

# 不同染色过程对提升流式细胞仪检测外周血自然杀伤细胞的效果评价

赵玉梅<sup>1</sup>, 张月月<sup>2</sup>, 秦晓琨<sup>3</sup>, 薛国庆<sup>3</sup>, 高华方<sup>1</sup>(1. 国家卫生健康委科学技术研究所国家人类遗传资源中心, 北京 100081; 2. 北京大学国际医院检验科, 北京 102218; 3. 北京指真生物科技有限公司研发部, 北京 100176)

**摘要:** **目的** 分析两种染色过程对外周血中的自然杀伤(NK)细胞检测效果的影响。**方法** 选取2024年6月在北京大学国际医院体检中心门诊的66例不同免疫水平患者作为研究对象, 其中男性33例, 女性33例, 分别使用两个厂商的试剂, 每种试剂共涉及两种染色过程(直接染色和先洗涤后染色), 通过流式细胞术检测淋巴细胞免疫表型CD3<sup>+</sup>百分比和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比, 比较两种染色过程淋巴细胞免疫表型的差异性; 同时分析NK细胞分离度来考察两种染色过程对NK细胞分离效果的影响。**结果** 两种试剂结果均显示CD3<sup>+</sup>百分比和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比在两种染色过程差异无统计学意义( $Z=-1.793\sim-0.379$ , 均 $P>0.05$ )。国产试剂在两种染色过程检测CD3<sup>+</sup>百分比的组内相关系数(ICC)为0.977, CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比的ICC为0.990; 进口试剂在两种染色过程检测CD3<sup>+</sup>百分比的ICC为0.977, CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比的ICC为0.991, 两种试剂均具有较好一致性。两种试剂结果均显示NK细胞分离度在两种染色过程差异具有统计学意义( $Z=-6.624, -6.736$ , 均 $P<0.0001$ ), 与直接染色相比, 先洗涤后染色NK细胞分离度更大。**结论** 两种染色过程测试得到的CD3<sup>+</sup>百分比和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比一致性较好, 针对NK细胞分群较差或无法分群的标本可以尝试先洗涤后染色, 改善CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞群与CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup>细胞群的分离效果, 从而提升NK细胞检测准确度, 为临床提供辅助诊断价值。

**关键词:** 流式细胞术; 染色; 自然杀伤细胞; 细胞分群

**中图分类号:** R446 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2026)01-165-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2026.01.032

## Evaluation of the Effectiveness of Different Staining Processes on Enhancing Flow Cytometry Detection of Peripheral Blood Natural Killer Cells

ZHAO Yumei<sup>1</sup>, ZHANG Yueyue<sup>2</sup>, QIN Xiaokun<sup>3</sup>, XUE Guoqing<sup>3</sup>, GAO Huafang<sup>1</sup> (1. National Center for Human Genetic Resources, National Research Institute for Health and Family Planning, Beijing 100081, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Peking University International Hospital, Beijing 102218, China; 3. Department of R&D, Beijing Zhizhen Biological Science and Technology Co. Ltd, Beijing 100176, China)

**Abstract: Objective** To analyze the effects of two staining processes on the detection of natural killer (NK) cells in human peripheral blood. **Methods** A total of 66 patients with different immune levels who were diagnosed and treated at the Physical Examination Center of Peking University International Hospital in June 2024 were enrolled as the research subjects, including 33 males and 33 females. Reagents from two manufacturers were used, each involving two staining processes (direct staining and washing followed by staining). The lymphocyte immunophenotype percentage of CD3<sup>+</sup> and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> were detected by flow cytometry, and the differences in lymphocyte immunophenotypes between the two staining processes were compared. Simultaneously, NK cells isolation efficiency was analyzed to examine the impact of the two staining processes on NK cells separation. **Results** Both reagents showed no statistically significant differences in CD3<sup>+</sup> percentage and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> percentage between the two staining processes ( $Z=-1.793\sim-0.379$ , all  $P>0.05$ ). The intraclass correlation coefficients (ICC) for CD3<sup>+</sup> percentage and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> percentage detected by the domestic reagents across two staining processes were 0.977 and 0.990, respectively. The ICCs for detecting percentages of CD3<sup>+</sup> and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> using the imported reagents in both staining processes were 0.977 and 0.991, respectively, indicating good consistency for both reagents. The results from both reagents showed statistically significant differences in NK cell separation rates between the two staining processes ( $Z=-6.624, -6.736$ , all  $P<0.0001$ ). Compared with the direct staining, NK cell separation rates were higher after washing followed by staining. **Conclusions** The CD3<sup>+</sup> percentage and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> percentage obtained from both staining processes showed good consistency. For specimens with poor NK cell separation or those that can't be separated, attempting washing followed by staining may improve the separation of CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup> and CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup> cell populations. This approach enhances

**作者简介:** 赵玉梅(1983-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 检验医学、免疫学, E-mail: aux1983@163.com。

accuracy of NK cell detection and provides auxiliary diagnostic value for clinical practice.

**Keywords:** flow cytometry; staining; NK cells; cell clustering

淋巴细胞亚群检测已成为实验室的常规检测项目,其中自然杀伤(natural killer, NK)细胞的检测对机体免疫功能的评估、肿瘤患者疾病的诊断与监测、感染性疾病的管理、免疫缺陷和自身免疫病、造血干细胞移植和嵌合抗原受体T细胞免疫治疗(chimeric antigen receptor T cell immuno-therapy, CAR-T)等均有重要的参考意义<sup>[1-8]</sup>,通过NK细胞的检测可以帮助医生更好地了解患者的免疫状态,制定个性化的治疗方案并监测治疗效果和预后。人体中的NK细胞为CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>细胞,其在发育过程中主要可分为CD56<sup>dim</sup>和CD56<sup>bright</sup>两种细胞亚型,前者在功能上比后者成熟<sup>[9]</sup>;CD56<sup>dim</sup>NK细胞表现出更强的细胞毒性,通过表达大量的CD16,分泌穿孔素和颗粒酶等细胞毒性分子杀伤靶细胞,CD56<sup>bright</sup>NK细胞的主要作用是释放细胞因子和通过免疫调节杀伤肿瘤细胞。NK细胞上机前的制备方式目前都是通过直接染色的方式进行,将单标抗体和全血直接混合染色,单标抗体与NK细胞表面的抗原CD16和CD56结合,通过已结合的单标抗体上的荧光分子来识别NK细胞阳性群,由于NK细胞表面的CD16和CD56正常表达丰度并不高,针对NK细胞含量较低的标本会导致CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞群与CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup>细胞群之间难以区分,从而无法得到CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比结果,因此需要寻找一种提升NK细胞检测效果的实验方法,以更好发挥流式细胞仪检测NK细胞的辅助诊断价值。

目前,国内外文献尚无针对有效提升NK细胞检测效果的报道,本研究旨在研究不同的染色过程对NK细胞检测效果提升的影响。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 本研究收集2024年6月15日~6月30日在北京大学国际医院体检中心诊疗的66例不同免疫水平患者作为研究对象,其中男性33例,女性33例,所有研究对象均满足以下纳入标准:①年龄18~60岁;②血细胞检测、尿沉渣检测及肝、肾功能检查均正常;③内科、外科、心电图、X线透视、B超检查均无异常;④无恶性肿瘤、自身免疫病、血液病、感染性及代谢性疾病;⑤3个月内未使用激素类或免疫抑制类药物。本研究已通过国家卫生健康委科学技术研究所伦理委员会的审核批准[NRIFP2024012],且获得所有研究对象的知情同意。

1.2 仪器与试剂 CytoFocus流式细胞仪(北京指真生物科技有限公司);CD45-PerCP、CD3-FITC、CD16-PE、CD56-PE单标抗体(北京指真生物科技有限公司);CD45-PerCP-Cy5.5、CD3-FITC、CD16-PE、

CD56-PE、红细胞裂解液(美国碧迪医疗器械公司),所有试剂均在有效期内使用。

## 1.3 方法

1.3.1 标本采集:采用EDTA-K<sub>2</sub>抗凝剂采血管收集外周血,每份标本不少于1ml,并在采样48h内完成检测。

1.3.2 实验步骤:①流式管中加入四种单标抗体,其中CD45抗体用于圈出淋巴细胞,CD3抗体用于圈出CD3<sup>+</sup>淋巴细胞亚群和CD3<sup>-</sup>淋巴细胞亚群,CD16和CD56抗体用于圈出NK细胞亚群即CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞;②继续加入临床标本,其中直接染色是加入100μl已混匀好的外周全血,先洗涤后染色是加入100μl细胞悬液(100μl已混匀好的外周全血,加入0.01mol/L PBS 500μl洗涤,500×g离心去上清后保留总体积100μl);③红细胞裂解;④流式细胞仪检测分析。

1.3.3 结果分析:通过CD45/侧向角(side scatter, SSC)建立散点图,圈出淋巴细胞,通过CD3/CD16+56散点图获得CD3<sup>+</sup>百分比,CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比,CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞群PE荧光强度和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup>细胞群藻红蛋白(P-phycoerythrin, PE)荧光强度,按照以下公式计算两个厂商的试剂分别在两种染色过程的NK细胞分离度,即NK细胞[CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>]与非NK细胞[CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup>]在流式散点图中的区分能力。

$$\text{NK分离} = \frac{\text{CD3}^{-}(\text{CD56} + \text{CD16})^{+} \text{细胞群PE荧光强度}}{\text{CD3}^{-}(\text{CD56} + \text{CD16}) \text{细胞群PE荧光强度}}$$

1.4 统计学分析 计量数据首先以Shapiro-Wilk(S-W)正态性检验法检验证实不符合正态分布,以M(Q1, Q3)表示,应用SPSS24.0统计学软件对组内相关系数(intraclass correlation coefficients, ICC)进行评价,如ICC值>0.75,则认为两组数据一致性良好,采用GraphPad Prism10.0软件进行Bland-Altman偏差分析,以 $\bar{x} \pm 1.96s$ 作为一致性界限,>95%偏差值在一致性界限内认为一致性良好;通过Wilcoxon秩和检验分析两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比差异和NK细胞分离度差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比结果比较 见表1。所有研究对象均可实现CD3<sup>+</sup>细胞分群,故参与CD3<sup>+</sup>百分比统计分析的有66例;国产试剂有8例通过直接染色NK细胞无法分群,进口试剂有6例通过直接染色NK细胞无法分群,故参与CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比统计分析的分别有58和60例。两种试剂结果均显示CD3<sup>+</sup>百分比和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比在两种染色过程差异无统计学意义(均 $P > 0.05$ )。

表1 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比结果比较 [M(Q1, Q3), %]

试剂	项目	n	直接染色	先洗涤后染色	Z值	P值
国产试剂	CD3 <sup>+</sup>	66	72.1(65.4, 77.2)	72.5(66.2, 78.3)	-0.862	> 0.05
	CD3 <sup>-</sup> (CD56+CD16) <sup>+</sup>	58	15.4(10.2, 21.4)	16.2(9.9, 20.9)	-1.115	> 0.05
进口试剂	CD3 <sup>+</sup>	66	72.5(64.9, 77.1)	72.6(64.4, 77.5)	-0.379	> 0.05
	CD3 <sup>-</sup> (CD56+CD16) <sup>+</sup>	60	15.8(10.1, 20.6)	15.7(10.2, 22.4)	-1.793	> 0.05

2.2 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比结果 ICC 分析 见表2。国产试剂检测和进口试剂检测结果显示,两种染色过程测试结果的CD3<sup>+</sup>百分比 ICC 和 CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比 ICC 均>0.90, 说明两种染色过程得到的检测结果一致性较好。

2.3 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比结果 Bland-Altman 偏差分析 两种染色过程测值结果表现出较好的一致性,国产试剂测试结果显示 CD3<sup>+</sup>百分比和 CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比的偏差均值分别为0.25和0.15, 分别有1.5%(1/66)和3.4%(2/58)的点在95%一致性界限( $\bar{x} \pm 1.96s$ )之外,见图1A和

1B;进口试剂测试结果显示 CD3<sup>+</sup>百分比和 CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比的偏差均值分别为0.13和0.27, 分别有1.5%(1/66)和1.7%(1/60)的点在95%一致性界限( $\bar{x} \pm 1.96s$ )之外,见图1C和1D。

表2 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比 ICC 分析 (%)

试剂	项目	n	ICC	95%CI
国产试剂	CD3 <sup>+</sup>	66	0.977	0.963, 0.986
	CD3 <sup>-</sup> (CD56+CD16) <sup>+</sup>	58	0.990	0.983, 0.994
进口试剂	CD3 <sup>+</sup>	66	0.977	0.962, 0.986
	CD3 <sup>-</sup> (CD56+CD16) <sup>+</sup>	60	0.991	0.984, 0.995

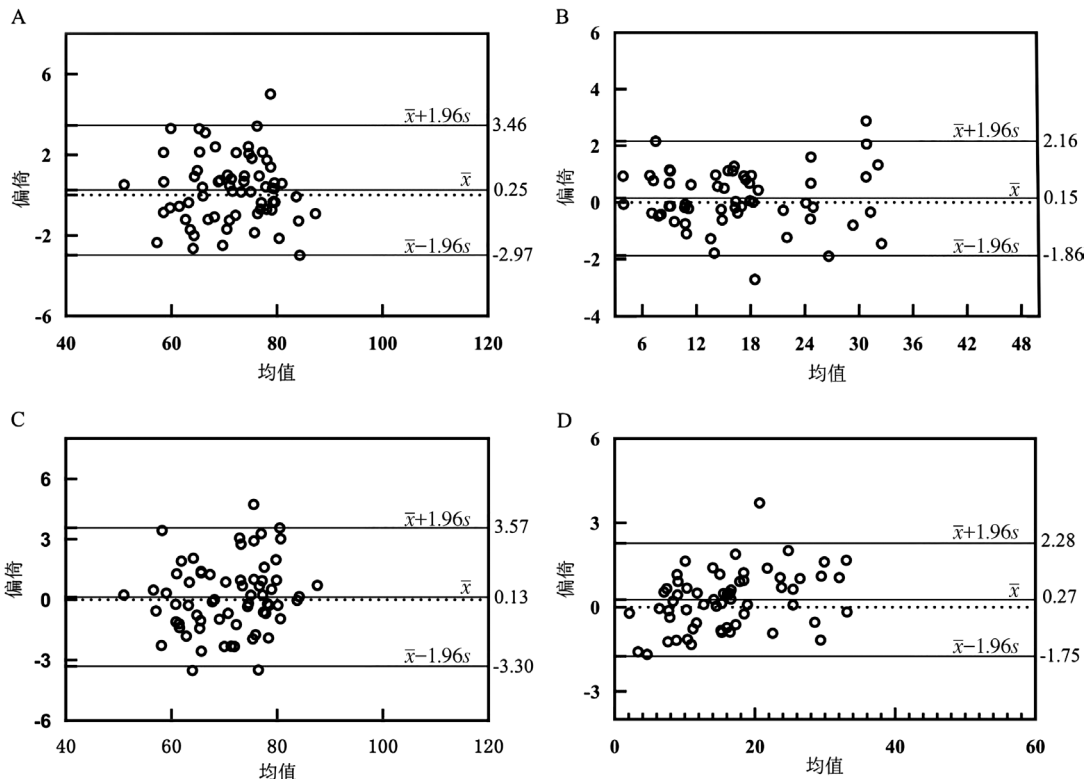


图1 两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比结果Bland-Altman 偏差分析

2.4 两种染色过程NK细胞分离度比较 见表3。与直接染色相比,先洗涤后染色得到的NK细胞分离度更大,差异具有统计学意义(均 $P < 0.0001$ )。

表3 两种染色过程NK细胞分离度结果比较 [M(Q1, Q3)]

试剂	n	直接染色	先洗涤后染色	Z值	P值
国产试剂	58	17.2(13.9, 24.5)	131.3(85.3, 188.5)	-6.624	<0.0001
进口试剂	60	44.5(30.5, 54.5)	170.1(121.3, 216.2)	-6.736	<0.0001

### 3 讨论

NK细胞是机体固有免疫系统中具有直接杀伤功能的细胞毒性淋巴细胞,不受主要组织相容性复

合体(MHC)限制,无需抗原致敏,直接杀伤肿瘤细胞和病毒感染细胞,并且具有调节其他免疫细胞和促进组织生长的作用<sup>[9-10]</sup>。NK细胞也可以影响适应

性免疫反应的结果,故NK细胞检测有较为重要的临床应用价值,通过NK细胞可以了解病人的免疫状态,判断是否患有免疫功能类相关疾病。除此以外,NK细胞还和其他疾病有关,研究发现外周血NK细胞百分比与流产次数相关<sup>[11]</sup>,生殖医学认为母胎界面免疫失衡状态也成为流产不可忽视的原因之一<sup>[12-13]</sup>;NK细胞在负责识别/杀死异常分化、形态学发生异常改变及受到感染的细胞的过程中发挥重要作用<sup>[14]</sup>,NK细胞具有抗EB病毒的功能<sup>[15]</sup>,流感患儿的NK细胞水平明显低于对照组儿童<sup>[16]</sup>,NK细胞在结直肠癌患者中功能受损,介导的抗肿瘤免疫应答下降<sup>[17]</sup>,NK细胞的变化可能受到帕金森病临床严重程度和持续时间的影响<sup>[18]</sup>。目前,临床上NK细胞主要通过流式细胞术进行检测,采用单标抗体和全血直接混合的染色过程,由于CD56和CD16抗原表达丰度较低,通常会搭配高亮度的荧光染料来提高染色后细胞的荧光强度,但对于某些CD56和CD16表达量较低的临床标本仍无法实现NK细胞的清晰分群,针对该问题的解决方法目前国内文献尚无报道,故寻找一种新的染色过程来改善NK细胞的分群效果对临床诊疗至关重要。

本研究通过比较两种染色过程淋巴细胞免疫表型百分比和NK细胞分离度结果显示:两种染色过程CD3<sup>+</sup>百分比和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比差异均无统计学意义。CD3<sup>+</sup>百分比ICC和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>百分比ICC均>0.90,呈现出较好的一致性;CD3<sup>+</sup>百分比Bland-Altman偏差和CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>Bland-Altman偏差分析显示95%以上的数据点落在一致性界限内,平均偏差接近于零,说明系统性差异较小。与直接染色相比,先洗涤后染色得到的NK细胞分离度更大,差异具有统计学意义。对于NK细胞已分群的标本,通过先洗涤后染色可以将NK细胞群与非NK细胞群的分离效果提升,其中66例标本中国产试剂有8例NK细胞无法分群,进口试剂有6例NK细胞无法分群,通过先洗涤后染色,针对上述NK细胞无法分群的标本,国产试剂和进口试剂均可以实现NK细胞的清晰分群,与直接染色相比,先洗涤后染色的染色效果更好,推断洗涤过程中洗涤液的理化环境促进了检测抗体与细胞表面抗原的结合,导致抗原抗体的反应性增加,呈现CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞群的荧光强度增加,故可以将CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>+</sup>细胞群与CD3<sup>-</sup>(CD56+CD16)<sup>-</sup>细胞群分开,从而改善NK细胞的分群效果。抗原抗体的结合是基于它们之间的互补结构,除了结构匹配,反应的环境条件同样重要,洗涤过程改变了抗原所处的pH值和离子强度,使得抗原抗体的反应环境发生改变。由于大多数抗体是蛋白质,所以结构容易受pH值影响,偏离最适pH值可能会导致蛋白质变性影响结合能力,最适pH值则会让抗体的结

合能力最佳;溶液中的离子强度也会影响抗原抗体的结合,适当的离子强度可以中和电荷排斥,促进抗原抗体的结合,但具体的机制研究需要进一步求证。

综上所述,先洗涤后染色可用于提升NK细胞的分群效果,基于此针对一些NK细胞分群不好的标本可以尝试先洗涤后染色来改善NK细胞分群,以解决临床工作中针对该类标本给出的NK细胞百分比结果不准确问题;针对NK细胞无法分群的标本可以尝试先洗涤后染色来实现NK细胞分群,以解决临床工作中针对该类标本无法给出NK细胞百分比结果的问题。因此本研究结果对于提升NK细胞检测准确度具有重要意义,但本研究仍有不足之处:由于是单中心、小样本量的研究,由此可能带来系统性的偏倚,未来需要更大样本量、多中心大规模实验做进一步验证。

#### 参考文献:

- [1] BJÖRKSTRÖM N K, STRUNZ B, LJUNGGREN H G. Natural killer cells in antiviral immunity[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2022, 22(2): 112-123.
  - [2] ZHENG R B, ZHU X J, XIAO Y. Advances in CAR-T-cell therapy in T-cell malignancies[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2024, 17(1): 49-67.
  - [3] RAHIMI A, MALAKOUTIKHAH Z, RAHIMMANESH I, et al. The nexus of natural killer cells and melanoma tumor microenvironment: crosstalk, chemotherapeutic potential, and innovative NK cell-based therapeutic strategies[J]. *Cancer Cell International*, 2023, 23(1): 312-331.
  - [4] FAN X J, YUAN Z H, ZHAO Y S, et al. Impairment of IgG Fc functions promotes tumor progression and suppresses NK cell antitumor actions[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 960-973.
  - [5] FARES J, DAVIS Z B, RECHBERGER J S, et al. Advances in NK cell therapy for brain tumors[J]. *NPJ Precision Oncology*, 2023, 7(1): 17-33.
  - [6] MORTEZAEE K, MAJIDPOOR J. NK and cells with NK-like activities in cancer immunotherapy-clinical perspectives[J]. *Medical Oncology*, 2022, 39(9): 131-147.
  - [7] WOLFGANG W, ULRIKE S.S. Gene Therapy of Cancer[M]. 2th Ed. Totowa: Humana Press, 2009: 233-248.
  - [8] HASSAN S H, ALSHAHRANI M Y, SALEH R O, et al. A new vision of the efficacy of both CAR-NK and CAR-T cells in treating cancers and autoimmune diseases[J]. *Medical Oncology*, 2024, 41(6): 127-132.
  - [9] PERERA MOLLIGODA ARACHCHIGE A S. Human NK cells: from development to effect or functions[J]. *Innate Immunity*, 2021, 27(3): 212-229.
  - [10] CHIOSSONE L, DUMAS P Y, VIENNE M, et al. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(11): 671-688.
  - [11] 王玲,李燕滨,陈锦红,等.高龄孕妇妊娠早期外周血自然杀伤细胞与先兆流产的相关性研究[J]. *发育医学电子杂志*, 2021, 9(6): 443-448.
- WANG L, LI Y B, CHEN J H, et al. Study on the correlation between peripheral blood natural killer cells and threatened abortion in early pregnancy for elderly

- pregnant women[J]. *Journal of Developmental Medicine (Electronic Version)*, 2021, 9(6): 443-448.
- [12] ZHAO D P, FAN J, WANG P, et al. Age-specific definition of low anti-Mullerian hormone and associated pregnancy outcome in women undergoing IVF treatment[J]. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2021, 21(1): 186-198.
- [13] SUN Y F, ZHANG J, XU Y M, et al. Effects of age on pregnancy outcomes in patients with simple tubal factor infertility receiving frozen-thawed embryo transfer[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 18121-18128.
- [14] 袁柔刚, 赵晓丽, 张欣文. 复发性自然流产过程中蜕膜自然杀伤细胞相关受体的作用机制研究进展[J]. *生殖医学杂志*, 2023, 32(9): 1439-1445.
- YUAN R G, ZHAO X L, ZHANG X W. Research progress on mechanism of decidual natural killer cell related receptors in recurrent spontaneous abortion[J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2023, 32(9): 1439-1445.
- [15] JUAN X, FAN Z Y, CAO X H, et al. CD56<sup>bright</sup> NK cell expansion correlated with EBV reactivation control post allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Annals of Hematology*, 2024, 103(9): 3723-3735.
- [16] 黄劼, 袁雯, 陶莹. 流式细胞术检测儿童流感淋巴细胞亚群和NK细胞变化的研究[J]. *中国卫生标准管理*, 2023, 14(20): 34-37.
- HUANG J, YUAN W, TAO Y. Study of flow cytometry to detect changes of influenza lymphocyte subsets and NK cells in children[J]. *China Health Standard Management*, 2023, 14(20): 34-37.
- [17] 冯响皎, 刘健悦, 戚扬扬, 等. 结直肠癌中自然杀伤细胞表型及功能初探[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2024, 44(6): 713-722.
- FENG X J, LIU J Y, QI Y Y, et al. Phenotype and function of NK cell in colorectal cancer[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University(Medical Science)*, 2024, 44(6): 713-722.
- [18] WEBER S, MENEES K B, PARK J, et al. Distinctive CD56<sup>dim</sup> NK subset profiles and increased NKG2D expression in blood NK cells of Parkinson's disease patients[J]. *NPJ Parkinson's Disease*, 2024, 10(1): 36-54.
- 收稿日期: 2025-02-19  
修回日期: 2025-03-24

## (上接第110页)

- functionalized metal-organic framework-based homogeneous electrochemical biosensor for simultaneous detection of multiple tumor biomarkers[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(5): 3604-3610.
- [13] YAN F Y, WANG X L, WANG Y, et al. Sensing performance and mechanism of carbon dots encapsulated into metal-organic frameworks[J]. *Mikrochimica Acta*, 2022, 189(10): 379.
- [14] PAN Y C, LIU Y Y, ZENG G F, et al. Rapid synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) nanocrystals in an aqueous system[J]. *Chemical Communications*, 2011, 47(7): 2071-2073.
- [15] ZHANG T, JIN X Y, OWENS G, et al. Remediation of malachite green in wastewater by ZIF-8@Fe/Ni nanoparticles based on adsorption and reduction[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 594: 398-408.
- [16] TANG Q, CHEN Y, LI X J, et al. The role of PD-1/PD-L1 and application of immune-checkpoint inhibitors in human cancers[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 964442.
- [17] DAASSI D, MAHONEY K M, FREEMAN G J. The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion[J]. *Nature Reviews. Immunology*, 2020, 20(4): 209-215.
- [18] LIN X, KANG K, CHEN P, et al. Regulatory mechanisms of PD-1/PD-L1 in cancers[J]. *Molecular Cancer*, 2024, 23(1): 108.
- [19] GARASSINO M C, GADGEEL S, ESTEBAN E, et al. Patient-reported outcomes following pembrolizumab or placebo plus pemetrexed and platinum in patients with previously untreated, metastatic, non-squamous non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-189): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *the Lancet. Oncology*, 2020, 21(3): 387-397.
- [20] RITTMeyer A, BARLESI F, WATERKAMP D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial[J]. *the Lancet*, 2017, 389(10066): 255-265.
- [21] CHEN G, HUANG A C, ZHANG W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 382-386.
- [22] SCIROCCHI F, STRIGARI L, DI FILIPPO A, et al. Soluble PD-L1 as a prognostic factor for immunotherapy treatment in solid tumors: systematic review and meta-analysis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 14496.
- [23] HINTERLEITNER C, STRÄHLE J, MALENKE E, et al. Platelet PD-L1 reflects collective intratumoral PD-L1 expression and predicts immunotherapy response in non-small cell lung cancer[J]. *Nature Communication*, 2021, 12(1): 7005.
- [24] IBRAHIM M R, GREISH Y E. MOF-based biosensors for the detection of carcinoembryonic antigen: a concise review[J]. *Molecules*, 2023, 28(16): 5970.
- [25] AFREEN S, HE Z M, XIAO Y, et al. Nanoscale metal-organic frameworks in detecting cancer biomarkers[J]. *Journal of Materials Chemistry. B*, 2020, 8(7): 1338-1349.
- [26] LUO B B, WANG Y J, LU H F, et al. Label-free and specific detection of soluble programmed deathligand-1 using a localized surface plasmon resonance biosensor based on excessively tilted fiber gratings[J]. *Biomedical Optics Express*, 2019, 10(10): 5136-5148.
- [27] XING Y, LIU J T, SUN S, et al. New electrochemical method for programmed death-ligand 1 detection based on a paper-based microfluidic aptasensor[J]. *Bioelectrochemistry*, 2021, 140: 107789.
- 收稿日期: 2024-11-12  
修回日期: 2024-12-20