

急性髓系白血病骨髓微环境中 T 细胞免疫稳态的预后和治疗价值探讨

徐玲, 李扬秋

(暨南大学基础医学与公共卫生学院 血液学研究所, 暨南大学再生医学教育部重点实验室, 广州 510632)

摘要: 骨髓微环境(bone marrow microenvironment, BMM)在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的发生、发展中扮演着重要角色。研究表明, T 细胞在正常 BMM 中具有维持免疫稳态、促进造血干细胞分化平衡的作用, 而在 AML 状态下, BMM 中的 T 细胞免疫稳态遭到破坏, 呈现失衡状态, 这提示 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡参与了 AML 的发生、发展过程。然而, 目前关于 AML 患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡的特点以及这种失衡状态在患者预后判断和治疗中的价值尚未被充分认识。该文从 T 细胞在正常骨髓生态中的作用进行切入, 进一步探讨 BMM 中的 T 细胞免疫稳态失衡对 AML 预后预测以及治疗的潜在价值。

关键词: 急性髓系白血病; 骨髓微环境; T 细胞

中图分类号: R392.32

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2023)03-0185-04

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种遗传、表观遗传并具有临床异质性的造血系统恶性疾病。在过去的二三十年中, 多种 AML 相关的驱动性突变被鉴定, 测序技术的广泛应用使 AML 的临床诊断和预测能力逐步增强, 针对 AML 特殊的分子遗传学改变的靶向治疗已从基础走向临床。2017—2019 年, FDA 批准了 8 种治疗 AML 的新药, 使 AML 患者可以从更加个体化的治疗方法中受益。尽管如此, 临床上还是有很多 AML 患者不能从中获益, 缓解后的高复发率仍然困扰着医生和患者。

近年来, 免疫治疗在淋巴细胞白血病以及多种实体瘤的治疗中取得了巨大成功, 被认为是癌症治疗的第四大支柱。然而, 基于免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)的免疫治疗在 AML 中尚未获得满意疗效。现有的研究认为, 骨髓微环境(bone marrow microenvironment, BMM)的免疫稳态可能在 AML 的免疫治疗以及化疗/靶向治疗中发挥关键作用。本文从 T 细胞在正常骨

髓生态中的作用进行切入, 进一步探讨 BMM 中的 T 细胞免疫稳态失衡对 AML 预后预测以及治疗的潜在价值。

1 T 细胞在正常 BMM 中的分布及作用

骨髓作为成年哺乳动物的主要造血器官, 其特有的微生态影响着造血干细胞的自我更新和谱系分化。骨髓结构除了包括传统的骨内腔和窦状腔外, 有研究提出骨髓还存在免疫细胞腔, 这一理论是基于骨髓中富含各种成熟的免疫细胞和前体细胞, 如淋巴细胞、DC、浆细胞和髓样免疫细胞。此外, 骨髓中的 APC 可以激活初始 T 细胞, 外周记忆 T 细胞也可以归巢于骨髓并长期驻留, 因此, 骨髓也被认为是重要的初级和次级淋巴器官^[1]。据估算, 人体成熟 T 细胞占骨髓细胞总数的 3%~8%(骨髓中成熟 B 细胞和 T 细胞的比例约为 1:5), 看似很少, 但如果累加所有的造血性骨组织中的 T 细胞, 估计其数量可接近甚至高于脾脏中的 T 细胞数量。此外, 骨髓中 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的比例也与外周血(CD4⁺:CD8⁺≈2:1)不同, 呈现 CD8⁺ T 细胞多于 CD4⁺ T 细胞的分布状态(CD4⁺:CD8⁺≈1:2)。与脾脏相比, 骨髓初始 T 细胞比例低于脾脏, 而外周记忆 T 细胞比例高于脾脏, 效应记忆 T 细胞和中枢记忆 T 细胞分别是脾脏的 2.8 倍和 1.5 倍, 这表明骨髓是外

收稿日期: 2022-01-15

基金项目: 国家自然科学基金(82000108; 82070152); 广东省自然科学基金(2020A1515110310)

作者简介: 徐玲(1989—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事血液肿瘤免疫研究

通信作者: 李扬秋(E-mail: yangqiuli@163.com)

周记忆 T 细胞的重要储存场所(不仅在无病原体环境中的小鼠是这样,人类也是如此)^[2]。有研究表明,外周记忆 T 细胞,包括慢性感染介导的耗竭表型外周记忆 T 细胞,可帮助维持造血干细胞的数量和分化能力^[3]。除了外周记忆 T 细胞亚群,骨髓中 Treg(CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺)的储存也非常丰富,据估计,骨髓(20%~30%)含有比血液(5%~10%)、脾脏或淋巴结(10%~15%)更高的 Treg 比例。有研究表明,骨髓龕中内源性的 CD150⁺Treg 是维持造血干细胞静息状态和数量的关键骨髓细胞组分^[4-5]。此外, Pierini 等^[6]的研究显示,正常骨髓生理状态下, Treg 可以通过维持免疫稳态调节造血干细胞向淋巴祖细胞和成熟 B 细胞分化。这些结果提示,骨髓 Treg 可以通过维持骨髓免疫稳态调节造血干细胞的分化平衡。

以上研究表明, BMM 中的 T 细胞与外周血及脾脏组织相比,具有独特的亚群构成模式,在骨髓正常造血中发挥不可或缺的作用。这不禁让人猜想, BMM 中 T 细胞局部和系统免疫反应的调节方式可能是超出现在人们对经典免疫学的认识的,特别是在灵长类动物体内。

2 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡对 AML 预后判断及治疗的潜在价值

老年和难治复发性 AML 患者的治疗是困扰临床医生的一大难题,开发延长患者无病生存期的新治疗手段仍是目前基础和临床研究的主要目标。现有的研究表明, AML 患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡在 AML 的发生、发展中具有重要作用,一方面可影响 AML 患者的预后,另一方面可为开发新的免疫治疗方法提供线索。下文将从 AML 患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡在 AML 预后判断和治疗中的潜在价值进行论述。

2.1 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡对 AML 患者预后判断的价值 在实体瘤中,肿瘤细胞可以协调周围的免疫细胞,如 Treg、髓样来源的抑制细胞、浆细胞样 DC 及基质细胞等,构建免疫抑制性肿瘤微环境,促进肿瘤细胞的免疫逃逸和耐药^[7]。在 AML 中,骨髓是白血病细胞产生和输出的“巢穴”,其微环境与实体瘤的肿瘤微环境具有相似之处。已有的研究显示, AML 患者骨髓中积累了大量的 Treg,其可通过抑制增殖、促进凋亡以及抑制 IFN- γ 分泌等方式减少 CD4⁺CD25⁺T 细胞的数量并抑制

其功能,从而导致白血病细胞的免疫逃逸^[8]。此外,有研究表明, AML 患者骨髓 Treg 较外周血 Treg 具有更强的免疫抑制作用^[9]。尽管在实体瘤中已非常明确, Treg 的增加与患者的不良预后相关,但在 AML 患者 BMM 中这一结论尚存在争议^[9-10],仍需要更大规模的研究进行明确。

除 Treg 的异常增加外,骨髓中 T 细胞的耗竭在白血病免疫逃逸过程中亦具有重要作用,并影响着患者的预后。本课题组及多个团队的研究均发现,在初发和复发的 AML 患者中,骨髓浸润 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞均较外周血更高频率地表达 PD-1、T 细胞免疫球蛋白、ITIM 结构域蛋白及 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 等免疫检查点分子,并且这种 T 细胞异常表型与更差的抗白血病作用和患者的不良预后相关^[11-15]。有研究显示,除了不同表型 T 细胞的改变外,初诊时骨髓总 T 细胞比例高的 AML 患者,其 2 年总生存期及无白血病生存期均显著延长^[16]。上述这些不同 T 细胞亚群数量和表型的改变虽然与 AML 患者的预后存在不同程度的关联,但并不能独立于 2017 年欧洲白血病联盟(2017 European Leukemia Net, ELN-2017) AML 遗传学危险分层体系(简称 ELN-2017 体系)对患者预后做出有效判断。

近期,多个研究团队对 AML 患者预后分层体系进行了研究,结果表明,结合 BMM、T 细胞免疫衰老和耗竭评分等多种协变量的预后体系可以较 ELN-2017 体系更能有效地预测患者的生存状况^[17-22],如国内学者利用 CIBERSORTx 免疫细胞浸润分析工具评估了 Gene Expression Omnibus 数据库中 AML 患者骨髓浸润免疫细胞的浸润比例,最终纳入 6 种免疫细胞(其中包括 CD8⁺T 细胞和 Th)数据用于构建免疫风险评分,该评分可以较好地预测接受强化诱导化疗的患者的生存率;结合免疫风险评分、ELN-2017 体系以及年龄等变量共同构建的生存预测模型可以较单纯 ELN-2017 体系更精准地预测患者的生存状况,该模型的预测值也在多个外部数据集中得到验证^[19]。上述研究结果提示,复杂的 BMM 因素不同程度地影响着 T 细胞的功能状态,而 T 细胞的功能状态改变也预示着疾病的进展和结局。综合考虑骨髓 T 细胞免疫功能状态对于预测 AML 疗效和患者的生存状况是非常有意义的。当然,这些研究仍需要严格的大规模前瞻性临床研究加以验证才能更好地指导临床实践。

2.2 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡对 AML 治疗的潜在价值 尽管初发 AML 患者骨髓 Treg 的增加与患者预后之间的关系尚不明确,但在一项动态观察研究中,Delia 等^[23]发现,化疗后获得缓解的患者骨髓 Treg 数量显著下降,而化疗后无反应的患者骨髓 Treg 数量与治疗前无差异。这一结果提示,骨髓 Treg 在维持 AML 状态中具有潜在作用,去除 Treg 可能对提高治疗响应率具有积极意义。

ICI 是一类通过阻断 T 细胞抑制性信号,逆转耗竭 T 细胞功能的免疫治疗药物,目前在临床上得到广泛应用的 ICI 主要包括抗 PD-1、T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 和细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 单克隆抗体,尽管 ICI 在多种实体瘤治疗中获得成功,但临床上应用 ICI 治疗 AML 却收效甚微,有临床试验在结合了去甲基化药物治疗后获得了相对较好的疗效,但总体应答率仍然有限^[15,24]。单细胞转录组测序(single cell RNA sequencing, scRNA-seq)是解释细胞多样性和 T 细胞状态的有力工具。近期一项来自 MD Anderson 肿瘤中心的研究,联合 scRNA-seq 和单细胞 TCR 测序绘制了 8 例接受阿扎胞苷和纳武利尤单抗抗体(PD-1 抑制剂)联合治疗的难治复发性 AML 患者骨髓 T 细胞在治疗前后的动态改变图谱,结果发现,PD-1 抑制剂联合阿扎胞苷治疗有响应的难治复发性 AML 患者骨髓中出现了新的 CD8⁺ T 细胞克隆扩增,而耐药患者则出现 T 细胞克隆的减少;此外,该研究还发现,染色体 7/7q 的缺失是 AML 患者对 PD-1 抑制剂治疗耐药的生物标志,相关机制可能与 Treg 的浸润增加有关^[25]。这一结果在一定程度上揭示了骨髓 TCR 的动态改变对于监测 ICI 治疗反应的重要性,另一方面也提示具有不同细胞遗传学改变的 AML 患者,BMM 对 T 细胞免疫稳态的重塑具有异质性,而这种异质性与疾病进展和 ICI 治疗耐药密切相关。因此,进一步探索 AML 患者固有生物学特征对骨髓 T 细胞免疫稳态重塑的影响对于击破 AML 患者错综复杂的免疫逃逸网络和发现新的免疫治疗靶点至关重要。

近期的另一项研究同样联合了 scRNA-seq 和单细胞 TCR 测序解析了正常核型 M4/M5(急性粒单核细胞白血病/单核细胞白血病)患者骨髓 T 细胞亚群的特征图谱,结果发现,一例预后不良的 AML 患者存在显著的 CD8⁺ KLRB1⁺ T 细胞亚群扩增(包括数量的增加和 TCR 克隆的富集),进一

步研究发现该细胞群具有黏膜相关恒定 T 细胞(mucosal-associated invariant T cell, MAIT)特征。通过生物信息学分析证明,MAIT 相关基因 *LST1* 和 *CASP1* 的高表达与 AML 患者的预后不良有关,这提示靶向调节 MAIT 功能可能具有潜在的抗白血病作用^[26]。

3 结语

本课题组认为,恢复 AML 患者 BMM 中的 T 细胞免疫稳态对于长期的疾病控制是一种有潜力的方法,但目前关于 AML 患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡的相关研究还处于初级阶段,仍需要开创性的研究深入阐明不同 AML 亚型患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡的特点和内源、外源性机制。基于单细胞测序的研究手段虽然可以深层次地解析疾病背后的细胞及分子生物学机制,但其较高的技术门槛、较贵的检测费用及有限的检测通量限制了大规模病例的研究。希望未来能出现更有效的检测手段或开展更有疾病特点针对性(针对具有某一细胞遗传学异常或其他临床、实验室检查结果同质性的 AML 患者)的单细胞测序研究,可以更加详细地阐明 AML 患者 BMM 中 T 细胞免疫稳态失衡与 AML 固有生物学特点之间的关系,为攻克 AML 提供创新性途径。

参考文献

- [1] Bonomo A, Monteiro AC, Gonçalves-Silva T, *et al.* A T cell view of the bone marrow[J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 184.
- [2] Wislet S. Adult stem cell niches [M]. London: IntechOpen, 2014: 88-97.
- [3] Geerman S, Brasser G, Bhushal S, *et al.* Memory CD8⁺ T cell support the maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow [J]. *Haematologica*, 2018, 103 (6): e230-e233.
- [4] Hirata Y, Furuhashi K, Ishii H, *et al.* CD150^{high} bone marrow Tregs maintain hematopoietic stem cell quiescence and immune privilege via adenosine[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22 (3): 445-453. e5.
- [5] Hirata Y, Kakiuchi M, Robson SC, *et al.* CD150^{high} CD4 T cells and CD150^{high} regulatory T cells regulate hematopoietic stem cell quiescence via CD73[J]. *Haematologica*, 2019, 104 (6): 1136-1142.
- [6] Pierini A, Nishikii H, Baker J, *et al.* Foxp3⁺ regulatory T cells maintain the bone marrow microenvironment for B cell lymphopoiesis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15068.
- [7] Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment[J]. *Curr Biol*, 2020, 30(16): R921-R925.

- [8] Wan Y, Zhang C, Xu Y, *et al.* Hyperfunction of CD4 CD25 regulatory T cells in de novo acute myeloid leukemia[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 472.
- [9] Shenghui Z, Yixiang H, Jianbo W, *et al.* Elevated frequencies of CD4⁺ CD25⁺ CD127^{lo} regulatory T cells is associated to poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia[J]. Int J Cancer, 2011, 129(6): 1373-1381.
- [10] Menter T, Kuzmanic B, Bucher C, *et al.* Beneficial role of increased Foxp3⁺ regulatory T-cells in acute myeloid leukaemia therapy response[J]. Br J Haematol, 2018, 182(4): 581-583.
- [11] Xu L, Liu L, Yao D, *et al.* PD-1 and TIGIT are highly co-expressed on CD8⁺ T cells in AML patient bone marrow[J]. Front Oncol, 2021, 11: 686156.
- [12] Tan J, Yu Z, Huang J, *et al.* Increased PD-1⁺ Tim-3⁺ exhausted T cells in bone marrow may influence the clinical outcome of patients with AML[J]. Biomark Res, 2020, 8: 6.
- [13] Daver N, Basu S, Garcia-Manero G, *et al.* Defining the immune checkpoint landscape in patients (pts) with acute myeloid leukemia (AML)[J]. Blood, 2016, 128(22): 2900.
- [14] Jia B, Wang L, Claxton DF, *et al.* Bone marrow CD8 T cells express high frequency of PD-1 and exhibit reduced anti-leukemia response in newly diagnosed AML patients[J]. Blood Cancer J, 2018, 8(3): 34.
- [15] Rezaei M, Tan J, Zeng C, *et al.* TIM-3 in leukemia; immune response and beyond[J]. Front Oncol, 2021, 11: 753677.
- [16] Ismail MM, Abdulateef NAB. Bone marrow T-cell percentage; a novel prognostic indicator in acute myeloid leukemia[J]. Int J Hematol, 2017, 105(4): 453-464.
- [17] Wang Y, Cai YY, Herold T, *et al.* An immune risk score predicts survival of patients with acute myeloid leukemia receiving chemotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(1): 255-266.
- [18] Dao FT, Wang J, Yang L, *et al.* Development of a poor-prognostic-mutations derived immune prognostic model for acute myeloid leukemia[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 4856.
- [19] Hu F, Wang Y, Wang WD, *et al.* Improving prediction accuracy in acute myeloid leukaemia: micro-environment, immune and metabolic models[J]. Leukemia, 2021, 35(11): 3073-3077.
- [20] Vadakekolathu J, Minden MD, Hood T, *et al.* Immune landscapes predict chemotherapy resistance and immunotherapy response in acute myeloid leukemia[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(546): eaaz0463.
- [21] Dong X, Zhang D, Zhang J, *et al.* Immune prognostic risk score model in acute myeloid leukemia with normal karyotype[J]. Oncol Lett, 2020, 20(6): 380.
- [22] Brück O, Dufva O, Hohtari H, *et al.* Immune profiles in acute myeloid leukemia bone marrow associate with patient age, T-cell receptor clonality, and survival[J]. Blood Adv, 2020, 4(2): 274-286.
- [23] Delia M, Carluccio P, Mestice A, *et al.* After treatment decrease of bone marrow Tregs and outcome in younger patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia[J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 2134647.
- [24] Vago L, Gojo I. Immune escape and immunotherapy of acute myeloid leukemia[J]. J Clin Invest, 2020, 130(4): 1552-1564.
- [25] Abbas HA, Hao D, Tomczak K, *et al.* Single cell T cell landscape and T cell receptor repertoire profiling of AML in context of PD-1 blockade therapy[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6071.
- [26] Wu W, Liang X, Li H, *et al.* Landscape of T cells in NK-AML(M4/M5) revealed by single-cell sequencing[J]. J Leukoc Biol, 2022, 112(4): 745-758.

The prognostic and therapeutic value of T cell immune homeostasis in the bone marrow microenvironment of acute myeloid leukemia

XU Ling, LI Yang-qiu(*Key Laboratory for Regenerative Medicine of Ministry of Education, Institute of Hematology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China*)

Abstract: The bone marrow microenvironment (BMM) plays an important role in the development of acute myeloid leukemia (AML). Multiple studies have shown that T cells can maintain immune homeostasis and promote the differentiation balance of hematopoietic stem cells in normal BMM. However, the immune homeostasis of T cells in BMM is disrupted and unbalanced in AML, suggesting that the imbalanced BMM T cell state may be involved in the development of AML. The characteristics of BMM T cell homeostasis imbalance and the value of the imbalance in the prognosis and treatment of AML patients have not been fully understood. This review outlines the role of T cells in the normal bone marrow and the potential value of BMM T cell immune homeostasis in prognosis prediction and treatment of AML patients.

Key words: acute myeloid leukemia; bone marrow microenvironment; T cell