

• 临床检验研究 •

联合骨髓涂片和骨髓活检诊断非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯

彭贤贵, 张 曦, 孔佩艳, 刘 红, 刘思恒, 王 平, 墙 星, 邓小娟, 张洪洋, 陈幸华[△]

(第三军医大学新桥医院血液科/重庆市医学重点学科, 重庆 400037)

摘 要:目的 探讨骨髓涂片和骨髓活检在非霍奇金淋巴瘤(NHL)骨髓浸润诊断中的价值。方法 NHL 患者同时做骨髓涂片和骨髓活检。骨髓涂片经瑞氏染色, 分类计数肿瘤细胞; 骨髓切片采用塑料包埋法, 制作组织切片, 常规 HGF 染色。结果 62 例 NHL 患者经骨髓涂片和骨髓活检联合检测, 确诊为 NHL 细胞骨髓侵犯, 其中 49 例(79.0%)骨髓涂片检出 NHL 细胞, 59 例(95.2%)骨髓活检检出肿瘤细胞浸润灶, 骨髓活检阳性率略高于骨髓涂片, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。NHL 细胞形态分为 4 种类型: 小细胞成熟型、大细胞幼稚型、大细胞原始型和组织细胞型。13 例骨髓涂片检查阴性而骨髓活检阳性的病例中, 10 例是小细胞成熟型(76.9%); 9 例为骨髓淋巴瘤细胞轻度侵犯(69.2%), 3 例为重度侵犯合并骨髓纤维化(23.1%)。结论 骨髓涂片和骨髓活检都是诊断 NHL 骨髓侵犯的重要手段, 两者各有优势, 联合应用可以提高诊断阳性率。骨髓活检在淋巴瘤细胞轻度骨髓侵犯或合并骨髓纤维化, 以及浸润瘤细胞为小细胞成熟型时, 更能准确地提供诊断依据。

关键词:淋巴瘤, 非霍奇金; 活组织检查; 骨髓浸润; 骨髓涂片

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.023

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)11-1195-02

Value of combined detection of bone marrow smear and biopsy in the diagnosis of bone marrow infiltration of non-Hodgkin lymphoma

Peng Xiangui, Zhang Xi, Kong Peiyan, Liu Hong, Liu Siheng, Wang Ping, Qiang Xing, Deng Xiaojuan, Zhang Hongyang, Chen Xinghua[△]

(Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore the value of combined detection of bone marrow smear(BMS) and bone marrow biopsy(BMB) in the diagnosis of bone marrow(BM) infiltration of non-Hodgkin lymphoma(NHL). **Methods** Patients with NHL were detected by BMS and BMB simultaneously. Smears were stained with Wright-Giemsa's staining to differentially count neoplastic cells and tissue sections were embedded in plastic and stained with HGF and gomori staining. **Results** 62 cases of patients with BM infiltration(BMI) of NHL were definitely diagnosed by the combined detection BMA and BMB. The detection rates of BMS and BMB for BMI of NHL were 79.0% and 95.2% respectively, and there was no statistical difference of detection rate between the two methods ($P>0.05$). Neoplastic cells of NHL could be divided into 4 types, according to the morphology typing, including small mature lymphoma cells, mega-immature lymphoma cells, mega-primitive lymphoma cells and histiocytes type. 13 cases were negative by BMB detection, but positive by BMA detection, including 10(76.9%) cases for small mature lymphoma cells type, 9(69.2%) cases for slight BMI and 3(23.1%) cases for severe BMI with myelofibrosis. **Conclusion** Both BMA and BMB are useful to diagnose BMI of NHL. Each of them has individual characteristics. Combined detection of these two methods can increase the diagnostic positive rates. BMB might offer diagnostic reference more accurately for the diagnosis of HNL with small mature lymphoma cells, slight BMI or severe BMI with myelofibrosis, compared with BMS.

Key words: lymphoma, non-Hodgkin; biopsy; bone marrow involvement; bone marrow smear

非霍奇金淋巴瘤(NHL)是一组源于淋巴干细胞克隆性增殖性肿瘤, 常常累及皮肤、胃肠和骨髓等。骨髓浸润(BMI)是 NHL 的常见并发症, 在疾病后期常发展为淋巴瘤细胞白血病(LMCL), 及时、正确诊断淋巴瘤 BMI 对治疗方案的选择和预后的判断均有重要的临床指导意义。本科采用骨髓涂片和骨髓病理切片联合检测的方法, 诊断了 62 例骨髓淋巴瘤细胞侵犯, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 62 例患者均为本科门诊及住院患者, 其中男 37 例, 女 25 例; 年龄 5~85 岁, 中位年龄 52.1 岁。首发症状及体征表现大部分有头晕、乏力、心悸、面色苍白; 部分有出血(四肢、躯干、牙龈、内脏), 贫血, 发热, 肝脾肿大, 骨痛或胸骨压痛。

1.2 方法 无菌条件下行骨髓穿刺和骨髓活检。一般先取骨髓活组织, 再换方位抽取骨髓细胞液。骨髓活检取材标本 0.8~2.0 cm, 立即在 2 mL 的 Bouin 液中固定。骨髓穿刺抽吸 0.3 mL 骨髓液, 涂 7 张片备用。另制备 2 张外周血片, 同时镜

检。骨髓活检标本经乙醇梯度脱水, 行塑料包埋, 切片 3 张, 做 HGF 染色及 Gomori 染色, 封片镜检。细胞涂片经瑞氏-姬姆萨混合染液染色, 在油镜(1 000 倍)下分类计数 500 个细胞。每例患者的骨髓涂片均加做 PAS 和 POX 染色。骨髓切片检查重点观察有无淋巴瘤细胞侵犯灶, 并划分浸润类型及分度。骨髓涂片检查重点查找有无淋巴瘤细胞浸润, 观察细胞的异质性, 包括大小、异形变、分化程度及有无呈簇分布现象。

1.3 判断标准 将 NHL 患者骨髓涂片中淋巴瘤细胞大于或等于 5% 者诊断为 BMI, 淋巴瘤细胞大于或等于 20% 诊断为 LMCL。骨髓活检的 BMI 分度参考 Frisch 标准, 根据瘤细胞在骨髓切片中所占比例分为: 轻度(5%~20%)、中度(21%~50%)、重度(>50%)。

1.4 统计学处理 对数据进行方差分析, 对 t 检验和 χ^2 检验进行统计学处理, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 淋巴瘤细胞骨髓侵犯的形态特征 骨髓涂片检查中, 淋

[△] 通讯作者, E-mail: xhchen888@yahoo. com. cn。

巴瘤 BMI 患者的瘤细胞由于数量不多,散在分布于正常粒细胞、红细胞、巨核细胞三系造血细胞之间,呈单个或小簇状分布,形态各异,体积大小不等;LMCL 患者的瘤细胞由于数量多,呈弥散型、结节型或密集型分布,易见瘤细胞岛,瘤细胞周围夹杂数量不等的正常造血细胞。淋巴瘤细胞有着不同于其他造血细胞的异质性,如染色质粗,核浆比例高,核圆形或不规则形,外周伪足明显等。不同类型的淋巴瘤细胞根据大小和染色质分化程度,分为:小细胞成熟型、大细胞幼稚型、大细胞原始型、组织细胞型。小细胞成熟型淋巴瘤细胞特征为:胞体小,胞质少,外形不规则,易见伪足,胞质灰蓝色,A 颗粒少;核圆形或有折叠,凹陷,染色质粗块状,但无明显的副染色质区;核仁消失或留有核仁残迹。大细胞幼稚型瘤细胞特征为:胞体大小不等,以大细胞为主,外形不规则,可见伪足,胞质丰富,灰蓝色,A 颗粒少;核圆形或类圆形,核膜边缘有切迹,凹陷现象,染色质粗颗粒或小块状,副染色质区不显著;核仁大,不清晰或留有核仁残迹。大细胞原始型瘤细胞特征为:胞体大小较一致,外形较规则,少有伪足,胞质丰富,灰蓝色,A 颗粒少或无;核圆形或类圆形,染色质粗颗粒状;核仁大而清晰,呈暗蓝色。组织细胞型瘤细胞特征为:胞体大小不等,差异悬殊,小者如淋巴样组织细胞,大者可为多核巨大瘤细胞。外形极不规则,易见伪足和瘤状突起,胞质多少不一,灰蓝色,A 颗粒多少不定;核畸形变显著,呈凹陷、裂痕、折叠,易见双核、多核现象;染色质粗细不定;核仁大,深蓝,一到数个不等。常可查见组织细胞增多和噬血现象。

2.2 骨髓涂片和骨髓切片对淋巴瘤 BMI 的敏感性 在确诊 62 例淋巴瘤细胞 BMI 或 LMCL 的病例中,骨髓象查见 49 例(79.0%)有淋巴瘤细胞侵犯骨髓,13 例(21.0%)骨髓象正常。骨髓切片诊断 59 例有淋巴瘤细胞侵犯骨髓,3 例(4.8%)未见淋巴瘤细胞浸润灶。骨髓活检与涂片阳性率比较, $\chi^2=5.812$, $P>0.05$,差异无统计学意义。

2.3 骨髓涂片诊断结果与骨髓切片瘤细胞浸润分型的关系 在 49 例阳性病例中,13 例淋巴瘤细胞比例大于 5%和 2 例淋巴瘤细胞比例小于 5%,诊断为淋巴瘤细胞骨髓侵犯;36 例淋巴瘤细胞比例大于 20%,诊断为淋巴瘤细胞白血病。所有异常细胞均为 PAS 阳性和 POX 阴性。

骨髓切片确诊 59 例淋巴瘤细胞侵犯,侵犯程度为轻度 21 例,中度 19 例,重度 22 例。浸润灶表现的方式为间质型 19 例,结节型 10 例,小梁旁型 7 例,混合型 9 例和弥漫型 14 例。浸润方式与骨髓涂片诊断结果比较,见表 1。

表 1 骨髓活检瘤细胞浸润方式与骨髓涂片诊断结果的比较(n)

骨髓活检瘤细胞浸润方式	骨髓涂片诊断结果		
	涂片阴性	NHL 细胞 BMI	LMCL
切片阴性	—	3	—
间质型	8	5	6
结节型	1	3	6
小梁旁型	1	2	4
混合型	—	—	9
弥漫型	3	—	11

—:无数据。

2.4 骨髓涂片阴性病例的瘤细胞浸润度与细胞形态分型的关系 13 例骨髓涂片阴性病例的资料显示,9 例为骨髓淋巴瘤细胞轻度侵犯(69.2%),1 例为中度侵犯(7.7%),3 例为重度侵

犯合并骨髓纤维化(23.1%)。3 例骨髓切片未发现瘤细胞侵犯者,有 2 例骨髓组织取材少,1 例未见典型的瘤细胞浸润病灶,而骨髓涂片见有胞体小、外形不规则、伪足、核畸形的淋巴瘤细胞。骨髓瘤细胞浸润度与骨髓活检观察细胞形态分型的关系,见表 2。

表 2 13 例骨髓涂片阴性病例瘤细胞浸润度与骨髓活检中细胞形态分型的关系(n)

浸润度	小细胞成熟型	大细胞幼稚型	大细胞原始型	组织细胞型
轻度侵犯	8	1	—	—
中度侵犯	1	—	—	—
重度侵犯合并骨髓纤维化	1	1	—	1

—:无数据。

3 讨 论

NHL 是一组来源于淋巴造血系统高度异质性的恶性肿瘤,其细胞表型有不同病理类型和不同分化程度。NHL 容易累及骨髓,发生率为 16%~75%^[1]。由于骨髓侵犯与否影响着 NHL 的临床分期、预后判断和治疗策略,因此,骨髓检查是 NHL 患者诊断时和治疗过程中必不可少的检测项目之一。

常用的骨髓检查方法包括骨髓穿刺(BMA)涂片和骨髓活检(BMB)。BMA 涂片方法简便、快捷,不需像活检标本要进行固定、包埋、切片等处理过程,但在瘤细胞比例较小的情况下诊断较为棘手,容易漏诊^[2]。BMB 由于取材面积大,能够观察到骨髓组织的原位构象,且部分学者认为淋巴瘤细胞是沿骨小梁浸润骨髓的,呈灶性分布,因此,骨髓活检比骨髓穿刺诊断 BMI 阳性率更高^[3]。国内有报道,两者检测出的阳性率差异明显,一致率 38.6%^[4],本组病例一致率 83.1%,与国外报道的 82%较为接近^[5-6]。

NHL 侵犯骨髓的类型主要包括 5 种,间质型、结节型、混合型、弥漫型及窦内型,未单独列出小梁旁型。从本组病例看,小梁旁型是有别于 NHL 细胞其他组织侵犯的一种浸润方式,在本组病例中占 11.3%,这种分布结构不利于骨髓抽吸取样。这个因素有可能导致 BMA 检出阳性率低于 BMB。本组病例未见窦内型 BMI。

BMA 能否检测到 NHL 细胞 BMI,与瘤细胞的多少有直接关系。本组病例发现有 13 例 BMA 未检出瘤细胞的病例,在活检中有 9 例表现为间质型的轻度侵犯,1 例中度侵犯,3 例表现为弥散型重度骨髓侵犯伴骨髓纤维化(MF)。轻度骨髓侵犯时瘤细胞过少,BMA 不易抽到。中度侵犯则有可能骨髓穿刺未抽吸到病灶。重度骨髓侵犯一般 BMA 能查见大量瘤细胞,检出率与 BMB 相似。如合并 MF,BMA 则很难抽出被纤维组织包裹的瘤细胞而导致漏诊。在 NHL 细胞轻度骨髓侵犯或伴发 MF 的情况下,BMB 的敏感性优于 BMA。

BMA 在检测 NHL 细胞 BMI 时,对瘤细胞特性的分析十分重要。本组病例将瘤细胞形态分为四种,与国内报道将瘤细胞分类为三种的方法相比^[7-8],更加注重瘤细胞的大小和分化程度的把握。在瘤细胞的鉴别中,由于小细胞成熟型瘤细胞与正常淋巴细胞极为相似,识别更为不易。本组 13 例 BMA 检查阴性而 BMB 检查阳性的病例,有 10 例是小细胞成熟型(76.9%),说明瘤细胞特征为小细胞成熟型 NHL,特别是在骨髓轻度侵犯的情况下,仅采用 BMA 容易出现漏诊,其原因可能为体积小,分化程度高的瘤细胞形态特征与正常淋巴细胞不易鉴别有关。而 BMB 则可以查见呈簇状、结节状或小梁旁型的浸润灶,从而明确瘤细胞 BMI。细胞特征(下转第 1198 页)

患者,差异有统计学意义, $P<0.05$,见表 1。

表 1 慢性丙型肝炎患者 TPOAB 与丙氨酸氨基转移酶、自身抗体的比较[n(%)]

组别	ALT	ANA	AMA	RF
TPOAB 阳性	9(75.0) *	5(41.6) *	5(41.6) *	4(33.3) *
TPOAB 阴性	15(24.2)	8(12.9)	8(12.9)	6(9.6)

* : $P<0.05$,与 TPOAB 阴性组对比。

3 讨 论

丙型病毒性肝炎是 1 种主要经血液传播,由丙型肝炎病毒(HCV)引起的肝脏急、慢性炎症反应的传染性疾病^[2]。HCV 病毒可以通过分子模拟现象激活自身免疫反应性 T 细胞,从而导致自身免疫,所以 HCV 感染患者可能存在明显的免疫现象^[3]。Alessando 等^[4]认为丙型肝炎病毒可以引起自身免疫反应,慢性丙型肝炎患者甲状腺自身抗体阳性率 4.6%~15%。Antonelli 等^[5]研究表明,慢性丙型肝炎患者组 13%患有甲状腺功能减退症,17%TGAB 阳性,21%TPOAB 阳性,皆高于对照组,表明 HCV 与自身免疫性甲状腺疾病有关。甲状腺过氧化物酶(TPO)是甲状腺细胞膜上的 1 种糖蛋白,是甲状腺激素合成过程的关键酶,它参与酪氨酸残基的碘化和碘化酪氨酸的耦联作用,从而产生 T3、T4。在正常情况下,血液中极其微量^[6]。当自身免疫炎症反应破坏滤泡细胞,机体免疫调节机制紊乱,甲状腺球蛋白(TG)和 TPO 则溢至血液循环中,淋巴细胞产生抗甲状腺组织抗体 TGAB、TPOAB, TGAB 与甲状腺球蛋白形成复合物后与巨噬细胞或自然杀伤细胞结合,破坏甲状腺滤泡上皮细胞,导致甲状腺免疫性损害。

本研究表明,慢性丙型肝炎患者组的 TPOAB 阳性率明显高于健康对照组和慢性乙型肝炎患者的 TPOAB 阳性率,提示丙型肝炎抗原可引起自身免疫性甲状腺反应,使血液中 TPO-

AB 的含量增加。甲状腺组织 TPOAB 的出现,往往提示体内免疫功能的紊乱,同时病毒亦可能存在复制,如处理不及时或方法不当,可能贻误病情,造成严重后果。同时,慢性丙型肝炎患者组的 TPOAB 阳性率与患者的性别有关,女性患者阳性率明显高于男性患者($P<0.05$),说明 TPOAB 抗体的产生不仅与 HCV 有关,还与性别差异有关。TPOAB 阳性的慢性丙型肝炎患者 ANA、AMA、RF 阳性率明显高于 TPOAB 阴性丙型肝炎患者 ANA、AMA、RF 阳性率,这一结果与余妍等^[7]的报道类似,提示 HCV 感染可伴有全身性和器官特异性自身免疫反应。由此可见,研究 HCV 患者血清中 TPOAB 对临床诊疗具有十分重要的意义。

参考文献

[1] Andrade LJ, Atta AM, D'Almeida Junior A, et al. Thyroid dysfunction in hepatitis C individuals treated with interferon-alpha and ribavirin[J]. Braz J Infect Dis, 2008, 12(2): 144-148.

[2] 王青, 梁晓峰, 陈园生. 丙型病毒性肝炎的研究近况[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(4): 349-351.

[3] 柴伟, 张春明. 慢性丙型肝炎病毒感染者血清中自身抗体检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(8): 752-753.

[4] Alessando A, Clodoveo F, Alessandro P, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C[J]. Am J Med, 2004, 117(1): 10-12.

[5] Antonelli A, Ferri C, Pampana A, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C[J]. Am J Med, 2004, 117(1): 60-61.

[6] 张艳丽, 方佩华. 甲状腺过氧化物酶及其抗体与甲状腺疾病[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2008, 28(1): 62-65.

[7] 余妍, 郝晓柯, 张小宁, 等. 丙型肝炎病毒感染者自身抗体的检测及临床研究[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(4): 28-30.

(收稿日期: 2010-12-09)

(上接第 1196 页)

为小细胞成熟型的 NHL 主要包括外周 B 淋巴细胞肿瘤和部分外周 T 淋巴细胞肿瘤。

3 例 BMB 检查阴性而 BMA 检查阳性的病例, 2 例有骨髓组织取材过少的原因, 有 1 例是浸润的肿瘤细胞少, 呈散在或小簇分布, 且细胞体积小, 分化程度高, 而未能确诊。BMB 常要求双侧取材, 且活检组织需大于或等于 2 cm, 但临床上实际操作中很难达到这些要求, 故检出率也可能受到影响而下降^[9]。

本组病例显示, 单一 BMA 阳性检出率 79.0%, BMB 阳性检出率 95.2%, 两种技术联合使用使阳性率达 100%, 说明两种技术的联合应用可以相互弥补不足, 提高诊断水平。对未找到淋巴瘤原发病灶患者, 两种技术联合检测瘤细胞 BMI, 结论相互印证, 对 NHL 的确诊尤为重要。

参考文献

[1] Bartl R, Frisch B, Burkhardt R, et al. Assessment of bone marrow histology in the malignant lymphomas non-Hodgkin's: correlation with clinical factors for diagnosis, prognosis, classification and staging[J]. Br J Haematol, 1982, 51(4): 511-530.

[2] 李虎生, 张华. 396 例恶性淋巴瘤骨髓涂片分析[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(21): 2379-2380.

[3] Howell S, Grey M, Chang J, et al. The value of bone marrow examination in the staging of Hodgkin's lymphoma: a review of 955 cases seen in a regional cancer centre[J]. Br J Haematol, 2002, 119(2): 408-411.

[4] 陈辉树. 淋巴瘤侵犯骨髓的诊断与鉴别诊断[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 26(6): 404-407.

[5] Juneja SK, Wolf MM, Cooper IA. Value of bilateral bone marrow biopsy specimens in non-Hodgkin's lymphoma[J]. Clin Pathol, 1990, 43(8): 630-632.

[6] Talaulikar D, Shadbolt B, Bell J, et al. Clinical of flow cytometry in redefining bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL)——a new perspective[J]. Histopathology, 2008, 52(3): 340-347.

[7] 任新明, 肖瑛, 杨宝珍, 等. 非霍奇金淋巴瘤骨髓浸润的瘤细胞特点[J]. 宁夏医学杂志, 2007, 29(11): 967.

[8] 江红. 侵犯骨髓的非霍奇金淋巴瘤细胞形态特点[J]. 广西医科大学学报, 2009, 26(6): 928-929.

[9] Gomyo H, Shimoyama M, Minagawa K, et al. Morphologic, flow cytometric and cytogenetic evaluation of bone marrow involvement in B-cell lymphoma[J]. Haematologica, 2003, 88(12): 1358-1365.

(收稿日期: 2011-03-07)