

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.04.033

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.04.033>

## 流式细胞术在噬血细胞综合征诊断中的应用进展

杨雨宇, 杨金荣 综述 曾云, 武坤 审校

(昆明医科大学第一附属医院血液科, 云南省血液病研究中心, 昆明 650032)

**[摘要]** 噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(Hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH)是一种以免疫系统过度激活, 导致炎性细胞因子分泌过多为特征的综合征。患者通常表现为高热、细胞减少、高铁蛋白血症和肝脾肿大。其疾病过程从轻度到致命的多器官衰竭不等, 该病进展迅速, 且容易误诊, 病死率高。对该疾病的早期认识和及时诊治有助于预防致命的后果。现行的HLH诊治中国专家共识中, 对于最后2个标准[即sIL-2受体和自然杀伤(natural killer, NK)细胞活性]的测定, 流式细胞术发挥着重要作用。近年来, 利用流式细胞术检测潜在生物标志物为HLH的诊断开辟了新的途径。本综述将围绕流式细胞术在其中的应用展开对该疾病的一些思考。

**[关键词]** 噬血细胞性淋巴组织细胞增多症; 流式细胞术; 可溶性白细胞介素-2受体; 自然杀伤细胞活性; 生物标志物

## Advances in the application of flow cytometry in the diagnosis of hemophagocytic syndrome

YANG Yuyu, YANG Jinrong, ZENG Yun, WU Kun

(Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University; Yunnan Blood Disease Research Center, Kunming 650032, China)

**Abstract** Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a syndrome characterized by excessive secretion of inflammatory cytokines due to excessive activation of the immune system. Patients usually present hyperpyrexia, cell loss, methemoglobinemia and hepatosplenomegaly. The course of the disease ranges from mild to fatal multiple organ failure. With high mortality, the disease progresses rapidly and is easily misdiagnosed. Early recognition and timely diagnosis and treatment of the disease are helpful to prevent fatal consequences. In the current consensus of Chinese experts on HLH diagnosis and treatment, flow cytometry plays an important role in the determination of the last two criteria [sIL-2 receptor and natural killer (NK) cell activity]. In recent years, the detection of potential biomarkers by flow cytometry has opened up a new way for the diagnosis of HLH. This review will focus on the application of flow cytometry to the disease.

**Keywords** hemophagocytic lymphohistiocytosis; flow cytometry; soluble interleukin-2 receptor; natural killer cell activity; biomarkers

收稿日期 (Date of reception): 2020-04-12

通信作者 (Corresponding author): 曾云, Email: zengyun\_fyy@sina.com.cn

基金项目 (Foundation item): 云南省教育厅科学研究基金 (2020J0172)。This work was supported by the Yunnan Provincial Department of Education Scientific Research Foundation, China (2020J0172).

噬血细胞性淋巴组织细胞增多症是一种危及生命的疾病,其特征是细胞毒性T淋巴细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞和巨噬细胞的无节制激活,导致多器官系统的高细胞因子血症和免疫损伤。它在儿童和成人中都可见,急性起病,Mehta等<sup>[1]</sup>报告了原发性HLH患者中发热(91%),肝脏肿大(90~95%),脾大(84%);相对少见的皮疹(43%)、淋巴结病(42%)和神经系统症状(47%)。

诊断标准组织细胞学会(FHL)于1991年发表了第一份HLH诊断指南,国际组织细胞学会于2004年更新和扩展了诊断标准,即HLH-2004<sup>[2]</sup>,符合以下两条标准中任何一条时可以诊断HLH。1)分子诊断符合HLH:在目前已知的HLH相关致病基因,如PRF1、UNC13D、STX11、STXPB2、Rab27a、LYST、SH2D1A、BIRC4、ITK、AP381、MAGT1、CD27等发现病理性突变。2)符合以下8条指标中的5条:①发热,体温 $>38.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,持续 $>7\text{ d}$ ;②脾大;③血细胞减少(累及外周血两系或三系),血红蛋白 $<90\text{ g/L}$ ,血小板 $<100\times 10^9/\text{L}$ ,中性粒细胞 $<1.0\times 10^9/\text{L}$ 且非骨髓造血功能减低所致;④高三酰甘油血症和/或低纤维蛋白原血症,三酰甘油 $>3\text{ mmol/L}$ 或高于同年龄的3个标准差,纤维蛋白原 $<1.5\text{ g/L}$ 或低于同年龄的3个标准差;⑤在骨髓、脾脏、肝脏或淋巴结里找到噬血细胞;⑥血清铁蛋白升高,铁蛋白 $>500\text{ }\mu\text{g/L}$ ;⑦NK细胞活性降低或缺如;⑧sIL-2R(可溶性白细胞介素-2受体)升高。

这些诊断标准突出了及早通过流式细胞术完善sIL-2R及NK细胞活性的检测,有助于临床诊断。此外,积极寻找更多有意义的生物标志物,以便更快速、准确地进行诊断及判断预后,也在当前HLH的诊疗中显得尤为重要。

## 1 关于流式细胞术的概述及其在诊断中的优势

流式细胞术是一种对溶液中单个细胞进行快速多参数分析的技术。免疫分型流式细胞术是最常用的免疫分型方法,该技术应用利用流式细胞术的独特能力,同时分析多种参数的免疫细胞混合群。

细胞因子检测的传统方法是采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)技术,但采用该技术进行临床标本检测,一般要收集一定量的标本后再统一进行处理,并不适合于某些临床急症快速诊断。而依赖于流

式细胞术的流式细胞微球阵列术(CBA)是对血清等各类体液中可溶性蛋白进行定量的快捷精确方法,相比ELISA而言,具有快速准确、检测范围广、所需样本量少等优点,因此CBA技术的开展更有利于HLH等各类临床急症的快速诊断。

NK细胞活性降低或缺失是HLH-2004诊断标准之一。<sup>51</sup>Cr释放试验<sup>[3-8]</sup>自1968年以来一直是评价NK细胞体外活性的一种方法,也被认为是标准方法。然而,它存在许多技术缺陷,如靶细胞自发击穿<sup>51</sup>Cr,可能影响分析灵敏度和放射性废物的产生由于放射性污染和高昂的成本,在临床应用中并不广泛。作为替代方法,虽然乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放试验<sup>[9-10]</sup>和MTT比色试验<sup>[10]</sup>易于处理且无辐射,但其使用受到数据不准确和不稳定性的限制。而流式细胞术开发了多种NK细胞毒性检测方法,多个荧光染料或抗体用于标记效应细胞或靶细胞,以便流式细胞术量化<sup>[11]</sup>。此外,增强型绿色荧光蛋白(EGFP)K562细胞已经被建立为“现成的”靶细胞<sup>[12-13]</sup>,这节省了细胞染色的时间。目前,多个研究正提出改良的流式细胞术方法,使得在常规实验室条件下可快速、简便地进行诊断。

## 2 流式细胞术检测 sIL-2R 对 HLH 的诊疗价值

可溶性白细胞介素-2受体(sIL-2R)是一种40~45 kD的截短蛋白,维持着与IL-2结合的能力,一旦T细胞被激活,它就从55 kD的IL-2R $\alpha$ 蛋白中分离出来。因此,它是T细胞激活的替代标志物。

sIL-2R被认为是HLH的重要诊断指标和疾病标志物。sIL-2R水平的显著升高似乎对HLH具有相对特异性,在非HLH的疾病中很少见到其增高。HLH-2004标准中截止值为2 400 U/mL,没有关于如何确定截止值以及与此截止值相关的敏感性和特异性的文献。成人HLH患者sIL-2受体水平高:临界值2 400 U/mL的患者占79%,临界值10 000 U/mL的患者占37%。

sIL-2R是反映HLH活动性及其对治疗是否有效的一个敏感指标。在治疗开始前sIL-2R的水平对疾病的反应更加可靠,同时能反映治疗的效果。一个由9名儿童HLH患者组成的病例系列描述了治疗前血清sIL-2R水平显著升高(23 600~75 200 U/mL),中期治疗后降低,达到临床缓解的患者几乎降到正常范围内<sup>[14]</sup>。最近对多个研究的成人HLH数据进行了回顾,报告79%

(95/120患者)的sIL-2R $\geq$ 2 400 U/mL, 38%(45/120)的sIL-2R $>$ 10 000 U/mL<sup>[15]</sup>。

在最初的HLH-2004文章中, sIL-2R截止值 $\geq$ 2 400 u/mL时的灵敏度为93%<sup>[16]</sup>。一项对27名年龄 $<$ 18岁的患者进行的研究表明, 在幼年特发性关节炎(Juvenile idiopathic arthritis, JIA)的背景下, sIL-2R $\geq$ 2 400 U/mL对诊断HLH的敏感性为89%<sup>[17]</sup>。对sIL-2R水平的连续监测除了作为治疗反应的标志外, 还可能具有治疗意义。治疗HLH时sIL-2R升高的特异性值得进一步研究, 因为HLH的许多特征因治疗干预而恶化(如细胞毒性治疗和引起细胞减少或肝炎的抗菌药物, 输血导致血液吞噬和高铁蛋白血症), sIL-2R可能对这些影响不太敏感, 在治疗过程中作为疾病活动性的标志物可能更有价值。

此外, 相对较高的sIL-2R/铁蛋白比值有助于淋巴瘤相关HLH(Lymphoid-associated hemophagocytic syndrome, LAHS)与良性HLH(HLH的非恶性病因)的鉴别<sup>[18]</sup>。在对110名日本患者的回顾中, Morrell等<sup>[19]</sup>比较LAHS( $n=57$ )和良性疾病相关HLH患者( $n=53$ ), 发现LAHS中的sIL-2R(U/mL)/铁蛋白(ng/mL)比值为8.56, 而良性HLH中为0.66。另有31例LAHS患者的血清sIL-2r(pg/mL)/铁蛋白(ng/mL)比值明显高于39例其他类型HPS患者<sup>[20]</sup>。一项研究<sup>[21]</sup>表明: 铁蛋白(ng/mL)/sIL-2R(U/mL)比值 $\geq$ 3(即sIL-2R/铁蛋白 $\leq$ 0.33)有助于区分婴儿因CID/SCID引起的HLH与其他形式的HLH。这再次强调了sIL-2R测定在HLH的诊断和治疗中的许多潜在应用。

### 3 流式细胞术检测NK细胞活性对HLH的诊疗价值

NK细胞是一种细胞毒性淋巴细胞, 在感染或转化的细胞上缺乏一类主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)或人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)分子的检测会触发NK细胞的细胞毒性。肿瘤和病毒感染细胞通常下调这些抗原以逃避T细胞介导的免疫, 从而成为NK细胞的主要靶点<sup>[21-23]</sup>。NK细胞功能的评估主要分为脱颗粒或细胞毒性试验。然而, 脱颗粒试验, 如流式细胞术检测脱颗粒相关标记CD107a, 仅指示NK细胞活化, 而不指示其最终功能, 即直接杀死靶细胞<sup>[22]</sup>。体外试验表明, 细胞毒功能较严重缺乏的患者往往发病较早, 临床病程较严重<sup>[23]</sup>。长期且不可恢复的NK细胞活性低的

HLH患者应高度怀疑为原发性HLH。

NK细胞活性低或缺失是HLH诊断的一个标准。NK细胞表面CD107a的脱颗粒与其功能息息相关, 故CD107a的脱颗粒检测可代表其功能, 当这一检测值低于5%时, 对HLH的诊断具有96%的敏感性和88%的特异性<sup>[24]</sup>。

此外, NK细胞毒性水平, 与NK细胞百分比和NK细胞计数相关。有研究报告了使用分离的NK细胞毒性结果<sup>[25]</sup>。然而, 使用外周血单个核细胞(PBMC)的NK细胞毒性也可以提供自然环境, 与使用分离NK细胞的试验相比, 类似于体内环境。在临床实验室环境下, 使用PBMC比使用NK细胞更方便, 能提供更多的信息<sup>[26]</sup>。先前的一项研究表明, NKA-IFN $\gamma$ 与血液系统恶性肿瘤患者的NK细胞计数无关<sup>[27]</sup>。我们可以得出结论: NKA-IFN $\gamma$ 水平的降低反映了NK细胞自身功能的下降, 而不是NK细胞计数的数值变化。Gao等<sup>[28]</sup>发现继发性HLH患者增加抑制性NKG2A受体的表达和激活性NKG2D表达的降低。NK细胞受体的变化及其与受体的相互作用可削弱NK细胞对致病性T细胞的杀伤能力。因此, 过度活化的T细胞继续激活巨噬细胞并导致细胞因子风暴<sup>[28]</sup>。

NK细胞毒性和NKA-IFN $\gamma$ 可能都有助于HLH的诊断。与NK细胞毒性相比, NKA-IFN $\gamma$ 对HLH的预测能力相似, 与NK细胞毒性有很高的一致性, 大群体NK细胞功能检测及NKA-IFN $\gamma$ 的预后价值尚需进一步验证研究。

### 4 流式细胞术检测HLH相关细胞因子谱对HLH的诊疗价值

HLH发病与免疫调节异常有密切关系。Th1和Th2细胞具有不同的细胞因子谱。Th1细胞分泌IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ , Th2细胞分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10和IL-13。当Th1细胞过度活化, Th1与Th2细胞的比例失衡, 大量的细胞因子如CSF、IL-10、IL-6、IFN- $\gamma$ , 它们可以进一步激活机体的免疫系统, 分泌更多的细胞因子, 所以有“细胞因子风暴”之说。

李彦格等<sup>[29]</sup>研究了32例HLH患儿血清中白介素IL-2、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 的水平, IL-2、IL-8和IFN- $\gamma$ 的水平均明显升高, 且IL-6和TNF- $\alpha$ 的水平均明显升高。徐晓军等<sup>[30]</sup>检测了50例HLH患儿血清的Th1/Th2细胞因子水平, 包括IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF和IFN- $\gamma$ 共6种。并以250例健康儿童作为健康对照及以235例脓毒

症患儿作为感染对照。50例患儿缓解后各细胞因子的水平较急性期明显下降。其中IFN- $\gamma$ 、IL-10和IL-6的急性期水平均明显高于缓解期和健康对照组。而脓毒症组IL-6水平明显高于HLH组, 但IFN- $\gamma$ 和IL-10却显著低于HLH患儿。据此作者认为IFN- $\gamma$ 和IL-10的明显升高以及IL-6的中度升高是HLH早期有特异性和敏感性的诊断细胞因子指标。王宇等<sup>[31]</sup>在其研究的HLH患者中急性期IFN- $\gamma$ 和IL-10水平均升高。并检测了临床治疗有效的患者在治疗2周后的上述细胞因子水平, 发现IFN- $\gamma$ 和IL-10水平在治疗后明显降低, 提示监测这些血清细胞因子可能有助于判断HLH的疾病活动性。胡迎等<sup>[32]</sup>发现在18例HLH患者的IL-6、TNF和IFN- $\gamma$ 水平明显升高, 得出其有诊断参考意义。

据此可知, IL-6、IL-10和IFN- $\gamma$ 具有较高的敏感性和特异性。尽管HLH的特点是炎症过度, 但它不同于细菌感染, 如败血症。因此, IL-6、IL-10和IFN- $\gamma$ 是排除脓毒症的有用指标。高IL-6水平和低IFN- $\gamma$ 浓度提示细菌感染<sup>[33]</sup>。

在大量文献中, 不难发现HLH患者呈现出一种特定的细胞因子特征, 即IFN- $\gamma$ 和IL-10水平高度升高, IL-6水平中度升高。我们可利用流式细胞术描述患者HLH的这种特异性细胞因子谱, 这将有助于HLH的早期诊断和与其他疾病的鉴别。

有研究<sup>[34]</sup>报道诊断轻重的关键点是细胞因子释放量的多少, 特别是IL-10、IFN- $\gamma$ 等, 因此, 通过流式细胞术快速测定IL-10、IFN- $\gamma$ 等细胞因子含量, 能迅速了解体内的CD8<sup>+</sup>T细胞的活化状态。HLH的严重程度与细胞因子释放的量呈正相关, 其特异性达100%, 可作为确诊HLH的直接指标<sup>[35]</sup>。应该如何选择细胞因子组合对提高HPS诊断的准确性有一定的帮助, 有必要对细胞因子组合进行深入的研究。

## 5 流式细胞术检测可能有意义的生物标志物对HLH的诊疗价值

目前, 需要更多的临床研究来研究更多的生物标志物来帮助HLH的诊断和治疗。可溶性CD163(sCD163)已被证明是HLH及相关疾病的潜在生物标志物<sup>[35]</sup>。sCD163是一种噬菌体特异性清道夫受体和半胱氨酸修饰血红蛋白, 在导致巨噬细胞显著活化的疾病中升高, 但也可导致恶性肿瘤、自身免疫和感染。然而, HLH的水平往往比其他疾病高得多, 该标志物可被分析以帮助诊断<sup>[36]</sup>。研究表明尽管成人HLH的可溶性CD163血清浓度的

增加与高炎症反应有关, 但它是一个表达在单核巨噬细胞表面的横跨膜血红蛋白和珠蛋白的清除剂<sup>[37]</sup>。一些学者认为它是HLH及相关疾病的潜在生物标志物。只是尚未定义其灵敏度、特异性和预测值。

此外, Takada等<sup>[38]</sup>在其研究的HLH患者中急性期IL-18水平均升高, IL-18可能是一个敏感的指标。Mazodier等<sup>[39]</sup>发现在20例HLH患者的IL-18水平明显升高, 但是IL-18的天然抑制物IL-18结合蛋白, 只是轻微升高, 导致活化游离IL-18的大量产生。在Mazodier等<sup>[38]</sup>报道的HLH患者中IL-18均升高, 且与NK细胞毒活性和数量呈负相关, 提示其可能引起NK细胞的凋亡。同时, Yasutomi等<sup>[40]</sup>的研究显示: HLH患儿IL-12水平明显高于单纯肺炎支原体感染组, 肺炎支原体感染所致HLH患儿中IL-12水平明显高于EBV相关的HLH。

越来越多的证据表明sCD163、IL-18、IL-12等多种细胞因子作为潜在的生物标志物, 对更多细胞因子的研究可能为HLH的诊断和鉴别诊断开辟新的途径。

## 6 流式细胞术和二代测序在HLH中的应用比较及未来发展趋势

根据病因, HLH可分为原发性HLH和继发性HLH, HLH-2004诊断指南中明确指出基因缺陷是确诊原发性HLH的金标准。为探讨基因突变在噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增多症(HLH)发病机制和鉴别诊断中的价值, 常采用第二代靶向测序技术对HLH患者进行了与血液相关基因和免疫缺陷基因的突变分析。

Mo等<sup>[41]</sup>对33例HLH患儿外周血标本进行检测, 共检测出317个与血液系统疾病相关的基因和562个与免疫缺陷相关的基因。33例患者共发现159个与血液系统疾病和免疫缺陷有关的基因突变, 其中12例患者有7个与HLH相关的基因突变(UNC13D、XIAP、LYST、STX11、ITK、PRF1和SRGN)。UNC13D出现在6例患者中, 频率最高。2例(6.1%, 2/33)诊断为原发性噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增多症(pHLH), 6例(18.2%, 6/33)诊断为原发性免疫缺陷病(PID)或遗传性血液病, 其余诊断为继发性噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增多症(sHLH)。有必要检测血液和免疫缺陷基因, 以排除儿童pHLH、PID或与HLH相关的遗传性血液病的可能性。

目前, 对于疑似HLH的患者可通过基因测

序完善目前已知的HLH缺陷基因筛查从而进行鉴别, 而较传统的Sanger测序, 二代测序技术对鉴定和拓展新的致病基因突变凸显绝对优势。但其存在所需花费时间较长, 以及相对昂贵的费用等缺点, 而HLH病情进展迅猛, 临床治疗时机不可延误, 因此正确筛选需要进行基因检测的患者对合理分配医疗资源、在提高诊断水平的同时节省医疗费用具有重要意义。而流式细胞术的时效性明显优于基因检测, 国际上已将其作为快速筛查原发性HLH的有效手段。但流式细胞术不能完全替代二代测序, 一旦免疫学指标提示HLH患者存在遗传基础, 分子鉴定需进一步进行。

HLH病情发展迅速, 而流式细胞术和二代测序的同时应用, 可提高原发性HLH诊断的时效性及准确性。我们相信在未来的临床实践中, 两者的结合应用势必成为诊疗HLH不可或缺的必要手段。

## 7 结语

目前的研究表明: 流式细胞仪具有简单、无创且经济的前景, 但在HLH诊疗的应用中存在不广泛性; sIL-2R在诊疗中潜在应用有待挖掘; NK细胞活性具有诊断指导意义的具体数值量化; 目前能够确诊HLH的标志物很少, 且存在特异性不高的问题, 因此寻找新的标志物对于HLH的疾病监测及提示预后并指导治疗方面具有重大意义。流式细胞术如何与二代测序密切结合等问题仍需进一步研究。因此, 提高对HLH的认识将有助于验证和发展新的、更具体的、更迅速获得的诊断标准, 寻找特异性强的诊断方法, 以进一步提高患者的检出率和生存率。

## 参考文献

- Mehta RS, Smith RE. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): a review of literature[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 740.
- Henter JI, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, 48: 124-131.
- Wiltshcke C, Tyl E, Speiser P, et al. Increased natural killer cell activity correlates with low or negative expression of the HER-2/neu oncogene in patients with breast cancer[J]. *Cancer*, 1994, 73(1): 135-139.
- Chiang SC, Theorell J, Entesarian M, et al. Comparison of primary human cytotoxic T-cell and natural killer cell responses reveal similar molecular requirements for lytic granule exocytosis but differences in cytokine production[J]. *Blood*, 2013, 121(8): 1345-1356.
- Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, et al. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder[J]. *Blood*, 2004, 104(3): 735-743.
- Henter JI, Horne A, Arico M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, 48(2): 124-131.
- Brunner K, Mael J, Cerottini JC, et al. Quantitative assay of the lytic action of immune lymphoid cells on 51Cr-labelled allogenic target cells in vitro; inhibition by isoantibody and by drugs[J]. *Immunology*, 1968, 14(2): 181-196.
- Sansoni P, Cossarizza A, Brianti V, et al. Lymphocyte subsets and natural killer cell activity in healthy old people and centenarians[J]. *Blood*, 1993, 82: 2767-2773.
- Wong WY, Wong H, Cheung SP, et al. Measuring natural killer cell cytotoxicity by flow cytometry[J]. *Pathology*, 2019, 51: 286-291.
- Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride[J]. *Toxicol Lett*, 2006, 160(2): 171-177.
- Chung HJ, Park CJ, Lim JH, et al. Establishment of a reference interval for natural killer cell activity through flow cytometry and its clinical application in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Lab Hematol*, 2010, 32(2): 239-247.
- Kantakamalaku W, Jaroenpool J, Pattanapanyasat K. A novel enhanced green fluorescent protein (EGFP)-K562 flow cytometric method for measuring natural killer (NK) cell cytotoxic activity[J]. *Immunol Methods*, 2003, 272(1/2): 189-197.
- Allegra S, Deleine C, Michael-Jubely R, et al. Implementation of the EGFP-K562 flow cytometric NK test: determination of NK cytotoxic activity in healthy elderly volunteers before and after feeding[J]. *Cytometry A*, 2006, 69(9): 992-998.
- Takahashi N, Chubachi A, Kume M, et al. A clinical analysis of 52 adult patients with hemophagocytic syndrome: the prognostic significance of the underlying diseases[J]. *Int J Hematol*, 2001, 74(2): 209-213.
- Karras A, Thervet E, Legendre C, et al. Hemophagocytic syndrome in renal transplant recipients: report of 17 cases and review of literature[J]. *Transplantation*, 2004, 77: 238-243.
- Henter JI, Aricó M, Egeler RM, et al. HLH-94: a treatment protocol for hemophagocytic lymphohistiocytosis. HLH study Group of the Histiocyte Society[J]. *Med Pediatr Oncol*, 1997, 28: 342-347.
- Henter JI, Carlson LA, Söder O, et al. Lipoprotein alterations and plasma lipoprotein lipase reduction in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Acta Paediatr Scand*, 1991, 80: 675-681.
- Tsuji T, Hirano T, Yamasaki H, et al. A high sIL-2R/ferritin ratio

- is a useful marker for the diagnosis of lymphoma-associated hemophagocytic syndrome[J]. *Ann. Hematol.* 2014, 93: 821-826.
19. Morrell DS, Pepping MA, Scott JP, et al. Cutaneous manifestations of hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Arch Dermatol*, 2002, 138: 1208-1212.
  20. Cohen LA, Gutierrez L, Weiss A, et al. Serum ferritin is derived primarily from macrophages through a nonclassical secretory pathway[J]. *Blood* 2010, 116: 1574-1584.
  21. Cote M, Menager MM, Burgess A, et al. Munc18-2 deficiency causes familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 and impairs cytotoxic granule exocytosis in patient NK cells[J]. *Clin Invest*, 2009, 119: 3765-3773.
  22. Mei HE, Leipold MD, Maecker HT. Platinum-conjugated antibodies for application in mass cytometry[J]. *Cytometry A*, 2016, 89(3): 292-300.
  23. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Blood*, 2011, 118(15): 4041-4052.
  24. Hayden A, Park S, Giustini D, et al. Hemophagocytic syndromes (HPSs) including hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in adults: a systematic scoping review[J]. *Blood Rev*, 2016, 30: 411-420.
  25. Aktas E, Kucuksezer UC, Bilgic S, et al. Relationship between CD107a expression and cytotoxic activity[J]. *Cell Immunol*, 2009, 254: 149-154.
  26. Park KH, Kim M, Han K, et al. Evaluation of NK cell function by flowcytometric measurement and impedance based assay using real-time cell electronic sensing system[J]. *BioMed Res*, 2013, 21: 17-26.
  27. Gyu-Dae An, Kyeong-Hee Kim, Hyeon-Ho Lim, et al. Comparison of Interferon-gamma Secretion by Stimulated NK Cells and T cells from Healthy Subjects[J]. *Lab Med*, 2018, 8: 15-18.
  28. Gao Z, Wang Y, Wang J, et al. The inhibitory receptors on NK cells and CTLs are upregulated in adult and adolescent patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Clin Immunol*, 2019, 202: 18-28.
  29. 李彦格, 刘炜, 毛彦娜, 等. 噬血细胞综合征患儿细胞因子变化及意义[J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(15): 1183-1184.  
LI Yange, LIU Wei, MAO Yanna, et al. Changes and significance of cytokines in children with hemophagocytic syndrome[J]. *Journal of Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2012, 27(15): 1183-1184.
  30. 徐晓军, 汤永民, 赵宁, 等. Th1 / Th2细胞因子谱在儿童噬血细胞综合征诊断中的意义[J]. *中华儿科杂志*, 2011, 49(9): 685-689.  
XU Xiaojun, TANG Yongmin, ZHAO Ning, et al. Significance of TH1/TH2 cytokine profile in diagnosis of hemophagocytic syndrome in children[J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2011, 49(9): 685-689.
  31. 王宇, 卫青, 李硕, 等. 炎性细胞因子检测在噬血细胞综合征诊断中的应用[J]. *临床内科杂志*, 2014, 31(9): 637-639.  
WANG Yu, WEI Qing, LI Shuo, et al. Application of inflammatory cytokine detection in diagnosis of hemophagocytic syndrome[J]. *Journal of Clinical Internal Medicine*, 2014, 31(9): 637-639.
  32. 胡迎, 王松咪, 张艾, 等. 多种细胞因子检测在儿童噬血细胞综合征诊断中的意义[J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(9): 2880-2883.  
HU Ying, WANG Songmi, ZHANG Ai, et al. Significance of detection of various cytokines in diagnosis of hemophagocytic syndrome in children[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2018, 15(9): 2880-2883.
  33. Xu XJ, Tang YM, Song H, et al. Diagnostic accuracy of a specific cytokine pattern in hemophagocytic lymphohistiocytosis in children[J]. *Pediatr*, 2016, 160(6): 984-990.
  34. Imashuku S, Hibi S, Sako M, et al. Soluble interleukin-2 receptor: a useful prognostic factor for patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Blood*, 1995, 86: 4706-4707.
  35. Schaer DJ, Schleiffenbaum B, Kurrer M, et al. Soluble hemoglobin-haptoglobin scavenger receptor CD163 as a lineage-specific marker in the reactive hemophagocytic syndrome[J]. *Eur J Haematol*, 2005, 74(1): 6-10.
  36. Campo M, Berliner N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults[J]. *Hematol Oncol Clin N Am*, 2015, 29: 915-925.
  37. Otrrock ZK, Eby CS. nical characteristics, prognostic factors, and outcomes of adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Am J Hematol*, 2015, 90: 220-224.
  38. Takada H, Nomura A, Ohga S, et al. Interleukin-18 in hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Ieuk Lymphoma*, 2001, 42(1/2): 21-28.
  39. Mazodier K, Marin V, Novick D, et al. Severe imbalance of IL-18, 18BP in patients with secondary hemophagocytic syndrome[J]. *Blood*, 2005, 106(10): 3483-3489.
  40. Yasutomi M, Okazaki S, Hata I, et al. Cytokine profiles in Mycoplasma pneumoniae infection-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2016, 49(5): 813-816.
  41. Mo W, Wei W, Sun Y, et al. Application of blood and immunodeficiency gene detection in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis patients[J]. *Exp Hematol*, 2019, 78: 62-69.

本文引用: 杨雨宇, 杨金荣, 曾云, 武坤. 流式细胞术在噬血细胞综合征诊断中的应用进展[J]. *临床与病理杂志*, 2021, 41(4): 942-947. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.04.033

**Cite this article as:** YANG Yuyu, YANG Jinrong, ZENG Yun, WU Kun. Advances in the application of flow cytometry in the diagnosis of hemophagocytic syndrome[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(4): 942-947. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.04.033