

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.21.004

10 例意义未明特发性血细胞减少症的临床特征研究*

浦杰¹, 石军², 陈真³, 陆道培⁴, 浦权^{2,3}

(1. 桂林医学院附属医院血液科, 广西桂林 541001; 2. 上海市第六人民医院血液科 200233; 3. 上海市市东医院病理科 200438; 4. 上海市道培医院 200240)

摘要:目的 探讨意义未明特发性血细胞减少症(ICUS)患者的临床和病理学特征,并提供诊断依据。方法 选择未达骨髓增生异常综合征(MDS)最低诊断标准,但存在持久(>6个月)血细胞减少,骨髓三系细胞无明显病态发育和异常核型证据而考虑诊断为ICUS的患者10例,对其临床和病理学特征进行分析。结果 10例患者中的2例患者转型至MDS,骨髓复查显示大于或等于二系细胞出现诊断性病态发育,染色体核型分析1例仍正常,另1例显示丢失1个正常20号染色体(20q-)。8例随访6~25个月,至今仍维持ICUS原状。结论 未达MDS最低诊断标准的ICUS患者,必须进行定期随访;部分患者经一定潜伏期后可转型至公开的MDS;之前实属Pre-MDS(MDS-早期),表明ICUS应该引起临床高度重视,避免漏诊。

关键词:骨髓增生异常综合征;意义未明特发性血细胞减少症;最低标准;核型

中图分类号:R552

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)21-2698-03

Study on the clinical characteristics of 10 patients with idiopathic cytopenia of undetermined significance*

Pu Jie¹, Shi Jun², Chen Zhen³, Lu Daopei⁴, Pu Quan^{2,3}

(1. Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Guilin Medical college, Guilin, Guangxi 541001, China; 2. Department of Hematology, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China; 3. Department of Pathology, Shanghai Shidom Hospital, Shanghai 200438, China; 4. Shanghai Dao-Pei Hospital, Shanghai 200240, China)

Abstract: Objective To analyze the clinical and pathologic features in patients with Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS), and provide the diagnostic basis. **Methods** 10 ICUS patients who did not fulfil minimal diagnostic criteria for MDS but suffered from constant (>6 months) progressive cytopenia, with no marked dysplasia (<10% in three-major cell lineages) and abnormal karyotype were reported. **Results** 2 of 10 patients transitioned to MDS, bone marrow review showed that ≥ 2 cells appeared diagnostic pathology development. Karyotype analysis showed that 1 case was still normal, 1 case lost a normal chromosome 20 (20q-), the rest 8 cases had been followed up for 6 to 25 months and still maintain ICUS. **Conclusion** Patients with MDS who fail to meet the diagnostic criteria of ICUS, must carry out regular follow-up. There are some patients can transition to public MDS after a certain incubation period, in fact it is Pre-MDS or MDS-early before, which shows that ICUS should cause clinical attention, so that avoid missed diagnosis.

Key words: myelodysplastic syndrome; meaning unclear idiopathic cytopenia disease; minimum standards; karyotype

临床上,如果患者存在明显的持久性(>6个月)血细胞减少,即血红蛋白(Hb)<10 g/dL和(或)绝对中性粒细胞计数(ANC)< $1.0 \times 10^9/L$ 和(或)血小板计数(PLT)< $100 \times 10^9/L$,但骨髓又无病态发育的证据(三系细胞中病态发育细胞小于10%),临床上未达骨髓增生异常综合征(MDS)的最低诊断标准。对这些患者,必须进行长期和反复的骨髓检查,以全面排除能导致血细胞减少的某种基础血液学或非血液学疾病。若无情况,意义未明特发性血细胞减少症(ICUS)的诊断即可成立^[1-3]。2010年以来作者所见10例ICUS,2例分别于首诊5、7个月后转化至MDS,8例已随访6~25个月,至今仍维持ICUS原状,现结合相关文献报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年3月至2013年10月收治的ICUS患者10例,男6例,女4例。年龄18~81岁,平均54.8岁。10例均出现无法解释的持久性血细胞减少。骨髓三系细胞形态均无诊断性病态发育异常,原始细胞小于0.050。按2006年维也纳MDS工作会议提出的MDS最低诊断标准^[3],

此10例患者均可排除为MDS。但10例均具备以下ICUS诊断条件^[1-2]:(1)持久性血细胞减少(>6个月);(2)不符合MDS最低诊断标准;(3)无MDS诊断性病态发育现象(>10%细胞);(4)无MDS典型核型发现;(5)无其他血液或非血液病作为导致血细胞减少的原因;(6)无MDS复合-标准存在(如果可疑MDS病例发现1个或多个复合标准,即命名为“高度疑似克隆性MDS”)^[2]。

1.2 方法

1.2.1 血和骨髓涂片细胞形态检查 骨髓涂片分析400个有核细胞,血涂片分析200个白细胞。两种涂片均观察与计数有无原始细胞(I型+II型)及其所占百分率。各病例骨髓涂片观察红系、粒系和巨核系内的病态发育是否大于或等于0.10,铁染色有无环形铁粒幼细胞。患者每3~4个月复查1次骨髓双标本取材。

1.2.2 骨髓切片组织学和免疫组化检查 各患者经髂后上棘局部麻醉后一步法抽吸-活检双标本取材,Bouin液固定1h,乙醇梯度脱水后作甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)冷-真空包埋。

* 基金项目:上海科学技术委员会平台项目(13DZ2293702)。 作者简介:浦杰(1972-),副教授,主要从事血液疾病研究。

表 1 10 例 ICUS 患者实验室检查分析结果

| 病例号 | 性别 | 年龄(岁) | Hb(g/dL) | WBC($\times 10^9/L$) | ANC($\times 10^9/L$) | PLT($\times 10^9/L$) | 原始细胞(%) | | 环铁粒幼细胞(%) | 红系病态(%) | | 粒系病态(%) | | 巨核系病态(n) | | Gomori染色 | 核型 | FISH检测 |
|-----|----|-------|----------|------------------------|------------------------|------------------------|---------|------|-----------|---------|----|---------|------|----------|----|----------|------|--------|
| | | | | | | | 血涂片 | 骨髓涂片 | | 涂片 | 切片 | 涂片 | 切片 | 涂片 | 切片 | | | |
| 1 | 男 | 18 | 6.4 | 1.77 | 1.25 | 107 | 0 | 2.0 | 3 | 3 | — | 0 | — | — | — | — | 46XY | — |
| 2* | 女 | 57 | 3.1 | 2.03 | 1.29 | 70 | 0 | 1.2 | 0 | 5 | — | 0 | — | — | — | ± | 46XX | — |
| 3 | 男 | 67 | 6.7 | 2.67 | 1.33 | 58 | 0 | 1.0 | 2 | 1 | — | 3 | 偶见丛簇 | 4 | 偶见 | + | 46XY | — |
| 4 | 女 | 52 | 10.0 | 2.73 | 1.50 | 72 | 0 | 1.0 | 5 | 4 | — | 2 | 偶见丛簇 | 2 | — | ± | 46XX | — |
| 5# | 女 | 68 | 6.2 | 2.75 | 1.50 | 32 | 0 | 1.0 | 0 | 5 | — | 0 | — | 3 | — | — | 46XX | — |
| 6 | 男 | 60 | 9.0 | 2.78 | 1.83 | 50 | 0 | 0.8 | 0 | 8 | — | 4 | — | — | — | ± | 46XY | — |
| 7 | 男 | 63 | 7.4 | 2.90 | 1.98 | 81 | 0 | 2.0 | 5 | 2 | — | 0 | 偶见丛簇 | 5 | 偶见 | — | 46XY | — |
| 8 | 男 | 81 | 8.6 | 2.90 | 2.01 | 50 | 0 | 2.0 | 2 | 1 | — | 1 | 偶见丛簇 | 4 | — | ± | 46XY | — |
| 9 | 女 | 39 | 7.0 | 3.52 | 2.25 | 53 | 0 | 0.5 | 6 | 3 | — | 0 | — | — | — | + | 46XY | — |
| 10 | 男 | 43 | 5.7 | 3.60 | 2.27 | 87 | 0 | 0.5 | 3 | 5 | — | 6 | — | 2 | 偶见 | ± | 46XX | — |

*: 5 个月转 MDS; #: 7 个月转 MDS; —: 阴性; + 阳性; ± 可疑阳性。

病理切片均观察以下项目:(1)红系病态造血与异位:有无处于同一发育阶段(同期)幼红细胞簇异常定位于小梁旁区或骨小梁表面, ≥ 3 簇/ mm^2 定为阳性。(2)粒系病态造血与异位:正常切片内原粒和原单等髓系前体细胞常单个定位于小梁旁区。凡大于 5 个聚集成簇构成者称集簇, 3~5 个构成者称丛簇, 位于小梁旁区或间区, 即称幼稚前体细胞异位(ALIP), 每平方米检出大于或等于 3 处巨大集簇者为阳性。本文 2 例由 ICUS 转形为 MDS(RCMD)的病例, 冷冻包埋切片经 APAAP 免疫酶法, 采用对应髓系分化抗原 CD34、CD117 和 CD42b 的抗血清进行切片免疫组化染色^[4]。(3)巨核系病态造血与异位:观察各例切片内有无巨大巨核, 单个小圆核、多核和微巨核等病态发育, 以及多形态变化。2 例从 ICUS 转形为 RCHD 的患者, 切片用 CD42b 抗血清进行免疫组化染色, 计数 100 个巨核, 观察病态巨核是否大于 0.10。(4)Gomori 银浸染色:采用 Gomori 网硬蛋白染色法, 积分标准按改良 Manoharan 法^[5]。

1.2.3 细胞遗传学检查 采用骨髓细胞 24 h 短期培养法制片, 热变性姬姆隆 R 显带, 分析有丝分裂中期细胞(每例至少分析 10 个中期细胞), 根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN)1995》的规定描述染色体核型^[6]。

1.2.4 荧光原位杂交(FISH)检测 参照 Multani 等^[7]描述方法进行 FISH 测定分析, 每例至少分析 10 个中期细胞。FISH 检测对 ICUS 病例是一种有价值的试验, 凡 FISH 阴性, 即支持 ICUS 的诊断^[7-8]。

2 结 果

2.1 临床特征 10 例患者均无明显器官肿大。也无隐性鉴别诊断(肝病、感染、慢性炎症、淋巴瘤和肥大细胞增生症)性疾病存在。初诊时 WBC($1.77 \sim 3.60$) $\times 10^9/L$, ANC($1.25 \sim 2.27$) $\times 10^9/L$, Hb($3.10 \sim 10.0$) g/dL, PLT($32 \sim 110$) $\times 10^9/L$; 平均红细胞体积(MCV)80~91 fL, 见表 1。

2.2 血和骨髓涂片细胞形态 10 例血涂片均未见原始细胞, 也无粒系细胞病态发育。骨髓涂片原始细胞 4 例小于 1.0%, 另 6 例为 1.0%~2.0%。涂片铁染色环形铁粒幼细胞未增加。骨髓涂片显示三系细胞无或仅有轻度病态发育表现。本文病例 2 于 5 个月后血象显示 WBC 为 $2.70 \times 10^9/L$, Hb 6.2 g/dL, PLT $50 \times 10^9/L$, 骨髓复查示红系和粒系出现诊断性病态发育($>10\%$), 涂片中原始细胞达 0.03。本文病例 5 于 7

个月后复查骨髓三系细胞均显示诊断性病态造血($>10\%$), 原始细胞升至 0.04。

2.3 骨髓切片组织学和免疫组化检测 10 例切片均示增生活跃或异常活跃。首诊时 10 例均未检出同期幼红细胞簇, 8 例切片内 ALIP 呈(—), 另 2 例偶见丛簇。3 例偶见微巨核细胞。本组 Gomori 染色 3 例(—), 5 例(±), 和 2 例(+), 本组病例 2 和病例 5 转至 MDS 后, 骨髓切片同期幼红细胞簇和 ALIP 均呈阳性。切片酶标染色均示 CD34⁺ ALIP(3 簇/ mm^2) 阳性和 CD42b⁺ 微巨核和其他病态巨核细胞大于 0.1。病例 5 Gomori 染色从(±)转为(++)。

2.4 细胞遗传学 10 例首次染色体检查均示核型正常。2 例病程中进展至 MDS 时, 病例 2 核型复查仍为 46XY。病例 5 核型复查已显示出单纯 20q-异常。

2.5 FISH 检测结果 本文 10 例初诊时均呈 FISH 阴性反应。病例 5 转至 MDS 后, FISH 分析 20 个中期细胞中, 显示有 1 个为单体 20(20q-)。

3 讨 论

MDS 是一种以外周血细胞减少, 1 个以上髓系细胞病态发育并显示髓系细胞分化和成熟障碍, 骨髓功能异常, 遗传学上的不稳定, 外加向继发白血病转形危险性增高为特征的克隆性异质性疾病^[8-10]。多数患者的病态发育可在骨髓检查中发现, 但并非所有 MDS 患者初诊时都有明显的病态发育或明显的血细胞减少, 对此往往难以认定, 患者是个罹患了 MDS, 还是处于 MDS-前期(a prophase of MDS)^[1-3], 后者也即 ICUS 阶段无法定论。国际 MDS 形态学工作组以 ICUS 命名患者^[11], 并建议对这些患者应作彻底的和长期的随访, 观察有无转至 MDS, 以及何时转至 MDS。

根据 2006 年 MDS 国际工作会议的意见, MDS 的最低诊断标准是^[1]:(1) ≥ 1 个细胞系出现持久的血细胞减少症。(2) 达到下列条件之一, ≥ 1 个主要造血细胞系显示病态发育细胞大于或等于 10%; 特异性环形铁粒幼细胞大于或等于 15%; 原始细胞大于或等于 5%; 检出一种相关异常染色体核型。(3) 排除所有其他造血和非造血疾病作为引起病态发育和(或)血细胞减少的主要原因。临床上, ICUS 的诊断仅能在所有潜在性疾病(肝病、感染、慢性炎症、淋巴瘤和肥大细胞病等)被排除后才能被确认, 而所有这些疾病往往仅能通过骨髓切片才能被

查出^[1,8]。本文 10 例 ICUS 中,其中 2 例分别于 5、7 个月后转至 MDS,其余 8 例至少已观察和随访(每 3 个月作 1 次骨髓活检、染色体和 FISH 检测)6 个月仍处 ICUS 期,有关 ICUS 诊断标准参考文献^[2],按 Valent 等^[2]的意见,如果某种复合标准在 1 例伴典型血液所见(输血依赖性大细胞贫血)血细胞减少症患者中存在,而所有其他导致血细胞减少的原因被排除后,又无病态发育和异常核型被发现,此患者应诊断为“MDS-样病变”或“高度疑似 MDS”。这里所谓的复合标准是指骨髓干细胞功能和骨髓细胞克隆的测定结果。MDS 时骨髓干细胞功能必定降低,并可经由克隆-形成单位(CFU)测定作出判断^[2]。血循环集落-形成细胞(CFC)数是判定骨髓功能的敏感指标。MDS 早期血液 CFC 数可正常^[8],随疾病进展至 MDS,CFC 数即严重受抑制^[8,12],故正常的 CFC 计数就可排除 MDS 的诊断。与此相反,几乎所有骨髓增生性肿瘤(MPN)患者 CFC 计数明显升高。骨髓细胞克隆性可通过常规核型和 FISH 检测确认。细胞表面畸变标记物表达可经由骨髓免疫组化测定 CD34⁺ 原始细胞,以及经流式细胞仪测定发育较为成熟的髓系细胞表面抗原进行判断^[13-15]。流式细胞仪和分子检测结果就能定义此患者是否已罹患了 MPN^[16]。

临床上,FISH 检测骨髓间期细胞是 ICUS 诊断的一种有用指标,FISH 阴性支持 ICUS 的诊断^[1,8],本文 10 例 FISH 全部阴性。此外,少数 ICUS 患者 FISH 测定可出现一个带遗传缺陷的克隆细胞亚群,反复检测一段时间后,克隆大小(FISH-阳性间期细胞数)可逐渐增加^[8],本文 10 例初诊时 FISH 均呈阴性反应,其中病例 5 于 7 个月后转至 MDS,FISH 分析 20 个中期细胞中有 1 个查出单体 20(20q-),故 FISH 阳性间期细胞数占 5%。由此可见,FISH 对可疑 ICUS 或 MDS 患者是一种十分重要的诊断工具。FISH 阴性支持 ICUS 的诊断,如果病程中定期检测 FISH,一旦骨髓细胞亚群中出现阳性异常核型,提示已转入 MDS 期^[8]。骨髓干细胞功能和 CFC 计数相应降低即可明确诊断为 MDS。

有关究竟有多少比例的 ICUS 患者最终可转形至 MDS 至今未明。但必须强调,对于未达 MDS 最低诊断标准的 ICUS 患者,必须进行登记、随访,定期作骨髓涂片和活切片复查、染色体和 FISH 等检测。

参考文献:

[1] Valent P, Horny HP, Bennett JM, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes; consensus statements and report from a working conference [J]. *Leuk Res*, 2007, 31(8): 726-727.

[2] Valent P, Horny HP. Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from ICUS and IDUS; Update and open questions [J]. *Eur J Clin Invest*, 2009, 39(7): 548-553.

[3] Valent P, Orazi A, Büsche G, et al. Standards and Impact of Hematopathology in myelodysplastic syndromes (MDS) [J]. *Oncotarget*, 2010, 1(5): 483-496.

[4] Horny HP, Sottar K, Valent P. Diagnostic value of histol-

ogy and immunohistochemistry in myelodysplastic syndromes [J]. *Leuk Res*, 2007, 31(20): 1609-1616.

- [5] Farhi DC. Pathology of bone marrow and blood cells (2nd) wolters kluwer [M]. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins, 2009; 4-9.
- [6] Shaffer LG, Tommerup N, ISCN (2005). An international system for human cytogenetic nomenclature [M]. Switzerland; S karger, 2005; 55.
- [7] Multani AS, Hopwood VL, Pathak S. A modified fluorescence in situ hybridization (FISH) technique [J]. *Anticancer Re*, 1996, 16(20): 3432-3437.
- [8] Wimazal F, Fonatsch L, Thalhammer R, et al. Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) versus low risk MDS; the diagnostic interface [J]. *Leuk Res*, 2007, 31(15): 1461-1468.
- [9] Kouides PA, Bennett JM. Morphology and classification of the myelodysplastic syndromes and their pathologic variants [J]. *Semin Hematol*, 1996, 33(2): 95-110.
- [10] Brunning RD, Bennett JM, Flandrin G, et al. World health organization classification and lymphoid tissues [M]. Lyon; IARC Press, 2001; 61-73.
- [11] Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. International working Group on morphology of myelodysplastic syndrome. 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 sideroblasts [J]. *Haematologica*, 2008, 93(20): 1712-1717.
- [12] Berer A, Jger E, Sagaster V, et al. Circulating myeloid colony-forming cells predict survival in myelodysplastic syndromes [J]. *Ann Hematol*, 2003, 85(3): 271-277.
- [13] Loken MR, Van de Loosdrecht A, Ogata K, et al. Flow cytometry in myelodysplastic syndromes; report from a working conference [J]. *Leuk Res*, 2008, 32(1): 5-17.
- [14] Van de Loosdrecht AA, Westers TM. Flow cytometry in myelodysplastic syndromes; towards a new paradigm in diagnosis and prognostication [J]. *Leuk Res*, 2008, 32(3): 205-207.
- [15] Van de Loosdrecht AA, Westers TM. Identification of distinct prognostic subgroups in low-and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry [J]. *Blood*, 2008, 111(11): 1067-1077.
- [16] Loken MR, Chu SC, Fritschle W, et al. Normalization of bone marrow aspirates for hemodilution in flow cytometric analyses [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2008, 768(1): 27-36.