

• 临床检验研究论著 •

CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 细胞异常表达与多发性骨髓瘤的关联性分析

汪 萍, 奚 迪, 王维维, 费奇力, 张 力, 沈立松

(上海交通大学医学院附属新华医院检验科, 上海 200092)

摘要:目的 检测多发性骨髓瘤(MM)患者和良性单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)患者外周血及骨髓组织中 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T(Treg)细胞表达水平,初探 MM 中调节性 T 细胞免疫功能状态以及与疾病发生、发展的关联性。方法 采用流式细胞术分别检测 33 例 MM 患者、44 例 MGUS 患者和 30 例健康者外周血以及 6 例 MM 患者骨髓 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}调节性 T 细胞水平。分别采用溴甲酚绿法、免疫散射比浊法检测 MM 患者血清清蛋白(Alb)、 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG)水平。结果 MM 组外周血中 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}细胞表达高于 MGUS 组及健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);MM 中稳定期患者组外周血细胞水平较初诊患者组和复发、难治患者组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);但不同 ISS 分期的 MM 患者外周血细胞表达差异无统计学意义($P > 0.05$);而进展期 MM 患者中,CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞表达在 III 期高于 I 期+II 期,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步研究发现,同一初诊 MM 患者骨髓 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞水平低于其外周血 T 细胞水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞表达异常可辅助鉴别良、恶性单克隆丙种球蛋白血症;监测 MM 的进展以及疾病的活跃程度,并为进展期 MM 患者及时进行临床干预提供实验依据。

关键词:多发性骨髓瘤; 调节性 T 细胞; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)07-0796-04

Correlation between abnormal expression of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} regulatory T cells and multiple myeloma

Wang Ping, Xi Di, Wang Weiwei, Fei Qili, Zhang Li, Shen Lisong

(Department of Clinical Laboratory, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong

University School of Medicine, Shanghai 200092, China)

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} regulatory T cells and the occurrence and development of multiple myeloma (MM). **Methods** 33 cases of patients with MM, 44 cases with The ratio of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg cells in peripheral blood from 33 patients with MM, 44 patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and 30 cases of age-matched healthy subjects (control group) were enrolled and detected for CD4⁺, CD25⁺ and CD127^{low/-} Treg cells by flow cytometry method and detected for serum level of albumin (Alb) and β_2 -microglobulin (β_2 -MG) by using bromocresol green method and transmission turbidimetry respectively. **Results** Frequency of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg cells were higher in MGUS group and control group than control group ($P < 0.05$). The proportion of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg cells was significantly higher in stable MM than in relapsed or refractory MM and newly diagnosed MM ($P < 0.05$). The expression of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg cells was not statistical different between patients with MM at different International Staging System (ISS) stages ($P > 0.05$), while in patients with active MM, there was a trend of increasing of Treg cell numbers in the ISS stage I and stage II versus stage III ($P < 0.05$). Further more, in patients with newly diagnosed MM, the numbers of Treg cells in bone marrow was lower than in their peripheral blood ($P < 0.05$). **Conclusion** Detection of CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg cells in peripheral blood could be useful for identifying the benign or malignant monoclonal gammopathy, monitoring the progression and activity of MM and offering experimental data to clinical interventions for patients with active MM.

Key words: multiple myeloma; regulatory T cell; flow cytometry

多发性骨髓瘤(MM)是一种起源于 B 细胞系并能够产生大量单克隆免疫球蛋白的恶性增生性疾病,良性单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)构成了恶性的前期阶段,当浆细胞克隆逃逸了限制肿瘤生长的调节机制则发生恶变。据文献报道在血液系统恶性疾病患者中,外周血调节性 T(Treg)细胞的水平呈升高趋势。本研究以目前认为最有特异性 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}定义外周血和骨髓 T 细胞,旨在用细胞分子学手段分析和研究 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞在外周血及骨髓微

环境中的表达,分析 T 细胞在 MM 不同型别、不同分期以及与 MGUS 中表达的差异,探讨该免疫细胞亚群在 MM 中的免疫功能状态及临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 1~3 月新华医院血液内科门诊及住院患者。其中多发性骨髓瘤(MM)患者 33 例,男 17 例,女 16 例,年龄 50~91 岁,平均年龄 72 岁。良性单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)患者 44 例,男 32 例,女 12 例,年龄 53~89

岁,平均年龄 71 岁。诊断均符合国内诊断标准^[1]。所有患者均排除中枢性神经系统疾病、感染性疾病、自身免疫性疾病及糖尿病等疾病。

MM 患者 M 蛋白免疫分型: IgG 型 19 例、IgA 型 10 例、IgM 型 2 例、 κ 轻链型 1 例、未分泌型 1 例。

MM 组中进展期患者共 15 例(初诊患者 10 例,复发及难治患者 5 例),稳定期患者 18 例,病情分期参照国际骨髓瘤工作组 2006 年制定的统一疗效标准^[2]。

MM 临床分期按 ISS 分期对确诊患者评估, I 期: β_2 -MG < 3.5 mg/L, Alb > 3.5 g/L; II 期: 介于 I 期和 III 期之间; III 期: β_2 -MG > 5.5 mg/L。其中 I 期 9 例、II 期 7 例、III 期 17 例。

另先取该院体检中心健康体检者年龄匹配的健康对照 30 例,男 16 例,女 14 例,平均年龄 67 岁。

1.2 实验方法

1.2.1 样本的采集 (1)外周血: 无菌抽取静脉血 4 mL。其中 2 mL 置于非抗凝管中,用于分离血清;另 2 mL 置于 EDTA-K₂ 抗凝管中,于 2 h 内送至实验室。(2)骨髓细胞: 无菌抽取骨髓 2 mL,置于肝素抗凝管中,于 2 h 内送至实验室。

1.2.2 样本的制备和保存 (1)血清制备: 静脉血 2 mL, 3 000 r/min 离心 5 min, 保存血清于 -80°C 冰箱,待测生化指标。(2)单个核细胞(PBMC)制备: 2 mL 静脉血/骨髓组织中加入等量 PBS 对倍稀释,轻轻混匀,缓缓加入 Ficoll 上, 2 000 r/min 离心 20 min 获得 PBMC, PBS 洗涤两次(1 500 r/min 离心 5 min),混匀,计数备用。

1.2.3 细胞染色 (1)在 10^6 个细胞的外周血/骨髓 PBMC 中依次加入抗 CD3-ECD、抗 CD4-FITC、抗 CD25-PC5 和抗 CD127-PE 各 5 μL ,混匀,室温避光孵育 20 min。(2)加入适量 PBS 制备重悬液待测。

1.2.4 FCM 分析 先以前向散射角(FSC)及侧向散射角(SSC)确定淋巴细胞群,再以 CD4⁺ T 细胞设门,分析 CD4⁺ T 细胞上 CD25⁺ 和 CD127^{low/-} 的表达,计算 CD4⁺ CD25⁺ CD127^{low/-} T 细胞的百分比。

1.2.5 溴甲酚绿法检测 MM 患者血清 Alb 浓度 采用全自动生化分析仪(Hitachi 7600-120, 日本)运用溴甲酚绿法检测 MM 患者血清 Alb 浓度,以 g/L 表示。

1.2.6 免疫散射比浊法检测 MM 患者血清 β_2 -MG 浓度 采用特定蛋白仪(BN ProSpec, 德国)运用免疫散射比浊法检测 MM 患者血清 β_2 -MG 浓度,以 mg/L 表示。

1.3 统计学处理 由 SPSS 17.0 统计软件完成统计分析,所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验,相关性分析采用 Pearson 直线相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞在 MM 和 MGUS 患者及健康对照者的比较 结果显示,外周血 CD4⁺、CD25⁺ 和 CD127^{low/-} T 细胞数量 MM 组(4.4 ± 2.2)%、MGUS 组(3.4 ± 1.6)%较健康对照组(2.7 ± 0.9)%均有所升高。MM 组与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);MM 组与 MGUS 组比较差异也有统计学意义($P < 0.05$);而健康对照组与 MGUS 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞在不同病情分

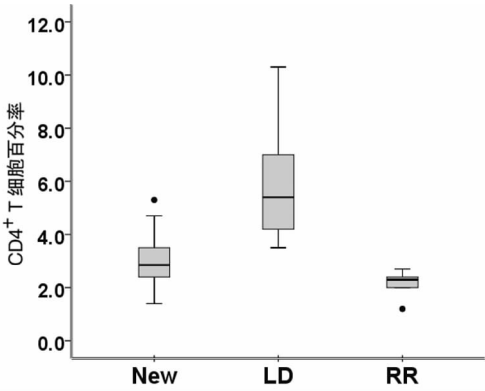
期 MM 患者的比较 MM 患者按不同病期分成 3 组,其中初诊患者组 10 例、稳定期患者组 18 例、复发及难治患者组 5 例。稳定期 MM 患者的外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞数量(5.8 ± 1.9)%显著高于 MM 初诊患者组(3.1 ± 1.2)%和复发及难治 MM 患者组(2.1 ± 0.6)%,差异均有统计学意义($P < 0.05$);而 MM 初诊患者组和复发及难治 MM 患者组之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

表 1 MM 和 MGUS 组与健康对照组外周血 T 细胞检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

项目	MM 组	MGUS 组	健康对照组
例数(n)	33	44	30
Treg 细胞(%)	$4.4 \pm 2.2^{* \Delta}$	$3.4 \pm 1.6^{\Delta}$	$2.7 \pm 0.9^{*}$

Δ : $P < 0.05$, 与 MGUS 组比较; $*$: $P < 0.05$, 与健康对照组比较。

2.3 外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞在不同 ISS 分期 MM 患者的比较 不同 ISS 分期的 MM 患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞水平[I 期(4.5 ± 2.0)%, II 期(3.6 ± 2.4)%, III 期(4.2 ± 2.1)%]差异无统计学意义(各组间 $P > 0.05$)。本组进一步将 MM 患者按病情分为稳定期和进展期,同时考虑到病例数,分别统计稳定期/进展期中 I 期+II 期与 III 期 MM 患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞水平,结果显示进展期 MM 中, III 期 MM 患者(3.0 ± 1.1)%外周血 T 细胞水平高于 I 期+II 期 MM 患者(2.0 ± 0.5)%,差异有统计学意义($P < 0.05$);而在稳定期 MM 患者中, I 期+II 期与 III 期 MM 患者外周血 Treg 细胞水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。



注: New 为初诊患者组; LD 为稳定期组; RR 为复发难治组。

图 1 MM 患者不同病期各组外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} Treg 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分率

2.4 外周血与骨髓 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞在 MM 初诊患者的比较 为明确 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞在不同组织中的表达分布,本组检测了 8 例 MM 初诊患者外周血及骨髓中的 T 细胞水平,结果显示外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞表达(3.3 ± 0.9)%高于其骨髓 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞表达(1.9 ± 0.7)%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 MM 初诊患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞的表达与 Alb、 β_2 -MG 的相关性 本组测定了初诊 MM 患者血清 Alb、 β_2 -MG 浓度,结果显示初诊 MM 患者外周血 CD4⁺

CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞水平与 Alb、 β_2 -MG 浓度均无相关性 (均 $P>0.05$)。

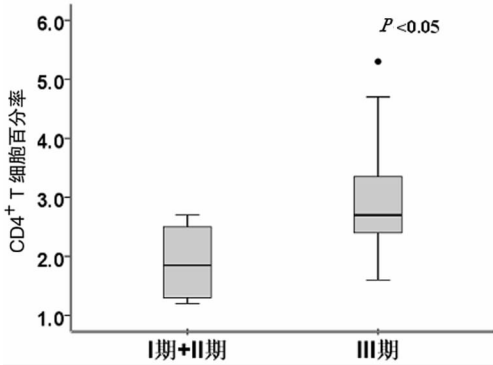


图2 MM 进展期患者中 I + II 期患者与 III 期患者外周血 CD4⁺、CD25⁺ 和 CD127^{low/-} T 细胞占 CD4⁺ T 细胞百分率

3 讨论

健康者外周血和脾脏中的 CD4⁺ T 细胞约有 5%~10% 的细胞持续高表达 IL-2 受体 q 链 (CD25)。而被称为 CD4⁺CD25⁺ T 细胞亚群。在多种实体瘤患者外周血中,均有 CD4⁺CD25⁺ T 细胞比例特异性增高的报道^[3-4]。目前已知识别调节性 T 淋巴细胞最敏感的指标是 Foxp3, 可作为其特异性标志物^[5]。近期有研究结果表明,调节性 T 淋巴细胞下调表达 CD127 分子^[6-7]。本研究采用 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞定义 MM 中的调节性 T 细胞,呈现了 CD4⁺CD25⁺ T 细胞的典型特征,充分发挥其膜表面标志的特征及特异性,通过 CD127 的表达来有效地区分效应 T 细胞和调节性 T 细胞。

T 细胞在肿瘤组织局部的聚集可诱导对肿瘤抗原的特异性^[8]。有数据显示 MM 患者的树突状细胞 (DC) 功能异常,提示多种因子 (如 VEGF、IL-6、IL-10) 和肿瘤细胞分泌的 TGF- β , 或者其他存在于肿瘤微环境的细胞与此有关^[9]。在肿瘤免疫逃逸过程中, T 细胞不仅不能通过细胞间的直接接触抑制效应性 T 细胞的功能,还能通过分泌细胞因子等多种方式发挥抑制作用^[10]。细胞因子依赖性抑制主要通过分泌白细胞介素 (IL)-10 和转化生长因子- β (TGF- β) 等细胞因子抑制效应 T 细胞、DC 及巨噬细胞等增殖和活化^[11]。IL-10 大量存在于肿瘤局部,能抑制 DC 成熟和炎性细胞因子释放,诱导 CD4⁺ 细胞进入免疫失能状态; TGF- β 的抑制作用主要通过诱导 TGF- β 受体 II 在膜上的表达,抑制肿瘤抗原相关 CD8⁺ 细胞增殖和因子分泌^[12]。而异常增高的 T 细胞在肿瘤微环境中发挥其免疫无能性和免疫抑制性^[13]。

Prabhala 等^[14]认为 MM 患者外周血中 CD4⁺Foxp3⁺ T 细胞降低,而 Beyer 等^[15]则认为 MM 患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T 细胞水平高于健康对照组,从而与大部分其他癌症患者的检验结果相一致。本组以 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} 界定 T 细胞,发现 MM 组外周血 T 细胞水平较 MGUS 组和健康对照组明显升高,提示 T 细胞在 MM、MGUS 的鉴别诊断中具有辅助作用。且本组结果与其他证实癌症患者 T 细胞水平升高的结果相一致^[16]。其次,MM 的评估标准以及所选择研究对象的不同造成同类研究的差异^[17]。另外,对于 T 细胞膜表面标志物的选择不同,以及不同调节性 T 细

胞亚群的划分对于实验结果也有极大影响。

近年来大量文献报道调节性 T 细胞在各种实体瘤与恶性血液病中,调节性 T 细胞增多已被普遍接受^[18-22]。但关于其预后的相关性,报道的结果却大不一样。Curiel 等^[23]发现,卵巢癌患者 T 细胞数量的增长与生存率降低有关。在血液疾病中,大量浸润性 Foxp3⁺ T 细胞与滤泡性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤以及皮肤 T 细胞淋巴瘤的生存率提高有相关性^[24-26]。本组发现,稳定期 MM 患者体内 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞表达显著高于进展期 MM 患者,而初诊患者 (未治疗) 的 T 细胞水平明显降低,提示 T 细胞水平的增高与疾病的恶化程度呈负相关,对于检测疾病进程具有一定临床价值。另外,在 MM 进展期中, I 期 + II 期患者外周血 T 细胞水平低于 III 期患者 T 细胞水平^[2]。已知 ISS 分期是一种有效的、与预后相关的 MM 分期系统, III 期中位生存期 (月) 显著小于 I 期患者。本组认为, MM 进展期患者外周血 T 细胞数量的增多可能与其预后不良相关。进而提示了 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞可反映 MM 的活跃程度,并可作为检测 MM 进程及判断预后的新指标。然而, MM 的临床表现复杂,影响预后的因素很多,包括患者年龄、血红蛋白、钙离子水平、M 蛋白水平、LDH、 β_2 -MG、IL-6、CRP、浆细胞指数以及临床症状的缓解程度等,因此,还需要补充相关实验室参数才能作出进一步确证。

肿瘤微环境分泌的趋化因子可直接招募 T 细胞至肿瘤位点,导致 T 细胞的局部升高,而 MM 作为血液系统恶性疾病往往与实体瘤的发生、发展存在一定差异。本组运用流式细胞术检测了 MM 患者 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞在外周血与骨髓中的表达分布,结果显示骨髓 T 细胞水平显著低于外周血 T 细胞,与 Sylvia 等^[28]的研究结果一致。骨髓瘤细胞在骨髓腔内大量增生的同时,由基质细胞衍变而来的成骨细胞过度表达 IL-6,激活破骨细胞导致骨质疏松甚至溶骨性破坏而引起骨痛。IL-6 的升高抑制了 TGF- β 介导的 T 细胞分化通路,反而促进了 IL-17 产生的效应性 T 细胞的转化,消除了 T 细胞的增殖^[29]。同时,根据 Noonan 等^[30]的结论, IL-6 增高导致 Th-17 细胞水平升高和 T 细胞水平相对降低。MM 的细胞因子较 T 细胞将更有助于 Th-17 细胞的聚集。其他相关细胞因子 (如 IL-10) 相对于外周血,在骨髓中有显著升高,提示其局部微环境效应大于系统性的环境效应^[28]。然而本组受限于病例数,结果有待扩大样本后作出进一步阐明。

综上所述,本研究初步分析了 MM、MGUS 患者外周血 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞水平,发现 T 细胞表达异常可辅助鉴别良、恶性单克隆丙种球蛋白血症,同时可监测 MM 的进展以及疾病的活跃程度,并为进展期 MM 患者及时进行临床干预提供实验依据。进一步的实验结果发现, MM 患者外周血与骨髓中 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T 细胞的表达差异,证实了 MM 肿瘤细胞利用了其骨髓微环境效应,逃避了免疫监视,提出了 MM 肿瘤微环境可能不完全遵循实体肿瘤微环境对 T 细胞的招募机制这一结论。本组仅通过 T 细胞水平进行分析,从一个侧面初探了 T 细胞水平与 MM 的关联性,为进一步开展 T 细胞的功能性实验、相关信号通路研究以及阐明 T 细胞在恶性血液病中的免疫机制奠定基础,从而为靶向治疗提供依据。

参考文献

- [1] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学技术出版社,2007:232-235.
- [2] BGM D. International uniform response criteria for multiple myeloma[J]. *Leukemia*,2009,20(16):1467-1473.
- [3] Wolf A, Wolf D, Steurer M, et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*,2003,9(2):606-610.
- [4] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*,2004,10(12):942-949.
- [5] Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3[J]. *Nat Hntmnol*,2007,8(9):277-284.
- [6] Liu W, Putnam AL, Xu YZ, et al. CD127 expression inversely correlates with Foxp3 and suppressive function of human CD4⁺ Treg cells[J]. *Exp Med*,2006,203(66):1701-1711.
- [7] Seddiki N, Nanan B, Martinsen J, et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells[J]. *Exp Med*,2006,203(81):1693-1700.
- [8] Shevach EM. Fatal attraction; tumor beckon regulatory T cells[J]. *Nat Med*,2004,10(9):900-901.
- [9] Pratt G, Goodyear O, Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma[J]. *Br J Haematol*,2007,138(29):563-579.
- [10] Zou W. Regulatory T cells, tumor immunity and immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*,2006,19(2):295-307.
- [11] Schwartz RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance[J]. *Nat Rev Immunol*,2005,6(4):327-330.
- [12] Beyer M, Schultze JI. Regulatory T cells in cancer[J]. *Blood*,2006,108(3):804-811.
- [13] Paust S, Cantor H. Regulatory T cells and autoimmune disease[J]. *Immunological Reviews*,2004,26(13):195-207.
- [14] Prabhala RH, Neri P, Bae JE, et al. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma[J]. *Blood*,2006,107(34):301-304.
- [15] Beyer M, Kochanek M, Giese T, et al. In vivo peripheral expansion of naive CD4⁺CD25⁺ high Foxp3⁺ regulatory T cells in patients with multiple myeloma[J]. *Blood*,2006,107(14):3940-3949.
- [16] Mougiakakos D, Choudhury A, Lladser A, et al. Regulatory T cells in cancer[J]. *Adv Cancer Res*,2010,107(12):57-117.
- [17] Brimnes MK, Vangsted AJ. Increased Level of both CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells and CD14⁺HLA-DR⁺βlow myeloid-derived suppressor cells and decreased level of dendritic cells in patients with multiple myeloma[J]. *Clin Immunol*,1972,64(12):540-547.
- [18] Bates GJ, Fox SB, Han C, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse[J]. *Journal of Clinical Oncology*,2006,24(8):5373-5380.
- [19] Lau KM, Cheng SH, Lo KW, et al. H. Increase in circulating Foxp3⁺CD4⁺CD25⁺ high regulatory T cells in nasopharyngeal carcinoma patients[J]. *British Journal of Cancer*,2007,96(43):617-622.
- [20] Ling KL, Pratap SE, Bates GJ, et al. Increased frequency of regulatory T cells in peripheral blood and tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer patients[J]. *Cancer Immunity*,2007,7(7):63-65.
- [21] Esendagli G, Bruderek K, Goldmann T, et al. Malignant and non-malignant lung tissue areas are differentially populated by natural killer cells and regulatory T cells in non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*,2008,59(13):32-40.
- [22] Barath S, Aleksza M, Keresztes K, et al. Immunoregulatory T cells in the peripheral blood of patients with Hodgkin's lymphoma[J]. *Acta Haematologica*,2006,116(28):181-185.
- [23] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*,2004,10(11):942-949.
- [24] Carreras J, Lopez GA, Fox BC, et al. High numbers of tumor-infiltrating Foxp3-regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma[J]. *Blood*,2006,108(61):2957-2964.
- [25] Alvaro T, Lejeune M, Salvado MT, et al. Outcome in Hodgkin's lymphoma can be predicted from the presence of accompanying cytotoxic and regulatory T cells[J]. *Clin Cancer Res*,2005,11(7):1467-1473.
- [26] Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, et al. Foxp3⁺ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival[J]. *Leukemia*,2007,21(16):2512-2518.
- [27] Gupta R. Significantly reduced regulatory T cell population in patients with untreated multiple myeloma[J]. *Leuk Res*,2010,11(10):810-812.
- [28] Sylvia F, Sarah J, Lee M, et al. CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells are increased whilst CD3⁺CD4⁺CD8⁺α⁺ TCR⁺ double negative T cells are decreased in the peripheral blood of patients with multiple myeloma which correlates with disease burden[J]. *British J of Haematology*,2009,144(5):686-695.
- [29] Podar K, Chauhan D, Anderson KC. Bone marrow microenvironment and the identification of new targets for myeloma therapy[J]. *Leukemia*,2009,23(4):10-24.
- [30] Noonan K, Marchionni L, Anderson J, et al. A novel role of IL-17 producing lymphocytes in mediating lytic bone disease in multiple myeloma[J]. *Blood*,2010,116(86):3554-3663.

(收稿日期:2011-12-04)