

多发性骨髓瘤患者免疫微环境中淋巴细胞表型与功能状态分析

黄盼盼,张翠萍,毛 菊,祝怀平,张爱梅[△]

中国科学技术大学附属第一医院/安徽省立医院检验科,安徽合肥 230001

摘要:**目的** 探讨多发性骨髓瘤(MM)患者免疫微环境中淋巴细胞表型与功能。**方法** 选取 2022 年 9 月至 2025 年 7 月在该院诊断为 MM 的 91 例患者(MM 组)及骨髓分析未见明显异常的 86 例患者(对照组)作为研究对象,运用多参数流式细胞术检测骨髓淋巴细胞表型及功能相关分子并比较其差异。**结果** 与对照组相比,MM 组的 CD3⁺ T 细胞、CD3⁺CD8⁺ T 细胞和 CD56⁺ 淋巴细胞(包括 CD3⁺CD56⁺ NKT 细胞及 CD3⁻CD56⁺ NK 细胞)均明显增高,而 CD19⁺ B 细胞明显减低,差异有统计学意义($P<0.05$)。MM 组的调节性 T 细胞(Treg)、PD-1⁺ 和 CD8 Effector T 细胞比例明显高于对照组,CD8 Naive T 细胞比例明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,MM 组的 CD24^{bri}CD38^{bri} B 细胞比例明显减低,而 CD27⁺ B 细胞比例明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。在 T 及 NK 细胞功能分子的比较中,MM 组的 NK 细胞 Granzyme B 和 Perforin 阳性率均显著低于对照组,而 CD38 阳性率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** MM 患者的骨髓环境中关键淋巴细胞亚群比例失调且功能严重耗竭,存在免疫失衡。

关键词:多发性骨髓瘤; 流式细胞术; 淋巴细胞亚群; 免疫失衡

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.16.009 **中图法分类号:**R446.1;R733.3

文章编号:1673-4130(2026)16-1972-07 **文献标识码:**A

Phenotype and function of bone marrow lymphocytes in patients with multiple myeloma

Huang Panpan, Zhang Cuiping, Mao Ju, Zhu Huaiping, Zhang Aimei[△]

Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China/Anhui Provincial Hospital, Hefei, Anhui 230001, China

Abstract: Objective To investigate the phenotype and function of lymphocytes in the immune microenvironment of patients with multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 91 patients diagnosed with multiple myeloma (MM group) in this hospital from September 2022 to July 2025 and 86 patients with no obvious abnormalities in bone marrow analysis (control group) were collected as the research subjects. Multicolor flow cytometry was used to detect and compare the phenotypes and function-related molecules of bone marrow lymphocytes. **Results** Compared with the control group, the MM group showed significantly higher proportions of CD3⁺ T cells, CD3⁺CD8⁺ T cells, and CD56⁺ lymphocytes (including CD3⁺CD56⁺ NKT cells and CD3⁻CD56⁺ NK cells), while CD19⁺ B cells were significantly decreased, and the difference were statistically significant ($P<0.05$). The proportions of Tregs, PD-1⁺ cells, and CD8 effector T cells were significantly higher in the MM group, whereas the proportion of CD8 Naive T cells was significantly lower, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the control group, the proportion of CD24^{bri}CD38^{bri} B cells was significantly lower, and the proportion of CD27⁺ B cells was significantly higher in the MM group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Regarding functional molecules in T and NK cells, the positive rates of Granzyme B and Perforin in NK cells were significantly lower in the MM group, while the CD38 positive rate was higher, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The proportion of key lymphocyte subsets in the bone marrow environment of MM patients is dysregulated and their functions are severely exhausted, with immune imbalance existing.

Key words: multiple myeloma; flow cytometry; lymphocyte subpopulations

多发性骨髓瘤(MM)是一种起源于终末分化的 B 淋巴细胞(浆细胞)的恶性血液系统肿瘤,其特征是骨髓中克隆性浆细胞的异常增殖,并伴随单克隆免疫球蛋白(M 蛋白)的分泌及相关器官功能损害^[1]。随着

蛋白酶体抑制剂、免疫调节剂、单克隆抗体及嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)免疫疗法等新型治疗手段的广泛应用,MM 患者的缓解深度和无进展生存期得到了显著改善,但该疾病仍被认为是一种无法治愈的恶性肿瘤^[2]。近年来,以靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)为代表的 CAR-T 细胞疗法和双特异性抗体在复发/难治性 MM 中取得了突破性进展,这充分证明了其重建淋巴细胞抗肿瘤功能的巨大潜力^[3]。然而,并非所有患者都能从中持久获益,治疗后的复发仍是严峻挑战。其背后机制可能与患者骨髓淋巴细胞(特别是 T 细胞和 NK 细胞)的起始功能状态、亚群分布密切相关^[4-5]。因此,本研究通过多参数流式细胞术检测 MM 患者骨髓中淋巴细胞亚群并评估其细胞的精细表型特征和功能状态,旨在更深入地理解肿瘤性浆细胞免疫逃逸的机制,为评估患者免疫状态、预测免疫治疗疗效及开发新的联合免疫治疗策略等提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2022 年 9 月至 2025 年 7 月在本院确诊的 91 例 MM 患者作为 MM 组。MM 组男 53 例,女 38 例;年龄 44~89 岁,平均(67.1±10.2)岁,≥60 岁 67 例;Durie-Salmon 分期:Ⅰ期 8 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 65 例。另选取同期骨髓标本形态学及流式细胞术检查均未见明显异常的 86 例非恶性血液疾病和非免疫性、非感染性相关疾病患者作为对照组。对照组男 51 例,女 35 例;年龄 47~89 岁,平均(66.5±9.4)岁,≥60 岁 65 例。在 MM 组中,21 例患者(试验组)除行 TBNK 亚群检测外,还进行了精细亚

群及相关功能分子检测,男 11 例,女 10 例;年龄 48~87 岁,平均(64.8±9.7)岁,≥60 岁 14 例;Durie-Salmon 分期:Ⅰ期 1 例,Ⅱ期 5 例,Ⅲ期 15 例。在对照组中选取 21 例与试验组患者年龄、性别相匹配的样本作为对照亚组。MM 组与对照组男女比例、年龄及≥60 岁比例差异均无统计学意义($P>0.05$)。行精细亚群及相关功能分子检测的试验组患者性别、年龄与疾病分期与总体 MM 组差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究为回顾性研究,已获得本院伦理委员会批准(审批号:2025-RE-373)。

1.2 仪器与试剂 BD Canto Plus 流式仪产自美国 BD 公司,BC Navios 流式仪产自美国 Beckman Coulter 公司。参照相关指南与共识^[6-7],设计抗体组合,混合抗体方案见表 1。抗体 Kappa 及 Lambda 购自 Dako 公司;抗体 CD2 购自贝克曼公司;抗体 CD81 购自北京四正柏生物科技有限公司;抗体 CD57、CD4、TCRgd、CD22、CD3、CD4、CD5、CD56、CD16、CD7 购自 BD 公司;抗体 CD159c、CD159a、CD138 购自 MACS 公司;抗体 CD25、CD127、CD8 购自同生时代公司;抗体 CD38、CD24、CD3、CD19、CD27、CD45RA、CD158b、CD20、CD10、CD158e、PD-1、CD45、CD5、CD56 购自 Biolegend 公司;编号 6、7 两管方案的抗体、细胞培养的刺激剂(货号:TB106008)和细胞培养基(货号:TB106054)均购自合肥同勉生物科技有限公司。固定破膜试剂 IntraSureTM 购自 BD 公司(货号:641776)。

表 1 混合抗体组合方案

编号	FITC	PE	PE-Dazzle594	PerCP/PerCP-Cy5.5	PE-Cy7
1	cKappa	cLambda	—	CD38	CD19
2	CD2	TCRgd	—	CD3	CD4
3	CD81	CD22	—	CD24	CD27
4	CD57	CD159c	—	CD3	CD159a
5	CD4	CD25	CCR7	CD3	CD45RA
6	Granzyme B	Perforin	—	CD3	CD45
7	CD8	CD107a	—	—	CD56

编号	APC	APC-R700	APC-Cy7	BV421/Pacific Blue	BV510	BV605
1	CD138	CD56	CD20	CD10	CD45	CD5
2	CD5	—	CD8	CD7	CD45	CD56
3	—	—	CD38	—	CD45	—
4	CD158b	—	CD16	CD158e	CD45	CD56
5	CD127	CD56	CD8	PD-1	CD45	—
6	CD56	—	CD8	CD4	CD16	—
7	CD38	—	CD45	CD3	—	—

注:—表示无数据。

1.3 方法 相关实验操作参照文献[8]。所有抗体在使用前均恢复室温。取肝素钠抗凝的新鲜骨髓标本用于抗体标记,保证每管细胞总数约为 1.0×10^6 个。标记细胞膜时,抗体孵育并避光 20 min;标记细胞内抗体时,在细胞膜标记完成后,按照 BD 公司固定破膜试剂说明操作,固定透膜后再加入细胞内抗体避光反应 20 min;检测 NK 及 $CD8^+$ T 细胞的 CD107a 表达时,先取骨髓标本(约 1.0×10^6 个细胞)加入 500 μL 培养基及 1 μL 刺激剂,同时标记 CD107a 及 CD56,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱孵育 3 h。培养结束后,染色其他指标。室温裂解红细胞并避光 15 min,生理盐水洗涤两次再重悬。制好的样品用 BD Canto Plus 或 BC Navios 仪检测收集数据,并用 Kaluza 软件统一分析并导出数据。

1.4 统计学处理 应用 GraphPad Prism 8.3.0 统计软件分析数据。对计量资料行正态性检验,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,非正态分布的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间

比较采用 Mann-Whitney U 检验;计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TBNK 细胞亚群的比较 与对照组相比,MM 组 $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+CD8^+$ T 细胞、 $CD3^+CD56^+$ NKT 细胞和 $CD3^-CD56^+$ NK 细胞(包括 $CD3^-CD56^{\text{bri}}$ 及 $CD3^-CD56^{\text{dim}}$)亚群均明显升高,而 $CD19^+$ B 细胞显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),其他亚群比例差异无统计学意义($P < 0.05$)。在 $CD3^+CD56^+$ NKT 细胞亚群中,MM 组的 $CD4^+$ 比例低于对照组,而 $CD8^+$ 比例高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 $CD3^-CD56^{\text{dim}}$ NK 细胞亚群中,MM 组的 $CD8^{\text{dim}}$ 比例亦高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 $CD19^+$ B 细胞亚群中,MM 组的 $CD10^-CD20^+$ 比例高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 MM 组与对照组骨髓 TBNK 细胞亚群的比较[$M(P_{25}, P_{75}), \%$]

TBNK 细胞亚群	对照组($n=86$)	MM 组($n=91$)	U	P
$CD3^+$ T 细胞	61.84(55.02,69.92)	67.02(59.51,73.43)	3 235	0.046
$CD2^+$	99.89(99.69,99.94)	99.90(99.80,99.96)	3 276	0.061
$CD5^+$	97.71(96.03,98.88)	97.17(94.94,98.72)	3 328	0.086
$CD7^+$	92.38(89.36,94.59)	92.20(89.03,94.15)	3 710	0.553
$CD3^+TCR\gamma\delta^+$ T 细胞	3.97(2.45,6.14)	3.42(1.94,6.05)	2 861	0.499
$CD3^+CD4^+$ T 细胞	28.53(23.85,35.31)	27.48(20.58,34.10)	3 401	0.133
$CD3^+CD8^+$ T 细胞	27.36(21.65,32.63)	32.81(23.72,39.42)	2 982	0.006
$CD3^+CD56^+$ NKT 细胞	5.93(3.44,7.84)	8.24(5.01,13.87)	2 648	<0.001
$CD4^+$	12.49(6.85,19.42)	8.44(5.53,16.73)	3 232	0.046
$CD8^+$	58.74(47.85,67.38)	66.57(51.90,77.46)	2 969	0.005
$CD3^-CD56^+$ NK 细胞	15.74(10.36,21.62)	19.93(13.48,27.04)	2 913	0.003
$CD3^-CD56^{\text{bri}}$ NK 细胞	0.39(0.25,0.65)	0.51(0.27,0.94)	3 132	0.022
$CD3^-CD56^{\text{dim}}$ NK 细胞	15.37(9.73,21.23)	18.84(13.09,26.17)	2 982	0.006
$CD2^+$	84.02(77.17,89.60)	83.10(73.55,90.97)	3 864	0.886
$CD8^{\text{dim}}$	28.49(24.11,39.39)	34.47(26.27,43.78)	3 195	0.035
$CD56^+$ 细胞	23.06(16.80,28.14)	29.82(22.92,36.75)	2 214	<0.001
$CD19^+$ B 细胞	14.28(9.08,22.01)	7.84(4.71,13.46)	2 186	<0.001
$CD10^{\text{bri}*}$	2.37(0.40,5.35)	1.36(0.05,3.71)	2 740	0.055
$CD10^{\text{med}}CD20^{\text{heter}*}$	16.71(2.32,28.98)	7.92(0.76,23.90)	2 780	0.078
$CD10^{\text{dim}}CD20^{+*}$	5.92(3.37,8.45)	5.07(2.77,7.75)	2 974	0.263
$CD10^-CD20^{+*}$	69.63(51.93,86.13)	74.16(60.33,91.50)	2 711	0.046

注: * 表示此淋巴亚群的对照组 $n=86$,MM 组 $n=77$ 。

2.2 TBNK 细胞精细亚群的比较 在 $CD3^+CD4^+$ T 细胞亚群中,试验组的调节性 T 细胞(Treg)及 PD-1 $^+$ T

细胞比例明显高于对照组 ($P < 0.05$)。在 $CD3^{+}CD8^{+}$ T 细胞亚群中, 试验组的 $CD8$ Effector 和 $PD-1^{+}$ T 细胞比例明显高于对照组 ($P < 0.05$), 而 Naive 比例明显低于对照组 ($P < 0.05$)。在 $CD19^{+}CD10^{-}CD20^{+}$ B 细胞亚群中, 试验组与对照组相比, 其 $CD24^{bri}CD38^{bri}$ 比例明显减低而 $CD27^{+}$ 比例明显

增高 ($P < 0.05$)。 $CD3^{-}CD56^{+}$ NK 细胞各亚群比例差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 $CD3^{+}CD56^{+}$ NKT 细胞亚群中, 试验组与对照组相比, 其 $CD57^{+}$ 比例明显增高而 $CD159a^{+}$ 和 $CD158e^{+}$ 比例明显减低 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 试验组与对照亚组骨髓 TBNK 细胞精细亚群的比较 [$M(P_{25}, P_{75}), \%$]				
TBNK 细胞精细亚群	对照亚组 ($n=21$)	试验组 ($n=21$)	U	P
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T 细胞				
Naive	32.61(25.20, 46.56)	26.11(11.43, 35.15)	103	0.083
CM	25.83(19.36, 33.51)	31.28(26.21, 45.42)	100	0.063
EM	30.73(26.66, 44.94)	35.78(27.76, 51.92)	121	0.248
Eff	0.94(0.53, 1.82)	1.02(0.52, 1.50)	154	0.918
Treg	7.51(6.33, 9.35)	9.67(8.03, 12.24)	86	0.021
PD-1 ⁺	12.05(8.39, 19.12)	19.28(15.19, 34.55)	81	0.013
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞				
Naive	27.12(16.29, 36.34)	7.06(2.31, 11.30)	11	<0.001
CM	1.32(0.91, 7.12)	2.30(1.01, 4.01)	110	0.131
EM	37.34(31.74, 48.39)	44.79(33.81, 63.42)	112	0.150
Eff	28.41(20.01, 39.55)	44.41(30.84, 53.19)	94	0.042
PD-1 ⁺	11.13(7.62, 14.87)	30.61(13.30, 50.23)	57	0.001
CD19 ⁺ CD10 ⁻ CD20 ⁺ B 细胞				
CD24 ^{bri} CD38 ^{bri}	5.86(0.22, 23.23)	2.78(0.05, 11.83)	124	0.015
CD27 ⁺	13.71(5.12, 78.57)	41.00(17.69, 77.28)	126	0.017
CD3 ⁻ CD56 ⁺ NK 细胞				
CD56 ^{bri} CD16 ^{neg}	3.74(1.54, 23.02)	5.16(0.31, 42.11)	194	0.745
CD56 ^{dim} CD16 ⁺	84.88(64.30, 96.61)	85.61(39.13, 97.62)	205	0.969
CD159a ⁺ *	20.20(4.27, 76.52)	25.64(4.28, 60.65)	200	0.851
CD159a ⁻ CD159c ⁻ CD57 ⁺ *	12.86(0.72, 40.61)	20.42(2.34, 85.35)	143	0.096
CD159a ⁻ CD159c ⁺ *	22.73(0.84, 79.66)	10.72(0.55, 77.83)	140	0.081
CD158e ⁺ *	11.39(0.30, 47.25)	13.35(0.05, 33.28)	205	0.969
CD3 ⁺ CD56 ⁺ NKT 细胞				
CD16 ⁺	19.17(2.99, 48.20)	17.53(1.67, 50.03)	196	0.785
CD57 ⁺	13.39(0.13, 43.37)	27.71(13.25, 66.37)	67	<0.001
CD159a ⁺	28.22(5.50, 50.16)	3.85(1.12, 20.03)	18	<0.001
CD159c ⁺	10.88(0.61, 55.76)	9.96(2.51, 55.07)	206	0.990
CD158b ⁺	10.24(1.82, 47.85)	7.47(0.10, 21.95)	135	0.060
CD158e ⁺	12.64(0.34, 39.80)	5.66(1.13, 52.43)	127	0.036

注: * 表示此亚群为 $CD56^{dim}CD16^{+}$ 的子集。

2.3 T 及 NK 细胞功能分子的比较 在 $CD3^{+}CD8^{+}$ T 细胞亚群中, 试验组与对照亚组的 Granzyme B、Perforin、CD107a 和 CD38 阳性率差异无统计学意义

($P > 0.05$)。在 $CD3^{-}CD56^{+}$ NK 细胞亚群中, 试验组的 Granzyme B 和 Perforin 阳性率均低于对照亚组 ($P < 0.05$), 而 CD38 阳性率高于对照亚组 ($P <$

0.05)。见表 4。

表 4 试验组与对照亚组骨髓 CD8 ⁺ T 和 NK 细胞功能分子的比较[M(P ₂₅ , P ₇₅), %]				
T 和 NK 功能	对照亚组(n=21)	试验组(n=21)	U	P
CD8 ⁺ T-Granzyme B	59.71(27.06,86.08)	62.30(31.20,88.12)	216	0.915
CD8 ⁺ T-Perforin	27.03(9.56,69.31)	36.35(3.84,61.74)	207	0.741
CD8 ⁺ T-CD107a	32.67(16.05,49.73)	37.39(9.16,57.13)	163	0.153
CD8 ⁺ T-CD38	5.16(2.34,13.95)	7.92(0.89,37.74)	154	0.093
NK-Granzyme B	87.68(71.25,95.99)	65.28(15.18,93.40)	69	<0.001
NK-Perforin	91.81(81.61,97.05)	64.53(18.68,96.29)	58	<0.001
NK-CD107a	47.66(25.18,78.40)	43.92(17.16,84.91)	178	0.294
NK-CD38	21.55(8.31,59.66)	47.95(1.57,88.73)	105	0.003

3 讨 论

MM 作为一种 B 细胞来源的恶性肿瘤,其主要发生部位位于骨髓。骨髓中的细胞成分与非细胞成分共同构成了 MM 肿瘤微环境(TEM)。TEM 中的免疫失调是导致疾病进展和治疗耐药的核心^[1]。尽管有研究总结了 MM 中的 T 细胞功能障碍^[9],但对于整个淋巴细胞系(包括 T 细胞、B 细胞、NK 及 NKT 细胞)的全面精细化表型与功能分析的研究仍不充足。本研究通过系统的流式细胞术分析,揭示了 MM 患者骨髓内复杂的免疫失调景象。主要发现包括:(1)淋巴细胞库的失衡:T 细胞和 NK/NKT 细胞群体的扩增与 B 细胞的严重缺失;(2)T 细胞免疫库的极化:T 细胞库向免疫抑制性亚群(如 Treg)和终末分化/耗竭性(如 CD8 Effector T、PD-1⁺)亚群的倾斜,同时伴随 CD8 初始 T 细胞的减少;(3)B 细胞库的衰老与调节功能受损:B 成熟/记忆性细胞(CD27⁺)增高与调节性 B 细胞(Breg,CD24^{bri}CD38^{bri})的减少;(4)NK 细胞功能严重受损:NK 细胞功能分子(Granzyme B、Perforin)表达显著下调。

本研究观察到 MM 患者骨髓中 CD3⁺ T 细胞、CD3⁺CD8⁺ T 细胞及 CD56⁺ 淋巴细胞(包括 NK 和 NKT 细胞)的总体比例显著增高。这一现象表明机体在面对 MM 肿瘤抗原时,启动了广泛的免疫应答。然而,数量的增加并不能等同于抗肿瘤免疫能力的增强。本研究进一步对 T 细胞精细亚群进行的分析和 Verheye 等^[10]的研究确实证实了这一点。一方面,MM 患者的 CD8 Effector T 细胞比例增高而 CD8 Naive T 细胞比例降低,提示 T 细胞库发生了“免疫衰老”或“终末分化”。这种分化模式虽然能快速产生效应细胞,但会消耗 T 细胞的长期增殖能力和免疫记忆功能。另一方面,MM 患者 T 细胞上 PD-1 的表达增高,引起严重的 T 细胞耗竭^[9,11]。Li 等^[12]研究也发现,MM 的免疫微环境中耗竭的 CD8⁺ T 细胞比例

增高。PD-1 是 T 细胞耗竭的关键标志物,其与 MM 细胞上的 PD-L1 等结合,使 T 细胞丧失有效的肿瘤杀伤能力。更重要的是,具有免疫抑制功能的 Treg 比例显著升高。Treg 是维持免疫耐受的关键细胞,其在 MM 微环境中的富集会直接抑制效应 T 细胞的功能,促进肿瘤细胞扩散与疾病进展^[13],是 MM 细胞免疫逃逸的重要机制之一^[9,14]。本研究结果表明,MM 患者的 T 细胞应答呈现出“总体比例增高,但功能上却陷入抑制和耗竭状态”的特点,为免疫检查点抑制剂等疗法在 MM 中的应用提供了依据。

MM 中 T 细胞功能的研究更多聚焦在耗竭上,其耗竭由慢性抗原长期暴露引起^[15],也可由代谢物^[16]或胞外囊泡^[17]导致。耗竭的 T 细胞一般伴随着细胞毒作用的降低^[18],然而本研究发现 CD8⁺ T 细胞的 Granzyme B 和 Perforin 的表达与对照组差异无统计学意义,说明 CD8⁺ T 细胞的杀伤效应储备是充足的。CD8⁺ T 细胞是肿瘤免疫中关键的效应细胞,必须经过识别活化后才能杀伤靶细胞。因此,引起 CD8⁺ T 细胞失能很可能由于不充分的共刺激和(或)过多的共抑制信号,导致其功能受损^[9]。Gudgeon 等^[16]的研究与本研究 and Verheye 等^[10]的结果不同,这可能是由于标本量与对照组的不同引起。

作为起源于 B 细胞系的恶性肿瘤,MM 对正常 B 细胞的影响尤为显著。本研究结果显示,总 CD19⁺ B 细胞的严重减少,可能与恶性浆细胞在骨髓微环境中竞争生存空间、营养及生长因子,从而抑制正常 B 细胞的生成和发育有关。Wang 等^[19]研究发现,MM 中的 B 淋巴细胞表达特异分子如 VISFATIN、SEL-PLG,导致细胞间的交流发生改变,影响细胞的发育,引起总 B 细胞的减少。对 B 细胞亚群的分析发现,CD27⁺ 记忆 B 细胞的比例相对增高,可能反映了在长期抗原刺激下,B 细胞应答趋于成熟化,但也可能由于新生 B 细胞的产生受阻,导致记忆库的相对“浓

缩”。本研究结果显示, Breg 细胞显著减少。Breg 虽然被报道具有抑制免疫功能, 但在 MM 中低比例 Breg 具有更低的总生存率^[20]。有研究提出, 在强烈的炎症和肿瘤压力下, 不同的免疫抑制通路可能发生重构, 当 Treg 介导的抑制作用占主导时, Breg 的稳态可能被打破^[21]。这种 Breg 的缺失, 加上 Treg 的扩增, 共同构成了一个异常且失衡的免疫调节环境。Bartosinska 等^[22]发现, MM 患者骨髓的 Breg 比例高于健康者的外周血 Breg 比例, 与本研究结果产生差异的原因可能是对照组的标本类型不同及流式设门策略不同。

影响肿瘤微环境中的 NK 细胞功能有诸多错综复杂的因素^[23], 但导致 NK 细胞失能的趋势是一致的。本研究发现 NK 细胞数量增加且人为干预刺激可使活化标记 CD38 的表达上调, 最重要的是 NK 细胞的 Granzyme B 和 Perforin 的表达却显著低于对照组。这种细胞数量增高而功能降低的矛盾状态可能解释了为何单纯的 NK 细胞数量增加不足以控制疾病进展。Blanquart 等^[24]的研究同样发现, 低表达 CD16 和 CD226 且细胞毒功能降低及黏附功能缺陷的 NK 细胞亚群会在 MM 患者中不断积累, 并影响预后。NK 数量与功能的解离现象是肿瘤免疫逃逸的精妙决策之一。其机制可能涉及多个层面: MM 细胞表面表达的抑制性配体(如 HLA-E/G)与 NK 细胞上的抑制性受体结合, 传递相应的信号^[25]; 微环境中丰富的免疫抑制分子(如转化生长因子 β)已被证实能直接下调 NK 细胞中细胞毒性颗粒蛋白的转录与表达^[26], 此外程序性死亡受体 1/程序性死亡配体 1(PD-1/PD-L1)等通路同样在 NK 细胞上发挥抑制作用^[27]。以上均说明 NK 细胞的增殖是无效的, 恢复 NK 细胞功能可能是实现抗肿瘤有效方法之一^[28]。

综上所述, 本研究结果表明, MM 患者的免疫系统处于一种复杂的失调状态, 骨髓免疫微环境已发生严重改变^[29]。一方面, T 细胞及 NK/NKT 细胞在 MM 免疫应答时不断地扩增激活; 另一方面, 增殖的细胞表现出功能耗竭和抑制性调控占优势的特点。这种“质”与“量”的分离是 MM 发生发展和免疫逃逸的核心环节。本研究仅为横断面研究, 未能动态观察治疗过程中这些免疫参数的变化及其与预后的关联。未来的研究会扩展到纵向监测这些免疫标志物, 并探索将其作为预测免疫治疗(如 CAR-T、双特异性抗体、免疫检查点抑制剂)疗效的标志物, 从而为 MM 的精准免疫治疗提供新的策略。

参考文献

[1] Kumar S K, Rajkumar V, Kyle R A, et al. Multiple myeloma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3:17046.

[2] Rajkumar S V. Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. American J Hematol, 2024, 99(9):1802-1824.

[3] Yang Y, Qin S, Yang M, et al. Reconstitution of the multiple myeloma microenvironment following lymphodepletion with BCMA CAR-T therapy[J]. Clin Cancer Res, 2024, 30(18):4201-4214.

[4] Naulaerts S, Datsi A, Borrás D M, et al. Multiomics and spatial mapping characterizes human CD8⁺ T cell states in cancer[J]. Sci Transl Med, 2023, 15(691):eadd1016.

[5] Myers J A, Miller J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(2):85-100.

[6] 杨再林, 武坤, 刘耀, 等. 淋巴细胞亚群检测在血液肿瘤中应用的专家共识[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(15):1793-1802.

[7] 王卉, 崔巍, 刘贵建, 等. 基于多参数流式细胞术精细化分析外周血免疫细胞亚群的中国专家共识[J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(11):1729-1747.

[8] 黄盼盼, 张爱梅, 张翠萍, 等. 外周血干细胞移植与非血缘脐带血移植的患者免疫重建规律的比较[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(12):1138-1144.

[9] Cai L, Zuo L, Wang G, et al. T cells dysfunction in multiple myeloma[J]. Immuno Targets Ther, 2025, 14. :997-1014.

[10] Verheye E, Kancheva D, Satilmis H, et al. A single-cell transcriptomic map of the murine and human multiple myeloma immune microenvironment across disease stages[J]. J Hematol Oncol, 2024, 17(1):107.

[11] Hagiwara S, Ri M, Ebina T, et al. Immunosuppressive effects of multiple myeloma-derived extracellular vesicles through T cell exhaustion[J]. Cancer Sci, 2025, 116(7):1861-1870.

[12] Li J, Yang Y, Wang W, et al. Single-cell atlas of the immune microenvironment reveals macrophage reprogramming and the potential dual macrophage-targeted strategy in multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2023, 201(5):917-934.

[13] Dahlhoff J, Manz H, Steinfatt T, et al. Transient regulatory T-cell targeting triggers immune control of multiple myeloma and prevents disease progression[J]. Leukemia, 2022, 36(3):790-800.

[14] Russell B M, Avigan D E. Immune dysregulation in multiple myeloma: the current and future role of cell-based immunotherapy[J]. Int J Hematol, 2023, 117(5):652-659.

[15] Žylka K, Kubicki T, Gil L, et al. T-cell exhaustion in multiple myeloma[J]. Expert Rev Hematol, 2024, 17(7):295-312.

[16] Gudgeon N, Giles H, Bishop E L, et al. Uptake of long-chain fatty acids from the bone marrow suppresses CD8⁺ T-cell metabolism and function in multiple myeloma[J]. Blood Adv, 2023, 7(20):6035-6047. (下转第 1982 页)

流式细胞术临床应用专题 • 论著

Tfh 细胞、B 细胞及免疫球蛋白检测对急性慢性布鲁氏菌病的鉴别诊断价值^{*}

王 倩, 柳叶子, 李智伟[△]

新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心, 新疆乌鲁木齐 830001

摘要:目的 分析滤泡辅助性 T(Tfh)细胞、B 细胞和免疫球蛋白(Ig)对布鲁氏菌病(布病)急性期与慢性期的诊断价值。方法 选取 2022 年 12 月至 2024 年 12 月在该院诊治 45 例急性期布病患者作为急性期组, 47 例慢性期布病患者作为慢性期组, 另选取同期 40 例布病血清学阴性的体检健康者作为阴性对照组, 比较各组 Tfh 细胞、B 细胞和 Ig 水平, 并分析其对急性期和慢性期布病的鉴别价值。结果 急性期组、慢性期组 Tfh 细胞、IgA 较阴性对照组显著升高($P<0.05$), B 细胞则明显降低($P<0.05$), 慢性期组 IgG 较阴性对照组更高($P<0.05$), 急性期组 IgM 较阴性对照组更高($P<0.05$), 急性期组 Tfh 细胞、IgM 较慢性期组更高($P<0.05$), 急性期组 B 细胞、IgA、IgG 较慢性期组更低($P<0.05$)。布病患者 Tfh 细胞与 IgA、IgG 呈负相关($P<0.05$), 与 IgM 呈正相关($P<0.05$), B 细胞与 IgA、IgG 呈正相关($P<0.05$), 与 IgM 呈负相关($P<0.05$)。二元 Logistic 回归分析结果显示, Tfh 细胞、B 细胞、IgA、IgM 是急性期和慢性期布病的独立影响因素($P<0.05$)。受试者工作特征曲线分析结果显示, Tfh 细胞、B 细胞、IgA、IgG、IgM 5 项联合鉴别急性期和慢性期布病的曲线下面积分别为 0.889、0.816、0.761、0.757、0.885、0.950。结论 Tfh 细胞、B 细胞、IgA、IgG、IgM 联合应用于急性期和慢性期布病, 具有较高的鉴别诊断价值。

关键词: Tfh 细胞; B 细胞; 免疫球蛋白; 布鲁氏菌病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.16.010

中图法分类号: R446

文章编号: 1673-4130(2026)16-1978-05

文献标识码: A

Value of Tfh cells, B cells and immunoglobulin detection in the differential diagnosis of acute and chronic brucellosis^{*}

Wang Qian, Liu Yezi, Li Zhiwei[△]

Clinical Laboratory Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China

Abstract: **Objective** To analyze the diagnostic value of follicular helper T (Tfh) cells, B cells and immunoglobulins (Ig) in the acute and chronic phases of brucellosis. **Methods** From December 2022 to December 2024, 45 patients with acute-stage brucellosis who were treated in this hospital were selected as the acute-stage group, 47 patients with chronic-stage brucellosis as the chronic-stage group, and 40 healthy individuals with negative brucellosis serology during the same period were selected as the negative control group. The levels of Tfh cells, B cells and Ig in each group were compared, and their value in differentiating acute and chronic stages of brucellosis was analyzed. **Results** The Tfh cells and IgA levels in the acute phase group and the chronic phase group were significantly higher than those in the negative control group ($P<0.05$), while the B cell levels were significantly lower ($P<0.05$). The IgG level in the chronic phase group was higher than that in the negative control group ($P<0.05$), and the IgM level in the acute phase group was higher than that in the negative control group ($P<0.05$). The Tfh cells and IgM levels in the acute phase group were higher than those in the chronic phase group ($P<0.05$), and the B cells, IgA, and IgG levels in the acute phase group were lower than those in the chronic phase group ($P<0.05$). The Tfh cells and IgA, IgG of the patients with brucellosis were negatively correlated ($P<0.05$), and the IgM was positively correlated ($P<0.05$). The B cells were positively correlated with IgA, IgG ($P<0.05$), and negatively correlated with IgM ($P<0.05$). Binary Logis-

^{*} **基金项目:** 新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2023D01C83); 新疆维吾尔自治区自然科学基金杰出青年科学基金项目(2022D01E30); 新疆维吾尔自治区“天山英才”培养计划项目(2022TSYCCX0102); 新疆维吾尔自治区科技支撑计划项目(2022E02118)。

作者简介: 王倩, 女, 主治医师, 主要从事感染性疾病及免疫学检验研究。 [△] **通信作者,** E-mail: 13899994455@163.com。