后, 弃上室, 取下室 Jurkat 细胞, 分别用实时荧光定量 RCR(qRT-PCR)法及 Western blotting 法检测 DR4、DR5 在 mRNA 及蛋白水平的变化。

2.5.1 qRT-PCR 法 Trizol 法提取 Jurkat 细胞的总 RNA, 反转录制备 cDNA, 根据试剂盒使用说明进行加样操作, 引物序列见表 1, 每个样品设置 3 个重复, qRT-PCR 反应过程如下: 95°C 、20 s, 1 个循环; 95°C 、3 s, 60°C 、3 s(荧光吸收), 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法对数据进行分析。

2.5.2 Western blotting 法 RIPA 与 PMSF 混合液 0°C 裂解细胞 20 min, 提取总蛋白, BCA 蛋白测定试剂盒检测每个样品蛋白质浓度, 样品调整至统一浓度后, 加入 $5 \times$ 上样缓冲液, 100°C 变性 5 min。样

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
DR4	GCCCTGGAGTGACATCGAGT	GCCACCAACAGCAACGGA
DR5	ACTTGGTGCCCTTTGACTCCT	TGACCCACTTTATCAGCATCGT
β -actin	CCTGGCACCCAGCACAAT	GGGCCGACTCGTCATAC

品(30 μ g)通过10% SDS-PAGE分离并转移至PVDF膜上,TBST配制5%脱脂奶粉封闭1 h,一抗孵育过夜。TBST洗涤3遍后,室温孵育二抗1 h,TBST洗涤3遍,ECL发光检测试剂观察条带。Image J软件对图像进行定量分析。

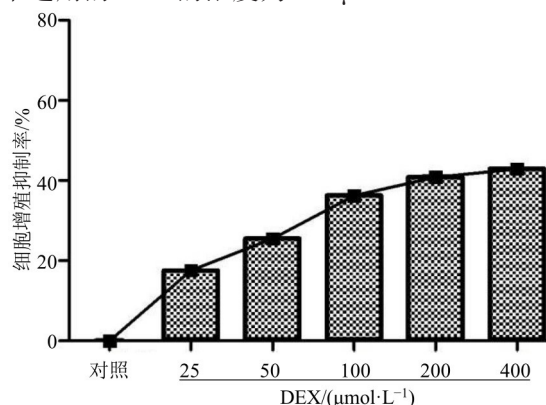
2.6 统计方法

采用SPSS19.0统计学软件,计量资料使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用单因素方差分析及 t 检验。

3 结果

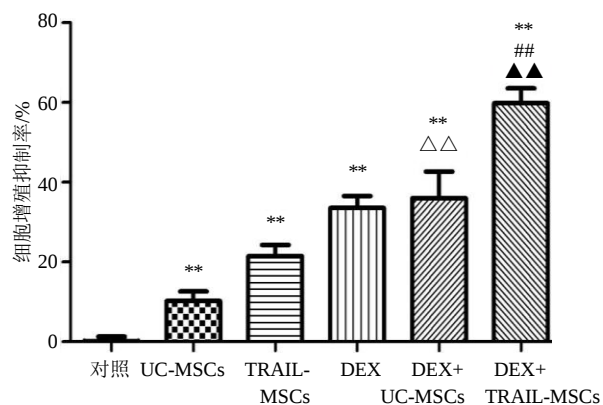
3.1 DEX对Jurkat细胞的增殖抑制作用

如图1所示,DEX处理Jurkat细胞24 h后,对Jurkat的增殖有抑制作用,且呈浓度相关性。DEX浓度增加至400 μ mol/L后,与200 μ mol/L的增殖抑制率没有显著差异,均在45%左右,因此在后续实验中选用的DEX的浓度为200 μ mol/L。

图1 DEX对肿瘤细胞Jurkat的增殖抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 1 Inhibitory effect of DEX on proliferation of Jurkat cells($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2 DEX联合TRAIL-MSCs对Jurkat细胞的增殖抑制作用

Jurkat细胞经DEX处理24 h并与UC-MSCs及TRAIL-MSCs共培养48 h后,CCK-8法检测不同处理方式对Jurkat细胞的增殖抑制作用,结果如图2所示,各处理组均可以抑制Jurkat细胞的增殖,与对照组比较有显著性差异($P < 0.01$);同时,DEX可以提高TRAIL-MSCs(抑制率约20%)对Jurkat细胞的增殖抑制作用,抑制率提高至60%,与TRAIL-MSCs组比较差异显著($P < 0.01$)。



与对照组比较:** $P < 0.01$;与DEX组比较:## $P < 0.01$;与UC-MSCs组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$;与TRAIL-MSCs组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs DEX group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs UC-MSCs group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs TRAIL-MSCs group

图2 DEX联合TRAIL-MSCs对Jurkat细胞的增殖抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 2 Inhibitory effect of DEX combined with TRAIL-MSCs on Jurkat cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.3 DEX联合TRAIL-MSCs对Jurkat细胞的凋亡诱导作用

不同处理组处理Jurkat细胞后,分别通过显微镜不同倍数(40和100倍)观察细胞形态及细胞密度,结果如图3所示,各组对Jurkat细胞均有一定的杀伤作用,其中以DEX与TRAIL-MSCs联合用药组的杀伤作用最为明显。

不同方式处理Jurkat细胞48 h后,分别用荧光染料Annexin-V和PI对Jurkat细胞进行染色,流式细胞仪检测不同处理组细胞凋亡情况,结果如图4所示,TRAIL-MSCs对Jurkat细胞有促进凋亡的作用,凋亡率达10%,单独使用DEX后,凋亡率约20%,与对照组比较差异显著($P < 0.01$);DEX联合TRAIL-MSCs作用于Jurkat细胞48 h后,细胞凋亡率为38%,较TRAIL-MSCs组显著提高($P < 0.01$)。

3.4 DEX联合TRAIL-MSCs对Jurkat细胞中DR4、DR5表达的影响

结果如图5、6所示,在mRNA水平,与对照组比较,TRAIL-MSCs组Jurkat细胞DR5的表达显著降低($P < 0.01$);单独使用DEX后,DR4、DR5表达量均显著升高($P < 0.01$)。而DEX与TRAIL-MSCs联

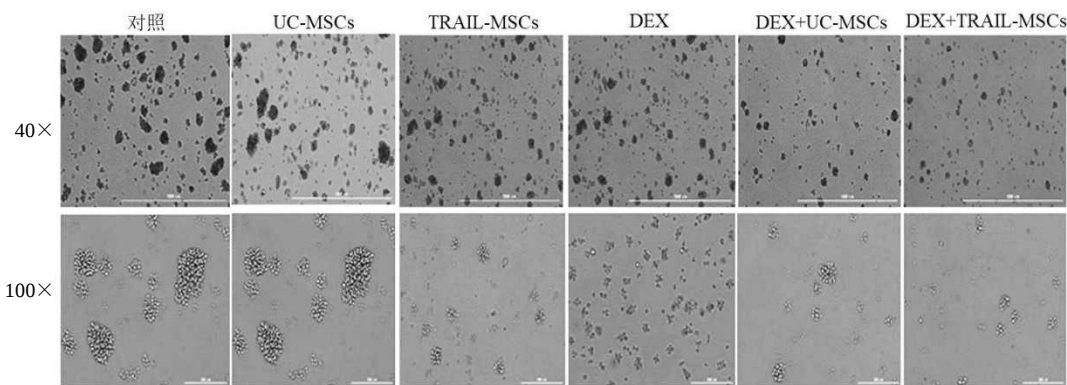
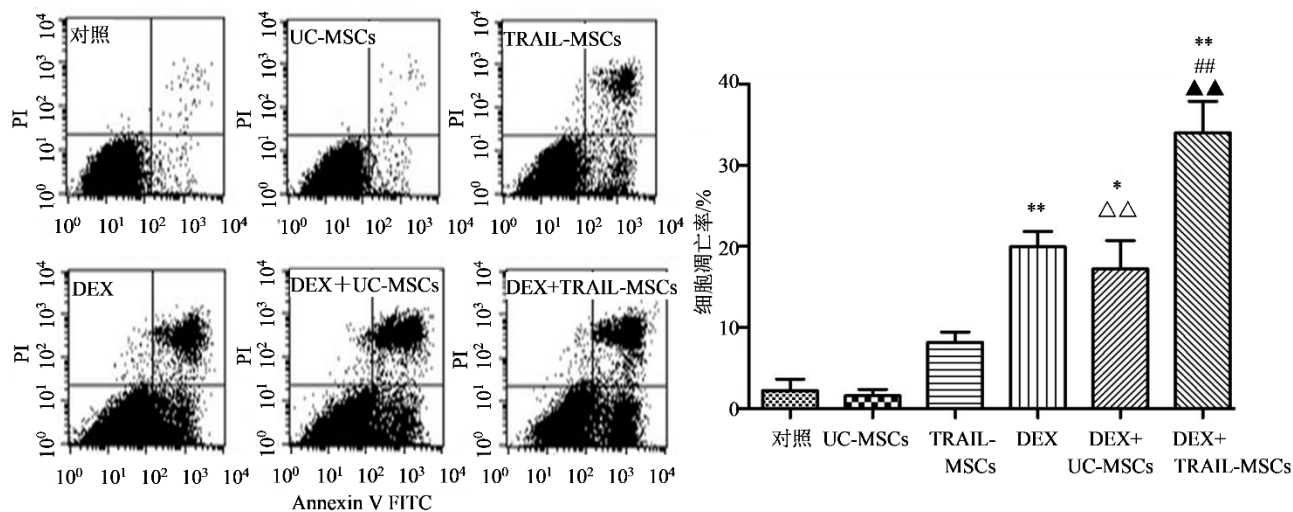


图3 Jurkat经TRAIL-MSCs联合DEX作用的细胞状态

Fig. 3 Cells status of Jurkat by TRAIL-MSCs and DEX treatment



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与DEX组比较: # $P < 0.01$; 与UC-MSCs组比较: $\Delta P < 0.01$; 与TRAIL-MSCs组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$
 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.01$ vs DEX group; $\Delta P < 0.01$ vs UC-MSCs group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs TRAIL-MSCs group

图4 DEX联合TRAIL-MSCs对肿瘤细胞Jurkat的凋亡作用($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Fig. 4 Apoptotic effect of DEX combined with TRAIL-MSCs on Jurkat tumor cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

合作用后,DR4、DR5在mRNA水平表达显著下调,与DEX组比较差异显著($P < 0.01$)。

在蛋白水平,与对照组比较,DEX组DR4、DR5的表达显著升高($P < 0.01$),TRAIL-MSCs组DR4表达显著降低;DEX与TRAIL-MSCs联合作用于Jurkat相较于单独使用DEX,DR4、DR5的表达均显著降低($P < 0.01$),DR4的表达与单独使用TRAIL-MSCs相比显著降低($P < 0.01$)。

4 讨论

T-ALL是一种恶性程度高、预后差的血液系统肿瘤,在我国发病率较高,属于我国十大高发恶性肿瘤之一,目前临床治疗仍然以化疗联合用药为主^[18]。而DEX等糖皮质激素是治疗T-ALL的首选药物,但DEX在体内有较长的半衰期,常与长春新碱等联合使用,为T-ALL化疗的基础方案。尽管这类药物可以缓解80%患者的病情,但是由于大剂量的使用,引起严重的不良反应及抗药性,显著降低了治疗效果。

TRAIL也称Apo-2L,是TNF家族成员之一,TRAIL不仅可以诱导多种肿瘤细胞凋亡,而且不会对正常细胞产生毒副作用,通过与DR4、DR5的结合,通过一系列反应,刺激caspase 3、6、7来触发外源性凋亡级联反应,进而诱导细胞凋亡。尽管TRAIL诱导的细胞凋亡对治疗肿瘤非常有效,但与化疗药物相似,会使患者在治疗期间对TRAIL产生抗性,因此,TRAIL与化疗药物的联合使用可以解除耐受和提高治疗效果,化疗药物的使用可以提高肿瘤细胞对TRAIL的敏感性。有研究发现,化疗药物多柔比星(DOX)和紫杉醇(PTX)与TRAIL蛋白联合使用,在治疗肿瘤过程中有协同作用,通过放化疗手段,可以明显地提高肿瘤细胞表面死亡受体DR4、DR5的表达水平^[19]。肿瘤细胞对TRAIL的敏感性决定因素是细胞表面死亡受体是否可以达到一定的表达水平^[20],TRAIL与低剂量化疗药物联合使用能够提高肿瘤细胞表面死亡受体的表达水平,

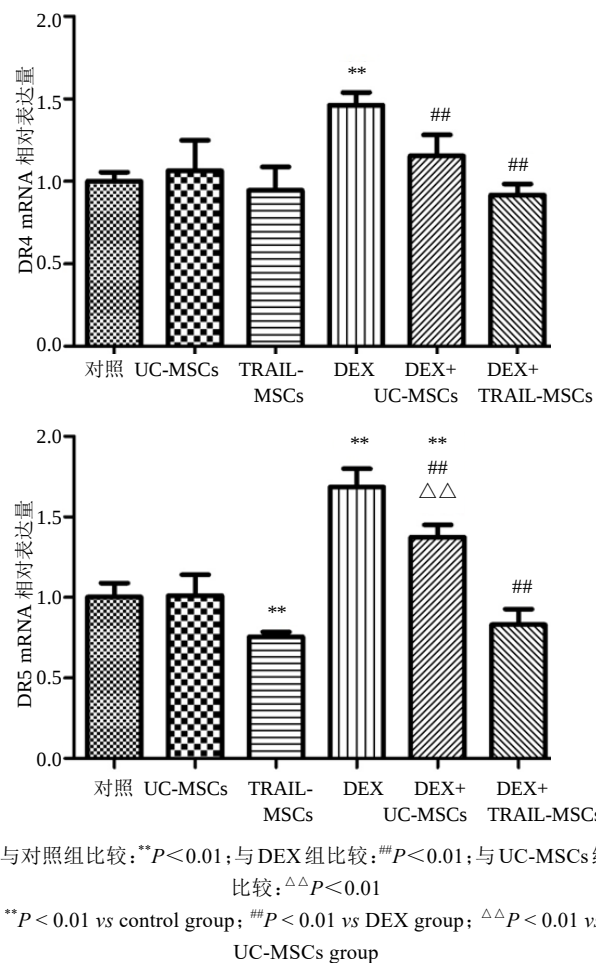


图5 不同处理组 Jurkat 细胞 TRAIL 受体 DR4、DR5 mRNA 水平相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 5 Relative expression of TRAIL receptor DR4 and DR5 in Jurkat cells at mRNA level in different treatment groups ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

通过调节提高肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性,并在不增加毒性作用的前提下增加治疗效果^[21-22]。Belaud 等^[23]指出,VP-16 与 CDDP 可以调整肿瘤细胞株的 DR5 水平,进而提高肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性,Merli^[24]通过对急性白血病患者进行检查,发现联合放化疗的 TRAIL 与单独使用放化疗或是 TRAIL 治疗比较,凋亡细胞明显增多。

本研究首先通过慢病毒转染体系获得可以稳定表达高浓度 TRAIL 的 TRAIL-MSCs,并与肿瘤细胞 Jurkat 共培养,检测肿瘤细胞增殖抑制及凋亡情况,结果发现,单独使用 TRAIL-MSCs 或 DEX 对肿瘤细胞的增殖抑制及促凋亡作用不能达到理想效果,因此,将 TRAIL-MSCs 与 DEX 联合作用,对 Jurkat 细胞的增殖抑制、促凋亡作用都有明显的提高,同时,DEX 可以提高 Jurkat 细胞 DR4、DR5 的表达,提高肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性,进而增强了 TRAIL-MSCs 对肿瘤细胞 Jurkat 的杀伤作用。而值

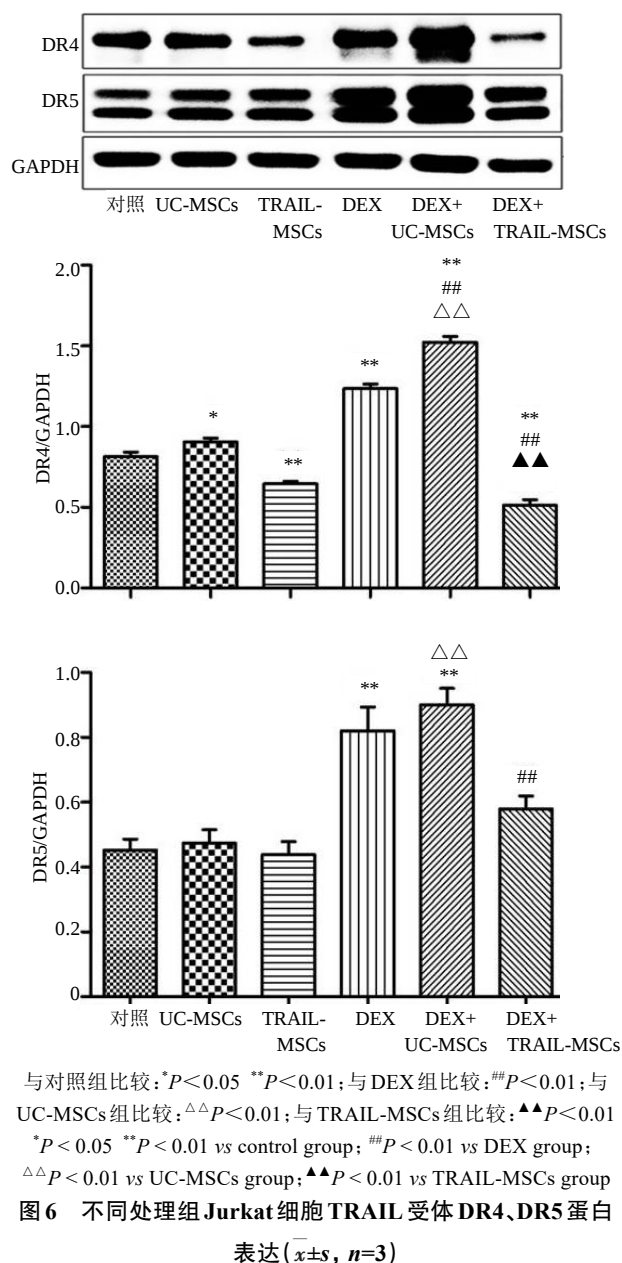


图6 不同处理组 Jurkat 细胞 TRAIL 受体 DR4、DR5 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

得注意的是,通过 DEX 与 TRAIL-MSC 联合作用于 Jurkat 相较于单独使用 DEX,DR4、DR5 的表达均显著降低,可能的原因是 DEX 与 TRAIL-MSC 联合作用更易杀伤对 TRAIL 更加敏感的肿瘤细胞(这些细胞高表达 DR4/5),而将 DR4/5 低表达的肿瘤细胞留存下来^[25]。

本研究充分说明了 DEX 与 TRAIL-MSCs 联合使用,可以提高肿瘤细胞对 TRAIL 的敏感性,进而提高对肿瘤细胞的杀伤作用,为 DEX 和 TRAIL-MSCs 联合治疗急性 T 淋巴白血病提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Jabbour E J, Faderl S, Kantarjian H M. Adult acute

- lymphoblastic leukemia [J]. Mayo Clin Proc, 2005, 80 (11): 1517-1527.
- [2] Esparza S D, Sakamoto K M. Topics in pediatric leukemia: acute lymphoblastic leukemia [J]. Med Gen Med, 2005, 7(1): 23.
- [3] Pui C H, Mullighan C G, Evans W E, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? [J]. Blood, 2012, 120(6): 1165-1174.
- [4] van Vlierberghe P, Ferrando A. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Invest, 2012, 122(10): 3398-3406.
- [5] Pui C H, Robison L L, Look A T. Acute lymphoblastic leukaemia [J]. Lancet, 2008, 371(9617): 1030-1043.
- [6] Fesik S W. Insights into programmed cell death through structural biology [J]. Cell, 2000, 103(2): 273-282.
- [7] Takeda K, Stagg J, Yagita H, et al. Targeting death-inducing receptors in cancer therapy [J]. Oncogene, 2007, 26(25): 3745-3757.
- [8] Cha S S, Sung B J, Kim Y A, et al., Crystal structure of TRAIL-DR5 complex identifies a critical role of the unique frame insertion in conferring recognition specificity [J]. J Biol Chem, 2000, 275(40): 31171-31177.
- [9] MacFarlane M. TRAIL receptor-selective mutants signal to apoptosis via TRAIL-R1 in primary lymphoid malignancies [J]. Cancer Res, 2005, 65(24): 11265-11270.
- [10] 刘广洋, 张晨亮, 李欣, 等. TRAIL 基因修饰间充质干细胞治疗恶性肿瘤的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(10): 2058-2064.
- Liu G Y, Zhang C L, Li X, et al. Treatment of TRAIL gene modified stem cells on malignant cells [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(10): 2058-2064.
- [11] Pittenger M F. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. Science, 1999, 284(5411): 143-147.
- [12] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells [J]. Eur J Immunol, 2006, 36(10): 2566-2573.
- [13] Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions [J]. Blood, 2006, 107(1): 367-372.
- [14] Ghosh T, Barik S, Bhuniya A, et al. Tumor-associated mesenchymal stem cells inhibit naive T cell expansion by blocking cysteine export from dendritic cells [J]. Int J Cancer, 2016, 139(9): 2068-2081.
- [15] Saffar A S, Ashdown H, Gounni A S. The molecular mechanisms of glucocorticoids-mediated neutrophil survival [J]. Curr Drug Targets, 2011, 12(4): 556-562.
- [16] Lv M, Wang Y, Wu W M, et al. CMyc inhibitor 10058F4 increases the efficacy of dexamethasone on acute lymphoblastic leukaemia cells [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1): 421-428.
- [17] 米一, 王立华, 李欣, 等. SPD-TRAIL 基因修饰间充质干细胞及其杀伤肺腺癌细胞的研究 [J]. 中国医药生物技术, 2020, 15(2): 157-162.
- Mi Y, Wang L H, Li X, et al. Study of engineered mesenchymal stem cells with SPD-TRAIL gene and their killing effect on the lung adenocarcinoma cells [J]. Chin Med Biotechnol, 2020, 15(2): 157-162.
- [18] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 10-29.
- [19] 周越菡, 赵关关, 杜敏, 等. 氯喹对地塞米松抑制急性淋巴细胞白血病细胞增殖的促进作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(6): 999-1003.
- Zhou Y H, Zhao G G, Du M, et al. Significant anti-proliferation of human acute lymphoblastic leukemia cells by combined treatment with chloroquine and dexamethasone [J]. Chin J Pathophysiol, 2014, 30(6): 999-1003.
- [20] Bogner C, Dechow T, Ringshausen I, et al. Immunotoxin BL22 induces apoptosis in mantle cell lymphoma (MCL) cells dependent on Bcl-2 expression [J]. Br J Haematol, 2010, 148(1): 99-109.
- [21] Masir N, Ventura R, Jones M, et al. Follicular lymphoma with trisomy 18 exhibiting loss of BCL-2 expression on transformation to a large cell lymphoma [J]. J Clin Pathol, 2007, 60(9): 1061-1064.
- [22] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008 [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2): 71-96.
- [23] Belaud-Rotureau M A, Marie P, Pierre D, et al. A comparative analysis of FISH, RT-PCR, PCR, and immunohistochemistry for the diagnosis of mantle cell lymphomas [J]. Mod Pathol, 2002, 15(5): 517-525.
- [24] Merli M, Arcaini L, Boveri E, et al. Assessment of bone marrow involvement in non-Hodgkin's lymphomas: Comparison between histology and flow cytometry [J]. Eur J Haematol, 2010, 85(5): 405-415.
- [25] 王立华, 李欣, 徐立强, 等. 地塞米松提高 TRAIL 基因修饰的脐带间充质干细胞对急性 B 淋巴细胞白血病细胞的杀伤作用及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2021, 44 (8): 1653-1659.
- Wang L H, Li X, Xu L Q, et al. Killing effect of TRAIL gene-modified umbilical cord mesenchymal stem cells enhanced by dexamethasone and its mechanism [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(8): 1653-1659.