

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 19. 011

多种细胞因子检测在儿童噬血细胞综合征诊断中的意义

胡 迎,王松咪,张 艾,胡 群,刘爱国,张柳清,刘双又

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科,武汉 430030)

摘 要:目的 检测噬血细胞综合征患儿多种细胞因子水平,观察和比较它们在 HLH 诊断中的意义。方法 采用酶联免疫吸附试验检测 18 例 HLH 患儿、20 例对照组儿童及 7 例一般感染患儿血清中 8 种细胞因子[干扰素(IFN)- γ 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6、IL-10、IL-12、可溶性 IL-2 受体 β (IL-2R- β)、可溶性 IL-2 受体 α (sCD25)和 sCD163],分析它们在 HLH 中的表达水平,以及与诊断的相关性。**结果** 与对照组、非 HLH 感染组相比,HLH 组中各细胞因子水平明显升高,3 组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。IL-12、sCD25 和 sCD163 3 种细胞因子受试者工作特征(ROC)曲线下面积(AUC)均在 0.9 以上,诊断 HLH 的准确性高,尤其是 sCD163 和 sCD25,AUC 高达 0.95。采用 Pearson 相关分析 sCD163 与 sCD25 的相关程度,二者呈高度正相关($r=0.970,P<0.05$)。IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 和 IL-2R- β 4 种细胞因子 AUC 在 0.7~0.9,IL-10 的 AUC 小于 0.7。**结论** HLH 患儿多种细胞因子水平高表达是导致一系列临床表现的重要因素。sCD163 与 sCD25 有同等意义,是诊断 HLH 特异又敏感的标记。细胞因子 IL-12 的诊断价值亦高。此外,IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 和 IL-2R- β 有诊断参考意义;而 IL-10 的准确性较差,不宜作为独立的诊断指标。

关键词:噬血细胞综合征; 干扰素- γ ; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 白细胞介素-10
中图法分类号:R725.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2018)19-2880-04

Significance of multiple cytokines detection in diagnosis of children with hemophagocytic lymphohistiocytosis
HU Ying, WANG Songmi, ZHANG Ai, HU Qun, LIU Aiguo, ZHANG Liuqing, LIU Shuangyou
(Department of Pediatrics, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China)

Abstract: Objective To detect the expression of multiple cytokines in children with hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH), and to observe and compare their significance in HLH diagnosis. **Methods** The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect the levels of 8 serum cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12, IL-2R- β , sCD25 and sCD163) in 18 children cases of HLH, 20 control children and 7 children patients with general infection. Their expression levels in HLH and correlation with the diagnosis were analyzed. **Results** Compared with the control group and non-HLH infection group, the level of each cytokine was significantly increased, the difference among 3 groups was statistically significant ($P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of IL-12, sCD25 and sCD163 was over 0.9 and had a high diagnostic accuracy for diagnosing HLH; especially sCD163 and sCD25, AUC was up to 0.95. The Pearson correlation analysis was adopt to compare the relation of sCD163 and sCD25, both showed highly positive correlation ($r=0.970,P<0.05$). AUC of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and IL-2R- β was 0.7-0.9, AUC of IL-10 was <0.7 . **Conclusion** The children patients with HLH have high levels of multiple cytokines, which is the important factor leading to a series of clinical manifestations. sCD163 and sCD25 have the equal significance and are the specific and sensitive markers for diagnosing HLH. IL-12 has a high diagnostic value. Furthermore, IFN- γ , TNF- α , IL-6 and IL-2R- β have the diagnostic reference significance; IL-10 has poor accuracy for diagnosing HLH and is unsuitable to serve as the independent diagnostic indicator.

Key words: hemophagocytic lymphohistiocytosis; IFN- γ ; TNF- α ; IL-6; IL-10

噬血细胞综合征又称噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH),是一组因遗传性或获得性免疫缺陷所致的以全身炎症反应及细胞炎症因子风暴为特征的疾病^[1]。多种细胞因子参与了 HLH 的致病过程,

文献[2]报道证实干扰素 (IFN)- γ 、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白细胞介素 (IL)-6、IL-18 等细胞因子与 HLH 的发病密切相关,但鲜有文献同时检测多种细胞因子并评估它们对 HLH 诊断的准确性。为了解多种细胞因子对 HLH 的诊断意义,本研究观察了 8 种细胞因子在 HLH 患儿中的表达水平,并分析了它们对 HLH 的诊断价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 7 月至 2015 年 10 月本科收治的资料完整的 HLH 患儿 18 例,其中男 10 例 (55.56%),女 8 例 (44.44%),年龄 1 岁 2 个月至 10 岁 5 个月,中位年龄 4 岁 9 个月,均符合 HLH-2004 诊断标准。入选的 18 例患儿病因均为继发性,其中 EB 病毒 (EBV) 相关感染 15 例 (83.33%),其他感染 2 例 (11.11%),肿瘤 1 例 (5.54%),为非霍奇金淋巴瘤;5 例患儿行 HLH 基因检测均为阴性。7 例同期的一般感染患儿纳入非 HLH 感染组,男 2 例,女 5 例,中位年龄 5 岁 2 个月。同年龄的健康体检儿童 20 例纳入对照组。

1.2 方法 采用酶联免疫吸附试验检测血清中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、IL-10、IL-12、活性表达的可溶性 IL-2

受体 β (IL-2R- β)、可溶性 IL-2 受体 α (sCD25)、sCD163 共 8 种细胞因子的水平。所有患儿在治疗前留取标本,6 例患儿治疗 4 周后病情缓解留取标本复测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,连续性变量组间比较采用方差分析,两两比较采用 Bonferroni 法;血清 sCD163 和 sCD25 的相关性采用 Pearson 相关性分析;采用受试者工作特征 (ROC) 曲线评价细胞因子对 HLH 的诊断效能。所有检测均为双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组细胞因子水平比较 表 1 显示了 HLH 组、非 HLH 感染组及对照组儿童 8 种细胞因子平均水平的变化,与非 HLH 感染组、对照组相比,HLH 组患儿的各种细胞因子均值明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。根据是否有 EBV 感染,将 HLH 患儿进一步分组为 EBV 阳性组和 EBV 阴性组,进行两组之间比较,结果显示差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)	IL-12(ng/L)	IL-2R- β (U/L)	sCD25(U/L)	sCD163(ng/L)
HLH 组	18	2 351.0 $\pm$ 297.2	998.6 $\pm$ 398.0	40.5 $\pm$ 31.7	727.6 $\pm$ 225.4	174.0 $\pm$ 170.7	14 543.2 $\pm$ 7 851.7	218.3 $\pm$ 141.5	50.9 $\pm$ 28.8
对照组	20	427.1 $\pm$ 205.0	363.2 $\pm$ 214.1	16.8 $\pm$ 7.6	460.1 $\pm$ 259.6	42.6 $\pm$ 16.4	4 321.3 $\pm$ 2 002.4	54.6 $\pm$ 12.5	15.0 $\pm$ 3.4
非 HLH 感染组	7	1 144.5 $\pm$ 579.8	290.3 $\pm$ 153.4	20.4 $\pm$ 13.5	303.8 $\pm$ 97.0	60.6 $\pm$ 19.6	5 768.2 $\pm$ 1 622.0	116.5 $\pm$ 66.1	22.0 $\pm$ 8.2
<i>P</i>		0.000	0.001	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 EBV 阳性组与 EBV 阴性组细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	IL-10(ng/L)	IL-12(ng/L)	IL-2R- β (U/L)	sCD25(U/L)	sCD163(ng/L)
EBV 阳性组	13	2 478.4 $\pm$ 534.3	1 059.1 $\pm$ 934.4	44.0 $\pm$ 31.9	776.3 $\pm$ 537.9	187.1 $\pm$ 76.7	15 652.2 $\pm$ 8 605.7	223.9 $\pm$ 139.4	53.4 $\pm$ 28.9
EBV 阴性组	5	1 332.0 $\pm$ 739.8	514.8 $\pm$ 92.0	11.8 $\pm$ 0.8	338.9 $\pm$ 23.9	69.2 $\pm$ 16.1	5 122.9 $\pm$ 464.4	173.3 $\pm$ 149.1	30.9 $\pm$ 18.3
<i>P</i>		0.746	0.399	0.399	0.884	0.958	0.211	0.221	0.221

2.2 8 种细胞因子对 HLH 的诊断效能分析 虽然检测的 8 种细胞因子的平均水平在 HLH 患儿中明显升高,为进一步了解哪些细胞因子在 HLH 中更具有诊断价值,本研究以 18 例 HLH 患儿为研究对象,分别作了这 8 种细胞因子诊断 HLH 的 ROC 曲线,见图 1。IL-12、sCD25、sCD163 3 种细胞因子 ROC 曲线下面积 (AUC) 在 0.9 以上,诊断 HLH 的准确度高。其中 sCD163 的 AUC 为 0.956,95%CI 为 0.875~<1.000,选取灵敏度及特异度之和的最大值作为判断 HLH 的切值,当切值为 21.75 ng/L 时,诊断 HLH 的灵敏度为 94.4%,特异度为 99.5%。sCD25 的

AUC 为 0.947,95%CI 为 0.846~<1.000,当切值为 74.68 U/L 时,诊断 HLH 的灵敏度为 94.4%,特异度为 100.0%。IL-12 的 AUC 为 0.908,95%CI 为 0.811~<1.000,当切值为 67.08 ng/L,诊断 HLH 的灵敏度为 77.8%,特异度为 100.0%。

IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 和 IL-2R- β 4 种细胞因子的 AUC 在 0.7~0.9,用于诊断 HLH 具有一定的准确性。其中 IFN- γ 的 AUC 为 0.853,95%CI 为 0.731~0.975;IL-2R- β 的 AUC 为 0.822,95%CI 为 0.687~0.957;TNF- α 的 AUC 为 0.797,95%CI 为 0.652~0.942;IL-6 的 AUC 为 0.775,95%CI 为 0.484~

0.838。IL-10 的 AUC 小于 0.7, 诊断 HLH 准确度较差。

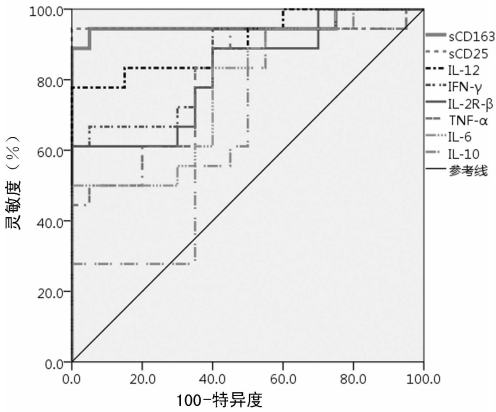


图 1 HLH 患儿各种细胞因子的 ROC 曲线

2.3 sCD163 水平与 sCD25 的相关程度 Pearson 相关性分析显示, 血清 sCD163 水平和 sCD25 呈线性正相关($r=0.970, P=0.000$)。见图 2。

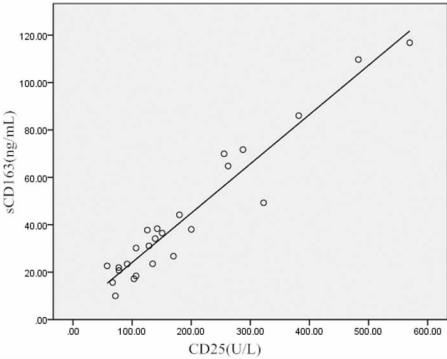


图 2 HLH 患儿血清 sCD25 水平与 sCD163 的相关性

2.4 治疗前后细胞因子水平比较 6 例患儿在治疗后 4~8 周留取标本, 再次复测血清中细胞因子水平, 结果显示所有细胞因子均有不同程度下降, 其中以 sCD25、sCD163 下降幅度最大, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

HLH 是由淋巴细胞和组织细胞非恶性增生, 并分泌促炎因子导致的炎症反应综合征, 严重时常导致死亡, 分为遗传性和继发性^[3-5], 遗传性 HLH 多见于儿童, 发病年龄多在 1 岁以内, 继发性 HLH 有多种诱因, 如感染、肿瘤性疾病、自身免疫性疾病等, 其中以 EBV 感染多见。本文所报道的 18 例 HLH 患儿, EBV 感染为主要病因, 15 例患儿均为 EBV 感染相关, 这与国内外关于儿童获得性 HLH 的病因报道相符^[6-8]。

目前认为, 导致 HLH 的主要病理生理过程为淋巴细胞和组织细胞过度增殖活化, 大量释放多种细胞因子如 IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12, IL-18 等, 该过程被称为细胞因子风暴, 从而引发过度炎症反应

及多脏器损伤^[9-10]。目前有关细胞因子的研究一般同时选取 2~3 种或 3~5 种, 本文同时选取了 8 种不同的细胞因子, 旨在了解各种细胞因子对疾病的诊断价值, 为临床提供诊断依据。本研究结果显示, HLH 患儿中这 8 种细胞因子水平的表达明显高于非 HLH 感染组及对照组($P<0.05$), 证实 HLH 患儿存在多种细胞因子的释放和高表达。进一步对各种因子进行诊断效能分析, 结果显示 sCD163、CD25、IL-12 3 种细胞因子水平的 AUC 在 0.9 以上, 诊断价值高, 宜作为 HLH 的诊断指标。尤其是 sCD163 和 sCD25, 其 AUC 高达 0.95, 是诊断 HLH 特异又灵敏的标记。

血清 sCD25 是淋巴细胞活化的标志之一, 早已成为 HLH 诊断标准的重要成员。CD163 目前已被作为反映单核巨噬细胞系统功能状态的临床实用指标之一, 而其可溶性形式 sCD163 是巨噬细胞活化的重要标志物, 在一些疾病(如急慢性感染、肿瘤、自身免疫性疾病、肝衰竭等)中作为标记物监测巨噬细胞活性。KAREN 等^[2]提出把血清中 sCD163 的升高作为 HLH 或者巨噬细胞活化综合征(MAS)的诊断指标之一。本文研究结果显示, sCD163 是诊断 HLH 既特异又灵敏的新指标, ROC 曲线分析提示当切值为 21.75 ng/L 时, 诊断 HLH 的灵敏度高达 94.4%, 特异度为 99.5%。采用 Pearson 相关分析 sCD163 水平与 sCD25 的相关程度, 血清 sCD163 水平和 sCD25 呈高度正相关($r=0.970, P=0.000$), 提示 sCD163 作为一项新的 HLH 诊断指标与 sCD25 有同等意义, 这与刘冬杰等^[4]的报道相符。国内外相关报道指出 sCD163 及 sCD25 水平随着治疗的进行明显下降^[3-4], 本文的 6 例 HLH 患儿正规治疗 4 周后复测 sCD163 及 sCD25 水平下降, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 可能与患儿例数偏少有关。

IL-12 是由 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、自然杀伤细胞(NK 细胞)等产生的细胞因子, 具有增强 IFN- γ 的作用。目前关于其在 HLH 中作用的报道很少, YASUTOMI 等^[11]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。本文结果与其类似, 显示 IL-12 在 HLH 组中的表达明显高于非 HLH 感染组和对照组, 其 AUC 为 0.908, 具有较高的诊断价值, 可作为 HLH 诊断的又一新的参考指标。

此外, IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 和 IL-2R- β 4 种细胞因子 AUC 为 0.7~0.9, 提示其诊断 HLH 具有一定的准确性, 有较高的参考意义。而 IL-10 的 AUC 小于 0.7, 诊断的准确性较差, 不宜作为独立的诊断指标。

HLH 临床表现形式多样, 与其他的感染性疾病

(如脓毒症)、自身免疫性疾病等相似,缺乏一定的特异性,疾病进展迅速、病死率高,早期识别对预后有很大的意义。综上所述,除 sCD25 外,sCD163 也是诊断 HLH 的灵敏及特异的指标,IL-12 亦有较高的诊断价值。

参考文献

[1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:254-256.

[2] KAREN P, ANNELEEN A, ELLEN B, et al. Cytokines in systemic juvenile idiopathic arthritis and haemophagocytic lymphohistiocytosis; tipping the balance between interleukin-18 and interferon- γ [J]. Rheumatology (Oxford), 2015, 54(8):1507-1517.

[3] BLEESING J, PRADA A, SIEGEL D M, et al. The diagnostic significance of soluble CD163 and soluble interleukin-2 receptor alpha-chain in macrophageactivation syndrome and untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(3):965-971.

[4] 刘冬杰,王颖超,朱桂英,等. 可溶性 CD163 和 CD25 在儿童噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增生症诊治中的意义[J]. 中华儿科杂志,2015,53(11):824-829.

[5] AL-HERZ W, BOUSFIHA A, CASANOVA J L, et al. Primary immunodeficiency diseases; an update on the

classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency[J]. Front Immunol, 2014, 5(1):162-180.

[6] HE M, JIA J, ZHANG J, et al. Pregnancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to NK/T cells lymphoma; a case report and literature review[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(47):e8628.

[7] MANISHA M, SNEHAL S, DESAI M. Current Updates on classification, diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis(HLH)[J]. Indian J Pediatr, 83(5):434-443.

[8] 徐晓军,汤永民. 噬血细胞综合征诊治研究进展[J]. 中华儿科杂志,2011,49(9):712-716.

[9] SHEILA W. Approach to hemophagocytic syndromes[J]. Hematol Am Soc Hematol Educ Program, 2011, 2011(6):178-183.

[10] MØLLER H J. Soluble CD163[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2012, 72(1):1-13.

[11] 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.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-05-25)

(上接第 2879 页)

[7] CAO P Y, ZHOU L, ZHANG J, et al. Comprehensive expression profiling of microRNAs in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Head Neck, 2013, 35(5):720-728.

[8] WANG Y, CHEN M T, TAO Z Z, et al. Identification of predictive biomarkers for early diagnosis of larynx carcinoma based on microRNA expression data[J]. Cancer Genet, 2013, 206(9/10):340-346.

[9] AYAZ L, GORUR A, YAROGLU H Y, et al. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with laryngeal squamous cell carcinoma; potential early detection markers for laryngeal squamous cell carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2013, 139(9):1499-1506.

[10] WEBER J A, BAXTER D H, ZHANG SHI-LE, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids[J]. Clin Chem, 2010, 56(11):1733-1741.

[11] WONG D T. Salivary diagnostics[J]. Oper Dent, 2012, 37(6):562-570.

[12] PARK J, ZHOU H, ELASHOFF D, et al. Salivary microRNA; discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer etection[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(17):

5473-5477.

[13] CAI E H, GAO Y X, WEI Z Z, et al. Serum miR-21 expression in human esophageal squamous cell carcinomas [J]. Asian Pacific J Cancer Prevent, 2012, 13(4):1563-1567.

[14] DENNY P, HAGEN F K, HARDT M, et al. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions[J]. J Proteome Res, 2008, 7(5):1994-2006.

[15] SCHWARZENBACH H, HOON D S, PANTEL K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(6):426-433.

[16] WILCZYNSKI M, DANIELSKA J, DZIENIECKA M, et al. The role of miRNA in endometrial cancer in the context of miRNA 205[J]. Ginekol Pol, 2015, 86(11):856-862.

[17] CHEN Z, TANG Z Y, HE Y, et al. miRNA-205 is a candidate tumor suppressor that targets ZEB2 in renal cell carcinoma[J]. Oncol Res Treat, 2014, 37(11):658-664.

(收稿日期:2018-01-22 修回日期:2018-05-21)