维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)01-0069-03

儿童急性白血病DNA含量测定及临床意义

戴碧涛，李 欣，徐西华，刘友学

（重庆医科大学儿科学院血液科 重庆 400014）

【摘 要】目的：探讨小儿急性白血病（AL）患者骨髓细胞周期分布与分型和治疗的关系。方法：应用流式细胞仪(FCM)测定65例小儿AL骨髓单个核细胞DNA含量和细胞周期。结果：不同类型的AL异倍体发生率不同，B-ALL异倍体率最高，AML次之，T-ALL最低，有显著差异（$P<0.05$）。AML与ALL比较,异倍体细胞周期无差异，AL与对照比较G_0/G_1期高，但将AL中的异倍体细胞（$2n^+$细胞）周期、不伴异倍体标本中的二倍体细胞（2n细胞^n）周期与对照比较G_0/G_1期无差异($P>0.05$)，伴有异倍体标本中的二倍体细胞周期（2n细胞$^=$）与对照比较G_0/G_1期高。AL骨髓单个核细胞因异倍体的出现与否其细胞周期G_0/G_1期比例有所不同是以往文献未予报道的。对患者治疗的观察发现，S期细胞含量高者对化疗药物敏感，不易耐受常规剂量的化疗。结论：FCM对AL，尤其是ALL异倍体的分析有利于判断高危ALL，对细胞周期的测定给化疗个体化提供了具体的参考指标。

【关键词】白血病；细胞周期；治疗

【中国图书分类法分类号】R733.71 【文献标识码】A 【收稿日期】2000-03-29

Clinical Implication of DNA content assay in childhood acute leukemia

DAI Bi-tao, et al

(Department of Hematology, College of Pediatrics, Chongqing Medical University, 400014)

【Abstract】 *Objective*: To investigate the distribution of marrow cell circle, DNA-aneuploid and their relationship with the types of leukemia and therapeutic effects in childhood acute leukemia (AL). *Methods*: Mononuclear cellular DNA contents in bone marrow were assessed by flow cytometry (FCM) in 65 patients with childhood AL. *Results*: The proportion of patients with DNA-aneuploid was different in the various types of AL: DNA-aneuploid in the patients with B-ALL was the highest, in the patients with AML was the second and in the patients with T-ALL was the lowest ($P<0.05$).There was no significant difference of the distribution of DNA-aneuploid cell circle between the patients with ALL and the patients with AML ($P>0.05$). Sixty-five patients with AL had a higher G0/G1-phase compartment than normal controls. However, the cell circle distribution of the DNA-aneuploid and DNA-diploid without DNA-aneuploid cell in the patients with AL had no significant differences compared with those in the normal controls ($P>0.05$). The patients with DNA -diploid cell with DNA-aneuploid had a higher G_0/G_1-phase compartment than normal controls. It was showed that the patients with high S-phase were more sensitive to chemotherapy than the patients with low S-phase. *Conclusion*: The analysis of marrow mononuclear cellular DNA content and cell circle distribution by FCM in patients with AL can be helpful in distinguishing the high risk ALL from the standard risk ALL and provide the crucial reference data for the treatment.

【Key words】 Leukemia; Cell cycle; Drug chemotherapy

急性白血病DNA倍体和细胞增殖周期特性研究已有不少文献报道，但结果仍然存在争议。我们应用FCM对儿童AL患者骨髓单个核细胞进行DNA测定和分析，将DNA异倍体、2倍体细胞周期各时相分别统计分析，对其生物学意义和与临床的关系进行探讨。

作者介绍：戴碧涛（1956- ），女，副主任医师

1 对象和方法

1.1 对象

65例AL为1998年1月～1999年7月期间我院住院初诊为AL的病人。其中ALL35例，年龄2～12岁，免疫分型为B淋巴细胞白血病（B-ALL）27例，T淋巴细胞白血病（T-ALL）8例，AML30例，年龄1～4岁，对照组16例，为同期住院骨髓正常的非白血病病人，年龄6月～13岁。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.2 仪器和方法

DNA测定方法 抽取骨髓标本抗凝处理，用淋巴细胞分离液从标本中获取单个核细胞，碘化丙啶染色0.5h，用BD公司FACS Calibur 流式细胞仪对标本进行测定，用与病人同性别的正常人外周血单个核细胞作为标准二倍体细胞。结果采用BD公司提供的DNA周期分析程序进行分析。本仪器DI（DNA index）正常范围是0.90～1.10，小于0.90为亚二倍体，大于1.10为超二倍体。

1.3 统计学处理

用 x^2 检验，SAS6.12软件统计分析，普通线型分析程序对数据进行分析，组间比较用Bonferroni校正。

2 结 果

2.1 DNA异倍体检出情况

35例ALL检出DNA-异倍体21例，异倍体率60%，其中27例B-ALL检出异倍体20例，异倍体率74.07%，8例T-ALL检出异倍体1例（1/8），异倍体率12.50%，两个不同免疫类型ALL出现异倍体的阳性率有显著差异（$P<0.05$），检出的5例亚二倍体均为B-ALL患者。30例AML检出异倍体10例（其中亚二倍体3例），异倍体率33.33%，与ALL组比较有显著性差异（$P<0.05$）。对照组16例，无异倍体检出，与AML、ALL比较有显著性差异（$P<0.05$）。见表1。

表1 AL异倍体发生率

组别	例数	检出异倍体(例数)	异倍体发生率(%)
ALL	35	21	60.00
B-ALL	27	20	74.07
T-ALL	8	1	12.50
AML	30	10	33.33
对照	16	0	0

2.2 细胞周期分布情况

一份标本中可同时存在正常倍体细胞和异倍体细胞。两种细胞均有各自的细胞周期，故将正常倍体细胞和异倍体细胞周期分别进行比较，结果如下：AL中只有正常倍体细胞（2n细胞^0）者34例，同时伴有异倍体细胞的正常倍体细胞（2n细胞$^{\pm}$）28例，异倍体细胞（2 n$^{\pm}$细胞）者31例，（有3例检出全是异倍体细胞）。

2.2.1 伴有异倍体和不伴异倍体的病例中的正常倍体细胞周期分布（表2）与比较。

对照与2n细胞^{0}比较细胞周期各时相无显著性差异（$P>0.05$）。对照与2n细胞$^{\pm}$比较细胞周期各时相有显著性差异（$P<0.01$），既2n细胞$^{\pm}$的G_0/G_1%高于对照，而G_2/M%、S%、S+G_2/M%低于对照。2n细胞^{0}与细胞周期各时相有显著性差异($P<0.01$)，2n细胞$^{\pm}$的G_0/G_1%高于2n细胞^0，G_2/M%、S%、S+G_2/M%低于2n细胞^0。

2.2.2 异倍体细胞周期、正常倍体细胞周期分布(表

表2 伴有异倍体、不伴异倍体的病例中正常倍体细胞周期分布（%）

	例数	G_0/G_1	G_2/M	S	S+ G_2/M
2n细胞^0	34	94.18±3.78	1.44±1.33	4.15±3.00	5.82±3.78
2n细胞$^{\pm}$	28	98.77±9.74	0.34±2.57	0.00±2.53	1.053.24
对照	16	90.48±8.26	1.69±2.13	7.49±8.24	9.53±8.69

表3 异倍体细胞、正常倍体细胞周期分布(%)

	例数	G_0/G_1	G_2/M	S	S+ G_2/M
2n±细胞	31	93.60±20	1.2±2.79	5.66±12.34	7.46±13.08
2n细胞$^{\pm}$	28	98.77±9.74	0.34±2.57	0.00±2.53	1.05±3.24
2n细胞^0	34	94.18±3.78	1.44±1.13	4.15±3.00	5.82±3.78
对照	16	90.48±8.26	1.69±2.13	7.49±8.24	9.53±8.686

表4 不同类型白血病异倍体细胞周期分布（%）

	例数	G_0/G_1	S	G_2/M	S+G_2/M
ALL	21	93.34±6.642	3.70±2.775	3.14±5.636	6.632±6.617
AML	10	93.01±5.125	5.681±4.557	1.371±1.173	7.052±5.082
ALL+AML	65	93.18±5.954	4.619±3.805	2.324±4.277	6.819±5.909

维普资讯 http://www.cqvip.com

3)和比较。

对照与$2n^{\pm}$细胞周期各时相比较无显著性差异（$P>0.05$）。2n细胞^{0}与$2n^{\pm}$细胞周期各时相比较无显著性差异（$P>0.05$）。2n细胞$^{\pm}$与$2n^{\pm}$细胞周期各时相比较有显著性差异（$P<0.05$），既伴有异倍体的2倍体细胞周期的G_0/G_1%比异倍体细胞周期的G_0/G_1%高，G_2/M%、S%、S+G_2/M%均较异倍体细胞低。

2.2.3 ALL与AML两组之间各组异倍体细胞周期各时相比较无显著性差异（$P>0.05$）(表4)。

3 讨 论

3.1 DNA非整倍体是肿瘤的特异性标志已为大家公认，DNA倍体改变在白血病中很常见，国内外均有报道小儿ALL的异倍体检出率为50%[1,2]。本试验65例AL，异倍体检出率47.69%，与文献报道相符。其中B-ALL异倍体检出率74.07%且亚二倍体五例集中出现于B-ALL中，而T-ALL的异倍体检出率仅12.50%，明显低于B-ALL。所阅文献未见对ALL免疫分型后异倍体的发生率进行统计。从诊断ALL高危因素来看，B-ALL、亚二倍体均作为高危因素，由此可见B-ALL预后不好与异倍体的出现特别是亚二倍体有关。文献中也有类似有报道[2]。随访6例有异倍体的病人，经治疗完全缓解后异倍体消失，也提示异倍体与疗效有关。

3.2 本试验检出异倍体率较高（47.69%），同一标本中存在异倍体细胞和正常倍体细胞时，就有各自的细胞周期时相，若将其笼统计算将不能反映出作为肿瘤标志的DNA非整倍体的细胞周期特点，而将同一个体中的异倍体细胞周期和正常倍体细胞周期分开来进行比较更能反应肿瘤细胞增殖特性，由此得出的结果与其它文献结果不同。文献报道中与对照比较白血病G_0/G_1期高，S+G_2/M期低[3~6]，提示细胞周期阻滞于G_0/G_1期。本试验结果显示在检出有异倍体标本中的正常倍体细胞周期的G_0/G_1期比对照高，S+G_2/M期比对照低，与文献报道相同，而其中的异倍体细胞周期、无异倍体标本中的正常倍体细胞周期均与对照无差异，这是其它文献未予报道的。有异倍体出现的标本中正常倍体细胞G_0/G_1期高，G_2M+S期不高，其原因可能是因为其中的异倍体细胞S+G_2/M期高（说明增殖活力高），阻碍了正常倍体细胞的增殖。这在没有异倍体出现的标本中正常倍体细胞的S+G_2/M期与异倍体细胞的S+G_2/M期无差异就是证明。S+G_2/M期的高低除与细胞增殖快慢有关系外，在治疗中，可预测病人对药物的敏感性。在白血病的治疗中，我们观察了6例病人无论有无异倍体出现，S+G_2/M期高（>10%）的病人对化疗药物更敏感，与S+G_2/M期不高的病人比较用常规剂量化疗极易出现外周血白细胞下降和骨髓抑制。文献有类似报道[7]。而S+G_2/M期不高（<5%）的病人常常能够耐受常规剂量化疗，诱导缓解过程中不用升白细胞药物常能顺利完成化疗。（因例数少未做统计分析）。通过以上结果分析和讨论笔者认为在ALL病人中有无异倍体出现与预后有关，而细胞周期情况则对化疗的个体化提供了参考。将异倍体细胞、正常倍体细胞周期区别分析对AL的治疗指导和预后的关系我们将进一步观察随访。

参 考 文 献

[1] Pui CH, Crist WM,Look AT, et al. Biology and clinial significance of cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia[J].Blood, 1990; 76:1449-1463.

[2] 宋 华，郭淑芬，徐淑芝，等. 用流式细胞仪测定小儿急性白血病细胞DNA及其临床意义研究[J]. 中华血液学杂志，1994;15:137-138.

[3] Hirt A, Werren EM,Luethy AR, et al. Cell cycle analysis in lymphoid neoplasia of childhood: differences among immunolgic subtypes and similarities in the proliferation of normal and leukaemic precursor B cell[J]. Br Haematol, 1992;80: 189-193.

[4] Dosik GM, Barlogi B, Smith TL, et al. Pretreatment flow cytometry of DNA content in adult acute leukemia[J].Blood, 1980;55:474-482.

[5] Raza A, Yogesh M, Preisler HD. Differences in cell cycle characteristics among patients with acute nonlymphocytic leukemia [J].Blood,1987;69:1647-1653.

[6] 季 红，江月增，周 琦，等. 人白血病细胞周期分布的流式细胞术分析[J]. 中华血液学杂志，1990;11:4-6.

[7] Preisler HD, Raze A. Cell cycle studies in acute myelogenous leukemia [J].Leukemia, 1992;6:751-753.