

骨髓活检与骨髓细胞学相结合 在现代血液病诊断中的意义

蔺金军 赵鸿薇 魏军龙 陈辉树

作者单位:745700 庆阳市,甘肃省环县人民医院内科(蔺金军),检验科(赵鸿薇 魏军龙)

300384 天津市,天津金域医学检验所病理诊断中心(陈辉树)

通讯作者:陈辉树, E-mail: chenhs@sina.com.cn

【摘要】 随着骨髓活检与骨髓细胞学在血液病诊断中不断应用,尤其两者同步进行,相互结合、相互补充在综合诊断血液系统疾病方面发挥了重要作用,临床诊断准确率明显提高,成为现代血液病诊断的基础。

【关键词】 骨髓活检;骨髓细胞学;相结合;血液病诊断;意义

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.014

骨髓活检(bone marrow biopsy, BMB)在我国血液病诊断中的应用已60余年了^[1,2],从传统的石蜡包埋切片到二十世纪80年代的塑料包埋切片,从选择性骨髓活检到每一例患者同步进行骨髓细胞学(bone marrow cytology, BMA)检查和BMB,发挥了二者各自的优点,对血液肿瘤、包括淋巴瘤侵犯骨髓、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、骨髓转移性肿瘤和再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)等都起到了极其重要的作用。

1 BMA与BMB组织形态学检查相结合是现代血液病诊断的基础

现代血液病诊疗医学进入了“精准诊断与精准治疗”时代,血液病诊断采用国际通用的形态学(M)、免疫学(I)、细胞遗传学(C)和分子生物学(M)相结合即“MICM”诊断模式^[3,4]。首先,形态学(骨髓细胞形态学和骨髓组织形态学)是基础,因占很大比例的良性血液病常常没有遗传学及表型异常,良性血液病主要根据外周血和骨髓形态学确定为某种疾病即可得以相应治疗。即便是全血细胞减少的疾病,其中很大部分是AA,脾功能亢进(如门脉高压性)或营养性贫血,这些疾病并没有重现性染色体异常。即便是恶性血液病的遗传学异常也不是100%存在的,例如早幼粒细胞白血病[PML-RARα融合基因有t(15;17)(q22;q12)易位占急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)7%、AML(M2b)-ETO融合基因有t(8;21)(q22;q22)易位的占AML14%,AML(M4Eo)CBFβ-MYH11融合基因有inv(16)(p13;q22)或t(16;16)(p13;q22)易位各占全部AML的5%~8%]。另一方面慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)BCR/ABL

有t(9;22)(q34;q11)易位,为典型的CML90%~95%的遗传学特征,但其亦见于成人急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)(15%~30%)及儿童ALL(2%~5%),此时BMA和BMB结合免疫组化诊断CML和ALL简便易行。另三种骨髓增殖性肿瘤JAK2V617基因检出率分别为真性红细胞增多症95%,原发性血小板增多症50%,原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)50%,但这三种血液肿瘤如无JAK2V617及外显子exon12, LNK, MPLW515L, CALR, ASXL1, TET2, SRSF2及IDH1/2时,需要结合临床表现、血象、BMA形态及BMB组织形态诊断^[5],更进一步说明BMA和BMB在血液病诊断中的重要性。

AA传统的诊断标准为外周血粒、红和血小板三系(全血细胞)减少,其中网织红细胞<1%,中性粒细胞<0.5×10⁹/L,血小板<20×10⁹/L,成熟小淋巴细胞相对增多>50%。BMA和BMB均显示有核细胞增生极度减低,不见巨核细胞,脂肪细胞及非造血细胞增多。但采用BMB+免疫组化CD34(干细胞)、CD117(祖细胞)及CD61(巨核细胞/血小板)抗体染色排除低增生性MDS之后,再诊断为AA并行相应治疗,可避免“AA”经“ATG/环孢菌素,甚至GM-CSF”治疗一段时间后发生急性白血病的可能性。因为此种AA可能是由于潜在的突变基因未被发现而当作AA进行免疫抑制治疗,破坏了机体免疫防卫系统,激活了突变的癌基因而发病。

再有,巨幼细胞性贫血(megaloblastic anemia, MA)可表现为全血细胞减少,在MA诊断中骨髓涂片优于BMB^[6]。根据外周血示贫血或全血减少,MCV>100fl,叶酸和维生素B₁₂降低。骨髓涂片呈巨幼细胞改变即可诊断,BMB不能单独明

确诊,但 BMB 免疫组化排除 MDS 后,并结合补充叶酸和维生素 B₁₂ 后血象恢复正常即可证实为本病。

2 BMA 结合 BMB 及免疫组化在血液肿瘤诊断中的意义

血液肿瘤包括髓系肿瘤和淋系肿瘤两大类,WHO 髓系与淋系肿瘤病理与遗传学分类标准 2016 年版^[7]除增加较多新的分子遗传学标志外,形态学分类变化不大。

2.1 AML 按照 2008 年版 WHO 髓系肿瘤病理与遗传学分类标准^[8],必须结合免疫表型,染色体核型/融合基因原位杂交/RT-PCR 检测结果,才能对 AML 进行血液病理及遗传学分类诊断。对 AML、MDS、MPN 和 MD/MPN 用 BMA 瑞氏染色进行传统的 FAB 形态学分型。虽然有免疫组化和流式分析,但某些细胞化学检测 AML-M₄、M₅、M₆、M₀,微分化白血病等仍有辅助诊断意义。因 BMB 结合免疫组化能明确 AML 的诊断,但不易区分 AML 的 FAB 各亚型^[9]。对白血病化疗后临床疗效监测,BMB 优于骨髓涂片,但最准确还是流式细胞分析结果。

2.2 CML(CML-BCR/ABL+) ①根据外周血白细胞 $\geq 100 \times 10^9/L$ 和分类中性粒细胞(中晚幼粒细胞比例)显著增多,嗜碱性粒细胞及嗜酸性粒细胞增多,单核细胞计数 $< 10\%$ 。血小板计数正常或显著增多(但不减低),BMA 示各阶段粒系细胞显著增多,分化正常,原始细胞 $< 5\%$ 。BMB 示粒系细胞增生极度活跃,无脂肪细胞,红系细胞很少,以单圆核巨核细胞为主是其特征。免疫组化显示 CD34 和/CD117 散在少数(+),CD61 主要为单圆核巨核细胞(+),90%~95% ph 染色体(+),及 BCR/ABL 融合基因(+),即可诊断本病^[10]。②如果免疫组化显示 CD34 和/CD117 散在(+),或散在多(+)即为 CML 加速期或急性髓细胞变。如果 CD34+、TdT+、CD20+/CD3+即为 T/B-ALL 变。③如血红蛋白和血小板减少,外周血 WBC $\geq 25 \times 10^9/L$,晚幼阶段以上幼稚粒细胞 $\geq 10\%$,原粒细胞 $< 20\%$,BMA 有病态造血,BCR/ABL(-)即为不典型 CML [aCML-BCR/ABL(-)]。

2.3 ALL 淋巴母细胞淋巴瘤/ALL 分为 T 细胞和 B 细胞两大类,即 T 和 B-LBL/ALL,各年龄均可发病,BMA 示淋巴母细胞 $\geq 25\%$ 即为 ALL,75%ALL 发生在 6 岁以下儿童,T-ALL 占儿童 ALL 的 15%。BMA 原始淋巴细胞胞体小至中等大,胞质少或中等呈浅灰蓝色。核染色质弥散,核仁多个。细胞化学染色胞质磷酸酶和糖原染色(+),如胞质有空泡者(FAB 分类为 ALL-L3),现为 Burkitt 淋巴瘤/白血病,不属于 ALL(因 TdT-);BMB 示 ALL 中等大小的淋巴母细胞弥漫性均一性增生,粒、红及巨核系细胞相对减少或缺乏。BMB 免疫组化示 TdT+,CD34+,如同时 CD20 或/和 CD79 等 B 标记阳性为 B-ALL,同时 CD10+为普通型 B-ALL;如同时 CD3 或/CD2 等 T 标记阳性为 T-ALL。后者没有重现性染色体异常,B-ALL 除一种非特指性的 B-ALL 外,还有 7 种伴遗传学异常的 B-

ALL [依次为 B-ALL 伴 t(9;22)(q34;q11.2);BCR-ABL,B-ALL 伴 t(v;11q23);MLL 重排,B-ALL 伴 t(12;21)(p13;q22);TEL-AML1 (ETV6-RUNX1),B-ALL 伴超二倍体,B-ALL 伴亚二倍体,B-ALL 伴 t(5;14)(q31;q32);IL3-IGH,B-ALL 伴 t(1;19)(q23;p13.3);E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)]。一般结合免疫组化,流式细胞分析和分子遗传学检测即可明确诊断与分型。急性系列未明白血病的免疫表型必须由流式细胞术检测确定。

2.4 MDS BMA 瑞氏染色分类不但可以确定原始细胞数量(1%~19%),还可确定髓系一系、两系或多系细胞发育异常(国内称病态造血)。粒、红系病态造血细胞分别占各系的 10%。随机计数 100 个巨核细胞,其中圆核巨核细胞(单圆、双圆、多圆核及淋巴样巨核细胞)必须 $\geq 30\%$ 才反映巨核细胞病态造血。文献报告病态改变细胞也可见于血细胞不减少的那一系。根据外周血原始细胞比例和 BMA 原始细胞比例将 MDS 分为 RA,RAEB I 和 RAEB II;而流式细胞术可显示原始/幼稚细胞数量及表型,还可显示髓系细胞分化异常和/或表型紊乱,类似于表型意义上的“发育不良”(有病态造血的含义)。BMB 组织切片不能分型或分级,但免疫组化可显示一定数量 CD34(+)和 CD117(+)圆核细胞,CD61(+)圆核巨核细胞,BMB 网状纤维染色在 MDS 诊断中有辅助意义。结合上述各项检查及相关染色体或基因检查(MDS 染色体异常包括基因突变占 60%~90%)即可明确诊断本病。30%左右的中老年患者全血细胞减少,长期对促造血药物治疗无效,BMA、BMB 和流式分析均有 MDS 特点,即使暂时尚未发现染色体异常亦可诊断。

2.5 真性红细胞增多症 好发于中老年患者,中位年龄 60 岁(20 岁以下罕见),主要症状与血容量增多引起的高血压和血管异常有关,常面红似醉酒状,多伴有头痛,眩晕及视觉障碍。70%脾肿大,40%肝肿大。2016 年修订版 WHO 造血与淋巴组织病理与遗传学分类中关于真性红细胞增多症患者 Hb $> 165 g/L$ (男)或 $160 > g/L$ (女)^[11]。BMA 有核细胞增生程度极度活跃,巨核细胞以分叶核胞质丰富的中等大巨核细胞为主,易见单圆核巨核细胞。BMB 示粒、红、巨核三系(骨髓)增殖,与 BMA 一致缺乏特征性组织形态改变。免疫组化也缺乏特征性表型。本病主要是 95%有 JAK2V617F 基因突变(见前述)导致红系细胞过度增生,红细胞生成素降低,诊断时首先根据上述基因检查排除反应性红细胞增多后才能确诊。

2.6 原发性血小板增多症 各年龄均可发病,多见于 50~60 岁,半数以上无症状,50%脾轻度肿大,15%~20%肝肿大。外周血小板计数 $\geq 450 \times 10^9/L$,BMA 示成堆的血小板,巨核细胞胞体大,胞质丰富,粒、红系细胞分化正常。BMB 有核细胞增生程度在正常范围或极度活跃,粒、红系细胞形态及各阶段细胞比例大致正常。巨核细胞数量多、胞体大、胞质丰富和核

分叶多是其特征。本病 50%以上有 JAK2V617F 基因突变,无胶原纤维增生或网状纤维增多是其与 PMF 的主要区别。结合相关病史及基因检查排除继发性血小板增多可诊断原发性血小板增多症。

2.7 PMF PMF 是一种不明原因的造血干细胞异常所致的骨髓巨核细胞和粒系细胞克隆性增殖性疾病。90%以上有脾肝肿大和贫血,白细胞和血小板多少不定,外周血偶可见幼稚粒、红系细胞。BMA 常干抽或混血。BMB 示胶原纤维组织明显增生(纤维化期),网状纤维染色阳性(\geq +++)^[12]。所以 BMB 是诊断 PMF 的金标准。如未见胶原纤维增生,网状纤维($<$ ++),轻度脾肿大,偶可中度肿大,排除淋巴细胞肿瘤后可诊断 PMF,纤维化前期。

2.8 淋巴瘤侵犯骨髓 淋巴瘤从原发部位扩散转移到骨髓,可仍然保留原发瘤的组织结构模式、免疫表型和基因特征,因此,可根据 BMB HE 染色组织形态所显示的浸润淋巴细胞的大小,形态单一性或多形性,散在性或是密集分布(结节状或片状),结节状分布于小梁旁或是骨小梁间,然后结合免疫组化用相应的抗体染色,结合流式细胞分析,有时需结合 IgH 和 TCR γ PCR 基因重排对淋巴细胞侵犯骨髓来进行诊断和分型^[13]。而 BMA 在没有临床病史情况下易把异常淋巴细胞归类为分类不明细胞,不能进行分型和确诊,在诊断上 BMB 优于 BMA,但需两者相结合可提高检出率^[14]。需要说明的是同一患者如流式细胞术显示少量 B 或 T 淋巴细胞单克隆性增生,而骨髓活检组织仅见少量成熟淋巴细胞小簇,小灶,单灶性,甚至多灶性分布(免疫组化显示 B 或 T 阳性),如没有原发瘤证据,并不能诊断淋巴瘤侵犯骨髓。因为单克隆增生不等于肿瘤,但肿瘤一定是单克隆性的。

2.9 浆细胞性骨髓瘤 浆细胞性骨髓瘤是发生在骨髓的多灶性浆细胞肿瘤,以血清和尿中出现大量的 M 蛋白为其特征。由于瘤细胞多灶性分布,BMA 有时不能观察到骨髓瘤细胞,而 BMB 是诊断本病的强项,结合免疫组化 CD138、CD38、CD79a 或 MUM1 多灶、片状密集阳性可确诊。但有时还必须结合血和/或尿免疫球蛋白电泳及免疫固定电泳结果以及骨骼影像学检查诊断^[8]。

3 骨髓转移性肿瘤

骨髓转移性肿瘤是指发生在非造血组织的恶性肿瘤从原发部位经过血管或淋巴管等扩散到骨髓形成的实体性肿瘤。据文献报道骨髓涂片检出率为 28%~72%,骨髓活检检出率为 35%~97%^[15],骨髓活检优于骨髓涂片,两者结合可提高检出率^[16]。骨髓活检是诊断骨髓转移瘤的金标准^[17],不但可以明确肿瘤的性质、类型及分化程度,结合免疫组化及相应的抗体染色不但可确定肿瘤性质,还可提示肿瘤的原发部位:如 CA15-3 和 Calponin(乳腺癌),AFP 和 Hepa(肝癌),CA72-4 和 Villin(胃肠癌),CA125(卵巢癌),PSA 和 P504S

(前列腺癌),TTF-1 和 TG(甲状腺癌),CA19-9(胰腺癌)等抗体。根据网状纤维染色,还可以区别是转移性肉瘤还是转移性癌。

4 根据外周血涂片光镜检查结果诊断或提示传染病和血栓性疾病

4.1 黑热病 黑热病是杜氏利什曼原虫所引起的由白蛉传播的慢性传染病。骨髓涂片找到利杜体为诊断该病的金标准,而骨髓活检找不到利杜体,可能与涂片和染色方法不同有关,例如血小板在骨髓涂片中很清楚,而在骨髓切片中是看不到的^[9]。

4.2 血栓性血小板减少性紫癜(thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP) 患者外周血涂片瑞氏染色异常红细胞特点:盔形红细胞、三角形红细胞、成熟嗜多染红细胞、小球形红细胞、少量幼红细胞及晚幼红细胞和血小板极少等。随后进一步结合相关实验检查和临床表现存在“五联征(依次为①血小板显著减少,②溶血,③神经系统症状,④肾脏异常,⑤发热)”即可诊断本病^[10]。以上说明血细胞形态检查的重要性。

骨髓活检和骨髓涂片在血液病诊断中各有其优缺点,骨髓活检比骨髓涂片更能反映骨髓增生程度,骨髓活检可以观察骨髓细胞、脂肪细胞、骨小梁、血管形态、纤维组织增生等情况,对铁的储存状态判断更准确,但对血细胞形态中的胞质和胞核等细微结构难以判断。骨髓涂片取材方便,细胞形态清晰,便于操作,但取材量少,反映面窄,由于其他原因不易抽取或者“干抽”。总之,两者相互结合,互为补充,取长补短,方可提高造血系统疾病诊断的准确性。

5 参考文献

- 1 陈辉树,杜心婷.我国血液病理研究 50 年的回顾.中华病理学杂志,2005,34:553-555.
- 2 浦权,杨梅如,主编.血液病骨髓诊断病理学.第 1 版.北京:科学出版社,2002,1-6.
- 3 刘恩彬,蒯亚妮,王慧君,等.血液肿瘤的综合诊断.中华血液学杂志,2016,37:83-86.
- 4 中华医学会血液学分会实验诊断血液学学组.血液病细胞-分子遗传学检测中国专家共识(2013 年版).中华血液学杂志,2013,34:733-735.
- 5 施均,郑以州.再生障碍性贫血伴克隆性造血再认识.中华血液学杂志,2015,36:897-898.
- 6 蒯金军.巨幼细胞性贫血 72 例临床分析.临床内科杂志,2013,30:564-565.
- 7 Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood, 2016, 127: 2375-2390.
- 8 Sabattini E, Bacci F, Sagrmoso C, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview.

- Pathologica, 2010, 102:83-87.
- 9 陈辉树, 主编. 骨髓病理学. 第1版. 北京: 人民军医出版社, 2010, 71-239.
- 10 中华医学会血液学分会. 中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南 (2013年版). 中华血液学杂志, 2013, 34:464-470.
- 11 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 真性红细胞增多症诊断与治疗中国专家共识 (2016年版). 中华血液学杂志, 2016, 37: 265-268.
- 12 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 原发性骨髓纤维化诊断与治疗中国专家共识 (2015年版). 中华血液学杂志, 2015, 36: 721-725.
- 13 肖家诚, 金晓龙, 袁菲. 骨髓活检组织淋巴瘤的病理诊断和分型. 中华病理学杂志, 2004, 33: 120-124.
- 14 李艳平, 周凡, 郭步云, 等. 同步骨髓涂片与骨髓活检在 2761 例血液疾病诊断中的对比分析. 中国实用内科杂志, 2011, 31: 536-538.
- 15 栗瑞敏, 刘春海, 李雪政, 等. 骨髓组织活检诊断骨髓转移癌及血液病价值. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29: 710-712.
- 16 蔺金军, 梁丰鹏. 10 例黑热病患者骨髓细胞组织形态和临床特点. 中华血液学杂志, 2008, 29: 211-212.
- 17 胡翊群, 王鸿利, 主编. 血栓性血小板减少性紫癜和溶血性尿毒症与血栓形成. 第1版. 北京: 科学出版社, 1998, 315-321.

(收稿日期: 2016-02-22)

(本文编辑: 李霖)

消息

2016年美国老年学学会学术年会征稿通知

2016 美国老年学学会年会将汇聚 4000 多名来自美国和世界各国的专家学者, 他们分别来自学术界、工商界、政府部门以及其他相关领域, 在此共同交流信息, 探讨老年科学的广泛应用。此次会议将是老年学领域一次群英荟萃的聚会。年会包括 450 多个科学分会, 形式包括专题研讨会, 论文宣讲和墙报展示。

本届学术年会的主题是“新视角下的老龄化, 改变态度, 扩展可能”(New Lens on Aging, Changing Attitudes, Expanding Possibilities), 由美国老年学学会主席 Nancy Morrow-Howell 博士亲自选定。她写道:“这一主题反映了我对富有成效的老年生活的学术兴趣, 以及我对老龄歧视的持续关注。研究表明, 我们的态度、行为、方案和政策中, 老年歧视问题依然存在而且势力强大, 其影响着就业、医疗、心理健康、家庭变故等方面。我希望你们能思考一下我们的工作如何能有助于改变这一问题, 他正在限制着老年生活的潜能、破坏着健康老龄化的推进、阻挠着年龄包容社区的建设。”

1 征稿须知

摘要征集日期: 2015 年 12 月中旬-2016 年 3 月 15 日

征稿详情请见: www.geron.org/abstracts。如果您在语言、格式等方面需要进一步完善, 我们可以请在美国的中国会员提供帮助。同时, 我们也将提供几篇以往年会论文摘要的样板作为参考。如果您有任何问题, 请通过电子邮件与美国老年学学会陈寄兰联系 (chen@geron.org)。

2 会议时间及地点

会议时间: 2016 年 11 月 16 日至 11 月 20 日

会议地点: 美国路易斯安那州新奥尔良市

3 联系方式

地址: 北京市朝阳区秀水街 1 号建外外交公寓 6 号楼

电话: 008610-84112925、84120446

E-mail: gsc@gschina.org.cn

中国老年学和老年医学学会

消息

《实用检验医师杂志》开通网上采编系统

为了更好地服务于读者、作者及审稿专家, 方便查询论文信息、投稿、询稿及审稿, 提高编辑部工作效率, 现已开通网上采编系统 (www.cjocp.com)。欢迎作者网上投稿, 优秀的文章将优先处理并且免收版面费。如果您在使用采编系统时有任何问题或者对开发编辑平台有更好的建议, 欢迎您联系我们, 我们将热情为您服务。感谢您对编辑部工作的支持!

联系人: 张志成; 联系电话: 15900366486, 022-60577729; E-mail: jianyanyishi@163.com