

· 论 著 ·

## 骨髓活检组织病理在骨髓增生异常综合征诊断中的价值\*

浦杰<sup>1</sup>, 陈真<sup>2#</sup>, 石军<sup>3</sup>, 浦权<sup>3,4</sup>, 陆道培<sup>4</sup>

(1. 桂林医学院附属医院血液病科, 广西桂林 541001; 2. 上海市市东医院病理科 200438; 3. 上海交通大学附属第六人民医院血液病科 200233; 4. 复旦大学血液病中心/上海道培医院 200032)

**摘要:**目的 探讨塑胶包埋骨髓活检切片在骨髓增生异常综合征(MDS)诊断中的价值。方法 使用乙二醇甲基丙烯酸酯(GMA)包埋骨髓活检标本,在 HGF 和 Gomori 染色下观察 125 例 MDS 骨髓切片中的病态造血和间质细胞异常反应。并以 25 例健康人作对照。结果 活检切片可正确判定骨髓增生程度,19 例(15.2%)显示幼稚红细胞簇异位。103 例低危组病例中的 64 例(62%)显示幼稚前体细胞(原始和早幼粒细胞)异常定位[ALIP(+)]。单位面积内的巨核细胞和肥大细胞计数均高于对照组。Gomori 染色 65 例示中度增加,其中 10 例(8.0%)骨纤程度达+++ ,属纤维增生型 MDS。125 例 MDS 中 33 例(26.4%)的骨髓活检切片内,可见红系和粒系幼稚细胞的骨髓静脉窦浸润现象。结论 该研究证明,骨髓活检 GMA 包埋切片有助于 MDS 的诊断,且具有重要的临床应用价值。

**关键词:**骨髓增生异常综合征;骨髓活检;组织病理;诊断

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.03.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)03-0257-03

## Value of bone marrow biopsy histopathological finding in diagnosing myelodysplastic syndrome\*

Pu Jie<sup>1</sup>, Chen Zhen<sup>2#</sup>, Shi Jun<sup>3</sup>, Pu Quan<sup>3,4</sup>, Lu Daopei<sup>4</sup>

(1. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China;

2. Department of Pathology, Shanghai Shidong Hospital, Shanghai 200438, China; 3. Department of

Hematology, Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China;

4. Center of Daopei Hematology, Shanghai Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the value of plastic-embedded bone marrow(BM) biopsy sections in diagnosing myelodysplastic syndrome(MDS). **Methods** HGF and Gomori stained, Glycol methacrylate(GMA) embedded BM biopsy specimens were detected from 125 MDS patients with 25 cases in good health as control. Dyshematopoiesis and abnormal stroma cell responses were selected as main observed projects. **Results** Bone marrow biopsy sections gave an exact assessment of cellularity, 19 cases(15.2%) showed a decrease of cellularity as hypocellular MDS. 66 cases(52.8%) of these cases did show abnormal localization of erythroblastic clusters, biopsy of 64(62%) of low risk group 103 cases did show abnormal localization of immature precursors such as blasts and promyelocytes(ALIP positive). Numeration of megakaryocytes and mast cells within 1mm<sup>2</sup> area of BM tissue were all much in MDS group than in control group. Gomori's stain revealed moderate increase in reticulin fibres in 65 cases, 10 cases(8.0%) showed degree of myelofibrosis were +++ as hyperfibrotic MDS. Among 125 cases, 33 cases(26.4%) of bone marrow biopsies showed different types of erythrocytic and granulocytic immature cells with unusual intrasinusoidal bone marrow infiltration. **Conclusion** It is clear that GMA embedded BM biopsy section is helpful in making diagnosis of MDS, and has important clinical application value.

**Key words:** myelodysplastic syndrome; bone marrow biopsy; plastic embedding; diagnosis



陆道培

骨髓增生异常综合征(MDS)是一组以无效造血合并一系或多系骨髓病态发育性改变的克隆性造血干细胞肿瘤。临床以病态发育的血细胞形态学、细胞遗传学突变,外加一系或多系血细胞减少为主要特征的异质性疾病组<sup>[1]</sup>。目前,国际上一致认同 MDS 的诊断与分型必须由规范染

色的外周血与骨髓涂片,以及骨髓活检切片三者共同决定<sup>[1-4]</sup>。骨髓活检塑胶包埋新技术在 MDS 诊断中的重要性日益引起重视。本文总结作者近年所见 125 例经塑胶包埋的 MDS 骨髓组织病理学的观察结果,以探讨其在临床诊断中的价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** MDS 患者 125 例,其中,男 67 例,女 58 例;年龄 15~87 岁,平均(52.0±1.7)岁。按 WHO 诊断标准<sup>[1,5-6]</sup>:难治性贫血(RA)21 例,难治性中性粒细胞减少症(RN)9 例,难治性血小板减少症(RT)12 例,环形铁粒幼细胞增多的 RA(RARS)13 例,伴多系病态造血的难治性血细胞减少症(RCMD)42 例,原始细胞过多的 RA(RAEB) I 型 13 例、

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81270605);上海市科学技术委员会平台项目(11140903700)。作者简介:浦杰(1972-),副教授,副主任医师,硕士生导师,主要从事常见血液病及 MDS 的临床和研究。# 共同第一作者,陈真(1975-),主治医师,本科,主要从事大病理学研究。

II 型 9 例, 5q-综合征 6 例; 其中 RA、RN、RT、RARS、RCMD 和 5q-MDS 属低危型, RAEB I、II 型属高危型<sup>[1-2]</sup>。并以 25 例健康成人骨髓切片作对照, 其中, 男 14 例, 女 11 例, 年龄 21~31 岁, 平均(26.2±0.6)岁。

**1.2 方法** 以 B65-01 骨髓活检针于髂后上棘局麻后一步法抽吸-活检取材, 活检块长度小于 1 cm 者不列入本研究。Bouin 液固定 1 h, 乙醇梯度脱水后常规作 Hemapun 865 塑胶包埋<sup>[5]</sup>, 2~3 μm 切片行 HGF 染色, 5 μm 切片行 Gomori 网硬蛋白银浸染色。对需行计数观察项目, 经直尺式镜台测微器标定的网形测微器, 每 35 个视野为 1 mm<sup>2</sup>, 计数 2~3 mm<sup>2</sup> 内的细胞数, 取平均值。观察项目选取骨髓抽吸涂片不能检测或不能准确观察的项目。

**1.2.1 造血组织面积与增生度** 在目镜下部环隔上装入 10×10 规格网形测微器, 40 倍放大下在小梁间区和旁区不同部位, 随机选择 16 个视野, 观察并记录每个视野内 100 个点所击中目标, 共观察 1 600 个点, 算出造血与脂肪组织面积百分率(%), 进而判定增生度: 增生极度活跃(++++)、造血组织面积大于 90%; 增生明显活跃(+++), 造血组织面积为 50%~89%; 增生活跃(++), 造血组织面积为 35%~49%; 增生减退(+), 造血组织面积小于 34%, 凡年龄大于 60 岁, 造血组织面积小于 20% 为增生减退型<sup>[4,7-8]</sup>。

**1.2.2 红系病态造血与异位** 检出处于同一发育阶段(同期)幼红细胞簇异常定位于小梁旁区或骨小梁表面, 每平方毫米大于或等于 3 簇定位阳性<sup>[5,9]</sup>。

**1.2.3 粒系病态造血与异位** 正常切面内原始、原单和早幼粒细胞常单个(至多 2 个)散布在小梁旁区, 倘若 3~5 个以上聚集成簇, 如果由大于 5 个髓系前体细胞构成者称集簇(aggregate), 由 3~5 个构成者当丛簇(clusters), 位于小梁间区和旁区, 即称幼稚前体细胞异常定位[ALIP(+)], 每平方毫米骨髓面积中检出大于或等于 3 处巨大集簇者为阳性<sup>[5,9]</sup>。

**1.2.4 巨核系发育异常与计数** 以网形测微器算出每平方毫米骨髓面积内的巨核细胞数, 观察切片内有无微巨核、巨大巨核、单个小圆核和多核等多形性变, 有否向小梁旁区或小梁表面移位。

**1.2.5 肥大细胞计数** 以网形测微器算出每平方毫米面积内肥大细胞数。

**1.2.6 静脉窦内骨髓浸润现象** 健康人骨髓塑胶切片静脉窦内绝无原始细胞、幼稚粒系和红系细胞, 如果静脉窦中检出以上细胞, 即为骨髓静脉窦浸润。

**1.2.7 网硬蛋白纤维染色** 采用 Gomori 染色体, 积分标准以改良的 Manobaran 法<sup>[5]</sup>。凡 Gomori 染色+++者, 常规作 Masson 三色染色。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析, 计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 *t* 检验, 计数资料用百分率表示, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 造血组织面积与增生度** 本组 125 例切片内造血组织面积介于 18%~93%, 其中++++者 8 例, +++者 79 例, ++者 19 例, +者属增生减退型, 共 19 例(15.2%)。25 例健康对照者造血组织面积在 40.5%~58.2%, 其中 6 例增生度为++++, 19 例均为++, 无一例增生度为++++和+者。

**2.2 红系病态造血与异位** 本组幼红细胞簇异位阳性者 66

例, 阳性率 52.8%; 25 例对照者此异位均阴性。

**2.3 粒系病态造血与异位** 本组 103 例低危 MDS 中, 显示 ALIP(+)者 64 例(62%); 22 例高危 RAEB 患者均呈 ALIP(+)

**2.4 巨核系病态造血与计数** 101 例(80.8%)之切片检出巨核系病态发育, 微巨核易见。6 例 5q-综合征病例中的 5 例可见单个小圆核巨核簇, 125 例之巨核细胞数在 8~37 个/mm<sup>2</sup>, 均值(17.04±0.51)个/mm<sup>2</sup>, 25 例健康人之均值为(10.52±0.75)个/mm<sup>2</sup>, MDS 组巨核与健康人比较差异有统计学意义(*P*=0.04)。

**2.5 肥大细胞计数** 本组 25 例健康人切片内肥大细胞 3~18 个/mm<sup>2</sup>, 平均(10.04±0.90)个/mm<sup>2</sup>; 125 例 MDS 肥大细胞 8~69 个/mm<sup>2</sup>, 平均(20.99±0.90)个/mm<sup>2</sup>, 较健康人明显增多(*P*=0.018)。

**2.6 静脉窦骨髓浸润现象** 本组 125 例 MDS 患者塑胶切片内检出静脉窦骨髓浸润者 33 例(26.4%), 25 例健康对照者均无静脉窦骨髓浸润。

**2.7 网硬蛋白纤维的异常** 125 例 MDS 中, 正常者(一~±) 50 例(40%), +者 36 例(28.8%), ++者 29 例(23.2%), +++者 10 例(8.0%), 但三色染色阴性, 定为纤维增生型 MDS, 25 例健康对照者中 6 例可疑阳性, 19 例阴性。

## 3 讨 论

20 世纪 70 年代前, 克隆性血液肿瘤患者的骨髓活检块均是以落后的, 经脱钙后的石蜡切片为主要依据, 造血细胞收缩明显, 无法精确判定不同系列血细胞的形态<sup>[3,5]</sup>, 对克隆性血液病的诊断无多大参考价值。20 世纪 80 年代以来, 不脱钙骨髓塑胶包埋新技术在全球兴起并广为应用。时至今日, 骨髓涂片细胞和塑胶切片组织病理形态的联检, 不仅仍是 MDS 和其他克隆性血液病诊断的“金标准”, 也是更复杂诊断技术探索的重要起点。任何一例疑及罹患了 MDS 的患者, 如未常规进行骨髓活检塑胶包埋检测, 要想作出正确的诊断和分型是不可能的<sup>[6,9-10]</sup>。

本文总结作者近些年所见 125 例均经 Hemapun865 塑胶包埋切片组织病理观察的 MDS 患者, 证明塑胶切片较石蜡切片明显为优, 首先塑胶切片能精确判定骨髓增生度, 避免遗漏增生减退型 MDS 的诊断; 在传统 HE 染色的石蜡切片上, 不仅粒系和单核系前体细胞无法正确识别, 且幼红细胞和淋巴系细胞均可成簇出现, 胞体大小近似, 胞质均呈红色, 难以鉴别。而塑胶切片以上各系细胞就均可精确识别。如果涂片取材失败(如 MDS 合并纤维化而致干抽或血抽), 一步法双标本取材的塑胶切片就可完全替代涂片进行 MDS 的分型诊断<sup>[6,10-11]</sup>。

本文结果证明, 塑胶切片可精确判定骨髓增生度。随着骨髓活检的普及, 增生减退型 MDS(h-MDS) 约占 MDS 病例数的 15%(7%~38%)<sup>[5,7]</sup>。凡年龄小于 60 岁, 造血组织容积小于 30% 即为 h-MDS, 而年龄大于 60 岁, 则小于 20% 即为 h-MDS。本文 19 例(15.2%)符合 h-MDS 的诊断。临床上, 血细胞减少症患者如果不常规进行骨髓活检, h-MDS 亚型势必漏诊<sup>[2,5,9]</sup>。

本文 66 例(52.8%)可检出小梁旁同期幼红细胞簇异位。而 ALIP(+)常出现在涂片原始细胞小于 5% 的病例, 系髓内原始细胞堆积的早期表现。本组 103 例低危 MDS 病例中的 64 例(62%)显示 ALIP(+), 而 22 例高危 RAEB 患者 ALIP 均呈阳性。101 例塑胶切片检出巨核系病态造血, 微、小侏儒

型巨核易见。6 例 5q-综合征中的 5 例切片可见单个小圆核巨核细胞明显增多,且常示 3~5 个成簇出现。以上 3 项主要病理学指标,可作为 MDS 患者骨髓活检塑胶切片的主要病理学诊断依据。这些病理形态表现在石蜡切片上是无法完成的。

MDS 患者骨髓切片单位面积内肥大细胞计数明显高于健康对照组,是代表宿主的一种癌前性免疫反应<sup>[9,11]</sup>,可作为 MDS 的辅助诊断指标之一<sup>[12-13]</sup>。

切片内的静脉窦是骨髓间质血管系统的主要成分,也是骨髓成熟血细胞流出(释放)系统的主要结构<sup>[12]</sup>。发育成熟的血细胞经由静脉窦窦壁内皮细胞间的小孔隙(孔径约 3  $\mu\text{m}$ ),通过伸入运动释放入静脉窦腔内,进而进入血循环。其间,必须跨越一系列细胞障壁,包括网状细胞的转位,之后成熟血细胞挤压穿透基底膜和内皮细胞间的孔隙进入窦内。健康人静脉窦内绝无幼红和幼粒细胞存在。但 MDS 是一种全潜能干细胞水平分化障碍所致克隆病<sup>[1,7]</sup>,骨髓间质静脉窦壁内皮细胞亦出现病态异常反应,致使内皮细胞间孔隙增大,表面被覆之网状细胞数降至 20% 以下(正常大于 70% 静脉窦外膜面被覆以网状细胞<sup>[12]</sup>),凡此种种,诱致幼红和幼粒细胞病态释放进入静脉窦内。本组 33 例(26.4%)塑胶切片内检出静脉窦浸润现象,且既往文献中未见类似记载,作者认为此现象亦可作为 MDS 的一种重要病理诊断依据,有助于与再生障碍性贫血和其他反应性血细胞减少症的鉴别。且这一征候在石蜡切片上是无法正确识别的。

本文 125 例 MDS 中的 75 例 Gomori 染色大于或等于十,其中 10 例(8.0%)为+++ ,符合纤维增生型 MDS 诊断。由此,骨髓活检常规染色检查,有助于此种边缘型 MDS 的诊断<sup>[14-15]</sup>。

综上所述,骨髓活检塑胶切片常染色对 MDS 的确诊有重要价值,一旦抽吸涂片失败(干抽或血抽),同步双标本取材中的塑胶切片可替代涂片作出诊断。故一系或多系血细胞减少症患者,一定要进行一步法双标本取材,才能避免漏诊。

**院士简介:**陆道培,中国工程院院士,亚洲造血干细胞移植之父。燕达国际医院陆道培血液·肿瘤中心主任,上海道培医院院长,北京大学人民医院及复旦大学教授,中华医学会血液学分会名誉主席,中华造血干细胞合作组发起人。目前陆道培院士负责燕达国际医院陆道培血液·肿瘤中心、上海道培医院两个医疗机构的医疗工作。他是亚洲第一个开展造血干细胞移植(骨髓移植)的专家,特别是在半相移植领域作出了巨大贡献,并首先证明纯化硫化砷治疗急性早幼粒细胞白血病有效。他是全国乃至全世界血液病最有临床经验的专家,并作出了重要贡献,目前仍活跃在临床与科研第一线。陆道培院士发表了文章 400 余篇,主编专著 4 部,参编 19 部。陆道培院士对我国血液病学发展作出的重大贡献,除荣获国家科学技术进步二等奖、中华医学会科技进步二等奖、北京市科技进步一等奖等多项重大奖励外,还荣获何梁何利奖和陈嘉庚奖。

#### 参考文献:

[1] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization(WHO) classifica-

tion of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. *Blood*, 2009, 114(5): 937-951.

- [2] 浦权. 骨髓增生异常综合征[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2011: 144-182.
- [3] Farhi DC, Pathology of bone marrow and blood cells[M]. 2nd ed. New York: Lippincot Williams & Wilkins, 2009: 224-236.
- [4] Orazi A, Czader MB. Myelodysplastic syndromes[J]. *Am J Clin Pathol*, 2009, 132(2): 290-305.
- [5] 浦权. 实用血液病理学[M]. 北京: 科学出版社, 2013: 59-94, 326-330.
- [6] Horny HP, Sotlar K, Valent P. Diagnostic value of histology and immunohistochemistry in myelodysplastic syndromes[J]. *Leuk Res*, 2007, 31(12): 1609-1616.
- [7] Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome(IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts [J]. *Haematologica*, 2008, 93(11): 1712-1717.
- [8] Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity[J]. *Haematologica*, 2005, 90(8): 1128-1132.
- [9] 浦权. 骨髓活检组织病理在骨髓增生异常综合征诊断中的价值[J]. *临床血液学杂志*, 2011, 24(6): 633-634.
- [10] Vardiman JW. Hematopathological concepts and controversies in the diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2006: 199-204.
- [11] Orazi A. Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases [J]. *Pathobiology*, 2007, 74(2): 97-114.
- [12] 浦权. 实用血液病学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2009: 12-19.
- [13] Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A. Bone marrow histopathology in myeloproliferative disorders—current diagnostic approach[J]. *Semin Hematol*, 2005, 42(4): 184-195.
- [14] Steensma DP, Hanson CA, Letendre L, et al. Myelodysplasia with fibrosis: a distinct entity? [J]. *Leuk Res*, 2001, 25(10): 829-838.
- [15] Brunning RD, Orazi A, Germing M, et al. Myelodysplastic syndromes: WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues[M]. 4th ed. Lyon, France: IARC press, 2008: 88-107.

(收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-11-22)