

## CD133-2 在急性白血病病程中的表达及意义\*

王述文, 姚红霞, 饶 若 (海南省人民医院血液病研究室, 海口 570311)

**摘要:**目的 探讨 CD133-2 在急性白血病病程中的表达及其临床意义。方法 通过直接免疫荧光流式细胞术对 67 例不同病程急性白血病(AL)进行 CD133-2 的检测。结果 AL 组 CD133-2 的阳性率(52.4%)及表达率(23.9%±21.5%)均明显高于对照组(0, 2.2%±3.9%);初治组、完全缓解期(CR)组及复发组 CD133-2 的阳性率分别为 52.4%, 0 和 40.0%, 表达率分别为 23.9%±21.5%, 5.0%±6.0% 和 28.4%±25.6%, 三组间的阳性率及表达率差异有统计学意义( $\chi^2=12.777$ ,  $F=5.906$ ,  $P<0.05$ )。初治组及复发组的 CD133-2 阳性率及表达率均明显高于 CR 组。初治患者 CD34+ 组的 CD133-2 阳性表达率明显高于 CD34- 组(40.5% vs 7.1%,  $\chi^2=8.636$ ,  $P<0.05$ ), 并且 CD133-2-/CD34- 组的 CR 率则明显高于 CD133-2+/CD34+ 组(83.3% vs 33.3%,  $\chi^2=6.078$ ,  $P<0.05$ )。结论 初治 AL 患者 CD133 表达与 CD34 相关; CD133/CD34 共同高表达可能是 AL 的一个不良预后因素; 检测 AL 患者骨髓中 CD133-2 的表达可以作为预测复发及监测 MRD 的指标之一。

**关键词:** CD133-2; 急性白血病; 流式细胞术

中图分类号: R557; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)02-035-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.02.011

### Expression of CD133-2 during the Courses of Acute Leukemia and Its Clinical Significance

WANG Shu-wen, YAO Hong-xia, RAO Ruo

(Hematologic Laboratory, Hainan General Hospital, Haikou 570311, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the expression of CD133-2 during the treatment course of acute leukemia(AL) and its clinical significance. **Methods** Used flow cytometry with direct immunofluorescence staining to analyze CD133-2 of 67 acute leukemia patients with different treatment course. **Results** The CD133-2 positive rate (52.4%) and expression rate (23.9%±21.5%) in AL were significantly higher than those in control (0, 2.2%±3.9%). The CD133-2 positive rates of cases for primary treatment group, CR group and recurrence group were 52.4%, 0 and 40.0% respectively, and expression rates were 23.9%±21.5%, 5.0%±6.0% and 28.4%±25.6% respectively. There were significant difference in the positive rate and expression rate of CD133-2 among the three group ( $\chi^2=12.777$ ,  $F=5.906$ ,  $P<0.05$ ). The CD133-2 positive rates and expression rates in primary treatment group and recurrence group were significantly higher than those in complete remission cases. CD133-2 positive rate of CD34+ group was obviously higher than that of CD34- group (40.5% vs 7.1%,  $\chi^2=8.636$ ,  $P<0.05$ ), and the CR rate of CD133-2-/CD34- group was significantly higher than that of CD133-2+/CD34+ group (83.3% vs 33.3%,  $\chi^2=6.078$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of CD133-2 was correlated with CD34, and CD133/CD34 co-overexpression might be a bad prognostic factor of AL. CD133-2 can be used as one of the indicator of predicting recurrence and monitoring MRD.

**Keywords:** CD133-2; acute leukemia; flow cytometry

CD34 是目前公认的最主要的造血干/祖细胞表面标志物。CD133 是继 CD34 之后新发现的比 CD34 更有价值的干细胞表面抗原标志<sup>[1]</sup>。CD133 目前被发现的同源性抗原有两种, 即 CD133-1 和 CD133-2。研究表明在正常骨髓或外周血 CD133-1, CD133-2 表达一致, 但是在急性白血病(AL)中 CD133-2 的表达水平明显高于 CD133-1, 存在统计学差异<sup>[2]</sup>。国内对于 CD133-1 的研究较多, 但是对于 CD133-2 的研究较少, 尤其是其在 AL 病程的不同时期有何变化尚未见报道。本研究应用直接荧光标记流式细胞术检测 42 例初治 AL 患者、15 例完全缓解期(CR)患者及 10 例复发患者 CD133-

2 的表达, 以探讨其在 AL 不同病程中的表达及其临床意义。

#### 1 材料与方法

1.1 研究对象 AL 患者共 67 例, 其中初治组 42 例, CR 组 15 例, 复发组 10 例; 男性 33 例, 女性 34 例, 年龄 18~83 岁。对照组 15 例, 为血小板减少、骨髓无明显异常的患者。全部病例的诊断标准均根据张之南主编《血液病诊断与疗效标准》<sup>[3]</sup>, 其中 CR 期及复发期诊断标准参考国内疗效标准(形态学标准)。

1.2 试剂和仪器 鼠抗人 CD133-2 (293C3, IgG2b) 及其同型对照均购自 Miltenyi 公司, 检测

\* 作者简介: 王述文(1979-), 男, 大学本科, 主管技师, 主要从事血液学检验, E-mail: 9806034@163.com。

仪器为 BD AriaII 流式细胞仪。

1.3 方法 采集患者经 EDTA 抗凝的骨髓 1~2 ml, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^6/\text{ml}$ 。骨髓标记抗体后室温下避光反应 15 min, 溶血后用 FCM 检测。上机前均使用质控荧光微球校准仪器, 用 CD45/SSC 设门, 根据 CD45 表达程度和 SSC 颗粒度大小将细胞分为粒细胞群、单核细胞群、淋巴细胞群、红细胞和碎片群及原始幼稚细胞群, 通过二维表型图谱, 分析 CD133-2 抗原表达情况。根据 AL 免疫学特征欧洲协作组标准,  $\geq 20\%$  细胞表达为阳性,  $< 20\%$  为阴性。

1.4 统计学分析 率的比较采用  $\chi^2$  检验, 计量资料统计数据采用均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间均数比较采用  $t$  检验, 多组均数比较采用方差分析, 组间两两比较使用 SNK 法。所有的统计均采用 SPSS16.0 统计软件完成, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对照组和初治组 CD133-2 表达比较 对照组、初治 AL 组 CD133-2 阳性率分别为 0, 52.4%, 表达率分别为  $(2.2 \pm 3.9)\%$ ,  $(23.9 \pm 21.5)\%$ , 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.796$ ,  $t = -0.642$ ,  $P < 0.05$ )。

2.2 AL 不同病程中 CD133-2 表达比较 初治组 CD133-2 的阳性率为 52.4% (22/42), 表达率为  $(23.9 \pm 21.5)\%$ ; CR 组 CD133-2 的阳性率为 0 (0/15), 表达率为  $(5.0 \pm 6.0)\%$ ; 复发组 CD133-2 的阳性率为 40.0% (4/10), 表达率为  $(28.4 \pm 25.6)\%$ 。三组间 CD133-2 的阳性率及表达率差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.777$ ,  $F = 5.906$ ,  $P < 0.05$ )。两两比较的结果为 CR 组的 CD133-2 阳性率及表达率均明显低于初治组和复发组。

2.3 CD133-2 与 CD34 的协同表达 见表 1。初治 AL 中, CD34+ 与 CD34- 患者均可表达 CD133-2, 但是 CD34+ 组的 CD133-2 阳性表达率 (40.5%) 高于 CD34- 组 (7.1%), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 8.636$ ,  $P < 0.05$ )。

表 1 在 AL 中 CD34+ 与 CD34- 患者 CD133-2 表达情况 [ $n=42$ ,  $n(\%)$ ]

CD34	n	CD133	
		阳性	阴性
阳性	26	17 (40.5)	9 (21.4)
阴性	16	3 (7.1)	13 (31.0)

2.4 CD133-2 联合 CD34 与化疗疗效的关系 见表 2。化疗一个疗程后的 CR 率与 CD133-2 和 CD34 的表达有关 ( $\chi^2 = 6.078$ ,  $P < 0.05$ ), 其中

CD133-2-/CD34- 组的 CR 率明显高于 CD133-2+/CD34+ 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其它组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 2 CD133-2 联合 CD34 表达与化疗疗效的关系

组别	n	CR 数 (n)	CR 率 (%)
CD133+/CD34+	12	4	33.3
CD133-/CD34-	12	10	83.3
其它	8	5	62.5

3 讨论 CD133-2 分子其基因定位于人类的 2 号染色体上, 在正常造血和非造血组织中均有表达, 随着细胞的分化成熟期表达减弱、消失<sup>[4]</sup>。越来越多的研究报道表明 CD133-2 在 AL 中有异常高表达, 汪家敏等<sup>[5]</sup>报道了 164 例 AL 患者 CD133-2 的阳性率为 47.56%, 表达水平中位数为 19.8%。本组的研究显示初治组 CD133-2 的阳性率为 52.4% (22/42), 表达率为  $(23.9 \pm 21.5)\%$ , 与对照组比较存在显著的统计学差异, 结果与前述报道一致。但是 CD133-2 的表达与 CD34 的表达是否有关联性, 其高表达能否作为 AL 的一个不良预后因素目前尚存在争议。赵文理等<sup>[6]</sup>的研究认为儿童急性淋巴细胞白血病初诊患者 CD133-2 的表达与 CD34 表达水平有显著性差异, 但是两者表达水平无相关性。大多数学者认为 CD133 与 CD34 有相关性, 我们的结果表明 CD34+ 组的 CD133-2 阳性表达率 (40.5%) 明显高于 CD34- 患者 (7.1%), 差异有统计学意义, 提示 CD133 可能表达于分化发育阶段较早的白血病细胞。Lee 等<sup>[7]</sup>随访了 41 例 AL 患者发现, CD133+CD34+ 患者的治疗疗效及预后比 CD133-CD34- 患者差, CD133+ 组的早中期复发率比 CD133- 组的高, 无病生存率 (DFS) 比 CD133- 组的低, 因此认为 CD133 是 AL 的一个不良预后因素。在对 CD133 表达与化疗疗效的研究中, 我们也发现 CD133-2-/CD34- 组的 CR 率明显低于 CD133-2+/CD34+ 组, 提示 CD133-2/CD34 共同高表达可能是 AL 的一个不良预后因素。

CD133-2 在初治 AL 中的高表达比较明确, 但是其在 AL 不同病程阶段变化的研究尚未见报道。本组结果显示在初治组和复发组中 CD133-2 的表达率和阳性率均显著高于 CR 组。由此提示 CD133-2 的表达随着 AL 病程的变化而变化, 当治疗有效疾病处于完全缓解期时, CD133-2 的表达随之下降, 而当治疗无效复发时, CD133-2 的表达随之升高。

急性白血病 (AL) 是一种进展迅速、预后很差

的恶性血液肿瘤。近年来随着化疗水平的不断提高、造血干细胞移植的成熟应用,50%~80%的患者规范治疗后可以达到完全缓解,但是仍然有65%的患者最终在3~5年内复发,复发的根源是CR期的患者体内残留的白血病细胞,即微小残留病(MRD)<sup>[8]</sup>。因此动态监测MRD对于判定疗效、预测复发及指导个体化治疗均具有重要意义。应用多参数流式细胞术(MFC)检测白血病患者治疗前存在的白血病相关免疫表型(LAIP)是目前监测MRD最主要的方法之一<sup>[9]</sup>。应用于MRD监测的LAIP抗原一般具有以下特点之一:跨系表达,跨阶段表达,过度表达、低表达或缺失,非同步表达<sup>[10]</sup>。正是由于CD133-2急性白血病细胞的表达明显高于正常骨髓单个核细胞,并且随着治疗的有效缓解、无效复发的变化而降低或升高,提示对CR期的AL患者检测CD133-2的表达可以作为判断疗效及监测复发的指标之一。

CD133-2作为一种新的干细胞表面标识被发现,其在白血病的预后、疗效判断、复发监测、免疫治疗等方面的作用随着研究的不断深入将会越来越受到重视。

#### 参考文献:

- [1] Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen; isolation, characterization, and molecular cloning [J]. *Blood*, 1997, 90(12): 5013-5021.
- [2] Green CL, Loken MR, Buck D, et al. Discordant expression of AC133 and AC141 in patients with myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia [J]. *Leukemia*, 2000, 14(4): 770-772.
- [3] 张之南, 沈 悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2007: 103-134.  
Zhang ZN, Shen T. Diagnostic and therapeutic criteria for hematological diseases[M]. Beijing: Science Publishing House, 2007: 103-134.
- [4] Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, et al. A novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells[J]. *Blood*, 1997, 90(12): 5002-5012.
- [5] 汪家敏, 戴 兰, 张光波, 等. CD133-2分子在急性白血病患者骨髓单个核细胞中的表达及其临床意义[J]. *现代免疫学*, 2010, 30(4): 333-336.  
Wang JM, Dai L, Zhang GB, et al. Expression of CD133-2 molecule on bone marrow mononucleated cells of acute leukemia patients and its clinical significance [J]. *Current Immunology*, 2010, 30(4): 333-336.
- [6] 赵文理, 聂述山, 许云云, 等. CD133两种亚型分子在儿童B系急性淋巴细胞白血病中的表达及其临床意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(3): 536-540.  
Zhao WL, Ne SS, Xu YY, et al. Expression of two subtype molecules of CD133 in childhood with B lineage acute lymphoblastic leukemia and its clinical significance [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2012, 20(3): 536-540.
- [7] Lee ST, Jang JH, Min YH, et al. AC133 antigen as a prognostic factor in acute leukemia [J]. *Leuk Res*, 2001, 25(7): 757-767.
- [8] Lai C, Karp JE, Hourigan CS, et al. Precision medicine for acute myeloid leukemia [J]. *Expert Review of Hematology*, 2016, 9(1): 1-3.
- [9] Jaso JM, Wang SA, Jorgensen JL, et al. Multi-color flow cytometric immunophenotyping for detection of minimal residual disease in AML: present and future [J]. *Bone Marrow Transplantation*, 2014, 49(9): 112-1138.
- [10] 魏 佳, 李惠民. 多参数流式细胞术在检测急性髓系白血病微小残留病灶中的运用[J]. *重庆医学*, 2015, 44(26): 3712-3713, 3737.  
Wei J, Li HM. Application of multi-parameter flow cytometry in detection of minimal residual lesions in acute myeloid leukemia [J]. *Chongqing Medicine*, 2015, 44(26): 3712-3713, 3737

收稿日期: 2018-01-22

修回日期: 2018-03-02

(上接34页)

- 代谢物间浓度比值正常参考区间的建立[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2016, 24(9): 11-12, 35.  
Wang X, Liu FR, Hu XQ, et al. Gansu region neonatal dried blood samples from 11 kinds of amino acids and amino acid metabolites concentration ratio between the establishment of the normal reference range [J]. *Chinese Journal of Birth Health and Heredity*, 2016, 24(9): 11-12, 35.
- [17] 李启亮, 宋文琪, 徐樾巍, 等. 液-质联用串联质谱检测干血滤纸氨基酸水平的影响因素[J]. *临床检验杂志*, 2009, 27(4): 302-304.  
Li QL, Song WQ, Xi XW, et al. The influence factors

of the amino acid level of dry blood filter paper were detected by liquid-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2009, 27(4): 302-304.

- [18] 林 飞, 徐钰琪, 阙 婷, 等. 新生黄疸患儿与早产低体重儿体内氨基酸水平变化原因分析[J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(21): 2947-2949.  
Lin F, Xu YQ, Que T, et al. Causes analysis of amino acid level changes in jaundice neonates and premature low-birth-weight neonates [J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2014, 11(21): 2947-2949.

收稿日期: 2018-02-02

修回日期: 2018-02-22