

· 临床研究 ·

# 儿童 B 系急性淋巴细胞白血病 CD20 表达及临床意义

何云燕<sup>1</sup>, 罗建明<sup>1△</sup>, 蒋玉凤<sup>2</sup>

(1. 广西医科大学附属第一医院儿科, 南宁 530021; 2. 广西医科大学研究生学院, 南宁 530021)

**摘要:**目的 探讨儿童 B 系急性淋巴细胞白血病(B acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) CD20 抗原表达与初诊临床特征的关系。**方法** 流式细胞仪直接免疫荧光法检测广西医科大学第一附属医院儿科血液病房 2006 年 7 月至 2010 年 8 月收治的初诊 120 例 B-ALL 患儿 CD20 抗原表达。**结果** 120 例患儿中 CD20 抗原表达阳性率为 25%, CD20 抗原表达与性别、年龄、外周血白细胞数、血红蛋白水平、血小板数、FAB 分型、染色体改变、初诊时中枢神经系统白血病发生、诱导化疗缓解第 19 天骨髓状态及临床危险度分型无关。**结论** CD20<sup>+</sup> 与 CD20<sup>-</sup> 的 B-ALL 患儿初诊临床表现基本相同, 不具有更多高危特征。

**关键词:** 白血病, 淋巴细胞性; 急性; 抗原, 分化; 流式细胞术

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.23.015

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)23-2327-03

## Clinical significance of children with CD20 antigen expression in B acute lymphoblastic leukemia

He Yunyan<sup>1</sup>, Luo Jianming<sup>1</sup>, Jiang Yufeng<sup>2</sup>

(1 Department of Pediatric, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2 Postgraduate Institute of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between the expression of CD20 antigen in children with B acute lymphoblastic leukemia(B-ALL) at first diagnosis and clinical characteristics. **Methods** The expression of CD20 antigen was measured in 120 patients who were the first diagnosis in hematopathy sickroom of the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University from July 2006 to Aug 2010 using direct immunofluorescence scan. **Results** Positive rate of 120 patients with CD20 antigen expression was 25%. No significant relationships were found between CD20 antigen expression and gender, age, peripheral blood leucocytes count, hemoglobin level, platelet count, FAB classification, chromosomal changes, central nervous system leukemia at diagnosis, marrow status of remission induction chemotherapy on day 19 and clinical risk classification. **Conclusion** Patients with CD20<sup>+</sup> and CD20<sup>-</sup> in B-ALL at first diagnosis are the same clinical characteristics and do not have more high-risk characteristics.

**Key words:** Leukemia, lymphocytic, acute; antigen, differentiation; flow cytometry

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)是儿童最常见的恶性肿瘤,随着新的细胞生物学技术的出现和联合化疗的应用,儿童 ALL 达 80% 以上<sup>[1]</sup>,但仍有部分患儿对化疗不敏感,易复发。肿瘤细胞的免疫学特征对于 ALL 的诊断、微小残留病灶的检测、预后的判断和个性化治疗方案的制定都至关重要<sup>[2]</sup>。为探讨 CD20 抗原在儿童初诊 B 系急性淋巴细胞白血病(B-lineage ALL, B-ALL)中的表达及临床意义,本组用流式细胞仪检测 120 例患儿 CD20 抗原表达并结合预后和其他临床特征进行综合分析。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2006 年 7 月至 2010 年 8 月广西医科大学第一附属医院儿科血液病房初诊未治疗的儿童 B-ALL 120 例。男 78 例,女 42 例。年龄 1~14 岁,中位年龄 5 岁。所有患儿均进行了骨髓细胞形态学、白血病免疫分型检查,70 例患儿进行了染色体核型分析。CD20 阳性组 30 例,CD20 阴性组 90 例。未完成 1 个化疗疗程 27 例,可进行诱导缓解治疗疗效评估 93 例。

**1.2 白血病细胞免疫表型检测** 采用直接免疫荧光流式细胞术检测,通过 CD45/SSC 设门识别幼稚细胞群,再分析计算该幼稚细胞群中各白血病相关抗原的阳性率。所用单抗针对 4 个系列抗原,(1) B 系: CD10、CD19、CD20、cyCD79a;(2) T 系: CD5、

CD7、cyCD3;(3) 髓系: CD13、CD33、CD64、cMPO;(4) 非系列特异性: CD34、HLA-DR。部分病例存在两系以上抗原表达者在以上抗原检测基础上加做 CD45、CD14、CD117。cMPO、cyCD79a、cyCD3 表达超过 10% 幼稚细胞群为阳性,其余的白血病相关抗原表达不低于 20% 幼稚细胞群为阳性。

**1.3 形态学、细胞遗传学和分子生物学检测** 骨髓细胞形态学分型按法国、美国 and 英国协作组(France America Britain, FAB)标准;染色体分析采用 G 显带技术,并根据国际人类染色体命名法进行核型分析和描述。荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)法和(或)RT-PCR 法检测 bcr/abl 融合基因。

**1.4 诊断标准和治疗方案** ALL 诊断标准、中枢神经系统白血病的诊断标准和临床危险度的分型参照文献[3]。诱导缓解治疗和髓外白血病的预防治疗依据儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第 3 次修订草案)。

**1.5 统计学处理** 应用 SPSS16.0 软件进行统计学分析。不满足正态分布的连续性变量的比较和等级资料的比较采用秩和检验。两组同率或构成比的比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

120 例患儿中 30 例表达 CD20 抗原,表达阳性率为 25%。

△ 通讯作者, Tel: 13517667021; E-mail: jianmingluo@yeah.net。

在年龄段的分布上,CD20 阳性组和 CD20 阴性组间的差异无统计学意义( $\chi^2=0.017, P=0.897$ )。在性别分布上,两组之间的差异亦无统计学意义( $\chi^2=2.393, P=0.122$ )。外周血中 CD20 抗原表达阳性的白细胞数( $P=0.821$ )、血红蛋白水平( $P=0.103$ )、血小板数( $P=0.704$ )、FAB 分型( $\chi^2=0.431, P=0.511$ )、染色体改变( $\chi^2=1.288, P=0.732$ )、初诊时中枢神经系统白血病发生( $\chi^2=0.179, P=0.673$ )、诱导化疗缓解第 19 天骨髓( $\chi^2=2.24, P=0.134$ )和临床危险度分型无关。见表 1。

表 1 120 例 ALL 初诊患儿的临床特征与 CD20 抗原表达关系

	CD20 阴性 (n=90)	CD20 阳性 (n=30)	P
年龄(岁)			0.897
≥1~10	71	24	
>10	19	6	
性别			0.122
男	55	23	
女	35	7	
WBC( $\times 10^9$ )			0.821
<50	68	23	
≥50~100	12	5	
≥100	10	2	
Hb(g/L)			0.103
<60	16	8	
≥60~90	45	18	
≥90	28	5	
PLT( $\times 10^9$ )			0.704
≥100	33	10	
≥50~100	18	10	
≥20~50	28	5	
<20	11	5	
骨髓幼稚细胞(中位数)	85.00	86.25	0.658
FAB			0.511
L1、L3	9	5	
L2	81	25	
初诊时中枢神经系统白血病			0.673
有	5	3	
无	85	27	
染色体核型	(n=51)	(n=19)	0.732
正常	24	10	
超二倍体	12	5	
t(9,22)或 t(4,11)	3	0	
其他	12	4	
诱导化疗缓解第 19 天骨髓	(n=70)	(n=23)	0.134
M1	61	17	
M2、M3	9	6	

续表 1 120 例 ALL 初诊患儿的临床特征与 CD20 抗原表达关系

	CD20 阴性 (n=90)	CD20 阳性 (n=30)	P
危险度	n=70	n=23	0.068
低危	15	6	
中危	30	10	
高危	25	7	

### 3 讨论

ALL 是淋巴前体细胞异常而引起的恶性疾病,起源于不同的恶性克隆的亚型其生物学、临床特征和预后也相差甚远。不同细胞系统各有其特异性免疫表型,应用相关指标在治疗前对患儿进行整体评估,从而制定个性化治疗方案,已成为 ALL 治疗的方向之一。CD20 在正常和恶变的 B 淋巴细胞中均有表达,作为 B 淋巴细胞表面膜蛋白,与 B 淋巴细胞  $Ca^{2+}$  的跨膜传导密切相关,对 B 淋巴细胞的增殖和分化具有调节作用。由于 CD20 仅在前 B 淋巴细胞、未成熟 B 淋巴细胞、成熟 B 淋巴细胞、激活 B 淋巴细胞中表达,而在浆细胞、淋巴多能干细胞以及其他组织均无 CD20 的表达,在人体血清中亦无游离 CD20 的存在<sup>[4]</sup>。因此 CD20 与 ALL 的诊断密切相关,并且可作为恶变的 B 淋巴细胞性疾的一个很好的治疗靶点。

在国外研究表明,CD20 在儿童 B-ALL 中预后价值的研究主要集中在儿童 B 前体 ALL。Borowitz 等<sup>[5]</sup> 研究结果表明,CD20<sup>+</sup> 可作为一个独立判断预后的因素,CD20<sup>+</sup> 的患儿治疗效果差,无病生存率(event free survival, EFS)低。但 Jeha 等<sup>[6]</sup> 研究结果却表明 CD20<sup>+</sup> 的患儿主要分布在 1~10 岁的年龄段,初诊时肝、脾较 CD20<sup>-</sup> 的患儿小,无 MLL-AF4 基因重排,且 CD20<sup>+</sup> 的患儿 5 年 EFS 更高,复发率更低。研究者认为患儿种族的差异和治疗强度的不同是两项研究结果不同的主要原因。在本研究中未发现 CD20 抗原的表达与性别、年龄、外周血白细胞、血红蛋白、血小板、骨髓幼稚细胞数、染色体的核型分析和 FAB 分型有关,即 CD20<sup>+</sup> 与 CD20<sup>-</sup> 的 B-ALL 临床表现基本相同,不具有更多高危临床表现。对初步治疗的疗效判断,根据诱导化疗缓解第 19 天骨髓检查结果,两组患儿差别无统计学意义。国内 ALL 的化疗方案在治疗的系统性和整体治疗强度上与国外的方案有较大的差异,本研究未进行 B-ALL 亚型的分析,加上种族、遗传背景的差异都可能是造成研究结果不同的原因。本研究中儿童高危 ALL 的化疗方案较 Jeha 等<sup>[6]</sup> 研究组的化疗方案中左旋门冬酰胺酶总用量要大(分别为 100 000 IU/m<sup>2</sup> 及 90 000 IU/m<sup>2</sup>),在成人的 B-ALL 研究<sup>[7]</sup> 中发现增加左旋门冬酰胺酶的用量可以降低 CD20 分子对预后的负性影响。但是仅增加联合化疗的强度,治疗费用的增高和药物的不良反应作用也会更加突出,这对于提高 ALL 的疗效意义有限。根据患儿体内恶性细胞的特征选择合适的靶向药物治疗则可以解决这一难题。利妥昔单抗克隆抗体(rituximab)是一种人鼠嵌合型的单克隆抗体,与细胞膜表面 CD20 抗原特异性结合,通过补体依赖性细胞毒性反应和抗体依赖性细胞的细胞毒性反应引发细胞溶解,主要用于成人淋巴瘤<sup>[8]</sup> 和慢性淋巴细胞白血病<sup>[9-10]</sup> 的联合化疗,以及 CD20<sup>+</sup> 的 B-ALL 患者异基因造血干细胞移植的预处理<sup>[11]</sup>。利妥昔单抗克隆抗体联合化

疗在儿童 CD20<sup>+</sup> 阳性的 B-ALL<sup>[12]</sup> 和淋巴瘤<sup>[13-14]</sup> 中的应用也取得了很好的疗效。值得一提的是,在儿童 B 前体 ALL 中发现诱导缓解治疗后 CD20 阳性率增加,特别是在高危的、晚期复发的和诱导缓解后仍可检测出微小残留病灶存在的患儿中 CD20 抗原表达上调更为明显<sup>[15]</sup>。

总之,目前关于 CD20 在儿童 B-ALL 中判断预后价值的研究不多,且研究结论存在异议,是否把利妥昔单抗克隆抗体纳入当前的儿童 ALL 的联合化疗,仍需进一步扩大样本量进行相关临床研究。

#### 参考文献:

- [1] 郑胡镛,朱琳,邹丽敏,等. 急性淋巴细胞白血病(上)[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2010,15(1):35-39.
- [2] 钟国军. 血液形态学与免疫学在血液病诊断中的互补性[J]. 检验医学与临床,2009,6(4):291-292.
- [3] 中华医学会儿科学分会血液学组、中华儿科杂志编辑委员会. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第3次修订草案)[J]. 中华儿科杂志,2006,44(5):392-395.
- [4] Czuczman MS, Olejniczak S, Gowda A, et al. Acquisition of rituximab resistance in lymphoma cell lines is associated with both global CD20 gene and protein down-regulation regulated at the pretranscriptional and posttranscriptional levels[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(5):1561-1570.
- [5] Borowitz MJ, Shuster J, Carroll AJ, et al. Prognostic significance of fluorescence intensity of surface marker expression in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia. A Pediatric Oncology Group Study[J]. Blood, 1997, 89(11):3960-3966.
- [6] Jeha S, Behm F, Pei D, et al. Prognostic significance of CD20 expression in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 2006, 108(10):3302-3304.
- [7] Thomas DA, O'Brien S, Jorgensen JL, et al. Prognostic significance of CD20 expression in adults with de novo precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 2009, 113(25):6330-6337.
- [8] Tobinai K, Ogura M, Itoh K, et al. Randomized phase II

study of concurrent and sequential combinations of rituximab plus CHOP(cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone) chemotherapy in untreated indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma: 7-year follow-up results [J]. Cancer Sci, 2010, 101(12):2579-2585.

- [9] D' Auria, F, Guariglia R, Villani O, et al. Modulation of CD20 antigen expression after rituximab treatment: A retrospective study in patients with chronic lymphocytic leukemia[J]. Clin Ther, 2010, 32(11):1911-1916.
- [10] Keating GM. Rituximab: a review of its use in chronic lymphocytic leukaemia, low-grade or follicular lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma [J]. Drugs, 2010, 70(11):1445-1476.
- [11] Kebriaei P, Saliba RM, Ma C, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation after rituximab-containing myeloablative preparative regimen for acute lymphoblastic leukemia[J]. Bone Marrow Transplant, 2006, 38(3):203-209.
- [12] Claviez A, Eckert C, Seeger K, et al. Rituximab plus chemotherapy in children with relapsed or refractory CD20-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. Haematologica, 2006, 91(2):272-273.
- [13] Attias D, Weitzman S. The efficacy of rituximab in high-grade pediatric B-cell lymphoma/leukemia: a review of available evidence[J]. Curr Opin Pediatr, 2008, 20(1):17-22.
- [14] Giulino LB, Bussel JB, Neufeld EJ. Treatment with rituximab in benign and malignant hematologic disorders in children[J]. J Pediatr, 2007, 150(4):338-344.
- [15] Dworzak MN, Schumich A, Printz D, et al. CD20 up-regulation in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia during induction treatment; setting the stage for anti-CD20 directed immunotherapy [J]. Blood, 2008, 112(10):3982-3988.

(收稿日期:2011-01-09 修回日期:2011-03-22)

(上接第 2326 页)

- pulmonary angiography [J]. Radiology, 2001, 219(5):498-502.
- [12] Wetzel SG, Kirsch E, Stock KW, et al. Cerebral veins: comparative study of CT venography with intraarterial digital subtraction angiography [J]. Am J Neuroradiol, 1999, 20(2):249-255.
- [13] Linn J, Ertl-Wagner B, Seelos KC, et al. Diagnostic value of multidetector-row CT angiography in the evaluation of thrombosis of the cerebral venous sinuses [J]. Am J Neuroradiol, 2007, 28(5):946-952.

- [14] Lumsden AB, MacDonald MJ, Kikeri D, et al. Prophylactic balloon angioplasty fails to prolong the patency of PTFE arteriovenous grafts: results of a prospective randomized study [J]. J Vasc Surg, 1997, 24(9):382-392.
- [15] Middleton WD, Picus DD, Marx MV, et al. Color Doppler sonography of hemodialysis vascular access: comparison with angiography [J]. Am J Radiol, 1989, 152(3):633-639.

(收稿日期:2010-12-10 修回日期:2011-04-10)