

• 论 著 •

MICM 综合分析在骨髓增生异常综合征诊断中的应用效果*

陈思宇, 彭贤贵, 杨武晨, 邓小娟, 张 曦, 王 平[△]

陆军军医大学第二附属医院血液病医学中心, 重庆 400037

摘要:目的 探讨细胞形态学、免疫学、细胞遗传学、分子生物学(简称 MICM)综合分析在骨髓增生异常综合征(MDS)诊断中的应用效果,以及存在的问题。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2021 年 12 月就诊于该院血液病医学中心的 60 例外周血细胞减少(至少 1 系血细胞减少)且形态学疑诊为 MDS 的患者作为研究对象,均不同程度完善 MICM 等检测。采用 Kappa 检验分析不同技术诊断 MDS 的一致性,并以患者临床诊断结果为判断标准,计算各技术的灵敏度、特异度和准确度。**结果** Kappa 检验分析结果显示,60 例患者骨髓涂片(BMS)、骨髓活检(BMB)、流式细胞免疫学(FCM)、细胞遗传学(CGM)诊断 MDS 的一致性较差($Kappa < 0.750$),与 BMS 比较,诊断 MDS 一致性从高到低依次为 FCM、CGM、BMB($Kappa = 0.344, 0.099, 0.075$)。BMS、BMB、FCM、CGM 和 MICM 综合分析诊断灵敏度分别为 85.11%、84.62%、90.48%、75.86%、95.35%,特异度分别为 71.43%、28.57%、66.67%、20.00%、90.91%,MDS 诊断率分别为 74.07%、40.74%、70.37%、40.74%、75.93%,准确度分别为 95.24%、52.38%、90.48%、52.38%、97.62%。**结论** 应用 MICM 综合分析可弥补各方法学技术上的不足,有效提高 MDS 诊断率及准确度,为 MDS 的精准分型及预后判断提供帮助。

关键词:骨髓增生异常综合征; MICM 综合分析; 骨髓涂片; 骨髓活检; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.16.019

中图分类号:R551.3

文章编号:1673-4130(2022)16-2008-04

文献标志码:A

Application effect of MICM comprehensive analysis in the diagnosis of myelodysplastic syndrome*

CHEN Siyu, PENG Xiangui, YANG Wuchen, DENG Xiaojuan, ZHANG Xi, WANG Ping[△]

Hematology Medical Center, the Second Affiliated Hospital of Army Military

Medical University, Chongqing 400037, China

Abstract: **Objective** To investigate the application effect and problems of comprehensive analysis of cell morphology, immunology, cytogenetics and molecular biology (MICM) in the diagnosis of myelodysplastic syndrome (MDS). **Methods** From January 2021 to December 2021, 60 patients with peripheral blood cytopenia (at least 1 series of cytopenia) and morphologically suspected MDS were selected as the research objects. MICM and other tests were improved to different degrees. Kappa test was used to analyze the consistency of different techniques in the diagnosis of MDS, and the sensitivity, specificity and accuracy of each technique were calculated based on the clinical diagnosis results of patients. **Results** The results of Kappa test showed that the consistency of bone marrow smear (BMS), bone marrow biopsy (BMB), flow cytometry immunology (FCM) and cytogenetics (CGM) in the diagnosis of MDS was poor in 60 patients ($Kappa < 0.750$). The consistency of MDS diagnosis from high to low was FCM, CGM, BMB ($Kappa = 0.344, 0.099, 0.075$). The diagnostic sensitivity of BMS, BMB, FCM, CGM and MICM were 85.11%, 84.62%, 90.48%, 75.86%, 95.35%, and the specificity were 71.43%, 28.57%, 66.67%, 20.00%, 90.91% respectively. The diagnostic rates of MDS were 74.07%, 40.74%, 70.37%, 40.74%, 75.93%, and the accuracies were 95.24%, 52.38%, 90.48%, 52.38%, 97.62% respectively. **Conclusion** The application of MICM comprehensive analysis could make up for the shortcomings of various techniques, effectively improve the diagnostic rate and accuracy of MDS, and provide help for the accurate classification and prognosis of MDS.

Key words: myelodysplastic syndrome; MICM comprehensive analysis; bone marrow smear; bone marrow biopsy; flow cytometry

骨髓增生异常综合征(MDS)是起源于造血干细胞的克隆性髓系异质性的疾病,其特点是造血功能异

* 基金项目:重庆科卫联合医学科研项目(2021MSXM140);陆军军医大学科技创新能力提升专项(2019XLC3037)。

作者简介:陈思宇,女,主管技师,主要从事血液病细胞遗传学诊断及研究。 [△] 通信作者, E-mail: wpj_2002@sina.com。

常,表现为单系或多系外周血细胞减少,高风险向急性髓系白血病(AML)转化^[1]。目前,MDS 诊断主要依靠骨髓涂片(BMS)细胞形态学和细胞遗传学^[2],然而 MDS 的发生、发展是一个动态变化的过程,某一时间点难以完全明确诊断,诊断率仅 70.48%^[3]。目前,骨髓病理活检、流式细胞免疫学、分子生物学等新技术逐渐应用于 MDS 诊断,多技术联检虽然提高了 MDS 的诊断率,但因实际临床工作中送检组合不一致,不同诊断技术的观察分析侧重不同,各自独立报告,极易导致 MDS 诊断结果不一,甚至相互冲突。本研究对 MDS 多技术送检情况及各技术诊断 MDS 的问题进行分析,利用细胞形态学、免疫学、细胞遗传学、分子生物学(简称 MICM)综合分析修正诊断 MDS,以为临床提供精准有效的实验诊断依据,现将具体结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月至 2021 年 12 月就诊于该院血液病医学中心的 60 例外周血细胞减少(至少 1 系血细胞减少)且骨髓细胞形态学疑诊为 MDS 的患者作为研究对象。60 例疑诊为 MDS 患者年龄 17~84 岁,中位年龄 59 岁;男女性别比例为 1.72:1.00;白细胞计数为 $2.57 \times 10^9/L$ ($1.58 \times 10^9/L$, $3.95 \times 10^9/L$),红细胞计数为 $2.35 \times 10^{12}/L$ ($1.92 \times 10^{12}/L$, $2.73 \times 10^{12}/L$),血红蛋白为 70 g/L (65 g/L, 85 g/L),血小板计数为 $42 \times 10^9/L$ ($12 \times 10^9/L$, $116 \times 10^9/L$)。所有患者经临床需求不同程度完善骨髓活检(BMB)、流式细胞免疫学(FCM)、细胞遗传学(CGM)、分子生物学等检测。本研究获得本院伦理委员会批准,以及所有受试者的知情同意。

1.2 方法

1.2.1 MDS 检测及诊断标准 (1)血液系统肿瘤和急性白血病分类参照 WHO 2016 版标准^[4]进行;(2)BMS 细胞形态特点和骨髓象诊断意见参照《血液病学诊断及疗效标准》^[5],骨髓活检(BMB)在髂后上棘进行,长度不少于 1.5 cm,观察造血组织面积与增生度、红系病态造血与异位、粒系病态造血与异位、巨核系发育异常与计数、肥大细胞计数、静脉窦内骨髓浸润现象、网硬蛋白纤维染色等,行 Gomori 银染色和免疫组化,检测标志包括 CD34、MPO、GPA、CD61、CD42、CD68、CD20 和 CD3。病理活检 CD34⁺ 前体细胞结节/片簇分布且组织面积 $\geq$ 造血细胞面积 30%为骨髓病理 AML 界限。(3)利用流式细胞术(FCM)积分系统(FCSS)^[6]对 MDS 进行积分,主要包括以下抗体:CD3、CD4、CD8、CD2、CD5、CD7、CD10、CD19、CD20、CD33、CD13、CD117、CD15、CD11b、CD64、CD34、HLA-DR、CD14、CD56、CD16、CD38、CD45 及同型对照。当 FCM 诊断 FCSS 积分 ≥ 2 分时考虑 MDS。(4)细胞遗传学检测主要包括染色体核型和荧光原位杂交技术(FISH)。染色体核型异常按人类细胞遗传学国际命名体制[ISCN(2020)]描述,FISH 检测

MDS 常见异常荧光探针包括 5q31、CEP7、7q31、CEP8、20q、CEPY。(5)基因突变检测流程参照《二代测序技术在血液肿瘤中的应用中国专家共识(2018 年版)》^[7],MDS 检测项目包括 TP53、TET2、DNMT3A、IDH1/2、EZH2、ASXL1、SRSF2、RUNX1、U2AF1、SETBP1 等。

1.2.2 MICM 综合分析 MDS 不同检测技术的诊断由对应领域中级职称者报告,然后由 3 名从事血液系统疾病诊断 20 余年的高级职称病理医生进行 MICM 综合分析。MDS 诊断参照《骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019 年版)》^[8]中的标准。其中血细胞减少的标准为中性粒细胞绝对值 $<1.8 \times 10^9/L$,血红蛋白 $<100 g/L$,血小板计数 $<100 \times 10^9/L$ 。

1.3 评价指标 (1)MDS 诊断技术(BMS、BMB、FCM、CGM)的一致性;(2)MICM 综合分析 BMS、BMB、FCM、CGM 检测的特异度、灵敏度和准确度。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计学软件对研究数据进行分析,其中计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,BMS、BMB、FCM、CGM 检测 MDS 的灵敏度、特异度、准确度采用率表示,组间比较采用 χ^2 检验,采用 Kappa 检验判断多种检测方法与形态学结果对 MDS 诊断的一致性,以 Kappa >0.750 为一致性较好。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

MICM 综合分析显示,60 例疑似 MDS 患者中,BMB 检测 MDS 58 例、FCM 检测 MDS 57 例、CGM 检测 MDS 54 例、二代测序技术(NGS)检测 MDS 34 例,见图 1。以最终临床诊断为依据,60 例患者中,6 例未完成 MICM 综合检测,MDS 无法明确诊断。Kappa 检验结果显示,与 BMS 诊断的比较,BMB、FCM 和 CGM 结果支持 MDS 诊断的一致性较差(Kappa=0.076、0.344、0.099,均 <0.750)。54 例患者得到最终诊断,MICM 综合分析不同技术的灵敏度和特异度见表 1。54 例 MICM 综合分析患者中,明确诊断 MDS 42 例(其中 3 例 MDS 经 BMB 检测发现骨髓纤维化,3 例 MDS 经 FCM 检出单克隆 B 淋巴细胞),5 例经 BMB 或 FCM 诊断为急性髓系白血病(AML),2 例经 FCM 诊断为淋巴瘤母细胞淋巴瘤伴骨髓增生异常改变,5 例 MDS 证据仍然不足,进入临床观察随访。

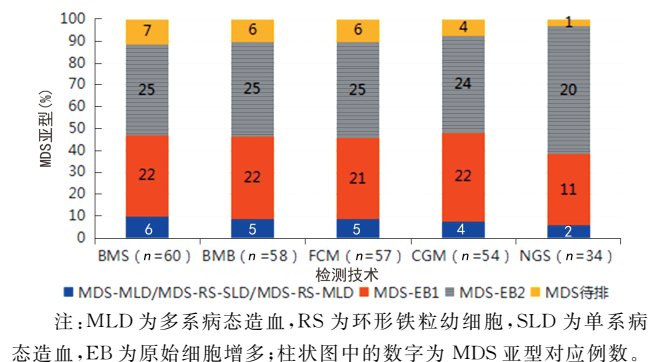


图 1 60 例疑诊 MDS 患者 MICM 检测情况

表 1 MICM 综合分析与 BMS、BMB、CGM 诊断 MDS 的相关参数 ($n=54, \%$)

检测技术	灵敏度	特异度	MDS 诊断率	准确度	漏诊率	误诊率
BMS	85.11	71.43	74.07	95.24	14.89	28.57
BMB	84.62	28.57	40.74	52.38	15.38	71.43
FCM	90.48	66.67	70.37	90.48	9.52	33.33
CGM	75.86	20.00	40.74	52.38	24.14	80.00
MICM	95.35	90.91	75.93	97.62	4.65	9.09

3 讨 论

MDS 发病机制至今尚不明确,疾病特征、临床表现及实验室检查均具有明显的异质性,给诊断带来一定的困难。目前,MDS 的诊断仍然主要依靠骨髓细胞形态学诊断,在判断细胞病态造血表现、原始特征和种类及细胞分化阶段上易受操作者主观判断^[9],其诊断结论常常受到临床质疑。随着病理活检、流式细胞免疫学、分子生物学等新技术的应用,MDS 诊断的准确度得到明显提升。虽然 MICM 各技术的应用取得了长足的进展,部分纳入了 MDS 诊断或预后分层中,但目前并没有形成一个标准的诊断体系。

MDS 的诊断是一个复杂的过程,目前 MDS 诊断指南^[4]中提出的最低诊断标准依赖细胞形态学和遗传学。细胞形态学被认为是 MDS 诊断的重要依据,BMS 形态学有利于骨髓细胞病态情况的观察,但在观察骨髓造血全貌和 MDS 分型诊断中准确率并不高^[10]。有文献报道,细胞形态学是基于显微镜下可辨识的细胞形态学异常,诊断率为 70.48%^[3],本研究中 BMS 诊断率为 74.07%,高于文献^[3]报道,可能与本研究中选择对象的偏倚有关。有研究指出,骨髓穿刺活检利于骨髓组织变化(如骨小梁变化、骨髓坏死,以及纤维化、胶样化等)的观察,并且检测过程受骨髓细胞与基质黏附力和纤维化程度等的影响较小^[11],可弥补部分 BMS 和外周血形态检测的不足,但其单独检测对 MDS 及其分型诊断的灵敏度、特异度仍较低,本研究中 BMB 诊断的灵敏度为 84.62%,高于文献^[11]报道,可能原因是本中心 BMB 为血液病诊断专科平台并具有较深厚的细胞形态学基础。FCM 是一种高灵敏检测技术,虽还没有纳入 MDS 诊断标准,有研究显示,FCM 检测细胞发育异常的灵敏度高于细胞形态学分析^[12-13]。CHU 等^[14]提出,FCSS 能很好地弥补国际预后积分系统(IPSS)和世界卫生组织分型预后积分系统(WPSS)的缺陷。本研究中,FCM 运用 FCSS 诊断的特异度和灵敏度较高,更重要的是 FCM 的 MDS 误诊率更低,仅为 33.33%。主要原因是 FCM 能够鉴定 MDS 原始细胞克隆性,免疫表型分析可判断原始细胞的良恶性及系别,补充细胞形态学对原始细胞比例小于 5%的鉴别难点,尤其原始细胞过氧化物酶阴性的情况。目前,MDS 克隆性造血标

志主要依赖非随机染色体核型异常,异常核型的检出对 MDS 的诊断具有重要价值^[15]。在本研究中,MDS 相关染色体异常发生率为 40.74%,与文献^[16]报道大致相同。染色体异常的出现可能早于形态异常,细胞遗传学发生与 MDS 相关的畸变,对 MDS 的早期诊断具有重要意义。但是核型异常并非 MDS 所特有^[17]。因此,核型异常需联合血细胞病态造血形态学特征及其他临床等特征综合判断。

BMS、BMB、FCM、GCM、NGS 在 MDS 诊断中均体现出不同程度的诊断价值,由于患者经济负担和医院项目开展等原因,临床怀疑 MDS 的患者进行 MICM 联合检测的项目并不完全。各技术诊断 MDS 的一致性较差($Kappa < 0.750$), $Kappa$ 从高到低依次为 FCM、CGM、BMB($Kappa = 0.344, 0.099, 0.076$)。MDS 诊断技术中,BMS 和 FCM 在病态造血和细胞发育显示明显优势,诊断率分别 74.07%、70.37%,BMB 和 CGM 次之。尽量选择 MDS 高诊断率技术进行联合检测,在 MDS 二联诊断中,BMS+FCM 联合可能更优于 BMS+BMB 和 BMS+CGM 组合。本研究结果显示,MICM 综合分析明显优于单一诊断,MICM 对 MDS 诊断灵敏度为 95.35%,特异度为 90.91%,准确度为 97.62%。本研究中,MICM 综合分析修正了 15 例(27.77%)骨髓细胞形态学的疾病诊断和 MDS 分型,降低了漏诊率(4.65%~14.89%)及误诊率(9.09%~28.57%)。

MICM 综合分析利用流式免疫学在系别分型上的优势,观察到 3 例 MDS 伴单克隆 B 淋巴细胞增加,2 例 MDS 的初诊纠正为淋巴瘤伴继发性 MDS 改变;对于低增生性 MDS 和 MDS 伴有骨髓纤维化的患者只能通过 BMB 切片才能诊断。在预后评估方面,骨髓纤维组织的有无及增生程度与 MDS 的克隆增生性相关,是独立的不良预后因素^[18]。本研究依然将骨髓或外周血形态学诊断的髓系原始细胞比例 $\geq 20\%$ 定义为形态学诊断 AML 标准;补充病理活检 CD34⁺前体细胞结节/片簇分布且组织面积 $\geq$ 造血细胞面积 30%,修正形态学原始细胞 $<$ 造血细胞面积 20%为 AML 界限。本研究中,有 5 例形态学诊断 MDS-EB2,经 BMB 显示原始细胞 CD34⁺前体细胞满足 AML 条件,其中 2 例 FCM 粒、单、红三系发育异常诊断,综合修正为 MDS 转化的急性髓系白血病(MDS-AML)或急性髓系白血病伴骨髓增生异常相关改变(AML-MRC)。结果未见待排 MDS 病例中经细胞遗传学观察涉及 5q-、7q-等细胞遗传学改变,当形态学未达到标准(一系或多系细胞发育异常比例 $< 10\%$),但同时伴有持续性血细胞减少的患者,如检出血具有 MDS 诊断价值的细胞遗传学异常,应诊断为 MDS 未分类型(MDS-U)^[4],进而修正诊断。因此,多技术 MICM 综合分析能够不同程度修正 MDS 的形态学诊断。骨髓病理活检对 MDS 伴骨髓纤维化或 AML 的诊断具有特殊价值,FCM 表型分析是确定原

始细胞来源的金标准,可以鉴别淋巴瘤骨髓侵犯骨髓系病态造血;经典的染色体核型异常是诊断病态造血现象不完全满足标准的 MDS 克隆证据。

综上所述,MDS 的实验诊断技术各有优劣,多技术联合检查能够提高 MDS 诊断率,可降低骨髓形态学等单一技术的误诊率,MICM 是一种高效能的综合分析方法。然而,MDS 是一个动态的发生、发展的过程,某一时间点的 MICM 有时仍不能完全诊断,追求更高灵敏度和特异度需要纳入 NGS 等新技术并结合临床进行分析。同时,尚需建立 MICM 综合分析 MDS 的应用规则,收集更多临床病例进行效果验证。

参考文献

- [1] MA Y, SHEN J, WANG L X. Successful treatment of high-risk myelodysplastic syndrome with decitabine-based chemotherapy followed by haploidentical lymphocyte infusion: a case report and literature review[J]. *Medicine*, 2018, 97(16): e0434.
- [2] BENNETT J M. Changes in the Updated 2016: WHO classification of the myelodysplastic syndromes and related myeloid neoplasms [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2016, 16(11): 607-609.
- [3] 肖志坚. 从 dysplasia 来理解骨髓增生异常综合征[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(3): 177-178.
- [4] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2391-2405.
- [5] 沈悌, 赵永强. 血液病诊断及疗效标准[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2018: 157-165.
- [6] MATZEN S M H, RAASCHOU-JENSEN K K, KALLENBACH K. Implementation of the Ogata flow cytometric scoring system in routine diagnostics of myelodysplastic syndrome[J]. *Health Sci Rep*, 2018, 1(11): e90.
- [7] 蒯亚妮, 张冬雷, 朱平, 等. 二代测序技术在血液肿瘤中的应用中国专家共识(2018 年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(11): 881-886.
- [8] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019 年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(2): 89-97.
- [9] 刘艳荣, 徐娟, 万岁桂. 实用流式细胞术: 血液病篇[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2013: 132-133.
- [10] 谢春艳, 牟娜, 多亚莉, 等. 五项技术联检对骨髓增生异常综合征诊断价值的初步探讨[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(2): 515-518.
- [11] 江亚军, 庄万传, 朱贵华, 等. 血细胞减少或增多患者骨髓穿刺干抽的相关原因分析[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2018, 27(9): 539-542.
- [12] ALHAN C, WESTERS T M, CREMERS E M, et al. Application of flow cytometry for myelodysplastic syndromes: pitfalls and technical considerations[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016, 90(4): 358-367.
- [13] MOSSNER M, JANN J C, WITTIG J, et al. Mutational hierarchies in myelodysplastic syndromes dynamically adapt and evolve upon therapy response and failure[J]. *Blood*, 2016, 128(9): 1246-1259.
- [14] CHU S C, WANG T F, LI C C, et al. Flow cytometric scoring system as a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes[J]. *Leuk Res*, 2011, 35(7): 868-873.
- [15] VALENT P, ORAZA A, STEENSMA D P, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 73483-73500.
- [16] 邓琳, 刘文, 李英, 等. 骨髓增生异常综合征细胞遗传学特征与临床的关系[J]. *川北医学院学报*, 2021, 36(6): 4.
- [17] HASSERJIAN R. Myelodysplastic syndrome updated[J]. *Pathobiology*, 2018, 85(5): 1-7.
- [18] 蔡亚楠, 张培红, 方立环, 等. 原发性骨髓纤维化和骨髓增生异常综合征伴骨髓纤维化患者纤维驱动细胞的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(12): 1002-1007.
- (收稿日期: 2022-03-12 修回日期: 2022-07-12)
- (上接第 2007 页)
- [17] WU G, ZHANG X, CHEN X, et al. Streptococcus pneumoniae aminopeptidase N regulates dendritic cells that attenuates type-2 airway inflammation in murine allergic asthma[J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(22): 5063-5077.
- [18] BUDDING K, VAN SETTEN J, VAN DE GRAAF E A, et al. Association between a single donor TARC/CCL17 promoter polymorphism and obstructive chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1109.
- [19] MALAVIYA R, ZHOU Z, RAYMOND H, et al. Repeat-
- ed exposure of house dust mite induces progressive airway inflammation in mice; differential roles of CCL17 and IL-13[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2021, 9(3): e00770.
- [20] TERAN L M, RAMIREZ-JIMENEZ F, SOID-RAGGI G, et al. Interleukin 16 and CCL17/thymus and activation-regulated chemokine in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2017, 118(2): 191-196.
- (收稿日期: 2021-11-15 修回日期: 2022-06-07)