

• 论著-研究报告 •

急性早期前体 T 淋巴细胞白血病免疫表型分析*

林娜¹ 刘正华¹ 富威¹ 王萍萍¹ 颜晓菁¹ 李艳¹

[摘要] 目的:分析 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 及 CD5^{weak} 对早期前体 T 淋巴母细胞白血病(ETP-ALL)诊断的意义及与临床特点的关系,以提高对 ETP-ALL 免疫表型及临床特点的认识。方法:回顾性分析 55 例初诊急性 T 淋巴细胞性白血病患者的流式免疫分型结果,分析 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 及 ETP 与各抗原表达阳性率的关系,以及 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 和 CD5^{weak} 两两联合对 ETP 诊断特异性的影响,并比较 ETP(CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak})、near ETP(CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5⁺⁺⁺)及其他(others)组的临床基本特点。结果:多数抗原表达阳性率在 CD1a⁻/CD8⁻ 和 not CD1a⁻/CD8⁻ 组间、My/S⁺ 和 My/S⁻ 组间及 ETP 和 non ETP 组间均差异有统计学意义。但在 CD5^{weak} 和 CD5⁺⁺⁺ 组间,各抗原表达阳性率均差异无统计学意义。CD1a⁻/CD8⁻ 联合 My/S⁺ 对 ETP 的诊断特异度为 75.8%,CD5^{weak} 联合 CD1a⁻/CD8⁻ 或 My/S⁺ 对 ETP 的诊断特异度均为 90.9%。ETP、near ETP 及 others 组年龄、白细胞计数及血小板计数均差异有统计学意义。结论:CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 对 ETP-ALL 的识别与诊断具有重要意义,CD5^{weak} 在 ETP-ALL 的鉴别诊断中具有重要价值,需要注意将符合 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺,但 CD5 高表达的 near ETP 患者区分出来。ETP 及 near ETP 均具有较独特的临床特点。

[关键词] 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤;早期前体 T 淋巴母细胞白血病;免疫表型

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.03.009

[中图分类号] R733 **[文献标志码]** A

Immunophenotypic analysis of early T-cell precursor lymphoblastic leukemia

LIN Na LIU Zhenghua FU Wei WANG Pingping YAN Xiaojing LI Yan

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang, 110001, China)

Corresponding author: LI Yan, E-mail: Liyan2@medmail.com.cn

Abstract Objective: To analyze the significance of CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺ and CD5^{weak} in the diagnosis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (ETP-ALL) and their relationship with clinical characteristics, so as to improve the understanding of the immunophenotype and clinical characteristics of ETP-ALL. **Method:** The results of immunophenotype in 55 patients with newly diagnosed acute T-lymphoblastic leukemia were retrospectively analyzed. The relationship between CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺, CD5^{weak}, ETP and the positive ratio of different antigens was analyzed. The effects of CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺, and CD5^{weak} on the specificity of ETP diagnosis were compared. Furthermore, basic clinical characteristics of ETP (CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺, CD5^{weak}), near ETP (CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺, CD5⁺⁺⁺) and other groups were compared. **Result:** The positive rates of most antigens were significantly different between CD1a⁻/CD8⁻ vs not CD1a⁻/CD8⁻ group; My/S⁺ vs My/S⁻ group and ETP vs non-ETP group. However, there was no significant difference of the positive rate of each antigen between CD5^{weak} and CD5⁺⁺⁺ group. The diagnostic specificity of CD1a⁻/CD8⁻ combined with My/S⁺ for ETP was 75.8%, and that of CD5^{weak} combined with CD1a⁻/CD8⁻ or My/S⁺ for ETP was 90.9%. There were significant differences in age, leukocyte count and platelet count among ETP, near ETP and other group. **Conclusion:** CD1a⁻/CD8⁻ and My/S⁺ have great significance in the identification and diagnosis of ETP-ALL. CD5^{weak} has great value in the differential diagnosis of ETP-ALL. It is necessary to distinguish near ETP patients with CD1a⁻/CD8⁻, My/S⁺ and elevated CD5. Both ETP and near ETP have unique clinical characteristics.

Key words lymphoblastic leukemia/lymphoma; early T-cell precursor lymphoblastic leukemia; immunophenotype

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81170519);辽宁省自然科学基金(No:2013225079)

¹ 中国医科大学附属第一医院血液科(沈阳,110001)

通信作者:李艳, E-mail: Liyan2@medmail.com.cn

T 细胞淋巴母细胞淋巴瘤/白血病(T-ALL/LBL)是一组前体 T 淋巴细胞恶性克隆性增生性疾病,其临床特点及预后异质性较大。2016 年 WHO 造血与淋巴系统肿瘤分类标准提出了一项暂定分类,即早期前体 T 淋巴母细胞白血病(early T-cell precursor lymphoblastic leukaemia,ETP-ALL)^[1]。这种 ETP-ALL 暂定分类的提出,是基于多项研究发现此类患者具有较高的诱导治疗失败率及复发率^[2-3],且具有独特的遗传学特点。ETP-ALL 白血病细胞起源于刚刚从骨髓迁移至胸腺的 T 淋巴细胞,仍带有一些髓系及干细胞的免疫表型及遗传特点^[4-7],具有多系分化潜能,能够分化为 T 系和髓系细胞^[1,4]。ETP-ALL 的诊断和鉴别主要依据其独特的免疫表型特点,除了要求表达 T 细胞免疫标记 CD7 外,其定义目前主要包括三部分:①不表达 CD1a 及 CD8;②表达 1 个或多个髓/干细胞标志物(My/S)(至少 25% 淋巴母细胞),包括 CD34、CD117、HLADR、CD13、CD33、CD11b 或 CD65;③CD5 通常为阴性,即使阳性,也表达少于 75% 的幼稚细胞群体。此外,有研究提出 near ETP 的概念^[8],指满足 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺,但 CD5 高表达的 T-ALL,这类患者诱导缓解率低,具有较独特的临床特点,而相关研究十分有限。目前国内尚未见 ETP-ALL 的临床及基础研究的相关报道。本研究回顾性分析了本院诊治的 55 例 T-ALL/LBL 免疫表型及临床基本资料,主要依据 ETP-ALL 定义的 3 部分,即 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 的符合情况,对 T-ALL/LBL 进行归类分析统计,探讨三者对 ETP-ALL 诊断的重要意义及与临床特点的关系,从而提高对 ETP-ALL 免疫表型及临床特点的认识。

1 资料与方法

1.1 资料

回顾性分析 2011-04—2018-08 于本院诊治的免疫分型资料完整的成人 T-ALL/LBL 患者 55 例,其中男 34 例,女 21 例,中位年龄 35 岁;根据 ETP 免疫分型诊断标准重新分类,其中 22 例为 ETP,33 例为非 ETP,进一步将后者中满足 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺,但 CD5 高表达的 8 例患者归为 near ETP,其他(others)患者 25 例。

1.2 检测方法

采用 CD45/SSC 参数设门四色流式细胞术检测 55 例患者治疗前骨髓或外周血细胞的免疫表型。采用仪器为 FACSCanto II 型流式细胞仪(美国 BD 公司)。所有抗体均购自美国 BD 公司。

1.3 统计学处理

所有数据均采用 SPSS13.0 统计学软件处理。计数资料采用 χ^2 检验(双侧);计量资料先进行正态分布检验及方差齐性检验,多组间比较采用

ANOVA 单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 及 ETP 与各抗原表达阳性率的关系

首先分别以 CD1a⁻/CD8⁻、not CD1a⁻/CD8⁻; My/S⁺、My/S⁻; CD5^{weak}、CD5⁺⁺⁺; ETP、non ETP 为分组标准,对不同组别各抗原表达情况进行统计分析,观察 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 及 ETP 与各抗原表达的关系,并观察 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 对抗原表达的影响与 ETP 对抗原表达影响的一致性,以初步判断 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 对 ETP 诊断的重要性。结果见表 1(所列数据为阳性例数/阴性例数)。我们发现各抗原表达阳性率在 CD1a⁻/CD8⁻ 和 not CD1a⁻/CD8⁻ 组间(除 HLA-DR、CD13、CD2、CD10 外)均差异有统计学意义,在 My/S⁺ 和 My/S⁻ 组间(除 HLA-DR、CD13、CD2、CD10 外)均差异有统计学意义,在 ETP 和 non ETP 组间(除 HLA-DR、CD2、CD3、CD10、CD56 外)均差异有统计学意义。但在 CD5^{weak} 和 CD5⁺⁺⁺ 组间,各抗原表达阳性率均差异无统计学意义。

2.2 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 及 CD5^{weak} 两两联合对 ETP 诊断特异性的影响

进一步分析 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 及 CD5^{weak} 两两联合对 ETP 诊断特异性的影响,满足 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺ 者 30 例,其中 ETP 22 例,others 8 例,诊断特异度为 75.8%,阳性预测值 73.3%;满足 CD1a⁻/CD8⁻、CD5^{weak} 者 25 例,其中 ETP 22 例,near ETP 3 例,诊断特异度为 90.9%,阳性预测值 88.0%;满足 My/S⁺、CD5^{weak} 者 25 例,其中 ETP 22 例,near ETP 3 例,特异度为 90.9%,阳性预测值 88.0%。

2.3 ETP, near ETP 及 others 与临床基本资料的关系

55 例患者中,ETP (CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak}) 22 例,near ETP (CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5⁺⁺⁺) 8 例,others 25 例。分析 3 组临床基本资料的差异,发现 3 组年龄、白细胞计数及血小板计数均差异有统计学意义($P = 0.025, 0.038, 0.020$)。ETP 组患者年龄最高,白细胞计数最低;near ETP 组白细胞及血小板均最高;others 组白细胞计数较高,血小板计数最低。详见表 2。

3 讨论

成人 ALL/LBL 发病率显著低于儿童,而 T-ALL/LBL 仅占 ALL/LBL 的 25%,故临床较为少见,关于新近提出的 ETP-ALL,认识更为有限,目前国内尚未见报道。本研究回顾性总结分析了 2011-04—2018-08 本院初诊的总计 55 例成人 T-

表 1 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺、CD5^{weak} 及 ETP 与各抗原表达阳性率的关系

抗原	CD1a ⁺ 或 CD8 ⁺		P 值	My/S ⁺ (33 例)	My/S ⁻ (22 例)	P 值	CD5 ⁺⁺⁺ (18 例)	CD5 ^{weak} (37 例)	P 值	ETP (22 例)	non-ETP (33 例)	P 值
	CD1a ⁻ /CD8 ⁻	或 CD1a ⁺ /CD8 ⁺										
	(34 例)	(21 例)										
CD34	27/7	2/18	<0.001	29/4	0/22	<0.001	8/9	21/16	0.566	19/3	10/22	<0.001
CD117	8/21	0/21	0.015	8/21	0/22	0.007	2/14	6/28	1.000	6/13	2/29	0.041
HLA-DR	3/15	1/4	1.000	4/15	0/4	1.000	2/6	2/13	0.589	1/11	3/8	0.317
CD13	6/7	3/0	0.213	6/7	0/3	0.250	0/4	6/6	0.234	6/4	0/6	0.034
CD33	13/16	0/21	<0.001	13/17	0/20	0.001	3/13	10/24	0.508	10/12	3/27	0.008
My/S	30/4	3/18	<0.001	33/0	0/22	—	8/10	24/13	0.244	22/0	11/22	<0.001
CD1a	0/34	15/6	—	2/31	13/9	<0.001	6/12	9/28	0.529	0/22	15/18	<0.001
CD8	0/34	17/4	—	2/31	15/7	<0.001	7/11	10/27	0.535	0/22	17/16	<0.001
CD5	9/25	9/12	0.011	8/25	18/4	<0.001	18/0	0/37	—	0/22	18/15	<0.001
CD2	12/22	13/8	0.094	11/22	14/8	0.052	10/8	15/22	0.389	8/14	17/16	0.407
CD4	1/33	9/12	<0.001	1/32	9/13	0.001	5/13	5/32	0.268	1/21	9/24	0.039
CD3	2/31	10/11	0.001	3/29	9/13	0.009	5/13	7/29	0.506	2/19	10/23	0.099
CD10	4/29	7/13	0.079	4/28	7/14	0.090	4/14	7/28	1.000	2/20	9/22	0.097
CD56	7/23	0/21	0.033	7/22	0/22	0.015	3/13	4/31	0.664	4/16	3/28	0.411

表 2 ETP、near ETP 及 others 组临床基本资料比较

组别	男 : 女/例	年龄/岁	白细胞计数 /($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	血红蛋白 /($g \cdot L^{-1}$)	血小板计数 /($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	骨髓白血病细胞 /%
ETP(22 例)	13 : 9	46.4 $\pm$ 18.1	24.9 $\pm$ 27.8	84.4 $\pm$ 29.9	94.8 $\pm$ 88.1	82.2 $\pm$ 23.3
near ETP(8 例)	4 : 4	31.4 $\pm$ 13.5	88.3 $\pm$ 127.4	98.8 $\pm$ 42.0	149.5 $\pm$ 108.5	69.8 $\pm$ 23.5
others(25 例)	17 : 8	35.4 $\pm$ 14.0	71.5 $\pm$ 75.3	96.1 $\pm$ 36.6	61.5 $\pm$ 47.2	86.9 $\pm$ 15.9

ALL/LBL 患者的免疫表型及临床资料,初步探讨 ETP-ALL 的诊断及其临床基本特点。

T-ALL 以 CD7、cCD3/CD3 表达为标志,本研究所有患者均表达 CD7 及 cCD3,根据细胞发育成熟的不同阶段,T-ALL 可进一步分为 pro-T、pre-T、皮质 T 及髓质 T ALL。CD1a 是皮质 T 的标志物,而 CD8 可见于 pre-T 或成熟的细胞毒性 T 细胞,故 CD1a⁻/CD8⁻大多提示为 pro-T 阶段的早期原始 T 细胞。My/S⁺ 也多见于较原始的淋巴细胞,往往提示预后不佳。本研究发现多数抗原表达阳性率在 CD1a⁻/CD8⁻ 和 not CD1a⁻/CD8⁻ 组间、My/S⁺ 和 My/S⁻ 组间及 ETP 和 non ETP 组间均差异有统计学意义。以 CD1a⁻/CD8⁻ 或 My/S⁺ 为分组条件,均能一定程度上模拟 ETP、non ETP 分组对各抗原表达的区分作用,说明 CD1a⁻/CD8⁻ 及 My/S⁺ 对早期原始 T 淋巴细胞的识别具有关键价值,对 ETP 的诊断具有重要作用。

CD5 是一种 I 型跨膜糖蛋白,含有 3 个富含半胱氨酸的清道夫受体结构域,能够抑制 T 细胞受体信号通路^[9],调节胸腺细胞阳性选择、促进细胞存活^[10]。在白血病细胞中,CD5 表达下调^[11]。本研究发现,CD1a⁻/CD8⁻ 联合 My/S⁺ 对 ETP-ALL 的诊断特异性较差,而 CD5^{weak} 联合 CD1a⁻/CD8⁻ 或 My/S⁺ 的诊断特异性均高于 90%,说明 CD5^{weak} 在

ETP-ALL 的鉴别诊断中具有重要价值。临床上,需要注意将符合 CD1a⁻/CD8⁻、My/S⁺,但 CD5 高表达的 near ETP 患者区分出来。

我们进一步分析了 ETP、near ETP 及 others 组患者临床基本资料的差异,发现 3 组年龄、白细胞计数及血小板计数均差异有统计学意义。高龄是 ALL 不良预后的重要因素之一,ETP 组患者年龄最高,这一定程度上解释了 ETP-ALL 患者的不良预后。需要值得注意的是,既往认为白细胞计数显著增高是 ALL 的不良预后指标之一,但本研究中 ETP 组患者白细胞计数最低。Wood 等^[8]研究也发现,ETP 组高白患者数显著少于非 ETP 患者,且高白仅在 near ETP 组及 others 组与不良预后相关,而在 ETP 组高白与无事件生存及总生存均未见显著联系。因此,临床上需对此类非高白但预后不良的 ETP-ALL 患者予以特别关注。我们还发现 near ETP 组患者白细胞计数及血小板计数均最高,提示 near ETP-ALL 患者可能具有较独特的临床特点,有必要对其进一步深入研究。遗憾的是,本组病例中很多未在我院进行系统诊治,故缺少细胞遗传学、分子遗传学及临床预后相关资料,未能对 ETP、near ETP 及 others ALL 患者的组间差异进行深入的研究。

总之,本研究对 ETP-ALL 的免疫分型特点进

行了细致的分析和解读,并发现 ETP 及 near ETP ALL 均具有较独特的临床特点,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127: 2391—2405.
- [2] Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, et al. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia; results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15 [J]. *Br J Haematol*, 2012, 156: 358—365.
- [3] Jain N, Lamb AV, O'Brien S, et al. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia/lymphoma (ETP-ALL/LBL) in adolescents and adults; a high-risk subtype [J]. *Blood*, 2016, 127: 1863—1869.
- [4] Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Nature*, 2012, 481: 157—163.
- [5] Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, et al. Early T-cell precursor leukaemia; a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10: 147—156.
- [6] Neumann M, Heesch S, Schlee C, et al. Whole-exome sequencing in adult ETP-ALL reveals a high rate of DNMT3A mutations [J]. *Blood*, 2013, 121: 4749—4752.
- [7] Neumann M, Coskun E, Fransecky L, et al. FLT3 mutations in early T-cell precursor ALL characterize a stem cell like leukemia and imply the clinical use of tyrosine kinase inhibitors [J]. *PLoS one*, 2013, 8: e53190.
- [8] Wood BL, Winter SS, Dunsmore KP, et al. T-lymphoblastic leukemia (T-ALL) shows excellent outcome, lack of significance of the early thymic precursor (ETP) immunophenotype, and validation of the prognostic value of end-induction minimal residual disease (MRD) in Children's Oncology Group (COG) Study AALL0434 [J]. *Blood*, 2014, 124: 1—1.
- [9] Dong B, Somani AK, Love PE, et al. CD5-mediated inhibition of TCR signaling proceeds normally in the absence of SHP-1 [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38: 45—56.
- [10] Mier-Aguilar CA, Cashman KS, Raman C, et al. CD5-CK2 signaling modulates erk activation and thymocyte survival [J]. *PLoS one*, 2016, 11: e0168155.
- [11] Rai AK, Singh A, Saxena A, et al. Exonal switch down-regulates the expression of CD5 on blasts of acute T cell leukaemia [J]. *Clin Exp Immunol*, 2017, 190: 340—350.

(收稿日期: 2018-12-31)