

23 例儿童 T 系急性淋巴细胞白血病的生物学特征分析

熊昊¹ 张耀东² 胡群¹ 孙燕¹ 刘双又¹ 张柳清¹ 刘爱国¹ 王冠玲¹

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 武汉 430030; 2. 新乡医学院, 河南 新乡 453003)

[摘要] 目的 探讨儿童 T 细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)的生物学性状及临床意义。方法 对初诊的 23 例儿童 T-ALL 患儿进行免疫分型、染色体、融合基因检测。结果 免疫分型中 T 系抗原以 CD3 阳性率最高, 其次为 CD7、CD5; B 系抗原以 CD19 阳性率最高。23 例中 4 例骨髓系抗原表达, 阳性率达 17%。CD34、HLA-DR 表达阳性率分别为 17%、22%。cCD3 和 cCD79 的阳性表达率为 100% 和 96%。8 例行染色体检查, 其中 1 例为超二倍体; 1 例为 Ph⁺ 染色体。融合基因检测: 5 例中 2 例 MLL 基因重排异常, 1 例为 SIL/TAL1 阳性。CD3 的表达与 T-ALL 首次化疗完全缓解率有关。结论 免疫分型分析是诊断 T-ALL 的重要手段, 但 T-ALL 免疫表型存在一定的异质性。对于儿童 T-ALL 的治疗预后评估, 应结合细胞遗传学及分子遗传学进行综合判断。

[中国当代儿科杂志, 2010, 12(8): 605-608]

[关键词] T 细胞急性淋巴细胞白血病; 免疫表型; 儿童
[中图分类号] R733.7 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2010)08-0605-04

Biological characteristics of T-lineage acute lymphoblastic leukemia in 23 children

XIONG Hao, ZHANG Yao-Dong, HU Qun, SUN Yan, LIU Shuang-You, ZHANG Liu-Qing, LIU Ai-Guo, WANG Guan-Ling. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong Technology and Science University, Wuhan 430030, China (Hu Q, Email: syek@163.com)

Abstract: Objective To investigate the biological characteristics of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and their clinical significance. **Methods** Immunophenotyping was performed by three-color flow cytometry analysis using CD45 /SSC gating in 23 children with newly diagnosed T-ALL. Meanwhile cytogenetic analysis was performed. **Results** CD3⁺ expression of T-lineage antigens was apparently higher than CD7⁺ and CD5⁺ expression. CD19⁺ expression of B-lineage antigens was apparently higher than CD22⁺, CD10⁺ and CD20⁺ expression. Myeloid antigen was expressed in 4 cases (17%). CD34⁺ and HLA-DR⁺ were observed in 4 cases (17%) and 5 cases (22%), respectively. cCD3⁺ and cCD79⁺ were expressed in 23 cases (100%) and 22 cases (96%), respectively. The chromosome detection in 8 cases with T-ALL showed hyperdiploid or Ph⁺ chromosome (one case each). The fusion gene detection in 5 cases showed MLL rearrangements in two cases and positive SIL/TAL1 fusion gene in one case. CD3 expression was related with the complete remission rate. **Conclusions** Immunophenotyping is an important tool for diagnosis of T-ALL. However, the immunophenotype of T-ALL is heterogeneous. So, immunophenotyping along with cytogenetic and molecular genetic analysis is needed in the treatment and prognosis evaluation of T-ALL.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12(8): 605-608]

Key words: T-lineage acute lymphoblastic leukemia; Immunophenotype; Child

急性淋巴细胞白血病(ALL)是一组免疫表型高度异质性的淋巴系统恶性克隆性疾病。根据其免疫表型分为 B 细胞型、T 细胞型及 T/B 混合型, 其中 T 细胞型 ALL (T-ALL) 占 ALL 的 15%~25%, 具有不同于 B 系 ALL 的独特的临床、免疫学、细胞遗传学和分子生物学特点^[1]。虽然近年来国外文献报道由于应用含有大剂量环磷酰胺及阿糖胞苷的化疗方案, T-ALL 的预后有了较大改善, 但仍有部分 T-ALL 疗效较差, 即使大剂量化疗也不能达到完全缓

解^[2]。为此, 本研究对 2000 年 1 月至 2009 年 7 月本院初诊的 23 例 T-ALL 的免疫表型、染色体及融合基因进行分析。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2000 年 1 月至 2009 年 7 月在华中科技大学同济医院儿科基于临床表现、骨髓细胞学检查及

[收稿日期] 2010-01-14; [修回日期] 2010-03-02
[作者简介] 熊昊, 男, 博士研究生, 主治医师。
[通信作者] 胡群, 教授, 主任医师。

组织化学染色确诊的初诊 T-ALL 患儿 23 例,占本院同期就诊 ALL 患儿的 16.6% (23 /139) 。其中男 17 例,女 6 例,男:女为2.8:1,平均年龄为 7.1 ± 3.7岁。FAB 分型诊断为 L1 4 例,L2 19 例。研究病例的细胞形态学分型、免疫分型标准依据 2006 年《小儿急性淋巴白血病诊疗建议(修订草案)》^[3]。

1.2 免疫分型的检测

化疗前取患儿肝素抗凝的骨髓液,每管加入骨髓或外周血 50 μL 及相应的 3 种荧光标记抗体各 20 μL, 4℃反应 20 ~30 min,再加入 2 mL 红细胞溶解液,震荡后置室温 10 min,用生理盐水洗涤 3 次,加入 0.5 mL 生理盐水后用 FACSscan 型流式细胞仪(美国 BD 公司),在 488 nm 激发光源下进行测定。测定前以标准校正荧光微球校正仪器,应用 CELLQUEST 软件,每管获取并分析 10 000 个细胞;以 CD45 /SSC 设门识别白血病幼稚细胞,分析计算该幼稚细胞群中各造血细胞分化抗原表达的阳性率。异硫氰酸荧光素 (FITC) /藻红蛋白 (PE) /多甲藻叶绿素蛋白 (PreCP) 标记的抗体,均购自 Becton Dickison 公司。B 淋系列包括 CD10、CD19、CD20、CD22;T 淋系列括 CD3、CD5、CD7;髓系系列包括 CD13、CD33、CD14、CD15;干/祖细胞标志包括 CD34、HLA-DR;胞浆抗原包括 cCD79 和 cCD3。结果判断以白血病细胞表面抗原表达 ≥20% 为阳性。

1.3 染色体检查

染色体标本取自骨髓(外周血幼稚细胞 >10%),肝素抗凝,不加 PHA,采取直接法和 24 h 短期培养法,收集有丝分裂中期细胞,用 R 带(87.5℃加热法)(瑞氏染色法)进行显带,根据国际人类细胞遗传学命名法进行核型分型。抽取患儿骨髓,应用姬姆萨 R 显带技术显带,再进行核型分析。

1.4 融合基因检测

用 Ficoll 分出骨髓液中的单个核细胞,采用 RT-PCR 法进行检测。

1.5 T-ALL 的化疗诱导方法

所有 T-ALL 患儿均应用 VDLP (柔红霉素、长春新碱、阿糖胞苷、地塞米松) 方案化疗。完全缓解

(CR)标准:(1)临床上无白血病浸润所致的症状和体征,生活正常或接近正常;(2)血红蛋白 ≥90 g/L,血小板计数 ≥100 × 10⁹/L,中性粒细胞绝对值 ≥1.5 × 10⁹/L,外周血白细胞分类中无白血病细胞;(3)骨髓检查示原粒细胞 I 型 + II 型(原始单核 + 幼稚单核细胞或原始淋巴 + 幼稚淋巴细胞) ≤5 %,红细胞及巨核细胞系正常^[4]。

1.6 统计学分析

计数资料比较用 χ² 检验,以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫表型特点

23 例 T-ALL 的免疫分型结果见表 1。其中 T 系相关抗原阳性而髓系相关抗原阴性者为 17 例(74%),髓淋两系相关抗原同时表达者为 4 例(17%)。T 系抗原的表达:CD3、CD5、CD7 的阳性表达率依次为 96%、43%、70%;B 系抗原的表达:CD10、CD19、CD20、CD22 阳性表达率分别为 13%、17%、4%、9%。髓系抗原的表达:23 例中 4 例伴有髓系(My)表达(17%),其中 CD13、CD33 阳性率高于 CD14 和 MPO。干/祖细胞标记抗原的表达:HLA-DR、CD34 表达的阳性率分别为 22%、17%。其中 3 例 CD34⁺ T-ALL 髓系抗原表达 1 例(33%),20 例 CD34⁻ T-ALL 髓系抗原表达 3 例(15%),两者比较差异无统计学意义(χ² = 0.61, P = 0.44)。3 例 CD34⁺ T-ALL 中 CD10 表达 1 例,21 例 CD34⁻ T-ALL 中 CD10 表达 2 例,两者比较差异无统计学意义(χ² = 1.36, P = 0.24)。胞浆抗原的表达:cCD3 和 cCD79 阳性表达率分别为 100% 和 96%。

2.2 染色体及融合基因检查

8 例行染色体检查,其中 1 例为超二倍体;1 例染色体易位,形成 Ph⁺ 染色体。5 例行融合基因检测,其中 2 例 MLL 基因重排异常,1 例为 SIL/TAL1 阳性。

表 1 免疫分型与 FAB 分类的关系 (例)

FAB 分型	例数	T 系			B 系				髓系				干细胞抗原		胞浆抗原	
		CD3	CD5	CD7	CD10	CD19	CD20	CD22	CD13	CD14	MPO	CD33	HLA-DR	CD34	cCD3	cCD79
L1	4	4	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	4	4
L2	19	18	10	15	2	3	0	2	2	0	0	1	4	4	19	18

2.3 23例 T-ALL 的免疫分型与首次化疗 CR 的关系

除 CD3 的表达与 T-ALL 首次化疗 CR 有关外,其余白细胞抗原的表达均与首次化疗 CR 无关。见表 2。

表 2 23 例 T-ALL 的免疫分型与首次化疗 CR 的关系						
	阳性组	CR 例数	阴性组	CR 例数	χ^2 值	P 值
T 系						
CD3	22	9	1	1	8.24	0.03
CD5	10	5	13	11	1.18	0.17
CD7	16	9	7	7	2.58	0.06
B 系						
CD10	3	3	20	13	1.51	0.53
CD19	4	3	19	13	0.68	1.0
CD20	1	1	22	20	0	1.0
CD22	2	2	21	18	0	1.0
髓系						
CD13	2	1	21	15	0.40	0.53
CD14	1	0	22	16	0.19	0.30
CD33	2	2	21	14	0.03	1.0
MPO	1	1	22	15	0	1.0
干细胞						
CD34	4	4	19	12	0.74	0.27
HLA-DR	5	4	18	12	0	1.0

3 讨论

急性白血病是儿童最常见的恶性肿瘤,长期以来主要通过骨髓细胞形态学和细胞组织化学进行诊断(FAB 分类法),但 FAB 分类法不能显示细胞来源、分化阶段及预后情况。而流式细胞仪克服了上述缺陷,根据白血病细胞相应的特征性抗原分为 B-ALL 和 T-ALL^[5]。由于 T-ALL 的细胞组织起源及增殖周期等方面的特点,导致细胞突变快,易转移,细胞凋亡率低,残留白血病克隆多,易复发,且复发早^[1],因此在临床上,T-ALL 引起了临床医师极大关注。本组资料显示 T-ALL 占儿童 ALL 的 16.6%,与文献报道基本一致^[6]。本研究 23 例 T-ALL 的 FAB 分类结果以 L2 为主。另外 T-ALL 年长男童发病比例高于女童,本研究男女比例为 2.8:1,平均发病年龄为 7.1 岁,与文献报道基本一致^[7]。

T 系抗原中最常见的抗原原有 CD3、CD5、CD7。CD3 是 T-ALL 诊断的特异性和敏感性均较高的指标;CD7 是 T 系的良好标志,具有多向分化潜能的造血干/祖细胞阶段也可表达此抗原。而 CD7 和 CD3 一般在 B-ALL 中无表达,可用于 T-ALL 和 B-ALL 的鉴别诊断,CD5 在 T-ALL 中表达率高,但在 B-ALL 中也有部分表达,特异性低于 CD3 和 CD7。

本研究 23 例 T-ALL 患儿中 T 系抗原阳性率表达最高的为 CD3 (96%),其次为 CD7 (70%)、CD5 (43%),与文献报道不相符^[7]。同时 CD3⁺ T-ALL CR 率明显低于 CD3⁻ T-ALL,两者比较差异有统计学意义。提示 CD3 的表达影响儿童 T-ALL 的 CR 率,是一种预后不好的标志。CD10 是普通型 B-ALL 细胞上一种相关抗原,本研究 CD10 的阳性率为 13%,与欧洲急性白血病免疫分型小组将 CD10 作为 T-ALL 的标志的报道不一致^[8],其原因可能与人种和地区不同有关。本研究 CD34⁺ T-ALL CD10 的表达与 CD34⁻ T-ALL 比较差异无统计学意义,与 Abdelhaleem 等^[9]报道一致。CD19、CD20 和 CD22 是 B-ALL 敏感性和特异性高的一个标志,本研究 23 例 T-ALL 患儿中 CD19、CD20、CD22 阳性表达率分别为 17%、4%、9%,与文献报道不一致^[7]。由于将淋巴细胞抗原阳性标准设为 30% 以上,由此 B 系抗原表达在 T-ALL 中的表达不影响 T-ALL 的诊断。

一般认为,骨髓系抗原表达的 ALL 起源于比淋巴定向干祖细胞更原始的干细胞。10%~30% ALL 患儿白血病细胞表达髓系抗原(My⁺ ALL),13%~16% T-ALL 表达 CD13 或 CD33,单核细胞特异性标志 CD14 在 T-ALL 基本不表达^[10]。本组 23 例中 4 例伴有 My 表达(17%),其中 CD13、CD33 阳性率高于 CD14 和 MPO。ALL 患儿白血病细胞 My 表达的临床意义还存在争议,部分学者认为 My⁺ ALL 预后差^[11],而目前大部分学者认为 My 表达与临床特征及预后无相关性。本研究结果提示 My 表达不影响儿童 ALL 的预后,与 Estes 等^[12]研究一致。

CD34 是造血干细胞的特异性标记。Estes 等^[12]研究儿童 ALL CD34 表达,发现其与免疫分型有密切关系。本研究中 CD34 阳性率为 17%,CD34⁺ T-ALL CR 率与 CD34⁻ T-ALL 差异无统计学意义,与 Sazawal 等^[13]报道不一致。

细胞遗传学研究发现,ALL 的染色体有数量和结构异常两种,两种异常可彼此单独存在或相伴发生^[14]。近年来染色体异常对 ALL 预后的影响日益受到重视,目前与 ALL 预后密切相关的染色体有 t(12;21)、t(9;22)、t(4;11);融合基因有 BCR-ABL、MLL-AF4。本研究 8 例行染色体检查,其中 1 例为超二倍体;1 例染色体易位,形成 Ph⁺ 染色体。5 例行融合基因检测,其中 2 例 MLL 基因重排异常,1 例为 SIL/TAL1 阳性。综上所述,免疫表型分析是诊断儿童 T-ALL 的重要手段,T-ALL 免疫表型存在一定异质性,这或许是导致 T-ALL 临床表现异质性的主要原因。因此应结合细胞遗传学及分子遗

传学研究结果,进行 T-ALL 的预后判断。

[参 考 文 献]

[1] Coustan-Smith E, Sandlund JT, Perkins SL, Chen H, Chang M, Abromowitch M, et al. Minimal disseminated disease in childhood T-cell lymphoblastic lymphoma; a report from the children's oncology group[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(21):3533-3539.

[2] 蔡耘,陈惠芹,李晓峰,窦娟,王清文,何政贤. 111 例儿童急性淋巴细胞白血病免疫分型与临床研究[J]. 中国热带医学, 2009, 9(6):1039-1042.

[3] 顾龙君. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第三次修订草案)[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(5):392-395.

[4] 黄婕,何璐璐,方拥军,芮耀耀,周莉,陆勤,等. 儿童急性白血病免疫表型及临床研究[J]. 医学临床研究, 2008, 25(12):2159-2162.

[5] Smock KJ, Nelson M, Tripp SR, Sanger WG, Abromowitch M, Cairo MS, et al. Characterization of childhood precursor T-lymphoblastic lymphoma by immunophenotyping and fluorescent in situ hybridization; a report from the Children's Oncology Group[J]. Pediatr Blood Cancer, 2008, 51(4):489-494.

[6] 叶启东,顾龙君,汤静燕,薛惠良,陈静,潘慈,等. 儿童 T 系急性淋巴细胞白血病的临床研究[J]. 中华血液学杂志, 2009, 30(1):26-28.

[7] Sidhom I, Shaaban K, Soliman S, Ezzat S, El-Anwar W, Hamdy N, et al. Clinical significance of immunophenotypic markers in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. J Egypt Natl Canc Inst, 2008, 20(2):111-120.

[8] 陈丽娟,李建勇,吴雨洁,杨慧,钱思轩,吴汉新,等. T 细胞急性淋巴细胞白血病免疫表型分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(4):692-695.

[9] Abdelhaleem M. The expression of cytoplasmic CD79a correlates with surface CD3 expression in childhood T-ALL lymphoblasts[J]. Leuk Res, 2008, 32(3):511-512.

[10] Cox CV, Martin HM, Kearns PR, Virgo P, Evelyn RS, Blair A. Characterization of a progenitor cell population in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 2007, 109(2):674-682.

[11] Gottardo NG, Hoffmann K, Beesley AH, Freitas JR, Firth MJ, Perera KU, et al. Identification of novel molecular prognostic markers for paediatric T-cell acute lymphoblastic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2007, 137(4):319-328.

[12] Estes DA, Lovato DM, Khawaja HM, Winter SS, Larson RS. Genetic alterations determine chemotherapy resistance in childhood T-ALL: modelling in stage-specific cell lines and correlation with diagnostic patient samples[J]. Br J Haematol, 2007, 139(1):20-30.

[13] Sazawal S, Bakhshi S, Raina V, Swaroop C, Saxena R. Detection and clinical relevance of BCR-ABL fusion gene in childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia; a report on 4 cases[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2009, 31(11):850-852.

[14] Mansur MB, Emerenciano M, Splendore A, Brewer L, Hassan R, Pombo-de-Oliveira MS, et al. T-cell lymphoblastic leukemia in early childhood presents NOTCH1 mutations and MLL rearrangements[J]. Leuk Res, 2010, 34(4):483-486.

(本文编辑:黄 榕)

· 消息 ·

欢迎订阅 2011 年《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊,北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威检索机构美国 MEDLINE、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊。同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊,每月 15 日出版,向国内外公开发行。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价 12 元,全年 144 元。邮发代号:国内 42-188;国外 3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免收审稿费。审稿周期 4~6 周。欲浏览本刊或投稿,请登录本刊网站。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008
电话:0731-84327402 传真:0731-84327922 Email: ddek7402@163.com
网址: [http:// www.cjcp.org](http://www.cjcp.org)