

网络出版时间:2025-08-18 08:50:33 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250815.1250.020

IgD 对急性髓系白血病细胞 Molm-13 增殖与凋亡的影响

刘丹彦¹, 张欣¹, 陈梦琴¹, 凌夕¹, 董满玲¹, 吴甜甜¹, 王越业¹, 李涛², 魏伟¹, 吴育晶¹

(¹ 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 合肥 230032;

² 安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230022)

摘要 目的 探讨免疫球蛋白 D(IgD)对人急性髓系白血病(AML)细胞株(Molm-13)活力、增殖、凋亡等功能的作用及其相关机制。方法 收集 AML 患者和健康对照者外周血血清,ELISA 法检测 AML 患者和健康对照者外周血血清中 sIgD 的表达情况;体外设不同浓度的 IgD 处理组,利用 CCK-8、CFSE 试剂和集落形成实验观察不同浓度的 IgD 对 Molm-13 细胞活力、增殖的影响,利用凋亡试剂盒检测不同浓度的 IgD 对 Molm-13 细胞凋亡的影响,利用差异基因分析对 IgD 引起 Molm-13 增殖的相关机制进行初步探索。结果 AML 患者血清中 sIgD 表达水平高于健康对照者($P < 0.001$),一定浓度的 IgD 可增加 Molm-13 细胞的活力($P < 0.05$),促进 Molm-13 细胞的增殖($P < 0.05$),抑制 Molm-13 细胞的凋亡($P < 0.001$)。结论 IgD 有促进 Molm-13 细胞的活力、增殖,减少凋亡的作用。

关键词 急性髓系白血病;免疫球蛋白 D;Molm-13 细胞;增殖;凋亡

中图分类号 R 969.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1513-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.021

急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)是成人最常见的急性白血病,以髓系细胞异常增殖、分化受阻及正常造血衰竭为特征,治疗选择有限且预后不良。AML 的发生发展与异常细胞的免疫微环境密切相关,该环境通过影响免疫细胞功能和诱导免疫紊乱促进白血病进展^[1]。免疫球蛋

白(immunoglobulin, Ig)是一类关键的免疫效应分子,有研究发现,所有类别的 Ig 都在成髓细胞中表达,且患者血清 Ig 水平升高与不良预后相关^[2]。其中,IgD 是免疫调节的重要参与者,课题组前期研究^[3]发现分泌型 IgD(secreted IgD, sIgD)在急性 T 淋巴细胞白血病(T cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)患者外周血血清中的表达异常升高,并可在体外诱导人源 T-ALL 细胞株增殖、抑制凋亡。然而 IgD 在 AML 细胞中的表达及作用尚不明确。该研究通过观察 AML 患者和健康对照者外周血血清中 IgD 水平的表达差异,检测 IgD 对人源 AML 细胞株(Molm-13)活力、增殖、凋亡的影响,探讨 IgD 对 AML 细胞株 Molm-13 功能的影响及参与 AML 发生发展的部分机制。

2025-03-20 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81603121、81973332);安徽省科技厅自然科学基金面上项目(编号:2308085MH311);安徽省教育厅自然科学基金重点项目(编号:2023AH050666)

作者简介:刘丹彦,女,硕士研究生;

吴育晶,女,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:wyj@ahmu.edu.cn

(PI3K/AKT) signaling pathway was activated. Compared with the negative control group, the relative protein expression levels of phosphorylated protein kinase B (p-AKT)/AKT and phosphorylated mammalian target of rapamycin (p-mTOR)/mTOR in KAT7 over-expression group increased. The relative protein expression levels of p-AKT/AKT and p-mTOR/mTOR in KAT7 knockdown cells decreased. **Conclusion** Rat ACs with high expression of KAT7 exhibit senescence and osteoarthritis phenotype, and the mechanism may be related to the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by KAT7.

Key words osteoarthritis; articular chondrocytes; KAT7; cell senescence; PI3K/AKT/mTOR

Fund programs Key Project of The National Natural Science Foundation of China (No. 82430114); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2023zhxy-B14)

Corresponding authors Wei Wei, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn; Yan Shangxue, E-mail: yan-shx@163.com

1 材料与方法

1.1 人外周血来源 该研究在安徽医科大学第一附属医院体检中心收集了 37 例 AML 患者和 28 例健康对照者的静脉血样本,所有参与者签署了知情同意书,且研究方案已获伦理委员会批准(编号:83230516)。

1.2 细胞株来源 本次实验所使用的 AML 细胞株 Molm-13 来自上海富衡生物科技有限公司。

1.3 主要试剂 人 IgD 蛋白、胎牛血清(美国 MULTICELL 公司);人 IgD ELISA 试剂盒(美国 Abcam 公司);RPMI-1640 培养液、琼脂糖(德国 Biofroxx 公司);CCK-8 试剂盒(上海碧云天生物技术研究所);CFSE 试剂(上海陶术生物科技股份有限公司);Annexin-V/PI 细胞凋亡试剂盒(上海贝博生物技术有限公司)。

1.4 主要仪器 Thermo Forma CO₂ 细胞培养箱[赛默飞科技(中国)有限公司];Infinite M1000 PRO 多功能酶标仪[TECAN(瑞士)公司];垂直流 SW-CJ-2FD 超净工作台[苏州净化(江苏)有限公司];Cyto FLEX 型流式细胞仪[BECKMAN(美国)公司]。

1.5 ELISA 检测 AML 患者和健康对照者血清中 sIgD 水平 于医院血液内科门诊收集 AML 患者的外周血样本,记录患者实验室相关指标检测结果。同期随机收取医院体检中心健康体检者血液样本,其年龄和性别比例均与 AML 组相匹配。静置 1 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,吸取上清液至干净的 1.5 mL Ep 管中,参照 Abcam 试剂盒说明书,配制对应浓度的稀释液、洗涤液、酶抗体偶联物,取 100 μ L 样本加入 96 孔板中,室温放置 60 min 后,用洗涤液洗涤 3 次。接着加入 100 μ L 酶抗体偶联物,避光在室温下放置 10 min。充分洗涤后,每孔加入 100 μ L TMB 显色液,室温避光放置 10 min 后,每孔加入 100 μ L 停止液,在 15 min 内使用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值(optical density, OD) ($A_{450\text{ nm}}$)。根据标准品的 OD 值与浓度关系绘制标准曲线,随后记录样本的 OD,并代入公式计算其对应的浓度。

1.6 CCK-8 实验检测不同浓度的 IgD 对 Molm-13 细胞活力的影响 将处于对数生长期的 Molm-13 细胞稀释至 1×10^6 个/mL 后,取 100 μ L 细胞悬液接种到 96 孔板的各个孔中。分别加入不同浓度的 IgD,终浓度设为 0.1、0.3、1、3 和 10 μ g/mL,以探讨不同浓度下 IgD 对 Molm-13 细胞的影响。每个浓度设 3 个复孔,另外设置空白对照(不加细胞,只加入

相同体积的培养基),将细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24、48 h,以观察不同时间点的细胞活力情况。培养结束后,向每个孔中添加 10 μ L CCK-8 试剂,避光在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中孵育。最后,通过测量 OD,评估细胞的生长和存活状态,进一步进行细胞活力检测。使用酶标仪在 450 nm 波长处测量 OD 值,且每隔 30 min 测 1 次 OD 值(OD 值在 1 左右),计算细胞活力。细胞活力刺激指数(%) = $(\text{OD}_{\text{实验孔}} - \text{OD}_{\text{空白孔}}) / (\text{OD}_{\text{对照孔}} - \text{OD}_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

1.7 CFSE 染色检测不同浓度的 IgD 对 Molm-13 细胞增殖的影响 将处于对数生长期的 Molm-13 细胞稀释至 1×10^6 个/mL,转移至 1.5 mL Ep 管内,500 μ L/管,每管加入 500 μ L PBS,2 500 r/min 离心 5 min,弃上清液。取 1 mg CFSE,用 DMSO 稀释(1 mmol/L)并避光分装冻存于 -20 $^{\circ}$ C,用时加入胎牛血清中混匀,配置成终浓度为 1 μ mol/L 的 CFSE 试剂。在上述 Ep 管中加入 1 mL/管 CFSE 染色液,混悬后在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 10 ~ 15 min。每管加入 500 μ L PBS,轻弹混匀,2 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,每管加入 500 μ L 的 10% RPMI-1640 培养液,重复混匀后,均匀接种于 12 孔细胞培养板中,将不同浓度的 IgD(1、3、10 μ g/mL)分别添加至各组中,随后将培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中继续培养 24、48 h。培养结束后,将细胞转移至 1.5 mL Ep 管中,向每个管中加入 500 μ L PBS,轻轻震荡混匀后,以 2 000 r/min 离心 10 min,离心后弃去上清液,再向每管加入 200 μ L PBS。随后,通过 200 目纱网过滤细胞悬液,确保样本中的细胞无杂质。最后,将处理后的细胞悬液用于流式细胞仪检测。

1.8 集落形成实验检测不同浓度的 IgD 对 Molm-13 细胞克隆形成的影响 配制 1.2% 和 0.7% 的琼脂溶液,高压灭菌处理以确保溶液的无菌性。灭菌后,将琼脂溶液温控至 42 $^{\circ}$ C,确保琼脂在接下来的实验中能够保持液态,方便后续操作。将 1.2% 琼脂与 2 $\times$ 培养基混合,铺在 12 孔板中作为下层胶,1 mL/孔。37 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min,直到凝固;取处于对数生长期的 Molm-13 细胞,稀释成一定倍数后与 0.7% 琼脂充分混匀,分别加入不同浓度的 IgD(1、3、10 μ g/mL),注入到 12 孔板中作为上层胶,每孔约 100 个细胞,待其凝固后,加入适量的培养基,每 3 d 更换 1 次。培养 2 周后,用显微镜观察克隆形成情况。

1.9 Annexin V/PI 凋亡试剂盒检测不同浓度的

IgD 对 Molm-13 细胞凋亡的影响 将处于对数生长期的 Molm-13 细胞稀释至 1×10^6 个/mL, 以 500 μL /孔接种于 12 孔板中, 分组加入不同浓度的 IgD (1、3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 将细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后, 转移至 1.5 mL EP 管中。每管加入 500 μL PBS, 轻轻震荡混匀后, 以 2 000 r/min 离心 5 min 收集细胞。接下来, 加入 $1 \times$ Binding Buffer, 每管 400 μL , 将细胞充分混悬后, 加入 Annexin V-FITC, 每管 5 μL , 并在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下孵育 15 min。孵育完成后, 再向每个管加入 5~10 μL PI 染色液, 轻轻混匀细胞悬液, 在 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下继续孵育 2~5 min。使用流式细胞仪对样本进行检测。

1.10 差异基因分析 将处于对数生长期的 Molm-13 细胞稀释至 1×10^6 个/mL, 以 500 μL /孔接种于 12 孔板中, 分组加入不同浓度的 IgD (1、3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 将细胞放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后, 转移至 1.5 mL EP 管中。每管加入 500 μL PBS, 2 500 r/min 离心 5 min 收集细胞, 每管加入 TRIzol 试剂, 重悬细胞, 放入 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。将样品送至擎科生物进行转录组测序, 结果返回后进行分析。

1.11 统计学处理 使用 SPSS 16.0 和 GraphPad Prism 8 软件统计分析实验数据。每组实验重复 5 次。对于非正态分布数据, 采用非参数检验; 正态分布数据则使用 t 检验进行两组间比较, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 进行多组间差异比较。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AML 患者和健康对照者血清中 sIgD 水平 临床收取 AML 患者和健康对照者外周血, 经处理得到血清, ELISA 检测血清 sIgD 水平, 在 450 nm 波长处测定各孔的 OD450 值, 计算出相应的浓度。结果显示, AML 患者血清中 sIgD 水平显著高于健康对照者 ($P < 0.001$), 见图 1。

2.2 AML 患者和健康对照者临床资料 本课题组在安徽医科大学第一附属医院体检中心收集了 37 例 AML 患者和 28 例健康对照者的静脉血样本, AML 患者基本信息见表 1。

2.3 AML 患者血清中 sIgD 与 RBC、PLT、Hb 的相关性 使用皮尔森相关系数分析 AML 血清中 sIgD 与常规实验室指标红细胞计数 (red blood cell, RBC)、血小板 (platelets, PLT)、血红蛋白 (hemoglo-

bin, Hb) 水平的关系, AML 患者血清中 sIgD 与 RBC ($r = -0.3266$, $P = 0.0485$)、PLT ($r = -0.3464$, $P = 0.0357$)、Hb ($r = -0.4188$, $P = 0.0099$) 负相关, 见图 2。

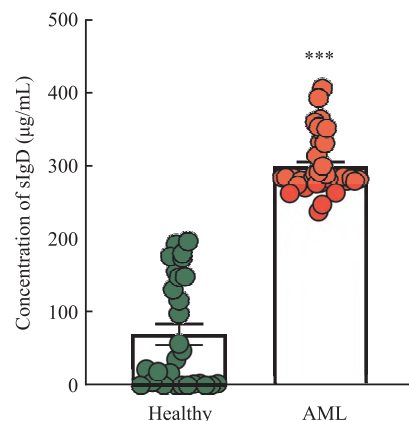


图 1 AML 患者与健康对照者血清中 sIgD 水平

Fig. 1 sIgD levels in the serum of AML patients and healthy controls

*** $P < 0.001$ vs healthy controls.

表 1 入选 AML 患者和健康对照者临床特征 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Clinical characteristics of the AML patients and healthy controls ($\bar{x} \pm s$)

Characteristic	AML patients	Healthy controls
Number of subjects	37	28
Age (years)	42 ± 11	38 ± 9
Female/male ratio	26 : 11	19 : 9
Number of FLT3 mutations	29	NA
WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	0.81 ± 0.54	NA
RBC ($\times 10^{12}/\text{L}$)	2.895 ± 1.655	NA
PLT ($\times 10^9/\text{L}$)	207 ± 204	NA
CRP (mg/L)	< 0.50	NA
Hb (g/L)	97.5 ± 59.5	NA
sIgD ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	322.441 ± 84.877	78.115 ± 45.128

WBC: white blood cells; CRP: C-reactive protein; Hb: hemoglobin.

2.4 IgD 对 Molm-13 细胞活力的影响 收集处于对数生长期的 Molm-13 细胞, 用 IgD (0.1、0.3、1、3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 体外刺激 24、48 h, CCK-8 检测细胞活力。结果显示, 24 h 时 IgD (3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 可显著增加 Molm-13 细胞活性 ($P < 0.01$), 48 h 时 IgD (0.3、1、3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 可显著增加 Molm-13 细胞活性 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.5 IgD 对 Molm-13 细胞增殖的影响 收集处于对数生长期的 Molm-13 细胞, 与 IgD (1、3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和 CFSE 染色液分别孵育 24、48 h 后, 流式结果显示, IgD (3、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 可促进 Molm-13 细胞增殖 ($P < 0.05$), 见图 4。

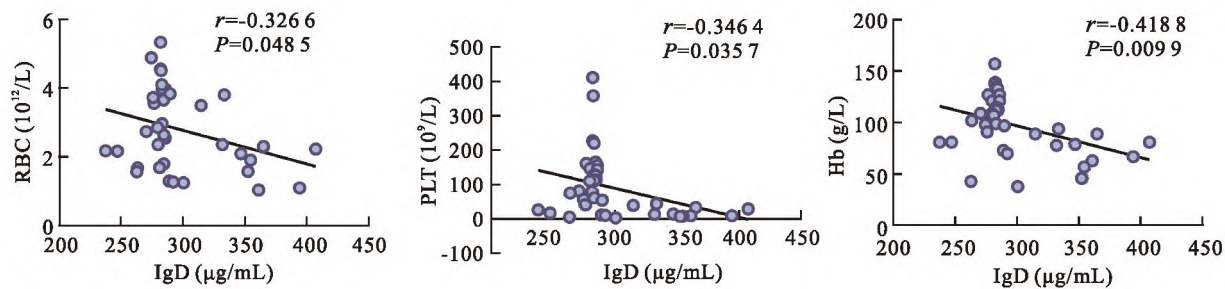


图2 AML患者中sIgD水平与常规实验室指标的相关性

Fig. 2 Correlation of sIgD levels with routine laboratory parameters in AML patients

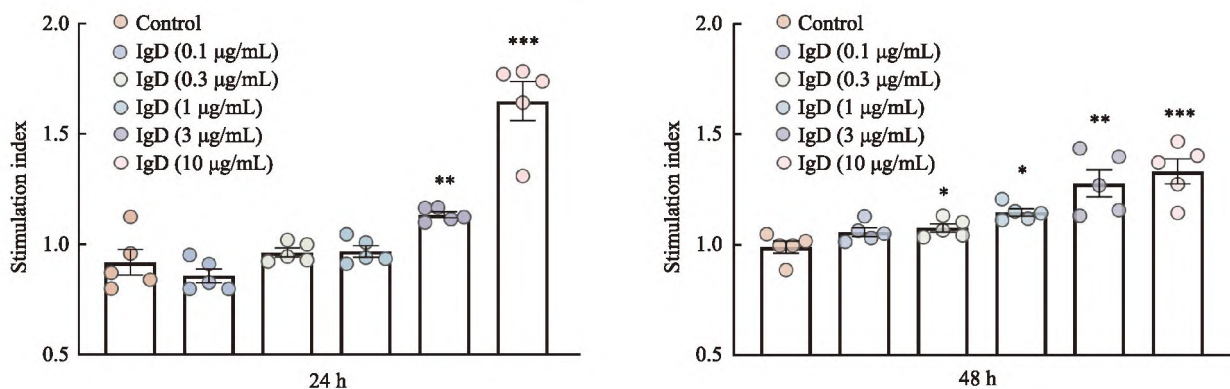


图3 IgD对Molm-13细胞活力的影响

Fig. 3 The effects of IgD on the viability of Molm-13 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Control group.

2.6 IgD对Molm-13细胞集落形成的影响 收集处于对数生长期的Molm-13细胞,与IgD(1、3、10 $\mu\text{g/mL}$)共同培养约2周后,观察记录细胞数量。集落形成实验结果显示,IgD(3、10 $\mu\text{g/mL}$)可明显促进Molm-13细胞的克隆($P < 0.01$),见图5。

2.7 IgD对Molm-13细胞凋亡的影响 收集处于对数生长期的Molm-13细胞,与IgD(1、3、10 $\mu\text{g/mL}$)孵育48 h后,利用Annexin-V和PI荧光染料双染细胞,流式结果显示,IgD(1、3、10 $\mu\text{g/mL}$)可抑制Molm-13细胞的凋亡($P < 0.001$),见图6。

2.8 差异基因分析 收集处于对数生长期的Molm-13细胞,与IgD(1、3、10 $\mu\text{g/mL}$)孵育24 h后,收集细胞,将样本送入擎科生物进行差异基因分析,结果显示,通过KEGG富集分析,差异基因显著富集到MAPK信号通路,提示IgD可能通过该通路影响Molm-13细胞的增殖与凋亡,见图7。

3 讨论

AML是一种侵袭性血液系统癌症,成人和儿童患者的生存率都较低。免疫系统在AML的发生、进

展及治疗中扮演着重要角色。免疫紊乱不仅可能诱发AML,也可能推动其发展并影响预后。作为免疫系统中重要的抗体分子,Ig在AML中的异常表达和免疫反应的改变可能会通过促进免疫逃逸机制、影响免疫监视等途径帮助AML细胞的生长和存活^[4-5]。

IgD的主要作用是调节免疫反应和参与免疫系统的识别过程,与多种疾病密切相关。课题组前期研究发现,IgD在自身免疫性疾病的发生中起着重要作用,例如,它与类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)^[6-8]和系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)^[9]等疾病的发生密切相关,RA、SLE患者血清中IgD的表达水平均高于健康对照者。IgD是黏膜免疫的关键调节因子,在上呼吸道等黏膜部位,IgM-IgD+B细胞分泌的sIgD可直接结合病原微生物,并通过激活嗜碱性粒细胞介导即时免疫防御,增强抗病原体能力^[10],这一过程有助于提高对外来病原的抵抗力。此外,IgD能与黏膜共生菌群互作,通过调控免疫耐受与稳态平衡^[11],这种相互作用不仅增强了免疫监视功能,还在一定程

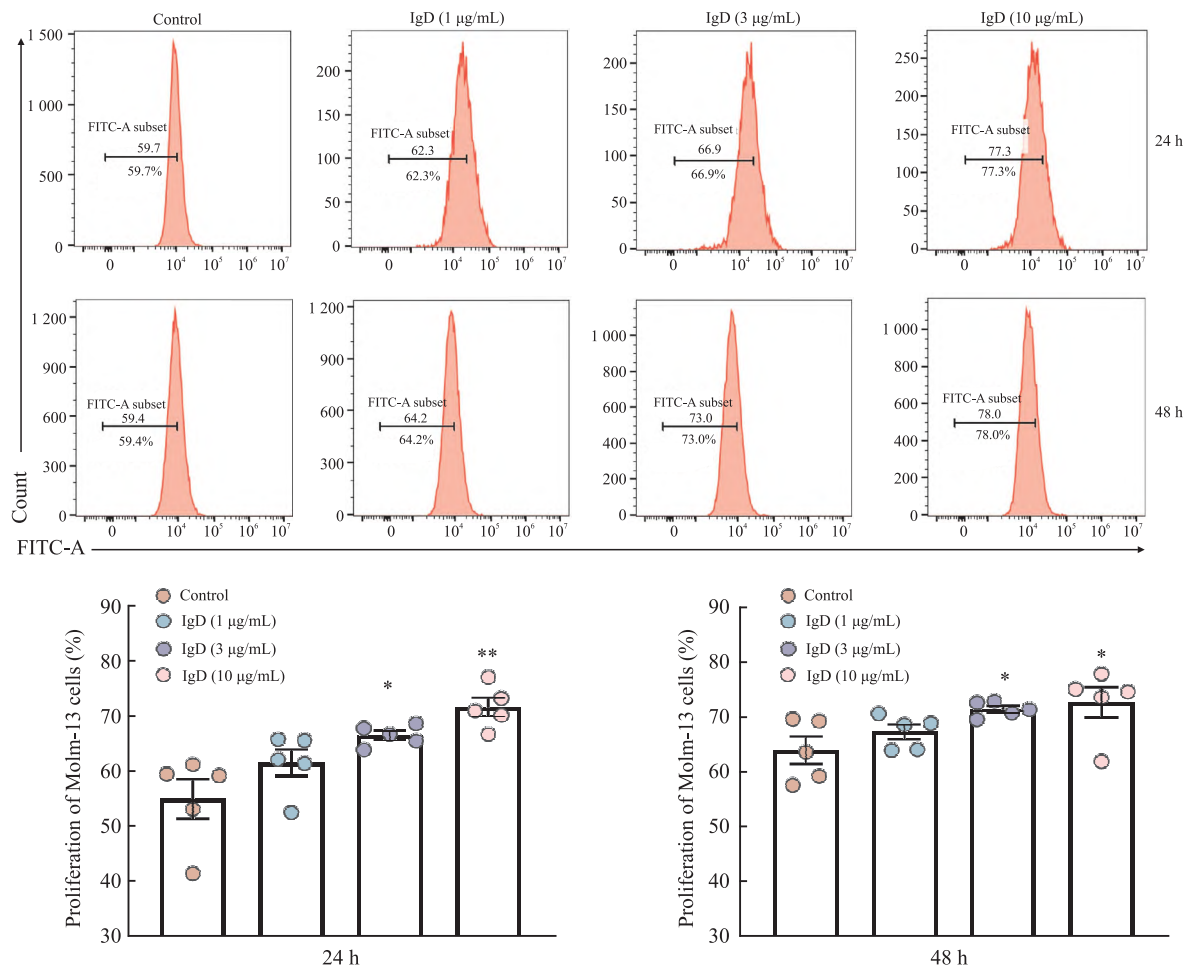


图4 IgD对Molm-13细胞增殖的影响

Fig. 4 The effects of IgD on the proliferation of Molm-13 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group.

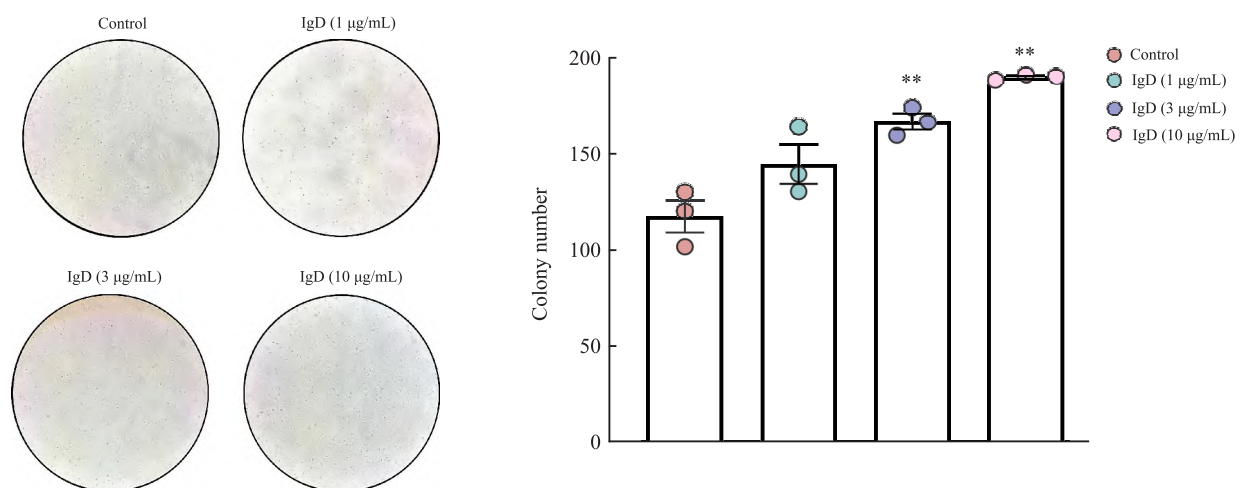


图5 IgD对Molm-13细胞集落形成的影响

Fig. 5 The effects of IgD on the colony formation ability of Molm-13 cells

** $P < 0.01$ vs Control group.

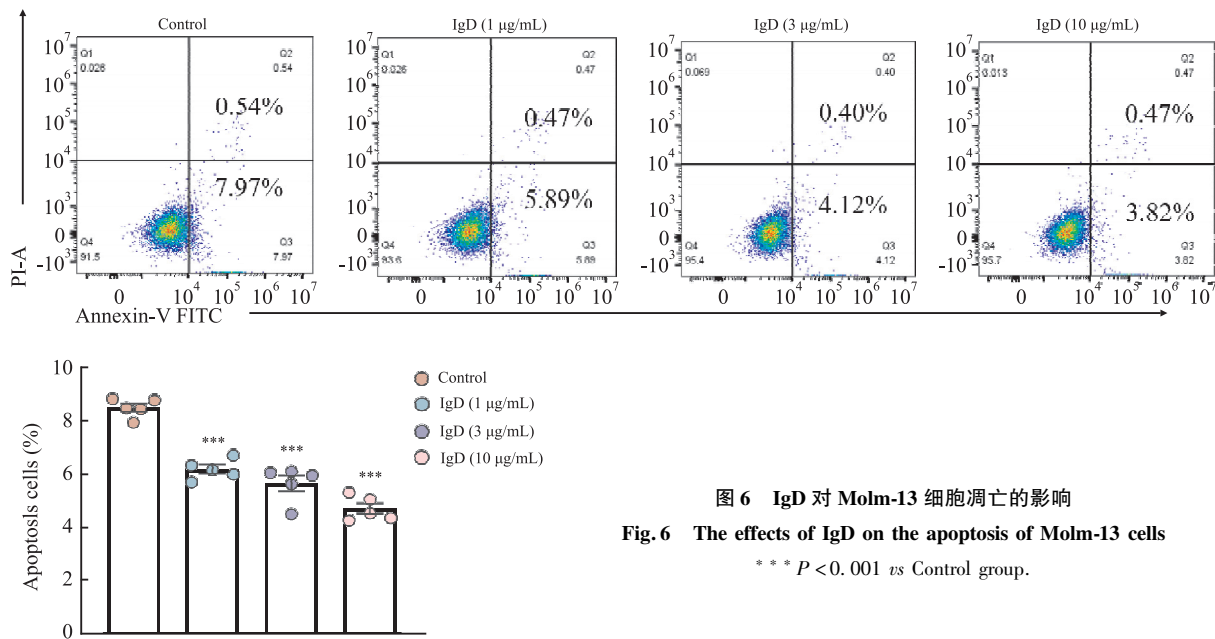


图6 IgD对Molm-13细胞凋亡的影响

Fig. 6 The effects of IgD on the apoptosis of Molm-13 cells

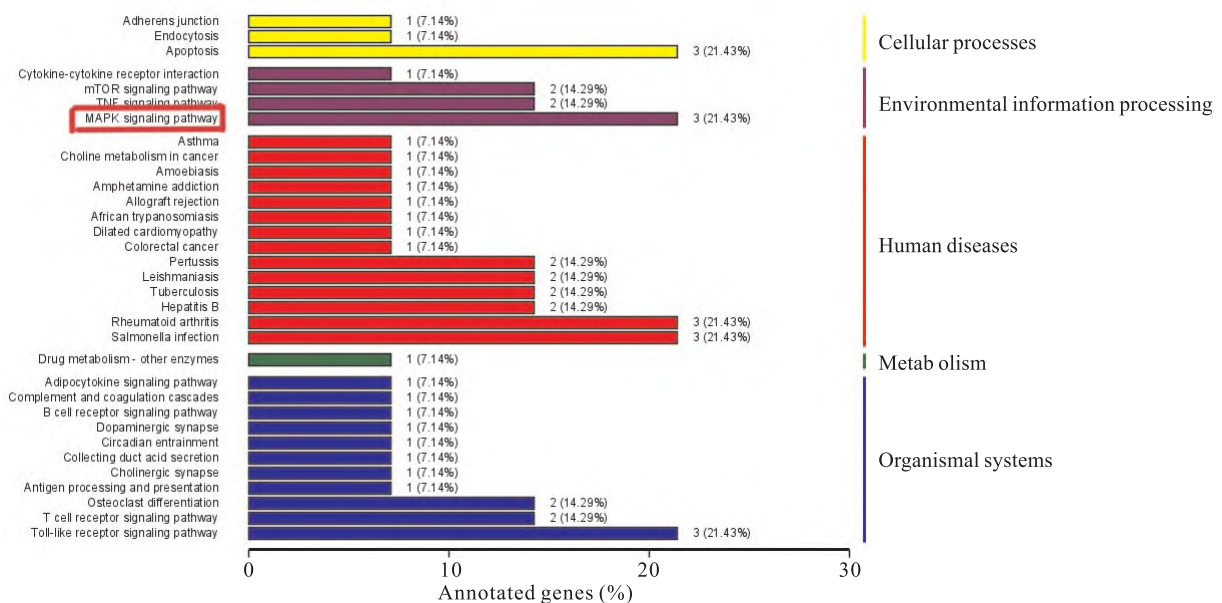
*** $P < 0.001$ vs Control group.

图7 KEGG信号通路功能注释分析图

Fig. 7 Functional annotation analysis diagram of KEGG signaling pathway

度上维持了免疫系统的平衡,防止免疫紊乱的发生^[12]。研究^[13]还发现,抗 IgD 抗体在动物模型中对缓解自身免疫疾病和过敏性炎症具有积极作用,同时不会损害宿主的整体免疫防御功能。

IgD 与血液系统疾病也密切相关,IgD 骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是最为熟知的一种与 IgD 相关的 B 细胞恶性肿瘤,MM 患者血清中 sIgD 的表达水平明显升高^[14-15]。弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL) 和 T-ALL 是造

血系统恶性肿瘤,课题组研究发现,DLBCL 患者淋巴结病理组织中 IgD 表达明显上调,DLBCL 和 T-ALL 患者外周血血清中 IgD 水平明显升高。有临床研究发现,AML 患者 Ig 水平显著升高,而 IgD 在 AML 患者中具体表达水平和作用机制未见报道。研究通过 ELISA 法检测了 37 例诊断为 AML 的患者血清中 sIgD 水平。结果发现 AML 患者外周血中的 sIgD 水平显著升高,提示 AML 细胞中分泌较多的 sIgD。通过整理统计患者信息,进行皮尔森相关系

数分析风险,显示 AML 患者血清中 sIgD 与 RBC、PLT 和 Hb 负相关,提示 IgD 可能参与 AML 的病理过程。此外,实验收集的 37 例 AML 患者中,FMS 样酪氨酸激酶 3(FMS-like tyrosine kinase-3, FLT3)突变人数有 29 例,占比 78.4%,FLT3 是 AML 中最常见的异常基因之一,该亚型约占 AML 新发病例的 30%,约 70%~80% 复发患者携带 FLT3 突变,5 年生存率低于 30%^[16]。Molm-13 细胞来源于一例复发 AML 患者,携带 FLT3 突变,是 AML 领域使用最广泛的细胞系之一,也是研究 FLT3 信号异常激活机制的理想模型。该文模拟 IgD 高水平细胞微环境,发现 IgD 体外可增强 Molm-13 细胞活力、促进细胞增殖、增加细胞克隆团数,同时抑制 Molm-13 细胞的凋亡,由此可知 IgD 可促进 Molm-13 细胞的恶性增殖,导致 AML 的发生和发展。为了探索 IgD 促进 Molm-13 细胞异常增殖的机制,课题组对 IgD 刺激后的 Molm-13 细胞进行差异基因分析,提示 IgD 刺激 Molm-13 细胞恶性增殖作用可能与 MAPK 信号通路有关。近年来随着研究的深入,AML 的治疗药物正在向靶向疗法和免疫疗法的方向发展^[17],新的靶点如 FLT3、IDH1/2、Bcl-2、CD33 等的药物治疗已取得一定临床进展,为患者提供了更多的治疗选择。IgD 在 AML 细胞中的异常表达情况提示 IgD 也许能作为治疗 AML 的新靶点,进一步改善 AML 的治疗效果和预后。

综上所述,IgD 可能在 AML 的发生发展中发挥重要作用,IgD 可通过 MAPK 信号通路调节 Molm-13 的活力、增殖和凋亡来促进 Molm-13 的异常活化,参与 AML 的病程。IgD 可能成为一种潜在的治疗靶点,该研究为 AML 的治疗开辟新的方向。

参考文献

- [1] DiNardo C D, Erba H P, Freeman S D, et al. Acute myeloid leukaemia[J]. Lancet, 2023, 401(10393): 2073–86. doi:10.1016/S0140-6736(23)00108-3.
- [2] Pierzchalski A, Zenclussen A C, Herberth G. OMIP-94: twenty-four-color (thirty-marker) panel for deep immunophenotyping of immune cells in human peripheral blood[J]. Cytometry A, 2023, 103(9): 695–702. doi:10.1002/cyto.a.24766.
- [3] Wu Y, Zhang A, Chen W, et al. IgD/FcεR is involved in T-cell acute lymphoblastic leukemia and regulated by IgD-Fc-Ig fusion protein[J]. Pharmacol Res, 2023, 189: 106686. doi:10.1016/j.phrs.2023.106686.
- [4] 黎劭潇, 陆枢枢, 张佳宁, 等. 肿瘤微环境中细胞外囊泡释放对肿瘤免疫的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(8): 1302–6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.002.
- [4] Li J X, Lu S Y, Zhang J N, et al. Effect of extracellular vesicle release on tumor immunity in tumor microenvironment[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(8): 1302–6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.002.
- [5] Kayser S, Levis M J. The clinical impact of the molecular landscape of acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2023, 108(2): 308–20. doi:10.3324/haematol.2022.280801.
- [6] Hu X X, Zhang A J, Pan W W, et al. An IgD-Fc-Ig fusion protein restrains the activation of T and B cells by inhibiting IgD-Ig-DR-Lck signaling in rheumatoid arthritis[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(2): 387–400. doi:10.1038/s41401-021-00665-w.
- [7] Zhang J, Hu X, Dong X, et al. Regulation of T cell activities in rheumatoid arthritis by the novel fusion protein IgD-fc-ig[J]. Front Immunol, 2020, 11: 755. doi:10.3389/fimmu.2020.00755.
- [8] 胡晓曦, 张爱君, 张静, 等. 类风湿关节炎中 IgD 通过 T 细胞刺激 B 细胞活化[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(4): 572–8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.017.
- [8] Hu X X, Zhang A J, Zhang J, et al. IgD activates B cell function through T cell in RA patients[J]. Acta Univ Med Anhui, 2020, 55(4): 572–8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.04.017.
- [9] Liang P, Huang Q, Xu Y, et al. High serum immunoglobulin D levels in systemic lupus erythematosus: more to be found? [J]. Clin Rheumatol, 2023, 42(4): 1069–76. doi:10.1007/s10067-022-06457-9.
- [10] Chen K, Hao Y, Guzmán M, et al. Antibody-mediated regulation of basophils: emerging views and clinical implications[J]. Trends Immunol, 2023, 44(6): 408–23. doi:10.1016/j.it.2023.04.003.
- [11] Xu Y, Zhou H, Post G, et al. Rad52 mediates class-switch DNA recombination to IgD[J]. Nat Commun, 2022, 13: 980. doi:10.1038/s41467-022-28576-2.
- [12] Itoh N, Ohshima Y. The dual aspects of IgD in the development of tolerance and the pathogenesis of allergic diseases[J]. Allergol Int, 2023, 72(2): 227–33. doi:10.1016/j.alit.2022.09.004.
- [13] Nguyen T G. Harnessing Newton's third-law paradigm to treat autoimmune diseases and chronic inflammations[J]. Inflamm Res, 2020, 69(9): 813–24. doi:10.1007/s00011-020-01374-6.
- [14] Agbuduwe C, Iqbal G, Cairns D, et al. Clinical characteristics and outcomes of IgD myeloma: experience across UK national trials [J]. Blood Adv, 2022, 6(17): 5113–23. doi:10.1182/blood-advances.2022007608.
- [15] Egan P A, O'Connor S J M, Ian Deighan W, et al. IgD multiple myeloma: biology, diagnosis, and treatment[J]. Leuk Lymphoma, 2022, 63(14): 3433–7. doi:10.1080/10428194.2022.2126280.
- [16] Abdel-Aziz A K, Dokla E M E, Saadeldin M K. FLT3 inhibitors and novel therapeutic strategies to reverse AML resistance: an updated comprehensive review[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2023, 191: 104139. doi:10.1016/j.critrevonc.2023.104139.
- [17] Freeman R, Shahid S, Khan A G, et al. Developing a membrane-proximal CD33-targeting CAR T cell[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(5): e009013. doi:10.1136/jitc-2024-009013.

(下转第 1534 页)

of antibiotic use (≥ 1 week *vs* < 1 week, *OR*: 5.31, 95% *CI*: 3.19–8.84), 25% tidal volume expiratory flow rate (TEF25%) (*OR*: 0.97, 95% *CI*: 0.95–0.99), pulmonary hypertension (*OR*: 12.06, 95% *CI*: 6.44–22.58), neonatal pneumonia (*OR*: 4.79, 95% *CI*: 2.83–8.10), and frequency of respiratory infections in the first six months (≥ 3 times *vs* < 3 times, *OR*: 5.18, 95% *CI*: 3.10–8.67) ($P < 0.05$). The areas under the ROC curve (AUC) for the training and validation sets were 0.889 (95% *CI*: 0.844–0.934) and 0.959 (95% *CI*: 0.923–0.995), respectively. The calibration curve showed good agreement with the ideal curve, and decision curve analysis demonstrated high net benefit for predicting wheezing. **Conclusion** The nomogram model based on independent risk factors for wheezing in preterm infants provides a high level of accuracy and may serve as a useful reference for clinical practice.

Key words preterm infants; wheezing; pulmonary function; risk factors; nomogram; predictive model

Fund programs Key Research and Development Program of Anhui Province (No. 2022e07020042); Discipline Construction Project of Anhui Medical University (No. 9101128801)

Corresponding authors Wang Qingtong, E-mail: hfwqt727@163.com; Cheng Yan, E-mail: chengyan1971@163.com

(上接第 1519 页)

The effects of IgD on the proliferation and apoptosis of acute myeloid leukemia cells Molm-13

Liu Danyan¹, Zhang Xin¹, Chen Mengqin¹, Ling Xi¹, Dong Manling¹,

Wu Tiantian¹, Wang Yueye¹, Li Tao², Wei Wei¹, Wu Yujing¹

(¹*Institute of Clinical Pharmacology Anhui Medical University, Key laboratory of Anti-inflammatory and Immune Drugs, Ministry of Education, Hefei 230032;* ²*Dept of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022*)

Abstract **Objective** To investigate the role and related mechanisms of IgD on the viability, proliferation, apoptosis, and other functions of Molm-13 cells. **Methods** Peripheral blood serum was collected from AML patients and healthy controls. The sIgD levels were quantified by ELISA. For *in vitro* studies, Molm-13 cells were treated with varying concentrations of IgD. Cell viability and proliferation were assessed *via* CCK-8 assays, CFSE staining, and colony formation assays. Apoptosis rates were determined using an Annexin V/PI apoptosis detection kit. Preliminary exploration of the mechanisms related to IgD-induced proliferation of Molm-13 were analyzed through differential gene analysis. **Results** Compared with healthy controls, the levels of sIgD in AML patients were significantly elevated ($P < 0.001$). IgD treatment dose-dependently increased Molm-13 cell viability and proliferation ($P < 0.05$), inhibited apoptosis rates ($P < 0.001$). **Conclusion** IgD promotes the viability and proliferation of Molm-13 cells, and reduces apoptosis.

Key words acute myeloid leukemia; IgD; Molm-13; proliferation; apoptosis

Fund programs National Natural Science Foundation of China (Nos. 81603121, 81973332); Natural Science Foundation of Anhui Province (No. 2308085MH311); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH050666)

Corresponding author Wu Yujing, E-mail: wyj@ahmu.edu.cn