

## 应用 ROC 曲线确定流式细胞术髓过氧化物酶检测结果在急性白血病分类中的最佳临界值\*

洪俊<sup>1</sup>, 饶永彩<sup>2</sup> (1. 武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060; 2. 武汉生物制品所, 武汉 430060)

**摘要:**目的 用受试者工作曲线(ROC 曲线)法, 评价流式细胞术髓过氧化物酶检测(fMPO)在急性白血病分类中的预测和诊断价值, 并确定其在急性白血病分类中的最佳临界值(Cut-off)。方法 收集武汉大学人民医院 2010 年 1 月~2012 年 6 月血液科门诊及住院急性白血病(ALS)患者 198 例, 其中急性髓性白血病(AML)119 例, 急性淋巴细胞白血病(ALL)54 例和急性未分类白血病 25 例。采用流式细胞术(FCM)和酶细胞化学技术对 MPO 进行测定, 以细胞化学法 MPO(CMPO)  $\geq 3\%$  和/或  $\geq$  两种泛髓细胞标准物表达作为鉴别诊断急性髓细胞白血病的金标准。并用 SPSS 软件绘制 ROC 曲线确定最佳临界值, 并将其与 fMPO 临界值为 3% 和 10% 时的诊断效能指标(敏感度、特异度、误诊率、漏诊率、阳性预告值、阴性预告值)进行初步对比。结果 AML 组和急性未分类白血班组 fMPO 水平显著高于 ALL 组( $U=40.41$ ;  $P$  均  $<0.05$ )。ROC 曲线显示曲线下面积(AUC)为 0.967, 标准误 0.04, 95% 置信区间为 0.85~1.0, 依据 Youden 指数最大原则, 确定 fMPO 最佳临界值为 5.5%, 此时灵敏度为 98.7%, 特异度为 92.1%, 其特异度明显高于 fMPO 为 3% 时的 22.2% 和 10% 时的 70% ( $\chi^2=11.23, 8.11$ ;  $P$  均  $<0.05$ ), 而灵敏度 3% 时的 98.6% 和 10% 时的 96.5% 差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.72, 0.61$ ;  $P$  均  $>0.05$ )。结论 fMPO 临界值 5.5% 作为急性白血病分类的诊断界值比较合适, 可以提高临床的诊断。

**关键词:**髓过氧化物酶; 受试者工作曲线; 急性白血病; 临界值

中图分类号: R557; R446.113 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)05-076-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.023

## Detecting Optimal Cut-off Value of Flow Cytometry Myeloperoxidase(fMPO) by Receiver Operator Characteristic Curve in the Classification of Acute Leukemia

HONG Jun<sup>1</sup>, RAO Yong-cai<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; 2. Wuhan Institute of Biological Products, Wuhan 430060, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the value of flow cytometry myeloperoxidase (fMPO) in the classification of acute leukemia and determine the optimal cut-off value of fMPO for the classification of acute leukemia by receiver operator characteristic (ROC) curve. **Methods** By retrospective analysis, with acute leukemia (ALS) 198 cases, 119 cases of acute myeloid leukemia (AML) (AML group), 54 cases of acute lymphoblastic leukemia (ALL group) and 25 cases of acute leukemia unclassified, by flow cytometry (FCM) and enzyme cytochemical techniques, MPO was determined by cell chemistry MPO (CMPO)  $\geq 3\%$  and/or  $\geq$  two pan-myeloid expression gold standard as a differential diagnosis of acute myeloid leukemia standards. And draw the ROC curve to determine the optimal threshold value, and with 3% and 10% of fMPO cut-off value in the differential diagnosis of AML, such as a preliminary comparison of the effectiveness of using SPSS software. **Results** fMPO AML group was significantly higher than ALL group, acute leukemia Unclassified group and control group. ROC curve showed the area under the curve (AUC) was 0.967, standard error of 0.04, 95% confidence interval 0.85 to 1.0, based on the principle of maximum Youden index to determine the optimal cut-off value of 5.5% fMPO, when sensitivity was 98.7%, the specificity was 92.1%, significantly higher than 98.6% and 22.2% of fMPO 3% and 96.5% and 70% of fMPO 10%. **Conclusion** fMPO cut-off value of 5.5% as a diagnostic cutoff value more appropriate classification of acute leukemia, can improve clinical diagnosis.

**Keywords:** myeloperoxidase; receiver operator characteristic(ROC); acute leukemia; cut off

按 2008 年世界卫生组织(WHO)对造血和淋巴组织的恶性肿瘤的分类标准<sup>[1]</sup>, 急性白血病(ALS)被分为三个主要类别即急性髓细胞白血病(AML), 急性淋巴细胞白血病(ALL)和急性未分类白血病, 这个类别又包括急性混合型白血病

(MPAL)和急性未分化细胞白血病(AUL)<sup>[1]</sup>; 而采用酶细胞化学技术(enzyme cytochemistry)或流式细胞术(FCM)的细胞髓过氧化物酶(MPO)检测结果被公认为在上述分类中起着非常重要作用<sup>[2]</sup>。到目前为止, 公认的酶细胞化学法 MPO(CMPO)

\* 作者简介: 洪俊(1973-), 男, 博士, 副主任技师, 主要从事临床免疫及血液学方面的研究。

的临界值标准是3%,1976年由法美英合作组(FAB)制定,这个标准后来被2008年WHO的造血和淋巴组织的恶性肿瘤分类标准进一步确认并采纳<sup>[3]</sup>;而流式细胞仪法MPO(fMPO)的公开临界值标准是10%,由欧洲白血病免疫学分型协作组(EGIL)制定,但该标准却并未被2008年WHO的造血和淋巴组织的恶性肿瘤分类标准确认;且当前关于这个流式细胞术临界值标准缺乏充足有效的临床研究支持<sup>[4,5]</sup>。由于fMPO的临界值对于ALS分类起着重要作用,大量的学者从不同角度对其进行了研究,结论从3%~28%不等,尚无公认论<sup>[6~10]</sup>。

本研究以CMPO $\geq 3\%$ 和/或 $\geq$ 两种泛粒细胞标准物表达为鉴别诊断AML的金标准,采用ROC曲线对fMPO的检测结果进行分析以确定最佳的AML临界值(Cut-off)设置,并与3%和10%等常用的临界值在鉴别诊断AML效能进行了对比,以期寻找更好的用于鉴别诊断AML的fMPO临界值设置。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2010年1月~2012年6月武汉大学人民医院血液科住院和门诊确诊并收治的198例ALS,中位年龄29岁(3.1~85岁);男女比例是1.9:1。其中119例AML(其中1例因为骨髓样本被稀释而无法进行cMPO检测,因此在最后的统计分析时被予以排除。有2例AML伴有骨髓增生异常的变化特点);54例ALL[其中38例是B-ALL,16例为T-ALL是根据FCM的CD19和细胞质CD3(CCD3)阳性结果进行确诊的];25例为急性未分类白血病。所有患者均经血常规、骨髓细胞形态学及细胞化学染色确诊,白血病分型和疗效判定均按照FAB进行分型和WHO对造血和淋巴组织的恶性肿瘤的分类标准诊断标准<sup>[1]</sup>进行判定。以上所有取样均获得患者的知情同意书。

1.2 试剂和仪器 BD Canto II流式细胞仪,美国BD公司生产。所用检测试剂为BD公司原厂配套。

### 1.3 方法

1.3.1 酶细胞化学染色法:所有的骨髓片均分别进行了髓过氧化物酶(CMPO),苏丹黑B(SBB),非特异性酯酶(NSE)和碘酸雪夫(PAS)以及常规的詹纳-姬姆萨染色。筛选至少100个原始细胞, $\geq 3\%$ 原始细胞的显示为CMPO阳性时即判断为髓系<sup>[11]</sup>。

1.3.2 流式细胞术:采用直接染色,裂解洗法处理EDTA抗凝的骨髓样本。采用美国BD Canto II

流式细胞仪对所有样本进行检测,数据分析采用FACS-Diva软件;检测前,用CST校准微球校准流式细胞仪的电压及增益。每个样品测定管至少取细胞数10 000个,检测所用的单抗包括:MPO-FITC,泛髓系标志物抗体(CD13-PE,CD33-APC,和CD117-APC);原始细胞标志物抗体(CD34-PE-Cy7);细胞谱系特异性抗体(CD19和CD3);其它抗体(包括HLA-DR,CD11c和CD64),以上抗体均为美国BD公司产品。MPO临界值根据实验设置分别设为3%,5%和10%不等,其它标志物的临界值均为20%。

每个测试管之前都对用未染色的患者自身细胞制成的控制管进行测定以评估单克隆抗体试剂在单个病人标本中的自发荧光。在流式CD45与侧向光(SSC)双参数点图上,原始细胞的位置定义为低或中度的SSC和低表达或不表达CD45的一群细胞;淋巴细胞位置定义为低或中度的SSC和高表达CD45的一群细胞;我们以未染色的管以及淋巴细胞为fMPO测定的内部阴性对照,而粒细胞为内部阳性对照。

被分析细胞群在没有细胞谱系特异性抗体(CD19和CD3)表达的情况下,出现两个或多个的泛髓系标记(CD13,CD33和CD117)显示阳性侧被认为是髓系细胞。由于MPO在本文中正在被用于评价,所以暂不作为髓系认定标准。

1.3.3 不符情况的定义及处理:在本研究中,我们对不同的fMPO临界值( $\geq 10\%$ , $\geq 5\%$ 和 $\geq 3\%$ )在诊断髓系白血病的能力进行了评估;并以CMPO $\geq 3\%$ 和/或在没有细胞谱系特异性抗体(CD19和CD3)表达的情况下出现两个或多个泛髓系标记(CD13,CD33和CD117)显示阳性则诊断为髓系作为AML诊断的金标准。当同一个样本fMPO测定阳性而金标准阴性或反之,均视为结果不符;不符的样本均用FCM和酶细胞化学技术重测一次。所有样本均按2008年世界卫生组织(WHO)造血和淋巴组织的恶性肿瘤的分类标准将ALS分为AML,ALL,MPAL和AUL。

1.3.4 白血病治疗方案:被确诊为ALL均按BFM-90方案按风险分层给予治疗,而AML和MPAL先采用3+7诱导治疗随后用高剂量阿糖胞苷巩固化疗三个周期。1例慢性髓细胞白血病(CML)髓系危像对待AML一样采用酪氨酸激酶抑制剂(伊马替尼)治疗。

1.4 统计学分析 采用受试者工作曲线(ROC)来确定最佳的鉴别AML,ALL和MPAL的临界值。ROC曲线计算方法:计算ROC曲线下的面积(AUC),标准误,95%置信区间(95%CI),z值。并

按照 Youden 指数最大的原则,即 Youden 指数=灵敏度+特异度-1 值最大确定诊断的临界值(Cut-off)及其相应的灵敏度(sensitivity)、特异度(specificity)、阳性拟然比(+LR)、阴性拟然比(-LR)、阳性预测值(+PV)、阴性预测值(-PV)。成组设计的两样本均数差异性比较采用 Mann-Whitney U 检验,率的比较采用  $\chi^2$  检验,双侧 P 值  $<0.05$  为差异有统计学显著性意义;实验数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,所有数据运算及 ROC 曲线的绘制采用统计分析软件 SPSS18.0。

## 2 结果

2.1 流式细胞仪检测 MPO 的结果 AML 组( $9.4 \pm 2.1$ )和 AUL 组( $9.1 \pm 3.1$ )fMPO 水平显著高于 ALL 组( $2.8 \pm 1.5$ ),差异有统计学意义( $U=40.41$ ;  $P$  均  $<0.05$ ),AML 组和 AUL 组 fMPO 差异无统计学意义( $U=1.5$ ,  $P>0.05$ )。198 例 ALS 的 CMPO 和 fMPO 的检测结果分布比较,见表 1。

2.2 ROC 曲线评价确定最佳临界值 选择 ROC

表 2 部分不同 fMPO 临界值设置时在急性白血病分类中的诊断效率

临界值(%)	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性拟然比	阴性拟然比	阳性预测值%	阴性预测值%
>3	98.6	22.3	1.21	0.16	86.0	59.1
>5.0	98.5	22.4	1.22	0.17	86.1	58.3
>5.1	98.6	33.4	1.31	0.20	86.2	59.1
>5.2	98.5	44.5	1.38	0.33	86.0	59.9
>5.3	98.6	53.6	1.84	0.48	89.1	58.9
>5.4	98.5	87.5	3.45	0.50	90.2	60.0
>5.5	98.7	92.1	8.9	0.52	93.1	60.3
>5.6	98.4	87.9	8.1	0.49	90.1	60.1
>5.7	98.3	85.1	7.7	0.50	89.1	60.0
>5.8	97.9	80.4	7.5	0.47	88.5	59.7
>5.9	97.6	76.1	6.9	0.46	87.9	58.8
>6	96.9	74.1	6.5	0.47	88.4	57.1
>10	96.5	70.0	6.0	0.45	85.1	57.4

2.3 fMPO 临界值分别在 5.5%、3% 和 10% 时的鉴别诊断 AML 效能对比 3% 是目前关于 fMPO 临界值研究中已报道的最低下限<sup>[6]</sup>,见表 3 所示 fMPO 临界值设置为 3% 时共有 25 例样本与金标准存在不相符,在该设置下 6 例 ALL 全部被诊断为 MPAL,从临床角度看这是不能接受的,具体见表 2;其鉴别诊断 ALL 和 AML/MPAL 的灵敏度和特异度分别为 98.6% 和 22.3% (见表 2);10% 是 EGIL 组推荐的 fMPO 临界值;按照这个标准,有 11 例存在不符,具体情况见表 3;其鉴别诊断 AL 和 AML/MPAL 的灵敏度和特异度分别为 96.5% 和 70% (见表 2)。

5.5% 是本文采用 ROC 曲线确定的最佳 fM-

曲线上最靠近左上方的点,根据统计结果中各可能切点的灵敏度和特异度计算 Youden 指数,以 Youden 指数最大的切点为临界点<sup>[5]</sup>。ROC 曲线显示曲线下面积(AUC)为 0.967,标准误 0.04,95% 置信区间为 0.85~1.0,依据 Youden 指数最大原则,确定 fMPO 最佳临界值为 5.5%,此时灵敏度为 98.7%,特异度为 92.1%,阳性拟然比 8.9,阴性拟然比 0.52,阳性预测值 93.1%,阴性预测 60.3%,见图 1,表 2。

表 1 198 例 CMPO 和 fMPO 的检测结果分布比较(n)

不同的 fMPO 测定区间(%)	n	CMPO	
		<3%	>3%
0~2.9	63	61	2
3~4.9	11	11	0
5~9.9	8	6	2
≥10	116	5	111
合计	198	83	115

注:CMPO-细胞化学髓过氧化物酶测定,fMPO-流式细胞仪髓过氧化物酶测定。

PO 临界值,按照此标准有 8 例与金标准结论不相符(具体见表 3);在该设置下全部 ALL 和 3 例 MPAL 均被正确诊断;4 例 AML-M0 中有 2 例可能被误诊为 M1,由于 M0 和 M1 的治疗或预后意义差异不大,因此从临床角度看这是可接受的;其鉴别诊断 ALL 和 AML/MPAL 的灵敏度和特异度分别为 98.7% 和 92.1% (表 2)。其特异度明显高于 3% 时的 22.2% 和 10% 时的 70% ( $\chi^2=11.23$ , 8.11,  $P$  均  $<0.05$ ),而灵敏度与 3% 时的 98.6% 和 10% 时的 96.5% 差异无统计学意义( $\chi^2=0.72$ , 0.61;  $P$  均  $>0.05$ ),这提示 fMPO 临界值设置为 5.5% 时在鉴别诊断 ALL 和 AML/MPAL 能保持高灵敏度不变情况下,有更好的特异度。

表3 fMPO临界值为3%时25例不符样本的详细分析

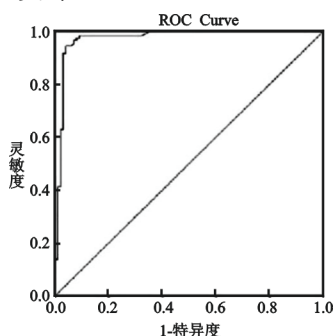
序号	年龄(岁)	性别	fMPO	CMPO(%)	其它细胞化学检测结果	流式免疫分型	2008 世卫组织/FAB 亚型
1	23	男	1.9	≥3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,CD5+,CD7+ cCD3-,CD19-	AML-M1*△
2	25	女	2.2	≥3	SBB-,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD117+,CD34+,TdT+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M5*△
3	30	男	5.3	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD117+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-,CD19-	AML-M0
4	35	女	9.2	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD117+,CD34+,HLA-DR+,cCD3-,and CD19-	AML-M0△
5	37	男	6.1	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD117+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-,and CD19-	AML-M0△
6	25	女	4.7	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD117+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-,CD19-	AML-M0
7	23	男	9.5	<3	SBB-,NSE-,PAS block+	CD10+,CD19+,CD79a+,CD13+,CD33+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-	MPAL(B/* myeloid)
8	29	女	7.5	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD10+,CD19+,CD79a+,CD13+,CD33+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-	MPAL(B/* myeloid)
9	33	男	9.1	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD10+,CD19+,CD79a+,CD13+,CD33+,CD34+,HLA-DR+,TdT+,cCD3-	MPAL(B/* myeloid)
10	21	女	16.4	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD33+,CD117+,CD34+,HLA-DR+,CD5+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M1
11	17	女	12.4	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD34+,CD19-,cCD3-,CD13+,CD33+	AML-M1
12	19	男	13.5	<3	SBB-,NSE-,PAS-	CD34+,CD19-,cCD3-,CD13+,CD33+	AML-M1
13	22	女	5.6	≥3	SBB-,NSE-,PAS-	CD13+,CD117+,HLA-DR+,CD34+,TdT+,CD19-,cCD3-	AML-M1*
14	29	女	7.3	≥3	SBB+,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD117+,CD34+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M4*
15	39	男	86.5	<3	SBB+,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD79a+,CD34+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M4
16	40	女	3.0	<3	SBB-,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD117+,CD34+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M4*△
17	33	女	5.3	<3	SBB-,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD117+,CD34+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M5*△
18	24	女	3.9	<3	SBB-,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD34+,CD11c+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M5*△
19	21	女	3.8	<3	SBB-,NSE+,PAS-	CD13+,CD33+,HLA-DR+,CD117+,CD34+,CD11c+,CD64+,CD10+,cCD3-,CD19-	AML-M5*△
20	17	女	3.1	<3	SBB-,NSE-,PAS block+	cCD3+,CD5+,CD7+,CD34+,TdT+,CD10+,CD79a+,CD19-,CD13-,CD33-,CD117-	T-ALL
21	45	男	3.7	<3	SBB-,NSE-,PAS-	cCD3+,CD5+,CD7+,CD34+,TdT+,CD10+,CD79a+,CD13-,CD33+,CD117-,CD19-	T-ALL
22	32	男	4.6	<3	SBB-,NSE-,PAS block+	CD19+,CD10+,CD34+,CD79a+,CD13+,HLADR+,cCD3-,CD33-,CD117-	B-ALL
23	22	男	3.2	<3	SBB-,NSE-,PAS block+	CD19+,CD10+,CD34+,CD79a+,CD13+,HLADR+,TdT+,cCD3-,CD33-,CD117-	B-ALL
24	45	男	3.1	<3	SBB-,NSE-,PAS block+	CD19+,CD10+,CD34+,CD79a+,CD13+,HLADR+,TdT+,cCD3-,CD33-,CD117-	B-ALL
25	33	男	4.7	<3	SBB-,NSE+,PAS-	CD19+,CD10+,CD34+,CD79a+,HLA-DR+,cCD3-,CD13-,CD33-,CD117-	B-ALL

注：\* 当 fMPO 临界值设置为 10% 时不相符的样本；△ 当 fMPO 临界值设置为 5.5% 时不相符的样本。

3 讨论 MPO 测定在临床血液学中有着重重要的作用<sup>[2]</sup>；如果 CMPO 或 fMPO 呈阳性，ALS 则应该被归类为 AML/MPAL。虽然欧洲白血病免疫学分型协作组(EGIL)将 fMPO 的临界值标准定为 10%，但该标准却并未被 2008 年 WHO 的造血和淋巴组织的恶性肿瘤分类标准确认；同时该临界值标准缺乏充足有效的临床研究支持<sup>[4,5]</sup>。由于

fMPO 的临界值对于 ALS 分类起着十分重要的作用，许多学者从不同角度对其进行了研究。有作者<sup>[6]</sup>对 198 例 ALS 的 SBB 细胞化学染色与 fMPO 结果进行了回顾性对比研究，发现当 fMPO 临界值为 10% 时，fMPO 完全可以作为独立于 SBB 染色结果之外的单独用于 ALS 的分类诊断。但是这项研究存在明显的缺陷即没有将 fMPO 与 CMPO

进行比较,有资料显示 1.3% 的 ALL 的 SBB 结果可以呈假阳性<sup>[12,13]</sup>,而 CMPO 在诊断髓系时其特异性比 SBB 更好。



当与金标准对比时 fMPO 设置为 5.5% 时可以获得最好的灵敏度和特异度(98.7% 和 92.1%)。

图 1 ROC 曲线

来自法国的研究<sup>[9]</sup>表明,采用 EGIL 推荐的 fMPO 临界值 10% 对 CMPO 和 fMPO 进行了比较,他们的研究表明,10% fMPO 临界值与 CMPO 相比不太敏感,并认为 3% fMPO 的设置更敏感,且优于 CMPO。显然,众多学者从不同角度对其进行了研究,但结论却无统一论<sup>[6~10]</sup>。

ROC 曲线可用于反映一种诊断指标灵敏度和特异度的连续变量,是用图形的方法揭示灵敏度和特异度相互关系的曲线。曲线越凸即曲线下面积越大,表明其诊断价值越大,具有直观性,并有利于不同指标之间的比较。ROC 曲线及曲线下面积可作为某一诊断方法准确性评价的指标<sup>[14]</sup>。为了进一步明确这个问题,本文采用 ROC 曲线确定 fMPO 的最佳临界值,并将 fMPO 与 CMPO 进行了比较。结果显示 fMPO 临界值设置为 5.5% 时灵敏度和特异度分别为 98.7% 和 92.1%,3% 时为 98.3% 和 22.2%,在 10% 的设置时为 96.6% 和 71%;显然 fMPO 在 5.5% 的设置时在诊断 AML/MPAL 时能保持高灵敏度不变的情况下,具有更好特异度;这与国外一些认为 10% 的设置过高的研究结论相符;此外,在诊断 ALL 时,虽然在 5.5% 和 10% 两种设置下,本文中所有的 ALL (fMPO 都 < 5%) 均被正确诊断出来,但如果出现 fMPO 低表达(如 5.5%~10%)的样本时,10% 的设置可能会出现漏诊,而 5.5% 就不会;当然这种假设需要进一步的临床研究证实。

在本文中的 2 例 M1 和 1 例 M4 的原始细胞有明显的髓系形态学特征和 fMPO 阳性,但 CMPO 持续阴性,3 例 MPAL 的 fMPO 阳性而 CMPO 阴性;这表明,在这些情况时 fMPO 敏感度明显比 CMPO 要高,能显著提高诊断的准确度。

本文中有 4 例 AML 的 CMPO 阳性,fMPO 临界值为 10% 时 fMPO 阴性与金标准不符,5.5% 时

其中 2 例(M1 和 M4) fMPO 阳性与金标准相符;而另外 2 例 AML 因为 fMPO 太低(<2%)即使在 fMPO 临界值为 3% 时仍为阴性。造成这种情况的原因可能与不同的克隆制备的 MPO 抗体与患者个体原始粒细胞表达的 MPO 反应不同有关。

Kappelmeyer 等<sup>[15]</sup>对不同单抗克隆、荧光染料和样品制备方法对流式 MPO 测定的影响进行了研究,发现任何 MPO 抗体与 Cytotfix/Cytoperm 固定/破膜剂使用时能使非特异性染色显著增加,标记 PE 的 MPO 抗体的荧光信号明显比标记 FITC 更强;这表明不同抗体的选择使用会影响最佳 fMPO 临界值设置的选择,这可能是当前众多关于 fMPO 临界值研究结论不同的原因之一。

#### 参考文献:

- [1] van den Ancker W, Terwijn M, Westers TM, et al. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WHO 2008 classification[J]. Leukemia, 2010, 24(7): 1392-1396.
- [2] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. 4th Ed. Lyon: IARC Press, 2008.
- [3] Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group[J]. Br J Haematol, 1976, 33(4): 451-458.
- [4] Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) [J]. Leukemia, 1995, 9(10): 1783-1786.
- [5] Bain BJ, Barnett D, Linch D, et al. Revised guideline on immunophenotyping in acute leukemias and chronic lymphoproliferative disorders[J]. Clin Lab Haematol, 2002, 24(1): 1-13.
- [6] van den Ancker W, Westers TM, de Leeuw DC, et al. A threshold of 10% for myeloperoxidase by flow cytometry is valid to classify acute leukemia of ambiguous and myeloid origin[J]. Cytometry Part B Clin Cytom, 2013, 84(2): 114-118.
- [7] Belurkar S, Mantravadi H, Manohar C, et al. Correlation of morphologic and cytochemical diagnosis with flow cytometric analysis in acute leukemia[J]. J Cancer Res Ther, 2013, 9(1): 71-79.
- [8] Guy J, Antony-Debré I, Benayoun E, et al. Flow cytometry thresholds of myeloperoxidase detection to discriminate between acute lymphoblastic or myeloblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2013, 161(4): 551-555.
- [9] Peffault de Latour R, Legrand O, Moreau D, et al. Comparison of flow cytometry and enzyme cytochemistry for the detection of myeloperoxidase in acute myeloid leukaemia: interests of a new positivity threshold[J]. Br J Haematol, 2003, 122(2): 211-216.

(下转 83 页)

(上接 80 页)

- [10] Abdulsalam AH, Nadal-Melsio E, Naresh KN. Complementarity of evaluation of myeloperoxidase expression by flow cytometry and immunohistochemistry on bone marrow trephine biopsy sections in acute myeloid leukemia[J]. Cytometry Part B Clin Cytom, 2014, 86(1):70-73.
- [11] Durrani F, Singh R. Myeloperoxidase level around dental implants as an indicator of an inflammatory process[J]. Indian J Dent, 2015, 6(1):2-6.
- [12] Bezjian M, Diep AN, de Matos R, et al. Chinese box turtle (*Cuora flavomarginata*) with lymphoid leukemia characterized by immunohistochemical and cytochemical phenotyping[J]. Vet Clin Pathol, 2013, 42(3):368-376.
- [13] Bain BJ. Neutrophil dysplasia demonstrated on Su-

dan black B staining[J]. Am J Hematol, 2010, 85(9):707.

- [14] 喻晶, 郑金花, 张银汉, 等. 采用 ROC 曲线分析东南亚缺失型  $\alpha$  珠蛋白合成障碍性贫血的血液学指标[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(5):58-61.  
Yu J, Zheng JH, Zhang YH, et al. Analysis of hematology parameters of southeast Asian deletion  $\alpha$ -thalassemia by ROC curve[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2011, 26(5):58-61.
- [15] Kappelmayer J, Gratama JW, Karászi E, et al. Flow cytometric detection of intracellular myeloperoxidase, CD3 and CD79a. Interaction between monoclonal antibody clones, fluorochromes and sample preparation protocols[J]. J Immunol Methods, 2000, 242(1/2):53-65.

收稿日期:2015-02-10

修回日期:2015-04-16