

分型困难白血病的临床研究

林金盈, 王滨琴, 周瑞莲, 黄新翔, 蓝梅

基金项目: 广西卫计委科研课题(编号:Z2008057;Z2009133)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院血液内科

作者简介: 林金盈(1965-),女,大学本科,硕士学位,主任医师,研究方向:白血病的诊断与治疗。E-mail:jinyinglin@sina.com

通讯作者: 王滨琴(1985-),女,医学硕士,主治医师,研究方向:临床血液病的诊断与治疗。E-mail:wangbangqin@hotmail.com

[摘要] **目的** 总结分型困难白血病诊断的经验及教训,进一步提高白血病诊治水平。**方法** 回顾性分析近5年来我科诊治分型困难的白血病患者骨髓细胞形态学(Morphology, M)与免疫学(Immunology, I)、细胞遗传学(Cytogenetics, c)及分子生物学(Molecular biology, M)分型,即MICM分型的各项检验结果。**结果** 住院确诊的白血病人463例,其中10例患者各检验结果出现不完全一致;细胞形态学和免疫学分型诊断为急性早幼粒细胞白血病(AML-M₃, APL),而荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检查PML/RAR α 融合基因(-)2例;细胞形态学不能确定分型3例;细胞形态学诊断为急性髓性白血病部分分化型(AML-M₂),而免疫学诊断为APL 2例、AML-M₂/APL 1例;细胞形态学诊断为慢性粒细胞白血病(CML),而免疫学考虑为急性白血病(AL)1例;细胞形态学诊断为急性髓性白血病未分化型(AML-M₁),而免疫学考虑急性髓性白血病未分化型/微分化型(AML-M₁/M₀)伴随淋巴细胞系表达, FISH BCR/ABL融合基因(+)1例。**结论** 白血病的MICM分型有时各项结果不尽相同, M₂与M₃、急性淋巴细胞白血病(ALL)与M₀或M₁在形态学、免疫学上不易鉴别,需综合分析方能得出正确诊断。

[关键词] 分型困难; 白血病; MICM分型

[中图分类号] R 733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2017)04-0318-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2017.04.07

Clinical research of difficultly classified leukemia LIN Jin-ying, WANG Bang-qin, ZHOU Rui-lian, et al. Department of Haematology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To improve the accuracy of diagnosis and treatments of leukemia being hard to define the types of leukemia by using MICM classification. **Methods** The data of leukemia patients were retrospectively analyzed, whose diseases were difficult to diagnose through MICM(Morphology, Immunology, Cytogenetics, and Molecular biology) classification in the past five years in the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region. **Results** Of the four hundred and sixty-three leukemia patients enrolled in the study, ten cases were difficult to be diagnosed in whom two cases were diagnosed with acute promyelocytic leukemia(AML-M₃, APL) by morphology and immunology classification, but the fluorescence in situ hybridization(FISH) of PML/RAR α fusion gene was negative, and three cases were unidentified through morphology classification, and two cases were classified as acute promyelocytic leukemia(APL) and one case as acute myeloblastic leukemia with significant maturation or acute promyelocytic leukemia(AML-M₂/APL) by immunology classification, but by morphology classification, they were defined as AML-M₂; one case showed chronic granulocytic leukemia(CML) on morphology classification, but acute leukemia(AL) on immunology classification; one case was diagnosed with acute myeloblastic leukemia with minimal maturation(AML-M₁) by morphology classification, but in immunology classification, it was considered as acute myeloblastic leukemia with minimal maturation or without cytologic maturation(AML-M₁/M₀) with lymphocytic series expressions, and FISH of BCR/ABL fusion gene was positive. **Conclusion** Morphology, immunology, cytogenetics, and molecular biology classification of leukemia may lead to different diagnostic results in the same patient. It is hard to define AML-M₂ and AML-M₃, ALL, AML-M₀ and AML-M₁ through morphology and immunology classification. It needs comprehensive analysis to diagnose the types of leukemia.

[Key words] Classification difficulty; Leukemia; MICM Classification

白血病是造血干细胞或祖细胞基因异常改变引起的一组异质性的恶性克隆性疾病,类型较多,治疗方法有明显差异,预后也从难以治愈到完全治愈不等。因此,及时明确诊断与分型有着重要意义。随着基础医学的发展,分子生物学、遗传细胞学、免疫学等研究的深入,使得白血病的诊断与治疗指南也在不断地更新改进,对认识疾病的本质、发病机制和生物学特性有重要意义,对指导临床治疗和预后判断也有重要价值。2001 年世界卫生组织(WHO)提出了联合细胞形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学的分型(即 MICM 分型),已被很多三甲级医院采用。根据 MICM 分型的要求,由于同一种疾病要从不同的角度、不同的检验水平加以验证,因此,在临床实际工作中会遇到这样的问题:同一个病人骨髓细胞形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学等不同的检验项目,结果不尽相同,甚至出现相互矛盾情况,需要临床医师进行综合分析,方能正确判读检验结果。本文就近 5 年我院住院确诊的白血病患者中,对 MICM 分型各种检验结果出现不完全一致的病例进行分析、总结如下。

表 1 10 例分型困难的白血病患者人的 MICM 分型

病 例	形态学诊断	FISH	染色体核型分析	免疫学分型	临床诊断
1	APL	PML/RARa 融合基因(-)	46,XY,t(11,17)	考虑 APL	APL(变异型)
2	可见 43% 的分类不明细胞	PML/RARa 融合基因(-)	46,XY	符合 AML-M ₂	AML-M ₂
3	APL	PML/RARa 融合基因(-)	46,XY	拟为急性髓系白血病	AML-M ₂
4	考虑 APL,不除外 AML-M ₂	PML/RARa 融合基因(-)	46,XX[20]	拟为 AML-M ₂	AML-M ₂
5	考虑 AML,不除外 APL	PML/RARa 融合基因(+)	46,XY,t(15,17)	拟为 AML-M ₂	APL
6	AML-M ₂	PML/RARa 融合基因(-)	46,XX[20]	为髓系幼稚细胞,AML-M ₂ /APL	AML-M ₂
7	考虑 AML-M ₂	PML/RARa 融合基因(-)	46,XX[20]	考虑 APL	AML-M ₂
8	AML-M ₂	PML/RARa 融合基因(-)	46,XY	考虑 APL	AML-M ₂
9	CML	BCR/ABL 融合基因(-)	46,XY	不除外 AL	aCML
10	AML-M ₁	BCR/ABL 融合基因(+)	46,XY,t(9;22)	考虑 AML-M ₁ /M ₀ 伴随淋巴 巴细胞系表达	ALL(Ph 染色体阳性)

2.2 治疗结果 10 例中,1 例 APL(变异型)治疗半年后复发,死亡;1 例 ALL(Ph 染色体阳性)治疗半年后死于肺部感染;2 例 M₂ 病人放弃治疗;1 例治疗 1 疗程后缓解,失访。2 例 M₂ 病人治疗缓解后复发,死亡。1 例 APL、1 例 M₂、1 例 aCML 随访至今病人仍处于缓解状态。

2.3 典型病例治疗结果介绍

病例 1:临床诊断 APL(变异型),治疗初始予全反式维甲酸诱导缓解 6 周,复查骨髓未缓解,随后 DA[柔红霉素 60 mg/(m²·d),第 1~3 天,阿糖胞苷 100 mg/(m²·d),第 1~7 天]方案一疗程后达部分缓解,改 MA[米托蒽醌 7 mg/(m²·d),第 1~3 天,阿糖胞苷 200 mg/(m²·d),第 1~7 天]方案化

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择的病例为 2011-01~2015-12 在我院血液科住院确诊的白血病患者 463 例,其中男 251 例,女 212 例,年龄 16~79 岁,诊断及疗效标准参照张之南等主编《血液病诊断及疗效标准》^[1]。

1.2 研究方法 回顾性分析 463 例白血病患者中每一例患者骨髓细胞形态学与免疫学、染色体核型及分子生物学分型、最终诊断及治疗效果等。

2 结果

2.1 分析结果 463 例中 10 例患者 MICM 分型各种检验结果出现不完全一致:细胞形态学和免疫学分型诊断为急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia,APL),而 FISH 检查 PML/RARa 融合基因(-)2 例;细胞形态学不能确定分型 3 例;细胞形态学诊断为急性髓性白血病部分分化型(acute myelocytic leukemia,AML-M₂),而免疫学诊断为 APL 2 例、AML-M₂/APL 1 例;细胞形态学诊断为 CML,而免疫学考虑为 AL 1 例;细胞形态学诊断为 AML-M₁,而免疫学诊断为 AML-M₁/M₀ 伴随淋巴巴细胞系表达,FISH BCR/ABL 融合基因(+)1 例。见表 1。

疗后达完全缓解,治疗半年后复发,死亡。
病例 10:初步诊为 AML-M₁,予 DA 方案化疗一疗程,未缓解,待各项结果回后修正诊断为 ALL,予 VDCPL[长春新碱 2 mg,第 1、8、15、22 天;柔红霉素 40 mg/m²,第 1~3、15~17 天,左旋门冬酰胺酶 6 000 U/m²,第 11、14、17、20、23、26 天,环磷酰胺 750 mg/m²,第 1、15 天,强的松 1 mg/(kg·d)]及伊马替尼治疗后缓解,随后病人合并重度感染,未能按时完成化疗,半年后死于肺部感染。

3 讨论

3.1 急性髓系白血病中 AML-M₂ 及 APL(即 FAB 分型的 AML-M₃)从形态学诊断上易出现混淆。本文病例 1 至病例 8 均结合骨髓细胞形态学、免疫学、

细胞遗传学和分子生物学方能做出诊断。FAB 分型中 APL 的诊断以早幼粒细胞 $>30\%$ 为主要诊断标准之一,而急性髓细胞白血病- M_2 的诊断标准以早幼粒细胞 $>10\%$ 为主要诊断标准之一,有的 AML- M_2 的病人骨髓细胞胞浆的颗粒较粗,而有的 AML- M_3 的病人骨髓细胞胞浆也可能是细颗粒,仅从肉眼判断难以相互区别。因此,两种类型的白血病分型在骨髓细胞形态学上有时不易鉴别:病例 1~8 的 8 例病人中,骨髓细胞学检查提示 APL 2 例,仅 1 例符合 APL(变异型)诊断,另一例诊断为 AML- M_2 ;分类不明及不能区分 AML- M_2 还是 APL 3 例,其中 2 例最终诊断为 AML- M_2 ,1 例诊为 APL。

3.2 APL 的特征性免疫表型为髓系抗原 CD_{13}^+ 、 CD_{33}^+ 、 CD_{117}^+ ,早期抗原 CD_{34} 和 HLA-DR 一般不表达或仅有少数白血病细胞表达^[2],而其他类型 AML 多为 CD_{34}^+ 、HLA-DR⁺。骨髓细胞形态学检查及免疫学检查在 AML- M_2 及 APL 分型方面的特异性不强,需联合细胞遗传学、分子生物学方面依据,四种检查联合应用方可以协助诊断分型。2001 年及 2008 年 WHO 分型均强调 APL 确诊的主要依据为 17 号染色体的 RARa 基因异常改变^[3],包括经典的 $t(15;17)(q22;q12-21)$ 形成的 PML-RARa 融合基因、 $t(11;17)(q23;q21)$ 形成的 PLZF-RARa 融合基因、 $t(11;17)(q13;q21)$ 形成的 NuMA-RARa 融合基因、 $t(5;17)(q32;q12)$ 形成的 NPM-RARa 融合基因、 $del(17q)$ 形成的 Stat5b-RARa 融合基因等。已有多项临床研究证明^[4,5],伴 $t(15;17)(q22;q12-21)$ 或 PML-RARa 融合基因阳性的 APL 患者,绝大多数对全反式维甲酸(ATRA)治疗有反应,联合蒽环类药物等规范性治疗可治愈,而变异型 APL 用 ATRA 治疗无效或疗效欠佳,其治疗方案与 AML- M_2 相同,预后均较差,难以治愈^[6,7]。本文中,病例 1 为 APL 变异型,经染色体核型分析发现存在 11 号与 17 号染色体发生易位,虽然经规范治疗并未获长期存活,与其他类型的 AML 治疗效果基本一致,与文献报道相符。

3.3 2001 年 WHO 将骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病(MDS/MPD)分为 4 种疾病:慢性粒-单核细胞白血病(CMML),不典型慢性髓系白血病(aCML),幼年型粒-单核细胞白血病,骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病(不能分类)。这类疾病在骨髓细胞形态学、免疫学等鉴别有困难,他们以 BCR/ABL 融合基因阴性作为 MDS/MPD 与慢性粒细胞白血病相鉴别的主要依据^[8]。病例 9 中,骨髓原始细胞数 $<20\%$,BCR/ABL 融合基因阴性,染色体核型分析正常,Ph

染色体阴性,结合其外周血 WBC 增多,以中性粒细胞增多为主,且单核细胞比例不高,最终诊断为 aCML,本病预后差,伊马替尼等治疗无效。如果没有做 BCR/ABL 融合基因检测及染色体核型分析,这类病人易误诊为 CML。

3.4 病例 10 初始细胞形态学诊断为 AML- M_1 ,免疫学分型提示 R3 占 68.66%,表达 CD_{33} 、 CD_{34} 、 CD_{38} 、HLA-DR、 CD_{13} 、 CD_{19} 、 CD_{123} ,部分表达 CD_{117} 、 CD_{10} 、 CD_9 ,考虑 AML- M_1/M_0 伴随淋巴细胞系表达,但 BCR/ABL 融合基因阳性,染色体核型分析可见 Ph 染色体。本病例诊断的难点在于 ALL 与 M_1 、 M_0 在细胞形态学上难以区别:胞浆可以都没有颗粒或有少许颗粒,原始细胞核肉眼下区别不大。因此,POX 或 MPO 是临床最常用和最有价值的鉴别白血病类型的细胞化学染色方法,是鉴别 ALL 和 AML 的重要指标。急性白血病时,POX 反应强弱顺序为 $M_3 > M_{2b} > M_{2a} > M_6 > M_4 > M_1 > M_5 > ALL$ 。50 年代至今有人主张 $POX <3\%$ 或 $<5\%$ 为 ALL,本病例 POX 阳性细胞 3.6%,加之 PAS 特异性不高。因此,无论从骨髓细胞形态还是免疫组化上分析,都不能区分 ALL 还是 AML。

3.5 在免疫学分型方面,白血病细胞毕竟不是正常造血细胞,其抗原表达与正常造血细胞并不完全相同,常有丢失某一分化发育阶段正常应有的抗原,或表达某一分化发育阶段正常不应有的抗原,或表达其他系列抗原或跨系表达。病例 10 缺乏 B 淋巴细胞系(cCD_{79})、髓系(MPO)系列特异性指标,但同时共同表达淋系(表达 CD_{19} 和部分 CD_{10})、髓系(CD_{13} 、 CD_{33})。因此,细胞免疫学分型也不能区分是 ALL 还是 AML。但 FISH 检查提示 BCR/ABL 融合基因(+),常规染色体检查核型:46,XY, $t(9;22)$ 。成人 ALL 伴 Ph 染色体阳性 25%,而 $t(9;22)$ 在初治急性髓细胞白血病的发生率占 1%,因此,Ph 染色体阳性更多见于 ALL^[9],结合病人骨髓 POX 阳性细胞数较低,仅为 3.6%。故诊断这为 ALL(Ph 染色体阳性),最终患者以急淋化疗方案化疗后骨髓缓解。

3.6 骨髓细胞形态学、细胞免疫学提示 M_0 、 M_1 ,但免疫表型提示双表达的病人、骨髓 POX 阳性细胞比例较低,均应做染色体核型分析、BCR/ABL 融合基因检测等,除外 ALL。血液系统疾病类型较多,临床表现复杂,治疗方法有明显差异,预后也从难以治愈到完全治愈不等。血液系统疾病往往需要多种实验室检查联合进行诊断,而最为常用、重要的细胞形态学检查存在很大的主观性,易出现误诊、漏诊而影响

患者预后,各检验结果不一致,甚至相互矛盾,在临床工作中较为常见。合格的血液内科医生不仅要具备血液临床知识,还应有较好的实验室基础,了解每项实验室检查的特异性、敏感性以及局限性,具有对各项检查结果进行综合判断的能力,才能对疾病做出正确的诊断,从而利于疾病的治疗。

总之,白血病的 MICM 分型有时各项结果不尽相同, M_2 与 M_3 、ALL 与 M_0 或 M_1 在形态学、免疫学上均不易鉴别,需综合分析方能做出正确诊断。

参考文献

1 张之南,沈 悌主编.血液病诊断及疗效标准[M].北京:科学出版社,2007;103-163.

2 马 军,王建祥主编.造血系统疾病临床诊疗规范教程[M].北京:北京大学医学出版社,2009;157.

3 Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood,2009,114(5):937-951.

4 Burnett AK, Russell NH, Hills RK, et al. Arsenic trioxide and all-trans retinoic acid treatment for acute promyelocytic leukaemia in all risk groups(AML17): results of a randomised, controlled, phase 3 trial[J]. Lancet Oncol,2015,16(13):1295-1305.

5 Lou Y, Ma Y, Suo S, et al. Prognostic factors of patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide-based frontline therapy[J]. Leuk Res,2015,39(9):938-944.

6 Redner RL. Variations on a theme: the alternate translocations in APL[J]. Leukemia, 2002,16(10):1927-1932.

7 Lou Y, Ma Y, Sun J, et al. Evaluating frequency of PML-RARA mutations and conferring resistance to arsenic trioxide-based therapy in relapsed acute promyelocytic leukemia patients[J]. Ann Hematol, 2015,94(11):1829-1837.

8 Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms[J]. Blood,2002,100(7):2292-2302.

9 Madashira Gopal M, Kotwal J, Kapoor R. Acute Myeloid Leukemia with BCR/ABL Fusion Chimera[J]. Indian J Hematol Blood Transfus. 2014,30(1):280-282.

[收稿日期 2016-09-13][本文编辑 蓝斯琪]

博硕论坛·论著

放疗与低剂量奈达铂化疗联合治疗老年食管癌的临床研究

郭伟华, 段仁慧

作者单位: 453000 河南,新乡市中心医院肿瘤科
作者简介: 郭伟华(1984-),女,医学硕士,主治医师,研究方向:恶性肿瘤的综合治疗。E-mail:2658200988@qq.com

[摘要] 目的 探讨放疗与低剂量奈达铂化疗联合治疗老年食管癌的临床效果。**方法** 选取 124 例老年中晚期食管癌患者为研究对象,按随机数字表法将患者分为三组:单纯放疗的患者为单放组 40 例,放疗联合低剂量(20 mg/m^2)奈达铂治疗的患者为放化 1 组 42 例,放疗联合高剂量(30 mg/m^2)奈达铂治疗的患者为放化 2 组 42 例。治疗 2 个月 after 比较三组临床近期疗效,并观察三组治疗期间毒副反应发生情况。**结果** 三组近期疗效比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中放化 1 组疗效最佳,放化 2 组次之,单放组疗效最差。三组 I~II 度、III~IV 度恶心或呕吐、I~II 度放射性肺炎、I~II 度放射性食管炎发生率比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中放化 2 组发生率明显高于单放组和放化 1 组($P<0.05$);放化 2 组 III~IV 度食欲减退、III~IV 度放射性食管炎、III~IV 度骨髓抑制发生率明显高于单放组($P<0.05$);而放化 1 组仅 III~IV 度食欲减退、III~IV 度骨髓抑制发生率明显高于单放组($P<0.05$);单放组和放化 1 组毒副反应以 I~II 为主,经对症治疗后干预后均可明显缓解。**结论** 与单纯放疗、放疗联合高剂量奈达铂化疗相比,放疗同步低剂量奈达铂化疗治疗老年食管癌近期疗效更显著,毒副反应轻微,更安全可靠。

[关键词] 放疗; 低剂量; 奈达铂; 化疗; 老年食管癌
[中图分类号] R 735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2017)04-0321-04
doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2017.04.08