

应用 Canto II 流式细胞仪建立 14~16 岁人群 CD64 正常参考值的探讨*

吕 颖^{1,2}, 闫丹丹³, 张 巍¹, 刘玉珍¹, 卢建华¹, 段媛媛², 戴二黑¹, 闫会敏^{1,2△} (1. 河北省石家庄市第五医院肝病研究所 050021; 2. 河北医科大学研究生学院, 石家庄 050017; 3. 河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050024)

【摘要】 目的 探讨应用 Canto II 流式细胞仪建立 14~16 岁青少年人群的 CD64 正常参考值。**方法** 选取 14~16 岁健康体检者 52 例, 静脉抽取外周血, 运用 Canto II 流式细胞仪检测 CD64 的表达, 并进行统计学分析。**结果** CD64 在单核细胞中表达最高, 在淋巴细胞中几乎不表达, 在中性粒细胞中平均荧光强度为 782.78, 95% 正常参考值范围为 211.78~1 353.78, CD64 指数的单侧 95% 正常参考值范围为 <1.53。**结论** 初步建立了应用 Canto II 流式细胞仪检测 CD64 正常参考值的方法, 为基础研究及临床诊断提供参考。

【关键词】 Canto II 流式细胞仪; CD64; 正常参考值

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.012 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)01-0029-02

Establishment of normal reference value for CD64 in healthy adolescents aged 14—16 years by Canto II flow cytometer* LYU Ying^{1,2}, YAN Dan-dan³, ZHANG Wei¹, LIU Yu-zhen¹, LU Jian-hua¹, DUAN Yuan-yuan², DAI Er-wei¹, YAN Hui-min^{1,2△} (1. Research Institute for Liver Diseases, Shijiazhuang Municipal Fifth Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050021, China; 2. Graduate College of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China; 3. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang, Hebei 050024, China)

【Abstract】 Objective To investigate the normal reference value establishment of CD64 in the healthy adolescents aged 14—16 years by the Canto II flow cytometer. **Methods** The peripheral blood samples collected from 52 healthy adolescents aged 14—16 years were detected the CD64 expression by using the BD Canto II flow cytometer, and the results were statistically analyzed. **Results** The expression of CD64 was highest in monocytes, but almost no expression was found in lymphocytes. The CD64 mean fluorescence intensity (MFI) in neutrophils was 782.78, its 95% normal reference range was 211.78—1 353.78, the 95% normal reference range of CD64 index was less than 1.53. **Conclusion** The method for detecting the normal reference value of CD64 in the healthy adolescents by the Canto II flow cytometer is preliminarily established, providing a reference for the basic researches and clinical diagnosis.

【Key words】 Canto II flow cytometer; CD64; normal reference value

血培养是诊断细菌感染的金标准, 但耗时较长, 阳性率不高, 故临床上常结合降钙素原 (PCT)、C 反应蛋白 (CRP)、中性粒细胞 CD64、白细胞介素 (IL)-6 等指标来提高诊断的灵敏度及特异度。近年研究发现, 中性粒细胞 CD64 是细菌感染早期诊断和鉴别诊断的理想指标^[1], 与 PCT、CRP 等比较, CD64 的诊断价值最高。将 CD64 结果应用于临床应以健康人群的水平作为参照, 其检测结果与测定仪器、试剂及分析方法等密切相关。本研究运用 Canto II 流式细胞仪检测健康青少年人群 CD64 的表达, 初步建立了其正常参考值, 以期为基础研究及临床诊断提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 10 月于河北省石家庄市第五医院进行健康体检的健康青少年 52 例, 年龄 14~16 岁。所选检测对象均无过敏性、免疫性、感染性及代谢性疾病, 血细胞计数及肝、肾功能检查正常, 排除人类免疫缺陷病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和梅毒螺旋体感染, 资料的获取与研究已获得知情同意。

1.2 仪器与试剂 流式细胞分析仪采用 Canto II 流式细胞仪

(美国 Becton-Dickinson 公司), 分析软件为用仪器配置的 BD FACS Diva; 台式低速离心机为 xiangyi L-550 离心机 (湖南湘仪)。CD64-PE 和 CD14-FITC 均为 BD 公司产品, 溶血素 Op-tiLyse C 为 Beckman Coulter 公司产品。

1.3 标本处理 取 50 μ L 乙二胺四乙酸抗凝全血, 分别加 5 μ L CD64-PE 和 CD14-FITC, 混匀后, 室温避光静置 15 min, 加入 1 mL 的溶血剂, 混匀, 孵育 10 min 后, 2 000 r/min 离心洗两次, 加入 500 μ L 磷酸盐缓冲液, 混匀, 上机检测。

1.4 检测方法 每份标本计数 10 000 个细胞, 根据 CD14 正确设定门, 分别选定淋巴细胞群、单核细胞群、中性粒细胞群, 测定 CD64 平均荧光强度 (MFI), 并根据以下公式计算 CD64 指数。

$$\text{CD64 指数} = \frac{\text{中性粒细胞 CD64 MFI} / \text{淋巴细胞 CD64 MFI}}{\text{单核细胞 CD64 MFI} / \text{中性粒细胞 CD64 MFI}}$$

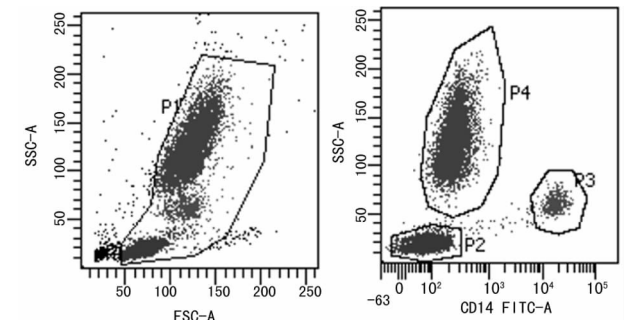
1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 进行统计分析, 对资料进行正态性检验, 若资料服从正态分布, 则选用正态分布法计算 CD64 MFI 或 CD64 指数的 95% 参考值范围, 否则采用百分位数法计算。

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目 (20130294); 河北省中医药管理局基金资助项目 (2013109)。

作者简介: 吕颖, 女, 在读硕士, 研究方向为临床免疫学。△ 通讯作者, E-mail: yanhm_2538@163.com。

2 结 果

2.1 CD64 检测的流式细胞术(FCM)图谱 根据 CD14 正确设定门,分别选定淋巴细胞群、单核细胞群、中性粒细胞群。见图 1。



注:P2 为淋巴细胞群,P3 为单核细胞群,P4 为中性粒细胞群。
图 1 CD64 检测的 FCM 图谱(×10³)

2.2 各细胞群的构成 健康人外周血中性粒细胞所占百分比最高,约为 52.45%;单核细胞所占百分比最低,约为 5.44%,见表 1。

表 1 健康人外周血各细胞亚群构成(%)		
组别	百分比(±s)	95%参考值范围
淋巴细胞	40.77±6.75	27.53~54.01
单核细胞	5.44±1.22	3.05~7.83
中性粒细胞	52.45±6.68	39.35~65.54

2.3 CD64 在健康人外周血不同细胞中的表达 CD64 在单核细胞中表达量最高,在淋巴细胞中几乎不表达,在中性粒细胞中度表达,见表 2。

表 2 CD64 在不同细胞中的表达		
组别	MFI(±s)	95%参考值范围
淋巴细胞	61.43±6.72	47.99~74.87
单核细胞	15 949.78±2 862.56	10 224.66~21 674.90
中性粒细胞	782.78±285.50	211.78~1 353.78

2.4 CD64 指数 采用百分位数法计算 CD64 指数单侧 95%参考值范围,结果为<1.53。

3 讨 论

CD64 是 IgG Fc 片段的受体 1,与 IgG Fc 片段结合,介导体液免疫和细胞免疫,其表达受细胞因子等许多因素调节^[2]。检测中性粒细胞 CD64 对感染性疾病的诊断和治疗有重要意义,特别是在细菌性感染的鉴别诊断中有较高的特异性^[3]。此外,还可以用于抗菌药物疗效监测及作为自身免疫性疾病的诊断指标^[4]。

CD64 检测结果受许多条件影响,其中测定仪器是影响因素之一,不同流式细胞仪所测的结果不可直接比较^[5]。Canto II 流式细胞仪是新近应用于临床的仪器,具有自动化程度高、操作简捷、样品需求少的特点,随着其应用范围越来越广,建立供临床使用的正常参考值范围具有重要意义。

CD64 的检测结果有 3 种表示方法:CD64 阳性细胞百分比、CD64 平均荧光强度、CD64 指数,其中 CD64 指数既能将 CD64 的表达量化,同时亦可减少研究对象、测定仪器等外源因素的影响,具有更高的灵敏度和特异度^[5]。目前 CD64 指数

的计算并无公认方法,可使用公式为(中性粒细胞 CD64 MFI-淋巴细胞 CD64 MFI)/(单核细胞 CD64 MFI-中性粒细胞 CD64 MFI)和本文方法中公式。本试验用两种方法计算的结果分别为 CD64 指数<0.088[中位数(M)=0.047]和 CD64 指数<1.53(M=0.59),而周萍等^[6]应用同种仪器检测 2~11 岁儿童的结果分别为 0.11 和 0.58,提示应用后者计算 CD64 指数更稳定。郑丽云等^[7]检测不同年龄组健康人群的 CD64 指数,发现儿童为 2.45±0.52,成人 1.06±0.18,提示不同年龄组 CD64 指数的正常参考值并不相同,青少年组不应参照儿童或成人标准,故此次研究针对 14~16 岁青少年人群,建立其 CD64 指数正常参考值。

CRP、PCT、IL-6 等易受到混杂因素的影响,出现假阳性^[8-9],有一定的局限性,而 CD64 作为诊断感染性疾病的良好指标,在临床上具有广泛的应用价值。采用流式细胞术检测 CD64,方法简便,检测时间短,所需标本量少,且 CD64 较为稳定,检测标本在室温可保存 36 h,4℃可保存 72 h^[5],动态检测外周血 CD64 指数,既有助于感染性疾病的诊断及鉴别诊断,也有助于评价抗菌药物的治疗效果^[10],故此方法值得在临床推广。

参考文献

[1] 林阳,万岁桂.中性粒细胞表面 CD64 在细菌感染诊断与鉴别诊断中的应用价值[J].标记免疫分析与临床,2014,21(2):111-114.

[2] 李焯,华川.CD64 在诊断新生儿感染性疾病中的研究进展[J].国际检验医学杂志,2014,35(17):2352-2353.

[3] 陈雪礼,李观华,汤金萍,等.流式细胞术检测中性粒细胞 CD64 在感染性疾病中的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2013,34(22):2999-3000.

[4] 李德红,居军.诊断感染性疾病的新指标:中性粒细胞 CD64[J].检验医学,2012,27(1):67-70.

[5] Groselj-Grenc M, Ihan A, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensities and calculated indexes[J]. Mediators Inflamm, 2008, 20(8): 202-206.

[6] 周萍,王良梅.中性粒细胞 CD64 指数在儿童支气管肺炎诊断中的应用价值[J].中国现代医药杂志,2014,16(9): 16-19.

[7] 郑丽云,江荣,赵胜,等.川崎病外周血中性粒细胞 CD64 表达的临床意义[J].中华实用儿科临床杂志,2013,28(21):1637-1639.

[8] 吴海燕.慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中性粒细胞 CD64 的表达及临床意义[D].合肥:安徽医科大学,2014.

[9] Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, et al. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients [J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(12): 3914-3919.

[10] 于倩倩,王会平,翟志敏,等.流式细胞仪检测 CD64 平均荧光强度指数在感染性疾病中的意义[J].临床荟萃, 2011, 26(5): 383-387.