

• 临床检验研究论著 •

135 例急性髓细胞白血病免疫表型特点及意义

姜鹏君,夏 雯,徐祖琼,朱学军,孙雪梅
(南京中医药大学附属医院血液科,江苏南京 210029)

摘 要:**目的** 探讨急性髓系白血病(AML)免疫表型的特点及意义。**方法** 应用流式细胞术,采用 CD45/SSC 双参数方案对 135 例 AML 患者进行免疫表型分析。**结果** 在 135 例急性髓系白血病中表达较高的抗原依次是 MPO(94.8%)、CD33(94.8%)、CD13(90.4%)、HLA-DR(74.1%)、CD117(65.2%)和 CD34(61.5%)。CD14 仅表达于急性粒-单细胞白血病(M4)和急性单核细胞白血病(M5)。AML 伴淋系抗原表达以 CD7(32.6%)最为多见,其次为 CD56(26.7%)和 CD19(10.4%)。共发现 4 例急性双表型白血病(ABL),同时具有髓系和淋系抗原表达。**结论** MPO、CD33、CD13 是诊断 AML 最敏感的抗原。CD7、CD56、CD19 在 AML 诊断及预后判断具有重要意义。免疫表型分析有助于 AML 的诊断及预后判断。

关键词:急性髓系白血病; 免疫表型; 流式细胞术
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.014 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)21-2590-02

Immunophenotypic features and clinical significance in 135 cases of acute myeloid leukemia
Jiang Pengjun, Xia Wen, Xu Zuqiong, Zhu Xuejun, Sun Xuemei
(Department of Hematology, Affiliated Hospital to Nanjing University of
Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210029, China)

Abstract:**Objective** To investigate the characteristics and clinical significance of immunophenotype in acute myeloid leukemia (AML). **Methods** CD45/Side Scatter(SSC) gating strategy of flow cytometry was used to determine immunophenotype of 135 patients with AML. **Results** The expression of MPO(94.8%), CD33(94.8%), CD13(90.4%), HLA-DR(74.1%), CD117(65.2%), CD34(61.5%) were high in AML. CD14 was expressed only in the M4 and M5 subtype. The lymphoid antigen expression was most commonly observed in CD7(32.6%), CD56(26.7%) and CD19(10.4%). Four cases of acute biphenotypic leukemia were detected, expressing both myeloid and B-lymphoid associated antigens. **Conclusion** MPO, CD33 and CD13 are most sensitive myeloid associated antigens. The expression of CD7, CD56 and CD19, as well as the immunophenotype detected by flow cytometry is of great value in diagnosis and prognosis of AML.

Key words:acute myeloid leukemia; immunophenotype; flow cytometry

急性白血病为血液系统恶性疾病,其中急性髓系白血病(AML)是临床多见的白血病类型,传统的 FAB 分类从 M0~M7,诊断符合率约 60%~80%。流式细胞术(FCM)以其快速和准确特点已经被广泛地应用于白血病的诊断,有助于急性白血病的快速诊断及预后判断。本研究就 135 例 AML 患者进行了白血病免疫表型分析,并探讨伴淋系抗原表达的 AML 免疫表型特点及意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集从 2008 年 1 月至 2011 年 12 月共 135 例急性髓系白血病患者骨髓标本,其中男性 70 例,女性 65 例,年龄 15~95 岁,中位年龄 56 岁。经骨髓形态学、细胞组织化学染色和免疫表型分析确诊,其中 M1 型 12 例, M2 型 81 例, M3 型 15 例, M4 型 5 例, M5 型 12 例, M6 型 5 例, M7 型 1 例,急性双表型白血病(ABL)4 例。诊断以欧洲白血病免疫分型协作组(EGIL)提倡的抗原积分系统作为判断标准,两个系列抗原表达积分均大于 2 分可以确诊^[1]。

1.2 仪器与试剂 仪器采用 Beckman Coulter 公司 Cytomics FC500 流式细胞仪。抗体为 Beckman Coulter 公司 FITC 标记的 IgG1、HLA-DR、CD3、CD7、CD14、CD15、CD10、CD19、MPO、PE 标记的 IgG1、CD34、CD13、CD33、CD56、CD117、CD20、CD22、CD79α、PC5 标记的 CD45。若疑为 M6 者加测 GPA-FITC,疑为 M7 者加测 CD41-PE。试剂盒为 IntraPrep 破膜试剂盒(Beckman Coulter 公司)。

1.3 方法 所有 135 例患者骨髓标本采用肝素抗凝。细胞膜抗原荧光标记:每管取 50 μL 骨髓液,加入 5 μL CD45-PC5 抗体,加不同的抗体组合 20 μL,其中 1 管加入 IgG1 作为同型对照管,室温下避光 15 min。之后,每管加 1 mL 溶血剂 Optilyse 放置 10 min,加 1 mL PBS 洗涤,离心后去上清,500 μL PBS 重悬,上机检测。细胞质抗原荧光标记需首先用 IntraPrep 破膜试剂盒破膜固定,余下步骤同胞膜抗原标记。分析采用 Beckman Coulter 公司的 CXP Analysis 分析软件。对细胞膜抗原阳性率大于 20%,判定相应抗原阳性;对胞浆抗原 MPO 和 CD79α,阳性率大于 10%,判断相应抗原阳性^[1]。

2 结 果

AML 髓系抗原表达阳性率最高的是 MPO 和 CD33 均为 94.8%(128/135),其次为 CD13、CD15 和 CD14,分别为 90.4%(122/135)、51.1%(69/135)和 11.1%(15/135)。干祖细胞抗原 HLA-DR、CD117 和 CD34 表达阳性率分别为 74.1%(100/135)、65.2%(88/135)和 61.5%(83/135),CD14 表达仅见于 M4 和 M5,见表 1。部分 AML 患者可伴淋系抗原表达,其中 CD7 和 CD56 表达阳性率较高分别为 32.6%(44/135)和 26.7%(36/135),其次是 CD19 为 10.4%(14/135)。CD7 表达多见于 M2(35/81),M3 未见 CD7 表达;CD56 表达多见于 M5(5/12);CD19 表达多见于 M3(3/15)和 M2(6/81),M4~M7 未见 CD19 表达。4 例 ABL 都同时表达髓系及淋系抗原。

表 1 135 例 AML 髓系及干祖细胞抗原阳性表达情况 (n)

分型	n	HLA-DR	CD34	CD117	CD13	CD33	CD14	CD15	MPO
M0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M1	12	8	6	5	8	11	0	6	11
M2	81	65	59	59	75	77	0	40	76
M3	15	0	2	13	15	15	0	6	15
M4	5	5	3	2	5	5	4	4	5
M5	12	12	6	2	12	12	11	10	12
M6	5	5	3	5	3	3	0	1	5
M7	1	1	1	0	1	1	0	1	1
ABL	4	4	3	2	3	4	0	1	3
合计	135	100	83	88	122	128	15	69	128

3 讨 论

AML 是临床上常见的白血病类型,主要发生于成人,其发病率随着年龄的增加而升高。是由于细胞周期解除管制且缺少相应的控制以及细胞凋亡等受抑制,白血病细胞大量增殖,替代并且抑制了正常骨髓造血生成^[2]。大多数患者表现为发热、贫血、出血,严重的出血倾向可致命,所以白血病快速、准确的诊断尤为重要。白血病的诊断需要结合多种检测方法,包括形态学、组织学、细胞化学、免疫表型、细胞遗传学和分子生物学方法。然而,各种检测方法在不同的疾病中的作用差别很大,且每种检测方法的实际应用又受到经济和多种条件等因素的限制。流式细胞免疫表型分析技术以其简便、快速的特点已经成为白血病诊断的一种常规检测手段,可以特异地识别白血病细胞的特征。

本研究应用流式细胞术,采用 CD45/SSC 双参数的方案对 135 例 AML 患者进行免疫表型分析。结果显示髓系相关抗原表达情况以 MPO、CD33、CD13 表达率最高,均达到 90% 以上,尤其是 MPO 为 AML 的诊断提供了非常重要的依据。干祖细胞抗原 HLA-DR、CD117、CD34 表达都较高,均大于 60%,说明白血病细胞多阻滞在细胞发育的较早阶段。CD117 虽然是干祖细胞抗原,但其仅在髓系白血病中表达,通常作为髓系特异性抗原^[3],EGIL 积分系统中就将 CD117 作为髓系特异性标志计 1 分,可见其重要性。M3 常见的表型为 HLA-DR 和 CD34 阴性表达,且 CD33、CD13、CD117 阳性表达,在本研究中 M3 患者免疫表型基本相符合。但是其中有 2 例 M3 表达 CD34,可能与 M3 的变异型相关^[4],且随着 M3 的复发 CD34 表达阳性率有增高趋势^[5]。

白血病细胞免疫表型异常种类很多,可以概括为抗原表达缺失、抗原表达过量或者过低、跨系抗原表达、抗原表达不同步等异常^[6],这些异常的抗原表达模式为白血病的诊断、治疗及预后判断提供了重要的依据,同时有利于治疗后的白血病微小残留病灶(MRD)的检测。本次研究中主要观察了跨系抗原表达的异常表型,发现其中以 CD7 和 CD56 跨淋系抗原表达最多见,分别达到 32.6% 和 26.7%。有研究证实 CD7 是 AML 中最多见的跨系抗原表达,且多预后不良^[7-8],同时也发现 CD7 在 M2 中表达最高。CD56 分子又叫 Leu-19,主要表达于自然杀伤(NK)细胞,属于免疫球蛋白超家族,是神经细胞黏附分子。临床上 CD56 作为 NK 细胞的特异性标,可用作检测 NK 细胞及相关疾病诊断的依据。有文献报道若 CD56 表达于具有 t(8;21)的 M2 和 M3,提示可能预后不良^[9-11],本研究发现 CD56 在预后较差的 M5 中表达最高。淋系抗原 CD19 在 135 例 AML 患者中表达阳性率也达到 10.4%,主要见于 M2 和 M3,可以用于 MRD 监测,因为病例数较少,其预后意义有待

进一步研究。ABL 属于较少见类型的白血病,本研究发现的 4 例都是淋系和髓系抗原共表达的急性双表型白血病,一般预后很差。

流式细胞术免疫表型分析是一种简便、快速、准确的检测技术手段,有助于 AML 的快速诊断,尤其是一些特殊类型的 AML。同时 FCM 免疫表型分析还能为临床预后判断,为 MRD 检测以及为白血病患者的个体化治疗方案制定提供重要的依据。

参考文献

[1] Catovsky D, Mayutese E. The classification of acute leukemias [J]. Leukemia, 1992, 6(2): 1.

[2] DelSal G, Loda M, Pagano M. Cell cycle and cancer: critical events at the G1 restriction point [J]. Crit Rev Oncog, 1996, 7(1-2): 127-142.

[3] 刘艳荣, 于弘, 常艳, 等. 四色荧光标记抗体在白血病免疫分型中的应用及意义 [J]. 中国实验血液学杂志, 2002, 10(5): 423.

[4] Kaleem Z, Crawford E, Pathan MH, et al. Flow cytometric analysis of acute leukemias diagnostic utility and critical analysis of data [J]. Arch Pathol Lab Med, 2003, 127(1): 42-48.

[5] 孙海敏, 钱思轩, 吴雨洁, 等. 急性早幼粒细胞白血病 143 例免疫表型研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(1): 176-179.

[6] Kern W, Hafedach C, Haferlach T, et al. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia [J]. Cancer, 2008, 112(1): 4-16.

[7] Saxena A, Sheridan DP, Card RT, et al. Biologic and clinical significance of CD7 expression in acute myeloid leukemia [J]. Am J Hematol, 1998, 58(4): 278-284.

[8] Tiftik N, Bolaman Z, Batun S, et al. The importance of CD7 and CD56 antigens in acute leukaemias [J]. Int J Clin Pract, 2004, 58(2): 149-152.

[9] Baer MR, Stewart CC, Lawrence D, et al. Expression of the neural cell adhesion molecule CD56 is associated with short remission duration and survival in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22) [J]. Blood, 1997, 90(4): 1643-1648.

[10] Murray CK, Estey E, Paietta E, et al. CD56 expression in acute promyelocytic leukemia: a possible indicator of poor treatment outcome? [J]. J Clin Oncol, 1999, 17(1): 293-297.

[11] Ferrara F, Morabito F, Martino B, et al. CD56 expression is an indicator of poor clinical outcome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with simultaneous all-trans-retinoic acid and chemotherapy [J]. J Clin Oncol, 2000, 18(6): 1295-1300.