

· 论 著 ·

# 急性白血病复发外周血白血病细胞的流式细胞术检验分析<sup>\*</sup>

杨 莉<sup>1</sup>, 何浩明<sup>2</sup>

(1. 沭阳县人民医院检验科, 江苏沭阳 223600; 2. 连云港市第一人民医院检验科, 江苏连云港 222002)

**摘要:**目的 分析急性白血病(AL)患者外周血白血病细胞流式细胞术检测情况, 为分析 AL 的临床疗效和预后提供参考。

**方法** 采用流式细胞术检测 87 例 AL 患者(急性髓细胞白血病 53 例、急性淋巴细胞白血病 34 例)外周血标本, 同时检测骨髓细

胞形态学变化。结果 急性髓细胞白血病检测的灵敏度为 95.6%、特异度为 34.5%、阳性预测值为 81.3%; 急性淋巴细胞白血病

检测的灵敏度为 87.3%、特异度为 45.6%、阳性预测值为 68.9%, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 检出微小残留病变阴性 19

例, 24 个月后复发率为 26.31%, 微小残留病变阳性 68 例, 24 个月后复发率为 86.76%, 两者复发率比较差异有统计学意义( $P <$

0.05); 在所有微小残留病变阳性患者中, 高表达者复发率(88.23%)高于低表达者(47.09%), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 流式细胞术检测外周血白血病细胞对诊断 AL 复发和指导临床用药有重要意义。

**关键词:**白血病; 复发; 外周血; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.23.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)23-3447-02

## Flow cytometric analysis of peripheral blood leukemic cells in relapse of acute leukemia<sup>\*</sup>

Yang Li<sup>1</sup>, He Haoming<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Shuyang County, Shuyang, Jiangsu 223600, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Lianyungang City, Lianyungang, Jiangsu 222002, China)

**Abstract: Objective** To analyse status of peripheral blood leukemic cells detected by flow cytometry in patients with acute leukemia (AL), and to provide references for evaluating clinical efficacy and prognosis of AL. **Methods** The peripheral blood specimens of 87 cases of patients with AL, including 53 cases of patients with acute myelocytic leukemia and 34 cases of patients with acute lymphoblastic leukemia, were detected by using flow cytometry, morphological changes in bone marrow cells were detected, as well.

**Results** The sensitivity, specificity and positive predictive value in determination of acute myelocytic leukemia was 95.6%, 34.5% and 81.3% respectively, and those in acute lymphoblastic leukemia was 87.3%, 45.6% and 68.9% respectively, statistically significant differences were found in sensitivity, specificity and positive predictive value ( $P < 0.05$ ). A total of 19 cases with negative minimal residual disease had recurrence (26.31%) after 24 months, and 68 cases with positive minimal residual disease had recurrence (86.76%) after 24 months, and the recurrence rate between the two groups was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Among all patients with positive minimal residual disease, the recurrence rate in patients with high expression level of minimal residual disease (88.23%) was higher than that in patients with low expression level of minimal residual disease (47.09%), and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Flow cytometric analysis of peripheral blood leukemic cells may has significance for diagnosing relapse of AL and guiding clinical medication.

**Key words:** leukemia; relapse; peripheral; flow cytometry

随着白血病治疗方案的改进, 其治疗水平不断提高, 急性白血病(AL)在临幊上有较高的缓解率, 但仍有部分患者出现复发。因为白血病经治疗后体内仍残留少量肿瘤细胞, 而这些细胞克隆增殖后可造成白血病复发。考虑到白血病通过表现异常表面抗原表型, 能和正常造血成分相互区别。而流式细胞术能同时检测细胞表面不同抗原表达多参数荧光信号, 进一步识别完全缓解后混于正常造血细胞中的微小残留病变<sup>[1]</sup>。本次研究通过观察外周血白血病细胞在 AL 复发患者的流式细胞术检验结果, 以期提高治疗水平。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 87 例 AL 患者外周血标本, 其中急性髓细胞白血病 53 例, 男 31 例, 女 22 例, 年龄 10~52 岁, 平均(31.5±4.6)岁; 急性淋巴细胞白血病 34 例, 男 21 例, 女 13 例, 年龄 12~50 岁, 平均(33.2±4.2)岁。所有疾病诊断标准参考 2008 年世界卫生组织制定的诊断标准。

## 1.2 方法

**1.2.1 微小残留病变检测** 采集外周血, 以乙二胺四乙酸二

钾抗凝, 采用四色荧光直接免疫标记法进行免疫分型检测, 在检测试管中加  $1 \times 10^6/L$  有核细胞, 根据白血病特点选择单克隆抗体, 均按照说明书进行操作。收集 10 万个可供分析的有核细胞, 用流式细胞仪收集相关细胞, 用美国强生公司分析软件进行细胞标志分析, 根据原始细胞上抗原是否跨系表达、表达不同步、表达过强、表达过弱等判断是否为微小残留病变。当微小残留病变在 0.01% 以上时判为阳性, 否则判为阴性。

**1.2.2 骨髓细胞形态学检测** 对骨髓细胞形态学检测者先涂片 6~8 张, 经吉姆萨-瑞士染色后在显微镜下分类细胞, 根据形态不同进行分类计数, 然后根据《血液病诊断和疗效标准》判断是否为复发<sup>[2]</sup>。

**1.2.3 AL 的治疗** 急性髓细胞白血病采用柔红霉素、阿糖胞苷、去甲氧柔红霉素方案进行, 骨髓完全缓解后原方案巩固强化 2 个疗程后用合适剂量的阿糖胞苷进行治疗, 4 个疗程后停用 2 个月, 再进行同方案化疗后定期随访。急性淋巴细胞白血病则采用 VDCP 方案进行治疗, 即长春新碱 2 mg, 于第 1、8、15、22 天进行治疗; 柔红霉素 45 mg/m<sup>2</sup>, 于第 1~3 天、第

\* 基金项目:江苏省卫生厅“科教兴卫工程”开放课题(XK20200905)。 作者简介:杨莉,女,主管检验技师,主要从事血液学方面的研究。

15~16天进行治疗;环磷酰胺1000 mg/m<sup>2</sup>,于第1、15天进行治疗;泼尼松1 mg/kg连续使用2周。完全缓解后巩固治疗。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件进行数据处理与统计分析,计数资料以例数或百分率表示,采用 $\chi^2$ 检验进行比较分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 流式细胞术检测AL复发的效能** 流式细胞术检测两种疾病的灵敏度、特异度及阳性预测值比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表1。

表1 流式细胞术检测AL复发的效能(%)

疾病类型	n	灵敏度	特异度	阴性预测值	阳性预测值
急性髓细胞白血病	53	95.6	34.5	73.2	81.3
急性淋巴细胞白血病	34	87.3	45.6	75.3	68.9
$\chi^2$		5.466	6.375	0.678	5.672
P		<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

**2.2 外周血微小残留病变阴性和阳性者复发率比较** 微小残留病变阴性者19例,治疗6、12、18、24个月后其复发率分别为5.26%、10.53%、15.79%、26.31%;微小残留病变阳性者68例,治疗6、12、18、24个月后复发率分别为5.88%、11.76%、33.82%、86.76%,治疗后18、24个月复发率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而治疗后6、12个月复发率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

表2 外周血微小残留病变阴性和阳性者复发率比较[n(%)]

微小残留病变	n	6个月	12个月	18个月	24个月
阴性	19	1(5.26)	2(10.53)	3(15.79)	5(26.31)
阳性	68	4(5.88)	8(11.76)	23(33.82)	59(86.76)
$\chi^2$		0.683	0.735	6.352	7.885
P		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

**2.3 不同微小残留病变水平复发率比较** 68例微小残留病变阳性患者中,高表达(即微小残留病变水平大于或等于0.01%)51例,其中45例复发,复发率为88.23%;低表达(即微小残留病变水平小于0.01%)17例,其中8例复发,复发率为47.09%;高表达者复发率明显高于低表达者,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

## 3 讨 论

流式细胞术主要是针对单个散在的细胞,而白血病细胞属于天然的单细胞悬液,故可采用流式细胞术进行检测。该技术主要可借助荧光标记单克隆抗体,对细胞表面或细胞内部成分进行分析;也可使用核酸染料检测细胞内部DNA和RNA;使用特殊荧光染色分析细胞内钙离子浓度、pH值和细胞摄取吞噬功能等参数,以及检测血清、细胞培养液中可溶性成分<sup>[3]</sup>。流式细胞术在AL上的应用原理为白血病细胞分化抗原表达紊乱,抗原表达不同步,在白血病细胞上表达不同发育阶段的白细胞分化抗原。另外,白血病细胞抗原表达过高或过低,如白血病细胞表达CD34抗原较正常细胞密度大,故检测荧光强度高<sup>[4]</sup>。总之,流式细胞术能客观地对AL进行诊断和分型。

临幊上对AL的治疗效果评价主要依靠骨髓形态学检查,但该检查具有一定的限制性,如仅能反映出一部分骨髓情况,且采用该方法检测只有体内白血病细胞数量所占比例超过

1%时才能检测出来,且患者难以接受反复穿刺<sup>[5]</sup>。故寻找一种有效的替代方法至关重要。流式细胞术对微小残留病变的检测是目前判断AL的主要方法,且对该疾病的诊断、治疗和预后评价均有指导意义。研究认为,临幊上部分患者化疗后能杀死部分白血病细胞,但不能根治,少数患者还会因为微小残留病変持续阳性而复发。故完全缓解的时期和完全缓解程度是影响预后的重要参数<sup>[6]</sup>。

本研究结果显示,急性髓细胞白血病检测的灵敏度为95.6%、特异度为34.5%;急性淋巴细胞白血病检测的灵敏度为87.3%、特异度为45.6%。由此可见,可将流式细胞术检测结果作为AL患者预后评价的重要指标,结合研究认为外周血循环原始细胞的存在与骨髓中白血病细胞持续存在有关。研究认为,微小残留病变可作为判断缓解和复发的预后指标,根据微小残留病变水平可指导临床用药,也可根据微小残留病变进行预后分级和选择相应的化疗方案<sup>[7]</sup>。通常微小残留病变持续阴性可停止治疗,相反,若微小残留病变持续阳性则应更换化疗方案或进行骨髓移植,若巩固化疔后外周血中微小残留病变高于0.015%则复发率增加<sup>[4]</sup>。

本研究结果还显示,微小残留病变阴性者19例,其中24个月后复发率为26.31%;微小残留病变阳性68例,其中24个月后复发率为86.76%,与文献[8]研究结果类似,均说明对微小残留病变阳性患者要持续进行监测。此外,本研究结果表明,微小残留病变高水平表达者复发率明显升高,与相关报道结果一致,这提示在临幊上多数AL患者存在复发风险,而对于一些低复发风险AL患者,仍要及时复查,因其也可能存在化疔后复发的可能性,在临幊上也应结合更多的检测指标以实现个体化治疗<sup>[9]</sup>。

## 参考文献

- [1] 童春容,王卉,杨君芳,等.流式细胞术定期监测微量残留病可预测急性白血病复发—单中心163例研究[J].中华血液学杂志,2011,32(11):748-751.
- [2] 秦文华,王桂芝,时艳荣.流式细胞术检测急性白血病微小残留病变的应用[J].山西医药杂志,2014,43(10):1115-1117.
- [3] 刘磊,龚辉,魏建明,等.流式细胞术在抗血小板治疗中的临床应用[J].复旦学报:医学版,2014,41(4):540-544.
- [4] Kuss S,Cornut R,Beaulieu I,et al. Assessing multidrug resistance protein 1-mediated function in cancer cell multidrug resistance by scanning electrochemical microscopy and flow cytometry[J]. Bioelectrochemistry,2011,82(1):29-37.
- [5] 吴韶清,廖灿,谢润娥,等.多参数流式细胞术在儿童急性B淋巴细胞白血病微量残留病检测中的应用[J].实用医学杂志,2012,28(7):1184-1186.
- [6] 孔令环,韩梅,鲍彦娜,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.
- [7] 许艳丽,王顺清,毛平,等.多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤及其微小残留疾病的免疫表型分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(6):760-762.
- [8] 计雪强,季正华,丁云芳,等.儿童急性淋巴细胞白血病微小残留病的流式细胞术分析[J].中华检验医学杂志,2011,32(10):1133-1137.
- [9] 刘鹏江,邓琦,李玉明.急性髓系白血病112例流式细胞术检测免疫表型分析[J].山东医药,2011,51(13):84-85.

(收稿日期:2015-07-03)