

• 论 著 •

SLAMF6、BCL-2/Bax 对重型再生障碍性贫血患者 HSCT 疗效的预测价值分析*

刘晓燕¹, 刘文超¹, 尹婷婷²

邯郸市第一医院: 1. 血液内科; 2. 老年病一科, 河北邯郸 056000

摘要:目的 探讨信号淋巴细胞激活分子家族 6(SLAMF6)、B 淋巴细胞瘤-2 基因(BCL-2)蛋白/Bcl-2 相关 X 蛋白(BCL-2/Bax)对重型再生障碍性贫血(SAA)患者造血干细胞移植(HSCT)疗效的预测价值。方法 将 2017 年 3 月至 2020 年 10 月于该院接受 HSCT 治疗的 56 例 SAA 患者纳入研究。HSCT 治疗后随访 1 年, 评价治疗效果, 比较不同治疗效果患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 的表达量、BCL-2/Bax 水平。分析外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间的相关性, 采用多元线性回归分析中性粒细胞植活时间、血小板植活时间的影响因素, 并建立回归方程。结果 SAA 患者经 HSCT 治疗后, 以中性粒细胞植活时间、血小板植活时间均值为界, 高于均值的患者移植后抗宿主病、感染并发症发生率更低($P < 0.05$); 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间均呈负相关($r < 0, P < 0.05$); 经多元线性回归分析, 筛选出与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间有线性关系的因素, 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平对应的线性系数差异有统计学意义($P < 0.05$); 建立中性粒细胞植活时间回归模型: 中性粒细胞植活时间 = $35.807 - 0.325 \times \text{SLAMF6} - 1.255 \times \text{BCL-2/Bax}$ ($R^2 = 0.894$), 血小板植活时间 = $67.220 - 2.999 \times \text{SLAMF6} - 19.704 \times \text{BCL-2/Bax}$ ($R^2 = 0.927$), 回归模型均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 与 SAA 患者 HSCT 治疗后中性粒细胞植活时间、血小板植活时间密切相关, 可用于 HSCT 的疗效预测。

关键词: 信号淋巴细胞激活分子家族 6; B 淋巴细胞瘤-2 基因; 重型再生障碍性贫血; 造血干细胞移植

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.004

中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2023)03-0273-07

文献标志码: A

Predictive value of SLAMF6, BCL-2/Bax on HSCT curative effect in patients with severe aplastic anemia*

LIU Xiaoyan¹, LIU Wenchao¹, YIN Tingting²

1. Department of Hematology; 2. the first Department of Geriatrics, Handan First
Hospital, Handan, Hebei 056000, China

Abstract: Objective To explore the predictive value of signaling lymphocyte activation molecule family 6 (SLAMF6), B-cell lymphoma-2 (BCL-2)/Bcl-2 related X (BCL-2/Bax) on the therapeutic effect of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in patients with severe aplastic anemia (SAA). **Methods** A total of 56 SAA patients who received HSCT treatment in the hospital from March 2017 to October 2020 were enrolled in the study. The therapeutic effect was evaluated by 1 year's follow-up after HSCT. The levels of SLAMF6 expression in CD8⁺ T lymphocytes and BCL-2/Bax level in patients with different curative effect were compared. The correlation between SLAMF6 expression in CD8⁺ T lymphocytes, BCL-2/Bax levels and neutrophil implantation time and platelet implantation time were analyzed. The influencing factors of neutrophil implantation time and platelet implantation time were analyzed by multiple linear regression, and the regression equation was established. **Results** After HSCT treatment, taking the mean time of neutrophil implantation time and platelet implantation time as the cut-off value, the incidence rates of graft-versus-host disease and infection complications were lower in patients with higher value than those in patients with lower value ($P < 0.05$). The levels of SLAMF6 expression in CD8⁺ T lymphocytes and BCL-2/Bax level were negatively correlated with the time of neutrophil implantation and platelet implantation ($r < 0, P < 0.05$). After multiple linear

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20211282)。

作者简介: 刘晓燕, 女, 副主任医师, 主要从事再生障碍性贫血的诊断、治疗的相关研究。

regression analysis, the factors that had a linear relationship with neutrophil implantation time and platelet implantation time were screened out; the linear coefficients corresponding to SLAMF6 expression in $CD8^+$ T lymphocytes and BCL-2/Bax level had statistically significant differences ($P < 0.05$). The regression models of neutrophil implantation time were established as follows: neutrophil implantation time = $35.807 - 0.325 \times SLAMF6 - 1.255 \times BCL-2/Bax$ ($R^2 = 0.894$), platelet implantation time = $67.220 - 2.999 \times SLAMF6 - 19.704 \times BCL-2/Bax$ ($R^2 = 0.927$), the regression models had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** SLAMF6 expression in $CD8^+$ T lymphocytes and BCL-2/Bax are closely related to neutrophil implantation time and platelet implantation time after HSCT treatment in SAA patients, and they could be used to predict the curative effect of HSCT.

Key words: signaling lymphocyte activation molecule family 6; B-cell lymphoma-2; Bcl-2-associated X protein; severe aplastic anemia; hematopoietic stem cell transplantation

重型再生障碍性贫血(SAA)是骨髓造血功能衰竭引起的一种血液系统重症,具有发病急、进展快及病死率高等特征^[1]。目前,强化免疫抑制治疗及造血干细胞移植(HSCT)是临床治疗 SAA 的重要手段,但前者初次治疗失败率可达 30%以上,且治疗有效的患者亦存在 10%~20%的复发风险,而 HSCT 优势在于造血重建快,长期生存率可达 70%以上,且多数无需维持治疗,治疗更彻底^[2-3]。临床数据显示,影响 SAA 患者 HSCT 疗效的主要因素有移植物抗宿主病、感染、出血等并发症,而 HSCT 治疗后中性粒细胞及血小板植活情况与上述并发症发生或存在直接关系^[4-5]。因此,早期预测 HSCT 疗效不仅有助于积极完善干预策略提升患者获益率,改善生存状况,且利于节约医疗资源,减轻社会及家庭负担。B 淋巴细胞瘤-2(BCL-2)蛋白、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax 蛋白)是一对与细胞凋亡平衡有关蛋白,多项研究显示,BCL-2/Bax 与骨髓造血功能有关^[6-7]。信号淋巴细胞激活分子家族 6(SLAMF6)主要在 NK、T、B 等免疫细胞中表达,其主要有负调控自身免疫功能的作用^[8]。EISENBERG 等^[9]研究显示,SLAMF6 可通过激活 $CD8^+$ T 淋巴细胞而参与肿瘤免疫的生物学过程。 $CD8^+$ T 淋巴细胞作为 SAA 的重要效应细胞,SLAMF6 的异常表达是否与 SAA 患者 HSCT 疗效有关尚无定论。本研究通过探讨 SAA 患者 HSCT 治疗前后外周血 $CD8^+$ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 变化,旨在为临床完善 HSCT 疗效评估机制提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2017 年 3 月至 2020 年 10 月于本院接受 HSCT 治疗的 SAA 患者 56 例纳入研究。纳入标准:(1)符合 SAA 诊断标准^[10],至少满足以下项目中的 2 项,①网织红细胞 $< 1\%$,绝对计数 $< 15 \times 10^9$ 个/L,②中性粒细胞绝对计数 $< 0.5 \times 10^9$ 个/L;③血小板 $< 2 \times 10^9$ 个/L;(2)无其他血液疾病及免疫性疾病;(3)对本研究内容知情同意并签署知情同意书。排除标准:(1)入组前 1 周内免疫调节剂、皮质类固醇激素用药史;(2)妊娠;(3)有严重肝肾心功能

障碍;(4)有肺部等活动性感染。

1.2 方法

1.2.1 HSCT 治疗 患者入院完善对应检查,明确是否有 HSCT 禁忌证及适应证。预处理:兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白[enzyme Europe B. V., S20150035, 规格:25 毫克/瓶(每瓶含兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白 25 mg,复溶后体积 5 mL),3.5 mg/(kg·d),连续 5 d]+氟达拉滨(江苏奥赛康药业有限公司,国药准字 H20064228,规格:50 mg,30 mg/m²,连续 5 d)+环磷酰胺[江苏恒瑞医药股份有限公司,国药准字 H32020857,规格:0.2 g,60 mg/(kg·d),连续 2 d]。移植物抗宿主病防范:全相合移植者予以环孢素 A+短程甲氨蝶呤。造血干细胞动员、采集、回输:供者皮下注射粒细胞集落刺激因子(G-CSF)300 μ g/d,连续 4 d,第 5 天采集骨髓回输,次日 COBE 血细胞单采机[埃克森(北京)科技有限公司]分离外周干细胞,回输。移植前 2 周,静滴更昔洛韦预防巨细胞病毒感染,予以肝保护药物预防肝静脉阻塞综合征,移植前 1 d 予以抗感染预防性治疗,移植后的白细胞低谷期服用立康唑片,移植后 7~10 d 静脉用丙种球蛋白。定期检测巨细胞病毒感染,予以静脉营养及对症支持治疗等。HSCT 后 1 年内每隔 3 个月全面体检 1 次。HSCT 疗效评价:中性粒细胞植活标准为首次连续 3 d 中性粒细胞绝对值 $> 0.5 \times 10^9$ /L;血小板植活标准为脱离血小板输入,且连续 7 d 血小板计数 $> 20 \times 10^9$ /L。

1.2.2 指标检测 (1)外周血 $CD8^+$ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量:采用肝素抗凝真空管采集肘静脉 4 mL。实验管加特异性抗体鼠抗人 CD3-APC、CD8-FITC、SLAMF6-PE 分别 5 μ L,同时对照管加特异性抗体鼠抗人 CD3-APC、CD8-FITC 及同型对照抗体 PE-IgG1 分别 5 μ L,每管加所采集外周血标本 100 μ L,混匀,孵育 15 min(4 $^{\circ}$ C 避光),加溶血素 1 mL,室温避光溶解红细胞(8 min),离心,弃上清,PBS 洗 2 次,上机测 SLAMF6 表达量。(2)BCL-2/Bax:非抗凝真空管采集肘静脉血 4 mL,离心 10 min(9 000 $\times$ g),取上清,孵育 2 h(37 $^{\circ}$ C),加 BCL-2、Bax 抗体,孵育 2

h(37℃),加底物,孵育 30 min(37℃),测吸光度(A)值,标准曲线下获得 BCL-2、Bax 水平,然后计算 BCL-2/Bax。

1.3 观察指标 (1)HSCT 后随访 1 年评价疗效,包括中性粒细胞植活时间、血小板植活时间及并发症发生率。(2)不同疗效患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平。(3)分析外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间的相关性。(4)比较不同类型患者的中性粒细胞植活时间、血小板植活时间。(5)采用多元线性回归分析中性粒细胞植活时间、血小板植活时间的影响因素,并建立回归方程。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行分析。对计量资料进行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验和 Bartlett 方差齐性检验。呈正态分布且方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 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。采用 Pearson 相关系数分析外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间相关性,采用多元线性回归模型分析中性粒细胞植活时间、血小板植活时间的影响因素,得出回归方程,并

绘制评估中性粒细胞植活时间、血小板植活时间与实际观察值的散点图,求出平均绝对偏差(MAD)值。均采用双侧检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

2 结 果

2.1 HSCT 治疗效果分析 56 例 SAA 患者经 HSCT 治疗,中性粒细胞植活时间 8~23 d,平均(15.38±3.76)d;血小板植活时间 7~173 d,平均(89.65±22.64)d。27 例患者 HSCT 治疗后 1 年内出现移植物抗宿主病,发生率 48.21%,其中 I 度 14 例(51.85%),II 度 9 例(33.33%),III 度 4 例(14.81%)。感染 16 例,发生率 28.57%,出血 9 例,发生率 16.07%。无病死病例。以中性粒细胞植活时间、血小板植活时间均值为界,高于均值的患者移植物抗宿主病、感染并发症发生率更低($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同 HSCT 治疗效果的患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平比较 56 例 SAA 患者经检测发现,外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 的表达量为(58.02±11.87)%,BCL-2 水平为(0.42±0.10)μg/L,Bax 水平为(0.37±0.08)μg/L,BCL-2/Bax 为 1.14±0.28。中性粒细胞植活时间、血小板植活时间高于均值的患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 的表达量和血清 BCL-2 水平、BCL-2/Bax 较低,Bax 水平较高($P<0.05$)。见表 2。

表 1 HSCT 治疗效果分析

指标	患者按指标分类	<i>n</i>	移植物抗宿主病(I 度/II 度/III 度)*	感染[<i>n</i> (%)]	出血[<i>n</i> (%)]
中性粒细胞植活时间	高于均值	30	10(4/5/1)	5(16.67)	3(10.00)
	低于均值	26	17(10/4/3)	11(42.31)	6(23.08)
	χ^2		5.731	4.487	0.929
	<i>P</i>		0.017	0.034	0.335
血小板植活时间	高于均值	29	9(4/4/1)	3(10.34)	2(6.90)
	低于均值	27	18(10/5/3)	13(48.15)	7(25.93)
	χ^2		7.110	9.791	2.476
	<i>P</i>		0.008	0.002	0.116

注:*表示该项数据均以例数表示,括号前为发生移植物抗宿主病患者例数,括号内为不同程度移植物抗宿主病的例数。

表 2 不同 HSCT 治疗效果患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平比较($\bar{x} \pm s$)

指标	患者类别	<i>n</i>	SLAMF6(%)	BCL-2(μg/L)	Bax(μg/L)	BCL-2/Bax
中性粒细胞植活时间	高于均值	30	54.67±13.08	0.37±0.10	0.40±0.09	0.93±0.32
	低于均值	26	61.89±11.17	0.48±0.13	0.34±0.07	1.41±0.26
	<i>t</i>		2.203	3.574	2.753	6.098
	<i>P</i>		0.032	0.001	0.008	<0.001
血小板植活时间	高于均值	29	55.02±11.73	0.39±0.12	0.41±0.10	0.95±0.34
	低于均值	27	61.24±10.54	0.45±0.10	0.33±0.08	1.36±0.25
	<i>t</i>		2.082	2.025	3.290	5.109
	<i>P</i>		0.042	0.048	0.002	<0.001

2.3 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平与中性粒细胞植活时间、血小板植活

时间相关性 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间呈负相

关($r=-0.803$ 、 -0.707 ,均 $P<0.001$);BCL-2/Bax 与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间呈负相关($r=-0.802$ 、 -0.680 ,均 $P<0.001$),见图 1~4。

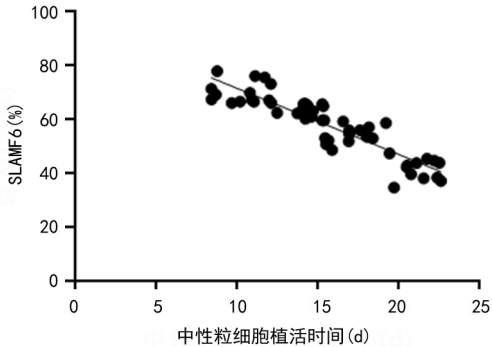


图 1 SLAMF6 与中性粒细胞植活时间的关系

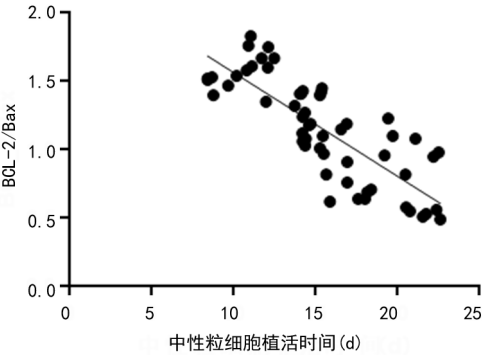


图 2 BCL-2/Bax 与中性粒细胞植活时间的关系

2.4 不同类型患者中性粒细胞植活时间、血小板植活时间比较 有主要脏器功能不全、移植物抗宿主病及 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平较高者中性粒细胞植活时间、血小板植活时间更长($P<0.05$)。见表 3。

2.5 多元线性回归分析 经多元线性回归分析,筛选出与中性粒细胞植活时间、血小板植活时间有线性关系的因素:CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、

BCL-2/Bax 对应的线性系数差异有统计学意义($P<0.05$)。建立中性粒细胞植活时间回归模型:中性粒细胞植活时间 = $35.807 - 0.325 \times \text{SLAMF6} - 1.255 \times \text{BCL-2/Bax}$,回归模型具有统计学意义($F=102.31$, $P<0.001$),自变量可解释中性粒细胞植活时间 89.2%($R^2=0.894$,调整 $R^2=0.892$)的变异量。建立血小板植活时间回归模型:血小板植活时间 = $67.220 - 2.999 \times \text{SLAMF6} - 19.704 \times \text{BCL-2/Bax}$,回归模型具有统计学意义($F=185.04$, $P<0.001$),自变量可解释血小板植活时间 92.5%($R^2=0.927$,调整 $R^2=0.925$)的变异量。见表 4、图 5~6。

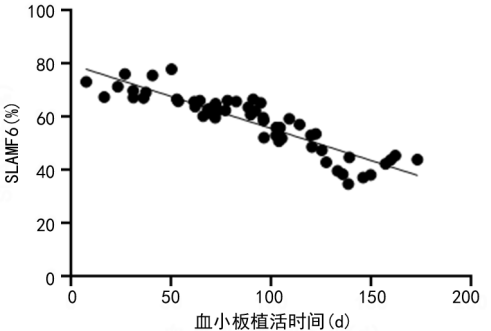


图 3 SLAMF6 与血小板植活时间的关系

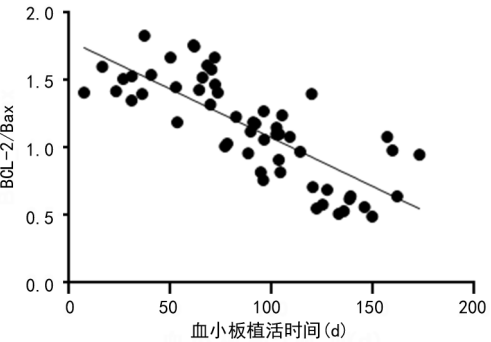


图 4 BCL-2/Bax 与血小板植活时间的关系

表 3 不同类型患者的中性粒细胞植活时间、血小板植活时间比较($\bar{x} \pm s$)

分类因素	<i>n</i>	中性粒细胞 植活时间(d)	<i>F^a/t^a</i>	<i>P^a</i>	血小板植 活时间(d)	<i>F^b/t^b</i>	<i>P^b</i>
年龄(岁)			0.147	0.864		0.174	0.841
>45	12	15.85±4.01			92.52±20.36		
18~45	34	15.32±3.68			89.34±21.26		
<18	10	15.02±3.51			87.26±23.05		
性别			0.956	0.343		0.929	0.357
男	29	14.92±3.92			86.94±21.19		
女	27	15.87±3.48			92.56±24.08		
疾病分型			1.007	0.318		0.704	0.485
SAA-I	36	15.01±3.58			88.02±24.59		
SAA-II	20	16.05±3.92			92.58±20.48		
诊断至移植时间(个月)			1.293	0.202		1.026	0.310
<3	31	14.17±3.62			86.89±21.04		
≥3	25	16.11±4.01			93.07±24.03		

续表 3 不同类型患者的中性粒细胞植活时间、血小板植活时间比较($\bar{x}\pm s$)

分类因素	<i>n</i>	中性粒细胞 植活时间(d)	<i>F</i> ^a / <i>t</i> ^a	<i>P</i> ^a	血小板植 活时间(d)	<i>F</i> ^b / <i>t</i> ^b	<i>P</i> ^b
主要脏器功能不全			2. 779	0. 008		2. 102	0. 040
有	12	17. 87±3. 81			102. 01±20. 49		
无	44	14. 70±3. 42			86. 28±23. 57		
干细胞来源			0. 137	0. 872		0. 115	0. 892
骨髓	14	14. 98±3. 45			87. 99±20. 98		
外周血	29	15. 42±3. 72			89. 41±21. 34		
骨髓+外周血	13	15. 72±3. 98			91. 97±24. 08		
供者性别			1. 022	0. 311		1. 159	0. 252
男	35	14. 99±3. 56			86. 92±21. 58		
女	21	16. 03±3. 89			94. 20±24. 65		
供者年龄(岁)			0. 238	0. 789		0. 106	0. 900
>45	13	16. 01±4. 02			92. 05±25. 34		
18~45	34	15. 23±3. 81			89. 19±21. 56		
<18	9	15. 04±3. 57			87. 92±23. 07		
供者关系			0. 731	0. 468		1. 772	0. 082
同胞供者	38	15. 13±3. 61			85. 98±21. 75		
无关供者	18	15. 91±3. 98			97. 40±24. 13		
移植物抗宿主病			2. 135	0. 037		2. 039	0. 046
有	27	16. 49±3. 96			95. 97±23. 67		
无	29	14. 35±3. 54			83. 77±21. 09		
感染			0. 649	0. 519		0. 701	0. 487
有	16	15. 87±3. 85			92. 79±23. 05		
无	40	15. 18±3. 49			88. 39±20. 49		
出血			0. 578	0. 566		0. 588	0. 559
有	9	16. 02±3. 92			94. 05±21. 37		
无	47	15. 26±3. 56			88. 81±25. 02		
SLAMF6 表达量			2. 218	0. 031		2. 664	0. 010
高	29	14. 31±3. 97			97. 16±23. 34		
低	27	16. 53±3. 48			81. 58±20. 16		
BCL-2/Bax			2. 464	0. 017		2. 149	0. 036
高	28	14. 19±3. 53			96. 03±21. 97		
低	28	16. 66±3. 96			82. 80±24. 06		

注:低是指小于或等于均值,高是指大于均值;^a表示中性粒细胞植活时间的比较;^b表示血小板植活时间的比较。

表 4 多元线性回归分析

结局变量	解释变量	β	<i>SE</i>	β'	<i>t</i>	<i>P</i>
中性粒细胞植活时间	常数项	35. 807	—	—	—	—
	主要脏器功能不全	0. 428	0. 472	0. 321	0. 907	0. 329
	移植物抗宿主病	0. 537	0. 419	0. 357	1. 281	0. 072
	SLAMF6	−0. 325	0. 018	−0. 880	−17. 997	<0. 001
	BCL-2/Bax	−1. 255	0. 521	−0. 118	−2. 410	0. 019
血小板植活时间	常数项	67. 220	—	—	—	—
	主要脏器功能不全	0. 564	0. 472	0. 382	1. 195	0. 060
	移植物抗宿主病	0. 609	0. 406	0. 429	1. 500	0. 058
	SLAMF6	−2. 999	0. 294	−0. 801	−10. 206	<0. 001
	BCL-2/Bax	−19. 704	8. 489	−0. 182	−2. 321	0. 024

注:结局变量均赋具体值;主要脏器功能不全,有=1、无=0;移植物抗宿主病,有=1、无=0;SLAMF6、BCL-2/Bax 均赋具体值。

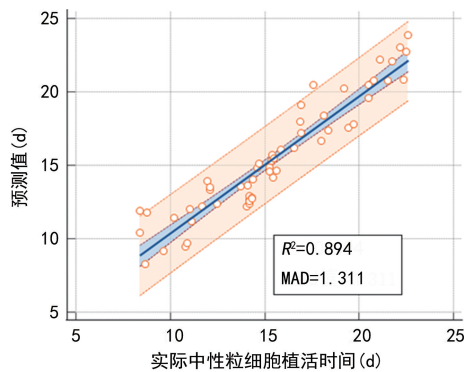


图 5 中性粒细胞植活时间实际值与预测值

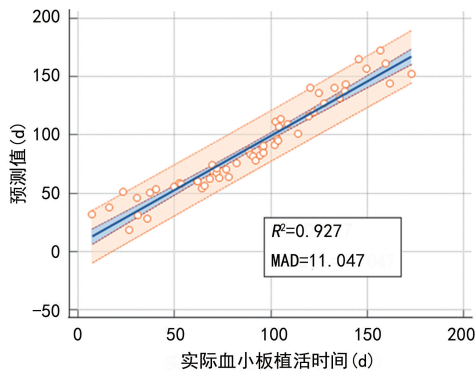


图 6 血小板植活时间实际值与预测值

3 讨 论

HSCT 是当前重建 SAA 患者骨髓造血功能, 确保患者能长期生存的主要手段。尽管 HSCT 前已有标准预处理方案, 但不同 SAA 患者 HSCT 效果不尽相同, 如中性粒细胞及血小板植活时间存在差异^[11]。本研究也发现, HSCT 治疗效果不尽相同, 尤其是血小板植活时间最长近 6 个月, 而中性粒细胞及血小板植活时间越短的患者并发症发生率越低, 患者获益更大。此与近年研究结论一致^[12]。因此, 有效评估 SAA 患者 HSCT 治疗的时效性对指导临床积极完善干预策略至关重要。

目前 SAA 致病机制尚未完全明确。多数报道表明, 此疾病的发生、发展可能与自身免疫所致造血干细胞损伤有关^[13-14]。同时机体移植排斥反应也是 HSCT 能否成功的主要决定因素^[15]。由此可见, 机体免疫相关调控机制或与 HSCT 后中性粒细胞植活时间、血小板植活时间有关。SLAMF6 是表达在淋巴细胞表面的一种跨膜糖蛋白受体, 对淋巴细胞分化、功能具有调节作用, 其参与系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病的发病过程^[16]。有研究通过基因敲除技术证实, SLAMF6^{-/-}小鼠 Th1 类细胞因子增加, 而 Th1 类细胞因子缺失, 并得出 SLAMF6 可能在机体免疫中发挥负调控作用^[17-18]。本研究发现, 中性粒细胞及血小板植活时间较长患者外周血 SLAMF6 呈低表达状态。据此推测, SLAMF6 低表达可能会造成机体免疫过度而影响中性粒细胞及血小板顺利植入。分析

原因, 主要是造血干细胞作为移植物进入机体后可激发机体免疫排斥反应, 而 SLAMF6 低表达可直接造成 Th1/Th2 平衡偏移, 并引起 Th1 细胞过度增殖及生成、释放白细胞介素-2、 γ 干扰素等多种细胞因子, 加重造血干细胞免疫损伤。另外, 研究显示, 初治 SAA 患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞表面 SLAMF6 低表达, 而 CD8⁺ T 淋巴细胞及其效应因子水平显著升高^[19]。据此认为, SLAMF6 低表达可能会造成“杀手”CD8⁺ T 淋巴细胞过度激活而增加中性粒细胞及血小板植活难度。相关性分析发现, SLAMF6 表达与中性粒细胞及血小板植活时间呈负相关, 且是二者植活时间的独立因素, 说明 SLAMF6 或可作为临床评估 HSCT 疗效的客观依据。

BCL-2/Bax 决定细胞“命运”。研究显示, BCL-2/Bax 水平升高预示细胞生命延长, 否则细胞凋亡加速^[20]。廖亮英等^[21]研究显示, 可通过调节 BCL-2、Bax 表达而促进神经干细胞移植大鼠神经功能恢复。本研究发现, BCL-2/Bax 值低时, SAA 患者中性粒细胞及血小板植活时间延长, 提示 BCL-2/Bax 值可能与 HSCT 疗效有关。但有研究指出, 中性粒细胞及血小板植活情况是多因素作用的结果, 如移植前巨细胞病毒血症、营养状态均是其影响因素^[22-23]。本研究也发现, 移植物抗宿主病与 HSCT 疗效有关, 但校正混杂因素后, 仅 SLAMF6、BCL-2/Bax 进入方程, 提示 SLAMF6、BCL-2/Bax 是 HSCT 疗效的独立因素。分析可能的原因: (1) BCL-2 能抑制细胞程序性凋亡, 参与细胞线粒体、核孔复合体信号传递, 且能通过改变线粒体外膜通透性而调节促细胞凋亡因子的释放, 而 Bax 作为 BCL-2 蛋白家族主要成员之一, 是一种促细胞凋亡蛋白。因此, BCL-2/Bax 值降低时可能会造成新植入造血干细胞增殖、分化受影响, 以致中性粒细胞及血小板植活时间延长。(2) 研究证实, SAA 患者血超氧化物歧化酶、过氧化氢酶水平呈异常状态, 氧化应激参与此疾病发生发展过程^[24]。BCL-2 是一种重要抗氧化剂, 可调节机体内环境氧化还原状态, 减轻或阻断细胞及其组分被氧化损伤, 而 BCL-2 低水平状态或直接造成造血干细胞受氧化应激诱导而衰老。上述研究表明, BCL-2/Bax 水平与 HSCT 疗效关系密切。后续分析发现, CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax 水平可解释中性粒细胞植活时间及血小板植活时间的变异量均达 89% 以上, 说明 SLAMF6、BCL-2/Bax 可为临床评估 HSCT 疗效提供客观依据。但 HSCT 治疗后病情转归复杂, 除与患者原生免疫系统有关外, 还与供者干细胞分化及增殖而来的中性粒细胞有关, 当其将自身组织作为“异物”产生免疫排斥时亦会影响 HSCT 整体效果, 而患者 CD8⁺ T 淋巴细胞 SLAMF6 表达量、BCL-2/Bax

水平是否与此免疫反应强度有关仍需继续探讨。

综上可知, SAA 患者 SLAMF6 与 BCL-2/Bax 表达下调会延长 HSCT 治疗后中性粒细胞植活时间、血小板植活时间, 二者可作为预测 HSCT 疗效的指标。

参考文献

- [1] BACIGALUPO A, GIAMMARCO S. Haploidentical donor transplants for severe aplastic anemia[J]. *Semin Hematol*, 2019, 56(3): 190-193.
- [2] BODDU P, GARCIA-MANERO G, RAVANDI F, et al. Clinical outcomes in adult patients with aplastic anemia: a single institution experience[J]. *Am J Hematol*, 2017, 92(12): 1295-1302.
- [3] GUAN J, SUN Y, FU R, et al. A cohort study of immune and hematopoietic functionality changes in severe aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(3): e14149.
- [4] 危薇. 单倍体相合造血干细胞移植联合骨髓间充质干细胞输注治疗儿童重型再生障碍性贫血的临床观察[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2017.
- [5] 周健, 张龚莉, 符粤文, 等. 无关供者造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血 29 例的疗效分析[J]. *中华器官移植杂志*, 2017, 38(2): 78-83.
- [6] 李义波, 杨柏龄, 侯茜, 等. 党参多糖对小鼠造血干细胞衰老相关蛋白 p53 p21 Bax 和 Bcl-2 的影响[J]. *解放军药理学学报*, 2017, 33(2): 120-124.
- [7] 石浩, 张洪翠, 蔡丽晓, 等. 骨髓间充质干细胞对制动大鼠骨骼肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2017, 39(6): 401-405.
- [8] EISENBERG G, ENGELSTEIN R, GEIGER-MAOR A, et al. Soluble SLAMF6 receptor induces strong CD8⁺ T-cell effector function and improves anti-melanoma activity in vivo[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(2): 127-138.
- [9] EISENBERG G, ENGELSTEIN R, GEIGER-MAOR A, et al. Soluble SLAMF6 receptor induces strong CD8⁺ T-cell effector function and improves anti-melanoma activity in vivo[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(2): 127-138.
- [10] 中华医学会血液学分会红细胞疾病学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017 年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 1-5.
- [11] HUANG Y R, XIE C Q, TONG J F, et al. Successful treatment with matched unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation for very severe aplastic anemia in presence of active infections: a case report[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(14): e19807.
- [12] 安晋婷, 马梁明, 王涛, 等. 单倍体相合造血干细胞移植治疗 35 例重型再生障碍性贫血的临床研究[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(3): 200-204.
- [13] 王姣, 兰坚, 周颖. 脐带间充质干细胞静脉输注治疗难治性重型再生障碍性贫血疗效及对外周血 Th1、Th17 水平的影响[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(4): 549-553.
- [14] LIU L P, CHEN X J, YANG W Y, et al. Predicting response to porcine antilymphocyte globulin plus cyclosporine A in children with acquired severe aplastic anemia[J]. *Pediatr Res*, 2019, 86(3): 360-364.
- [15] SHIN S H, PARK S S, YOON J H, et al. Comparison of HLA-matched sibling and unrelated donor transplantation in adult patients with acquired severe aplastic anemia[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2020, 55(8): 1570-1579.
- [16] KESZEI M, DETRE C, CASTRO W, et al. Expansion of an osteopontin-expressing T follicular helper cell subset correlates with autoimmunity in B6. Slclb mice and is suppressed by the H1-isoform of the Slamf6 receptor[J]. *FASEB J*, 2013, 27(8): 3123-3131.
- [17] HAJAJ E, EISENBERG G, KLEIN S, et al. SLAMF6 deficiency augments tumor killing and skews toward an effector phenotype revealing it as a novel T cell checkpoint[J]. *Elife*, 2020, 9(1): e52539.
- [18] YIGIT B, WANG N, TEN HACKEN E, et al. SLAMF6 as a regulator of exhausted CD8⁺ T cells in cancer[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(9): 1485-1496.
- [19] 曾立洁, 刘春燕, 丁少雪, 等. 重型再生障碍性贫血患者 SLAMF6 表达状态的初步研究[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(11): 927-931.
- [20] FAN J, YU S, CUI Y, et al. Bcl-2/Bax protein and mRNA expression in yak (*Bos grunniens*) placentomes[J]. *Theriogenology*, 2017, 104(1): 23-29.
- [21] 廖亮英, 蔡光先, 周赛男. 补阳还五汤超微饮片对局灶性脑缺血大鼠神经干细胞移植后 Bcl-2、Bax 表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(3): 257-260.
- [22] 卞馨妮, 李乐, 卢俊, 等. 脐血移植治疗 WAS 的疗效观察[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(3): 381-384.
- [23] 王志东, 孙于谦, 闫晨华, 等. 单倍型相合造血干细胞移植前血液病患者体内供者特异性抗人类白细胞抗原抗体水平对利妥昔单抗去敏治疗后造血重建不良的影响分析[J]. *中华内科杂志*, 2021, 60(7): 644-649.
- [24] 胡依民, 李尚珠. 再生障碍性贫血患者血清 VEGF、EGF、EPO、TPO 及氧化应激的变化[J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21(5): 57-60.

(收稿日期: 2022-06-19 修回日期: 2022-11-28)