维普资讯 http://www.cqvip.com

196~199

急性白血病形态学和免疫表型的研究

检验系 冯文莉
法国艾·埃里欧医院 奥·让迪尔 让·拉洛

让迪，奥 R733.71

提 要 本文报告作者通过形态学与免疫表型检查，对350例急性白血病(AL)患者进行诊断与分型的结果。本组病例分为急性淋巴细胞性白血病(ALL)201例，包括五个亚型：无标志型(Null－)、普通型(common－)、前B型(Pre－B)、B型和T型；急性髓细胞性白血病(AML)110例；混合性急性白血病(HLA)6例及分类困难的25例。后者经电镜髓过氧化物酶(MPO)和基因型检查，使本组全部病例均作出分型。

关键词 白血病；免疫表型；单克隆抗体 急性
中图分类号 R392；733.7

近年来，由于大量单克隆抗体(McA_b)的商品化和流式细胞仪的临床应用，使急性白血病(AL)的免疫表型研究深入发展。免疫表型检查能准确地辨析白血病细胞的起源、分化阶段及克隆特点，并指导临床选择化疗方案，判断预后[1]，弥补了FAB分类的不足，如结合电镜MPO、细胞及分子遗传学等检查，使白血病的诊断和分型更趋于完善。目前国外已将免疫表型分析常规用于每一例白血病的诊断、分型及治疗后和复发时的追踪观察。

材料与方法

1. 病例概况及来源 来自法国艾·埃里欧医院、比·迪奥医院、乔·德布鲁儿童医院及部分临床诊所的就诊病人。成人206例(15～75岁)，儿童141例(4月～14岁)；男性187例，女性163例；初诊343例，复发7例。

2. 形态学检查 肝素抗凝骨髓3～5毫升，涂片经自动染片机MGG染色，镜下FAB分类。全部病例作骨髓过氧化物酶(MPO)染色、糖原染色(PAS)，非特异性酯酶(NAE)及氧化钠抑制试验。部分病例作骨髓活检、电镜MPO、染色体核型和基因型检查。被检标本中原始＋幼稚细胞≥70%。

3. 免疫学检查 分离单个核细胞，制成细胞悬

表1 实验中选用的单抗及归类

	主要细胞系列	特异性免疫标记								
1	－	HLA－DR		CD_{34}	CD_{38}					
2	T淋巴细胞	CD_1	CD_2	CD_3	CD_4	CD_5	CD_7	CD_8		
3	B淋巴细胞	CD_9	CD_{10}	CD_{11}	CD_{20}	CD_{21}	CD_{22}	CD_{24}	Smlg	Cylg
4	髓细胞	CD_{13}	CD_{14}	CD_{15}	CD_{33}	CD_{w41}				

注：CD：Cluster of Differenciation Smlg：细胞膜表面免疫球蛋白 Cylg：胞浆免疫球蛋白

维普资讯 http://www.cqvip.com

液及细胞离心(Cytospin)涂片。根据形态学初步诊断及分离单个核细胞的多少选择检查方法及单抗种类。实验中选择的单抗归类如下(表1)。

All:选1、2、3;CD_{13}、CD_{33}、SmIg的K和λ轻链、CyIgM。如是L_3则加测SmIgM、CyIgG、CyIgk和λ。

AML:选1、4、,必要时加MPO单抗;CD_1、CD_7、CD_9、CD_{10}、CD_{19}、CD_{20}。AML_3型未列入常规免疫表型检查。

急性未分化白血病(AUL):同ALL,加测CD_{14}、CD_{15}、CDw_{41},如K和λ阳性则加SmIgM、CyIgM。

间接免疫荧光法测细胞膜表面抗原　实验选用的单抗T_9(CD_1)、T_{11}(CD_2)、T_4(CD_4)、T_{101}(CD_5)、Leu9(CD_7)、Leu14(CD_{22})、$leuM_1$(CD_{15})、HPCA(CD_{34})、T_5(CD_3)、T_8(CD_8)、BA_2(CD_9)、BA_1(CD_{24})、BL_1(HLA－DR)、CD_{38}、B_1(CD_{10})、B_2(CD_{21})、B_4(CD_{19})、J_5(CD_{10})、J_{15}(CDw_{41})、MPO、MY_7(CD_{13})、MY_4(CD_{14})、MY_9(CD_{33})分别来自Becton Dickinson、MASON、IMMUNO、COULTER和DAKO公司,其特异性见文献[2,3]。GAMIg－FITC来自Coulter公司。

直接免疫荧光法测细胞膜和胞浆免疫球旦白重链和轻链(SmIg、CyIg):FITC马抗人Ig重链及轻链抗体来自Kallestad公司。

用流式细胞仪(FACScan Becton Dickinson)或荧光显微镜测定,荧光阳性细胞≥35%为定型标准。

部分病例在48小时后的Cytospin涂片上作免疫酶APAAP法:DAKO APAAP KIT Sytsem(U·S·A)。

4. 统计学方法采用u检验和x^2检验。

结　果

350例AL经形态学、免疫表型检查分为ALL201例,其中非T—ALL152例和T—ALL44例(表2),AML110例(表3),HAL6例,分类困难的25例(表4)。非T—ALL组按Van Dongen[4]标准分成无标志型(Null)16例,普通型(common)121例,前B型(Pre—B)16例,B型4例。1例急性浆细胞性白血病免病表型为:CD_{38}^+,$CyIgG^-$,$CyIg\lambda^-$。7例复发病例(ALL4例,AML3例)的免疫标记均有异常获得或部分、全部丢失。(与初诊时比较。)

表2　201例ALL免疫学各亚型的主要标记表达结果

免疫学亚型	例数	HLA－DR	CD_{34}	CD_1	CD_2	CD_3	CD_4	CD_5	CD_7	CD_8	CD_9	CD_{10}
Null	16	16(1)/16(2)	11/16	—	—	—	—	—	—	—	12/16	—
Common	121	121/121	88/110	—	4/110	—	—	4/110	8/109	—	80/87	121/121
Pre－B	16	15/16	9/16	—	—	—	—	—	—	—	11/14	14/16
B	4	4/4	—	—	—	—	—	—	—	—	4/4	3/4
T	44	4/43	16/43	17/44	35/44	25/43	23/43	41/44	44/44	25/43	5/33	5/38

							SmIg			CyIg		
CD_{13}	CD_{20}	CD_{21}	CD_{22}	CD_{34}	CD_{15}	CD_{33}	IgM	k	λ	IgM	k	λ
16/16	—	—	11/16	14/16	1/16	1/16	—	—	—	—	—	—
99/121	39/77	15/82	84/119	90/97	3/112	2/110	—	—	—	—	—	—
15/16	5/15	—	10/16	13/14	—	—	—	—	—	16/16	—	—
4/4	3/4	—	2/4	4/4	—	—	3/4	4/4	—	3/4	—	—
—	—	6/31	—	2/23	—	—	—	—	—	—	—	—

(1)阳性例数　　(2)被检例数　　—为阴性　　N未测

表3　110例AML的主要免疫标记表达结果

形态学	例数	HLA－DR	CD_{34}	CD_1	CD_3	CD_7	CD_8	CD_{10}	CD_{19}	CD_{22}	CD_{14}	CD_{13}	CD_{33}	CD_{15}	CD_{w41}	MPO
M_1	29	20/29	13/19	4/29	—	4/29	15/29	1/29	3/29	—	1/29	9/29	12/29	15/29	—	6/7
M_2	29	21/29	15/29	2/29	—	2/29	10/29	1/29	—	—	2/29	17/29	16/29	15/29	—	4/5
M_1/M_2	11	6/11	2/11	2/11	—	7/11	—	—	—	—	1/11	5/11	9/11	6/11	—	2/3
M_4	14	13/14	5/14	2/14	—	2/14	3/14	1/14	3/14	—	10/14	10/10	11/14	10/14	—	3/3
M_3	24	23/24	12/24	2/24	—	—	14/24	1/24	—	—	13/24	15/24	19/24	15/24	—	1/1
N_4	2	2/2	1/2	—	—	—	1/1	—	1/1	N	1/2	1/2	2/2	1/2	1/2	N
M_7	1	1	1	—	—	—	1	—	N	N	—	—	1	—	1	1

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 4　25 例形态学分类困难病例的主要免疫标志表达

组别	例数	年龄组	HLA－DR	CD_{34}	CD_7	CD_3	CD_{13}	CD_{14}	CD_{15}	CD_{33}	CD_{41}	MPO
(1)	6	成人	4/6	2/6	—	3/6	3/6	1/6	3/6	4/6	—	2/2
(2)	5	成人	2/5	3/5	2/5	5/5	—	—	—	—	—	弱阳性
(3)	3	一例儿童	1/3	3/3	3/3	—	—	—	—	—	—	—
(4)	5	成人	5/5	5/5	—	—	—	—	—	—	—	—
(5)	4	成人	4/4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
(6)	2	成人	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 5　201 例 ALL 的免疫学亚型与年龄、性别的关系

	Null			Common			Pre-B			B			T			各型总数
	男	女	合计	男	女	合计	男	女	合计	男	女	合计	男	女	合计	
儿童例数	4	3	7	40	38	78	5	7	12	1	0	1	21	5*	26	124
占儿童ALL的%			5			61			9			0.8			20	62%
成人例数	4	5	9	22	21	43	2	2	4	1	2	3	14	4	18	77
占成人ALL的%			12			55			5			4			23	38%
男女例数	8	8	16	62	59	121	7	9	16	2	2	4	35	9	44	201
各亚型占ALL的%			7.8			59			7.8			2			21	
男女比例	1∶1			1.1∶1			0.78∶1			1∶1			3.9∶1			

* $P<0.05$

讨　论

201 例 ALL 中儿童占 62%，非 T—ALL 占 76%，其中以 common 居多，占 59%，T—ALL 占 21%，此型在儿童和成人均以男性居多，为女性的四倍，尤以儿童为显著。其余各亚型在性别上差异不大。

非 T—ALL 组中，HLA—DR 最敏感（仅一例阴性），但并不特异，也可见于 AML 和某些成人 T—ALL 中（本组有 4 例 T—ALL 表达 HLA—DR，均为成人）。B 淋巴细胞标记抗原表达频率依次为 CD_{19}、CD_{24}、CD_9、CD_{22}、CD_{10}，尤其是早期 B 系定向抗原 CD_{19}，几乎和 HLA—DR 同样敏感，且十分特异。Pre—B 型中两例 CD_{10} 阴性，临床观察这两例 CD_{10}^-/CD_{19}^+ 患者均为儿童，有较高的白细胞数，复发率较高。common 型中有 CD_2、CD_5、CD_7 的表达。四例 B 型均表达 SmIg 轻链，为 K 单克隆型。3 例 L_3 均表达 CD_{10}，与 Ludwing[5] 报告相似。T—ALL 组中第 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 阶段[6] 各为 41.8%、38.6% 和 18.8%。由于 T—ALL 各亚型的标志有很大的异质性，故国外报道各型的比例亦各占不一。本组 CD_7、CD_5、CD_2 的表达分别为 100%、93%、80%，故可认为 CD_7 是检测 T—ALL 最敏感的指标，但由于它与 AML 有部分交叉反应，故需结合 CD_5 诊断。部分病例还表达 CD_{10}、CD_9、CD_{21}、CD_{24} 等 B 系标志，其中 CD_{10} 阳性的 5 例均是儿童，需进一步研究这些标志出现的意义。ALL 组中除 L$_3$ 与 B—ALL 有一定相关外，其余各型与形态学分类无明显相关。

AML 组中成人占 90%，由于缺乏 M_1～M_6 的特异性 McAb 膜标志，故免疫表型主要区分 AML 与 ALL。本组全髓性抗原 CD_{13}、CD_{15}、CD_{33} 阳性率低于 Missner 报告[7]，推测其在膜表面表达弱且不稳定有关，需作胞浆抗原检测。CD_{14} 在 M_4、M_5 型中表达较高。MPO 是粒、单系细胞特异性酶类，本组 MPO 单抗阳性率较高，因而准确地鉴别了 ALL 和 AML，特别是有些细胞化学

维普资讯 http://www.cqvip.com

MPO 阴性的病例。一例形态学疑诊 M_7 免疫标记结果，特别是 CD_{w41}^+ 支持该诊断。

混合性急性白血病(HAL)近年研究较多，分系内和系间两种，前者的原始细胞表达 T、B 细胞抗原，后者的原始细胞表达淋粒两系抗原。本组 6 例 HAL 中，3 例 B/髓，1 例 T/髓，1 例 T/B，1 例 T、B 髓。其中 1 例有 ph_1 染色体，另一例有 t(4,11)核型，经临床观察，HAL 的治疗效果较差。如只表达一个粒系或淋系抗原则称为粒系抗原阳性 ALL (M_7^-—ALL)或淋巴细胞抗原阳性 AML (L_7^-—AML)。本组 My^+—ALL7 例，均为非 T—ALL，仅在 common 型和 Null 型中，成人 5 例，儿童的表达不如 Kurec[8]高，在 ALL 中髓性相关抗原的出现有重要的预后意义[9]。而 Ly^+—ALL 例数较多，CD_2(11%)，CD_7(14%)，CD_9(44%)，CD_{10}(4%)，CD_{19}(16%)，CD_{20}(1 例)，CD_{24}(2 例)，除 CD_7，CD_9，CD_{10}，CD_{24} 可与 AML 有交叉反应外，CD_2，CD_{19}，CD_{20} 出现的原因不清，可能为恶性细胞内部分化程序的紊乱。经研究发现，12 例 CD_2^+ 和 7 例 CD_{19}^- 者与 CD_{34}^- 有相关性，其中两侧各有 Ig 重链和 T 细胞受体 β 链(TCRβ)伴 Ig 重链基因重排。同时发现 CD_2 或 CD_{19} 阳性病例的缓解率比阴性高，故目前正在观察这些病人的原始细胞有淋巴细胞相关抗原表达而无 ALL 的其他特征的预后。

根据主要的免疫标记表达，把 25 例形态学分类困难的病例分为六组(表 4)，(1)组表达髓系抗原或/和 MPO 单抗一项以上；(2)组电镜 MPO 阳性，两组均可诊为低分化 AML。(3)组中仅一例电镜 MPO 阳性，为髓细胞起源；(4)(5)(6)组分别是 HLA—DR^-，CD_{34}^+；HLA—DR^-；无任何表面标志表达。免疫学诊为 AUL 的这 13 例经基因型检查，5 例出现 IgH 基因重排，可能是 B 细胞起源，2 例 TCRδ 基因重排，1 例 TCRγ 伴 TCRδ 基因重排，也为淋巴细胞起源。其余 5 例无 Ig 和 TCR 基因重排，是真正的 AUL。

免疫表型检查对 ALL、AML 和 HAL 的诊断，低分化 AML 与 ALL 的鉴别诊断，直接影响治疗的选择和预后，故应成为 AL 诊断的常规手段。但它不能取代形态学检查，而且尚不能确定少数未成熟白血病细胞的起源，至今未发现白血病特异表面抗原，因而无法特异识别恶性细胞。需结合电镜、细胞及分子遗传学方法，更客观地反映白血病细胞的生物学特征[10]，这是当今 AL 诊断的最新趋势。

参 考 文 献

1 Drexler H. G, et al. Blut 1988;57:327

2 Knapp W, et al. Blood 1989;74:1448—1450

3 Imbert M. Revue francaise des laboratoire 1991; 1 No 218

4 Van dongen J. J. M et al Netherlands J of Med 1988;33:298—314

5 Luding W. D, et al. Blut 1990;60:48—50

6 Foon K. A, et al. Blood 1986;68:1—31

7 Missner H. A, et al. Clin Haematol 1986;15:641—647

8 Kurec A. S, et al. Cancer 1991;67(12):3081—3086

9 Hurwitz C. A, et al. Hematol Oncol Clin North Am. 1990;4(4)676—794

10 Catovsky D, et al. Ann Hematol 1991;62:16

(收稿日期 1993—11—17)

下转 195 页