

• 论 著 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.12.019

异常早幼粒细胞 Auer 小体发生率的影响因素分析

张景道, 张金彪[△], 张晗钰, 翟文燕, 王晓静

河北省沧州中西医结合医院实验诊断科, 河北沧州 061000

摘要:目的 探讨急性早幼粒细胞白血病(APL)患者异常早幼粒细胞 Auer 小体发生率的影响因素。方法 收集 2018 年 5 月至 2020 年 5 月该院确诊的 38 例 APL 患者,计数出现 Auer 小体的异常早幼粒细胞的比作为 Auer 小体发生率。采用秩和检验比较不同 PML/RAR α 融合基因类型、CD56 与 HLA-DR 表达、性别、年龄患者 Auer 小体发生率的差异;采用 Spearman 相关分析异常早幼粒细胞各项流式表达率(CD13、CD33、CD117、CD38、CD64)及初诊白细胞计数(WBC)、血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)和融合基因剪接体相对表达量(PML/ABL)与 Auer 小体发生率之间的相关性,采用简单线性回归对 Auer 小体发生率的影响因素进行单因素分析。结果 CD56 阴性组的 Auer 小体发生率高于阳性组,PML/RAR α 融合基长链型(L 型) Auer 小体发生率高于短链型(S 型),差异均有统计学意义($P < 0.05$);初诊 WBC 与 Auer 小体发生率呈负相关($r = -0.376, P < 0.05$)。结论 CD56 的表达、PML/RAR α 融合基因类型与患者初诊 WBC 均可影响 APL 患者 Auer 小体的发生率。

关键词:急性早幼粒细胞白血病; Auer 小体; PML/RAR α 融合基因

中图分类号:R446.11+3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)12-1657-04

Analysis on the factors affecting the incidence of abnormal promyelocytic Auer bodies

ZHANG Jingxiao, ZHANG Jinbiao, ZHANG Hanyu, ZHAI Wenyang, WANG Xiaojing

Department of Clinical Laboratory, Cangzhou Hospital of Integrated

TCM-WM • Hebei, Cangzhou, Hebei 061000, China

Abstract: Objective To investigate the factors affecting the incidence of abnormal promyelocytic Auer bodies in patients with acute promyelocytic leukemia (APL). **Methods** A total of 38 APL patients diagnosed in this hospital from May 2018 to May 2020 were collected, and the proportion of abnormal promyelocytic granulocytes with Auer bodies was counted as the incidence of Auer bodies. Rank sum test was used to compare the incidence of Auer bodies in patients with different PML/RAR α fusion gene types, CD56 and HLA-DR expression, gender and age. The correlation between flow cytometry expression rates of abnormal promyelocytic granulocytes (CD13, CD33, CD117, CD38, CD64), white blood cell count (WBC), hemoglobin (Hb), platelet count (PLT), fusion gene spliceosomal relative expression (PML/ABL) and Auer bodies were analyzed by Spearman correlation. Simple linear regression was used to analyze the factors influence the incidence of Auer bodies. **Results** The incidence of Auer bodies in CD56 negative group was higher than that in positive group, for the PML/RAR α fusion gene, the incidence of Auer bodies in long chain type (L type) was higher than that in short chain type (S type), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The incidence of Auer bodies was negatively correlated with newly diagnosed WBC ($r = -0.376, P < 0.05$). **Conclusion** The expression of CD56, PML/RAR α fusion gene and WBC in patients with newly diagnosed APL may influence the incidence of Auer bodies.

Key words: acute promyelocytic leukemia; Auer bodies; PML/RAR α fusion gene

急性早幼粒细胞白血病(APL)属急性髓细胞白血病(AML),作为 AML 中的特殊亚型,APL 患者骨髓中常见数量不等的 Auer 小体,其 Auer 小体的检出率及总体数量也同样大于其他类型的 AML^[1]。与此同时,APL 患者骨髓异常早幼粒细胞发生 Auer 小体的概率在个体之间存在差异,引发这一现象的原因至今尚不清楚。因此本文对 APL 患者的 Auer 小体发

生率进行研究,结合细胞形态学、分子生物学、细胞遗传学和免疫学做出分析,结合相关临床知识探索 APL 患者 Auer 小体发生率与其他临床指标的关联,并希望引入 Auer 小体发生率的概念以帮助临床判断患者预后。

1 资料与方法**1.1 一般资料** 收集 2018 年 5 月至 2020 年 5 月河

北省沧州中西医结合医院确诊的 APL 患者共 38 例,每一例患者的诊断均符合《血液病诊断及治疗标准》^[2]中 APL 的相关诊断标准,38 例患者中男性 18 例、女性 20 例,年龄 13~64 岁,中位年龄 41.5 岁,其中 PML/RAR α 融合基因长链型(L 型)24 例,短链型(S 型)14 例,融合基因剪接体相对表达量(PML/ABL)为 3.24%~80.23%,初诊白细胞计数(WBC)为 $0.2 \times 10^9/L \sim 107.5 \times 10^9/L$ 、血红蛋白(Hb)为 48~129 g/L、血小板计数(PLT)为 $6 \times 10^9/L \sim 122 \times 10^9/L$ 、异常细胞群流式表达率:CD13 为 48.41%~99.6%、CD33 为 77.9%~99.68%、CD117 为 38.70%~96.10%、CD38 为 13.20%~99.31%、CD64 为 10.66%~93.18%、CD56 为 0.00%~80.01%(阳性率 15.8%)、HLA-DR 为 0.00%~33.00%(阳性率 26.3%)。将患者按照不同 PML/RAR α 融合基因类型(L 型和 S 型)、CD56(阴性组和阳性组)、HLA-DR(阴性组和阳性组)、性别(男/女)、年龄(1 组为 50 岁及 50 岁以下;2 组为 50 岁以上)进行分组。

1.2 仪器与试剂 Olympus CX31 显微镜(日本奥林巴斯株式会社);瑞氏-吉姆萨复合染液;试剂 A,瑞氏-吉姆萨染液(北京雷根生物技术有限公司);试剂 B,磷酸盐缓冲液(北京雷根生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 骨髓涂片制备 选择临床采集标本中薄厚均匀的骨髓涂片进行瑞氏染色,A 液覆盖标本膜,静置 5 min 后加入 B 液混匀,A 液与 B 液比例约 2:1,静置 45 min,自然风干。

1.3.2 Auer 小体发生率计数 取 38 例患者骨髓涂片镜下观察,4 名骨髓形态学检测人员每人在油镜下不同部位分别观察 500 个异常早幼粒细胞,计数发生了 Auer 小体的细胞比例,求得平均值作为患者 Auer 小体发生率,38 例标本最终计数结果为 0.00%~29.25%,中位数为 1.00%。

1.4 统计学处理 采用 Excel2010 进行数据的录入与整理,运用 SPSS25.0 软件进行统计学分析;不符合

正态分布的计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;相关性分析采用 Spearman 相关;采用简单线性回归对 Auer 小体发生率的影响因素进行单因素分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同临床资料患者 Auer 小体发生率的差异性分析 不同性别、年龄、HLA-DR 表达的患者 Auer 小体发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),不同 CD56 表达、PML/RAR α 融合基因类型的患者 Auer 小体发生率比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中 CD56 阴性组的 Auer 小体发生率高于阳性组($P < 0.05$),L 型 PML/RAR α 融合基因的 Auer 小体发生率高于 S 型($P < 0.05$),见表 1。

表 1 不同患者 Auer 小体发生率的差异性分析
[$M(P_{25}, P_{75})$]

变量	组别	n	发生率	Z	P
性别	男	18	0.025(0.005,0.045)	-0.337	0.740
	女	20	0.010(0.005,0.114)		
年龄	1 组	27	0.010(0.005,0.053)	-0.565	0.590
	2 组	11	0.025(0.005,0.093)		
CD56	阴性	32	0.020(0.006,0.114)	-2.209	0.026
	阳性	6	0.004(0.000,0.015)		
HLA-DR	阴性	28	0.020(0.005,0.136)	-1.181	0.244
	阳性	10	0.010(0.005,0.025)		
PML/RAR α	L 型	24	0.063(0.006,0.145)	-2.565	0.009
	S 型	14	0.029(0.005,0.145)		

2.2 各项指标与 Auer 小体发生率的相关性分析 将患者初诊 WBC、各项流式表达率(CD13、CD33、CD117、CD64、CD38)、PML/ABL、Hb、PLT 共 9 项指标分别和 Auer 小体发生率做相关性分析,结果显示仅 WBC 与 Auer 小体发生率呈负相关($P < 0.05$), r 为 -0.376,见表 2。

表 2 各项指标与 Auer 小体发生率的相关性分析结果

项目	WBC	Hb	PLT	CD13	CD33	CD117	CD64	CD38	PML/ABL
r	-0.376	-0.182	-0.014	0.017	-0.094	0.203	-0.094	-0.094	-0.137
P	0.020	0.274	0.933	0.921	0.575	0.222	0.575	0.576	0.411

2.3 影响 Auer 小体发生率的单因素回归分析 将 Auer 小体发生率作为因变量,相关性分析中有统计学意义的指标(WBC)作为自变量进行简单线性回归分析。结果显示,WBC 进入了回归方程,回归模型有统计学意义($P < 0.05$),可认为初诊 WBC 是 Auer 小体发生率的影响因素,回归方程为: $Y = -0.001X + 0.079$,说明 WBC 每增加一个单位,整体样本的 Auer

小体发生率平均降低 0.1%,见表 3。

表 3 影响 Auer 小体发生率的单因素回归分析

变量	B	SE	β	t	P	95%CI
常量	0.079	0.016	—	5.055	—	0.047~0.111
WBC	-0.001	0.000	-0.376	-2.432	0.020	-0.002~0.000

注:—表示该项无数据。

3 讨 论

Auer 小体于 1906 年由美国医师 John Auer 首先发现,日常工作中常见由嗜苯胺蓝颗粒融合而成的杆状 Auer 小体,此外还可见呈针尖状或卵圆状等形状的 Auer 小体^[3],在骨髓形态学中 Auer 小体的出现标志着该细胞起源于白血病的克隆,可见于 AML 患者中的原始和幼稚细胞,其在 AML 中有较高的特异性^[4]。自 Auer 小体被发现以来,在早期 HASSAN 等^[5]认为 Auer 小体的出现是白血病预后较好的重要指标,但近年来我国学者胡忠利等^[6]研究的结论表明,Auer 小体的出现与 AML 患者预后无关,学者们对此的结论并不完全一致,目前为止,Auer 小体的阳性对临床的帮助也仅限于对骨髓增生异常综合征(MDS)分型的判断,其对临床的指导意义尚未被完全发掘。

APL 患者中的异常早幼粒细胞通常全部表达 CD123、CD13、CD33、CD38 和 CD64,约 96% 的患者表达 CD117 和 CD9,CD15、CD56 和 CD11b 阳性率分别为 37.1%、24.7% 和 20.0%,CD34 和 HLA-DR 的阳性率分别为 10.7% 和 7.0%^[7]。本研究将阳性率 100.0% 的抗原与 Auer 小体发生率做相关性分析,结果显示,与 Auer 小体发生率均不存在相关性($P > 0.05$),其他抗原中 HLA-DR 的表达与 Auer 小体发生率无关($P > 0.05$),但 CD56 阴性的 APL 患者 Auer 小体发生率高于 CD56 阳性患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。白血病细胞 CD56 抗原属于超免疫球蛋白之一,是人类天然免疫系统的重要组成部分,其不但介导细胞与细胞的相互作用,还可能参与细胞介导的毒性反应^[8],在 AML 中 CD56 可作为判断患者预后的指标之一,CD56 阳性的 APL 患者尽管总体存活期与阴性患者比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但缓解持续时间和无病生存期更短,预后、疗效更差^[9]。本研究虽得到了 CD56 阴性的 APL 患者 Auer 小体发生率高于 CD56 阳性患者的结论,但在实际工作中只收集到了患者白血病细胞群的 CD56 表达率,未收集到患者 CD56 阳性细胞群 CD56 的表达强度,因此 APL 患者中 Auer 小体的发生率是否受 CD56 表达强度的影响还需进一步探索。

APL 特征性的遗传改变为 t(15;17),存在早幼粒细胞白血病 α 融合基因,PML/RAR α 融合基因分为 3 种亚型,即长链型(L 型;bcr1)、变异型(V 型;bcr2)与短链型(S 型;bcr3),其中 L 型异常早幼粒细胞形态多为典型多颗粒型且免疫表型多为典型 APL 特点,S 型无明显特殊性,但 V 型异常早幼粒细胞形态多为细颗粒型,部分患者会表达 CD34^[10]。本次对 L 型和 S 型融合基因的差异性研究发现,L 型融合基因的 APL 患者 Auer 小体发生率高于 S 型患者,差异有统计学意义($P < 0.05$),其原因可能是由于某一种基因序列在 L 型患者中的重复性不同于 S 型,从而导

致 Auer 小体多发,此假设还需进一步验证。

APL 患者初诊的 WBC、Hb、PLT 是临床判断患者危险程度的指标,根据 APL 诊疗指南中的危险分层标准将初诊 WBC $< 10 \times 10^9/L$ 且 PLT $> 40 \times 10^9/L$ 的患者分为低危组;WBC $\leq 10 \times 10^9/L$ 且 PLT $\leq 40 \times 10^9/L$ 的患者分为中危组;WBC $> 10 \times 10^9/L$ 的患者分为高危组^[11],本研究显示 Hb 与 PLT 两项指标与患者 Auer 小体发生率均无相关性,但初诊 WBC 与 Auer 小体发生率呈负相关($P < 0.05$), r 为 -0.376,同时将 WBC 引入线性回归分析中得出回归方程为: $Y = -0.001X + 0.079$,本研究可得出 WBC 与 Auer 小体发生率呈负相关,但是因样本量较小,还需更大的样本量对回归方程进行修正。

综上所述,本研究中与 APL 患者 Auer 小体发生率有关的因素分别为 CD56 的表达、初诊 WBC 与 PML/RAR α 融合基因类型,CD56 阴性患者 Auer 小体发生率高于阳性患者;PML/RAR α 融合基因 L 型患者 Auer 小体发生率高于 S 型患者;WBC 越低 Auer 小体的发生率越高。既往有研究表明,S 型融合基因患者的预后较 L 型更差^[12],CD56 阳性的 APL 患者预后不良^[13];也有研究表明,初诊 WBC 高的患者较 WBC 低的患者预后不良^[14]。本研究结果显示,一般情况下 APL 患者 Auer 小体发生率低提示预后不良,具体生存曲线分析及如何划分 Auer 小体发生率的界限来判断患者预后还需进一步研究。APL 患者的初诊 Auer 小体发生率有望作为评估临床其他指标与患者预后的参考指标。

参考文献

- [1] 杨立东,黄玉平,马云枫. AML-M2 复发患者白血病细胞中 AUER 小体增多 1 例分析[J]. 当代医学,2016,22(5): 59-61.
- [2] 沈悌,赵永强. 血液病诊断及治疗标准[M]. 4 版. 北京: 科学出版社,2018:99-100.
- [3] ARUGA Y, ARAKAWA A, ONO K, et al. Pseudo-Chédiak-Higashi granules and Auer rods in mixed phenotype acute leukaemia, T/myeloid, not otherwise specified[J]. Br J Haematol,2018,180(2):175.
- [4] HUANG H, QIN T, XU Z, et al. Mutational features of myelodysplastic syndromes with Auer rods reveal them are more akin to acute myeloid leukemia[J]. Br J Haematol,2020,188(5):796-800.
- [5] HASSAN H T, REES J K H. Auer bodies in acute myeloid leukaemia patients[J]. Urban & Fischer, 1990, 186(2):293-295.
- [6] 胡忠利,黄保军,潘少君. WT1 高表达及 CD34⁺ 和 Auer⁺ 与急性髓细胞性白血病患者预后的关系[J]. 中国实验血液学杂志,2016,24(6):1670-1674.
- [7] 刘艳荣. 实用流式细胞术:血液病篇[M]. 北京:北京大学医学出版社,2019:79.

(下转第 1663 页)

醉、全身麻醉均能够在较大程度上稳定血流动力学,但前者较后者更能减轻应激反应的程度。原因可能为硬膜外麻醉对绝大部分的交感神经兴奋功能进行了抑制,从而对应激性激素水平的升高进行了抑制^[6-9]。

本研究结果还表明,EG 组患者的拔管时间、睁眼时间、清醒时间均短于 G 组($P < 0.05$),说明硬膜外麻醉下患者具有较快的苏醒速度,同时能够提供良好的术后镇痛效果。原因为硬膜外麻醉具有完善的肌肉松弛、止痛作用,因此能够在极大程度上减少麻醉药物剂量及种类,加快患者术后清醒速度^[10-12]。本研究结果还表明,EG 组患者术后 2、6、12 h 的 VAS 静态评分、VAS 动态评分均低于 G 组($P < 0.05$),Ram-say 评分均高于 G 组($P < 0.05$)。原因为硬膜外复合全身麻醉能够发挥剂量相关的抗热痛觉过敏、抗伤害性刺激的作用,从而使患者保持镇静。本研究结果还表明,EG 组患者的术后轻微疼痛发生率高于 G 组,中度疼痛、重度疼痛、躁动发生率均低于 G 组($P < 0.05$),说明硬膜外复合全身麻醉患者具有较轻的术后疼痛,术后躁动发生率较低,能够使老年患者尽快康复。原因可能为硬膜外复合全身麻醉能够扩张血管,降低周围血管阻力,从而有效避免全身麻醉的一系列并发症^[13-15]。

综上所述,硬膜外复合全身麻醉对老年腹腔镜下胆囊切除术患者围术期应激反应的影响较全身麻醉更小,值得推广。

参考文献

- [1] 刘洋. 全麻联合硬膜外麻醉对老年腹腔镜胆囊切除术患者认知功能的影响[J]. 中国现代药物应用, 2020, 14(22):46-47.
- [2] 李惠, 杜小凯, 付芬芬. 全身麻醉复合硬膜外麻醉对老年腹腔镜胆囊切除术麻醉恢复期的影响[J]. 医学临床研究, 2017, 34(10):2044-2046.
- [3] 孙建坤, 王娟, 徐忠东, 等. 不同麻醉方法对老年患者行腹腔镜胆囊切除术应激反应的影响[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(9):827-829.
- [4] 陈适, 彭秀兰, 易能芬. 不同麻醉方法对老年腹腔镜胆囊切除术患者应激反应的影响[J]. 浙江创伤外科, 2016, 21(2):390-392.
- [5] 郑立, 史朝辉. 腹腔镜胆囊切除术治疗老年胆囊结石的围术期应激观察及影响因素[J]. 国际医药卫生导报, 2016, 22(18):2796-2799.
- [6] 楚伍花. 腹腔镜行胆囊切除术临床麻醉效果分析[J]. 中国社区医师, 2019, 35(20):16-18.
- [7] 高金勇, 焦岩, 关文川, 等. 硬膜外麻醉复合全麻对腹腔镜下胆囊切除术血流动力学等指标的影响分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(19):2356-2359.
- [8] 刘亮. 硬膜外麻醉和全麻在腹腔镜胆囊切除术中对心血管的影响[J]. 中国现代医生, 2018, 56(17):109-111.
- [9] 王旭. 静脉连续输注丙泊酚复合硬膜外利多卡因麻醉在腹腔镜胆囊切除术患者中的临床麻醉效果[J]. 当代医学, 2022, 28(7):105-107.
- [10] 高峻峰, 雷义高, 秦小杰, 等. 全身麻醉联合硬膜外麻醉在腹腔镜胆囊切除术高血压患者中的应用效果观察[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(7):1355-1359.
- [11] 李沫. 对行腹腔镜下胆囊切除术的老年胆囊疾病合并高血压患者实施全身麻醉和硬膜外阻滞麻醉的效果[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(5):37-39.
- [12] 代延廷, 杜海波. 全身麻醉复合硬膜外麻醉在老年患者腹腔镜胆囊切除术中的应用[J]. 华夏医学, 2019, 32(1):110-112.
- [13] 郭鹏. 静脉连续输注丙泊酚复合硬膜外利多卡因麻醉在腹腔镜胆囊切除术中的临床效果分析[J]. 当代医学, 2019, 25(27):175-176.
- [14] 黎邛. 硬膜外舒芬太尼超前镇痛对老年胆囊切除术患者术后认知功能的影响研究[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2019, 40(24):3090-3092.
- [15] 徐晓静, 王静. 两种麻醉方法在老年高血压病人腹腔镜胆囊切除术中的应用效果分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2019, 44(5):623-626.
- [8] VALGARDSDOTTIR R, CAPITANIO C, TEXIDO G, et al. Direct involvement of CD56 in cytokine-induced killer-mediated lysis of CD56+ hematopoietic target cells[J]. Exp Hematol, 2014, 42(12):1013-1021.
- [9] 宋娟娟, 裴艳茹, 李丹, 等. CD56 在正常核型急性髓系白血病患者中的表达及临床意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2021, 35(1):11-14.
- [10] AHMAD E I, AKL H K, HASHEM M E, et al. The biological characteristics of adult CD34⁺ acute promyelocytic leukemia[J]. 2012, 29(2):1119-1126.
- [11] 马军. 中国急性早幼粒细胞白血病诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(3):179-183.
- [12] 马涛, 邢宏运, 李晓明, 等. 急性早幼粒细胞白血病不同 PML/RAR α 亚型的临床特点分析[J]. 重庆医学, 2018, 47(16):2241-2244.
- [13] 王娅楠, 苏雁华, 高玉娟. 流式细胞术免疫分型诊断急性早幼粒细胞白血病的临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(8):1386-1389.
- [14] 王怀宇, 张欣欣, 张慧云, 等. 急性早幼粒细胞白血病患者外周血白细胞计数与早期死亡率关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(3):718-722.

(收稿日期:2021-10-12 修回日期:2022-04-08)

(收稿日期:2021-11-12 修回日期:2022-02-08)

(上接第 1659 页)