

Th1/Th2 细胞因子及淋巴细胞亚群在成人淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症中的表达及临床意义

陈朝伦 李铭杰 刘亚楠 王宏 关则兵 潘学谊

广东药科大学附属第一医院血液科, 广州 510080

通信作者: 潘学谊, Email: xypan88@163.com

基金项目: 广东省自然科学基金(2017A030313664); 广州市越秀区科技计划(2017-W S-008)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.015

Expression and its implications of Th1/Th2 cytokines and lymphocyte subsets in adult patients with lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis

Chen Chaolun, Li Mingjie, Liu Ya'nan, Wang Hong, Guan Zebing, Pan Xueyi

Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Pan Xueyi, Email: xypan88@163.com

噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH)是一种少见而危重的疾病,淋巴瘤是导致HLH的重要病因之一。淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(LA-HLH)主要发生于成人^[1]。根据发生时间分为“淋巴瘤诱导的HLH”和“化疗期合并的HLH”。目前HLH的发病机制尚未明确,大多数学者认为免疫系统参与了HLH的发病过程,相关文献报道了Th1/Th2细胞因子及淋巴细胞亚群表达情况分别在儿童HLH及恶性淋巴瘤中监测免疫功能及病情发生发展预后的意义^[2-5],但Th1/Th2细胞因子及淋巴细胞亚群表达情况在成人LA-HLH的研究较少,尚未明确Th1/Th2细胞因子及淋巴细胞亚群在成人LA-HLH中的意义。本研究中,我们就我院58例初诊LA-HLH患者治疗过程中Th1/Th2细胞因子及淋巴细胞亚群表达情况进行分析,探讨Th1/Th2细胞因子及淋巴细胞亚群与成人LA-HLH的关系。

病例与方法

1. 研究对象: 病例来自我院血液内科2015年1月至2018年7月收治的64例成人LA-HLH患者,排除6例无淋巴瘤病史或病因未明确的患者,以58例LA-HLH患者作为LA-HLH组(LA-HLH组初诊时定义: 患者满足HLH-04诊断标准时间; LA-HLH病例组初次治疗后定义: 诊断成立后针对噬血治疗结束时间),原发病均经临床及病理共同确诊。选取同期在本院接受治疗的678例淋巴瘤未合并HLH患者作为淋巴瘤组。以同期在我院进行体检的20例健康志愿者为对照组。

2. 治疗方法: HLH-94治疗方案包含了依托泊苷、大剂量地塞米松,合并中枢神经侵犯的患者鞘内注射甲氨蝶呤。

3. 标本采集与检测: 三组研究对象均于早晨空腹状态下

抽取外周血。淋巴细胞亚群应用流式细胞仪抗体双标法检测;血清细胞因子应用流式微球阵列技术进行定量分析。

4. 统计学处理: LA-HLH组、淋巴瘤组与健康对照组之间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验,两两比较采用Bonferroni法进行校正; LA-HLH组患者初诊时和初次治疗后比较采用配对非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 一般临床资料: 58例成人LA-HLH患者均符合HLH-04诊断标准,其中男37例,女21例,中位年龄39(19~63)岁。原发病类型: 结外NK/T细胞淋巴瘤35例、外周T细胞淋巴瘤2例、蕈样肉芽肿2例、弥漫性大B细胞淋巴瘤6例、血管免疫母细胞淋巴瘤4例、间变大细胞淋巴瘤1例、滤泡性淋巴瘤1例、霍奇金淋巴瘤1例、非霍奇金淋巴瘤灰区1例、未进一步分类的B细胞淋巴瘤3例、未进一步分类的T细胞淋巴瘤2例。678例淋巴瘤组患者中男415例,女263例,中位年龄52(23~72)岁。疾病亚型: 结外NK/T细胞淋巴瘤68例、外周T细胞淋巴瘤13例、蕈样肉芽肿1例、弥漫性大B细胞淋巴瘤303例、血管免疫母细胞淋巴瘤16例、间变大细胞淋巴瘤22例、滤泡性淋巴瘤39例、霍奇金淋巴瘤24例、未进一步分类的B细胞淋巴瘤25例、未进一步分类的T细胞淋巴瘤4例、其他163例。对照组男13例,女7例,中位年龄48(26~63)岁。

2. Th1/Th2细胞因子水平比较: LA-HLH组初诊时血清IL-2、IFN- γ 、IL-10高于初次治疗后(P 值均 < 0.05) (表1); 初诊时LA-HLH组、淋巴瘤组、对照组间IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-10水平存在明显差异。两两比较显示, LA-HLH组初诊时血清IFN- γ 、IL-4、IL-10水平明显高于淋巴瘤组与对照组;

LA-HLH组初诊时血清IL-6水平明显高于对照组(表2)。

3. 淋巴细胞亚群比较:LA-HLH组初诊时与初次治疗后各淋巴细胞亚群无明显差异(表3);LA-HLH组与淋巴瘤组及对照组初诊时各淋巴细胞亚群无明显差异,但CD19⁺细胞比例组间统计结果接近0.05,LA-HLH组及淋巴瘤组CD19⁺细胞比例低于对照组(表4)。

LA-HLH组58例患者中43例初诊时CD19⁺细胞比例降低,初诊时出现的各异常淋巴细胞类型所占比例:CD3⁺细胞增高比例为39.2%,CD3⁺细胞降低比例为10.5%;CD4⁺细胞增高比例为5.3%,CD4⁺细胞降低比例为10.6%;CD8⁺细胞增高比例为24.13%,CD8⁺细胞降低比例为10.6%;CD4:CD8增高比例为5.3%,CD4:CD8降低比例为19.11%;CD19⁺细胞增高比例为0;CD19⁺细胞降低比例为44.2%;NK细胞增高比例为5.3%,NK细胞降低比例为5.3%。

讨 论

HLH可分为原发或遗传性(FHL)与继发性(SHL)两类,是一种各种病因导致的细胞毒性T细胞和NK细胞过度活化,并刺激巨噬细胞活化,分泌大量炎性细胞因子的少见而危重、病死率高的疾病。Ramos-Casals等^[6]研究发现SHL中

的48%继发于肿瘤,其中NK/T细胞淋巴瘤约占35%、B细胞淋巴瘤约占32%、白血病约占6%、HL约占6%、其他非特异性血液肿瘤约占14%、实体瘤约占3%。共识指出在淋巴瘤患者中找到噬血现象高度提示HLH的发生,sCD25/铁蛋白的比值的升高也是LA-HLH的诊断标准之一,高通量检测HLH相关细胞因子谱可以协助鉴别淋巴瘤患者是否同时合并了HLH^[7]。

Xu等^[8]发现涉及HLH的基本细胞因子是IFN-γ和IL-10,二者共同促进全身炎症反应综合征,当IFN-γ>75 ng/L及IL-10>60 ng/L时发生HLH的敏感性和特异性分别达到了93%、99%。高水平IFN-γ可导致骨髓造血细胞减少、高血清铁蛋白血症、巨脾及噬血现象^[9]。本研究结果显示LA-HLH病例组初诊时血清IFN-γ高达42.5(1.2~416.4)ng/L,明显高于淋巴瘤组及LA-HLH病例组初次治疗后,提示血清IFN-γ有可能作为LA-HLH的诊断参考,还可作为判断患者病情严重程度及预后的指标。IL-10是具有广泛免疫效应的细胞因子,同时具有免疫刺激、免疫抑制和抗炎等多种生理作用^[10],且可调节其他炎性因子的表达,因此IL-10在噬血细胞综合征的炎性反应中扮演着重要角色。此外,IL-10作为HLH小鼠模型中的主要保护因子,当血浆IL-10及NK细胞维持在

表1 58例淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症患者初诊时及初次治疗后血清Th1/Th2细胞因子水平[ng/L,M(范围)]

组别	IL-2	TNF-α	IFN-γ	IL-4	IL-6	IL-10
初诊时	3.5(1.1~5.8)	1.4(0~4.4)	42.6(1.2~416.4)	3.1(0.8~4.3)	29.3(2.5~406.4)	70.4(0.9~3103.3)
初次治疗后	2.1(0.2~3.4)	1.8(0.2~4.0)	3.9(0.6~57.0)	2.1(0.2~3.7)	20.3(0.1~311.1)	6.8(0.5~421.3)
z值	-2.491	-0.838	-2.667	1.315	-1.956	-2.845
P值	0.013	0.422	0.008	0.218	0.05	0.004

表2 淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(LA-HLH)患者同淋巴瘤组、对照组初诊时血清Th1/Th2细胞因子水平[ng/L,M(范围)]

组别	例数	IL-2	TNF-α	IFN-γ	IL-4	IL-6	IL-10
LA-HLH组	58	3.5(1.1~5.8)	1.4(0~4.4)	42.6(1.2~416.4)	3.1(0.8~4.3)	29.3(2.5~406.4)	70.4(0.9~3103.3)
淋巴瘤组	678	0.5(0.2~8.2)	1.2(0~3.8)	3.3(0.2~35.4)	1.1(0.1~3.7)	37.9(2.8~197.4)	5.0(1.3~11.5)
对照组	20	0.6(0.3~15.6)	0.7(0.5~1.4)	0.7(0.6~0.9)	0.6(0.5~0.8)	1.1(0.4~7.7)	1.0(0.5~9.9)
H值		5.983	1.564	15.446	12.308	13.469	15.490
P值		0.050	0.457	<0.001	0.002	0.001	<0.001

表3 58例淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(LA-HLH)患者淋巴细胞亚群水平[% ,M(范围)]

组别	NK细胞	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4:CD8	CD19 ⁺
初诊	9.8(2.2~48.7)	79.1(53.3~97.0)	37.6(17.2~63.4)	28.9(13.9~64.0)	1.3(0.4~2.7)	4.6(0.1~21.5)
初次治疗后	9.7(1.7~36.2)	82.2(66.2~96.2)	42.7(20.9~69.9)	30.0(11.9~57.7)	1.5(0.4~4.2)	5.0(0.1~21.4)
z值	-1.580	-1.047	-0.698	-0.317	-1.748	-0.059
P值	0.114	0.323	0.503	0.759	0.114	0.953

表4 淋巴瘤相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(LA-HLH)患者同淋巴瘤组、对照组初诊时淋巴细胞亚群水平[% ,M(范围)]

组别	例数	NK细胞	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4:CD8	CD19 ⁺
LA-HLH组	58	9.8(2.2~48.7)	79.1(53.3~97.0)	37.6(17.2~63.4)	28.9(13.9~64.0)	1.3(0.4~2.7)	4.6(0.1~21.5)
淋巴瘤组	678	13.3(2.2~43.9)	79.8(56.3~96.0)	40.0(17.2~57.7)	29.0(22.7~64.0)	1.4(0.4~2.5)	4.0(0.1~17.3)
对照组	20	9.8(4.8~28.4)	76.2(69.9~90.2)	39.4(35.1~55.4)	28.9(25.6~34.5)	1.4(1.1~1.6)	13.8(5.5~18.0)
H值		0.181	0.767	0.249	0.155	0.302	5.798
P值		0.914	0.618	0.883	0.926	0.860	0.055

高水平时,预后良好,病死率也随之降低^[11]。我们的研究提示LA-HLH病例组初诊时血清IL-10高达70.4(0.9~3103.3)ng/L,明显高于淋巴瘤组及LA-HLH病例组初次治疗后,提示血清IL-10同样有可能作为LA-HLH的诊断指标并用于病情严重程度及预后判断。IL-10的产生可能是由于巨噬细胞及Th1活化产生的IFN- γ 诱导,进而抑制T细胞及巨噬细胞活化导致的免疫激活,但Th2辅助细胞产生的IL-4对巨噬细胞分泌IL-10产生抑制作用^[12]。LA-HLH病例组初诊时血清IL-4高于淋巴瘤组,但LA-HLH病例组初次治疗前后IL-4无明显差异,提示IL-4同样有可能作为LA-HLH的诊断指标,但在判断患者病情严重程度及预后方面的作用有待进一步的证实。IL-2与HLH的临床表现如高热、全血细胞减少、凝血功能异常、肝功能损害、淋巴组织中找到噬血细胞相关^[12]。TNF- α 是单核巨噬细胞分泌的炎性因子,具有多种生物学效应,是启动炎症反应的重要因子。IL-6在机体免疫调节、炎症反应和造血调控中均具有重要作用^[13]。本研究结果提示LA-HLH组初诊时血清IL-2水平高于LA-HLH组初次治疗后可能对判断患者病情严重程度及预后有一定作用;LA-HLH组及淋巴瘤组高IL-6水平提示患者存在严重的炎症反应;但TNF- α 、IL-6、IL-2水平均不能用于鉴别淋巴瘤患者是否合并HLH。

Dalal等^[14]发现在21例成人HLH患者中淋巴细胞亚群中最常见到的异常是CD8⁺的增高,CD8⁺升高、CD4⁺:CD8⁺降低的患者预后较好,而CD3⁺降低的患者预后较差,但是没有哪一项淋巴细胞亚群或是表型具备足够的敏感性及特异性用于直接诊断HLH。Egeler等^[15]的研究发现噬血细胞HLH患者B淋巴细胞数量明显下降。我们的研究发现LA-HLH组58例初诊患者中43例表现为CD19⁺细胞比例降低,CD19⁺细胞比例降低在各异常淋巴细胞类型所占比例达44.2%,但同样没有哪一项淋巴细胞亚群可用于直接诊断HLH。LA-HLH组及淋巴瘤组CD19⁺细胞低于对照组,且LA-HLH病例组初次治疗前后CD19⁺细胞无明显差异。提示CD19⁺细胞降低与原发病相关。我们认为虽然CD19⁺细胞的降低不能用于LA-HLH的诊断,但是CD19⁺细胞的降低可能与LA-HLH的发病、患者治疗反应及预后相关,其中机制仍有待进一步的研究,需结合患者个体异质性及对治疗的应答情况、原发病类型、既往治疗方案等综合分析。

综上,LA-HLH患者治疗前后IFN- γ 、IL-10细胞水平有明显变化,监测其水平有助于LA-HLH的诊断与预后判断。

参考文献

[1] Ishii E, Ohga S, Imashuku S, et al. Nationwide survey of hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan [J]. *Int J Hematol*, 2007, 86(1):58-65. DOI: 10.1532/IJH97.07012.

[2] Feng J, Wang Z, Guo X, et al. Prognostic significance of absolute lymphocyte count at diagnosis of diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis [J]. *Int J Hematol*, 2012, 95(2):143-148. DOI: 10.1007/s12185-011-0993-6.

[3] An Q, Fang DH, Xuan CM, et al. Lymphocyte subsets in

children with hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and its clinical significance [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(7):2000-2004. DOI: 10.26355/eurrev_201804_14728.

- [4] Chen Y, Wang Z, Luo Z, et al. Comparison of Th1/Th2 cytokine profiles between primary and secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *Ital J Pediatr*, 2016, 42 (1):50. DOI: 10.1186/s13052-016-0262-7.
- [5] Chen Y, Zheng T, Lan Q, et al. Cytokine polymorphisms in Th1/Th2 pathway genes, body mass index, and risk of non-Hodgkin lymphoma [J]. *Blood*, 2011, 117 (2):585-590. DOI: 10.1182/blood-2010-07-295097.
- [6] Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A, et al. Adult haemophagocytic syndrome [J]. *Lancet*, 2014, 383(9927):1503-1516. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61048-X.
- [7] 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会. 淋巴瘤相关噬血细胞综合征诊治中国专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(18):1389-1393. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.18.004.
- [8] Xu XJ, Tang YM, Song H, et al. Diagnostic accuracy of a specific cytokine pattern in hemophagocytic lymphohistiocytosis in children [J]. *J Pediatr*, 2012, 160(6):984-990.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2011.11.046.
- [9] Créput C, Galicier L, Buysse S, et al. Understanding organ dysfunction in hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34 (7):1177-1187. DOI: 10.1007/s00134-008-1111-y.
- [10] Tadokera R, Wilkinson KA, Meintjes GA, et al. Role of the interleukin 10 family of cytokines in patients with immune reconstitution inflammatory syndrome associated with HIV infection and tuberculosis [J]. *J Infect Dis*, 2013, 207 (7):1148-1156. DOI: 10.1093/infdis/jit002.
- [11] Sepulveda FE, Maschalidi S, Vosshenrich CA, et al. A novel immunoregulatory role for NK-cell cytotoxicity in protection from HLH-like immunopathology in mice [J]. *Blood*, 2015, 125 (9):1427-1434. DOI: 10.1182/blood-2014-09-602946.
- [12] Osugi Y, Hara J, Tagawa S, et al. Cytokine production regulating Th1 and Th2 cytokines in hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *Blood*, 1997, 89(11):4100-4103.
- [13] Singh PP, Goyal A. Interleukin-6: a potent biomarker of mycobacterial infection [J]. *Springerplus*, 2013, 2:686. DOI: 10.1186/2193-1801-2-686.
- [14] Dalal BI, Vakil AP, Khare NS, et al. Abnormalities of the lymphocyte subsets and their immunophenotype, and their prognostic significance in adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(7):1111-1117. DOI: 10.1007/s00277-015-2350-y.
- [15] Egeler RM, Shapiro R, Loechelt B, et al. Characteristic immune abnormalities in hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 1996, 18 (4):340-345. DOI: 10.1097/00043426-199611000-00002

(收稿日期:2019-01-20)

(本文编辑:刘爽)