

Tfh细胞及其分泌的IL-21、IFN- γ 在慢性淋巴细胞白血病中的表达及临床意义

龚 珊¹, 曲建华^{2*}

¹新疆医科大学第一附属医院, 新疆 乌鲁木齐

²新疆医科大学第一附属医院血液科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2024年3月11日; 录用日期: 2024年4月4日; 发布日期: 2024年4月11日

摘 要

目的: 探讨Tfh细胞及其分泌的细胞因子IL-21、IFN- γ 在慢性淋巴细胞白血病(CLL)中的表达及临床相关诊断、预后意义。方法: 选取2022年12月至2023年6月期间于新疆医科大学第一附属医院血液科住院接受治疗的30例CLL患者作为研究对象, 选取同期健康体检者20例设为对照组。收集两组患者外周血, 用流式细胞术胞内染色法检测Tfh细胞比例及其IL-21、IFN- γ 表达水平。比较IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh (%), IL-21-IFN- γ Tfh/Tfh (%), IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh (%) 在两组间的差异。结合临床资料比较Tfh细胞表达IL-21、IFN- γ 水平在不同CLL临床指标分组、预后分期间的不同。结果: CLL组的Tfh细胞比例、IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh (%), IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh (%)均高于HC组($P < 0.05$); CLL组内比较, CLL患者淋巴细胞高于均值组和淋巴结肿大组外周血中IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh细胞比例均较高($P < 0.05$); 无IGVH突变的CLL患者外周血中IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh细胞比例高于IGVH突变CLL患者($P < 0.05$); IPI指数高危、极高危组的CLL患者外周血IL-21+IFN- γ Tfh/Tfh细胞比例高于IPI指数低危、中危组($P < 0.05$); 结论: Tfh细胞在CLL患者外周血中表达异常升高, 其分泌的IL-21、IFN- γ 水平更高, 并与疾病分期、临床高危指标存在相关性。异常的Tfh细胞、IL-21水平累积可能有助于支持CLL细胞的增殖, 参与CLL的免疫发病机制。

关键词

慢性淋巴细胞白血病, 滤泡辅助性T细胞, 白介素21, 干扰素 γ

Expression and Clinical Significance of Tfh Cells and IL-21, IFN- γ Secreted by It in Chronic Lymphocytic Leukemia

Shan Gong¹, Jianhua Qu^{2*}

*通讯作者。

文章引用: 龚珊, 曲建华. Tfh 细胞及其分泌的 IL-21、IFN- γ 在慢性淋巴细胞白血病中的表达及临床意义[J]. 临床医学进展, 2024, 14(4): 630-639. DOI: 10.12677/acm.2024.1441070

¹The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

²Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Mar. 11th, 2024; accepted: Apr. 4th, 2024; published: Apr. 11th, 2024

Abstract

Objective: To investigate the expression of Tfh cells and cytokines IL-21 and IFN- γ secreted by it in chronic lymphocytic leukemia (CLL), as well as their significance in different clinical indicators of CLL. **Methods:** 30 CLL patients who were treated in the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from December 2022 to June 2023 were selected as the case group, and the control group was 20 healthy volunteers who underwent physical examination in the same period. The percentage of Tfh cells and levels of IL-21, IFN- γ in peripheral blood was detected by flow cytometry; Compare the differences between IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh (%), IL-21⁻IFN- γ ⁺Tfh/Tfh (%), and IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh (%) between the two groups. Comparing the expression levels of IL-21 and IFN- γ secreted by Tfh cells in different CLL clinical indicator groups and prognostic stages. **Results:** The proportion of Tfh, IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh (%) and IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh (%) in CLL group were higher than those in control group ($P < 0.05$). In CLL group, the proportion of IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh in CLL patients with higher lymphocytes and lymph node enlargement groups was elevated ($P < 0.05$); The proportion of IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh cells in CLL patients without IGVH mutations was higher than that in CLL patients with IGVH mutations ($P < 0.05$); The proportion of IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh of CLL patients in the IPI index high-risk and extremely high-risk groups was higher than that in the low-risk and medium risk groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Tfh cells abnormally elevated in the peripheral blood of CLL patients, with higher levels of IL-21 and IFN- γ secretion, which were correlated with disease staging, and clinical high-risk indicators. Abnormal accumulation of Tfh cells and IL-21 levels may be involved the proliferation of CLL cells and participate in the immune pathogenesis of CLL.

Keywords

Chronic Lymphoblastic Leukemia, Follicular Helper T Cell, Interleukin 21, IFN- γ

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)是一种主要发生在中老年人群的一种成熟 B 淋巴细胞克隆增殖性肿瘤,其特征为 CD5⁺小淋巴细胞在外周血、骨髓、脾脏和淋巴结中异常聚集[1]。随着新的治疗策略出现, CLL 患者的生存率逐渐提高,据 2022 年美国权威的癌症统计数据库(Surveillance, pidemiology, and End Results, SEER)的统计, CLL 的总体 5 年相对生存率为 87%,但除异基因造血干细胞移植外仍无法完全治愈[2] [3] [4], CLL 的发病机制及潜在治疗靶点仍需进一步研究。

CLL 患者外周血中 CD4⁺ T 辅助细胞亚群数量及功能存在紊乱, T 辅助细胞亚群在 CLL 中分泌不同的细胞因子并发挥特定的免疫功能。CD4⁺ T 细胞包括辅助性 T 细胞(helper T cell, Th) 1、Th2、Th17、调节性 T 细胞(regulatory cell, Treg)、滤泡性调节性 T 细胞(follicular regulatory T-cell, Tfr)以及滤泡性辅助性

T 细胞(follicular helper T cell, Tfh 细胞)等[5]。滤泡辅助性 T 细胞是由 Schaerli 和 Breifeld 在 2000 年发现的, 它属于一种特殊 CD4⁺ T 细胞亚群, 可促进 B 细胞成熟、决定 B 细胞分化为记忆 B 细胞或浆细胞, 同时调节抗体的产生与类别转换, 在维持免疫稳态方面发挥着关键作用。Tfh 细胞表面表达 CD4⁺CXCR5⁺PD-1⁺ICOS⁺, 并且分泌白细胞介素(interleukin, IL)-4, IL-21, CXCL-13 等。Tfh 细胞在破坏正常免疫功能和调节肿瘤细胞增殖方面发挥作用需进一步探索。

Tfh 细胞通过分泌不同的细胞因子并发挥特定的免疫功能。其中 IL-21 是参与产生 Tfh 细胞的关键细胞因子, 可通过自分泌方式上调 CXCR5 和 ICOS 的表达, 影响 Tfh 细胞和 B 细胞的相互作用, 从而促进 Tfh 细胞分化和功能发育[6]。Tfh 对 B 细胞的支持即主要通过 CD40L 和 IL-21 信号传导提供。IL-21 主要由活化的 CD4⁺ T 细胞、NK 细胞、Tfh 细胞、Th17 细胞分泌, 是一种多功能细胞因子[7], 它与由幼稚和生发中心 B 细胞表达的 IL-21R 结合, 二者形成复合物后通过包括 JAK-STAT、PI3K 和 MAPK 在内的通路进行转导, IL-21 和 BCR 在体外的组合通过 IL-21 诱导的 Blimp-1 的转录直接激活幼稚 B 细胞向浆细胞的分化。临床研究表明, IL-21 的异常表达和自身免疫性疾病在多种肿瘤的发生、发展中发挥重要作用[8]。

在包括 T 细胞, 自然杀伤(NK)细胞、调节性 T (Treg)细胞、r δ T 细胞和 B 细胞的许多免疫细胞亚群均在肿瘤微环境中产生 γ 干扰素(IFN- γ), IFN- γ 是一种可溶性二聚体细胞因子, 在免疫领域具有十分亮眼的表现, 在协调固有和适应性免疫反应中发挥重要作用[9]。随着对肿瘤微环境的深入研究, IFN- γ 似乎具有双重作用, 协调促肿瘤和抗肿瘤两种免疫反应[10]。IFN- γ 在肿瘤免疫中的作用或许取决于肿瘤特异性环境, 而在 CLL 肿瘤免疫中的作用及其潜在治疗意义需进一步探索。

2. 材料与方法

流式抗体 CD4-FITC、IL-21-PE、IFN- γ -FITC 及同型对照抗体、IgG1-FITC、IgG2a-PE 均购自美国 BD 公司, 抗体 PE-CXCR5 购自 Biolegend 公司; 高速离心机和酶标仪购自美国 Thermo 公司, FACS Arias II 流式细胞仪购自美国贝克曼公司。

3. 研究对象

将 2022 年 12 月至 2023 年 6 月期间于新疆医科大学第一附属医院血液科住院接受治疗的 30 例 CLL 患者作为研究对象, 所选病例诊断均符合《中国慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤的诊断与治疗指南(2022 年版)》, 选取同期健康体检者 20 例设为对照组。所有研究对象均签署知情同意书, 本研究经新疆医科大学第一医院伦理委员会审核同意。CLL 患者组共 30 例, 其中男性 20 例(66.7%), 女性 10 例(33.3%), 中位年龄 63.70 岁; 健康对照组共 20 例, 其中男性 9 名(57.5%), 女性 11 名(42.5%), 中位年龄 65.15 岁, CLL 患者和健康对照人群性别、年龄指标具有可比性($P > 0.05$) (表 1)。

Table 1. The general clinical formation of CLL group and control group

表 1. CLL 患者和对照组一般临床资料

临床指标	CLL 组	HC 组	t/χ^2	P
例数	30	20		
年龄	63.70 \pm 8.9	65.15 \pm 9.23	21	0.55
性别			0.67	0.674
男	20	9		
女	10	11		

续表

血红蛋白计数(g/L)	115.93 ± 28.5	118.00 ± 8.54	-0.31	0.76
血小板计数($\times 10^9/L$)	147.34 ± 62.86	278.65 ± 24.61	-4.5	0.000
淋巴细胞计数($\times 10^9/L$)	42.69 ± 56.29	1.11 ± 0.47	4.04	0.000

4. 标本采集

获取知情同意后, 分别采集 30 例 CLL 患者和 20 例健康对照者清晨空腹平卧位肘静脉血约 2 ml 于 EDTA 真空抗凝管, 并保存于 4℃ 冰箱中, 在 8 小时内进行相关检测, 否则弃用。

5. 流式细胞检测

流式细胞仪质控, 各通道 PASS, 取收集的样本全血 100 μ l 加入流式管, 在流式管中加入下列荧光标记抗体: CD4-FITC、CXCR5-PE 各 5 μ l, 并设同型对照, 室温避光孵育 15~30 分钟。裂解红细胞, 在装有破膜及固定好细胞的流式管中加入相应的 IL-21, IFN- γ 抗体, 同型对照管中分别加入 5 μ l IgG1-FITC、IgG2a-PE, 上机检测。使用 FACS Aria II 流式细胞仪(美国 BD 公司)进行数据采集, 将来自 20 名健康对照和 30 名 CLL 患者的血液样本采集到的数据应用 FlowJo 软件进行分析, 先以 FSC 和 SSC 设门圈出淋巴细胞, 再以 CD4 设亚门, 圈出 CD4⁺T 淋巴细胞, 在此基础上分析 CD4⁺CXCR5⁺Tfh 细胞百分比, 最后对 IL-21 和 IFN- γ 的这两种表达水平进行检测分析。

6. 统计学分析

实验所获数据采用 SPSS26.0 分析软件进行统计学处理。临床基本资料采用中位数(范围)、百分率表示, 用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)描述计量资料。临床各组计量数据经方差齐性检验(Levine 检验)后, 符合正态分布采用独立样本 *t* 检验, 非正态分布资料则采用非参数的检验, 认为 *P* < 0.05 具有统计学意义。

7. 结果

7.1. CLL 患者和 HC 组 Tfh 细胞及其分泌的 IL-21 和 IFN- γ 水平

我们通过流式细胞术分别测定了 CLL 患者和健康对照者外周血中 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh、IL-21⁻IFN- γ ⁺Tfh、IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh 水平如下图所示(见图 1)。

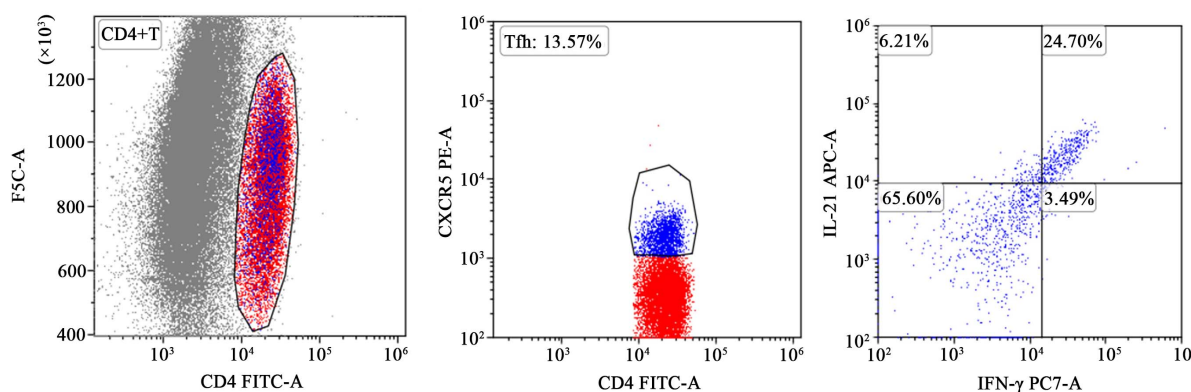


Figure 1. Flow chart of Tfh cells and the level of IL-21, IFN- γ in CLL group

图 1. CLL 组 Tfh 细胞及其分泌的 IL-21、IFN- γ 水平流式图

7.2. CLL 患者与健康对照组 Tfh 细胞比例差异

用流式细胞术检测 30 例 CLL 组和 20 例对照组外周血 Tfh 细胞百分比, 结果表明, CLL 组 Tfh 细胞比例为(14.95 ± 8.02)%, 健康组 Tfh 细胞比例为(7.67 ± 4.59)%, CLL 组外周血 Tfh 细胞水平显著高于对照组, 差异有统计学意义($t = -3.67, P < 0.05$) (见表 2, 图 2)。

Table 2. Tfh cell proportions between CLL group and healthy group (% , $\bar{x} \pm s$)

表 2. CLL 组及健康组 Tfh 细胞比例比较(% , $\bar{x} \pm s$)

	健康组	CLL 组	<i>t</i>	P
Tfh/CD4 ⁺ T 细胞(%)	7.67 ± 4.59	14.95 ± 8.02	-3.67	0.001

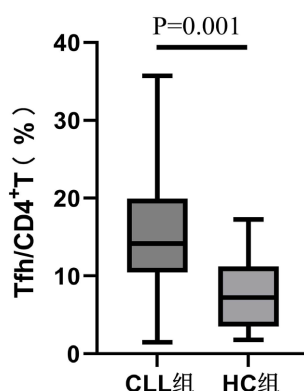


Figure 2. Difference of Tfh cell proportion in CLL and HC group

图 2. CLL 组和 HC 组 Tfh 细胞比例差异

7.3. CLL 患者及对照组 Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 的水平比较

用流式细胞术胞内染色法, CLL 患者外周血中 Tfh 细胞表达的 IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh 和 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh 比例高于 HC 组, 两组间具有统计学差异($P < 0.05$); 而 CLL 患者外周血中 Tfh 细胞表达的 IL-21⁻IFN- γ ⁺Tfh/Tfh 比例与 HC 组之间不具有统计学差异($P > 0.05$) (见表 3, 图 3)。

Table 3. The level of IL-21, IFN- γ expressed by Tfh cells (% , $\bar{x} \pm s$)

表 3. Tfh 细胞表达 IL-21 和 IFN- γ 水平(% , $\bar{x} \pm s$)

	CLL 组	HC 组	<i>t</i> 值	P 值
IL-21 ⁺ IFN- γ ⁺ Tfh/Tfh (%)	5.45 ± 2.58	3.51 ± 2.58	2.32	0.025
IL-21 ⁻ IFN- γ ⁺ Tfh/Tfh (%)	8.84 ± 5.48	6.55 ± 3.89	1.615	0.113
IL-21 ⁺ IFN- γ ⁻ Tfh/Tfh (%)	22.43 ± 6.61	18.49 ± 5.80	2.166	0.031

7.4. Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 水平在不同 CLL 临床指标分组间的比较

不同临床分组间分析结果显示, CLL 患者淋巴细胞高于均值组和淋巴结肿大组外周血中 IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh 细胞比例均较高($P < 0.05$), 而在不同血红蛋白水平、血小板水平、 β_2 微球蛋白水平及有无脾肿大组间无统计学差异($P > 0.05$); 而 CLL 患者淋巴细胞高于均值组和高 β_2 微球蛋白组的

IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh 细胞比例较高, 差异具有统计学意义(P < 0.05), 在其余不同血红蛋白水平、血小板水平等分组间无明显差异(P > 0.05) (见表 4)。

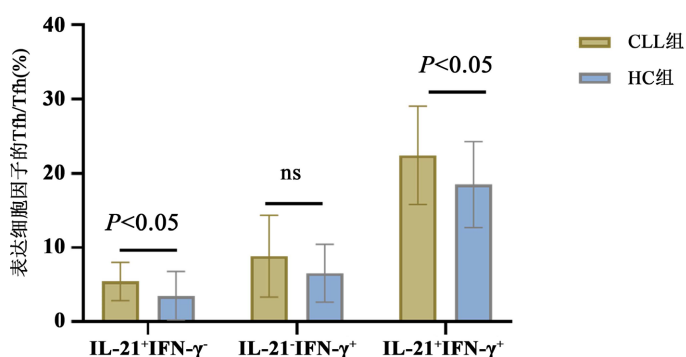


Figure 3. Expression levels of IL-21 and IFN- γ in CLL Group Tfh cell
图 3. CLL 患者 Tfh 细胞表达 IL-21 和 IFN- γ 水平

Table 4. Comparison of IL-21 and IFN- γ expression levels in CLL Tfh among different clinical groups (% , $\bar{x} \pm s$)

表 4. CLL 患者 Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 水平在不同临床指标分组间的比较(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-21 ⁺ IFN- γ ⁻ Tfh/Tfh (%)	t	P	IL-21 ⁺ IFN- γ ⁺ Tfh/Tfh (%)	t	P
血红蛋白(g/L)			-0.32	0.75		-0.95	0.34
低于均值	11	5.22 ± 2.49			20.91 ± 6.21		
高于均值	19	5.55 ± 2.69			23.31 ± 6.83		
血小板($\times 10^9$)			1.34	0.19		-0.61	0.55
低于均值	17	5.98 ± 2.48			21.78 ± 7.27		
高于均值	13	4.72 ± 2.62			23.27 ± 5.79		
淋巴细胞($\times 10^9$)			-0.33	0.03*		-2.38	0.02*
低于均值	21	5.33 ± 2.58			20.68 ± 5.94		
高于均值	9	5.68 ± 2.20			26.50 ± 6.56		
$\beta 2$ -MG (mg/L)			0.17	0.86		-0.65	0.04*
正常	18	5.50 ± 2.71			21.77 ± 6.78		
异常	12	5.33 ± 2.47			23.41 ± 6.49		
淋巴结肿大			-0.17	0.02*		-0.54	0.59
否	24	5.28 ± 2.75			22.09 ± 6.48		
是	6	6.02 ± 1.82			23.75 ± 7.55		
脾肿大			-0.67	0.51		0.47	0.63
是	6	4.80 ± 2.62			23.58 ± 8.63		
否	24	5.59 ± 2.60			22.14 ± 6.19		

注: *P < 0.05。

7.5. Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 水平在与临床分期及高危预后指标相关性

不同临床分期分组分析显示, CLL 患者外周血中 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh/Tfh 细胞比例在不同 Rai 分期、Binet

分期、IPI 评分、有无 IGHV 突变间无统计学差异($P > 0.05$); IPI 指数为高危、极高危组及无 IGHV 突变组的 CLL 患者外周血 IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh/Tfh 细胞比例较高, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 在其余不同临床分期分组间无明显差异($P > 0.05$) (见表 5)。

Table 5. The correlation between the expression of IL-21, IFN- γ levels in Tfh cells and clinical staging and high-risk indicators (% , $\bar{x} \pm s$)

表 5. Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 水平比例与临床分期及高危指标相关性(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-21 ⁺ IFN- γ ⁺ Tfh/Tfh (%)	<i>t</i>	P	IL-21 ⁺ IFN- γ ⁺ Tfh/Tfh (%)	<i>t</i>	P
Rai 分期			-1.37	0.181		-1.37	0.560
0 期	4	3.46 ± 2.73			24.26 ± 8.57		
I~IV 期	26	5.37 ± 2.56			22.14 ± 6.42		
Binet 分期			-0.81	0.421		-0.52	0.609
A 期	7	4.73 ± 2.70			21.28 ± 5.97		
B~C 期	23	5.65 ± 2.57			22.77 ± 6.87		
IPI 指数			-0.88	0.382		-2.19	0.036*
低、中危	21	5.16 ± 2.71			19.58 ± 4.55		
高、极高危	9	6.08 ± 2.62			23.66 ± 4.92		
IGHV 突变			-0.78	0.438		-1.98	0.030*
阳性	10	4.90 ± 2.44			19.19 ± 4.52		
阴性	20	5.69 ± 2.66			24.04 ± 6.97		

注: * $P < 0.05$ 。

8. 讨论

慢性淋巴细胞白血病不同患者的预后呈高度异质性[11]。CLL 的病因和发病机制尚不明确, 由单克隆 B 淋巴细胞增多症(MBL), 最终演变为 CLL 是由遗传学、表观遗传异常、B 细胞受体(BCR)通路异常、肿瘤微环境和 T 细胞因素共同决定的[12]。目前采用传统免疫化疗和新的靶向抑制剂等治疗方案, 取得一定疗效。CLL 患者机体内存在 T 细胞亚群构成比例失衡、功能失调所造成免疫功能失衡可能是 CLL 进展的重要原因之一。

尽管基因改变在 CLL 的发病机制中起着关键作用, 但有研究表明, CLL B 细胞(B-CLL)与辅助性 T 细胞的相互作用对 B-CLL 的增殖和促进其对细胞凋亡的抵抗至关重要[3]。每个 CD4⁺ T 细胞亚群在 CLL 发病机制中的意义仍存在争议。

在 Th 亚群中, 辅助性 T 卵泡细胞(Tfh)是支持生发中心(GC)B 细胞分化和存活的主要亚群[13]。Tfh 细胞的分化经过几个阶段, 在黏附分子 CCR7 和 CCL21 的共同作用下, 原始 T 细胞迁徙到淋巴结副皮质区, 树突状细胞(dendritic cells, DCs)或巨噬细胞(Macrophage cells)刺激 T 细胞, 下调 CCR7, 上调 C-X-C 趋化因子受体 5 (C-X-C motif chemokine receptor type 5, CXCR-5), 分化为 Tfh 细胞。B 细胞淋巴瘤 6 蛋白的(Bcl-6)是 Tfh 细胞的主要转录因子。在 CXC 趋化因子配体 13 (chemokine C-X-C motif ligand 13, CXCL13)的作用下, CXCR5 介导 Tfh 细胞迁移至淋巴滤泡 T-B 细胞交界处并与 B 细胞相互作用, B 细胞表面的 SLAM (signalling lymphocytic activation molecule, SLAM)和 T 细胞表面的 SLAM 相关蛋白(SLAM-associated protein, SAP)相互作用形成稳定的 T-B 细胞连接[13]。目前对 Tfh 细胞在不同类型恶性血液病中的作用研究侧重点不同。Tfh 细胞在淋巴瘤、多发性骨髓瘤患者的相关研究中比例升高[14] [15] [16] [17] [18], 但

其在骨髓增生异常综合征患者比例却偏低[19] [20]。各种疾病中 Tfh 细胞亚群比例不同, 并且在疾病进展或治疗各阶段, 其比例表现出动态变化。

许多研究报告了 CLL 患者中 T 细胞亚群和功能的异常, 如先前的一项报道, 在 CLL 患者中 CD4⁺ T 细胞中 Th1 细胞的百分比高于 HD 患者, 而在任何其他亚群(Th2、Th17 或 Treg)却没有明显差异[21]; 本研究通过流式细胞术对 CLL 患者外周血中滤泡辅助性 T 细胞这一亚群比例进行了分析, 结果与 WU X 等人的研究一致, CLL 患者的外周血中 Tfh 细胞异常升高。既往有研究讨论了 Tfh 细胞与患者免疫状态和肿瘤负荷以及临床高危指标的关系, 发现 CLL 患者外周血中 Tfh 细胞百分比随着 Rai 分期的增加而增加, 在该报道中还提到了 Tfh 细胞水平与 IGHV 突变状态缺乏关联, 据此推测 Tfh 细胞的比例的改变或许可以作为 CLL 中反映淋巴组织受累严重程度和疾病进展的替代生物标志物。

为进一步探讨在 CLL 患者中 Tfh 细胞的细胞因子分泌特点, 本研究采用流式细胞术胞内染色法分析 CLL 患者的细胞因子 IL-21 及 IFN- γ 表达水平, 目前已经发现 IL-21 的主要来源是 Tfh 细胞、Th17 和调节性 T (Treg) 细胞。在许多报道中, Tfh 细胞部分以依赖 IL-21 的方式促进异常 GC 反应, 并增强浆细胞自身抗体的产生作用, 并且也作用于免疫球蛋白类别转换[22] [23]。

对于在 CLL 中 IL-21 这一靶点的研究及其免疫作用机制的研究尚不充分。本研究发现与对照组相比, CLL 患者 Tfh 产生的 IL-21 水平升高, 并且 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh、IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh 的比例与在单克隆 B 淋巴细胞计数较高组中呈高表达, 而与血红蛋白计数、血小板计数、脾大无明显相关性, 这些数据表明这两种细胞因子在诱导 CLL 肿瘤细胞扩增中可能有意义。这一结果与 Pascutti MF 的研究一致, 在 CLL 患者中产生 IL-21 的 T 淋巴细胞有助于恶性 B 细胞增殖, 并且在 CLL 患者淋巴结中也检测到 IL-21 水平升高[24]。IL-21 对 B-CLL 细胞的增殖是关键性的, 有报道 IL-21 诱导 CLL 肿瘤细胞存活率增加[25], IL-21 可能是抗肿瘤免疫相关的关键细胞因子, 而 IFN- γ 对 B-CLL 细胞生长没有直接影响, 推测由 Tfh 细胞介导的 CLL 肿瘤增殖是依赖于 IL-21, 而不依赖于 IFN- γ 的产生。类似的发现, 有淋巴结肿大的 CLL 患者外周血中 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh 水平较无淋巴结肿大的患者高, 因此, 本研究的数据也支持 IL-21⁺Tfh 细胞参与 CLL 疾病的进展, 这为将来使用抗 IL-21 或阻断 IL-21R 为未来的 IL-21 靶向治疗提供了线索。

IFN- γ 是近 60 余年发现的 II 型干扰素家族中唯一的成员, IFN- γ 可通过 IFN- γ 受体传导信号, 磷酸化 STAT1 和上调 B 细胞中的 T-bet 来诱导 GC 的形成[26]。IFN- γ 是一种多效性细胞因子, 在协调先天免疫反应和适应性免疫反应方面发挥着重要作用。有研究认为 IFN- γ 在体外已被证明可直接抑制 B-CLL 细胞凋亡, 血浆 IFN- γ 或 IFN- γ 在 B-CLL 细胞水平上的表达与疾病进展相关[27] [28], 但本研究中的数据提示 CLL 患者与对照组 Tfh 细胞表达的 IFN- γ 未见明显差异, IL-21⁻IFN γ ⁺Tfh 的比例与肿瘤负荷无相关性, 推测 CLL-Tfh 不以依赖 IFN- γ 的方式诱导 CLL 患者肿瘤细胞增殖。

在不同 CLL 临床分期及高危指标分组间 Tfh 细胞表达 IL-21、IFN- γ 水平, IPI 指数评估预后低危、中危组 CLL 患者组外周血中 IL-21⁺IFN- γ ⁺Tfh 细胞比例比 IPI 指数评估预后高危、极高危组高, 二者差异有统计学意义, 但 IL-21⁺IFN- γ ⁻Tfh 细胞比例在两组中无明显差异, 提示这两种细胞因子协同作用, 与 CLL 患者不良预后相关。然而 Tfh 细胞 IL-21 和 IFN- γ 的表达水平在不同 Rai 和 Binet 分期中均未见明显差异, 或许与使用单独的预后评估方式具有局限性有关。

综上, 本研究表明, CLL 患者 Tfh 细胞及其分泌的细胞因子 IL-21、IFN- γ 高表达, Tfh 细胞的积累及 IL-21 与 B-CLL 克隆增殖相关, 可能有助于支持 CLL 细胞的增殖、参与 CLL 的免疫发病机制, 可以作为评估 CLL 患者分期及预后评估的参考指标。IFN- γ 在其中的作用尚不明确, 经过治疗后 Tfh 细胞的比例失衡是否有所扭转还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会, 中华医学会血液学分会, 中国慢性淋巴细胞白血病工作组. 中国慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤的诊断与治疗指南(2022年版)[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(5): 353-358.
- [2] Hallek, M. (2015) Chronic Lymphocytic Leukemia: 2015 Update on Diagnosis, Risk Stratification, and Treatment. *American Journal of Hematology*, **90**, 446-460. <https://doi.org/10.1002/ajh.23979>
- [3] O'Donnell, A., Pepper, C., Mitchell, S. and Pepper, A. (2023) NF-KB and the CLL Microenvironment. *Frontiers in Oncology*, **13**, Article ID: 1169397. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1169397>
- [4] Miller, K.D., Nogueira, L., Devasia, T., Mariotto, A.B., et al. (2022) Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **72**, 409-436. <https://doi.org/10.3322/caac.21731>
- [5] Law, H., Venturi, V., Kelleher, A., et al. (2020) Tfh Cells in Health and Immunity: Potential Targets for Systems Biology Approaches to Vaccination. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article No. 8524. <https://doi.org/10.3390/ijms21228524>
- [6] Crotty, S. (2019) T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. *Immunity*, **50**, 1132-1148. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.04.011>
- [7] Ghalamfarsa, G., Mahmoudi, M., Mohammadnia-Afrouzi, M., et al. (2016) IL-21 and IL-21 Receptor in the Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis. *Immunotoxicology*, **3**, 274-285. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2015.1089343>
- [8] Pallikkuth, S., Parmigiani, A. and Pahwa, S. (2012) Role of IL-21 and IL-21 Receptor on B Cells in HIV Infection. *Critical ReviewsTM in Immunology*, **32**, 173-195. <https://doi.org/10.1615/CritRevImmunol.v32.i2.50>
- [9] Mendoza, J.L., Escalante, N.K., Jude, K.M., et al. (2019) Structure of the IFN γ Receptor Complex Guides Design of Biased Agonists. *Nature*, **567**, 56-60. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0988-7>
- [10] Jorgovanovic, D., Song, M., Wang, L., et al. (2020) Roles of IFN- γ in Tumor Progression and Regression: A Review. *Biomarker Research*, **8**, Article No. 49. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00228-x>
- [11] Hallek, M., Cheson, B.D., et al. (2018) iwCLL Guidelines for Diagnosis, Indications for Treatment, Response Assessment, and Supportive Management of CLL. *Blood*, **131**, 2745-2760. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-09-806398>
- [12] Bosch, F. and Dalla-Favera, R. (2019) Chronic Lymphocytic Leukemia: From Genetics to Treatment. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **11**, 684-701. <https://doi.org/10.1038/s41571-019-0239-8>
- [13] Roessner, P.M. and Seiffert, M. (2020) T-Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia: Guardians or Drivers of Disease? *Leukemia*, **34**, 2012-2024. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0873-2>
- [14] Witalis, M., Chang, J., Zhong, M.C., et al. (2020) Progression of AITL-Like Tumors in Mice Is Driven by Tfh Signature Proteins and T-B Cross Talk. *Blood Advances*, **4**, 868-879. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019001114>
- [15] 郑静, 张祝, 陈永红, 等. Tfh/Tfr 细胞失衡在 B 细胞淋巴瘤患者中的临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(5): 1510-1516.
- [16] Garcia-Lacarte, M., Grijalba, S.C., Melchor, J., et al. (2021) The PD-1/PD-L1 Checkpoint in Normal Germinal Centers and Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Cancers (Basel)*, **13**, Article No. 4683. <https://doi.org/10.3390/cancers13184683>
- [17] Carreras, J., Lopez-Guillermo, A., Kikuti, Y.Y., et al. (2019) High TNFRSF14 and Low BTLA Are Associated with Poor Prognosis in Follicular Lymphoma and in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Transformation. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*, **59**, 1-16. <https://doi.org/10.3960/jslrt.19003>
- [18] 赵叶梅. 多发性骨髓瘤 Tfh 细胞及 PD-1 表达[D]: [硕士学位论文]. 兰州: 兰州大学, 2019.
- [19] Ye, C., Xu, Y., Wang, Z., et al. (2022) Role of Tfh17 Cells in Patients with Multiple Myeloma. *Hematology*, **27**, 820-825. <https://doi.org/10.1080/16078454.2022.2106400>
- [20] Jiang, H., Cui, N., Yang, L., et al. (2017) Altered Follicular Helper T Cell Impaired Antibody Production in a Murine Model of Myelodysplastic Syndromes. *Oncotarget*, **8**, 98270-98279. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21548>
- [21] 刘卉, 曹慧琴, 赵建强. 骨髓增生异常综合征患者外周血循环 Tfh 细胞变化及与 B 细胞功能异常的关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(4): 1196-1200.
- [22] Wu, X., Fajardo-Despaigne, J.E., Zhang, C., et al. (2021) Altered T Follicular Helper Cell Subsets and Function in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 674492. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.674492>
- [23] Choi, J.-Y., et al. (2017) Disruption of Pathogenic Cellular Networks by IL-21 Blockade Leads to Disease Amelioration in Murine Lupus. *Immunology*, **198**, 2578-2588. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601687>
- [24] Mitsdoerffer, M., et al. (2010) Proinflammatory T Helper Type 17 Cells Are Effective B-Cell Helpers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 14292-14297.

-
- <https://doi.org/10.1073/pnas.1009234107>
- [25] Le Saos-Patrinou, C., Loizon, S., Zouine, A., *et al.* (2023) Elevated Levels of Circulatory Follicular T Helper Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia Contribute to B Cell Expansion. *Journal of Leukocyte Biology*, **113**, 305-314. <https://doi.org/10.1093/jleuko/qjad006>
- [26] Domeier, P.P., Chodisetti, S.B., Soni, C., *et al.* (2016) IFN γ Receptor and STAT1 Signaling in B Cells Are Central to Spontaneous Germinal Center Formation and Autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*, **213**, 715-732. <https://doi.org/10.1084/jem.20151722>
- [27] Os, A., Burgler, S., Ribes, A.P., *et al.* (2013) Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Are Activated and Proliferate in Response to Specific T Helper Cells. *Cell Reports*, **4**, 566-577. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.07.011>
- [28] Burgler, S., Gimeno, A., Parente-Ribes, A., *et al.* (2015) Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Express CD38 in Response to Th1 Cell Derived IFN- γ by a T-Bet-Dependent Mechanism. *Immunology*, **194**, 827-835. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401350>