

Current Hematologic Malignance
Diagnosis and Treatment

现代

血液肿瘤诊断治疗学

朱平 主编

北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

Current Hematologic Malignance
Diagnosis and Treatment

现代血液肿瘤 诊断治疗学

朱 平 主编

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

(京)新登字 147 号

Xiandai Xueye Zhongliu Zhenduan Zhiliao Xue

图书在版编目 (CIP) 数据

现代血液肿瘤诊断治疗学/朱平主编. - 北京: 北京医科大学、
中国协和医科大学联合出版社, 1998.12

ISBN 7-81034-900-7

I. 现… II. 朱… III. 造血系统-肿瘤-诊疗 IV. R733

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 19538 号

北京医科大学 联合出版社出版发行
中国协和医科大学

(100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内)

责任编辑: 安 林

责任校对: 张 卫

责任印制: 郭桂兰

山东省莱芜市印刷厂印刷 新华书店经销

* * *

开本: 787×1092 1/16 印张: 29 字数: 731 千字

1999 年 2 月 第 1 版 1999 年 2 月山东第 1 次印刷 印数: 1—1500 册

定价: 57.00 元 (平)

主编 朱 平

审阅 谢光潞

编委名单

(以姓氏笔画为序)

马大龙	马明信	吕有勇	朱 平	克晓燕
刘 迎	李惠芳	李玛琳	杨崇礼	徐宁志
裴雪涛	虞积仁			

参加编著者名单

(以姓氏笔画为序)

马大龙	马明信	王 俊	王文生	王代树
王茫桔	冯宝璋	吕有勇	朱 平	刘 迎
刘艳平	刘继华	许蔚林	孙 梅	克晓燕
杨 林	杨晓峰	杨崇礼	李 勇	李玛琳
李晓光	李健为	李惠芳	时 军	岑溪南
张野坪	欧晋平	徐宁志	符粤文	虞积仁
裴雪涛	薛海鹏	魏彩霞		

内 容 提 要

《现代血液肿瘤诊断治疗学》一书主要论述当前对白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤等血液系统肿瘤性疾病的诊断以及治疗方面的进展和建议,集中了国内外同行发表的对血液肿瘤病因研究以及诊断和治疗的看法,结合近年本课题组发表的论著和综述,参考国际互联网络公布的一些最新的治疗方案加以详细讨论。内容包括病因诊断篇、治疗措施篇、肿瘤各论篇和基因分析篇4部分。病因诊断篇重点讨论肿瘤发病机理,白血病分型的一些新概念,尤其是应用分子生物学技术后取得的进展。目前从基因水平对白血病进行研究对临床诊治有了很大推动,治疗措施篇讨论骨髓移植、自身干细胞移植和营救、基因治疗、DNA疫苗等问题。有些治疗方案已经成为临床常规,有些则开辟了治疗新途径。肿瘤各论篇对临床医师有更直接的帮助,主要包括最近倡导的血液肿瘤的治疗措施和对具体治疗方案的评价。基因分析篇是我们近年为提高临床诊疗水平,深入研究疾病的发病机理而采用的一些具体的分子生物学实验操作方法,可供从事研究工作的学者参考使用。本书共70万字,适于中级以上医务工作者、医学大专院校教师和研究生,以及肿瘤学,血液学专业工作者阅读。

前 言

白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤等都是造血细胞在分化过程中发生恶变而形成的血液系统肿瘤。由于血液系统肿瘤容易从外周血、骨髓或者淋巴结标本获得明确的诊断,也易于定期观察,近年来对其形态学、细胞遗传学和分子生物学研究都有了很大的发展。尤其是基因水平的研究,进一步明确了许多肿瘤的发病机理、临床转归和预后,使临床诊断和治疗概念有了大量的更新。我们在不久以前完成的血液病手册一书的编写中发现,限于手册格式和使用要求,很难对最新的病因研究以及诊断和治疗的概念进行深入讨论。本书则集中国内外同行发表的看法,结合近年来本课题组发表的论著和经验,参考国内外文献以及国际互联网络公布的一些最新的治疗方案加以详细讨论。内容包括病因诊断篇、治疗措施篇、肿瘤各论篇和基因分析篇4部分。病因诊断篇重点讨论肿瘤发病机理、白血病分型和微小残留病诊断的新概念,尤其是应用分子生物学技术后取得的进展。从基因水平对白血病进行的研究对目前临床诊治有了很大推动,中国人发现的早幼粒细胞白血病的 $RAR\alpha$ 基因和全反式维甲酸、三氧化二砷治疗取得的显著疗效都引起全世界瞩目。治疗措施篇讨论骨髓移植、自身干细胞移植和营救、基因治疗、DNA疫苗等问题。有些治疗方案已经成为临床常规,有些则开辟了治疗新途径。肿瘤各论篇对临床医师有更直接的帮助。主要包括最近倡导的血液肿瘤的治疗措施和对具体治疗方案的评价。例如,长期沿用的急性髓系白血病的维持缓解治疗已趋否定,有建议改用短期巩固化疗等。基因分析篇是我们近年为提高临床诊疗水平,深入研究疾病的发病机理而采用的一些具体的分子生物学实验操作方法,可供从事研究工作的学者参考使用。

本书撰写的基础是我们于1995年和1997年在北京医科大学第一医院举办的两次全国性肿瘤和白血病知识更新班讲义。知识更新班邀请一些国内知名的专家进行肿瘤和白血病研究、诊断和治疗的专题演讲。两次都分别撰写了讲义。由于各位专家的演讲内容详实,实践性强,许多是自己在国内外获得的研究成果,可代表当前肿瘤和白血病诊断和治疗的趋势和研究方向,受到全国各地同道的欢迎,不时有各地信函索要讲义。由于印刷数量少,一些讲义还被辗转复印多次。此次承蒙北京医科大学科学出版基金委员会支持,我们下决心重新撰写、修改和补充内容。将血液肿瘤的诊断和治疗的现行方案、进展以及我们自己近期的工作规范成本。在编写方式上也改变以往一些国内教科书的传统模式,力求通过讨论的形式阐明国内外学者对相关问题的看法。讨论中尽量引述其发表的文献,使读者有据可查,了解进展程度和有待解决的问题。

在本书付印之际,我需特别提及北京医科大学第一医院血液学研究室的同事们。本书的一些经验总结是与同事们的辛勤工作密不可分的。同时也庆幸本书获得全国各地新老专家的撰稿支持。如果本书有何不足和遗漏之处,主要是我的水平有限所致。欢迎提出争议和批评。

朱 平

一九九八年十月三十日

目 录

病因诊断篇

- 一、急性白血病的 MIC 分型和基因分型…………… (3)
- 二、残留白血病的检测与诊断 …… (14)
- 三、免疫球蛋白和 T 细胞受体基因重排的原理和淋巴系统肿瘤 …… (24)
- 四、用抗原受体基因分析淋巴系统肿瘤的克隆演化 …… (37)
- 五、B 细胞肿瘤与抗原刺激 …… (43)
- 六、白血病治疗缓解后的免疫重建 …… (47)
- 七、人类基因图谱的发展现状及应用 …… (52)
- 八、用微卫星多态性研究肿瘤与白血病 …… (56)
- 九、肿瘤和白血病的基因组印记 …… (63)
- 十、7 号染色体单体或长臂缺失的意义 …… (69)
- 十一、细胞凋亡与肿瘤及白血病 …… (75)
- 十二、影响肿瘤细胞凋亡的酶和基因 …… (82)
- 十三、细胞生长的信号传导 …… (91)
- 十四、BCR - ABL 融合蛋白多样性及其与白血病表型的关系 …… (101)
- 十五、淋系/髓系白血病基因 (MLL) 及其配体…………… (106)
- 十六、p53 基因变异与肿瘤发生发展的关系…………… (112)
- 十七、周期蛋白激酶抑制因子与细胞周期调控的关系…………… (124)
- 十八、多聚酶链反应和染色体基因定位…………… (136)
- 十九、基因差异法克隆肿瘤异常基因 …… (143)

- 二十、基因克隆研究体系和技术方法的发展与新基因的分离………… (151)

治疗措施篇

- 二十一、骨髓移植治疗…………… (165)
- 二十二、脐带造血干细胞移植………… (179)
- 二十三、造血干祖细胞的分离纯化与体外扩增…………… (193)
- 二十四、血液肿瘤骨髓清除治疗后的免疫疗法…………… (204)
- 二十五、协同刺激与 T 细胞免疫耐受在 GVHD 防治中的研究 …… (213)
- 二十六、独特型疫苗治疗淋巴系统肿瘤…………… (222)
- 二十七、细胞因子研究进展…………… (238)
- 二十八、细胞因子的临床应用………… (246)
- 二十九、巨核细胞血小板生长发育调节与血小板生成素…………… (254)
- 三十、血液系统疾病的基因治疗 …… (266)
- 三十一、肿瘤化疗与多药耐药………… (273)

肿瘤各论篇

- 三十二、成人急性髓细胞白血病的诊断和治疗…………… (281)
- 三十三、成人急性淋巴细胞白血病的诊断和治疗…………… (296)
- 三十四、慢性粒细胞性白血病的诊断和治疗…………… (303)
- 三十五、慢性淋巴细胞白血病的诊断和治疗…………… (312)
- 三十六、骨髓增殖性疾病的诊断和治疗…………… (318)
- 三十七、成人霍奇金病的诊断和治疗

..... (322)	7. 变性胶电泳 (425)
三十八、成人非霍奇金淋巴瘤的诊断 和治疗 (336)	8. 异源双链形成 (425)
三十九、儿童急性髓细胞白血病的诊 断和治疗 (356)	9. TCR γ 基因限制性酶谱分析 (426)
四十、儿童急性淋巴细胞白血病的诊 断和治疗 (364)	10. DNA 点杂交 (426)
四十一、儿童霍奇金病的诊断和治疗 (372)	11. Southern 印迹杂交 (427)
四十二、儿童非霍奇金淋巴瘤诊断和 治疗 (383)	12. Northern 印迹杂交 (429)
四十三、浆细胞瘤的诊断和治疗 (394)	13. PCR 直接测序 (431)
四十四、毛细胞白血病的诊断和治疗 (407)	14. Western 印迹杂交 (431)
四十五、骨髓增生异常综合征的诊断 和治疗 (410)	15. 生物素染色体原位杂交 (433)
	16. 随机引物标记法 (434)
	17. 生物素 DNA 探针乙醇沉淀法 (435)
	18. 代表性差异分析法 (435)
	19. 制备感受态细胞 (437)
	20. 质粒小量提取 (437)
	21. 质粒大量提取 (438)
	22. 独特型核酸疫苗制备操作规程 (438)
	23. PCR 产物的克隆 (439)
	24. 单链丝状噬菌体载体 - M13 噬菌体 克隆及感态细菌的转染 (440)
	25. 溴介导法标记荧光引物做彩色 PCR (441)
	26. 细胞凋亡的原位末端转移酶荧光 流式细胞仪分析法 (442)
	27. mRNA 差异显示法 (443)
	28. cDNA 文库筛选 (447)
基因分析篇	
四十六、基因分析有关的常用实验 (417)	
1. 基因组 DNA 提取方法 (417)	
2. RNA 提取方法 (419)	
3. RT-PCR (422)	
4. 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (422)	
5. 聚丙烯酰胺凝胶银染法 (423)	
6. PCR-SSCP (424)	

病因诊断篇

一、急性白血病的 MIC 分型和基因分型

- 形态学和细胞化学特征
- 免疫表型
- 细胞遗传学和分子生物学特征
- 监测微小残留病需要了解白血病的分子生物学特征
- MICM 分型指标的分析

急性白血病是由于不成熟淋巴系或者髓系祖细胞失控,呈克隆性扩张,被阻滞于一定的分化期而发生的。白血病进展过程有一连串的基因和表型变化,这些变化与疾病的临床特征和预后有关。因此了解白血病的类型特征对临床治疗是很重要的。从 70 年代起,由法美英 7 位学者提出 FAB 的方案^[1]成为白血病分型的主流,得到广泛的应用。70 年代中用单克隆抗体发现造血细胞表面抗原,开始对白血病进行免疫表型的分析,迄今发现表面抗原已有 160 余种^[2]。染色体分析发现 90% 急性白血病有核型异常^[3,4],这些异常,特别是染色体易位,与白血病的 FAB 类型有明显关系。因此,80 年代提出了白血病的 MIC (形态学,免疫学,细胞遗传学) 分型方法^[5]。近 2 年对白血病的分子特征研究有很多进展,尤其是分析染色体易位后所形成的嵌合基因,可以较容易地检出染色体分析未能发现的少数细胞群的变化,开始出现对白血病进行 MICM (MIC 加分子生物学) 的呼声^[6,7]。

白血病分型的目的首先应当是有助于临床治疗、药物选择和预后,其次是确定具有不同发病机制的白血病亚群,探索发病原因。现在知道, FAB 分型用于淋巴细胞白血病分型有明显的缺陷。不加选择地采用多种单克隆抗体或者基因标志分析,反而会造成分型的混乱,干扰白血病治疗

方案的相互交流和对比研究。虽然 80 年代我国^[8]曾提出白血病分型的方案,时至今日,很有必要利用近年急性白血病研究进展来确立新的分型方案。

1. 形态学和细胞化学特征

FAB 分型最初将急性髓细胞白血病 (AML) 分为 7 个亚型, M1-M7。据 95 年版的 Willms 血液学统计^[2]在 AML 中 M1 原始细胞型占 10%, M2 原始细胞伴成熟分化细胞型占 40%, M3 早幼粒型占 10%, M4 粒单细胞型占 15%, M5 原始单核细胞型占 10%, M6 红白血病型占 5%, M7 巨核细胞型 > 5%, 欧洲儿童达 10%^[7] (表 1-1)。近年确定了 FAB-M0 型。M0 细胞没有髓系的细胞化学特征,更象原始淋巴细胞,必须用免疫学技术才能检测。目前 FAB 类型的 AML 共 8 种。复习国内文献,医科院血研所^[9]和一些单位报告我国急性巨核细胞白血病 (M7) < 1.5%。究其原因,有可能与一些 M7 必需用特异性抗巨核的单克隆抗体才能诊断有关。单克隆抗体鉴定出 M7 的同时,也发现和明确了原始巨核细胞的一些形态学新特征,如胞浆嗜碱性强,有瘤状凸起,含细小或者粗大颗粒,双核细胞多,细胞成簇分布等。

表 1-1 欧洲 780 例急性儿童白血病的分型
 [from Ching - Hon Pui: Childhood leukemias.
 New England Journal of Medicine 1995 332 (24): 1618]

白血病类型	百分率
ALL	
免疫表型	
前前 B 细胞 (cCD22 ⁺ , cCD79a ⁺ , CD19 ⁺ , CD22 ⁺ , cIg ⁻ , and sIg ⁻)	57
前 B 细胞 (cIgμ ⁺)	25
转化前 B 细胞 (cIgμ ⁺ , sIg ⁺ , sIgκ ⁻ , sIgλ ⁻)	1
B 细胞 (sIg ⁺ , sIgκ or sIgλ ⁺)	2
T 细胞 (cCD3 ⁺ , CD7 ⁺ , plus CD5 ⁺ or CD2 ⁺)	15
倍值 (Ploidy)	
亚二倍体	7
二倍体	8
假二倍体	42
超二倍体	
47-50 染色体	15
>50 染色体	27
三倍体或者四倍体	1
AML	
形态学	
M0 - 极少髓系分化	2
M1 - 低度分化的原始粒细胞	13
M2 - 原始粒细胞伴有分化	28
M3 - 早幼粒细胞	6
M4 - 原始粒细胞和原始单核细胞	19
M5 - 原始单核细胞	21
M6 - 红白血病	1
M7 - 原始巨核细胞	10

FAB 对急性淋巴细胞白血病(ALL)的分辨能力有限, 仅将 ALL 分为 L1、L2、L3 亚型。已经证实小淋巴细胞 L1 型和多形性 L2 型分型方式对临床治疗没有帮助^[10], 也没有发现免疫学和遗传学差异。特别是大颗粒型 ALL, 它不包括在 FAB 分型中, 其胞浆中有大量嗜碱性颗粒, 容易与早幼粒白血病混淆^[11]。鉴别诊断依赖其没有髓系细胞化学特征和 Auer 小体, 而出现在某些淋巴细胞系的免疫特征表型和 T 细

胞受体基因重排^[12]。因此, 单纯从形态学划分急性白血病不能够满足临床需要。

2. 免疫表型

白血病细胞本身未发现特异性白血病抗原, 免疫分型的原理是基于白血病细胞病变时分化阻滞学说。白血病细胞与正常髓系和淋巴祖细胞一样, 会出现某个造血细胞发育阶段的抗原表达特征。由于细胞

分化级系缺乏绝对界限,白血病抗原常用一组级系相关的抗原来确定。根据欧洲 EGIL 免疫分型建议^[13],如果在骨髓和外周血中具有某些分化相关抗原的淋巴细胞超过 30%,髓系细胞超过 20%,考虑白血病细胞。免疫表型将 ALL 分为 T-ALL

和 B-ALL (表 1-2)。B 系分为 pro-B (B-I),普通 (Common) B (B-II),pre-B (B-III) 和成熟 (mature) B (B-IV) 细胞型。T-ALL 按照胸腺细胞分化期分类,但是目前认为这种分类的临床意义不大^[14],因为 T-ALL 预后都很差。

表 1-2 EGIL 急性淋巴细胞白血病 (ALL) 的免疫分型

1. B 细胞系 ALL ^(a)	(CD19 ⁺ 和/或 cCD79a ⁺ 和/或 cCD22 ⁺)
pro-B-ALL (B-I)	(不表达其他 B 细胞分化抗原)
普通 ALL (B-II)	CD10 ⁺
Pre-B-ALL (B-III)	胞浆 IgM ⁺
成熟 B-ALL (B-IV)	有胞浆或者表面 Ig κ , Ig λ
2. T 细胞系 ALL ^(b) (胞浆或者膜 CD3 ⁺)	
pro-T ALL (T-I)	CD7 ⁺
pre T ALL (T-II)	CD2 ⁺ 和/或 CD5 ⁺ 和/或 CD8 ⁺
cortical T ALL (T-III)	CD1a ⁺
成熟 T ALL (T-IV)	膜 CD3 ⁺ , CD1a ⁻
α/β + T ALL (a 组)	抗 T 细胞 α/β ⁺
γ/δ + T ALL (b 组)	抗 T 细胞 γ/δ ⁺
3. ALL 伴有髓系抗原表达 (My ⁺ ALL) A	

(a) 阳性是至少 3 个标志中 2 个阳性。除 B-IV TdT⁻ 外,大部分病例 TdT⁺、HLA DR⁺。

(b) 大部分病例 TdT⁺、HLA DR⁻、CD34⁻, 但这些标记在分型中不考虑

某些 AML, 包括未分化的 M0, 表达血小板糖蛋白的 M7 和表达血型抗原的 M6, 免疫标志有明显区别^[15]。CD10, CD34 系原始细胞的标志, 与不同白血病细胞类型无关, 但这些表型与预后有关, 有人认为常规检测有好处。最近常有同时表达淋巴细胞和髓系细胞相关抗原的双表型白血病的报道, 称为髓系抗原阳性的 ALL (预后差, 需要强化疗) 或淋巴样抗

原阳性的 AML (现在认为这种类型的白血病与淋巴细胞系关系更大)。解释其出现的原因包括: ①基因表达调节畸变; ②多能干细胞恶性转化; ③正常就存在表达两系特征的祖细胞。有报告双表型 ALL 达 22%、AML 达 60%; 也有报告仅 6%、17%^[4,16]。免疫表型补充了形态学的不足, 但是尚不能取代形态学分型。

表 1-3 EGIL 急性髓细胞白血病 (AML) 的免疫分型

1. 粒单细胞系列的 MPO ⁺ 、CD13 ⁺ 、CD33 ⁺ 、Cdw56 ⁺ , 和/或 CD117 ⁺ , 至少 2 个或者更多的髓样标志阳性
2. 红细胞系列 (纯红, M6)
早期/不成熟: 不能用标志分型
晚期/成熟: 抗血型糖蛋白 A ⁺

3. 巨核细胞系列 (M7)

CD41⁺, 和/或 CD61⁺ (膜或者胞浆型)

4. 早期髓细胞 (M0) (只能用免疫标志确定)

有其他粒单细胞 AML 的表型, 但是细胞化学和淋巴细胞特异性标志 CD3、CD79a、CD22 阴性

5. TdT⁺ AML6. AML 伴有淋巴细胞抗原的表达 (Ly⁺ AML)

3. 细胞遗传学和分子生物学特征

国内外的资料都表明^[13] 80% ~ 90% 的急性白血病有克隆性染色体异常, 染色体分析不仅有重要的诊断和预后意义, 而且能够显示出涉及白血病转化和增殖的分子损伤位点。用细胞遗传学方法检测白血病主要利用两类参数, 染色体数目 (DNA 含量) 和非随机性染色体易位。Pui 报告^[14] 与临床有关的染色体数量改变主要有两种: 超二倍体 (> 50 条染色体者) 预后较好, 易诱发细胞凋亡 (apoptosis); 亚二倍体 (< 45 条染色体), 预后差, 易位最常见, 肖志坚等^[16] 分析 167 例 AML, 52% 出现染色体易位, 易位依次为 t (8; 21), (图 1.1), t (15; 17) (图 1.2), inv (16) /del (16); t (9; 22)。等。尤其发

现 85% M2b 存在 t (8; 21)^[7]。已知 90% 以上急性早幼粒细胞白血病 (APL) 有 t (15; 17)^[18]; 大多数 M4 Eo 有 inv^[16]。最近成人样本统计较少, 欧洲 780 例儿童白血病的染色体易位分析发现与形态学类型有明确的相关性^[7]。从染色体易位的断裂点已经分离出确切的嵌合基因, 如 t (8; 21) 的 AML1/ETO (19, 20) (MTG8) (图 1.3); t (15; 17) 的 PML/RAR α ^[21] (图 1.4); inv (16) /del (16) 的 CBF β -MYH11; t (9; 22) 的 BCR/ABL 以及与 11 号染色体有关的 MLL^[22]。现在知道, 直接检测染色体易位的这些嵌合基因比染色体核型分析的敏感性强得多^[18]。100% APL 和 90% 以上的 M2b^[17] 可以用 PCR 扩增基因片段的方法检测出来, 即便染色体没有明显的变化。

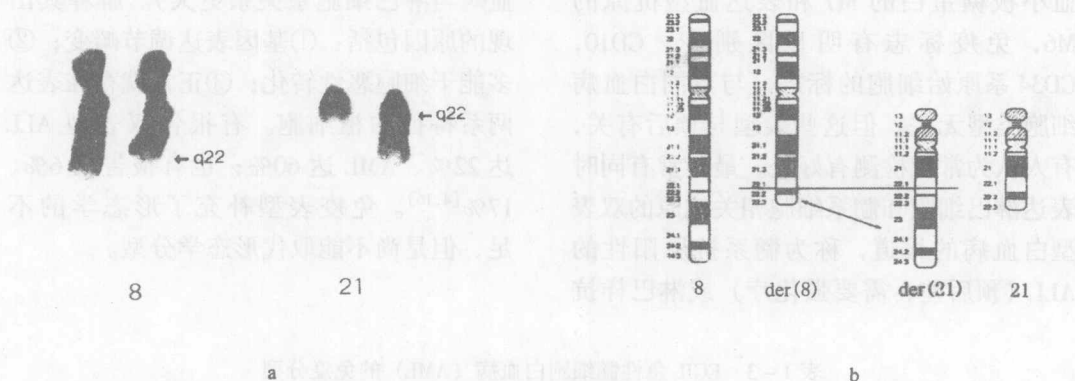


图 1.1 急性髓细胞白血病 t (8; 21) 易位的核型及示意图。

(a) 核型, t (8; 21) (q22; q22)。

(b) 示意图, 可见 8 号染色体长臂 2 区 2 带与 21 号染色体长臂 2 区 2 带相互易位。

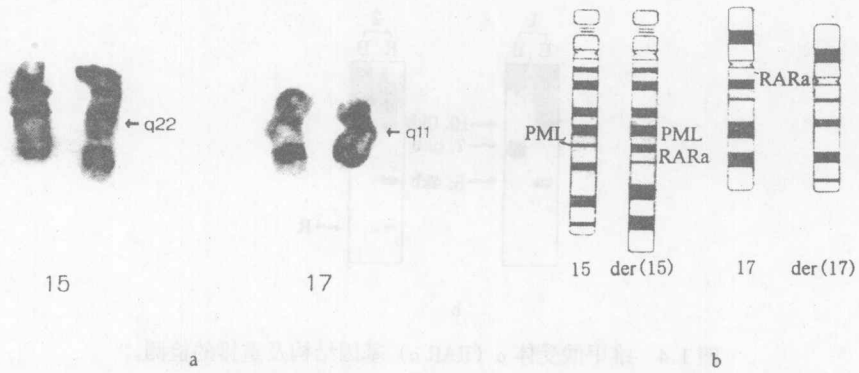


图 1.2 急性早幼粒细胞白血病染色体 t (15; 17) 易位的核型及示意图。
(a) 核型, t (15; 17) (q22; q11)。(b) 示意图, 可见 15 号染色体长臂 2 区 2 带 (PML 基因) 与 17 号染色体长臂 2 区 1 带 (RAR α 基因) 相互易位。

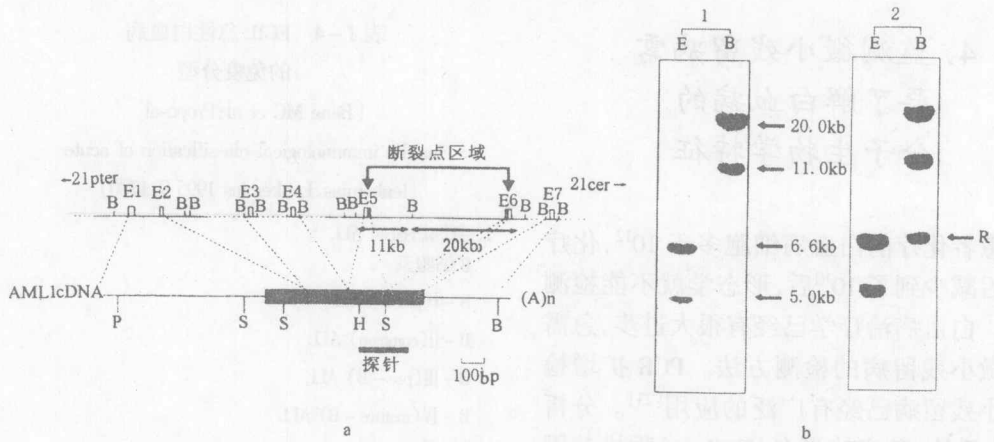
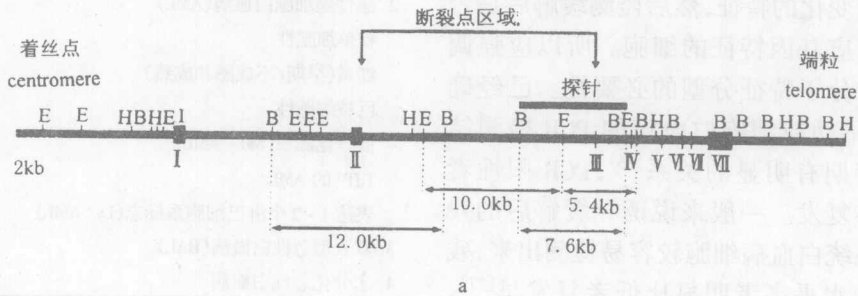


图 1.3 AML1 基因结构及融合基因的检测。

AML1 基因位于染色体 21q22, t (8; 21) 易位可导致 AML1 基因与位于染色体 8q22 的 ETO 基因融合, 形成 AML1 - MTC8 (ETO) 融合基因, AML1 的易位断裂点集中在第 5 个内含子中。(a) AML1 基因结构图。E1 ~ E7 示 1 ~ 7 个外显子, 限制酶 B = BamHI, P = Pst I, H = HindIII, S = Sma I。(b) 用 Southern Blot 检测 AML1 基因的重排, 1 为正常对照, 可见 EcoRI 酶切后 6.6kb 和 5.0kb 的胚系条带, BamHI 酶切后 20.0kb 和 11.0kb 的胚系条带。2 为 AML1 基因重排, 可见到重排条带 (R)。



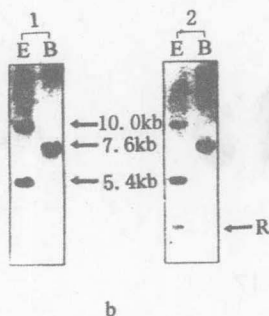


图 1.4 维甲酸受体 α (RAR α) 基因结构及重排的检测。

(a) RAR α 基因的结构及断裂点。I ~ VIII 示 1~8 个外显子，限制性内切酶位点为 B = BamHI，E = EcoRI，H = HindIII。(b) 用 Southern Blot 检测 RAR α 基因重排，1 为正常对照，可见 EcoRI 酶切后 10.0kb 和 5.4kb 的胚系条带及 BamHI 酶切后 7.6kb 的胚系条带，2 为 RAR α 基因重排，可见到重排条带 (R)。

4. 监测微小残留病需 要了解白血病的 分子生物学特征

患者化疗前白血病细胞多于 10^{12} ，化疗缓解后减少到了 10^{10} 后，形态学就不能检测到了。白血病治疗学已经有很大进步，急需改善微小残留病的检测方法。PCR 扩增检测微小残留病已经有广泛的应用^[23]。分析 T 细胞受体/免疫球蛋白 (TCR/Ig) 重排基因可以检测出 90% ALL^[24]。经统计，分析 AML 染色体易位造成的嵌合基因转录产物 mRNA 可以检测近 50% 的 AML。微小残留病的检测需要事先了解白血病个体的基因变化情况^[25]。在白血病的诱导缓解之前先了解基因变化的特征，然后监测缓解后是否残存有相应基因特征的细胞。所以应强调事先进行分子特征分型的必要性。已经确定，急性早幼粒细胞白血病的 PCR 检测结果与生存期有明显的关系^[26]，PCR 阳性者往往最终复发。一般来说诱导缓解后的残留淋巴系统白血病细胞较容易检测出来，残留白血病水平高者明显比低者复发早^[27]。早期异基因骨髓移植的 CML 检测到残留白血病细胞未能预示治疗的结果，以后做一系列的移植后定量 PCR，才能根据异常基因的

表 1-4 EGIL 急性白血病的免疫分型

[Bene MC et al: Proposal
for the immunological classification of acute
leukemias. Leukemias 1995 9:1780]

1. 急性白血病 ALL
 - B 细胞系
 - B-I (pro B) ALL
 - B-II (common) ALL
 - B-III (pre-B) ALL
 - B-IV (mature-B) ALL
 - T 细胞系
 - T-I (pro T) ALL
 - T-II (pre-T) ALL
 - T-III (cortical T) ALL
 - T-IV (mature-T) ALL
 - T- α/β 和 T- γ/δ
 - 表达 1-2 个髓系标志的 ALL (My⁺ ALL)
2. 急性髓细胞白血病 (AML)
 - 粒单细胞性
 - 红系 (早期/不成熟和成熟)
 - 巨核细胞性
 - 低分化髓系 (MO-AML)
 - TdT⁺ 的 AML
 - 表达 1-2 个淋巴细胞系标志 (Ly⁺ AML)
3. 双表型急性白血病 (BAL)
4. 未分化急性白血病

定量预测早期复发可能性^[28]。虽然 PCR 结果阴性、白血病细胞消失并不能保证患者一定治愈，但是持续并多次用 PCR 检测指导用药可

以延缓复发。最近发现两例骨髓移植 8 年 PCR 阳性患者复发,说明白血病细胞克隆可在静寂多年后复发;也发现多年缓解的 AML 病人外周血有 AML-ETO 嵌合转录产物,对临床预测提出了一些疑问。显然,需要更多的研究以确立 PCR 检测微小残留病在白血病治疗中的位置^[29]。用流式细胞仪检测免疫表型也发现,骨髓移植后缓解的骨髓中白血病细胞水平高者预示复发。用适当的 DNA 探针做荧光原位杂交(FISH)鉴定染色体数量和结构异常,或者分析不分裂的细胞和存档的涂片,结合形态学和免疫学指标可以增加检出率,然而缺乏适当的探针以及实验的稳定性都影响了结果分析。

5. MICM 分型指标的分析

95 年欧洲 EGIL 提出新的免疫分型标

准^[13] (表 1-4), 将急性白血病划分为 4 类: 1. ALL, 包括 B 细胞系 4 型, T 细胞系 5 型和表达 1-2 个髓系标志的 ALL (My⁺ ALL)。2. AML 包括 6 型, 粒单细胞性; 红系; 巨核细胞性; 低分化髓系 (M0-AML); TdT 阳性 AML; 表达 1-2 个淋巴细胞系标志 (Ly⁺ AML) 的 AML。3. 双表型急性白血病 (BAL)。4. 未分化急性白血病。分别提出 ALL 的免疫分型; AML 免疫分型和双表型 ALL 标志系统。

但这种免疫分型尚无法将粒单细胞明确分开, 单核细胞系统白血病常有特殊的皮肤粘膜浸润, 临床是重要而且多见的类型。显然形态学, 免疫学, 细胞遗传学几种分型方式不能被免疫分型取代。最近, Jennings 和 Foon^[30] 总结白血病和一些血液恶性疾病的形态学、免疫表型、细胞遗传学和分子生物学之间的关系, 见表 1-5 ~ 表 1-8。

表 1-5 AML 的形态学、免疫表型、细胞特征以及细胞遗传学分子生物学的关系

FAB 亚型	常见表型	细胞特征	相关的细胞遗传学分子生物学异常
M0	DR, CD13, CD33, CD34, CD7 ^{-/+} , TdT ^{-/+}	原始细胞 > 90% 如有淋系标志	变化复杂, 多涉及 5 或 7 可能 t (9; 22)
M1	除 CD15 ^{-/+} 外, 与 M0 相似	原始细胞 > 90% 原始细胞 < 90%	无一致发现
M2	DR, CD13, CD33, 比 M1 CD15 更多, 而 CD34 较少	成熟的 AML 中分离出 CD19	更可能为 t (8; 21)
M3	DR ⁻ , CD13, CD15, CD33, CD34 ^{-/+} , 偶有 CD2	强 SSC (M3v 除外) 成熟 AML 中出现 CD2 ⁺ , DR ⁻ , 考虑 M3	若细胞遗传学为 t (15; 17) (-), 而分子水平有 RAR 重排, 考虑为 t (11; 17) 的变异型
M4, M5	DR, CD15, CD14 ^{+/-} , CD33 > CD13, CD34 ^{-/+} , CD4 弱阳性	有 CD2, 考虑 M4Eo	35% 的病例为 11q23 重排大部分 M4Eo 为 Inv (16) 或 t (16; 16)
M6	DR, CD13 ^{+/-} , CD33 ^{+/-} , CD34, CD45 弱阳性	成熟型表达 glycophorin 增生不良	无一致发现 -7 或 del (7q) 和/或 -5 或 del (5q)
M7	DR ^{-/+} , CD33 ^{+/-} , CD34, CD41, CD61	表型很关键, 注意血小板粘附到原始细胞上	大部分 FAB 亚型出现于 21 三体的儿童