

·论著·

小儿急性白血病免疫表型和骨髓细胞 DNA 含量测定的临床意义

陈日玲 陈铭珍 蔡康荣 李峰

[摘要] 目的 分析小儿急性白血病(AL)的免疫表型、异倍体、细胞周期分布状况的临床意义。方法 应用流式细胞仪检测了42例初诊为AL患儿的免疫表型及骨髓单个核细胞(MNC)的DNA含量。结果 B-ALL明显多于T-ALL,髓系抗原在ANLL组中的表达率依次为 $CD_{33} > CD_{13} > CD_{14} > CD_{15}$ 。4例AL同时表达了淋系和髓系的抗原,预后差。AL患儿骨髓细胞周期的S期细胞比例(S%)明显低于正常对照,说明AL患儿白血病细胞的增殖能力低下。ALL组中,亚倍体的S%均值与超二倍体、二倍体比较存在显著差异性,ANLL组中, $CD_{33}/CD_{13} < 1$ 者的S%均值与 $CD_{33}/CD_{13} > 1$ 者比较亦存在显著差异。结论 AL患儿的免疫表型、倍体关系、细胞周期及其之间的关系,对临床诊断、治疗、预后判断具有重要指导意义。

[关键词] 白血病;免疫表型;异倍体;细胞周期

[中图分类号] R733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2000)01-0001-03

Clinical Significance of Myelocytic DNA Content Immunophenotype in Children with Acute Leukemia

CHEN Ri-Ling, CHEN Min-Zhen, CAI Kang-Rong, et al.

Department of pediatrics, Affiliated Hospital, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001

Abstract: **Objective** To analyse the clinical significance of the immunophenotype, aneuploidy and cell circle distribution in children with acute leukemia (AL). **Methods** With the techniques of flow cytometry (FCM), the immunophenotype and the DNA content in bone marrow mononuclear cells were determined in 42 cases of confirmed AL patients. **Results** The expression frequency of myeloid antigens in the ANLL group was $CD_{33} > CD_{13} > CD_{14} > CD_{15}$. Both lymphoid and myeloid antigen were expressed in the 4 AL patients with poor prognosis. The percentage of myelocytic circles (S%) in AL patients was significantly lower than in normal controls, indicating hemopoietic hypofunction in AL patients. The S% medium of hypodiploidy in the ALL group was significantly different compared with that of hypodiploidy and diploidy in the ALL group. The S% medium in patients with $CD_{33}/CD_{13} > 1$ was marked different compared with those with $CD_{33}/CD_{13} < 1$ in the ANLL group. **Conclusions** The analysis of immunophenotype, aneuploidy, and cell circle plays an important role in clinical diagnosis, treatment and prognosis.

Key words: Acute leukemia; Immunophenotype; Aneuploidy; Cell circle distribution

白血病的细胞免疫表型、倍体分析、细胞周期各时相的分布及其之间的关系,与临床的诊断、治疗、预后有着密切的关系。本实验应用流式细胞仪检测了42例初诊为急性白血病(AL)患儿的免疫表型及骨髓单个核细胞(MNC)的DNA含量,分析小儿AL的免疫表型、异倍体、细胞周期分布状况及其它它们之间的相互关系,进一步探讨其对临床诊断、药物治

疗、预后判断的指导意义。

1 对象及方法

1.1 对象

初诊AL患儿42例,其中急性淋巴细胞性白血病(ALL)22例,急性非淋巴细胞性白血病(ANLL)20

[作者简介] 陈日玲,女,1967年出生,本科,主治医师。

[作者单位] 524001 湛江,广东医学院附属医院儿科(陈日玲,陈铭珍,李峰);广东医学院电镜室(蔡康荣)

例。诊断均经临床及实验室检查确诊。年龄 2 ~ 14 岁,平均年龄 6.5 岁。正常对照 15 例,为骨髓象正常的非血液病患儿,年龄 2 ~ 14 岁,平均年龄 5.1 岁。

1.2 方法

1.2.1 免疫表型的测定 选用 10 种单抗,其中 T 系相关的有 CD₂,cyCD₃,CD₇,淋系相关的有 CD₁₀,CD₁₉,CD₂₂,髓系相关的有 CD₁₃,CD₁₄,CD₁₅,CD₃₃,兔抗鼠 IgG - FITC 为二抗,单抗及二抗购自中国医学科学院血液学研究所。取骨髓 0.1 ml 加 McAb 20 μl,0 ~ 4 ℃ 孵育 1 h 后,PBS 洗 3 次,加二抗适量,0 ~ 4 ℃ 反应 30 min,PBS 洗 3 次后溶解红细胞,洗净后应用流式细胞仪检测。结果判断:淋系抗原 > 30 %,髓系抗原 > 20 % 定为阳性指标。

1.2.2 DNA 含量测定 细胞周期测定:取肝素抗凝骨髓 0.5 ml,按常规方法分离单个核细胞(MNC),每测定管加 MNC 10⁶ 个,然后依次加入 DNA 测定液(CoulterDNA kit),室温存 30 min,然后加入 PI 染液(终浓度为 100 μl/ml),室温 30 min 后上机测定。每个样品测定 10 000 个细胞,采用 Coulter 公司提供的 DNA 分析程序,获取各样本细胞周期时相百分比。倍体分析:本仪器 DI(DNA index)值正常范围是 0.90 ~ 1.10,小于 0.90 为亚二倍体,大于 1.10 为超二倍体。

1.2.3 统计学处理 数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间

差异比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 AL 患儿细胞免疫表型的表达情况

ALL 组 B 系抗原表达阳性率为 77.3 % (17/22),T 系抗原表达阳性率为 22.7 % (5/22)。其中 2 例 B - ALL 亦同时分别表达 CD₁₃,CD₃₃ 抗原。ANLL 组 CD₃₃,CD₁₃ 抗原表达阳性率最高,分别为 75 % (15/20),55 % (11/20)。其次为 CD₁₄,CD₁₅ 的阳性表达率,分别为 40 % (8/20),30 % (6/20)。有 2 例 CD₁₃,CD₃₃,CD₁₄ 抗原表达阳性的患儿,亦同时表达 CD₂₂,cyCD₁₀,CD₁₉ 抗原。

2.2 AL 患儿 DNA 倍体检出率

AL 患儿异倍体检出率为 47.6 % (20/42),其中 ALL 组异倍体检出率为 68.2 % (15/22),ALL 组异倍体检出率 25 % (5/20)。两组比较存在显著差异性。正常对照组无 1 人检出异倍体。

2.3 细胞周期分布

ALL 组与 ANLL 组患儿的 G₀/G₁ 期细胞分布比较 (G₀/G₁ %) 均明显高于对照组 (*P* < 0.01),S 期及 G₂/M 期细胞分布比例 (S %,G₂/M %) 均明显低于对照组 (*P* < 0.01),ALL 与 ANLL 组比较,各周期细胞分布无显著差异性 (*P* < 0.05)。见附表。

附表 ALL 组,ANLL 组与对照组的骨髓细胞周期分布 ($\bar{x} \pm s$, %)
 Table Cell circle distribution of ALL , ANLL and control group ($\bar{x} \pm s$, %)

组别	n	G ₀ /G ₁	S	G ₂ M	GM ±S
对照组	15	76.80 ±10.51	21.33 ±10.23	4.10 ±1.04	25.40 ±11.19
ALL	22	90.65 ±5.12 *	9.09 ±4.94 *	2.26 ±1.18 *	9.67 ±3.24 *
ANLL	20	89.63 ±6.27 *	8.21 ±4.23 *	2.21 ±0.96	10.33 ±4.13 *

*与对照组相比, *P* < 0.01

2.4 细胞免疫表型、异倍体、细胞周期分布的关系

ALL 组中,亚二倍体 7 例,S 均值为 6.08 ± 2.21 %;超二倍体 8 例,S 均值为 9.38 ±3.25 %;二倍体 7 例,S 均值为 8.64 ±2.17 %。亚二倍体的 S 均值分别与超二倍体、二倍体比较均存在显著差异性 (*P* < 0.05)。ANLL 组中,CD₃₃/CD₁₃ < 1 者 8 例,S 均值为 7.25 ±1.92 %;CD₃₃/CD₁₃ > 1 者 12 例,S 均值为 10.93 ±3.28 %。两者比较存在显著差异性 (*P* < 0.05)。

3 讨论

目前,免疫分型研究已经成为白血病分型的重要手段。本实验检测了 42 例小儿 AL 的细胞免疫表型,除了 4 例出现混合表达外,38 例均与形态学诊断相符,符合率达 90.5 %。临床上普遍认为,B - ALL 与 T - ALL 比较,T - ALL 预后差。但如用环磷酰胺和阿糖胞苷治疗 T - ALL 仍能达到良好的效果^[1]。可见,免疫分型不仅可以帮助临床诊断,而且为白血病治疗及预后判断提供重要的理论依

据。此外,4 例混合表达病例中,2 例 B - ALL 分别出现了髓系抗原 CD₁₃,CD₃₃的阳性表达;2 例髓系抗原表达阳性的 ANLL,同时亦表达了 B 系抗原。出现这种异质性的机制,目前有的学者认为可能是某些干细胞内,由于 B 系抗原和髓系抗原基因镶嵌异常,导致 B 系和髓系抗原的同时混合表达,从而使干细胞转化为白血病细胞^[2]。经临床观察,此 2 例 ALL 患儿经过强烈的化疗均未能达到完全缓解(CR)。另 2 例 ANLL 中的 1 例很快死于颅内出血,另 1 例亦在化疗初期死亡。可见,同时表达两系抗原的 AL 患儿,与单纯表达某一系抗原阳性的 AL 患儿相比,其病情凶险,治疗困难,预后差。

许多试验已经证明,白血病细胞的细胞周期比正常细胞周期延长,处于 S 期和 G₂/M 期的细胞比例比正常低^[3]。本试验经统计,ALL 组与 ANLL 组患儿的 G₀/G₁(%)明显高于对照组,而 S%及 S ± G₂/M(%)明显低于对照组,说明了白血病骨髓细胞从 G₀/G₁期至 S 期之间存在运行阻滞,表明白血病细胞的增殖活力低于正常。但是,ALL 组与 ANLL 组比较,各细胞周期分布无差异性。为此,进一步分析 AL 的异倍体率,结果表明,ANLL 组异倍体率明显低于 ALL 组,因此,免疫分型并非决定白血病预后的唯一指标,染色体数目以及结构异常,对白血病预后判断亦起重要作用。

进一步分析 ALL 患儿的异倍体和 S%、ANLL 患儿的 CD₃₃/CD₁₃比值和 S%之间的关系。结果表明,亚二倍体的 ALL 患者 S%均值较二倍体患者明

显减少,说明亚二倍体 ALL 患者的骨髓细胞增殖能力低下。超二倍体的 S%均值较亚二倍体明显增高,这可能是因为超二倍体患儿细胞的分化、增殖需要复制合成更多的遗传物质,S 期相对延长,故进入 S 期的细胞增多,因而,临床上对于超二倍体的 ALL 患儿,联合使用作用于相应 S 期白血病细胞的化疗药物,能达到更佳的治疗效果。本实验结果还显示 ANLL 组的患儿,CD₃₃/CD₁₃ > 1 病例的 S%均值较 CD₃₃/CD₁₃ < 1 病例的 S%均值明显增高,可见,CD₃₃/CD₁₃ > 1 的 ANLL 患者骨髓细胞增殖活力较其比值 < 1 者强,接受化疗相对易于缓解,预后较好^[4]。因此,分析 AL 患儿的细胞免疫表型、倍体关系及细胞周期分布及其之间的相互关系,对临床诊断、药物治疗、预后判断具有重要指导意义。

[参 考 文 献]

- [1] 田炯. 免疫表型分析在急性白血病中的应用[综述]. 国外医学输血与血液学分册,1998, 21(6): 411 ~ 415.
- [2] Pui CH, Behm FG, Crist WM. Clinical and biological relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood, 1993, 82(2): 343 ~ 362.
- [3] 郑胡镛,胡亚美,赵全,等. 用流式细胞仪对儿童急性淋巴细胞性白血病细胞周期分布的研究. 中华血液学杂志,1996, (8): 435 ~ 436.
- [4] 李惠芳,卢薇薇,于载冻. 急性非淋巴细胞白血病免疫表型分析. 临床血液学杂志,1995; 8(2): 66 ~ 68.

(收稿日期:1999 - 09 - 25 修回日期:1999 - 11 - 29)

(本文编辑:黄志强)