维普资讯 http://www.cqvip.com



临床研究 文章编号:0253-3626(2008)07-0885-03

# 白血病的细胞表面标志及染色体检查的临床意义

赵 琳[1],娄世锋[2]

(1. 重庆医科大学七年制,重庆 400016;2. 重庆医科大学附属第二医院血液科,重庆 400010)

【摘 要】目的:探讨细胞表面标志及染色体检查对白血病的诊断、治疗、预后临床意义。方法:对初诊为急慢性白血病的22例患者进行骨髓细胞形态学、免疫学及细胞遗传学检测。按照FAB标准进行形态学分型,运用流式细胞仪、单克隆抗体(Monoclonal antibodies,McAb)检测细胞表面分化抗原(Clust of differentiation,CD)及其它细胞表面标志。采用短期培养法制备染色体标本,G显带技术作核型分析。结果:22例患者经形态学和免疫学联合诊断,急性淋巴细胞白血病(Acute lymphocytic leukemia,ALL)8例,其中伴有髓系抗原表达的ALL(Acute lymphocytic leukemia exhibiting myeloid lineage-associated antigens,My+ ALL)2例,急性髓细胞白血病(Acute meylocytic leukemia,AML)9例,慢性淋巴细胞白血病(Chronic lymphocytic leukemia,CLL)3例,急性未分化型白血病(Acute undifferentiated leukemia,AUL)2例。成功制备的17例染色体标本中检出异常核型11例,检出率为64.7%,其中,2例具有染色体复杂畸形。接受化疗的12例患者中,除上述具有染色体复杂畸形的2例未缓解(Non-remission,NR)外,其余10例均完全缓解(Complete remission,CR),CR率83.3%。结论:有针对性地运用细胞表面标志及染色体检查可在有限的条件下提高白血病的分型准确性,为白血病的个体化治疗和预后评估提供重要的信息。

【关键词】白血病;细胞表面标志;染色体

【中国图书分类法分类号】R733.7 【文献标识码】B 【收稿日期】2007-10-31

# The clinical significance of the detection of cell surface marker and chromosome in leukemia

*ZHAO Lin, et al*

(*Department of Seven-year, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the clinical significance of the detection of cell surface marker and chromosome in diagnosis, treatment and prognosis of leukemia. *Methods*: Morphologic typing and immunophenotyping were carried out in 22 untreated patients with leukemia respectively with FAB criteria and monoclonal antibodies(McAb) which were used to label cell surface marker. Chromosomal specimens were prepared by 48-hour culture method. Chromosome was analysed by G-banding technique. *Results*: All the 22 cases were diagnosed as leukemia by combined detection of morphology and immunology. Among them there were 8 acute lymphocytic leukemia(ALL) in which 2 cases expressed myeloid lineage-associated antigens(My+ ALL), 9 acute meylocytic leukemia(AML) and 3 chronic lymphocytic leukemia(CLL). In addition, 2 cases were diagnosed as acute undifferentiated leukemia(AUL). Chromosomal karyotype analysis was carried out in 17 cases, among which chromosomal abnormalities were found in 11 cases in which 2 cases with complex chromosomal deformity had non-remission(NR). With the exception of the 2 cases aforementioned, others had complete remission (CR). *Conclusion*: The proper detection of cell surface marker and chromosome on limited condition is helpful for the diagnosis of leukemia, which would provide an experimental evidence for personalized treatment and prognosis.

【Key words】 Leukemia; Cell surface marker; Chromosome

白血病是血液系统恶性克隆性疾病。白血病细胞起源、分化和生物学行为不同,构成白血病的高度异质性。为了更客观、准确地反映白血病的生物学特性,法、美、英协作组于1986年在FAB分型的基础上提出了白血病的MIC分型[1],即形态学(Morphology,M)、免疫学(Immunology,I)、细胞遗传学(Cytogenetics,C)分型。本文回顾性分析22例初诊白血病MIC分型结果,初步探讨细胞表面标志及染色体检查对白血病诊断、治疗、预后等方面的临床意义。现将结果报告如下。

作者介绍:赵 琳(1983- ),女,硕士,
研究方向:白血病的基础与临床。

通讯作者:娄世锋,男,教授,E-mail:loushifeng@hotmail.com。

维普资讯 http://www.cqvip.com



## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

本组 22 例患者,均为我院 2004～2007 年期间初诊急慢性白血病,男 12 例,女 10 例;发病年龄 3～69 岁,中位年龄 34 岁。其中急性 19 例,病程 2d～6 月,初发症状表现为贫血(头昏、乏力)8 例,发热 5 例,出血 3 例(皮肤 2 例,阴道 1 例),侵润 3 例(骨痛 1 例,腹痛 2 例);慢性 3 例,病程 2 周～9 月,2 例以头昏、乏力为初发症状,1 例无症状。22 例中,白细胞总数 $>10\times10^9$ 个/L 15 例,$>100\times10^9$ 个/L 5 例,外周血涂片发现幼稚细胞 19 例,血小板 $<100\times10^9$ 个/L 16 例,血红蛋白 <100g/L 17 例。

### 1.2 分型方法

1.2.1 形态学分型 骨髓细胞涂片,常规瑞氏和组织化学染色,按 FAB 标准进行分型。

1.2.2 免疫学分型 骨髓肝素抗凝,采用直接免疫荧光技术三色标记法,以 $CD_{45}$/SSC 双参数散点图设门识别幼稚细胞群,再分析计算该幼稚细胞群各白血病相关抗原阳性率,用 FACS Calibur 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司)和 CellQuest 软件获取并分析 10 000 个细胞,抗体组合 FITC-IgG1/ PE-IgG1/$CD_{45}$,CD10/$CD_{19}$/$CD_{45}$,$CD_{33}$/$CD_7$/$CD_{45}$,HLA- DR/$CD_{13}$/$CD_{45}$,$CD_{34}$/$CD_{117}$/$CD_{45}$,$CD_5$/sIgM/$CD_{45}$,$CD_{22}$/$CD_2$/$CD_{45}$,$CD_{14}$/$CD_{64}$/$CD_{45}$。所用 McAb 均购自美国 BD 公司。结果判定以淋系抗原阳性细胞≥30%为阳性标准,髓系抗原阳性细胞≥20%为阳性标准[2]。

1.2.3 细胞遗传学分型 染色体标本采自骨髓,部分来自外周血,肝素抗凝,常规洗涤,采用 48h 短期培养法,培养终止前 1h 加入秋水仙素。收集有丝分裂中期细胞,低渗、固定,制作染色体 G 显带,包括气干法滴片、烤干、胰酶消化、Gemsa 染色等,然后根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN,1995 年)》进行核型分析。每例分析 20～30 个中期分裂相细胞。

### 1.3 治疗方案和疗效判定

22 例患者中,接受化疗者 12 例。5 例 ALL 诱导缓解采用 VDP(长春新碱,柔红霉素,强的松)方案,1 例 B-ALL 于 $CR_1$ 后进行了异基因干细胞移植。5 例 AML 采用 DA(柔红霉素,阿糖胞苷)方案,其中,1 例 M3 加用三氧化二砷,1 例 M2a 于 $CR_2$ 后进行了同基因干细胞移植。2 例 $My^+$B-ALL 分别采用 Hyper-CVAD 方案及(VDP+阿糖胞苷+米托恩醌)方案。缓解后巩固 2～3 个疗程,再予以强化治疗。疗效参考《血液病诊断及疗效标准》判断 CR 或 NR。

## 2 结 果

### 2.1 MIC 分型

22 例初诊急慢性白血病经 MIC 体系分型,确诊 ALL 6 例,其中 T 系 ALL 2 例,B 系 ALL 4 例;AML 9 例;$My^+$ ALL 2 例,均为 B 系;AUL 2 例;CLL 3 例。

### 2.2 形态学分型

按 FAB 分型标准,22 例白血病中 ALL 5 例,其中 $L_1$ 3 例,$L_2$ 2 例;淋巴瘤 2 例,后经细胞表面标志及染色体检查分别确诊为 B-ALL 及 $My^+$B-ALL;AML 9 例,其中 $M_2$ 2 例,$M_3$ 3 例,$M_4$ 1 例,另 3 例单凭形态学不能做出诊断,结合细胞表面标志检测后,2 例定为 $M_{2a}$ 型,1 例定为 $M_{3v}$ 型;2 例 AUL 及 1 例 $My^+$B-ALL 均不能通过形态学诊断;CLL 3 例中,1 例形态学无法诊断。FAB 分型与 MIC 分型的诊断符合率为 59.1%。

### 2.3 免疫学分型

根据免疫表型特点及白血病免疫分型欧洲组(EGIL)提出的白血病免疫学积分系统(1998 年)[3],检测出 ALL 6 例,其中,T 系 -ALL 2 例,分别为早期 T 前体细胞型(ProT-ALL)、T 细胞型(T-ALL)各 1 例;B 系 -ALL 4 例,分别为普通型(C-ALL)2 例,早期 B 前体细胞型(ProB-ALL)1 例,前 B 细胞型(PreB-ALL)1 例。2 例既有 B 淋巴系抗原的表达($CD_{10}^+$,$CD_{19}^+$,$CD_{22}^+$),又有髓系抗原的表达($CD_{13}^+$,$CD_{33}^+$),B 淋巴系积分 >2,髓系积分≤2,诊断为伴有髓系抗原表达的 ProB-ALL($My^+$ ProB-ALL)。2 例骨髓涂片低分化细胞分别占 48%和 78%,结合流式细胞分析,发现 1 例无系列特异性标志的显著表达,1 例表达 B 淋巴系和髓系抗原,但积分均≤2,确诊为 AUL。免疫学分型与 MIC 分型诊断符合率为 100%。9 例 AML 不能单独凭借免疫学指标确定亚型,尚需结合骨髓细胞形态。同样,3 例 CLL 也需结合骨髓细胞形态确定诊断。

### 2.4 细胞遗传学分型

本组 22 例中作细胞遗传学分析 19 例,无中期分裂相 2 例,正常核型 6 例,异常核型 11 例,检出率 64.7%。6 例 ALL 中有 4 例改变,其中数目异常 4 例,为亚二倍体 1 例,超二倍体 1 例,合并亚二倍体及超二倍体 1 例;结构异常 1 例,为染色体缺失,-14,-18,-19。2 例 $My^+$ALL 中,1 例为结构和数目混合异常,核型为 $t(9;22)(q34;q11)$,Ph 阳性细胞约占 52%,亚二倍体改变;1 例数目异常,可见亚二倍体。2 例 AUL 中,1 例核型正常,另 1 例无核型资料。9 例 AML 中,2 例未行遗传学检查,另 7 例中 5 例核型异常,其中 3 例结构异常,包括易位和单染色体受损,1 例 $t(8;21)(q22;q21)$,-11,-18,+20,-22,2 例 $t(8;21)(q22;q22)$易位;另 2 例数目异常,合并亚二倍体及超二倍体。3 例 CLL 中正常核型 2 例,1 例未见分裂相。

### 2.5 治疗效果

维普资讯 http://www.cqvip.com



本组接受诱导缓解及巩固治疗的 12 例患者中,CR10 例,CR 率 83.3%。其中,CR 达 2 年以上 3例,1 年以上 5 例,6 个月 2 例,无 1 例复发,提示预后良好。2 例 NR 均为染色体复杂畸形,其一免疫分型为 $My^+$B-ALL,核型 $t(9;22)(q34;q11)$,$Ph^+$ 细胞约占 52%,亚二倍体改变,先后予以(VDP+阿糖胞苷+米托恩醌)及(氟达拉滨+阿糖胞苷+G-CSF)各一个疗程均未缓解;另一为 AML(M2 型),核型 $t(8;21)(q22;q22)$,-11,-18,+20,-22,经 DA、CHAG、EA 各一个疗程后未缓解。

## 3 讨 论

FAB 分型简便、易行,目前仍是白血病诊断分型的基本方法[4]。本组中,6 例 ALL 及 9 例 AML 中的 6 例可经 FAB 分型诊断并确定亚型。但是形态学分型易受主观因素的影响,且无法说明白血病细胞来源、性质及相关的生物学特征[5]。本组中 2 例 AUL 及 2 例 $My^+$ ALL 均不能通过形态学诊断。据国内外文献报道,FAB 与 MIC 诊断符合率约为 60%~80%[6],本组为 59.1%,与文献报道相近。

随着 CD 研究的深入,发现白血病细胞与正常细胞一样,可以表达某一细胞系列及某一发育阶段的抗原特征,对一个细胞而言,确定了这两种抗原的组成也就确定了它的来源及分化成熟程度。依据 CD 进行的免疫学分型具有良好的客观性和可重复性,是对形态学的补充[7]。二者结合使用可使诊断符合率提高到 90%~99%。更有学者认为,应将其作为诊断白血病的常规检查[8]。免疫学分型在鉴别淋系与髓系,T 系与 B 系之间诊断意义很大,尤其对 ALL 的亚型诊断不仅反映了白血病细胞的来源,还说明了细胞的分化发育阶段。本组免疫学分型 ALL6 例,均可做出较明确的亚型诊断。但免疫学分型在区分 AML 各亚型上有局限性。本组 6 例 AML 均未发现存在可单独作为亚型区分的免疫表型特征,AML 的诊断尚需结合骨髓细胞形态。形态学和免疫学联合诊断 AML 准确率 100%。此外,免疫学在 $My^+$ ALL 及 AUL 的诊断定型上,具有明显优势。本组 2 例 $My^+$ ALL 及 2 例 AUL 均可单独凭借免疫学指标确诊。

细胞遗传学更能反映白血病的细胞生物学特征,对白血病细胞的染色体分析发现 90%急性白血病(Acute leukemia,AL)有核型异常[9],而且某些染色体异常为特定亚型白血病的遗传标志,但染色体的改变常呈非特异性,不能独立诊断白血病,只能作为辅助的诊断[10]。但是由于白血病细胞含有特异的遗传学异常,使其对药物有着不同的敏感性和耐药性,因而白血病细胞不同的遗传学特征对预后有独立的价值。本组中 2 例 NR,共同的特征即核型异常,且为复杂畸形。据文献报道,核型异常的 AL 患者,尤其是复杂畸形者,较正常核型者治疗效果差。尤其 1 例 ALL 伴 $t(9;22)$,$Ph^+$,由于带有 bcr/abl 融合基因,使其对化疗药物易产生耐药,属于极高危,预后差[11]。

鉴于我国目前的医疗水平,严格地完成 MIC 分型对许多基层医院尚有难度,但是有针对性地选择运用细胞表面标志及染色体检查,可在有限的条件下提高白血病诊断的准确性,较全面反映白血病的细胞来源及生物学特性,使白血病预后的评估更准确、科学,这对具有针对性地选择合适的治疗方案,达到个体化的治疗要求,最大限度地延长患者持续缓解时间及生存期,具有重要意义。

## 参 考 文 献


[1] First MIC Cooperative Study Group. Morphologic,immunologic, and cytogentic(MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancer Genet Cytogenet,1986;23(3):189-197.

[2] Bene MC,Castodi G,Knapp W,et al. Proposal for the immunological classification of acute leukemias[J]. Leukemia,1995;9(10):1783-1786.

[3] EGIL. The reliability and specificity of C-Kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias[J]. Blood, 1998;92(2):596-599.

[4] Sachdeva MU,Ahluwalia J,Das R,et al. Role of FAB classification of acute leukemias in era of immunophenotyping[J]. Indian J Pathol Microbiol,2006;49(4):524-527.

[5] Browman GP,Neame PB,Soamboonsvup P,et al. The contribution of cytochemistry and immunophenotyping to the reproducibility of the FAB classification in acute leukemia[J]. Blood,1986;68(4): 900-905.

[6] Drexler HG. Routine immunophenotyping of acute leukemias[J]. Blut,1988;57(6):327.

[7] O'Donnell MR,Appelbaum FR,Baer MR,et al. Acute myeloid leukemia clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw,2006;4(1):16-36.

[8] Qadir M,Barcos M,Stewart CC,et al. Routine immunophenotyping in acute leukemia:Role in lineage assignment and reassignment [J]. Cytometry B Clin Cytom,2006;70(5):329-334.

[9] Yunis JJ. The chromosomal basis of manneoplasia[J]. Science, 1983;221(4607):227-236.

[10] 潘 涌,薛永权.染色体涂染技术在恶性血液病研究中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志,1997;14(6):203-206.

[11] Woerden NR,Hoelzer D,Hoelzer D,et al. In vitro drug resistance profile of Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia is heterogeneous and related to age:a report of the Dutch and German Leukemia Study Groups[J]. Med Pediatr Oncol,2002;38(6):379-386.


(责任编辑:关蕴良)