

· 临床研究 ·

## 伴FLT3突变的急性髓系白血病患者淋巴细胞亚群和细胞因子的表达水平及意义

陈洋<sup>1</sup>, 谢研研<sup>2</sup>, 方玉<sup>1</sup>, 周璇<sup>1</sup>, 张文静<sup>1</sup>, 钱思轩<sup>3</sup>, 师锦宁<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学附属江宁医院血液内科, <sup>2</sup>输血科, 江苏 南京 211100; <sup>3</sup>南京医科大学第一附属医院血液内科, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:探讨伴FMS样酪氨酸激酶3受体(FMS like tyrosine kinase 3 receptor, FLT3)突变的初诊急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者外周血淋巴细胞亚群、细胞因子表达水平及其与血细胞计数、突变类型之间的相关性。方法:168例伴FLT3突变的AML患者纳入研究,进一步对FLT3突变类型进行分类,收集患者治疗前外周血淋巴细胞亚群、细胞因子数据及血细胞计数,分析其之间的相关性。结果:与健康对照组相比,伴FLT3突变的AML患者治疗前外周血CD4、白介素6(interleukin 6, IL-6)、IL-10表达水平升高,CD8、CD16+CD56、IL-2、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、干扰素- $\gamma$ (interferon gamma, IFN- $\gamma$ )表达水平下降。按白细胞计数分组,CD3、CD4、CD8、CD19、IL-4、IL-10在组间分布差异具有统计学意义( $P=0.039$ 、 $P=0.024$ 、 $P=0.034$ 、 $P=0.008$ 、 $P=0.048$ 、 $P=0.024$ );按血小板计数分组,CD19、CD16+CD56在组间分布差异具有统计学意义( $P=0.030$ 、 $P=0.045$ )。按FLT3类型分组,分为FLT3-ITD<sup>+</sup>、FLT3-TKD<sup>+</sup>、FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)和FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)组,CD3、CD8、CD19、IL-10、TNF在4组间分布差异具有统计学意义( $P=0.046$ 、 $P=0.048$ 、 $P=0.041$ 、 $P=0.042$ 、 $P=0.013$ )。结论:伴FLT3突变AML患者的血细胞计数及FLT3突变类型与淋巴细胞亚群和细胞因子的表达水平有关,可能有助于AML危险分层并对AML患者的预后有一定影响。

**[关键词]** 急性髓系白血病;FMS样酪氨酸激酶3受体;淋巴细胞亚群;细胞因子;血细胞计数

**[中图分类号]** R557.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2024)04-499-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNSN230565

## Expression and significance of lymphocyte subgroups and cytokines in acute myeloid leukemia patients with FLT3 mutations

CHEN Yang<sup>1</sup>, XIE Yanyan<sup>2</sup>, FANG Yu<sup>1</sup>, ZHOU Xuan<sup>1</sup>, ZHANG Wenjing<sup>1</sup>, QIAN Sixuan<sup>3</sup>, SHI Jinning<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, <sup>2</sup>Department of Blood Transfusion, the Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211100; <sup>3</sup>Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the peripheral blood lymphocyte subsets and cytokine expression levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia(AML)patients with FMS like tyrosine kinase 3 receptor(FLT3)mutations, and their correlation with blood cell counts and mutation types. **Methods:** A total of 168 AML patients with FLT3 mutations were included in the study. The FLT3 mutation types were further classified, and the lymphocyte subsets, cytokines and blood cell count in peripheral blood of patients before treatment were collected to analyze their correlation. **Results:** Compared with the healthy control group, the expression levels of CD4, interleukin 6 (IL-6), and IL-10 in peripheral blood of patients with FLT3 mutations were increased before treatment, while the expression levels of CD8, CD16+CD56, IL-2, tumor necrosis factor (TNF), and interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) were decreased. According to leukocyte count, the distributions of CD3, CD4, CD8, CD19, IL-4 and IL-10 were different among the groups( $P=0.039$ ,  $P=0.024$ ,  $P=0.034$ ,  $P=0.008$ ,  $P=0.048$ ,  $P=0.024$ ). According to platelet count, the distributions of CD19, CD16+CD56 were different among groups ( $P=0.030$ ,  $P=0.045$ ). It can be divided into FLT3-ITD<sup>+</sup>、FLT3-TKD<sup>+</sup>、FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)and FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>).

**[基金项目]** 南京市医学科技发展项目(YKK20200);南京医科大学附属江宁医院免疫细胞转化研究中心(JNYYZXKY292214)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: jnyysjn1015@126.com

The distributions of CD3, CD8, CD19, IL-10 and TNF were different among the four groups ( $P=0.046$ ,  $P=0.048$ ,  $P=0.041$ ,  $P=0.042$ ,  $P=0.013$ ). **Conclusion:** The blood cell counts and FLT3 mutation types of AML patients are associated with the expression levels of lymphocyte subsets and cytokines. This may contribute to the risk stratification of AML and have a certain impact on the prognosis of AML patients.

[Key words] acute myeloid leukemia; FMS like tyrosine kinase 3 receptor; lymphocyte subgroups; cytokines; blood cell count

[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(04): 499-504]

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是血液科常见的恶性血液病之一,其发病机制复杂,具有高度异质性,其中,细胞免疫功能异常是其中的重要机制之一,且AML患者自身免疫功能紊乱与疾病的发展过程具有相关性<sup>[1]</sup>。随着分子生物学的发展,AML患者的基因突变越来越受到人们的重视,其中FMS样酪氨酸激酶3受体(FMS like tyrosine kinase 3 receptor, FLT3)基因突变已成为评估AML预后的重要分子标志<sup>[2]</sup>,其突变主要分为内部串联重复序列(internal tandem duplication, ITD)突变和酪氨酸激酶结构域(tyrosine kinase domain, TKD)点突变及其他类型的突变<sup>[3-4]</sup>。近年来多有报道淋巴细胞亚群及细胞因子在AML患者中的意义,在AML患者中淋巴细胞亚群紊乱,有研究指出在初治AML患者中CD4<sup>+</sup>T细胞表达水平升高,CD8<sup>+</sup>T细胞表达水平下降<sup>[5-6]</sup>;细胞因子如白介素6(interleukin 6, IL-6)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等在AML患者中呈现出高表达状态,且预后不良<sup>[7-8]</sup>。本研究结合血细胞计数,分析伴FLT3突变患者的细胞因子及淋巴细胞亚群的相关性,探索AML患者的发病机制及实验室指标的临床意义。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

选取2017年1月—2022年12月南京医科大学附属江宁医院及南京医科大学第一附属医院收治的168例初治无感染的伴FLT3基因突变的AML(不包含急性早幼粒细胞白血病)患者,其中,男98例,女70例,中位年龄51(18~82)岁。选取40例健康体检者纳入健康对照组,男22例,女18例,中位年龄39(20~70)岁。本研究通过南京医科大学附属江宁医院伦理委员会批准(伦理号:2023-03-069-K01),并知情同意。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 FLT3突变检测

抽取AML患者骨髓,采用裂解红细胞方法得到单个核细胞,通过QIAamp<sup>®</sup> DNA Blood mini kit试剂盒(货号51104, Qiagen公司,美国)提取基因组

DNA,利用Ion Torrent S5 NGS测序平台对患者FLT3进行靶向扩增子法深度测序,平均测序深度2 000×以上,平均突变检出灵敏度3%,并用PCR-毛细管电泳法验证检测FLT3-ITD突变。

#### 1.2.2 细胞因子表达水平检测

收集健康对照组及AML患者治疗前外周血约2 mL, 2 000 r/min离心20 min,获得约0.5 mL血浆,4℃保存,使用酶联免疫吸附法及配套试剂盒(上海酶联生物,货号ml063122)检测血清IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF、干扰素- $\gamma$ (interferon gamma, IFN- $\gamma$ )。

#### 1.2.3 淋巴细胞亚群检测

收集健康对照组及AML患者治疗前外周血2 mL,分别取100  $\mu$ L外周血加入2个试管,与5  $\mu$ L 4色抗体(CD3FITC/CD8PE/CD45Percp/CD4APC; CD3FITC/CD16+56PE/CD45Percp/CD19APC)(Beckman Coulter公司,加拿大)室温下避光孵育30 min,加入红细胞裂解液2 mL,避光孵育10 min,1 200 r/min离心5 min,弃去上清,加PBS 3 mL,洗1次弃上清,加500  $\mu$ L PBS悬浮细胞。T淋巴细胞(CD3)、T辅助性细胞亚群(CD4)、T抑制性细胞亚群(CD8)以及总B淋巴细胞(CD19)和NK细胞(CD16+CD56)通过BD流式细胞仪(BD公司,美国)、BD FACS Canto临床计算软件进行分析。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 24.0软件及GraphPad Prism 5统计软件进行数据分析;符合正态分布的计量资料以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,偏态分布资料以中位数(四分位数)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示;外周血淋巴细胞亚群、细胞因子表达水平与健康对照组比较采用独立样本 $t$ 检验,不同分组间的淋巴细胞亚群、细胞因子表达水平比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 伴FLT3突变的AML患者淋巴细胞亚群的表达水平

与健康对照组比较,治疗前患者外周血CD3、

CD19表达水平差异无统计学意义(图1A、E); CD4表达水平升高( $P < 0.001$ , 图1B); CD8、CD16<sup>+</sup>CD56表达水平降低( $P=0.036$ ,  $P=0.002$ , 图1C、D)。

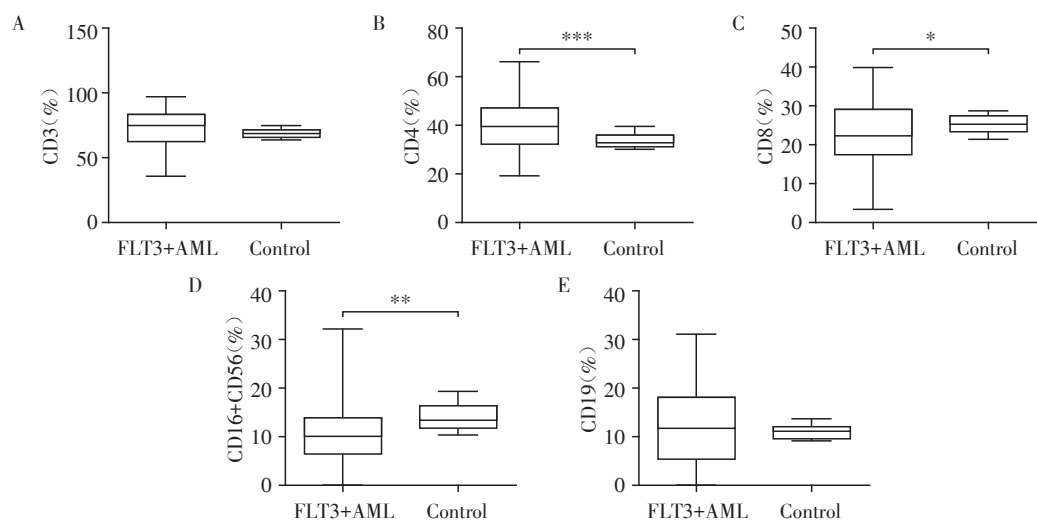
### 2.2 伴FLT3突变的AML患者细胞因子的表达水平

治疗前患者外周血IL-4表达水平与健康对照组比较差异无统计学意义(图2A); IL-6、IL-10表达水平较健康对照组升高( $P < 0.001$ ,  $P=0.015$ , 图2B、C); IL-2、TNF、IFN- $\gamma$ 表达水平较健康对照组降低( $P=0.008$ ,  $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ , 图2D~F)。

### 2.3 不同血细胞分组下的淋巴细胞亚群表达水平

按白细胞计数(white blood cell count, WBC)分

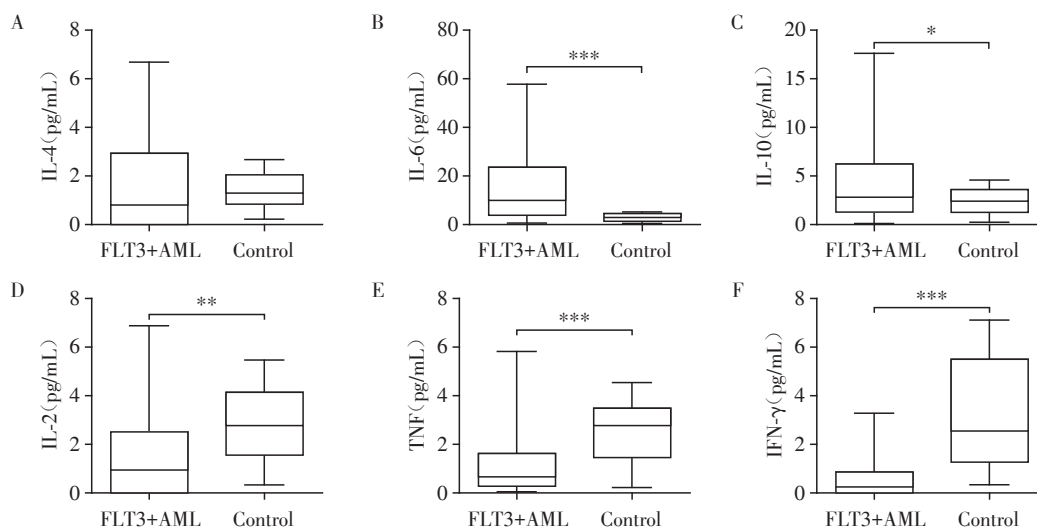
组, 分为  $WBC < 4 \times 10^9$  个/L、 $4 \times 10^9$  个/L  $\leq WBC \leq 10 \times 10^9$  个/L 和  $10 \times 10^9$  个/L  $< WBC$  3组, CD3、CD4、CD8、CD19在组间分布差异均具有统计学意义( $P=0.039$ 、 $P=0.024$ 、 $P=0.034$ 、 $P=0.008$ ),  $4 \times 10^9$  个/L  $\leq WBC \leq 10 \times 10^9$  个/L 和  $10 \times 10^9$  个/L  $< WBC$  两组比较, CD3、CD8、CD19在组间表达不同;  $WBC < 4 \times 10^9$  个/L 和  $10 \times 10^9$  个/L  $< WBC$  两组比较, CD4在组间表达不同; 按血小板(platelet, PLT)计数分组, 分为  $PLT < 30 \times 10^9$  个/L、 $30 \times 10^9$  个/L  $\leq PLT < 80 \times 10^9$  个/L 和  $80 \times 10^9$  个/L  $\leq PLT$  3组, CD19、CD16+CD56在组间分布差异具有统计学意义( $P=0.030$ 、 $P=0.045$ ),  $30 \times 10^9$  个/L  $\leq PLT <$



A-E: Comparison of CD3(A), CD4(B), CD8(C), CD16+CD56(D), CD19(E) expression levels between FLT3+AML and the control groups. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=150$ ).

图1 伴FLT3突变的AML患者淋巴细胞亚群的表达水平

Figure 1 The expression levels of lymphocyte subsets in AML patients with FLT3 mutations



A-F: Comparison of IL-2(A), IL-4(B), IL-6(C), IL-10(D), TNF(E), IFN- $\gamma$ (F) expression levels between FLT3+AML and the control groups. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  ( $n=126$ ).

图2 伴FLT3突变的AML患者细胞因子的表达水平

Figure 2 The expression levels of cytokine in AML patients with FLT3 mutations

80×10<sup>9</sup>个/L和80×10<sup>9</sup>个/L≤PLT两组比较,CD19、CD16+CD56在组间表达不同。血红蛋白(hemoglobin, Hb)组间指标差异无统计学意义(表1)。

2.4 不同血细胞分组下的细胞因子表达水平  
按白细胞计数分组,分为WBC<4×10<sup>9</sup>个/L、4×10<sup>9</sup>个/L≤WBC≤10×10<sup>9</sup>个/L和10×10<sup>9</sup>个/L<WBC 3组,

表1 不同血细胞分组下的淋巴细胞亚群表达水平

Variable	CD3	CD4	CD8	CD16+CD56	CD19
WBC(×10 <sup>9</sup> /L)					
<4	74.22 ± 2.15	43.97 ± 1.74 <sup>#</sup>	25.95 ± 1.35	11.38 ± 1.07	11.82 ± 1.35
4-10	75.59 ± 2.32 <sup>*</sup>	39.62 ± 2.05	30.87 ± 2.28 <sup>*</sup>	13.06 ± 2.12	9.25 ± 1.21 <sup>**</sup>
>10	68.43 ± 1.72	38.05 ± 1.25	24.26 ± 1.21	12.58 ± 1.04	16.49 ± 1.41
<i>P</i>	0.040	0.024	0.034	0.718	0.008
Hb(g/L)					
<60	67.04 ± 3.35	39.64 ± 2.54	22.25 ± 1.50	12.77 ± 2.84	16.76 ± 2.35
60-90	74.56 ± 1.79	42.01 ± 1.35	26.96 ± 1.30	12.09 ± 1.07	11.37 ± 1.25
≥90	69.10 ± 1.87	37.88 ± 1.47	25.73 ± 1.51	12.38 ± 0.89	15.85 ± 1.57
<i>P</i>	0.443	0.129	0.187	0.950	0.051
PLT(×10 <sup>9</sup> /L)					
<30	70.04 ± 2.41	38.22 ± 1.87	25.47 ± 1.70	12.74 ± 1.46	14.60 ± 1.68
30-80	69.88 ± 2.18	39.99 ± 1.63	24.48 ± 1.39	9.93 ± 0.87 <sup>▽</sup>	17.07 ± 2.01 <sup>▽</sup>
≥80	72.78 ± 1.89	40.98 ± 1.45	26.87 ± 1.48	14.05 ± 1.35	11.28 ± 1.11
<i>P</i>	0.533	0.498	0.505	0.045	0.030

Compared with the WBC>10×10<sup>9</sup>/L group, <sup>\*</sup>*P* < 0.05, <sup>\*\*</sup>*P* < 0.01; compared with the WBC>10×10<sup>9</sup>/L group, <sup>#</sup>*P* < 0.05; compared with the PLT≥80×10<sup>9</sup>/L group, <sup>▽</sup>*P* < 0.05.

IL-4、IL-10在组间分布差异具有统计学意义(*P*=0.048、*P*=0.024),WBC<4.0×10<sup>9</sup>个/L和10×10<sup>9</sup>个/L<WBC两组比较,IL-4、IL-10在组间表达不同;4×10<sup>9</sup>个/L≤WBC≤10×10<sup>9</sup>个/L和10×10<sup>9</sup>个/L<WBC,两组比较,IL-4、IL-10在组间表达不同;余指标在白细胞,血红蛋白和血小板组表达水平差异无统计学意义(表2)。

2.5 不同FLT3突变分组下的淋巴细胞亚群表达水平

按FLT3类型进行分组,分为FLT3-ITD<sup>+</sup>、FLT3-TKD<sup>+</sup>、FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)和FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>),CD3、CD8、CD19在4组间分布具有差异性(*P*=0.046、*P*=0.048、*P*=0.041),FLT3-ITD<sup>+</sup>和FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)两组比较,CD3、CD19在组间表达不同;FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)和FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)两组比较,CD8在组间表达不同,FLT3-ITD<sup>+</sup>和FLT3-TKD<sup>+</sup>两组比较,CD19在组间表达不同(表3)。

2.6 不同FLT3突变分组下的细胞因子表达水平

IL-10、TNF在FLT3-ITD<sup>+</sup>、FLT3-TKD<sup>+</sup>、FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)和FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)4组间分布差异具有统计学意义(*P*=0.042、*P*=0.013),FLT3-ITD<sup>+</sup>、FLT3-TKD<sup>+</sup>、FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)分别和FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)组比较,IL-10、TNF在组间表达不同,差异均

有统计学意义(表4)。

3 讨论

FLT3基因在AML患者中突变发生率约为30%,常提示预后不良<sup>[2-3]</sup>,FLT3突变的AML患者临床上治疗疗效异质性很强,其原因仍需进一步研究。在AML患者的发病过程中,细胞免疫参与了其过程,并对患者的预后有着重要的影响<sup>[1]</sup>。

在AML的肿瘤免疫微环境中,淋巴细胞亚群起着重要作用,CD4<sup>+</sup>T细胞可被分为辅助性T细胞1(T helper 1 cell, Th1)、辅助性T细胞2(T helper 2 cell, Th2)等,Th1细胞通过分泌IL-2、IFN-γ和TNF等细胞因子介导细胞免疫,Th2细胞通过分泌IL-4、IL-6和IL-10等细胞因子介导体液免疫,通过促进机体B细胞产生抗体,发挥抗病原体等作用<sup>[9]</sup>。CD8<sup>+</sup>T细胞通常以直接杀伤特定靶细胞的方式来发挥抗免疫及抗肿瘤的作用,CD8<sup>+</sup>T细胞比例升高,机体常表现为免疫功能增强,CD8<sup>+</sup>T细胞比例降低,机体免疫功能相对性地减弱<sup>[10-11]</sup>。NK-T细胞一方面具备T淋巴细胞的抗肿瘤作用,另一方面具有非主要组织相容性复合体限制性抗肿瘤特点<sup>[12]</sup>。既往研究指出,在初发AML患者中CD4<sup>+</sup>T细胞表达水平增高,

表2 不同血细胞分组下的细胞因子表达水平

Table 2 The expression levels of cytokine under different blood cell groups [M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

Variable	IL-2(pg/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-10(pg/mL)	TNF(pg/mL)	IFN-γ(pg/mL)
WBC(×10 <sup>9</sup> /L)						
<4	0.60(0.01, 1.49)	0.10(0.01, 1.22) <sup>##</sup>	7.80(4.61, 13.06)	1.44(0.99, 3.37) <sup>##</sup>	0.54(0.34, 0.72)	0.07(0.01, 0.37)
4-10	1.20(0.05, 1.63)	0.74(0.01, 1.26) <sup>*</sup>	8.80(4.12, 10.81)	1.99(1.21, 2.61) <sup>*</sup>	0.75(0.10, 1.18)	0.65(0.12, 1.06)
>10	1.10(0.01, 3.20)	1.20(0.01, 3.71)	10.55(4.80, 37.44)	4.59(1.51, 7.62)	0.92(0.47, 1.96)	0.53(0.01, 0.90)
P	0.262	0.048	0.342	0.024	0.202	0.216
Hb(g/L)						
<60	1.71(0.01, 4.28)	0.69(0.01, 2.14)	4.56(3.10, 6.22)	1.98(1.52, 3.65)	0.71(0.54, 1.11)	0.59(0.20, 0.98)
60- <sup>&lt;</sup> 90	1.30(0.13, 2.58)	1.17(0.06, 3.18)	9.19(3.88, 14.77)	2.91(1.49, 6.21)	0.75(0.26, 1.20)	0.42(0.01, 0.87)
≥90	0.23(0.01, 1.50)	0.23(0.01, 1.76)	13.21(5.59, 41.57)	1.81(0.86, 4.99)	0.53(0.29, 1.75)	0.17(0.01, 0.83)
P	0.302	0.508	0.210	0.770	0.754	0.946
PLT(×10 <sup>9</sup> /L)						
<30	1.10(0.05, 2.30)	1.48(0.24, 4.03)	7.80(4.22, 18.85)	2.91(1.81, 7.67)	0.77(0.32, 1.19)	0.59(0.13, 1.01)
30- <sup>&lt;</sup> 80	0.14(0.00, 2.58)	0.23(0.00, 2.17)	18.28(10.13, 42.39)	3.79(1.47, 4.76)	0.69(0.49, 1.96)	0.03(0.00, 0.83)
≥80	1.20(0.01, 1.50)	0.97(0.00, 1.59)	7.73(2.29, 10.77)	1.68(1.02, 7.94)	0.69(0.23, 1.26)	0.03(0.00, 0.68)
P	0.879	0.119	0.184	0.721	0.866	0.657

Compared with the WBC>10×10<sup>9</sup>/L group, <sup>\*</sup>P < 0.05; compared with the WBC>10×10<sup>9</sup>/L group, <sup>##</sup>P < 0.01.

表3 不同FLT3突变分组下的淋巴细胞亚群表达水平

Table 3 The expression levels of lymphocyte subsets under different FLT3 subgroups (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

Variable	FLT3-ITD <sup>+</sup>	FLT3-TKD <sup>+</sup>	FLT3-(ITD <sup>+</sup> +TKD <sup>+</sup> )	FLT3-(ITD <sup>-</sup> +TKD <sup>-</sup> )	P
CD3	69.09 ± 1.71 <sup>*</sup>	71.04 ± 2.61	71.55 ± 4.12	78.49 ± 2.31	0.046
CD4	38.22 ± 1.24	40.60 ± 1.80	45.13 ± 3.77	43.07 ± 2.43	0.109
CD8	24.90 ± 1.17	25.71 ± 1.93	21.19 ± 1.37 <sup>*</sup>	30.88 ± 2.34	0.048
CD16+CD56	12.67 ± 1.03	14.70 ± 1.96	10.68 ± 1.62	9.00 ± 0.93	0.134
CD19	16.19 ± 1.34 <sup>**</sup>	11.52 ± 1.68	13.19 ± 2.60	9.78 ± 1.93	0.041

Compared with the FLT3-(ITD<sup>-</sup>+TKD<sup>-</sup>)group, <sup>\*</sup>P < 0.05; compared with the FLT3-TKD<sup>+</sup> group, <sup>\*\*</sup>P < 0.05.

表4 不同FLT3突变分组下的细胞因子表达水平

Table 4 The expression levels of cytokine under different FLT3 subgroups [pg/mL, M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)]

Variable	FLT3-ITD <sup>+</sup>	FLT3-TKD <sup>+</sup>	FLT3-(ITD <sup>+</sup> +TKD <sup>+</sup> )	FLT3-(ITD <sup>-</sup> +TKD <sup>-</sup> )	P
IL-2	1.02(0.01, 2.36)	0.33(0.01, 6.17)	1.15(0.44, 2.12)	0.72(0.09, 2.17)	0.670
IL-4	0.75(0.01, 2.08)	0.24(0.01, 3.83)	3.44(1.25, 6.31)	0.60(0.01, 2.68)	0.089
IL-6	10.55(4.80, 27.25)	9.25(1.72, 22.30)	5.79(3.71, 43.52)	3.24(1.51, 8.63)	0.579
IL-10	2.86(1.18, 6.62) <sup>*</sup>	1.75(1.22, 2.36) <sup>*</sup>	8.68(7.19, 12.52)	2.13(0.32, 4.33) <sup>*</sup>	0.042
TNF	0.65(0.36, 1.39) <sup>*</sup>	0.36(0.01, 1.91) <sup>*</sup>	2.73(1.69, 5.18)	0.99(0.23, 1.83) <sup>*</sup>	0.013
IFN-γ	0.27(0.01, 0.88)	0.17(0.01, 0.85)	0.49(0.04, 2.52)	0.51(0.01, 2.47)	0.362

Compared with the FLT3-(ITD<sup>+</sup>+TKD<sup>+</sup>)group, <sup>\*</sup>P < 0.05.

而CD8<sup>+</sup>T细胞表达水平低于对照组。本研究发现,在FLT3突变的AML患者中,其治疗前外周血CD4表达水平升高,而CD8、CD16+CD56表达水平下降,且淋巴细胞亚群的分布与患者的血细胞计数及FLT3的亚型均有一定相关性,患者体内免疫功能的异常受到多种因素的影响,临床上可能需要综合多种因素来判断患者的预后。

细胞因子表达水平在临床上有助于AML危险分层,并对AML患者的预后有着影响。例如IL-6在外周血的表达水平反映了肿瘤细胞的存活率,其表达水平对患者总生存期有影响,其在AML患者中高表达,预后不良<sup>[7,13]</sup>。白血病细胞的外泌体能够上调骨髓间充质干细胞中的IL-8表达水平,在初发的AML患者IL-8表达水平升,预后不良<sup>[14]</sup>。AML细胞



异常表达IL-10,白血病细胞产生的IL-10通过自分泌机制支持其白血病细胞的生存<sup>[15]</sup>。IFN- $\gamma$ 能够阻碍体外白血病细胞增殖,IFN- $\gamma$ 与IL-1 $\beta$ 等因子具有协同抗白血病作用;TNF- $\alpha$ 可能是白血病细胞存活和增殖的重要因子,是不良预后因素<sup>[16]</sup>。本研究发现伴FLT3突变的AML患者治疗前外周血IL-6、IL-10表达水平较正常对照组升高,而IL-2、TNF、IFN- $\gamma$ 表达水平较正常对照组降低,部分细胞因子的表达异常提示患者预后不良,可能与患者的血细胞计数及FLT3突变及突变亚型有关,这对进一步探索细胞因子如何影响患者预后有一定的指导意义。

按不同的血细胞计数分组,其淋巴细胞亚群及细胞因子,表达水平具有一定的差异性。不同的血细胞计数对AML患者的预后可能有着一定的影响<sup>[17]</sup>,而淋巴细胞亚群和细胞因子同样对患者的预后有着重要影响,提示AML患者预后受综合因素的影响。FLT3基因有着多种突变类型,不同的基因突变对患者的预后有着不同的影响<sup>[18]</sup>。本研究根据患者FLT3突变类型进一步分组,亦发现不同的分组间,淋巴细胞亚群和细胞因子表达水平具有差异性,是否不同类型的突变对患者的免疫微环境有着影响,进而影响了患者的预后仍需进一步验证。本研究样本量较小,现有资料不具备预后预测作用,后续将继续纳入新的数据,进一步探索不同血细胞计数及FLT3亚型分组下,不同淋巴细胞亚群及细胞因子表达水平对患者生存期及缓解率等的影响。

#### [参考文献]

- [1] VAGO L, GOJO I. Immune escape and immunotherapy of acute myeloid leukemia [J]. *J Clin Investig*, 2020, 130(4): 1552-1564
- [2] ZHAO J C, AGARWAL S, AHMAD H, et al. A review of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia [J]. *Blood Rev*, 2022, 52: 100905
- [3] KIYOI H, KAWASHIMA N, ISHIKAWA Y. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: therapeutic paradigm beyond inhibitor development [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(2): 312-322
- [4] GUAN W, ZHOU L, LI Y, et al. Profiling of somatic mutations and fusion genes in acute myeloid leukemia patients with FLT3-ITD or FLT3-TKD mutation at diagnosis reveals distinct evolutionary patterns [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2021, 10(1): 27
- [5] DANGE P, TYAGI S, JUNEJA R, et al. Study of bone marrow lymphocyte subset in acute myeloid leukemia [J]. *J Lab Physicians*, 2022, 14(2): 151-156
- [6] PARK Y, LIM J, KIM S, et al. The prognostic impact of lymphocyte subsets in newly diagnosed acute myeloid leukemia [J]. *Blood Res*, 2018, 53(3): 198
- [7] TSIMBERIDOU A M, ESTEY E, WEN S J, et al. The prognostic significance of cytokine levels in newly diagnosed acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes [J]. *Cancer*, 2008, 113(7): 1605-1613
- [8] LUCIANO M, KRENN P W, HOREJS-HOECK J. The cytokine network in acute myeloid leukemia [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1000996
- [9] RUTERBUSCH M, PRUNER K B, SHEHATA L, et al. In vivo CD4<sup>+</sup> T cell differentiation and function: revisiting the Th1/Th2 paradigm [J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 705-725
- [10] KNAUS H A, BERGLUND S, HACKL H, et al. Signatures of CD8<sup>+</sup> T cell dysfunction in AML patients and their reversibility with response to chemotherapy [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(21): e120974
- [11] DOLINA J S, VAN BRAECKEL-BUDIMIR N, THOMAS G D, et al. CD8<sup>+</sup> T cell exhaustion in cancer [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 715234
- [12] WANG H, FU B B, GALE R P, et al. NK-/T-cell lymphomas [J]. *Leukemia*, 2021, 35(9): 2460-2468
- [13] ZHANG Y J, GUO H Z, ZHANG Z L, et al. IL-6 promotes chemoresistance via upregulating CD36 mediated fatty acids uptake in acute myeloid leukemia [J]. *Exp Cell Res*, 2022, 415(1): 113112
- [14] CHEN T T, ZHANG G Z, KONG L Z, et al. Leukemia-derived exosomes induced IL-8 production in bone marrow stromal cells to protect the leukemia cells against chemotherapy [J]. *Life Sci*, 2019, 221: 187-195
- [15] BINDER S, LUCIANO M, HOREJS-HOECK J. The cytokine network in acute myeloid leukemia (AML): a focus on pro- and anti-inflammatory mediators [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 43: 8-15
- [16] NIU L T, WANG Y Q, WONG C C L, et al. Targeting IFN- $\gamma$ -inducible lysosomal thiol reductase overcomes chemoresistance in AML through regulating the ROS-mediated mitochondrial damage [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(9): 101159
- [17] CHEN Y, XIE Y Y, FANG Y, et al. Correlation of blood cell counts with mutant subtypes and impact prognosis in acute myeloid leukemia patients with FLT3 mutations [J]. *Hematology*, 2023, 28(1): 2172296
- [18] NASEEM S, BINOTA J, VARMA N, et al. NPM<sub>1</sub> and FLT3-ITD/TKD gene mutations in acute myeloid leukemia [J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2021, 15(1): 15-26

[收稿日期] 2023-06-04

(本文编辑:戴王娟)