

ĐẶC ĐIỂM KIỂU HÌNH MIỄN DỊCH VÀ PHÂN LOẠI DƯỚI NHÓM TRONG LƠ-XÊ-MI CẤP DÒNG LYMPHO B

Trần Thị Vân Anh^{1*}, Trần Thị Phương Thanh¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho B bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy

Đối tượng và phương pháp: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp (LXMC) dòng lympho B bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy trên 144 bệnh nhân tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương từ tháng 12 năm 2009 đến tháng 8 năm 2011.

Kết quả: HLA-DR+ gặp ở 55,6% trong nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho (riêng dòng lympho B chiếm 67,3%) ; CD34+ gặp ở 61,1% trong nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho (riêng dòng lympho B chiếm 61,8%) ; HLA-DR+CD34+: Tỷ lệ đồng xuất hiện dấu ấn trong LXMC dòng lympho là 40,3%, trong đó tỷ lệ xuất hiện trong LXMC dòng lympho B (47,3%); Dấu ấn dòng lympho B: Các dấu ấn đặc trưng: cCD79a+ (86,4%), CD19+ (79,1%), CD20+ (59,1%), CD22+ (30,9%). Kiểu hình miễn dịch gặp nhiều nhất là CD10-CD19+CD20+CD22- chiếm 23,7%. Kiểu hình kháng nguyên không đồng bộ gặp nhiều nhất là TdT+CD20+ (40,0%).

Từ khóa: Kiểu hình miễn dịch, dưới nhóm, lơ-xê-mi cấp, Lympho B

IMMUNOPHENOTYPIC CHARACTERISTICS AND SUBCLASSIFICATION OF ACUTE B-CELL LEUKEMIA

Objective: Immunophenotypic analysis and subclassification of acute T-cell leukemia by flow cytometry

Method: Immunophenotypic analysis and subclassification of acute B-cell leukemia by flow cytometry on 144 patients at the National Institute of Hematology and Blood Transfusion from December 2009 to August 2009. 2011

Results: HLA-DR+ was found in 55.6% of patients with lymphocytic leukemia (B-lymphocyte line alone accounted for 67.3%); CD34+ was found

in 61.1% of patients with lymphocytic leukemia (B-cell line alone accounted for 61.8%); HLA-DR+CD34+: The rate of co-occurrence of markers in lymphoid leukemia is 40.3%, of which the rate of co-occurrence in B-cell lymphoma (47.3%); B-lymphocyte markers: Characteristic markers: cCD79a+ (86.4%), CD19+ (79.1%), CD20+ (59.1%), CD22+ (30.9%). The most common immune phenotype is CD10-CD19+CD20+CD22- accounting for 23.7%. The most common asynchronous antigen phenotype was TdT+CD20+ (40.0%).

Keywords: Immunophenotypic characteristics, subclassification, ALL, lympho B

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lơ-xê-mi cấp bao gồm: lơ-xê-mi cấp dòng tủy (acute myelogenous leukemia: AML) và lơ-xê-mi cấp dòng lympho (acute lymphoblastic leukemia: ALL), trong đó lơ-xê-mi cấp dòng lympho có đặc trưng là sự tăng sinh và ứ trệ của các tế bào non thuộc dòng lympho (lymphoblast) ở một giai đoạn nào đó của quá trình biệt hóa tế bào, chúng thay thế các tế bào bình thường ở tủy xương, rồi theo đường máu đi tới các cơ quan khác ngoài tủy xương như gan, lách, hạch. Cho đến nay đã có các phương pháp phân loại lơ-xê-mi cấp dựa vào: hình thái tế bào, hóa học tế bào, di truyền học và miễn dịch học; Trong số các kỹ thuật phân tích kiểu hình miễn dịch, kỹ thuật tế bào dòng chảy (flow cytometry-FCM) cho phép phân tích đồng thời nhiều thông số của tế bào cần nghiên cứu bao gồm: kích thước tế bào, tính chất hạt trong bào tương và nhân, mức độ biểu hiện của các dấu ấn cả trên bề mặt tế bào hoặc trong bào tương hay nhân tế bào..., từ đó cho phép phân loại các dưới nhóm của bệnh lơ-xê-mi cấp như: lơ-xê-mi cấp dòng lympho B, lơ-xê-mi cấp dòng lympho T, lơ-xê-mi cấp dòng tủy, và đặc biệt là những trường hợp không biệt hóa. Từ đó giúp tiên lượng cũng như lựa chọn phác đồ điều trị thích hợp, điều này còn giúp nghiên cứu sâu hơn về bệnh học của quá trình ác tính hóa của các thể bệnh [1], [2], [3]

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm mục tiêu: Phân tích kiểu hình miễn dịch và phân loại dưới

1. Trường Đại học Y Dược Thái Bình

*Chịu trách nhiệm chính: Trần Thị Vân Anh

Email: tva7377@gmail.com

Ngày nhận bài: 14/08/2023

Ngày phản biện: 17/08/2023

Ngày duyệt bài: 19/08/2023

nhóm bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho B bằng kỹ thuật tế bào dòng chảy

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Gồm 144 bệnh nhân được chẩn đoán LXMC (có tỷ lệ % tế bào Blast $\geq 20\%$ so với tổng số tế bào có nhân trong tủy - phân loại theo WHO- 2001) và được chẩn đoán xác định LXMC dòng lympho bằng kỹ thuật FCM tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương từ tháng 12 năm 2009 đến tháng 8 năm 2011. Loại ra những bệnh nhân được chẩn đoán lơ-xê-mi kinh chuyển cấp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm xuất hiện dấu ấn HLA-DR và CD34 trong thể bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho

Thể bệnh \ Dấu ấn	HLA-DR+		CD34+		HLA-DR+ và CD34+	
	n	%	n	%	n	%
Lympho B (n = 110)	74	67,3	68	61,8	52	47,3
Lympho T (n = 34)	6	17,6	20	58,8	6	17,6
Lympho chung (n = 144)	80	55,6	88	61,1	58	40,3

Dấu ấn CD34 ở nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho B chiếm tỷ lệ 61,8%, dòng lympho T chiếm tỷ lệ 58,8%. Dấu ấn HLA-DR xuất hiện tỷ lệ cao trong thể bệnh lympho B (chiếm 67,3%), xuất hiện thấp hơn ở thể bệnh lympho T (chiếm 17,6%). Cùng xuất hiện các dấu ấn CD34 và HLA-DR trong thể bệnh lympho B chiếm tỷ lệ 47,3%, trong thể bệnh lympho T chiếm tỷ lệ 17,3%.

Bảng 2. Các dấu ấn non gặp trong thể bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho B (n=110)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
CD10+	50	45,5
CD34+	68	61,8
TdT+	70	63,6

Các trường hợp LXMC dòng lympho B mang dấu ấn non TdT chiếm tỷ lệ cao nhất (60,6%), tiếp đến CD34 chiếm tỷ lệ 61,3% và CD10 chiếm tỷ lệ 45,5%.

Bảng 3. Đặc điểm xuất hiện dấu ấn non trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho B

Các dấu ấn miễn dịch			n	Tỷ lệ %
CD10+	50 bệnh nhân chiếm 45,5%	CD34+TdT+	20	18,2
		CD34+TdT-	8	7,3
		CD34-TdT+	16	14,6
		CD34-TdT-	6	5,5
CD10-	60 bệnh nhân chiếm 54,5%	CD34+TdT+	21	19,1
		CD34+TdT-	19	17,3
		CD34-TdT+	13	11,8
		CD34-TdT-	7	6,4
Tổng số			110	100

Trong các bệnh nhân được chẩn đoán là LXMC dòng lympho B có 21 trường hợp mang dấu ấn CD34+TdT+CD10- chiếm **19,1%** tuy nhiên cũng gặp 7 trường hợp bệnh nhân mang âm tính với tất cả các dấu ấn non đầu dòng trong panel nghiên cứu chiếm 6,4%

Bảng 4. Tỷ lệ các dấu ấn đặc trưng xuất hiện trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho B (n=110)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
cyCD79a+	95	86,4
CD19+	87	79,1
CD20+	65	59,1
CD22+	37	30,9

Trong LXMC dòng lympho B mang dấu ấn đặc trưng cCD79a chiếm tỷ lệ cao nhất (86,4%), tiếp đến là CD19 chiếm tỷ lệ 79,1%, CD20 (59,1%) và CD22 (30,9%).

Bảng 5. Đặc điểm xuất hiện các dấu ấn đặc trưng trong thể bệnh lơ-xê-mi cấp dòng lympho B

Các dấu ấn miễn dịch			LXMC dòng lympho B (n = 110)	
			n	%
CD10+, CD19+	34 bệnh nhân chiếm 30,9%	CD20+, CD22+	7	6,4
		CD20+, CD22-	10	9,1
		CD20-, CD22+	4	3,6
		CD20-, CD22-	13	11,8
CD10+, CD19-	16 bệnh nhân chiếm 14,5%	CD20+, CD22+	6	5,5
		CD20+, CD22-	8	7,3
		CD20-, CD22+	1	0,9
		CD20-, CD22-	1	0,9
CD10-, CD19+	53 bệnh nhân chiếm 48,2%	CD20+, CD22+	4	3,6
		CD20+, CD22-	26	23,7
		CD20-, CD22+	8	7,3
		CD20-, CD22-	15	13,6
CD10-, CD19-	7 bệnh nhân chiếm 6,4%	CD20+, CD22+	2	1,8
		CD20+, CD22-	2	1,8
		CD20-, CD22+	2	1,8
		CD20-, CD22-	1	0,9
Tổng cộng			110	100,0

Kiểu hình miễn dịch trong LXMC dòng lympho B chiếm tỷ lệ cao nhất là CD10-CD19+CD20+CD22- (23,7%), có một trường hợp âm tính với đồng thời các dấu ấn CD10, CD19, CD20, CD22 chiếm tỷ lệ 0,9%.

Bảng 6. Các kiểu hình KN không đồng bộ trong lơ-xê-mi cấp dòng lympho B (n=110)

Các dấu ấn miễn dịch	n	Tỷ lệ %
CD34+CD20+	38	34,6
CD34+TdT+CD20+	25	22,7
TdT+CD20+	44	40,0
Tổng cộng	107	97,3

Kiểu hình miễn dịch không đồng bộ hay gặp trên bệnh nhân LXMC dòng lympho B là TdT +CD20+ (CD34±), chiếm tỷ lệ 40,0%.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu 144 trường hợp LXMC dòng lympho, bảng 1 cho thấy: Tỷ lệ bệnh nhân LXMC dòng lympho B chiếm đa số (76,4%), dòng lympho T chiếm 23,6%. Nhiều nghiên cứu của các tác giả khác cũng cho thấy dòng lympho B chiếm tỷ lệ chủ yếu [2], [4].

Phân loại miễn dịch LXMC bằng kỹ thuật FCM qua cửa sổ phân tích SSC (thể hiện độ phức tạp, tính chất hạt của nhân và nguyên sinh chất) kết hợp với cường độ bắt màu huỳnh quang gắn với anti-CD45 (kháng thể đơn clone đặc trưng cho các tế bào thuộc dòng bạch cầu), cho phép chúng ta phân tách quần thể tế bào blast với quần thể tế bào bình thường trong mẫu nghiệm nghiên cứu (dịch hút tủy xương hoặc máu ngoại vi). Do đó, xác định được chính xác tỷ lệ % tế bào blast và các quần thể tế bào bình thường. Với ưu điểm vượt trội so với phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp hay gián tiếp đọc trên kính hiển vi huỳnh quang đó là ta có thể phân tách riêng biệt tỷ lệ tuyệt đối quần thể tế bào blast với các quần thể tế bào bình thường và phân tích dấu ấn biệt hóa trên quần thể tế bào blast đó. Việc kết hợp nhiều màu chất huỳnh quang khác nhau cho phép phân tích nhiều dấu ấn biệt hóa cùng lúc trên một tế bào sẽ cho kết quả chính xác hơn phương pháp đọc trên kính huỳnh quang thông thường.

Dấu ấn CD34, HLA-DR là hai dấu xuất hiện ở tế bào non đầu dòng. Trong phân loại miễn dịch LXMC dấu ấn này có vai trò đánh giá mức độ trưởng thành của quần thể tế bào lơ-xê-mi (quần thể tế bào blast) và là hai dấu ấn có ý nghĩa tiên lượng bệnh [3], [5].

Kết quả bảng 1 nhận thấy: trong các bệnh nhân LXMC dòng lympho có 88 trường hợp mang dấu ấn CD34 chiếm 61,1 %, 80 trường hợp mang dấu ấn HLA-DR chiếm tỷ lệ 55,6%, 58 trường hợp mang đồng thời cả hai dấu ấn chiếm tỷ lệ 40,3%.

Dấu ấn HLA-DR xuất hiện tỷ lệ cao trong thể bệnh lympho B (chiếm 67,3%), xuất hiện thấp hơn ở thể bệnh lympho T (chiếm 17,6%), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,005$. Theo kết quả nghiên cứu nhiều tác giả thấy dấu ấn HLA-DR xuất hiện trong LXMC dòng lympho B chiếm tỷ lệ 96% nhưng trong LXMC dòng lympho T chiếm 9% [2], [6]. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với các tác giả trong và ngoài nước. Điều này có thể giải thích đây là kháng nguyên phức hợp hòa hợp mô chủ yếu lớp II nên nó sẽ xuất hiện nhiều với mục

bảo vệ cơ thể. Dấu ấn HLA-DR bình thường không xuất hiện trong quá trình biệt hóa và trưởng thành, tuy nhiên trong trường hợp tế bào lympho T kích hoạt (tế bào lympho T activated) thì sự hiện diện dấu ấn này chiếm tỷ lệ khá cao.

Dấu ấn CD34 là dấu ấn đặc trưng nhất để đánh giá mức độ non của các tế bào lơ-xê-mi, dấu ấn này xuất hiện ở nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho B chiếm tỷ lệ 61,8%, dòng lympho T chiếm tỷ lệ 58,8%. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng gặp các trường hợp bệnh nhân LXMC dòng lympho B và lympho T đồng dương tính với các dấu ấn CD34, HLA-DR (47,3% trong thể bệnh lympho B, 17,3% trong thể bệnh lympho T). Đây là những bệnh nhân có khả năng lui bệnh hoàn toàn thấp có nguy cơ cao gấp 8,9 lần so với các bệnh nhân không đồng dương tính với 2 dấu ấn này [6], [7].

Việc xác định kiểu hình miễn dịch trong LXMC dòng lympho B có ý nghĩa quan trọng trong phân loại dưới nhóm và điều trị nhắm đích, đánh giá tồn lưu tế bào ác tính trong quá trình điều trị.

Đặc điểm hiện diện của dấu ấn non

Để xác định tính chất chưa trưởng thành dòng lympho B, chúng tôi sử dụng 3 dấu ấn: CD34, CD10, TdT. Trong 3 dấu ấn này, TdT là dấu ấn non thường gặp nhất (chiếm 63,6%) điều này phù hợp với các kết quả nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước (TdT thường dương tính cao trong LXMC dòng lympho B) [2], [6], [7], kể đến là CD34 chiếm tỷ lệ 61,8% và CD10 là dấu ấn non xuất hiện thấp nhất (chiếm tỷ lệ 45,5%).

Theo kết quả bảng 2 và 3 nhận thấy những trường hợp CD10- lại đồng xuất hiện CD34+TdT+ chiếm tỷ lệ 19,1%, ngoài ra cũng gặp các trường hợp chỉ dương tính với một trong số các dấu ấn non đầu dòng hay không dương tính với bất kỳ một dấu ấn non đầu dòng nào (nhưng lại dương tính với các dấu ấn đặc trưng của dòng B chiếm tỷ lệ 6,4%).

Từ đó chúng tôi kết luận rằng trong quần thể tế bào non ác tính không nhất thiết phải có đầy đủ các dấu ấn non, nói cách khác, một tế bào non ác tính có thể mang một hay nhiều dấu ấn non đầu dòng, cũng có thể là không mang bất kỳ một dấu ấn non đầu dòng nào nhưng lại mang các dấu ấn đặc trưng của dòng, phối hợp với hình thái tế bào và hóa học tế bào khẳng định rằng chúng là những tế bào bất thường. Vì vậy việc bổ sung TdT là cần

thiết để xác định những tế bào non trong những trường hợp có CD10 và/hoặc CD34 âm tính.

Đặc điểm xuất hiện những dấu ấn đặc trưng

Qua kết quả nghiên cứu bảng 4 nhận thấy: dấu ấn đặc trưng dòng xuất hiện với tỷ lệ cao nhất là cCD79a chiếm tỷ lệ 86,4%. Đây là dấu ấn đặc trưng nhất của dòng lympho B, xuất hiện từ rất sớm trong bào tương của các tế bào non dòng B và hiện diện với nồng độ tương đối ổn định trong suốt quá trình phát triển của tế bào lympho B, nên có giá trị xác định dòng cao hơn CD19, CD20, CD22 [6], [7]. Vì vậy việc đưa dấu ấn cCD79a trong các trường hợp chẩn đoán để khẳng định thể lai thêm độ chính xác là rất cần thiết.

Dấu ấn CD19 xuất hiện trong 79,1% trường hợp, tiếp đến là CD20 (59,1%), CD22 (30,9%). Kết quả trên nhận thấy rằng dấu ấn CD19 thường xuất hiện cao trong các trường hợp LXMC dòng lympho B, trong khi đó dấu ấn CD20 lại xuất hiện với tỷ lệ thấp hơn trong quần thể tế bào non ác tính. Theo quan sát trên một số mẫu tủy bình thường đều nhận thấy 100% tế bào dòng lympho B trưởng thành đều có đầy đủ 5 dấu ấn CD19, CD22, cCD79a, HLA-DR và cả CD20 cùng dương tính. Như vậy CD20 là dấu ấn phản ánh mức độ trưởng thành của tế bào lympho B, trong khi đó các dấu ấn còn lại giúp định danh dòng B. Đáng chú ý là, số mẫu tế bào dương tính với CD20 chiếm 59,1 % tổng số bệnh nhân LXMC dòng lympho B. Điều này rất có ý nghĩa trong thực tiễn khi lựa chọn phác đồ điều trị nhắm đích khi điều trị LXMC dòng lympho B, sử dụng chế phẩm kháng thể đơn clon đặc hiệu với CD20.

Quan sát bảng 5 nhận thấy kiểu hình miễn dịch trong LXMC dòng lympho B khá đa dạng, gặp nhiều nhất là kiểu hình CD19+CD20-CD22-CD10- chiếm 13,6%, bên cạnh đó có những trường hợp kiểu hình miễn dịch đồng dương tính với các dấu ấn đặc trưng, hay đồng dương tính với 2 trong các dấu ấn đặc trưng. Chúng tôi nhận thấy rằng tuy dấu ấn CD19 có tỷ lệ dương tính khá cao, nhưng nếu chúng ta chỉ sử dụng dấu ấn CD19 trong panels để xác định LXMC dòng lympho B thì cũng rất dễ bỏ qua các trường hợp chỉ dương tính với CD20, CD22, hay cCD79 (tỷ lệ này chiếm 6,3%).

Trong nghiên cứu này chúng tôi gặp 1 trường hợp đồng âm tính với các dấu ấn đặc trưng, nhưng lại dương tính với dấu ấn cCD79a và CD34+TdT, đây có thể là do các tế bào non này còn rất non nhưng lại có dấu ấn đặc trưng nhất của dòng. Trường hợp này khi nghiên cứu kết quả của phân loại theo

hình thái học và hóa học tế bào kết luận thể M0 (hình thái tế bào còn rất non, không dương tính với các phương pháp nhuộm hóa học tế bào). Do đó chúng tôi nhận thấy rằng phân loại theo FAB được bổ sung với phân loại dựa vào dấu ấn miễn dịch sẽ chính xác hơn trong việc xác định các dòng. Dấu ấn cCD79a nên được đưa vào panel giúp xác định các trường hợp khó chẩn đoán và tránh bỏ sót các trường hợp tế bào blast còn quá non và giúp chẩn đoán thể lai một cách chính xác [6], [7].

Qua bảng kết quả này chúng tôi nhận thấy rằng nên đồng thời đưa các dấu ấn đặc trưng của dòng vào cùng một panel, có như vậy chúng ta mới không bỏ sót các trường hợp chỉ dương tính với một trong số các dấu ấn đặc trưng của dòng.

Đặc điểm xuất hiện kiểu hình không đồng bộ

Sự xuất hiện kiểu hình không đồng bộ thuộc dòng lympho B được đánh giá dựa vào 2 kiểu hình CD34+/CD20+ và TdT+/CD20+ trên tế bào B (CD19+ và/ hoặc CD22) vì người ta không xác định kiểu hình này trên mẫu máu ngoại vi và rất hiếm gặp trên mẫu tủy bình thường, nên phù hợp để theo dõi tồn lưu tế bào ác tính. Bảng 3.6 nhận thấy kiểu hình miễn dịch không đồng bộ thường gặp là TdT+CD20+ (40,0%) và CD34+CD20+ (34,6%).

Cũng là kiểu hình của tế bào non, mặc dầu kiểu hình CD19+CD10+CD20+ và/hoặc CD22+CD10+CD20+ là những kiểu hình gặp với tỷ lệ 6,4% và 5,5% nhưng không được lựa chọn để theo dõi đánh giá lượng tồn lưu tế bào ác tính, vì kiểu hình miễn dịch này cũng hiện diện trong mẫu tủy bình thường với tỷ lệ thấp ở người lớn và tăng rõ rệt ở trẻ nhỏ. Trên sơ đồ phát triển bình thường của dòng lympho B, các kiểu hình này xuất hiện trong các giai đoạn bình thường (Tiền B). Ngoài ra kiểu hình miễn dịch này cũng gặp trong các bệnh nhân sau các đợt điều trị hóa chất lui bệnh do sự tái hoạt hóa của tế bào B [4], [5], [6], [7].

V. KẾT LUẬN

- HLA-DR+ gặp ở 55,6% trong nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho (riêng dòng lympho B chiếm 67,3%).

- CD34+ gặp ở 61,1% trong nhóm bệnh nhân LXMC dòng lympho (riêng dòng lympho B chiếm 61,8%).

- HLA-DR+CD34+: Tỷ lệ đồng xuất hiện dấu ấn trong LXMC dòng lympho là 40,3%, trong đó tỷ lệ xuất hiện trong LXMC dòng lympho B (47,3%).