MICM 分型对未治型白血病的诊断价值

刘咏梅[1,2]，赵 蓉[2*]，李艳玲[2]，李 玲[3]，李勇冀[2]
（1. 贵州医科大学 医学检验学院，贵州 贵阳 550004；2. 贵州医科大学附院 中心实验室，贵州 贵阳 550004；3. 贵州市第三人民医院 检验科，贵州 贵阳 550004）

［摘 要］**目的**：分析骨髓细胞形态学（M）、细胞免疫学（I）、细胞遗传学（C）和分子生物学（M）联合方法（MICM 分型）在白血病诊断中的价值。**方法**：收集 196 例白血病患者骨髓细胞形态学、细胞免疫学、细胞遗传学及分子生物学检查结果，比较分析单一的形态学分型、单一细胞免疫学分型、形态学联合细胞免疫学分型与 MICM 分型 4 种检查方法对白血病诊断的符合率。**结果**：196 例患者，单一形态学分型、单一细胞免疫学分型、形态学联合细胞免疫学分型与 MICM 分型 4 种方法对白血病的诊断符合例数分别为 158、159、182 例、196 例，符合率分别为 80.6%、81.1%、92.8%、100%；形态学联合细胞免疫学分型比单一细胞形态学或单一细胞免疫学分型诊断符合率高，差异有统计学意义（$P<0.01$）；MICM 分型比形态学联合细胞免疫学分型诊断符合率高，差异有统计学意义（$P<0.01$）。**结论**：MICM 分型可提高白血病的诊断率。

［关键词］白血病；细胞；形态学；免疫学技术；染色体；分子生物学
［中图分类号］R557；R446 ［文献标识码］A ［文章编号］1000-2707（2016）02-0231-03

Diagnostic Value of MICM typing in Leukemia

LIU Yongmei[1,2], ZHAO Rong[2], LI Yanling[2], LI Ling[3], LI Yongji[2]
(*1. Department of Medical Laboratory, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Clinical Laboratory, The Third People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550008, Guizhou, China*)

［**Abstract**］**Objective**: To explore the clinical value of MICM typing in the diagnosis of leukemia. **Methods**: 196 cases of patients with diagnosed leukemia were enrolled in this study, and the experimental results of cell morphology, cellular immunology, cytogenetics and molecular biology of their bone marrow cell were collected. 4 examination methods including single cell morphology typing, single cellular immunology typing, cell morphology combined with cellular immunology typing and MICM typing were compared for diagnosis accuracy of leukemia. **Results**: In 196 cases of patients with leukemia, the diagnostic accordance rate of single cell morphology typing was 80.6% (158/196), the diagnostic accordance rate of single cellular immunology typing was 81.1% (159/196), the diagnostic accordance rate of cell morphology combined with cellular immunology typing was 92.8% (182/196) and the diagnostic accordance rate of MICM typing was 100% (196/196). The diagnostic accordance rate of cell morphology combined with cellular immunology typing was significantly higher than that of single cell morphology typing or single cellular immunology typing ($P<0.01$) while the diagnostic accordance rate of MICM typing was significantly higher than that of cell morphology combined with cellular immunology typing ($P<0.01$). **Conclusion**: MICM typing can improve the diagnostic rate of leukemia.

［**Key words**］leukemia; cell; morphology; immunology; chromosome; molecular biology

*通信作者 E-mail:546879267@qq.com
网络出版时间:2016-02-23 网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160223.2040.044.html

白血病是一类造血干细胞恶性克隆性疾病,克隆性白细胞因为增殖失控、分化障碍及凋亡受阻等机制在骨髓和其他造血组织中大量增殖累积,并浸润其他组织和器官。我国白血病的发病率在恶性肿瘤中占第六位(男性)和第八位(女性)[1]。白血病的诊断基础是骨髓细胞形态学(morphology,M)检查,但往往由于细胞形态不典型而难以明确诊断,2000 年以来,细胞免疫学(inmunology,I)、细胞遗传学(cytogenetics,C)和分子生物学(molecular biology,M)技术越来越广泛用于白血病细胞表面特异性分化抗原、特异性染色体改变及融合基因的检测,很好地弥补了白血病诊断时形态学检查的不足,逐渐形成了 WHO 白血病骨髓细胞形态学(M)、细胞免疫学(I)、细胞遗传学(C)和分子生物学(M)联合方法(MICM 分型)的诊断标准[2]。本研究对 196 例初发未经治疗的白血病患者的 MICM 分型诊断结果进行比较,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

收集 2014 年 1 ~ 12 月门诊或住院初诊白血病病例 196 例,男性 115 例,女性 81 例,年龄 1 ~ 81 岁,平均 41 岁。所有患者均于治疗前抽取骨髓完成细胞形态学、细胞免疫学、细胞遗传学及分子生物学检查。

1.2 骨髓细胞形态学检查

于髂前上棘或髂后上棘处骨髓穿刺并涂片,常规瑞氏、过氧化物酶(POX)、过碘酸雪夫氏(PAS)、酸性 α-乙酸萘酚酯酶(ANAE)及中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)染色,对白血病细胞进行细胞形态学分型诊断,诊断标准符合《血液病诊断及疗效标准》[3]。

1.3 细胞免疫学检查

取肝素抗凝骨髓液 2 ~ 3 mL,常规分离单个核细胞,采用活细胞间接荧光标记,所有单抗购自美国贝克曼公司和 BD 公司,用流式细胞仪进行(FACS Calibur,BD 公司)检测,按说明书操作。判断标准:常规单抗包括淋系(T、B)、髓系及干组系,淋系及髓系抗原 > 20%、CD_{34} 抗原 > 10% 为阳性,分型判断根据 2015 年中国免疫学会血液免疫分会《急性白血病免疫分型中国专家共识》[4-5]。

1.4 细胞遗传学检查

取肝素抗凝骨髓液 2 ~ 5 mL 加入到培养液中,37 ℃恒温箱培养 24 h,加入秋水仙酰胺应用液配成细胞悬液,制片染色、水洗镜检,采用 R 显带技术、根据《国际人类细胞遗传学国际命名法(ISCN)》进行核型分析,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[6]。

1.5 分子生物学检查

取肝素抗凝骨髓液 2 ~ 5 mL,分离单个核细胞,提取总 RNA,并通过微量紫外分光光度仪测定 RNA 浓度及纯度,用逆转录引物将 RNA 特异性逆转录反应合成为 cDNA,然后应用多重巢式 PCR 进行扩增,扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶中电泳,采用凝胶成像系统观察结果、Tanon MP 软件摄取图像[7]。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析。计数资料用率(%)表示,组间比较用卡方检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分型结果

196 例患者骨髓细胞形态学及细胞免疫学分型均以急性髓细胞性白血病(AML)检出率最高,其次是急性淋巴细胞性白血病(ALL)、慢性粒细胞性白血病(CML)、急性白血病(AL)未分型及混合型。196 例患者中,有 52 例检出染色体核型异常,总检出率为 26.5%;61 例检出融合基因,总检出率为 31.1%。见表 1。

表 1 白血病 MICM 分型结果

Tab.1 MICM typing result of various types of leukemia

白血病类型	n	分型(n,%)			
		形态学	免疫学	遗传学	分子生物学
M1	2	1 (0.5)	1 (0.5)	0	0
M2	37	36(18.4)	36(18.4)	9(4.6)	12(6.1)
M3	13	14 (7.1)	12 (6.1)	11(5.6)	12(6.1)
M4	17	19 (9.7)	15 (7.7)	4(2.0)	1(0.5)
M5	6	9 (4.6)	6 (3.1)	1(0.5)	
AML 未定型	28	20(10.2)	25(12.8)	8(4.0)	9(4.6)
ALL	72	73(37.2)	68(34.7)	10(5.1)	16(8.1)
AL 混合型	6	0	7 (3.6)	0	0
AL 未分型	4	13 (6.6)	14 (7.1)	0	0
CML	11	11 (5.6)	12 (6.1)	9(4.6)	11(5.6)
合计	196	196	196	52	61

M1,急性粒细胞白血病未分化型;M2,急性粒细胞白血病部分分化型;M3,急性早幼粒细胞白血病;M4,急性粒单细胞白血病;M5,急性单核细胞白血病。

2.2　诊断符合率

单一细胞形态学分型、单一细胞免疫学分型、细胞形态学联合免疫学分型及 MICM 分型相比较，诊断符合例数分别为 158、159、182 例、196 例，符合率分别为 80.6%、81.1%、92.8%、100%。见表 2。

表 2　白血病 MICM 分型诊断符合情况(n,%)

Tab. 2　Analysis of diagnostic accordance rate of MICM typing in 196 cases of leukemia

分型方法	n	M1	M2	M3	M4	M5	AML 未定型	ALL	AL 混合型	AL 未分型	CML	符合率(%)
细胞形态学	158	1	31	13	14	5	13	70	0	0	11	80.6[(1)(2)]
细胞免疫学	159	0	28	12	11	5	16	67	6	3	11	81.1[(2)]
细胞形态学 + 免疫学	182	1	35	13	15	6	20	72	6	3	11	92.8[(3)]
MICM	196	2	37	13	17	6	28	72	6	4	11	100.00

[(1)] 与细胞免疫学比较，$P>0.01$；[(2)] 与细胞形态学加免疫学比较，$P<0.01$；[(3)] 与 MICM 比较，$P<0.01$

3　讨论

白血病细胞是造血细胞在某一分化阶段的大量积累，通过对这一群细胞的检验分析对白血病进行正确的分型，对指导临床治疗与预后判断有着重要的意义[8]。骨髓细胞形态学分型是诊断白血病应用最广泛的分型及诊断方法。本组 196 例患者形态学分型以 AML 检出率最高，其次是 ALL；AML 中 M2 检出率最高，这与杨峥等[9]报道不相符，可能与地域、环境及遗传等因素有关。形态学是诊断白血病的基础，本组资料中通过形态学分型有 13 例 AL 未诊断类型，说明形态学分型对未分化型白血病及一些形态学不典型白血病的诊断具有一定局限性。白血病细胞免疫分型是以流式细胞术进行，原理是应用多种荧光标记单克隆抗体对细胞进行标记检测，可供检测的标本种类有骨髓、外周血、脑脊液及其他体液，既克服了形态学分型方法上的缺点，又具有简单快速、计数细胞量大、灵敏度高及结果准确度高的特点，可提高白血病诊断的灵敏度及分型的准确性。流式细胞学检测能分辨出 $1\times10^3\sim1\times10^4$ 个细胞中的 1 个白血病细胞，一般鉴定细胞性质准确率可超过 90%。流式细胞术对血液有核细胞胞膜，细胞核特定生物大分子的分析，可精确判定其来源、分类及分化情况等。本组资料显示细胞免疫学分型中 AML 检出率最高，以 M2 多见，其次是 ALL、CML、未分型及混合型；细胞免疫学分型诊断符合率为 81.1%，比张云宁[10]的诊断符合率相比稍低，可能与标本采集、人员工作经验有一定的关系。本研究显示，形态学联合细胞免疫学分型的诊断符合率为 92.8%，较单一形态学分型或单一免疫学分型高($P<0.01$)，说明白血病形态学分型与细胞免疫学分型相辅相成，两者联合诊断可以提高白血病分型诊断率。本研究还显示，MICM 分型的诊断符合率高于形态学联合细胞免疫学分型($P<0.01$)，196 例白血病患者检出 52 例染色体核型异常，其中以 M3 的检出率最高，其次是 M2 和 ALL；检出 61 例融合基因，以 M2、M3 检出率最高。说明在白血病的诊断中，MICM 分型不但能提高白血病的诊断率，而且对治疗方案的选择及判断预后提供重要依据。

4　参考文献

[1] 谭齐贤，张树平. 临床血液学和血液检验[M]. 3 版. 北京：人民卫生出版社，2006：192.

[2] 李顺义. 重视 WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类标准的普及和推广[J]. 疑难病杂志，2012(8)：573－574.

[3] 张之南，沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京：科学出版社，2007：106－121.

[4] 刘艳荣，于弘，常艳，等. 四色荧光标记抗体在白血病免疫分型中的应用及意义[J]. 中华实验血液学杂志，2002(5)：423－427.

[5] 中国免疫学会血液免疫分会临床流式细胞术学组. 四色流式细胞术用于急性白血病免疫分型的中国专家共识[J]. 中华血液学杂志，2015(4)：265－271.

[6] 谷芳娜，李国辉，刘利. 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[J]. 昆明医科大学学报，2015(3)：113－116.

[7] 李志刚，吴敏媛，赵玮，等. 多重 RT-PCR 方法同时检测 29 种白血病融合基因[J]. 中华血液学杂志，2003(5)：256－258.

[8] 刘晓红，季海生. 81 例急性髓系白血病形态学与免疫学分型分析[J]. 医学检验与临床，2009(5)：69－71.

[9] 杨峥，莫武宁，李山. 505 例白血病应用流式细胞术免疫分型与 FAB 分型的结果分析[J]. 中国实验诊断学，2010(8)：1238－1241.

[10] 张云宁，曹峰，陈静. 158 例急性白血病形态学与免疫学分型的比较[J]. 海南医学，2011(23)：28－31.

(2015-08-26 收稿，2015-12-22 修回)

中文编辑：戚　璐；英文编辑：刘　华