

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

Роль поверхностного маркера CD200 в дифференциальной диагностике злокачественных В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний

Role of Superficial CD200 Marker in Differential Diagnosis of Malignant B-Cell Lymphoproliferative Diseases

Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник, Т.С. Никулина,
В.В. Стругов, Т.О. Андреева, Ю.В. Вирц, Р.В. Грозов,
А.Ю. Зарицкий

YuV Mirolyubova, EA Stadnik, TS Nikulina,
VV Strugov, TO Andreeva, YuV Virts, RV Grozov,
AYu Zaritsky

ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

Federal Almazov North-West Medical Research Centre under the Ministry of Health of the Russian Federation, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Актуальность и цели. Проточная цитофлуориметрия успешно используется в диагностике злокачественных лимфопролиферативных заболеваний. Однако иногда встречаются атипичные ситуации, сложные для интерпретации, что служит основанием для поиска новых маркеров, имеющих дифференциально-диагностическое значение. Цель — анализ экспрессии CD200 у больных со злокачественными В-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями.

Background & Aims. Flow cytometry is successfully used for diagnosis of malignant lymphoproliferative disorders. However, there are atypical cases that are difficult to interpret; thus, new markers relevant for the differential diagnosis are to be searched for. The aim is to analyze CD200 expression in patients with B-cell lymphoproliferative disorders.

Материалы и методы. Обследовано 187 пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), 14 — с лимфомой из клеток зоны мантии (ЛЗМ), 9 — с лимфомой из клеток маргинальной зоны (ЛМЗ), 5 — с волосатоклеточным лейкозом (ВКЛ). У 12 человек наличие опухоли не подтвердилось. Пациентам выполняли клинический анализ крови, иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови или костного мозга, цитогенетическое исследование. Части пациентов дополнительно проводилось иммуногистохимическое исследование материала, полученного при трепанобиопсии костного мозга или биопсии лимфатических узлов.

Materials & Methods. 187 patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL), 14 patients with mantle cell lymphoma (MCL), 9 patients with marginal zone lymphoma (MZL), and 5 patients with hairy cell leukemia (HCL) were enrolled in the study. Neoplasm was not confirmed in 12 subjects. The patients underwent the following tests: CBC, immunophenotyping of peripheral blood or bone marrow lymphocytes, and a cytogenetic test. In some cases, an additional immunohistochemical test of bone marrow trepanobiopsy or lymph node biopsy samples was required.

Результаты. У всех больных ХЛЛ и ВКЛ наблюдалась экспрессия CD200, средняя интенсивность флуоресценции была выше по сравнению с другими группами. В группе ЛЗМ преобладали пациенты с отсутствием экспрессии CD200. В то же время в 2 наблюдениях отмечалась промежуточная и отчетливая экспрессия CD200 с умеренной интенсивностью флуоресценции. В группе ЛМЗ экспрессия CD200 была гетерогенной.

Results. In all cases of CLL and HCL, the CD200 expression was positive; mean fluorescence intensity was higher in these cases as compared to other groups. Negative expression of CD200 prevailed in MCL patients; however, at the same time 2 cases of intermediate and positive expression were reported, both showing moderate fluorescence intensity values. CD200 expression was heterogeneous in MZL patients.

Заключение. Отсутствие экспрессии CD200 исключает диагноз типичного ВКЛ и ХЛЛ. В таких ситуациях требуются цитогенетическое и иммуногистохимическое исследования опухолевых клеток для полной верификации диагноза, прежде всего ЛЗМ или ЛМЗ.

Conclusion. The CD200 negative expression excludes typical HCL and CLL. Additional cytogenetic and immunohistochemical tests should be performed in such cases to verify the diagnosis, first of all, MCL or MZL.

Ключевые слова: CD200, проточная цитометрия, диагностика, хронический лимфолейкоз, лимфома из клеток зоны мантии, лимфома из клеток маргинальной зоны, волосатоклеточный лейкоз.

Keywords: CD200, flow cytometry, diagnosis, chronic lymphocytic leukemia, mantle cell lymphoma, marginal zone lymphoma, hairy cell leukemia.

Получено: 7 сентября 2016 г.

Принято в печать: 3 января 2017 г.

Для переписки: Юлия Владимировна Миролюбова, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; e-mail: juli9702@yandex.ru

Для цитирования: Миролюбова Ю.В., Стадник Е.А., Никулина Т.С. и др. Роль поверхностного маркера CD200 в дифференциальной диагностике злокачественных В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний. Клиническая онкогематология. 2017;10(2):169–75.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-169-175

Received: September 7, 2016

Accepted: January 3, 2017

For correspondence: Yuliya Vladimirovna Mirolyubova, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; e-mail: juli9702@yandex.ru

For citation: Mirolyubova YuV, Stadnik EA, Nikulina TS, et al. Role of Superficial CD200 Marker in Differential Diagnosis of Malignant B-Cell Lymphoproliferative Diseases. Clinical oncohematology. 2017;10(2):169–75 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-2-169-175

ВВЕДЕНИЕ

Диагностика злокачественных хронических лимфолиферативных заболеваний (ХЛПЗ) методом проточной цитометрии характеризуется быстротой и высокой степенью воспроизводимости, поскольку материалом для исследования служит либо периферическая кровь, либо аспират костного мозга, которые более доступны по сравнению с опухолевой тканью, получаемой при биопсии. Например, при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ) трепанобиопсия подвздошной кости и/или биопсия лимфатического узла достаточно редко используются в рутинной клинической практике.

Разработанные алгоритмы диагностики позволяют успешно дифференцировать большинство иммуноморфологических вариантов В-клеточных ХЛПЗ. На первом этапе традиционно выделяются группы опухолей с фенотипами CD19+CD5+, CD19+10+ и CD19+CD5–CD10–. Следующим шагом у больных с экспрессией CD19+CD5+ является анализ экспрессии на поверхностной мембране антигенов CD23, CD22, CD79b, CD20, позволяющий диагностировать типичный ХЛЛ и лимфому из клеток зоны мантии (ЛЗМ) [1–4]. Однако встречаются наблюдения с атипичной экспрессией, когда диагностика затруднена. Например, при ХЛЛ описаны случаи атипично низкой экспрессии CD5, CD23, CD43 и выраженной экспрессии CD20, CD22, CD79b. Кроме того, есть наблюдения с экспрессией CD23, снижением и отсутствием экспрессии CD5 при ЛЗМ. Следует отметить, что, нередко в группу с экспрессией CD19+CD5+ попадают другие лимфомы (не ХЛЛ и не ЛЗМ), в частности лимфомы из клеток маргинальной зоны (ЛМЗ), лимфоплазмочитарная лимфома, волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), при которых экспрессия CD5 нехарактерна [5]. В таких ситуациях диагноз может быть верифицирован по совокупности данных гистологического, иммуногистохимического и цитогенетического исследований.

Таким образом, хотя диагностика В-клеточных ХЛПЗ методом проточной цитометрии на основании изучения лимфоидных клеток крови и костного мозга имеет преимущества, в ряде случаев не представляется возможным избежать более инвазивных, трудоемких и требующих большего времени методов. Из этого следует, что диагностическая панель нуждается в усовершенствовании. Одним из маркеров, рекомендуемых для включения в диагностическую панель многими авторами, является CD200 [6–15].

Маркер имеет важное значение в дифференциальной диагностике ХЛЛ и ЛЗМ, особенно при сомнительной или атипичной экспрессии других молекул на поверхности опухолевых клеток.

CD200 (OX-2) представляет собой мембранный гликопротеид из суперсемейства иммуноглобулинов 1-го типа, кодируемый геном, расположенным в локусе 3q13.2. Антиген в норме экспрессируется на В-лимфоцитах, в т. ч. на В-клеточных предшественниках, определенной популяции Т-лимфоцитов, тимоцитах, эндотелиальных клетках и нейронах. CD200 связывается с CD200-рецептором-1, расположенным на моноцитах, гранулоцитах, субпопуляции Т-лимфоцитов, и вызывает иммуносупрессивный ответ, в частности в противоопухолевом иммунитете. В экспериментах на мышах продемонстрировано, что связывание CD200 со своим рецептором *in vitro* способствует дифференцировке Т-лимфоцитов в регуляторные клетки [16–18]. Показано также прогностическое значение экспрессии CD200 при ряде неоплазий гемопоэтической ткани [19, 20]. CD200 рассматривается как потенциальный объект таргетной терапии при ХЛЛ и других неоплазиях [18, 21, 22].

Во многих работах приводятся данные об экспрессии CD200 при различных вариантах В-клеточных неходжкинских лимфом. Отмечается высокая экспрессия CD200 при ХЛЛ и типичном ВКЛ [6–15]. Вместе с тем в случае вариантного ВКЛ экспрессия CD200 низкая [13]. Кроме того, в большинстве наблюдений демонстрируется гетерогенный характер экспрессии CD200 при ЛМЗ. Например, снижение экспрессии CD200 характерно для МALT-лимфом и ЛМЗ селезенки, в то же время при нодальном варианте ЛМЗ экспрессия CD200 значительно выше. При ЛЗМ в большинстве работ описаны крайне низкая экспрессия CD200 или ее полное отсутствие [6, 8–12, 15]. Это имеет чрезвычайно важное значение в дифференциальной диагностике CD19+CD5+ лимфом между ХЛЛ и ЛЗМ. Однако в статье P. Challagundla и соавт. [14] приводятся данные о 3 из 61 наблюдения ЛЗМ с высокой экспрессией CD200, сравнимой с экспрессией при ХЛЛ (всего были исследованы 61 случай ЛЗМ и 119 случаев ХЛЛ). Во всех 3 наблюдениях диагноз ЛЗМ был подтвержден высокой экспрессией циклина D1 по данным иммуногистохимического анализа. Кроме того, в 2 из 3 случаев была обнаружена транслокация t(11;14). Заслуживает внимания, что у всех 3 пациентов отмечалась также атипично высокая экспрессия CD23. Таким образом, было показано, что

низкая экспрессия CD200 исключает ХЛЛ. Однако высокая экспрессия CD200 не позволяет достоверно исключить ЛЗМ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2013 по 2015 г. обследовано 233 пациента с подозрением на злокачественное ХЛПЗ.

Исследования проводились в центральной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Пациентам выполняли клинический анализ крови, иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови или костного мозга, цитогенетическое исследование, а также анализ миелограммы. Части пациентов дополнительно проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследования материала, полученного при трепанобиопсии костного мозга или биопсии лимфатических узлов.

Имунофенотипический анализ проводился на проточном цитометре BD FACS Calibur с использованием 4-цветной панели. Процедура подготовки проб по стандартному протоколу включала этап инкубации с антителами 1 млн клеток в течение 15 мин при комнатной температуре, лизис с помощью рабочего раствора BD FACS Lyse buffer с отмывкой раствором Cell Wash. При анализе экспрессии поверхностных легких цепей иммуноглобулинов образец предварительно дважды отмывался раствором Cell Wash. В качестве отрицательного контроля использовался уровень аутофлюоресценции клеток без внесения антител.

Для диагностики злокачественных В-лимфопроточных заболеваний использовался следующий стандартный набор антител: CD45FITC, CD23PE, CD19 PerCP-Cy5.5, CD5APC, CD43FITC, CD38PE, CD22FITC, CD79bPE, CD20FITC, CD200PE, CD3FITC, CD4PE, CD45 PerCP-Cy5.5, CD8APC, CD16FITC, CD56PE, Anti-Kappa FITC/Anti-Lambda PE/CD19 PerCP-Cy5.5 (все антитела производства BD Biosciences). При необходимости в панель дополнительно включались антитела к CD10, CD103, CD25 и CD11c.

Использовалось стандартное программное обеспечение Cell Quest. На этапе исследования проводился анализ как минимум 50 000 событий. По графику бокового светорассеяния (SSC) vs CD45 выделяли популяцию лимфоцитов, затем из популяции лимфоцитов выделяли гейты CD19+ и CD19+CD5+. Анализ экспрессии CD200 проводился в гейте CD19+CD5+ или CD19+ (при отсутствии экспрессии CD5). Положительной считалась экспрессия более 50 %. Уровень экспрессии 20–50 % оценивался как +/-, экспрессия менее 20 % популяции считалась отрицательной. Как качественная характеристика экспрессии использовались термины «dim», «bright», «moderate» в сравнении с экспрессией на нормальных В-лимфоцитах. Для CD200 анализировалась средняя интенсивность флюоресценции по параметру среднее геометрическое (СГ).

Кариотипирование выполнялось по стандартной методике. Клетки костного мозга культивировали в течение 72 ч при температуре 37 °С с использованием стандартных реактивов (среда RPMI, эмбриональная телячья сыворотка, Pokeweed mitogen). Анализ про-

водился на микроскопе Zeiss Imadger M1 с использованием программы Metasystems Ikaros. Оценивали не менее 20 метафаз. Флюоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) проводилась на интерфазных ядрах с использованием ДНК-зондов компании Vysis CLL FISH Probe Kit по стандартному протоколу. Анализировали не менее 200 интерфазных ядер.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 187 пациентов был диагностирован ХЛЛ, у 14 — ЛЗМ, у 9 — ЛМЗ, у 2 — фолликулярная лимфома, у 5 — ВКЛ, у 6 — Т-клеточные лимфопроточные заболевания. Клональное заболевание системы крови было исключено у 12 обследованных лиц с подозрением на ХЛПЗ. Диагностика вариантов ХЛПЗ осуществлялась в соответствии с критериями классификации ВОЗ 2008 г.

У 9 пациентов диагностирована ЛМЗ. Варианты иммунофенотипа были следующие: CD5+/- ($n = 2$), CD43+ ($n = 1$). Экспрессия CD200 на опухолевых В-клетках в этой группе была наиболее гетерогенной (0,14–98,0 %), средний показатель — 52,5 % с колебаниями СГ от 3,5 до 132. Экспрессия CD200 отмечалась у 6 пациентов с ЛМЗ нодального типа. У 3 пациентов с ЛМЗ селезенки экспрессии CD200 не наблюдалось.

У всех 5 пациентов с ВКЛ имела место выраженная экспрессия CD200. Экспрессия в среднем составляла 97,2 % со средней интенсивностью флюоресценции (СГ 243,8).

Группу условно здоровых составили лица с абсолютным и относительным лимфоцитозом, у которых в процессе обследования не выявлено лимфопроточного заболевания. Экспрессия CD200 на В-лимфоцитах была положительной в 12 из 13 случаев, в 1 — расценена как +/- (диапазон 43–95 %, в среднем 70 %). Средняя интенсивность флюоресценции по сравнению с группой ХЛЛ была однородно невысокой (СГ 17–69, в среднем 34,62).

В группе ХЛЛ ($n = 187$) наблюдались следующие атипичные варианты фенотипа: CD5+/- ($n = 4$), CD43- ($n = 6$), CD43+/- ($n = 3$), CD23- ($n = 3$), CD23+/- ($n = 4$), CD20bright ($n = 10$), CD22bright ($n = 6$), CD79bbright ($n = 12$). Экспрессия CD200 наблюдалась у всех больных ХЛЛ. Минимальное количество положительных событий составило 66 %, максимальное — 99,9 %, среднее — 97,34 %. При оценке интенсивности экспрессии по СГ показатели колебались от 31 до 689 со средней интенсивностью 187,5. Интенсивность экспрессии CD200 анализировалась в группах больных с различными цитогенетическими нарушениями (табл. 1).

Таблица 1. Интенсивность экспрессии CD200 у больных с различными цитогенетическими нарушениями ($n = 187$)

Цитогенетическая подгруппа	Медиана CD200, %	Среднее геометрическое
del(11q22.3)	98,50	206,92
del(13q)	98,33	202,33
del(17p13)	97,02	130,40
Трисомия 12	95,19	123,23
Без аномалий	98,13	213,64

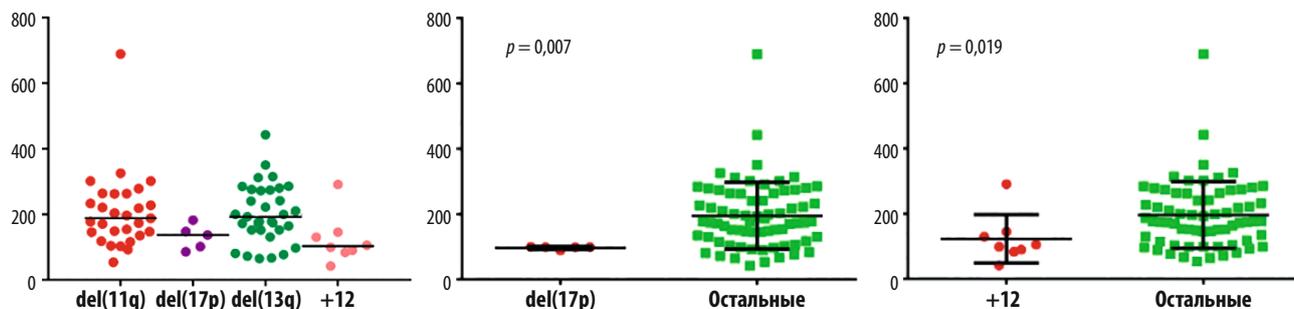


Рис. 1. Интенсивность экспрессии CD200 в различных цитогенетических подгруппах при ХЛЛ ($n = 187$)

Fig. 1. CD200 expression intensity in different cytogenetic subgroups in CLL ($n = 187$)

Отмечаются статистически значимые различия средней интенсивности флюоресценции между цитогенетическими подгруппами ($p = 0,023$) (рис. 1, А). У пациентов с трисомией 12 и del(17p) уровень интенсивности флюоресценции статистически значимо ниже, чем в остальных подгруппах ($p = 0,007$ и $p = 0,019$ соответственно) (рис. 1, Б и В).

В группе пациентов с ЛЗМ ($n = 14$) наблюдались следующие атипичные варианты иммунофенотипа опухолевых В-лимфоцитов: CD23+ ($n = 1$), CD23+/- ($n = 1$), CD5+/- ($n = 2$), CD43+ ($n = 1$), CD22+/- ($n = 1$). Экспрессия CD200 отсутствовала у 12 (85,7 %) из 14 больных. В 1 наблюдении ЛЗМ экспрессия CD200 оценивалась как +/- (42,89 %; СГ 43,29), в другом — отмечалась экспрессия CD200 в 98 % событий со средней интенсивностью флюоресценции СГ 67. В отличие от данных литературы [20] в обоих случаях, как выраженной, так и промежуточной степени экспрессии CD200 на клетках опухоли, сочетания с высокой экспрессией CD23 не наблюдалось. С учетом всех случаев средние показатели экспрессии CD200 составили 24,21 % со средней интенсивностью флюоресценции СГ 10,95. В табл. 2 представлены данные по экспрессии CD200 и CD23 у пациентов с ЛЗМ.

Ниже приводятся наблюдения атипичного иммунофенотипа и дифференциально-диагностического поиска при ЛЗМ.

Таблица 2. Экспрессия CD200 и CD23 у больных лимфомой из клеток зоны мантии ($n = 14$)

Пациент №	CD200, %	Среднее геометрическое	CD23, %
1	98,00	67,00	9,00
2	0,05	2,00	0,60
3	0,10	4,25	0,10
4	0,10	1,56	1,88
5	0,19	2,07	0,23
6	0,35	2,15	3,67
7	3,56	2,99	6,43
8	0,70	2,12	7,80
9	0,10	2,00	9,86
10	19,50	7,48	3,42
11	1,66	1,77	59,10
12	42,89	43,29	2,09
13	3,80	3,07	37,79
14	0,28	2,62	0,23

Наблюдение 1

Больная, 51 год. ЛЗМ CD200-. Жалобы на слабость, потливость, увеличение лимфатических узлов. В клиническом анализе крови высокий лейкоцитоз ($153,2 \times 10^9/\text{л}$) с абсолютным лимфоцитозом за счет преимущественно зрелых малых лимфоцитов. По результатам проточной цитометрии иммунофенотип популяции лимфоидных клеток: CD19+CD5+CD23+CD22+CD20bright+CD200-. В данном наблюдении отсутствие экспрессии CD200 позволило предположить наличие ЛЗМ с коэкспрессией CD23. Диагноз был подтвержден данными цитогенетического исследования (FISH) — наличием транслокации t(11;14)(q13;q32), а также обнаружением экспрессии циклина D1 при иммуногистохимическом исследовании биоптата лимфатического узла.

Поскольку существуют только единичные описания ЛЗМ с положительной экспрессией CD200, мы приводим пример такого наблюдения.

Наблюдение 2

Больная, 59 лет. ЛЗМ CD200+. При диспансерном осмотре в 2014 г. отмечено увеличение шейных, надключичных, подключичных, подмышечных, забрюшинных лимфатических узлов, увеличение селезенки. Была выполнена биопсия лимфатического узла. Морфологически определялась диффузная инфильтрация малыми лимфоцитами. Первоначально был поставлен диагноз ХЛЛ, проведено несколько курсов противоопухолевой терапии. Затем, в связи с прогрессированием заболевания (увеличение лимфатических узлов, конституциональная симптоматика) пациентка госпитализирована в ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ.

В клиническом анализе крови отмечалась умеренная тромбоцитопения, абсолютного лимфоцитоза не наблюдалось. В миелограмме лимфоциты составляли 61,65 %. Морфологически лимфоциты представляли собой зрелые клетки типа малых лимфоцитов. Проведено иммунофенотипирование клеток аспирата костного мозга. События CD19+ составляли 82,89 % всех лимфоцитов, CD19+CD5+ — 37,53 %, т. е. экспрессия CD5 была снижена. От популяции CD19+ экспрессия основных диагностических маркеров составила: CD20bright — 98,26 %, CD79b — 95,87 %, CD22 — 97,94 %, CD23 — 8,81 %, CD43 — 0,82 %, CD200 — 98,3 % (рис. 2).

Таким образом, несмотря на высокую экспрессию CD200, иммунофенотип не соответствовал ХЛЛ. Наи-

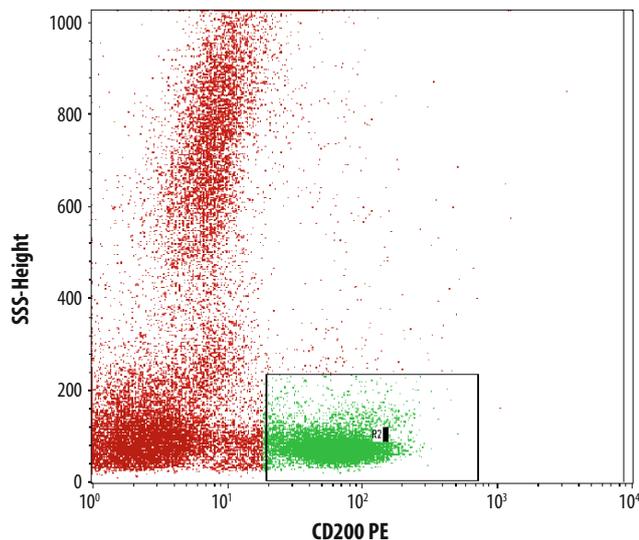


Рис. 2. Экспрессия антигена CD200 на опухолевых клетках (зеленый цвет, гейт R2) в наблюдении № 2

Fig. 2. CD200 antigen expression in tumor cells (marked with green, gate R2) in observation No. 2

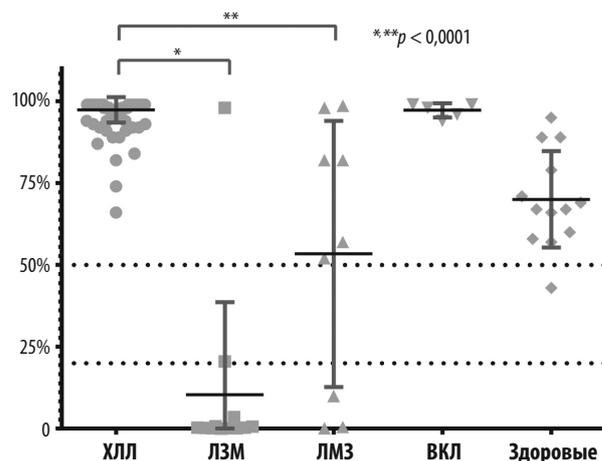


Рис. 3. Характеристика экспрессии CD200 при различных вариантах злокачественных лимфопролиферативных заболеваний ВКЛ — волосатоклеточный лейкоз; ЛЗМ — лимфома из клеток зоны мантии; ЛМЗ — лимфома из клеток маргинальной зоны; ХЛЛ — хронический лимфолейкоз.

Fig. 3. Characteristics of CD200 expression in different types of a malignant lymphoproliferative diseases

ВКЛ — hairy cell leukemia; ЛЗМ — mantle cell lymphoma; ЛМЗ — marginal zone lymphoma; ХЛЛ — chronic lymphocytic leukemia.

Таблица 3. Характеристика экспрессии CD200 при злокачественных лимфопролиферативных заболеваниях

Группа пациентов	Число больных	Средние значения экспрессии CD200, %	Средняя интенсивность экспрессии CD200
Хронический лимфолейкоз	187	97,34	187,5
Волосатоклеточный лейкоз	5	97,2	243,8
Лимфома из клеток зоны мантии	14	24,21	10,95
Лимфома из клеток маргинальной зоны	9	59,53	34,77
Условно здоровые лица	12	70,0	34,62

более вероятным по данным фенотипирования представлялся вариант ЛМЗ. С целью дифференциальной диагностики было проведено повторное иммуногистохимическое исследование подмышечного лимфатического узла. Отмечался диффузный характер инфильтрации лимфоидными клетками, превышающими по размеру малый лимфоцит с выраженной экспрессией циклина D1. Цитогенетическое исследование (FISH) подтвердило наличие транслокации t(11;14)(q13;q32). Был установлен диагноз ЛЗМ. Проведенное лечение вызвало регрессию опухоли.

ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе данных иммунофенотипирования клеток периферической крови и костного мозга у лиц с подозрением на злокачественное ХЛЛЗ и, в частности, экспрессии CD200 на В-лимфоцитах были выявлены следующие закономерности (рис. 3, табл. 3).

В группе пациентов, у которых ХЛЛЗ не диагностировано ($n = 12$), экспрессия CD200 на В-лимфоцитах определялась во всех наблюдениях. Интенсивность экспрессии CD200 была умеренной.

В группе ХЛЛ у всех 187 больных имела место экспрессия CD200 на опухолевых лимфоцитах, что согласуется с данными литературы. При этом наблю-

далась гетерогенная интенсивность флуоресценции этого маркера. По сравнению с группой здоровых лиц, а также пациентов с ЛМЗ, ЛЗМ средний уровень экспрессии CD200 и интенсивность флуоресценции были выше. Наблюдались различия средней интенсивности флуоресценции в разных цитогенетических подгруппах. У пациентов с трисомией 12 и del(17p) уровень интенсивности флуоресценции был статистически значимо ниже, чем в группах с делецией 11 и 13.

В группе пациентов с ЛЗМ экспрессия CD200 на опухолевых клетках была отрицательной в большинстве случаев (85,7%). Однако были единичные наблюдения с промежуточной (+/-) и положительной экспрессией этого маркера. У 1 больного интенсивность флуоресценции была сопоставима с частью случаев ХЛЛ. CD200-позитивные случаи ЛЗМ не коррелировали с экспрессией антигена CD23 на В-клетках. Тем не менее средние результаты экспрессии и интенсивности флуоресценции CD200 в группе пациентов с ЛЗМ были наименьшими. Чувствительность отрицательной экспрессии CD200, по нашим данным, при ЛЗМ составила 0,857, а специфичность — 0,986.

У пациентов с ЛМЗ наблюдалась наиболее гетерогенная экспрессия CD200 с диапазоном от крайне отрицательной до высоко положительной. Отмечалась корреляция между вариантом ЛМЗ и

экспрессией CD200. Положительные случаи экспрессии CD200 были зарегистрированы у больных с нодальным типом лимфомы.

Все 5 пациентов с ВКЛ имели высокую степень экспрессии CD200 с высокой интенсивностью флуоресценции. В нашем исследовании отсутствуют пациенты с вариантной формой ВКЛ, при которой, по данным литературы, имеет место сниженная экспрессия CD200.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует отметить, что отсутствие экспрессии CD200 на опухолевых В-лимфоцитах исключает диагноз ХЛЛ и типичного ВКЛ, что согласуется со всеми изученными нами данными литературы [14–21]. Следовательно, при отсутствии или сниженной экспрессии CD200 следует направить диагностический поиск в сторону ЛМЗ и ЛЗМ. Напротив, высокая экспрессия CD200 в трудных для интерпретации случаях может учитываться в пользу ХЛЛ. Однако сама по себе экспрессия CD200 не свидетельствует о наличии злокачественного лимфопролиферативного заболевания, т. к. маркер обнаруживается и на нормальных В-клетках. В группе ЛЗМ был зафиксирован случай положительной экспрессии CD200. Это снижает дифференциальную диагностическую ценность маркера между ХЛЛ и ЛЗМ. Поскольку и по литературным данным такие случаи единичны, видимо, требуется дальнейшее накопление и анализ наблюдений. У пациентов с ЛМЗ диагностическая ценность определения экспрессии CD200 состоит в сопоставлении с другими данными иммунофенотипа, например, при дифференциальной диагностике ЛМЗ с ВКЛ или ХЛЛ.

Таким образом, по нашему мнению, CD200 является ценным диагностическим маркером, который должен включаться в стандартную панель иммунофенотипирования при злокачественных В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях и анализироваться в комплексе с другими данными лабораторного и гистологического (иммуногистохимического) исследований.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке компании «Астеллас Фарма Юроп Б.В.».

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник. **Сбор и обработка данных:** Ю.В. Миролюбова, В.В. Стругов, Е.А. Стадник, Ю.В. Вирц, Т.О. Андреева.

Предоставление материалов исследования: Ю.В. Миролюбова, Т.С. Никулина, Р.В. Грозов.

Анализ и интерпретация данных: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник, В.В. Стругов.

Подготовка рукописи: Ю.В. Миролюбова, Е.А. Стадник, В.В. Стругов.

Окончательное одобрение рукописи: А.Ю. Зарицкий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность врачам Р.И. Вабищевич, Н.С. Лазорко, Е.А. Несивкиной, Н.В. Степановой за оказанную помощь в сборе материалов для статьи.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Купрышина Н.А., Тулицын Н.Н. Проточная цитометрия в онкогематологии. Часть II. Основы и нововведения в диагностике хронического лимфолейкоза. Клиническая онкогематология. 2012;5(4):349–54. [Kupryshina NA, Tupitsyn NN. Flow cytometry in hematology malignancies. Part II: ABC and news in diagnostics of chronic lymphocytic leukaemia. Klinicheskaya onkogematologiya. 2012;5(4):349–54. (In Russ)]
2. Стадник Е.А., Стругов В.В., Вирц Ю.В., Зарицкий А.Ю. Хронический лимфолейкоз. Рекомендации по диагностике и лечению. Трансляционная медицина. 2012;17:104–15. [Stadnik EA, Strugov VV, Virts YuV, Zaritsky AYU. Chronic lymphocytic leukemia. Guidelines for diagnosis and treatment. Translyatsionnaya meditsina. 2012;17:104–15. (In Russ)]
3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th edition. Lyon: IARC Press; 2008.
4. Kohnke T, Wittmann VK, Sauter D, et al. Proposal For a Novel Scoring System For The Diagnosis of CLL. Blood. 2013;122(21):47–5599 (Plenary Abstracts).
5. Morice WG, Kurtin PJ, Hodnefield JM, et al. Predictive Value of Blood and Bone Marrow Flow Cytometry in B-Cell Lymphoma Classification: Comparative Analysis of Flow Cytometry and Tissue Biopsy in 252 Patients. Mayo Clin Proc. 2008;83(7):776–85. doi: 10.4065/83.7776.
6. Луговская С.А., Кисиличина Д.Г., Почтарь М.Е. и др. Новые маркеры (CD160, CD200, LAIR-1) в диагностике В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний. Клиническая онкогематология. 2013;6(1):45–52. [Lugovskaya SA, Kisilichina DG, Pochtar ME, et al. New markers (CD160, CD200, and LAIR-1) in diagnosis of B-cell lymphoproliferative disorders. Klinicheskaya onkogematologiya. 2013;6(1):45–52. (In Russ)]
7. Brunetti L, Di Noto R, Abate G, et al. CD200/OX2, a cell surface molecule with immuno-regulatory function is consistently expressed on hairy cell leukaemia neoplastic cells. Br J Haematol. 2009;145(5):665–78. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07644.x.
8. Palumbo GA, Parrinello N, Fargione G, et al. CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leuk Res. 2009;33(9):1212–6. doi: 10.1016/j.leukres.2009.01.017.
9. Dorfman DM, Shahsafaei A. CD200 (OX-2 Membrane Glycoprotein) Expression in B Cell-Derived Neoplasms. Am J Clin Pathol. 2010;134(5):726–33. doi: 10.1309/ajcp38xrrugsqovc.
10. Sander B. Mantle cell lymphoma: recent insights into pathogenesis, clinical variability, and new diagnostic markers. Semin Diagn Pathol. 2011;28(3):245–55. doi: 10.1053/j.semmp.2011.02.010.
11. Alapat D, Coviello-Malle J, Owens R, et al. Diagnostic Usefulness and Prognostic Impact of CD200 Expression in Lymphoid Malignancies and Plasma Cell Myeloma. Am J Clin Pathol. 2012;137(1):93–100. doi: 10.1309/ajcp59uorcyzevqo.
12. El Desoukey NA, Afify RA, Amin DG, et al. CD200 expression in B-cell chronic lymphoproliferative disorders. J Investig Med. 2012;60(1):56–61. doi: 10.2310/jim.0b013e31823908f9.
13. Pillai V, Pozdnyakova O, Charest K, et al. CD200 flow cytometric assessment and semiquantitative immunohistochemical staining distinguishes hairy cell leukemia from hairy cell leukemia-variant and other B-cell lymphoproliferative disorders. Am J Clin Pathol. 2013;140(4):536–43. doi: 10.1309/ajcpbk31vqqnddr.
14. Challagundla P, Medeiros LJ, Kanagal-Shamanna R, et al. Differential Expression of CD200 in B-Cell Neoplasms by Flow Cytometry Can Assist in Diagnosis, Subclassification, and Bone Marrow Staging. Am J Clin Pathol. 2014;142(6):837–44. doi: 10.1309/ajcpbv9elxc0ecvl.
15. Sandes AF, de Lourdes Chauffaille M, Regina C, et al. CD200 Has an Important Role in the Differential Diagnosis of Mature B-Cell Neoplasms by Multiparameter Flow Cytometry. 2013;86(2):98–105. doi: 10.1002/cyto.b.21128.

- 16.** McCaughan GW, Clark MJ, Barclay AN. Characterization of the human homolog of the rat MRC OX-2 membrane glycoprotein. *Immunogenetics*. 1987;25(5):329–35. doi: 10.1007/bf00404426.
- 17.** Wright GJ, Jones M, Puklavec MJ, et al. The unusual distribution of the neuronal/lymphoid cell surface CD200 (OX2) glycoprotein is conserved in humans. *Immunology*. 2001;102(2):173–9. doi: 10.1046/j.1365-2567.2001.01163.x.
- 18.** Kretz-Rommel A, Qin F, Dakappagari N, et al. CD200 expression on tumor cells suppresses antitumor immunity: new approaches to cancer immunotherapy. *J Immunol*. 2007;178(9):5595–605. doi: 10.4049/jimmunol.178.9.5595.
- 19.** Moreaux J, Hose D, Reme T, et al. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2006;108(13):4194–7. doi: 10.1182/blood-2006-06-029355.
- 20.** Tonks A, Hills R, White P, et al. CD200 as a prognostic factor in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2007;21(3):566–8. doi: 10.1038/sj.leu.2404559.
- 21.** Moreaux J, Veyrune JL, Reme T, et al. CD200: a putative therapeutic target in cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;366(1):117–22. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.11.103.
- 22.** Kretz-Rommel A, Bowdish KS. Rationale for anti-CD200 immunotherapy in B-CLL and other hematologic malignancies: new concepts in blocking immune suppression. *Expert Opin Biol Ther*. 2008;8(1):5–15. doi: 10.1517/14712598.8.1.5.

