

诊疗经验

急性髓细胞白血病伴核仁磷酸蛋白突变 1 例
病例报告并文献复习

武汉大学中南医院 向伟 肖晖* 肖慕然 宋燕燕, 武汉 430071

关键词 多颗粒; 急性髓系细胞白血病伴核仁磷酸蛋白突变; 胞质颗粒; 诊断

中图分类号 R733.7 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20200221

急性髓系细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种造血祖细胞自主增殖和分化受阻的异质性疾病。AML 伴核仁磷酸蛋白(nucleophosmin, NPM1)突变在 2008 年世界卫生组织(WHO)分类中被确认为 AML 伴重现性遗传学异常的一类独立亚型^[1],本例患者为 AML 伴 NPM1 突变,但因患者骨髓原始细胞胞浆中存在大量嗜天青颗粒,极易误诊为其他类型白血病,故报告其诊疗体会。

病例资料

患者男,57 岁,2018 年 3 月 27 日无明显诱因情况下,出现发热,伴头痛、咽痛、胸闷、呼吸困难,无胸痛、大汗,无腹痛、腹泻,无骨痛、少尿,无牙龈出血、肉眼血尿、黑便等。3 d 后体温高达 41.5℃,在当地医院行肺部 CT 示右肺肺炎,给予头孢曲松抗炎治疗,效果欠佳,遂来武汉大学中南医院求治,查血常规, WBC $102.43 \times 10^9/L$ (分类 N 6.60%, L 89.40%, M 4.00%), RBC $1.94 \times 10^{12}/L$, Hb 62 g/L, PLT $19 \times 10^9/L$, 4 月 5 日门诊以“急性白血病”收入院。查体 T 37.8℃, P 93 次/min, R 20 次/min, BP 101/47 mm-Hg, 神清, 精神差, 贫血貌, 端坐呼吸, 皮肤巩膜无黄染, 浅表淋巴结未及肿大, 双肺呼吸音粗, 右肺可闻及湿性啰音, 心律齐, 腹软, 无压痛及反跳痛, 肝脾肋下未及, 肾区无叩痛, 双下肢不肿。

入院后实验室检查如下, 血常规示 WBC 示 $87.50 \times 10^9/L$ (分类 N 6.9%, L 89.7%, M 3.4%), RBC $1.55 \times 10^{12}/L$, Hb 50.00 g/L, PLT $18.00 \times 10^9/L$; 尿胆原 +; 大便隐血 +; 凝血酶原时间 17.0 s, 凝血酶原时间活动度 53%, D 二聚体稀释 4 738 ng/mL, 纤

维蛋白原降解产物 $29.78 \mu g/mL$, 抗凝血酶 43%, 余正常; 血沉 $>140 \text{ mm/h}$; 肿瘤标志物测定: 糖类抗原 125 247.90 U/mL, 余正常。胸部正位胸片(DR)右上肺炎; 胸部(平扫 + MPR)-CT: 右上肺见实变影, 右侧胸腔见积液征象, 右上肺见空气支气管征, 右肺多发斑片状影, 以右上肺明显, 左肺上叶见少许斑片状高密度影, 双肺可见数枚结节影, 较大者位于左肺下叶胸膜下, 直径约 3 mm, 炎性结节可能性大。全腹部(平扫 + MPR)-CT 肝实质内见数枚结节状低密度影, 考虑为肝囊肿, 右侧胸腔弧形水样密度影, 考虑胸腔积液, 腹膜后、双侧腹股沟可见多枚淋巴结影, 较大直径约 15 mm, 余未见异常。

骨髓细胞学检查, 骨髓增生明显活跃, 其中粒系 97%, 红系 0.5%; 粒系增生异常, 其中原始粒细胞 88.5%, 其形态特点为胞体大小不一, 多呈类圆形或卵圆形, 胞浆量中等, 为淡蓝色, 大都含细小紫红色嗜天青颗粒, 细胞核呈卵圆形, 凹陷和折叠可见, 核染色质呈现细颗粒状, 均匀分布, 清晰可见 2~5 个核仁, 红系、巨核系增生受抑, 淋巴细胞比例减低, 见图 1。细胞特殊化学染色: POX 阳性, 见图 2, DCE 阳性, 见图 3, PAS 阳性, 见图 4, NAE 阴性。外周血白细胞数增多, 原始粒细胞 78%, 早幼粒 8%, 成熟中性粒细胞、成熟淋巴细胞比例都减低, 成熟红细胞大小不一, 血小板少见, 单个分布。

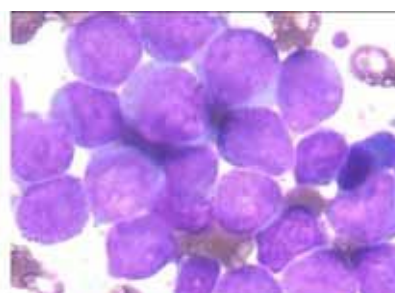


图 1 骨髓细胞学检查

* 通信作者: 肖晖, E-mail: huixiao@whu.edu.cn



图2 POX 染色阳性

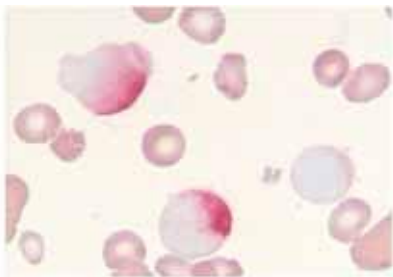


图3 CE 染色阳性

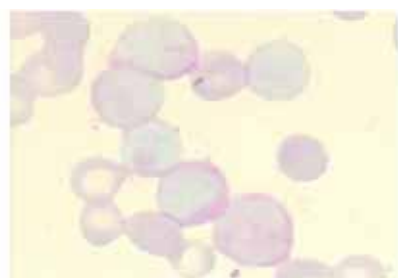


图4 PAS 染色阳性

流式免疫分型,在有核细胞中淋巴细胞3.11%,有核红细胞2.14%,存在一群异常细胞(D)92.91%,表达MPO、CD38、CD33,部分表达CD9、CD13,不表达HLA-DR、CD34、CD7、CD117、CD19、CD15、CD14、CD11b、CD64、CD16、cCD3、CD4、CD79a、CD22、CD11c、CD56、CD2、CD5、CD8、CD3、CD10、CD20、CD36、CD61,见图5;染色体核型分析46,XY(6),可见6个正常中期核型;白血病预后相关基因突变检测,检测到NPM1基因12号外显子突变,未检测到CEBPA、C-kitexon8/17、DNMT3Aexon23、FLT3-ITD、FLT3TKD、NRAS12/13、KRAS12/13、TP53exon5-8基因突变;AML-M3型PML-RARa融合基因定量检测阴性,PML-RARa/ABL比值00.00%;白血病融合基因检测WT1定量检测阴性,WT1/ABL比值00.07%;43种白血病相关融合基因荧光探针法筛查未检测到包括AML1-ETO在内的43种融合基因。

诊疗过程 患者于2018年4月5日晚入院,WBC明显升高,PLT极低,凝血功能差,同时骨髓原始粒细胞浆中发现有较多的嗜天青颗粒高度类似急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL),当晚经验性加用全反式维甲酸口服治疗(20 mg,2次/d,口服),4月7日予以羟基脲口服降白细胞、别嘌醇口服降尿酸,4月13日染色体核型分析正常,未检测到PML-RARa融合基因,检测

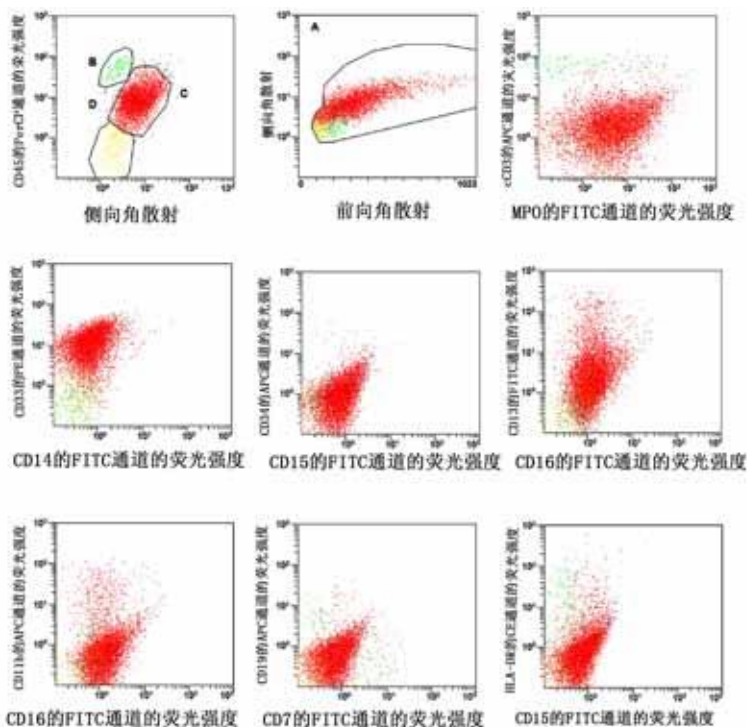


图5 流式免疫分型示表达MPO、CD33,部分表达CD9、CD13,不表达HLA-DR、CD34、CD15、CD14、CD11b

到 NPM1 基因 12 号外显子突变,确诊为 AML 伴 NPM1 突变,停用全反式维甲酸,开始行 DA 方案化疗(柔红霉素 80 mg, d 1 70 mg, d 2 或 60 mg, d 3 + 阿糖胞苷 100 mg, d 1 ~ 4, 1 次/12h 或 100 mg, d 5 ~ 7, 1 次/d)。后出现重度骨髓抑制合并感染,予以输注 RBC、PLT 制剂及泰能抗感染、补充白蛋白等治疗,5 月 1 日患者复查骨穿和血常规,提示骨髓缓解象,血象和临床症状未达完全缓解标准,5 月 3 日要求出院,患者一般状况尚可,达到部分缓解,予以出院。

讨 论

NPM1 基因突变代表了 AML 中最常见的遗传损伤,约占成人 AML 的 30%^[2],不同国家 NPM1 + 发生率略有差异^[3,4],女性 NPM1 突变频率稍高于男性^[5]。AML 伴 NPM1 + 的发病机制目前尚未完全清楚,但与 NPM1 + 密切相关,NPM1 + 导致 NPM1 异常胞质定位^[6]和正常生物学功能的改变,导致抑癌物质不能发挥其抑癌作用^[7]。AML 伴 NPM1 突变的原始粒细胞胞浆中少见有大量的嗜天青颗粒,而嗜天青颗粒在原始粒细胞阶段一般较少见,至早幼阶段最常见,含量最多^[8],嗜天青颗粒存在于胞质中,而胞质颗粒现象可以出现 APL^[9]、急性单核细胞白血病(acute monocytic leukemia, AML-M5)^[10]、颗粒性急性淋巴细胞白血病(granular acute lymphoblastic leukemia, G-ALL)^[11]等。

AML 伴 NPM1 + 患者具有广泛的形态学分布特征,但极少分布在 M3 和 M7 中^[12,13];APL 的颗粒增多的早幼粒细胞按颗粒典型性分为粗颗粒型和细颗粒型,但常见粗细颗粒混合存在而不易区分^[9],细胞的主要特点是胞核可呈单核样、多偏位,可见双浆,细颗粒型细胞时常不规则,有似花瓣样、龟甲样突起,细长、多条、柴棒样排列 Auer 小体易见,而在 AML 伴 NPM1 + 细胞质颗粒不是很粗糙,并且数量也不会像 APL 中覆盖了细胞质;AML-M5 颗粒较多的原、幼单核细胞^[10],其胞体较大或大小不一,细胞异型性明显,胞质中出现较多的紫红色颗粒,但这

类细胞颗粒较多缺乏密集性、胞质缺乏双浆,胞质瘤状或花蕾样突起少见,也不见柴棒状 Auer 小体和 M5 原、幼单核细胞体积较大、形态不规则,结合细胞化学染色,多可鉴别;G-ALL^[11,14]原、幼淋巴细胞胞核形态不规则,可有凹陷、折叠、切迹及裂痕,染色质致密,核仁不明显,胞质轻或中度嗜碱性,深浅不定,可为明显的透亮蓝色,胞质内可见空泡,这类颗粒一般较粗大,颗粒可能是起源于细胞器的颗粒,也有可能是细胞器发育异常、融合或退化的结果^[15]。细胞染色可进一步鉴别各型白血病,MPO 为髓系细胞的标记物,一般可鉴别 AML 和 ALL,但在 M0、M7 亚型中 MPO 染色常呈阴性不易与 ALL 鉴别;PAS 染色在 AML 中多呈细颗粒弥散状,可见小珠,而 ALL 中多见珠状、块状颗粒围绕核周。因为细胞形态的多样性,单依靠细胞形态一般很难诊断,见表 1。

流式免疫分型可确定为 AML,排除 G-ALL。AML 伴 NPM1 突变主要表现为 CD33、CD13、HLA-DR 等早期祖细胞标志,也常表达单核细胞标志 CD14、CD11b^[12]。不表达 CD34,为 NPM1 + AML 最大的特点;APL 典型表型一般为 CD13 +、CD9 +、CD38 +、CD33 +、CD117 +、CD64 + 以及三阴性(CD11b-、CD34-、HLA-DR-)^[16],HLA-DR-最有助于 APL 和其他亚型的区分;AML-M5 表达 CD45 较单纯粒细胞白血病强,CD14-CD11b + CD117 + 可以用来鉴别 M5;G-ALL 一般不表达 CD13、CD33、MPO 等髓系抗原,部分可表达 CD14、CD36、CD64 单核细胞抗原,通过免疫分型 AML-M5 和 G-ALL 可被排除。再完善遗传学和分子生物学检查,染色体核型正常,未检测到 PML-RARa 可排除多颗粒 APL,检测到 NPM1 基因 12 号外显子突变,排除 APL,确诊患者为 AML 伴 NPM1 突变。t(15;17)为 APL 的经典的遗传学改变,分子生物学上该畸变可形成 PML-RARa 融合基因^[17],约 50% 的 NPM1 + 合并 DNMT3A +,40% 的 NPM1 + 可与 FLT3-ITD + 同时出现,NPM1 + 还可与 IDH1 +、NRAS + 等同时出现^[2],伴随其它突变常常导致预后的改变,所以也需常规检查相关突变,见图 6。

表 1 4 种易混淆的含胞质颗粒白血病的特殊细胞化学染色

白血病类型	本例 AML 伴 NPM1 + *	颗粒过多的 APL	AML-M5	G-ALL
MPO	阳性	强阳性	弱阳或阴性	阴性
CE	阳性	强阳性	阴性	阴性
PAS	细颗粒弥散状阳性	细颗粒弥散状阳性	反应较粒系强,夹杂粗颗粒	粗颗粒块状分布阳性
NAE	阴性	阳性	阳性	细小颗粒阳性
NAF 抑制实验	不被抑制	被抑制	被抑制	不被抑制

注: * 为本例患者的细胞化学染色结果,根据 NPM1 + AML 不同的形态学分布可不同

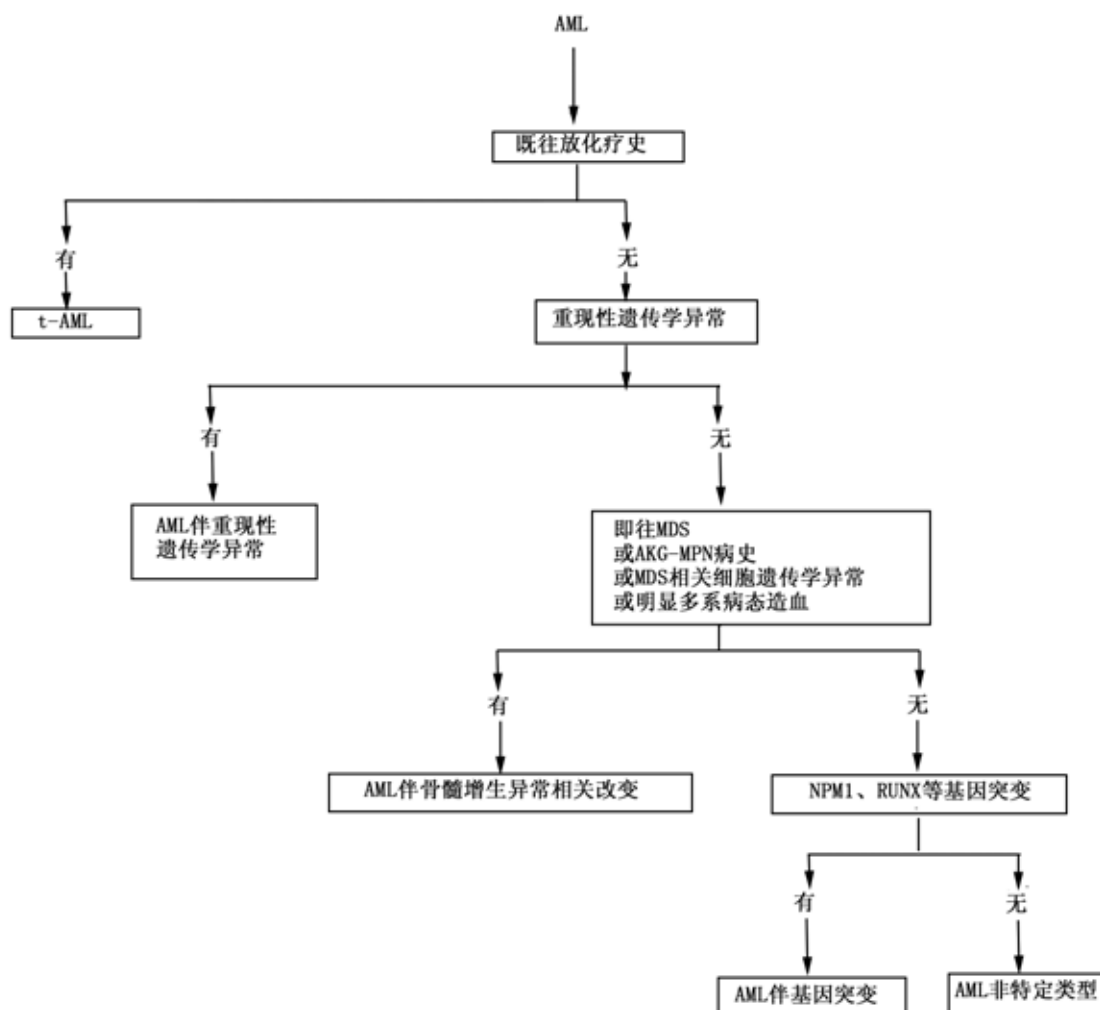


图6 AML诊断确定后的诊断流程

根据国内外的诊疗指南^[18],具有正常细胞遗传学的 NPM1 基因突变都属于预后良好组,但若同时存在 FLT3-ITD + 预后会变差,FLT3-ITD + 的等位基因比率越高预后越差^[1],这种现象可能与获得性酪氨酸激酶抑制剂耐药有关^[19]。同时 NPM1 也可以作为靶向治疗的位点^[20]和评估复发的理想标准^[21,22]。

当白血病细胞胞质中存在较多嗜天青颗粒时,应该以细胞形态为基础,协同免疫分型、遗传学和分子生物学,利用 MICM 手段进行正确分型诊断,避免误诊。

参考文献

- 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):2391-2405.
- Hartmut Döhner, Elihu Estey, David Grimwade, et al. Diagnosis and management of AML in adults; 2017 ELN recommendations from an international expert panel[J]. Blood, 2017, 129(4):424-447.
- Haimei Gou, Juan Zhou, Yuanxin Ye, et al. The prevalence and clinical profiles of FLT3-ITD, FLT3-TKD, NPM1, C-KIT, DNMT3A, and

- CEBPA mutations in a cohort of patients with de novo acute myeloid leukemia from southwest China[J]. Tumor Bio, 2016, 37(6):7357-7370.
- Jae-Sook Ahn, Hyeoung-Joon Kim, Yeo-Kyeoung Kim, et al. Assessment of a new genomic classification system in acute myeloid leukemia with a normal karyotype[J]. Oncotarget, 2018, 9(4):4961-4968.
- Kunchala P, Kuravi S, Jensen R, et al. When the good go bad: Mutant NPM1 in acute myeloid leukemia[J]. Blood Rev, 2018, 32(3):167-183.
- Luca F, Brunangelo F. Nucleophosmin mutations in acute myeloid leukemia: A tale of protein unfolding and mislocalization[J]. Protein Sci, 2013, 22(5):545-556.
- Enrico Luchinat, Sara Chiarella, Mimma Franceschini, et al. Identification of a novel nucleophosmin - interaction motif in the tumor suppressor p14arf[J]. FEBS J, 2018, 285(5):832-847.
- 马洪玉, 朱忠勇. 遗传性中性粒细胞髓过氧化物酶缺乏[J]. 福州总医院学报, 2007, 14(3):199-200.
- 卢兴国. 白血病骨髓细胞学检查//卢兴国. 白血病诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社. 2013. 187-188.

(下转第76页)

临床上,对免疫功能低下并发感染且对常规抗感染疗效不佳的患者,应警惕结核感染,并进行常规筛查,如 T-spot、痰涂片及培养、胸片等,初步判断是否存在结核感染;若患者病情反复、疗效不佳且结核感染证据不充分时,应尽早行侵入性或有创性操作如纤维支气管镜、组织活检等以明确病原菌,并及时采取针对性抗菌治疗。血液病患者合并结核感染,若能够及时抗结核治疗效果较好^[14],本文 3 例患者随访至今,无结核复发。

参考文献

- 黄振东,李星鑫,葛美丽,等.重型再生障碍性贫血抗胸腺细胞球蛋白治疗后早期合并结核分枝杆菌感染二例报告及文献复习[J].中华血液学杂志,2018,39(7):593-595.
 - 冯术青,魏中菲,高峰,等.异基因造血干细胞移植术后合并结核分枝杆菌感染二例[J].中华结核和呼吸杂志,2016,39(6):482-483.
 - Dobler CC, Cheung K, Nguyen J, et al. Risk of tuberculosis in patients with solid cancers and haematological malignancies: a systematic review and meta-analysis [J]. Eur Respir J, 2017, 50 (2): 1700157.
 - Kobashi Y, Mouri K, Yagi Y, et al. Clinical features of immunocompromised and nonimmunocompromised patients with pulmonary tuberculosis[J]. J Infect Chemother, 2007, 13(6): 405-410.
 - Chen CY, Sheng WH, Cheng A, et al. Clinical characteristics and outcomes of Mycobacterium tuberculosis disease in adult patients with hematological malignancies [J]. BMC Infect Dis, 2011, 11: 324.
 - Silva FA, Matos JO, de Q Mello FC, et al. Risk factors for and attributable mortality from tuberculosis in patients with hematologic malignancies [J]. Haematologica, 2005, 90(8): 1110-1115.
 - 朱琳,陈韬,宁琴.发热患者中 γ 干扰素释放实验 QuantiFERON-TB Gold In-Tube 不确定结果及影响因素[J].内科急危重症杂志,2019,25(4):292-298.
 - Diamantopoulos PT, Tsilimidos GD, Zervakis K, et al. Evaluation of the performance of tuberculin skin test and Quantiferon-TB gold in tube test in patients with hematologic malignancies. [J]. Infect Dis (Lond), 2017, 49(7): 545-548.
 - Qin LL, Wang QR, Wang Q, et al. T-SPOT. TB for detection of tuberculosis infection among hematological malignancy patients and hematopoietic stem cell transplant recipients [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(12): 7415-7419.
 - Richeldi L, Losi M, D'Amico R, et al. Performance of tests for latent tuberculosis in different groups of immunocompromised patients. [J]. Chest, 2009, 136(1): 198-204.
 - Schito M, Migliori GB, Fletcher HA, et al. Perspectives on advances in tuberculosis diagnostics drugs, and vaccines [J]. Clin Infect Dis, 2015, 61 Suppl 3: S102-18.
 - Cordani S, Manna A, Vignali M, et al. Bronchoalveolar lavage as a diagnostic tool in patients with haematological malignancies and pneumonia [J]. Infez Med, 2008, 16(4): 209-213.
 - 申川,马路园,赵彩彦.感染与非感染之惑的思考与临床实践[J].内科急危重症杂志,2018,24(3):185-187.
 - 李军,蒋孟,羊裔明,等.白血病合并活动性结核病 44 例临床研究-单中心报告[J].中华血液学杂志,2013,34(7):572-577.
- (2019-07-12 收稿 2019-10-23 修回)
-
- (上接第 72 页)
- Rebecca Pohlmann, Parul Bhargava. Acute monoblastic leukemia with abnormal granules and disseminated intravascular coagulation: Diagnostic pitfalls[J]. Am J Hematol, 2009, 84(11): 773-777.
 - 肖继刚,田欣,蔡文宇,等.颗粒性急性淋巴细胞白血病的实验室检查及诊断分析二例[J].中华实验室管理电子杂志,2015,3(4):253-256.
 - 刘艳荣,常艳,阮国瑞,等. NPM1 基因突变阳性急性髓系白血病的免疫表型与临床特征分析[J].中华血液学杂志,2013,34(2):99-103.
 - 汪智琼,黄丽芳,罗莉.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[J].内科急危重症杂志,2019,25(3):246-248.
 - 王琳,赵弘,刘艳,等.急性淋巴细胞白血病治疗相关的伴骨髓红系明显增生的急性髓系白血病病例报告[J].内科急危重症杂志,2019,25(2):169-173.
 - Stein P, Peiper S, Butler D, et al. Granular acute lymphoblastic leukemia[J]. Am J Clin Pathol, 1983, 79(4): 426-430.
 - 董婷,蒋雅先,李正发,等.急性早幼粒细胞白血病的细胞表面免疫分子的检测和分析[J].细胞与分子免疫学杂志,2017,33(5):664-667.
 - Lo-Coco F, Cicconi L, Voso MT. Progress and criticalities in the management of acute promyelocytic leukemia [J]. Oncotarget, 2017, 8(59): 99221-99222.
 - National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Acute Myeloid Leukemia (version 1.2018) EB/OL[Fort Washington: NCCN, 2018-02-07].
 - Okada K, Nogami A, Ishida S, et al. FLT3-ITD induces expression of Pim kinases through STAT5 to confer resistance to the PI3K/Akt pathway inhibitors on leukemic cells by enhancing the mTORC1/Mcl-1 pathway [J]. Oncotarget, 2018, 9(10): 8870-8886.
 - Di Matteo A, Franceschini M, Chiarella S, et al. Molecules that target nucleophosmin for cancer treatment: an update [J]. Oncotarget, 2016, 7(28): 44821-44840.
 - Miglino M, Colombo N, Grasso R, et al. Nucleophosmin gene-based monitoring in de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia with nucleophosmin gene mutations: comparison with cytofluorimetric analysis and study of Wilms tumor gene 1 expression [J]. Leuk Lymphoma, 2012, 53(11): 2214-2217.
 - Adam I, Robert KH, Michael AS, et al. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML [J]. N Engl J Med, 2016, 374(5): 422-433.
- (2018-05-10 收稿 2019-12-30 修回)