

·论著·

160例儿童急性白血病免疫表型分析

高怡瑾,吴玥,陈笑韵,陆凤娟,吴长根

(复旦大学儿科医院血液科,上海 200032)

[摘要] 目的 免疫表型可以确定细胞的来源和分化阶段,是急性白血病的重要生物学特征。该文了解儿童急性白血病(AL)抗原表达规律、分布情况并探讨其临床意义。方法 采用流式细胞术直接或间接免疫荧光法检测160例儿童AL的免疫表型。结果 160例AL中,急性淋巴细胞白血病(ALL)112例,急性髓细胞白血病(AML)48例。112例ALL中,T系ALL 12例(10.7%);B系ALL(不包括成熟B-ALL)93例(83.0%)。ALL中,13.8%有髓系抗原表达,以CD33阳性最常见;AML中,40%有淋系抗原表达,以CD7阳性率最高。儿童AML淋系抗原表达阳性率高于儿童ALL髓系抗原表达($P < 0.01$)。CD14在儿童M4和M5的表达频率为77.8%。B系ALL中CD34阳性率58.5%。AML中,CD34的表达频率为55.3%,其中M1和M2的CD34阳性率为76.5%,高于其它AML病人的CD34阳性率(43.3%), $P < 0.05$ 。HLA-DR抗原在M3的表达频率为11.1%,低于其它类型AML病人的HLA-DR阳性率(76.3%), $P < 0.01$ 。B系ALL中,CD34表达与FAB分型、起病时白细胞数、髓外浸润情况均无关($P > 0.05$);CD34⁻组婴幼儿白血病发生率(17.6%)高于CD34⁺组(4.2%), $P < 0.05$ 。结论 HLA-DR阴性对于M3的诊断具有一定参考价值。 [中国当代儿科杂志,2004,6(1):30-33]

[关键词] 白血病,急性;免疫表型;流式细胞术

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2004)01-0030-04

Analysis of the immunophenotype of 160 cases of childhood acute leukemia

YiJin GAO, Yue WU, XiaoYun CHEN, FengJuan LU, ChangGen WU. Department of Hematology, Children's Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China (Email: gaoyijin@hotmail.com)

Abstract: **Objective** The immunophenotype, which can identify origins and differentiation phases of cells, is an important biological character of childhood acute leukemia (AL). This paper aims at studying the characteristics and distribution of childhood AL. **Methods** The cell-surface or cytoplasmic antigens were detected by flow cytometry with a standard direct or indirect immunofluorescence assay in 160 children with AL. **Results** Among the 160 cases of AL, 112 were acute lymphoblastic leukemia (ALL) and 48 were acute myelogenous leukemia (AML). Among the 112 cases of ALL, 12 were T-lineage ALL (T-ALL) (10.7%) and 93 were B-lineage ALL (B-ALL) (apart from mature B-ALL) (83.0%); the myeloid antigen expression was noted in 13.8% of the cases with the most common expression of positive CD33. Among the 48 cases of AML, the lymphoid antigen expression was positive in 40%, with the highest frequency of CD7. The frequency of the lymphoid antigen expression in AML cases was higher than that of the myeloid antigen expression in ALL cases ($P < 0.01$). The frequency of CD14 expression in childhood M4 and M5 AML was 77.8%. The positive CD34 of the B-ALL cases was found in 58.5% of the cases, and that of the AML cases in 55.3% of the cases, in which those of M1 and M2 AML cases was 76.5%, higher than those of the cases with other types of AML (43.3%) ($P < 0.05$). The HLA-DR expression was 11.1% in M3-AML cases, lower than that in the other types of AML cases (76.3%) ($P < 0.01$). Among the B-ALL cases, the CD34 expression was unrelated to the French-American-British classification, initial WBC counts and extramedullary infiltration. The incidence of infantile leukemia in cases with negative CD34 (17.6%) was higher than in cases with positive CD34 (4.2%) ($P < 0.05$). **Conclusions** The detection of HLA-DR expression may be helpful in the diagnosis of M3-AML.

[Chin J Contemp Pediatr, 2004, 5(6):30-33]

Key words: Leukemia, acute; Immunophenotype; Flow cytometry

[收稿日期] 2002-10-25; [修回日期] 2003-04-08

[作者简介] 高怡瑾(1971-),女,博士,主治医师。主攻方向:儿童血液肿瘤。

[通讯作者] 高怡瑾,上海市枫林路183号复旦大学儿科医院,邮编:200032。

免疫表型是指用已知的单克隆抗体(单抗)鉴定细胞表面或细胞内的免疫标志,以确定细胞的来源和分化阶段,是儿童急性白血病(acute leukemia, AL)重要的生物学特征。近年,随着单抗技术的发展,特别是与流式细胞术(FCM)的联合应用,使98%以上的白血病细胞得以鉴别其系别来源^[1]。FCM免疫表型分析已成为AL诊断、分型的重要手段。本文对160例AL患儿进行免疫表型检测,并对各抗原表达规律、分布情况及临床意义进行讨论。

1 对象和方法

1.1 对象

1996年1月至2001年12月我院收治的初治儿童AL共193例。其中160例进行免疫表型的检测,年龄1月~13岁,中位年龄6岁,男95例,女65例。按FAB分型,急性淋巴细胞白血病(ALL)112例,其中L1型78例,L2型30例,L3型4例;急性髓细胞白血病(AML)48例,其中M1型3例,M2型14例,M3型9例,M4型5例,M5型13例,M6型3例,M7型1例。

1.2 免疫表型检测

治疗前采集患者的骨髓2 ml(幼稚细胞比例≥70%),肝素抗凝,24 h内检测。常规分离单个核细胞。采用FCM直接免疫荧光法或间接免疫荧光法

检测。以荧光标记的鼠抗人IgG为阴性对照。所用单抗包括:T淋巴细胞系为CD2,CD3,胞浆内CD3(cyCD3)和CD7;B淋巴细胞系为CD10,CD19,CD22,cyCD22,胞浆内免疫球蛋白重链μ(cyIgMμ)和细胞表面免疫球蛋白重链μ(sIgMμ);髓系为CD13,CD33,CD14,CD41,抗血型糖蛋白,CD71;非系列特异性单抗为HLA-DR,CD45,CD34。每次测定10 000个细胞,各抗原阳性细胞数>20%有意义,CD34,cyIgMμ和sIgMμ阳性细胞数>10%有意义^[2]。

1.3 ALL 免疫分型判断标准

儿童ALL分为B淋巴细胞系和T淋巴细胞系(CD7⁺、CD2^{+/+}、cyCD3^{+/+}、CD3^{+/+})。B淋巴细胞系ALL按免疫表型又分为早前B-ALL(CD19⁺、CD10⁻、cyIgMμ⁻、sIgMμ⁻)、普通B-ALL(CD19⁺、CD10⁺、cyIgMμ⁻、sIgMμ⁻)、前B-ALL(CD10[±]、cyIgMμ⁺、sIgMμ⁻)和成熟B-ALL(sIgMμ⁺)。杂合型ALL诊断按EGIL抗原积分系统(表1)^[3]。

1.4 试剂和仪器

各单抗分别购自Beckman Coulter公司或Pharmingen公司。流式细胞仪型号为FACScan(Becton Dickinson),10 mV氩离子激光光源,激发功率200 mW,发射波长488 nm。

1.5 统计学方法

采用χ²检验,四格表精确检验法。

表1 EGIL 双表型白血病积分系统*

Table 1 Biphenotypic acute leukemia scoring system (EGIL)			
分型\积分	1.5	1	0.5
B系	CD22(cy/s), IgM(cy/s), CD19	CD20, CD24	CD10, CD21, D37
T系	CD3(cy/s), TCR	CD8	CD1, CD2, CD4, CD5, CD6, CD7
髓系	MPO(组化)抗MPO单抗	CD13, CD14, D33, CD65	CD116, CD15, CD35, CD36

注: * 系属最低积分2.0分

2 结果

2.1 ALL 各亚型分布情况

112例ALL中T系ALL 12例(10.7%);B系ALL(不包括成熟B-ALL)93例(83.0%),其中早前B-ALL(early pre-B-ALL)5例,普通B-ALL(CALL)26例,前B-ALL(pre-B-ALL)12例,42例为CALL或pre-B-ALL(因未检测cyIg),8例早期病人因抗原检测不全面而无法进一步分析;成熟B-ALL(mature B-ALL)3例(2.7%);杂合型ALL 2例(1.8%);2例无相关抗原表达(null-ALL)(1.8%)。

2.2 ALL 髓系相关抗原表达情况

除杂合型ALL,另有94例(94/112)ALL患儿进行髓系抗原检测,13例(13.8%)病人有髓系抗原表达,以CD33阳性最常见,阳性率6.7%(6/90);其次为CD13,阳性率3.5%(3/85)。

2.3 AML 免疫表型情况

48例AML中,有45例检测淋系抗原,其中18例(40%)有淋系抗原表达,高于儿童ALL髓系抗原表达阳性率(χ²=12.02, P<0.01),其中以CD7阳性率最高为25%(8/32),其次CD10为13.6%(6/44)。CD14在AML M4和M5的表达频率为77.8%(14/18)。48例AML中,CD34阳性率为

55.3 % (26/ 47) ;其中 M1 和 M2 的 CD34 阳性率为 76.5 % (13/ 17) ,高于其它类型 AML CD34 的阳性率 43.3 % (13/ 30) ($P < 0.05$) 。HLA-DR 抗原在 M3 病人的表达频率为 11.1 % (1/ 9) ,明显低于其它类型 AML 病人的 HLA-DR 阳性率 76.3 % (29/ 38) ($\chi^2 = 13.40$, $P < 0.01$) 。

2.4 CD34 抗原表达及儿童 B 系 ALL CD34⁺ 与 CD34⁻ 组的临床特征分析

142 例 AL 病人 (95 例 ALL ,47 例 AML) 进行 CD34 检测 ,阳性率为 56.3 % (80/ 142) 。AML 中 CD34 阳性率为 55.3 % (26/ 47) 。ALL 中 CD34 阳性率为 56.8 % (54/ 95) ,B 系 ALL 中 CD34 阳性率 58.5 % (48/ 82) ,T 系 ALL 中 CD34 阳性率 36.4 % (4/ 11) 。从临床特征比较 ,CD34⁻ B 系 ALL 组中婴幼儿白血病 (年龄 ≤ 18 月) 的发生率高于 CD34⁺ 的 B 系 ALL ($P < 0.05$) ,其它如起病时高白细胞数、脑膜白血病发生率和 L1 所占比例差异均无显著性 ($P > 0.05$) 。见表 2。

表 2 儿童 B 系 ALL CD34⁺ 和 CD34⁻ 组临床特征

Table 2 Clinical features of B-lineage ALL with positive CD34 expression or negative CD34 expression 例 (%)

	例数	外周血 白细胞 > 50 $\times 10^9$ /L	L1 比例	脑膜白 血病发 生率	婴幼儿 白血病 发生率
CD34 ⁺	48	4 (8.3)	35 (72.9)	0 (0)	2 (4.2)
CD34 ⁻	34	3 (8.8)	26 (76.5)	2 (5.9)	6 (17.6)
P 值		> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05

3 讨论

儿童 ALL 可分为 B 系 ALL、成熟 B-ALL、T 系 ALL、null-ALL 和杂合型 ALL。我们的结果显示, 112 例 ALL 中 B 系占 83.0 % (8 例早期病人因抗原检测不全无法进一步分析) ,其中早前 B-ALL 4.8 % (5/ 104) ,普通 B-ALL 和前 B-ALL 共占 76.9 % (80/ 104) ;成熟 B-ALL 占 2.7 % ;T 系 ALL 占 10.7 % ;null-ALL 占 1.8 % 。与国外文献报道基本相似^[1,4]。成人 ALL 髓系相关抗原表达阳性率高于儿童,一般在 30 % 左右,而儿童 ALL 髓系相关抗原阳性率不会超过 24 %^[4] ,CD13 和/或 CD33 的阳性率约 5 % ~ 10 %^[11]。本组资料,髓系抗原阳性的 ALL 占 13.8 % ,CD33 和 CD13 的阳性率分别为 6.7 % 和 3.5 %。随着化疗方案不断加强,多数国外学者认

为,儿童 ALL 髓系抗原表达与长期预后无关^[4] ,本文因随访时间尚短,无法进行比较,但从临床特征分析,髓系抗原表达与 FAB 分型、白细胞数、髓外浸润情况均无关。

国外资料^[2] 儿童 ALL CD34 的表达频率约为 70 % ,其中 B 系 ALL 为 75 % ,T 系 ALL 为 46 % ;儿童 CD34⁺ B 系 ALL 预后优于 CD34⁻ B 系 ALL。国内对 CD34 抗原表达临床意义探讨的文献不多,但报道的 CD34 阳性率较国外文献低^[5-7]。吴晓芝等^[5]报道 CD34⁺ 组 ALL 起病时外周血 WBC 高,脑膜白血病的机会增加,均与本组资料结果不同。故关于中国儿童 ALL CD34 抗原的表达频率及与预后的关系还有待进一步研究、随访。

免疫表型在 AML 诊断及预后评价中的意义不及 ALL ,但对于某些 AML 亚型 (如 M0、M6 和 M7) 的诊断相应单抗的表达至关重要。本组 48 例 AML 病儿的免疫表型检测结果可归纳为以下几点: ①儿童 AML 淋系抗原表达阳性率 (40 %) 高于儿童 ALL 髓系抗原表达阳性率,其中以 CD7 阳性率最高,其次为 CD10。国外有文献报道,儿童 AML 淋系抗原表达阳性率可高达 60 %^[4] ; ②CD14 在成人 AML M4、M5 表达频率大约为 70 %^[8] ,本组 18 例 M4 和 M5 中,CD14 阳性者占 77.8 % ,基本一致。一般认为,对于 M4 和 M5 的诊断,CD14 较 CD15 更具特异性^[3] ,因 CD15 在 M2 也常阳性; ③本组儿童 AML 以 M1 和 M2 病人 CD34 的阳性率最高; ④国外文献报道,HLA-DR 在 M3 表达频率较低^[9,10] ,国内翟志敏等^[11]也报道 24 例 M3 HLA-DR 均阴性,本文 9 例 M3 病人仅 1 例表达 HLA-DR,表达频率明显低于其它类型 AML。故 HLA-DR 阴性对于 AML M3 的诊断具有一定参考价值。

[参 考 文 献]

[1] Hann IM, Richards SM, Eden OB, Hill FGH. Analysis of the immunophenotype of children treated on the Medical Research Council United Kingdom Acute Lymphoblastic Leukemia Trial (MRC UKALL XI) [J]. Leukemia, 1998, 12 (8): 1249 - 1255.

[2] Pui C-H, Hancock ML, Head DR, Rivera GK, Look AT, Sandlund JT, et al. Clinical significance of CD34 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1993, 82 (3): 889 - 894.

[3] Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, On-fao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemia. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) [J]. Leukemia, 1995, 9 (10): 1783 - 1786.

[4] Pui CH, Behm FG, Crist WM. Clinical and biologic relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1993, 82(2): 343 - 362.

[5] 吴晓芝,王国柱,黄秀霞,李霞,胡宛如. 小儿急性淋巴细胞白血病髓系抗原和 CD34 表达的分析 [J]. 中国小儿血液,2001, 6(6): 244 - 245.

[6] 万岁桂,巩文玉,孙雪静,徐娟,田丁. 86 例儿童急性淋巴细胞白血病三色流式细胞术免疫分型研究 [J]. 中华血液学杂志, 2002, 23(2): 83 - 86.

[7] 张学兰,何亚香,柴忆欢. 急性淋巴细胞白血病 85 例免疫表型分析 [J]. 实用儿科临床杂志,2000, 15(2): 67 - 68.

[8] Lauria F, Raspadori D, Ventura MA, Rondelli D, Testoni N, Tosi P, et al. The presence of lymphoid-associated antigens in adult acute myeloid leukemia is devoid of prognostic relevance [J]. Stem Cells, 1995, 13(4): 428 - 434.

[9] Gugliemi C, Martelli MP, Diverio D, Fenu S, Vegna ML, Cantù-Rajnoldi A, et al. Immunophenotype of adult and childhood acute promyelocytic leukemia: correlation with morphology, type of PML gene breakpoint and clinical outcome. A cooperative Italian study on 196 cases [J]. Br J Hematol, 1998, 102(4): 1035 - 1041.

[10] Khalidi HS, Medeiros LJ, Chang KL, Brynes RK, Slovak ML, Arber DA. The immunophenotype of adult acute myeloid leukemia: high frequency of lymphoid antigen expression and comparison of immunophenotype, French-American-British classification, and karyotypic abnormalities [J]. Am J Clin Pathol, 1998, 109(2): 100 - 220.

[11] 翟志敏,何晓东,戴海明,孙自敏. 112 例成人急性白血病免疫分型 [J]. 中华血液学杂志,2001, 22(12): 633 - 635.

(本文编辑:谢岷)

· 消息 ·

2004 年西部、东北地区儿科医师和护士培训计划

上海第二医科大学附属上海儿童医学中心是上海第二医科大学代表上海市人民政府与美国世界健康基金会(Project HOPE)合作,由上海第二医科大学附属新华医院负责筹建和一体化管理的现代化儿科医疗、医学和研究中心。

上海儿童医学中心建立西部边远地区儿科医师和护士培训项目,不但符合上海儿童医学中心的宗旨,也对提高这些地区儿童健康水平有重要的意义。2002、2003 年西部培训计划取得了良好效果。“2004 Robert W. Miller 奖学金”继续由美国 Search Holdings 投资公司的主席 Robert W. Miller 先生通过世界健康基金会向上海儿童医学中心提供。

培训地区:云南、贵州、广西、四川、重庆、西藏、陕西、宁夏、内蒙古、新疆、青海、辽宁、吉林、黑龙江

要求:①进修医生:三级医院,本科毕业,主治医师,8 年以上儿科临床经验,45 岁以下,有一定英语水平。

②进修护士:三级医院,中专以上学历,5 年以上儿科护理经验,有一定英语水平。

培训科目:心血管内科、血液肿瘤科、儿童保健科、小儿外科、小儿骨科、急救与 PICU 科、新生儿与 NICU 科、普内科。

培训时间:2004 年 7 月至 2005 年 6 月

Robert W. Miller 奖学金:凡获得奖学金者将享有免收进修费、住宿费并给予生活津贴(医生 1000 元/年,护士 8000 元/年)。

报名办法:请报名者将个人简历、进修科目、一位正高级职称医师推荐信、盖有单位公章的介绍信于 2004 年 5 月 1 日前寄联系人。2004 年 6 月初面试。

联系地址:上海东方路 1678 号,邮编:200127

上海儿童医学中心 医务部(科教)

电话:021 - 58732020 ×6023,13601660585

传真:021 - 58393915

联系人:敖黎明主任

上海第二医学大学附属上海儿童医学中心