

# 单中心 510 例急性髓系白血病免疫表型特点及与预后相关性研究

陈锋<sup>1</sup> 黄芬<sup>1</sup> 易正山<sup>1</sup> 郑忠信<sup>1</sup> 魏小磊<sup>1</sup> 魏永强<sup>1</sup> 张钰<sup>1</sup> 徐丹<sup>1</sup> 范志平<sup>1</sup> 冯茹<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨急性髓系白血病(AML)免疫表型特点及其与预后的相关性。方法:采用单克隆抗体四色直接免疫荧光标记 AML 骨髓细胞行流式细胞仪检测其免疫表型,回顾分析 AML 患者骨髓细胞免疫表型特点,并分析 AML(除外 M<sub>3</sub>)免疫表型与预后的关系。结果:510 例 AML 免疫表型各抗原表达阳性率(以荧光阳性细胞≥20%为表达阳性)情况:CD13(86.3%)、CD33(79.4%)、HLA-DR(66.9%)、CD34(58.9%)、CD117(55.4%)、CD64(45.8%)、CD7(29.2%)、CD11b(23.4%)、CD56(18.9%)、CD10(12.5%)、CD15(11.6%)、CD2(8.7%)、CD19(8.5%)、CD14(8.4%)。M<sub>3</sub> 患者 CD34、HLA-DR 阳性率显著低于非 M<sub>3</sub> 患者( $P<0.01$ )。在 AML(非 M<sub>3</sub>)患者中,CD10、CD11b 表达阳性或 CD13、CD34 高水平表达(以荧光阳性细胞≥50%为表达阳性)的患者 CR 率显著降低( $P<0.05$ );CD13 和 CD34 高水平表达和 CD13/CD34 共表达的患者中位生存期显著缩短( $P<0.05$ )。结论:CD13、CD33、HLA-DR、CD34、CD117 是 AML 最常见的表达阳性抗原,CD10、CD11b、CD13 及 CD34 的表达状况与 AML(非 M<sub>3</sub>)患者预后相关。免疫表型分析不仅有助于疾病的诊断,而且对急性髓系白血病的预后判断有着重要的价值。

**[关键词]** 预后因素;免疫表型;急性髓系白血病;流式细胞术

**[中图分类号]** R733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2013)06-0375-04

## Immunophenotype and Prognosis in 510 Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Single-Center Study

CHEN Feng HUANG Fen YI Zhengshan ZHENG Zhongxin WEI Xiaolei  
WEI Yongqiang ZHANG Jue XU Dan FAN Zhi ping FENG Ru

(Department of Hematology, Nafang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China)

Corresponding author: FENG Ru, E-mail: rath1626@hotmail.com

**Abstract Objective:** To investigate the immunophenotype characteristic of acute myeloid leukemia (AML) and reveal the correlation of prognosis with the immunophenotype. **Method:** Immunophenotyping was performed in AML patients by multicolor flow cytometry. Correlation of immunophenotype with prognosis was analyzed in AML patients excluding APL cases. **Result:** The myeloid lineage antigens positive expression (expressed by more than 20% of the blast cells) in 510 AML patients: CD13 was detected in 86.3% of evaluable cases, CD33 in 79.4%, HLA-DR in 66.9%, CD34 in 58.9%, CD117 in 55.4%, CD64 in 45.8%, CD7 in 29.2%, CD11b in 23.4%, CD56 in 18.9%, CD10 in 12.5%, CD15 in 11.6%, CD2 in 8.7%, CD19 in 8.5% and CD14 in 8.4%. CD34 and HLA-DR positive expression percentage were significantly lower in APL patients ( $P<0.01$ ). Patients with AML (excluding APL cases) blasts positive for CD10 and CD11b or high level expression (expressed by more than 50% of the blast cells) for CD13 and CD34 had significantly lower CR rates ( $P<0.05$ , respectively). The OS was significantly shorter in patients either with high level expression of CD13 or CD34, or expressing both CD13 and CD34 ( $P<0.05$ , respectively). **Conclusion:** AML patients general expressed positive antigens with CD13, CD33, HLA-DR, CD34 and CD117. CD10, CD11b, CD13 and CD34 might be associated with the prognosis of the patients with AML (excluding APL). Immunophenotyping might be not only helpful for diagnosis but also of important significance for prognosis in AML patients.

**Key words** prognostic factor; immunophenotype; acute myeloid leukemia; flow cytometry

急性髓系白血病(AML)是一组生物学特性具有高度异质性的造血干/祖细胞异常克隆性性疾病。白血病免疫表型是从造血细胞克隆进化过程中分化抗原表达的角度来认识白血病细胞克隆的,它利用单克隆抗体(monoclonal antibody, McAb)

监测白血病细胞的细胞膜表面或细胞浆内抗原,分析其表型,了解白血病细胞所属系列及其分化程度。免疫表型对于 AML 的诊断具有非常重要的意义,且临床广泛应用,已成为初诊 AML 患者常规检查,但目前关于免疫表型与 AML 患者预后的关系存在较多的争议,因此有必要作进一步的研究和探讨。

<sup>1</sup>南方医科大学附属南方医院血液科(广州,510515)  
通信作者:冯茹, E-mail: rath1626@hotmail.com

### 1 对象与方法

#### 1.1 对象

2000-01—2009-12 我科诊断且资料完整用 MICM 方法的诊断 510 例初治 AML 患者。期中男 295 例,女 215 例;年龄 12~83 岁,中位年龄 36 岁。AML 亚型情况: M<sub>1</sub> 26 例, M<sub>2</sub> 147 例, M<sub>3</sub> 78 例, M<sub>4</sub> 60 例, M<sub>5</sub> 109 例, M<sub>6</sub> 10 例, M<sub>7</sub> 5 例, AML-未定型 75 例。364 例 AML 患者完成 2 疗程及以上化疗, 2 疗程化疗后 227 例患者获 CR, CR 率为 62.4%, 64 例获 PR, PR 率 17.5%, 总有效率 79.9%。

所有患者均在我院行骨髓细胞学、流式细胞仪免疫表型检查及染色体核型分析。

#### 1.2 免疫表型检测

取患者骨髓 3 ml, 肝素抗凝, 采用单克隆抗体 4 色直接免疫荧光标记后行流式细胞仪检测。所用单抗除 CD45 外, 包括髓系 CD11b、CD13、CD14、CD15、CD33、CD64、CD117; 淋巴细胞系 CD2、CD7、CD10、CD19、CD56; 系列非特异性抗原 CD34、HLA-DR; 胞浆内抗原 cMPO、cCD3、cCD79a 等, 结果以荧光阳性细胞 ≥ 20% 为阳性表达, 以 ≥ 50% 为高水平表达<sup>[1]</sup>。

#### 1.3 治疗方案与疗效标准

采用 DA、HA、MA、TA、IA 等方案诱导化疗, 缓解后治疗给予上述方案交替治疗或中、大剂量阿糖胞苷序贯化疗 6 个疗程。2 疗程化疗后评价诱导治疗疗效, 疗效标准按文献<sup>[2]</sup>评定。

#### 1.4 观察指标

①患者的一般情况: 包括性别, 发病时年龄, FAB 分型等; ②免疫表型结果; ③AML 亚型与免疫表型的相关性; ④免疫表型与预后的相关性。预后指标包括: 早期死亡, CR 率和中位生存时间。510 例 AML 中 M<sub>3</sub> 有 78 例, 考虑 M<sub>3</sub> 特殊的生物

学特性及治疗方案, 在免疫表型与 CR 率、中位生存时间的相关性分析中未纳入 M<sub>3</sub> 病例。

#### 1.5 统计学处理

应用 SPSS13.0 统计学软件统计, 率的比较用卡方检验或 Fisher's 精确概率法进行分析; 生存时间分析采用 Kaplan-Meier 法 Log Rank 检验比较生存时间的差异。

### 2 结果

#### 2.1 免疫表型结果

AML 各亚型具体的免疫表型情况见表 1, 其中 37.6% 的 AML 患者伴有淋系抗原的表达。

#### 2.2 FAB 各 AML 亚型与免疫表型的相关性

M<sub>3</sub> 患者的骨髓细胞中 CD34、HLA-DR 阳性率明显低于其他亚型, 分别为 10.1% 与 67.1%, 及 12.1% 与 74.6%, 均 P 值 < 0.001; CD33 表达阳性率为 95.8%, 高于其他亚型; 淋系抗原表达率显著低于其他亚型(无 CD19 表达, CD7、CD10 表达率低)。CD7 在 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、M<sub>6</sub> 中表达阳性率高于其他亚型。CD56 表达阳性常见于 M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>, 其次为 M<sub>1</sub>、M<sub>5</sub>。CD11b 在 M<sub>5</sub> 中阳性率高于其他亚型。CD14、CD15 表达阳性主要见于 M<sub>5</sub> 中。CD64 表达阳性常见于 M<sub>5</sub>、M<sub>4</sub> 中。CD13 和 CD117 在各亚型中有不同程度的阳性表达。

#### 2.3 免疫表型与 CR 率的相关性

**2.3.1 抗原表达与 CR 率的相关性** 结果示 CD10、CD11b 阴性组 CR 率高于阳性组, 分别为 66.1% 与 38.1% (P=0.001); 65.8% 与 51.6% (P=0.043)。其余抗原表达阳性与否与 CR 率之间无显著相关性。

**2.3.2 抗原高水平表达与 CR 率的相关性** 结果示 CD13、CD34 非高水平表达组的 CR 率高于高水平表达组, 分别为 70.5% 与 58.3% (P=0.024); 66.8% 与 55.8% (P=0.020)。其余抗原高表达与

表 1 AML 亚型的抗原表达阳性率情况 [阳性/(阳性+阴性)](%)

抗原	M <sub>1</sub> n=26	M <sub>2</sub> n=147	M <sub>3</sub> n=78	M <sub>4</sub> n=60	M <sub>5</sub> n=109	M <sub>6</sub> n=10	M <sub>7</sub> n=5	未定型 n=75	合计
CD2	3.8	7.1	9.7	8.9	6.9	30.0	0.0	10.6	8.7
CD7	58.3	37.6	1.8	22.2	20.0	40.0	20.0	31.1	29.2
CD10	31.3	9.8	2.0	12.3	14.1	10.0	20.0	17.6	12.5
CD11b	7.7	18.5	12.8	20.5	36.8	0.0	0.0	24.4	23.4
CD13	78.3	87.4	88.5	93.2	83.3	60.0	60.0	80.2	86.3
CD14	8.3	2.7	1.8	9.1	19.5	20.0	0.0	3.8	8.4
CD15	4.2	9.4	5.7	3.7	26.3	0.0	0.0	12.5	11.6
CD19	8.7	6.1	0.0	6.4	5.1	0.0	0.0	13.3	8.5
CD33	68.2	76.9	95.8	88.1	85.7	75.0	60.0	53.7	79.4
CD34	56.5	74.6	10.1	65.5	50.9	70.0	60.0	79.5	58.9
CD56	40.0	34.4	4.0	12.5	16.7	10.0	0.0	11.6	18.9
CD64	33.3	36.1	59.5	51.1	57.0	30.0	0.0	26.7	45.8
CD117	58.3	70.2	40.3	55.9	46.2	50.0	40.0	35.2	55.4
HLA-DR	47.4	78.3	12.1	81.4	77.4	70.0	60.0	75.4	66.9

否与 CR 率之间无显著相关性。

**2.3.3 抗原共表达阳性与 CR 率的相关性** 本组病例资料中我们分析了 CD13、CD33、CD117、CD7 与 CD34、HLA-DR 之间共表达组与非共表达组与 CR 率的相关性,结果示无明显相关性。

**2.4 免疫表型与 OS(中位生存期)的相关性**

**2.4.1** 本组资料显示各抗原表达阳性与否与 OS 无明显相关性 不同抗原表达水平的高低与 OS 有一定的相关性,如:CD13 非高水平表达组中位生存期 44 个月显著长于 CD13 高水平表达组 23 个月,见图 1;CD34 非高水平表达组中位生存期 44 个月显著长于 CD34 高水平表达组 21 个月,见图 2。其他抗原水平表达与 OS 之间无显著相关性。

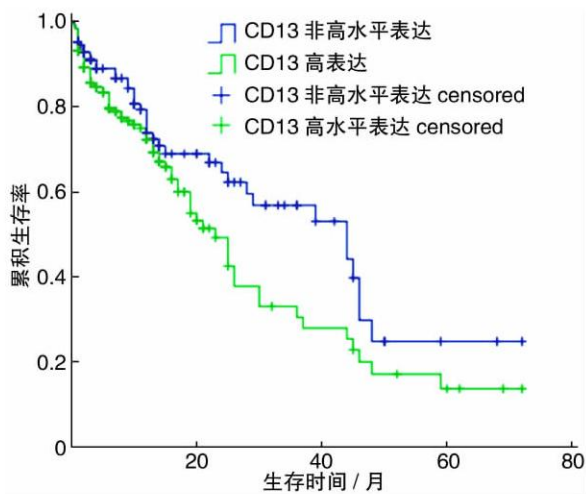


图 1 CD13 高水平表达组与非高水平表达组生存曲线 ( $P=0.038$ )

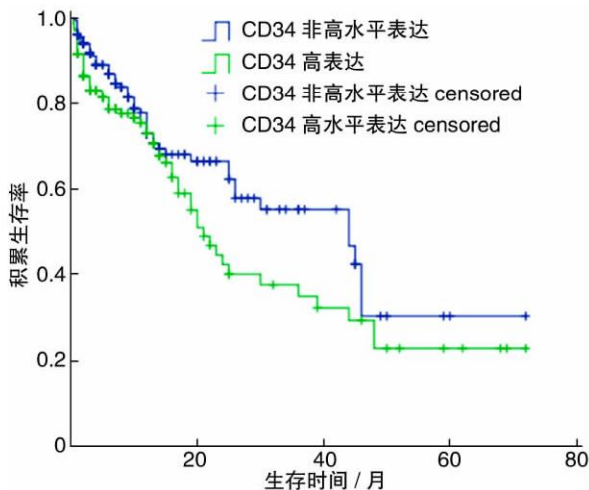


图 2 CD34 高水平表达组与非高水平表达组生存曲线 ( $P=0.047$ )

**2.4.2 抗原共表达阳性与中位生存的相关性** 分析 CD13/CD34 共表达与否与患者的 CR 率无明显相关性,但是两组间 OS 差异显著,CD13/CD34 共

表达组中位生存期仅为 21 个月,对照组为 44 个月,见图 3。其他各抗原共表达与非共表达组之间无显著相关性。

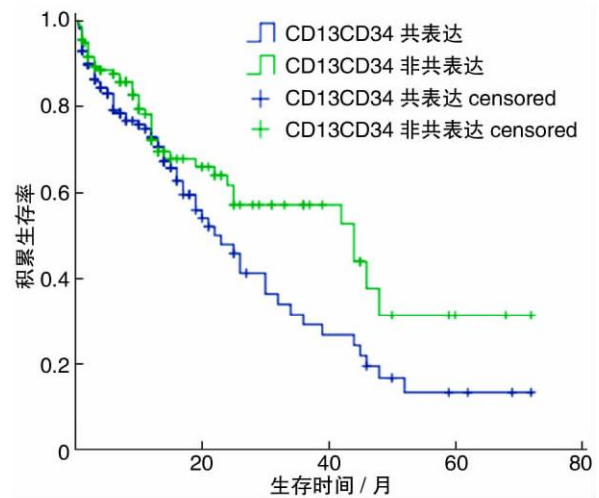


图 3 CD13/CD34 共表达组与非共表达组生存曲线 ( $P=0.042$ )

**3 讨论**

急性白血病的诊断从 FAB 到 WHO 诊断标准的变化,更多的强调了不同检查方法对诊断以及指导治疗的重要性。近年来分子生物学以及染色体核型的分析在判定预后及疗效中意义重大,但并非所有 AML 患者都具有明确的染色体核型或分子生物学标记,因此从免疫学角度分析每个患者白血病细胞的表面标记并从中寻找判断预后及疗效的指标更具有广泛、重大的意义。然而关于免疫表型与 AML 预后的关系,存在较大争议。目前较多的研究认为 CD7、CD11b、CD13、CD14、CD34、CD56、CD117、HLA-DR 等免疫标志的表达与预后负相关<sup>[3-5]</sup>,也有文献报道上述抗原表达在 AML 患者中并无预后意义<sup>[6]</sup>。基于上述争议,我们分析了本单位 2000—2009 年初治 510 例 AML 患者的免疫表型特征及其预后价值。

本组资料 510 例 AML 病例免疫分型结果中髓系抗原阳性表达最常见的为:CD13、CD33,其次 CD117 也是髓系较为敏感的指标。M<sub>3</sub> 患者缺乏 CD34、HLA-DR 等表达,CD33 在 M<sub>3</sub> 中阳性率为 95.8% (高于其他亚型),CD117 阳性率为 40.3%,CD14、CD15 在 M<sub>5</sub> 中表达阳性率较高。与文献报道基本相符<sup>[7]</sup>。

淋系抗原的表达情况:本组资料中 37.6% 的 AML 患者伴 1~2 个淋系分化抗原的表达,与 Venditti 等<sup>[8]</sup>报道的 41% 基本一致,最常见的为 CD7、CD56、CD10、CD19 等。M<sub>3</sub> 病例罕有 CD7、CD10、CD19 的表达,此特点对 M<sub>3</sub> 的诊断具有一定

的价值。CD19 的表达往往伴有 CD34、HLA-DR 的高表达,这类细胞可能起源于多能造血干细胞或更早期阶段的造血细胞。

在本组资料中发现在非 M<sub>3</sub> 的 AML 患者中 CD10 和 CD11b 阳性、CD13 和 CD34 高水平表达患者 CR 率低,CD13 和 CD34 高水平表达、CD13/CD34 共表达患者中位生存期短,差异均有统计学意义,提示 CD10、CD11b、CD13、CD34 的表达状况与非 M<sub>3</sub> 的 AML 患者的疗效与预后关联。

CD10 是一种中性肽链内切酶(脑啡肽酶),为 B 细胞发育过程中的一个特征性标志,Repp 等<sup>[9]</sup>报道 783 例 AML 单因素分析结果示 CD10 表达与低 CR 率相关,本组资料结果与之相符。CD11b 为连接细胞和细胞之间的黏附分子,可以使白血病细胞和骨髓基质细胞紧密结合,导致诱导治疗的失败。在本组病例中,CD11b 阳性组化疗后 CR 率显著低于表达阴性组,提示 CD11b 为预后不良因素,与文献报道<sup>[5]</sup>一致。在本组资料中 CD13 高水平表达组较非高水平表达组预后差,与文献报道基本一致<sup>[9]</sup>,但也有文献报道 CD13 在 AML 中并无预后意义<sup>[10]</sup>。多数文献报道 CD34 为 AML 患者预后不良的因素之一<sup>[3,9]</sup>,在本组资料中显示 CD34 高水平表达较非高水平表达者 CR 率显著降低,与文献报道基本一致。

其他免疫表型 CD2、CD7、CD19、CD56、CD14、CD11b、CD117、HLA-DR 等标志均有文献报道为 AML 患者预后不良的因素,但在本组资料中未发现上述免疫表型在 AML 患者中的预后意义,造成这种差异的原因可能与不同的病例群体、所研究的样本量大小不同、单克隆抗体敏感性不同、检测手段的灵敏性、各实验室抗原表达与否的判定标准及其他各种混杂因素包括年龄构成、遗传学因素及不同的治疗方案等因素有关。

有学者认为单一抗原表达情况尚不能确定可靠一致的预后意义,抗原结合或建立评分系统越来越受到重视,如文献示 CD34/CD11b 共表达 AML 患者与难治相关,预后差<sup>[11]</sup>;CD34/HLA-DR 共表达是影响 AML 患者 CR 率的独立危险因素<sup>[3]</sup>;TdT/CD7 共表达与 AML 中预后不良核型相关,预后差<sup>[8]</sup>;CD33/CD34 共表达组生存时间短,预后差<sup>[1]</sup>;Repp 等<sup>[9]</sup>则根据单因素分析中对预后影响的 4 个抗原 CD9、CD13、CD34、CD64 建立预后积分系统,结果 AML 患者中同时表达上述抗原中 3 或 4 个者的预后较不表达或仅表达 1 个及 2 个抗原者差。而本组资料显示 CD13/CD34 共表达的患者中位生存期显著缩短,文献中尚未见相关报道。

总之,免疫表型对 AML 特别是正常核型及无

特异分子生物学标志的 AML 的精确诊断及预后具有重要意义,有助于进行分层个体化治疗以提高 AML 的疗效。本组资料分析 510 例 AML 免疫表型特点及与预后的相关性,提示 CD13、CD33、HLA-DR、CD34、CD117 是 AML 最常见的表达阳性抗原,CD10、CD11b、CD13 及 CD34 的表达状况与 AML(非 M<sub>3</sub>)患者疗效及预后相关,特别是 CD13/CD34 共表达与中位生存期缩短有显著相关性在以往尚未见报道,因此期待更大规模、多中心的联合研究进一步探讨有关免疫表型在 AML 患者预后中的价值,以指导临床治疗,提高疗效。

#### 参考文献

- [1] LANZA F, RIGOLIN G M, MORETTI S, et al. Prognostic value of immunophenotypic characteristics of blast cells in acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 1994, 13 1: 81-85.
- [2] 张之南. 血液病诊断与疗效标准[M]. 3 版 北京: 北京科学出版社, 2008: 131-133.
- [3] CHANG H, SALMA F, YI Q L, et al. Prognostic relevance of immunophenotyping in 379 patients with acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Res*, 2004, 28: 43-48.
- [4] CHANG H, YEUNG J, BRANDWEIN J, et al. CD7 expression predicts poor disease free survival and post-remission survival in patients with acute myeloid leukemia and normal karyotype[J]. *Leuk Res*, 2007, 31: 157-162.
- [5] GRAF M, REIF S, KRÖLL T, et al. Expression of MAC-1(CD11b) in acute myeloid leukemia (AML) is associated with an unfavorable prognosis[J]. *Am J Hematol*, 2006, 81: 227-235.
- [6] KANDA Y, HAMAKI T, YAMAMOTO R, et al. The clinical significance of CD34 expression in response to therapy of patients with acute myeloid leukemia: an overview of 2483 patients from 22 studies[J]. *Cancer*, 2000, 88: 2529-2533.
- [7] ZHENG J, WANG X, HU Y, et al. A correlation study of immunophenotypic, cytogenetic, and clinical features of 180 AML patients in China[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2008, 74: 25-29.
- [8] VENDITTI A, DEL POETA G, BUCCISANO F, et al. Prognostic relevance of the expression of Tdt and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 1998, 12: 1056-1063.
- [9] REPP R, SCHAEKEL U, HELM G, et al. Immunophenotyping is an independent factor for risk stratification in AML[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2003, 53: 11-19.
- [10] 屈晨雪, 王建中, 汪润, 等. 急性髓系白血病患者 131 例免疫表型与预后的相关性分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(3): 292-286.
- [11] 赵玥, 徐娟, 孙雪静, 等. 白血病相关免疫表型与难治性急性髓系细胞白血病的关系[J]. *标记免疫分析与临床*, 2010, 17(4): 238-241.

(收稿日期: 2013-03-10)