

# 系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性患者外周血免疫细胞表型特征分析

徐路双<sup>1</sup> 刘扬<sup>2</sup> 段文冰<sup>2</sup> 温磊<sup>2</sup> 王永超<sup>3</sup> 葛青<sup>1</sup> 路瑾<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北京大学医学部基础医学院 100191; <sup>2</sup>北京大学人民医院、北京大学血液病研究所 100044; <sup>3</sup>中日友好医院检验科 100029

通信作者:葛青, Email: geqingq717@163.com

**【摘要】目的** 探讨系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性(AL)初治患者的外周血免疫细胞表型特征及其与临床指标的相关性。**方法** 采用流式细胞仪多参数免疫荧光分析技术,对36例AL初诊患者和28名健康供者的外周血单个核细胞的表面抗原CD3、CD56、CD4、CD8、CD25、CD45RA、CD28、CD57及核内抗原FOXP3进行检测和比较。根据梅奥2012分期对AL患者进行分期,比较I~II、III~IV期患者的免疫细胞表型差异。分析λ轻链型AL患者T细胞亚群比例与多项临床指标的相关性。**结果** AL患者的外周血T(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>)和NKT(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)细胞比例,T细胞中的CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、Treg(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>)细胞比例与健康供者相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。AL患者的CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞中,CD57<sup>+</sup>细胞的比例较健康供者显著降低( $P < 0.05$ ),但CD45RA<sup>+</sup>和CD28<sup>+</sup>细胞的比例在AL和健康供者间差异无统计学意义。I~II期和III~IV期AL患者T细胞及其亚群的比例差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在λ轻链型AL患者中,外周血CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞的比例与24 h尿蛋白和血肌酐呈正相关( $P < 0.05$ ),与eGFR呈负相关( $P < 0.05$ ),与其他临床指标无显著相关性。与此相反,CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>细胞的比例与eGFR呈正相关,而与24 h尿蛋白和血肌酐呈负相关( $P < 0.05$ )。**结论** AL患者外周血的T细胞亚群与健康供者相比差异无统计学意义,但CD8<sup>+</sup>T细胞的比例与肾脏损伤程度呈正相关,提示CD8<sup>+</sup>T细胞的比例在评估AL患者肾脏预后中具有一定的价值。

**【关键词】** 系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性; 免疫表型; 多参数流式细胞术

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.04.010

## T cell immune profiling of systemic light chain amyloidosis patients

Xu Lushuang<sup>1</sup>, Liu Yang<sup>2</sup>, Duan Wenbing<sup>2</sup>, Wen Lei<sup>2</sup>, Wang Yongchao<sup>3</sup>, Ge Qing<sup>1</sup>, Lu Jin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China; <sup>2</sup>Peking University People's Hospital, Peking University Institute of Hematology, Beijing 100044, China; <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Corresponding author: Ge Qing, Email: geqingq717@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the characteristics of T cell immunophenotype and its relationship with clinical manifestation in patients with systemic light chain amyloidosis (AL). **Methods** The peripheral blood mononuclear cells from 36 patients with AL were collected and analyzed by multicolor flow cytometry, and the expression of surface antigen CD3, CD56, CD4, CD8, CD25, CD45RA, CD28, CD57 and nuclear antigen FOXP3 were examined. Samples from 28 age-matched healthy donors (HD) were also examined. Patients were divided by Mayo 2012 staging system and the difference between immunophenotype of I–II and III–IV stage patients were analyzed. The correlations between the proportion of T-cell subpopulation and clinical manifestations in λ light chain type AL patients were analyzed. **Results** The differences in the peripheral total T cells and T cell subsets, including CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, regulatory T cells, and natural killer T cells were not significantly between AL and HD. The ratio of CD57<sup>+</sup> cells in CD8<sup>+</sup> T cells was lower in AL than in HD, and there was no significantly difference in the rate of CD45RA<sup>+</sup> and CD28<sup>+</sup> cells between these two groups. No differences were found in the ratio of total T cells or T cell subsets between stages I–II and III–IV according to the standard of Mayo 2012. Within λ light chain type AL patients, peripheral CD8<sup>+</sup> T cell ratio was positively correlated with 24-hour urine protein and creatinine level and negatively correlated with estimated glomerular filtration rate (eGFR).

**Conclusion** The overall T cell distribution in the periphery is not significantly different between AL patients and age-matched healthy donors. However, the percentages of CD8<sup>+</sup> T cells are positively correlated with renal injury, indicating the importance of CD8<sup>+</sup> T cell subset in the prognostic evaluation of renal involvement.

**【Key words】** Systemic light chain amyloidosis; Immunophenotype; Multicolor flow cytometry  
DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.03.010

系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性(systemic light-chain amyloidosis, AL)是一种多系统受累的单克隆浆细胞病。其发病率随着人口老龄化和环境致病因素的增多呈现逐年升高的趋势<sup>[1]</sup>。AL的特点为低克隆性增生的浆细胞产生的大量异常免疫球蛋白轻链或片段以淀粉样纤维的形式在体内各脏器、组织和细胞间沉积,致使受累脏器损伤、功能逐渐衰竭<sup>[2-3]</sup>。此病可致多器官同时受累,病情重,进展快,致死率高,患者的中位生存时间为3个月到6年<sup>[4]</sup>。AL的发病机制不明,与预后相关的危险因素主要包括靶器官损伤和浆细胞的生物学特性<sup>[5]</sup>。免疫系统尤其是T细胞在AL发生和发展、器官损伤中的作用及其与预后的相关性都缺乏系统研究。本研究中我们通过流式细胞术对36例AL患者及28名健康供者(healthy donor, HD)的外周血T细胞表型进行检测,并探讨CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞与AL进展的相关性。

### 病例与方法

1. 病例:纳入2018年8月至2019年8月北京大学人民医院收治的36例AL初治患者,所有患者均符合以下诊断标准:活检组织经刚果红染色确认为淀粉样变性;病变组织经免疫组化法、免疫荧光法诊断为轻链型淀粉样变性;除外合并多发性骨髓瘤或华氏巨球蛋白血症的患者。末次随访时间为2019年9月7日。同期从中日友好医院体检中心配对选取28名年龄相近的HD(无肿瘤、心血管和肾脏疾病)作为对照。

2. 流式细胞术检测: Live/Dead NA AViD Viability、CD3、CD56、CD4、CD8、CD25、FOXP3、CD45RA、CD28、CD57抗体均购自美国BD公司。取8 ml新鲜EDTA抗凝全血, Ficoll法分离外周血单个核细胞,加入表面分子抗体,4℃避光孵育30 min。固定通透细胞,加入核内转录因子FOXP3抗体,室温避光孵育20 min。细胞洗涤后通过流式细胞仪(美国BD公司产品)检测,获取400 000个有核细胞。设门策略:圈出活细胞,进一步圈出外周血总T细胞(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>)、NKT细胞(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>),

在总T细胞中圈出CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>T细胞、CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞,在CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>T细胞中圈出Treg细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>)。分析外周血CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞表面CD45RA、CD57、CD28分子的表达水平。

3. 临床指标:骨髓浆细胞比例(%)、血清游离轻链(sFLC)、尿轻链、血清N末端脑钠肽前体(NT-proBNP)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)、血清白蛋白(ALB)、LDH、ALP、肌酐(creatinine, Cr)、β<sub>2</sub>-微球蛋白(β<sub>2</sub>-MG)、24 h尿蛋白、估算肾小球滤过率(eGFR)、血清游离轻链κ、λ及κ/λ。依据梅奥临床2012分期将患者分为1~4期。

4. 统计学处理:率的比较采用χ<sup>2</sup>检验,均数比较采用独立样本t检验或Mann-Whitney U检验的双侧检验。根据资料是否符合正态分布选取平均值或中位数作为数据分层的界值。P<0.05为差异有统计学意义。采用SPSS 24.0或GraphPad Prism 7软件进行统计学分析。

### 结 果

1. 一般资料:36例AL患者中,男24例(66.7%),女12例(33.3%)。中位年龄61.5(38.0~87.0)岁。根据美国梅奥2012分期:I期10例,II期11例,III期6例,IV期8例,1例患者分期不明。受累轻链类型:λ轻链型29例(78.4%),κ轻链型7例(21.6%)。28名HD中,男18名(64.3%),女10名(35.7%),中位年龄62(54~77)岁。

2. 外周血T细胞亚群:AL患者外周血T细胞(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>)和NKT细胞(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)的比例与HD相比差异无统计学意义(P>0.05)(表1)。AL患者CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞比例、CD4/CD8比值、Treg细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>)比例与HD相比差异无统计学意义(P>0.05)(表1)。在CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞中,AL患者的CD45RA和CD28阳性率与HD相比差异无统计学意义(P>0.05),但是AL患者的CD57阳性率与HD相比差异有统计学意义,而CD28<sup>-</sup>CD57<sup>+</sup>比例与HD相比差异无统计学意义(P>0.05)(表1)。

3. AL患者的T淋巴细胞比例与梅奥分期的相

表1 HD与AL患者外周血T淋巴细胞亚群及CD8<sup>+</sup>T细胞表型的比较( $\bar{x}\pm s$ )

细胞表型	HD组(28例)	AL组(36例)	t值/U值	P值
T淋巴细胞亚群(%)				
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>-</sup>	47.60±11.65	50.34±11.53	445.000	0.429
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	6.31±4.30	7.82±5.23	395.500	0.144
CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	44.60±10.14	46.69±15.51	0.612	0.539
CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	38.45±9.05	36.88±13.76	0.522	0.604
Treg	4.36±2.01	4.11±1.91	479.500	0.744
CD4/CD8比值	1.29±0.62	1.61±1.07	441.000	0.398
CD8 <sup>+</sup> T细胞表型(%)				
CD45RA <sup>+</sup>	60.89±16.97	62.22±14.39	0.334	0.736
CD57 <sup>+</sup>	57.62±15.30	48.26±19.32	2.101	0.040
CD28 <sup>+</sup>	46.60±17.77	49.95±21.51	0.666	0.508
CD28 <sup>-</sup> CD57 <sup>+</sup>	47.17±16.79	40.40±19.70	1.453	0.151

注:HD:健康供者;AL:系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性;Treg:调节性T细胞

关性:根据2012梅奥分期,我们将AL患者分为4期,再将患者分为I~II期和III~IV期两组。两组AL患者间CD3<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>细胞、CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞的比例,T细胞中CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>和CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>的比例,CD4/CD8比值,Treg细胞比例的差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表2),提示T细胞及其亚群的比例与梅奥分期无显著相关性。

表2 不同分期的系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性患者免疫细胞亚群比较( $\bar{x}\pm s$ )

免疫细胞亚群	I~II期 (21例)	III~IV期 (14例)	t值/U值	P值
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>-</sup> (%)	49.54±12.58	52.00±10.37	0.607	0.548
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> (%)	9.12±5.88	6.23±3.60	94.000	0.076
CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> (%)	46.18±17.48	49.29±10.91	0.592	0.558
CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	36.48±13.87	35.84±13.09	0.135	0.893
Treg(%)	4.38±2.07	3.75±1.72	0.936	0.356
CD4/CD8比值	1.67±1.23	1.62±0.80	133.500	0.660

注:Treg:调节性T细胞

4.  $\lambda$ 轻链型AL患者外周血T细胞亚群比例与其他实验室指标的相关性:1例患者临床资料缺失,我们分析了其余28例 $\lambda$ 轻链型AL患者的CD8<sup>+</sup>T细胞比例与多项实验室检查结果的相关性。根据CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞比例的均值(36.88%)将AL患者分为两组:CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>高比例组(16例,中位年龄64.5岁)和低比例组(12例,中位年龄58.5岁)。两组患者年龄的差异无统计学意义( $P=0.338$ ),性别构成(低比例组:男11例,女5例;高比例组:男8例,女4例)差异无统计学意义( $P=0.907$ )。两组的分析结果显示,AL患者外周血CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞比例与eGFR呈负相关( $P=0.030$ ),与24h尿蛋白( $P=0.015$ )和血Cr

( $P=0.028$ )呈正相关。AL患者CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞比例与其他指标如骨髓浆细胞比例、血游离 $\kappa$ 和 $\lambda$ 、血 $\kappa/\lambda$ 、sFLC差值(dFLC)、尿 $\kappa$ 和 $\lambda$ 、尿 $\kappa/\lambda$ 、cTnI、NT-proBNP、 $\beta_2$ -MG、ALB、LDH、ALP无相关性( $P>0.05$ )(表3)。与CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>的结果相反,CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>T细胞的比例与eGFR呈正相关,而与24h尿蛋白和血Cr呈负相关。3个肾脏功能指标与Treg细胞比例无显著相关性(表4)。

## 讨 论

AL是一类累及多种器官和组织的综合征,临床表现多样,且缺乏规范的治疗方案。目前的治疗方法主要针对恶性单克隆浆细胞的清除以及支持治疗。虽然总体血液学缓解率较高,但血液学完全缓解率和器官缓解率仍偏低。尤其值得关注的是,免疫调节药物的联合应用并未明显改善AL的疗效<sup>[6]</sup>。另外,与AL预后相关的危险因素有很多,可分为与浆细胞病变相关和与靶器官损伤相关两类<sup>[5]</sup>。但免疫系统尤其是T细胞在AL患者浆细胞病变和靶器官损伤的发生发展中是否发挥作用以及发挥何种作用还缺乏深入研究,是否与预后相关也不明确。研究发现,AL患者外周血的CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞存在克隆扩增和TCR多样性改变(CDR3谱偏移)<sup>[7]</sup>。本研究通过外周血单个核细胞的流式细胞术分析发现,与HD相比,AL患者外周血CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞的比例、CD8<sup>+</sup>T细胞的CD45RA<sup>+</sup>和CD28<sup>+</sup>比例差异均无统计学意义,CD57<sup>+</sup>T细胞比例较HD显著降低。由于T细胞中CD57上调和CD28下调与T细胞的衰老密切相关<sup>[8]</sup>,且骨髓瘤患者外周血CD8<sup>+</sup>T细胞中的CD28<sup>-</sup>CD57<sup>+</sup>细胞比例显著升高<sup>[8]</sup>,因此我们的研究结果提示AL患者外周血T细胞尤其是

表 3 28 例 λ 轻链型 AL 患者 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例与其他实验室指标的相关性

指标	CD8 <sup>+</sup> 细胞 ≤ 36.88%		CD8 <sup>+</sup> 细胞 > 36.88%		t 值/U 值	P 值
	例数	M(范围)	例数	M(范围)		
浆细胞 (%)	16	5.25(0 ~ 27.50)	12	8.50(0.50 ~ 31.50)	70.5	0.245
血清游离 κ(mg/L)	16	15.80(6.40 ~ 61.40)	12	23.35(7.80 ~ 99.10)	58.0	0.080
血清游离 λ(mg/L)	16	181.25(11.70 ~ 1 700.00)	12	291.88(11.90 ~ 3 175.00)	86.0	0.664
血清 κ/λ	16	0.11(0.01 ~ 1.39)	12	0.12(0.01 ~ 1.22)	90.0	0.792
dFLC(mg/L)	16	168.65(5.17 ~ 1 684.00)	12	275.18(2.60 ~ 3 135.30)	89.0	0.767
尿 κ(mg/dl)	15	6.98(1.85 ~ 39.10)	8	10.74(5.41 ~ 56.20)	36.0	0.129
尿 λ(mg/dl)	15	35.60(5.00 ~ 450.00)	8	63.05(5.71 ~ 148.40)	43.0	0.285
尿 κ/λ	15	0.24(0.05 ~ 1.47)	8	0.47(0.04 ~ 1.16)	44.5	0.332
cTnI(ng/ml)	16	0.04(0 ~ 6.73)	12	0.03(0 ~ 0.39)	86.5	0.672
NT-proBNP(pg/ml)	16	1 889.00(5.00 ~ 12 410.00)	12	2 600.00(61.90 ~ 35 000.00)	83.0	0.568
24 h 尿蛋白(g)	16	0.74(0.08 ~ 10.80)	12	6.86(0.48 ~ 14.51)	44.0	0.015
eGFR(ml·min <sup>-1</sup> ·1.73 m <sup>-2</sup> )	16	87.32(24.75 ~ 122.10)	12	41.17(6.32 ~ 109.16)	49.0	0.030
血肌酐(μmol/L)	16	81.00(33.00 ~ 217.00)	12	146.5(48.00 ~ 563.00)	49.0	0.028
β <sub>2</sub> -MG(mg/L)	12	2.84(1.52 ~ 8.00)	9	6.08(1.71 ~ 8.00)	1.8	0.093
LDH(U/L)	16	215.00(140.00 ~ 431.00)	12	233.50(152.00 ~ 252.00)	92.0	0.864
ALP(U/L)	16	61.50(47.00 ~ 238.00)	12	76.50(51.00 ~ 298.00)	75.5	0.353
ALB(g/L)	16	34.05(15.40 ~ 46.80)	12	30.35(13.90 ~ 93.00)	73.5	0.307

注:AL:系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性;dFLC:血清游离轻链差值;cTnI:心肌肌酐蛋白I;NT-proBNP:血清N末端脑钠肽前体;eGFR:估算肾小球滤过率;ALB:血清白蛋白

表 4 28 例 λ 轻链型 AL 患者 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例、CD4/CD8 比值及 Treg 比值与 24 h 尿蛋白、eGFR 和血肌酐的相关性分析

组别	24 h 尿蛋白定量(g)				eGFR(ml·min <sup>-1</sup> ·1.73 m <sup>-2</sup> )				血肌酐(μmol/L)			
	例数	M(范围)	t 值/U 值	P 值	例数	M(范围)	t 值/U 值	P 值	例数	M(范围)	t 值/U 值	P 值
CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /CD3 <sup>+</sup>			50.000	0.032			2.215	0.036			51.000	0.036
CD56 <sup>-</sup>												
≤46.69%	12	6.31(0.48 ~ 14.51)			12	43.22(6.32 ~ 109.16)			12	145.00(48.00 ~ 563.00)		
>46.69%	16	0.74(0.08 ~ 11.83)			16	87.32(24.75 ~ 122.10)			16	81.00(33.00 ~ 217.00)		
CD4/CD8 比值			40.000	0.007			2.716	0.012			44.000	0.012
≤1.35	13	7.11(0.08 ~ 14.51)			13	35.27(6.32 ~ 109.16)			13	171.00(48.00 ~ 563.00)		
>1.35	15	0.70(0.08 ~ 10.80)			15	89.96(24.75 ~ 122.10)			15	81.00(33.00 ~ 217.00)		
Treg/CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>			86.000	0.610			0.086	0.932			96.500	0.973
≤3.58%	15	5.44(0.08 ~ 14.06)			15	84.68(6.32 ~ 122.10)			15	85.00(51.00 ~ 563.00)		
>3.58%	13	2.57(0.08 ~ 14.51)			13	60.63(15.30 ~ 119.49)			13	99.00(33.00 ~ 365.00)		

注:AL:系统性免疫球蛋白轻链淀粉样变性;eGFR:估算肾小球滤过率

CD8<sup>+</sup>杀伤性 T 细胞的活化无明显异常,未显示明显的衰老迹象。另外,外周血 CD8<sup>+</sup> T 细胞的比例与肿瘤负荷相关临床指标(如血清 sFLC、dFLC、骨髓浆细胞比例)无显著相关性,提示杀伤性 T 细胞的比例与肿瘤负荷无明显相关性。

在对靶器官损伤的分析中,我们未发现 T 细胞(尤其是 CD8<sup>+</sup> T 细胞)比例与梅奥分期以及心脏受损的重要指标 cTnI 和 NT-proBNP 之间存在相关性。但在分析肾脏损伤相关实验室指标时,我们发现 CD8<sup>+</sup> T 细胞比例与 λ 型 AL 患者的肾小球滤过率呈负相关,与 24 h 尿蛋白和血 Cr 呈正相关。当我们纳入 κ 型患者时,相关的显著性消失。这些结果显

示,CD8<sup>+</sup> T 细胞的比例与 λ 型 AL 患者肾脏受损的严重程度呈正相关。AL 患者中 50% ~ 80% 存在淀粉样纤维的肾脏沉积和损伤,最终可导致肾功能衰竭和死亡<sup>[9]</sup>。其中,λ 型累及肾脏者更多,也更倾向于沉积在肾小球<sup>[10-12]</sup>。但是,单纯用浆细胞病变的肿瘤负荷、胚系基因可变区的分布以及轻链的类型并不能很好地解释肾脏受累的两个主要特点,即肾脏对轻链沉积的高度敏感性以及肾脏受累者血液循环中轻链含量或 dFLC 偏低<sup>[13-14]</sup>。因此,可能存在其他因素促进轻链的肾脏选择性沉积和(或)肾脏损伤。肾脏的滤过、浓缩功能以及受体介导的轻链摄取可能与肾脏沉积和损伤相关<sup>[15]</sup>。免疫细胞

尤其是T细胞在AL患者肾脏损伤中发挥何种作用还不清楚。本研究首次发现CD8<sup>+</sup>T细胞比例与λ型AL患者肾功能呈负相关,CD4<sup>+</sup>T细胞比例与肾功能呈正相关,提示CD8<sup>+</sup>T细胞的活化可能是导致AL肾脏损伤的危险因素。AL患者外周血CD8<sup>+</sup>T细胞比例与HD相比差异无统计学意义,CD8<sup>+</sup>T细胞与肾功能的相关性提示AL患者与HD的CD8<sup>+</sup>T细胞亚群构成可能存在差别。例如,我们发现AL患者CD8<sup>+</sup>T细胞中CD57<sup>+</sup>细胞比例较HD显著降低。另外,骨髓瘤患者克隆性浆细胞可分泌大量IL-6<sup>[16]</sup>,AL患者血清中可能也存在较高水平的IL-6<sup>[17-18]</sup>。IL-6对CD8<sup>+</sup>T细胞的杀伤活性起关键性作用<sup>[19]</sup>,对诱导CD8<sup>+</sup>T细胞分化为Tc17细胞也具有重要影响<sup>[20-21]</sup>。上述内容均提示AL患者外周血中CD8<sup>+</sup>T细胞亚群可能发生了改变,需要进一步对CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞亚群进行系统检测,并探讨其与血清IL-6水平的相关性。

综上,本研究对AL患者外周血T细胞的流式细胞术结果与临床表现的相关性进行了深入的探讨,结果提示,AL患者外周血T细胞的比例和活化未见明显异常,但CD8<sup>+</sup>T细胞的比例与λ型AL患者的肾损害相关。由于本组患者病例数较少,CD8<sup>+</sup>T细胞比例在评估AL患者肾脏预后中的作用以及CD8<sup>+</sup>T细胞在肾脏损伤中的作用还需大样本临床研究进一步探究。

#### 参考文献

- [1] Huang XH, Liu ZH. The Clinical Presentation and Management of Systemic Light-Chain Amyloidosis in China[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2016, 2(1):1-9. DOI: 10.1159/000444287.
- [2] Merlini G, Stone MJ. Dangerous small B-cell clones[J]. *Blood*, 2006, 108(8):2520-2530. DOI: 10.1182/blood-2006-03-001164.
- [3] Wechalekar AD, Gillmore JD, Hawkins PN. Systemic amyloidosis[J]. *Lancet*, 2016, 387(10038):2641-2654. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01274-X.
- [4] Quock TP, Yan T, Chang E, et al. Epidemiology of AL amyloidosis: a real-world study using US claims data[J]. *Blood Adv*, 2018, 2(10): 1046- 1053. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018016402.
- [5] 中国系统性淀粉样变性协作组; 国家肾脏疾病临床医学研究中心. 系统性轻链型淀粉样变性诊断和治疗指南[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(44): 3540- 3548. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.44.002.
- [6] Kastiris E, Gavriatopoulou M, Roussou M, et al. Efficacy of lenalidomide as salvage therapy for patients with AL amyloidosis[J]. *Amyloid*, 2018, 25(4):234-241. DOI: 10.1080/13506129.2018.1540410.
- [7] Fozza C, Corda G, Barraqueddu F, et al. Evidence of a skewed T-cell repertoire in patients with light chain amyloidosis[J]. *Hematol Oncol*, 2018, 36(2):492-494. DOI: 10.1002/hon.2281.
- [8] Suen H, Brown R, Yang S, et al. Multiple myeloma causes clonal T- cell immunosenescence: identification of potential novel targets for promoting tumour immunity and implications for checkpoint blockade[J]. *Leukemia*, 2016, 30(8):1716-1724. DOI: 10.1038/leu.2016.84.
- [9] Rowland TA, Gillmore J, Bhandari S. Regression of chronic kidney disease in a patient with AL amyloidosis: A case report [J]. *Clin Nephrol*, 2019, 91(5):317- 320. DOI: 10.5414/CN109676.
- [10] Sidiqi MH, Aljama MA, Muchtar E, et al. Light chain type predicts organ involvement and survival in AL amyloidosis patients receiving stem cell transplantation [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(7):769-776. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018016782.
- [11] Comenzo RL, Zhang Y, Martinez C, et al. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis: contributions of Ig V(L) germ line gene use and clonal plasma cell burden[J]. *Blood*, 2001, 98(3):714-720. DOI: 10.1182/blood.v98.3.714.
- [12] Basnayake K, Stringer SJ, Hutchison CA, et al. The biology of immunoglobulin free light chains and kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2011, 79(12):1289-1301. DOI: 10.1038/ki.2011.94.
- [13] Sidana S, Tandon N, Gertz MA, et al. Clinical features, laboratory characteristics and outcomes of patients with renal versus cardiac light chain amyloidosis[J]. *Br J Haematol*, 2019, 185(4): 701-707. DOI: 10.1111/bjh.15832.
- [14] Kourelis TV, Dasari S, Theis JD, et al. Clarifying immunoglobulin gene usage in systemic and localized immunoglobulin light-chain amyloidosis by mass spectrometry[J]. *Blood*, 2017, 129(3):299-306. DOI: 10.1182/blood-2016-10-743997.
- [15] Hutchison CA, Batuman V, Behrens J, et al. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 8(1):43- 51. DOI: 10.1038/nrneph.2011.168.
- [16] Lauta VM. A review of the cytokine network in multiple myeloma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications [J]. *Cancer*, 2003, 97(10):2440-2452. DOI: 10.1002/cncr.11072.
- [17] Nagasawa T, Yanagisawa H, Hasegawa Y, et al. Polycythemia associated with primary systemic amyloidosis: elevated levels of hemopoietic factors and cytokines[J]. *Am J Hematol*, 1993, 43(1):57-60. DOI: 10.1002/ajh.2830430114.
- [18] Calderaro J, Letouzé E, Bayard Q, et al. Systemic AA Amyloidosis Caused by Inflammatory Hepatocellular Adenoma [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(12):1178- 1180. DOI: 10.1056/NEJMc1805673.
- [19] Smyth MJ, Ortaldo JR, Bere W, et al. IL-2 and IL-6 synergize to augment the pore-forming protein gene expression and cytotoxic potential of human peripheral blood T cells [J]. *J Immunol*, 1990, 145(4):1159-1166.
- [20] Hamada H, Garcia-Hernandez Mde L, Reome JB, et al. Tc17, a unique subset of CD8 T cells that can protect against lethal influenza challenge [J]. *J Immunol*, 2009, 182(6):3469-3481. DOI: 10.4049/jimmunol.0801814.
- [21] Liang Y, Pan HF, Ye DQ. Tc17 Cells in Immunity and Systemic Autoimmunity [J]. *Int Rev Immunol*, 2015, 34(4):318- 331. DOI: 10.3109/08830185.2014.954698.

(收稿日期:2019-10-15)

(本文编辑:律琦)