

Chem, 2000, 46(8):1037-1038.

[8] Eriksson S, Halenius H, Pulkki K, et al. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies[J]. Clin Chem, 2005, 51(5):839-847.

[9] 李红. 电化学发光免疫法检出抗 HAV-IgM[J]. 世界最新医学信

息文摘, 2013, 13(13):234-235.

[10] 徐德顺, 卢亦愚, 严菊英, 等. 甲肝病毒 TaqMan PCR 检测方法的建立[J]. 中国预防医学杂志, 2007, 8(3):229-232.

(收稿日期:2015-10-28)

• 临床研究 •

慢性粒细胞白血病患者外周血 Bmi1 mRNA 的表达水平

葛 熙, 赵 桦, 周 峰, 胡忠圣

(南通大学第二附属医院检验科, 江苏南通 226001)

摘要:目的 采用实时荧光定量 PCR(Rt-PCR)检测 Bmi1 基因表达的方法, 了解慢性粒细胞白血病(CML)患者外周血 Bmi1 基因的表达水平。方法 采用 Rt-PCR 方法检测 CML 患者 41 例和 10 例健康人外周血中 Bmi1 基因的表达水平。结果 Rt-PCR 的结果显示, 基因 Bmi1 在健康人、CML 患者慢性期、加速期及急变期中的表达相对值分别为 0.544 ± 0.233 、 1.624 ± 0.632 、 3.021 ± 0.923 及 3.561 ± 1.005 。CML 患者中 Bmi1 的表达水平明显高于健康人($P < 0.05$), 加速期及急变期中 Bmi1 的表达水平明显高于慢性期, 急变期 Bmi1 的表达水平明显高于加速期, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 Bmi1 基因在 CML 外周血中有高水平的表达, 是监测 CML 患者病情进展及判断预后有价值的分子标记物。

关键词:白血病; Bmi1; 实时荧光定量聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.03.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)03-0382-02

慢性粒细胞白血病(CML)是血液系统恶性肿瘤之一, 起源于造血干细胞。临床上一般分为三期:慢性期、加速期和急变期。CML 是临床治疗过程中引起死亡的主要原因。关于 CML 急变的机制仍不明确。Bmi1 基因是干细胞自我更新的关键调控因子, 在血液肿瘤发病机制和治疗等方面具有较高的潜在价值, Bmi1 基因表达增高的病例更易转变为急性白血病^[1]。如何准确测定外周血 Bmi1 基因的表达水平以指导临床治疗, 是许多临床工作者关注的问题, 因此, 我们采用实时荧光定量 PCR(Rt-PCR)技术检测了 CML 患者外周血 Bmi1 基因的表达水平, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 1 月至 2014 年 12 月在南通大学第二附属医院就诊的门诊和住院部 CML 患者 41 例纳入研究组, 其中男 29 例, 女 12 例, 年龄 42~79 岁。所有患者均经临床、血象、骨髓象及组织化学染色检查, 符合 1981 年 FAB 协作组提出的分类诊断标准。其中急性变 9 例, 加速期 6 例, 慢性期 26 例。同期本院体检健康志愿者 10 例纳入对照组, 其中男 7 例, 女 3 例, 年龄 48~70 岁。

1.2 方法

1.2.1 RNA 的提取及 cDNA 合成 采集 2 mL 静脉血, 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝, 加于等量的人淋巴细胞分离液上, 以 2 000 r/min 离心 15 min, 分离单个核细胞, 用吸管吸取, 提取外周血总 RNA(提取总 RNA 试剂盒为美国 Invitrogen 公司提供), 测 A260、A280 吸光度值, 计算出 RNA 水平, 使用 Promega 逆转录试剂盒, 按说明将 RNA 逆转录为 cDNA, -20 °C 冻存储备用。

1.2.2 Bmi1 基因表达的检测 Rt-PCR 1 μL 稀释的模板, 2 μL 引物对(5 μM), 7 μL 无菌去离子水, 反应混合溶液共 10 μL。每种引物, 每种模板, 都做 3 个平行管反应。引物设计 Bmi1 引物对为 5'-ATT CTA CCA GTC CCG AGG TTT G-3', 5'-GGT TCA ACT GCT CAT CAT AGC G-3'; 内参基因 GAPDH 引物对为, 5'-CAT CCA TGA CAA CTT TGG TAT C-3', 5'-CCA TCA CGC CAC AGT TTC-3'。Rt-PCR 反应程

序:95 °C 10 min, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min。循环 40 次。取 3 个平行孔 Ct 比值的平均数, 计算同一个样品 Bmi1 的 Ct 值与 GAPDH 的 Ct 值比值, 作图时将正常对照的 Ct 比值平均数设为 1.0, 计算出所有样品的相对值后制图。仪器为 Applied Biosystems, ABI7500 型 Rt-PCR 仪。

1.3 统计学处理 采 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本间的比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组间比较用方差分析, 组间两两比较用 *q* 检验(LSD 法), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

41 例 CML 患者 Bmi1 基因的表达水平显示, Bmi1 基因表达水平在急变期时高于加速期, 慢性期时表达水平最低, 3 组间的表达水平比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 41 例 CML 患者 Bmi1 基因的表达水平

组别	Bmi1 mRNA Ct 比值
对照组	0.544 ± 0.233
研究组	
慢性期	$1.624 \pm 0.632^*$
加速期	$3.021 \pm 0.923^{* \#}$
急变期	$3.561 \pm 1.005^{* \# \Delta}$

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与研究组慢性期比较; Δ: $P < 0.05$, 与研究组加速期比较。

3 讨 论

1991 年荷兰癌症中心的学者们在对小鼠淋巴瘤进行研究时, 发现了癌基因——Bmi1 基因, 开始被认为是癌基因 C-myc 的协同基因, 把它归属于多梳基因 PcG 家族; 进一步研究发现人类的 Bmi1 基因定位于 10 号染色体的短臂 1 区 3 带(10p13), 该区域与恶性淋巴瘤和儿童白血病的染色体移位有关, 研究还发现 Bmi1 基因与干细胞成长调控, 细胞分化及恶性病变密切相关^[2-7]。此外, Bmi1 基因在细胞周期的调节、细胞的永生化和衰老方面也发挥着重要作用^[8-9]。Bmi1 基因还

可通过作用于 PcG 家族中的某些靶位,使靶基因转录沉默。动物实验表明,首先 Bmi1 表达阳性的小鼠其外周血中白血病细胞的数量明显高于 Bmi1 表达阴性的小鼠^[10];其次,将 Bmi1 缺失小鼠的骨髓细胞移植给受者小鼠,这些小鼠不发生急性髓系白血病,然而将 Bmi1 转染给原本 Bmi1 缺失的小鼠骨髓细胞中,然后再移植给受者小鼠,受者小鼠则可发生急性髓系白血病,上述研究表明 Bmi1 对白血病干细胞的增殖和其致白血病的能力具有决定性作用。研究还发现^[11-12],急性白血病患者骨髓中 Bmi1 的表达水平明显高于健康人,尤其是在急性髓系白血病微分化型的患者骨髓中,Bmi1 的表达水平更高。通过实时 R-PCR 的方法检测,发现 CML 患者外周血中 Bmi1 基因的表达具有一定的规律性:急性变患者表达相对值在 5 的数量级,加速期患者其表达相对值在 2 的数量级,经化疗后转入慢性期的患者其表达的相对值仅小于 1 的数量级,3 者之间依次相差 1~2 个数量级,表明 Bmi1 基因在 CML 患者外周血中的表达相对值是随其白血病细胞数的减少而降低的。在 CMI 治疗过程的不同时期,Bmi1 基因的表达相对值存在明显差异,因而外周血中 Bmi1 基因检测可作为监测 CML 病情进展及判断预后的有价值的分子标记物。

参考文献

[1] Mihara K, Chowdhury M, Nakaju N, et al. Bmi-1 is useful as a novel molecular marker for predicting progression of myelodysplastic syndrome and patient prognosis[J]. Blood, 2006, 107(1): 305-308.
 [2] 陈凤花,王琳,胡丽华.原癌基因 BMI-1 的研究进展[J].临床血液学杂志:输血与检验版,2007,4(4):189-191.
 [3] Sauvageau M, Sauvageau G. Polycomb group genes: keeping stem cell activity in balance[J]. PLoS Biol, 2008, 6(4): 113.
 [4] Takihara Y. Role of polycomb-group genes in sustaining activities

of normal and malignant stem cells[J]. Int J Hematol, 2008, 87(1): 25-34.
 [5] Lobo NA, Shimono Y, Qian D, et al. The biology of Cancer stem cells[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2007, 23(4): 675-699.
 [6] Yong AS, Stephens N, Weber G, et al. Improved outcome following allogeneic stem cell transplantation in chronic myeloid leukemia is associated with higher expression of BMI-1 and immune responses to BMI-1 protein[J]. Leukemia, 2011, 25(4): 629-637.
 [7] Bhattacharyya J, Mihara K, Yasunaga S, et al. BMI-1 expression is enhanced through transcriptional and posttranscriptional regulation during the progression of chronic myeloid leukemia[J]. Ann Hematol, 2009, 88(4): 333-340.
 [8] Jiang Y, Su B, Meng X, et al. Effect of siRNA-mediated silencing of Bmi-1 gene expression on HeLa cells[J]. Cancer Sci, 2010, 101(2): 379-386.
 [9] Silva J, Garcia JM, Peia C, et al. Implication of polycomb members Bmi-1, Mel-18, and Hpc-2 in the regulation of p16INK4a, p14ARF, h-TERT, and c-Myc expression in primary breast carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(23): 6929-6936.
 [10] Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells[J]. Nature, 2003, 423(6937): 255-260.
 [11] Sawa M, Yamamoto K, Yokozawa T, et al. BMI-1 is highly expressed in M0-subtype acute myeloid leukemia[J]. Int J Hematol, 2005, 82(1): 42-47.
 [12] Shen Q, Liu S, Hu J, et al. The differential expression pattern of the BMI-1, SALL4 and ABCA3 genes in myeloid leukemia[J]. Cancer Cell Int, 2012, 12(1): 42.

(收稿日期:2015-11-20)

• 临床研究 •

网织红细胞血红蛋白水平检测在不同人群缺铁性贫血诊断中的应用价值

田 笑, 李明亮, 赵 威[△]

(中国人民解放军第 202 医院检验科, 辽宁沈阳 110003)

摘要:目的 探讨网织红细胞血红蛋白(CHr)水平在不同人群缺铁性贫血(IDA)中的应用价值。方法 选取 2015 年 1~6 月 140 例 IDA 患者及 110 例健康人作为研究对象,采用德国西门子 ADVIA2120 全血细胞分析仪检测各受试者的红细胞参数及网织红细胞相关指标,同时检测其血清铁蛋白(SF)及总铁结合力(TIBC)。结果 成人、孕妇及儿童 IDA 患者的 CHr、红细胞各参数、SF 及 TIBC 水平同健康成人、正常妊娠期女性、健康儿童比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CHr 的平均灵敏度和特异度分别为 93% 和 90%。结论 不同人群中 CHr 的检测对 IDA 的诊断都具有重要意义。

关键词:网织红细胞; 血红蛋白; 缺铁性贫血

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 03. 042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)03-0383-03

近年来随着全自动血细胞分析仪的广泛应用,不仅可以检测红细胞参数,更重要的是同时能检测网织红细胞的许多参数,如网织红细胞血红蛋白(CHr)水平,这一新兴指标对缺铁性贫血(IDA)的诊断和治疗都有着非常重要的作用。CHr 可以在红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)等指标还没有发生变化之时,即可灵敏地反映出机体铁缺乏的状态。网织红细胞属于晚幼红细胞脱核后到完全成熟 RBC 的过度细胞^[1-2],在整个机体活动中 CHr 是相对恒定的,所以 CHr 被认为是机体铁状态的

实时反映^[3],而其他机体铁缺乏指标,如血清铁蛋白(SF)等可能在患者发生炎症反应时对其检测结果造成一定影响^[3]。本研究对 CHr 水平检测在不同人群 IDA 诊断中的应用价值进行评价,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1~6 月中国人民解放军第 202 医院收治的 IDA 患者 140 例纳入研究组,其中孕妇 68 例,儿童 38 例,成人 34 例(男性 17 例,女性 17 例)。IDA 诊断符合

[△] 通讯作者, E-mail: 544244417@qq.com.