

72例老年急性白血病免疫表型分析*

姚亚洲, 郑引索 (宝鸡市中心医院血液风湿科, 陕西宝鸡 721008)

摘要:目的 探讨老年急性白血病流式细胞术免疫分型的特点及临床意义。方法 回顾性分析2010年1月~2015年3月,利用三色法流式分析法检测76例老年性白血病的免疫表型及其特点。结果 ①AML中最主要表达的抗原是MPO, CD13和CD33,表达率分别为98.2%,98.2%和7.2%。47.3%有淋系抗原表达,其中CD7(19.3%),CD56(26.3%)最为常见。②老年B-ALL中,CD19的表达阳性率最高为100%,其次是cCD79a,CD10和CD20,表达阳性率分别为88.9%,46.2%和66.7%。纯B系抗原表达者77.8%,伴T系抗原表达者22.3%,髓系相关抗原CD13,CD33的表达阳性率分别为33.4%和22.3%。③所有老年T-ALL中均表达CD3与CD7,CD5(+)细胞占66.7%,干祖细胞CD34,HLA-DR阳性率分别为33.3%和0%。结论 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,结合传统的检测手段,有助于老年白血病的精确诊断。

关键词:白血病;老年;免疫表型;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(2015)05-091-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.027

Immunophenotype Analysis of 72 Cases of Elderly Acute Leukemia

YAO Ya-zhou, ZHENG Yin-suo (Department of Blood and Rheumatism, Baoji Central Hospital, Shaanxi Baoji 721008, China)

Abstract: Objective To explore the flow cytometry(FCM) immune classification of elderly acute leukemic characteristics and clinical significance. **Methods** Analysed retrospectively the immunophenotype and the character of 76 patients with elderly acute leukemia, that performed by 3-color flow cytometric analysis method. **Results** ①The major marker in AML were MPO, CD13, CD33, expression rate of 98.2%, 98.2% and 77.2%, respectively. ②The lymphoid immunophenotypy marker was 47.3% in all patients, including CD7 (19.3%), CD56 (26.3%). CD19 expression in all older B-lymphoid leukemia, followed by cCD79a, CD10 and CD20 expression positive rate were 88.9%, 46.2% and 66.7% respectively. Pure B antigen expression was 77.8%, with T antigen reaches 22.3%. The expression of myeloid associated antigen CD13 was 33.4%, and CD33 positive rate was 22.3%. ③The T-cell special marker CD3 and CD7 were in whole T-ALL, CD5 expression positive rate was 66.7%. Only 33.3% cases expressed progenitor cell marker CD34, no had HLA-DR expression. **Conclusion** FCM immune phenotype analysis is a simple, rapid and accurate means of detection technology, combined with the traditional detection methods, will effected help accurate diagnosis of senile leukemia.

Keywords: acute leukemia; elder; immunophenotype; flow cytometry

流式细胞术(flow cytometry, FCM)是根据白血病细胞表面和胞内的特异性抗原,采用荧光素标记的单克隆抗体进行检验的一种技术。由于其能够对白血病细胞的来源和分化阶段进行更精细的检测和判断,由此已成为白血病诊断和分型、预后判断及白血病细胞生物学特性研究等的重要手段。老年白血病是指年龄>60岁的白血病患者。由于各个方面的原因,如预后不良的细胞遗传学比例高,多继发于其他血液学疾病或其他一种或多种恶性肿瘤,多表达多重耐药基因等,老年急性白血病具有与年轻患者不同的临床表现^[1]。针对年轻患者急性白血病免疫分型已有较多研究,但对老年急性白血病患者免疫表型报道较少。现对我科老年急性白血病患者免疫分型进行回顾性分析研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2010年1月~2015年3月我院初诊的老年急性白血病患者72例,其中男性43例,女性29例,年龄60~82岁,中位年龄73岁,其中60~69岁21例,70~79岁15例,80岁以上7例。所有患者依据白血病诊断标准^[2]均行血常规、外周血涂片、骨髓细胞形态学检查与细胞化学染色证实FAB分型等。其中急性非淋巴细胞白血病(AML)51例(包括M0 2例, M1 10例, M2 19例, M3 4例, M4 8例, M5 5例, M6 2例, M7 1例),急性淋巴细胞白血病(ALL)13例(包括ALL-L1 5例, ALL-L2 6例, ALL-L3 2例),由骨髓增生异常综合征(MDS)转化6例(M2 4例, M4 1例, M5 1例),混合细胞白血病2例。

1.2 试剂及仪器 单克隆抗体包括CD3, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20,

* 作者简介:姚亚洲(1970-),男,学士,副主任医师,主要研究方向:血液系统疾病临床研究, E-mail: yaoyazhou001@tom.com。

CD22, CD33, CD34, CD56, cCD79a, CD117, cM-PO, HLA-DR, 均购自 Becton Dickinson 公司; 流式细胞仪是 Becton Dickinson 的 BD LSRFortessa 型号, 应用 BD FACS Diva software 进行分析。

1.3 检测方法 取治疗前肝素抗凝的新鲜骨髓细胞(6 h 内), 常规溶血, 取样品 100 μ l(细胞数 $0.5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^7$ 个), 采用三色流式分析方案检测细胞抗原, 每管加入 Fc 受体阻断剂, 阻断非特异性结合。后加不同组合的抗体, 同时做同型对照, 混匀, 避光冰上孵育 20 min, 用 Cell Quest 软件设置获取条件后, 依次上样获取数据, 每管获取 10 000 个细胞。通过 CD45/SSC 双参数二维点图设门识别白血病细胞群, 再分析计算该细胞群各白血病相关抗原的表达。胞内抗原的检测需再加 Intraprep 破膜剂, 余同前。结果判断: 髓系及胞浆抗原 $>20\%$ 为

表 1 老年 AML 免疫表型

亚型	n	CD3	CD5	CD7	CD10	CD13	CD14	CD15	CD19	CD33	CD34	CD56	CD117	MPO	HLA-DR
M0	2	0	0	1	0	1	0	1	1	2	1	0	2	2	1
M1	10	0	0	2	0	10	0	4	0	9	9	4	7	10	9
M2	19	0	0	4	0	19	0	10	1	17	14	7	11	19	16
M3	4	0	0	0	0	4	0	1	0	1	1	0	1	4	1
M4	8	0	0	0	0	8	3	3	0	6	6	3	2	8	6
M5	5	0	0	0	0	5	1	2	0	4	3	3	1	4	0
M6	2	0	0	1	0	1	0	1	0	1	2	1	1	2	1
M7	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
MDS-M2	4	0	0	1	0	4	0	1	0	2	3	2	2	4	1
MDS-M4	1	0	0	2	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
MDS-M5	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0

2.1.2 老年 ALL 的表型特征: 按照流式细胞仪免疫分型结果, 本组患者中 B-ALL 9 例(69.2%), T-ALL 3 例(23.1%), B/T-ALL 1 例(7.7%), 见表 2。

表 2 老年 ALL 形态学与免疫分型关系(n=13)

亚型	L1 型	L2 型	L3 型	合计
B-ALL	3	4	2	9
T-ALL	1	2	0	3
B/T-ALL	1	0	0	1

在老年 B-ALL 中, CD19 的表达阳性率最高为 100%, 其次是 cCD79a, CD10 和 CD20, 表达阳性率分别为 88.9%, 55.6%, 66.7%。干祖细胞

表 3 老年 ALL 免疫表型

亚型	n	CD3	CD5	CD7	CD10	CD13	CD14	CD19	CD20	CD22	CD33	CD34	cCD79a	HLA-DR	MPO
B-ALL	9	0	1	1	5	3	0	9	6	3	2	5	8	4	0
T-ALL	3	3	2	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
B/T-ALL	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0

3 讨论 白血病是造血干细胞的克隆性恶性疾病, 正确的诊断对于疾病的治疗以及判断预后有着重要的意义。老年白血病的临床表现以及治疗具有与年轻患者不同的特点, 因此, 准确判断老年患者的白血病类型具有重要的意义。形态学分型是诊断急性白血病最常用的方法, 由于其简便、快速而得到最大范围的应用, 但其主观性强, 精确性差,

阳性, 淋系抗原 $>30\%$ 为阳性, CD34, HLA-DR $>10\%$ 为阳性。HAL 参照 EGIL 诊断标准。

2 结果

2.1 老年白血病免疫表型特征

2.1.1 老年 AML 的表型特征: AML 中最主要表达的抗原是 MPO, CD13 和 CD33, 表达率分别为 98.0%, 96.0% 和 80.4%。干祖细胞标志 HLA-DR, CD34 和 CD117 表达阳性率分别为 66.7%, 72.5% 和 49.0%, CD34 及 HLA-DR 在 M3 中极少表达。CD14 表达仅见于 M4 和 M5。AML 中淋系相关抗原表达的情况, 在 72 例 AML 中, 47.3% 有淋系抗原表达, 其中 CD7(19.3%), CD56(26.3%) 最为常见, 其次为 CD19(3.5%), 而 CD3, CD5 与 CD10 在所有 AML 中均无表达, 见表 1。

CD34, HLA-DR 表达阳性率分别为 46.2%, 30.8%。纯 B 系抗原表达者 7 例(77.8%), 伴 T 系抗原表达者 2 例(22.3%), 髓系相关抗原 CD13, CD33 的表达阳性率分别为 33.4%, 22.3%。

在老年 T-ALL 中, CD3 与 CD7 的表达阳性率最高, 均为 100%, CD5 的表达阳性率为 66.7%, 干祖细胞 CD34, HLA-DR 表达阳性率分别为 33.3%, 0%; 纯 T 系抗原表达者 3 例(100%)。见表 3。

所有老年 ALL 均不表达 MPO 和 CD14。

对于未分化型白血病及一些形态学不典型的白血病, 其诊断有一定的局限性。流式细胞术能够准确地测定细胞表面不同抗原的表达, 不仅有助于快速、准确地判断病情, 而且能够为微小残留病变的检测提供依据, 特别是诊断急性未分化白血病、一些少见类型白血病和混合型白血病更是具有独特的优势^[3], 因此成为白血病诊断治疗的重要工具。

但受多种因素如检测方法和所选单抗等影响,国内外文献报道有一定的差异。

在本研究中,作为髓系特异性免疫标志,MPO,CD33和CD13在老年髓系白血病的表达率最高,与大多数研究结果一致。CD34和HLA-DR均为干祖细胞相关抗原,被认为是白血病低分化亚型的标志,一般在早幼粒细胞上不表达。但在本研究中尚有1例患者表达CD34和HLA-DR,可能与变异有关^[4]。丁才智等^[5]研究认为,CD34和HLA-DR表达与急性白血病发病及患者转归密切相关。高表达的患者CR低,死亡率高,可作为急性白血病的独立预后指标。在欧洲白血病免疫分型协作组(EGIL)积分系统中,CD117被视作髓系特异性抗原,其原因在于CD117虽然是干祖细胞抗原,但其仅在髓系白血病中表达。CD14是单核细胞比较特异的标记,主要表达于成熟单核细胞、弱表达于幼单核细胞,而原始单核细胞表面无表达,由此可以解释本研究M4,M5中表达不高的现象^[6]。

在本次研究中,老年髓系白血病淋系抗原表达以CD7和CD56最多见。多数研究证实CD7是AML最多见的跨系抗原表达,一般多预示预后不良^[4]。CD56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细胞的特异性标志,经常用作检测NK细胞及相关疾病诊断的依据。戴海滨等^[6,7]报道,在髓系白血病中,CD56表达主要见于M2和M5患者,其存在与完全缓解率及总存活时间呈负相关。本研究中CD56主要表达于M1,M2和M5患者。

本研究中尚有一部分特殊患者,即MDS转化的髓系白血病。

按欧洲白血病免疫分型协作组(EGIL)提出的ALL免疫学分型标准,将ALL分为B-ALL,T-ALL和B/T-ALL。其中B-ALL主要表达CD10,CD19,CD20,CD22和cCD79a,T-ALL主要表达CD3,CD5和CD7。本研究中,老年急性淋巴细胞白血病按免疫表型系列相关抗原分类,以B-ALL型最为多见,与文献^[8]报道相似。CD34和HLA-DR作为造血细胞早期分化阶段的表面分化抗原,在不同类型的白血病细胞表面表达不一。本研究结果显示在B-ALL中HLA-DR,CD34表达与T-ALL相比,CD34表达稍高;在T-ALL中,HLA-DR不再表达,其中T-ALL CD34的表达与文献报道差距较大^[8],可能是病例数太少的原因。cCD79a和CD19是B细胞来源最具代表性的指标,在B-ALL中表达较高。B-ALL中,有髓系抗

原阳性表达者也有一定的表达率,有研究^[9]认为,髓系抗原表达与否对ALL的CR率和生存期无明显影响。T-ALL,B/T-ALL由于病例数太少,本文不作分析。

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,结合传统的检测手段,有助于老年白血病的精确诊断。对于预后判断以及个体化治疗均具有重要临床意义。

参考文献:

- [1] 陈芳源.老年白血病的特点及治疗进展[J].老年医学与保健,2013,19(1):7-11.
Chen FY. Characteristics and treatment of leukemia in elderly[J]. Geriatrics & Health Care, 2013, 19(1): 7-11.
- [2] 张之南,沈 悌.血液病诊断及疗效标准[M].2版.北京:北京科学出版社,2007:131-134.
Zhang ZN, Shen T. Diagnosis and effect of blood disease[M]. 2th Ed. Beijing: Beijing Science Press, 2007: 131-134.
- [3] Weir EG, Borowitz MJ. Flow cytometry in the diagnosis of acute leukemia[J]. Serrin Hematol, 2001, 38(2):124-138.
- [4] 袁 莉,杨玉琮,陈 葳.93例急性白血病流式细胞术免疫分型的特点分析[J].现代检验医学杂志,2014,29(2):127-129.
Yuan L, Yang YZ, Chen W. Analysis of immunophenotypic features by flow cytometer in 93 cases with acute leukemia [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(2): 127-129.
- [5] 丁才智. CD34, CD38和HLA-DR表达及其对急性白血病诊治的意义[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2502-2504.
Ding CZ. Significance of CD34, CD38 and HLA-DR expression and for diagnosis and treatment of acute leukemia[J]. Laboratory Medicine and Clinic, 2011, 8(20): 2502-2504.
- [6] 佟海侠,王慧涵,张继红,等.192例急性髓系白血病免疫表型、细胞遗传学及临床特征的研究[J].中国实验血液学杂志,2009,17(5):1174-1178.
Tong HX, Wang HH, Zhang JH, et al. Immunophenotypes, cytogenetics and clinical features of 192 patients with acute myeloid leukemia[J]. Journal of Experimental Hematology, 2009, 17(5): 1174-1178.
- [7] 戴海滨,姚丹丹,张延清,等.伴淋系抗原表达的急性髓系白血病特点及临床意义[J].哈尔滨医科大学学报,2014,48(3):206-208.
Dai HB, Yao DD, Zhang YQ, et al. Characteristics and clinical significance of acute myeloid leukemia with lymphoid lineage antigen[J]. Journal of Harbin Medical University, 2014, 48(3): 206-208.
- [8] 满秋红,邱立娟,刘铁强,等.成人急性淋巴细胞白血病免疫表型特点分析[J].中国体视学与图像分析,2008,13(4):268-271.
Man QH, Qiu LJ, Liu TQ, et al. Immunophenotypes feature analysis of 76 cases of adult acute lymphoblastic leukemia[J]. Chinese Journal of Stereology and Image Analysis, 2008, 13(4): 268-271.
- [9] Vitale A, Guarini A, Ariola C, et al. Absence of prognostic impact of CD13 and/or CD33 antigen expression in adult acute lymphoblastic leukemia. Results of the GIMEMA ALL 0496 trial [J]. Haematologica, 2007, 92(3): 342-348.

收稿日期:2015-05-07

修回日期:2015-08-20