

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180791

# 多发性骨髓瘤患者 Treg 细胞、Th17 细胞及相关转录因子 mRNA 的表达及临床意义

邹 健, 孙丽华\*, 范小红, 孟亚红, 王雪莲, 化范例, 程韵枫

复旦大学附属中山医院青浦分院血液科, 上海 201700

**[摘要]** **目的:**探讨多发性骨髓瘤(MM)患者外周血及骨髓中调节性 T 细胞(Treg 细胞)和辅助性 T 细胞 17(Th17 细胞)的比率及其相应特异转录因子 Foxp3、ROR $\gamma$ t 的 mRNA 表达水平,分析 Treg/Th17 平衡的临床意义。**方法:**将 46 例 MM 患者分为初发组( $n=20$ )、平台期组( $n=16$ )、复发/难治组( $n=10$ ),以健康体检者( $n=20$ )为正常对照组。用流式细胞术检测研究对象外周血及骨髓中 Treg 细胞、Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比率及 Treg/Th17 比值的变化;RT-PCR 检测转录因子 Foxp3 及 ROR $\gamma$ t mRNA 的表达水平;同时分析患者血清 IL-6 及 CRP 水平变化。**结果:**初发组及复发/难治组患者外周血和骨髓 Treg 细胞比率较正常对照组及平台期组患者升高( $P<0.05$ );初发组及复发/难治组患者外周血和骨髓中 Th17 细胞比率与正常对照组及平台期差异均无统计学意义。初发组及复发/难治组患者外周血和骨髓中 Treg/Th17 比值高于平台期组及正常对照组( $P<0.05$ )。各组外周血及骨髓中 Foxp3 和 ROR $\gamma$ t mRNA 的变化趋势与 Treg/Th17 一致。MM 患者血清中 IL-6、CRP 水平与外周血及骨髓中 Treg/Th17 比值变化一致。**结论:**MM 患者活动期外周血及骨髓中 Treg/Th17 平衡向 Treg 倾斜,Foxp3 表达水平升高;血清中 IL-6、CRP 水平与 Treg/Th17 比值变化趋势一致,可用于预测 MM 患者预后。

**[关键词]** 多发性骨髓瘤;调节性 T 细胞;辅助性 T 细胞 17;Foxp3;ROR $\gamma$ t;mRNA

**[中图分类号]** R 733.3 **[文献标志码]** A

## Treg cells, Th17 cells and related transcription factor mRNA expression and clinical significance in patients with multiple myeloma

ZOU Jian, SUN Li-hua\*, FAN Xiao-hong, MENG Ya-hong, WANG Xue-lian, HUA Fan-li, CHENG Yun-feng

Department of Hematology, Qingpu Branch of Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201700, China

**[Abstract]** **Objective:** To study the ratio alteration of regulatory T cells (Treg cells) and helper T cells 17 (Th17 cells) in peripheral blood (PB) and bone marrow (BM) in patients with multiple myeloma (MM), the related transcription factors (e. g. Foxp3, ROR $\gamma$ t) mRNA expression, and the clinical significance of Treg/Th17 balance. **Methods:** Forty-six MM patients were enrolled, including 20 newly diagnosed patients, 16 patients at the plateau stage, and 10 relapsed/refractory patients. The control group was consisted of 20 healthy people undergoing a medical examination. The number of Treg and Th17 cells in PB and BM was determined by flow cytometry analysis. The Foxp3 and ROR $\gamma$ t mRNA expression levels were tested by RT-PCR. Serum C-reaction protein (CRP) and interleukin 6 (IL-6) levels were tested with routine lab methods. **Results:** Treg cells' percentages in PB and BM in newly diagnosed group and relapsed/refractory group were significantly higher than those in normal control group and plateau group ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in Th17 cell percentage in PB or BM in newly diagnosed group and relapsed/refractory group comparing with that in the normal control group and plateau group. The Treg/Th17 ratio in either PB or BM was higher in newly diagnosed group and relapsed/refractory group compared with that in the normal control group and plateau group ( $P<0.05$ ). The changes of the transcription factors (Foxp3 and ROR $\gamma$ t) mRNA in PB and BM of MM patients were consistent with the results of Treg/Th17 ratio. The changes of serum CRP and IL-6 levels were consistent with the Treg/Th17 ratio in MM patients. **Conclusions:** The balance of Treg/Th17 in PB and BM of MM patients inclined to Treg during active period, and the expression of Foxp3 level increased. The levels of IL-6 and CRP in serum are consistent with the change trend of Treg/Th17 ratio, which could be used to predict the prognosis of MM patients.

**[收稿日期]** 2018-07-20 **[接受日期]** 2018-11-16

**[基金项目]** 上海市青浦区卫生和计划生育委员会课题(青科发 2015-15)。Supported by Project of Health and Family Planning Commission in Qingpu District of Shanghai municipal(2015-15).

**[作者简介]** 邹 健,主治医师。E-mail: zjaem111@sina.com

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-69719190-4313; E-mail: qpsunlh023@126.com

**[Key Words]** multiple myeloma; regulatory T cells; helper T cells 17; Foxp3; ROR $\gamma$ t; mRNA

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性浆细胞病,多见于中老年人群。近年来,随着人口老龄化,每年新增病例呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。MM患者存在免疫系统的多种缺陷,且患者的免疫功能缺陷是该病的一个重要特征并影响其疾病进展。MM患者T细胞的数量和功能都存在异常<sup>[2]</sup>。较早期的研究<sup>[3-4]</sup>已显示,MM患者CD4/CD8细胞比值降低,与疾病进展相关。

调节性T细胞(Treg)和辅助性T细胞(Th17)是重要CD4<sup>+</sup>T细胞亚群,在多种疾病中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。其中,Treg细胞可抑制抗肿瘤的免疫反应,特异性的转录因子为Foxp3;Th17细胞在肿瘤免疫中的作用仍有争议<sup>[2,6]</sup>,特异性转录因子为维甲酸相关孤儿核受体 $\gamma$ t (retinoic acid-related orphan receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t)。这两种细胞在分化发育中相互制衡,两者平衡在维持免疫稳定及抗肿瘤免疫中发挥重要的作用。本研究通过检测MM患者不同时期外周血及骨髓中Treg细胞和Th17细胞的比例及其特异性转录因子mRNA的表达水平,分析Treg细胞、Th17细胞在MM各期的变化,及其与C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)的关系,进而进一步分析Treg、Th17平衡在MM发展中的作用。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院2015年6月至2017年11月收治的MM患者46例,诊断均符合2011年中华医学会制定的《中国多发性骨髓瘤诊治指南》<sup>[7]</sup>中的标准。46例患者中,男性26例、女性20例,年龄45~78岁,中位年龄59岁。初发20例、平台期16例、复发10例;ISS分期I期10例、II期16例、III期20例;免疫分型IgG型23例、IgA型11例、轻链型7例、其他5例。本研究经医院伦理委员会审核批准,患者知情同意并签署知情同意书。

按照《中国多发性骨髓瘤诊治指南》<sup>[7]</sup>,20例初发患者接受硼替佐米为基础的化疗方案;10例复发患者中,复发前接受硼替佐米( $n=8$ )或沙利度胺( $n=2$ )为基础的方案,复发后接受硼替佐米( $n=7$ )或来那度胺为基础的方案( $n=3$ )。另选择行骨髓检查的健康者20例为对照组,其中男性11例、女性9例,年龄40~70岁,中位年龄55岁,均排除近期

感染、肿瘤、自身免疫性疾病或传染性疾病。

1.2 外周血单个核细胞(PBMCs)采集 每例对象无菌抽取静脉血5 mL,置于EDTA抗凝管中,用Ficoll-Hypaque密度梯度离心法获取PBMCs;取MM患者或健康志愿者外周静脉血5 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝;15 mL离心管中加入3 mL Ficoll液,同时将外周血以2倍HBSS稀释,加至Ficoll液面之上,1 000 $\times g$ 离心15 min;吸取PBMCs层,以10 mL HBSS洗涤2次(300 $\times g$ 离心10 min)后,置于1 mL含有10% DMSO的新生牛血清中-80 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,液氮中保存,待测。骨髓血(2 mL)单个核细胞采集法同上。

1.3 流式细胞术检测 Treg细胞及Th17细胞数

1.3.1 Treg细胞 调整上述采集的细胞浓度为 $1\times 10^6/100\ \mu\text{L}$ ,加入20  $\mu\text{L}$  CD4 PE-Cy5/CD25 PE抗体(BD Biosciences,批号:555348/562525),混匀后室温、暗室孵育20 min,细胞染色缓冲液洗涤1次后以250 $\times g$ 离心5 min,弃上清;加入1 mL Foxp3破膜固定缓冲液,混匀后室温、暗室孵育20 min,以250 $\times g$ 离心5 min,弃上清;细胞染色缓冲液洗1次,1 mL FOXP3破膜缓冲液洗涤2次,250 $\times g$ 离心5 min,弃上清;100  $\mu\text{L}$  FOXP3破膜缓冲液重悬细胞,加入5  $\mu\text{L}$  Alexa Fluor<sup>®</sup> 488 FOXP3抗体(BD Biosciences,批号:560047)或5  $\mu\text{L}$  Alexa Fluor<sup>®</sup> 488小鼠IgG1 k同型对照(BD Biosciences,批号:557721),室温、暗室孵育30 min;细胞染色缓冲液洗涤2次,以0.5 mL细胞染色缓冲液重悬,上流式细胞仪检测。

1.3.2 Th17细胞 调整上述采集的细胞浓度为 $(0.5\sim 1)\times 10^6/100\ \mu\text{L}$ ,加入0.5 mL固定缓冲液,混匀后室温、暗室孵育20 min,以350 $\times g$ 离心5 min,弃上清;加入2 mL破膜缓冲液,混匀后室温、暗室孵育20 min,以350 $\times g$ 离心5 min,弃上清,重复1次。100  $\mu\text{L}$ 破膜缓冲液重悬细胞,加入20  $\mu\text{L}$  Alexa Fluor<sup>®</sup> 647小鼠IgG1 k同型对照/CD3-FITC/CD4-PE抗体(BD Biosciences,批号:555339/562281)或IL-17 Alexa Fluor<sup>®</sup> 647/CD3-FITC/CD4-PE抗体,室温、暗室孵育30 min,2 mL破膜缓冲液洗涤2次,0.5 mL细胞染色缓冲液重悬,上流式细胞仪检测。

1.4 RT-PCR检测转录因子Foxp3及ROR $\gamma$ t mRNA

的表达水平 PBMCs 于 37℃ 水浴复苏后, HBSS 洗涤, 取  $(1\sim 2)\times 10^6$  个细胞, 加入 1 mL Trizol, 按照说明书提取总 RNA。检测 RNA 纯度及浓度, 取 1  $\mu\text{g}$  RNA 的液体量, 配制反转录反应液, 37℃ 15 min, 85℃ 5 s, 逆转录 cDNA。取 cDNA 1  $\mu\text{L}$ , 配制 qRT-PCR 反应液, 反应体系为 20  $\mu\text{L}$ 。反应条件: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 扩增 5s, 60℃ 延伸 30 s; 共 40 个循环。以 GAPDH 作为内参, 记录 Ct 值, 计算相对 RNA 含量。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。各测量值均以  $\bar{x}\pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验; 相关性分析采用 Pearson 直线相关分析。多组比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Kruskal-Wallis 检验分析符合正态分布和不符合正态分布的数据。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 各组外周血 Treg 细胞、Th17 细胞比率及 Treg/Th17 比值比较 结果(表 1)表明: 初发组及复发/难治组 Treg 细胞比率较正常对照组及平台期组升高 ( $P<0.05$ ), Th17 细胞比率无明显改变; 初发组与复发/难治组间 Treg 细胞、Th17 细胞比率差异均无统计学意义。初发组及复发/难治组 Treg/Th17 比值较正常对照组及平台期组升高 ( $P<0.05$ )。

2.2 各组骨髓 Treg 细胞、Th17 细胞比率及 Treg/Th17 比值比较 结果(表 2)表明: 初发组及复发/难治组 Treg 细胞比率较正常对照组及平台期组升高 ( $P<0.05$ ), Th17 细胞比率无明显改变; 初发组与复发/难治组间 Treg 细胞、Th17 细胞比率差异

均无统计学意义。初发组及复发/难治组 Treg/Th17 比值较平台期组及正常对照组 Treg/Th17 比值升高 ( $P<0.05$ )。

表 1 各组外周血 Treg 细胞、Th17 细胞比率及 Treg/Th17 比值比较

组别	<i>n</i>	Treg 比率/%	Th17 比率/%	Treg/Th17
正常对照组	20	5.20±0.90	1.85±0.20	2.82±0.71
初发组	20	6.87±1.44* $\Delta$	1.81±0.29	3.82±0.71* $\Delta$
复发/难治组	10	7.11±1.39* $\Delta$	1.80±0.28	3.99±0.73* $\Delta$
平台期组	16	5.83±1.06	1.85±0.33	3.24±0.79

\* $P<0.05$  与正常对照组相比;  $\Delta P<0.05$  与平台期组相比

表 2 各组骨髓 Treg 细胞、Th17 细胞比率及 Treg/Th17 比值比较

组别	<i>n</i>	Treg 比率/%	Th17 比率/%	Treg/Th17
正常对照组	20	5.32±1.31	1.82±0.32	2.96±0.66
初发组	20	7.87±1.65* $\Delta$	1.84±0.26	4.29±0.73* $\Delta$
复发/难治组	10	8.45±2.25* $\Delta$	1.77±0.34	4.76±0.75* $\Delta$
平台期组	16	6.45±1.40	1.83±0.27	3.59±0.82

\* $P<0.05$  与正常对照组相比;  $\Delta P<0.05$  与平台期组相比

2.3 各组外周血及骨髓中转录因子 Foxp3 mRNA、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平 结果(表 3)表明: 外周血及骨髓中, 初发组及复发/难治组患者 Foxp3 较平台期组和正常对照组升高 ( $P<0.05$ ); 初发组及复发/难治组 ROR $\gamma$ t mRNA 略高于平台期组及正常对照组, 但差异无统计学意义。

2.4 血清 IL-6、CRP 水平与 Treg/Th17 比值的相关性 结果(表 4)表明: 初发组及复发/难治组血清 IL-6、CRP 水平较平台期组和正常对照组升高 ( $P<0.05$ ), 与外周血及骨髓 Treg/Th17 比值变化趋势一致。

表 3 各组外周血及骨髓中 Foxp3 mRNA、ROR $\gamma$ t mRNA 表达水平的比较

组别	<i>n</i>	外周血		骨髓	
		Foxp3 mRNA	ROR $\gamma$ t mRNA	Foxp3 mRNA	ROR $\gamma$ t mRNA
正常对照组	20	1.86±0.59	1.76±0.63	1.89±0.53	1.80±0.52
初发组	20	3.23±0.83* $\Delta$	2.39±0.32	3.16±0.89* $\Delta$	2.23±0.21
复发/难治组	10	3.18±0.80* $\Delta$	2.26±0.13	3.27±0.86* $\Delta$	2.31±0.10
平台期组	16	2.01±0.50	1.83±0.59	2.10±0.58	1.91±0.25

\* $P<0.05$  与正常对照组相比;  $\Delta P<0.05$  与平台期组相比

表 4 各组血清 IL-6、CRP 水平比较

组别	<i>n</i>	IL-6 $\mu\text{g}/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	CRP $\text{mg}/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
正常对照组	20	3.12±9.13	3.4±2.8
初发组	20	7.68±5.16* $\Delta$	12.5±9.6* $\Delta$
复发/难治组	10	9.21±7.23* $\Delta$	13.6±10.2* $\Delta$
平台期组	16	4.32±3.21	5.7±8.1

\* $P<0.05$  与正常对照组相比;  $\Delta P<0.05$  与平台期组相比

## 3 讨论

MM 是高度异质性疾病, 存在复杂的免疫系统缺陷。骨髓瘤细胞来源于 B 细胞发育终端的浆细胞, 患者免疫系统存在多种异常, 其中细胞免疫异常 (如 B 细胞减少、CD4/CD8 细胞减少) 与患者生存时间负相关, 提示细胞免疫在疾病控制中发挥重

要作用<sup>[2]</sup>。

Treg 细胞与 Th17 细胞在细胞分化和功能上存在相互制衡、互相转化的关系;在肿瘤患者体内, Treg/Th17 细胞平衡向 Treg 倾斜。在 MM 患者中, Treg 细胞增多, 其一方面由恶性浆细胞释放的多种细胞因子诱导产生<sup>[8]</sup>, 一方面来自于细胞间抗原传递 (Trocytosis 现象)<sup>[9]</sup>。在 MM 患者中, Trocytosis 现象较为常见, 即恶性浆细胞将细胞表面抗原传递给 T 细胞, 产生新的 T 细胞表面免疫表型, 由此诱导新的 Treg 细胞产生<sup>[10-11]</sup>。本研究发现, 初发 MM 和难治复发患者的外周血和骨髓中, Treg 细胞比率均升高, 与颜斌等<sup>[12]</sup>的结果相似。但也有研究<sup>[13]</sup>报道, Treg 细胞比率在 MM 初发、复发时明显降低, 原因可能与患者接受的治疗方案相关<sup>[14]</sup>。

关于 MM 患者中 Th17 细胞比率的研究结论并不一致。研究<sup>[15]</sup>报道, MM 患者骨髓中 Th17 细胞增多; 也有研究<sup>[16]</sup>发现, MM 患者中 Th17 细胞较正常对照无明显改变, 本研究结果与之相似。

Foxp3 是 Treg 细胞的转录因子。本研究 MM 患者中, Foxp3 呈现与 Treg 细胞数量相同的变化趋势, 从转录水平证实 Treg 细胞在 MM 患者初发、复发时增加, 治疗有效后恢复正常水平; Th17 细胞关键性转录因子 ROR $\gamma$ t 在各期 MM 患者中无显著变化, 与 Th17 细胞数量水平变化趋势一致, 从转录水平证实 Th17 细胞在 MM 患者中无明显变化。

Treg 与 Th17 在自身免疫中发挥相反的作用, 但分化密切相关: CD4<sup>+</sup> T 幼稚细胞在转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 诱导下表达 Foxp3 或 ROR $\gamma$ t, 分别诱导 CD4<sup>+</sup> T 向 Treg 和 Th17 细胞双向分化。CD4<sup>+</sup> T 细胞由所在环境中的细胞因子决定其分化方向, 例如: 在前炎症因子和低浓度 TGF- $\beta$  存在时, ROR $\gamma$ t 表达上调、Foxp3 表达受到抑制, 使细胞具有 Th17 特性; 高浓度 TGF- $\beta$  则有助于 Foxp3 表达, 使细胞具有 Treg 特性。因此, Treg/Th17 比值可以反映细胞免疫异常情况。本研究发现, Treg/Th17 细胞比值与 MM 病情相关, 新诊断、病情复发时升高, 有效控制病情后恢复正常水平, 提示 Treg/Th17 比值与 MM 预后相关。研究证实, Treg/Th17 比值升高的患者预后不良<sup>[17]</sup>; 长期存活患者的 Treg/Th17 比值正常甚至低于正常<sup>[18]</sup>。因此, Treg/Th17 比值较 Treg 和 Th17 细胞比率更具有 MM 预后价值<sup>[9]</sup>。

IL-6 是 MM 细胞重要的生长因子, 其相关信号通路可调控 MM 细胞的增殖、程序性死亡<sup>[19]</sup>。MM 患者 IL-6 升高与预后不良、生存时间短密切相关<sup>[20]</sup>。本研究发现, 初发组、复发/难治组 IL-6 水平高于平台期组和正常对照组, 与既往文献<sup>[20]</sup>报道符合。IL-6 是 Th17 细胞分化中重要的诱导炎症因子, 即在 IL-6 存在下, Treg/Th17 平衡向 Th17 倾斜。但本研究中, Th17 细胞数量没有明显改变, 且 Treg/Th17 平衡向 Treg 倾斜。出现这种结果的原因可能为: 首先, 本研究检测的是外周血血清 IL-6 水平, 不能准确反映 MM 肿瘤微环境的情况, 骨髓中可能存在其他影响 Th17 分化的因素; 其次, MM 患者 Treg 细胞升高更为明显。

CRP 是急性相蛋白, 在 IL-6 刺激下由肝细胞合成。研究<sup>[21-22]</sup>表明, CRP 水平能反映 IL-6 相关信号通路的活性。本课题组前期研究<sup>[21]</sup>发现, CRP 升高水平与 MM 患者疗效差相关; 本研究显示, CRP 水平与 Treg/Th17 比值变化趋势一致, 进一步说明 CRP 可用于预测 MM 预后。

综上所述, 本研究通过对 MM 各期患者外周血及骨髓中 Treg、Th17 细胞比率, 以及患者外周血血清 IL-6 和 CRP 水平的分析, 证实 Treg/Th17 平衡在 MM 活动期向 Treg 细胞倾斜, 有效治疗后恢复, 提示 Treg/Th17 比值具有 MM 预后判断作用。此外, 本研究中, 经过治疗后, 部分患者 Treg/Th17 比值仍较高, 可能与治疗效果不佳相关。在 MM 患者中, Treg/Th17 平衡是否受到其他细胞亚群或因子的影响, 有待于更深入的研究来明确。

## 参考文献

- [1] 王琦侠, 闫永平, 吉兆华, 等. 多发性骨髓瘤患者的生活质量及相关因素研究[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(12): 1233-1236.
- [2] PRAT G, GOODYEAR O, MOSS P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2007, 138(5): 563-569.
- [3] MELLSTEDT H, HOLM G, PETERSSON D, et al. T cells in monoclonal gammopathies [J]. Scand J Haematol, 1982, 29(1): 57-64.
- [4] MILLS K H, CAWLEY J C. Abnormal monoclonal antibody-defined helper/suppressor T-cell subpopulations in multiple myeloma: relationship to treatment and clinical stage [J]. Br J Haematol, 1983, 53(2): 271-275.
- [5] 王建刚, 周晓慧, 范慧敏. Treg/Th17 细胞在肺移植后 OB 的研究进展 [J]. 同济大学学报(医学版), 2011, 32(6): 109-112.

- [6] PRABHALA R H, PELLURU D, FULCINITI M, et al. Elevated IL-17 produced by TH17 cells promotes myeloma cell growth and inhibits immune function in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2010, 115(26):5385-5392.
- [7] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015年修订)[J]. *中华内科杂志*, 2015, 54(12): 1066-1070.
- [8] KIM R, EMI M, TANABE K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape [J]. *Immunology*, 2007, 121(1):1-14.
- [9] JOSHUA D, SUEN H, BROWN R, et al. The T cell in myeloma [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2016, 16(10):537-542.
- [10] LEMAULT J, CAUMARTIN J, DAOUYA M, et al. Trogocytic intercellular membrane exchanges among hematological tumors [J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:24.
- [11] BROWN R, KABANI K, FAVALORO J, et al. CD86<sup>+</sup> or HLA-G<sup>+</sup> can be transferred via trogocytosis from myeloma cells to T cells and are associated with poor prognosis [J]. *Blood*, 2012, 120(10):2055-2063.
- [12] 颜斌, 魏晋, 陈健, 等. 多发性骨髓瘤患者外周血 T 细胞亚群及细胞免疫功能研究 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(11): 1210-1212.
- [13] 李晶晶, 牛倩, 唐笛娇, 等. 多发性骨髓瘤外周血 Th17 和 Treg 细胞比率的平衡关系研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(11): 936-940.
- [14] 施玲玲, 李翰卿, 梅建刚, 等. 硼替佐米和沙利度胺治疗对多发性骨髓瘤患者外周血记忆性 T 细胞亚群和调节性 T 细胞的影响及临床意义 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(2):477-483.
- [15] DHODAPKAR K M, BARBUTO S, MATTHEWS P, et al. Dendritic cells mediate the induction of polyfunctional human IL17-producing cells (TH17-1 cells) enriched in the bone marrow of patients with myeloma [J]. *Blood*, 2008, 112(7): 2878-2885.
- [16] BRAGA W M, ATANACKOVIC D, COLLEONI G W. The role of regulatory T cells and TH17 cells in multiple myeloma [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:293479.
- [17] FAVALORO J, BROWN R, AKLILU E, et al. Myeloma skews regulatory T and proinflammatory T helper 17 cell balance in favor of a suppressive state [J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(5):1090-1098.
- [18] SUEN H, BROWN R, YANG S, et al. The failure of immune checkpoint blockade in multiple myeloma with PD-1 inhibitors in a phase 1 study [J]. *Leukemia*, 2015, 29(7): 1621-1622.
- [19] GUPTA VA, MATULIS S M, CONAGE-POUGH J E, et al. Bone marrow microenvironment-derived signals induce Mcl-1 dependence in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2017, 129(14): 1969-1979.
- [20] KURZROCK R, VOORHEES P M, CASPER C, et al. A phase I, open-label study of siltuximab, an IL-6 monoclonal antibody, in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma, multiple myeloma, or Castleman disease [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(13):3659-3670.
- [21] 季丽莉, 陈晨, 张雪皎, 等. 多发性骨髓瘤患者血清 IL-6、CRP 的临床意义 [J]. *中国临床医学*, 2016, 23(3):337-340.
- [22] LUST J A, LACY M Q, ZELDENRUST S R, et al. Reduction in C-reactive protein indicates successful targeting of the IL-1/IL-6 axis resulting in improved survival in early stage multiple myeloma [J]. *Am J Hematol*, 2016, 91(6): 571-574.

[本文编辑] 姬静芳