

• 论 著 •

5 例急性巨核细胞白血病患者免疫表型结果分析*

曹 越, 蔡元菊, 杨江勇, 刘春永, 李佰灵, 杨文娜

(韶关学院医学院医学技术系, 广东韶关 512026)

摘 要:目的 通过对急性巨核细胞白血病患者白血病细胞免疫表型进行检测来分析各种血细胞表面分化抗原(CD)在急性巨核细胞白血病诊断及鉴别诊断当中的作用。方法 应用 BD 公司流式细胞仪及其配套检测试剂盒检测 5 例急性巨核细胞白血病患者血细胞 CD。结果 所有患者均表达 CD41 和 CD42, 阳性率 100%; 淋系抗原均为阴性; CD13 阳性者有 4 例, 阳性率 80%; CD33 阳性者 3 例, 阳性率 60%; 表达 CD14 和 CD15 者各 1 例, 阳性率各占 20%。结论 检测结果显示 CD41 和 CD42 在急性巨核细胞白血病诊断及鉴别诊断中具有重要的价值, 同时也再次验证了急性巨核细胞白血病患者血细胞存在有“系列非专一性”的特点。

关键词:急性巨核细胞白血病; 细胞表面分化抗原; 免疫表型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)15-2074-02

Analysis of immunophenotype results in 5 patients with acute megakaryoblastic leukemia*

CAO Yue, CAI Yuanju, YANG Jiangyong, LIU Chunyong, LI Bailing, YANG Wenna

(Department of Medical Technology, Medical College of Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512026, China)

Abstract: **Objective** To analyze the role of various blood cell surface differentiation antigens(CD) in the diagnosis and differential diagnosis of acute megakaryoblastic leukemia by detecting the immunophenotype in 5 patients with acute megakaryoblastic leukemia. **Methods** The flow cytometry produced by the BD company and its matching reagents kits were used to detect CD in 5 patients with acute megakaryoblastic leukemia. **Results** All patients expressed CD41 and CD42 with the positive rate of 100%; the lymphoid antigens were negative in all cases; CD13 was positive in 4 cases with the positive rate of 80%; CD33 was positive in 3 cases with the positive rate of 60%; CD14 and CD15 were expressed in each 1 case, the positive rate was 20%. **Conclusion** The test results show that the CD41 and CD42 have an important value in the diagnosis and differential diagnosis of acute megakaryoblastic leukemia. At the same time, the characteristic of "series non-specificity" in the blood cells of the patients with acute megakaryoblastic leukemia is verified again.

Key words: acute megakaryoblastic leukemia; cell surface differentiation antigens; immunophenotype

急性巨核细胞白血病(AMKL)首先由 Von Boros 于 1931 年提出,该病具有发病率低、病程短等特点,各年龄组男、女均可患病,尤以儿童多见且病情凶险^[1-4]。临床常以贫血、发热起病,和其他急性白血病类型相似,但也有所不同,如肝、脾淋巴结多不肿大。AMKL 属于 FAB 分型中的 M7,按增生巨核系细胞分化、成熟程度不同又可将 AMKL 分为未分化型和部分分化型,后者因除有较多的原始巨核细胞外,还有幼稚巨核细胞或成熟巨核细胞的异常增生,所以此型在光学显微镜下较易辨认,而未分化型主要以原始巨核细胞为主在光学显微镜下不易辨认^[5-9]。通过利用单克隆抗体对其免疫表型进行分析成为诊断巨核细胞白血病的重要手段之一。另外,由于该病在临床上比较少见,实验室对其研究也比较少,但有些研究发现 AMKL 从表型上看属于“系列非专一性”,既然可以表达髓系相关抗原也可以表达淋系相关抗原,但又有些研究否认了以上结论。本课题主要通过 AMKL 患者白血病细胞免疫表型的分析来探讨各种表面分化抗原(CD)在诊断该病中的地位和作用,从而为临床诊断提供可靠的依据,同时也对现有的研究结论进行验证,以此来推动医学界对该病的研究进程。

1 资料与方法

1.1 病例资料 病例 1:男,19 岁,因近期稍有运动便会觉过度疲乏、流汗而就诊,无其他特殊症状。病例 2:男,35 岁,乏力、面色苍白,发热、咽部红肿,双颌下淋巴结轻度肿大,前期服用过抗生素,治疗无效而就诊。病例 3:女,47 岁,面色苍白,乏力,体表有散在出血点,有胸骨压痛。病例 4:男,70 岁,乏力,牙龈出血,偶有黑便,下肢有散在出血点。病例 5:女,50 岁,面色苍白,乏力,腰痛,曾疑肾脏疾病就诊,曾经从事了近 12 年的家具喷漆工作。

1.2 仪器与试剂 应用 BD 公司流式细胞仪及配套检测试剂盒检测血细胞 CD。

1.3 方法 在 25 μ L 骨髓液中加入 5 μ L 抗体,室温孵育 30 min,加入溶血素 1 mL,避光 10 min,1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加入鞘液 1 mL,混匀,1 500 r/min 洗涤 3 次,弃上清液,加入 0.5 mL 鞘液,上机检测,结果以双参数散点图表示,髓系阳性率大于 20% 定为阳性,淋系阳性率大于 30% 定为阳性。所用的抗体种类有单抗巨核系 CD41、CD42;髓系 CD13、CD14、CD15、CD33;T 细胞 CD4、CD7;B 细胞系 CD10、

* 基金项目:广东省韶关市科技计划项目(2014CX/K331);2014 年度广东省韶关市医学科研基金立项课题(Y14083);韶关学院医学院 2013 年度科技计划项目(E201308)。

作者简介:曹越,女,讲师,主要从事临床检验及血液学检验教学。

CD19、CD20。

1.4 诊断依据 所有病例均根据张之南^[10]编写的《血液病诊断及疗效标准》的标准进行诊断。

2 结 果

表 1 AMKL 患者免疫表型检测结果 (%)

病例	CD41	CD42	CD13	CD14	CD15	CD33	CD4	CD7	CD10	CD19	CD20
1	41.56	32.47	27.84	0.79	7.65	11.67	10.63	3.05	6.09	19.27	8.90
2	67.23	49.32	36.73	2.42	4.55	24.27	7.28	8.79	6.98	9.16	13.76
3	36.58	29.03	4.57	23.21	20.03	42.85	2.99	6.35	2.45	7.84	1.08
4	78.21	50.81	20.52	1.01	2.03	16.63	4.27	2.77	9.63	13.49	3.66
5	49.76	36.51	34.72	1.65	2.22	27.74	1.98	3.51	4.79	0.35	4.31

3 讨 论

AMKL 细胞缺乏较特异的形态学改变,未分化型 AMKL 这方面的特点更为突出,所以目前临床上对于 AMKL 的诊断和鉴别诊断主要实验室检测方法有细胞化学染色、流式细胞仪血细胞 CD 检测及血小板过氧化物酶反应,但细胞化学反应特异性差,血小板过氧化物酶反应检测技术复杂且所用设备昂贵,以上原因使得流式细胞仪血细胞 CD 检测成为 AMKL 诊断的重要依据。本文主要是通过通过对 5 例 AMKL 患者免疫表型检测结果的分析来探讨各种 CD 在诊断及鉴别诊断 AMKL 过程当中的价值。

本课题研究结果显示所有病例均为 CD41 阳性和 CD42 阳性,进一步验证了 CD41 和 CD42 在 AMKL 的诊断及鉴别诊断当中具有重要的地位和作用,并且这一结论与许多实验室的研究结论相符^[11-12]。CD13 和 CD33 在所测病例中阳性率分别为 80%和 60%,说明以上两种 CD 在 AMKL 时有较高的表达,但由于本研究所测病例较少,对两者在 AMKL 诊断及鉴别诊断当中的价值无法作出更为准确的评估。

多数研究证明,AMKL 具有“系列非专一性”的特点^[13-15],且国外有研究报道急性髓细胞白血病细胞有时既可以表达髓系相关免疫标志也可以同时表达淋系相关免疫标志,如果某白血病患者两系免疫标志均表达其预后较差^[16]。本研究所测 5 例 AMKL 患者免疫表型中无一例表达淋系相关免疫标志,但几乎均有髓系相关免疫标志的表达,且从检测结果看这种表达不应该属于杂合型 AMKL^[1],而应该是同一细胞表达了多种分化抗原,这一研究结果也再次验证了以往研究结论,AMKL 患者血细胞具有“系列非专一性”的表型特点^[17]。

AMKL 临床表现及形态学改变均复杂多变,且预后差,误诊率高,所以为了降低误诊率,让医生能够抓住最佳治疗时机,对于 AMKL 的研究目前仍在不断的探索当中,例如已有研究就该病的预后、罕见并发症、治疗方案及免疫表型等进行了更加深入的调查研究分析^[18-23],但均由于标本量很少使得相关研究的进展速度很慢,我们只能通过少量标本对该病的某一方面进行评估,但这种评估的可靠性很低,只能说明某种现象的存在性却不能说明其存在的普遍性。

综上所述,实验室免疫表型的检测在 AMKL 的诊断当中充当着重要的角色,不但是该病诊断及鉴别诊断的重要依据,同时也在该病的起源及分型研究中起到重要的作用。

所有患者均为 CD41 阳性和 CD42 阳性;CD4、CD7、CD10、CD19 及 CD20 淋系抗原均为阴性;CD13 阳性者有 4 例(80%);CD14 和 CD15 阳性者各有 1 例(25%);CD33 阳性者 3 例(60%)。结果见表 1。

参考文献

[1] San Miguel JF, Gonzalez M, Cañizo MC, et al. Leukemias with megakaryoblastic involvement: clinical, hematologic, and immunologic characteristics[J]. Blood, 1988, 72(2): 402-407.

[2] Gruber TA, Downing JR. The biology of pediatric acute megakaryoblastic leukemia[J]. Blood, 2015, 126(8): 943-949.

[3] Schweitzer J, Zimmermann M, Rasche M, et al. Improved outcome of pediatric patients with acute megakaryoblastic leukemia in the AML-BFM 04 trial[J]. Ann Hematol, 2015, 94(8): 1327-1336.

[4] Kawasaki Y, Makimoto M, Nomura K, et al. Neonatal acute megakaryoblastic leukemia mimicking congenital neuroblastoma[J]. Clin Case Rep, 2015, 3(3): 145-149.

[5] 刘抗援, 杨科, 何学鹏, 等. 急性巨核细胞白血病的实验室观察[J]. 临床检验杂志, 1998, 16(6): 45-46.

[6] 严舫, 闵碧荷, 许燕群. 四例急性巨核细胞白血病的诊断和分型探讨[J]. 中华血液学杂志, 1989, 10(4): 193-195.

[7] 陈静, 耿兰增, 赵新民. 儿童巨核细胞白血病二例[J]. 中华儿科杂志, 1998, 7(1): 59-59.

[8] 麻柔, 公殿广, 姚宝森, 等. 急性巨核细胞白血病免疫表型初步观察[J]. 中华血液学杂志, 1992, 13(1): 24-26.

[9] 刘超, 喻争鸣, 姬美蓉, 等. 急性巨核细胞白血病 2 例[J]. 上海医学, 1995, 18(2): 77.

[10] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1991: 154-158.

[11] 薛向军, 麻柔, 公殿广, 等. 10 例巨核细胞白血病免疫表型特点[J]. 白血病, 1995, 4(2): 69-72.

[12] 余晓红, 寇现娟, 邓昆, 等. 5 例急性巨核细胞白血病检测实验指标分析[J]. 实用医药杂志, 2008, 25(5): 541.

[13] Yumura-Yagi K, Hara J, Kurahashi H, et al. Mixed phenotype of blasts in acute megakaryocytic leukaemia and transient abnormal myelopoiesis in Down's syndrome[J]. Br J Haematol, 1992, 81(4): 520-525.

[14] Moscinski LC, So AL, Russell JE, et al. Myeloperoxidase-positive acute megakaryoblastic leukemia(下转第 2078 页)

3 讨 论

近年来,鲍曼不动杆菌分离率呈上升趋势^[8],随着广谱抗生素的广泛使用,鲍曼不动杆菌对抗生素的耐药性逐年增强,多重耐药不动杆菌、泛耐药不动杆菌检出率日益增高。鲍曼不动杆菌对抗菌药物的耐药机制主要为产生碳青霉烯酶,水解碳青霉烯酶类抗生素。碳青霉烯酶包括 Ambler 分子结构分类的 A、B、D 3 类酶。A 类和 D 类为丝氨酸酶,D 类酶中主要包括 OXA-23、OXA-24、OXA-51、OXA-58 等 4 型,最主要的是 OXA-23、24 酶等^[9];B 类为金属酶,包括 SIM、VIM、IMP 等多型,可被 EDTA 抑制。部分菌株还携带超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)、头孢菌素酶(AmpC)和氨基糖苷类修饰酶,可导致一种和几种氨基糖苷类抗生素耐药。2015 年数据显示鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类的耐药率全国为 59.0%,对碳青霉烯类耐药是指对亚胺培南或美罗培南任一药物耐药,这给临床治疗带来极大困难,也对医院感染的控制提出了新要求。因此,提高产碳青霉烯酶不动杆菌检出能力,加强医院感染控制,阻断其传播已至关重要。

本研究中采用 Carba NP 试验,利用菌株产生的碳青霉烯酶水解亚胺培南/西司他丁钠药物,从而引起酸碱度的改变,使检测液中的酚红产生肉眼可见颜色变化,进行多重耐药不动杆菌碳青霉烯酶的检测,具有良好的时效性、特异性、准确性,从而达到快速检测不动杆菌碳青霉烯酶的目的。本实验方法适合在微生物实验室、疾病控制机构、医院检验科临床微生物室等相关单位广泛应用,有助于提高产酶菌株检出的时效性及准确性,为临床治疗及医院感染控制更加有效进行争取宝贵时间。本研究在对 33 株产碳青霉烯酶不动杆菌耐药基因型分析中,细菌染色体中 OXA-23 基因型检出率达 80% 以上,OXA-24 基因型检出率达 47%,未检出 SIM、VIM、IMP 等基因型,质粒中未检出 OXA-23、OXA-24 等基因型,由此提示产 D 类碳青霉烯酶鲍曼不动杆菌其耐药性为菌体本身固有存在而非通过质粒传播。产 B 类碳青霉烯酶鲍曼不动杆菌耐药基因型检测及其耐药性传播方式仍有待研究。本研究表明本院产碳青霉烯酶多重耐药不动杆菌主要以 OXA-23 型、OXA-24 型产碳青霉烯酶鲍曼不动杆菌为主,携带 VIM、IMP 等耐药基因

型的鲍曼不动杆菌未在本院流行传播。

参考文献

[1] Senok A, Garaween G, Raji A, et al. Genetic relatedness of clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates from an intensive care unit outbreak[J]. J Infect Dev Ctries, 2015, 9(6): 665-669.

[2] Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae[J]. Emerg Infect Dis, 2012, 18(9): 1503-1507.

[3] 朱雄, 袁敏, 刘佳, 等. Carba NP 碳青霉烯酶检测方法在医院感染监测中的应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(23): 5721-5724.

[4] 张雅薇, 王辉. 2015 年 CLSI M100-S25 主要更新内容介绍[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(4): 229-232.

[5] CLSI. M100-S25 performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fifth informational supplement[M]. Wayne, PA: CLSI, 2015.

[6] 刘运德, 楼永良. 临床微生物学检验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 56.

[7] 俞刚, 陆峰泉, 陈瑜, 等. 耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌 OXA 和 NDM-1 耐药基因的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(11): 1275-1278.

[8] 张辉, 张小江, 徐英春, 等. 2012 年中国 CHINET 不动杆菌属细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 5(5): 392-397.

[9] Merino M, Acosta J, Poza M, et al. OXA-24 carbapenemase gene flanked by XerC/XerD-like recombination sites in different plasmids from different *Acinetobacter* species isolated during a nosocomial outbreak[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(6): 2724-2727.

(收稿日期: 2016-03-28 修回日期: 2016-05-23)

(上接第 2075 页)

[J]. Am J Clin Pathol, 1989, 91(5): 607-612.

[15] Koike T, Aoki S, Maruyama S, et al. Cell surface phenotyping of megakaryoblasts[J]. Blood, 1987, 69(3): 957-960.

[16] 陶元黎. 急性白血病免疫学表型的预后意义[J]. 国外医学输血及血液学分册, 1997, 20(2): 102-105.

[17] 蓝建平, 孙酬经, 钱美华, 等. 急性巨核细胞白血病的免疫表型分析[J]. 浙江临床医学, 2000, 2(7): 441-443.

[18] Tsujimoto H, Kounami S, Mitani Y, et al. Neonatal acute megakaryoblastic leukemia presenting with leukemia cutis and multiple intracranial lesions successfully treated with unrelated cord blood transplantation[J]. Case Rep Hematol, 2015(2015): 610581-610583.

[19] Gökçe M, Aytac S, Ünals, et al. Acute megakaryoblastic leukemia with t(1;22) mimicking neuroblastoma in an infant[J]. Turk J Haematol, 2015, 32(1): 64-67.

[20] Wang L, Peters JM, Fuda F, et al. Acute megakaryoblastic

leukemia associated with trisomy 21 demonstrates a distinct immunophenotype[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2014, 88(4): 244-252.

[21] Venkatesan S, Purohit A, Ahuja A, et al. Unusual massive bone marrow fibrosis in acute promyelocytic leukemia following arsenic trioxide therapy[J]. Leuk Res Rep, 2015, 4(2): 76-78.

[22] Bennett JM, Wells DA, Relee H, et al. an unusual case of myeloperoxidase-positive acute megakaryoblastic leukemia. Ann Lab Med 2015; 35: 466-8 [J]. Ann Lab Med, 2015, 35(5): 542-543.

[23] Jayasudha AV, Nair RA, Jacob PM, et al. Clinical and hematological profile of acute megakaryoblastic leukemia: a 2 year study[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2015, 31(2): 169-173.

(收稿日期: 2016-01-05 修回日期: 2016-04-26)