

• 论 著 •

69 例慢性淋巴细胞白血病的免疫表型及骨髓象分析

曲 伟

(滨州医学院烟台附属医院输血科, 山东烟台 264100)

摘 要:目的 研究慢性淋巴白血病的免疫表型与骨髓象的特点, 以为临床诊治提供一定的参考。方法 选取 2013 年 1 月至 2015 年 1 月间入院诊治的慢性淋巴细胞白血病患者 69 例, 应用单参数和多参数流式细胞术分析患者的免疫表型, 对患者进行骨髓象及血象检查, 对患者的骨髓增生度进行分析。结果 69 例 CLL 患者中, LL/SL-MC 33 例 (47.83%)、CLL/PLL-MC 16 例 (23.19%)、TSL 9 例 (13.04%)、ATLL 4 例 (5.80%)、PLL 4 例 (5.80%)、HCL 3 例 (4.34%)。CLL 患者以年龄 50 岁以上者居多。骨髓增生度极度活跃 12 例 (17.39%)、明显活跃 10 例 (14.49%)、活跃 47 例 (68.12%), 粒红比增高 17 例 (24.64%)、正常 29 例 (42.03%)、降低 23 例 (33.33%), 巨核细胞计数增高 3 例 (4.35%)、正常 30 例 (43.48%)、降低 36 例 (52.17%)。69 例患者全部表达 CD19、CD20, 阳性率为 100%; 其次表达 CD22, 阳性率为 98.55%; CD23 阳性率为 97.10%, CD5 阳性率为 86.96%; 所有患者均不表达 CD10。结论 69 例 CLL 患者免疫分型以混合型为多, 骨髓增生度较高; 免疫表型则以 CD19、CD20 全部表达, 其次分别表达为 CD22、CD23 与 CD5, 不表达 CD10。

关键词:慢性淋巴细胞白血病; 免疫表型; 骨髓象

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0898-03

Immunophenotype and bone marrow of chronic lymphocytic leukemia

Qu Wei

(Department of Blood Transfusion, Affiliated Hospital Binzhou Medical College, Yantai, Shandong 264100, China)

Abstract: Objective To study the characteristics of immunophenotype and bone marrow in chronic lymphocytic leukemia (CLL) in order to provide certain reference for its clinical diagnosis and treatment. **Methods** A total of 69 cases of CLL in our hospital from January 2013 to January 2015 were selected. The immune 69 cases was analyzed by using the single parameter and multi-parameter flow cytometry. The bone marrow and blood examinations were performed and the myeloproliferative degree was analyzed. **Results** Among 69 cases of CLL, 33 cases (47.83%) were LL/SL-MC, 16 cases (23.19%) were CLL/PLL-MC, 9 cases (13.04%) were TSL, 4 cases (5.80%) were ATLL, 4 cases (5.80%) were PLL and 3 cases (4.34%) were HCL. The majority of CLL cases were more than 50 years old. The myeloproliferative degree was hyperactive in 12 cases (17.39%), significantly active in 10 cases (14.49%) and active in 47 cases (68.12%); the myeloid-erythroid ratio was increased in 17 cases (24.64%), normal in 29 cases (42.03%) and reduced in 23 cases (33.33%); the megakaryocyte count was increased in 3 cases (4.35%), normal in 30 cases (43.48%) and reduced in 36 cases (52.17%). All 69 cases expressed CD19 and CD20 with the positive rate of 100%; secondly expressed CD22 with the positive rate of 98.55%; the CD23 positive rate was 97.10%, the CD5 positive rate was 86.96%; all cases did not express CD10. **Conclusion** The immunophenotype in 69 cases of CLL was mainly the mixed type with higher myeloproliferative degree; the immunophenotype expressed CD19 and CD20 in all cases, secondly expressed CD22 and CD23, and did not express CD10.

Key words: chronic lymphocytic leukemia; phenotype; bone marrow

慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 是一种原发于造血组织的低度恶性造血系统疾病, 肿瘤细胞为单克隆的 B 淋巴细胞^[1]。主要特点在于大量形态上成熟的小淋巴细胞聚集在外周血、骨髓、淋巴结和脾脏等淋巴组织中。该病早期并无特异性症状, 患者多因无痛性淋巴结肿大或不明原因的淋巴细胞绝对值升高而就诊。进展期患者除脾脏及全身淋巴结肿大外, 还会出现反复感染、贫血、出血、体重减轻等症状, 高龄患者因合并基础病的影响, 会进一步恶化病情。CLL 患者预后差别较大, 部分患者病情进展缓慢甚至无需治疗, 部分患者在发病初期即需积极治疗^[2]。早期诊断对 CLL 治疗方案的选择及预后的评估至关重要。现本文通过分析慢性淋巴细胞白血病的免疫表型及骨髓象, 以便进一步高 CLL 的诊断率, 指导临床用药及疗效、预后的观察。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2015 年 1 月间入院初诊

为慢性淋巴细胞白血病患者 69 例, 均行血常规、外周血涂片、骨髓细胞形态学检查等。所有患者均知情同意。69 例患者中男 53 例, 女 16 例, 年龄 44~82 岁, 平均年龄 65.7 ± 6.8 岁。69 例患者中 2 例贫血, 胸骨压痛 47 例, 肝肿大 26 例, 脾肿大 51 例, 浅表淋巴结肿大 24 例。CLL 的诊断与分型参照《血液病诊断及疗效标准》(第 2 版)。

1.2 检测试剂与仪器 流式细胞仪 (FACSCalibur, 美国 BD 公司)。单克隆抗体包括 CD5、CD10、CD23、CD22、CD20、FMC7、CD19、CD38、CD11c、 λ 轻链、 κ 轻链, 均购自美国 BD 公司。应用 BD FACSDiva 软件分析。

1.3 检测方法 应用单参数和多参数流式细胞术分析患者的免疫表型, 对患者进行骨髓象及血象检查, 对患者的骨髓增生度进行分析。

1.3.1 骨髓象及血象检测 由专业的血液科医生抽取骨髓样本, 骨髓细胞学检查均由细胞学专业检验人员检验并记录骨髓

象。每份标本分类 200 个有核细胞进行常规检查,对数据进行分析。常规作糖原染色、过氧化物酶染色、中性粒细胞碱性磷酸酶染色。根据《临床血液学和血液检验》(第 4 版)标准对骨髓细胞进行分类分析。

1.3.2 免疫表型检测 取肝素抗凝的新鲜骨髓(6 h 内),1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加入红细胞裂解液,混匀,裂解 5 min,加入 1%牛血清清蛋白磷酸盐缓冲液终止裂解。1 500 r/min 离心 5 min,弃去上清液,加入磷酸盐缓冲液重悬细胞^[3]。显微镜下计数,调整细胞数为(0.5~1)×10⁶/mL。应用三色流式分析方案检测细胞膜抗原。每管加入 FC 受体阻断剂,并取 100 μL 样本加不同组合抗体,同时做同型对照管,混匀,孵育 20 min,溶血后上机检测分析,每管取 20 000 个细胞,抗原表达在淋巴细胞中≥20%为阳性。

1.4 统计学处理 数据均应用 SPSS21.0 进行分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量数据两组比较应用 *t* 检测,计数数据比较应用 χ^2 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 检出结果 69 例 CLL 患者中,LL/SL-MC 33 例(47.83%)、CLL/PLL-MC 16 例(23.19%)、TSL 9 例(13.04%)、ATLL 4 例(5.80%)、PLL 4 例(5.80%)、HCL 3 例(4.34%)。CLL 的发病率

随着年龄增加呈升高趋势,见表 1。

CLL 分类	年龄分布(岁)			合计
	40~49	50~59	≥60	
LL/SL-MC	0(0.00)	11(33.33)	22(66.67)	33(47.83)
CLL/PLL-MC	3(18.75)	4(25.00)	9(56.25)	16(23.19)
TSL	0(0.00)	9(100.00)	0(0.00)	9(13.04)
ATLL	2(50.00)	2(50.00)	0(0.00)	4(5.80)
PLL	0(0.00)	1(25.00)	3(75.00)	4(5.80)
HCL	0(0.00)	3(100.00)	0(0.00)	3(4.34)
合计	5(7.25)	30(43.48)	34(49.27)	69(100.00)

LL/SL-MC:大小淋巴细胞混合型;CLL/PLL-MC:幼淋巴细胞混合型;TSL:典型小淋巴细胞混合型;ATLL:不典型大淋巴细胞型;PLL:幼淋巴细胞性白血病;HCL:毛细胞型白血病。

2.2 骨髓象 骨髓增生度极度活跃 12 例(17.39%)、明显活跃 10 例(14.49%)、活跃 47 例(68.12%),粒红比增高 17 例(24.64%)、正常 29 例(42.03%)、降低 23 例(33.33%),巨核细胞计数增高 3 例(4.35%)、正常 30 例(43.48%)、降低 36 例(52.17%),详见表 2。

表 2 69 例各型 CLL 患者骨髓增生度、粒红比和各系细胞比情况

分型	骨髓增生度			粒红比			巨核细胞计数		
	极度活跃	明显活跃	活跃	增高	正常	降低	增高	正常	降低
LL/SL-MC(<i>n</i> =33)	8	4	21	4	25	4	3	21	9
CLL/PLL-MC(<i>n</i> =16)	4	2	10	4	1	11	0	9	7
TSL(<i>n</i> =9)	0	4	5	5	0	4	0	0	9
ATLL(<i>n</i> =4)	0	0	4	0	3	1	0	0	4
PLL(<i>n</i> =4)	0	0	4	4	0	0	0	0	4
HCL(<i>n</i> =3)	0	0	3	0	0	3	0	0	3
合计[<i>n</i> (%)]	12(17.39)	10(14.49)	47(68.12)	17(24.64)	29(42.03)	23(33.33)	3(4.35)	30(43.48)	36(52.17)

2.3 免疫表型 69 例患者全部表达 CD19、CD20,阳性率为 100%;其次表达 CD22,阳性率为 98.55%;CD23 阳性率为 97.10%,CD5 阳性率为 86.96%;所有患者均不表达 CD10。详见表 3。

表 3 69 例 CLL 患者免疫表型特点

免疫表型抗原	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)
CD5	60	86.96
CD10	0	0.00
CD23	67	97.10
CD22	68	98.55
CD20	69	100.00
FMC7	24	34.78
CD19	69	100.00
CD38	11	15.94
CD11C	18	26.09
λ 轻链	19	27.54
κ 轻链	36	52.17

3 讨 论

CLL 是欧美发病率最高的白血病,而在亚洲国家相对少见。20 世纪 80 年代的调查中,我国 CLL 仅占慢性白血病的

6%^[4],但近年来该病的发病率呈上升趋势。

据统计,95%以上 CLL 病例起源于 B 淋巴细胞恶性转化和克隆增殖。并且 2001 年开始,世界卫生组织将 CLL 定义均为 B 细胞型,取消 T 细胞-CLL。CLL 又细化为 LL/SL-MC、CLL/PLL-MC、TSL、ATLL、PLL、HCL、混合型、毛细胞白血病变异型、浆细胞白血病等 12 型^[5]。本次研究中以 LL/SL-MC(47.83%)、CLL/PLL-MC(23.19%)居多。

3.1 骨髓象分析 细胞形态学和骨髓组织学已经成为 CLL 的预后标记,不典型的细胞学形态、存在核裂或幼稚的淋巴细胞与预后不良密切相关。研究发现,弥漫性骨髓浸润患者的生存期显著短于非弥漫性骨髓浸润的患者^[6]。白血病淋巴细胞与正常细胞差别较大,其胞体略大、血片上易见破碎细胞、易见肌上皮细胞,核有裂隙或切迹,无核仁或不明显,核染色质不规则聚集,部分胞质丰富、无颗粒、嗜碱性,部分胞质少,可见空泡,此类淋巴细胞显著增多,约占 40%。在本次研究中,骨髓增生度极度活跃 17.39%、明显活跃 14.49%;粒红比为(0.62~10.4):1,平均 2.81:1;巨核细胞计数 4.35%、降低 52.17%。通过骨髓象分析了解造血组织的增生情况、骨髓细胞构成比例的改变及异常细胞的有无,对提高 CLL 相关疾病的诊断率有重要的积极作用。

3.2 免疫分型分析 细胞表面抗原是细胞分化过程中基因的表达产物,随着细胞分化的不同阶段有序的获得或消失^[7]。流式细胞术可多参数、快速客观的分析细胞表面(下转第 903 页)

参考文献

- [1] Marrero JA, Su GL, Wei W, et al. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in American patients[J]. *Hepatology*, 2003, 37(5):1114-1121.
- [2] Lamerz R, Runge M, Stieber P, et al. Use of serum PIVKA-II (DCP) determination for differentiation between benign and malignant liver diseases[J]. *Anticancer Res*, 1999, 19(4A):2489-2493.
- [3] 席强, 孙桂荣, 丛培珊, 等. 血清异常凝血酶原和甲胎蛋白联合检测对原发性肝癌的临床价值[J]. *中华检验医学杂志*, 2014, 37(12):928-932.
- [4] Nakajima S, Iijima H, Egawa S, et al. Association of vitamin K deficiency with bone metabolism and clinical disease activity in inflammatory bowel disease[J]. *Nutrition*, 2011, 27(10):1023-1028.
- [5] Shea MK, O'Donnell CJ, Vermeer C, et al. Circulating uncarboxylated matrix gla protein is associated with vitamin K nutritional status, but not coronary artery calcium, in older adults[J]. *J Nutr*, 2011, 141(8):1529-1534.
- [6] McCabe KM, Adams MA, Holden RM, et al. Vitamin K status in chronic kidney disease[J]. *Nutrients*, 2013, 5(11):4390-4398.
- [7] Voong K, Harrington D, Goldsmith D, et al. Vitamin K status in chronic kidney disease: a report of a study and a mini-review[J]. *International Urology and Nephrology*, 2013, 45(5):1339-1344.
- [8] Kato A, Yasuda H, Togawa A, et al. Measurement of des-gamma-carboxy prothrombin levels in hemodialysis patients positive for anti-hepatitis virus C antibody[J]. *Clinical Nephrology*, 2002, 58(4):296-300.
- [9] Stankowiak-kulpa H, Krzyzanowska P, Koziol L, et al. Vitamin K status in peritoneally dialyzed patients with chronic kidney disease[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2011, 58(4):617-620.
- [10] Ros-Bullón MR, Sánchez-Pedreno OP, Martínez-Liarte JH, et al.

- Serum sialic acid in malignant melanoma patients; an ROC curve analysis[J]. *Anticancer Res*, 1999, 19(35):3619-3622.
- [11] Tewarson SL, Mittal VP, Singh M, et al. Serum sialic acid-an important cancer marker[J]. *Indian J Cancer*, 1993, 30(3):125-131.
 - [12] 李彪英, 王玉生, 常玉正, 等. 老年慢性肾功能衰竭患者血清唾液酸和脂蛋白(a)的测定[J]. *临床荟萃*, 2003, 18(3):132-133.
 - [13] Ma YC1, Zuo L, Chen JH, et al. Modified glomerular filtration rate estimating equation for Chinese patients with chronic kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(10):3927-3944.
 - [14] 布海霞, 程李涛, 张爱华, 等. 慢性肾脏病门诊患者单纯收缩期高血压与肾脏病分期的关系[J]. *中华肾脏病杂志*, 2015, 31(1):19-23.
 - [15] Lieberman HA, Furie BC, Tong MJ, et al. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 1984, 310(13):1427-1431.
 - [16] Okuda H, Obata H, Nakanishi T, et al. Production of abnormal prothrombin des-gamma-carboxy prothrombin by hepatocellular carcinoma. A clinical and experimental study[J]. *J Hepatol*, 1987, 4(3):357-363.
 - [17] Holden RM, Morton AR, Garland JS, et al. Vitamins K and D status in stages 3-5 chronic kidney disease[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5(4):590-597.
 - [18] Ghosh S. Sialic acids: biomarkers in endocrinal cancers[J]. *Glycoconi J*, 2015, 32(1):79-85.
 - [19] Dadhich M, Prabhu V, Pai VR, et al. Serum and salivary sialic acid as a biomarker in oral potentially malignant disorders and oral cancer[J]. *Indian J Cancer*, 2014, 51(3):214-218.
 - [20] Li PL, Zhang X, Li TF, et al. Combined detection of sialic acid and hydroxyproline in diagnosis of ovarian cancer and its comparison with human epididymis protein 4 and carbohydrate antigen 125[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 439(2):148-153.

(收稿日期:2015-11-10)

(上接第 899 页)

抗原的表达,进而判断白血病的分型,其已成为诊断血液病的重要检测手段。有学者认为 CD5、CD19、CD20 是 CLL 的诊断依据。本次研究中,CD5 阳性率为 86.96%,CD19、CD20 阳性率为 100%,CD23 阳性率为 97.10%,不表达 CD10、CD38 弱表达。这与既往研究结果一致^[8]。本次研究中 9 例 CD5 阴性的患者,结合骨髓细胞形态、临床表现、遗传学,诊断为不典型 CLL。因此,对于 CD5 阴性但 CD19、CD20 阳性的患者,应谨慎诊断。CD5 阳性表达与 B 细胞的激活状态有关。CD19 分布于除效应 B 细胞外的 B 细胞发育的各个阶段,具促进 B 细胞激活的作用^[9];CD20 表达于全体 B 细胞表面,是 B 细胞的鉴定标记,参与 B 细胞的活化与增殖分化^[10]。此二者诊断 CLL 的灵敏度较高,但特异度差。因此,结合 CD5、CD19、CD20 的表达情况,综合判断。

综上所述,69 例 CLL 患者以 50 岁以上为多,且以免疫分型以混合型为主;骨髓增生度较高;免疫表型则以 CD19、CD20 全部表达,其次分别表达为 CD22、CD23 与 CD5,不表达 CD10。

参考文献

- [1] 易莎,张小斌,陈燕,等. 103 例慢性淋巴细胞白血病患者免疫表型的研究[J]. *临床血液学杂志*, 2010, 23(2):86-88.
- [2] 张青艳,陈智超,赵阿兰,等. 慢性淋巴细胞白血病的临床免疫表

型分析[J]. *山东医药*, 2013, 53(1):1-3.

- [3] 王爱清,耿美菊,朱明清,等. 109 例慢性 B 淋巴系白血病免疫表型特征分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(6):1374-1377.
- [4] 刘越坚,郭莉,邱阳,等. 慢性淋巴细胞白血病免疫表型及凋亡相关蛋白分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(1):25-26.
- [5] 胡旸,陈艳,王丽华,等. 用流式细胞术从 B 淋巴增殖性疾病中鉴别脾边缘带淋巴瘤[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(2):349-356.
- [6] 古丽娜·阿里甫,秦江萍,杨洁,等. 慢性淋巴细胞白血病患者免疫表型特点及其与临床分期的关系[J]. *新疆医学*, 2014, 44(1):23-26.
- [7] 赵成艳,何晓琳,王敏,等. 慢性淋巴细胞白血病骨髓象及免疫表型的分析研究[C]. *中华医学会第十二次全国血液学学术会议论文集*, 2012:6-8.
- [8] 吕小林,万腊根,纪德香,等. 慢性淋巴细胞白血病继发自身免疫性贫骨髓象 1 例报道[J]. *实验与检验医学*, 2011, 29(5):580-581.
- [9] 马晓露. 全血细胞减少症 156 例骨髓象及病因分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(4):519-520.
- [10] 陆倩,李庆山,潘婷,等. 初治急性白血病患者 CD133 的表达与临床特征关系的探讨[J]. *中国热带医学*, 2015, 15(3):288-292.

(收稿日期:2015-11-15)