

CD34和CD117在鉴别低增生性骨髓增生异常综合征RCMD亚型和再生障碍性贫血中的最佳临界值

王蔚 朱萍 顾静文 王小钦

Optimal cut-off points of CD34 and CD117 in the differential diagnosis between hypocellular myelodysplastic syndrome and aplastic anemia Wang Wei, Zhu Ping, Gu Jingwen, Wang Xiaojin

Corresponding author: Gu Jingwen, Department of Hematology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China. Email: jingwengu@yahoo.com

大多数骨髓增生异常综合征难治性血细胞减少伴有多系发育异常(MDS-RCMD)患者在诊断时骨髓增生正常或活跃,但仍有10%~15%的患者表现为骨髓低增生性^[1-4]。这些低增生性RCMD(hypo-RCMD)和再生障碍性贫血(AA)患者在临床表现、实验室检查上往往相似,尤其当染色体与基因检查未发现异常时,常常很难鉴别。近年来,有不少研究证实通过流式细胞术(FCM)检测CD34和CD117有助于鉴别hypo-RCMD和AA^[5-8],但是对于何者更佳以及何为最佳临界值目前仍未见明确的报道。本研究中,我们拟探讨FCM检测CD34和CD117在鉴别hypo-RCMD和AA中的作用及其鉴别诊断的最佳临界值,为临床诊断提供依据。

病例与方法

1. 病例资料:以2003年6月1日至2014年12月30日我院明确诊断的42例hypo-RCMD患者为研究对象,男20例,女22例,中位年龄54(21~82)岁。具体诊断步骤参考我们的前期研究^[9],如果一次检查诊断不明确,换部位抽取骨髓进行再次检查。MDS的诊断和分型参照WHO(2008)标准,hypo-RCMD的诊断标准为骨髓活检病理学显示造血细胞减少、脂肪组织增加,60岁以下患者的造血细胞容积<30%,60岁以上患者的造血细胞容积<20%。42例hypo-RCMD患者骨髓中位原始细胞比例为0.023(0~0.040),其中14例(33.3%)伴染色体核型异常。以同期收治的73例AA患者为对照,男42例,女31例,中位年龄29(18~74)岁。AA诊断参照Camitta标准^[10-11],其中重型AA(SAA)44例。

2. 实验方法:CYTOMICS FC500流式细胞仪及相关单

克隆抗体购自美国Beckman Coulter公司。细胞表面抗体检测为四色荧光标记组合:IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-ECD/IgG1-PC5、HLA-DR/CD117/CD45/CD34、CD14/CD33/CD45/CD64、CD7/CD10/CD45/CD19、CD16/CD11c/CD45/CD13、CD4/CD8/CD45/CD3、CD16/CD56/CD45/CD2。细胞内抗体为五色荧光标记组合:cIgG1-FITC/cIgG1-PE/cIgG1-ECD/cIgG1-PC5c/IgG1-PC7、cTdT/cMPO/cCD3/cCD79a/CD45。具体实验步骤参考文献^[12]。对42例hypo-RCMD和73例AA患者的骨髓FCM数据进行盲法、回顾性分析。在CD45/侧向散色光(SCC)散点图上,取髓系原始幼稚细胞的位置和粒细胞的位置分别设门后对门内细胞不同抗原表达进行分析,采用CXP1.0分析软件进行结果判读。

3. 统计学处理:采用SPSS 17.0统计学软件进行统计分析。按照临床流行病学诊断试验评价方法,采用受试者工作曲线(ROC曲线)评价诊断试验的灵敏度、特异度、预测值、曲线下面积及似然比等指标,确定最佳临界点值。两ROC曲线下面积的比较采用卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. CD34的最佳临界值确定:在hypo-RCMD组中CD34⁺细胞比例中位数为0.69%(0~5.57%),AA组中CD34⁺细胞比例中位数为0.37%(0~1.40%)。因为我们需要鉴别诊断hypo-RCMD和AA,所以希望特异度较高,阳性似然比较大,因此选择CD34⁺细胞比例 $\geq 0.5\%$ 为最佳临界值,大于该值时鉴别诊断的特异度为98.63%,准确度为80.00%,阳性似然比为34.76(表1),鉴别诊断hypo-RCMD和AA的ROC曲线下面积为0.7345。当CD34 $\geq 1\%$ 时,特异度为100%,但是灵敏

表1 CD34鉴别hypo-RCMD和AA的诊断临界值

CD34 ⁺ 细胞比例(%)	灵敏度(%)	特异度(%)	准确度(%)	阳性似然比
≥ 0.1	52.38	75.34	66.96	2.12
≥ 0.2	52.38	84.93	73.04	3.48
≥ 0.3	52.38	91.78	77.39	6.37
≥ 0.4	52.38	94.52	79.13	9.60
≥ 0.5	47.62	98.63	80.00	34.76
≥ 0.55	45.24	98.63	79.13	33.02

注:hypo-RCMD:低增生性难治性血细胞减少伴多系发育异常;AA:再生障碍性贫血

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.018

基金项目:国家自然科学基金(81500099);上海市第四轮公共卫生三年行动计划(15GWZK0801)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院血液科

通信作者:顾静文,Email:jingwengu@yahoo.com

度只有 45.24%,而且无法得出阳性似然比,这样临床上无法应用阳性似然比计算验后概率,对临床工作的指导意义降低,所以选择 0.5%为最佳临界值。

2. CD117最佳临界值确定:在 hypo-RCMD 组中 CD117⁺细胞比例中位数为 1.12%(0~6.88%),AA 组中 CD117⁺细胞比例中位数为 0.70%(0~6.61%)。同理选择 CD117⁺细胞比例 ≥1.5%为最佳临界值,大于该值时鉴别诊断的特异度为 98.63%,准确度为 78.26%,阳性似然比为 31.28(表 2),鉴别诊断 hypo-RCMD 和 AA 的 ROC 曲线下面积为 0.734 2。

3. CD34 和 CD117 鉴别诊断 hypo-RCMD 和 AA 的 ROC 曲线的比较:单独应用 CD34 和 CD117 进行鉴别诊断,两者曲线下面积分别为 0.734 5 和 0.734 2,差异无统计学意义 ($\chi^2 < 0.01, P=0.992$),说明单独应用均有较好的鉴别诊断价值。

表 2 CD117⁺细胞比例鉴别 hypo-RCMD 和 AA 的诊断临界值

CD117 ⁺ 细胞比例(%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	阳性似然比
≥0.1	64.29	71.23	68.70	2.23
≥0.5	52.38	89.04	75.65	4.77
≥1.0	50.00	95.89	79.13	12.17
≥1.5	42.86	98.63	78.26	31.28
≥2.0	30.95	98.63	73.91	22.59

注:hypo-RCMD:低增生性难治性血细胞减少伴多系发育异常;AA:再生障碍性贫血

4. CD34⁺CD117⁺细胞最佳诊断临界值:在 hypo-RCMD 组中 CD34⁺CD117⁺细胞比例中位数为 0.47%(0~2.89%),AA 组中 CD34⁺CD117⁺细胞比例为 0.20%(0~0.69%)。同理选择 CD34⁺CD117⁺细胞比例 ≥0.3%为最佳临界值,大于该值时鉴别诊断的特异度为 98.63%,准确度为 79.13%,阳性似然比为 33.02(表 3),鉴别诊断 hypo-RCMD 和 AA 的 ROC 曲线下面积为 0.736 5。

5. 平行试验:如果以 CD34 ≥0.5%为诊断 hypo-RCMD 的界值或 CD117 ≥1.5%为诊断界值,进行诊断试验的平行试

表 3 CD34⁺CD117⁺细胞比例鉴别 hypo-RCMD 和 AA 的诊断临界值

CD34 ⁺ CD117 ⁺ 细胞比例(%)	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	阳性似然比
≥0.1	50.00	93.15	77.39	7.30
≥0.2	47.62	97.26	79.13	17.38
≥0.3	45.24	98.63	79.13	33.02
≥0.4	45.24	100.00	80.00	-
≥0.5	42.86	100.00	79.13	-

注:hypo-RCMD:低增生性难治性血细胞减少伴多系发育异常;AA:再生障碍性贫血

验,即一个阳性则认为诊断试验阳性,平行试验的灵敏度为 52.38%,特异度为 97.26%,准确度为 80.87%,阳性似然比为 19.12。与单独 CD34⁺和 CD117⁺细胞比例相比,灵敏度略有提高(提高 5%~10%),特异度变化不大。

讨 论

hypo-RCMD 和 AA 的鉴别诊断常常给临床带来困扰,形态学常常不能明确诊断^[13]。细胞遗传学被认为是最重要的诊断手段,但是对于没有细胞遗传学异常的血细胞减少患者,仍需要其他手段帮助诊断,FCM 就是一个重要的诊断方法^[14-15]。2008 年 WHO 血液系统疾病诊断和分型标准建议以多个流式细胞免疫表型异常作为 MDS 的诊断依据,其中 CD34 和 CD117 的表达增高的意义已经得到较广泛的认同。目前已经有研究证实 CD34 和 CD117 均有助于鉴别诊断 MDS^[16-17],Westers 等^[18]认为在低危 MDS 中有大约 80% 的患者可发现有 CD117 的表达异常,Ogata 等^[19]曾进行一项多中心前瞻性试验,在日本和意大利以 CD34 等多个参数的流式细胞术鉴别 MDS 和一些血细胞减少患者,多参数诊断的灵敏度分别达到 65%和 89%,特异度分别达到 98%和 90%,阳性似然比分别达到 28.1 和 8.5。因此我们认为用 FCM 检测 CD34 和 CD117 是一种简单、准确、快捷的检测方法。

我们对 42 例 hypo-RCMD 和 72 例 AA 患者的骨髓流式免疫表型进行回顾性分析,认为 CD34⁺细胞比例 ≥0.5%为鉴别诊断的最佳临界值,特异度和准确度都较高,分别为 98.63%和 80.00%;CD117⁺细胞比例 ≥1.5%为鉴别诊断的最佳临界值,特异度和准确度分别为 98.63%和 78.26%;CD34⁺CD117⁺细胞比例 ≥0.3%为鉴别诊断的最佳临界值,特异度和准确度分别为 98.63%和 79.13%。CD34⁺、CD117⁺或 CD34⁺CD117⁺细胞比例三个指标均有较好的鉴别诊断价值。说明可以分别用 CD34⁺、CD117⁺或 CD34⁺CD117⁺细胞比例判断和鉴别 hypo-RCMD 和 AA。因为 hypo-RCMD 和 AA 患者中 CD34⁺细胞比例很低,一些患者为 0,因此当 CD34⁺为 0 时,可以单独采用 CD117⁺细胞比例进行鉴别诊断,有相似的灵敏度和特异度,所以 CD117 可以替代 CD34 进行鉴别诊断。

但是单独采用 CD34 和 CD117 进行鉴别诊断时,灵敏度不高,不到 50%,所以为了提高诊断的灵敏度,我们采用联合 CD34 和 CD117 的平行试验做进一步的评价,即一个指标阳性即判断为阳性。从平行试验的结果可以看出,与单独应用 CD34 或 CD117 比较,平行试验可以在不降低特异度的基础上,提高灵敏度约 10%,可以进一步帮助我们鉴别诊断 hypo-RCMD 和 AA。

总之,CD34⁺细胞比例 ≥0.5%和 CD117⁺细胞比例 ≥1.5%分别为鉴别诊断的最佳临界值,两者联合应用,可以达到较好的灵敏度和特异度,帮助鉴别诊断 hypo-RCMD 和 AA。

参 考 文 献

[1] Calado RT. Immunologic aspects of hypoplasticmyelodysplastic syndrome [J]. Semin Oncol, 2011, 38 (5):667- 672. DOI:

- 10.1053/j.seminoncol.2011.04.006.
- [2] Maschek H, Kaloutsi V, Rodriguez-Kaiser M, et al. Hypoplastic myelodysplastic syndrome: incidence, morphology, cytogenetics, and prognosis[J]. *Ann Hematol*, 1993, 66(3):117-122.
- [3] Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach[J]. *Haematologica*, 2009, 94(2):264-268. DOI: 10.3324/haematol.13755.
- [4] Marisavljevic D, Cemerikic V, Rolovic Z, et al. Hypocellular myelodysplastic syndromes: clinical and biological significance [J]. *Med Oncol*, 2005, 22(2):169-175.
- [5] Shao Z, Zhang H, Chen G, et al. Expression and function of c-kit receptor in bone marrow mononuclear cells of patients with myelodysplastic syndromes[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2001, 114(5):481-485.
- [6] 曾慧, 欧阳建, 周荣富, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓单个核细胞 CD34、CD117 的表达及其临床意义[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2010, 19(10):616-617, 631. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2010.10.013.
- [7] 薛丽凤, 杨博, 周决, 等. 流式细胞术在难治性血细胞减少伴多系发育异常和再生障碍性贫血的鉴别诊断中的价值[J]. *中华内科杂志*, 2010, 49(6):508-511. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2010.06.015.
- [8] 许洪志, 李爱, 于媛, 等. 再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征患者骨髓 CD34+ 细胞及其 G-CSFR、GM-CSFR 的表达和意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(6):1308-1311.
- [9] Zhao X, Yang F, Li S, et al. CpG island methylator phenotype of myelodysplastic syndrome identified through genome-wide profiling of DNA methylation and gene expression [J]. *Br J Haematol*, 2014, 165(5):649-658. DOI: 10.1111/bjh.12811.
- [10] Camitta BM, Storb R, Thomas ED. Aplastic anemia (first of two parts): pathogenesis, diagnosis, treatment, and prognosis [J]. *N Engl J Med*, 1982, 306(11):645-652. DOI: 10.1056/NEJM198203183061105.
- [11] Camitta BM, Storb R, Thomas ED. Aplastic anemia (second of two parts): pathogenesis, diagnosis, treatment, and prognosis [J]. *N Engl J Med*, 1982, 306(12):712-718. DOI: 10.1056/NEJM198203253061204.
- [12] 中美联合上海市白血病协作组. 急性髓细胞白血病微分化型流式细胞术免疫分型分析[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2008, 17(6):430-432. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2008.06.010.
- [13] Cazzola M, Della Porta MG, Travaglino E, et al. Classification and prognostic evaluation of myelodysplastic syndromes [J]. *Semin Oncol*, 2011, 38(5):627-634. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2011.04.007.
- [14] Valent P, Horny HP, Bennett JM, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference[J]. *Leuk Res*, 2007, 31(6):727-736.
- [15] Wells DA, Benesch M, Loken MR, et al. Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2003, 102(1):394-403. DOI: 10.1182/blood-2002-09-2768.
- [16] Gao J, Swaminathan S, Pai N, et al. Flow cytometric detection of altered signaling in myelodysplastic syndrome and cytopenia [J]. *Leuk Res*, 2015, 39(12):1396-1404. DOI: 10.1016/j.leukres.2015.09.006.
- [17] Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, et al. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2006, 108(3):1037-1044. DOI: 10.1182/blood-2005-12-4916.
- [18] Westers TM, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group [J]. *Leukemia*, 2012, 26(7):1730-1741. DOI: 10.1038/leu.2012.30.
- [19] Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L, et al. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study [J]. *Haematologica*, 2009, 94(8):1066-1074. DOI: 10.3324/haematol.2009.008532.

(收稿日期:2016-06-08)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部