

# 急性髓细胞白血病免疫分型及骨髓、血常规综合研究

郭 斌, 谢 宁<sup>△</sup>, 刘 文, 李 英, 李君安

(川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000)

**摘要:**目的 探讨骨髓细胞形态学、外周血液学和免疫分型对急性髓细胞白血病诊疗的临床意义。方法 显微镜检查骨髓细胞形态学,全自动血细胞分析仪检测外周血相关参数,流式细胞计数仪分析白血病细胞免疫标志物,并对所有数据进行统计分析。结果 外周血细胞约 85% 的患者提示异常或幼稚细胞的存在,不同类型白血病其白细胞总数变化差异明显(M1~2、M5 以增高为主,M3 以减低为主);多数患者是贫血和血小板减少,但程度不同;白细胞分类中,仪器无法分类鉴别急性粒细胞和急性单核细胞,淋巴系统免疫标志物 CD7、CD10 和 CD2 可交叉表达于髓系白血病,对治疗和预后有临床作用。结论 外周血相关参数的检测对白血病的早期筛查、鉴别诊断、预后判断均有临床意义,而免疫标志物检测是骨髓细胞形态学诊断和分型的补充和支持,且异常敏感标志物的差异表达跟预后密切相关,可显著提高白血病的诊治率。

**关键词:**急性髓细胞白血病; 骨髓细胞形态学; 外周血; 免疫分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)19-2710-03

## Immunophenotyping and bone marrow hematology analysis in acute myelocytic leukemia

GUO Bin, XIE Ning<sup>△</sup>, LIU Wen, LI Ying, LI Junan

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical significance in diagnosis and prognostic judgments of acute myelocytic leukemia with combined detection of morphology, peripheral blood and immune typing of bone marrow cells. **Methods** Microscopic examination of bone marrow cell morphology, automatic blood cell analyzer detection of peripheral blood parameter and flow cytometry analysis of immune markers of leukemia cells, all these datas were analyzed statistically. **Results** Peripheral blood cell analysis showed that instruments may indicate the presence of abnormal or naive cells in about 85% patients, different kinds of leukemia had significant difference in total leukocyte count (majority higher in M1-2, M5; majority lower in M3); while anemia and thrombocytopenia were observed in most patients, but the degree was different; M1-2 and M5 can not be identified by classification of leukocyte by automatic blood cell analyzer, CD7, CD10 and CD2 can cross express in myeloid leukemia, which have a prompt effect with treatment and prognosis. **Conclusion** Detection of peripheral blood parameters has an important role in early screening, differential diagnosis and prognosis judgment of leukemia, immunological markers detection is the powerful supplement and support for leukemia diagnosis and typing, sensitive markers have close contact with prognosis, which significantly improves the effect of the diagnosis and treatment of leukemia.

**Key words:** acute myelocytic; bone marrow cell morphology; peripheral blood; immune typing

白血病由于原始细胞形态学上的相似性,单一的骨髓细胞显微镜检查的诊断率约为 80%,且无法进行早期筛查和预后判断。全自动血液分析仪和流式技术扩大了其对细胞所属种类的识别能力,特别是对异常及原幼细胞的早期筛查具有良好的预见作用<sup>[1]</sup>。随着单克隆抗体技术及流式细胞术的发展应用,能更准确地鉴别白血病细胞所属系来源并判断分化程度,对临床治疗及预后有重要的临床意义<sup>[2]</sup>。为探讨综合分析骨髓细胞形态学、外周血液学和免疫标志物对白血病诊疗的临床价值,现对 72 例急性白血病进行检测分析和数据统计,报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 检测 2014 年 1 月至 2015 年 6 月该院初诊的 72 例患者的骨髓及外周血标本,男 41 例,女 31 例,年龄 2~84 岁。所有患者均经外周血常规、骨髓形态学、细胞组织化学染色及免疫分型确诊为急性白血病,其中急性粒细胞白血病(M1~2) 100 例,急性早幼粒细胞白血病(M3) 55 例,急性单核细胞白血病(M5) 105 例。

## 1.2 方法

**1.2.1 骨髓细胞形态学检验** 抽取患者骨髓涂片,采用瑞氏染色,并于油镜下分类计数 200 个细胞,骨髓涂片必要时做过氧化物酶染色(POX)、过碘酸-雪夫染色(PAS)、特异性酯酶染色(AS-DCE)和醋酸萘酚酯酶染色(NAE/NaF)等细胞化学染色。

**1.2.2 血液常规检验** 抽取患者外周血液,EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝,使用全自动血液分析仪 XE-5000(配套试剂)对标本进行检测,在综合分析结果数据、仪器异常细胞报警提示和白细胞散点图的基础上,对外周血推片染色并进行显微镜复查异常细胞。

**1.2.3 白血病细胞免疫表型分析** 应用 FACS-Calibur 流式细胞仪(488 nm 氩离子为激发光源)对每一例标本进行直接免疫荧光法检测,设置对照管和试验管,分别加入标本 100  $\mu$ L,3 种荧光标记抗体各 20  $\mu$ L,室温避光孵育约 15 min,再加入 2 mL 红细胞溶解液,震荡后置室温 10 min,离心后弃上清液,采用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,加入 15 mL PBS,上机待检。以膜表面抗原大于 20% 为阳性。所有检测单克隆抗体、透膜剂、PERM、溶血素等试剂均购自 BD 公司。

**1.3 统计学处理** 应用 Microsoft Excel 2007 统计软件进行

数据分析,计数资料以百分比表示。

2 结 果

2.1 外周血细胞检测结果

2.1.1 血常规检测结果 急性髓细胞白血病(AML)M1~2 患者外周血以白细胞增高(75%)、贫血(100%)及血小板减低(75%)为主,少数患者红细胞和血小板正常;M3 患者外周血以白细胞减低(64%)、贫血(100%)及血小板减低(82%)为主,少数患者白细胞增高,血小板正常;M5 患者外周血以白细胞

增高(66%)、贫血(90%)及血小板减低(95%)为主,少数患者白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HB)和血小板(PLT)正常。见表 1。

2.1.2 白细胞分类 仪器可提示急性白血病约 85% 的患者存在异常或幼稚细胞,散点图也异常,其中 M1~2 患者有 85% 粒系比例减低,70% 单核比例增高;M3 患者中 63% 粒系比例减低,81% 单核比例增高;M5 患者中 85% 粒系比例减低,71% 单核比例增高。见表 2。

表 1 AML 患者血常规检测结果(阳性例数/检测例数)

| 类别 | M1~2   |        |    |        | M3    |       |    |       | M5     |        |        |         |
|----|--------|--------|----|--------|-------|-------|----|-------|--------|--------|--------|---------|
|    | WBC    | RBC    | HB | PLT    | WBC   | RBC   | HB | PLT   | WBC    | RBC    | HB     | PLT     |
| 减低 | 25/100 | 80/100 | 1  | 75/100 | 35/55 | 45/55 | 1  | 45/55 | 20/105 | 95/105 | 90/105 | 100/105 |
| 正常 | 0      | 20/100 | 0  | 25/100 | 0     | 10/55 | 0  | 10/55 | 15/105 | 10/105 | 15/105 | 5/105   |
| 升高 | 75/100 | 0      | 0  | 0      | 20/55 | 0     | 0  | 0     | 70/105 | 0      | 0      | 0       |

表 2 AML 患者 WBC 分类结果(阳性例数/检测例数)

| 类别 | M1~2   |        |        | M3    |       |       | M5     |        |        |
|----|--------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|
|    | NE%    | LY%    | MO%    | NE%   | LY%   | MO%   | NE%    | LY%    | MO%    |
| 减低 | 85/100 | 20/100 | 15/100 | 40/55 | 40/55 | 5/55  | 90/105 | 15/105 | 15/105 |
| 正常 | 5/100  | 35/100 | 15/100 | 15/55 | 0     | 5/55  | 15/105 | 55/105 | 15/105 |
| 升高 | 10/100 | 45/100 | 70/100 | 0     | 15/55 | 45/55 | 0      | 35/105 | 75/105 |

2.1.3 贫血程度检测结果 M1~2、M3、M5 患者中均出现不同程度贫血,且极重度贫血所占比例均较高,其中 M1~2 极重度贫血为 50%,M3 为 100%,M5 为 57%。见表 3。

2.2 免疫分型结果 M1~2 主要表达的抗原阳性为 CD117、HLA-DR、CD13, M3 为 CD33、CD15、CD64, M5 为 CD13、CD117、CD33、HLA-DR;髓系抗原在淋巴系白血病中可出现交叉表达的是 CD13、CD33、CD117,淋巴系抗原在髓系白血病的交叉表达为 CD7、CD10、CD2(表达量大于 20%为阳性)。见表 4。

表 3 AML 患者贫血程度检测结果  
(阳性例数/检测例数,g/L)

| 类别   | n   | 正常     | 轻度贫血<br><120(男);<110(女) | 中度贫血<br><90 | 重度贫血<br><60 | 极重度<br>贫血<30 |
|------|-----|--------|-------------------------|-------------|-------------|--------------|
| M1~2 | 100 | 0      | 5/100                   | 20/100      | 25/100      | 50/100       |
| M3   | 55  | 0      | 0                       | 0           | 0           | 55/55        |
| M5   | 105 | 15/105 | 5/105                   | 5/105       | 25/105      | 55/105       |

表 4 髓系细胞免疫表型分型结果(阳性例数/检测例数)

| 类别   | HLA    | MPO    | CD34   | CD33   | CD13   | CD14   | CD15   | CD117  | CD64   | CD2   | CD7    | CD10  |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|
| M1~2 | 75/100 | 1      | 70/100 | 55/100 | 75/100 | 0      | 55/100 | 90/100 | 5/100  | 0     | 30/100 | 0     |
| M3   | 15/55  | 1      | 5/55   | 45/55  | 5/55   | 0      | 35/55  | 5/55   | 35/55  | 15/55 | 15/55  | 15/55 |
| M5   | 60/105 | 75/105 | 25/105 | 60/105 | 85/105 | 25/105 | 30/105 | 70/105 | 25/105 | 0     | 20/105 | 5/105 |

3 讨 论

骨髓形态学分型在诊断白血病中具有直观、快捷性,结合细胞特殊组织化学染色对诊断的准确率可进一步提高,但也存在不足:(1)属特殊标本,需有严格的适应证,不利于早期筛检。(2)受到检验人员的主观认识和细胞异常表达等影响,约有 20%的误诊率。(3)单纯的形态学检查对临床用药和预后评估无指导作用。因此,将外周血液学、形态学和免疫学相结合成为早期诊断、治疗和预后判断白血病的必然趋势<sup>[3-5]</sup>。

外周血分析显示,无论是 AML 或急性淋巴细胞白血病,由于细胞对骨髓的侵袭而抑制了红系和巨核系的增殖,导致患者贫血和血小板减少,2 项指标可作为早期疾病提示,但不同类疾病其贫血和血小板减少程度不尽相同,有利于疾病鉴别,AML 均以极重度贫血为主,最严重的是 M3<sup>[6]</sup>。本组患者均为极重度贫血,但 M5 患者也有约 40%不出现贫血情况,须引起重视。本组全部病例血小板均为减少。

本研究血液分析仪对异常细胞的提示和分类结果表明,仪

器对 85% 的标本有异常报警和提示作用,并可出现散点图异常。不能提示的病例主要为外周血细胞减少,无或极少量异常细胞髓外浸润的情况,有助于复核<sup>[7]</sup>。本组仪器研究界面的分类统计结果显示,AML 的仪器均分类为中性粒细胞减少和单核细胞增高,这可能是由于原始或幼稚细胞核体积较大,侧向荧光强度高,故被分类为单核细胞,因此这对鉴别急性粒细胞和急性单核细胞无指导意义。

本研究免疫分型结果表明,AML 的 MPO、CD33 是主要的普遍表达标志物,在髓系特异性分型中起重要作用,且 MPO 表达越高说明细胞分化越好,预后较好,当然部分 MPO 和 CD33 表达缺失的标本须与其他免疫标志物综合分析。CD34、CD13、CD117 和 HLA-DR 在不同类髓系白血病的表达不同,对比急性粒细胞(M1~2)和急性单核细胞(M5),CD13、CD117 和 HLA-DR 均高表达,但 M5 的 CD34 表达率较低,而单核系 CD14、15 表达率增高,这可能与细胞分化较成熟而少表达干细胞有关。M3 由于白血病为单一的异常早幼粒细胞,其 CD34、

CD117、HLA-DR 和 CD13 的表达均较低,但特异性地高表达 CD33。约 60% 的 M3 标本高表达单核细胞 CD15 和中性粒细胞 CD64,对鉴别诊断疾病起到积极作用,其原因有待于进一步研究<sup>[8]</sup>。本研究对免疫表型交叉表达结果显示,交叉表达是细胞出现的某些抗原缺失、过表达、系列交叉和跨阶段表达等免疫分子异常表达现象,除髓系抗原表达外伴有淋巴细胞抗原表达或淋巴细胞髓系抗原表达<sup>[9]</sup>。这种异质性表现有利于白血病免疫分型的诊断及预后,在微量残留白血病检测中也有较大的临床价值<sup>[10]</sup>。本组结果提示,髓系白血病可能出现的淋巴系统表达为 CD7、CD10 和 CD2,以 CD7 最为常见。患者预后观察说明,CD7 表达的 M1~2 患者 4 个疗程后,无 1 例达完全缓解,且 CD7 表达的 AML 13 例患者中 7 例发病时 WBC>50×10<sup>9</sup>/L,完全缓解率较无交叉表达的患者也明显减低,提示 CD7+AML 预后较差。表达 CD7 的 7 例都伴有 CD34 表达,提示 CD7+AML 细胞可能起源于 CD7+/CD34+多能干细胞或更早期造血阶段的多能干细胞,且对化疗不敏感。

综上所述,白血病具有高度异质性和形态多样性,结合外周血液学、骨髓形态学和流式细胞术免疫分型诊断已成为白血病综合分析的重要手段,可辅助确诊部分特殊类型,提高白血病诊断和分型的准确性,且对初发患者的相关免疫表型,特别是交叉表达情况进行监测,对治疗指导和预后判断均具有重要的临床价值。

参考文献

[1] 李顺义. 血细胞形态学漏诊分析与对策[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(2): 140-141.

(上接第 2709 页)

至差异很大。张路等<sup>[13]</sup>报道 5 种不同来源 TEa 标准  $\sigma$  值的评价,生物学变异 TEa 值常被认为是最严格、真实且适当。这和已经发布的行业标准 WS/T403-2012 及 WS/T 406-2012 中分析质量指标的设定具有一致性。

综上所述,根据该实验室的血脂检测质量目标、室内质评(正确度验证计划)和室内质控数据,计算  $\sigma$  值和质量目标指数,能准确评价实验室的检测水平,尤其对于方法性能不佳的项目,需持续改进检验质量,以更好地满足临床需求。

参考文献

[1] 王伦善,贾建安,金玉亮,等. 6 $\sigma$  标准在临床生化质量管理中的应用[J]. 临床输血与检验, 2014, 16(3): 269-272.  
[2] Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1999, 59(7): 491-500.  
[3] Kallner A, Mcqueen M, Heuck C. The Stockholm consensus conference on quality specifications in laboratory medicine, 25-26 April 1999[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1999, 59(7): 475-476.  
[4] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 343-345.  
[5] Westgard JO. Six sigma risk analysis[M]. Madison: Westgard Qc, 2011.  
[6] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京: 人民

[2] 杨艳丽,耿英华,李佳佳,等. 急性髓细胞白血病免疫分型特点及临床意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2011, 36(6): 561-563.  
[3] 杨瑞宁,王红,王兰,等. 血常规指标综合分析对白血病的诊断意义[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(23): 2902-2903.  
[4] 丁慧芳. 形态学、免疫学、细胞遗传学联合检测诊断急性白血病的临床意义[J]. 山东医药, 2003, 43(17): 7-9.  
[5] 桑奕雯. 外周血细胞计数与形态学检查对常见白血病诊断的重要性[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(21): 2934-2936.  
[6] Gong X, Lu X, Wu X, et al. Role of bone marrow imprints in haematological diagnosis: a detailed study of 3781 cases[J]. Cytopathology, 2012, 23(2): 86-95.  
[7] 杨川艺,倪萍,涂文瑞. 流式细胞术在本院急性白血病免疫分型中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2013, 20(6): 414-417.  
[8] 方美云,沈悌,王一. 急性白血病免疫分型及交叉表达的临床意义[J]. 白血病·淋巴瘤, 2003, 12(5): 267-270.  
[9] 杜秀敏,陈英剑,胡成进. 59 例急性白血病形态学分型与免疫分型结果对比分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(17): 2162-2163.  
[10] 杨丽妙,张亚平,杨洪乐,等. 55 例非霍奇金淋巴瘤免疫分型与骨髓血液学分析[J]. 检验医学, 2015, 30(2): 132-136.

(收稿日期: 2016-02-23 修回日期: 2016-04-18)

卫生出版社, 2009.  
[7] Westgard JO, Westgard SA. The quality of laboratory testing today: an assessment of sigma metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance[J]. Am J Clin Pathol, 2006, 125(3): 343-354.  
[8] 何法霖,白玉,王薇,等. 由生物学变异确定的质量规范在常规化学室内质评和室内质控中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(6): 531-537.  
[9] 王治国. 临床检验质量控制技术[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版, 2014: 146-150.  
[10] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003.  
[11] Mbrowski GS, Anderson PG, Crampton CA, et al. Pump up your PTIQ[J]. MLO Med Lab Obs, 1996, 28(10): 46-51.  
[12] 赵海建,张传宝,周伟燕,等. 应用六西格玛管理方法评价脂类检验项目质量水平[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(4): 311-314.  
[13] 张路,王薇,王治国. 允许总误差在西格玛度量用于评价临床化学检测项目分析质量上的应用研究[J]. 检验医学, 2015, 30(9): 953-957.

(收稿日期: 2016-02-24 修回日期: 2016-05-10)