诊疗经验

2 例骨髓巨核细胞胞浆表达 CD34 的骨髓增生异常综合征病例临床分析*

华中科技大学同济医学院附属同济医院 汪智琼 黄丽芳 罗莉*,武汉 430030

关键词 骨髓增生异常综合征; CD34; CMML; 巨核细胞
中图分类号 R551.3 **文献标识码** A DOI 10.11768/nkjwzzzz20190322

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome,MDS)是一组起源于髓系定向造血干细胞或多能干细胞的异质性克隆性疾病,主要特征是无效造血和高危演变为急性髓系白血病(acute myeloid leukemia ,AML),临床表现为造血细胞在质和量上出现不同程度的异常变化[1,2]。1982 年 FAB 协作组提出以形态学为基础的 MDS 分型,主要依据 MDS 患者外周血和骨髓细胞发育异常的特征进行分类。2008 年 WHO 推出了修订的 MDS 分型方案,2016 年进行了再次修订[3],定义了病态造血的粒系、红系、巨核系统胞质和胞核的特征,其中提到巨核细胞胞浆 CD34 阳性的发育异常特征。本文总结了 2 例巨核细胞胞浆表达 CD34 的 MDS 患者临床诊治经过,为早期诊断及治疗提供经验。

临床资料

2018 年 4 月和 5 月华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科收治 2 例巨核细胞胞浆表达 CD34 的患者,1 例为 MDS-SLD,1 例为 MDS/MPN(CMML-1),诊断主要依据骨髓细胞形态学的检查,流式细胞学、细胞遗传学、分子生物学检查结果。

收集 2 例患者的临床资料;形态学检查:外周血涂片及骨髓涂片进行瑞氏染色,骨髓涂片小巨核酶标(CD41a)染色,常规显微镜检查。按“WHO 造血组织及淋巴组织分类方案(2016 版)”进行诊断及分类[4];流式细胞术免疫分型:取肝素抗凝新鲜骨髓 5 mL,分离单个核细胞,用四色荧光免疫标记法检测。以 CD45/SSC 设门,检测抗体如下:HLA-DR、CD2、CD3、CD4、CD5、CD7、CD8、CD10、CD11b、CD13、CD14、CD15、CD16、CD19、CD20、CD22、CD33、CD34、CD38、CD56、CD58、CD64、CD71、CD117、CD123、sKappa、sLambda、MPO、cCD79a、cCD3、TdT、CD45;流式仪器及试剂购自 BD 公司;骨髓组织病理检查:取 1.2 ~ 1.5 cm 骨髓组织,常规固定,石蜡包埋,HE 染色,免疫组织化学染色抗体如下:CD34、CD117、CD235a、MPO、CD3、CD20、CD138、bcl-2、Ki-67,进行显微镜检查;染色体核型分析:采用骨髓细胞学短期培养法,按常规制备染色体并进行 G 显带分析,核型按《人类细胞遗传学国际命名体制》加以描述;FISH 检查使用 MDS 全套组合探针,包括 5、7、8、20、Y 及 P53 的结构及数目异常;分子生物学检查:取新鲜 EDTA 抗凝管骨髓液 5 mL,采用多重巢式 RT-PCR 法筛查白血病 43 种融合基因,巢式 PCR 法检测融合基因,二代测序检测髓系基因突变情况。

例 1 为 47 岁男性,例 2 为 62 岁女性,入院时主要临床症状、血象、发病时间等,见表 1。

表 1 2 例患者临床资料汇总

组别	性别	年龄(岁)	发病时间		淋巴结肿大	
病例 1	男	47	9 个月前出现皮疹,3 个月前全血细胞减少		左颈颌下可扪及 2cm × 1cm 淋巴结	
病例 2	女	62	2 周前活动乏力伴面色苍白		无	
组别	肝脾肿大	既往史	WBC($\times 10^9$/L)	Hb(g/L)	PLT($\times 10^9$/L)	临床诊断
病例 1	无	苯接触史 20 年	2.31	72	130	MDS-SLD
病例 2	无	无	6.75	58	162	CMML-1

注:其它临床资料,未见明显阳性结果

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81500082)
* 通信作者:罗莉,E-mail:565822983@qq.com

形态学检查结果　例 1 外周血涂片检查原始细胞 0%，成熟单核细胞占 11%；骨髓增生重度减低，原始细胞 0%，粒系占 29.5%，红系占 36.5%，形态学未见明显异常；小巨核酶标（CD41a）染色示计数 14 个巨核细胞，正常巨核细胞 4 个，单圆核小巨核细胞 6 个，双圆核小巨核细胞 2 个，淋巴样小巨核细胞 2 个，巨核细胞发育异常，见图 1；诊断意见：巨核系统发育异常。例 2 外周血涂片原始细胞 3%，中性粒细胞 25%，成熟单核细胞 48%，骨髓增生重度减低，原始细胞 8%，粒系 29.5%，中性粒细胞可见胞浆颗粒减少，分叶障碍，胞浆空泡等病态改变，占 15%，红系 41%，幼红细胞可见双核、多核、核型不规则、核出芽、H-J 小体等病态改变，占 18%，成熟单核细胞 12.5%，小巨核酶标染色未找到巨核细胞，未见发育异常；诊断意见：MDS/MPN 中的 CMML-1，见图 2。

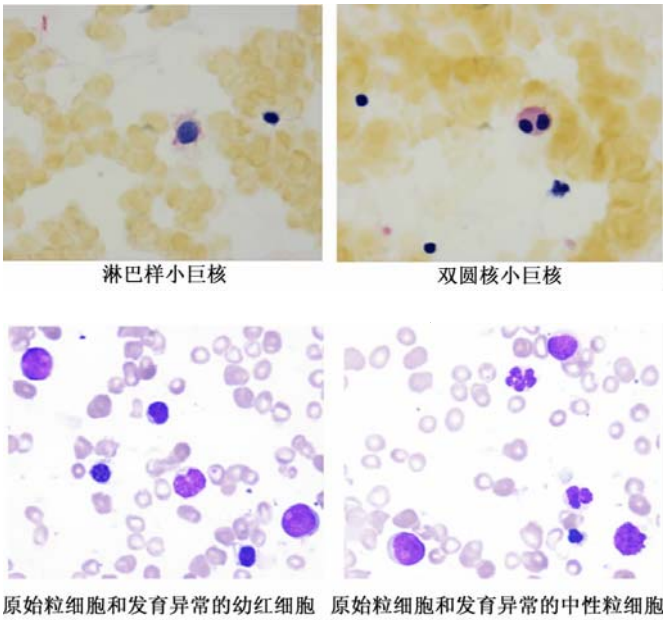


图 2　例 2 外周血涂片

骨髓流式细胞学检查结果　例 1 未见明显异常；例 2 流式结果：①髓系原幼细胞比例易见，约占全部有核细胞 1.7%，颗粒性减低，CD45 表达减弱，可疑为异常髓系原始细胞可能性大；②中性粒细胞比例明显减低，颗粒性减低，发育模式异常；③单核细胞比例明显增高，约占全部有核细胞 26.2%，以成熟单核细胞为主，部分单核细胞 CD14、CD64 表达减弱；④淋巴细胞比例不高，未见明显异常淋巴细胞及浆细胞。提示可疑存在髓系发育异常，不能除外 CMML 可能。

骨髓组织病理检查　例 1 骨髓增生极度活跃（100%），粒红比略低，粒系以中幼以下阶段为主，红系以中、晚幼红细胞为主。淋巴细胞散在。巨核细胞显著增生，可见胞体小，分叶少巨核细胞。可见纤维组织局灶性增生。免疫组化染色：CD34（原始细胞，个别）+；CD117-；MPO（粒细胞）+；CD235α（幼红细胞）+；Ki-67 LI 80%；CD42b（巨核细胞）+；易见小巨核，巨核细胞胞浆部分表达 CD34，强度比 CD42b 弱；CD3（少）+；CD20（散在）+；CD138（散在）+；CD163（少）+。诊断：巨核细胞显著增生伴发育异常，见图 3。

例 2 骨髓增生极度活跃（100%），幼稚细胞易见，散在或小簇分布。粒红比略减低，粒系以中幼以下阶段为主，红系以中、晚幼红细胞为主。淋巴细胞散在。巨核细胞显著增生，形态未见明显异常。可见纤维组织局灶性增生。免疫组化染色：CD34（原始细胞，散在）+；CD117-；MPO（粒细胞）+；CD235α（幼红细胞）+；Ki-67 LI 80%；CD42b（巨核细胞）+；未见小巨核，巨核细胞胞浆部分表达 CD34，强度比 CD42b 弱；CD3（少）+；CD20（散在）+；CD138（散在）+；CD163（少）+。诊断：幼稚细胞易见，巨核细胞显著增生。

细胞遗传学分析　例 1 为正常染色体核型；例 2 患者存在：5q-、7q-、+8 的复杂染色体异常。

分子生物学检查　例 1 基因突变：SRSF2、KMT2D、ATG2B、SF3A1 基因突变；例 2 白血病 43 种融合基因均为阴性，ADAMTS13 基因突变阳性，该突变意义不明确，不引起氨基酸改变，为良性突变。

治疗方式及预后　例 1 最终诊断为 MDS-单系发育异常（MDS-SLD）。以皮疹起病，全身皮疹，主要分布于眶周、双侧颈部、前胸部可见散在红色斑

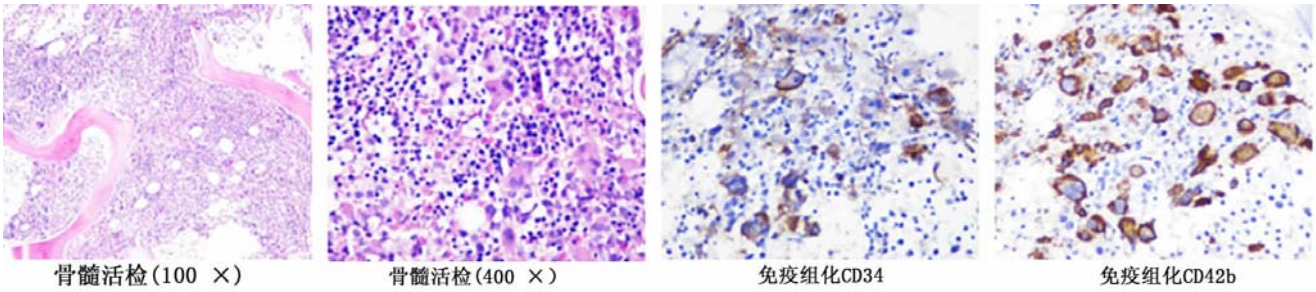


图 3　例 1 骨髓活检及免疫组化染色

块,稍突起于皮肤,分界清晰,无脱屑,行糖皮质激素冲击、抗感染治疗,皮疹对激素有效。随着病情发展,出现血细胞减少,行 EPO 及吉粒芬治疗,并给予对症支持治疗。患者病情平稳,12 个月后随访,情况良好。例 2 确诊为慢性粒单核细胞白血病 1 型(CMML-1),予以地西他滨 25 mg(d1 ~ d5)治疗,辅以对症支持治疗,结束治疗后,予以吉粒芬 300 μg 皮下注射,特比澳 15 ku 皮下注射后出院。半月后患者间断发热,T 38 ~ 39℃,再次入院予以对症支持治疗,血象持续下降,1 周后,患者突发呼吸困难,血压测不出,高热不退,经抢救无效死亡。

讨 论

MDS 的主要病理生理本质是:①起源于造血干细胞的克隆性疾病;②粒系、红系、巨核系统的一系或多系发育异常;③无效造血,长期血细胞减少。疾病结局是骨髓衰竭或演变为 AML。2016 年最新修订版中分为 MDS 伴单系发育异常(MDS-SLD)、MDS 伴多系发育异常(MDS-MLD)、MDS 伴原始细胞过多(MDS-EB)、MDS 伴环形铁粒幼细胞(单系和多系发育异常 2 个亚型)、MDS 伴异常核型 del(5q)等亚型[3]。

MDS/MPN 是一组临床、实验室和形态学特征上既有骨髓增生异常综合征又有骨髓增殖性肿瘤相互重叠或复合的髓系肿瘤,2016 年最新修订版中分为慢性粒单细胞白血病、不典型慢性粒细胞白血病、幼年型粒单细胞白血病、骨髓增生异常/骨髓增殖性肿瘤伴环状铁粒幼细胞和血小板增多及不能分类型。

本研究中的例 1 患者,发现血细胞减少 3 个多月,Hb < 72 g/L,骨髓细胞学未见原始细胞增多及血细胞发育异常,而用 CD41a 的特殊染色发现普通瑞氏染色不易发现的小巨核细胞,显示巨核细胞明显发育异常,且发现 SRSF2、KMT2D、ATG2B、SF3A1 基因突变,支持 MDS 诊断[4~6],且符合 MDS 中的亚型 MDS-单系发育异常的诊断。该患者的骨髓病理活检示骨髓增生极度活跃,未见原始细胞增多,但巨核系统显著增生伴发育异常,并且部分巨核细胞胞浆表达 CD34。CD34 分子选择性地表达于人类及其他哺乳动物造血干/祖细胞表面,并随细胞的成熟逐渐减弱至消失[7]。本例 MDS-SLD 的巨核细胞胞浆表达 CD34,符合文献定义的巨核细胞发育异常。

本研究中的例 2 患者,入院时 HGB 为 58 g/L,WBC、PLT 均在正常范围内。外周血涂片原始细胞 3%,成熟单核细胞 48%,WBC 6.75 × 10^9/L,成熟单核细胞的绝对值为 3.24 × 10^9/L,骨髓细胞学示原始细胞 8%,粒系可见 15% 病态改变,红系可见 18% 病态造血。支持 CMML-1 诊断,流式细胞学检查示原始细胞易见,提示存在髓系发育异常,并且成熟单核细胞比例明显偏高,进一步支持 CMML-1 的诊断。FISH 结果证实患者存在 5q-、7q-、+8 的复杂染色体异常[8]。部分巨核细胞胞浆表达 CD34,在胞质的表达上出现发育异常,进一步支持了 CMML-1 的诊断。

本研究中的 2 例患者的骨髓病理活检均用到了原始细胞抗体 CD34 和巨核细胞抗体 CD42b,对原始细胞及巨核细胞的数量及性质进行评判,但巨核细胞胞浆表达 CD34 的情况非常罕见,本研究的 2 例患者,均是经临床相关检查确诊的 MDS 病例,发现巨核细胞胞浆表达 CD34,进一步验证了 MDS 存在某一系的发育异常,例如巨核细胞胞质的发育异常。本研究中流式细胞学也用到 CD34 和 CD42b,但流式细胞学对巨核细胞表面抗体的表达情况不如骨髓病理活检,巨核细胞表面的血小板易吸附某些非特异性染色,引起假阳性,骨髓病理活检的免疫组化结果更直观、更真实、更有说服力。

从本研究的 2 例患者临床资料看,评估 MDS 形态学,识别血细胞病态造血,仅依靠肉眼骨髓象是不够的,必需借助一些特殊染色以及骨髓活检,免疫组化染色,包括 CD34、CD117、MPO、CD42b 等。Wolfgang 等[8]报道,随访的 116 例最初未能依靠细胞形态学诊断的 MDS 患者,其中 40 例能通过流式细胞学得到诊断。在 1681 例 MDS 患者中,49% 从细胞遗传学结果能够诊断 MDS,19% 患者发现了异常核型。因此,对于临床血细胞减少,考虑 MDS 的患者,应该骨髓细胞学、骨髓活检及免疫组化染色、流式细胞学、细胞遗传学及分子生物学综合判断,寻找更多 MDS 诊断证据,给予更准确的诊断,以个体化的治疗。

参 考 文 献

1 Bejar R, Steensma DP. Recent developments in myelodysplastic syndromes[J]. Blood, 2014. 124(18): 2793-803.
2 Ades L, Itzykson R, Fenaux P. Myelodysplastic syndromes[J]. Lancet, 2014, 383(9936): 2239-2252.
3 Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. Blood, 2016. 127(20): 2391-405.
4 Sperling AS, Gibson CJ, Ebert BL. The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia[J]. Nat Rev Cancer, 2017. 17(1): 5-19.
5 Kennedy JA, Ebert BL. Clinical Implications of Genetic Mutations in Myelodysplastic Syndrome[J]. J Clin Oncol, 2017. 35(9): 968-974.
6 肖志坚. 骨髓增生异常综合征的精准诊断与治疗:现况与问题[J]. 临床血液学杂志, 2017(3): 339-341.
7 Hu Q, Chu Y, Song Q, et al. The prevalence of chromosomal aberrations associated with myelodysplastic syndromes in China[J]. Ann Hematol, 2016. 95(8): 1241-1248.
8 Kern W, Meggendorfer M, Haferlach C, et al. Integrated diagnostic approach for suspected myelodysplastic syndrome as a basis for advancement of diagnostic criterial[J]. in Blood, 2016, 128(22): 299.

(2019-03-20 收稿 2019-04-18 修回)