

• 论 著 •

462 例白血病分型回顾性分析

刘 文,李君安,郭 斌,李 英,姚丽华
(川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000)

摘 要:**目的** 探讨白血病 FAB 分型与免疫分型的关系,以指导临床分析与治疗。**方法** 回顾性分析 2011~2013 年该院收治 462 例初诊为各种类型白血病患者的临床资料,统计 FAB 分型及组化染色结果,部分患者进行流式细胞术(FCM)免疫分型,并对两种检查结果进行分析比较。**结果** 462 例白血病患者中 FAB 初诊急性髓细胞白血病(AML)171 例,急性淋巴细胞白血病(ALL)50 例,慢性白血病 76 例,少见类型 3 例,分型不明确 56 例,分型不符 27 例。FAB 分型与临床诊断符合率 82.03%;34 例白血病行免疫分型,单表型 29 例,双表型 4 例,未表型 1 例,免疫分型与临床诊断符合率达到 97.06%。髓系抗原 CD13,CD33 阳性表达率高;CD34 及 HLA-DR 在 M3 中未表达;CD7 为髓系常伴随的淋巴系统表面抗原。**结论** 免疫分型诊断准确率高于 FAB 分型,二者结合可提高诊断准确率,免疫分型在鉴别 AML 各亚型具有重要作用。

关键词:FAB 分型; 免疫分型; 白血病
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.030 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)12-1708-03

A respective analysis on 462 cases of leukemia typing
Liu Wen, Li Jun'an, Guo Bin, Li Ying, Yao Lihua
(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract:**Objective** To study the relationship between FAB-classifying standard and immunophenotype of leukemia in clinical diagnostic and treatment. **Methods** There were 462 cases of leukemia according to FAB-classifying standard and 34 cases by immunophenotype in our hospital from 2011 to 2013. The results of FAB-classifying standard and immunophenotype were statisticed and compared. **Results** Among the 462 cases, there were 171 acute myeloid leukemia (AML), 50 acute lymphoblastic leukemia (ALL), 76 chronic leukemia, 3 rare types, 56 unclear types and 27 mismatched according the FAB-classifying standard. The diagnostic rate was 82.03%. 34 cases of immunophenotype included 29 single phenotype, 4 double phenotypes and 1 unknown. The diagnosis rate was 97.06%. CD13 and CD33 have high positive express in AML; CD34 and HLA-DR do not express in M3; CD7 which was known as a lymphatic antigen also was founded in AML. **Conclusion** The combing use of FAB-classifying standard and immunophenotype can improve diagnostic rate, and immunophenotype has an important role in differentiating different subtypes of leukemia.

Key words:FAB-classifying standard; immunophenotype; leukemia

白血病是造血系统的恶性肿瘤,在我国恶性肿瘤死亡率中,白血病居第 6 位(男性)和第 8 位(女性)^[1],在儿童和 35 岁以下的人群中占第 1 位^[2]。而白血病诊断及分型的准确与否直接关系治疗方案的选择及预后。白血病的实验室诊断以往主要依靠外周血及骨髓细胞形态学,即 FAB 分型标准^[3]。近年来,免疫学、分子生物学的发展使得白血病的诊断及分型更加客观、完善、准确,流式分型为其中之一。本研究对 2011~2013 年本院血液科初诊为白血病患者 462 例进行回顾性分析,以探讨目前本院白血病类型分布以及不同分型标准的吻合性,从而更好的指导临床。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2011~2013 年初诊为白血病患者 462 例,其中男性 267 例,女性 195 例,年龄 1~81 岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 无菌操作抽取 0.2 mL 骨髓液涂片作形态学检查。其中部分患者采集外周血用 EDTA-K₂ 抗凝,进行流式细胞术(FCM)免疫分型。

1.2.2 形态学检查 所有患者骨髓和外周血涂片经瑞氏-姬

姆萨混合染色后分类计数,并进行过氧化物酶(POX)、特异性酯酶(SE)、非特异性酯酶(NSE)、NSE 加氟化钠抑制(NSE + NaF)试验和糖原(PAS)等多项细胞化学染色检查,显微镜下观察并计数 200 个细胞参照 FAB 标准确定 FAB 分型。

1.2.3 免疫分型检查 流式细胞仪(FCM)为美国 Becton Dickinson FACSCalibur 流式细胞仪,单克隆抗体由美国 Becton Dickinson 公司提供。所用单抗包括 B 系列 Cy-CD79a、CD22、CD19、CD20、CD10、HLA-DR; T 系列 CD3、CyCD3、CD4、CD5、CD8、CD7; 髓系列 Cy MPO、CD117、CD13、CD14、CD15、CD11b、CD61、CD41; 干/祖细胞系列 CD34、CD33、CD38。判断标准^[4]:对细胞膜抗原荧光阳性细胞大于 20% 为相应抗原阳性,对 CD34、CD38 和胞浆抗原大于 10% 为阳性。根据各抗原的积分参照欧洲白血病免疫学分型研究组(EGIL)积分系统确定类型^[5]。

2 结 果

2.1 临床资料统计 在 462 例白血病患者中,男性 267 例,女性 195 例,男女发病比为 1.37 : 1;在各年龄段发病率中,40~<50 岁,50~<60 岁两个年龄段白血病发病率最高。10

作者简介:刘文,男,讲师,主要从事临床血液检验研究。

岁以下儿童以急性淋巴细胞白血病(ALL)为主,占 68.18%(15/22)。白血病患者的年龄、性别与发生率比较见表 1。

2.2 FAB 分型 462 例白血病均行骨髓形态学检查,据 FAB 分型标准,急性髓细胞白血病(AML)171 例,M1 型 2 例,M2 型 81 例,M3 型 22 例,M4 型 5 例,M5 型 58 例,M6 型 3 例,分类中以 M2、M5 型多见,分别占 47.37%(81/171),33.92%(58/171);急性淋巴细胞白血病(ALL)50 例,L2 发病率最高占 80%(40/50),慢性粒细胞白血病(CML)57 例,慢性淋巴细胞白血病(CLL)19 例,少见类型 3 例;分型不明确 56 例,分型不符 27 例。462 例白血病形态学分型与临床诊断符合率 82.03%(379/462)。在各型白血病中除 CML,男性发病数均高于女性。在分型不符及分型不明的白血病中,性别差异无统计学意义。

2.3 免疫分型 34 例白血病患者行 FCM 检查,单表型 29 例,双表型 4 例,未表型(UAL)1 例,共确诊 33 例,诊断准确率为 97.06%(33/34),34 例白血病有 5 例 FAB 分型不明,通过免疫分型 2 例诊断明确为 M2 型;2 例诊断明确为 M5 型;余 1 例 UAL 通过细胞形态学和免疫分型仍未得到确诊。

2.4 流式分型抗原表达情况 29 例急性髓细胞白血病(AML)行免疫学分型结果显示:髓系抗原 CD33 和 CD13 在 AML 中表达阳性率最高,分别为 81.82% 和 75.76%高,但阳性率表达并未达到 100%。CD14 在 M5 中表达较高。在 M2 中有 CD7 表达。HLA-DR,CD34 在 M3 中均未表达。见表 2。

表 1 462 例白血病患者年龄、性别分布				
年龄(岁)	女性(n)	男性(n)	n	构成比(%)
0~<10	11	11	22	4.76
10~<20	12	41	53	11.47
20~<30	16	37	53	11.47
30~<40	35	27	72	15.58
40~<50	34	42	76	16.45
50~<60	39	39	78	16.88
60~<70	30	44	74	16.02
70~≤81	18	26	44	9.52
合计	195	267	462	100.00

表 2 33 例急性髓性白血病患者 FAB 分类与免疫分型表达抗原分布(n)

FAB	n	CD13	CD33	CD14	CD36	HLA-DR	CD7	CD34	CD41
M1	2	1	1	0	1	1	0	1	0
M2	17	14	14	1	4	8	4	10	0
M3	2	1	1	0	0	1	0	0	0
M4	1	1	2	0	1	1	0	1	0
M5	11	8	9	5	6	5	1	6	1

3 讨 论

表 1 显示,白血病在各年龄组段均有发病,462 例白血病患者的发生数在 1~81 岁间呈现正态分布,在 40~<50 岁、50~<60 岁两个年龄段的发生率为最高,这可能是因为在 30~50 岁间,人口的基数最高,这一结果符合人口年龄分布规律;在性别上,男女发病数比例为 1.37:1,与相关报道相符^[6],提示白血病的发生与性别无直接相关性。

统计结果显示 462 例白血病细胞形态学分型与临床诊断符合率为 82.03%,与相关报道其诊断准确率一般为 60%~80% 相符^[7]。本次调查白血病分型不符中,将慢性白血病诊断为骨髓增生低下,这可能与骨髓的取材有关;将 ALL(L2)诊断为骨髓增生幼稚红细胞为主,可能因白血病细胞数量过少,某些外来肿瘤细胞无法确定其类型。因此 FAB 分型受工作人员的专业知识主观因素及一些客观因素的影响。

本研究显示免疫学分型较 FAB 形态学分型诊断率更高,达 97.06%。免疫学分型是利用单克隆抗体检测白血病细胞膜和细胞质的抗原,分析其表型,以了解被测白血病细胞所属的系列极其分化程度判断分型,为白血病的诊断提供了更客观的判断标准,如 FAB 分型诊断为 M2,免疫分型显示它不仅表达髓系表面抗原还表达淋巴系统表面抗原,为双表型。这为临床指导用药提供了很好的依据,能提供对制定化疗方案、观察疗效、判断预后、预测复发、检测微小残留病等有意义的信息,更好地指导临床用药。

HLA-DR 和 CD34 是造血祖细胞标记,随细胞成熟表达逐渐减弱甚至消失^[8],两者在 M3 中的低表达可能与早幼粒白血病细胞来源于较成熟的粒系祖细胞有关,此结果与国内外学者的报道结果一致^[9-10]。CD14 是单核细胞较特异的表面标志,但本研究 29 例白血病统计发现 CD14 阳性表达在 M5 却不高,说明 CD14 在 M5 诊断中特异性并不高,或与统计例数太少有关。本研究发现 CD7 为髓系伴随表达的常见抗原,提示起源于较早期造血祖细胞,且临床上对化疗不敏感预后一般较差,与相关报道一致^[11-12],本例中 25%(4/16)属此类型,故免疫分型在指导临床上判断有着重要意义。

综上所述,比较 FAB 分型与免疫学分型,FCM 免疫分型诊断准确率更高,对白血病分型提供更客观的判断标准,弥补了 FAB 形态学分型因直观检测造成的主观性缺点。但免疫学分型也不能完全替代 FAB 分型,AML 亚型的分类还是必须借助细胞形态和细胞化学染色才能确定。FAB 形态学分型与免疫学分型两者应互相结合、互相补充,才能更好的反映急性白血病的状况,并指导治疗方案的选择及预后判断。

参考文献

[1] 叶任高.内科学[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2002:625.
[2] 谭齐贤,张树平.临床血液学和血液检验[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2006:192.
[3] 张之南.血液病诊断及治疗标准[M].3 版.北京:科学出版社,2007:106-113.
(下转第 1712 页)

量小,带正电荷,可自由通过肾小球基底膜,在近曲小管被重吸收,且被完全代谢,无肾小管的分泌,在组织中产生的速率恒定,排出只受肾小管滤过率的影响。不受性别、年龄、饮食、炎症、恶性肿瘤、肌肉、血脂、肝脏疾病等其他因素的干扰。因此,血浆或血清中的 CysC 也就成为反映肾小球滤过率的一个非常好的标志物^[4-7]。

由于血清 CysC 浓度较低^[8],故其分析方法需要较高的灵敏度和特异度。放射免疫法(RIA)、酶联免疫试验(ELISA)等方法,这些技术虽然具有灵敏度高的优点,但重复性差、耗时长、难以实现自动化。PENIA 法因其灵敏度高、线性范围宽、自动化程度高、检测快速、精密度好而在临床应用越来越广泛^[9],但该方法需要专用特定蛋白分析仪和配套的原装试剂,导致检测成本较高,收费标准高,患者检测费用负担较重,不适合在基层推广。这些大大限制了 CysC 检测的推广应用。

本文主要是对宁波美康生物科技股份有限公司 PETIA CysC 检测试剂盒进行性能评价及比对研究。不精密度研究结果显示,低值样本和高值样本的批内不精密度 CV 分别为 3.67%,1.15%,批间不精密度 CV 分别为 4.08%,1.53%,准确度试验的偏差仅为-1.25%,说明此试剂盒重复性好、准确度高,与 Kyhse-Andersen 等^[2]的研究一致。主要是因为用此方法检测 CysC 水平时,标本无需预处理,吸样及样本与试剂的混匀、反应、比浊等步骤,实现完全自动化,极大避免了操作误差。灵敏度的研究结果表明,本 CysC 检测法灵敏度较高,为 0.07 mg/L,相对于普通免疫比浊法的灵敏度有质的飞跃。主要是因为此法采用抗人 CysC 单克隆抗体包被微球,将抗原抗体反应放大后再进行测定。从线性范围的实验看,当 CysC 浓度在 0.2~8 mg/L 时,本试剂盒检测结果具有良好的线性关系 $Y=0.976\ 4X+0.014\ 9$, $r=0.999\ 8$,完全能满足人 CysC 检测的需要。在对 CysC 检测比对研究中,以 CysCPENIA 法作为本研究的参比方法,以 PETIA 试剂盒为实验方法,研究两种方法的相关性。结果表明,两种方法比较所得回归方程为 $Y=0.945\ 8X+0.048\ 6$, $r^2=0.991\ 3$, $r=0.995\ 6$,两种方法相关性较好。

国际临床化学协会提出:常规方法应具有实用性和可靠性两方面的性能指标,实用性应包括微量快速,便于急诊,费用低廉,应用安全,可靠性包括实验方法的精密度、准确度、检测能力等。不难看出,能适应日常临床工作需要的实用型试剂盒除

了结果准确可靠外,必然还要满足操作简便易行、自动化程度高。由于本文所述试剂盒检测 CysC 灵敏度高、准确度高、重复性好,测试时间短(10 min),自动化程度高,可以在普通生化仪上进行检测,较 PENIA 方法有更高的临床应用普及优势,更适于作为临床诊断工作中 CysC 检测的常规方法^[10]。

参考文献

[1] 刘莲琴.胱抑素 C 评价肾小球滤过率作用的研究[J].中国医药导报,2010,11(7):23-24.

[2] Kyhse-Andersen J,Schmidt C,Nordin G,et al. Serum cystatin C, determined by a rapid,automated particle-enhanced turbidimetric method,is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate[J]. Clin Chem,1994,40(10):1921-1926.

[3] Finney H,Newman DJ,Gruber W,et al. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II) [J]. Clin Chem,1997,43(6 Pt 1):1016-1022.

[4] Peralta CA,Katz R,Sarnak MJ,et al. Cystatin C identifies chronic kidney disease patients at higher risk for complications[J]. J Am Soc Nephrol,2011,22(1):147-155.

[5] Stevens LA,Coresh J,Schmid CH,et al. Estimated GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine:a pooled analysis of 3418 individuals with CKD[J]. Am J Kid Dis, 2008,51(1):395-406.

[6] 蔡钢强,垢敬.胱抑素 C 的生物学特性及临床应用评价[J].国际检验医学杂志,2006,27(5)457-461.

[7] Murty MS,Sharma UK,Pandey VB,et al. Serum cystatin C as a marker of renal function in detection of early acute kidney injury [J]. Indian J Nephrol,2013,23(3):180-183.

[8] 刘爱兵,李玲,李红梅,等.北京地区健康人血浆胱抑素 C 水平及参考区间 [J]. 现代检验医学杂志,2009,24(10):116-118.

[9] Al-Turkmani MR,Law T,Kellogg MD. Performance evaluation of a particle-enhanced turbidimetric cystatin C assay on the Hitachi 917 analyzer[J]. Clin Chim Acta,2008,398 (1/2):75-77.

[10] Hossain MA,Emara M,Moselhi H,et al. Comparing Measures of Cystatin C in Human Sera by Three Methods[J]. Am J Nephrol, 2008,29(5):381-391.

(收稿日期:2015-01-18)

(上接第 1709 页)

[4] Catovsky D,Maytuse E. The classification of acute leukemia[J]. Leukemia,1992;6(2):1.

[5] Bene MC,Castoldi G,Knapp W,et al. Proposal for the immunological classification of acute leukemia [J]. Leukemia,1995,9(1): 1783-1786.

[6] 李良琼,李胜堂,王长本,等.重庆渝东地区 1997~2006 年白血病分型及现况分析[J].现代肿瘤医学,2008,16(10):1779-1717.

[7] 周帆,李建勇,薛永权,等.形态学、免疫学和细胞遗传学分型对急性白血病的诊断价值[J].上海医学,1997,12(1):713-714.

[8] Testa U,Torelli GF,Riccioni R,et al. Human acute stem cell leukemia with multiline age differentiation potential via cascade activation of growth factor receptors[J]. Blood,2002,99(12):4634-4637.

[9] Paietta E. Expresion of cell surface antigens in acute prom yelo-cytic leukemia[J]. Best Pract Res Clin Haematol,2003,163(1): 369-385.

[10] 王兴兵,郑金娥,谷俊侠,等.成人急性髓细胞性白血病免疫分型与细胞遗传学及临床特征的关系[J].癌症,2005,24(6):667-671.

[11] 刘斌,李睿,吴辉菁,等.急性白血病 LY+AML 型和 MY+A1J1 型预后因素的临床研究[J].中国实验血液学杂志,2007,15(2): 421.

[12] Casanovas RO,Slimane FK.Garand R,et al. Immunological clas-sification of acute myeloblastic leukemia;relevance to patient out-come[J]. Leukemia,2003,17(3):515.

(收稿日期:2015-01-10)