

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.17.054

1 例原发性骨髓纤维化白细胞异常增高的病例报道*

马雪莲^{1,3}, 陆必超², 潘玉玲^{1△}

1. 解放军总医院检验科, 北京 100853; 2. 中国康复研究中心检验科, 北京 100068;
3. 河北省涿州市中医医院检验科, 河北涿州 072750

关键词:骨髓增殖性肿瘤; 原发性骨髓纤维化; 骨髓活检; 骨髓细胞形态
中图法分类号:R733.3 **文献标志码:**C **文章编号:**1672-9455(2019)17-2584-04

骨髓增殖性肿瘤(MPN)也称骨髓增殖性疾病,是一类造血干细胞或结缔组织细胞出现异常克隆性增殖的疾病。1951 年 DAMESHEK 将临床上有关联的 4 种疾病:真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)、原发性骨髓纤维化(PMF)和慢性粒细胞白血病(CML)统称为 MPN,WHO 新分类中还包括慢性中性粒细胞白血病和慢性嗜酸性粒细胞白血病。其中 PMF 是一组骨髓造血组织被纤维组织代替而影响正常造血的病理状态。骨髓活检病理学显示骨髓纤维组织大量增生,多伴有髓外造血,临床表现常有肝脾肿大、骨痛、高尿酸血症、恶病质等症状^[1]。PMF 起病缓慢,外周血可出现畸形红细胞如泪滴形红细胞和数量不等的幼稚粒、幼稚红细胞。病程中可与其他 MPN 相互转化,晚期发生骨髓衰竭,少数病例可转化为急性白血病^[2]。白细胞异常升高的骨髓纤维化病例较罕见,且与其他类型的 MPN 较难鉴别,现报道如下。

1 临床资料

患者,男,62 岁,2018 年 5 月体检发现脾大,白细胞异常增高,遂入解放军总医院血液科门诊进行诊疗。肝脏大小形态无异常,脾大,长径 22.0 cm,厚 6.1 cm,超声检查未发现占位性病变。

2 实验室检查及诊断

2.1 血常规及生化检查 血常规:血红蛋白为 120 g/L、红细胞计数为 $4.29 \times 10^{12}/L$ 、白细胞计数为 $100.03 \times 10^9/L$ 、血小板计数为 $325 \times 10^9/L$ 、成熟中性粒细胞百分比为 76%,外周血涂片显示中性中幼粒细胞百分比为 11%,中性晚幼粒细胞百分比为 9%。生化检查:尿酸 467.7 $\mu\text{mol}/L$ 、乳酸脱氢酶 1 027.6 U/L、碱性磷酸酶 147.3 U/L、葡萄糖 6.64 mmol/L、血 β_2 -微球蛋白 0.48 mg/dL、肿瘤标志物 CA15-3 为 94.14 U/mL。

2.2 外周血及骨髓细胞形态学 外周血涂片显示粒

系核左移,并出现幼稚粒细胞(31.5%)、有核红细胞(3:100),可见少量泪滴形红细胞(图 1A)。外周血中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)染色积分升高,达 168 分。骨髓增生明显活跃,有核细胞以粒系为主(93.6%),各阶段可见中性中幼粒细胞及分叶核粒细胞比例增高(19.2%和 30.0%),部分细胞类巨变或核浆发育失衡。巨核细胞各型可见,胞体大小不一(图 1B、C)。骨髓形态学意见为 MPN。

2.3 骨髓活检病理 粒系增生明显,各阶段均增生,幼稚前体细胞稍易见,可见小簇,嗜酸细胞稍易见;红系增生尚活跃;巨核细胞可见胞体偏大,可见多形性(图 1D)。局灶性纤维组织增生明显,Gomori 染色:++~+++ (图 1E)。骨髓活检意见为 MPN(图 1F)。

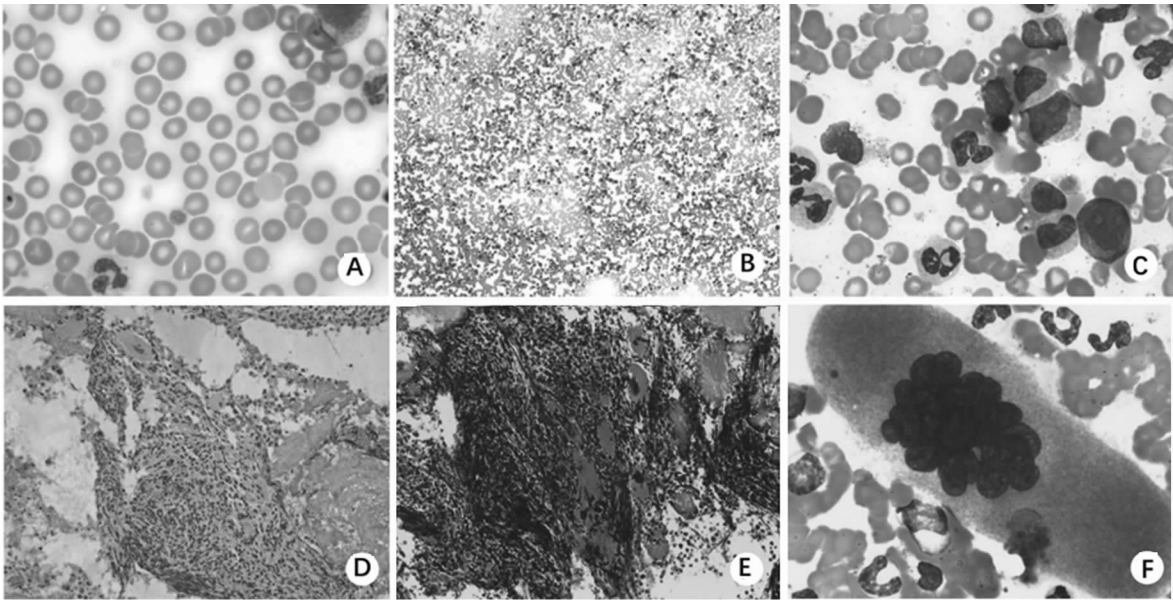
2.4 分子生物学检查 MPN/MDS 相关基因分型: JAK2 V617F (+), AML1/EV11 (-), AML1/ETO (-), AML1/MTG16 (-), BCR/ABL (-), BCR/PDGFR A (-), DEK/CAN (-), FIP1L1/PDGFR A (-), MLL/AF9 (-), MLL/AF6 (-), MLL/AF10 (-), MLL/ELL (-), MLL/MLL (-), MYO/FGFR1 (-), SET/CAN (-), TEL/ABL (-), TEL/PDGFR B (-)。MPN 相关基因突变检测: JAK2 V617F (+), JAK2 K539L1/L2 (-), MPL W515K/A/L/R1/R2/S (-), MPL S505N (-), CALR L367fs * 46 (-), CALR K385fs * 47 (-)。

2.5 免疫分型 CD34(+), CD117(+), CD13(+), CD33(+), HLA-DR(+). 粒细胞为 93.80%,单核细胞为 1.30%,淋巴细胞为 1.73%,幼稚细胞为 1.89%,其他细胞为 0.84%。粒系比例明显增高,CD13、CD16、CD11b 表达关系异常,少量细胞异常表达 CD56。免疫分型意见:粒细胞比例增高伴分化异常,幼稚髓系细胞表型异常,不排除 CML(慢性期)。

2.6 染色体核型分析 染色体核型分析(G 显带)结果是 46,XY(图 2)。

* 基金项目:2016 年解放军总医院科技创新苗圃项目(16KMM47)。

△ 通信作者, E-mail: yulingpan@163.com。



注:A 为外周血涂片(瑞氏染色,×1 000);B 为骨髓涂片(瑞氏染色,×100);C 为骨髓涂片(瑞氏染色,×1 000);D 为骨髓活检(三色染色,×100);E 为骨髓活检(Gomori 染色,×200);F 为骨髓涂片(瑞氏染色,×1 000)

图 1 骨髓、外周血细胞涂片及骨髓活检

2.7 诊断 临床诊断为骨髓纤维化分级见表 1。由于经济问题,患者并未接受临床推荐的骨髓纤维化治疗方案如 JAK 抑制剂,而是选择控制白细胞增多的药物(硫酸羟脲)。

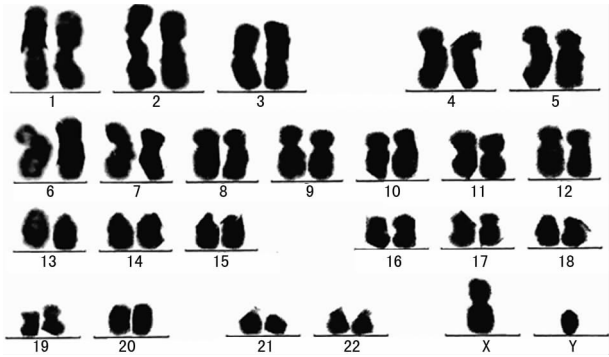


图 2 染色体核型分析(G 显带)

表 1 2016 年 WHO 关于骨髓纤维化的分级

分级	描述
MF-0	分散的线型网硬蛋白、无交叉,相应于正常骨髓
MF-1	疏松的网硬蛋白网、有许多交叉,特别是在血管周围区域
MF-2	网硬蛋白弥漫、密度增加,有广泛交叉,偶见灶性胶原束与胶原伴行和(或)骨硬化
MF-3	网硬蛋白弥漫、致密增加,有广泛交叉,粗胶原束与胶原伴行,常伴骨硬化

3 讨 论

骨髓纤维化是一种造血干细胞克隆性增殖所致的 BCR-ABL 阴性的 MPN,表现为不同程度的血细胞减少和(或)增多,外周血常出现幼稚红、粒细胞,骨髓中可见从轻微到显著不等的纤维化并常伴脾肿大和髓外造血。美国国立综合癌症网络(NCCN)临床实践

指南指出,MPN(2018, V2)诊断参考 2016 年 WHO 髓系肿瘤和急性白血病分类指南,并需要临床表现、细胞遗传学、分子检查及其他实验室检查综合确定^[3]。2016 版 WHO 髓系肿瘤和急性白血病分类指南提出了纤维化早期(pre PMF)和纤维化明显期(overt PMF)的概念,并说明诊断 PMF 需要首先明确 MF 的分级,且须符合 3 个主要标准和至少 1 个次要标准^[4]。主要标准:(1)巨核细胞增生及异型性表现,无显著的网状纤维增多(pre PMF, >MF-1)或伴有网状纤维增多(overt PMF, MF-2~MF-3),巨核细胞改变伴有以粒细胞增生且常有红系造血减低为特征的按年龄调整后的骨髓增生程度增高;(2)不符合 PV、Ph 染色体阳性的慢性髓系白血病、骨髓增生异常综合征或其他髓系肿瘤的 WHO 诊断标准;(3)存在 JAK2 V617F、MPL、CALR 基因突变,如果没有以上突变,需有其他克隆性增殖的证据或不满足反应性骨髓网状纤维增生的最低标准。次要标准(需要重复一次检查):(1)白细胞计数>11×10⁹/L;(2)血清乳酸脱氢酶水平增高;(3)贫血(非其他疾病伴发);(4)可触及的脾肿大。

本案例中患者最初因体检发现脾肿大且血常规白细胞计数异常增高(达 100×10⁹/L),外周血涂片发现约 20%的中、晚幼粒细胞,于是就诊于解放军总医院血液科门诊,临床高度怀疑慢性粒白血病并行骨髓穿刺,行细胞形态学检查、骨髓活检病理、免疫分型及基因分型等相关检查。免疫分型意见是粒细胞比例增高伴分化异常,不除外 CML。细胞形态学显示骨髓中粒系增生明显活跃,占有核细胞的 90%以上,中

性中幼粒及分叶核粒细胞比例增高,部分细胞类巨变或核浆发育失衡,巨核细胞胞体大小不一。外周血涂片可见幼稚红、粒细胞。化学染色结果为 NAP 积分升高。从外周血象及骨髓中以粒系增生显著的形态包括免疫分型来看,似乎符合临床怀疑的 CML,但本例中巨核细胞胞体大及升高的 NAP 积分与慢粒骨髓象中的巨核细胞胞体小及降低的 NAP 积分并不相符。由于骨髓细胞形态学并不典型,因此 MPN 的结论较为肯定,进一步分型则较为困难。随后骨髓活检病理结果表明骨髓粒系明显增生,巨核细胞存在多形性,可见局灶性纤维组织增生,同样符合 MPN 的诊断,但并不能准确分型。有研究表明,超过 90% 的 BCR-ABL(-) 的 MPN 患者均可检测到 JAK2、CALR、LNK 和 MPL 的基因突变,其他 MPN 患者还可存在其他相关突变基因如 TET2、CBL、IKZF1 等,这些基因涉及到相应的信号转导或基因转录通路中^[5-6]。PMF 与 JAK2、CALR 和 MPL 基因突变密切相关,尽管约 90% 的 PMF 患者都至少有一种上述的基因突变,但这些基因突变对于 PMF 并不特异^[1,7]。近 50% 的 PMF 和 ET、95% 的 PV 均发现有 JAK2 V617F 突变^[8]。MPN/MDS 相关基因分型及 MPN 相关基因突变检测结果显示,该患者存在 JAK2 V617F 突变,符合 MPN 的诊断。由于绝大部分的慢粒患者均可检测到 BCR/ABL 融合基因^[3],而该患者 BCR/ABL(-),故结合骨髓形态学可基本排除 CML。

根据 2016 版 WHO 髓系肿瘤和急性白血病分类指南,ET 和 pre PMF 的鉴别可从骨髓细胞形态及骨髓活检出发。对于真正的 ET 患者,年龄调整后的骨髓增生程度无或轻微增高,粒系和红系无显著增生,巨核细胞胞质和细胞核同步增大,体积增大至巨大,细胞核高度分叶,嗜银染色纤维化分级常为 MF-0;而 pre PMF 患者年龄调整后的骨髓增生程度显著增高,粒系显著增生,红系增生减低,巨核细胞细胞核体积的增大超过胞质,体积小至巨大,成簇分布,细胞核低分叶呈云朵状,嗜银染色纤维化分级常为 MF-0 或 MF-1。该患者外周血血小板计数为 $325 \times 10^9/L$,未达到 ET 对于血小板计数的诊断标准(持续 $\geq 450 \times 10^9/L$),骨髓活检和骨髓象的巨核细胞形态也与 ET 不符,因此诊断为 ET 的可能性不大。患者的血红蛋白及红细胞比容等指标不符合 PV 的诊断标准,故不考虑 PV。

综合以上思路及相关证据,临床最终将诊断锁定在 PMF。临床上白细胞增高的 PMF 不难见到,但白细胞如此之高的 PMF 则较为少见。该例 PMF 的骨髓涂片中粒系增生程度及其形态难与慢粒鉴别,免疫

分型也不能排除慢粒。最后通过结合基因分型来排除慢粒,并诊断为 PMF。

NCCN 临床实践指南 MPN(2018. V2)中指出,PMF 患者首先需要根据危险因素进行分层,并使用 MPN 总症状评分表评估症状负担,据此确定治疗方案。作为 JAK1/2 抑制剂,芦可替尼经多个临床试验及研究证明可显著改善不同阶段 PMF 患者的体质性症状,并可显著延长患者的总体生存期^[9-11]。羟基脲是有症状的脾脏肿大患者的首选药物,也用于控制有症状的血小板增多和(或)白细胞增多,该药被写入了 NCCN 最新的指南中。临床向患者推荐了 JAK 抑制剂,不过由于经济问题,患者最后选择接受羟基脲药物治疗以控制升高的白细胞及血小板。使用药物后情况有所好转,血常规结果显示白细胞计数降低至正常范围,但脱离药物后病情出现恶化。

综上所述,MPN 中这几种疾病其实可共同存在甚至相互转化,这样就增加了临床诊断的难度。当某些指标相互冲突时,应紧密结合临床症状、实验室检查、细胞遗传学等进行综合判断。

参考文献

- [1] TEFFERI A. Erratum to primary myelofibrosis:2013 update on diagnosis,risk-stratification,and management[J]. Am J Hematol,2013,88(2):141-150.
- [2] 洪鸣,徐卫,李建勇. 原发性骨髓纤维化的诊断和鉴别诊断[J]. 内科急危重症杂志,2009,15(2):68-70.
- [3] MESA A R. NCCN guidelines insights:myeloproliferative neoplasms,version 2.2018[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017,15(10):1193-1207.
- [4] ARBER D A, 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.
- [5] TEFFERI A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms:JAK2, MPL,TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1[J]. Leukemia,2010,24(6):1128-1138.
- [6] KLAMPFI T. Genome integrity of myeloproliferative neoplasms in chronic phase and during disease progression [J]. Blood,2011,118(1):167-176.
- [7] TEFFERI A, LASHO T L, FINKE C M, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons [J]. Leukemia,2014,28(7):1472-1477.
- [8] JUDITH S, CONSTANTINESCU S N. The JAK-STAT pathway and hematopoietic stem cells from the JAK2 V617F perspective[J]. JAKSTAT,2012,1(3):184-190.
- [9] VERSTOVSEK S, MESA R A, GOTLIB J, et al. A doub-

le-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis[J]. N Engl J Med, 2012, 366(9):799-807.

[10] PASSAMONTI F. Impact of ruxolitinib on the natural history of primary myelofibrosis: a comparison of the DIPSS and the COMFORT-2 cohorts[J]. Blood, 2014, 123(12):1833-1835.

[11] GUGLIELMELLI P. Impact of mutational status on outcomes in myelofibrosis patients treated with ruxolitinib in the COMFORT- II study[J]. Blood, 2014, 123(14):2157-2160.

(收稿日期:2019-02-24 修回日期:2019-05-12)

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.17.055

1 例内脏利什曼病的病例报道并文献复习

黄本林,段 勇[△]

昆明医科大学第一附属医院检验科/云南省检验医学重点实验室/云南省实验诊断研究所,云南昆明 650032

关键词:利什曼病; 杜利小体; 骨髓穿刺; 马尔尼菲青霉菌; 组织胞浆菌病
中图法分类号:R446.1 **文献标志码:**C **文章编号:**1672-9455(2019)17-2587-02

内脏利什曼病也称黑热病,是我国主要的利什曼病类型,由杜氏利什曼原虫和婴儿利什曼原虫感染所引起的全身性疾病。随着我国卫生防疫工作的大力推进,近年来利什曼病发病率已显著降低,发病率较高的地区如新疆维吾尔自治区、甘肃省、四川省等流行区依然有部分病例报道。云南省作为非流行区域,此种病例更是较为罕见,本文将本院诊断的 1 例内脏利什曼病报道分析如下,旨在为同行们提供借鉴经验。

1 临床资料

患者,女,36 岁,因“反复发热,皮肤黄染伴恶心、腹胀 2 个月”于 2018 年 12 月入住本院消化内科。患者诉 2018 年 10 月因淋雨受凉后出现发热,最高体温 40℃,伴恶心、腹胀、乏力,全身皮肤黏膜、双眼巩膜黄染等不适。查体:全身皮肤黏膜、双眼巩膜中度黄染,腹膨隆,肝脏触诊不满意,脾脏轻度肿大,实验室检查:天门冬氨酸氨基转移酶为 138.6 IU/L,丙氨酸氨基转移酶为 169.6 IU/L,总胆红素为 155.8 μmol/L,直接胆红素为 140.0 μmol/L,间接胆红素为 15.8 μmol/L,白细胞计数为 1.64×10⁹/L,红细胞计数为 2.76×10¹²/L,血红蛋白为 70.0 g/L,血小板计数为 38×10⁹/L;抗核抗体:ANA 阳性(1:80),SmD1 阳性,U1-RNP 阳性;腹部 CT 提示脾脏增大,肝硬化,门静脉增宽。考虑诊断为:(1)原发性胆汁淤积性肝硬化失代偿期;(2)巨脾及全血细胞减少,予“保肝、激素”等治疗后缓解出院。后因病情复发于 2019 年 1 月至本院风湿免疫科就诊,查体:皮肤黏膜黄染,双上肢皮肤片状瘀斑,脾脏高度肿大;实验室检查:白细胞 0.89×10⁹/L,红细胞计数 2.65×10¹²/L,血红蛋白 68.0 g/L,血小板计数 14×10⁹/L。实验室检查:抗双链 DNA 抗体(dsDNA) 19 IU/mL,抗心磷脂总抗体

29.25 RU/mL,抗心磷脂 IgM 抗体(PL-IgM) 15.42 U/mL,免疫球蛋白 G(IgG) 47.5 g/L,补体 C3 0.44 g/L,补体 C4 0.09 g/L,类风湿因子(RF)-IgA 51.25 RU/mL,RF-IgM 367.66 RU/mL,RF-IgG 21.29 RU/mL。初步诊断为:系统性红斑狼疮,血液系统受累;慢加急性肝衰竭,给予激素(甲泼尼龙)、抗感染、升白细胞等治疗。出院后病情控制欠佳,多次复发伴鼻腔出血,发热寒战,于 2019 年 1 月再次急诊入院,查血小板计数为 10×10⁹/L,仔细询问病史得知该患者长期居住在山西省阳泉市,考虑可能是感染性疾病,遂行骨髓穿刺检查,镜下查见椭圆形利-杜小体(图 1)。根据可疑流行病学史、临床表现及病原学检查结果,诊断为黑热病。立即转至云南省传染病院进一步治疗,给予“锑剂联合两性霉素 B”治疗 6 d 后,发热、恶心等症状好转,实验室检查:白细胞计数为 3.15×10⁹/L,红细胞计数为 4.65×10¹²/L,血红蛋白为 70.0 g/L,血小板计数为 15×10⁹/L,继续给予血小板输注、抗感染等治疗。治疗第 16 天患者出现鼻腔、消化道出血,血小板计数为 2×10⁹/L,抢救无效死亡。

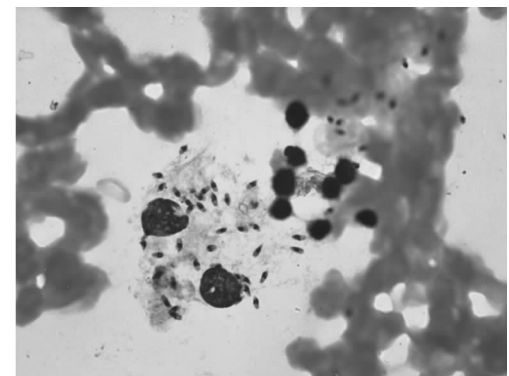


图 1 利-杜小体瑞氏-姬姆萨染色(×1 000)

[△] 通信作者, E-mail: duanyong7@139.com。