

淋巴细胞功能流式细胞术检测专家共识*

中国中西医结合学会检验医学专业委员会

摘要:目前淋巴细胞亚群的流式细胞术检测已广泛应用于临床,但多聚焦于对各淋巴细胞亚群比例与绝对计数的分析,淋巴细胞各亚群的功能检测技术规范缺乏统一。淋巴细胞功能的流式细胞术检测是评估细胞免疫效应与调控能力的重要技术手段,也是深入探究免疫病理机制并指导个体化诊疗的重要方法。本共识归纳了自然杀伤(NK)细胞杀伤功能、淋巴细胞胞内 γ -干扰素(IFN- γ)、体外刺激的辅助性T细胞(Th)1、Th2和Th17水平检测等常见淋巴细胞功能的流式细胞术检测的技术操作方案,并对其标准检测流程、质量控制要求及结果分析方法予以规范。本共识旨在通过统一操作方案与技术标准,提高上述淋巴细胞功能检测的准确性与可重复性,为规范开展上述淋巴细胞功能流式细胞术检测提供技术参考。

关键词:流式细胞术; 淋巴细胞功能; 检测规范; 共识

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.05.002 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2026)05-0522-10 **文献标志码:**A

Expert consensus on flow cytometric detection of lymphocyte function*

Laboratory Medicine Committee of Chinese Association of Integrative Medicine

Abstract: Flow cytometric analysis of lymphocyte subsets has been widely applied in clinical practice, but current applications primarily focus on the assessment of subset proportions and absolute cell counts with no unified technical protocols established for the functional evaluation of lymphocyte subsets. Flow cytometric assessment of lymphocyte function represents an important methodological approach for evaluating cellular immune effector and regulatory capacities and serves as a valuable tool for investigating immunopathological mechanisms and guiding individualized clinical management. This consensus summarizes commonly used flow cytometric techniques for lymphocyte functional assessment, including natural killer (NK) cell cytotoxicity assays, intracellular interferon- γ (IFN- γ) detection in lymphocytes, and in vitro-stimulated helper T cells (Th) 1, Th2, and Th17 differentiation analysis. Standardized detection procedures, quality control requirements and result analysis methods are also specified in this consensus. The aim of this consensus is to harmonize technical protocols and operational standards, thereby improving the accuracy and reproducibility of lymphocyte functional testing and providing technical guidance for the standardized implementation of flow cytometric lymphocyte function assays.

Key words: flow cytometry; lymphocyte function; detection standardization; consensus

流式细胞术(FCM)检测淋巴细胞亚群的比例与数量是当前临床进行免疫功能评估的主要方法之一,在疾病诊断、预后评估及治疗监测中发挥重要作用。目前,国内多篇指南与专家共识阐述了淋巴细胞及其他免疫细胞的FCM检测在血液肿瘤、实体瘤等多种疾病诊疗及健康管理中的检测流程、临床应用价值与质量控制相关内容^[1-10]。然而,单纯依赖淋巴细胞亚群数量和比例的变化,难以全面揭示淋巴细胞的功能

状态,也无法准确反映免疫系统的动态调控能力及其在疾病发生发展中的关键作用^[11]。淋巴细胞功能检测则主要是指通过评估淋巴细胞不同亚群的功能(如杀伤、分泌、分化等)来反映其免疫活性^[12]。近年来,随着FCM技术的不断发展,淋巴细胞的功能检测正逐步应用于肿瘤、感染及自身免疫性疾病等疾病的免疫功能评价及科研探索^[11,13-15]。本共识涉及的淋巴细胞功能FCM检测技术主要包括自然杀伤(NK)细

* **基金项目:**国家自然科学基金项目(82570233、82370114);重庆市技术创新与应用发展专项重点项目(CSTB2024TIAD-KPX0031);重庆市科卫联合医学科研重大项目(2025DBXM002);云南省科技厅科技计划项目(202201AY070001-058);泰山学者特聘计划项目(tstp20230653);2026年重庆市科卫联合青年项目(2026QNXM043);重庆市自然科学基金项目(CSTB2024NSCQ-KJFZMSX0077)。

通信作者:杨再林, E-mail: zailinyang@cqu.edu.cn; 李国盛, E-mail: liguosheng0714@163.com; 杨曦明, E-mail: yximing2005@163.com; 刘耀, E-mail: liuyao77@cqu.edu.cn。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1176.r.20260226.1146.002\(2026-03-03\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1176.r.20260226.1146.002(2026-03-03))

胞杀伤功能检测、淋巴细胞胞内 γ -干扰素 (IFN- γ) 检测、体外刺激的辅助性 T 细胞 (Th)1、Th2 和 Th17 水平检测。然而,这些检测技术在实际应用中仍存在以下问题。(1)检测流程复杂且缺乏标准化:淋巴细胞功能 FCM 检测通常需要对样本进行体外诱导、破膜处理、复杂的抗体染色方案或与靶细胞共培养,由于不同实验室内技术操作不统一,导致检测结果的可比性和重复性较差;(2)质量控制体系不完善:淋巴细胞功能 FCM 检测是高度依赖实验操作细节的技术,从样本采集到数据分析的每个环节均可能影响结果,目前国内尚缺乏统一的质量控制和室内质评标准;(3)临床应用受限:尽管淋巴细胞功能 FCM 检测在科研领域逐步普及,但因检测流程复杂,难以在临床应用中常规开展。此外,在临床应用过程中缺乏统一参考范围及规范化的报告解读体系,也限制了其推广应用。

为适应淋巴细胞功能 FCM 检测技术的发展趋势及临床与科研应用中的实际需求,中国中西医结合学会检验医学专业委员会联合国内多领域专家,共同制定了本专家共识。本共识系统总结了淋巴细胞功能 FCM 检测的标准检测流程、关键质量控制措施,旨在提升淋巴细胞功能 FCM 检测的准确性和可重复性,为其在相关疾病临床诊疗及科学研究中的规范化应用提供技术指导。

1 NK 细胞杀伤功能 FCM 检测

NK 细胞是机体先天免疫系统中重要的淋巴细胞亚群之一,其主要功能是识别并清除被病毒感染或发生癌变的细胞^[16]。本共识中所述的 NK 细胞杀伤功能检测,实质为评估 NK 细胞介导的细胞毒活性。NK 细胞杀伤功能的检测方法包括⁵¹Cr 释放法、FCM 检测法、乳酸脱氢酶 (LDH) 释放法及实时细胞分析法等。其中,⁵¹Cr 释放法为经典方法,而 FCM 检测法因其安全性高、可多参数分析及操作便捷,已逐渐成为目前科研、临床应用的主流方法。NK 细胞杀伤功能 FCM 检测法是利用荧光染料或抗体标记技术,通过标记靶细胞,在流式细胞仪上检测靶细胞凋亡或死亡比例,从而间接评价 NK 细胞的杀伤功能的实验方法。在外周血单个核细胞 (PBMCs) 与 K562 细胞短时 (4 h) 共培养的检测体系中,由于 K562 细胞缺乏组织相容性复合物 (MHC)-I 分子表达,且不提供特异性抗原肽-MHC 复合物及共刺激信号,而 CD8⁺T 细胞的细胞毒作用依赖于 T 细胞受体对特异性抗原肽-MHC-I 的识别及相应的激活信号传导,在缺乏抗原特异性刺激的情况下难以在短时间内被有效激活并介导杀伤反应。由于 K562 细胞为人 NK 细胞的经典敏感靶细胞,且 NK 细胞能够通过“missing-self”机制在无需抗原预致敏的情况下迅速发挥细胞毒活性,因此在该实验体系中检测到的靶细胞凋亡或死亡主要

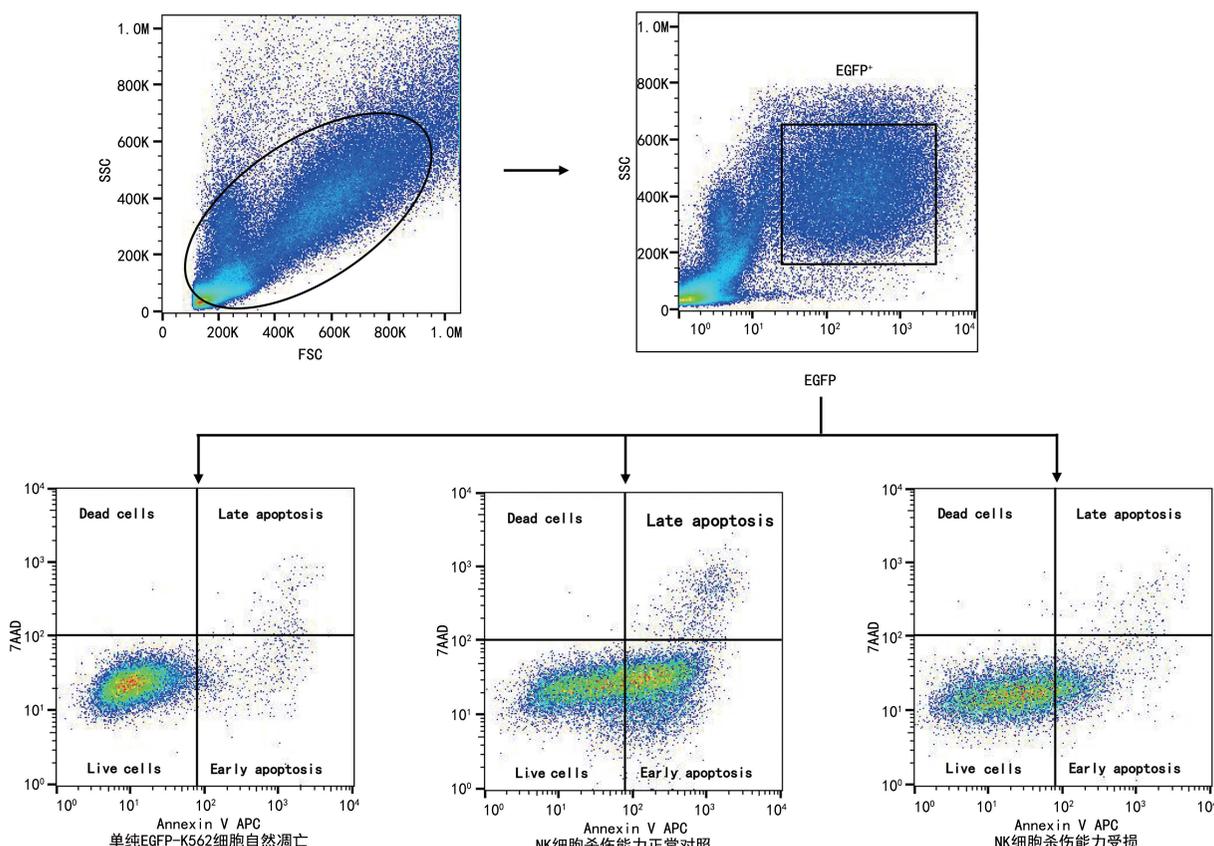
由 NK 细胞介导,故通过 PBMCs 与 K562 细胞短时共培养 (4 h) 并采用流式细胞术检测靶细胞凋亡和死亡情况,可间接评价机体 NK 细胞的杀伤功能。NK 细胞杀伤功能检测在多种疾病如噬血细胞性淋巴组织细胞增多症 (HLH)、肿瘤、病毒感染、免疫缺陷等疾病的诊断与治疗中有一定的价值^[11,17-20]。本共识基于以往文献报道及临床实践推荐,制订了基于全血标本的检测方案^[13,21-22]。

1.1 检测抗体组合 推荐使用 Annexin V/7-AAD 作为细胞凋亡/死亡染色抗体/试剂。同时,建议采用慢病毒转染技术构建的增强型绿色荧光蛋白 (EGFP)-K562 稳定细胞株作为靶细胞,以提高检测灵敏度和特异性。

1.2 实验操作 (1) 提取新鲜、抗凝全血 (乙二胺四乙酸、肝素抗凝剂均可) 中的 PBMCs; 用等体积的磷酸盐缓冲液 (PBS) 或生理盐水稀释全血 (总体积一般控制在 6~8 mL); 在 15 mL 离心管中加入淋巴细胞分离液 (3~4 mL), 将稀释后的血液缓慢平铺到分离液液面上方; 室温、(500~800) \times g 离心 20 min; 离心后将出现明显的分层, 小心地吸取中间白膜层细胞到 15 mL 洁净的离心管中, 10 mL PBS 或生理盐水洗涤白膜层细胞。室温、250 \times g 离心 10 min; 弃上清, 用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液将细胞浓度调至 5×10^6 /mL 备用。(2) 靶细胞准备: 用 PBS 洗涤稳定表达 EGFP 绿色荧光蛋白的 K562 细胞, 使用台盼蓝染色检测细胞活力, 要求成活率在 95% 以上, 用 RPMI 1640 培养液将细胞调节至 5×10^5 /mL 备用。(3) 共培养: 取上述备用 PBMCs 悬液和靶细胞 (EGFP-K562 细胞) 悬液各 100 μ L 于 EP 管中吹打混匀, 同时, 对照管中加入 100 μ L 靶细胞 (EGFP-K562 细胞) 悬液和 100 μ L RPMI 1640 培养基, 吹打混匀, 共同置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中共培养 4 h。(4) FCM 上机检测: 将培养后的细胞混悬液收集于流式检测管中, 室温、250 \times g 离心 10 min, 弃培养液, 按照细胞凋亡试剂盒操作步骤进行 Annexin V/7AAD 染色标记后进行 FCM 检测。同时, 设单纯 EGFP-K562 细胞 Annexin V/7AAD 标记孔作为靶细胞自然凋亡背景对照。有条件的单位建议对 PBMCs 进行 NK 细胞分选后进行后续的实验。靶细胞来源的差异及效靶比的不同均会导致最终结果出现差异, 有条件的单位建议根据样品中 NK 细胞数量计算加入效应细胞悬液和靶细胞悬液的量。本共识实验操作仅以效靶比 (10 : 1) 及共培养 4 h 作为示例, 实验室可根据不同检测需求自行确定效靶比及共培养时间。

1.3 设门 分别以 EGFP 和侧向散射光 (SSC) 为坐标横轴和纵轴作二维散点图, 并对 EGFP-K562 细胞进行设门 EGFP⁺, 在 EGFP⁺ 内获取 10 000 个细胞进行数据分析; 分别以 Annexin V 和 7AAD 为坐标横

轴和纵轴作二维散点图,分析活细胞、早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞及死细胞比例,见图 1。



注: Dead cells 为死亡细胞, Live cells 为存活细胞, Early apoptosis 为早期凋亡, Late apoptosis 为晚期凋亡。

图 1 NK 细胞杀伤功能 FCM 检测设门逻辑图

1.4 报告分析方法 共培养后,靶细胞(EGFP-K562 细胞)凋亡和死亡(早期凋亡+晚期凋亡+死亡)比例即反映了 NK 细胞杀伤功能。NK 细胞体外杀伤活性(%)=样本孔 EGFP-K562 细胞的阳性比例-单纯 EGFP-K562 细胞的背景比例。

1.5 应用 NK 细胞杀伤功能检测是评估 NK 细胞功能及其在某些疾病发生、发展中作用的手段^[23-24],已被纳入 HLH 的诊断标准之一^[11]。NK 细胞杀伤功能活性增加,见于某些病毒感染早期、长期使用干扰素及其诱导物者、习惯性流产患者及宿主抗移植物反应增强者^[21,25-26]。NK 细胞杀伤功能活性降低:常见于恶性肿瘤、HLH、免疫缺陷病、长期使用免疫抑制剂及部分病毒、细菌和真菌感染等患者^[11,27-28]。

共识 1:建议采用 Annexin V/7-AAD 双染法检测靶细胞凋亡及死亡比例,以评价 NK 杀伤功能。建议使用增强型绿色荧光蛋白(EGFP)-K562 稳定细胞株作为靶细胞。推荐强度:强烈推荐。

共识 2:NK 细胞杀伤功能 FCM 检测需要提取 PBMCs。靶细胞的台盼蓝检测细胞成活率在 95% 以上。PBMCs 和靶细胞需要在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中共培养 4 h 后,进行 Annexin V/7AAD 双染法及 FCM 上机检测,至少获取 10 000 个细胞。NK 细胞杀伤功能活性检测结果报告方法为样本管与对照管

的靶细胞(EGFP-K562 细胞)凋亡比例的差值。推荐强度:强烈推荐。

共识 3:NK 细胞杀伤功能活性增高常见于病毒感染早期、长期使用干扰素、习惯性流产及宿主抗移植物反应等患者;NK 细胞活性降低或缺如已作为 HLH 的诊断标准之一,此外,NK 细胞杀伤功能活性降低还常见于恶性肿瘤、免疫缺陷病、长期使用免疫抑制剂及部分病毒、细菌和真菌感染等患者。推荐强度:强烈推荐。

2 淋巴细胞胞内 IFN-γ FCM 检测

IFN-γ 是一种具有抗感染、抗肿瘤和免疫调节功能的多效性细胞因子,主要由 T 细胞和 NK 细胞产生^[29-31]。淋巴细胞胞内 IFN-γ 的 FCM 检测是通过 FCM 分析淋巴细胞在特定抗原或刺激剂作用后胞内 IFN-γ 的表达水平,用于评估其 Th1 型细胞免疫应答功能及抗原特异性细胞免疫效应能力。本共识所述淋巴细胞胞内 IFN-γ 的 FCM 检测方法,本质上属于体外刺激条件下淋巴细胞功能反应性的评估,主要反映的是 T 细胞在抗原刺激下的 IFN-γ 产生能力及 Th1 型分化潜能,而不等同于体内即时 IFN-γ 水平。由于淋巴细胞在体内已受到抗原暴露、炎症微环境及免疫调控因素的持续影响,其在体外统一刺激条件下所表现出的 IFN-γ 表达的强弱,虽不能直接代表体内

实时免疫状态,但可间接反映机体细胞免疫系统的功能状态与应答能力,在肿瘤、感染等疾病的评估中具有重要价值^[32]。本共识基于以往文献报道及临床实践,推荐如下基于全血标本的检测方案^[14,33-34]。

2.1 检测抗体组合 推荐使用 6 色及以上的方案,检测的抗体组合应包含 CD3、CD4、CD8、CD16、CD56、CD45、IFN- γ 。其中,CD16 与 CD56 可共用同一检测通道,IFN- γ 推荐使用荧光强度高、信噪比佳的荧光素如藻红蛋白(PE)、别藻蓝蛋白(APC)。

2.2 实验操作 (1)样本:提取新鲜、抗凝全血(乙二胺四乙酸、肝素抗凝剂均可)PBMCs 或经裂解红细胞处理后的全血标本均可用于淋巴细胞胞内的 IFN- γ 的检测。(2)T/NK 细胞激活:由于静息状态下的 T/NK 细胞 IFN- γ 分泌水平极低,需体外刺激诱导细胞

因子的表达^[35]。因此,推荐在检测管加入淋巴细胞刺激剂[佛波醇-12-十四酸酯-13-乙酸酯(PMA)、离子霉素]和蛋白分泌抑制剂布雷非德菌素 A(BFA),并于 37 °C、5%CO₂ 的细胞培养箱中孵育 4 h,以激活 T 细胞和 NK 细胞。(3)细胞内 IFN- γ 染色:先进行细胞膜抗原染色(CD45、CD3、CD4、CD8、CD16、CD56),再使用固定破膜剂进行细胞固定及破膜,破膜后加入 IFN- γ 荧光抗体进行胞内染色。

2.3 设门 推荐采用 SSC^{low}CD45⁺ 设淋巴细胞门,在淋巴细胞门内,根据 CD3 的表达情况,分为 CD3⁺T 细胞和 CD3⁻T 细胞群,CD3⁺T 细胞再进一步分为 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞,在 CD3⁻细胞群进一步分 CD(16+56)⁺ NK 细胞。

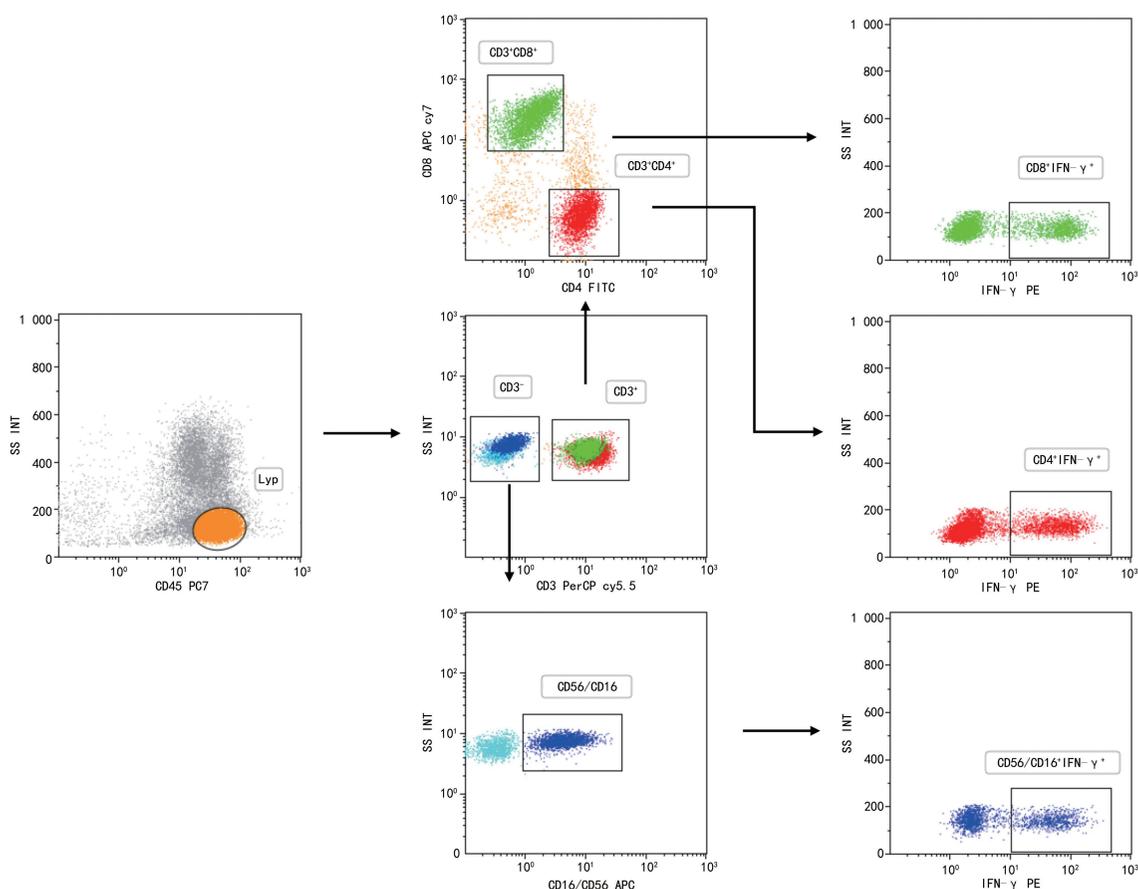


图 2 细胞内 IFN- γ 的 FCM 检测设门逻辑图

2.4 报告方法 报告细胞性 T 淋巴细胞(CTL) CD8⁺T 细胞中表达 IFN- γ 的细胞比例,NK 细胞中表达 IFN- γ 的细胞比例,即对应的 CTL 和 NK 细胞中 IFN- γ 阳性表达率。也可根据临床实际需求报告 CD4⁺T 细胞中 IFN- γ 阳性表达率。

2.5 应用 IFN- γ 是 T 细胞和 NK 细胞分泌的关键细胞因子,在抗感染、抗肿瘤和调节免疫中发挥重要作用^[36-37]。与直接检测血清中的 IFN- γ 水平不同,细胞内 IFN- γ 的 FCM 检测可以区分不同 T 细胞亚群

(如 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞)及 NK 细胞的 IFN- γ 的分泌能力,评估 T 细胞和 NK 细胞的功能状态,有助于揭示特定免疫亚群在疾病中的作用。细胞内 IFN- γ 表达水平在肿瘤免疫监测、感染免疫反应、免疫缺陷、自身免疫性疾病及器官移植等领域具有重要意义^[33,38-39]。CD4⁺T 细胞 IFN- γ 表达增高提示可能存在 Th1 型免疫应答增强,反映辅助性 T 细胞介导的细胞免疫活化;表达降低则提示可能存在 Th1 分化能力或辅助性细胞免疫功能受损。CD8⁺T 细胞 IFN-

γ 表达增高提示可能存在细胞毒性 T 细胞效应功能增强,反映抗病毒或抗肿瘤细胞免疫活性提高;表达降低则提示可能存在 CTL 功能低下或功能耗竭。NK 细胞 IFN- γ 表达增高提示可能存在先天免疫激活状态增强;表达降低则提示可能存在 NK 细胞功能受抑或免疫抑制状态。

共识 4: 建议使用 6 色及 6 色以上的方案,检测的抗体组合应包含 CD3、CD4、CD8、CD16、CD56、CD45、IFN- γ ,其中,CD16 与 CD56 可共用同一检测通道,IFN- γ 推荐使用荧光强度高、信噪比佳的荧光素如 PE、APC。推荐强度:强推荐。

共识 5: 细胞内的 IFN- γ 是 T 和 NK 细胞激活后产生和分泌的,推荐采用 PMA 和离子霉素等作为淋巴细胞刺激剂,并于 37 °C、5% CO₂ 培养箱孵育 4 h,然后按照细胞内染色标准步骤进行操作。结果报告方法为报告 CTL 细胞中表达 IFN- γ 的细胞比例,NK 细胞中表达 IFN- γ 的细胞比例。推荐强度:强推荐。

共识 6: 淋巴细胞胞内 IFN- γ 流式细胞术检测可用于评估不同淋巴细胞亚群(如 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞及 NK 细胞)在体外刺激条件下的反应能力。CD4⁺ T 细胞 IFN- γ 表达主要反映 Th1 细胞免疫应答状态;CD8⁺ T 细胞 IFN- γ 表达反映 CTL 的效应功能;NK 细胞 IFN- γ 表达反映先天免疫活化水平。其表达水平变化提示相关淋巴细胞亚群功能状态的增强或减弱,在肿瘤免疫监测、感染性疾病、免疫缺陷、自身免疫疾病及移植免疫评估中具有参考价值。推荐强度:强推荐。

3 体外刺激的 Th1/Th2/Th17 的 FCM 检测

Th 细胞是 CD4⁺ T 细胞的主要亚群,在调节免疫反应、维持免疫监视,以及辅助 CTL 活化和增殖方面发挥至关重要的作用^[40-42]。根据表型的差异,可将 Th 细胞分为不同的 Th 亚群^[43]。体外刺激的 Th1、Th2 和 Th17 检测实验是通过 FCM 检测 CD4⁺ T 细胞在受到特定抗原刺激后,细胞内 IFN- γ 、白细胞介素(IL)-4、IL-17 细胞因子的表达水平,从而评估 CD4⁺ T 细胞向 Th1、Th2 和 Th17 亚群分化的分化能力。本共识所述的体外刺激的 Th1、Th2 和 Th17 的 FCM 检测方法,本质上属于在体外统一刺激条件下 CD4⁺ T 细胞分化反应能力的评估,主要反映 T 细胞向不同辅助性 T 细胞亚群分化的潜能及免疫偏向调控能力,而不等同于体内即时 Th 亚群比例及体内 IFN- γ 、IL-4、IL-17 表达水平。由于外周血 T 细胞已受到体内抗原暴露和免疫微环境的长期影响,其在体外对刺激的分化表现反映的是既有分化潜能和功能可塑性,因此该检测结果可间接反映机体 CD4⁺ T 细胞的分化倾向、免疫偏向状态及功能储备,而非体内即时状态。虽然目前也有通过检测 CD4⁺ T 淋巴细胞上趋化因子受体 CD183(CXCR3)/CD196(CCR6)表

达进行 Th 细胞分型的方法,通常将 CXCR3⁺ CCR6⁻ 细胞界定为 Th1 样细胞,CXCR3⁻ CCR6⁺ 界定为 Th17 样细胞,CXCR3⁻ CCR6⁻ 界定为 Th2 样细胞。该方法属于表型分型,可直接反映外周血中不同 Th 亚群的分布状态,但不能完全等同于功能性 Th 亚群定义,也不直接代表细胞的功能活性。体外诱导的 Th1、Th2 和 Th17 胞内细胞因子检测主要评估 CD4⁺ T 细胞在统一刺激条件下的功能反应能力和分化潜能,反映的是其免疫功能储备与可动员性,但其也不等同于体内即时 Th 亚群比例。两种方法是分别从即时分布和功能状态两个维度评价免疫状态。本共识基于全血标本的检测方案,在以往文献报道及临床实践的基础上推荐如下^[15,44-45]。

3.1 检测抗体组合 推荐使用 6 色及 6 色以上的方案,检测的抗体组合应包含 CD3、CD4、CD45、IFN- γ 、IL-4、IL-17。其中 IFN- γ 、IL-4、IL-17 推荐使用荧光强度高、信噪比佳的荧光素如 PE、APC、异硫氰酸荧光素(FITC)的抗体,并注意荧光素的强弱搭配。

3.2 实验操作 外周血中的 Th1、Th2 和 Th17 细胞在静息状态下几乎不分泌或储存 IFN- γ 、IL-4 和 IL-17 等功能性细胞因子,无法直接检测。为此,需采用体外刺激剂对全血或 PBMCs 进行短时培养来重新激活其细胞因子合成与细胞内蓄积。由于细胞因子在细胞内合成后会随时被释放出细胞外,因此还需要加入阻断剂,将细胞因子阻断在细胞内,具体实验操作可参考上述对淋巴细胞胞内 IFN- γ 染色的标准步骤进行。

3.3 设门 推荐采用的是通过侧向散射光 SSC 和 CD45 设门,使用 SSC^{low} CD45⁺ 设淋巴细胞门。在淋巴细胞门内,再根据 CD3 的表达情况,分为 CD3⁺ T 细胞和 CD3⁻ T 细胞群,CD3⁺ T 细胞再进一步分为 CD4⁺ T 和 CD4⁻ T 细胞。见图 3。

3.4 报告方法 将 CD3⁺ CD4⁺ IFN- γ ⁺ 作为代表 Th1 型细胞功能的指标,CD3⁺ CD4⁺ IL-4⁺ 作为代表 Th2 型细胞功能的指标,CD3⁺ CD4⁺ IL-17⁺ 作为代表 Th17 型细胞功能的指标,并报告 Th1、Th2、Th17 占 CD4⁺ T 细胞的比例及 Th1/Th2 比值。

3.5 应用 Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子,参与细胞免疫调节,通过调理吞噬作用以及补体通路,在机体抗病毒或抗细胞内病原微生物感染及消除肿瘤细胞中发挥作用^[42,46]。自身免疫性疾病的发病机制涉及 Th1、Th17 等多种 T 辅助细胞亚群的动态失衡与相互作用^[47-48]。Th1 细胞比例减低常见于免疫缺陷病[如人类免疫缺陷病毒(HIV)感染后期,Th1 型细胞因子表达相对减少,Th2 型细胞因子表达相对增加]、慢性细菌感染(如结核病)^[49-50]。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 及 IL-13 等细胞因子,参与体液免疫

调节,通过促进抗体的产生对抗胞外病原体(如寄生虫感染),并在过敏反应的发生发展及异种移植和妊娠过程中的免疫耐受方面发挥作用,在肿瘤微环境中往往具有免疫抑制的作用,可促进肿瘤的生长和免疫逃逸^[51-52]。Th2 细胞比例增高常见于过敏性疾病(如哮喘、特应性皮炎)、寄生虫感染和某些自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮)^[43,53-56]。Th2 细胞比例减低常见于糖尿病、抑郁症和部分自身免疫性疾病(如原发性干燥综合征)^[57-59]。Th17 细胞主要分泌 IL-17、IL-21 和 IL-22,诱导机体的炎症反应,并参与自身免疫性疾病的发生和发展^[60-61]。在肿瘤中,Th17 细胞的角色复杂,具有促进或抑制肿瘤生长的双重作用^[62-63]。Th17 细胞比例增高常见于自身免疫性疾病(如类风湿性关节炎、银屑病)、慢性炎症性疾病(如炎症性肠病)和某些感染(如真菌感染)^[64-67]。减低常见于免疫缺陷病(如 HIV 感染后期)、慢性病毒(如丙型肝炎病毒感染)^[68-69]。Th1/Th2 比值被认为是评估免疫偏向及免疫平衡状态的参考指标之一^[70]。部分自身免疫性疾病中可能存在以 Th1 型免疫反应为相对优势的炎症特征,表现为 Th1/Th2 比值升高;而在过敏性疾病中,往往呈现 Th2 型免疫反应相对占主导的倾向,表现为 Th1/Th2 比值降低^[47,54]。因此,针对 Th1/Th2 比值免疫失衡的调节在某些疾病(如过敏性

疾病、肿瘤)中可能具有潜在的治疗意义^[71-72],但其作用机制通常涉及多种免疫细胞亚群及信号通路的综合调控。

共识 7:建议使用 6 色及 6 色以上的方案,检测的抗体组合应包含 CD3、CD4、CD45、IFN- γ 、IL-4、IL-17,其中 IFN- γ 、IL-4、IL-17 推荐使用荧光强度高、信噪比佳的荧光素如 PE、APC、FITC,并注意荧光素的强弱搭配。推荐强度:强推荐。

共识 8:体外刺激的 Th1、Th2、Th17 检测时,淋巴细胞刺激、细胞内染色标准步骤和细胞内 IFN- γ 检测相同。报告时将体外刺激后检测 CD3⁺CD4⁺IFN- γ ⁺、CD3⁺CD4⁺IL-4⁺及 CD3⁺CD4⁺IL-17⁺细胞,分别作为 Th1 型、Th2 型及 Th17 型功能性 Th 细胞的指标,并报告 Th1、Th2、Th17 占 CD4⁺T 细胞的比例,及 Th1/Th2 比值。推荐强度:强推荐。

共识 9:Th 细胞免疫偏向的改变可能与多种疾病相关。Th1 型免疫反应增强常见于部分自身免疫性疾病及慢性病毒感染,减弱可能提示细胞免疫功能受损;Th2 型反应增强多见于过敏及寄生虫感染;Th17 型反应增强与自身免疫及慢性炎症相关,在肿瘤中可能具有双重作用。Th1/Th2 比值可作为免疫偏向的参考指标,其异常需结合临床及其他免疫学参数综合解读。推荐强度:中推荐。

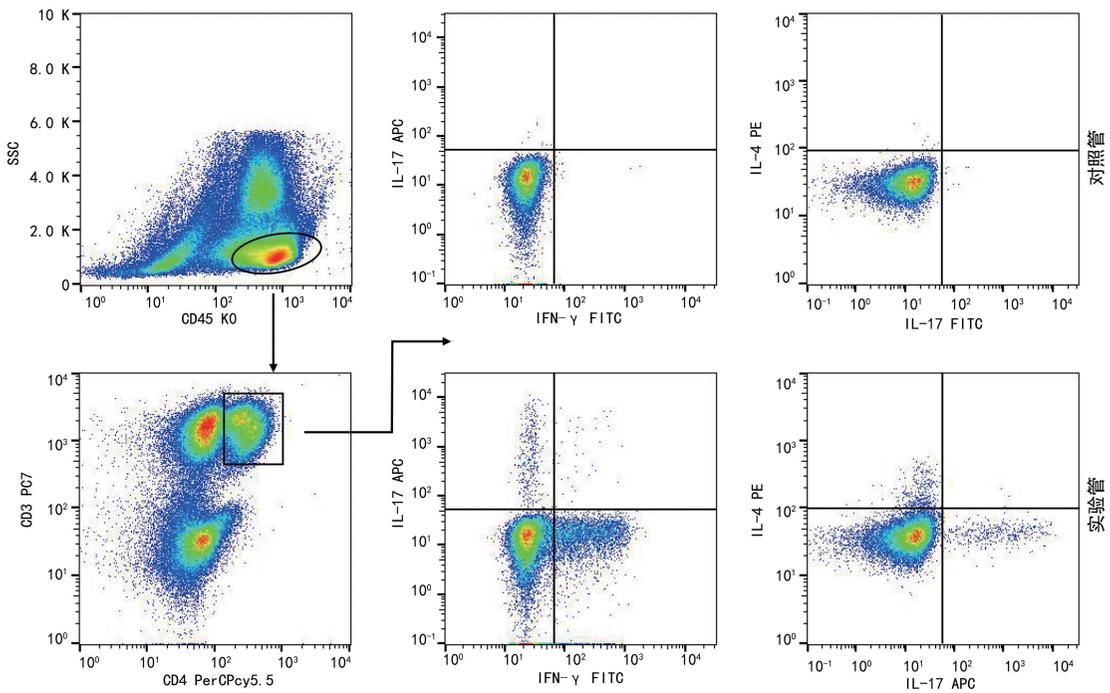


图 3 辅助性 T 细胞亚群的 FCM 检测设门逻辑图

4 质量控制要点

4.1 操作过程中的注意事项 NK 细胞杀伤功能 FCM 检测时,血液样本的采集量和新鲜程度影响 PBMCs 的分离效果,建议采集外周血约 10 mL,尽量在采集 2 h 以内进行 PBMCs 分离以维持其较高的活

性,并尽快完成检测。稀释血液可以降低血液黏稠度及红细胞的聚集,提高单个核细胞的收获量。分离液使用前,需提前预热至室温(18~25 °C),温度过低会导致淋巴细胞丢失过多,温度过高则影响淋巴细胞活性。分离液应直接加至离心管底部,切忌浸润四周管

壁,加入细胞悬液则不能扰乱二者界面以影响分离效果。根据血液样本量多少,选择合适体积的离心管,一般稀释血液与分离液的体积比为 3:1~2:1。在进行细胞内的细胞因子检测时,新鲜配制的 PMA、离子霉素和 BFA,需分装后置于 -20 °C 避光保存,避免反复冻融。三者的工作质量浓度分别为 50 ng/mL、1 μg/mL 和 10 μg/mL。尽量使用新鲜培养的靶细胞(EGFP-K562 细胞),若采用冻存的细胞,则建议在流式检测前于 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 48~72 h 以保证细胞活性。当淋巴细胞胞内 IFN-γ FCM 检测、体外刺激的 Th1/Th2/Th17 的 FCM 检测的样本采用全血直接裂解红细胞的样本进行检测时,实验室应建立完善的质控体系,并针对 PBMCs 分离的样本与全血直接裂解红细胞的样本分别建立相应的参考区间。

4.2 生物参考区间的建立与验证 在使用本实验室自行建立的检测项目结果的参考区间时,参考区间制订过程应符合国家卫生行业标准 WS/T 402-2024《临床实验室定量检验项目参考区间的制定》的要求,参考范围应考虑年龄、性别等因素,并定期对参考区间进行验证和更新。

4.3 检测流程标准化 由于检测的流程涉及多个环节,每个环节均可能引入误差。实验室应制订详细的标准操作规程(SOP),包括样本采集、处理、染色、刺激、上机检测等步骤。并定期培训操作人员,确保操作一致性。由于目前该类项目缺乏室间质评,实验室应制订比对计划,应定期按要求对检验项目进行室间比对,评估实验结果的稳定性和准确性。

4.4 报告解读 应结合患者的病史、其他实验室检查、相关指南、诊疗标准等对患者检测结果进行综合解读,对动态监测的患者应重点关注其结果的变化趋势,并结合疾病背景综合分析。

共识 10: 由于 NK 细胞杀伤功能的 FCM 检测、淋巴细胞胞内 IFN-γ 的 FCM 检测、体外刺激的 Th1/Th2/Th17 的 FCM 检测操作流程较为复杂,目前缺乏统一的生物参考区间,实验室应熟悉操作过程中的注意事项,加强生物参考区间的建立与验证、检测流程标准化质量控制,应结合患者疾病背景、相关指南、诊疗标准等对患者检测结果进行解读。**推荐强度:强烈推荐。**

5 结 语

随着免疫学研究的深入和临床诊疗需求的提升,特定的淋巴细胞功能状态在疾病诊断、治疗及预后评估中的重要性日益凸显。本专家共识聚焦于 NK 细胞杀伤功能、淋巴细胞胞内 IFN-γ、体外刺激的 Th1/Th2/Th17 水平的淋巴细胞功能 FCM 检测技术,旨在通过规范检测流程、明确质量控制要求和结果分析方法,提升检测的准确性、可重复性和临床应用价值。

尽管当前的淋巴细胞功能 FCM 检测技术在实际应用中取得了重要进展,使其在标准化和临床与科研应用方面仍面临一定的挑战。首先,检测过程复杂,导致不同实验室之间的结果可比性差,靶细胞(EGFP-K562 细胞)的培养与保存难度较大,限制了 NK 细胞杀伤功能开展。其次,淋巴细胞功能 FCM 检测的室间质评和质量控制体系不完善,应加强实验室间的比对和协作。此外,淋巴细胞功能检测在一些疾病的临床诊疗中的价值仍需更多循证医学证据支持。未来应积极开展不同疾病类型的多中心临床研究,逐步确立在疾病精准诊疗和预后评估中的价值。

共识编写工作组组长: 杨再林(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、李国盛(山东大学齐鲁医院血液科)、武坤(昆明医科大学第一附属医院检验科)、杨曦明(北京中医药大学东直门医院检验病理科)、刘耀(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)

执笔人(按姓氏汉语拼音排列): 陈双(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、程沈菊(昆明医科大学第一附属医院医学检验科)、龚容(昆明医科大学第一附属医院检验科)、郭冰凌(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、谷钰峰(烟台毓璜顶医院检验科)、蒋亭亭(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、李国盛(山东大学齐鲁医院血液科)、李轶勋(昆明医科大学第一附属医院医学检验科)、彭余(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、唐鑫怡(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、武坤(昆明医科大学第一附属医院检验科)、徐龙(安徽医科大学基础医学院免疫学教研室)、杨再林(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、张晓录(烟台毓璜顶医院检验科)

专家组成员(按姓氏汉语拼音排列): 陈曼(北京陆道培医院检验科流式细胞室)、陈姝樾(重庆大学附属人民医院检验医学学科)、陈炜焯[广州中医药大学第二附属医院(广东省中医院)检验科]、褚帅(南方医科大学南方医院检验医学学科)、戴兰(苏州大学附属第一医院血液病研究所)、冯廷(重庆大学附属肿瘤医院综合科)、付笑迎(深圳市儿童医院检验科)、付兆强(上海间新中西医结合医院检验科)、高凤彩(郑州大学第一附属医院血液病实验室)、高山(空军军医大学第一附属医院血液内科)、官雁鸣(浙江省中医院医学检验科)、侯玉兰(重庆医科大学附属璧山医院检验科)、侯玉磊(重庆医科大学附属第一医院医学检验科)、黄兴琴[陆军军医大学第一附属医院(重庆西南医院)血液科]、金鑫(浙江省立同德医院检验科)、李莲(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、李良梅(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、李庆(中国科学技术大学附属第一医院检验科)、李珍(南方医科大学南方医院血液科)、李智伟(新疆维吾尔自治区人民医院临床检

验中心)、刘玲(重庆两江新区人民医院医学检验科)、林莉(北京大学深圳医院检验科)、龙芳(四川省妇幼保健院检验科)、马霖(重庆大学附属肿瘤医院综合科)、马雷(重庆医药高等专科学校附属医院检验科)、彭太芳[重庆市黔江中心医院(重庆大学附属黔江医院)血液内科]、乔静巧(深圳大学总医院血液肿瘤科)、石淙(宁波大学附属第一医院干细胞实验室)、宋永花(文山市人民医院检验科)、汪路(重庆两江新区人民医院医学检验科)、汪小姣(郑州大学附属肿瘤医院中心实验室)、王明雪[重庆市急救医疗中心(重庆大学附属中心医院)检验科]、王平(陆军军医大学第二附属医院血液病医学中心)、王倩(山东第一医科大学附属省立医院检验科)、文丰(重庆大学附属黔江医院检验科)、肖丽君(昆明市第一人民医院检验科)、肖燕妮(陆军军医大学第二附属医院输血科)、谢再翔(重庆市黔江区中医院检验科)、杨清清(广州医科大学附属第一医院检验科)、杨崢(广西医科大学第一附属医院检验科)、姚强(深圳市儿童医院检验科)、叶静静(山东大学齐鲁医院血液科)、尹李芬(大理大学第一附属医院血液科)、张爱梅[中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)检验科]、张会超(河北医科大学第四医院东院区检验科)、张健(重庆大学附属肿瘤医院检验科)、张萍(重庆医科大学附属第二医院血液内科)、张艳(中国医科大学附属第一医院血液科)、张云(山东省济南市章丘区人民医院检验科)、周敏(重庆市璧山区中医院)、庄振超(杭州艾迪康医学检验中心血液诊断中心)

审核专家组成员(按姓氏汉语拼音排列): 陈朴(复旦大学附属中山医院检验科)、李智伟(新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心)、刘耀(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)、汪峰(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科)、杨曦明(北京中医药大学东直门医院检验病理科)、岳保红(郑州大学第一附属医院检验科)、张小梅(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心)

参考文献

[1] 杨再林,武坤,刘耀,等.淋巴细胞亚群检测在血液肿瘤中应用的专家共识[J]. 国际检验医学杂志,2023,44(15):1793-1802.

[2] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会,杨再林,武坤,等.淋巴细胞亚群流式细胞术检测质量管理临床实践专家共识[J]. 中华预防医学杂志,2024,58(11):1641-1650.

[3] 中国医师协会检验医师分会,北京医师协会医学检验专科医师技师分会,国家癌症中心,等.实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2023,46(12):1235-1248.

[4] 国家卫生健康委员会.流式细胞术检测外周血淋巴细胞

亚群指南:WS/T 360-2024[S].北京:中国标准出版社,2024.

- [5] 国家医学检验临床医学研究中心中国医科大学附属第一医院,中华医学会检验医学分会,国家卫生健康委临床检验中心,等.流式细胞术的临床应用专家共识[J]. 中华检验医学杂志,2023,46(8):792-801.
- [6] 中华医学会健康管理学分会.TBNC 淋巴细胞检测在健康管理中的应用专家共识[J]. 中华健康管理学杂志,2023,17(2):85-95.
- [7] 中国儿童免疫与健康联盟免疫评估工作组,中国医师协会儿科医师分会风湿免疫专委会,中国医师协会儿科医师分会儿童过敏专委会,等.流式细胞术分析外周血淋巴细胞亚群在儿科的临床应用专家共识(2019版)[J]. 中华儿科杂志,2019,57(6):424-428.
- [8] 《中国防痨杂志》编辑委员会,中国医疗保健国际交流促进会结核病防治分会基础专业和临床专业学术部.结核病患者外周血淋巴细胞亚群检测及临床应用专家共识[J]. 中国防痨杂志,2020,42(10):1009-1016.
- [9] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会.流式细胞学在非霍奇金淋巴瘤诊断中的应用专家共识[J]. 中华病理学杂志,2017,46(4):217-222.
- [10] 沈银忠.中国艾滋病诊疗指南(2024版)[J]. 中国预防医学杂志,2024,25(12):1469-1497.
- [11] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会儿科学分会血液学组,噬血细胞综合征中国专家联盟.中国噬血细胞综合征诊断与治疗指南(2022年版)[J]. 中华医学杂志,2022,102(20):1492-1499.
- [12] PENG S,LIN A,JIANG A,et al. CTLs heterogeneity and plasticity: implications for cancer immunotherapy[J]. Mol Cancer,2024,23(1):58.
- [13] MOHIUDDIN M,KIMURA H,WATANABE S,et al. The inhibitory effect of cisplatin, paclitaxel, and pemetrexed on the growth of PC9GR cells resistant to NK cell-mediated cytotoxicity during the COVID-19 pandemic[J]. J Clin Oncol,2021,39(15_Suppl):e15009.
- [14] WANG F,MAO L,HOU H,et al. The source of Mycobacterium tuberculosis-specific IFN- γ production in peripheral blood mononuclear cells of TB patients[J]. Int Immunopharmacol,2016,32:39-45.
- [15] DURAMAD P,MCAHON C W,HUBBARD A,et al. Flow cytometric detection of intracellular Th1/Th2 cytokines using whole blood: validation of immunologic biomarker for use in epidemiologic studies[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2004,13(9):1452-1458.
- [16] VIVIER E,REBUFFET L,NARNI-MANCINELLI E,et al. Natural killer cell therapies[J]. Nature,2024,626(8000):727-736.
- [17] LEE H B,YOON J H,MIN G J,et al. Natural-killer cell cytotoxicity is a diagnostic and prognostic marker in adult patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: results from a prospective phase II observational study[J]. Blood,2019,134(Suppl 1):S2331.
- [18] CHIOSSONE L,DUMAS P Y,VIENNE M,et al. Natu-

- ral killer cells and other innate lymphoid cells in cancer [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(11): 671-688.
- [19] CHEN S, ZHU H, JOUNAIDI Y. Comprehensive snapshots of natural killer cells functions, signaling, molecular mechanisms and clinical utilization [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 302.
- [20] KUCUKSEZER U C, AKTAS CETIN E, ESEN F, et al. The role of natural killer cells in autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 622306.
- [21] 张嘉, 王晶石, 王旖旎, 等. 一种新型稳定的流式细胞术检测 NK 细胞活性的方法 [J]. *白血病·淋巴瘤*, 2015, 24(8): 464-466.
- [22] 杨道锋, 朱慧芬, 梁智辉, 等. 表达增强型绿色荧光蛋白 K562 细胞株的建立及其检测自然杀伤细胞活性的效果评价 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(6): 550-553.
- [23] VIEL S, CHARRIER E, MARÇAIS A, et al. Monitoring NK cell activity in patients with hematological malignancies [J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(9): e26011.
- [24] BORDE S, MATOSEVIC S. Metabolic adaptation of NK cell activity and behavior in tumors: challenges and therapeutic opportunities [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44(11): 832-848.
- [25] BJÖRKSTRÖM N K, STRUNZ B, LJUNGGREN H G. Natural killer cells in antiviral immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(2): 112-123.
- [26] PUJANTELL M, SKENTERIS N T, CLAUSSEN J M, et al. Sex-dependent differences in type I IFN-induced natural killer cell activation [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1277967.
- [27] LETAFATI A, ARDEKANI O S, NADERISEMIROMI M, et al. Unraveling the dynamic mechanisms of natural killer cells in viral infections: insights and implications [J]. *Virol J*, 2024, 21(1): 18.
- [28] MENDOZA-VALDERREY A, ALVAREZ M, DE MARIA A, et al. Next generation immuno-oncology strategies: unleashing NK cells activity [J]. *Cells*, 2022, 11(19): 3147.
- [29] BURKE J D, YOUNG H A. IFN- γ : a cytokine at the right time, is in the right place [J]. *Semin Immunol*, 2019, 43: 101280.
- [30] GOCHER A M, WORKMAN C J, VIGNALI D A A. Interferon- γ : teammate or opponent in the tumour microenvironment? [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(3): 158-172.
- [31] KAK G, RAZA M, TIWARI B K. Interferon-gamma (IFN- γ): exploring its implications in infectious diseases [J]. *Biomol Concepts*, 2018, 9(1): 64-79.
- [32] JORGOVANOVIC D, SONG M, WANG L, et al. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review [J]. *Biomark Res*, 2020, 8: 49.
- [33] MCNERLAN S E, REA I M, ALEXANDER H D. A whole blood method for measurement of intracellular TNF- α , IFN- γ and IL-2 expression in stimulated CD3⁺ lymphocytes; differences between young and elderly subjects [J]. *Exp Gerontol*, 2002, 37(2/3): 227-234.
- [34] LIU T, PENG L, YU P, et al. Increased circulating Th22 and Th17 cells are associated with tumor progression and patient survival in human gastric cancer [J]. *J Clin Immunol*, 2012, 32(6): 1332-1339.
- [35] ARCE M M, UMHOEFER J M, ARANG N, et al. Central control of dynamic gene circuits governs T cell rest and activation [J]. *Nature*, 2025, 637(8047): 930-939.
- [36] CASANOVA J L, MACMICKING J D, NATHAN C F. Interferon- γ and infectious diseases: lessons and prospects [J]. *Science*, 2024, 384(6693): ead12016.
- [37] DING H, WANG G, YU Z, et al. Role of interferon-gamma (IFN- γ) and IFN- γ receptor 1/2 (IFN γ R1/2) in regulation of immunity, infection, and cancer development: IFN- γ -dependent or independent pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155: 113683.
- [38] MORITA Y, HOSOKAWA M, HEIKE Y, et al. Evaluation of cytomegalovirus (CMV)-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) monitoring procedures with tetramer and intracellular IFN- γ assay after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (SCT) [J]. *Blood*, 2004, 104(11): 3161.
- [39] LIN C F, LIN C M, LEE K Y, et al. Escape from IFN- γ -dependent immunosurveillance in tumorigenesis [J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 10.
- [40] ABBAS A K, MURPHY K M, SHER A. Functional diversity of helper T lymphocytes [J]. *Nature*, 1996, 383(6603): 787-793.
- [41] ZHANG X M, LIU C Y, SHAO Z H. Advances in the role of helper T cells in autoimmune diseases [J]. *Chin Med J*, 2020, 133(8): 968-974.
- [42] BASU A, RAMAMOORTHY G, ALBERT G, et al. Differentiation and regulation of T(H) cells: a balancing act for cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 669474.
- [43] ZHU J, YAMANE H, PAUL W E. Differentiation of effector CD4 T cell populations [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445-489.
- [44] CHANG M J, ZHANG S X, ZHAO L, et al. ab0032 abnormal statuses of peripheral CD4⁺ T cell subsets in patients with gout and their changes after receiving combined immunomodulatory therapy [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79: 1318-1319.
- [45] TOKUHIRA M, SAITO S, TANAKA Y, et al. CD14⁻CD15⁺, possible cells are potent myeloid-derived suppressor cells, which affect the pathogenesis of induction and regression in methotrexate-mediated lymphoproliferative disorders [J]. *Blood*, 2016, 128(22): 2946.
- [46] SHOWALTER L, CZERNIECKI B J, KOSKI G K. Th1 cytokines in conjunction with pharmacological Akt inhibition potentiate apoptosis of breast cancer cells in vitro and suppress tumor growth in vivo [J]. *Oncotarget*, 2020,

- 11(30):2873-2888.
- [47] VYAS S P, HANSDA A K, GOSWAMI R. Rheumatoid arthritis: 'melting pot' of T helper subsets[J]. *Int Rev Immunol*, 2019, 38(5):212-231.
- [48] PARONI M, MALTESE V, DE SIMONE M, et al. Recognition of viral and self-antigens by T(H)1 and T(H)1/T(H)17 central memory cells in patients with multiple sclerosis reveals distinct roles in immune surveillance and relapses[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(3):797-808.
- [49] HOKELLO J, TYAGI K, OWOR R O, et al. New insights into HIV life cycle, Th1/Th2 shift during HIV infection and preferential virus infection of Th2 cells; implications of early HIV treatment initiation and care[J]. *Life*, 2024, 14(1):104.
- [50] LYADOVA I V, PANTELEEV A V. Th1 and Th17 cells in tuberculosis: protection, pathology, and biomarkers[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015:854507.
- [51] SCHREIBER S, HAMMERS C M, KAASCH A J, et al. Metabolic interdependency of Th2 cell-mediated type 2 immunity and the tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:632581.
- [52] NAKAYAMA T, HIRAHARA K, ONODERA A, et al. Th2 cells in health and disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35:53-84.
- [53] REUTER M A, POMBO C, BETTS M R. Cytokine production and dysregulation in HIV pathogenesis: lessons for development of therapeutics and vaccines[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2012, 23(4/5):181-191.
- [54] LICONA-LIMÓN P, KIM L K, PALM N W, et al. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(6):536-542.
- [55] WYNN T A. Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(5):271-282.
- [56] PULENDRAN B, ARTIS D. New paradigms in type 2 immunity[J]. *Science*, 2012, 337(6093):431-435.
- [57] FOLEY É M, PARKINSON J T, MITCHELL R E, et al. Peripheral blood cellular immunophenotype in depression: a systematic review and meta-analysis[J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28(3):1004-1019.
- [58] SHI L, WANG J, GUO H X, et al. Circulating Th2 cell reduction and Th1/Th2 imbalance are correlated with primary Sjogren's syndrome-associated interstitial lung disease[J]. *Arthritis Res Ther*, 2022, 24(1):121.
- [59] HOFFMANN J, BERKOWITSCH A, MAS-PEIRO S, et al. Preserved Th2 lymphocytes improve prognosis of diabetic patients undergoing TAVR[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(Suppl 2):ehaa946. 1869.
- [60] MIOSSEC P, KOLLS J K. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(10):763-776.
- [61] GAGLIANI N, AMEZCUA VESELY M C, ISEPPON A, et al. Th17 cells transdifferentiate into regulatory T cells during resolution of inflammation[J]. *Nature*, 2015, 523(7559):221-225.
- [62] PAN Y, YANG W, TANG B, et al. The protective and pathogenic role of Th17 cell plasticity and function in the tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1192303.
- [63] XING J, MAN C, LIU Y, et al. Factors impacting the benefits and pathogenicity of Th17 cells in the tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1224269.
- [64] LUBBERTS E. Th17 cytokines and arthritis[J]. *Semin Immunopathol*, 2010, 32(1):43-53.
- [65] BUNTE K, BEIKLER T. Th17 cells and the IL-23/IL-17 axis in the pathogenesis of periodontitis and immune-mediated inflammatory diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(14):3394.
- [66] CHEN L, RUAN G, CHENG Y, et al. The role of Th17 cells in inflammatory bowel disease and the research progress[J]. *Front Immunol*, 2023, 13:1055914.
- [67] RATHORE J S, WANG Y. Protective role of Th17 cells in pulmonary infection[J]. *Vaccine*, 2016, 34(13):1504-1514.
- [68] YERO A, BOUASSA R M, ANCUTA P, et al. Immunometabolic control of the balance between Th17-polarized and regulatory T-cells during HIV infection[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2023, 69:1-13.
- [69] ROWAN A G, FLETCHER J M, RYAN E J, et al. Hepatitis C virus-specific Th17 cells are suppressed by virus-induced TGF-beta[J]. *J Immunol*, 2008, 181(7):4485-4494.
- [70] VAN EDEN W, VAN DER ZEE R, VAN KOOTEN P, et al. Balancing the immune system: Th1 and Th2[J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(Suppl 2):S25-S28.
- [71] SHANG Q, YU X, SUN Q, et al. Polysaccharides regulate Th1/Th2 balance: a new strategy for tumor immunotherapy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170:115976.
- [72] LEE S Y, LE D D, BAE C S, et al. Oleic acid attenuates asthma pathogenesis via Th1/Th2 immune cell modulation, TLR3/4-NF-κB-related inflammation suppression, and intrinsic apoptotic pathway induction[J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1429591.

(收稿日期:2025-11-20 修回日期:2026-02-13)

(本文编辑:宣艳艳 张耀元)