

CD157 联合 FLAER 在流式细胞术检测 PNH 克隆中的临床应用^{*}

董晓雅,田瑞丰,阎树昕,陈春燕,李国盛[△]
山东大学齐鲁医院血液科,山东济南 250012

摘要:**目的** 探讨 CD157 联合 FLAER 在流式细胞术检测阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆中的临床应用价值。**方法** 回顾性分析 2021 年 9 月至 2025 年 4 月该院 1 085 份外周血样本 PNH 筛查数据(PNH 阳性 159 例,阴性 926 例)。采用包含 CD157 与 FLAER 的五色流式细胞术(FCM)方案对样本进行 PNH 克隆检测,并用经典六色 FCM 方案验证,观察、分析单核细胞群和粒细胞群中 CD157 和 FLAER 标志物的表达情况。**结果** 159 例 PNH 患者中男 69 例,女 90 例,发病年龄为 48.07(9.00~82.00)岁。经典型 PNH 占 38.99%,发病高峰年龄为 20~<50 岁;PNH 合并其他骨髓衰竭性疾病(PNH/BMF)型占 50.31%,发病高峰年龄为 50~<80 岁;亚临床型 PNH 占 10.69%。对 159 例 PNH 克隆频数分布分析结果显示,PNH 病例呈现明显两极分化:小型克隆($\leq 10\%$)与大型克隆($> 70\%$)集中分布。小型克隆与 PNH/BMF 显著相关,大型克隆则与经典型 PNH 显著相关。中性粒细胞与单核细胞克隆具有高度一致性,多数 PNH 克隆同时累及中性粒细胞、单核细胞,并发现 3 例主要累及单核细胞的 PNH 克隆。**结论** CD157 联合 FLAER 单管五色方案在 PNH 流式细胞诊断中具备临床可行性及经济实用性。但同时需要结合分析经验排除 CD157 的假性缺失,或者使用非 SY11B5 克隆的抗体,以获得更可靠的临床结果。

关键词:CD157; FLAER; 流式细胞术; 阵发性睡眠性血红蛋白尿症

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2026.16.004 **中图法分类号:**R446.6;R556.7

文章编号:1673-4130(2026)16-1943-07 **文献标识码:**A

Clinical application of CD157 combined with FLAER in the detection of PNH clones by flow cytometry^{*}

Dong Xiaoya, Tian Ruifeng, Yan Shuxin, Chen Chunyan, Li Guosheng[△]

Department of Hematology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China

Abstract:**Objective** To explore the clinical application value of CD157 combined with FLAER in the detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) clones by flow cytometry. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the PNH screening data of 1 085 peripheral blood samples (159 positive cases and 926 negative cases) from the hospital from September 2021 to April 2025. A five-color flow cytometry (FCM) protocol including CD157 and FLAER was used to detect PNH clones in the samples, and a classic six-color FCM protocol was used for verification. The expression of CD157 and FLAER markers in the monocyte and granulocyte populations was assessed and analyzed. **Results** Among the 159 PNH patients (69 male, 90 female), the average age at diagnosis was 48.07 (range from 9.00 to 82.00) years. The classical PNH accounted for 38.99%, with the peak age of onset 20—<50 years, PNH combined with other bone marrow failure (PNH/BMF) type accounted for 50.31%, with the peak age of onset 50—<80 years, and subclinical PNH accounted for 10.69%. The analysis of the frequency distribution of PNH clones in 159 cases showed that PNH cases presented a significant two-pole differentiation: small clones ($\leq 10\%$) and large clones ($> 70\%$). Small clones were significantly correlated with PNH/BMF, while large clones were significantly correlated with the classical PNH. Neutrophils and monocytes had a high degree of consistency in clones, and most PNH clones involved both neutrophils and monocytes. Three cases of PNH clones exhibited mainly monocyte-restricted PNH clones. **Conclusion** The CD157 combined with FLAER single-tube five-color scheme has clinical feasibility and economic practicability in the flow cytometry diagnosis of PNH. However, it is necessary to combine

^{*} 基金项目:山东省医学会流式细胞术淋巴细胞亚群动态监测临床科研专项(YXH2022ZX03215)。

作者简介:董晓雅,女,技师,主要从事血液病诊断研究。 [△] 通信作者, E-mail: liguosheng0714@163.com。

with analysis experience to rule out the false absence of CD157, or to use antibodies from non-SY11B5 clones to obtain more reliable clinical results.

Key words:CD157; FLAER; flow cytometry; paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)是一种后天获得性造血干细胞基因突变的良性克隆性疾病^[1],其发病机制主要是造血干细胞中染色体 Xp22.1 上的PIG-A 基因突变,导致血细胞膜糖化磷脂酰肌醇(GPI)锚部分或完全合成障碍,细胞膜被补体过度破坏,进而引起溶血、血红蛋白尿等^[2-4]。近年来,采用流式细胞术(FCM)检测 GPI 相关分子的缺失已成为诊断和监测 PNH 的常规方法。目前建议的高灵敏度 PNH 中性粒细胞检测组合包含 FLAER、CD15、CD24 和 CD45^[5-6]。然而,检测组合包含过多分子会增加检测成本,亦对流式细胞仪配置提出更高要求,故需要探索更多的组合。CD157 是一种 GPI 锚蛋白,可同时在中性粒细胞和单核细胞表面表达^[7],已有研究表明,CD157 在 PNH 检测中具有潜在应用价值^[8],但其作用仍需在真实临床工作中进一步验证。本研究拟评估 CD157 联合 FLAER 在识别中性粒细胞和单核细胞中 PNH 克隆的临床可行性,以便提高对该病的认识,进而促进该病的诊断和规范化治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性收集 2021 年 9 月至 2025 年 4 月本院检测的共计 1 085 份外周血样本 PNH 筛查数据,将 PNH 阳性的 159 例患者纳入研究。筛查时 PNH 阳性前三位科室依次为血液科、急诊科、小儿内科。通过综合临床特征、细胞形态学、流式细胞术检测等检查结果,参照《阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国指南(2024 年版)》^[5]进行诊断和分类。159 例 PNH 患者均表现出典型 PNH 的临床症状,或存在无法解释的贫血、溶血或全血细胞减少。其中男 69 例,女 90 例,男女发病比例为 1:1.3;发病年龄 9~82 岁,平均发病年龄为 48.07 岁。本研究经山东

大学齐鲁医院机构审查委员会批准(伦理批件号: KYLL-2025-09-082-1),符合《赫尔辛基宣言》伦理要求。

1.2 仪器与试剂 仪器:Navios 型流式细胞仪购自 Beckman Coulter 公司。流式试剂:Alexa-488 标记 FLAER 购自 Cedarlane Laboratories 公司,PE 标记抗 CD24 抗体(克隆号:ALB9)、PE 标记抗 CD157 抗体(克隆号:SY/11B5)、KO 标记抗 CD45 抗体(克隆号:HI30)购自 Beckman Coulter 公司,PE-Cy7 标记抗 CD64 抗体(克隆号:10.1)、V450 标记抗 CD15 抗体(克隆号:MMA)、APC 标记抗 CD14 抗体(克隆号:MφP9)均购自 BD Biosciences 公司。

1.3 方法

1.3.1 样本处理及检测 使用 200 μm 的滤网将含有乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝剂的外周血进行过滤,通过移液枪吸取过滤后的外周血样本[白细胞计数(1~10)×10⁶个]至流式管中,按照抗体说明书加入相应体积的抗体,于振荡仪充分混匀后室温避光孵育 15 min;然后加入 2 mL BD FACS™ 溶血素裂解红细胞,振荡混匀后室温避光 10 min;400×g 离心 5 min 后弃上清,加入 3 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)清洗样本,400×g 离心 5 min,然后弃上清,加 400 μL PBS 重悬细胞,上机检测。流式细胞仪参数设置按照 Navios 机型推荐的标准化流程,包括光电倍增管电压设定、阈值调整、荧光补偿校准及质控程序。每管样本至少采集 100 000 个细胞。对于总白细胞计数极低的样本,持续采集直至细胞悬液耗尽。

1.3.2 抗体染色方案 对所有纳入研究的 PNH 筛查病例采用五色 FCM 方案,对部分 PNH 病例进行经典六色 FCM 验证方案。通过 Kaluza 分析软件划分中性粒细胞群和单核细胞群。见表 1。

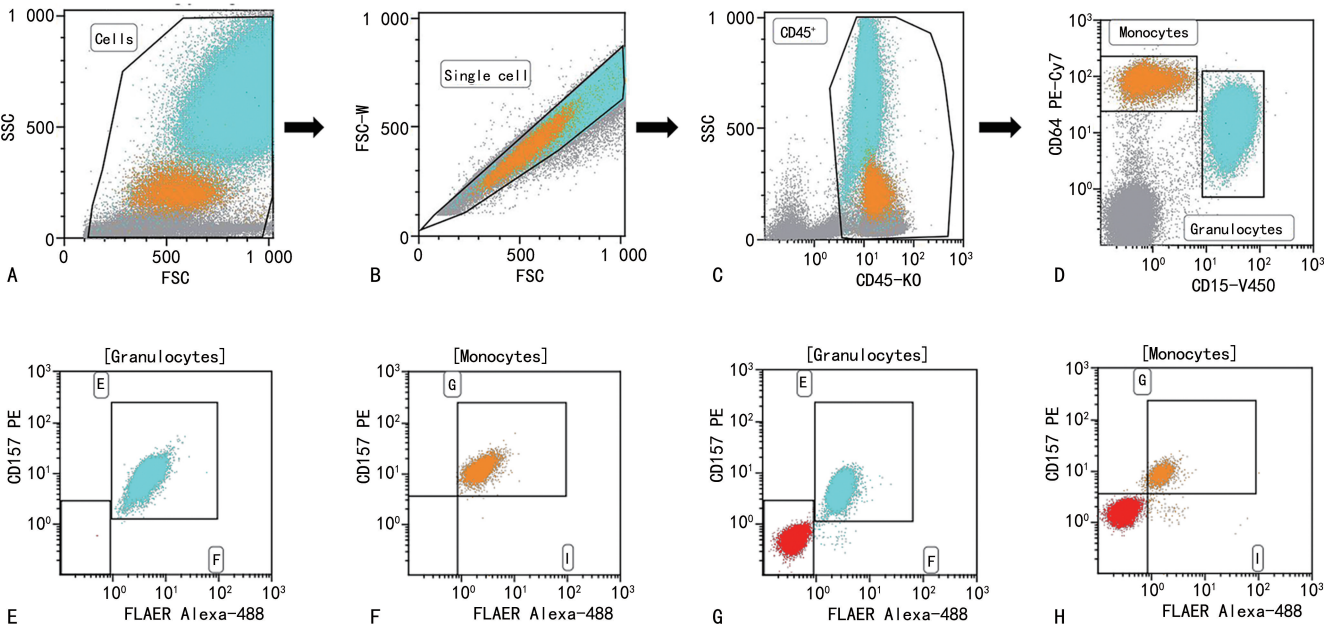
表 1 抗体染色方案

方案	细胞	抗体					
五色 FCM	粒-单核细胞	FLAER-Alexa-488	CD45-KO	CD15-V450	CD64-PE-Cy7	CD157-PE	—
六色 FCM	粒-单核细胞	FLAER-Alexa-488	CD45-KO	CD15-V450	CD64-PE-Cy7	CD14-APC	CD24-PE

注:—表示无数据。

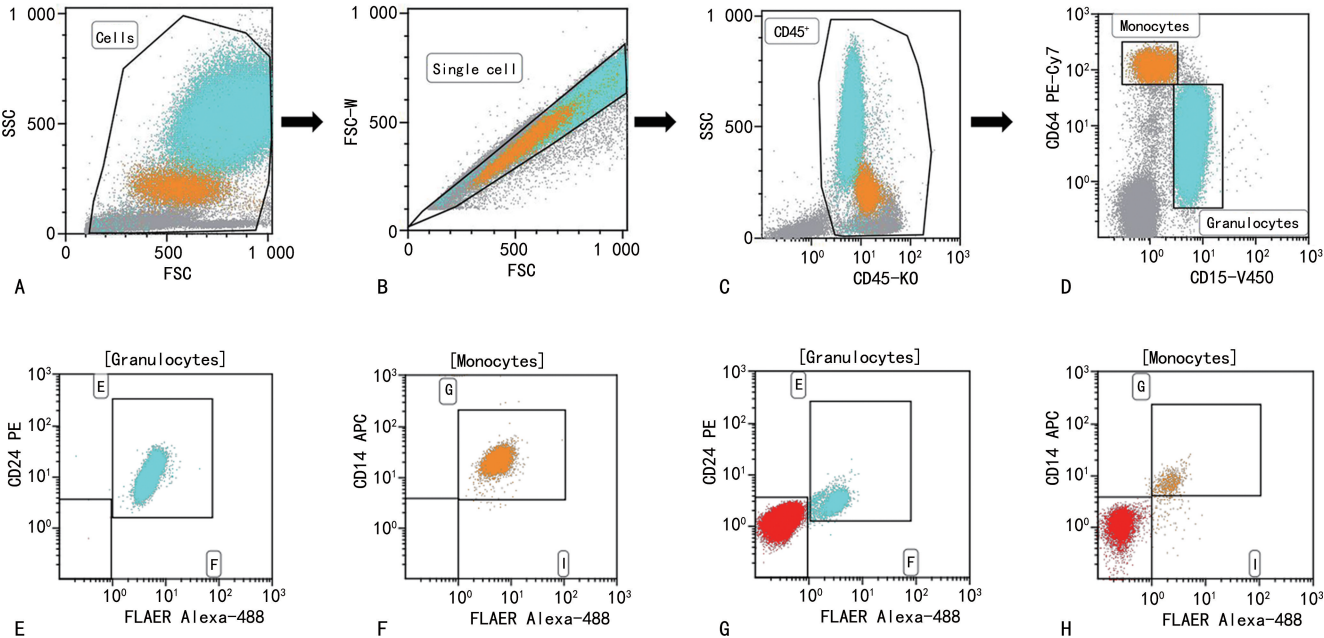
1.3.3 PNH 检测的圈门策略 单管五色 PNH 检测白细胞圈门策略:首先,在前向散射光(FSC)和侧向散射光(SSC)门中圈出所有细胞;然后,通过 FSC-A 和 FSC-W 圈出单个细胞群,利用 CD45 和 SSC 圈出 CD45 阳性白细胞,通过 CD15 阳性和 CD64 弱阳性圈出中性粒细胞群,通过 CD15 阴性和 CD64 强阳性圈

出单核细胞群;最后,观察中性粒细胞群和单核细胞群中 CD157 和 FLAER 标志物的表达情况(图 1)。单管六色 PNH 检测圈门策略中,圈出中性粒细胞和单核细胞群体的方式同上,不同点是分别观察 CD24 和 FLAER 在中性粒细胞群及 CD14 和 FLAER 在单核细胞群的表达水平(图 2)。



注:A 为使用 FSC 和 SSC 圈出所有细胞群体;B 为使用 FSC-A 和 FSC-W 去除粘连细胞圈出单个细胞群;C 为使用 CD45 和 SSC 圈出 CD45 阳性的白细胞群体;D 为使用 CD15 和 CD64 分别圈出 CD15 阳性 CD64 弱阳性的中性粒细胞群体(蓝色)和 CD15 阴性 CD64 强阳性的单核细胞群体(橙色);E 为 PNH 克隆阴性的中性粒细胞群为 CD157 和 FLAER 正常表达细胞表型;F 为 PNH 克隆阴性的单核细胞群为 CD157 和 FLAER 正常表达细胞表型;G 为 PNH 克隆阳性的粒细胞群(红色)为 CD157 和 FLAER 表达缺失;H 为 PNH 克隆阳性的单核细胞群(红色)为 CD157 和 FLAER 表达缺失;KO 为克罗姆橙荧光素, Alexa-488 为亮绿色荧光染料, PE 为藻红蛋白荧光素, PE-Cy7 为藻青蛋白 7 荧光素, V450 为钙紫蓝荧光素, Granulocytes 为中性粒细胞($CD45^{+}CD15^{+}CD64^{low}$), Monocytes 为单核细胞($CD45^{+}CD64^{high}CD15^{-}$)。

图 1 单管五色的 PNH 检测圈门策略



注:A 为使用 FSC 和 SSC 圈出所有细胞群体;B 为使用 FSC-A 和 FSC-W 去除粘连细胞圈出单个细胞群;C 为使用 CD45 和 SSC 圈出 CD45 阳性的白细胞群体;D 为使用 CD15 和 CD64 分别圈出 CD15 阳性 CD64 弱阳性的中性粒细胞群体(蓝色)和 CD15 阴性 CD64 强阳性的单核细胞群体(橙色);E 为 PNH 克隆阴性的中性粒细胞群为 CD24 和 FLAER 正常表达细胞表型;F 为 PNH 克隆阴性的单核细胞群为 CD14 和 FLAER 正常表达细胞表型;G 为 PNH 克隆阳性的中性粒细胞群(红色)为 CD24 和 FLAER 表达缺失;H 为 PNH 克隆阳性的单核细胞群(红色)为 CD14 和 FLAER 表达缺失, Granulocytes 为中性粒细胞($CD45^{+}CD15^{+}CD64^{low}$), Monocytes 为单核细胞($CD45^{+}CD64^{high}CD15^{-}$)。

图 2 单管六色的 PNH 检测圈门策略

1.4 统计学处理 采用 SPSS27.0 和 Graphad-Prism10.0 完成统计分析与制图, 计量资料采用中位数(最小值~最大值)表示, 计数资料采用例数或百分率表示。采用 Shapiro-Wilk 检验分析组内 PNH 克隆频数

分布特征, 采用 Pearson 相关系数法分析组间 PNH 克隆频数的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PNH 患者临床类型及年龄分布 159 例患者

中,经典型 PNH 占 38.99%(62 例),PNH 合并其他骨髓衰竭性疾病(PNH/BMF)型占 50.31%(80 例),亚临床型 PNH 占 10.69%(17 例)。中性粒细胞 PNH 克隆大小 34.13%(0.02%~99.78%),单核细胞 PNH 克隆大小 36.65%(0.08%~99.67%)。对患者初诊时的年龄分布进行分析显示,经典型 PNH 的高发群体为 20~<50 岁,占 56.45%,而 PNH/BMF 的高发群体则主要集中在 50~<80 岁,占 61.25%,见表 2。

2.2 PNH 克隆分布特点及其与疾病的关系 159 例 PNH 患者中性粒细胞及单核细胞 PNH 克隆频数分布比较差异有统计学意义($P<0.001$),并且病例呈明显两极分化:小型克隆($\leq 10\%$)与大型克隆($>70\%$)集中分布。根据国际指南新版临床分型,3 类临床亚型中性粒细胞及单核细胞 PNH 克隆分布见表 3。以中性粒细胞为例,PNH/BMF 型 PNH 克隆均值为

6.94%,呈现向小型克隆倾斜的分布特征。相反,经典型 PNH 克隆均值为 77.75%,则表现为向大型克隆倾斜的分布。见图 3、4。

表 2 不同临床类型 PNH 患者的年龄分布(n)

年龄段(岁)	经典型 PNH (n=62)	PNH/BMF 型 (n=80)	亚临床型 PNH (n=17)	总例数 (n=159)
0~<10	0	1	0	1
10~<20	1	3	0	4
20~<30	20	9	2	31
30~<40	9	12	0	21
40~<50	7	6	2	15
50~<60	9	18	7	34
60~<70	10	19	5	34
70~<80	5	12	1	18
80~<90	1	0	0	1

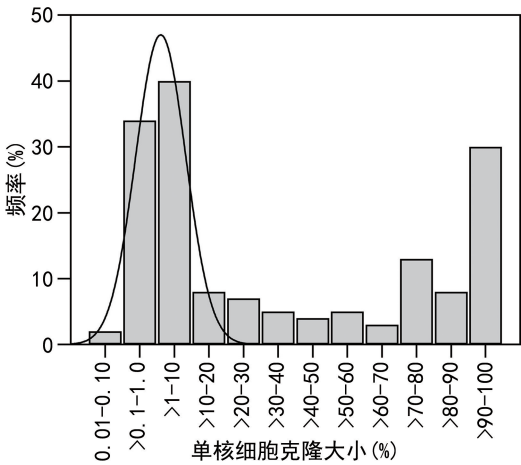
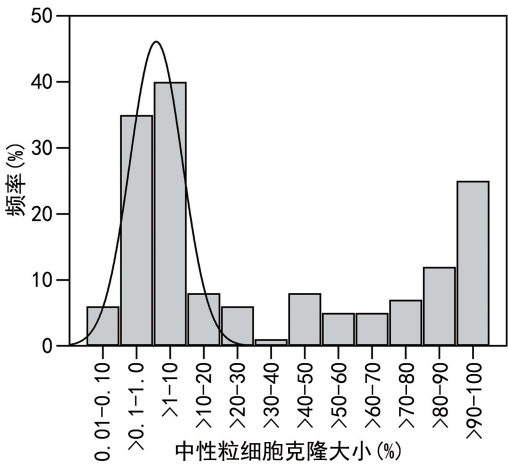


图 3 PNH 患者中性粒细胞及单核细胞 PNH 克隆分布

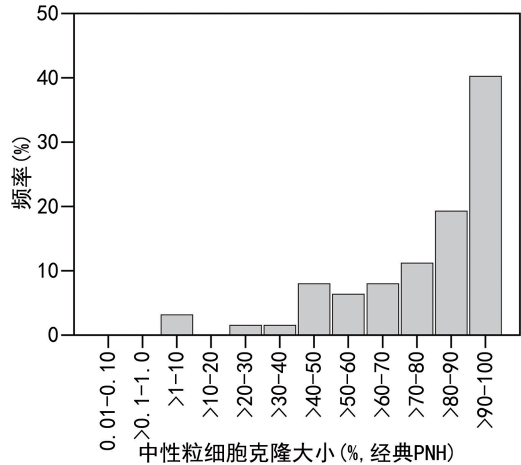
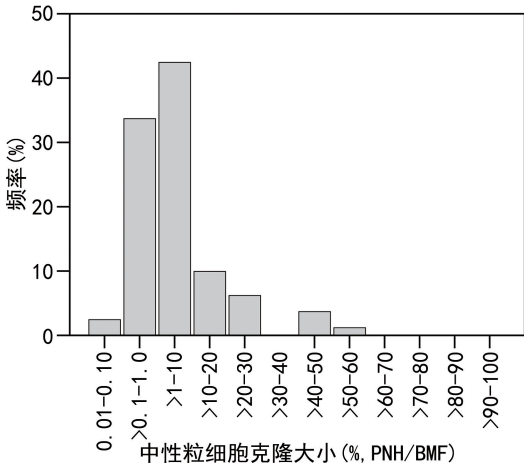


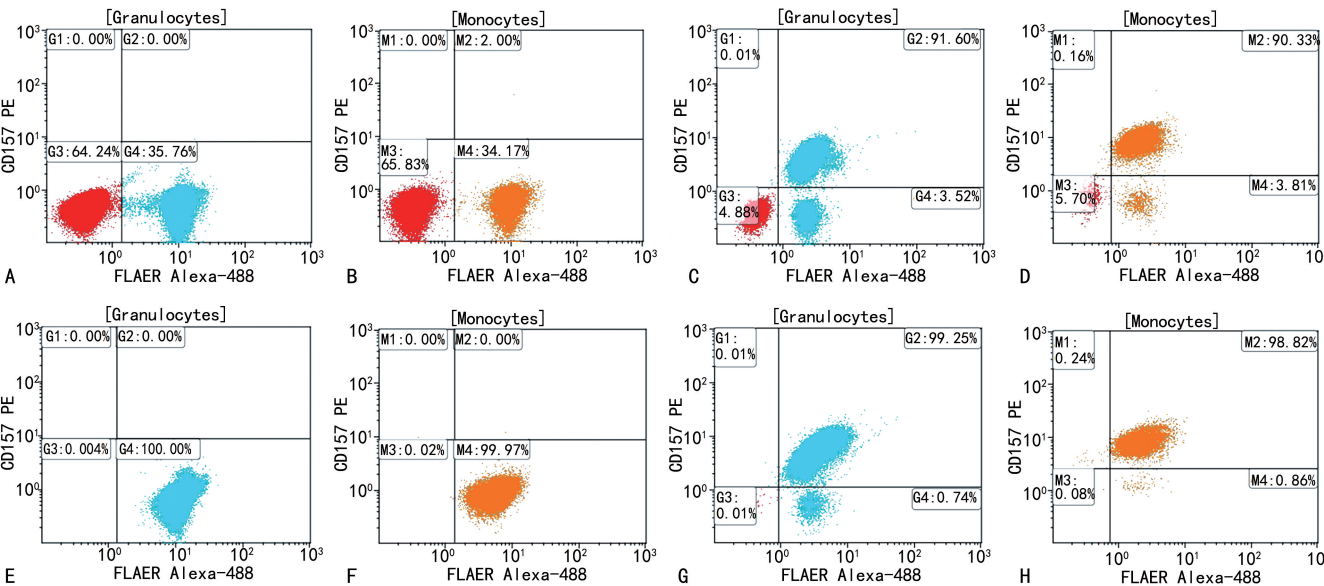
图 4 PNH/BMF 及经典型 PNH 中性粒细胞克隆分布

2.3 CD157 在中性粒细胞及单核细胞膜表面表达缺失情况 在 PNH 阳性病例中,存在 7 例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 完全阴性的细胞群,存在 3 例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性、CD157 部分阴性的细胞群。在 PNH 阴性病例中,存

在 54 例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 完全阴性的细胞群,17 例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 部分阴性的细胞群,见图 5。基于检测样本中粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 缺失情况进行统计,结果显示,PNH 阳性克隆

和阴性克隆中性粒细胞和单核细胞均会出现 CD157 表达缺失的现象,见表 4。

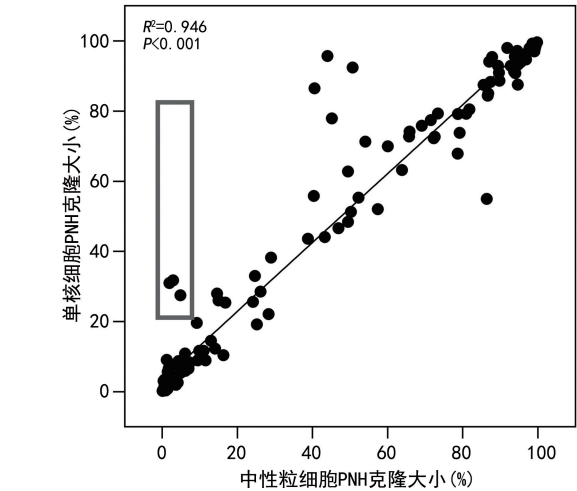
2.4 PNH 克隆与细胞类型的关系 Pearson 相关系数法分析结果显示,中性粒细胞与单核细胞 PNH 克隆规模呈高度相关性($R^2 = 0.946, P < 0.001$)。然而,少数病例存在主要累及单核细胞(即中性粒细胞克隆 $<5\%$ 且单核细胞克隆 $>20\%$,共 3 例)的分布模式。见图 6。



注:A、B 为 PNH 阳性克隆病例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 表达完全缺失;C、D 为 PNH 阳性克隆病例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 表达部分缺失;E、F 为 PNH 阴性克隆病例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 表达完全缺失;G、H 为 PNH 阴性克隆病例中性粒细胞和单核细胞 FLAER 阳性 CD157 表达部分缺失;Granulocytes 为中性粒细胞($CD45^+ CD15^+ CD64^{low}$),Monocytes 为单核细胞($CD45^+ CD64^{high} CD15^-$)。

图 5 FLAER 表达阳性的中性粒细胞及单核细胞群 CD157 表达缺失现象

表 4 CD157 表达缺失情况分析[n(%)]			
类型	n	CD157 完全缺失	CD157 部分缺失
PNH 阳性	159	7(4.40)	3(1.89)
PNH 阴性	926	17(1.84)	54(5.83)



注:矩形框区域表示主要累及单核细胞(3 例)。
图 6 中性粒细胞和单核细胞的 PNH 克隆大小相关性分析

表 3 不同临床类型 PNH 患者的克隆分布 [中位数(最小值~最大值), %]

PNH 克隆	经典型 PNH (n=62)	PNH/BMF (n=80)	亚临床型 PNH (n=17)
中性粒细胞	77.75(6.95~99.78)	6.94(0.06~50.19)	1.08(0.02~9.42)
单核细胞	80.75(6.64~99.67)	9.98(0.08~62.85)	1.35(0.10~8.99)

3 讨 论

PNH 的主要特征是血管内溶血,进而导致一系列症状,包括贫血、疲劳、气短、平滑肌张力障碍和尿液颜色加深^[9]。虽然 PNH 是一种良性疾病,但却存在致命风险,其发病率和病死率较高,并与骨髓衰竭和血栓形成相关。在传统的治疗方案下,患者 10 年总生存(OS)率在 70.7%~77.6%,生存率及生活质量亟待提高^[10]。虽然补体抑制剂的应用一定程度上改变了 PNH 的治疗格局,但异基因造血干细胞移植仍然是唯一的治愈选择。因此,早期诊断和治疗对改善 PNH 患者预后至关重要^[11]。

从 20 世纪初,国内外开始利用流式细胞术检测中性粒细胞和红细胞上的 CD55 和 CD59,并提出标准化流程,此举对 PNH 的临床诊断提供了很大的帮助。但因其敏感性较低,一般认为存在 10%以上的 CD55 和 CD59 缺失才具有意义,对于小克隆或跟骨髓衰竭性疾病交叉的 PNH 作用有限。随后国际临床细胞计量学会(ICCS)不断推出系列 PNH 流式检测指南极大促进了全球 PNH 诊断的标准化^[12-13]。CD157 作为

在髓系血细胞中高表达的 GPI 锚定蛋白,同时表达于骨髓基质细胞、滑膜细胞、内皮细胞等细胞类型,已有研究评估了 CD157 在 PNH 诊断中替代 CD24 和 CD14 的适用性,并初步展现了较好的诊断性能^[7-8],但 CD157 在临床工作中评估 PNH 克隆的能力和实际遇到的问题仍有待探讨。

本研究结果显示,送检样本筛查阳性率为 14.65%,中位年龄为 48 岁,在发病年龄上与相关报道基本一致^[14-15]。PNH 的临床表现多样且缺乏特异性,因此患者首次就诊的科室往往取决于其最突出的症状,这使得首诊科室非常分散,常见于血液科、肾内科或泌尿科、消化内科、急诊科等。PNH 患者首诊科室主要集中于血液科,其他科室对于 PNH 的筛查重视程度往往不够,这也是公认导致 PNH 诊断延迟的重要原因之一^[16]。因此,提高非血液科室医生对 PNH 的认知至关重要。由于 PNH 是罕见病,在普通人群中大规模筛查成本效益低,但在高危人群(全血细胞减少、溶血性贫血、血栓形成、血红蛋白尿等患者)中强化筛查具有极其重要的临床意义。

既往研究显示,我国 PNH 患者,经典型 PNH 占 65.3%,合并骨髓衰竭性疾病占 28.3%,亚临床型占 6.4%,以经典型多见^[15]。本研究结果显示,在 159 例 PNH 患者中,PNH/BMF 型占 50.31%。PNH 与骨髓衰竭关联的确切机制尚不完全清楚,但有研究提示再生障碍性贫血患者中有 30%~70%存在 PNH 克隆^[17],近年来伴随 PNH 克隆筛查的普及,越来越多的初诊全血细胞减少患者进行了筛查,因此本研究 PNH/BMF 型患者比例有所提升。

本研究中性粒细胞及单核细胞的 PNH 克隆规模频数分布结果显示,两类细胞的 PNH 克隆均呈现双峰分布模式,且以中性粒细胞克隆分布为例,PNH/BMF 组以“左偏”分布的小型克隆为主,而经典 PNH 则以“右偏”分布的大型克隆为主。这与文献^[18]报道的结果一致,即较小 PNH 克隆往往在亚临床型或以骨髓衰竭为主要表现的患者中出现,而以经典 PNH 表现为主者,PNH 克隆往往较大,平均大小超过 70%。本研究结果表明,中性粒细胞及单核细胞亚群具有高度一致性,仅 3 例为单核细胞 PNH 克隆阳性而中性粒细胞阴性,究其原因,考虑为单核细胞获取数目较粒细胞低,可能造成不一致性,应该联合红细胞结果综合分析。另外,应注意主要单核细胞型病例的存在,不宜仅将中性粒细胞作为 PNH 克隆筛查的白细胞。

利用包含 CD157 在内的五色 FCM 方案进行 PNH 分析时,与其他研究类似^[19],本研究结果发现存在孤立的 CD157 信号丢失现象,即在中性粒细胞和单核细胞上均出现 CD157 缺失而 FLAER 正常。但是,

本研究利用包含 CD24 和 CD14 的六色 FCM 方案验证发现并未出现缺失现象,这提示 CD157 单纯缺失有可能与所用抗体有关。本研究所用 CD157 克隆号为 SY11B5,Blaha 等^[19]发现,部分 CD157 阴性非 PNH 病例,其 CD157 编码基因第三外显子存在单核苷酸多态性(p. Arg145Gln),导致使用 SY11B5 克隆抗体无法被检测到。本研究 PNH 阴性患者出现 7.67%的 CD157 假性缺失,而阳性患者比例为 6.29%,这与 Zhang 等^[20]报道的 5.75%相近。本研究发现,PNH 阴性和阳性患者中都出现了完全缺失和部分缺失现象。基于 CD157 的假性缺失现象,不推荐直接用 CD157 替代 FLAER 的方案。此外,有报道证实,CD157 在 PNH 应用中分群能力更佳,且能更好地区分 II 型 PNH 克隆^[21],尽管这种区分目前的临床生物学意义尚不明确,但一定程度上提示 CD157 分子相对于其他 GPI 锚定蛋白在白细胞表面分布密度更大。相较于 CD24 和 CD14 分别用于代表中性粒细胞和单核细胞的锚蛋白,CD157 可以同时在上述两类细胞表面表达,搭配方案中能少用一个通道,对于配置不高的流式细胞仪,该方案是一种选择,并且采用包含 CD157 的五色分析可显著降低检测成本。如果能克服由特殊克隆抗体造成的假性缺失问题,未来可以探讨 CD157 替代 CD24 和 CD14 联合 FLAER 在 PNH 中的应用。

采用 FCM 检测白细胞 PNH 克隆时,白细胞的设门非常重要,却也是容易被忽视的部分,指南及共识^[22]建议 CD15 和 CD64/CD33 为区分中性粒细胞和单核细胞的标志分子,但有研究报道了因急性髓系白血病高表达 CD33 而被误设成单核细胞而造成 PNH 假阳性的病例,故与基于 CD33 的设门相比,基于 CD64 显示的单核细胞群集更为清晰^[23]。另一方面,嗜酸性粒细胞因具有中性粒细胞同程度的侧向信号但不表达 CD16 和 FLAER,如果混入中性粒细胞门,会造成 PNH 假阳性,可通过 CD15 严格设门和对此现象的认识进而可以避免这个问题。在骨髓样本或治疗后恢复期及感染等外周血样本中可能存在不成熟粒细胞,其 GPI 蛋白表达可能减弱,造成假阳性,这可以利用成熟度表达或 CD64/CD15 的精确设门来排除。

本研究也存在一定的局限性,本次纳入的为单中心回顾性数据,样本量有限,存在地域局限性,只应用了 SY11B5 克隆的 CD157 抗体,所有样本均为外周血样本,骨髓样本是否一致并没有验证,这些因素可能对结果存在影响。

总之,本研究利用单管五色方案探究 CD157 联合 FLAER 在上千例的临床筛选中识别粒细胞和单核细胞 PNH 克隆的诊断性能,结果表明,在 PNH 流式细

胞术诊断方案中上述方案可行,但需要分析经验以排除 CD157 的假性缺失或者使用非 SY11B5 克隆的抗体以获得更可靠的临床结果。

参考文献

[1] Godby R C, Shah S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. Mayo Clinic Proc, 2025, 100(12): 2206-2227.

[2] Ussowicz M, Przystupski D, Mensah-Glanowska P, et al. Current status and perspectives of hematopoietic cell transplantation in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Front Immunol, 2025, 15: 1521484.

[3] Risitano A M, Frieri C, Urciuoli E, et al. The complement alternative pathway in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; from a pathogenic mechanism to a therapeutic target [J]. Immunol Rev, 2023, 313(1): 262-278.

[4] Luzzatto L, Nakao S. Pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Blood, 2025, 145(26): 3077-3088.

[5] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国指南(2024 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2024, 45(8): 727-737.

[6] Sutherland D R, Illingworth A, Marinov I, et al. ICCS/ES-CCA Consensus guidelines to detect GPI-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders. Part 2: reagent selection and assay optimization for high-sensitivity testing[J]. Cytom Part B Clin, 2018, 94(1): 23-48.

[7] Seth N, Mahajan V, Kedia S, et al. Utility of FLAER and CD157 in a five-color single-tube high sensitivity assay, for diagnosis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH): a standalone flow cytometry laboratory experience[J]. Int J Lab Hematol, 2021, 43(2): 259-265.

[8] Bahroun S, Lakhal F B, ElBorgi W, et al. Contribution and limits of CD157 in the detection of the paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone: a case report[J]. Ann Biol Clin, 2021, 79(4): 356-360.

[9] 李丽燕, 付蓉. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国指南(2024 年版)解读[J]. 中华血液学杂志, 2024, 45(12): 1071-1077.

[10] Brodsky R A. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Blood, 2021, 137(10): 1304-1309.

[11] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症克隆筛查及补体抑制剂治疗监测中国专家共识(2024 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2024, 45(2): 109-114.

[12] Illingworth A, Marinov I, Sutherland D R, et al. ICCS/ESCCA Consensus guidelines to detect gpi-deficient cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and related disorders. Part 3: data analysis, reporting and case

studies[J]. Cytom Part B Clin, 2018, 94(1): 49-66.

[13] 中国生物工程学会细胞分析专业委员会, 中国免疫学会血液免疫分会临床流式细胞术学组, 中华医学会血液学分会红细胞学组. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症流式细胞术检测中国专家共识(2021 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2021, 42(4): 281-287.

[14] Fu R, Li L, Li L, et al. Analysis of clinical characteristics of 92 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a single institution experience in China[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(1): e23008.

[15] Du Y, Yang Y, Yang C, et al. Clinical characteristics of 512 eculizumab-naive paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients in China: a single-center observational study [J]. Hematology, 2022, 27(1): 113-121.

[16] Dingli D, Matos J E, Lehrhaupt K, et al. The burden of illness in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving treatment with the C5-inhibitors eculizumab or ravulizumab: results from a US patient survey [J]. Ann Hematol, 2022, 101(2): 251-263.

[17] Babushok D V. When does a PNH clone have clinical significance? [J]. Hematology, 2021, 2021(1): 143-152.

[18] Cannizzo E, Raia M, De Propriis M S, et al. Features, reason for testing, and changes with time of 583 paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones from 529 patients: a multicenter Italian study[J]. Ann Hematol, 2019, 98(5): 1083-1093.

[19] Blaha J, Schwarz K, Fischer C, et al. The monoclonal anti-CD157 antibody clone SY11B5, used for high sensitivity detection of PNH clones on WBCs, fails to detect a common polymorphic variant encoded by BST-1 [J]. Cytom Part B Clin, 2018, 94(4): 652-659.

[20] Zhang Y, Ding J, Gu H, et al. Diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with flow cytometry panels including CD157: data from the real world[J]. Cytom B Clin Cytom, 2020, 98(2): 193-202.

[21] Correia R P, Bento L C, Bortolucci A C, et al. Technical advances in flow cytometry-based diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria[J]. Einstein (Sao Paulo), 2016, 14(3): 366-373.

[22] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会. 淋巴细胞功能流式细胞术检测专家共识[J]. 国际检验医学杂志, 2026, 47(5): 522-531.

[23] Dalal B I, Khare N S. Flow cytometric testing for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; CD64 is better for gating monocytes than CD33 [J]. Cytom B Clin Cytom, 2013, 84(1): 33-36.