

1 例成人急性 B 淋巴细胞白血病的诊断

王甩艳 林喜荣 刘梦云 张秀明 莫红梅

作者单位: 518001 广东深圳, 深圳市罗湖区人民医院医学检验科

通信作者: 莫红梅, Email: 437897734@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2020.03.015

【摘要】 目的 报告 1 例经细胞形态学检查误诊为急性髓细胞白血病(AML; 倾向 M5 型)的急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)的诊断过程。**方法** 分析深圳市罗湖区人民医院收治的 1 例形态似 AML 的 B-ALL 患者的临床资料, 并对其进行骨髓及外周血细胞形态检查、细胞化学染色、流式细胞术检测、染色体核型分析、融合基因检查等, 分析各项检查结果及误诊原因。**结果** 患者细胞形态为骨髓有核细胞增生活跃, 骨髓原始细胞比例约占 77%, 外周血原始细胞比例约占 76%, 考虑 AML, 倾向 M5 型; 细胞化学染色结果显示, 髓过氧化物酶(MPO)和高碘酸-希夫(PAS)染色均呈阴性反应, 非特异性酯酶染色阳性, 少部分细胞可被氟化钠抑制; 流式细胞术检测结果符合急性前体 B 淋巴细胞白血病(Pre-B-ALL)免疫表型; 染色体核型分析为 67~72, XXY, +2, +3, -4, -5, +6, +8, +9, +10, +11, +12, -13, +14, -15, +17[cp3]/46, XY[8], 11 个中期分裂相中 3 个可见染色体数目异常; Ph 样 ALL 相关基因突变检测结果显示 FLT3 ITD exon14 变异, 白血病 56 种融合基因筛查结果均呈阴性。综合分析各项检查结果, 该患者最终诊断为 B-ALL。**结论** 在急性白血病诊断中, 流式细胞术免疫表型分析可作为确诊形态特征不典型 B-ALL 的依据, 并结合细胞遗传学和分子生物学方法进行综合诊断。

【关键词】 急性 B 淋巴细胞白血病; 急性髓细胞白血病; 成人

基金项目: 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目(SZSM201601062)

Diagnosis for a case of adult acute B-cell lymphoblastic leukemia

Wang Shuaiyan, Lin Xirong, Liu Mengyun, Zhang Xiuming, Mo Hongmei. *Clinical Laboratory, Shenzhen Luohu People's Hospital, Shenzhen 518001, Guangdong, China*

Corresponding author: Mo Hongmei, Email: 437897734@qq.com

【Abstract】 Objective To report the diagnosis process of a case of acute B-cell lymphoblastic leukemia (B-ALL) misdiagnosed as acute myeloid leukemia (AML; apt to M5 type). **Methods** The clinical data of a case of B-ALL morphologically similar with AML admitted in Shenzhen Luohu People's Hospital were analyzed, and the morphology of bone marrow and peripheral blood cells, cytochemical staining, flow cytometry, chromosome karyotype analysis and fusion gene analysis were carried out. **Results** The cell morphology of the patient was bone marrow with active proliferation of nuclear cells, the proportion of blast cells was about 77%, and the proportion of peripheral blood blast cells was about 76%, considering AML, apt to M5 type. Cytochemical staining was negative for myeloperoxidase (MPO) and periodic acid-Schiff (PAS) staining. Nonspecific esterase staining was positive, and a few cells could be inhibited by sodium fluoride. The results of flow cytometry were consistent with the immunophenotype of acute precursor B-cell lymphoblastic leukemia (Pre-B-ALL). The karyotype analysis was 67-72, XXY, +2, +3, -4, -5, +6, +8, +9, +10, +11, +12, -13, +14, -15, +17[cp3]/46, XY[8]; among the 11 cases of metaphases, there were 3 cases in which could observe abnormal chromosome number. FLT3 ITD exon14 mutation was detected in Ph like ALL-related gene mutation, and the screening results of 56 fusion genes of leukemia were all negative. By comprehensively analyzing the inspection results, the patient's final diagnosis was B-ALL. **Conclusion** In the diagnosis of acute leukemia, flow cytometry can be used as the basis for diagnosis of B-ALL with atypical morphological features, combined with the comprehensive diagnosis of cytogenetics and molecular biology.

【Key words】 Acute B-cell lymphocytic leukemia; Acute myeloid leukemia; Adult

Fund program: Sanming Project of Medical and Health Work in Shenzhen, Guangdong Province (SZSM201601062)

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)是一种起源于单个 B 或 T 淋巴细胞前体细胞的恶性肿瘤。骨髓内克隆性原始细胞的增殖和聚积导致骨髓正常造血功能受到抑制,从而出现贫血、血小板减少和中性粒细胞减少。原始细胞可以聚积在髓外不同部位,尤其是脑脊液、性腺、胸腺、肝脏、脾脏和淋巴结等。ALL 最常见于儿童,但任何年龄均可发生^[1]。ALL 可以根据免疫学、细胞遗传学和分子生物学分为多种亚型。急性 B 淋巴细胞白血病(acute B-cell lymphoblastic leukemia, B-ALL)是一种 B 淋巴母细胞肿瘤,典型表现是肿瘤由小至中等大的母细胞组成。此类细胞胞质稀少,染色质中等致密至稀疏,核仁不明显,当广泛累及骨髓和外周血时诊断为 B-ALL,而当只表现为瘤块,不伴或仅有轻微血液和骨髓受累时,应诊断为淋巴瘤(lymphoblastic leukaemia, LBL)。

本院收治 1 例 B-ALL 患者,在诊断过程中进行骨髓涂片细胞学检查所得结果为急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML; 倾向 M5 型),与流式细胞术检测结果不同。针对这一问题,笔者查阅文献并进行分析,现报告如下。

1 病例简介

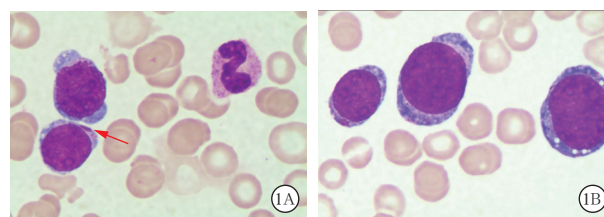
患者男性,52 岁,因“眼睑、双下肢水肿”于 2020 年 3 月 12 日收入本院血液内科。患者 4 d 前无明显诱因出现眼睑非凹陷性水肿、可自行缓解,随后出现双下肢脚踝非凹陷性水肿,无气促和呼吸困难,遂至当地社区医院就诊,查血常规显示:白细胞计数(white blood cell count, WBC) $27.21 \times 10^9/L$,淋巴细胞比例 77.2%,淋巴细胞计数(lymphocyte count, LYM) $21.01 \times 10^9/L$,血小板计数(platelet count, PLT) $236 \times 10^9/L$,血红蛋白(hemoglobin, Hb) 109 g/L。患者为进一步治疗遂至本院。自起病以来,患者无畏寒、发热、盗汗,精神、胃纳可,二便正常,近 3 个月体质量下降 4 kg。患者不嗜烟酒;无结核、病毒性肝炎等传染病史;否认慢性支气管炎、高血压、冠心病、肾脏疾病、糖尿病等慢性病史;否认重大外伤、手术史以及食物、药物过敏史;否认冶游史;否认有毒化学物质及放射性物质接触史;家族中无类似疾病;无免疫系统疾病和精神性疾病。

患者意识清楚,无贫血貌,全身皮肤黏膜无苍白,眼部轻度水肿,全身浅表淋巴结无肿大;双肺呼吸音清,未闻及干湿啰音;心前区无隆起,无抬举样搏动,无震颤及摩擦感,心界不大,心率 96 次/min,

心音有力,心律齐,各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音;咽部充血,双侧扁桃体无肿大;腹部平软,肝脾肋下未触及,全腹无压痛、反跳痛,无移动性浊音,肠鸣音正常;双下肢轻度水肿,肌力、肌张力正常;生理反射存在,病理反射未引出。完善相关检查,临床医师于入院第 2 天进行骨髓细胞学检查。

2 结果

2.1 骨髓及外周血涂片细胞学检查 骨髓涂片结果显示取材尚可,涂片、染色良好,无油,增生活跃。粒红比值为 5:1,粒系受抑,占 10%,以成熟粒细胞为主;红系受抑,成熟红细胞形态未见明显异常;淋巴细胞比例降低;全片未见巨核细胞;血小板单个、小堆分布,少见;原始细胞比例约占 77%,原始细胞胞体大小不一,核染色质呈颗粒状,核仁明显(1~3 个),胞质量少至中等,呈灰蓝色,胞质内可见紫红色嗜天青颗粒,在部分细胞中可见棒状小体(Auer 小体)。见图 1A。外周血细胞形态学分析显示,白细胞数量增多,中性粒细胞比例降低,形态未见明显异常;成熟红细胞分布略稀疏,计数 100 个白细胞可见有核红细胞 2 个;淋巴细胞比例降低,血小板单个、小堆分布,少见;原始细胞比例约占 76%,形态同骨髓细胞。见图 1B。

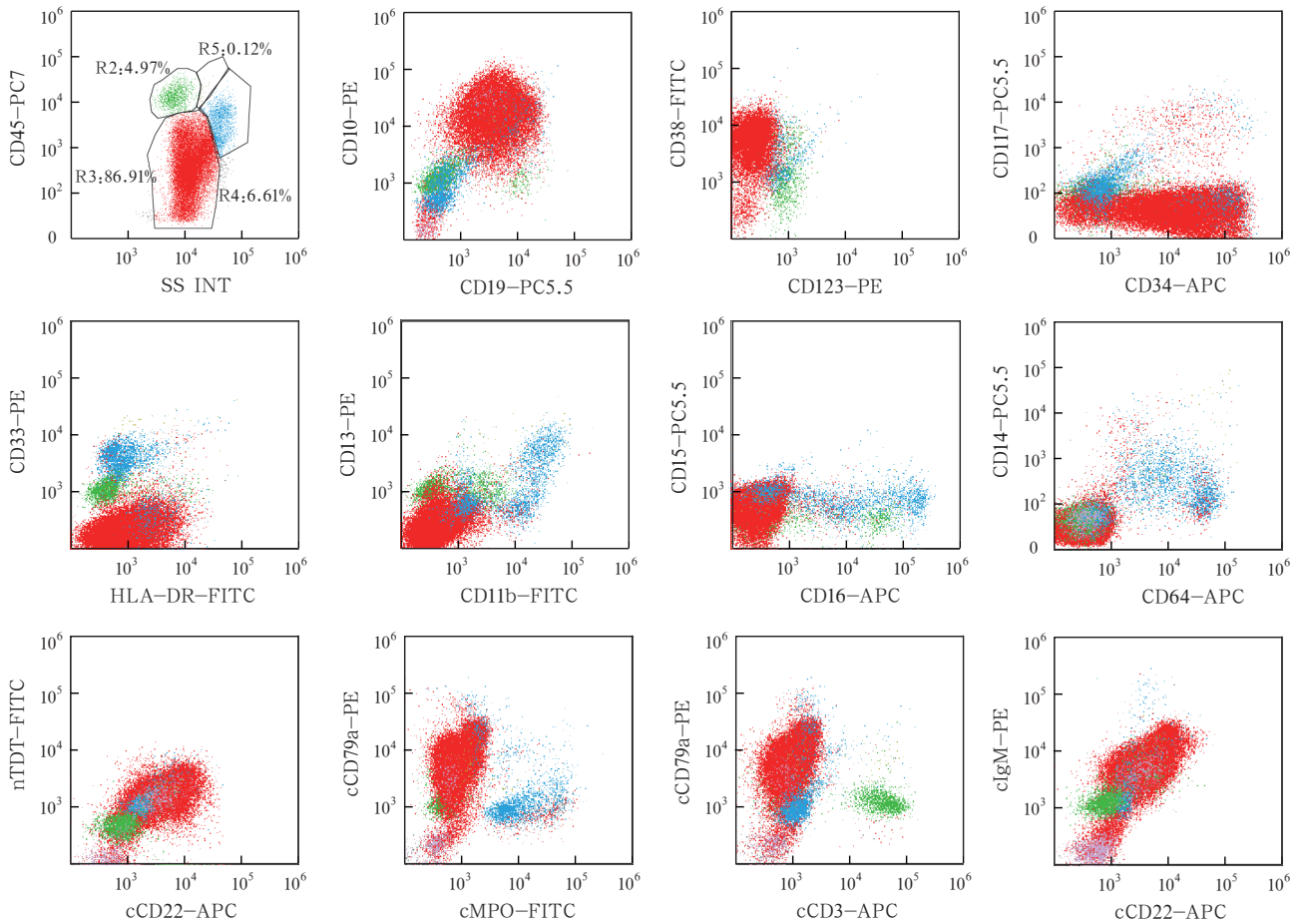


注: B-ALL 为急性 B 淋巴细胞白血病; A 为骨髓细胞涂片, B 为外周血涂片; 红色箭头指示为棒状小体

图 1 1 例 B-ALL 患者骨髓细胞(A)和外周血(B)涂片(瑞氏-吉姆萨染色 高倍放大)

2.2 细胞化学染色 染色结果显示,髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和高碘酸-希夫染色(periodic acid-Schiff staining, PAS)均呈阴性,非特异性酯酶染色阳性,部分细胞可被氟化钠抑制。骨髓细胞形态结合细胞化学染色考虑该患者为 AML,倾向 M5 型。

2.3 流式细胞术检测 异常幼稚 B 细胞(R3)占有核细胞的 86.91%。CD45 荧光强度呈由弱到阴性的连续分布,侧向散射光(side scatter, SSC)荧光强度呈中等表达,完全表达为 CD19、CD10、CD38、cCD79a、nTDT、cCD22、cIgM; 部分表达为 CD34、HLA-DR; 不表达为 CD5、CD3、CD56、CD4、CD8、CD20、CD123、CD117、CD33、CD13、CD11b、CD15、



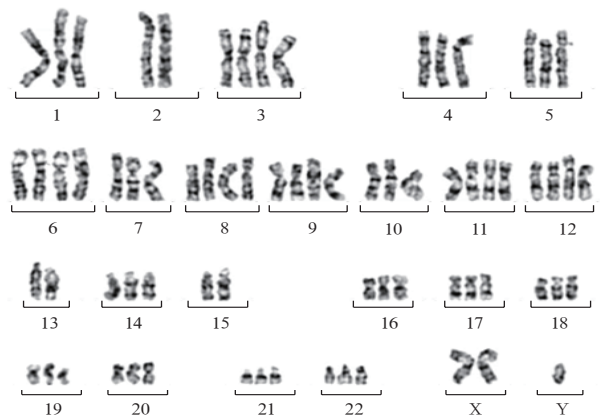
注：B-ALL 为急性 B 淋巴细胞白血病，FITC 为异硫氰酸荧光素，PE 为藻红蛋白，APC 为别藻蓝蛋白

图 2 1 例 B-ALL 患者流式细胞术检测结果

CD16、CD14、CD64、CD36、CD300e、CD71、CD41、CD2、CD7、cCD3、cMPO。结果显示属于前体 B-ALL (precursor acute B-cell lymphoblastic leukemia, Pre-B-ALL)；患者符合 B-ALL 免疫表型。见图 2。

2.4 骨髓细胞染色体核型分析 结果显示，染色体核型为 67~72, XXY, +2, +3, -4, -5, +6, +8, +9, +10, +11, +12, -13, +14, -15, +17[cp3]/46, XY[8]。分析 11 个中期分裂相，其中 3 个可见染色体数目异常，见图 3。约 90% 以上的 ALL 可检出克隆性核型异常，其中 66% 为特异性染色体重排，数目异常为超二倍体、亚二倍体及假二倍体，14 号染色体异常的男性可有 XXY^[1]，本例患者存在超二倍体染色体数目异常。

2.5 基因突变和融合检测结果 Ph 样 ALL 相关基因突变检测到 FLT3 ITD exon14 高频变异；白血病 56 种融合基因筛查结果均为阴性。FLT3 编码酪氨酸激酶受体，突变最常发生在 AML 中，约占 23.48%，而 FLT3-ITD 突变(约 30%)和 TKD 突变(约 10%)为最常见的突变类型，突变激活酪氨酸激酶信



注：B-ALL 为急性 B 淋巴细胞白血病

图 3 1 例 B-ALL 患者骨髓细胞染色体核型图像

号通路；在 B-ALL 中，FLT3 突变发生率为 4.87%，多发生在 Ph 样 ALL 中^[2-3]。

结合以上检查结果综合分析，本例患者最终临床诊断为 B-ALL。临床执行环磷酰胺、长春地辛、伊达比星、门冬酰胺酶和地塞米松化疗方案 (VDCLD 方案)，15 d 后免疫分型微小残留检测可见约 1.0% 的 B-ALL 肿瘤细胞。

3 讨论

分析本例患者骨髓涂片细胞学检查结果与最终诊断截然不同的原因,形态学检查结果主要依据检验者的主观判断,具有一定的局限性,对于这种形态上符合髓系特征的细胞,很难判断为淋系细胞。有研究报告形态学误诊为急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL),最终依靠流式细胞术诊断为急性单核细胞白血病(AML-M5)的病例^[4]。张斌等^[5]也报告 1 例原始细胞胞质有颗粒核存在扭曲折叠,在形态上类似髓系原始细胞的颗粒性 B-ALL。颗粒性 ALL 的诊断标准为 ALL 中 5% 以上的原幼淋巴细胞中含有直径大于 0.5 μm 的一个或多个嗜天青颗粒^[6]。这些颗粒在电镜下超微结构显示类似多泡体或高尔基体,可能为发育异常的细胞器生成、融合或退化的结果,也有学者认为是免疫球蛋白聚集形式^[7]。

细胞化学染色结果显示,非特异性酯酶染色阳性,部分细胞可被氟化钠抑制,分析这一结果考虑实验影响因素较多,可能由试剂质量不合格或操作不当导致,因此,如果样本检测结果显示阳性较强且被氟化钠明显抑制,可以肯定其临床意义,对于抑制不明显的标本,结果判断易受主观因素的影响,只能作为参考指标。

流式细胞术是通过对细胞进行定性、定量分析而进行诊断的一种技术。流式细胞术检查时,以 CD45/SSC 双参数散点图射门,观察各细胞群的分布特点,尤其是异常细胞群的免疫表型,包括细胞膜和细胞内的各种抗原、受体等成分的表达水平,从而判断细胞系别和分化程度等,因此诊断的特异度和敏感度更高。流式细胞术免疫分型不仅在急性白血病的诊断和分型中发挥重要作用,而且依据不同的白血病细胞免疫分型特点以及与疾病发生有关的遗传学基因变异,可进一步提示不同的危险分层,对于指导治疗和判断预后具有十分重要的意义^[8-10]。曾冬梅等^[11]研究结果也显示,流式细胞术检测脑脊液白血病细胞诊断白血病的准确性较高,对 B-ALL、M4 型、M5 型白血病的检出率均高于细胞学检测,对于白血病患者的早期诊断和治疗意义重大,值得推广使用。本例患者流式细胞术检测结果为异常幼稚细胞完整表达 CD19、CD10、CD38、cCD79a、nTDT、cCD22、cIgM,不表达其他系别抗原如 cCD3, cMPO 等,高度支持 B 系,符合 B-ALL 免疫表型,最终临床诊断为 B-ALL。因此,流式细胞

术在本病例的诊断中起到非常重要的作用。

世界卫生组织(World Health Organization, WHO)造血与淋巴瘤肿瘤分类法已将患者的临床特点与形态学(Morphology)、免疫学(Immunology)、细胞遗传学(Cytogenetics)和分子生物学(Molecular biology)结合起来,形成 MICM 分型^[12]。目前对白血病的诊断模式已由原来的细胞形态与临床结合诊断转变为 MICM 分型诊断。因此,在医院条件允许的情况下,应开展免疫分型的流式细胞术、细胞遗传学和分子生物学技术,检验医师可依据多学科的检测信息多角度分析,根据不同的白血病生物学亚型,制定不同的治疗方案,包括使用特殊药物或联合用药,选择药物剂量或治疗持续时间等,从而获得最佳的治疗效果,更好地服务患者。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 陈竺,陈赛娟.威廉姆斯血液学[M].9版.北京:人民卫生出版社,2018:1373-1392.
- 2 Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancer Cell, 2012, 22 (2): 153-166. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.005.
- 3 Grafone T, Palmisano M, Nicci C, et al. An overview on the role of FLT3-tyrosine kinase receptor in acute myeloid leukemia: biology and treatment [J]. Oncol Rev, 2012, 6 (1): e8. DOI: 10.4081/oncol.2012.e8.
- 4 杨柯,郭晓宇,赵强,等.细胞形态误诊为 APL 的 CD56⁺ 急性单核细胞白血病 1 例 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36 (8): 637-640. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2018.08.19.
- 5 张斌,蔡艳霞,张素贞,等.颗粒性急性 B 淋巴细胞白血病形态学及流式散点图特点 [J]. 检验医学, 2017, 32 (2): 118-121. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2017.02.011.
- 6 Stein P, Peipr S, Butler D, et al. Granular-acute lymphoblastic leukemias [J]. Am J Clin Pathol, 1983, 79: 426-430.
- 7 Foucar K. Bone marrow pathology [M]. 2nd ed. Chicago: ASCP Press, 2001: 484-514.
- 8 江梅,郭海燕,聂益军,等.多参数流式细胞术在 AML1/ETO 阳性急性髓系白血病诊断中的应用研究 [J]. 实验与检验医学, 2020, 38 (1): 9-12, 35. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1129.2020.01.003.
- 9 金恂,胡永军.骨髓活检联合多参数流式细胞术及 FISH 技术在慢性淋巴细胞白血病诊断中的应用 [J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40 (22): 2775-2778, 2782. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.22.021.
- 10 吴韶清,廖灿,谢围娥,等.多参数流式细胞术在儿童急性 B 淋巴细胞白血病微量残留病检测中的应用 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28 (7): 1184-1186. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2012.07.061.
- 11 曾冬梅,萧晓友.流式细胞术检测在白血病诊断中的应用价值 [J]. 中国城乡企业卫生, 2018, 33 (12): 141-142. DOI: 10.16286/j.1003-5052.2018.12.064.
- 12 许文荣,王建中.临床血液学检验 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2015: 207.

(收稿日期:2020-04-29)

(本文编辑:邵文)