

CD117 和 CD34 在急性白血病中的临床意义

陈红涛¹ 许萍¹ 张红雨¹

[摘要] 目的:观察细胞表面分化抗原 CD117 和 CD34 在急性白血病中的表达及意义。方法:采用三色流式细胞术,CD45/SSC 双参数散点图设门方法,对 34 例急性白血病患者[急性淋巴细胞白血病(ALL)9 例和急性髓细胞白血病(AML)25 例]骨髓白血病细胞的免疫分型及 CD117 和 CD34 的表达进行检测。结果:CD117 在 ALL 和 AML 中表达率分别为 0 和 76.0%(19/25),差异有统计学意义($P=0.000$)。CD34 在 ALL 和 AML 中表达率分别为 77.8%(7/9)和 60.0%(15/25),差异无统计学意义($P=0.815$)。在 AML- M_3 亚型中,CD34 表达率为 16.7%(1/6),显著低于非 M_3 亚型 73.7%(14/19)($P=0.007$)。结论:CD117 检测有助于 ALL 与 AML 的鉴别诊断,CD34 检测有助于区分 AML- M_3 亚型和非 M_3 亚型。

[关键词] 急性白血病;流式细胞仪;CD117;CD34

[中图分类号] R733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2013)07-0485-03

Significance and expression of CD117 and CD34 in acute leukemia cells

CHEN Hongtao XU Ping ZHANG Hongyu

(Department of Laboratory Medicine, the Fifth Hospital Affiliated Sun Yat-sen University, Zhuhai, 519000, China)

Corresponding author: ZHANG Hongyu, E-mail: zdwyzhy@163.com

Abstract Objective: To explore the significance and expression of CD34 and CD117 on different types of acute leukemia cells. **Method:** The expression of CD34 and CD117 in acute leukemia cells from 34 patients (including 9 ALL and 25 AML) were detected by flow cytometry. **Result:** The positive rate of CD117 was significantly lower in ALL patients than that in AML patients (0 vs 76.0%, $P=0.000$). There was no significant difference in the positive rate of CD34 between ALL and AML patients (77.8% vs 60.0%, $P=0.815$). The positive rate of CD34 in non- M_3 subtype was significantly higher than that in AML- M_3 subtype (73.7% vs 16.7%, $P=0.007$). **Conclusion:** CD117 may be used as an immunologic marker for AML. CD34 may be used to distinguish the diagnosis between AML- M_3 subtype and non- M_3 subtype.

Key words acute leukemia; flow cytometry; CD117; CD34

依据细胞形态学和细胞化学染色所进行的急性白血病(AL)FAB分类是目前诊断分型AL的基本方法。FAB分类法简便、直观、易行,但由于AL的异质性、白血病细胞形态变化多端及混合型白血病、转化型白血病的存在,单纯形态学检查在观察者间和观察者内的一致率偏低。白血病免疫分型是MIC分型的重要组成部分,是形态学分型的重要补充。对白血病细胞抗原的分析研究有助于准确判断被测白血病细胞所属细胞系列及其分化程度,为诊断、治疗及预后提供依据。本研究采用流式细胞术对AL患者进行免疫表型检测,了解CD117和CD34对AL患者诊断及预后的影响。

1 资料与方法

1.1 资料

选择2008-01—2012-10在本院住院的AL患者34例,男18例,女16例;年龄13~77岁,中位年龄37岁;急性淋巴细胞白血病(ALL)9例,急性

髓细胞白血病(AML)25例。AML亚型: M_1 (急性粒细胞白血病未分化型)2例, M_2 (急性粒细胞白血病部分分化型)3例, M_3 (急性早幼粒细胞性白血病)6例, M_4 (急性粒单细胞白血病)3例, M_5 (急性单核细胞白血病)9例, M_6 (红白血病)1例, M_7 (巨核细胞性白血病)1例。

1.2 治疗方案

治疗非 M_3 亚型AML的诱导方案采用高三尖杉酯碱(HHRT)、柔红霉素(DNR)、阿糖胞苷(Ara-c)组成的DA方案(DNR 45 mg/m²×d1~3, Ara-c 100~200 mg/m²×d1~7)、HA方案(HHRT 2~6 mg/d×d1~7, Ara-c 100~200 mg/m²×d1~7)。 M_3 以全反式维甲酸(ARTA 45 mg/m²×d)诱导分化为主,部分同时用三氧化二砷(As₂O₃)双诱导。疗效评定标准为完全缓解(CR):①临床无白血病细胞浸润所致的症状及体征,生活正常或接近正常。②血常规:血红蛋白≥100 g/L(男)或≥90 g/L(妇女及儿童),中性粒细胞绝对值≥1.5×10⁹/L,血小板≥100×10⁹/L。外周血白细胞分类中无白血病细胞。③骨髓像:原粒细胞Ⅰ型+Ⅱ型

¹ 中山大学附属第五医院检验科(广东珠海,519000)
通信作者:张红雨, E-mail: zdwyzhy@163.com

(原始单核细胞 + 幼稚细胞或原始淋巴细胞) ≤ 5%, 红细胞及巨核细胞系正常。

1.3 实验方法

以无菌注射器采集受试者骨髓 2 ml, 肝素抗凝 (20 U/ml), 利用 PBS 将骨髓标本稀释并调整细胞浓度至 10⁹/L, 分装在试管中, 并标记 CD2、CD3、CD5、CD7、CD10、CD13、CD14、CD15、CD19、CD20、CD34、CD117。分别将 PE 标记的单抗各 20 μl 加入 100 μl 骨髓标本中, 室温避光反应 15 min; 将溶血素约 1 ml 加入上述标本中, 室温避光 15 min; 室温下以 1 000 r/min 的速度离心约 10 min 后, 弃去上清; 加入 10 g/L 多聚甲醛 0.5 ml 固定, 上机待测。

上机检测细胞表面抗原表达: 利用 BD FACS-Calibur 流式细胞仪 CELLQuest 软件获取 10 000 个细胞, 通过 CD45/SSC 设门识别骨髓幼稚细胞群, 分别检测该细胞群各抗原的表达。统计分析各自阳性率。用 IgG1 PE 作阴性对照。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 分析白血病细胞抗原的表达, 经正态性检验实验数据呈非正态分布, 率的比较采用 χ^2 检验, 两两比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD117、CD34 在 AML 和 ALL 中阳性表达率的比较

CD117、CD34 在 AML 和 ALL 中阳性表达率的比较见表 1。

2.2 CD117、CD34 表达与 CR 相关性分析

25 例 AML 中, 19 例非 M₃ 亚型采用化疗行诱导治疗后, 14 例获 CR, 5 例未获 CR。获 CR 者 CD117 和 CD34 阳性表达率为分别为 78.6% (11/14) 和 71.4% (10/14), 未获 CR 者 CD117 和 CD34 阳性表达率分别为 60.0% (3/5) 和 80.0% (4/5), CD117、CD34 表达与 CR 率无明显相关 ($\chi^2 = 0.655, P = 0.418; \chi^2 = 0.14, P = 0.709$)。

表 1 CD117、CD34 在 AML 和 ALL 中的阳性表达率
例 (%)

分型	例数	CD117 阳性率	CD34 阳性率
AML	25	19(76.0) ¹⁾	15(60.0)
M ₁	2	2(100.0)	2(100.0)
M ₂	3	2(66.7)	2(66.7)
M ₃	6	5(83.3)	1(16.7) ²⁾
M ₄	3	3(100.0)	2(66.7)
M ₅	9	6(66.7)	7(77.8)
M ₆	1	1(100.0)	1(100.0)
M ₇	1	0	0
ALL	9	0	7(77.8)

与 ALL 比较,¹⁾ $P < 0.01$; 与本组内非 M₃ 亚型比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

3 讨论

CD117 是干细胞因子受体 (c-kit 受体) 膜外区分子表面抗原标志^[1]。人类 c-kit 受体是由 c-kit 原癌基因编码的跨膜受体, 分为膜外区、跨膜区和胞质区 3 部分, 属Ⅲ型酪氨酸激酶受体家族。正常情况下, CD117 仅表达于正常造血干/祖细胞, 较成熟的髓系及单核系细胞极少表达, 淋巴细胞几乎不表达。正常骨髓细胞包括干细胞和定向祖细胞, CD117 表达率为 4%, 在 AML 中有较高表达, 其阳性表达率多在 60.0% ~ 87.0%。本研究表明, CD117 在 AML 患者中的阳性表达率为 76.0%, 在 AML 各亚型间表达差异无统计学意义; 在 ALL 患者中的阳性表达率为 0, 与 AML 患者比较差异有统计学意义 ($P = 0.000$)。文献报道^[2-3], CD117 在淋系中低表达或不表达, 阳性表达率在 0 ~ 15%, 提示 CD117 具有髓系特异性, 可作为髓系免疫学标记物, 用以鉴别 AML 和 ALL 的诊断。

CD34 是目前研究较多的一个表面抗原, 是一种分子量 105 ~ 120 kD 的高度糖基化的Ⅰ型跨膜糖蛋白, 与细胞、基质粘附有关, 是一种干、祖细胞相关抗原, 主要表达于分化较差的白血病亚型。CD34 在正常人骨髓细胞中表达 1% ~ 4%, 在 AML 患者中的阳性表达率为 40% ~ 60%^[4]。研究表明, 其在 AML 各亚型间, M₃ 亚型的表达率显著低于非 M₃ 亚型。本研究表明, 在 M₃ 亚型中, CD34 的阳性表达率为 16.7%, 显著低于非 M₃ 亚型的 73.7% ($P = 0.007$), 提示 CD34 可作为鉴别与鉴别诊断 M₃ 亚型与非 M₃ 亚型的特异性标志物。

目前, 基于形态学的 FAB 分类法仍是 AL 分型的重要手段, 但由于白血病细胞形态上高度的异质性, 单纯的 FAB 分类法难于满足临床的需要。随着细胞免疫学的飞速发展, 免疫学分型在白血病诊断中起着重要的作用。相当一部分形态学难以诊断的患者, 通过免疫学分型得到准确的诊断。本研究表明, CD117 是较好的髓系抗原, 可以较好的区分髓系或淋系; CD34 是干/祖细胞标记, 可以准确地区分 M₃ 亚型和非 M₃ 亚型。在本研究中, 有 2 例患者形态学强烈提示 M₃, 但免疫学表型不支持 M₃ 诊断。最后, 按 M₃ 亚型给予 ARTA 诱导治疗未能缓解, 改 DA 方案诱导化疗后获 CR, 提示准确的分型是提高治愈率的关键。

自从免疫学分型应用于临床, 众多的研究者试图建立起免疫表型与预后的关系, 用于指导临床治疗及预后判断, 但目前所取得的结果颇不一致, 存在较多争议。部分学者提出免疫表型的表达不能提示预后, 而大部分学者则认为免疫表型与 AML

患者的预后存在相关性,并可以根据免疫表型情况进行预后判断并指导治疗。多数文献报道 CD34 为 AML 患者预后不良的因素之一^[5-6],但也有研究认为 CD34 的表达与预后无关。本研究结果表明,CD34 表达与 AML 患者的 CR 率无明显相关($P=0.709$)。造成研究结果不一致的原因可能是单一抗原表达情况尚不能得到可靠一致的预后意义,抗原结合或建立预后评分系统或许更能准确的对 AL 进行预后判断。目前已有关于这方面的文献报道,有研究认为 CD34/CD11b、CD34/HLA-DR 共表达的 AML 患者与难治性 AML 相关,预后较非共表达组差^[7]。

综上,CD117 和 CD34 检测对于 AML 的诊断及鉴别诊断有重要意义。有关 CD34 抗原对 AML 患者预后的影响,由于本组患者例数较少,尚需更大样本观察才能有更准确的结果。

参考文献

[1] 庞文正,滕淑萍,侯丽君. 急性髓系白血病细胞血管细胞黏附分子 1、CD34 和 CD117 的表达[J]. 中国组织工程研究,2012,16(36):6748-6752.

[2] 马丽丽,陈骞,戴海滨. 成人急性髓细胞白血病异常免疫表型特点及临床意义[J]. 哈尔滨医科大学学报,2012,46(3):253-256.

[3] 李庆,翟志敏,徐静玮,等. CD117 在急性白血病中的表达及其临床意义[J]. 白血病. 淋巴瘤,2006,15(3):176-178.

[4] 田文洪,莫志芳,王晓燕,等. CD34,CD38,CD117 抗原在急非淋白血病细胞中的表达[J]. 医学信息,2011,24(6):121-121.

[5] WEBBER B A,CUSHING M M,LI S. Prognostic significance of flow cytometric immunophenotyping in acute myeloid leukemia[J]. Int J Clin Exp Pathol,2008,1:124-133.

[6] JUNGHANSS C,WAAK M,KLOPP A,et al. Multivariate analyses of prognostic factors in acute myeloid leukemia: relevance of cytogenetic abnormalities and CD34 expression[J]. Neoplasma,2005,52:402-410.

[7] 赵玥,徐娟,孙雪静,等. 白血病相关免疫表型与难治性急性髓细胞白血病的关系[J]. 标记免疫分析与临床,2010,17(4):238-241.

(收稿日期:2013-01-14)

(上接第 484 页)

vivin、MDM2 发挥抗凋亡作用,P53 发挥促凋亡作用。

综上所述,Survivin 不同异变体的具体生物作用和调控凋亡机制不同,其与 P53、MDM2 的相互作用亦不同,通过反义核苷酸可阻断其相应功能。通过研究 Survivin 不同异变体相应的临床抑制药物,将为白血病治疗提供一个新的途径。

参考文献

[1] SAH N K,KHAN Z,KHAN G J,et al. Structural, functional and therapeutic biology of survivin[J]. Cancer Lett,2006,244:164-171.

[2] 侯燕,胡群,何学琴. Survivin 在柔红霉素与长春新碱诱导白血病细胞凋亡中的作用[J]. 中国实用儿科杂志,2007,22(10):767-769.

[3] 胡群,侯燕,刘爱国,等. Survivin 在柔红霉素诱导白血病细胞凋亡作用机制中的研究[J]. 临床血液学杂志,

2008,21(6):597-599.

[4] ZHENG W Y,KANG Y Y,LI L F,et al. Levels of effectiveness of gene therapies targeting survivin and its splice variants in human breast cancer cells[J]. Drug Discov Ther,2011,5:293-298.

[5] VANDGHANOONI S,ESKANDANI M,MONTAZERI V,et al. Survivin-deltaEx3:a novel biomarker for diagnosis of papillary thyroid carcinoma[J]. J Cancer Res Ther,2011,7:325-330.

[6] CHO G S,AHN T S,JEONG D,et al. Expression of the Survivin-2B splice variant related to the progression of colorectal carcinoma[J]. J Korean Surg Soc,2011,80:404-411.

[7] MARIONI G,AGOSTINI M,BEDIN C,et al. Survivin and laryngeal carcinoma prognosis:nuclear localization and expression of splice variants[J]. Histopathology,2012,61:247-256.

(收稿日期:2013-01-30)