

骨髓增生异常综合征患者骨髓单个核细胞
免疫表型特点及临床意义*李萍¹ 欧阳建¹ 周荣富¹ 许景艳¹ 陈兵¹ 邵晓雁¹ 徐勇¹

[摘要] 目的:探讨骨髓增生异常综合征(MDS)患者骨髓单个核细胞免疫表型特点及临床意义。方法:回顾性分析 48 例 MDS 患者免疫表型,对比各亚型间免疫表型表达阳性率的高低,并评估其与 IPSS 积分的相关性。结果:48 例 MDS 患者骨髓单个核细胞表达 CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 为主,RAEB1 及 BAEB2 患者 CD34、CD117 及早期髓系抗原 CD33、CD13 阳性表达率较 RCMD 患者增高($P < 0.05$);骨髓原始细胞比例与 CD34、CD117、CD13 及 CD33 阳性表达率呈正相关;对这些患者进行 IPSS 积分系统评估,高危组 CD34 及 CD117 表达阳性率较中危 1 组升高($P < 0.05$),CD34 表达阳性率与 IPSS 积分呈正相关。结论:MDS 患者进行骨髓单个核细胞免疫表型检测对病情评估及预后判断有重要价值。

[关键词] 骨髓增生异常综合征;免疫表型;CD34

[中图分类号] R551.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)07-0434-03

Characteristics and clinical value of immunophenotyping of bone
marrow cells for patients with myelodysplastic syndromeLI Ping OUYANG Jian ZHOU Rongfu XU Jingyan CHEN Bing
SHAO Xiaoyan XU Yong

(Department of Hematology, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China)

Corresponding author: OUYANG Jian, E-mail: oy626@sina.com

Abstract Objective: To assess the clinical value of immunophenotyping for myelodysplastic syndrome (MDS) patients. **Method:** Analysis was performed on 48 bone marrow (BM) samples of MDS patients. Immunophenotyping was based on a primary gating of blast cells, monocytes, and granulocytes according to CD45 antigen expression and side scatter light diffraction. Immunophenotypic hierarchical clustering was performed to analyze the results. **Result:** The most discriminating markers were CD11b, CD13, CD33, CD34 and CD117. Positive expression of CD34, CD117, CD13 and CD33 was more frequent in RAEB1 and RAEB2 patients than in RCMD patients. The expression of CD34 was positively related to IPSS score. **Conclusion:** Immunophenotype of MDS patient is valuable for evaluating severity and predicting outcome.

Key words myelodysplastic syndrome; immunophenotyping; CD34

骨髓增生异常综合征(MDS)是造血干细胞克隆性疾病,临床表现不典型,血液学改变缺乏特异性,因此其诊断比白血病显得更为困难,特别是在形态学改变不明显时。目前临床方面对 MDS 的诊断主要依靠外周血或骨髓细胞的形态学、活检、细胞遗传学,但流式细胞术免疫分型对 MDS 的诊断和预后具有重要的价值^[1]。本文分析了 48 例 MDS 患者骨髓细胞免疫表型特点,探讨流式细胞术免疫分型在 MDS 评估病情、判断预后方面的临床意义。

1 资料与方法

所有病例来自 2008-01—2009-01 在我院初诊住院的 48 例 MDS 患者,诊断标准依据 2001 年

WHO 制定的 MDS 诊断及分型标准,依据国际预后积分系统(IPSS)进行评分。根据不同亚型及 IPSS 积分进行分组。采用直接免疫荧光技术三标记法,以 CD45/SSC 双参数散点图设门,每测定管收集 10 000 个细胞,测定结果采用 CellQuest 软件分析。流式细胞仪 FACS Calibur,以 FITC、PE 或 PRECP 作为荧光剂标记抗体。单克隆抗体的选择包括髓系相关的 CD13、CD33、CD14、CD15、CD117、CD11b、CD16、CD56、MPO; T 系相关的 CD2、CD3、CD4、CD5、CD7、CD8; B 系相关的 CD10、CD19、CD20、CD22、CyCD79α; 系列非相关性 CD34、CD38、TDT、HLA-DR。结果判断: CD45/SSC 设门中白血病细胞群表面抗原阳性率 $\geq 20\%$ 为阳性, MPO $\geq 10\%$ 为阳性。

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验,用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。使用 Spearman 等级相关性分析。

* 基金项目:江苏省卫生厅 135 开放课题(No:k0605);南京市卫生局项目资助(No:ZKM06052, YKK08065)

¹ 南京大学医学院附属鼓楼医院血液科(南京, 210008)

通信作者:欧阳建, E-mail: oy626@sina.com

2 结果

48 例 MDS 患者中男 28 例,女 20 例;发病年龄 35~78 岁,平均年龄 53 岁。CD5、CD20、CD19、CD10、CD22、CD14、CD71 阳性率均低于 10% 以上,CD7 阳性率 15%,CD15 阳性率 28%。CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 阳性率均高于 90%。

根据 2001 年 WHO 提出的诊断标准进行诊断及分组,RCMD 25 例、RAEB₁ 10 例、RAEB₂ 13 例,分别为 1 组、2 组及 3 组(由于 RA、RAS 等其他亚型例数较少,未纳入本次分析范围)。对各组 CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 免疫表型情况进行对比分析,结果见表 1。

依据国际预后积分系统对该 48 例 MDS 患者进行危险度分级,低危组 3 例,中危 1 组 13 例,中危 2 组 13 例,高危组 19 例。对中危 1、中危 2 及高危组免疫表型进行对比分析,结果见表 2。

对骨髓原始细胞比例及 CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 表达情况见表 3,并对骨髓原始细胞比例及各免疫分型抗体的具体数值进行相关性分析。骨髓原始细胞比例与 CD34 表达呈正相关($r=0.58, P<0.01$);与 CD117 表达呈正相关($r=0.60, P<0.01$);与 CD11b 表达无相关性;CD33、CD13 表达呈正相关, r 值分别为 0.36 及 0.43, $P<0.05$ 及 $P<0.01$ 。

对 IPSS 积分及 CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 表达进行相关性分析,IPSS 积分与 CD117、CD11b、CD33、CD13 表达情况无相关性,但与 CD34 表达呈正相关($r=0.320, P<0.05$)。

3 讨论

MDS 是一组异质性较强的疾病,诊断主要依靠外周血或骨髓的形态学、活检、细胞遗传学,其诊断标准中对于免疫分型无确定性描述。流式细胞术具有高度的敏感性,可以检测到 $>10^{-4}$ 的早期恶

性克隆,从而更广泛的捕获异常细胞,尤其对低增生性 MDS 更为重要。本文分析 48 例 MDS 患者骨髓细胞免疫分型变化,探讨免疫分型在 MDS 患者病情评估和判断预后方面的临床意义。

该 48 例 MDS 患者骨髓细胞免疫表型存在多系表达,与王建英等^[1]及 Jensen 等^[2]国内外研究相符合。其中 CD34、CD117、CD11b、CD33、CD13 阳性表达率明显高于淋系相关抗原,说明 MDS 为髓系异常增生为主的疾病,这与陈燕等^[3]及 Orfao 等^[4]分析 MDS 患者骨髓细胞免疫表型的结论一致。对比 MDS 各亚型之间免疫表型发现,RAEB₁ 及 BAEB₂ 患者 CD34、CD117 及早期髓系抗原 CD33、CD13 阳性表达率较 RCMD 患者增高;分析该 48 例 MDS 患者骨髓原始细胞比例与各免疫表型阳性表达率间的相关性发现,原始细胞比例与 CD34、CD117、CD33、CD13 阳性表达率呈正相关性,依据陈燕等^[3]研究结论,提示造血干细胞分化成熟障碍可能参与了 MDS 的复杂病变过程,同时也说明骨髓细胞免疫分型检查对评估 MDS 的病情有重要意义。Maynadie 等^[5]分析 207 例 MDS 患者骨髓原始细胞免疫表型,发现 CD34 表达阳性率与骨髓原始细胞比例具有相关性。Orfao 等^[4]发现 MDS 患者骨髓 CD34 阳性细胞数与原始细胞比例成正比,并且随着 MDS 进展骨髓 CD34 阳性细胞数呈逐渐升高趋势。与我们的研究有类似的发现,该 48 例 MDS 患者 CD34 阳性表达率在 RCMD、RAEB₁ 及 RAEB₂ 三亚型间呈进行性升高的趋势,CD117、CD13 及 CD33 表达未呈现出此特点,说明 CD34 阳性表达率对于反应 MDS 疾病进展方面更为敏感及准确。吴雨洁等^[6]认为 MDS 疾病进展时 CD34 表达阳性率逐渐升高,MDS 早期阶段可能已经存恶性克隆性 CD34⁺ 原始细胞,MDS 的进展过程就是恶性克隆呈现优势性生长扩

表 1 RCMD、RAEB₁、RAEB₂ 各组间 CD34 等表达百分率 % , $\bar{x} \pm s$

组别	例数	CD34	CD117	CD11b	CD33	CD13	HLA-DR
RCMD	25	29.60±16.33	31.72±19.27	36.20±29.47	58.08±29.14	59.64±23.08	49.28±24.81
RAEB ₁	10	51.90±22.88 ²⁾	47.20±20.50 ²⁾	48.60±18.97	75.00±25.91	83.10±19.95 ²⁾	61.60±20.45
RAEB ₂	13	72.54±21.21 ²⁾³⁾	63.69±23.85 ¹⁾	31.61±15.60 ³⁾	83.00±15.88 ²⁾	81.69±16.63 ²⁾	64.62±26.40

与 RCMD 比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与 RAEB₁ 比较,³⁾ $P<0.05$ 。

表 2 中危 1、中危 2 及高危组 CD34 等表达百分率 % , $\bar{x} \pm s$

组别	例数	CD34	CD117	CD11b	CD33	CD13	HLA-DR
中危 1	13	23.92±10.84	32.28±21.35	40.85±35.45	65.31±27.70	66.38±18.92	51.08±27.05
中危 2	13	49.92±34.12 ¹⁾	44.62±30.39	33.62±23.03	62.85±30.79	68.00±31.85	59.69±31.48
高危	19	51.53±23.97 ²⁾	53.89±19.29 ²⁾	39.94±19.82	75.74±26.57	78.32±17.80	57.63±17.85

与中危 1 比较,¹⁾ $P<0.05$;²⁾ $P<0.01$ 。

表 3 骨髓原始细胞比例及 CD34、CD117 表达百分率

组别	例数	骨髓原始 细胞比例	%, $\bar{x} \pm s$	
			CD34	CD117
RCMD	25	1.38±1.2	29.60±16.33	31.72±19.27
RAEB ₁	10	7.10±2.3	51.90±22.88	47.20±20.50
RAEB ₂	13	14.38±4.5	72.54±21.21	63.69±23.85

增的过程,早期干细胞抗原 CD34 的异常表达与 MDS 进展有关。

依据 IPSS 积分系统对该 48 例 MDS 患者进行危险度分组,发现高危组 CD34 及 CD117 表达阳性率较中危 1 组升高,并具有统计学差异。提示 CD34、CD117 阳性表达率可反应疾病进展程度,对临床判断疾病是否恶化有一定意义。CD34 抗原选择性地表达于早期造血干/祖细胞,可以通过与血管细胞黏附分子的结合使造血干/祖细胞定居于骨髓并得以进一步发育、分化^[7],并具有抑制髓系终末分化,使细胞维持于未成熟阶段的功能^[8]。CD117 一般在肥大细胞及其前体细胞有高表达,也为原始粒细胞所表达,MDS 髓系异常增生为主的疾病,随着疾病进展原始细胞比例增高,使得 CD117 表达阳性率也逐渐升高。分析 IPSS 积分与 CD34 及 CD117 等分子表达阳性率的相关性发现,随着 IPSS 积分的增高,CD34 表达阳性率进行性升高,并具有正相关性,提示 CD34 表达水平可作为判断 MDS 患者预后的一项重要临床指标。Fackler 等^[8]分析 207 例 MDS 患者骨髓原始细胞免疫表型,发现 CD34 表达阳性率与 MDS 患者骨髓原始细胞比例具有相关性。与我们的研究有类似的发现。

综上所述,流式细胞术具有高度的敏感性,应用该项技术对 MDS 患者的骨髓细胞进行免疫分型检测,尤其是 CD34 的监测,对 MDS 的诊断、病情及预后判断有重要意义。

参考文献

- [1] 王建英,李晓明,李发菊,等.骨髓增生异常综合征患者骨髓细胞免疫表型研究及意义[J].中国实验血液学杂志,2002,10(1):173-174.
- [2] JENSEN I M. Myelopoiesis in myelodysplasia evaluated by multiparameter flow cytometry[J]. Leuk lymphoma,1995,20:17-25.
- [3] 陈燕,隗佳.骨髓增生异常综合征(WHO 分型)细胞的生物学特征及其意义[J].临床血液学杂志,2007,20(5):283-287.
- [4] ORFAO A,ORTUN F,DE SANTIAGO M. Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes[J]. Cytometry (Part A 58A),2004:62-71.
- [5] MAYNADIE M, PICARD F, HUSSON B, et al. Immunophenotypic clustering of myelodysplastic syndromes[J]. Blood,2002,100:2349-2356.
- [6] 吴雨洁,李建勇,仇海荣,等.四色流式细胞术分析骨髓增生异常综合征原始细胞免疫表型[J].中国实验血液学杂志,2006,14(1):50-53.
- [7] MAY G, HEALY L, GALE K, et al. Functional analysis of the stem cell antigen CD34 in transgenic mice [J]. Blood,1994,84:871-877.
- [8] FACKLER M, KRAUSE O, SMITH O M, et al. Full-length but not truncated CD34 inhibits hematopoietic cell differentiation of M1 cell [J]. Blood,1995,85:3040-3047.

(收稿日期:2011-09-14 修回日期:2011-11-14)

(上接第 433 页)

- multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy[J]. J Clin Oncol,2008,26:2737-2744.
- [17] KRAJ M, POGLOD R, KOPEC-SZLEZAK J, et al. C-kit receptor (CD117) expression on plasma cells in monoclonal gammopathies [J]. Leuk Lymphoma, 2004,45:2281-2289.
 - [18] PRUNERI G, PONZONI M, FERRERI A J, et al. The prevalence and clinical implications of c-kit expression in plasma cell myeloma[J]. Histopathology,2006,48:529-535.
 - [19] BATAILLE R, PELLAT-DECEUNYNCK C, ROBILLARD N, et al. CD117 (c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma

with unexpectedly good prognosis [J]. Leuk Res, 2008,32:379-382.

- [20] MATEO G, CASTELLANOS M, RASILLO A, et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma [J]. Clin Cancer Res, 2005,11:3661-3667.
- [21] GUTIERREZ N C, CASTELLANOS M V, MARTIN M L, et al. Prognostic and biological implications of genetic abnormalities in multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation: t(4;14) is the most relevant adverse prognostic factor, whereas RB deletion as a unique abnormality is not associated with adverse prognosis [J]. Leukemia,2007,21:143-150.

(收稿日期:2011-09-15)