

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.22.017

急性白血病患者细胞质髓过氧化物酶检测结果分析

陈 瑶

江苏省无锡市第二人民医院检验科,江苏无锡 214001

摘 要:**目的** 探讨并比较急性白血病(AL)患者细胞过氧化物酶(POX)染色与细胞质髓过氧化物酶(cMPO)流式细胞术检测的阳性率及阳性积分,评价 cMPO 流式细胞术的检测能力。**方法** 选取该院 60 例 AL 住院患者作为研究对象,分别进行 POX 染色与 cMPO 流式细胞术检测,并比较 AL 患者细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性率及阳性积分。**结果** 在急性非淋巴细胞白血病(ANLL)中 cMPO 的阳性率较高,与 POX 染色的阳性率对比差异无统计学意义($P>0.05$);急性淋巴细胞白血病(ALL)的 POX 染色存在一定的假阳性率。ALL 与 ANLL 的 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性积分对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** POX 染色的准确度低于 cMPO 流式细胞术,但成本低、仪器依赖性小,建议两种方法联合应用,继而为血液系统疾病的诊断提供客观依据。

关键词:急性白血病; 过氧化物酶; 流式细胞术; 细胞质髓过氧化物酶

中图法分类号:R733.71

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)22-3278-04

Results analysis of cytoplasmic myeloperoxidase detection in patients with acute leukemia

CHEN Yao

Department of Clinical Laboratory, Wuxi Municipal Second People's
Hospital, Wuxi, Jiangsu 214001, China

Abstract:**Objective** To explore and compare the positive rates and positive scores of cellular peroxidase (POX) staining and cytoplasmic myeloperoxidase (cMPO) in the patients with acute leukemia (AL), and to evaluate the detection capability of flow cytometry for detecting cMPO. **Methods** Sixty inpatients with AL in this hospital were selected as the research subjects, and conduction the POX staining and cMPO detection by flow cytometry. Then the positive rates and positive scores of POX staining and cMPO flow cytometry in the patients with AL were compared. **Results** In acute non-lymphocytic leukemia (ANLL), the positive rate of cMPO was relatively high, and there was no statistically significant difference compared with the positive rate of POX staining ($P>0.05$), while there was a certain false positive rate in the POX staining of acute lymphocytic leukemia (ALL). There was no statistically significant difference between the positive score of POX staining and cMPO flow cytometry in ALL and ANLL. **Conclusion** The accuracy of POX staining is lower than that of cMPO flow cytometry, but its cost is lower and instrument dependence is smaller. It is recommended that the two methods are combined to apply, then to provide an objective basis for the diagnosis of blood system diseases.

Key words:acute leukemia; peroxidase; flow cytometry; cytoplasmic myeloperoxidase

急性白血病(AL)是一种高度异质性的恶性血液疾病,目前病因尚不清楚,可能与病毒、放射性元素或遗传有关。AL 传统的分类方法为 FAB 分型^[1],根据此分型将其分为急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性非淋巴细胞白血病(ANLL)。由于 ALL 与 ANLL 的诊治方案完全不同,因此精准的实验室检测十分重要^[2]。现阶段 ALL 与 ANLL 的鉴别诊断方法很大程

度上依赖于组织化学染色。目前过氧化物酶(POX)染色是辅助判断 AL 细胞类型的首选、最重要的细胞化学染色法,其检测的对象是血细胞所含的髓过氧化物酶(MPO),MPO 的来源是中性粒细胞中的蛋白质。POX 染色结果仅靠肉眼观察,主观性比较强,流式细胞术近年来在血液病的诊断上发展突飞猛进,AL 细胞质髓过氧化物酶(cMPO)流式细胞术在临床

作者简介:陈瑶,女,副主任技师,主要从事白血病实验室诊断研究。

本文引用格式:陈瑶.急性白血病患者细胞质髓过氧化物酶检测结果分析[J].检验医学与临床,2021,18(22):3278-3280.

上逐步得到应用,但是关于 cMPO 流式细胞术的检测能力的报道不多^[3]。笔者为了探讨 AL 细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术检测能力的区别,选取 60 例 AL 患者作为研究对象进行研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2021 年 4 月在本院血液内科住院的 60 例 AL 患者作为研究对象,其中男 32 例、女 28 例,年龄 6~89 岁、平均(57.87±1.52)岁,根据 FAB 分型分为 ALL 组(10 例)和 AN-LL 组(50 例)。两组均进行 POX 染色与流式细胞仪免疫分型术检测,并对检测后的 POX 染色、cMPO 阳性率及阳性积分进行观察及评估。

1.2 方法

1.2.1 POX 染色检测细胞 MPO 于干燥骨髓片上添加 I 液(含乙醇、联苯胺、亚硝基铁氰化钠等)后覆盖血膜,室温放置 1 min;再添加 II 液(过氧化氢),混匀后室温放置 4 min,流水冲洗;95%乙醇脱色后进行瑞氏染色。结果判断标准如下,阳性:细胞质中出现棕黄色或蓝黑色沉淀物,同时根据沉淀物量的多少及颜色深浅进行积分,分别为 3 分(强阳性)、2 分(阳性)、1 分(弱阳性);阴性:细胞质无沉淀物,积分为 0 分。本次试验的试剂盒购于太阳生物技术有限公司。

1.2.2 流式细胞仪免疫分型术检测 cMPO 于待检试管中添加荧光标记抗体(美国 BD 公司),混匀后避光放置 30 min;溶血剂溶血后 3 000×g 离心 5 min,去除上清液;加磷酸盐缓冲液 300 μL、破膜剂 40 μL,

混匀,避光放置 30 min;待洗涤,离心后去除上清液,加入细胞质抗体 20 μL,混匀,避光放置 30 min;3 000×g 离心 5 min,于贝克曼 FC500-MC2 型流式细胞仪进行检测。结果判断:阴性积分为 0 分;强阳性、阳性、弱阳性积分分别为 3、2、1 分。

1.3 观察指标 观察且分析 AL 患者的细胞 POX 染色、cMPO 流式细胞术的阳性率及阳性积分。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理及分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AL 患者细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术阳性率比较 ANLL 患者细胞 cMPO 流式细胞术的阳性率较高,与 POX 染色的阳性率对比,差异无统计学意义($P>0.05$);而 ALL 患者细胞的 POX 染色出现 1 例假阳性,见表 1。

2.2 AL 患者细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性积分比较 ALL 与 ANLL 患者细胞的 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性积分对比,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 1 AL 患者细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术阳性率比较[n(%)]

分型	n	POX 染色	cMPO 流式细胞术	χ^2	P
ALL	10	1(10.00)	0(0.00)	—	—
ANLL	50	42(84.00)	47(94.00)	1.63	0.20

注:—表示无数据。

表 2 AL 患者细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术阳性积分比较

分型	POX 染色					cMPO 流式细胞术					t	P
	0 分(n)	1 分(n)	2 分(n)	3 分(n)	合计(分)	0 分(n)	1 分(n)	2 分(n)	3 分(n)	合计(分)		
ALL	9	1	0	0	1	10	0	0	0	0	-1.00	0.32
ANLL	10	10	10	20	90	9	12	11	18	88	-0.22	0.83

3 讨 论

AL 是临床上较为常见的恶性疾病之一,其主要病理改变是机体多种造血干细胞发生恶变,且失去正常的增殖、分化及成熟能力。近年来,由于多种原因 AL 的发病率逐年升高,复杂类型的 AL 也陆续被发现,白血病分型对治疗方案的制订及预后改善具有重要意义^[4-5]。目前临床上对于 AL 的治疗方案为 60 岁以下 ANLL 患者采用“3+7”方案,即蒽环类药物 3 d+标准剂量的阿糖胞苷 7 d,完全缓解后进入巩固治疗阶段;对于老年性 ANLL 则强调个体化治疗,根据患者年龄、体能状态、合并症指数选择标准剂量化疗方案^[6-7]。ALL 患者整体治疗分 3 个阶段,分别为

诱导、缓解后巩固、强化及维持治疗,推荐 VDCLP 或 HyperCVAD 方案,有条件者诱导、缓解后尽早行异基因造血干细胞移植。

人体中性粒细胞中含量较多的一种蛋白质存在于 MPO, MPO 的检出对白血病分型具有重要意义^[8]。白血病的检测技术日新月异,在经典的组织化学染色的基础上,流式细胞术也逐渐用于白血病的分型。前者主要是对血细胞中的 MPO 进行检测,常见的检测原理为二氨基联苯胺法,而后者常采用流式细胞术来检测 cMPO^[9]。

目前国内的实验室对 AL 的诊断分型检测方法中,比较常规使用的细胞化学染色法是 POX 染色,其

在鉴别 ALL 和 ANLL 上具有较高的检测效能。在正常情况下,除分化差的原始粒细胞 POX 染色为阴性外,分化好的原始粒细胞至中性成熟粒细胞均为阳性反应,且细胞越成熟,阳性反应的程度越高;而淋巴系统的细胞均呈阴性反应。但实际上 ALL 患者骨髓中可残留少许原始粒细胞,故 FAB 分型规定 ALL 患者的 POX 阳性率 $<3\%$ ^[7]。因此,POX 染色可作为判断白血病细胞类型的依据^[10],该方法的优点是可以直接计算白血病细胞的阳性率,但是仍存在一些缺点,比如染色后涂片中的细胞结构不如瑞氏染色清晰,阳性颗粒的覆盖一定程度上干扰了对细胞的辨认,故导致 POX 染色阳性率与实际情况存在差异,造成假阳性事件的发生;同时试剂失效将导致假阴性结果,由此说明该方法的准确性有待提高^[11]。

近几年来流式细胞术在临床上得到广泛应用及推广,其原理主要是采用各类抗血细胞表面分化抗原的单克隆抗体,测定荧光染料的荧光强度以获取血细胞各种抗原水平。临床上一般将该方法用于白血病及淋巴瘤的免疫分型,该方法具有分析速度快、重复性好、灵敏度高、特异性强等优势^[12]。在微小残留和混合型白血病中诊断价值极高^[13],但是流式细胞术在 AL 检测分型中的效能如何,与 POX 染色的差异有无统计学意义,相关的报道较少。

本研究结果发现,ANLL 患者的细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性率对比,差异无统计学意义($P>0.05$),其中 cMPO 流式细胞术的阳性率较高;而 ALL 患者分别采用 POX 染色检测 MPO 及流式细胞术检测 cMPO,其中 POX 染色阳性率较高,后证实该病例 POX 染色结果为假阳性。由此说明 POX 染色检测 MPO 的准确度明显低于 cMPO 流式细胞术^[14]。

同时研究发现,ALL 与 ANLL 患者 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性积分对比,差异亦无统计学意义($P>0.05$),与陈姣等^[15]研究结果一致。由此说明以上两种方法检测髓系白血病细胞阳性程度不存在差异。目前国外研究发现,cMPO 流式细胞术与 POX 染色检测的一致性有待进一步大样本的研究;POX 染色阴性的患者并不说明其白血病细胞中不存在 MPO,需用 cMPO 流式细胞术复核^[16]。相关研究报道,POX 染色法与 cMPO 流式细胞术可相互补充、相互印证^[17]。

综上所述,细胞 POX 染色与 cMPO 流式细胞术的阳性率与阳性积分在 AL 诊断中的差异无统计学意义($P>0.05$),前者具有成本低、仪器依赖性小、在基层医院实验室可操作等特点;而后者灵敏度高、特

异性强,但成本较高,且对操作者具有较高的要求。笔者认为两种方法联合应用才能起到相互补充的作用,继而为血液系统疾病的诊断提供客观依据。

参考文献

- [1] CHENG Z, DAI Y, PANG Y, et al. Clinical and biological implications of mutational spectrum in acute myeloid leukemia of FAB subtypes M0 and M1[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(5):1853-1861.
- [2] SUGUNA E, FARHANA R, KANIMOZHI E, et al. Acute myeloid leukemia: diagnosis and management based on current molecular genetics approach [J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2018, 18(3):199-207.
- [3] 孟君霞, 武永强, 唐广, 等. CD7 抗原表达与急性髓系白血病临床特征、细胞遗传学特点及预后的关系[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(6):508-510.
- [4] XU F, YIN C X, WANG C L, et al. Immunophenotypes and immune markers associated with acute promyelocytic leukemia prognosis[J]. Dis Markers, 2014, 2014:421906.
- [5] 尚磊, 陈雪晶, 李元媛, 等. 502 例急性髓系白血病患者髓过氧化物酶的表达及其在分型诊断中的意义[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(11):906-911.
- [6] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2017 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(3):177-182.
- [7] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会, 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2016 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(10):837-845.
- [8] KHAN M, SIDDIQI R, NAQVI K. An update on classification, genetics, and clinical approach to mixed phenotype acute leukemia (MPAL)[J]. Ann Hematol, 2018, 97(6):945-953.
- [9] 蒋朝晖, 邱先艳, 余红岚. 骨髓细胞髓过氧化物酶染色质控体系的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(15):2155-2157.
- [10] 尚磊, 陈雪晶, 李元媛, 等. 502 例急性髓系白血病患者髓过氧化物酶的表达及其在分型诊断中的意义[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(11):906-911.
- [11] 赵俊霞, 陈秀花, 李建兰, 等. 伴 AML1-ETO 融合基因的急性髓系白血病患者 ASXL2 基因突变及临床特征分析[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(8):676-681.
- [12] WU S, YANG S, ZHU L, et al. Prognosis of patients with de novo acute myeloid leukemia resistant to initial induction chemotherapy[J]. Am J Med Sci, 2016, 351(5):473-479.
- [13] 张蕾, 帅宗文, 胡子盈, 等. 轻链自身抗体在髓过氧化物酶-抗中性粒细胞胞质抗体相关性血管炎肺损害中的意义[J]. 中华内科杂志, 2015, 54(6):511-516.
- [14] 沈桂芬, 雷小妹, 胡绍先, 等. 抗髓过氧化(下转第 3285 页)

释放,在非感染性疾病中一般不表达,在机体炎症途径中可能发挥放大效应,通过激活 NF- κ B 信号途径,进一步促进级联信号的调控。因此,NF- κ B、sTREM-1 可作为反映炎性反应的指标^[17]。本研究中观察组治疗后 NF- κ B、sTREM-1 水平均低于对照组,表明辅助应用氨溴特罗片能通过激活 NF- κ B 信号途径及下调 sTREM-1,有效抑制机体炎性反应。

综上所述,在阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎过程中辅助应用氨溴特罗片可以有效改善患儿全身炎症状态,提高患儿免疫功能,改善临床症状,在临床实践中值得推广。

参考文献

[1] 程瑶,孙节,蔡红珠,等. 儿童节段性支原体肺炎肺功能动态变化及临床意义[J]. 中国综合临床,2015,31(11):1047-1049.

[2] GDALEVICH M, HAAS E J, DUKHAN L, et al. Control of a mycoplasma pneumoniae outbreak in an institutional setting using azithromycin prophylaxis[J]. Front Public Health,2017,5:366-368.

[3] 王勤,张小方,张爱娥. 五虎汤加减联合阿奇霉素序贯疗法治疗痰热闭肺型小儿支原体肺炎疗效及对抗炎、促炎因子及呼吸功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(8):154-158.

[4] 申冬冬,袁飞,侯江红. 膜联蛋白 A2 对肺炎支原体诱导的人气道上皮细胞 EGFR/NF- κ B 信号转导及黏蛋白表达的影响[J]. 中国当代儿科杂志,2017,19(7):820-825.

[5] EDEL Y, KLIMINSKI V, POKROY-SHAPIRA E, et al. Elevated plasma level of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 is associated with inflammation activity and is a potential biomarker of thrombosis in primary antiphospholipid syndrome[J]. Arth Res Ther, 2019,21(1):412-413.

[6] 江载芳,申昆玲,沈颖. 诸福棠实用儿科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2015:706-722.

[7] 陈桂民. 阿奇霉素序贯疗法治疗小儿支原体肺炎的临床疗效和安全性分析[J]. 吉林医学,2018,39(3):425-427.

[8] KUMAR S. Mycoplasma pneumoniae: a significant but underrated pathogen in paediatric community-acquired lower respiratory tract infections[J]. Indian J Med Res, 2018,147(1):23-31.

[9] 唐瑞琪,黄英. 糖皮质激素在儿童难治性肺炎支原体肺炎中的应用[J]. 儿科药学杂志,2016,22(11):56-58.

[10] 黄欢欢,蔡成思,黄育丹,等. 五虎汤合葶苈大枣泻肺汤联合阿奇霉素对小儿支原体肺炎炎症因子与免疫功能的影响[J]. 中国药物与临床,2018,18(6):144-146.

[11] WANG X, ZHONG L J, CHEN Z M, et al. Necrotizing pneumonia caused by refractory Mycoplasma pneumonia pneumonia in children[J]. World J Pediatr,2018,14(4):344-349.

[12] MASELLI D J, MEDINA J L, BROOKS E G, et al. The immunopathologic effects of mycoplasma pneumoniae and cards toxin; a primate model[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2017,58(2):321-323.

[13] 张美丽. 氨溴特罗联合阿奇霉素对支原体肺炎患儿临床疗效观察[J]. 实用中西医结合临床,2018,8(5):34-36.

[14] 杨华. 氨溴特罗片联合阿奇霉素对支原体肺炎患儿抗炎、促炎因子及免疫功能的影响[J]. 海南医学院学报,2015,21(2):238-240.

[15] 赵蕾蕾. 氨溴特罗片联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎患儿对其抗炎、促炎因子及免疫功能的影响[J]. 中国国民康医学,2016,28(17):28-29.

[16] 严春霞,何国产,闻人庆,等. 解毒清肺合剂对肺炎支原体感染大鼠肺组织 NF- κ B 和 p38 MAPK 通路的影响[J]. 中国病理生理杂志,2019,35(5):926-932.

[17] 赵鲁新,仝冰云,姜宁. 肺炎患儿血清 sTREM-1、sCD163、SP-A、LP(a) 的变化及其意义[J]. 四川医学,2019,40(1):81-84.

(收稿日期:2021-01-20 修回日期:2021-06-08)

(上接第 3280 页)

物酶中性粒细胞胞质抗体相关性肥厚性硬脑膜炎 1 例报告及文献复习[J]. 解放军医学院学报,2016,37(9):1004-1007.

[15] 陈姣,金咏梅,郑沁,等. 急性白血病患者细胞髓过氧化物酶染色与细胞质髓过氧化物酶诊断意义比较[J]. 华西医学,2017,32(7):1019-1023.

[16] GUTIERREZ A, KENTSIS A. Acute myeloid/T-lymphoblastic leukemia (AMTL): a distinct category of acute leukemias with common pathogenesis in need of improved therapy[J]. Br

J Haematol,2018,180(6):919-924.

[17] MANIVANNAN P, PURI V, SOMASUNDARAM V, et al. Can threshold for MPO by flow cytometry be reduced in classifying acute leukemia? A comparison of flow cytometric and cytochemical myeloperoxidase using different flow cytometric cut-offs[J]. Hematology, 2015, 20(8):455-461.

(收稿日期:2021-05-22 修回日期:2021-07-20)