·临床检验研究论著·

CD64 和 CD14 单核细胞相关性急性髓系白血病诊断中的意义

王　贤，夏永泉，张　葵△

（南京大学附属鼓楼医院检验科，江苏南京 210000）

摘　要：目的　探讨 CD64、CD14 在急性单核细胞相关的髓系白血病免疫分型鉴别诊断中的意义。**方法**　采用 CD45/SSC 散点图设门多参数流式细胞术分析 70 例急性髓系白血病（AML）患者细胞 CD64、CD14 及其他相关抗原的表达情况。**结果**　CD64 在 AML 上的表达情况为：M0（0.0%）、M1（0.0%）、M2（10.5%）、M3（46.2%）、M4（78.6%）、M5（100.0%），其中弱阳性、阳性表达可以出现在各型 AML 中，唯独强阳性表达出现在 M5 中（$P<0.01$）。CD14 在 AML 上的表达情况为 M4（57.1%）、M5（77.8%），其余均为阴性。**结论**　CD64 对诊断 AML 的灵敏度优于 CD14，CD14 的特异度优于 CD64，二者结合有助于提高 AML M4/M5 型的检出率及其与其他 AML 亚型的鉴别诊断。

关键词：白血病，髓样，急性；　流式细胞术；　CD64；　CD14

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.02.014　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)02-0158-02

The significance of CD64 and CD14 expression in differential diagnosis of monocyte lineage involved leukemia

Wang Xian, Xia Yongquan, Zhang Kui△

(*Department of Laboratory Medicine, Affiliated Gulou Hospital of Nanjing University, Nanjing, Jiangsu* 210000, *China*)

Abstract: Objective　To evaluate the usefulness of CD64 and CD14 by flow cytometric immunophenotyping in distinguishing acute myeloid leukemias (AMLs) with monocytic differentiation from other AML subtypes. **Methods**　The expression of CD64, CD14 and other related antigens were analyzed in 70 prime patients with AML by CD45/SSC dot plot gated multi-parameter flow cytometry. **Results**　The positive rates of CD64 were 0.0% in M0, 0.0% in M1, 10.5% in M2, 46.2% in M3, 78.6% in M4, 100.0% in M5. CD64 expressed in varying intensities, which dimly and moderately expressed in all AML subtypes, but strongly expressed in M5 only. CD14 only expressed in M4 (57.1%) and M5 (77.8%). **Conclusion**　The sensitivity of CD64 was higher than CD14 in distinguishing AML with a monocytic component from other AML subtypes, but the specificity of CD14 was higher than CD64. The combination of CD64 and CD14 could be used as a myeloid marker for distinguishing AML with a monocytic component from other AML subtypes.

Key words: leukemia, myeloid, acute;　flow cytometry;　CD64;　CD14

流式细胞术在急性白血病的诊断分型中的作用愈来愈重要。CD14 是单核细胞表面标志物，目前被普遍应用于鉴别单核细胞相关性急性髓系白血病（AML）和其他亚型的 AML；但 CD14 在单核细胞相关性 AML（M4/M5）中经常会表达缺失，给白血病的免疫分型诊断带来困难[1]。有研究报道，CD64 对于鉴别诊断单核细胞相关性 AML 和其他型 AML 有着较好的灵敏度和特异度，但国内外相关报道并不多。本研究联合 CD64、CD14，以及其他多种单克隆抗体，对 70 例 AML 患者的抗原表达进行研究，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　本院血液科收住入院的 AML 患者 70 例，其中 2 例 M0，4 例 M1，19 例 M2，13 例 M3，14 例 M4，18 例 M5，其中男 41 例，女 29 例，年龄 13～76 岁。全部病例的诊断标准均依据血液病诊断与疗效标准。

1.2　仪器与试剂　FACS Calibur 流式细胞仪为 BD 公司产品，单克隆抗体 CD64、CD14、CD13、CD33、HLA-DR、CD34、CD117、CD38、CD19、CD5、CD10、CD7、CD56、CD11b、CD15、CD45 等，破膜剂 TZX&PERM 及溶血素，均购自 BD 公司，鞘液为自配的 PBS 缓冲液。

1.3　方法　治疗前采集患者经 EDTA 抗凝的骨髓 1～2 mL，调整细胞数为 $1\times10^6/\mu L$。采用单克隆抗体四色直接荧光标记法，骨髓标记后室温下避光反应 15 min，溶血后用流式细胞术检测。用 CD45/SSC 设门，对白血病细胞分析其各抗原表达情况。结果判断以 CD 抗原水平大于或等于 20% 为阳性结果。

1.4　统计学处理　全部数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析处理。组间比较采用方差检验，两两比较采用四格表检验，以 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　AML 各亚型相关抗原表达情况　相关抗原在 AML 各亚型中的表达情况见表 1。CD64 在 M5 中的表达阳性率最高，为 100.0%（18/18）；在 M3 和 M4 中也有较高的阳性率，分别为 46.2%（6/13）、78.6%（11/14）。19 例 M2 中仅有 2 例阳性表达（10.5%），而 M0 和 M1 中未见 CD64 阳性病例。CD64 在各亚型中的表达差异有统计学意义（$P<0.01$）。CD14 在 M0、M1、M2、M3 中均未见表达，仅在单核细胞相关性 AML（M4/M5）中表达，其中 M4 中为 57.1（8/14），M5 中为 77.8%（14/18）。CD64 的表达强度在各亚型中也不同，见表 2，CD64 中等强度和弱表达可以出现在 M2、M3、M4、M5 中，而强表达只出现在 M5 中，M5 出现 CD64 的强表达有 44.4%（8/18）。

2.2　CD64 和 CD14 对非单核细胞性 AML 和单核细胞相关性 AML 诊断效率　32 例 M4/M5 患者中，CD64 阳性有 29 例，CD14 阳性有 22 例，CD64 诊断 M4/M5 的灵敏度为90.6%，特

作者简介：王贤，女，主管技师，主要从事血液学检验研究。　△　通讯作者，E-mail：zhangkui@yahoo.com。

异度为 78.4%;CD14 的灵敏度和特异度分别为68.8%和100.0%。

表 1　各型 AML 抗原表达情况(*n*)

类型	M0	M1	M2	M3	M4	M5
CD64	0	0	2	6	11	18
CD14	0	0	0	0	8	14
CD13	2	3	17	11	13	18
CD33	1	4	15	10	13	17
CD34	0	2	17	2	14	16
CD117	1	3	15	13	12	11
HLA-DR	0	3	17	1	13	17
CD19	0	1	4	2	0	0
CD7	1	2	5	0	1	2
CD56	0	0	7	2	0	1
CD11b	0	0	6	5	4	7
CD15	0	0	4	6	6	9
CD5	0	0	1	0	0	0
CD10	0	0	1	0	0	1

表 2　CD64 在 AML 亚型中的表达强度(*n*)*

表达强度	M2	M3	M4	M5
弱表达	7	9	6	3
中等强度	3	2	5	7
强表达	0	0	0	8

*:抗体荧光强度在 10^1～10^2 为弱表达,10^2～10^3 为中等强度,>10^3 为强表达。

3　讨　论

急性白血病是克隆性造血系统恶性肿瘤,具有高度的异质性,白血病细胞具有肿瘤细胞的特征,分化发育丧失严格的规律与免疫表型的阶段性,常可出现某些抗原的跨系列表达、跨阶段表达、表达缺乏及表达过度等[1],流式细胞术可以通过对其细胞表面及内部分化抗原的检测来决定其系列和分化阶段,从而对白血病做出正确的诊断和分型,以指导临床治疗及其预后的判断,弥补形态学分型的不足。

CD14 是单核细胞分化抗原,对其有着高度的特异度,主要在正常及异常的单核/巨噬细胞上表达,而在其他细胞上不表达或弱表达,对单核细胞高度特异,是流式细胞术鉴别诊断 M4/M5 的主要标志物。本研究中 CD14 仅在 M4/M5 中表达,而在其他 AML 中不表达,诊断 M4/M5 的灵敏度为 68.8%,特异度为 100.0%,说明 CD14 在诊断 M4/M5 上具有良好的特异性,与相关文献相符[2-3]。

CD64 也是与单核/巨噬系统相关的分化抗原,在单核/巨噬细胞上强表达,在健康者的中性粒细胞上弱表达。国外相关研究报道,CD64 是鉴别诊断 M4/M5 敏感而特异的标志物[4]。本研究发现 CD64 在 M5 中阳性率最高,其次是 M4,诊断 M4/M5 的灵敏度和特异度分别为 90.6%和 78.4%。说明在诊断区分 M4/M5 和非单核细胞性 AML 上,CD64 具有良好的敏感性和特异性。

本研究还发现,CD64 在 AML 中有 3 种表达强度,CD64 中等强度和弱表达可以出现在各型 AML 中,如 M2、M3、M4、M5 等,而强表达只出现在 M5 中,说明 CD64 强表达可能对于 M5 的鉴别诊断具有特异性,但是灵敏度不高,可以作为 M5 诊断的一个参考。Dunphy 和 Tang[5] 也曾报道过 CD64 强表达可以区分 M5 与其他 AML,是鉴别 M5 的特异性表达,他们还发现 CD15 强表达联合 CD64 表达可以区分 M4/M5 与其他 AML,但笔者的研究没有得出这一结论。

关于 CD64 在 M3 中的表达情况目前相关报道很少,但是结果差别很大[2-3,5-6]。本研究中,CD64 在 M3 中也有着较高的阳性率,46.2%(6/13),以弱表达为主。笔者认为 CD64 在白血病细胞上存在异常表达,但同时随着髓系白血病细胞成熟度越高,其阳性率可能越高。

M3 和 M5 是 2 种在形态学上很容易混淆的白血病[1-2],但治疗、预后完全不同。本研究中 M3 中 CD64 阳性率较高,对于 CD64 低强度或者中等强度表达的 M5 来说,单凭 CD64 是无法进行区分的。但是 M3 有其特异性免疫表达,M3 中 CD117 高表达 78.9%(15/19),CD34、HLA-DR 低表达 15.4%(2/13)、7.7%(1/13),并且 CD14 在 M3 中不表达,借此可以帮助区分。鉴于各类型白血病细胞表面抗原表达的复杂性、非特异性及多变性,对于 CD64 低强度或中等强度表达的 M5,与 M3 区分还需要结合染色体及融合基因等分子生物学检查以明确诊断。

综上所述,本研究可以得出以下结论:CD64 和 CD14 作为单核细胞分化抗原,其对诊断 M4/M5 分别具有较高的灵敏度和特异度,联合检测有助于提高 M4/M5 的检出率。CD64 强阳性表达对于鉴别诊断 M5 与其他类别 AML 具有较高的特异性,有助于 M5 的诊断。CD14 阳性病例可以除外非单核细胞相关 AML。CD64 在 M3 中具有较高的表达率,M4/M5 与之鉴别时,需要联合 CD117、CD34、HLA-DR、CD14 等抗原的表达以及其他检查手段等来判断。

参考文献

[1] Dunphy CH,Orton SO,Mantell J,et al. Relative contributions of enzyme cytochemistry and flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of acute myeloid leukemias with a monocytic component and of flow cytometric immunophenotyping to the evaluation of absolute monocytoses[J]. Am J Clin Pathol,2004,122(6):865-874.

[2] Yang DT,Greenwood JH,Hartung L,et al. Flow cytometric analysis of different CD14 epitopes can help identify immature monocytic populations[J]. Am J Clin Pathol,2005,124(6):930-936.

[3] 靳海杰,高晓宁,陈卫华,等. 急性髓系白血病中 CD64 表达的敏感性及特异性研究[J]. 标记免疫分析与临床,2008,15(4):217-218,230.

[4] Peters JM,Ansari MQ. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia[J]. Arch Pathol Lab Med,2011,135(1):44-54.

[5] Dunphy CH,Tang W. The value of CD64 expression in distinguishing acute myeloid leukemia with monocytic differentiation from other subtypes of acute myeloid leukemia:a flow cytometric analysis of 64 cases[J]. Arch Pathol Lab Med,2007,131(5):748-754.

[6] Craig FE,Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms[J]. Blood,2008,111(8):3941-3967.

(收稿日期:2012-07-22)