

急性髓系白血病染色体核型及免疫表型分布及治疗后临床疗效分析

谷芳娜, 李国辉, 刘利

(第四军医大学第二附属医院唐都医院血液科, 陕西 西安 710037)

[摘要] **目的** 探讨急性髓系白血病染色体改变在急性髓系细胞白血病诊断及预后的意义. **方法** 对 48 例急性髓系白血病患者进行染色体核型分析及免疫表型分析, 并评估治疗后的临床疗效. **结果** 异常核型 32 例 (67%), 其中 M3 患者 100% 检出 t (15;17), M2 患者中 t (8;21) 多见, 三体 8 在数目异常中最为常见. 45 例初诊 AML 患者中, 共 13 例患者 CD96 (28.9%) 表达阳性, 15 例患者 CD123 (33.3%) 表达阳性, CD96 及 CD123 与染色体异常存在显著相关性 ($r=0.376, 0.498, P<0.05$). 参与治疗的 41 例患者中首次治疗完全缓解率为 46%, 核型低危组、中危组、高危组首次完全缓解率分别为 58%、43%、37%, 其中参与治疗的 8 例 t (15;17) M3 患者首次完全缓解率为 88%. **结论** 患者免疫表型与染色体核型具有较好相关性, 相关检测对于急性髓系白血病的诊断及预后评估具有重要意义.

[关键词] 急性髓系白血病; 染色体; 核型; 免疫表型

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 03-0113-04

Chromosome Karyotype and Immune Phenotype Distribution in Acute Myeloid Leukemia and Clinical Curative Effect Analysis

GU Fang-na, LI Guo-hui, LIU Li

(Dept. of Hematology, The 2nd Affiliated Hospital, The 4th Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710037, China)

[Abstract] **Objective** To investigate chromosome karyotype and immune phenotype distribution in acute myeloid leukemia and clinical curative effect. **Methods** 48 cases of acute myeloid leukemia patients were detected with chromosome karyotype and immune phenotype, and the clinical efficacy after treatment were analysed. **Results** There were 32 cases (67%) of abnormal karyotype, M3 patients were detected with 100% t (15; 17), M2 patients with t (8; 21), three body 8 is most common in the number of abnormal. There were a total of 13 patients CD96 positive expression (28.9%), 15 cases with CD123 (33.3%) positive, CD96 and CD123 and chromosomal abnormalities exist significant correlation ($r = 0.376, 0.498, P < 0.05$). In 41 patients complete remission rate was 46%, the karyotype low-risk group, the moderate and high-risk group for the first time complete response rate was 58%, 43%, 37% respectively, among which 8 cases of t (15; 17) - M3 patients with complete response rate was 88%. **Conclusion** The immune phenotype and chromosome karyotype of patients has good correlation, the detection of immune phenotype and chromosome karyotype is of great significance for the diagnosis and prognosis of acute myeloid leukemia assessment.

[Key words] Acute myeloid leukemia; Chromosome; Karyotype; Immune phenotype

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是造血干细胞恶性克隆性疾病, 因白血病细胞自我更新增殖、增殖失控、分化障碍、凋亡受

阻, 而停滞在细胞发育的早期阶段^[1]. 细胞遗传学的改变是恶性血液病发生的重要机制, 随着培养方法和显带技术的进步, 越来越多的患者被发现具

[基金项目] 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 基金资助项目 (2006AA02A111)

[作者简介] 谷芳娜 (1986~), 女, 辽宁大连市人, 大学本科, 助理实验员, 主要从事白血病的细胞遗传学研究工作.

[通讯作者] 刘利. E-mail: liuli1@medmail.com.cn

有获得性克隆性染色体异常^[2]。来自多中心、大系列针对 AML 患者的细胞遗传学研究表明, 约 55% 的成人 AML 患者伴有染色体异常, 这对研究白血病发病机制、生物学特性及对临床疾病的诊断、预后评估具有重要意义^[3]。CD123、CD96 是重要的白血病干细胞 (leukemia stem cell, LSC) 标志, 但对 AML 核型、免疫表型与治疗后的关系尚未明确。为此, 笔者对第四军医大学第二附属医院 2014 年 1~6 月收治的 48 例急性髓系白血病患者进行染色体核型分析, 探讨染色体核型与 AML 的诊断及预后评估中的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

来自第四军医大学第二附属医院唐都医院 2014 年 1~6 月收治 48 例初诊急性髓系白血病患者, 男性 26 例, 女性 22 例, 年龄 12~83 岁, 中位年龄 43 岁。所有患者入选后均采用细胞形态学、骨髓病理学、细胞遗传学检测。

1.2 染色体制备及核型分析

采集患者骨髓, 应用 24h 短期培养法、R 显带技术分析 20 个分裂相, 根据《人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN)》(1995) 描述核型^[4], 至少 2 个细胞有同样的染色体增加或结构异常, 或至少 3 个细胞有一致的染色体丢失定义为一个克隆^[5]。

1.3 LSC 免疫表型检测

取初诊白血病患者骨髓 2 mL, EDTA 抗凝后分离单个核细胞, 采用流式细胞仪检测 CD34⁺CD38⁻CD96⁺ 及 CD34⁺CD38⁻CD123⁺ 等 LSC 表面标志。CD45、CD34、CD38、CD123 及 CD96 单克隆抗体购自陕西先锋生物科技有限公司。

1.4 治疗方法

采用国际推荐一线治疗方案 (LD-HA、IA、TA、DAC+CAG、ATRA+ATO) 对患者进行诱导缓解治疗及巩固强化治疗, 同时根据患者的具体情况, 进行输血、抗感染及对症支持治疗等。疗效评定参照张之南《血液病诊断及疗效标准》。

1.5 统计学处理

统计学分析采用 SPSS 软件, 计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 染色体核型分析

48 例患者中 32 例检测出染色体异常核型, 异

常检出率为 67%。8 例为单纯数目异常, 其中三体 -8 最为常见; 13 例为结构异常, 其中 9 例 M3 患者均检出 t(15;17), M2 患者中 t(8;21) 检出频率最高; 另外 5 例同时伴有数目与结构异常。染色体核型在各亚型分布, 见表 1。

2.2 CD96 及 CD123 在 AML 各 FAB 亚型的表达情况

45 例初诊 AML 患者中, 共 13 例患者 CD96 (28.9%) 表达阳性, 15 例患者 CD123 (33.3%) 表达阳性。在 AML 各亚型中, CD96 及 CD123 在 M3 患者中阳性率最低, 在 M4、M5、M6 中表达较高, 并以 M5 表达率最高。分析染色体异常与 CD96 及 CD123 关系, CD96 及 CD123 与染色体异常有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.3 治疗后临床疗效分析

根据细胞遗传学危险度划分标准, 将参与治疗的 41 例患者分为 3 组: 低危组、中危组与高危组。治疗方案采用国际推荐一线治疗方案 (LD-HA、IA、TA、DAC + CAG、ATRA + ATO)。首次治疗完全缓解为 19 例, 约占 46%。各组患者缓解率, 见表 3。

3 讨论

AML 是造血干细胞获得性突变所致的恶性克隆性疾病, 染色体核型分析在 AML 的诊段、治疗、预后方面具有重要意义^[6]。AML 畸变类型可分为两大类: 一类是和 FAB 亚型不相关的异常, 大多数为数目异常; 另一类和 FAB 亚型相关的特异性染色体重排^[6]。其中 t(15;17)、t(8;21)、inv(16)/t(16;16)、t(11q23)、t(6;9)、inv(3)/t(3;3)、t(1;22) 已被世界卫生组织 WHO 列为重要的 AML 诊断分型指标, 将具有上述易位的 AML 称为具有“重现性遗传学的 AML”, 只要检测出以上异常核型中的一种, 即可诊断为相应得 AML^[7], 而不论其 BM 原始细胞百分率是否大于 20%。t(15;17) 只见于 M3 患者; t(8;21) 和 M2 有特别的联系 (92% 为 M2, 7% 为 M4, 个别为 M1); inv(16)/t(16;16) 约见于 25% 的 M4 患者, 尤其是 M4E0 患者; t(11q23) 和单核细胞白血病有特别的联系, 约见于 22% 的 M5; t(6;9) 见于伴有骨髓嗜碱细胞增多的 M2 或 M4 患者; inv(3)/t(3;3) 见于 M3 以外的各 AML 患者; t(1;22) 仅见于小儿 M7 患者。在本次研究中 9 例 M3 患者均检出 t(15;17), 14 例 M2 患者中检出 4 例 t(8;21)。

白血病干细胞 (Leukemia stem cell) 是由异质

表 1 分型及染色体核型分析结果

Tab. 1 The results of immune phenotype and chromosome karyotype analysis

FAB 分型	n	正常	异常	畸变类型	异常率 (%)
M1	9	5	4	50,XY,+der(1)i(1q),der(5),+8,+10,+m 46,XX,5q- 45,XY,dic(14;22)(p11;p11) 46,XY,t(1;3)(p34;q25),t(9;22)(q34;q11)	45
M2	14	3	11	46,XY/XX,t(8;21)(q22;q22)[4]44,XY,dup(12)(q12q21),-15,-1847,XY,+19 46,XY,i(1q),7q- 48,XX,7q-,+8,+8 47,XY/XX,+8[3]	78
M3	9		9	46,XY/XX,t(15;17)(q24;q21)[9]	100
M4	8	4	4	46,XX,inv(16)(p13q22) 46,XX,t(11;22)(q23;q11) 46,XX,6p-,t(8;11)(q23;q14) 45,XY,7q-,+8,-16,-17	50
M5	5	3	2	48,XY,+8,+m 47,XY,+8	40
M6	3	1	2	47,XY,der(2),+8 46,XX,der(5)	67

表 2 CD96 及 CD123 在 AML 各 FAB 亚型的表达情况 [n (%)]

Tab. 2 Expression of CD96 and CD123 in AML patients with different FAB subtypes [n (%)]

项 目	n	CD96	CD123
M1	9	2(22.2)	2(22.2)
M2	14	3(21.42)	4(28.57)*
M3	9	1(11.1)	2(22.2)*
M4	8	3(37.5)	3(37.5)
M5	5	3(60.0)	3(60.0)
M6	3	1(33.3)	1(33.3)

与 CD96 比较, *P<0.05.

表 3 各组患者首次治疗完全缓解率

Tab. 3 The first time complete response rate in each group

组 别	n	首次缓解 (n)	缓解率 (%)
高危	8	3	37.0
中危	21	9	43.0
低危	12	7	58.0

性细胞构成的细胞亚群, 占白血病细胞总数比例很低, 约为 0.1%~1.0%^[8]. 随着对 LSC 研究的进展, 目前发现 LSC 是导致治疗过程中耐药及复发的重要基础^[9]. 由于该类细胞具有多向分化能力及无限增殖能力, 因而有必要研究该类患者 LSC 表面抗原与染色体核型的关系. 本研究表明, CD96

及 CD123 关系, CD96 及 CD123 与染色体异常存在显著相关性. CD96 介导免疫反应后期 T 细胞及 NK 细胞的粘附作用, 结构上属于 CD226 家族^[10], 且在 CD34⁺CD38⁻AML 细胞上表达升高, 同时研究表明, CD96 及 CD123 表达阳性更易出现高白细胞以及预后不良染色体异常^[11,12]. 染色体核型是 AML 患者的独立预后因素, 按照核型不同可分为低危、中危、高危 3 组. 分析治疗后临床疗效, 本次研究中参与治疗的 41 例患者中首次治疗完全缓解率为 46%, 核型低危组、中危组、高危组首次完全缓解率分别为 58%、43%、37%, 染色体核型对预后评估有着重要意义. 临床上凡具有 t(15;17) 易位的 M3 患者应用反式维甲酸治疗有效, 反之则无效. 本次研究中参与治疗例 t(15;17) 易位的 M3 患者应用 ATRA+ATO 方案 7 例首次治疗后完全缓解, 表明 t(15;17) 对 M3 治疗具有指导意义.

综上所述, 患者免疫表型与染色体核型具有较好相关性, 相关检测对于急性髓系白血病的诊断及预后评估具有重要意义, 但本次研究时间短、病例少, 尚需进一步研究明确其临床价值.

[参考文献]

[1] HUH J, MUN Y C, SEONG C M, et al. Single nucleotide polymorphism array-based karyotyping shows sequential genomic changes from monosomy to copy-neutral loss of

- heterozygosity of chromosome 7 and 20q deletion within a balanced translocation t (14;20) in AML [J]. *Cancer Genet*, 2011, 204(12):682 – 686.
- [2] DOUET-GUILBERT N, DE BRAEKELEER E, BASINKO A, et al. Molecular characterization of deletions of the long arm of chromosome 5 (del(5q)) in 94 MDS/AML patients [J]. *Leukemia*, 2012, 26(7):1 695 – 1 697.
- [3] KLUG C A. GM-CSFRalpha: the sex-chromosome link to t(8;21)(+) AML [J]. *Blood*, 2012, 119(13):2 976 – 2 977.
- [4] BEACH D F, BARNOSKI B L, AVIV H, et al. Duplication of chromosome 1 [dup (1) (q21q32)] as the sole cytogenetic abnormality in a patient previously treated for AML [J]. *Cancer Genet*, 2012, 205(12):665 – 668.
- [5] MACKINNON R N, CAMPBELL L J. Chromothripsis under the microscope: a cytogenetic perspective of two cases of AML with catastrophic chromosome rearrangement [J]. *Cancer Genet*, 2013, 206(6):238 – 251.
- [6] DE FIGUEIREDO A F, MKRTCHYAN H, LIEHR T, et al. A case of childhood acute myeloid leukemia AML (M5) with a neocentric chromosome neo (1) (qter-->q23 approximately 24::q23 approximately 24-->q43-->neo-->q43-->qter) and tetrasomy of chromosomes 8 and 21 [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2009, 193(2):123 – 126.
- [7] TREPPENDAHL M B, QIU X, SOGAARD A, et al. Allelic methylation levels of the noncoding VTRNA2-1 located on chromosome 5q31.1 predict outcome in AML [J]. *Blood*, 2012, 119(1):206 – 216.
- [8] LI L J, TAO J L, FU R, et al. Increased CD34+CD38-CD123+ cells in myelodysplastic syndrome displaying malignant features similar to those in AML [J]. *Int J Hematol*, 2014, 100(1):60 – 69.
- [9] TETTAMANTI S, BIONDI A, BIAGI E, et al. CD123 AML targeting by chimeric antigen receptors: A novel magic bullet for AML therapeutics [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(6): e28 835.
- [10] MOHSENI N S, REPP R, KELLNER C, et al. Enhanced ADCC activity of affinity matured and Fc-engineered mini-antibodies directed against the AML stem cell antigen CD96 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42 426.
- [11] 刘晟, 张艳, 郭雄, 等. 位基因HLA-A*02:09与4种HLA单倍体的关系应用 [J]. *国外医学医学地理分册*, 2012, 33(2):106 – 108.
- [12] LEYTON J V, WILLIAMS B, GAO C, et al. MicroSPECT/CT imaging of primary human AML engrafted into the bone marrow and spleen of NOD/SCID mice using In-DT-PA-NLS-CSL360 radioimmunoconjugates recognizing the CD123/CD131 epitope expressed by leukemia stem cells [J]. *Leuk Res*, 2014, 36(2):92 – 106.

(2015-01-10 收稿)