

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.11.011

急性髓系白血病免疫表型特征及遗传学特征分析

孙超 周新 郭宏锋 王婧 沈云峰[△]

(南京医科大学附属无锡市人民医院血液科 江苏 无锡 214023)

摘要 目的:研究急性髓系白血病免疫表型特征以及遗传学特征。**方法:**选取 2011 年 1 月到 2014 年 5 月我院收治的急性髓系白血病患者 169 例,采用流式细胞术和相关的单克隆抗体来分析所有患者的骨髓免疫表型,采用染 G 染色体显带技术分析患者的核型,根据淋系抗原(lymAg)的表达将患者分为 lymAg+ 组和 lymAg- 组。**结果:**抗原 CD13、CD33、CD117 以及 MPO 等髓系抗原最常在急性髓系白血病患者中表达,其中 CD117 在 M3 型病例中表达为 85.7%(24/28),而 CD34、HLA-DR 双阴性、较强的自发荧光、CD13、CD33 和 MPO 对 M3 型的诊断也具有一定的价值;其中 47.9%(81/169)的患者伴随着淋系抗原表达,以 CD7 和 CD56 为主;60.4%(102/169)的患者伴随着核型异常;而伴随着 t(8;21)的 M2 患者中的 CD15、CD19 和 CD56 的表达显著增强,而 t(15;17)均发生于 M3 型患者中;而 lymAg+ 组患者 CD34 的阳性患者为 77.8%(63/81)显著高于 lymAg- 组的 47.7%(42/88),两组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**免疫表型对急性髓系白血病的诊断具有重要的意义,且免疫表型和异常核型存在密切的联系。

关键词:急性髓系白血病;免疫表型;遗传学

中图分类号:R733.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2015)11-2042-03

Analysis of Immunophenotype and Genetic Characteristics of Acute Myeloid Leukemia

SUN Chao, ZHOU Xin, GUO Hong-feng, WANG Jing, SHEN Yun-feng[△]

(Department of Hematology, Wuxi people's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu, 214023, China)

ABSTRACT Objective: To study the immunophenotype and genetic characteristics of acute myeloid leukemia. **Methods:** 169 cases of patients with acute myeloid leukemia from January 2011 to May 2014 in our hospital were selected, the bone marrow immunophenotype was analyzed by flow cytometry and associated monoclonal antibodies and the patient's karyotype was analyzed by staining of G chromosome banding technique, the patients were divided into the lymAg+ group and lymAg- group according to lymphoid antigen (lymAg) expression. **Results:** The antigen CD13, CD33, CD117 and MPO myeloid antigen were always expressed in patients with acute myeloid leukemia, the expression of CD117 in type M3 was 85.7% (24/28), while double negative expression of CD34 and HLA-DR, strong autofluorescence, expression of CD13, CD33 or MPO all had a certain value in the diagnosis of M3; 47.9% (81/169) of patients were lymphoid antigen positive, especially positive in CD7 and CD56; 60.4% (102/169) of patients were with abnormal karyotype; CD15, CD19 and CD56 increased significantly in M2 patients with t(8;21) expression, while t(15;17) occurred in the type M3 patients; D34 positive patients accounted for 77.8% (63/81) in lymAg+ group, significantly higher than 47.7% (42/88) of the lymAg- group ($P < 0.05$). **Conclusion:** The immune phenotype play an important role in the diagnosis of acute myeloid leukemia, the immunophenotype has a close relationship with abnormal karyotype.

Key words: Acute myeloid leukemia; Immunophenotype; Genetics

Chinese Library Classification(CLC): R733.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)11-2042-03

前言

急性髓系白血病是一种骨髓被髓系的白血病细胞而代替,因此失去分化成熟能力^[1]。临床上急性髓系白血病的 FAB 分型主要根据其细胞学和形态学,随着流式细胞术和单克隆技术的发展和运用,急性白血病的免疫表型得到迅速的发展^[2,3]。而对

于形态较难分类的白血病诊断具有重要的意义^[4,5]。本研究收集 2011 年 1 月到 2014 年 5 月我院收治的 169 例急性髓系白血病患者旨在分析其免疫表型特征及遗传学特征,为临床诊断和治疗提高依据,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2011 年 1 月到 2014 年 5 月我院收治的急性髓系白血病患者 169 例,所有患者均符合急性髓系白血病的诊断标准^[6]。其中男性 86 例,女性 83 例,年龄 2-70 岁,平均(41.2±1.1)岁。FAB 分型:M0 型 2 例,M1 型 15 例、M2 型 63 例、M3 型 28 例、M4 型 23 例、M5 型 19 例、M6 型 18 例、M7 型 1 例。

作者简介:孙超(1976-),男,硕士研究生,副主任医师,从事血液病方面的研究,E-mail:36986541@qq.com

△通讯作者:沈云峰(1960-),男,本科,主任医师,从事血液病方面的研究

(收稿日期:2014-11-19 接受日期:2014-12-07)

根据淋系抗原(lymAg)的表达将患者分为 lymAg+ 组(n=81)和 lymAg- 组(n=88),研究经伦理委员会批准,所有患者均知情同意并签订知情同意书。

1.2 方法

于治疗前取所有患者的骨髓 2 mL,加入肝素抗凝,并且于 24 小时内检验,每个管中均加入标本 100 μ L 和四色直接标记荧光的抗体,应用的单克隆抗体有多甲藻叶绿素蛋白标记过的 CD45、别藻青蛋白或者是藻红蛋白和异硫氰酸荧光素标记的 CD34、CD19、CD10、CD14、CD2、CD13、CD7、CD33、CD3、D38、CD56、CD64、CD117、CD15 以及 HLA-DR,应用试剂均由美国 Becton Dickison 公司提供,应用流式细胞仪(由美国 Becton Dickison 公司提供)和 CellQuest 软件分析 50000 个细胞,根据 CD45/SSC 来识别幼稚细胞,分析细胞群中各个白血病细胞的相关抗原。应用骨髓细胞的 24 小时培养方法来制备染色体,采用 G 显带的技术来分析核型,并根据国际人类染色体的命名

方法来命名核型^[7,8]。

1.3 统计学方法

全部数据均在 SPSS17.0 软件上统计,计数资料应用检验,检验标准以 $P<0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫表型特征分析

由表 1 可知,抗原 CD13、CD33、CD117 以及 MPO 等髓系抗原最常在急性髓系白血病患者中表达,其中 CD117 在 M3 型病例中的表达为 85.7%(24/28),而 CD34、HLA-DR 双阴性、较强的自发荧光、CD13、CD33 和 MPO 对 M3 型的诊断中具有一定的价值;47.9%(81/169)的患者伴随着淋系抗原表达,以 CD7 和 CD56 为主;60.3%(102/169)的患者伴随着核型异常。

2.2 遗传学特征分析

由表 2 可知,有 102 例患者伴随着核异常,占 60.4%。

表 1 患者免疫表型特征分析(例)

Table 1 Analysis of immunophenotype characteristics of patients (n)

抗原类型 Type of antigen	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
CD34	2	11	55	3	19	11	16	1
CD10	0	0	0	0	1	0	0	0
CD2	0	0	3	5	4	0	0	0
CD19	0	2	12	0	1	0	0	0
CD14	0	0	0	0	8	6	0	0
CD13	2	12	59	27	21	17	18	1
CD33	1	15	56	27	20	18	14	1
HLA-OR	1	14	58	2	21	19	18	1
CD38	1	12	59	11	19	15	14	1
CD7	2	9	12	0	6	4	7	0
CD117	2	12	53	24	5	15	18	0
CD64	0	6	29	22	19	15	11	0
CD15	0	5	31	10	18	13	2	0
CD56	1	5	15	4	4	5	7	0
MPO	0	11	60	25	23	11	9	0
GlyA	0	0	0	0	0	0	18	0
CD41	0	0	0	0	0	0	0	1
CD3	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 患者的遗传学特征分析(例)

Table 2 Analysis of genetic characteristics of patients

基因型 Genotype	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
t(8;:21)	0	0	29	0	0	0	0	0
t(15;:17)	0	0	0	26	0	0	0	0
inv(16)	0	0	0	0	3	0	0	0
tri8	0	0	2	0	2	1	0	1
5/7abn	0	0	0	0	2	0	0	0
comp lex	0	0	0	0	2	0	0	0
其他类型 Other types	2	7	10	0	6	11	0	0

2.3 免疫表型、细胞遗传学和临床特征的关系

伴随着 t(8;21)的 M2 患者中的 CD15、CD19 和 CD56 的表达显著增强,而 t(15;17)均发生于 M3 型患者中;而 lymAg+ 组患者 CD34 的阳性患者为 77.8%(63/81)显著高于 lymAg- 组的 47.7%(42/88),两组比较差异具有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

免疫表型在临床上应用较广泛,其对细胞化学、遗传学以及形态学的有补充作用,有利于白血病的诊断,并且使分型精确化^[9]。采用一系列的相关的单克隆抗体对免疫表型进行分析,

不仅仅能鉴定出白血病的细胞,还可分析白血病细胞的发育和成熟状态^[10]。本研究发现,169例患者中抗原CD13、CD33、CD117以及MPO等髓系抗原最常在急性髓系白血病患者中表达,与国外许多文献报告一致^[10-12]。有报道显示M3型中缺乏CD117的表达^[13],但是本研究发现,其中CD117在M3型病例中表达为85.7%,究其原因可能和各组研究的病例数不同,存在个体性差异,或者是应用的单克隆抗体的来源不同,致使结果存在误差^[14,15]。研究还发现,CD34、HLA-DR双阴性、较强的自发荧光、CD13、CD33和MPO对M3型的诊断也具有一定的价值,与相关报道观点一致^[16]。结果提示免疫表型对急性髓系白血病具有较好的诊断价值,能为临床治疗提供依据。本研究发现,47.9%的患者伴随着淋系抗原表达,以CD7和CD56为主;60.3%的患者伴随着核型异常,提示免疫学特征检测可了解髓系的原始细胞中是否存在淋系抗原的分化表达^[17]。据研究,CD7在伴随着良好预后的急性髓系白血病的表达阳性率比较低,而在遗传学预后不良的患者中却经常的表达^[18]。本研究发现,t(8:21)的M2患者中的CD15、CD19和CD56的表达显著增强,而t(15:17)均发生于M3型患者中,与上述结论存在差异性,可能和所选择的病例有关或者是选择的病例数较少。此外,lymAg+组患者CD34的阳性患者为77.8%显著高于lymAg-组的47.7%,与文献报道具有一致性^[19,20]。当前,急性髓系白血病患者中淋系分化抗原的表达对于临床治疗预后的意义存在较大的争议,不同学者所持态度不同^[3,8,18]。不同的亚型的急性髓系白血病在不同时期的表达均有差异,是因白血病细胞在分化过程中会出现形态学和免疫分型上的差异性。

综上所述,免疫表型为白血病的诊断提供重要价值,对急性髓系白血病的诊断意义重大,且免疫表型和异常核型存在密切的联系,结合免疫分型和细胞遗传学能更精确的诊断急性髓系白血病,进而为临床治疗提供依据。

参考文献(References)

- [1] 刁琳琳,王占聚,冯安华,等.急性髓系白血病化疗早期细胞凋亡率与预后关系的研究[J].辽宁医学院学报,2013,34(2):44-45
Diao Lin-lin, Wang Zhan-ju, Feng An-hua, et al. Study on Relationship between the early apoptosis rate and prognosis in acute myeloid leukemia chemotherapy [J]. Journal of Liaoning Medical University, 2013, 34(2): 44-45
- [2] Walker A, Marcucci G. Molecular prognostic factors in cytogenetically normal acute myeloid leukemia[J]. Expert Rev Hematol, 2012, 5(05): 547-558
- [3] El Rassi F, Arellano M. Update on Optimal Management of Acute Myeloid Leukemia [J]. Clin Med Insights Onco, 2013, 12 (07): 181-197
- [4] Brandwein JM, Geddes M, Kassis J, et al. Treatment of older patients with acute myeloid leukemia (AML): a Canadian consensus[J]. Am J Blood Res, 2013, 3(02): 141-164
- [5] Ramadan SM, Fouad TM, Summa V, et al. Acute myeloid leukemia developing in patients with autoimmune diseases [J]. Haematologica, 2012, 97(06): 805-817
- [6] van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes [J]. Leukemia, 2012, 26(09): 1908-1975
- [7] Schürch CM, Riether C, Ochsenbein AF. Dendritic Cell-Based Immunotherapy for Myeloid Leukemias[J]. Front Immunol, 2013, 31 (04): 496
- [8] Walter RB, Appelbaum FR, Estey EH, et al. Acute myeloid leukemia stem cells and CD33-targeted immunotherapy [J]. Blood, 2012, 119 (26): 6198-6208
- [9] Hatzimichael E, Georgiou G, Benetatos L, et al. Gene mutations and molecularly targeted therapies in acute myeloid leukemia [J]. Am J Blood Res, 2013, 3(01): 29-51
- [10] Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, et al. Prognostic Significance of the European LeukemiaNet Standardized System for Reporting Cytogenetic and Molecular Alterations in Adults With Acute Myeloid Leukemia[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(36): 4515-4523
- [11] Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, et al. Age-Related Prognostic Impact of Different Types of DNMT3A Mutations in Adults With Primary Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia [J]. J Clin Oncol, 2012, 30(07): 742-750
- [12] Wetzler M, Mrózek K, Kohlschmidt J, et al. Intensive induction is effective in selected octogenarian acute myeloid leukemia patients: prognostic significance of karyotype and selected molecular markers used in the European LeukemiaNet classification [J]. Haematologica, 2014, 99(2): 308-313
- [13] Blink M, Zimmermann M, von Neuhoff C, et al. Normal karyotype is a poor prognostic factor in myeloid leukemia of Down syndrome: a retrospective, international study [J]. Haematologica, 2014, 99 (2): 299-307
- [14] Li Z, Herold T, He C, et al. Identification of a 24-Gene Prognostic Signature That Improves the European LeukemiaNet Risk Classification of Acute Myeloid Leukemia: An International Collaborative Study[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(09): 1172-1181
- [15] Kanate AS, Pasquini MC, Hari PN, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplant for acute myeloid leukemia: Current state in 2013 and future directions[J]. World J Stem Cells, 2014, 6(2): 69-81
- [16] Horton SJ, Huntly BJ. Recent advances in acute myeloid leukemia stem cell biology[J]. Haematologica, 2012, 97(7): 966-974
- [17] DeKelder RC, Lewin B, Lam K, et al. Cooperation between RUNX1-ETO9a and Novel Transcriptional Partner KLF6 in Upregulation of Alox5 in Acute Myeloid Leukemia [J]. PLoS Genet, 2013, 9(10): e765
- [18] Mendler JH, Maharry K, Radmacher MD, et al. RUNX1 Mutations Are Associated With Poor Outcome in Younger and Older Patients With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia and With Distinct Gene and MicroRNA Expression Signatures[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(25): 3109-3118
- [19] Goyama S, Schibler J, Cunningham L, et al. Transcription factor RUNX1 promotes survival of acute myeloid leukemia cells [J]. J Clin Invest, 2013, 123(9): 3876-3888
- [20] Sekeres MA, Lancet JE, Wood BL, et al. Randomized, phase IIb study of low-dose cytarabine and linciclimab versus low-dose cytarabine and placebo in older adults with untreated acute myeloid leukemia[J]. Haematologica, 2013, 98(01): 119-128