

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 230032)

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 AML 患者外周血血清中 IgD 的表达显著高于健康对照者, 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 R969.2

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, 所有类别的免疫球蛋白都在骨髓细胞中表达, 且患者血清 Ig 水平升高与不良预后相关^[2]。其中, 免疫球蛋白 D (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: 国家自然科学基金青年项目 (编号: 81603121); 国家自然科学基金面上项目 (编号: 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. 2023zhyx-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 Biofrox 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 μL 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 μL 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 μL TMB 显色液,室温避光放置 10 min 后,每孔加入 100 μL 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)(A450 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 μL 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 μg/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℃、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 μL CCK-8 试剂,避光在 37℃ 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(%) = $(OD_{\text{实验孔}} - OD_{\text{空白孔}}) / (OD_{\text{对照孔}} - OD_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

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 μL/管,每管加入 500 μL 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℃,用时加入胎牛血清中混匀,配置成终浓度为 1 μmol/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℃、5% CO₂ 培养箱中培养 10~15 min。每管加入 500 μL PBS,轻弹混匀,2 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,每管加入 500 μL 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 μg/mL)分别添加至各组中,随后将培养板置于 37℃、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 μL 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 μL 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℃,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 × 培养基混合,铺在 12 孔板中作为下层胶,1 mL/孔。37℃ 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 μg/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, 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。

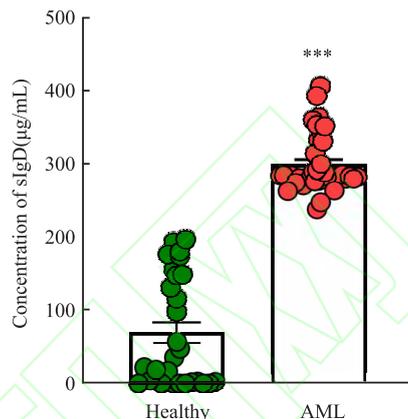


图 1 AML 患者与健康对照者血清中 sIgD 水平

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

WBC: white blood cells; RBC: red blood cells; PLT: platelets; 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 可明显促进 Molm-13 细胞增殖 ($P < 0.05$), 见图 4。

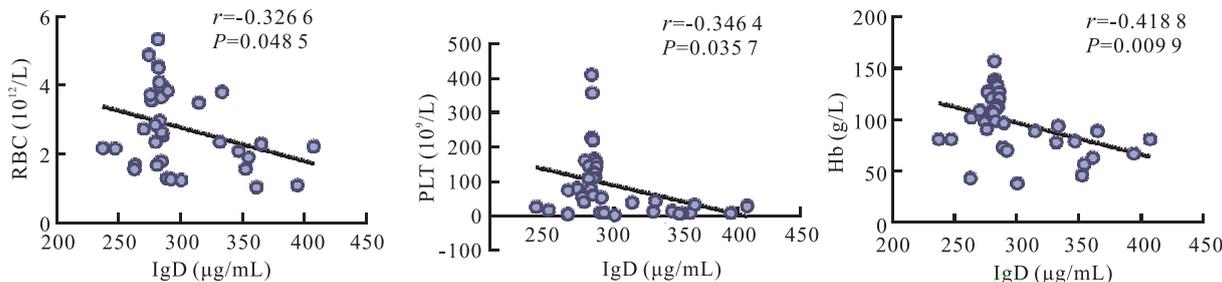


图2 AML患者中sIgD水平与常规实验室指标的相关性

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

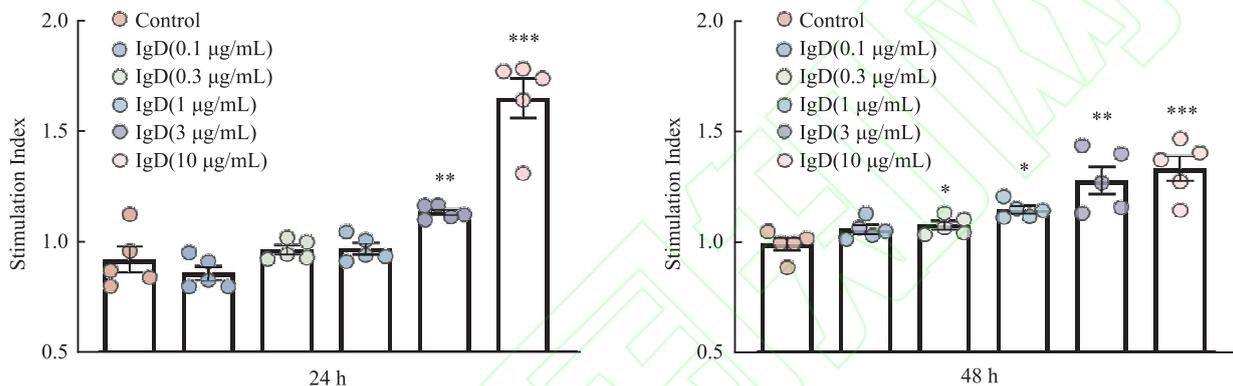


图3 IgD对Molm-13细胞活力的影响

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 µg/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 µg/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 µg/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 µg/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 µg/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

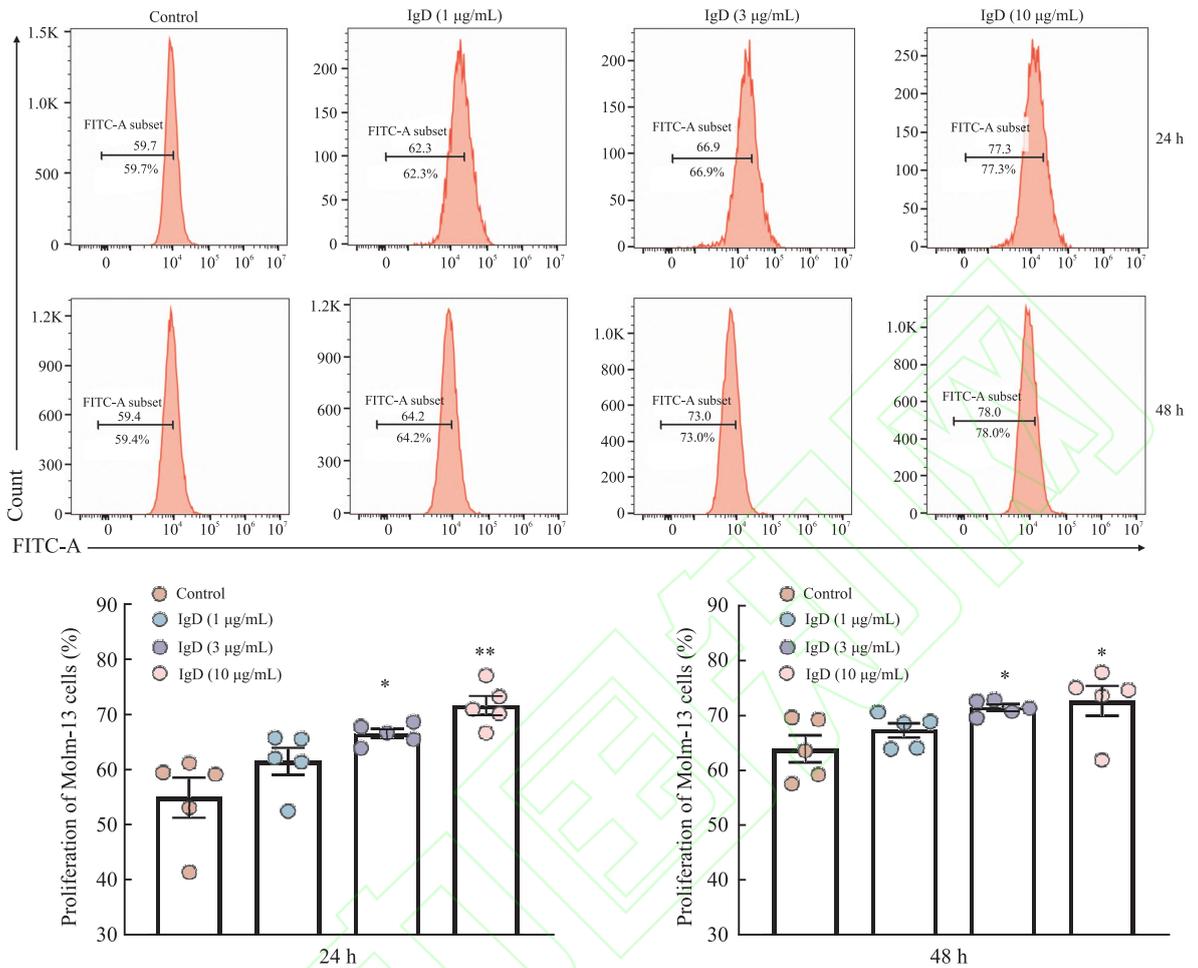


图4 IgD对Molm-13细胞增殖的影响

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

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

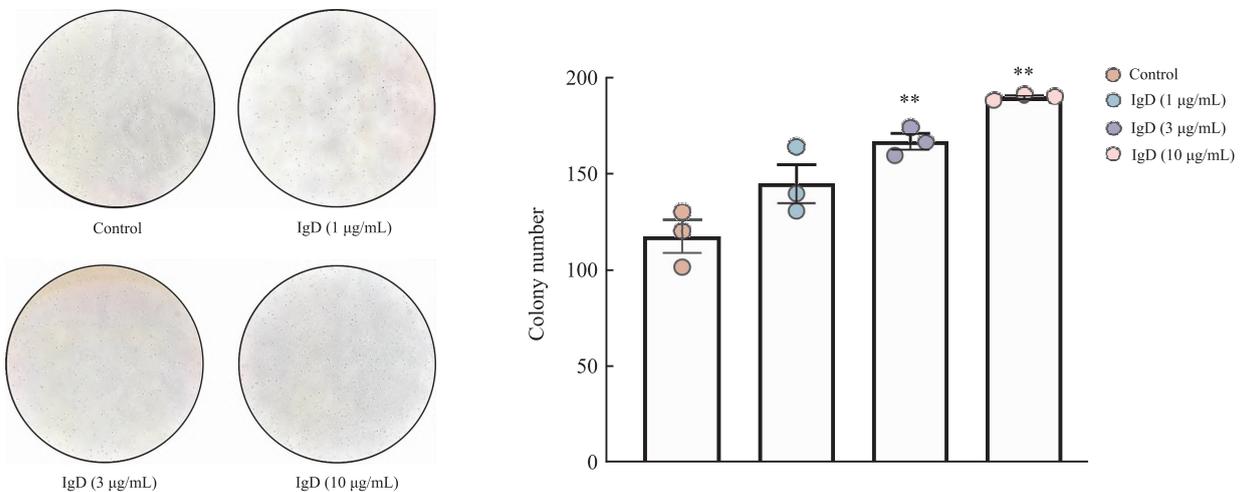


图5 IgD对Molm-13细胞集落形成的影响

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

** $P < 0.01$ vs Control group.

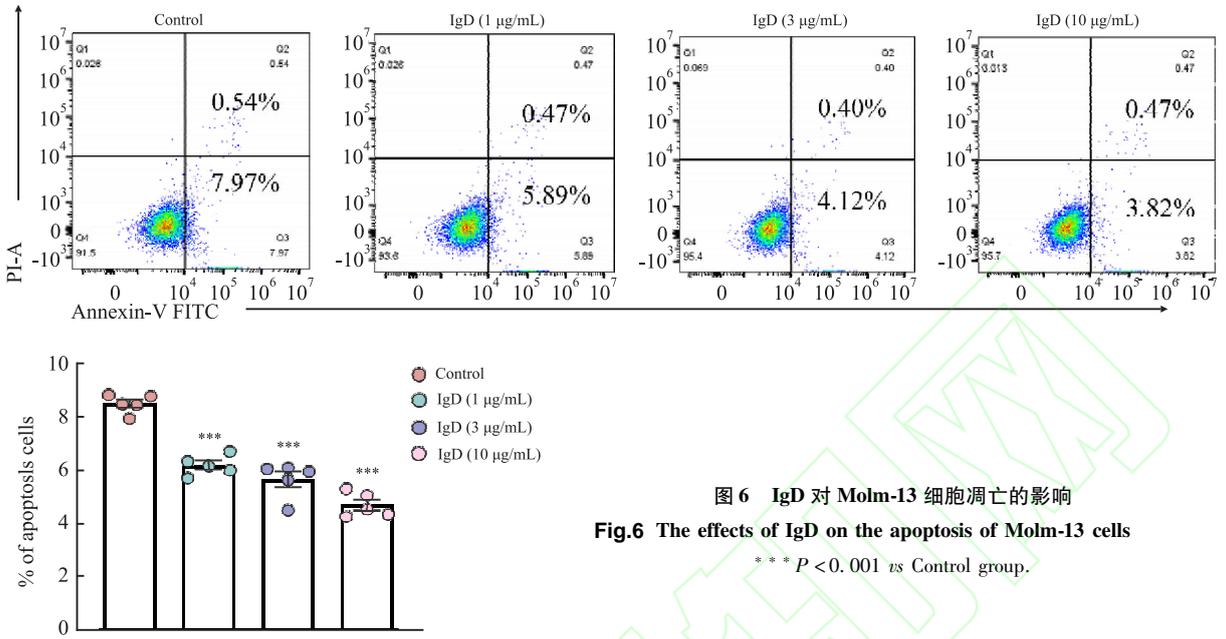


图 6 IgD 对 Molm-13 细胞凋亡的影响
Fig.6 The effects of IgD on the apoptosis of Molm-13 cells

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

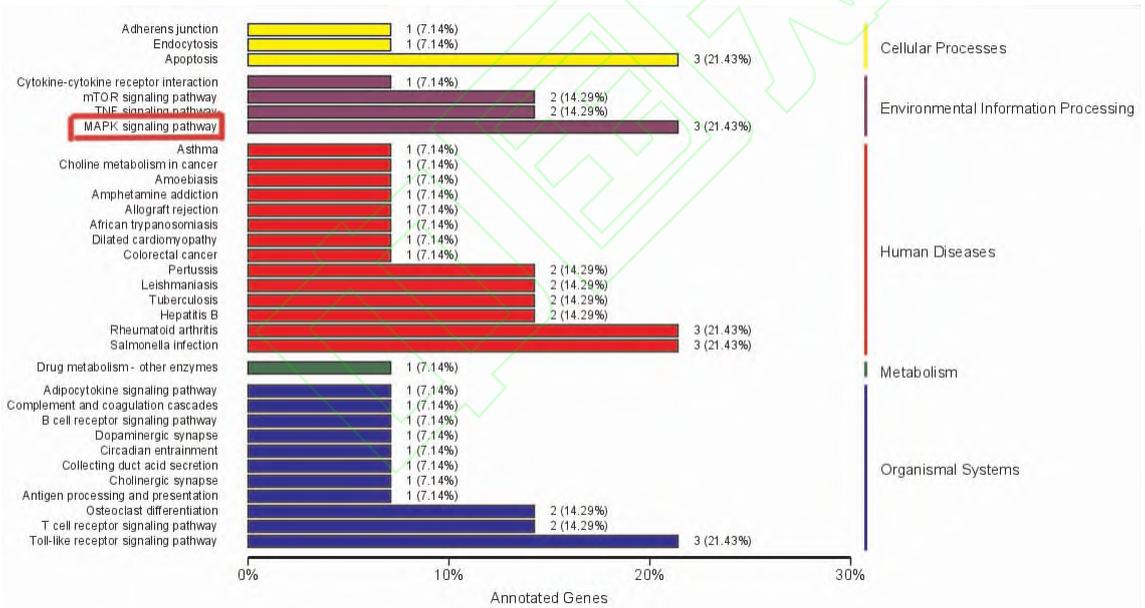


图 7 KEGG 信号通路功能注释分析图

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,明确了 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,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/Fc δ R 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/bloodadvances.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.

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

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

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** The expression of IgD in the peripheral blood serum of AML patients is significantly higher than that of healthy controls. 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