

• 论 著 •

儿童噬血细胞性淋巴组织细胞增生综合征 13 例实验室诊断分析

沈 伟, 邬 霞, 罗德幸, 韦永琼, 刘成桂
(成都市妇女儿童中心医院检验科, 四川成都 610091)

摘 要:目的 分析儿童噬血细胞性淋巴组织增生综合征(HLH)实验室诊断指标的改变及其原因,帮助临床快速准确的诊断。**方法** 回顾性分析 2011 年 1 月至 2013 年 3 月该院收治的 13 例 HLH 患者的实验室诊断资料。**结果** HLH 首发症状常为发热,肝、脾及淋巴结肿大,继而全血细胞减少,肝功能及凝血功能不同程度异常,骨髓组织细胞增多,可见噬血组织细胞。外周血细胞二系减少者占 23.1%,三系减少者占 69.2%,三酰甘油(TG)升高者占 69.2%,血清铁蛋白(SF)升高者占 100.0%,乳酸脱氢酶(LDH)升高者占 100.0%,丙氨酸氨基转移酶(ALT)升高者占 69.2%,纤维蛋白原(FIB)下降者占 76.9%。**结论** 对不明原因持续高热,肝、脾及淋巴结肿大,外周血细胞二系或三系降低患儿均应进行 HLH 的一系列相关检查如肝功能、血脂、血凝、细胞免疫学及骨髓细胞形态学等初步诊断和判断预后,有条件者应进一步进行分子生物学检测以确诊。

关键词:组织细胞增多症/诊断; 实验室技术和方法; 回顾性研究; 儿童
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.02.021 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)02-0194-03

The laboratory diagnose of children hemphagocytic lymphohistiocytosis
Shen Wei, Wu Xia, Luo Dexing, Wei Yongqiong, Liu Chenggui

(Department of Clinical Laboratory, Chengdu Women&Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610091, China)

Abstract:**Objective** To summarize the cause and the level change of laboratory indicators in children with hemphagocytic lymphohistiocytosis(HLH). **Methods** Retrospectively analyze the cause and the diagnose features of the 13 HLH patients. **Results** The first symptom of the disease was hyperpyrexia as well as the hepatosplenomegaly and the lymphadenectasis. Then it went with the peripheral cytopenia in two or three lineages, different degrees of the liver dysfunction and the coagulation abnormalities. The number of histiocytes increased and hemophagocytic macrophages were found in bone marrow. It also showed that the elevated serum triglycerides, serum ferritin, lactate dehydrogenase and glutamic-pyruvic transaminase and decreased fibrinogen in laboratory findings. **Conclusion** Cytopenia(in two or three lineages, especially the platelet), the elevated serum triglycerides, serum ferritin, lactate dehydrogenase, glutamic-pyruvic transaminase, decreased fibrinogen and the hemophagocytic macrophages in bone marrow ($\geq 1\%$) are important indicators in hemphagocytic lymphohistiocytosis diagnosis, which could help us know the change of the HLH laboratory features better and diagnose the disease correctly.

Key words:histiocytosis/diagnosis; laboratory techniques and procedures; retrospective studies; child

噬血细胞性淋巴组织增生综合征(HLH)又称为噬血细胞综合征(HPS),是一组以组织细胞增生活化并伴随噬血细胞现象的一类综合征。临床表现为持续发热,肝脾大,全血细胞二系或三系减少,高血清铁蛋白(SF),高细胞因子血症,高三酰甘油(TG)血症及凝血障碍。因其发病年龄小,起病急,病情进展迅速,病死率高且容易误诊,因此,早期诊断显得更加重要。为提高 HLH 实验室诊断水平,作者对本院 2011 年 1 月至 2013 年 3 月收治的 13 例小儿 HLH 的实验室检验结果进行了回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2011 年 1 月至 2013 年 3 月住院诊断为 HLH 患儿 13 例,其中男 6 例,女 7 例;年龄 1~11 岁,平均(3.6±0.6)岁,1 岁 6 例,>1~4 岁 4 例,>4~11 岁 3 例。

1.2 方法 对 13 例 HLH 患者病因及实验室检查各项指标进行回顾性分析。PCR 基因检测及 EB 病毒(EBV)定量送外检得出结果,骨髓形态学检查结果由专职相关人员判定。

1.3 仪器与试剂 迈瑞公司的五分类血球仪 BC5600 及其配套试剂和质控液、日立公司的全自动生化分析仪 7600、浙江伊利康生物技术有限公司试剂、RANDOX 校准品、BECKMAN 质控品、特定蛋白分析仪及配套试剂、BD 流式细胞仪及配套试

剂等。
1.4 诊断标准 参考 HLH-2004 诊断指南^[1]。
2 结 果

13 例患儿均有发热($>38.5^{\circ}\text{C}$),热型不一,肝大 13 例,脾大 5 例(肝、脾肿大达肋缘下 1~11 cm)。13 例患儿中 EBV 感染 11 例,占 84.6%。肿瘤相关性 HLH 2 例,分别为霍奇金淋巴瘤及非霍奇金淋巴瘤。92.3%患儿全血细胞减少(二系或三系降低),低纤维蛋白原(FIB),高 TG,高 SF。76.9%患儿骨髓象见数量不等吞噬红细胞、血小板及有核细胞的噬血组织细胞,进行免疫学检测患儿中 70.0%患儿 CD4/CD8 倒置。13 例患儿 HLH 实验室指标检测结果见表 1。

表 1 13 例患儿 HLH 实验室指标检测结果

项目	n	构成比(%)
肝大	8	61.5
脾大	5	38.5
血常规		
二系降低	3	23.1
三系降低	9	69.2

作者简介:沈伟,男,副主任技师,主要从事临床血液学检验的研究。

续表 1 13 例患儿 HLH 实验室指标检测结果		
项目	<i>n</i>	构成比(%)
肝功能		
ALT* 升高	9	69.2
LDH# 升高	13	100.0
凝血		
FIB 下降	10	76.9
其他血清学检查		
SF 升高	13	100.0
TG 升高	9	69.2
CRP◇ 升高	10	76.9
骨髓象检测		
查见噬血细胞	10	76.9
免疫学检测◆		
NKcell 功能下降	4	40.0
CD4/CD8 结果倒置	7	70.0
病原学检测△		
EBV IgG 抗体阳性	11	84.6
PCR 检测▲		
EBV 定量阳性	1	50.0
TCRγ 基因重排	1	50.0

*:ALT 为丙氨酸氨基转移酶;#:LDH 为乳酸脱氢酶;◇:CRP 为 C 反应蛋白;◆:仅 10 例进行免疫学检测;△:2 例证实为肿瘤相关性 HLH;▲:仅 2 例进行 PCR 检查。

3 讨 论

HLH 是一组病因及发病机制错综复杂而临床表现类似的综合征,表现为组织细胞在骨髓或其他淋巴组织中异常多并吞噬自身血细胞,HLH 可以发生在任何年龄。该病分为原发性(FHL)和继发性,80%FHL 患者在 2 岁以前发病,男、女发病比例为 1∶1,年发病率约为 1.2/100 万。FHL 共分为 5 个亚型(FHL 1~5),但由于一般实验室无条件进行分子生物学诊断,因此对 FHL 亚型的诊断较少。继发性 HLH 又可分为感染相关性(IAHS)、肿瘤相关性(MAHS)及其他原因所致 HLH。继发性 HLH 主要是由各种诱因(主要是感染因素)所诱发,感染因素中最常见的是病毒包括 EBV、巨细胞病毒(CMV)、单纯疱疹病毒、水痘-带状疱疹病毒、腺病毒、流感病毒及人类细小病毒 B19 等,其他还有细菌、寄生虫、真菌、支原体和立克次体等,以 EBV 最常见^[2]。本研究 13 例 HLH 患儿中 EBV 感染所致 IAHS 11 例,占 84.6%,而肿瘤所致 MAHS 2 例,占 15.4%。由此可见,EBV 感染所致的 IAHS 最为常见。EBV 感染还有可能引起传染性单核细胞增多症,但传染性单核细胞增多症血常规变化不同,常表现为白细胞总数升高,变异淋巴细胞增多,病情较平缓。而 HLH 外周血象表现为三系或二系降低,病情进展较快,病死率高。

本研究血常规检测结果显示,三系降低 9 例(69.2%),二系降低 3 例(23.1%)。HLH 是一种与急性病毒感染有关的良性噬血组织细胞增生,单核-巨噬系统增生活跃并有明显吞噬红细胞、血小板、有核细胞等现象,因此外周血细胞二系或三系降低是 HLH 的一个重要且典型的实验室指标变化^[3],但需注意与白血病等其他血液病的区别。

本研究血清学检测结果显示,患儿血清 ALT、LDH、SF、TG、CRP 升高,FIB 下降,临床表现为肝功能紊乱、脂、铁代谢及凝血功能异常,与文献[4]研究结果接近。HLH 患儿体内高水平肿瘤坏死因子 α(TNF-α)可使脂蛋白脂酶(LPL)活性减低,而 LPL 的主要功能是水解巨细胞、极低密度脂蛋白中的 TG,因此导致 TG 代谢障碍,从而在体内积聚,从表 1 可见,13 例患儿中 TG 升高 9 例(69.2%)。HLH 患儿 SF 均增高,原因是由于巨噬细胞被活化的 T 淋巴细胞刺激后分泌超量细胞因子,导致细胞因子“风暴”,使 T 淋巴细胞及巨噬细胞均处于失控的活化状态,导致巨噬细胞吞噬和消化大量红细胞而分解产生大量血红蛋白(Hb),Hb 再进一步被分解成铁和珠蛋白,导致 SF 增高,SF 是容易检测的疾病活动的早期指标,其水平越高,恢复越慢,提示病情越重,故 SF 是早期诊断和预后判断的重要指标。从表 1 可见,13 例患儿血清 SF 均升高(100.0%),且 13 例中 SF 超过 1 000 ng/mL 者 9 例,说明预后不好。细胞因子“风暴”导致肝脏功能受损,造成 ALT、LDH 升高。肝脏功能受损,蛋白质及凝血因子合成降低,且巨噬细胞可分泌大量纤溶酶原激活剂导致血浆纤溶酶水平增高,从而促进 FIB 清除,而其他细胞因子尤其是白介素-1β 可使纤溶酶原和因子 X 大量活化。FIB 合成减少,消耗增多,故明显下降,从表 1 可见,13 例患儿中 FIB 降低 10 例(76.9%)。

在骨髓象检测中发现,噬血细胞是诊断 HLH 一项重要指标。国际组织细胞协会在 HLH-1991 诊断标准中将在骨髓、脾或淋巴结组织中发现噬血细胞现象作为诊断所必须^[5]。随着对该病发病机制及病理生理过程等认识的不断深入,国际组织细胞协会对 HLH-1991 进行了更改,即 HLH-2004 版^[1],修订的标准中在骨髓发现噬血细胞现象这项已作为非诊断的必要条件。国外有资料显示仅有 58%的 HLH 病例在初诊时见到噬血细胞^[6]。本研究 13 例 HLH 患儿骨髓象中发现噬血细胞 10 例(76.9%),但 13 例患儿并非全都是第一次检查骨髓。HLH 患者早期由于外周血细胞减少,刺激骨髓造血,表现为骨髓有核细胞增生活跃,反应性组织细胞增多,噬血现象不明显,且噬血细胞常为灶性分布,骨髓检查极易遗漏,因此有些 HLH 患者不一定能在骨髓象中发现噬血细胞。多部位穿刺并认真仔细查找,特别是涂片片尾和边缘,在骨髓象检查中显得特别重要。虽然现在骨髓噬血细胞的发现与否已经不作为诊断 HLH 的必需条件,但骨髓穿刺检查在 HLH 的诊治过程中仍然十分重要。首先其可以帮助排除是否存在白血病、淋巴瘤及恶性肿瘤骨髓转移等,有利于原发病的确立^[7];其次对诊疗也具有重要的指导作用。

有研究发现,HLH 存在穿孔素(PRF1)、UNC13D、突触融合蛋白(syntaxin)11,syntaxinBP2 基因突变。PRF1 基因突变使穿孔蛋白功能缺陷,UNC13D 突变损害活性颗粒的胞吐作用及随后的穿孔素和粒酶的释放;syntaxin11 编码蛋白 t-SNARE,syntaxin11 在细胞内运输中具有重要作用;syntaxin-BP2 基因突变可导致细胞毒性颗粒出胞作用障碍,均影响 CTL 及 NK 细胞的细胞毒作用^[8]。而且无论原发性和继发性 HLH 患者均有 NK 细胞和 CD8⁺T 细胞的细胞毒功能受损或缺失^[9-10]。从表 2 可见,10 例已做 T 细胞亚群 CD4⁺T/CD8⁺T 检测的 HLH 患儿中 CD4⁺T/CD8⁺T 结果异常 7 例(70.0%)。

本研究 13 例确诊 HLH 患儿中外送进行分子诊断 PCR 检测 2 例,EBV 定量阳性 1 例,检测到 TCRγ 基因重排 1 例。随着应用分子生物学研究进展和基因诊断技(下转第 198 页)

次输血的受血者。各种血液成分,尤其是新鲜冰冻血浆在制备及储存过程中白细胞活化产生生物活性物质如白三烯、组胺、嗜酸性趋化因子和髓细胞过氧化物酶等,这些物质的释放可引起过敏反应。此外受血者有免疫球蛋白缺陷时多次输血可产生免疫球蛋白抗体,从而引起严重过敏反应。近年来研究证明细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-8 等也可引起过敏反应。过敏反应临床表现轻重不一,除对症治疗外有过敏史的受血者不宜输用有过敏史和多次妊娠女性献血者的血浆,可输注洗涤红细胞来避免或在输血前可使用苯海拉明等抗组胺药。必须注意的是切忌将任何药物直接加入血液制品中一同输注。

非溶血性发热反应与供血者血中白细胞数量有关,有研究表明当输入的白细胞小于 5×10^6 /输注单位时同种免疫不会或很少发生。据相关文献报道去除血液或血液成分中的白细胞有以下临床意义:(1)降低非溶血性发热反应;(2)延缓 HLA 同种异体免疫反应;(3)预防血小板输注无效及器官移植困难;(4)防止巨细胞病毒等的传播;(5)减轻免疫系统的抑制;(6)降低术后感染率;(7)减少库存血细菌数量,预防细菌生长;(8)降低肿瘤复发;(9)减少输血相关性移植物抗宿主疾病(TAGVHD);(10)预防缺血再灌注损伤和输血性肺微血管栓塞等。临床实践表明白细胞过滤器去除白细胞率高达99.9%,红细胞回收率大于 93%,红细胞形态基本无改变、损伤小,血浆中钾钠离子水平、pH 值及血浆游离血红蛋白在过滤前后均无明显变化,红细胞损伤小,可以安全输注,成为预防非溶血性发热反应的有效手段之一。同时由于生物活性物质如白三烯、组胺、嗜酸性趋化因子和髓细胞过氧化物酶等,细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-8 等皆能引起过敏反应,而这些物质皆由白细胞产生,因此去除白细胞,又能或多或少减低过敏反应发生率。这与本研究结果显示的输注滤白红细胞和洗涤红细胞未发生输血不良反应相一致。非溶血性发热反应多发生于反复多次输血患者,首次输血患者极少发生。国外诸多医院对既往有二次以上输血发热反应的患者常规使用去除白细胞血液制品。我国尚未能普及,因为受诸多因素的影响。

总之,为避免由输血引发的不良反应,能不输血者尽量不输,必须要输者尽量少输,在条件允许的情况下尽量开展自体

输血,对 2 次以上输血患者应输注滤白红细胞,以降低输血不良反应发生率。

参考文献

[1] 王燕菊,蒋学兵,成海,等. 235 例输血反应的临床分析[J]. 中国临床医生,2011,39(6):50-51.

[2] 魏亚明,吕毅. 基础输血学[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:368.

[3] 李燕琼. 135 例输血反应临床分析[J]. 航空航天医药,2010,21(6):964-965.

[4] 黄慧萍. 某院输血不良反应的回顾分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(11):1455-1457.

[5] Greco-Stewart VS, Brown EE, Parr C, et al. Serratia marcescens strains implicated in adverse transfusion reactions form biofilms in platelet concentrates and demonstrate reduced detection by automated culture[J]. Vox Sang, 2012, 102(3):212-220.

[6] 姚锁良,王露,蒋文艳,等. 临床输血反应统计与分析[J]. 现代检验医学杂志,2012,27(4):154-155.

[7] Elebute MO, Choo L, Mora A, et al. Transfusion of prion-filtered red cells does not increase the rate of alloimmunization or transfusion reactions in patients; results of the UK trial of prion-filtered versus standard red cells in surgical patients (PRISM A)[J]. Br J Haematol, 2013, 160(5):701-708.

[8] 袁茜茜,符宝铭,黄梅香. 输血不良反应情况分析[J]. 中国美容医学,2012,21(11X):95.

[9] 陈志远,张洪为. 临床输血不良反应的调查研究[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(23):3178-3179.

[10] 徐应芳,许广芳,吕春菊,等. 83 例输血不良反应临床分析[J]. 昆明医科大学学报,2013,34(6):136-138.

[11] 高峰. 临床输血与检验[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2007:193.

[12] 何子毅,田兆嵩. 冷沉淀的临床应用[J]. 中国输血杂志,2008,21(12):986-988.

(收稿日期:2015-07-25)

(上接第 195 页)

术的开展,对 HLH 的检测和诊断,特别是对已知的 PRF1、UNC13D、syntaxin11、syntaxinBP2 等基因突变的检测将在以后的实验室检测中占重要地位。

总之,对不明原因持续高热,肝、脾及淋巴结肿大,外周血细胞二系或三系降低患儿均应进行 HLH 一系列相关检查如肝功能、血脂、血凝、细胞免疫学及骨髓细胞形态学等以进行初步诊断和判断预后,有条件者应进一步进行分子生物学检测以确诊。

参考文献

[1] Henter JL, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Blood Cancer, 2007, 48(2):124-131.

[2] 李欣,徐兴华. EB 病毒相关性噬血细胞综合征的研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2007,34(5):328-331.

[3] 黄道连,鞠文东,付四毛,等. 噬血细胞综合征早期实验室指标改变研究[J]. 实验与检验医学,2008,26(6):597-600.

[4] 邱春红,刘燕,梁崇. 实验室诊断指标对嗜血细胞综合征的诊断价值[J]. 临床和实验医学杂志 2010,9(18):1365-1367.

[5] Henter JL, Elinder G, Ost A. Diagnostic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. The FHL Study Group of the Histiocyte Society[J]. Semin Oncol, 1991, 18(1):29-33.

[6] Gupta A, Tyrrell P, Valani R, et al. The role of the initial bone marrow aspirate in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. Pediatr Blood Cancer, 2008, 51(3):402-404.

[7] Janka GE. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. Eur JPediatr, 2007, 166(2):95-109.

[8] 王菱菱,仇红霞. 噬血细胞性淋巴组织细胞增多症的研究现状及治疗进展[J]. 国际输血及血液学杂志,2011,34(4):328-332.

[9] 王学文. EB 病毒相关的 T/NK 细胞淋巴瘤增殖性疾病的研究进展[J]. 临床肿瘤杂志,2009,14(6):564-569.

[10] 方建培,许吕宏. EB 病毒感染相关噬血细胞综合征的诊治研究进展[J]. 中国小儿急救医学,2010,17(2):105-108.

(收稿日期:2015-08-05)