

· 论 著 ·

细胞免疫表型检测在慢性粒单核细胞白血病诊断和治疗监测中的应用

洪俊¹, 饶永彩²

(1. 武汉大学人民医院检验科 430060; 2. 武汉生物制品所 430060)

摘要:目的 评估流式细胞仪细胞免疫表型检测(FCI)在慢性粒单核细胞白血病(CMML)诊断和监测治疗反应中的临床价值和意义。方法 采用多色 FCI 分析法和形态学观察法对 109 例 CMML 患者和 39 例随访患者的骨髓标本的免疫表型和形态学进行检测和评价,并对结果进行统计学分析。结果 采用 FCI 测得骨髓单核细胞百分比为 15%。与形态学分出的单核细胞百分比相关($r=0.35, P=0.0003$)。96% 患者单核细胞 FCI 发生改变;FCI 观察到的 CMML 粒细胞生成障碍为 91.7% 明显高于形态学方法测得的 82.6% ($\chi^2=4.10, P<0.05$)。CMML 患者 FCI CD34⁺ 细胞测定结果为中位数 0.7% (范围 0.15%~11.60%), 但其免疫表型改变非常显著改变个数的中位数为 7 (范围 1~11 个)。91% 患者出现 1 阶段原始血细胞缺失或明显减少。39 例随访患者中 35 例使用低甲基化剂(HMA)治疗和 4 例等待治疗患者的骨髓样品 CD34⁺ 原始细胞均被检测到持续的免疫表型改变,对 HMA 治疗有应答的 13 例患者单核细胞 CD14 表达均正常;而 40.9% (9/22) HMA 治疗无应答者单核细胞 CD14 表达发生改变 ($P=0.030$), 4 例接受造血干细胞移植治疗的患者免疫表型于移植后均正常。**结论** CMML 患者的 CD34⁺ 细胞,单核细胞和粒细胞表现出多种 FCI 异常,FCI 能够将恶性增生从反应性单核细胞增多中区分出来,同时也可用于监测 CMML 患者治疗反应。

关键词:慢性粒单核细胞白血病; 流式细胞免疫分型; 低甲基化剂

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.18.016 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2016)18-2595-05

Study on application of flow cytometry immunophenotypic detection in diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia and monitoring of treatment response

HONG Jun¹, RAO Yongcai²

(1. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China;

2 Wuhan Institute of Biological Products, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical value and significance of flow cytometry immunophenotypic(FCI) detection in the diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia(CMML) and monitoring of the treatment response. **Methods** The multicolor FCI assay and morphology observation method were adopted to detect and evaluate the immunophenotype and morphology of bone marrow (BM) samples in 109 patients with CMML and 39 follow-up patients. The results were statistically analyzed. **Results** The BM monocytes percentage detected by FCI was 15%, which was correlated with morphologic monocytes percentage ($r=0.35, P=0.0003$). The monocyte FCI in 96% patients had changes; the granulocytes dyspoiesis of CMML was 91.7% observed by FCI, which was significantly higher than 82.6% by morphology ($\chi^2=4.10, P<0.05$). The FCI detection results of CD34⁺ cells in CMML patients was mean 0.7% (ranged 0.15%–11.60%), but their FCI changes were very significant [median 7 (1–11)]. 91% patients appeared the primitive blood cells deletion or significant reduce in the first stage. Among 39 follow-up patients, the continuous FCI changes were detected in the CD34⁺ primitive cells of the BM samples in 35 patients with HMA therapy and 4 cases of waiting therapy, 13 cases of HMA therapeutic response had normal expression of monocyte CD14, while 40.9% (9/22) patients without HMA therapeutic response had the monocyte CD14 expression changes ($P=0.030$), 4 patients receiving hematopoietic stem cell transplant had normal FCI after transplant. **Conclusion** CD34⁺ cells, monocytes and granulocytes in CMML patients manifest multiple FCI abnormality; FCI can differentiate the malignant hyperplasia from the reactive monocytosis, meanwhile can be used for monitoring the therapeutic response of CMML patients.

Key words: chronic myelomonocytic leukemia; flow cytometric immunophenotyping; hypomethylating agent

慢性粒单核细胞白血病(CMML)是一种克隆性造血髓系肿瘤,具有骨髓增生异常综合征(MDS)和骨髓增生性肿瘤(MPD)的双重特征的异质性疾病。CMML 的诊断需要持续存在外周单核细胞增多症和不典型增生涉及至少一个血细胞系^[1]。当前临床上用于 CMML 诊断的临床实验室方法主要是形态学和细胞遗传学,但由于 CMML 单核细胞形态学不典型,仅有 20%~30% 出现细胞遗传学异常^[2-3],因而在临床上,无症状或症状不典型以及核型正常的 CMML 很难与良性单核细胞增多相区别。此外,随着治疗方案的发展,及时评估治疗效果以调整和细化治疗方案正成为临床上一个重要的需求。

鉴于传统的检测手段的局限性,临床上急需一种能用于 CMML 诊断和疗效观察的新检测手段。众多研究表明流式细胞仪细胞免疫表型检测(FCI)在 MDS 诊断及预后评估方面正日益被用来作为一个重要的工具^[4-8]。最近由欧洲白血病网络工作组举行的国际研讨会上已确定并出版了 MDS 的 FCI 标准^[9]。FAB 分类曾将 CMML 归类于 MDS,后考虑到其同时具有 MDS 和 MPD 的特征,又将其从 MDS 分类中划分出来,列入一个新的分类,即 MDS/MPD^[1]。但无论哪种归类方法均未将 FCI 纳入其评价系统。国际工作组强烈推荐在 MDS 的诊断中采用 FCI 结果^[10]。FCI 是否能同样应用于 CMML 尚

作者简介:洪俊,男,副主任技师,主要从事临床免疫及血液方面学的研究。

无定论;目前关于 FCI 用于 CMML 诊断的研究较少^[11-13]。而且这些研究所包括的 CMML 患者和免疫表型标记都较少,且主要分析目标都集中在单核细胞免疫表型改变上,然而单核细胞免疫表型改变并不具备 CMML 特异性。本文根据欧洲白血病网络工作组推荐的 FCI 标准^[9],对 109 例 CMML 患者的 CD34⁺细胞、单核细胞和粒细胞的免疫表型同时进行了检验。评估了 FCI 检测在 CMML 诊断和监测治疗反应中的可行性、临床价值和意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2010 年 1 月至 2015 年 6 月于本院血液科住院和门诊确诊并收治的 109 例 CMML 患者纳入本研究,包括 75 例男性和 34 例女性,中位年龄为 69 岁(范围 28~90 岁)。CMML 患者确诊后,87 例(80%)患者进行了治疗,其中 80 例(92%)采用了低甲基化剂(HMA)治疗,14 例(16%)采用了低剂量/单剂量或标准诱导化疗,9 例(10%)采用了羟基脲治疗,12 例(14%)采用了造血干细胞移植治疗。对其中 39 例进行了随访。对照组为同期的非 CMML 患者,共 64 例,男性 34、女 30 例,中位年龄为 59 岁(范围 13~82 岁),包括 1 例再生障碍性贫血、3 例造血干细胞移植后 MDS 状态、2 例急性髓系白血病(AML),以及 58 例各种非肿瘤原因所致血细胞减少,包括化疗后骨髓抑制($n=28$)、自身免疫性血细胞减少($n=8$)、慢性肾功能不全($n=3$)、缺铁性贫血($n=1$)、脾肿大($n=4$)、药物引起的血细胞减少($n=8$)、机械心脏瓣膜($n=2$)、病毒感染($n=2$)、和副肿瘤综合征($n=2$)。这些患者均被确诊不属于造血肿瘤所致的血细胞减少(平均每个患者的随访观察为 11 个月,范围 1~20 个月)。CMML 的诊断根据均按照世界卫生组织(WHO)建立的诊断标准(结合了临床症状、外周血和骨髓标本的形态学评估及常规细胞遗传学和分子生物学分析)^[1]。HMA 治疗反应的评估采用的是国际工作组(IWG)的评价标准^[14]。以上所有取样均获得患者的知情同意书。

1.2 试剂和仪器 BD Canto II 流式细胞仪,美国 BD 公司生产。所用检测试剂为 BD 公司原厂配套。

1.3 方法

1.3.1 流式细胞术 骨髓穿刺术吸取 2~4 mL 骨髓液,肝素抗凝,标本采集后 24 h 内进行检测。采用直接染色,裂解洗法处理肝素抗凝的骨髓标本品,骨髓细胞膜表面染色四色抗体标记包括 FITC、PE、PerCP 及 APC。检测中的同型对照采用鼠抗人免疫球蛋白 IgG1。取骨髓液 55~80 μ L 与抗体避光反应 15 min,溶血素避光溶解无核红细胞 10 min,1 500 r/min 离心 3 min,去上清液后加人 PBS 洗涤,1 500 r/min 离心 3 min,去上清后加入 350 μ L PBS 上机检测。数据分析采用 FACS-Diva 软件;检测前,用 CST 校准微球校准流式细胞仪的电压及增益。每个样品测定管至少取细胞数 200 000 个,对于 CD34⁺细胞较少的标本采集 500 000 个,通过 CD45 和散射光侧向角(SSC)的特点将骨髓细胞分为淋巴细胞群、单核细胞群、粒细胞群、原始细胞群、前体细胞群及有核红细胞群。在所有的病例中均分析原始细胞群、粒细胞群及单核细胞群。抗 CD34 抗体识别 CD34⁺造血干细胞。采用 CD10、CD19 特异性抗体对 1 阶段 CD34⁺原始细胞进行区分,异常 CD34⁺原始细胞常表现为 CD34⁺CD10⁻/CD19⁻。抗原的表达强度和表达率的正常范围是建立在 30 例健康者标本作为标准的测定结果上。对于正常情况下不表达或仅部分表达的抗原,表达情况采用百分率来衡量;而正常情况下高表达的抗原如 CD38、CD117、CD34、CD45、CD123、CD13,则以平均荧光强度(MFI)测定来衡量抗

原表达水平。“异常”是指标本测定值与对照组相差 2 个标准差以上,或至少 1/3 的对数的变化。在这项研究中,为了获得 CMML 患者单核细胞更多的信息,同时对 64 例继发于非肿瘤疾病的血细胞减少骨髓标本进行了分析。FCI 测定同样的被用来评估接受 HMA 或接受造血干细胞移植(HSCT)治疗患者的骨髓标本。

1.3.2 形态学评价 每一病例,骨髓活检组织切片采用常规苏木精-伊红(H&E)染色,骨髓涂片采用 Wright-Giemsa 染色涂片进行评价。对每份标本分类计数 500 个有核细胞。通过形态学观察,原始细胞包括原(始)粒细胞、单核细胞和幼单核细胞。在没有告知 FCI 结果的情况下进行形态评价。每个病例至少 1 个血液学专业人员进行复检,图形判读则由另一个专业人员进行。采用标准方法进行丁酸酯酶染色、阳性细胞采用占有核细胞总数的百分比(%)表示。

1.4 统计学处理 计数资料组间比较采用 χ^2 检验,计量资料的组间比较采用 t 检验,采用 Pearson 相关性分析;统计分析采用 SPSS 软件;若双侧 $P<0.05$ 则认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 常规检测结果 CMML 组形态学诊断 CMML-1 有 91 例(83%)和 CMML-2 有 18 例(17%);增生性 CMML(白细胞 $>13\times 10^9/L$)55 例(51%)和不典型增生 CMML(WBC $\leq 13\times 10^9/L$)54 例(49%)。这些患者平均血红蛋白(Hb)为 10.1 g/dL(范围 5.2~16.0 g/dL),中性粒细胞绝对计数(ANC)为 5.8×10^9 mg/L(范围 0.2~40.0 mg/L),单核细胞绝对计数(AMC)为 2.55×10^9 mg/L(范围 1.1~70.0 mg/L),原始细胞为 0%(范围 0%~12%),血小板计数为 $81\times 10^9/L$ [范围(5~800) $\times 10^9/L$]。常规细胞遗传学分析结果正常有 72 例(66%),异常 37 例(34%)。对照组平均血红蛋白水平为 13.1 g/dL(范围 7.0~16.5 g/dL),ANC 为 2.0×10^9 mg/L(范围 0.1~9.8 mg/L),AMC 为 0.5×10^9 mg/L(范围 0.2~1.2 mg/L),血小板计数为 $176\times 10^9/L$ [范围(10~380) $\times 10^9/L$]。

2.2 CD34⁺细胞差异 采用 FCI 对 CMML 患者的 CD34⁺细胞进行测定,结果 CD34⁺细胞中位数百分率为 0.7%(范围 0.15%~11.6%),明显低于形态学的 3%(范围 0%~15%),差异有统计学意义($P<0.05$)。在免疫表型上,CMML 患者的 CD34⁺细胞免疫表型改变与非肿瘤性血细胞减少的患者相比差异有统计学意义,见表 1。这些改变包括 CD34⁺原始细胞比例增加、1 阶段原始血细胞缺失或显著减少($\leq 5\%$),与 CD34⁺原粒细胞相比出现 CD117、CD123、CD13 和 CD34 表达强度增加,CD38 表达降低,改变的 CD45 或侧向散射直方图,异常表达非髓系标志物如 CD2、CD5、CD7、CD19、CD56;同时或伴有 CD64 和 CD15 等成熟粒细胞标志的异常表达。总的来说,CMML 患者的 CD34⁺细胞免疫表型改变中位数达 7 个(范围 1~11 个),而对照组中位数 0 个(范围 0~2 个),两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。100%的 CMML 患者 CD34⁺细胞免疫表型改变 ≥ 2 个,97%的免疫表型改变 ≥ 3 。99 例 CMML 患者(91%)和 10(16%)例血细胞减少对对照病例出现 1 阶段原始血细胞缺失或显著减少($\leq$ CD34⁺细胞的 5%)。有 16 例(25%)的对照病例出现 CD34⁺细胞免疫表型改变;但是大部分的变化在临界值边缘。10 例 CD34⁺细胞 $\geq 3\%$ 的 CMML 患者和 99 例 CD34⁺细胞 $<3\%$ 的 CMML 患者之间的免疫表型改变无明显的差异($P>0.05$)。

2.3 粒细胞生成障碍 为了使 FCI 评估粒细胞生成障碍更具体,本文根据以前的相关研究数据^[4]制定了 3 个用于评价粒细

胞生成障碍的标准,包括异常 CD11b 和 CD13/CD16 成熟模式,显著侧向散射光减少和 CD56 表达显著增加($\geq 20\%$)。结果 100 例(91.7%)例 CMML 患者粒细胞 FCI 显示生成障碍;73 例(67%)CMML 可以观察到异常 CD11b 和 CD13/CD16 成熟模式,57 例(52.3%)可以观察到侧向散射光减少,并且 9 例 CMML 可以观察到 CD56 表达显著增加(CD56 表达增加被定义为 $\geq 20\%$ 细胞阳性),见表 1。而形态学检查只发现 90 (82.6%)CMML 的患者中有出现粒细胞生成障碍($>10\%$ 粒细胞),明显低于 FCI 的 91.7%($\chi^2=4.10, P<0.05$);在 19 例粒细胞形态学无明显生成障碍患者中有 8 例(42%)粒细胞出现 FCI 改变,包括 7 例呈现异常 CD11b 和 CD13/CD16 模式,1 例侧向散射光减少。

2.4 单核细胞差异 采用 FCI 测得患者骨髓单核细胞的百分率为 15%(范围 2%~59%)。这个比例与形态学分出的单核细胞百分率相关[12%(范围 1%~40%), $r=0.35, P=0.000\ 3$],但与细胞化学法丁酸酯酶分出的单核细胞百分率不相关[14%(范围 2%~50%), $r=0.23, P=0.180\ 0$],见图 1。CMML 患者中有 105(96%)例单核细胞出现免疫表型改变。但这些改变并没有特异性,对照组也出现同样的变化(24 例约占总数的 37.5%,改变的中位数为 0 个,范围 0~3 个),但 CMML 患者改变幅度更大更频繁(105 例占总数的 96%,改变的中位数为 2 个,范围 0~6 个)。这些改变包括 CD45 和 HLA-DR 表达下降,CD64 和 CD14 的表达改变(增加或减少),CD56 和 CD2 表达异常。约有一半的对照组病例低水平表达 CD56,CD56⁺单核细胞小于 25%(中位数 2%,范围 0~17%),然而在 42 例(38.5%)CMML 患者中 CD56 表达阳性单核细胞显著增加($\geq 25\%$)($P<0.01$)。

2.5 随访患者骨髓 FCI 结果 对 39 例 CMML 患者 12 个月(中位数,范围 1~43 个月)后进行形态学、细胞遗传学和 FCI 随访评价分析;部分患者接受基因突变检测。39 例 CMML 患者中 4 例患者未接受治疗,35 例接受了 HMA 治疗包括 5-氮杂胞苷、地西他滨和 SCI-110 治疗(中位数 7 周,范围 1~37 周)。在接受 HMA 治疗的患者中有 2 例患者还接受了诱导化疗,3 例患者接受了激酶抑制剂治疗,4 例接受造血干细胞移植治疗。4 例接造血干细胞移植治疗的患者分别于移植后 2、4 和 40 个月对骨髓进行了评估。所有 4 例 CD34⁺细胞免疫表型均正常。1 例粒细胞出现颗粒明显下降,2 例单核细胞 HLA-DR 表达出现明显下降。1 例 nras 突变在移植前呈阳性移植后呈阴性。39 例随访患者包括使用 HMA 治疗的 35 例和等待治疗的 4 例均被检测到免疫表型异常。在接收 HMA 治疗的 35 例患者中,有 19 例患者在随访中发现有细胞遗传学病变,其中 16 例出现异常核型和/或以下 5 个基因突变(包括 KRAS、JAK2、FLT3 ITD、TET2 或 TP53 基因)。所有 35 例患者均没有出现骨髓原始细胞增加(原始细胞 $>5\%$),但所有患者都有临床和实验室结果证实疾病改变;治疗前和治疗后的免疫表型的改变见表 2。总的来说,HMA 治疗后,形态学发现原始和 AMC 均出现减少。然而 CD34⁺细胞 FCI 结果差异并无统计学意义($P>0.05$)。在 HMA 治疗前和后,患者除 CD34⁺细胞的 CD13(5 例)、CD38(4 例)、CD123(4 例)和 CD117(4 例)表达水平发生改变,其他 FCI 标志在治疗前后均无显著改变(图 1)。治疗前后,粒-单核细胞的免疫表型改变的数量差异无显著性。35 例采用 HMA 治疗的患者中有 13 例患者达到血液学改善(4 例红细胞改善;3 例血小板改善;1 例中性粒细胞改善;2 例红细胞和血小板改善;1 例红细胞和中性粒细胞改善;2

红细胞、血小板和中性粒细胞改善)。所有 35 例均未达到完全或部分缓解。总体应答率为 37.1%。对 13 例 HMA 治疗有应答患者和 22 例无应答者 FCI 的改变进行了比较结果表明,所有对治疗有应答患者 CD14 表达均正常,说明单核细胞成熟;而 40.9%(9/22)无应答患者发现单核细胞 CD14 表达发生改变($P=0.030$)。两组之间其他 FCI 差异均无统计学意义。

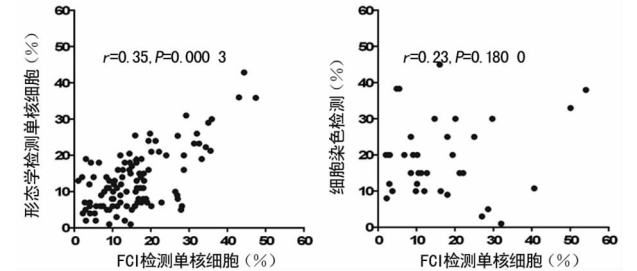


图 1 流式细胞仪检测与形态学、丁酸酯酶染色的单核细计数结果的相关性

表 1 CMML 患者与对照组流式免疫表型改变比较[n(%)]

项目	对照组 (n=64)	CMML (n=109)	P
CD34 ⁺ 细胞数量改变			
≥3%CD34 ⁺ 细胞	1(1.6)	10(8.3)	0.02
≤5%1 阶段原始血细胞	10(15.6)	99(90.8)	<0.01
CD34 ⁺ 原粒细胞表型改变			
CD117 增加	2(3.1)	94(86.2)	<0.01
CD123 增加	2(3.1)	70(64.2)	<0.01
CD13 或 CD33 增加	3(4.7)	58(53.2)	<0.01
CD38 减少	3(4.7)	56(51.3)	<0.01
改变的 CD45 /侧向散射直方图	4(6.3)	50(45.9)	<0.01
CD34 增加	4(6.3)	41(37.6)	<0.01
CD2/CD5/CD7/ CD56 表达	2(3.1)	50(45.9)	<0.01
CD64/CD15/CD11b 表达	4(6.3)	19(17.4)	0.01
成熟粒细胞改变			
异常 CD11b 和 CD13/CD16 成熟模式	1 (1.6)	73(67.0)	<0.01
侧向散射光减少	3 (4.7)	57(52.3)	<0.01
CD56 表达显著增加($\geq 20\%$ 细胞阳性)	0 (0)	9(8.3)	0.01
单核细胞改变			
CD45 下降	15 (23.4)	72(66.1)	<0.01
HLA-DR 下降	10 (15.7)	50(45.9)	<0.01
改变 CD64	11 (17.2)	48(44.04)	0.0002
改变 CD14	9 (14.1)	32(29.4)	0.01
CD56 表达异常($>25\%$)	0 (0)	42(38.5)	<0.001
CD2 表达异常($>20\%$)	1 (1.6)	9(8.3)	0.05

表 2 35 例 CMML 患者 HMA 治疗前后的血液学和 FCI 比较

项目	HMA 治疗前	HMA 治疗后	P
外周血和骨髓[中位数(范围)]			
血红蛋白(g/dL)	9.8(6.4~13.1)	10.1(8.3~14.0)	n. s.
血小板($\times 10^9/L$)	75(5~660)	82(4~460)	n. s.

续表 2 35 例 CMML 患者 HMA 治疗前后的
血液学和 FCI 比较

项目	HMA 治疗前	HMA 治疗后	P
ANC($\times 10^9/L$)	5.5(0.2~29.0)	1.8(0.2~20.1)	0.022
AMC($\times 10^9/L$)	3.0(1.0~19.4)	1.0(0.2~15.1)	0.030
骨髓原始细胞(%)	5(1~16)	2(0~12)	0.004
单核细胞(%)	12(3~24)	8(4~43)	0.002
FCI 检测 CD34 ⁺ 细胞			
%[中位数(范围)]	0.7(0.1~4.7)	0.8(0.1~4.7)	n. s
≤5% 1 阶段原始血细胞[n(%)]	32(91.4)	34(97.1)	n. s
异常改变[中位数(范围)]	7(2~9)	7(4~10)	n. s
FCI 检测粒细胞			
侧向散射光减少[n(%)]	17(48.6)	16(45.7)	n. s
异常改变[n(%)]	22(62.9)	18(51.4)	n. s
FCI 检测单核细胞			
%[中位数(范围)]	13(2~25)	14(1~50)	n. s
异常改变[中位数(范围)]	2(1~6)	2(1~5)	n. s

注: n. s. 表示无统计学意义。

3 讨 论

本研究表明 CMML 患者 CD34⁺ 细胞,单核细胞和粒细胞表现出多种 FCI 异常。CMML 患者骨髓中的 CD34⁺ 细胞表现出大量的免疫表型改变,主要变化可分为以下几个方面:(1) 1 阶段原始血细胞缺失或显著减少;(2) 正常标记物如 CD117、CD123、CD38 和 CD13 表达水平的改变;(3) 异常表达非髓系标志物(4) 成熟粒细胞标志的异常表达。91%CMML 患者发现 1 阶段原始血细胞显著减少,与 MDS 相似^[4,6],有趣的是,本文中部分 CMML 患者[17%(19/109)]CD34⁺ 原始细胞上成熟的粒细胞标记物(CD64、CD11b 和 CD15)表达增加,这一点也与 MDS 患者情况类似^[4]。以上结果表明 CMML 患者的 CD34⁺ 原始细胞表型是类似肿瘤增生性和早期性的,并不是单核细胞表型的。另一方面,本文还发现 CMML 患者的 CD34⁺ 细胞免疫表型 CD117(86.2%)和 CD123(64.2%)表达水平明显比已报道的 MDS 相关抗原表达水平要强^[4],而且部分还出现淋系抗原异常表达(45.9%)。这表明如果 CMML 属于 MDS,则 MDS 应该是由一组异质性疾病组成,不同亚型的 MDS 之间的 FCI 差异显著。从这个意义说,CMML 表现出的较一致性 FCI 改变似乎表明 CMML 是 MDS 的某种亚型。

CMML 单核细胞兼有肿瘤与反应性细胞的双重特征,其特有形态学异常微妙,当前尚缺乏关于“CMML 异常单核细胞”明确的形态学标准;因而,目前形态学方法很难仅从单核细胞形态上将恶性增生从反应性单核细胞增多中区分出来^[1]。然而 CMML 单核细胞的 FCI 改变却是比较明显的,本文显示 96%CMML 患者单核细胞出现了如 CD45 和 HLA-DR 降低,CD64 和 CD14 的表达改变,CD56、和 CD2 表达异常这样一些 FCI 改变,这与相关报道完全相符^[11-13]。本文结果表明一部分对照组中也出现这些改变,但 CMML 患者单核细胞 FCI 改变的发生率和幅度要明显高于对照组,这与国外报道一致^[13]。虽然 CMML 单核细胞免疫表型改变不具特异性但在发生率和幅度上较非 CMML 而言要明显升高,因此综合单核细胞 FCI 的变化将有助于将恶性增生从反应性单核细胞增多中区分出来。本研究还发现 FCI 在识别单核细胞方面比丁酸酯酶

细胞化学法更敏感,这从另外一个方面说明 CMML 的单核细胞可能存在酶缺陷。

本文采用 FCI 对 CMML 患者粒细胞生成障碍进行了评估,结果 91.7%CMML 出现生成障碍明显高于形态学发现的 82.6%($P<0.05$)。这说明 FCI 在评估 CMML 患者粒细胞生成障碍方面要比形态学敏感,FCI 的这些改变不仅可以作为评定 CMML 粒细胞发育不良的重要参数,而且在评价 CD34⁺ 细胞极少的低质量骨髓标本时尤其有用。

CMML 的治疗仍然是个临床的挑战,当前没有任何一种药物在 CMML 的治疗中是被公认有明显效果的。有报道证明去甲基化药物(HMA)可以延长 MDS 患者整体存活率^[16];然而,这些研究中采用的 CMML 患者例数太少。本研究显示,35 例 HMA 治疗后 CMML 患者骨髓标本原始细胞(原单核细胞或幼单核细胞)和 AMC 都显著的降低;13 例患者治疗后产生应答反应达到血液学改善,13 例有应答患者 CD14 表达均正常;而 22 例无应答患者中 40.9%(9/22)发现单核细胞 CD14 表达改变。这些结果表明,在采用 HMA 治疗的 CMML 患者可能达到血液学反应或临床缓解,FCI 可用于 CMML HMA 治疗应答的监测。

由于 CMML 是具有 MDS 和 MPD 的双重特征的异质性疾病,形态学发育非常微妙;CMML 仅有 30%可以检测到克隆细胞遗传学异常^[2-3],但 FCI 改变几乎出现在所有的 CMML 患者中,因而 FCI 可以作为一个监测 CMML 治疗反应和治疗决策的强大工具。

本研究表明 CMML 患者的 CD34⁺ 原始细胞,单核细胞和粒细胞的免疫表型均发生了明显改变,这说明 CMML 可能是一种影响所有髓系的单克隆干细胞肿瘤。就免疫表型而言,CMML 是一类更均一的疾病,整体改变比一般 MDS 更多。HMA 在治疗 CMML 时显示出较明显临床和实验室效果,但使用 HMA 在干细胞水平不可能完全根治 CMML。本文建议将 FCI 作为一种 CMML 诊断和疗效监测的辅助工具,CD34⁺ 原始细胞是分析重点。

参考文献

[1] McCullough KB, Patnaik MM. Chronic myelomonocytic leukemia; a genetic and clinical update[J]. Curr Hematol Malig Rep, 1994, 10(3): 51-52.

[2] 潘登. 慢性粒单核细胞白血病的诊治进展[J]. 白血病·淋巴瘤, 2012, 21(9): 569-571.

[3] Tang G, Zhang L, Fu B, et al. Cytogenetic risk stratification of 417 patients with chronic myelomonocytic leukemia from a single institution[J]. Am J Hematol, 2014, 89(8): 813-818.

[4] Tang G, Jorgensen LJ, Zhou Y, et al. Multi-color CD34? progenitor-focused flow cytometric assay in evaluation of myelodysplastic syndromes in patients with post Cancer therapy cytopenia[J]. Leuk Res, 2012, 36(8): 974-981.

[5] Alhan C, Westers TM, Cremers EM, et al. Application of flow cytometry for myelodysplastic syndromes: Pitfalls and technical considerations[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2016, 90(4): 358-367.

[6] Cremers EM, Westers TM, Alhan C, et al. Multiparameter flow cytometry is instrumental to distinguish myelodysplastic syndromes from non-neoplastic(下转第 2601 页)

眠作用,功能改善不明显,然而长时间血管再通后,心肌侧支循环得到建立,缺血面积逐渐减小,可逆功能障碍得以恢复,心肌灌注功能得到明显提高,从而使心脏整体及局部收缩功能得到改善^[12-13]。

因此,应用实时三维超声可以客观、定量地评价心肌梗死患者经介入治疗后的心脏整体以及局部收缩功能,为临床医师制订治疗方案、改善预后提供参考价值,值得大力推广。

参考文献

- [1] 张森,张梅,董彦,等.实时三维超声心动图结合组织多普勒对急性心肌梗死后右室功能的评估价值[J].中国现代医药杂志,2014,16(11):1-5.
- [2] 王薇,李丹,黄雪兰,等.实时三维超声心动图对急性心肌梗死经皮冠状动脉介入治疗前后左心室功能变化的评价[J].中国全科医学,2015,28(27):3371-3375.
- [3] 陈秋月,赵艳春,吕国荣.实时三维超声 STIC-TUI 在正常单胎孕 11+0~14+6 周胎儿心脏扫查中的应用[J].中国超声医学杂志,2012,28(11):1022-1025.
- [4] 张梅.老年急性 ST 段抬高性心肌梗死患者心脏介入手术后心电图变化与生存质量相关性研究[J].中国实验诊断学,2015(9):1490-1493.
- [5] 万林林,吴文芳,方玲玲,等.实时三维超声心动图评价心肌梗死患者左室收缩功能的研究[J].临床超声医学杂志,2015,17(6):375-378.
- [6] 董彦,蔡伟,田路,等.实时三维超声与 SPECT 比较对急性心肌梗死介入治疗术后左心室功能评估的应用价值[J].中国超声医学杂志,2015,31(6):504-507.

- [7] 任晓楠,王乐丰,王明生,等.早期应用大剂量替罗非班对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者急诊介入术后血小板聚集功能及活性的影响[J].中华心血管病杂志,2012,40(2):131-135.
- [8] 杨帆,高宇平,吴路路,等.PCI 术后急性心肌梗死患者 G-CSF、VEGF 变化对心功能的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2015(12):1426-1429.
- [9] 邓倾,周青,朱丽敏,等.实时三维超声心动图评价心肌梗死后心力衰竭患者左心室收缩功能与不同步性[J].临床超声医学杂志,2010,12(5):301-304.
- [10] 陈立宇,段福建,张岩,等.实时三维超声心动图与磁共振成像对比评价室壁瘤患者左心室容积和功能的可行性和准确性[J].中国循环杂志,2012,27(2):133-136.
- [11] 陈军红,李东野,王志荣,等.实时三维超声联合斑点追踪超声评价阵发性房颤患者射频消融术后左室同步性及收缩功能[J].中国心血管病研究,2015,13(9):823-827,864.
- [12] 田园,王伟,周长钰.实时三维超声及二维斑点追踪技术对拟诊冠心病患者局部室壁运动的评价[J].天津医药,2014(12):1229-1233.
- [13] Zhu Y, Papademetris X, Sinusas AJ, et al. A coupled deformable model for tracking myocardial Borders from real-time echocardiography using an incompressibility constraint[J]. Med Image Anal, 2010, 14(3):429-448.

(收稿日期:2016-02-25 修回日期:2016-05-16)

(上接第 2598 页)

- cytopenias[J]. Eur J Cancer, 2016, 54:49-56.
- [7] Kern W, Haferlach C, Schnittger S, et al. Serial assessment of suspected myelodysplastic syndromes: significance of flow cytometric findings validated by cytomorphology, cytogenetics, and molecular genetics[J]. Haematologica, 2013, 98(2):201-207.
- [8] Scott BL, Wells DA, Loken MR, et al. Validation of a flow cytometric scoring system as a prognostic indicator for posttransplantation outcome in patients with myelodysplastic syndrome[J]. Blood, 2008, 112(7):2681-2686.
- [9] Westers TM, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group[J]. Leukemia, 2012, 26(7):1730-1741.
- [10] Porwit A, van de Loosdrecht AA, Bettelheim P, et al. Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes-proposal from the International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS[J]. Leukemia, 2014, 28(9):1793-1798.
- [11] Sojitra P, Gandhi P, Fitting P, et al. Chronic myelomonocytic leukemia monocytes uniformly display a population of monocytes with CD11c underexpression[J]. Am J Clin

- Pathol, 2013, 140(5):686-692.
- [12] Kern W, Bacher U, Haferlach C, et al. Acute monoblastic/monocytic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia share common immunophenotypic features but differ in the extent of aberrantly expressed antigens and amount of granulocytic cells[J]. Leuk Lymphoma, 2011, 52(1):92-100.
- [13] Song S. A case report: Concurrent chronic myelomonocytic leukemia and T-cell large granular lymphocytic leukemia-type clonal proliferation as detected by multiparametric flow cytometry[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2011, 80(2):126-129.
- [14] Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia[J]. Blood, 2006, 108(2):419-425.
- [15] Dunphy CH. Comparative analysis of detecting monocytic cells and their aberrancy[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2011, 19(4):336-340.
- [16] Pleyer L, Germing U, Sperr WR, et al. Azacitidine in CMML: matched-pair analyses of daily-life patients reveal modest effects on clinical course and survival[J]. Leuk Res, 2014, 38(4):475-483.

(收稿日期:2016-03-14 修回日期:2016-06-01)