

论著·临床研究

## 儿童急性淋巴细胞白血病免疫分型特征及其临床意义

张耀东<sup>1</sup> 谭利娜<sup>1</sup> 胡群<sup>2</sup> 卫海燕<sup>1</sup> 张小玲<sup>2</sup> 熊昊<sup>3</sup>

(1. 郑州市儿童医院, 河南 郑州 450052; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北 武汉 430030; 3. 武汉市儿童医院, 湖北 武汉 430000)

**【摘要】** 目的 探讨急性淋巴细胞白血病(ALL)患儿的免疫分型及其与临床特征的关系。方法 139例ALL患儿为研究对象,取肝素抗凝的骨髓或静脉血2~3 mL,利用流式细胞仪进行免疫分型分析。结果 139例ALL患儿中,B-ALL 103例(74.1%),T-ALL 24例(17.3%),T/B双表型ALL 12例(8.6%)。B-ALL主要表达的抗原有CD19(90.3%)、CD10(83.5%)、CD20(27.2%)。T-ALL主要表达的抗原有CD3(79.2%)、CD7(66.7%)、CD5(33.3%)。B/T-ALL主要表达的T系抗原有CD7(50.0%)、CD5(41.7%);B系抗原有CD19(50.0%)、CD10(33.3%)。139例ALL患儿中,32例伴髓系抗原表达(My<sup>+</sup>),主要表达的抗原有CD13、CD33、CD14、MPO等。139例ALL患儿中,31例表达CD34;而My<sup>+</sup>ALL中CD34阳性表达(15.6%)明显低于My<sup>-</sup>ALL(24.3%)。139例ALL患儿中,82例表达HLA-DR。CD10、CD34、HLA-DR在标危、中危、高危型ALL中的表达差异有统计学意义。My<sup>+</sup>ALL组性别、出血发生率与My<sup>-</sup>ALL组比较差异有统计学意义(P<0.05)。结论 免疫分型可正确区分儿童ALL的来源。CD10、CD34、HLA-DR抗原表达与ALL的临床分型有关。

[中国当代儿科杂志,2012,14(3):188-191]

**【关键词】** 免疫表型;急性淋巴细胞白血病;儿童

**【中图分类号】** R733.71 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1008-8830(2012)03-0188-04

### Immunophenotyping and its clinical significance in childhood acute lymphoblastic leukemia

ZHANG Yao-Dong, TAN Li-Na, HU Qun, WEI Hai-Yan, ZHANG Xiao-Ling, XIONG Hao. Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450053, China (Hu Q, Email:syek@163.com)

**Abstract: Objective** To study the immunophenotype and its relationship with clinical characteristics in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** Bone marrow or blood samples (2-3 mL) with heparin anticoagulation from 139 children with ALL were obtained, and immunophenotypes were identified by flow cytometry. **Results** In 139 ALL children, there were 103 cases (74.1%) of B-ALL, 24 cases (17.3%) of T-ALL, 12 cases of T/B biphenotypic (8.6% of T/BALL). In the 103 children with B-ALL, CD19 (90.3%), CD10 (83.5%) and CD20 (27.2%) were expressed as major antigens. In the 24 children with T-ALL, the major antigens were CD3 (79.2%), CD7 (66.7%) and CD5 (33.3%). In the 12 children with B/T-ALL, T-lymphoid antigens included CD7 (50.0%) and CD5 (41.7%), while the B-lymphoid antigens included CD19 (50.0%) and CD10 (33.3%). Of the 139 children with ALL, 32 cases (23.0%) showed myeloid antigen expression (My<sup>+</sup> ALL) and the main expression antigens were CD13, CD33, CD14 and MPO. CD34 was expressed in 31 cases. CD34-positive expression (15.6%) in My<sup>+</sup> ALL children was significantly lower than in My<sup>-</sup> ALL children (24.3%). HLA-DR was expressed in 82 of the 139 ALL children. The expression of CD10, CD34 and HLA-DR in the standard-risk, medium risk, high-risk ALL children was significantly different. There were significant differences in gender and incidence of bleeding between the My<sup>+</sup> ALL and My<sup>-</sup> ALL groups (P<0.05). **Conclusions** Immunotyping can differentiate the sources of leukemic cells. The expression of CD10, CD34 and HLA-DR antigen is related to the clinical classification of ALL. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14 (3):188-191]

**Key words:** Immunophenotype; Acute lymphoblastic leukemia; Child

随着流式细胞术的发展和各类荧光单克隆抗体的广泛使用,急性淋巴细胞白血病(ALL)的免疫分

[收稿日期]2011-10-02;[修回日期]2011-10-23

[作者简介]张耀东,男,博士,主治医师。

[通信作者]胡群,教授。

型日趋完善,已成为判定白血病细胞系列的来源及分化阶段的重要依据,对白血病的诊断、治疗及预后判断都有重要意义<sup>[1]</sup>。为进一步了解 ALL 的免疫分型特征,本研究对 139 例儿童 ALL 的免疫分型结果进行分析,现将结果报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选择 2000 年 1 月至 2009 年 4 月华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科收治的 ALL 患儿 139 例。男 89 例,女 50 例;年龄 6 个月至 14 岁。临床分型:标危型 41 例,中危型 26 例,高危型 72 例。所有患儿均经骨髓细胞形态学检查,组织化学染色诊断为 ALL<sup>[2]</sup>,同时抽取患儿骨髓或外周血进行免疫分型。

### 1.2 免疫分型检测方法

化疗前取 ALL 患儿肝素抗凝的骨髓液或外周血 2~3 mL,每管加入骨髓或外周血 50 μL 及相应的标记抗体各 20 μL,4 °C 条件下反应 20~30 min,再加入 2 mL 红细胞裂解液,振荡后室温静置 10 min,0.01 mol/L PBS 液洗 3 次,再加入 500 μL PBS 液混匀,最后利用 FACSCan 流式细胞仪进行免疫分型检测。每管获取 10000 个细胞,应用 Cellquest 软件进行抗原表达分析。阳性判断标准:淋系抗原阳性细胞数 ≥30%;髓系抗原阳性细胞数 ≥20%<sup>[3]</sup>。

### 1.3 化疗方案

ALL 患儿按全国小儿白血病协作组制定的 VDLP(V:长春新碱;D:柔红霉素;L:左旋门冬酰胺酶;P:泼尼松)方案行首次诱导缓解治疗。临床疗效判定标准参照文献<sup>[1]</sup>。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件对数据进行分析,数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )或百分率表示,两样本率的比较采用  $\chi^2$  检验,均数比较采用  $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ALL 的免疫分型特征

139 例 ALL 患儿中,免疫分型:B-ALL 103 例(74.1%),T-ALL 24 例(17.3%),T/B 双表型 12 例(8.6%);FAB 分型:L1 37 例(26.6%),L2 89 例(64.0%),L3 7 例(5.0%),未能分型 6 例

(4.4%)。提示免疫分型与 FAB 分型的符合率为 95.7% (133/139)。

103 例 B-ALL 表达的 B 系抗原主要有 CD19 (90.3%)、CD10 (83.5%)、CD20 (27.2%); T 系抗原主要有 CD7 (3.4%)。24 例 T-ALL 表达的 T 系抗原主要有 CD3 (79.2%)、CD7 (66.7%)、CD5 (33.3%)。12 例 B/T-ALL 表达的 T 系抗原主要有 CD7 (50.0%)、CD5 (41.7%); B 系抗原主要有 CD19 (50.0%)、CD10 (33.3%)。

139 例 ALL 患儿中,32 例(23.0%)骨髓系抗原表达 ( $My^+$ ),表达的抗原主要有 CD13、CD33、CD14、MPO,表达率分别为 11.5% (16/139)、10.1% (14/139)、8.6% (12/139)、5.7% (11/139)。CD13 在 B-ALL 中的表达率为 12.6% (13/103),与 T-ALL 的 8.3% (2/24) 比较,差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.03, P > 0.05$ ); CD33 在 B-ALL 中的表达率为 9.7% (10/103),与 T-ALL 的 83% (2/24) 比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。B/T-ALL 表达的髓系抗原主要有 MPO 25.0% (3/12)、CD33 16.7% (2/12) 及 CD14、CD13 各 8.3% (各 1/12)。

139 例 ALL 患儿中,31 例(22.3%)表达 CD34,其中在 B-ALL、T-ALL、T/B-ALL 的表达率分别为 22.3%、16.7%、33.3%; CD34 在  $My^+$  ALL 中的表达率为 15.6%,在  $My^-$  ALL 中为 24.3%,二者相比差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.63, P < 0.05$ )。139 例 ALL 患儿中,82 例表达 HLA-DR。HLA-DR 在 B-ALL、T-ALL、T/B-ALL 的表达率分别为 68.0%、20.8%、58.3%。

### 2.2 不同临床分型 ALL 患儿的免疫分型特征

CD10、CD34、HLA-DR 在标危、中危、高危型 ALL 患儿中的表达差异有统计学意义,而 CD19、CD13、CD33、CD14 及 MPO 的表达在 3 组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 不同临床分型 ALL 患儿的免疫分型特征 [n(%)]

组别	n	CD10	CD19	CD13	CD33	CD14	MPO	CD34	HLA-DR
标危	41	30(73)	30(73)	5(12)	4(10)	5(12)	3(7)	8(20)	24(59)
中危	26	15(58)	16(62)	4(15)	3(12)	2(8)	1(4)	8(31)	15(58)
高危	72	49(68)	46(64)	7(10)	7(10)	5(7)	7(10)	16(22)	43(60)
$\chi^2$ 值		18.90	1.28	0.37	0.01	1.31	1.96	11.16	11.16
P 值		<0.01	0.51	0.73	0.96	0.62	0.05	0.01	0.01

### 2.3 ALL 骨髓系抗原的表达与其临床特征的关系

$My^+$  ALL 组与  $My^-$  ALL 组的临床资料见表 2。 $My^+$  ALL 组 32 例,其中男 27 例,女 5 例; $My^-$  ALL 组 107 例,其中男 70 例,女 37 例。两组临床资料进

行比较,结果提示 My<sup>+</sup> ALL 组性别、出血发生率与 My<sup>-</sup> ALL 组比较差异均有统计学意义( $\chi^2 = 4.20$ 、 $20.03$ ,均  $P < 0.05$ );而两组年龄、骨髓幼稚细胞比例、肝脾及淋巴结大等比较差异无统计学意义(均

$P > 0.05$ )。32例 My<sup>+</sup> ALL 患儿中18例获得完全缓解(CR),CR率为56.3%;107例 My<sup>-</sup> ALL 患儿中62例获CR,CR率为57.9%,两组CR率比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.03$ , $P > 0.05$ )。

表2 My<sup>+</sup> ALL 组与 My<sup>-</sup> ALL 组的临床资料比较 [ $\bar{x} \pm s$  或  $n(\%)$ ]

组别	n	性别		年龄 (岁)	骨髓幼稚细胞 比例(%)	WBC ( $\times 10^9/L$ )	Hb (g/L)	PLT ( $\times 10^{12}/L$ )	肝大	脾大	淋巴结大	出血 发生率	CR
		男	女										
My <sup>+</sup> ALL	32	27(84.4)	5(15.6)	8 $\pm$ 4	88 $\pm$ 13	45 $\pm$ 60	71 $\pm$ 24	97 $\pm$ 92	25(78)	17(53)	23(72)	6(19)	18(56)
My <sup>-</sup> ALL	107	70(65.4)	37(34.6)	7 $\pm$ 4	85 $\pm$ 16	58 $\pm$ 119	73 $\pm$ 24	76 $\pm$ 87	78(73)	67(63)	69(65)	43(40)	62(58)
$\chi^2$ 值		4.20		1.15	0.96	-0.60	-0.51	1.17	0.70	0.75	0.92	20.03	0.03
P 值		0.03		0.25	0.34	0.55	0.61	0.25	0.44	0.39	0.34	<0.01	1.24

### 3 讨论

长期以来,儿童 ALL 的诊断主要是依靠骨髓细胞的形态学和组织化学法(FAB 分类法)进行,但由于 FAB 分类法容易受检查者主观因素的影响,还有一些细胞表达信息的特殊性和易变性,导致 FAB 分类法结果的诊断符合率仅为60%~80%。目前随着细胞免疫分型技术的开展,儿童 ALL 的诊断准确率已提高至90%以上<sup>[4]</sup>。

本研究139例 ALL 患儿中,B-ALL 103例,T-ALL 24例,B/T-ALL 12例,FAB 分型与免疫分型的符合率为95.7%,与文献报道的结果基本一致<sup>[5]</sup>。因此,对于儿童 ALL 的诊断,免疫分型可弥补 FAB 分型的不足,并使 FAB 分型的正确率得以提高。

103例 B-ALL 主要表达的 B 系抗原有 CD19 (90.3%)、CD10 (83.5%)、CD20 (27.2%),与文献<sup>[6]</sup>报道一致,提示 CD19 对儿童 B-ALL 诊断的敏感性最高。本研究 T-ALL 主要表达的 T 系抗原有 CD3 (79.2%)、CD7 (66.7%)、CD5 (33.3%),以 CD3、CD7 表达率最高,与文献<sup>[7]</sup>报道的结果基本一致,但低于文献<sup>[8]</sup>报道的表达率(100%),其原因可能与研究对象的来源、试剂选择、检测方法等因素有关,由此提示 CD3、CD7 可作为诊断儿童 T-ALL 的最重要抗原。本研究12例 B/T-ALL 主要表达的抗原有 CD7、CD19、CD5 等。CD34、HLA-DR 均是干祖细胞的相关抗原,其表达对于判定白血病细胞的分化程度很有利。国外文献研究报道 CD34 在儿童 ALL 中表达率约70%,其中 B-ALL 75%,T-ALL 46%<sup>[9]</sup>。本研究32例表达 CD34,其中在 B-ALL、T-ALL、T/B-ALL 的表达率分别为22.3%、16.7%、33.3%,明显低于文献报道结果。本研究82例表达 HLA-DR,其

中在 B-ALL、T/B-ALL、T-ALL 的表达率分别为68.0%、58.3%、20.8%,与文献<sup>[9]</sup>报道结果一致。不同临床分型的 ALL 表达的主要抗原比较中,CD10、CD34、HLA-DR 在标危、中危、高危型 ALL 中的表达差异有统计学意义,而 CD19、CD13、CD33、CD14 及 MPO 则无明显差异。

文献报道髓系抗原在儿童 ALL 的表达率 <24%,其中 CD13 和(或)CD33 表达一般为5%~10%<sup>[10]</sup>。本研究中32例患儿髓系抗原表达,其中 CD13、CD33 表达率为11.5%、10.1%,与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致,但与 Pui 等<sup>[11]</sup>报道结果不一致。其原因可能与各自所用的抗体组合不同、实验操作不统一等因素有关。目前研究结果显示髓系抗原表达与 ALL 的临床表现基本无关,缺乏高危的临床表现<sup>[12]</sup>。本研究结果提示 My<sup>+</sup> ALL 组除性别、出血发生率与 My<sup>-</sup> ALL 组比较有显著差异外,年龄、骨髓幼稚细胞比例、WBC、Hb、PLT、肝大、脾大、淋巴结大、首次化疗后 CR 率方面比较差异均无统计学意义,与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,因此髓系抗原表达不是儿童 ALL 独立的高危因素。

综上所述,免疫学分型不仅可以弥补形态学诊断的不足,而且还能反映一些 FAB 分型无法反映的生物学特性,可为儿童 ALL 的个体化治疗及预后判断提供可靠依据。

### [参 考 文 献]

[1] 熊昊,张耀东,胡群,孙燕,刘双又,张柳清,等. 23例儿童 T 系急性淋巴细胞白血病的生物学特征分析[J]. 中国当代儿科杂志,2010,12(8):605-608.  
[2] 中华医学会儿科学分会血液学组,中华儿科杂志编辑委员会. 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.  
[3] 孔令环,韩梅,鲍彦娜,王雪野,肖中平,陈琳,等. 流式细胞术对急性白血病免疫分型的临床意义[J]. 中国实验诊断学,

- 2010, 14(10):1570-1573.
- [4] Vormoor HJ. Malignant stem cells in childhood acute lymphoblastic leukemia: the stem cell concept revisited [J]. Cell Cycle, 2009, 8(7):996-999.
- [5] Zangrando A, Luchini A, Buldini B, Rondelli R, Pession A, Bicciato S, et al. Immunophenotype signature as a tool to define prognostic subgroups in childhood acute myeloid leukemia [J]. Leukemia, 2006, 20(5):888-891.
- [6] Sachdeva MU, Ahluwalia J, Das R, Varma N, Garewal G. Role of FAB classification of acute leukemias in era of immunophenotyping [J]. Indian J Pathol Microbiol, 2006, 49(4):524-527.
- [7] Bachir F, Bennani S, Lahjouji A, Cherkaoui S, Harif M, Khattab M, et al. Characterization of acute lymphoblastic leukemia subtypes in moroccan children [J]. Int J Pediatr, 2009, 67(4):801.
- [8] Babusikova O, Stevulova L, Fajtova M. Immunophenotyping parameters as prognostic factors in T-acute leukemia patients [J]. Neoplasma, 2009, 56(6):508-513.
- [9] Dakka N, Bellaoui H, Bouzid N, Khattab M, Bakri Y, Benjouad A. CD10 and CD34 expression in childhood acute lymphoblastic leukemia in Morocco: clinical relevance and outcome [J]. Pediatr Hematol Oncol, 2009, 26(4):216-231.
- [10] Steiner M, Attarbaschi A, Dworzak M, Strobl H, Pickl W, Kornmüller R, et al. Cytochemically myeloperoxidase positive childhood acute leukemia with lymphoblastic morphology treated as lymphoblastic leukemia [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2010, 32(1):e4-e7.
- [11] Pui CH, Rubnitz JE, Hancock ML, Downing JR, Raimondi SC, Rivera GK, et al. Reappraisal of the clinical and biologic significance of myeloid-associated antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 1998, 16(12):3768-3773.
- [12] 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.

(本文编辑:邓芳明)

· 消息 ·

## 《中国当代儿科杂志》征订、征稿启事

《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。辟有国外儿科研究、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。网站提供免费全文下载。

为更好地与读者、作者进行沟通互动,我刊于2012年2月入驻国内著名医学媒体丁香园博客,网址:<http://i.dxy.cn/cjcp>。

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>