

γ -谷氨酰转移酶在急性早幼粒细胞白血病中升高的研究进展

孟 角 隋美娟 张 卓 周 晋

摘 要 我国自主研发的亚砷酸用于治疗急性早幼粒细胞白血病已经取得国际上认可,但其不良反应始终贯穿在整个治疗过程中。其中,亚砷酸导致的肝脏毒性发生率高,主要表现在肝酶水平的升高,如丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸转氨酶及 γ -谷氨酰转移酶的升高,然而 γ -谷氨酰转移酶升高的机制及意义尚未明确,本文将针对急性早幼粒细胞白血病患者 γ -谷氨酰转移酶升高的影响因素予以阐述。

关键词 急性早幼粒细胞白血病 γ -谷氨酰转移酶 肝脏毒性

中图分类号 R55 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.05.002

急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocyte leukemia, APL)是急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的一种,约占AML的10%~15%,发生率约0.23/10万。APL发生的主要分子机制是t(15;17)(q22;q12)染色体异位形成PML-RAR α 融合基因,产生的PML-RAR α 蛋白导致细胞分化阻滞和凋亡不足^[1]。我国自主研发的亚砷酸(三氧化二砷As₂O₃, ATO)通过降解PML-RAR α 蛋白诱导APL细胞的凋亡,起到靶向治疗的作用,随着ATO持续缓慢静脉滴注疗法的开发,为APL治疗提供了一种新的治疗方法^[2]。尽管APL的治疗获得了长足进步,目前仍存在一些尚未解决的难题,如ATO的肝脏毒性、心脏毒性、分化综合征等不良反应,始终贯穿在APL的整个治疗过程中,值得思考并引起重视,其中,ATO导致的肝脏毒性发生率高,值得进一步研究^[3,4]。ATO导致肝脏毒性主要表现在酶学的改变,其中丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)作为肝细胞损害的标志物已被公认。除了AST、ALT的升高,笔者发现大多数情况下也伴有 γ -谷氨酰转移酶(GGT)升高,然而目前尚未明确GGT升高的机制和意义,也未找到预测肝功能损伤的可能指标,现就ATO治疗APL致GGT升高可能涉及的机制和可能预测肝损伤的指标予以综述。

一、ATO治疗APL现状

20世纪90年代初,我国自主研发的ATO首次应用于APL患者的治疗中。与全反式维甲酸(ATRA)不能诱导分子缓解不同,ATO作为单一药物,在大多数情况下能诱导分子缓解。研究证明ATO可通过诱导细胞分化和凋亡、降解PML-RAR α 、抑制肿瘤细胞增殖和抑制血管生成等多条途径发挥抗肿瘤作用^[5]。大量临床试验证明ATO对各阶段、各年龄段的APL患者均有显著疗效。针对ATO单药治疗APL患者, Ghavamzadeh等^[6]对197例初发APL患者予以ATO单药诱导+ATO, 1~4个疗程的巩固治疗,完全缓解率(CR)达85.8%,5年总生存期(OS)和无病生存期(DFS)分别为64.4%、66.7%,证明ATO单药诱导治疗初发APL疗效显著。随后Mathews等也以ATO单药诱导为主要治疗方案,得出了与前述临床实验相似的结论,并进一步发现白细胞计数 $<5 \times 10^9/L$,血小板计数 $>20 \times 10^9/L$ 的患者经过ATO单药治疗后,无病生存率(EFS)、DFS和OS率均为100%。2014年开始,美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南推荐将ATO作为低中危APL患者诱导治疗的一线用药。ATO单药治疗产生较高的CR与相对较长时间的缓解,使APL成为AML中最可治愈的急性白血病。目前,APL已经进入一种具有针对性的、基于差异治疗的模式,以期获得更好的生存。

二、ATO的肝脏毒性

肝脏是ATO的主要靶器官之一,临床使用ATO时,肝功能异常发生率可达75%。活性氧(ROS)的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(重点项目)(81430088);黑龙江省卫生健康委员会立项科研基金资助项目(2019-015)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院血液内科

通讯作者:周晋,主任医师,教授,博士生导师,电子信箱:zhoujin1111@126.com

产生在 ATO 诱导的肝脏毒性中起着重要作用。ATO 暴露于肝脏中可产生活性氧 ROS, ROS 的积累可诱导线粒体跨膜电位的破坏, 随后产生大量的 ROS, 释放细胞色素 C 并导致细胞凋亡^[7]。针对 ATO 在肝脏中的代谢, 研究者们对 ATO 治疗 APL 的治疗剂量与肝脏毒性做了相关研究, 砷甲基化能力下降, 肝脏出现短暂时损伤, 数据显示 ATO 治疗 APL 第 10 天血清酶(ALT、AST)水平较 0 天明显升高, 分别升高 4.57 倍和 3.81 倍, 但第 20 天时 ALT、AST 分别降至第 10 天的 36% 和 46%。肝脏酶学的短暂升高和近期内下降表明 ATO 的肝脏毒性是可逆的, 一般停用 ATO 或者加用保肝药物后, 这种肝损伤可以恢复正常^[8]。研究显示, 肝脏毒性的出现对 CR、OS、EFS、DFS 等的影响差异无统计学意义。Hao 等^[9]研究则证实肝损伤发生率以轻、中度为主, 肝损伤主要表现为 ALT、AST、GGT 的升高, 时间集中在用药 1~3 周内, 第 4 周及以后逐渐恢复到正常水平。诱导缓解治疗的第 1~3 周是监测的重要时期, 应高度重视, 因为其可能出现肝脏毒性恶化导致死亡。

三、 γ -谷氨酰转移酶在 APL 中升高的机制

GGT 是 N 端亲核酶水解酶超家族成员的一种 II 型跨膜蛋白, 广泛分布于细菌和哺乳动物之间的胞外酶, 具有多种生理功能, 在谷胱甘肽(GSH)代谢中起关键作用。成熟的 GGT 是一个由 L-和 S-亚基组成的杂二聚体, 主要由肝脏产生, 广泛分布于人体的许多组织中, 肾脏内最多, 其次为胰腺和肝脏, 胚胎期则以肝脏内最多, 在肝脏内主要分布于肝细胞质和肝内胆管上皮中。正常值为 3~50U/L。GGT 常见的临床意义一方面用来检测肝脏疾病, 如急性肝炎 GGT 中度升高; 若 GGT 持续升高, 提示病变活动或病情恶化, 肝癌时可达参考值上限的 10 倍以上。急性或慢性酒精性肝炎、药物性肝炎, GGT 可明显或中度以上升高, 脂肪肝时 GGT 亦可轻度升高。另一方面用来检测胆道阻塞。胆道阻塞时, 胆道阻塞可达正常水平的 5~30 倍, 如原发性胆汁性肝硬化、硬化性胆管炎等。GGT 不仅是肝功能异常、胆管疾病和饮酒的良好血清标志物, 此外, 它的升高也增加了其他多种疾病风险, 包括心血管疾病、糖尿病、代谢综合征等疾病^[10]。

GGT 还参与机体的氧化应激反应, 产生大量氧自由基, 影响细胞、组织和器官的结构与功能。其中, GGT 的促氧化活性可能导致基因组不稳定, 增加癌细胞突变风险。据报道 GGT 在人类多种癌细胞中表

达, 其中已经观察到 GGT 在白血病、肝癌、卵巢癌、结肠癌中升高, 并且经过多种癌症实验研究, GGT 作为肿瘤标志物的可能性越来越大^[11]。然而 GGT 在 ATO 治疗 APL 升高的机制尚未明确, 本文针对 ATO 治疗 APL 致 GGT 升高可能涉及的机制予以研究, 总结如下。

1. γ -谷氨酰循环: 指 γ 谷氨酰循环组织摄取氨基酸的转运机制。在机体组织上, 指细胞膜外侧 GGT 催化 GSH 的 γ 谷氨酰基与膜外氨基酸结合而带入细胞内释放的过程。谷氨酰基则重新生成 GSH 再进行循环。催化上述反应中 GGT 位于细胞膜上, 是 γ -谷氨酰循环的关键酶。GSH 不能在大多数细胞内运输, GSH 和半胱氨酸在胞质和胞外空间中的浓度由高效运转的 γ -谷氨酰循环调节, 由 GGT 催化的胞外水解可使细胞内半胱氨酸返回和 GSH 再合成^[12]。这一过程还发挥了氨基酸转运、保护和调节膜氧化还原电位的作用, 同时也维持细胞和细胞外间隙的生理半胱氨酸水平。正常生理条件下, U937 细胞内外 GSH 被 γ -谷氨酰基循环有效调节, 细胞外的 GSH 不能通过膜, 不能将 GSH 转运入细胞, 而是经 GGT 水解后在细胞内重新合成。既往有研究表明耐药 B 淋巴细胞肿瘤细胞株在烷化剂后 GGT 活性增高与 GSH 浓度密切相关, 在多种肿瘤细胞中发现 GGT 增高可能增加 GSH 向细胞的运输并伴有细胞内 GSH 升高^[13]。GSH 含量较高的患者出现耐药的概率大于 GSH 含量较低的患者, 其肝损伤发生的概率也相对较低^[14]。

2. 白血病细胞: 研究者证实, 在恶性血液病的发展中 GGT 起着不同的作用。GGT 在白血病细胞中的水平升高^[15]。应用流式细胞术检测正常人外周血单核细胞(PBMC)中 GGT 的表达, 在未受刺激的 PBMC 中, 28% 的细胞呈 GGT 阳性。单核细胞表达率最高(CD14/GGT 细胞: 60%)。T 淋巴细胞亚群也可见表达(CD3/GGT 细胞: 18%), B 淋巴细胞、NK 细胞和活化细胞则为低表达(约 10%)。在 GSH 和 N-乙酰半胱氨酸(NAC)存在下, GGT 细胞会迅速增加, 特别是在单核细胞、B 细胞和 NK 细胞上。免疫组化显示 GGT 还存在于浆细胞、巨噬细胞以及毛细血管中^[16]。在 B、T 淋巴细胞和巨噬细胞等活跃免疫细胞中, GGT 活性增加。几项研究均证明了 GGT 在淋巴细胞上的表达, 而且强调了 GGT 在调节 T 细胞活化和免疫反应中的重要性^[17]。对于单核细胞白血病, 化疗后 GGT 表达明显下降。在白血病分型上有研究表明,

GGT 活性在急性髓系白血病(AML)高于急性淋巴细胞白血病(ALL)。此外发现白血病细胞株 HL-60 和 K562 细胞表达 GGT6 基因,GGT6 基因位于人类 17 号染色体 17p13.2。

3. 砷剂:砷是治疗人类白血病和其他实体肿瘤的一种化疗药物。此外,砷在环境中普遍存在,这种元素在地下水和植物中的积累对人类和动物的健康都构成威胁。各种形式的砷在环境和生物中循环,砷的毒性与无机砷有关,特别是三价砷化合物。砷中毒引起的氧化应激增加导致血管内皮损伤。研究表明,砷诱导的氧化应激与细胞内 GSH 水平的变化有关,GSH 在多种细胞过程中起着重要的作用,包括细胞的分化、增殖和凋亡,而 GSH 缺乏会导致与癌症进展有关的氧化应激的易感性增加,GSH 水平的升高提高了癌细胞抗氧化能力^[18]。某些肿瘤细胞中的 GSH 含量通常与 GSH 相关酶有关,如 γ -谷氨酰半胱氨酸连接酶(GCL)和 GGT。研究结果表明,ATO 诱导 GSH 增加的机制与 GCL、GGT 等 GSH 周转酶有关,ATO 诱导的 GSH 升高在 24h 后可以观察到 GCL 活性增加,在 72h 后观察到 GGT 活性增加。在胰腺癌细胞系中砷剂作用过后 GGT 活性增高,抑制肿瘤血管内皮细胞增殖^[19]。

4. 骨髓增殖分化:GGT 基因以一种特定的方式在多个组织中表达,许多血细胞和它们的造血前体细胞表达 GGT,GGT 的表达受细胞因子、生长因子、糖皮质激素等多种因素的调节。研究证明,GGT 在造血细胞因子诱导的信号转导通路中具有新的作用,特别是集落刺激因子。GGT 的表面定位和其活性相对容易的测定特性,使该酶在分化的各个阶段可作为正常和肿瘤淋巴样细胞的表面标志物。在造血生长因子刺激的白血病细胞(KG-1)中也诱导了 GGT 的活性,支持 GGT 在髓系细胞对造血生长因子反应中发生细胞事件的最终作用。GGT 在骨髓白三稀 C4(LTC4)→白三稀 D4(LTD4)中也发挥重要作用。LTD4 是骨髓增殖、中性粒细胞分化所必需的,而 GGT 是转化过程中的关键酶;GGT 还是骨髓增殖分化过程中被调控的众多酶之一。有研究报道,全反式维甲酸处理急性粒细胞白血病细胞(HL-60)和人组织细胞淋巴瘤细胞(U937)分化为成熟细胞的同时,也诱导 GGT 活性,表明该酶在分化过程中具有典型的调节作用。

四、硫 基

巯基化合物与机体许多机能活动、药物及毒物的

作用以及某些疾病的发生、发展有着密切关系。根据血中巯基含量的变化可反映出机体的某些生理状况,判断某些疾病的严重性和转归以及作为观察某些疾病治疗效果的指标。Quatrehomme 等报道,砷迅速分布到含有巯基蛋白质的组织器官中,如肝脏、肾脏、脾脏和肾上腺。巯基通过与金属中心的螯合作用,迅速逆转了砷(Ⅲ)的毒性作用^[20]。经查阅相关文献,发现巯基在肝脏降低使得 ATO 易于在肝脏积聚,诱导肝细胞膜损伤产生肝脏毒性。巯基易与 ATO 结合,使 ATO 更易更快排至体外,在一定程度上减轻亚砷酸对肝脏的不良反应,可能成为亚砷酸肝脏毒性预测的重要因素。

五、展 望

通过前期回顾性研究结果显示 ATO 治疗 APL 患者时,肝功能异常发生率高,治疗过程中 ALT 和 AST 的升高与 GGT 的升高是不相关的,ALT、AST 因肝细胞破坏释放增多,而导致 GGT 升高的机制尚未见报道。本文结合 GGT 的产生、作用及分布提出 ATO 治疗 APL 导致 GGT 升高可能与 γ -谷氨酰循环、白血病细胞、砷剂及骨髓增殖分化等机制有关,上述可能机制尚需实验进一步验证。研究 GGT 升高的机制有助于探讨其与肝脏毒性之间的相关性,协助预测肝脏毒性发生概率及评估肝损伤程度,以期在不抑制 ATO 疗效的前提下降低肝脏毒性,为临床是否预防性应用保肝药物提供参考,为未来 ATO 个体化用药打下基础。

参考文献

- 中华医学会血液学分会. 急性早幼粒细胞白血病中国诊疗指南(2018年版)[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(3): 179-183
- Gao C, Hu S, Guo M. Clinical pharmacokinetics and safety profile of single agent arsenic trioxide by continuous slow-rate infusion in patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2018, 82(2): 229-236
- 王可,李慧波,孙丽丽,等. 急性早幼粒细胞白血病分化综合征的发生机制、早期诊断及治疗研究进展[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(9): 188-191
- 李军民,祝洪明. 急性早幼粒细胞白血病的治疗进展和目前存在问题[J]. 内科理论与实践, 2015, 10(1): 1-7
- 岳庆喜,虞红,何婷,等. 三氧化二砷和青蒿素抗肿瘤的机制研究进展[J]. 药理学报, 2016, 51(2): 208-214
- Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Rostami S, et al. Phase II study of single-agent arsenic trioxide for the front-line therapy of acute promyelocytic leukemia[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(20): 2753-2757
- Ling S, Shan Q, Liu P, et al. Metformin ameliorates arsenic trioxide hepatotoxicity via inhibiting mitochondrial complex I[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(11): 3159-3171

(下转第 12 页)

- E2F2 signaling in non - small cell lung cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(5): 2324 - 2340
- 14 Panda AC, Grammatikakis I, Kim KM, *et al.* Identification of senescence - associated circular RNAs (SAC - RNAs) reveals senescence suppressor CircPVT1[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(7): 4021 - 4035
- 15 Fan H, Li Y, Liu C, *et al.* Circular RNA - 100290 promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in acute myeloid leukemia cells via sponging miR - 203[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 507(1 - 4): 178 - 184
- 16 Chen H, Liu T, Liu J, *et al.* Circ - ANAPC7 is upregulated in acute myeloid leukemia and appears to target the MiR - 181 family[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(5): 1998 - 2007
- 17 Ping L, Jian - Jun C, Chu - Shu L, *et al.* Silencing of circ_0009910 inhibits acute myeloid leukemia cell growth through increasing miR - 20a - 5p[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2019, 75: 41 - 47
- 18 Pan Y, Lou J, Wang H, *et al.* CircBA9.3 supports the survival of leukaemic cells by up - regulating c - ABL1 or BCR - ABL1 protein levels[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2018, 73: 38 - 44
- 19 Liu J, Kong F, Lou S, *et al.* Global identification of circular RNAs in chronic myeloid leukemia reveals hsa_circ_0080145 regulates cell proliferation by sponging miR - 29b[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(4): 660 - 665
- 20 Dahl M, Daugaard I, Andersen MS, *et al.* Enzyme - free digital counting of endogenous circular RNA molecules in B - cell malignancies[J]. *Lab Invest*, 2018, 98(12): 1657 - 1669
- 21 Hu J, Han Q, Gu Y, *et al.* Circular RNA PVT1 expression and its roles in acute lymphoblastic leukemia[J]. *Epigenomics*, 2018, 10(6): 723 - 732
- 22 Bonizzato A, Gaffo E, Te Kronnie G, *et al.* CircRNAs in hematopoiesis and hematological malignancies[J]. *Blood Cancer J*, 2016, 6(10): e483
- 23 Gruner H, Cortes - Lopez M, Cooper DA, *et al.* CircRNA accumulation in the aging mouse brain[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38907
- 24 Xia L, Wu L, Bao J, *et al.* Circular RNA circ - CFBF promotes proliferation and inhibits apoptosis in chronic lymphocytic leukemia through regulating miR - 607/FZD3/Wnt/beta - catenin pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(1): 385 - 390
- 25 Tay Y, Rinn J, Pandolfi PP. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition[J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 344 - 352
- 26 Wu W, Wu Z, Xia Y, *et al.* Downregulation of circ_0132266 in chronic lymphocytic leukemia promoted cell viability through miR - 337 - 3p/PML axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(11): 3561 - 3573

(收稿日期:2019 - 10 - 17)

(修回日期:2019 - 10 - 30)

(上接第7页)

- 8 Wang H, Xi S, Liu Z, *et al.* Arsenic methylation metabolism and liver injury of acute promyelocytic leukemia patients undergoing arsenic trioxide treatment[J]. *Environ Toxicol*, 2013, 28(5): 267 - 275
- 9 Hao L, Zhao J, Wang X, *et al.* Hepatotoxicity from arsenic trioxide for pediatric acute promyelocytic leukemia[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2013, 35(2): 67 - 70
- 10 李方,熊世熙. 冠心病患者血清GGT、血脂、hs - CRP联合检测的临床价值[J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(4): 143 - 145
- 11 Takemura K, Fukushima H, Ito M, *et al.* Prognostic significance of serum γ - glutamyltransferase in patients with advanced urothelial carcinoma[J]. *Urol Oncol*, 2019, 37(2): 108 - 115
- 12 Xiao Y, Yang H, Lu J, *et al.* Serum gamma - glutamyltransferase and the overall survival of metastatic pancreatic cancer[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 1020 - 1027
- 13 Hanigan MH. Gamma - glutamyl transpeptidase: redox regulation and drug resistance[J]. *Adv Cancer Res*, 2014, 122(3): 103 - 141
- 14 Binu P, Priya N, Abhilash S, *et al.* Protective effects of eugenol against hepatotoxicity induced by arsenic trioxide: an antileukemic drug[J]. *Iran J Med Sci*, 2018, 43(3): 305 - 312
- 15 Traverso N, Ricciarelli R, Nitti M, *et al.* Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 972913 - 972923
- 16 Ishizuka Y, Moriwaki S, Kawahara - Hanaoka M, *et al.* Treatment with anti - gamma - glutamyl transpeptidase antibody attenuates osteolysis in collagen - induced arthritis mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(12): 1933 - 1942
- 17 Carlisle ML, King MR, Karp DR. Gamma - glutamyl transpeptidase activity alters the T cell response to oxidative stress and Fas - induced apoptosis[J]. *Int Immunol*, 2003, 15(1): 17 - 27
- 18 秦玉萍,徐玉音,范亚平. 还原型谷胱甘肽对高糖诱导的小鼠系膜细胞氧化应激及细胞外基质表达的影响[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(7): 135 - 137
- 19 Ramsay EE, Decollogne S, Joshi S, *et al.* Employing pancreatic tumor γ - glutamyltransferase for therapeutic delivery[J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(5): 1500 - 1511
- 20 Harper LK, Bayse CA. Modeling the chelation of As(III) in lewisite by dithiols using density functional theory and solvent - assisted proton exchange[J]. *J Inorg Biochem*, 2015, 153: 60 - 67

(收稿日期:2019 - 10 - 24)

(修回日期:2019 - 11 - 04)