DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.041
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
840 2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0840-03

白血病患者骨髓细胞双微体表达的细胞遗传学研究

蒲淑萍[1],张翼军[2],夏顺中[2],徐酉华[3],戴碧涛[3],段昌柱[1] ([1]重庆医科大学基础医学部生物学教研室,重庆市 400016;[2]第三军医大学附属西南医院血液科,重庆 400038;[3]重庆医科大学儿童医院血液科,重庆 400014)

提 要:目的 探讨白血病患者骨髓细胞中双微体(DM)的表达及与该病预后的相互关系。方法 对320例白血病患者采用短期细胞培养法制作骨髓细胞染色体标本并观察DM表达。结果 ①在320例患者中有28例见DM表达,占8.8%。每个细胞DM数目1~70对不等,平均5.6对。DM多出现在有染色体结构和数目畸变的细胞中,包括易位、断裂、缺失、双着丝粒染色体、染色体环、染色体粉碎化、内复制、多倍体、亚二倍体等。②28例DM阳性患者中位生存期(MS)为7.0个月,73例DM阴性患者MS为31.4个月,二者有显著性差异($P<0.01$)。结论 DM出现与白血病急变、转化、预后密切相关。本研究结果表明DM表达可作为监测白血病发展、预后的一项独立指标。

关键词:双微体;白血病;骨髓细胞;预后
中图法分类号:R394.2;R733.702 文献标识码:A

Expression of double minutes in cases with leukemia

PU Shu-ping, ZHANG Yi-jun, XIA Shun-zhong, XU You-hua, DAI Bi-tao, DUAN Chang-zhu (Department of Biology, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China)

Abstract Objective To explore the relationship between the expression of double minutes (DM) in cases with leukemia and the prognosis of this disease. Methods DM was observed in bone marrow cells after short-term culture which were derived from 320 patients with verified leukemia by biopsy. Results ① The expression rates of DM were found in 8.8% (28/320) patients. Mostly, DM were observed in cell that there are many chromosome aberrations, including translocation, breakage, dicentric chromosome, ring chromosome, endoreduplication, hypodiploid, polyploid, and so on. ②During the follow-up, the median survival (MS) in 28 cases with positive DM (7.0 months) were lower than in 73 cases with DM negative (31.4 months) ($P<0.01$). Conclusion The findings suggest that DM expression can be used as an independent prognostic marker for patients with leukemia.

Key words double minutes; leukemia; bone marrow cell; prognosis

分子细胞遗传学研究表明,癌细胞的特异性染色体畸变-双微体(Double minutes, DM)是癌基因扩增的细胞遗传学表现。在中期染色体分裂象中,DM是一种无着丝粒的、成对分布的微小染色体结构,为直径小于染色单体宽度、染色情况与所在分裂相染色体相似或稍淡染的圆形颗粒[9]。自1982年Cowell首次报道在神经母细胞瘤患者骨髓细胞中找到DM,并证实是由N-myc基因扩增表达的结果之后,DM表达的研究和应用受到广泛的重视。国内对DM的研究多限于外周血[1,3,4]及肿瘤组织[2],骨髓细胞的DM表达分析尚未见报道。我们对320例白血病患者进行骨髓细胞的染色体分析时,发现28例具DM表达,而且他们的中位生存期(MS)与DM阴性患者比较有显著性差异($P<0.01$)。现报告如下。

1 资料和方法

1.1 临床资料

1988年1月至2001年2月收集白血病患者320例,男206例,女114例,年龄1.5~73岁。其中急性淋巴细胞白血病(ALL)65例,包括L_1 37例,L_2 24例,L_3 4例;急性非淋巴细胞白血病(ANLL)39例,包括M_1 3例,M_2 19例,M_3 13例,M_5 2例,M_6 2例;慢性淋巴细胞白血病(CLL)5例;慢性粒细胞白血病(CML)198例;骨髓增生异常综合征(MDS)11例;类白血病2例。所有病例均经血象、骨髓象及组织化学检查确诊,均为初诊未经化疗者。20例对照标本取自正常人群。

1.2 细胞遗传学分析

抽取患者骨髓0.3~1 ml,加入到4 ml PRMI-1640培养基(含10%小牛血清)中,37 ℃培养24 h,培养终止前1 h加秋水仙素至终浓度5 mg/L,常规制片,Giemsa染色,镜检。每个标本计数40~100个分裂像,DM判断标准按文献描述进行。

1.3 统计学处理

采用χ^2检验。

2 结果

2.1 DM表达情况

正常对照组均无DM表达,320例白血病患者中,28例(19男9女)有DM表达,见图1,2,表达率8.8%。28例DM阳性标本中,DM阳性细胞总数36个,DM总数202对,每个细胞中DM数1~70对不等,平均5.6对。DM很少在正常核型细胞中表达(36个DM阳性细胞中仅2个,占5.6%),DM表达多伴随染色体结构和数目畸变,包括染色体易位、断裂、缺失、双着丝粒染色体、染

作者简介:蒲淑萍(1962-),女,重庆市江津人,硕士研究生,讲师,主要从事肿瘤染色体、老年性疾病线粒体DNA方面的研究。电话:(023)68706519

收稿日期:2001-06-01;修回日期:2002-01-06

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

色体环、染色体粉碎化、内复制、多倍体、亚二倍体等。320 例白血病患者 FAB 标准诊断分型及 DM 表达分布情况见表 1。

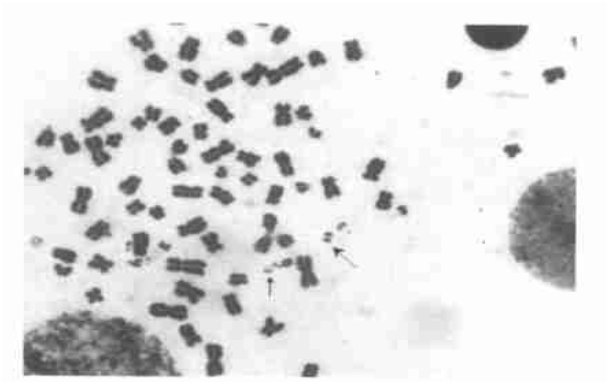


图 1　白血病患者骨髓细胞中 **DM** 表达　　标本 NO. 299: 含 4 对 DM(空心箭头所示), 伴染色体断片 5 对(实心箭头所示), 染色体缺失(Gq^-, 三角符号示)及多倍体异常

Fig 1　DM in the bone marrow cells from the No. 299 leukemic patient　Hollow arrow: 4 pairs of DM; Solid arrow: 5 pairs of chromosome fragments; Triangle: chromosome deletion in a hypodiploid cell



图 2　白血病患者骨髓细胞中 **DM** 表达　　标本 NO. 302: 含 3 对 DM(空心箭头所示), 伴染色体断片 4 对(实心箭头所示), 双着体丝粒染色体 2 条(三角符号示)及多倍体异常

Fig 2　DM in the bone marrow cells from the No. 302 leukemic patient　Hollow arrow: 3 pairs of DM; Solid arrow: 4 pairs of chromosome fragments; Triangle: 2 dicentric chromosomes in a hypodiploid cell

表 1　320 例白血病患者 **FAB** 分型及 **DM** 表达分布

Tab 1　Distribution of 320 cases of leukemia among FAB types and DM expression

FAB Types	ALL			ANLL					CLL	CML	MDS	Leukemoid
	L_1	L_2	L_3	M_1	M_2	M_3	M_5	M_6				
n	37	24	4	3	19	13	2	2	5	198	11	2
DM expression	5	2	0	0	4	1	0	0	0	15	1	0

2.2　中位生存期(MS)比较

28 例 DM 阳性患者及我们随访到的 73 例 DM 阴性患者中位生存期(MS)比较见表 2, 二者 MS 分别为 7.0 个月、31.4 个月, 差异有显著性($P<0.01$)。病人生存期由确诊之日到死亡或急变治疗无效出院时止, 存活的病例随访到 2001 年 10 月, 至少随访 8 个月。

表 2　**DM** 表达阳性及阴性白血病患者中位生存期(**MS**)比较

Tab 2　Comparison of medial survival (MS) between leukemic cases with DM positive and negative

FAB types	DM positive		DM negative	
	n	MS(month)	*n*	MS(month)
ALL	7	7.6	18	14.0
ANLL	5	6.8	11	12.5
CML	15	8.9	39	47.2
MDS	1	4.5	5	＞51.8
Total	28	7.0	73	31.4

3　讨论

近年肿瘤分子生物学的研究表明, 细胞癌基因在某些不同类型的恶性肿瘤中的扩增与过高表达是正常细胞癌变的重要机制之一, 并与肿瘤的转移、预后相关[9,10]。细胞癌基因扩增在细胞学上表现为 DM 的表达, 其数目变化很大。我们的研究也证实了这一点。在 36 个 DM 阳性细胞中, 每个细胞中 DM 数 1～70 对不等, 变化范围很大。我们得到的白血病骨髓细胞 DM 表达率为 8.8%, 较已报道的其它肿瘤外周血及组织 DM 表达率(13.2%～60.0%)[1~3]为低。其原因可能与骨髓肿瘤细胞分裂指数低下及分裂象计数相对较少有关。在进行各类白血病患者骨髓细胞染色体及 DM 分析中, 我们都发现有分裂象不足及分裂象缺如的病例。

自 Cowell 对 DM 的研究之后, N-myc、c-myc、c-abl、c-myb、c-mll、c-erbB、c-Ki－ras、ras-2、c-ets1、N-ras、二氢叶酸还原酶等基因相继被发现可以构成一些肿瘤细胞株或实体组织的 DM, 而且, DM 表达也伴随染色体不稳定性增加[6~10]。本研究结果也支持这一观点。在 36 个 DM 阳性细胞中有 34 个细胞具染色体数目和结构畸变, 占 94.4%。

有资料显示 ALL、AML、CML 等白血病患者骨髓细胞以及食管癌、鼻咽癌、子宫颈癌、卵巢癌等患者外周血细胞有 DM 表达时, 化疗、放疗均无效, 病程发展快, 临床生存期与无 DM 病例相比明显缩短, 二者有显著差异($P<0.01$)[1~8,10]。这些研究提示癌细胞中高水平的癌基因扩增与肿瘤发展、预后相关, DM 表达可以作为肿瘤的一项独立的预后指标, 具 DM 者, 预后极差。在有 DM 的一些肿瘤细胞中, c-myc 扩增达 8～140 倍[9], 如此过高表达使细胞获得增殖优势, 致细胞恶性度增加。在我们的结果中, 28 例 DM 阳性白血病患者及 73 例 DM 阴性患者中位生存期(MS)分别为 7.0 个月、31.4 个月, 二者具显著性差异($P<0.01$), 而且前者对化疗的疗效不理想, 病人预后很差。该结果与文献报道一致。本研究中 11 例 MDS 中仅有 1 例具 DM 表达, 并伴染色体断裂、缺失、多倍体、核粉碎化, 该患者 3 个月(从确诊之日算起)后转化为急性白血病, 临床诊断为 ANLL-M_2, 4.5 个月即死亡, 见图 1。其余随访的 5 例至撰稿时尚未见有转变为白血病。另一例 ANLL-M_2 患者, 男, 40 岁, 3 个骨髓细胞见 DM 表达,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

并伴染色体畸变，包括易位 t(8;21)(q22;q22)(G 显带证实)、多倍体(染色体众数最多达 102 条)、断裂、双着丝粒染色体、亚二倍体，该患者多次复发，化疗无效，从诊断至死亡仅 67 d，见图 2。9 例 DM 表达阳性的 CML 患者在随访期间已发生急变，且其中 4 例在骨髓细胞中见 2 条 Ph 染色体同时出现，核型为 46，xy(xx)，+2t(9;22)(q34;q11)，另 5 例也有除 Ph 以外的染色体畸变。这些 CML 患者 DM 的出现通常比临床或血液学上的急变征象早 2～4 个月[9]。因此，DM 检测有助于 CML 急变的早期发现和早期治疗。在本研究中所有 DM 表达的患者都表现预后差、病程发展快、生存期短的特点，而无 DM 表达的白血病患者对治疗反应较佳，完全缓解率较高，中位生存期(MS)显著延长，见表 2。综上所述，我们认为 DM 表达可作为监测白血病发展、预后的重要指标。

值得注意的是，并非所有癌基因扩增的肿瘤细胞都一致性地存在 DM。有些肿瘤细胞中虽然癌基因扩增程度很高，但不出现 DM[9]。本研究结果表明白血病骨髓细胞 DM 表达率也较低，仅占 8.8%。出现这种现象的机制目前尚不清楚，有待进一步探明。

参考文献：

[1] 李桂信，邵桂泉，丰建淑，等. 食管癌患者外周血中双微体观察[J]. 中华医学遗传学杂志，1997，14(1)：57－58.
[2] 沈宗丽，薛开先，彭素容，等. 卵巢癌组织中双微体表达及意义[J]. 中华妇产科杂志，1997，32(4)：245－246.
[3] 段昌柱，蒲淑萍，郑学军，等. 外周血淋巴细胞双微体(DM)的分子细胞遗传学研究[J]. 重庆医科大学学报，1999，24(3)：225－227.
[4] Sree Klantaiah C，杨莉玲. 人类子宫颈癌中的双微体[J]. 国外医学：遗传学分册，1994，17(1)：42.
[5] Reddy K S，Sulcova V C. c-myc amplification in a preleukemia patient with trisomy 4 and double minutes：review of the unique coexistence of these two chromosome abnormalities in acute myelogenous leukemia[J]. Cancer Genet Cytogenet，1997，95(2)：206－209.
[6] Brucker P，Kappler R，Scherthan H，*et al*. Double minutes and c-myc amplification in acute myelogenous leukemia：Are they prognostic factors[J]. Cancer Genet Cytogenet，2000，120(1)：73－79.
[7] Streubel B，Valent P，Jager U，*et al*. Amplification of the MLL gene on double minutes，a homogeneously staining region，and ring chromosomes in five patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome[J]. Genes Chromosomes Cancer，2000，27(4)：380－386.
[8] Sambani C，Trafalis D T，Vessalas G，*et al*. Trisomy 6 and double minute chromosomes in a case of chronic myelomonocytic leukemia[J]. Cancer Genet Cytogenet，1998，106(2)：180－181.
[9] 牛富文. 医用分子细胞生物学[M]. 郑州：河南医科大学出版社，1997. 274－278.
[10] Yoshida T，Kimura N，Akiyoshi T，*et al*. Jumping translocation of homogeneously staining region and tetraploidy with double minutes in acute myelomonocytic leukemia[J]. Cancer Genet Cytogenet，1999，109(1)：40－44.

(编辑 张大春)

(上接 839 页)

表 1 各种食道狭窄的内镜治疗情况

狭窄原因	n	治疗方法			治疗次数	
		微波	气囊扩张	微波＋气囊扩张	总次数	平均次数
吻合口狭窄	35	0	28	7	1～5	1.6
放疗狭窄	21	0	15	6	1～24	4.6
理化损伤狭窄	13	0	9	4	1～43	6.8
食道癌狭窄	21	5	3	13	1～8	1.8
无明原因狭窄	2	0	2	0	1～2	1.5
总计	92	5	57	30		

表 2 各种食道狭窄的内镜治疗效果

狭窄原因	n	显效(%)	有效(%)	无效(%)
吻合口狭窄	35	33 (94.29)	2 (5.71)	0
放疗狭窄	21	19 (90.47)	2 (9.53)	0
理化损伤狭窄	13	11 (84.62)	1 (7.69)	1 (7.69)
食道癌狭窄	21	6 (28.57)	14 (66.67)	1 (4.76)
无明原因狭窄	2	2 (100)	0	0
总计	92	71 (77.12)	19 (20.65)	2 (2.17)

3 手术配合体会

心理护理：术前做好心理护理，消除患者的紧张、恐惧心情，使病人积极主动地配合治疗是治疗成功的重要条件。应向病人介绍手术的基本情况，使其知道内镜治疗手术是一种简单、快速、有效、创伤小、较安全的微创治疗术，并说明手术的意义，手术的过程及感受，熟悉配合手术的注意事项，使病人有充分的思想准备。

改善病人的身体状况，提高其耐受力：内镜治疗也是一项侵入性治疗，病人有一定的反应，身体状况差的病人不能耐受。食道狭窄的病人，由于进食严重受限，营养不良，往往身体消瘦，一般情况很差。因此应在术前加强支持治疗，改善病人的身体状况。

选择恰当的治疗方案：根据食道狭窄的原因及狭窄程度不同，采用不同的治疗方案是保证治疗效果、减少并发症的关键。①隆起型食道癌所致的狭窄是由于肿物堵塞管腔所致，采用气囊扩张治疗无效，可采用微波治疗使肿物凝固、坏死、脱落。②狭窄口直径＞0.4 cm 的良性食道狭窄及浸润型食道癌所致的狭窄，由于病变累及管壁内，采用气囊扩张治疗可撕裂部分瘢痕组织、肌层组织及肿瘤组织。可较好地达到解除狭窄的目的。根据狭窄口的大小不同，应分别采用相应直径的气囊进行扩张，可防止用过大直径的气囊扩张造成食道壁破裂。③狭窄口直径＜0.4 cm 的食道狭窄，由于口径小，扩张气囊不易通过狭窄处及扩张效果较差，先用微波环行烧灼狭窄口，2～3 d 后狭窄口明显扩大，此时再用气囊扩张效果较好。对混合型食道癌，先用微波烧灼隆起的肿瘤组织使其坏死、脱落，然后再用气囊扩张治疗也较只用一种方法治疗效果更好。

密切观察病人术中症状：密切观察病人术中出现的胸部胀痛症状，对判断治疗效果、防止并发症有着重要的意义。充气扩张时病人感胸部胀痛说明扩张有效，如胀痛明显，应适当减小充气压力，以防止食道穿孔破裂。另外，还应观察有无出血，扩张时有少量出血说明撕裂了部分瘢痕组织，治疗有效。

关键词：食道狭窄；微波；气囊扩张
中图法分类号：R571.105 文献标识码：B

参考文献：

[1] 吴华星，潘琳娜，王国年，等. 哑铃型气囊导管对食管狭窄治疗价值的探讨[J]. 中华消化内镜杂志，1999，16(4)：203－204.
[2] 郑春大，王 强，张晓明，等. 微波在食管贲门癌性狭窄安置金属支架前后的应用[J]. 中华消化内镜杂志，1999，16(4)：205－206.

(编辑 冷怀明)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net