

- HOTAIR modulates KLF12 to regulate gastric cancer progression via PI3K/ATK signaling pathway by sponging miR-618 [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12 (3): 10323-10334.
- [11] SHI J, GONG L, CHEN L, et al. miR-618 suppresses metastasis in gastric cancer by downregulating the expression of TGF- β 2 [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2019, 302(6): 931-940.
- [12] MIKELI M, FUJIKAWA M, NAGAHISA K, et al. Contribution of GPD2/mGPDH to an alternative respiratory chain of the mitochondrial energy metabolism and the

• 短篇论著 •

- stemness in CD133-positive HuH-7 cells [J]. *Genes Cells*, 2020, 25(2): 139-148.
- [13] 杨泽宇, 郑亚洲, 黄礼年. GPD2 在非小细胞肺癌组织中的表达及临床意义 [J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(18): 3182-3186.
- [14] WU T, YANG Y, ZHANG B, et al. EDDM3A drives gastric cancer progression by promoting HIF-1 α -dependent aerobic glycolysis [J]. *Oncogenesis*, 2022, 11(1): 301-309.

(收稿日期: 2023-12-03 修回日期: 2024-03-08)

外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 在再生障碍性贫血患者中的水平变化及临床意义*

刘 恋, 张忠印, 吉飞跃

海安市人民医院输血科, 江苏海安 226600

摘要:目的 分析外周血 CD200、CD200R 及血清白细胞介素(IL)-8、肿瘤坏死因子(TNF)- α 在再生障碍性贫血(AA)患者中的水平变化及临床意义。方法 回顾性分析 2019 年 3 月至 2021 年 3 月该院收治的 86 例 AA 患者的临床资料, 根据患者入院病情严重程度分为轻度组(40 例)及重度组(46 例), 将同期来该院体检的 50 例体检健康者作为对照组。检测并比较各组外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 水平, 采用 Spearman 相关分析外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 水平与 AA 病情严重程度的相关性, 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 预测 AA 患者预后不良的价值; 采用多因素 Logistic 回归分析 AA 患者预后不良的影响因素。结果 重度组 CD200、CD200R 水平低于轻度组及对照组($P < 0.05$), IL-8、TNF- α 水平高于轻度组及对照组($P < 0.05$); Spearman 相关分析结果显示, AA 病情严重程度与 CD200、CD200R 水平呈负相关($P < 0.05$), 与 IL-8、TNF- α 水平呈正相关($P < 0.05$); 预后不良组病情重度占比及 IL-8、TNF- α 水平均高于预后良好组, CD200、CD200R 水平均低于预后良好组($P < 0.05$); ROC 曲线分析结果显示, 外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 可用于 AA 预后不良的预测, 曲线下面积分别为 0.939、0.961、0.814、0.648。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 病情程度为重度、CD200 $\leq 7.641\%$ 、CD200R $\leq 6.490\%$ 、IL-8 > 83.197 pg/mL、TNF- $\alpha > 171.307$ pg/mL 均是导致 AA 预后不良的危险因素($P < 0.05$)。结论 AA 患者中外周血 CD200、CD200R 水平降低, 且外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 与 AA 之间存在一定相关性, 各指标可反映 AA 患者病情严重程度。

关键词:再生障碍性贫血; CD200; CD200R; 白细胞介素-8; 肿瘤坏死因子- α

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.12.024

文章编号:1673-4130(2024)12-1526-04

中图法分类号:R556.5

文献标志码:A

再生障碍性贫血(AA)属于多种因素引起的血液系统疾病, 以外周血细胞减少、骨髓造血细胞增生降低为主要特征, 并伴有贫血、出血、体温异常及头昏等主要症状, 多见于中青年群体^[1]。目前, AA 的发病机制尚不明确, 与化学物质损伤、不良生活环境、免疫系统紊乱及遗传变异等有关, 严重危害患者生命健康^[2]。目前临床尚缺乏对 AA 的特异性诊断指标, 有研究认为, 该病与细胞免疫异常有关, 免疫异常可能会导致造血功能异常^[3]。CD200 属于免疫球蛋白, 能活化 T 细胞和滤泡树突细胞等; CD200R 和 CD200 结

构相似, 但表达相对局限; 已有研究表明, CD200R、CD200 在贫血患者外周血中存在表达及功能的异常^[4]。血清白细胞介素(IL)-8 是一种单核细胞, 在炎症和免疫反应中均起到重要作用^[5]。肿瘤坏死因子(TNF)- α 是一种多肽激素, 也是单核细胞分泌的细胞因子^[6]。既往研究虽然已明确 IL-8、TNF- α 在机体炎症损伤中水平升高^[5-6], 但其用于 AA 病情相关的诊断研究较少。基于此, 本研究回顾性分析外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 在 AA 患者中的水平变化, 为临床医生预测 AA 发生和病情监测、

* 基金项目: 江苏省输血协会爱康生物科研项目(JS AK2022026)。

预后评估提供参考依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 3 月至 2021 年 3 月本院收治的 86 例 AA 患者为研究对象,选取同期来本院体检的 50 例体检健康者作为对照组,对照组中男 26 例,女 24 例;年龄 18~52 岁,平均(35.37±4.59)岁。纳入标准:符合 AA 相关诊断标准^[7];AA 患者入组前均未接受免疫抑制剂治疗。排除标准:合并严重肝、肾、肺等疾病者;存在脑外伤、高血压疾病、脑炎、中毒等疾病者;存在免疫系统疾病者;妊娠及哺乳期女性;入组前出现发热、感染等症状者;存在恶性肿瘤者。根据患者病情严重程度^[8]将 AA 患者分为轻度组及重度组。重度组:骨髓细胞面积<正常 25%,造血细胞<30%且以下至少满足两项,粒细胞计数<0.5×10⁹/L,网织红细胞计数<1%,血小板计数<20×10⁹/L。轻度组:尚未达到以上标准。轻度组 40 例,其中男 21 例,女 19 例;年龄 18~53 岁,平均(36.57±5.67)岁;重度组 46 例,其中男 24 例,女 22 例;年龄 18~53 岁,平均(35.98±5.88)岁。各组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院医学伦理委员会审批通过(2019-03)。

1.2 方法

1.2.1 外周血 CD200、CD200R 水平检测 入组时采取研究对象空腹静脉血 5 mL,按试剂盒(购自美国 B&D 公司)要求分离外周血单个核细胞,在避光条件下依次向试管加入 CD4-FITC、CD14-FITC、CD200-PE、CD200R1-APC 进行染色。设立对照组,离心 30 min 后去除上清液,重复 3 次后,加入 FACS buffer

200~500 μL,采用 FACSCa libur 流式细胞仪(美国 B&D 公司)检测 CD200、CD200R 水平。

1.2.2 血清 IL-8、TNF-α 水平检测 静脉血以 2 000 r/min 离心 5 min,分离血清后,采用酶联免疫吸附试验(试剂由罗氏公司提供,20153401858)检测所有研究对象 IL-8、TNF-α 水平。

1.2.3 预后评估^[9] 治疗后病情缓解为预后良好,指中性粒细胞绝对值 $>0.5\times10^9/L$,血红蛋白 $>80\text{ g/L}$,血小板 $>20\times10^9/L$,并维持 3 个月以上;未缓解为预后不良,指患者病情未有明显改善,上述指标不达标。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验或方差分析;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关分析外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 水平与 AA 病情严重程度的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 预测 AA 患者预后不良的价值;采用多因素 Logistic 回归分析 AA 患者预后不良的影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 水平比较 重度组 CD200、CD200R 水平低于轻度组、对照组($P<0.05$),IL-8、TNF-α 水平高于轻度组、对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD200(%)	CD200R(%)	IL-8(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
重度组	46	6.39±2.83	5.29±1.19	85.39±9.53	175.69±20.59
轻度组	40	11.67±2.76 ^a	10.61±2.09 ^a	73.69±9.87 ^a	162.37±22.34 ^a
对照组	50	20.54±2.67 ^{ab}	17.68±2.49 ^{ab}	62.34±10.59 ^{ab}	142.59±21.37 ^{ab}
<i>F</i>		18.347	21.349	12.546	16.355
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与重度组比较,^a $P<0.05$;与轻度组比较,^b $P<0.05$ 。

2.2 外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 水平与 AA 病情严重程度的关系 Spearman 相关分析结果显示,AA 病情严重程度与 CD200、CD200R 水平呈负相关($r=-0.521$ 、 -0.544 , $P<0.05$),与 IL-8、TNF-α 水平呈正相关($r=0.469$ 、 0.458 , $P<0.05$)。

2.3 AA 患者预后不良的单因素分析 86 例 AA 患者治疗后预后不良有 29 例(预后不良组),占 33.72%(29/86),预后不良组病情重度占比及 IL-8、TNF-α 水平平均高于预后良好组,CD200、CD200R 水平均低于预后良好组($P<0.05$),见表 2。

2.4 外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 预

测 AA 预后的 ROC 曲线分析 ROC 曲线分析结果显示,外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 可用于 AA 预后的预测,曲线下面积(AUC)分别为 0.939、0.961、0.814、0.648,见表 3。

表 2 AA 患者预后不良的单因素分析($\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$)

项目	预后不良组 (<i>n</i> =29)	预后良好组 (<i>n</i> =57)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄(岁)	36.49±5.29	37.52±4.49	0.946	0.347
性别			0.055	0.815
男	15(51.72)	30(52.63)		
女	14(48.28)	27(47.37)		

续表 2AA 患者预后不良的单因素分析[$\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

项目	预后不良组 (<i>n</i> =29)	预后良好组 (<i>n</i> =57)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
病情程度			11.727	0.001
轻度	6(20.69)	34(59.65)		
重度	23(79.31)	23(40.35)		
CD200(%)	5.69±1.39	10.68±2.61	9.607	<0.001
CD200R(%)	4.88±1.21	9.18±2.86	7.734	<0.001
IL-8(pg/mL)	89.67±10.59	76.59±9.57	4.454	<0.001
TNF-α(pg/mL)	178.51±15.61	165.53±13.42	4.011	<0.001

2.5AA 预后不良的多因素 Logistic 回归分析 将

表 3外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 预测 AA 预后不良的 ROC 曲线分析

指标	AUC	SE	<i>P</i>	95%CI	最佳临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
CD200	0.939	0.023	<0.001	0.893~0.985	7.641%	78.90	80.00
CD200R	0.961	0.017	<0.001	0.927~0.995	6.490%	84.20	80.00
IL-8	0.814	0.053	<0.001	0.710~0.918	83.197 pg/mL	78.90	78.60
TNF-α	0.648	0.064	0.027	0.524~0.773	171.307 pg/ml	64.90	64.30
联合预测	0.982	0.110	<0.001	0.961~1.000	—	91.20	96.40

注:—为此项无数据。

表 4AA 预后不良的多因素 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
病情程度为重度	1.354	0.556	5.930	0.015	3.873	1.302~11.516
CD200≤7.641%	1.429	0.602	5.635	0.018	4.175	1.283~13.584
CD200R≤6.490%	1.538	0.589	6.818	0.009	4.656	1.467~14.768
IL-8>83.197 pg/mL	1.429	0.579	6.091	0.014	4.175	1.342~12.986
TNF-α>171.307 pg/mL	1.527	0.543	7.908	0.005	4.604	1.588~13.347

3讨 论

AA 是一种原发性骨髓造血功能衰竭病症,主要症状为发烧、贫血、头晕、感染等,由化学、物理、免疫等因素引起,可表现为全血细胞减少和骨髓增生极度减低倾向^[10]。目前,导致人体细胞减少的疾病种类繁多,发病机制和病因各异,如何鉴别 AA 对临床诊断及治疗具有重要意义。有研究显示,AA 的发展与骨髓中造血干细胞免疫性损伤关系密切^[11]。CD200、CD200R 分子可抑制免疫系统反应,维持外周血的免疫耐受,且近年来 CD200、CD200R 在自身免疫性疾病及肿瘤免疫治疗方面被广泛纳入研究。IL-8、TNF-α 是典型的免疫、炎症抑制因子,在疾病发展中起到重要作用^[12]。

本研究将 AA 患者根据不同病情严重程度进行分组并与健康者对比发现,重度组 CD200、CD200R 水平低于轻度组及对照组,IL-8、TNF-α 水平高于轻度组及对照组。这一结果说明,外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 可能参与 AA 的发生及发展。分析原因为,AA 患者体内血清存在抑制造血干细胞的抗体,导致患者体内某些血清因子及外周血指标均会发生变化^[13]。CD200 需要通过结合 CD200R 起作用,有研究显示,CD200、CD200R 能影响 Th1 和 Th2 平衡,可促进 Treg 增殖和抑制效应 T

预后不良作为因变量,将病情程度(轻度=0,重度=1)、CD200(>7.641%=0,≤7.641%=1)、CD200R(>6.490%=0,≤6.490%=1)、IL-8(≤83.197 pg/mL=0,>83.197 pg/mL=1)、TNF-α(≤171.307 pg/mL=0,>171.307 pg/mL=1)作为自变量,并将其纳入多因素 Logistic 回归模型中。结果发现病情程度为重度、CD200≤7.641%、CD200R≤6.490%、IL-8>83.197 pg/mL、TNF-α>171.307 pg/mL 均是导致 AA 患者预后不良的危险因素(*P*<0.05)。见表 4。

细胞功能而发挥免疫抑制作用^[4]。黄丽奋等^[14]研究显示,免疫反应在不同刺激下会释放一系列的细胞因子,如 IL-8、TNF-α 等,进一步造成干细胞分裂受阻凋亡,加重病情进展。王蕊等^[15]研究显示,AA 患者经免疫抑制治疗后能明显减少胞质内炎症因子表达,这说明 AA 患者免疫机制与病情严重程度有明显相关性。本研究中采用 Spearman 相关进行分析,结果显示 AA 病情严重程度与 CD200、CD200R 水平呈负相关(*P*<0.05),与 IL-8、TNF-α 水平呈正相关(*P*<0.05),进一步证实了外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF-α 与 AA 的发生发展存在密切相关性。

86 例 AA 患者治疗后 29 例预后不良,预后不良组病情重度占比及 IL-8、TNF-α 水平均高于预后良好组(*P*<0.05),CD200、CD200R 水平均低于预后良好组(*P*<0.05)。说明病情严重程度、CD200、CD200R 水平降低及 IL-8、TNF-α 水平升高均是导致 AA 预后不良的危险因素。分析原因为,病情较为严重的 AA 患者较为难治,可危及患者生命,虽然以免疫抑制治疗为主,但据统计仍有 30% 的患者会出现复发及无效的现象,从而影响患者预后^[16]。CD200、CD200R 具有抑制免疫反应的作用,在 LIU 等^[17]研究中已被证实。CD200、CD200R 除对巨噬细胞有抑制作用以外,在细胞的调节、过敏反应等自身免疫有关的疾病中,

也发挥着重要的作用^[18-19]。因此,上调 CD200、CD200R 水平,能通过影响免疫反应,调控疾病进程。IL-8 能促进 T 细胞分泌增加,其水平升高会使患者细胞免疫和红细胞免疫功能受到抑制^[20]。TNF- α 作为一种重要的炎症细胞因子,具有广泛的生物学效应,能适量的发挥免疫调节作用,当分泌过多时,会加重机体感染^[21]。本研究中,经过 ROC 曲线分析证实,外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 可用于 AA 预后不良的预测,多因素 Logistic 回归分析结果显示,病情程度为重度、CD200 $\leq 7.641\%$ 、CD200R $\leq 6.490\%$ 、IL-8 $> 83.197\text{ pg/mL}$ 、TNF- $\alpha > 171.307\text{ pg/mL}$ 均是导致 AA 患者预后不良的危险因素。因此,监测外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 水平对于预测病情严重程度和疾病预后具有重要参考价值。

综上所述,外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 水平与 AA 的发展存在相关性,AA 患者外周血 CD200、CD200R 水平降低,血清 IL-8、TNF- α 水平升高,动态监测外周血 CD200、CD200R 及血清 IL-8、TNF- α 水平变化能客观反映 AA 患者病情变化及预后情况,为临床医生预测 AA 发生和病情监测、预后评估提供较为客观的参考依据。

参考文献

[1] FAN X, DESMOND R, WINKLER T, et al. Eltrombopag for patients with moderate aplastic anemia or uni-lineage cytopenias[J]. Blood Adv, 2020, 4(8):1700-1710.

[2] PATEL B A, GROARKE E M, LOTTER J, et al. Long-term outcomes in patients with severe aplastic anemia treated with immunosuppression and eltrombopag: a phase 2 study[J]. Blood, 2022, 139(1):34-43.

[3] 任蓉, 韩静. 血清 G-CSF 水平与再生障碍性贫血患儿免疫功能的相关性[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(3): 819-823.

[4] KOTWICA-MOJZYCH K, JODŁOWSKA-JEDRYCH B, MO-JZYCH M. CD200:CD200R interactions and their importance in immunoregulation[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):1602.

[5] ZHANG J, YANG Z, HU P, et al. Cytokines help suggest aplastic anemia with pulmonary bacterial or co-fungal infection[J]. Sci Rep, 2022, 12(1):18373.

[6] 董倩兰, 张琳萍, 同晓辉, 等. 肾衰宁胶囊对尿毒症贫血患者外周血 Hb、TNF- α 及 NF- κ B 水平的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2020, 21(3):241-242.

[7] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国指南(2022 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(11):881-888.

[8] 付蓉. 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.

[9] 王璐. 再生障碍性贫血并发血液感染患者临床特征及预后分析[J]. 山西医药杂志, 2021, 50(18):2697-2699.

[10] BACIGALUPO A, BENINTENDE G. Bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia: what's new[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2021, 34(2):101284.

[11] XU Z L, HUANG X J. Haploidentical stem cell transplantation for aplastic anemia: the current advances and future challenges[J]. Bone Marrow Transplant, 2021, 56(4):779-785.

[12] LIN F, ZUO Y, ZHANG Y, et al. The impact of pretransplant serum ferritin on haploidentical hematopoietic stem cell transplant for acquired severe aplastic anemia in children and adolescents[J]. Pediatr Blood Cancer, 2022, 69(9):29845.

[13] WANG J, YANG Y, ZHANG A, et al. Serum amyloid protein (SAA) as a healthy marker for immune function in *Tridacna crocea*[J]. Fish Shellfish Immunol, 2022, 122(1):495-500.

[14] 黄丽奋, 黄俊彬, 唐楠楠, 等. BLIMP-1 在再生障碍性贫血患儿 Treg 细胞中的表达及意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(4):1251-1256.

[15] 王蕊, 董彩丽, 赵云婷, 等. Treg/Th17 细胞失衡及相关细胞因子表达水平与再生障碍性贫血的关系分析[J]. 河北医学, 2020, 26(10):1738-1742.

[16] LIU L, MIAO M, HE H, et al. Severe aplastic anemia patients with infection who received an allogeneic hematopoietic stem cell transplantation had a better chance: Long-term outcomes of a multicenter study[J]. Front Immunol, 2022, 13(1):955095.

[17] LIU J Q, HU A, ZHU J, et al. CD200-CD200R pathway in the regulation of tumor immune microenvironment and immunotherapy[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1223(1):155-165.

[18] ZHAO Y, SU G, SHEN J, et al. The CD200/CD200R expression level and its mechanism of action in hematological malignancy patients[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6):7077-7082.

[19] RÜTSCHKE D, MICHALAK-MICKA K, ZIELINSKA D, et al. The role of CD200-CD200 receptor in human blood and lymphatic endothelial cells in the regulation of skin tissue inflammation[J]. Cells, 2022, 11(6):1055.

[20] BHARGAWA S K, SINGH A, YADAV G, et al. Aplastic anemia severity and IL-6 and IL-8 blood levels[J]. Discoveries (Craiova), 2022, 10(4):157.

[21] DUTTA A, DE R, DOLAI T K, MITRA P K, et al. Changes in different cytokines (IL-2, TNF- α , and IFN- γ) profile in acquired aplastic anemia patients: a study from Eastern India[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2020, 42(3):185-192.