

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.030

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.030>

· 综述 ·

## NADPH氧化酶、中性粒细胞与白血病的关系

杨海玉

(江西省人民医院临床医学研究所, 南昌 330006)

**[摘要]** 中性粒细胞是机体重要的免疫细胞。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶是产生内源性活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要分子, 在中性粒细胞发挥免疫功能及其分化成熟方面具有重要的调控作用。研究证实NADPH氧化酶活性异常是导致白血病细胞中ROS水平增高的关键因素, 并且与白血病发生、发展及耐药密切相关。NADPH氧化酶的活化受到多种因素调控, 弄清这些调控机制有助于研究和寻找更为有效的白血病防治方法。

**[关键词]** 白血病; 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶; 中性粒细胞; 氧化应激; 活性氧

## Relation of NADPH oxidase and neutrophils with leukemia

YANG Haiyu

*(Institute of Clinical Medical Science, Jiangxi Province People's Hospital, Nanchang 330006, China)*

**Abstract** Neutrophils are important immune cells in the body. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase is the main molecule generating endogenous reactive oxygen species (ROS), which plays an important role in regulating immune function and cell differentiation in neutrophils. Research has confirmed that the abnormal activity of NADPH oxidase is the key factor leading to an increased level of ROS in leukemia cells, and which is closely related to the occurrence, development and drug resistance of leukaemia. NADPH oxidase activation is under the control of various factors, thus, to find these regulatory mechanisms may help to research and look for more effective methods for prevention and treatment of leukemia.

**Keywords** leukemia; neutrophils; nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; oxidative stress; reactive oxygen species

中性粒细胞是机体重要的免疫细胞, 也是抵抗病原微生物入侵的生理屏障, 其功能异常是导致白血病等疾病发生的致病因素。中性粒细胞发挥免疫功能的主要机制是呼吸爆发(又称为氧爆

发), 涉及细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)快速释放, 这一系列化学反应主要由还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶催化发

收稿日期 (Date of reception): 2019-04-11

通信作者 (Corresponding author): 杨海玉, Email: 363042946@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81760038); 江西省卫生与计划生育委员会科技计划项目 (20161014)。This work was supported by the National Natural Science Fund Project (81760038) and Jiangxi Province Health Department Science and Technology Plan Project (20161014), China.

生。白血病是一类造血干细胞恶性克隆性疾病，机体内氧化-抗氧化失衡对其发生、发展及治疗耐受具有重要的影响。白血病细胞中ROS的基础水平要高于正常细胞，其机制与促进细胞增殖、拮抗凋亡以及白血病耐药相关<sup>[1-4]</sup>。NADPH氧化酶是产生内源性ROS的主要分子，其活性异常是导致白血病细胞中ROS水平增高的关键因素。本文就NADPH氧化酶、中性粒细胞与白血病之间的关系研究作一综述。

## 1 NADPH 氧化酶

NADPH氧化酶是一种多酶复合物，以细胞质NADPH为电子供体，催化胞外O<sub>2</sub>生成超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)。NADPH氧化酶最早发现于吞噬细胞中，由gp91phox, p22phox, p47phox, p67phox, p40phox和Rac2共6种亚基组成。在未活化状态下p22phox和gp91phox位于细胞膜，p47phox, p67phox, p40phox和Rac2位于细胞质；一旦被活化，位于细胞质中的亚基易位至细胞膜，进而组装成具有功能的蛋白酶复合体，并表现为耗氧且产生大量的ROS。研究<sup>[5-7]</sup>证实任何一种亚基的表达缺失可导致NADPH氧化酶失活及ROS生成障碍。另外，人们在非吞噬细胞中(成纤维细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞等)同样证实NADPH氧化酶的存在，称之为非吞噬细胞的NADPH氧化酶(即NOX家族蛋白)，包括NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1及DUOX2。在静息状态下，吞噬细胞的NADPH氧化酶没有活性；然而，NOX家族蛋白在正常时仍保持一定的活性，由此产生的ROS作为“信号分子”参与细胞增殖、分化及凋亡等过程。NOX家族蛋白是内源性ROS生成的主要来源，ROS在造血细胞发生过程中起到重要的调控作用，可促进骨髓造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)的增殖及分化；低水平ROS可促使HSC长时间维持自我更新潜能，而高水平ROS可导致HSC耗竭<sup>[8-9]</sup>。当细胞受到某些诱因刺激时，NOX家族蛋白过表达并产生高浓度的ROS，从而介导某些疾病(如白血病)的发生、发展过程。

## 2 NADPH 氧化酶与中性粒细胞

### 2.1 NADPH 氧化酶调控中性粒细胞免疫功能

中性粒细胞是抵御外源性病原微生物入侵机体的重要屏障，其免疫功能发挥主要依赖于NADPH氧化酶活性。当感染发生时，中性粒细胞

迁移至感染部位摄取病原微生物，进而活化呼吸爆发过程并产生大量的ROS，最终介导病原微生物的死亡和溶解。NADPH氧化酶活性受到其他蛋白酶的调控，胞浆磷脂酶A2(cytosolic phospholipase A2, cPLA2)是关键酶之一<sup>[10-11]</sup>。磷脂酶A2可催化磷脂sn-2酰基的水解作用，进而产生相应的游离脂肪酸和溶血磷脂，花生四烯酸和各种溶血磷脂对于NADPH氧化酶活性具有直接或间接调控作用<sup>[10-11]</sup>。人髓系细胞株PLB-985细胞可分化呈现成熟中性粒细胞样表型，有学者<sup>[10]</sup>以该细胞为实验对象，通过转染cPLA2反义mRNA证实cPLA2表达缺失的细胞也能分化为中性粒细胞，认为cPLA2活性不涉及中性粒细胞成熟分化过程。有趣的是，研究<sup>[11]</sup>还发现cPLA2表达缺失的细胞其NADPH氧化酶不能被活化，且该过程与H<sup>+</sup>通道活化相关，由此推测cPLA2是NADPH氧化酶活化的必须条件。另外，研究<sup>[12-13]</sup>证实Peroxioredoxin-6是维持中性粒细胞NADPH氧化酶最佳活性的重要分子，并且与其磷脂酶A2活性相关。Peroxioredoxin-6是一个多功能的抗氧化酶蛋白，有学者<sup>[12]</sup>采用shRNA技术将PLB-985细胞中的Peroxioredoxin-6基因敲减，观察细胞分化后NADPH氧化酶活性变化，证实Peroxioredoxin-6表达缺失可导致NADPH氧化酶活性明显下调。另一研究<sup>[13]</sup>证实中性粒细胞受到刺激后Peroxioredoxin-6可易位至细胞膜，并且该过程与p67phox相关。上述结果证实Peroxioredoxin-6涉及NADPH氧化酶的组装及活化调控，在中性粒细胞功能发挥过程中起重要作用。

### 2.2 NADPH 氧化酶调控中性粒细胞生成过程

中性粒细胞是天然免疫及宿主防御反应中的主要角色。在感染和炎症过程中，大量中性粒细胞在骨髓生成并动员进入外周血，然后募集到感染组织，进而发挥识别、吞噬及清除病原体的功能。研究<sup>[14]</sup>证实中性粒细胞可被某些物质预处理成“应激”状态，以提高其对进一步刺激的反应能力。有学者<sup>[14]</sup>以人中性粒细胞和PLB-985细胞株为实验对象，采用肿瘤坏死因子- $\alpha$ 预处理细胞证实NADPH氧化酶活性均明显提高，gp91phox的表达也明显上调，且涉及MAPK信号通路活化。中性粒细胞的生成过程主要来源于骨髓HSC的自我更新，需要经过一系列分化阶段并最终发育为成熟细胞，包括：1)稳定状态下维持正常生理数量的粒细胞生成；2)感染或炎症状态下紧急生成大量粒细胞。研究<sup>[15]</sup>证实中性粒细胞两种生成过程具有不同的细胞调控机制。有学者<sup>[16]</sup>证实发生急性

感染时骨髓中ROS水平明显提高, 并呈NADPH氧化酶依赖方式; 有趣的是, 研究进一步证实诱导生成的ROS可促进骨髓HSC增殖。另一学者<sup>[17]</sup>以人髓系细胞株HL-60为实验对象, 证实 $\gamma$ -干扰素和/或肿瘤坏死因子可诱导编码gp91phox, p47phox, p67phox的基因表达上调, 并伴随NADPH氧化酶活性增强及细胞成熟标志物CD14和CD11b表达上调。上述结果提示NADPH氧化酶在中性粒细胞成熟分化过程中具有重要的调控作用。

### 3 ROS, NADPH 氧化酶与白血病

目前, 化学药物治疗(以下简称化疗)仍然是临床治疗白血病的主要手段。传统化疗可改变白血病细胞中的氧化应激状态, 并且与心脏毒性和神经毒性反应的发生密切相关, 严重影响白血病患者生存质量<sup>[18-19]</sup>。NADPH氧化酶过度激活是白血病细胞中氧化应激水平升高的重要机制, 有学者<sup>[20]</sup>采用NADPH氧化酶抑制剂以降低细胞内ROS水平, 进而抑制白血病细胞增殖并达到治疗目的。由此可见, NADPH氧化酶抑制剂在调控氧化应激及减少化疗药物毒性反应方面具有潜在的临床应用价值。另外, ROS被证实是白血病发生机制中的重要第二信使, 可作为关键分子调节多种酶(主要包括酪氨酸磷酸酶)的活性。ROS可诱导酪氨酸磷酸酶失活并阻断其作用, 进而增强信号转导分子STAT5磷酸化, 该机制与白血病细胞生存、增殖及对治疗的反应相关<sup>[21]</sup>。有趣的是, 研究<sup>[21]</sup>进一步证实STAT5可促进NADPH氧化酶的基因转录及提高细胞内ROS水平, 认为ROS相关信号通路可作为白血病治疗的潜在靶点。

我国急性白血病比慢性白血病多见, 其中以急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的发病率最高, 并且随着人群年龄的增加而增加。AML是中性粒细胞生成过程发生异常的一种血液肿瘤。AML患者在发病及治疗过程中常表现机体免疫功能低下, 易造成病情进展和复发。有研究<sup>[22]</sup>发现AML患者外周血中性粒细胞碱性磷酸酶表达显著降低, 同时伴随中性粒细胞弹性蛋白酶及白细胞介素-8分泌减少, 证实AML患者中性粒细胞免疫功能受到抑制。研究<sup>[23]</sup>进一步证实AML病情进展及治疗反应均与中性粒细胞来源的ROS水平相关, NADPH氧化酶在其中发挥了重要作用。还有学者<sup>[24]</sup>证实NADPH氧化酶的基因多态性与AML化疗毒性反应及疗效相关。另外, 研究<sup>[25-26]</sup>证实给予NADPH氧化酶抑制剂可明显抑制其他类型的白血

病细胞增殖和生存, 包括慢性粒细胞白血病及急性淋巴细胞白血病, 认为NADPH氧化酶是一种潜在的白血病治疗靶点。因此, 监测并通过各种手段调控NADPH氧化酶活性具有重要的临床意义。

研究<sup>[27-28]</sup>证实白血病某些常见的细胞遗传学异常可影响NADPH氧化酶活性。FMS样酪氨酸激酶3-内部串联重复(Fms-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication, FLT3-ITD)是AML常见的基因突变, 其发病率为15%~35%, 与AML病程侵袭性相关。有研究<sup>[29]</sup>发现FLT3-ITD阳性的白血病细胞株可表现ROS水平增高及DNA双链断裂; 抑制FLT3-ITD可导致p22phox表达下调, 且伴随ROS水平降低及DNA断裂减少。由此可见, FLT3-ITD可通过调节NADPH氧化酶亚基表达及其活性, 进而影响基因组不稳定性。PML/RAR $\alpha$ 融合基因是急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的表现特征, 研究<sup>[30]</sup>证实该融合基因与APL有效治疗药物三氧化二砷(俗称砒霜)的高敏感性相关。有研究<sup>[31]</sup>发现在APL起源的NB4细胞中由NADPH氧化酶生成的ROS水平增高, 而PML/RAR $\alpha$ 阳性表达细胞其NADPH氧化酶活性明显增高。由此可见, ROS是介导APL细胞对三氧化二砷高度敏感的根本因素, 并且与NADPH氧化酶活性调控密切相关。

### 4 结语

中性粒细胞是机体重要的免疫细胞, 在维持体内免疫平衡、抵抗病原体侵入及清除白血病细胞等方面都有积极作用。NADPH氧化酶是产生内源性ROS的主要分子, 在中性粒细胞发挥免疫功能及其分化成熟方面具有重要作用。在白血病中, 肿瘤细胞通常表现比正常细胞更高的ROS水平, NADPH氧化酶过度激活是促使氧化应激水平升高的重要机制, 由此可见NADPH氧化酶是影响白血病发生、发展及治疗的关键因素。另外, NADPH氧化酶的活化受到多种因素调控, 其机制涉及亚基表达、易位及复合体组装等方面, 并且与多种蛋白相互作用和蛋白激酶信号通路相关。因此, 弄清这些调控机制对指导进一步研究和寻找更为有效的白血病防治方法具有深远的意义。

### 参考文献

1. Cheng Y, Hao Y, Zhang A, et al. Persistent STAT5-mediated ROS

- production and involvement of aberrant p53 apoptotic signaling in the resistance of chronic myeloid leukemia to imatinib[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 455-463.
2. Chen YF, Liu H, Luo XJ, et al. The roles of reactive oxygen species (ROS) and autophagy in the survival and death of leukemia cells[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 112(4): 21-30.
  3. Xu X, Huang L, Zhang Z, et al. Targeting non-oncogene ROS pathway by alantolactone in B cell acute lymphoblastic leukemia cells[J]. *Life Sci*, 2019, 227(6): 153-165.
  4. Paul T, Banerjee A, Reddy SVB, et al. Hydroxychavicol sensitizes imatinib-resistant chronic myelogenous leukemia cells to TRAIL-induced apoptosis by ROS-mediated IAP downregulation[J]. *Anticancer Drugs*, 2019, 30(2): 167-178.
  5. Feng YY, Tang M, Suzuki M, et al. Essential role of NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species in maintenance of sustained B cell receptor signaling and B cell proliferation[J]. *J Immunol*, 2019, 202(9): 2546-2557.
  6. Tenkorang MAA, Duong P, Cunningham RL. NADPH oxidase mediates membrane androgen receptor-induced neurodegeneration[J]. *Endocrinology*, 2019, 160(4): 947-963.
  7. Thomas DC. How the phagocyte NADPH oxidase regulates innate immunity[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 125(9): 44-52.
  8. Yahata T, Takanashi T, Muguruma Y, et al. Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells[J]. *Blood*, 2011, 118(11): 2941-2950.
  9. Xu B, Wang S, Li R, et al. Disulfiram/copper selectively eradicates AML leukemia stem cells in vitro and in vivo by simultaneous induction of ROS-JNK and inhibition of NF- $\kappa$ B and Nrf2[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(5): e2797.
  10. Dana R, Leto TL, Malech HL, et al. Essential requirement of cytosolic phospholipase A2 for activation of the phagocyte NADPH oxidase[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(1): 441-445.
  11. Levy R, Lowenthal A, Dana R. Cytosolic phospholipase A2 is required for the activation of the NADPH oxidase associated H<sup>+</sup> channel in phagocyte-like cells[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2000, 479(1): 125-135.
  12. Ellison MA, Thurman GW, Ambruso DR. Phox activity of differentiated PLB-985 cells is enhanced, in an agonist specific manner, by the PLA2 activity of Prdx6-PLA2[J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42(6): 1609-1617.
  13. Ambruso DR, Ellison MA, Thurman GW, et al. Peroxiredoxin 6 translocates to the plasma membrane during neutrophil activation and is required for optimal NADPH oxidase activity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(2): 306-315.
  14. Volk AP, Barber BM, Goss KL, et al. Priming of neutrophils and differentiated PLB-985 cells by pathophysiological concentrations of TNF- $\alpha$  is partially oxygen dependent[J]. *J Innate Immun*, 2011, 3(3): 298-314.
  15. Zhu H, Kwak HJ, Liu P, et al. Reactive oxygen species-producing myeloid cells act as a bone marrow niche for sterile inflammation-induced reactive granulopoiesis[J]. *J Immunol*, 2017, 198(7): 2854-2864.
  16. Kwak HJ, Liu P, Bajrami B, et al. Myeloid cell-derived reactive oxygen species externally regulate the proliferation of myeloid progenitors in emergency granulopoiesis[J]. *Immunity*, 2015, 42(1): 159-171.
  17. Kuwabara WM, Zhang L, Schuiki I, et al. NADPH oxidase-dependent production of reactive oxygen species induces endoplasmic reticulum stress in neutrophil-like HL60 cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116410.
  18. Ellison MA, Thurman GW, Ambruso DR. Phox activity of differentiated PLB-985 cells is enhanced, in an agonist specific manner, by the PLA2 activity of Prdx6-PLA2[J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42(6): 1609-1617.
  19. Yu L, Yang G, Zhang X, et al. Megakaryocytic leukemia 1 bridges epigenetic activation of NADPH oxidase in macrophages to cardiac ischemia-reperfusion injury[J]. *Circulation*, 2018, 138(24): 2820-2836.
  20. Sánchez-Sánchez B, Gutiérrez-Herrero S, López-Ruano G, et al. NADPH oxidases as therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(15): 4014-4025.
  21. Mi T, Wang Z, Bunting KD. The cooperative relationship between STAT5 and reactive oxygen species in leukemia: Mechanism and therapeutic potential[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(10): E359.
  22. Pawar RD, Williams T, Khera R, et al. Inflammatory response following neutrophil recovery postchemotherapy in acute myeloid leukemia cases without evidence of infection: role of homing of neutrophils[J]. *J Blood Med*, 2014, 5(3): 37-41.
  23. Rossetto Burgos RC, Ramautar R, Van Wijk EPA, et al. Pharmacological targeting of ROS reaction network in myeloid leukemia cells monitored by ultra-weak photon emission[J]. *Oncotarget*, 2017, 9(2): 2028-2034.
  24. Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, et al. Impact of NADPH oxidase functional polymorphisms in acute myeloid leukemia induction chemotherapy[J]. *Pharmacogenomics J*, 2018, 18(2): 301-307.
  25. Sánchez-Sánchez B, Gutiérrez-Herrero S, López-Ruano G, et al. NADPH oxidases as therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(15): 4014-4025.
  26. Silva A, Girio A, Cebola I, et al. Intracellular reactive oxygen species are essential for PI3K/Akt/mTOR-dependent IL-7-mediated viability of T-cell acute lymphoblastic leukemia cells[J]. *Leukemia*, 2011, 25(6): 960-967.
  27. Stanicka J, Russell EG, Woolley JF, et al. NADPH oxidase-generated hydrogen peroxide induces DNA damage in mutant FLT3-expressing leukemia cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(15): 9348-9361.
  28. Moloney JN, Stanicka J, Cotter TG. Subcellular localization of the FLT3-ITD oncogene plays a significant role in the production of NOX- and p22(phox)-derived reactive oxygen species in acute myeloid

- leukemia[J]. *Leuk Res*, 2017, 52(1): 34-42.
29. Chou WC, Jie C, Kenedy AA, et al. Role of NADPH oxidase in arsenic-induced reactive oxygen species formation and cytotoxicity in myeloid leukemia cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(13): 4578-4583.
30. Wang J, Li L, Cang H, et al. NADPH oxidase-derived reactive oxygen species are responsible for the high susceptibility to arsenic cytotoxicity in acute promyelocytic leukemia cells[J]. *Leuk Res*, 2008, 32(3): 429-436.
31. Li L, Wang J, Ye RD, et al. PML/RARalpha fusion protein mediates the unique sensitivity to arsenic cytotoxicity in acute promyelocytic leukemia cells: Mechanisms involve the impairment of cAMP signaling and the aberrant regulation of NADPH oxidase[J]. *J Cell Physiol*, 2008, 217(2): 486-493.

**本文引用:** 杨海玉. NADPH氧化酶、中性粒细胞与白血病的关系[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(12): 2822-2826. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.030

**Cite this article as:** YANG Haiyu. Relation of NADPH oxidase and neutrophils with leukemia[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(12): 2822-2826. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.12.030