

• 基础实验研究论著 •

淋巴细胞参数在筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病中的应用^{*}徐卫益¹,胡海莹¹,汤冬琴^{2△}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院临床检验中心,浙江杭州 310003;

2. 空军杭州航空医学鉴定训练中心,浙江杭州 310007)

摘要:目的 探讨淋巴细胞参数在淋巴细胞增殖及反应性增生疾病筛查中的应用。方法 选取健康对照组 128 例、淋巴瘤患者 100 例、多发性骨髓瘤(MM)患者 35 例、淋巴细胞反应性增生(RL)患者 34 例、慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者 5 例。分别用 Sysmex XE-2100 血液分析仪进行外周血细胞分析,记录相应淋巴细胞参数值,并对其进行疾病组与对照组差异比较分析;以受试者操作特性曲线(ROC 曲线)评价各淋巴细胞参数在筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病患者中的作用。结果 高荧光淋巴细胞(HFL):对照组 0.008 ± 0.008 ,淋巴瘤组 0.016 ± 0.058 ,MM 组 0.019 ± 0.063 ,RL 组 0.040 ± 0.070 ,CLL 组 0.388 ± 0.158 ,RL 组和 CLL 组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);淋巴细胞百分率(LY%):对照组 $34.4\% \pm 5.9\%$,淋巴瘤组 $26.6\% \pm 13.1\%$,MM 组 $31.0\% \pm 13.1\%$,RL 组 $29.2\% \pm 15.4\%$,CLL 组 $44.5\% \pm 38.5\%$,淋巴瘤组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);淋巴细胞结构参数-X(LY-X):对照组 833.5 ± 22.7 ,淋巴瘤组 867.9 ± 28.5 ,MM 组 867.9 ± 26.6 ,RL 组 859.2 ± 27.8 ,CLL 组 894.0 ± 65.4 ,除 CLL 组外各组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);淋巴细胞结构参数-Y(LY-Y):对照组 659.6 ± 23.0 ,淋巴瘤组 669.4 ± 43.5 ,MM 组 665.9 ± 37.1 ,RL 组 665.9 ± 40.0 ,CLL 组 778.4 ± 152.1 ,淋巴瘤组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。LY-X 筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病患者 ROC 曲线 AUC=0.819,截断值(cutoff 值)为 842.5 时敏感度为 80.5%,特异度为 60.1%。结论 淋巴细胞参数,尤其是 LY-X 能敏感地反应淋巴细胞的形态变化,有助于筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病患者。

关键词:淋巴细胞参数; XE-2100 血液分析仪; 临床应用

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.002

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)23-3156-03

Application of lymphocyte parameters in screening lymphocyte proliferation and reactive hyperplasia disease

Xu Weiyi¹, Hu Haiying¹, Tang Dongqin²

(1. Clinical Laboratory Center, First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310003, China; 2. Center of Aviation Medicine Identification Training, Air Force, Hangzhou, Zhejiang 310007, China)

Abstract: Objective To investigate the application of lymphocyte parameters in screening the lymphocyte proliferation and reactive hyperplasia disease. **Methods** 128 cases as the healthy control, 100 cases of lymphoma, 35 cases of multiple myeloma(MM), 34 cases of lymphocytes reactive hyperplasia(RL) and 5 cases of chronic lymphocytic leukemia(CLL) were selected and performed the peripheral blood cells analysis by the Sysmex XE-2100 hematology analyzer. The relevant lymphocyte parameter values were recorded and the comparative analysis in the difference between the disease groups and the control group was performed. The role of each lymphocyte parameter in screening the lymphocyte proliferation and reactive hyperplasia diseases was evaluated by the receiver operating characteristic curve(ROC curve). **Results** The high fluorescence lymphocytes(HFL), in the control group was 0.008 ± 0.008 , in the lymphoma group was 0.016 ± 0.058 , in the MM group was 0.019 ± 0.063 , in the RL group was 0.040 ± 0.070 , and CLL group was 0.388 ± 0.158 . Compared with control group, the difference of RL and CLL group was statistically significant($P < 0.05$). The percentage of lymphocytes(LY%): the control group: $34.4\% \pm 5.9\%$, the lymphoma group: $26.6\% \pm 13.1\%$, the MM group: $31.0\% \pm 13.1\%$, the RL group: $29.2\% \pm 15.4\%$ and the CLL group: $44.5\% \pm 38.5\%$. The difference between the lymphoma group and the control group was statistically significant($P < 0.001$). The lymphocytes structural parameters X(LY-X), the control group: 833.5 ± 22.7 , the lymphoma group: 867.9 ± 28.5 , the MM group: 867.9 ± 26.6 , the RL group: 859.2 ± 27.8 and the CLL group: 894.0 ± 65.4 . Except for the CLL group, the differences between other groups and control group were statistically significant($P < 0.001$). The lymphocytes structural parameters Y(LY-Y), the control group: 659.6 ± 23.0 , the lymphoma group: 669.4 ± 43.5 , the MM group: 665.9 ± 37.1 , the RL group: 665.9 ± 40.0 and the CLL group: 778.4 ± 152.1 . Compared with the control group, the difference of the lymphoma group was statistically significant($P < 0.05$). AUC of the ROC curve in the patients with lymphocyte proliferation and reactive hyperplasia disease by LY-X screening was 0.819, with the sensitivity of 80.5% and the specificity of 60.1% when cutoff value was 842.5. **Conclusion** The lymphocyte parameters, especially LY-X can reveal the

* 基金项目:浙江省卫计委科技项目(2014KY8097)。 作者简介:徐卫益,男,主管检验师,主要从事临床基础检验与研究。 △ 通讯作者, E-mail:tangdongqin2006@163.com。

morphological changes of lymphocytes sensitively and contribute to screening the patients with lymphocyte proliferation and reactive hyperplasia disease.

Key words: lymphocyte parameters; Sysmex XE-2100 hematology analyzer; clinical application

诊断血液性疾病(如 CLL、淋巴瘤、MM 等)以及一些感染性疾病(如病毒、细菌、寄生虫感染等)往往需要进行一系列的检查,既耽误时间,又增加了不必要的费用和创伤。如今的血液分析仪不仅提供常规的血细胞分析参数,还拓展了一些研究性的参数:如白细胞体积、传导率、激光散射(VCS)技术、未成熟粒细胞计数、高荧光淋巴细胞(HFL)、中性粒细胞参数-X(NEUT-X)、淋巴细胞参数-X(LY-X)及淋巴细胞参数-Y(LY-Y)等。这些参数更能敏感反映细胞的结构、形态、大小和核酸含量等的变化,为临床疾病的诊断、筛查提供有价值的信息。目前,已有 NEUT-X 用于 MDS 疾病筛选,Backman Coulter VCS 参数用于急性白血病及其亚型判断,VCS 参数在筛选 CLL 和 MDS 中的应用,细胞群参数(CPD)联合流式细胞技术诊断淋巴细胞增生性疾病等研究报道^[1-4]。Sysmex XE-2100 血液分析仪通过前向散射光(FSC)、侧向散射光(SSC)、荧光强度(FL)将白细胞进行常规分类,同时将 HFL、LY-X、LY-Y 参数显示在研究信息栏,该类参数主要反映淋巴细胞体积、结构、核酸含量等的变化^[4-5]。通过研究上述参数在淋巴细胞疾病中的变化规律,为相关疾病的筛查、早期诊断、辅助治疗提供客观的依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料 健康对照组为来院体检者 128 例,男 64 例,女 64 例,中位年龄 44.5 岁(19~88 岁);淋巴瘤患者 100 例,男 54 例,女 46 例,中位年龄 54 岁(17~82 岁);多发性骨髓瘤(MM)患者 35 例,男 27 例,女 8 例,中位年龄 63 岁(44~84 岁);淋巴细胞反应性增生(RL)患者 34 例(其中沙门氏菌感染 3 例、变态反应性 3 例、细菌感染 8 例、病毒感染的 6 例、肿瘤 4 例、结核 4 例、其他 6 例),男 21 例,女 13 例,中位年龄 51 岁(16~83 岁);慢性淋巴细胞白血病(CLL)患者 5 例,男 3 例,女 2 例,中位年龄 61 岁(30~67 岁)。其中淋巴瘤、CLL、MM 患者经相应确诊手段(骨髓细胞形态学、免疫分型、病理检查等)确诊,反应性增生患者相应病原诊断明确。

1.2 仪器与试剂 日本 Sysmex 公司 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪及原装配套试剂,室内质控采用 e-check 质控品,仪器定期用配套校准物校准且质控均为在控。

1.3 方法 严格按照临床检验操作规程采集患者静脉血 2 mL,置乙二胺四乙酸(EDTA)-K₂ 抗凝管混匀。按照 Sysmex-2100 全自动血液分析仪操作规程,302 份 EDTA-K₂ 抗凝血采

集后在 2 h 内检测全血细胞计数,并记录淋巴细胞各项参数值,如:HFL、淋巴细胞百分率(LY%)、LY-X、LY-Y 等。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行统计分析。首先对各组 HFL、LY%、LY-X、LY-Y 参数检测数据进行正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组与健康对照组比较采用 *t* 检验,以 ROC 曲线评价淋巴细胞参数在筛选淋巴细胞增殖及反应性增生病中的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 淋巴细胞参数仪器检测的精密度

2.1.1 批内精密度测试结果 取新鲜抗凝血在室温下连续检测 10 次,计算 $\bar{x} \pm s$ 与 CV% 值,结果见表 1。

2.1.2 批间精密度测试结果 采用同期高、中、低 3 个水平室内质控品连续 20 天的观察值,计算 $\bar{x} \pm s$ 与 CV% 值,结果见表 2。

表 1 淋巴细胞参数的批内精密度实验结果

检测项目	\bar{x}			s			CV%		
	HFL(μL)	233	9.8	LY-X	962	10.4	LY-Y	868	11.4

表 2 淋巴细胞参数的批间精密度实验结果

检测项目	低值			中值			高值		
	\bar{x}	s	CV%	\bar{x}	s	CV%	\bar{x}	s	CV%
LY-X	946	23.6	2.5	940	16.0	1.7	948	13.3	1.4
LY-Y	521	11.4	2.2	470	11.6	2.5	423	13.4	3.2

2.2 不同疾病组淋巴细胞参数测定值与健康对照组比较 分别纪录淋巴瘤组、MM 组、RL 组、CLL 组及健康对照组的淋巴细胞参数值(HFL、LY%、LY-X、LY-Y),并进行统计学分析,结果显示,HFL:RL 组和 CLL 组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);LY%:淋巴瘤组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);LY-X:除 CLL 组外各组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$);LY-Y:淋巴瘤组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 各疾病组淋巴细胞参数测定值与健康对照组比较结果

项目	健康对照组($n=128$)	淋巴瘤组($n=100$)	MM 组($n=35$)	RL 组($n=34$)	CLL 组($n=5$)
HFL($\times 10^9/L$)	0.008±0.008	0.016±0.058	0.019±0.013	0.040±0.070 ^a	0.388±0.158 ^a
LY%	34.400±5.900	26.600±13.100 ^b	31.000±13.100	29.200±15.400	44.500±38.500
LY-X	833.500±22.700	867.900±28.500 ^b	867.900±26.600 ^b	859.200±27.800 ^b	894.000±65.400
LY-Y	659.600±23.000	669.400±43.500 ^a	665.900±37.1000	665.900±40.000	778.400±152.1000

^a: $P < 0.05$, ^b: $P < 0.001$, 与对照组比较。

2.3 淋巴细胞参数 LY-X、HFL、LY-Y、LY%筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病的临床应用价值 将 LY-X、HFL、LY-Y、LY%参数作敏感度和特异度分析,采用 SPSS 15.0 软件中受试者工作特征(ROC)曲线分析。曲线下面积分别为 0.819、0.564、0.554 及 0.290,见表 4,图 1。当 LY-X 筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病患者 ROC 曲线 AUC=0.819,截断值(cutoff 值)为 842.5 时敏感度为 80.5%,特异度为 60.1%。

表 4 各淋巴细胞参数在筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病患者 ROC 曲线分析结果

项目	cutoff 值	AUC	敏感度(%)	特异度(%)
LY-X	842.5	0.819	80.5	60.1
HFL	0.015	0.564	17.8	96.0
LY-Y	678.5	0.554	39.7	83.6
LY%	47.0	0.290	9.8	98.4

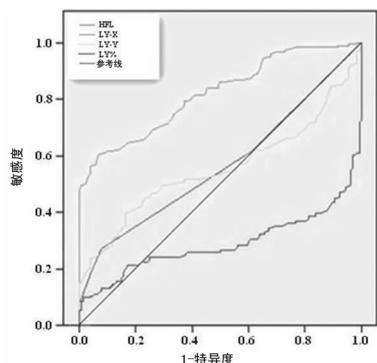


图 1 淋巴细胞参数筛查淋巴细胞增殖及反应性增生 ROC 曲线图

2.4 反应性增生时淋巴细胞形态学的变化 淋巴细胞增殖或反应性增生时可表现为外周血淋巴细胞体积、细胞质、细胞膜及细胞核的改变,一般会导致细胞体积增大;胞浆量增多,泡沫感,深染明显,颗粒增多;胞膜边缘有时可呈绒毛状;核偏大、染色质细腻、核形呈花瓣状等形态多样的改变,见图 2。

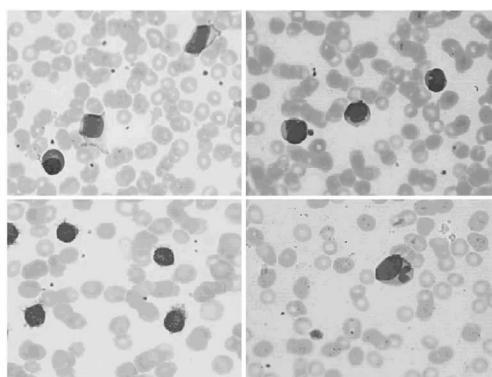


图 2 淋巴细胞在增殖或反应性增生时的多样性改变

3 讨 论

血液分析仪常规参数对细胞形态学改变提示作用较低,且有一定的局限性,尤其在淋巴瘤、多发性骨髓瘤及反应性增生类疾病检测中,往往表现为血细胞计数及分类结果无明显异常,容易引起形态学上的疏忽。此时,建立更敏感可靠的筛选

指标,指导进一步的相应检查,例如外周血血细胞形态学检查、骨髓细胞学检查、淋巴结病理检查、流式细胞术检查等,显得非常重要。

HFL 为高荧光强度的淋巴细胞,当淋巴细胞核含有较多的核酸成分(由于淋巴细胞增殖或活化)时能结合更多的荧光染料而导致细胞荧光强度增强,使 HFL 计数值增高。本次研究显示该参数在淋巴细胞反应性增生及 CLL 患者组与对照组比较差异有统计学意义,与 Linssen 等^[6]报道结果相符。LY% 和 LY-Y 参数在淋巴瘤组与对照组比较差异有统计学意义,并且 LY% 明显低于对照组,也充分说明淋巴瘤患者外周血淋巴细胞数量可正常甚至偏低,不容易触发血细胞分析仪复检规则,从而导致异常淋巴细胞未能及时检出。LY-X 在各组中都明显高于对照组,与王宏等^[7]报道的不一致,主要为 CLL 患者 LY-X 值比对照组明显增高。虽然 CLL 患者一般表现为成熟淋巴细胞增殖,但其细胞体积、细胞质和正常淋巴细胞相比还是有一定的改变,表现为体积增大、细胞质增多、核染色质细腻等。本次实验 CLL 组与对照组间 LY-X 的比较经统计分析差异无统计学意义,但对具体实验数据分析显示有 1 例患者该指标显著降低,说明 CLL 患者淋巴细胞的改变个体差异较大,因此,今后需加大样本量再进行相关研究。

通过 ROC 曲线分析,参数 LY-X 与 HFL、LY-Y、LY% 相比能更敏感、有效筛选淋巴细胞增殖及反应性增生疾病。当 LY-X 值超过 cutoff 值时,需进行外周血涂片细胞形态学观察,镜检有无异常淋巴细胞存在,临床再结合患者的其他体征,进行相应的检查以明确诊断,给患者及时、准确地诊断和治疗。

参考文献

- [1] Le Roux G, Vlad A, Eclache V, et al. Routine diagnostic procedures of myelodysplastic syndromes: value of a structural blood cell parameter(NEUT-X) determined by the sysmex XE-211TM [J]. Int J Lab Hematol, 2010, 32(6 Pt 1): e237-e243.
- [2] 金红, 杨肃文, 金春兰, 等. VCS 技术在急性白血病及其亚型判断中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(8): 740-746.
- [3] Haschke-Becher E, Vockenhuber M, Niedetzky P, et al. A new high-throughput screening method for the detection of chronic lymphatic leukemia and myelodysplastic syndrome[J]. Clin Chem Lab Med, 2008, 46(1): 85-88.
- [4] Jean A, Boutet C, Lenormand B, et al. Combination of cellular population data and CytoDiffTM analyses for the diagnosis of lymphocytosis[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(11): 1861-1868.
- [5] Stamminger G, Auch D, Diem H, et al. Performance of the XE-2100 leucocyte differential[J]. Clin Lab Haem, 2002, 24(5): 271-280.
- [6] Linssen J, Jennissen V, Hildmann J, et al. Identification and quantification of high fluorescence-stained lymphocytes as antibody synthesizing/secretory cells using the automated routine hematology analyzer XE-2100[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2007, 72(3): 157-166.
- [7] 王宏, 戎国, 陈丹, 等. Lymph-X 和 Lymph-Y 在筛查 IM 和 ALL 中的应用[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(8): 634-635.