



关于免疫标记的应用与评价

免疫标记的应用

■ 干细胞的确证CD34/CD38/CD90

HPC/PBSC定量分析

- 1.移植治疗的日益普及
- 2.移植门槛的降低
- 3.干细胞采集的确证
- 4.有效干细胞的确证要求(CD34、CD90、CD38等)

CD34+的分析:

未动员前外周血中CD34+细胞1~4%，
CD34+/CD38-细胞1/2500， CD34+/CD38-
/CD90+细胞1/10000。

各家单抗不同、操作不一，结果难以比较。

内毒素、单纯化疗（骨髓抑制）、细胞因子、化疗联合细胞因子 等的动员。

- 淋巴细胞和NK细胞确定和定量分析
- 淋巴细胞分化增殖异常的信号
- 淋巴细胞与髓系细胞的鉴别
- 混合性白血病和未确定性(型)白血病的诊断
- 造血干细胞病变的信号
- 疾病的预后判断

T细胞标记

T细胞及其亚群 T祖细胞（pro-T）的表型为CD34⁺、TdT⁺、CD10⁺、CD7⁺、未成熟T细胞标志CD3、CD4和CD8。在T细胞发育过程中，CD7是最早出现的T细胞标志，且贯穿表达在整个T细胞分化发育过程中。胸腺细胞要分化发育为有功能的成熟T细胞，细胞表面标志需经历一定的变化过程。

从 CD7⁺、CD2⁻、CD3⁻、CD4⁻、CD8⁻、TCR⁻
→CD7⁺、CD2⁺、CD3⁺、CD4⁻、CD8⁻、TCR⁻
(即CD4、CD8双阴性) →CD7⁺、CD1⁺、
CD2⁺、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、TCR⁺(即CD4、
CD8双阳性), 最后发育成CD7⁺、CD2⁺、
CD3⁺、CD4⁺、CD8⁻、TCR⁺和CD7⁺、CD2⁺、
CD3⁺、CD4⁻、CD8⁺、TCR⁺单阳性的两群成
熟胸腺细胞, 然后进入外周淋巴器官和
血液, 执行免疫功能。

但在正常外周血中通常存在CD3⁺、CD4⁺、CD8⁻ (T_H/T_I)，CD3⁺、CD4⁻、CD8⁺ (T_S/T_C)，CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺和CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻四种表型不同的T细胞，它们分别占T细胞总数的60%~70%，20%~30%，1%~3%，1%~10%。前三种表型细胞的TCR主要为TCR α β，而CD4⁻ CD8⁻ T细胞主要表达TCR γ δ，他们都执行细胞免疫功能。

- CD2是绵羊红细胞受体和淋巴细胞功能相关抗原-2（LFA-2），表达于人95%T细胞、50%~70%胸腺细胞和大颗粒淋巴细胞（LGL / NK）的表面。CD3是T细胞表面抗原，表达于成熟胸腺细胞、静息和激活的外周血T细胞，是鉴定T细胞的重要标志，其胞浆和膜CD3是早期和普通型T细胞白血病的主要分型标记。

- CD5、CD7是T细胞白血病较特异的标记，也是髓系白血病时最常见的伴随标记。CD15、CD45则是白细胞的共同标记抗体，在淋巴瘤的诊断中有一定的价值。而CD25和CD28主要分布于活化T淋巴细胞表面，为活化T淋巴细胞标志。胸腺细胞、静止T细胞、静止B细胞以及NK细胞表面无表达。主要用于淋巴细胞疾病的免疫分型。外周血淋巴细胞CD25+、CD28+占54%~86%

- 末端脱氧核苷酸转移酶（TdT）和II类人类白细胞抗原（HLA-DR）的阳性表达对早期T细胞白血病的诊断有重要价值。TCR α 、 β 、 γ 的基因重排检测有利于恶性T细胞疾病细胞异常克隆存在的确定。
- 另外，80%~90%和95%以上的NK细胞表达CD16和CD56。用CD3-CD16+CD56+可定义NK细胞。

B细胞标记

B细胞 B细胞的分化主要分为B祖细胞、前B细胞、未成熟B细胞、成熟B细胞、活化B细胞和浆细胞6个阶段。

(1) B祖细胞 (pro-B) : 此期最早识别的B细胞特异性抗原是CD19, 同时表达CD34、细胞核TdT、HLA-DR、CD40、CyCD22。

(2) 前B细胞 (pre-B) : CD34和TdT消失, 出现CyCD79、CD10、CD20、CD9、CDw78、CD74, $c\mu^+$ (胞浆IgM重链)。

(3) 未成熟（早期）B细胞（immature B cell）：CD9、CD10消失，出现 SIgM、CD22。CD20、CD24、CD40、CD72、CD74、CDw78、CD79表达增加。其他新的B抗原CD37、CD2、CDw75、CDw76相继出现。

(4) 成熟B细胞（mature B cell）：SIgM和IgD同时表达，并出现CR、FcR和丝裂原受体，上述B细胞抗原继续存在。

(5) 活化B细胞 (activated B cell)：成熟B细胞被抗原或丝裂原刺激后，成为活化B细胞，继之增生和分化。在此过程伴随表达B细胞激活抗原CD23、CD77、CD80、CD86和其他激活相关抗原如CD25、CD26、CD30、CD69、CD70、CD71、CD38等。膜结合型Ig逐渐减少，分泌型Ig逐渐增加，并可发现Ig基因重链类型转换。

(6) 浆细胞 (plasma cell)：活化B细胞进一步分化成为产生抗体的浆细胞，这时获得PC-1、PCA-1和CD138浆细胞特异抗原，CD85表达增加，CD38抗原再出现。而SIg和上述B抗原消失。CD79仍可存在于胞质中。

B细胞上的CD抗原分为：①B细胞限制性（特异性）抗原：CD19、CD20、CD21、CD22、CD77 和CD79，它们的表达只限于B细胞上，在鉴别细胞系上是十分重要的标志。②B细胞相关性抗原：CD5、CD9、CD10、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CDw78、CD81、CD82、CD83、CD84、CD85、CD86、CD124和CD139。而B细胞表面的受体SIg，是B细胞特异性识别抗原的受体，也是B细胞重要的特征标志。

- CD19、CD20、CD21、CD22和CD24都是B细胞白血病和淋巴瘤最常用的标记抗体。对中国人而言，CD19是特异性和敏感性最高的。CD19是一种早期的、谱系特异的泛B细胞表面抗原，从最早期B细胞前体细胞阶段即表达，持续存在直至B细胞终末阶段，分化为浆细胞时丢失。CD19存在于90%外周血、脾脏、淋巴结或扁桃体中的B细胞和近5%的骨髓细胞。在造血系统CD19只表达于正常和恶性B细胞。外周血T细胞、单核细胞、粒细胞和血小板表面不表达CD19。CD24对B细胞白血病细胞表达的敏感性接近CD19，且有较高的特异性。CD20和CD22与CD19和CD24有相同的特异性，但敏感性不够，CD20的表达往往伴随性CD19的阳性而出现。

- CD10、TdT都是早期B细胞的标记，其中CD10的表达可出现在90%的B系统ALL的原始细胞上。一般来说，这类白血病患者有超过一半，甚至三分之二以上，在免疫表型中出现淋巴细胞分化的明显不协调，如，CD22阳性与CD10表达同时出现在ALL白血病细胞上。而免疫球蛋白重链（IgH）的基因重排更是B细胞异常克隆性增生的标记。异常增生克隆性T细胞也有15%~20%呈现IgH的基因重排。

髓系细胞标记

- 这类抗体包括CD11b、CD13、CD14、CD15、CD33、CD36、CD45、CD68、CD41、CD42、CD61、CD63和CD117等。这些免疫标记种类繁多，缺乏特异性和敏感性（与淋巴细胞标记抗体相比）。很多情形下，上述标记也出现在正常的髓细胞表达上。

3. 髓系标记 从髓系祖细胞→终末分化的成熟细胞（粒细胞、单核细胞、血小板和红细胞）间各阶段细胞特征性标志还不十分清楚。

根据粒细胞和单核细胞上的髓系抗原表达试将其大致分为七种类型：

(1) 粒细胞和单核细胞上都有较强表达的抗原有：CD13、CDw17、CD32、CD87、CD88、CD89、CDw92、CD93、CD156、CD157、CD163。其中CD13在原粒细胞质中表达比膜上早，在AML诊断上十分重要。

(2) 以粒细胞为主，但也存在于单核细胞的抗原有：CD15和CD65。CD65是特异性髓系抗原，强表达在成熟粒细胞，弱表达在单核细胞上。

(3) 基本表达在粒细胞上的抗原有：CD16b和CD66。

(4) 以单核细胞为主，但也表达在粒细胞的抗原：CD14和CD33。CD14主要强表达在单核-巨噬细胞，弱表达在粒细胞上。CD33抗原分布只限于造血系统内，表达在髓系祖细胞CFU-GEMM、CFU-GM、CFU-G、CFU-M以及相应的白血病细胞上。约80%AML原粒细胞表达CD33抗原，而终末分化的粒细胞CD33抗原弱表达。CyCD33先于mCD33表达，故在AML-M0诊断上CyCD33加CyCD13十分有用。

(5) 基本只表达在单核细胞上的抗原：CD16、CD64、CD68、CD91、CDw136和CD65。CD68是目前发现可靠的检测造血系统内单核-巨噬细胞系统的特异标志，用CD68单抗可将AML-M1~M3与AML-M4及AML-M5区别开来。

(6) 造血干、祖细胞抗原：CD34和CD90。CD34和CD90虽列在髓系抗原中，但都属于造血干、祖细胞抗原。CD34除表达在早期造血干、祖细胞外，还表达在约40%的AML和60%的ALL上，这些CD34⁺的白血病细胞可能来自具有多系性分化能力的分化不良的前身细胞。

(7) 其他髓系相关抗原：这些抗原主要存在于其他系细胞上，但在某些髓系细胞上也有表达，如：CD4、CD7、CD9、CD10、CD11b、CD11c、CD31、CD36、CD38等。

巨核细胞系 在巨核细胞系发育过程中依次出现 PP0、CD41a (II b/IIIa) 、 CD41b (II b) 和 CD61 (IIIa) 、 CD42 (I b) 。还可表达CD36 (强) 。血小板具有丰富的胞内颗粒，正常情况下血小板处于静止状态。目前研制出的抗血小板单抗如CD9、CDw17、CD31、CD36、CD41a、CD41b、CD42a、 CD42b、CD61，主要都针对静止的血小板。当血小板被激活时，血小板中颗粒内容物释放，整合到活化的血小板质膜内，成为一些激活抗原，如CD62 (P-选择素)、CD63及CD107a和CD107b。

红细胞系 血小板GPIIb (CD36强)、血型糖蛋白A、H。

4.干祖细胞系 CD34抗原选择性地表达在成熟的造血干细胞、祖细胞上，是一个阶段特异而非系特异的抗原。多能造血干细胞（CFU-GEMM）和定向造血干细胞（CFU-GM, CFU-Meg、BFU-E、BFU-Eo、CFU-Bas）、T祖细胞（pro-T）、B祖细胞（pro-B）都在CD34⁺群内。CD34⁺抗原在早期造血祖细胞内呈高水平表达，随着细胞成熟其表达呈进化性下降，继而消失。目前CD34已作为能识别人类最早造血干、祖细胞的重要标志。现知更早期的干细胞为CD34⁻。

CD34⁺、CD38⁻细胞在形态上缺乏分化特点，是更幼稚、能维持长期造血的启动细胞（LTC-IC）。LTC-IC细胞以CD34⁺、CD45RO⁺、HLA-DR⁻为主，多处于G₀和G₁期。CD34⁺、CD38⁺细胞则大多处于造血祖细胞阶段，可形成各系造血集落，但不能维持长期造血。故CD38抗原是造血干细胞向多系定向分化的标志之一，并随一定的分化过程表达上调。鉴于CD34抗原可以识别出造血干、祖细胞，结合其它相关分化抗原的表达可以作为造血细胞不同发育阶段的标志。如CD34⁺、CD33⁺细胞群为多能干细胞向髓系定向的标志。CD34⁺、CD19⁺多为多能干细胞向B系定向的祖细胞。而CD34⁺、TdT⁺、CD10⁺、CD7⁺则被认为是向T系定向的祖细胞。

最近发现CD90（Thy-1）是比CD34更早的干、祖细胞标志，故现人们多把CD34⁻、CD90⁺，Lin⁻细胞视为造血干细胞的重要标志。

- CD15则在分化较好的AML中表达；血型糖蛋白A表达在除红系祖细胞外的红系细胞上，占FAB M6患者的40%左右，CD71可弥补血型糖蛋白A的不足，在爆式红系细胞集落形成单位（BFU-E）和红系细胞集落形成单位（CFU-E）阶段的祖细胞亦可表达阳性；CD41、CD42和CD61是常用的原始巨核细胞标记，但CD61往往随CD41、CD42的阳性而表达。另外，CD56作为神经细胞粘附分子（NCAM）通常在NK细胞和T细胞上表达。在13%~41%的AML中，CD15表达阳性；在分化的单核细胞和t（8;21）、+8等核型改变时，也呈阳性表达。

- MPO、HLA-DR、TdT和溶菌酶抗体在髓系细胞上也应用极广。其中，除原始单核细胞白血病、巨核细胞白血病和红系白血病外，其他髓系白血病细胞都有可能阳性；HLA-DR除早幼粒细胞白血病外，其他髓系白血病均可呈阳性；TdT仅表达在极微分化的早期髓系细胞上；溶菌酶可部分弥补CD14、CD36对原始单核细胞的不敏感。

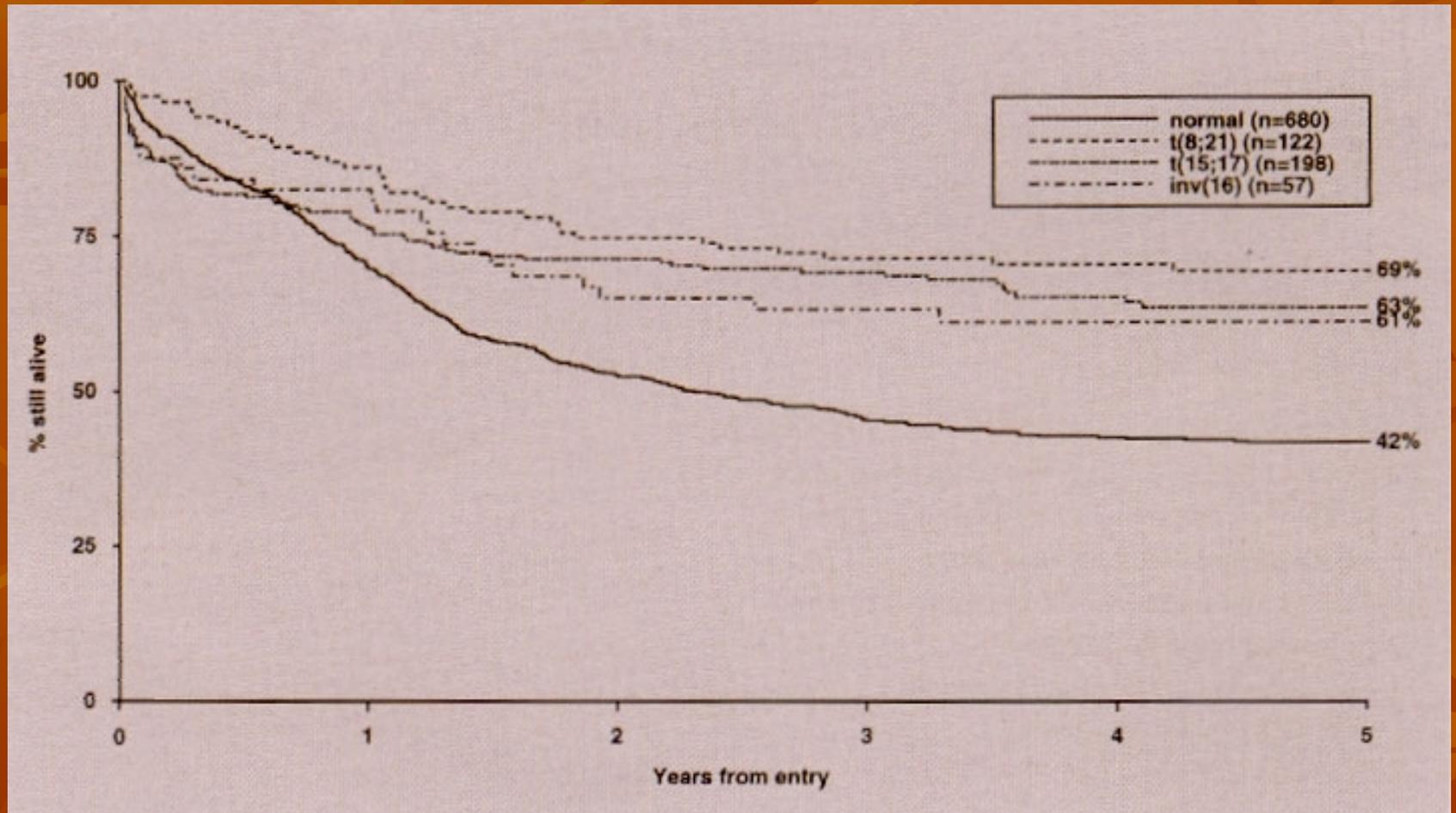
特殊检验的应用

- 慢淋问题(活化的淋巴细胞标记)
- 恶组问题(附带的T/B细胞标记)
- 慢性白血病的标记要慎重

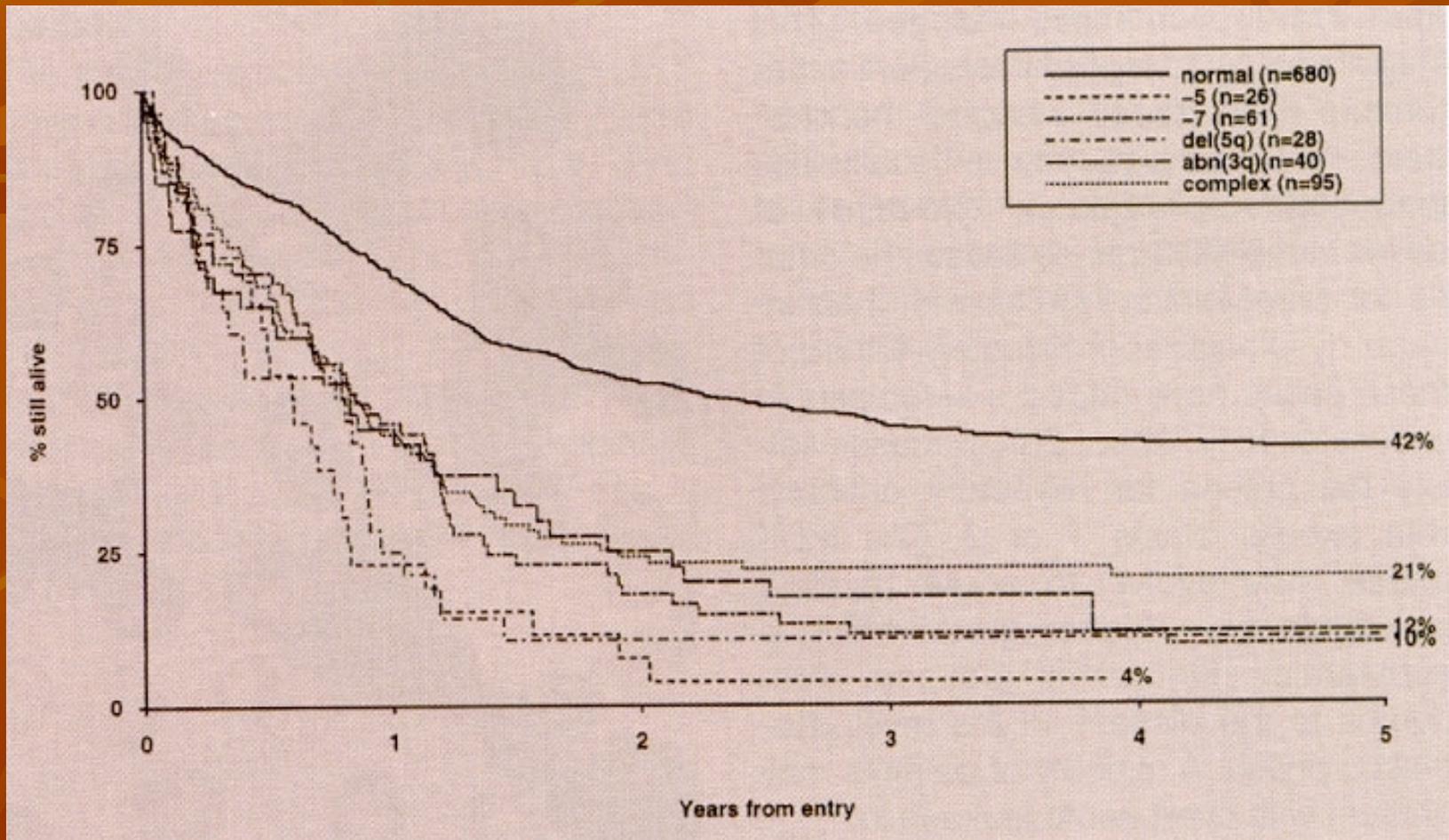
Acute myeloid leukaemia

- Acute myeloid leukaemia with recurrent genetic abnormalities
- Acute myeloid leukaemia with multilineage dysplasia
- Acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndrome, therapy-related
- Acute myeloid leukaemia not otherwise categorized

Acute myeloid leukaemia



Acute myeloid leukaemia



Acute myeloid leukaemia

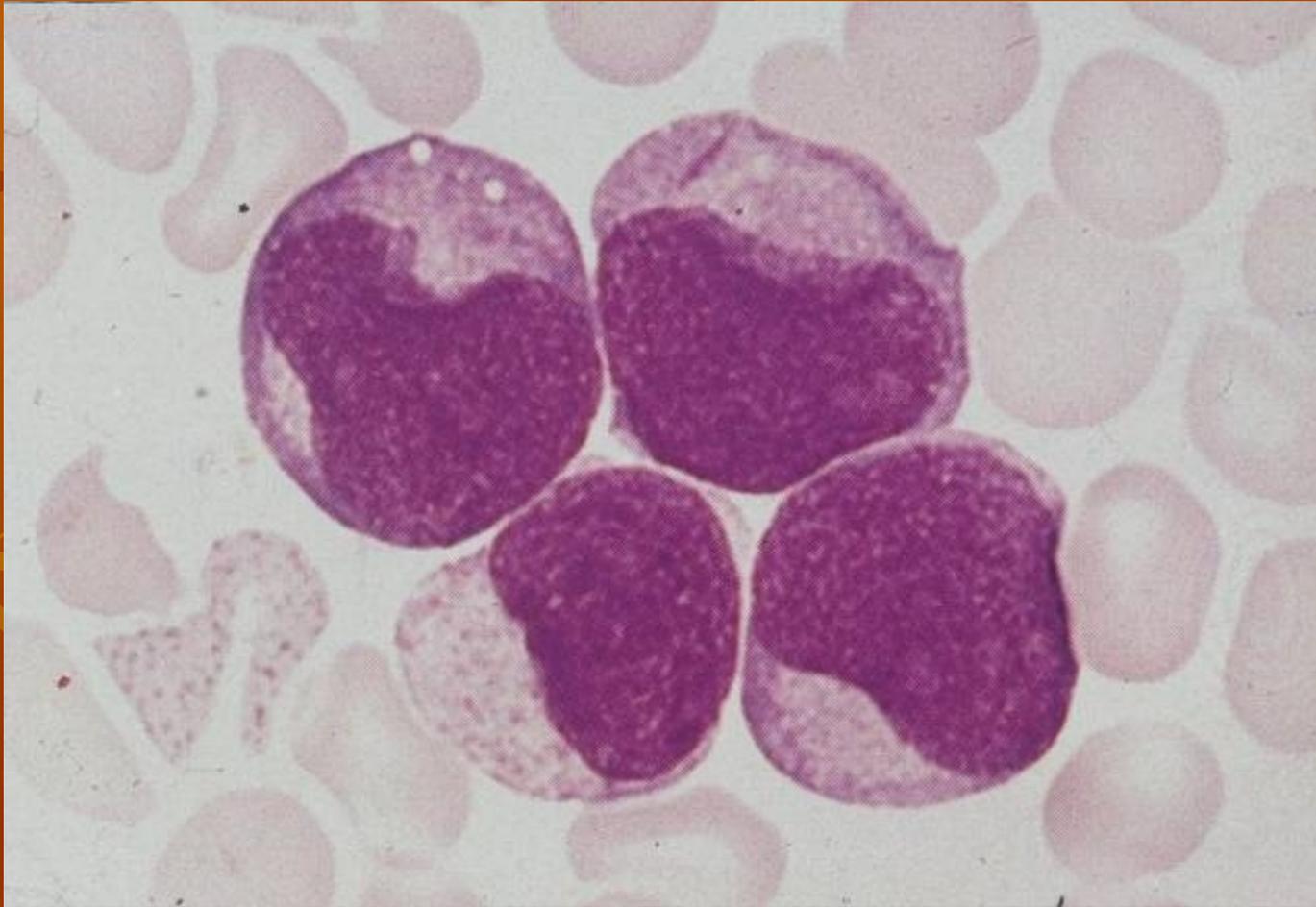
- The blast % is lowered from 30% (FAB) to 20% (WHO)
- Median age of onset = 60 yrs
- Incidence 4 –10 / 100,000
- Etiology

Myeloblasts versus lymphoblasts

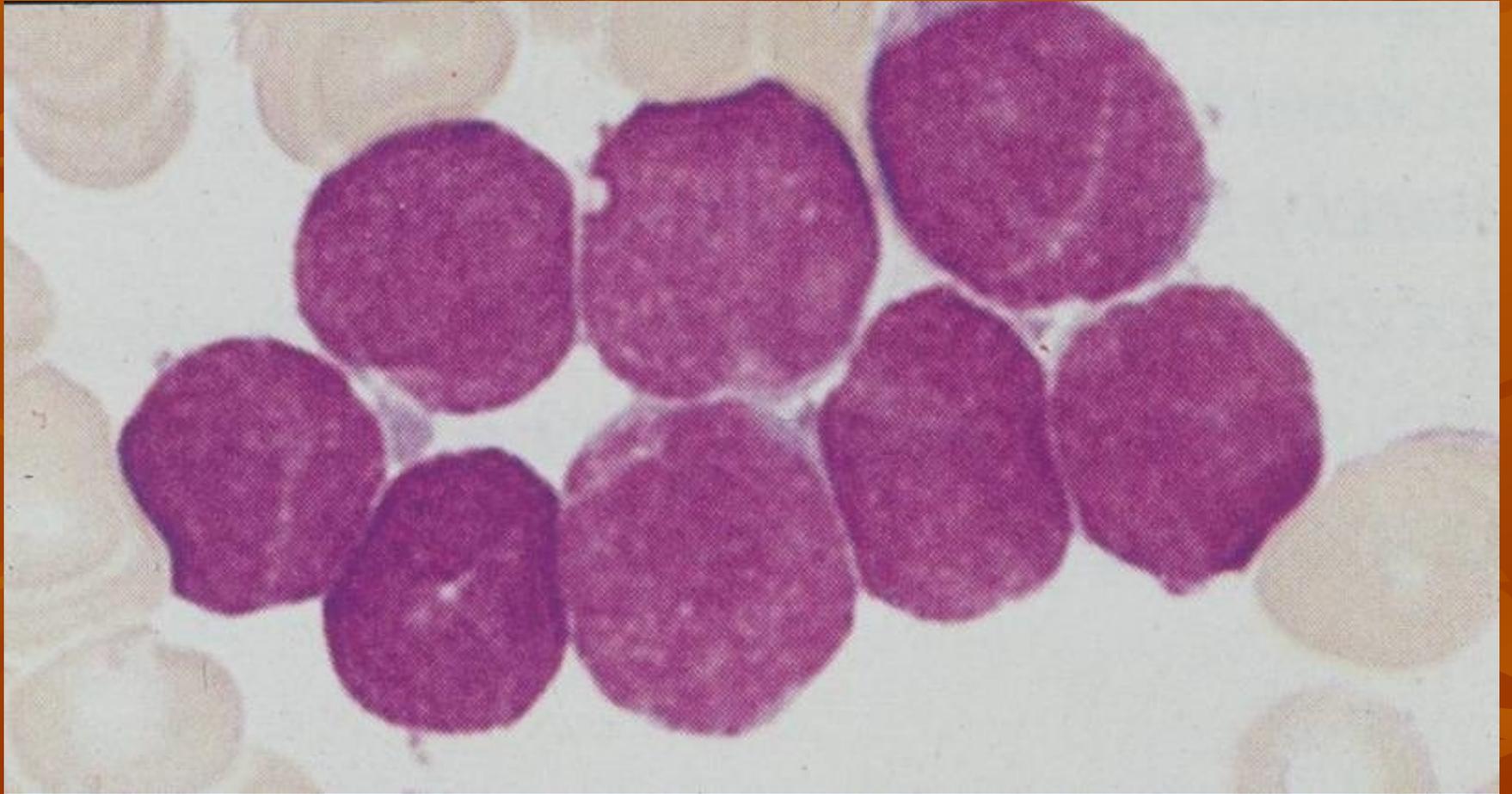
CYTOLOGIC FEATURES OF BLASTS IN ACUTE MYELOID AND ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIAS

	Acute Myeloid Leukemia	Acute Lymphoblastic Leukemia
Blast size	Medium to large, usually uniform	Variable, small to medium size
Cytoplasm	Fine granules may be present	Usually scant, coarse granules sometimes present
Auer rods	Present in 60 to 70 percent of cases	Not present
Nuclear chromatin	Usually finely dispersed	Fine to coarse
Nucleoli	2 to 4, often prominent	1 to 3, often indistinct
Other cell types	Often dysplastic changes in maturing myeloid cells	Myeloid cells not dysplastic

Acute myeloid leukaemia



Acute lymphoblastic leukaemia



Acute myeloid leukaemia: cytochemistry

Myeloperoxidase

Sudan Black B

Non-specific esterase

α -naphthyl butyrate

α -naphthyl acetate

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/358001126035006065>