

流式细胞术在眼部疾病细胞因子和细胞学检查中的应用进展

刘铭¹ 综述 陶勇² 审校

¹北京智德医学检验所有限公司 101399; ²首都医科大学附属北京朝阳医院眼科 100020

通信作者:陶勇, Email: taoyong@bjcyh.com

【摘要】 流式细胞术是一种能够对单个细胞或生物颗粒进行多参数、定量分析和分选的检测技术,是近年来迅速发展起来的一项先进的细胞定量分析技术,广泛应用于免疫学、肿瘤学和血液学等多领域医学研究和临床诊断。该技术可以定量检测和分析眼内液中细胞因子水平及各细胞亚群的分布特征。与传统的酶联免疫吸附试验、细胞形态学检查及免疫组织化学检测等方法比较,流式细胞术具有操作简单、所需样本量小、灵敏度高、通量高等优点。流式细胞术已广泛应用于眼内新生血管相关疾病、眼内淋巴瘤、视网膜病变、白内障、葡萄膜炎、结节性葡萄膜炎、感染性眼内炎症性疾病等眼部疾病相关细胞因子水平检测和细胞亚群分析中,对眼部疾病的发病机制研究和靶向治疗起到日益重要的作用。本文就流式细胞术在眼部疾病眼内液的细胞因子和细胞学检查中的应用进展进行综述。

【关键词】 流式细胞术; 眼部疾病; 眼内液; 细胞因子; 细胞亚群

基金项目: 国家自然科学基金项目(82070948); 顺义区“北京市科技成果转化统筹协调与服务平台”建设基金

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210118-00049

Application progress of flow cytometry in the cytokine test and cytological examination for ocular diseases

Liu Ming¹, Tao Yong²

¹Beijing GiantMed Medical Diagnostics Laboratory, Beijing 101399, China; ²Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

Corresponding author: Tao Yong, Email: taoyong@bjcyh.com

【Abstract】 As an advanced quantitative technology for cells, flow cytometry, which can make multi-parameter quantitative analysis and sorting of individual cells or biological particles, has been widely used in immunology, oncology, hematology and other fields of medical research and clinical diagnosis in recent years. It can quantitatively detect the expression levels of cytokines and the distribution characteristics of cell subsets in the intraocular fluid. Compared with traditional enzyme-linked immunosorbent assay, cell morphology and immunohistochemistry, it has the advantages of simple operation, smaller sample size, higher sensitivity and higher throughput. Flow cytometry has been widely used in the detection and subgroup analysis of cytokines related to eye diseases, such as intraocular angiogenesis, intraocular lymphoma, retinopathy, cataract, uveitis, sarcoidotic uveitis, infectious intraocular inflammation, etc. Flow cytometry plays an increasingly important role in the pathogenesis research and targeted therapy of eye diseases. In this article, the application of flow cytometry in the examination of cytokines and cytology in ocular fluid for ocular diseases were reviewed.

【Key words】 Flow cytometry; Eye diseases; Intraocular fluid; Cytokine; Cell subsets

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82070948); Shunyi District “Beijing Science and Technology Achievements Transformation Coordination and Service Platform” Construction Fund

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210118-00049

流式细胞术是一种能够对单个细胞或生物颗粒进行多参数、定量分析和分选的检测技术,具有速度快、精度高、准确性好和通量高等优点,是目前先进的细胞定量分析技术之一,广泛应用于免疫学、肿瘤学、血液学等领域的医学研究和临床诊断,特别是免疫学的淋巴细胞亚群分析。淋巴细胞亚群分析是

临床开展最多的检测项目,也是检测机体免疫功能的重要指标,对疾病的诊断、发病机制研究、疾病的治疗和预后具有重要意义^[1-3]。随着流式细胞术的发展以及眼科基础医学研究和临床精准诊疗要求的不断提高,流式细胞术越来越多地用于眼部疾病的研究与辅助靶向治疗,该技术可以定量检测眼内液中细

胞因子水平、细胞亚群的占比,对研究眼部疾病的发病机制和分类诊疗具有重要意义。本文就流式细胞术在眼部疾病眼内液中细胞因子和细胞学检查的应用进展综述。

1 流式细胞术在眼部疾病细胞因子检测中的应用

细胞因子是一类由免疫细胞和某些非免疫细胞经刺激而合成并分泌的具有广泛生物学活性的小分子蛋白质,其通过结合相应受体来调节细胞增生、分化,调控免疫应答。细胞因子水平是判断机体免疫功能的一个重要指标,在眼部疾病的诊疗中具有重要价值。

1.1 流式细胞术与酶联免疫吸附试验法的比较

目前用于细胞因子检测的方法主要有酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 法、基于流式细胞术的流式微球阵列法 (cytometric beads array, CBA) 和流式多重微球阵列法 (cytometry multiplex arrays, CMA) [4-5]。CBA 法适用于 20 个以内细胞因子、小批量样本的同时检测。CMA 法适用于 20 个以上细胞因子、大批量样本的同时检测,最高可同时检测 100 个细胞因子。与传统的 ELISA 法相比,CBA 法和 CMA 法具有以下优点:(1)操作简单 CBA 法和 CMA 法采用微球集成式检测,只需一组标准曲线,即可计算出每种待测细胞因子的浓度,大大简化操作,节约成本;(2)所需样本量少 ELISA 每项检测样本用量 50~200 μl , CBA 法和 CMA 法所需样本量少于 50 μl ;(3)通量高 ELISA 法 1 个反应只能检测 1 个细胞因子,CBA 法和 CMA 法 1 个反应可同时检测多个细胞因子;(4)灵敏度和可重复性高 CBA 法和 CMA 法灵敏度可达 pg/ml 级别,无酶-底物背景干扰,检测结果稳定且可重复性高;(5)组合多样化 CBA 法和 CMA 法可自由组合所检测的不同种类细胞因子,从而满足临床和科研细胞因子检测多样化的需求。

1.2 不同眼病眼内液细胞因子的流式细胞术检测

1.2.1 新生血管性眼病 Miao 等 [6] 采用 CBA 法对脉络膜新生血管患者房水中的炎性细胞因子进行检测,发现特发性脉络膜新生血管患者房水中细胞因子白细胞介素 (interleukin, IL)-6 和 IL-8 浓度与黄斑水肿体积显著相关,细胞因子 IL-1 β 、IL-10、IL-12p 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 浓度与黄斑厚度/黄斑体积均无明显相关性;玻璃体腔内注射抗血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 药物治疗前后炎性因子水平无显著变化,为脉络膜新生血管疾病联合抗炎治疗提供了理论依据。Maier 等 [7] 首次将 CBA 法应用于玻璃体液中血管生成因子的检测,发现与非糖尿病患者相比,糖尿病患者的玻璃体中 IL-8、VEGF 和血管生长素水平显著升高,而血清中无明显变化,检测结果与 ELISA 法一致,且 CBA 法具有所需样本用量小、检测参数多、检测速度快、成本低等优点。Koss 等 [8] 采用 CBA 法检测 35 例视网膜中央静脉阻塞患者和 28 例非视网膜中央静脉阻塞患者玻璃体液中炎性细胞因子 IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 和 VEGF-A 的含量,发现单纯抑制 VEGF-A 可能不足以减轻视网膜中央静脉阻塞患者治疗中的炎症反应。

1.2.2 眼内淋巴瘤 Fisson 等 [9] 采用 CBA 法分别检测原发性

眼内淋巴瘤 (primary intraocular lymphoma, PIOL)、眼脑淋巴瘤 (oculocerebral lymphoma, OCL)、无出血性视网膜脱离 (retinal detachment, RD) 和葡萄膜炎患者玻璃体和房水中的细胞因子,发现所有样本中均未检测到 IL-2、IL-4 和 TNF- α 。RD 患者玻璃体液中检测到 IL-6 含量较高,PIOL 和 OCL 患者样本中 IL-10/IL-6 比值略高于葡萄膜炎患者,认为 IL-10/IL-6 和 IL-10/干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 比值的组合检测对鉴别诊疗葡萄膜炎和 PIOL/OCL 具有重要意义,可用于 PIOL 的筛查。Pochat-Cotilloux 等 [10] 采用 CMA 法对玻璃体视网膜淋巴瘤患者和葡萄膜炎患者房水和玻璃体液中 IL-6、IL-10 浓度进行测定,发现 2 个组患者玻璃体液、房水中 IL-10 和 IL-10/IL-6 比值差异均有统计学意义,并认为 IL-10 和 IL-10/IL-6 比值对玻璃体视网膜淋巴瘤早期诊断和预后监测有重要作用。

1.2.3 视网膜病变 Yoshida 等 [11] 采用 CBA 法测定了增生性糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 患者玻璃体切割术前以及术后 7 个月人工晶状体植入术时玻璃体液中 MCP-1、IL-6 和 IL-8 的浓度,发现人工晶状体植入术时样品中 MCP-1 和 IL-6 浓度明显高于玻璃体切割术前采集的样品,表明即使玻璃体切割术后病情得到缓解,仍存在可引起糖尿病黄斑水肿的长期炎症。Yoshida 等 [12] 还采用 CBA 法研究了玻璃体切割术后病情未缓解的 PDR 患者玻璃体液中 MCP-1、IL-6、IL-8 和 VEGF 的浓度,推测 MCP-1、IL-6 和 IL-8 浓度升高的原因可能是术后纤维增生,VEGF 可能是 PDR 患者玻璃体切割术失败后新生血管形成的原因 [11-12]。

1.2.4 其他眼部疾病 董宁等 [13] 采用 CMA 法对行超声乳化白内障摘除术的 2 型糖尿病患者房水中 27 种细胞因子进行检测,发现房水中细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IP-10、MCP-1 和 VEGF 质量浓度与白内障术后黄斑水肿的发生密切相关。张勇等 [14] 采用 CMA 法检测原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma, POAG) 患者和年龄相关性白内障患者房水发现, MCP-1、可溶性血管细胞黏附分子-1 和可溶性神经细胞黏附分子在 POAG 患者房水中表达水平高,提示 POAG 是一种神经退行性疾病,且在发病过程中有神经炎症发生。Ooi 等 [15] 分别采用 CBA 法和 ELISA 法对急性全葡萄膜炎患者和白内障患者房水进行检测,发现 IFN- γ 与 IL-10 在葡萄膜炎患者中具有相关性, TNF- α 与 IL-4/IFN- γ 在白内障患者房水中具有相关性。任宁等 [16] 采用流式细胞术检测糖尿病干眼患者和正常人结膜上皮细胞中趋化因子受体 (chemokine receptor, CCR) 4、CCR5、CCR6 和泪液中辅助性 T 细胞 (T helper cell, Th)-17 的表达,发现 CCR5、CCR6 和 Th-17 细胞可能参与了糖尿病并发干眼的发生,并在发病机制中起关键作用。姚娟等 [17] 采用 CMA 法对春季角结膜炎患者、季节性变应性结膜炎患者、常年性变应性结膜炎患者及健康志愿者各 20 例 40 眼泪液进行检测,发现 IL-4、IL-5 和 IL-13 参与多种类型变应性结膜炎的发病,且在不同类型变应性结膜炎患者眼表中的表达存在差异。

2 流式细胞术在眼部疾病细胞学检查中的应用

细胞学检查方法主要包括细胞形态学检查、免疫组织化学

检测和流式细胞分析。细胞形态学检查是指通过对患者病变部位脱落、刮取或穿刺抽取的细胞进行涂片、固定、染色等处理,在显微镜下观察细胞的形态,从而做出定性诊断。细胞形态学检查是肿瘤诊断的金标准,但细胞形态学检查无法辨别肿瘤细胞来源及肿瘤具体类型,需要依赖免疫组织化学检测或流式细胞术进一步分析。免疫组织化学检测和流式细胞分析是细胞形态学检查的重要辅助手段。

2.1 流式细胞术与免疫组织化学检测的比较

免疫组织化学检测操作繁琐,且对操作人员取材和切片制备水平要求较高,如果取材或切片制备不准,容易导致假阴性或假阳性结果,且检测通量低。流式细胞术可同时对 1 个样本的多个参数进行定性、定量检测分析,既可揭示样本中各细胞亚群的分布特征,也可进行细胞内抗原的特征分析,只需将样本制备成单细胞悬液,与特异性荧光标记的抗体进行结合,无需制备切片、依赖人工进行显微镜观察,操作简单并能减少人为差错,具有通量高、灵敏度高、重复性强的特点。

2.2 流式细胞术在不同眼病的液内细胞学检查中的应用

2.2.1 眼内淋巴瘤 眼内淋巴瘤是一种罕见的致命性眼部恶性肿瘤,其临床症状与葡萄膜炎相似,容易造成临床误诊。Davis 等^[18]采用流式细胞术分析葡萄膜炎和眼内淋巴瘤患者玻璃体液中反应性 T 细胞浸润情况,发现 2 个组患者玻璃体液中 CD2、CD3、CD4、CD5 和 CD7 等 T 淋巴细胞亚群水平比较,差异均有统计学意义,葡萄膜炎患者玻璃体液中 T 淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值最高,T 细胞淋巴瘤患者的 CD3⁺ 淋巴细胞数量明显多于葡萄膜炎患者。Missotten 等^[19]对流式细胞术诊断眼内淋巴瘤的性能进行评估,流式细胞术检测的敏感性和特异性分别可达 82.4% 和 100%。Maruyama 等^[20]利用流式细胞术结合细胞学、基因重排技术首次通过玻璃体液确诊了 1 例原发性眼内自然杀伤性 T 细胞淋巴瘤患者。Maruyama 等^[21]利用流式细胞术进行细胞亚群分析,发现与结节病性葡萄膜炎、病毒性感染、非结节病及其他不明原因引起的葡萄膜炎样本相比,眼内淋巴瘤患者玻璃体液中 CD19⁺ 淋巴细胞含量最高。

2.2.2 结节病性葡萄膜炎 结节病是一种多系统性慢性炎症性疾病,以非干酪样上皮样肉芽肿为特征,异常激活 T 淋巴细胞是结节病的首要病因。流式细胞术常用于支气管肺泡灌洗液和外周血中淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值分析,辅助临床诊断结节病。Maruyama 等^[22]研究认为玻璃体灌洗液在结节病诊断方面与支气管肺泡灌洗液有同等价值。大量研究也证实液内细胞亚群分析对结节病性葡萄膜炎的诊疗具有重要意义。Kojima 等^[23]采用流式细胞术对临床诊断为眼结节病的实验组和非眼结节病的对照组玻璃体液样本进行检测分析,发现实验组淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显高于对照组,实验组玻璃体液中 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显高于外周血,玻璃体液中 CD4⁺/CD8⁺ 比值诊断眼结节病的敏感性和特异性分别高达 100% 和 96.3%,认为玻璃体液淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值在眼结节病的诊断中具有重要价值。Sanz-Marco 等^[24]采用流式细胞术对 3 例葡萄膜炎患者和 3 名健康人房水中淋巴细胞 CD4 和 CD8 进行检测,认为淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值检测对临床葡萄膜炎,尤其

是结节病性葡萄膜炎的诊断有重要价值。Olenik 等^[25]利用流式细胞术确诊了 1 例系统性检查均为阴性的眼结节病患者,通过流式细胞术对房水中淋巴细胞 CD4 和 CD8 进行计数分析,发现 CD4⁺/CD8⁺ 比值 > 9.5,符合眼结节病的诊断,说明房水中细胞分析对结节病的诊断具有重要意义。Dave 等^[26]利用流式细胞术比较分析了 21 例结节病性葡萄膜炎患者和 40 例非结节病性葡萄膜炎患者房水中淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值变化,发现结节病性葡萄膜炎患者房水 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显高于非结节病性葡萄膜炎患者,CD4⁺/CD8⁺ 比值 > 3.5 时与结节病性葡萄膜炎具有相关性。

2.2.3 视网膜病变 视网膜病变分类较多,常见的有增生性视网膜病变、非 PDR、增生性玻璃体视网膜病变、自身免疫性视网膜病变、新生儿视网膜病变等。视网膜病变发病机制尚不完全清楚,有研究认为免疫细胞的改变可能引起视网膜病变,采用流式细胞术分析细胞亚群为研究视网膜病变发病机制和靶向治疗提供了更精准的技术手段。Urbančič 等^[27]采用流式细胞术对 DR 患者玻璃体液中的炎症细胞进行检测,发现不同患者的玻璃体中淋巴细胞和巨噬细胞的百分比不同,6 例黄斑裂孔患者玻璃体液中未检测出淋巴细胞,28 例 DR 患者玻璃体液中均检测出 T 淋巴细胞和巨噬细胞,且玻璃体液较血清中的 T 淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值和巨噬细胞数量明显增多,首次报道了眼内炎症细胞检测对 DR 进程诊断的重要性。Shouman 等^[28]采用流式细胞术分析患者玻璃体液中淋巴细胞 CD4、CD8 和 CD28 水平,发现 PDR 和增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 患者玻璃体液中均可检测到淋巴细胞,而对照组 (其他病变行玻璃体切割术的患者) 玻璃体液中未检测到淋巴细胞,且 PDR 患者玻璃体液中淋巴细胞亚群 CD4⁺CD28⁻ 和 CD8⁺CD28⁺ 水平明显高于外周血, PVR 患者玻璃体液中淋巴细胞亚群 CD4⁺CD28⁻ 和 CD8⁺CD28⁺ 水平明显高于外周血,表明淋巴细胞分析有利于更好地了解 PDR 和 PVR 的发病机制。

2.2.4 感染性眼内炎症性疾病 不同微生物感染引起的眼内炎症液内液中浸润的细胞类型和数量不同,故采用流式细胞术分析细胞亚群是辅助靶向治疗感染性眼内炎的一种有效手段。Maruyama 等^[21]研究发现单纯疱疹病毒 1 型和水痘-带状疱疹病毒感染引起的急性视网膜坏死患者玻璃体液中含有较多的 T 淋巴细胞 CD4 和 CD8。另外,该研究还发现细菌或真菌感染性眼内炎中,大多数渗入玻璃体液的细胞是单核细胞和巨噬细胞。

流式细胞术已广泛应用于各类眼部疾病的诊疗,但由于不同病因引起的眼部疾病可能存在细胞亚群重叠现象,比如葡萄膜炎和 B 细胞淋巴瘤患者眼内液中均存在 T 淋巴细胞,造成分类诊断比较困难,需要结合人工细胞学、分子生物学联合诊断^[17]。流式细胞术是目前一种先进的细胞定量分析技术,具有快速、多参数、高通量和高准确性等优点,除了可以辅助临床诊疗外,还可以通过标记不同的荧光监测、定量各类免疫细胞和细胞内细胞因子,研究免疫信号通路,进一步了解免疫机制。随着技术的优化升级和眼科基础研究的不断深入,相信流式细

胞术在眼部疾病的发病机制研究和分类诊疗方面将发挥日益重要的作用。

利益冲突 刘铭为北京智德医学检验所有限公司职员,陶勇声明不存在任何利益冲突

参考文献

- 中国医师协会儿科医师分会风湿免疫专业委员会,中国医师协会儿科医师分会过敏专业委员会,中华医学会儿科分会免疫学组.流式细胞术分析外周血淋巴细胞亚群在儿科的临床应用共识[J].中华检验医学杂志,2016,39(5):344-349. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.05.005.
- 石静怡.流式细胞术在临床肿瘤学中应用研究进展[J].医药前沿,2016,6(36):138-139. DOI:10.3969/j.issn.2095-1752.2016.36.104.
- 沈立松,王维维,袁向亮.我国临床流式细胞术的应用现状和展望[J].中华检验医学杂志,2016,39(5):329-331. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.05.001.
- Shen LS, Wang WW, Yuan XL. The status quo and prospects of flow cytometry clinical application in China[J]. Chin J Lab Med, 2016, 39(5):329-331. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2016.05.001.
- 王云鹏,陈小红,陈梅珠.增生性DR玻璃体腔注射 ranibizumab 前后房水中 VEGF 和 PEDF 水平的变化[J].中华实验眼科杂志,2016,34(1):60-64. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.012.
- Wang YP, Chen XH, Chen MZ. The changes of aqueous humor vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor levels before and after intravitreal injection of ranibizumab in proliferative diabetic retinopathy[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(1):60-64. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.012.
- 侯艳宏,崔红平.新生血管性青光眼患者房水和血浆中 VEGF、TGF- β 1 和 IL-6 的测定及意义[J].中华实验眼科杂志,2016,34(7):624-629. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.011.
- Hou YH, Cui HP. Levels of aqueous and serum VEGF, TGF- β 1, IL-6 in neovascular glaucoma eyes[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(7):624-629. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.011.
- Miao H, Tao Y, Li XX. Inflammatory cytokines in aqueous humor of patients with choroidal neovascularization[J]. Mol Vis, 2012, 18:574-580.
- Maier R, Weger M, Haller-Schober EM, et al. Application of multiplex cytometric bead array technology for the measurement of angiogenic factors in the vitreous[J]. Mol Vis, 2006, 12:1143-1147.
- Koss M, Pfister M, Rothweiler F, et al. Correlation from undiluted vitreous cytokines of untreated central retinal vein occlusion with spectral domain optical coherence tomography[J]. Open Ophthalmol J, 2013, 7:11-17. DOI:10.2174/1874364101307010011.
- Fisson S, Ouakrim H, Touthou V, et al. Cytokine profile in human eyes: contribution of a new cytokine combination for differential diagnosis between intraocular lymphoma or uveitis[J/OL]. PLoS One, 2013, 8(2):e52385 [2020-06-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23405064>. DOI:10.1371/journal.pone.0052385.
- Pochat-Cotilloux C, Bienvenu J, Nguyen AM, et al. Use of a threshold of interleukin-10 and IL-10/IL-6 ratio in ocular samples for the screening of vitreoretinal lymphoma[J]. Retina, 2018, 38(4):773-781. DOI:10.1097/IAE.0000000000001922.
- Yoshida S, Kubo Y, Kobayashi Y, et al. Increased vitreous concentrations of MCP-1 and IL-6 after vitrectomy in patients with proliferative diabetic retinopathy: possible association with postoperative macular oedema[J]. Br J Ophthalmol, 2015, 99(7):960-966. DOI:10.1136/bjophthalmol-2014-306366.
- Yoshida S, Kobayashi Y, Nakao S, et al. Differential association of elevated inflammatory cytokines with postoperative fibrous proliferation and neovascularization after unsuccessful vitrectomy in eyes with proliferative diabetic retinopathy[J]. Clin Ophthalmol, 2017, 11:1697-1705. DOI:10.2147/OPHT.S141821.
- 董宁,汤欣,肖林,等.房水中多种细胞因子与 2 型糖尿病患者白内障术后黄斑水肿的关系[J].中华实验眼科杂志,2015,33(4):356-361. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.04.014.
- Dong N, Tang X, Xiao L, et al. Association of multiple aqueous cytokines with postoperative macular edema in patients with type 2 diabetes following phacoemulsification cataract surgery[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(4):356-361. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.04.014.
- 张勇,杨钦媚,郭凤,等.原发性开角型青光眼房水中神经保护因子和免疫相关因子的变化[J].中华实验眼科杂志,2018,36(4):284-288. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.04.012.
- Zhang Y, Yang QM, Guo F, et al. Changes of neuroprotective factors and immune-related factors in aqueous humor of patients with primary open angle glaucoma[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2018, 36(4):284-288. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.04.012.
- Ooi KG, Galatowicz G, Towler HM, et al. Multiplex cytokine detection versus ELISA for aqueous humor: IL-5, IL-10, and IFN γ profiles in uveitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(1):272-277. DOI:10.1167/iovs.05-0790.
- 任宁,崔红,孙丽霞,等.糖尿病并发干眼患者结膜上皮细胞中趋化因子受体表达及泪液中 Th-17 细胞数量变化[J].中华实验眼科杂志,2018,36(9):710-713. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.09.011.
- Ren N, Cui H, Sun LX, et al. Changes of chemokine receptors expression in the conjunctival epithelial cells and Th-17 cell number in tears of diabetic dry eye disease[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2018, 36(9):710-713. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.09.011.
- 姚娟,李冰,郑晓芬.不同类型过敏性结膜炎患者眼表组织中白细胞介素-4、5 和 13 的表达[J].中华实验眼科杂志,2015,33(10):924-929. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.013.
- Yao J, Li B, Zheng XF. Expressions of interleukin-4, 5 and 13 in ocular surface with different types of allergic conjunctivitis[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(10):924-929. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.013.
- Davis JL, Ruiz P Jr, Shah M, et al. Evaluation of the reactive T-cell infiltrate in uveitis and intraocular lymphoma with flow cytometry of vitreous fluid (an American Ophthalmological Society thesis)[J]. Trans Am Ophthalmol Soc, 2012, 110:117-129.
- Missotten T, Tielemans D, Bromberg JE, et al. Multicolor flowcytometric immunophenotyping is a valuable tool for detection of intraocular lymphoma[J]. Ophthalmology, 2013, 120(5):991-996. DOI:10.1016/j.ophtha.2012.11.007.
- Maruyama K, Kunikata H, Sugita S, et al. First case of primary intraocular natural killer t-cell lymphoma[J/OL]. BMC Ophthalmol, 2015, 15:169 [2020-06-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26585973/>. DOI:10.1186/s12886-015-0158-0.
- Maruyama K, Inaba T, Sugita S, et al. Comprehensive analysis of vitreous specimens for uveitis classification: a prospective multicentre observational study[J/OL]. BMJ Open, 2017, 7(11):e014549 [2020-12-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29150462>. DOI:10.1136/bmjopen-2016-014549.
- Maruyama K, Inaba T, Tamada T, et al. Vitreous lavage fluid and bronchoalveolar lavage fluid have equal diagnostic value in sarcoidosis[J/OL]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(49):e5531 [2020-12-01]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27930546>. DOI:10.1097/MD.0000000000005531.
- Kojima K, Maruyama K, Inaba T, et al. The CD4/CD8 ratio in vitreous fluid is of high diagnostic value in sarcoidosis[J]. Ophthalmology, 2012, 119(11):2386-2392. DOI:10.1016/j.ophtha.2012.05.033.
- Sanz-Marco E, Garcés M, Sempere A, et al. CD4/CD8 ratio in aqueous humor in Uveitis[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2013, 21(5):408-409. DOI:10.3109/09273948.2013.801993.
- Oleñik A, Gonzalo-Suárez B, Revenga M, et al. Use of aqueous humor and flow cytometry in ocular sarcoidosis diagnosis[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2017, 25(4):540-544. DOI:10.3109/09273948.2016.1158839.
- Dave N, Chevour P, Mahendradas P, et al. Increased aqueous humor CD4⁺/CD8⁺ lymphocyte ratio in sarcoid uveitis[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2019, 27(7):1033-1040. DOI:10.1080/09273948.2017.1421232.
- Urbančič M, Kloboves Prevodnik V, Petrovič D, et al. A flow cytometric analysis of vitreous inflammatory cells in patients with proliferative diabetic retinopathy[J/OL]. Biomed Res Int, 2013, 2013:251528 [2020-12-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24282811>. DOI:10.1155/2013/251528.
- Shouman A, Leila M, Mahran M, et al. Vitreous levels of CD4, CD8 and CD28 T-lymphocytes in patients with proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy[J]. World J Med Sci, 2014, 11(3):364-372. DOI:10.5829/idosi.wjms.2014.11.3.8573.

(收稿日期:2020-06-09 修回日期:2021-01-29)

(本文编辑:张宇 骆世平)