



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.02.020

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.02.020

• 病例报告 •

三阴性骨髓纤维化伴免疫球蛋白重链基因重排一例

廖有平 胡国瑜

[关键词] 三阴性骨髓纤维化; 免疫球蛋白重链基因重排

[中图分类号] R551.3

[文献标识码] B

患者,男,61岁,因“发现全血细胞减少9月余,乏力半月余,加重4天”于2020年4月18日入院。患者9个月前体检发现WBC、RBC、PLT计数均减少,其他无特殊不适,未予重视故未监测血常规。半月余前患者无明显诱因出现乏力,伴活动后气促,自觉尚可耐受,未就诊。4日前乏力及活动后气促较前明显加重,无咳嗽、发热、胸闷、胸痛、头晕、血尿、皮肤出血等,为求进一步治疗遂至我院,以“全血细胞减少查因”收入我科。既往史:两年前体检发现脂肪肝、脾脏肿大,血常规检查结果提示贫血、PLT计数减少(具体不详),未重视。个人史:长期饮酒,每日饮白酒3~6两。家族史:其母因“白血病”去世。入院体格检查:T 36.1℃,R 23次/分,P 95次/分,Bp 185/95 mmHg,发育正常、营养良好、慢性病容、贫血貌,皮肤黏膜未见出血点,左侧颌下可扪及两个蚕豆大小淋巴结,质地韧,活动度好,无触痛,巩膜轻度黄染,咽部无充血,扁桃体无肿大,未见颈静脉怒张,桶状胸,胸骨中下段有压痛,右上肺可闻及双相干啰音,双下肺呼吸音低,可闻及少许湿啰音。心率95次/分,律齐,未闻及杂音,腹部平、软,无压痛及反跳痛,肝肋下3横指可扪及,质硬,无压痛,脾下缘平脐水平,质稍硬,无压痛,双肾区无叩痛,肠鸣音正常,双下肢无浮肿,四肢肌力、肌张力正常,病理征阴性。入院后完善相关检查:血常规:WBC计数 $2.64 \times 10^9/L$ ($3.50 \sim 9.50 \times 10^9/L$,括号内为正常参考值范围,以下相同),淋巴细胞计数 $0.22 \times 10^9/L$ ($1.10 \sim 3.20 \times 10^9/L$),中性粒细胞计数 $0.77 \times 10^9/L$ ($1.80 \sim 6.30 \times 10^9/L$),RBC计数 $2.27 \times 10^{12}/L$ ($4.30 \sim 5.80 \times 10^{12}/L$),单核细胞计数 $0.64 \times 10^9/L$ ($0.10 \sim 0.60 \times 10^9/L$),PLT计数 $66 \times 10^9/L$ ($100 \sim 300 \times 10^9/L$),血红蛋白(Hb)56 g/L($130 \sim 175$ g/L);外周血涂片结果:中性中幼粒细胞2%,中性杆状核2%,中性分叶核36%,成熟淋巴细胞42%,成熟单核细胞18%;肝功能:AST 52 U/L($15 \sim 40$ U/L),白蛋白33.9 g/L($35.0 \sim 50.0$ g/L),球蛋白48.4 g/L($20.0 \sim 40.0$ g/L),总胆红素32.2 $\mu\text{mol/L}$ ($0 \sim 26.0$ $\mu\text{mol/L}$),直接胆红素21.4 $\mu\text{mol/L}$ ($0 \sim 8.0$ $\mu\text{mol/L}$),电解质、肾功能、心肌酶、淀粉酶、凝血功能均未见异常。血气分析:pH 7.51,二氧化碳分压(PCO₂)29 mmHg,氧分压(PO₂)61 mmHg,血氧饱和度(SO₂)93%。乙型肝炎(简称乙肝)五项:乙肝表面抗体47.85 mIU/ml($1.80 \sim 6.30$ mIU/ml),

乙肝核心抗体6.8 S/CO(<1.0 S/CO),乙肝表面抗原、乙肝e抗原、乙肝e抗体检查结果均无异常。HBV-DNA $<1\ 000$ copies/ml($<1\ 000$ copies/ml)。肝纤维化指标:血清透明质酸599 ng/ml(<100 ng/ml);血清IV型胶原120 ng/ml(<30 ng/ml);血清层粘连蛋白19 900 ng/ml(<50 ng/ml)。间接抗人球蛋白试验(-);直接抗人球蛋白试验(++)。胸部+全腹部CT检查结果:1.支气管疾患、肺气肿,并双肺感染;2.双肺少许纤维增殖灶;3.双侧胸腔积液、心包少量积液;4.主动脉及冠状动脉硬化;5.脾脏肿大;6.左肾小囊肿。因患者有肺部感染,予抗感染治疗同时完善骨髓造血相关检查,铁蛋白1 295.11 ng/ml($21.80 \sim 274.66$ ng/ml),维生素B₁₂、叶酸、转铁蛋白均未见异常;血清铁48.8 $\mu\text{mol/L}$ ($7.8 \sim 32.2$ $\mu\text{mol/L}$),血 β_2 -微球蛋白5 139.79 $\mu\text{g/L}$ ($900.00 \sim 2\ 700.00$ $\mu\text{g/L}$)。骨髓细胞学结果:骨髓增生明显活跃,粒系占11.5%,红系占2%,粒系:红系=0.52,成熟淋巴细胞占63.5%,部分淋巴细胞形态不规则,考虑淋巴细胞增殖性疾病。骨髓活检结果:可见纤维化[骨髓纤维化(MF)2级],未见幼稚细胞增多,但淋巴细胞易见;免疫组化结果:CD3多(+);CD20散在(+);CD56散在少(+);E-钙粘附素多(+);CD61巨核细胞(偶见单圆核)。加做免疫组化示T淋巴细胞(简称T细胞)明显增多,但B淋巴细胞(简称B细胞)亦可见散在分布,考虑淋巴瘤侵犯骨髓,倾向于T系来源,建议行T细胞及B细胞克隆性评估、肝脾穿刺活检进一步诊断。因骨髓活检可见纤维化并考虑淋巴瘤骨髓侵犯,遂完善骨髓增殖性肿瘤(MPN)相关基因、骨髓流式免疫分型及T细胞受体(TCR)、免疫球蛋白重链基因(IGH)重排检查,继续对症支持治疗。骨髓流式免疫分型:成熟淋巴细胞占有核细胞42.4%,其中一群异常细胞群占有核细胞4.4%,强表达CD20、CD19、FMC7、CD22、KAPPA、分泌型IgD(sIgD)、sIgM、CD79b,弱表达CD25、CD200,不表达CD5、CD10、CD38、CD23、CD81、CD103、CD11c、I λ 、ki67($<10\%$),为CD5⁻CD10⁻单克隆小B细胞;另一群异常细胞群占有核细胞3.3%,强表达CD3、CD5、CD2,不表达CD7,该群细胞CD4:CD8=8.6,请结合TCR基因重排;结论:一群占全部有核细胞4.4%的单克隆小B细胞,侵袭性低,请结合IGH重排及临床;T细胞占全部有核细胞31.2%,比例增高,其中可见一群CD3⁺CD2⁺CD5⁺CD7⁻表型异常细胞,约占全部有核细胞的3.3%,不排除反应性异常,请结合TCR基因重排及临床综合诊断。骨髓增殖性肿瘤相关基因JAK2V617F、MPL、CALR阴性。BCR/ABL-190/ABL、BCR/ABL-210/ABL、BCR/ABL-230/ABL均

为阴性。T 细胞克隆性评估:未检测到单克隆重排。B 细胞克隆性评估检测到 IGH V 区重排。FISH 检查结果:IGH (14q32) 可见 6% 显示 3 个绿色信号,提示 IGH (14q32) 发生断裂,已见到基因区段,未发现与 3、4、8、6、11、16、18、20 染色体发生融合。淋巴瘤相关基因突变检测 (68 个) 结果:检测到临床意义未明变异 (ARID2、KMT2C),余 66 个基因未检测到变异。患者主要临床表现为脾脏肿大、全血细胞减少,骨髓活检和流式细胞学结果均提示淋巴瘤可能,但未见淋巴结及其他结外器官肿瘤征象,根据临床表现及流式细胞学等检查结果,初步诊断怀疑脾边缘区淋巴瘤,需进一步行活检确诊,但脾脏穿刺活检风险大,经多学科讨论并经患者及家属同意,于 2020 年 5 月 20 日行脾脏切除术。术后组织病理活检示脾脏增大,脾血窦扩张充血,红髓区域纤维化,见散在巨噬细胞,少许吞噬 RBC 现象,少量含铁血黄素沉着,血窦内见少量深染细胞,另见散在巨核细胞,淋巴滤泡不明显,符合慢性淤血性脾脏肿大并髓外造血。活检结果排除淋巴瘤,根据原发性骨髓纤维化诊治指南^[1],最后诊断为原发性骨髓纤维化。脾脏切除术后 7 天,患者 PLT、WBC 计数均恢复正常。

讨论

BCR-ABL 阴性的 MPN 是一种造血干细胞克隆性肿瘤^[2],包括原发性 MF (PMF)、真性红细胞增多症 (PV) 和原发性血小板增多症 (ET),其中 PMF 发病率较其他两者低,其预后也最差,临床主要表现为进行性血细胞减少和脾脏肿大,中位生存时间为 6 年^[3]。MPN 发病机制尚未明确,但一般认为与基因突变有关。2016 年 WHO 更新的 MPN 诊治指南将 JAK2V617F、MPL、CALR 基因突变纳入 MPN 的主要诊断标准。绝大多数 PMF 患者存在这 3 个基因中的一个或多个突变,但仍有约 10% 的患者这些基因突变为阴性^[4]。三种基因突变均为阴性的骨髓增殖性肿瘤称为三阴性骨髓增殖性肿瘤 (TN-MPN)。

JAK2V617F 是被首先发现并研究阐述的驱动突变,它是 JAK2 的 14 号外显子上的一个激活突变,可导致缬氨酸被苯丙氨酸取代,见于 50% ~ 60% 的 PMF 或 ET 患者,而 PV 患者该基因突变率高达 95%^[5]。MPL 是第 2 个被发现并研究阐明的突变,11% 的 PMF 发生 MPL 基因突变,该突变引起 PLT 生成素受体的巨核细胞增殖及分化异常活跃,进而发生骨髓纤维化^[6]。CALR 基因发现相对较晚,2013 年首次报道 CALR 突变可见于 MPN 尤其是 JAK2 或 MPL 突变阴性的 ET 和 PMF,突变发生率为 20% ~ 25%,ET 和 PMF 患者该基因的突变可能与 PLT 计数高、低血栓风险、预后相对较好有关,且该基因突变阳性的 ET 向 PMF 转化风险低于突变阴性者^[7]。梅奥中心分析了 709 例 PMF 患者,其中 66% 存在 JAK2 基因突变,16% 存在 1 型 CALR 基因突变,3% 存在 2 型 CALR 基因突变,5% 存在 MPL 基因突变,10% 为三阴性 PMF,其研究结果显示 PMF 中 1 型 CALR 突变不仅具有更长的生存期,还部分修正了高分子风险突变的不利影响,而基因突变阴性并没有提供整体或无白血病生存的预后信息^[7]。相关研究显示,三阴性 PMF 患者较携带驱动突变的患者向白血病转化的概率更高,预后更差,生存期更短^[8]。

通常认为 IGH 重排为 B 细胞克隆特异性标志,罕见于骨髓纤维化疾病的报道中。B 细胞克隆通常通过使用 BIOMED-2

PCR 检测 IGH、免疫球蛋白轻链 K (IGK)、IGL 基因重排来评价,同时克隆性免疫球蛋白基因重组的检测也用于辅助 B 细胞淋巴瘤的诊断^[9]。早在十多年前,22 个欧洲实验室使用标准化的 BIOME-2 PCR 对 369 个 B 细胞恶性肿瘤的 IG/TCR 重排模式及 t(14;18) 和 t(11;14) 易位进行了研究,他们检测的 260 例 B 细胞恶性肿瘤包括慢性淋巴细胞白血病 (56 例)、套细胞淋巴瘤 (54 例)、边缘区淋巴瘤 (41 例) 和滤泡淋巴瘤 (109 例),所有患者中均可检测到 B 细胞克隆,109 例弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者中仅 2 例无克隆标记^[10]。但是,王阳等^[11]研究发现急性非淋巴细胞白血病亦可发生 IGH 和 TCR 重排,在少数非 B 细胞肿瘤和炎症反应过程也可检测到克隆性免疫球蛋白基因^[12]。因此 IGH 和 TCR 重排并非淋系疾病所特有,其具体致病机制尚不明确,IGH 重排可能只能说明 B 细胞有克隆性改变,并不一定有肿瘤发生,而骨髓纤维化与 IGH 重排是否相关,有待进一步研究。本例患者诊断为原发性骨髓纤维化,同时合并 IGH 重排,但未检测到淋巴瘤,需定期随访复查骨髓、淋巴结的检查结果,以掌握病情并早期发现疾病进展。

参考文献

- [1] 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指南 (2019 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2019, 40 (1): 1-7.
- [2] 习琴, 张秀莲. 非达替尼治疗骨髓纤维化的研究进展 [J]. 临床内科杂志, 2021, 38 (5): 353-355.
- [3] Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, et al. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1,095 patients [J]. Am J Hematol, 2018, 93 (3): 348-355.
- [4] Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: a decade of discoveries and treatment advances [J]. Am J Hematol, 2016, 91 (1): 50-58.
- [5] Azzato EM, Bagg A. Molecular genetic evaluation of myeloproliferative neoplasms [J]. Int J Lab Hematol, 2015, 37 (1): 61-71.
- [6] Defour JP, Chachoua I, Pecquet C, et al. Oncogenic activation of MPL/thrombopoietin receptor by 17 mutations at W515: implications for myeloproliferative neoplasms [J]. Leukemia, 2016, 30 (5): 1214-1216.
- [7] Araki M, Komatsu N. The role of calreticulin mutations in myeloproliferative neoplasms [J]. Int J Hematol, 2020, 111 (2): 200-205.
- [8] Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, et al. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN alliance study of 1095 patients [J]. Am J Hematol, 2018, 93 (3): 348-355.
- [9] Boone E, Heezen KC, Groenen PJTA, et al. PCR GeneScan and Heteroduplex Analysis of Rearranged Immunoglobulin or T-Cell Receptor Genes for Clonality Diagnostics in Suspect Lymphoproliferations [J]. Methods Mol Biol, 2019, 1956: 77-103.
- [10] Evans PA, Pott C, Groenen PJ, et al. Significantly improved PCR-based clonality testing in B-cell malignancies by use of multiple immunoglobulin gene targets. Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936 [J]. Leukemia, 2007, 21 (2): 207-214.
- [11] 王阳, 王玮, 陆庭伟, 等. IgH、TCRδ 基因重排与急性非淋巴细胞白血病的相关性 [J]. 中华血液学杂志, 2000, 21 (5): 253.
- [12] van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the IOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936 [J]. Leukemia, 2003, 17 (12): 2257-2317.

(收稿日期: 2020-09-06)

(本文编辑: 余晓曼)