

论 著

(临床研究)

巨核细胞胞核形态在 3 种骨髓增殖性肿瘤鉴别诊断中的价值

肖辉建,王秋菊,吴 双,凌月明

【摘要】 目的 探讨骨髓涂片中巨核细胞胞核形态在原发性血小板增多症(ET)、真性红细胞增多症(PV)及早期原发性骨髓纤维化(PMF)鉴别诊断中的价值。**方法** 回顾性分析 2009 年 1 月至 2018 年 9 月的 113 例 3 种骨髓增殖性肿瘤(MPN)的骨髓涂片,将其分为 ET 组、PV 组及早期 PMF 组,计算出各组中的 3 型巨核细胞胞核形态(高分叶型、低分叶型及核固缩型巨核细胞)所占的比例,并比较各型在疾病组中的差异,同时界定特定疾病中的临界百分比,计算出各疾病组的诊断效率。**结果** ET 组高分叶型巨核细胞检出率最高[(31.12±9.34)%],分别与 PV 组、早期 PMF 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);PV 组低分叶型巨核细胞检出率最高[(30.84±5.97)%],分别与 ET 组、早期 PMF 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);早期 PMF 组核固缩型巨核细胞检出率最高[(18.62±2.38)%],分别与 ET 组、PV 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。高分叶型巨核细胞在 ET 组的临界百分比为 21.8%;低分叶型巨核细胞在 PV 组的临界百分比为 24.9%;核固缩型巨核细胞在早期 PMF 组的临界百分比为 16.2%。高分叶型巨核细胞占 ET 的百分比大于 21.8%时,诊断效率(即准确度)为 90.1%;低分叶型巨核细胞占 PV 的百分比大于 24.9%时,诊断效率为 87.9%;核固缩型巨核细胞占早期 PMF 的百分比大于 16.2%时,诊断效率为 97.2%。**结论** 高分叶型巨核细胞的形态及其百分比增高在 3 种 MPN 中对 ET 有具有鉴别诊断价值;低分叶型巨核细胞的形态及其百分比增高在 3 种 MPN 中对 PV 有具有鉴别诊断价值;核固缩型巨核细胞的形态及百分比增高在 3 种 MPN 中对早期 PMF 有具有鉴别诊断价值。当鉴别 3 种 MPN 疾病有困难时,可使用巨核细胞胞核形态来提供辅助诊断信息,上述方法方便、直观、高效、易于推广,具有较高的实用价值。

【关键词】 巨核细胞;胞核形态;原发性血小板增多症;真性红细胞增多症;原发性骨髓纤维化

【中图分类号】 R733.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2020)04-0376-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.04.009

The value of nuclear morphology of megakaryocytes in the differential diagnosis of primary thrombocytosis, polycytosis and early primary myelofibrosis

XIAO Hui-jian, WANG Qiu-ju, WU Shuang, LING Yue-ming

(Department of Laboratory, the 910th Hospital of the Joint Logistics Support Force, PLA, Quanzhou 362000, Fujian, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of megakaryocytes in bone marrow smears in the differential diagnosis of primary thrombocytosis (ET), polycytosis (PV) and early primary myelofibrosis (PMF). **Methods** A retrospective analysis of 113 cases of three kinds of bone marrow hyperplastic tumor (MPN) of bone marrow smear from January 2009 to September 2018 was performed. All cases were divided into ET group, PV group and early PMF. The proportion of megakaryocyte nuclei form (high leaf type, leaf type and low nuclear pyknosis megakaryocyte) was calculated and compared the differences of each model. The critical percentage of specific diseases was defined at the same time. The diagnosis efficiency was calculated for each disease. **Results** The highest detection rate of high-resolution foliar megakaryocytes was found in ET group [(31.12±9.34)%], and the difference was statistically significant compared with that in PV group and early PMF group ($P<0.05$). PV group had the highest detection rate of low-foliated megakaryocytes [(30.84±5.97)%], which was statistically significant compared with ET group and early PMF group ($P<0.05$). The early

作者单位:362000 泉州,解放军联勤保障部队第九一〇医院检验科
(肖辉建、王秋菊、吴 双、凌月明)

PMF group had the highest detection rate of megakaryocytes [(18.62±2.38)%], which was statistically significant compared with ET group and PV group ($P<0.05$). The

critical percentage of high-lobulated megakaryocytes in ET group, PV group, and early PMF group was 21.8%, 24.9%, 16.2%, respectively. When the percentage of high-lobulated megakaryocytes to ET was greater than 21.8%, the diagnostic efficiency (accuracy) was 90.1%. When the percentage of low-lobulated megakaryocytes to PV was greater than 24.9%, the diagnostic efficiency was 87.9%. When the percentage of nuclear-pyknosis megakaryocytes accounted for more than 16.2% of early PMF, the diagnostic efficiency was 97.2%. **Conclusion** The morphology and percentage increase of hyperlobular megakaryocytes have differential diagnostic value for ET in 3 types of MPN. The increase of the morphology and percentage of low-lobulated megakaryocytes has the value of differential diagnosis for PV in 3 types of MPN. The increase of the morphology and percentage of nuclear-pyknosis megakaryocytes in 3 types of MPN has the value of differential diagnosis of early PMF. When it is difficult to distinguish three kinds of MPN diseases, the nuclear morphology of megakaryocytes can be used to provide diagnostic information, which is convenient, intuitive, efficient, easy to popularize, and has high practical value.

[Key words] megakaryocytes; nuclear morphology; essential thrombocythaemia; polycythemia vera; primary myelofibrosis

0 引言

骨髓增殖性肿瘤 (myeloproliferative neoplasm MPN) 是以骨髓一系或多系髓系细胞持续增殖为特征的一组克隆性造血干细胞紊乱性疾病, 可转为骨髓衰竭或急性白血病。包括原发性血小板增多症 (essential thrombocythaemia, ET)、真性红细胞增多症 (polycythemia vera, PV) 及早期原发性骨髓纤维化 (primary myelofibrosis, PMF) 等^[1-2], 3 种疾病都具有粒细胞系统、红细胞系统、巨核细胞系统增殖表现, 外周血中白细胞、血红蛋白及血小板都有不同程度增高, 不易诊断, 本研究通过巨核细胞胞核形态特征及百分比的比较, 探讨其在这 3 种增殖性肿瘤辅助鉴别的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2009 年 1 月至 2018 年 9 月期间解放军联勤保障部队第九一〇医院住院的 MPN 确诊患者 113 例的临床资料 (诊断标准为 2008 年 WHO 造血与淋巴组织肿瘤分类标准^[3]), 均为首次入院, 男 64 例, 女 49 例。其中 ET 患者 47 例 (男 21 例、女 26 例), 年龄 34~81 岁; PV 患者 39 例 (男 26 例、女 13 例), 年龄 43~65 岁; 早期 PMF 患者 27 例 (男 17 例、女 10 例), 年龄 50~79 岁。骨髓取材质量均为合格, 取材欠佳均未列入研究对象。

1.2 方法 对每例骨髓涂片进行瑞姬染色 (Wright-Giemsa) 染色。在光学显微镜下, 使用低倍镜在标准范围 (1.5 cm×3.0 cm) 内找到巨核细胞; 在油镜下分类计数各型巨核细胞。观察各型巨核细胞胞核在 3 种骨髓增殖性疾病中的所占比例, 得到各型形态在其相关疾病中临界百分比 (疾病组的优势巨核细胞胞核所占百分比范围的最低值, 即平

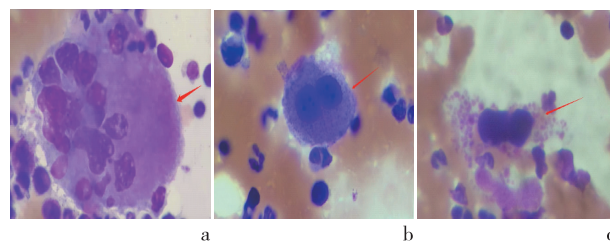
均数-标准差), 大于临界百分比为阳性, 计算出各疾病组的敏感度、特异性、阳性预测值及诊断效率。使用诊断效率来判断优势核型和各疾病组的相关性。

诊断效率 (准确度) = (真阳性 + 真阴性) / (真阳性 + 假阳性 + 假阴性 + 真阴性)

1.3 统计学分析 应用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析, 各型巨核细胞胞核在各组的检出率采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组疾病的不同类型巨核细胞胞核百分比之间的比较时, 进行方差分析, 若有差异有统计学意义, 则各组中三型胞核两两比较, 使用 SNK-q 法, 以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 巨核细胞胞核形态 本研究中的巨核细胞胞核形态分成 3 型: 第一型: 高分叶型巨核细胞, 胞体大, 核分叶过多, 核分叶在 5 叶以上; 第二型: 低分叶型巨核细胞, 胞体中等大小, 核分叶 2 叶或不分叶; 第三型: 核固缩型巨核细胞, 胞体中等偏小, 胞核缩小, 凝聚深染, 常单个核位于一侧。见图 1。



a: 箭头示高分叶型巨核细胞; b: 箭头示低分叶型巨核细胞; c: 箭头示核固缩型巨核细胞

图 1 骨髓增殖性肿瘤骨髓涂片的巨核细胞胞核形态 (Wright-Giemsa 染色 ×1000)

2.2 疾病组各型巨核细胞胞核所占的百分比比较 高分叶型巨核细胞检出率在 ET 组中最高,ET 组分别与 PV 组、早期 PMF 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);低分叶型巨核细胞检出率在 PV 组中最高,PV 组分别与 ET 组、早期 PMF 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);核固缩型巨核细胞检出率在早期 PMF 组中最高,早期 PMF 组与 ET 组、PV 组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 入组骨髓增殖性肿瘤患者各型巨核细胞胞核所占的百分比比较($\bar{x}\pm s, \%$)

巨核细胞胞核形态	ET 组 ($n=47$)	PV 组 ($n=39$)	早期 PMF 组 ($n=27$)
高分叶型	31.12 \pm 9.34	1.31 \pm 0.73 [*]	4.63 \pm 2.39 [*]
低分叶型	7.89 \pm 3.52 [#]	30.84 \pm 5.97	9.35 \pm 7.61 [#]
核固缩型	1.04 \pm 0.69 [△]	3.47 \pm 1.25 [△]	18.62 \pm 2.38

与 ET 组比较, $*P<0.05$; 与 PV 组比较, $^{\#}P<0.05$; 与早期 PMF 组比较, $^{\Delta}P<0.05$

2.3 巨核细胞胞核优势核型的临界百分比 按照方法中的临界百分比计数公式得到,高分叶型巨核细胞在 ET 组的临界百分比为 21.8% (31.12% - 9.34%);低分叶型巨核细胞在 PV 组的临界百分比为 24.9% (30.84% - 5.97%);核固缩型巨核细胞在 PMF 早期组的临界百分比为 16.2% (18.62% - 2.38%)。

2.4 3 种骨髓增殖性肿瘤的效能指标 高分叶型巨核细胞在 ET 组的阳性预测值为 95.2%;低分叶型巨核细胞在 PV 组的阳性预测值为 85.4%;核固缩型巨核细胞在 PMF 早期组的阳性预测值为 96.3%。ET 组大于临界百分比 21.8% 为阳性;PV 组大于临界百分比 24.9% 为阳性;PMF 早期组大于临界百分比 16.2% 为阳性。高分叶型巨核细胞占 ET 的百分比 $>21.8\%$ 时,诊断效率为 90.1%;低分叶型巨核细胞占 PV 的百分比 $>24.9\%$ 时,诊断效率为 87.9%;核固缩型巨核细胞占 PMF 早期的百分比 $>16.2\%$ 时,诊断效率为 97.2%。见表 2。

表 2 以巨核细胞胞核优势核型的临界百分比辅助诊断 3 种骨髓增殖性肿瘤的效能指标(%)

效能指标	ET 组 ($n=47$)	PV 组 ($n=39$)	PMF 早期组 ($n=27$)
敏感度	85.1	89.7	96.3
特异度	95.5	86.4	97.7
阳性预测值	95.2	85.4	96.3
诊断效率	90.1	87.9	97.2

3 讨论

ET 是一种慢性的骨髓增殖性肿瘤,其临床特征为出血倾向和血栓形成,外周血血小板持续明显增多 $\geq 450\times 10^9/L$,骨髓巨核细胞过度增生^[4]。巨核细胞对血小板生成素(TPO)的敏感性增加^[5]。血浆 TPO 可增高,也可在血小板增多时 TPO 正常。血浆 TPO 水平升高是血小板/巨核细胞表达克隆性缺陷或者 TPO 受体下调,造成 TPO 结合和清除受损。结合存在缺陷,巨核细胞也可对 TPO 反应明显敏感,引起巨核细胞增殖和血小板产生过多。骨髓增生活跃程度正常,巨核细胞随机或松散分布。大的成熟的胞核分叶过多(高分叶型)和深染的巨核细胞增殖,胞质成熟正常。

PV 是一种以红细胞的产生增加脱氧红细胞生成的正常调节机制的慢性骨髓增殖性肿瘤^[6]。表现为粒、红和巨核三系增生,临床上以血栓形成及出血为主要表现。分为两阶段:第一阶段为红细胞增多期,第二阶段为红细胞增多后期,表现为髓外造血、肝脾肿大、及骨髓纤维化^[7]。诊断的主要标准:①男性血红蛋白(HGB) $>165\text{ g/L}$ 、女性 $>160\text{ g/L}$,或男性 HCT $>49\%$ 、女性 $>48\%$;②骨髓活检显示三系具有高增殖多形性的巨核细胞;③JAK2 突变。次要标准:血清 EPO 水平低于正常参考水平。PV 诊断需要符合 3 个主要标准或第 1、第 2 主要标准和次要标准^[8-9]。经年龄调整后骨髓增生活跃程度为轻至中度活跃,巨核细胞大小不一,低分叶,成熟正常。在 HGB $>165\text{ g/L}$,HCT $>49\%$,JAK2 基因 V617F 突变定量检测结果呈阳性的情况下,根据 WHO 2016 PV 诊断标准,只要符合所有 3 条主要标准,即可诊断为 PV;血小板(PLT) $\geq 450\times 10^9/L$ 时,达到了 ET 的数量要求,但根据 WHO 2016 ET 的诊断主要标准第 3 条同时要求不符合 BCR-ABL1 阳性 PV、PMF 等或其他髓系肿瘤的 WHO 标准,诊断 PV 时,部分患者可以同时具有 ET 的某些特征;但诊断 ET 时,必须不符合 PV 的 WHO 诊断标准;两者的鉴别诊断存在一定难度。时有报道当三系血细胞增多时误诊漏诊 PV 的情况^[10]。

原发性骨髓纤维化是一种克隆性骨髓增殖性疾病,曾用名慢性特发性骨髓纤维化被认为是骨髓增殖性肿瘤,已更名为原发性骨髓纤维化(PMF)^[11-12],早期 PMF 中巨核细胞大小差异很大,

核与胞质比失常及深染固缩(核固缩型)、球状或不规则折叠的核^[13]。以粒系及巨核系增生为主,从骨髓过度增生,没有或仅有少量网状纤维结缔组织沉积和髓外造血,纤维化前期患者骨髓呈极度增生,巨核细胞大小不一,成簇分布,胞核低分叶,染色质凝集(呈气球状或云朵状),核固缩,核胞质比增大(成熟障碍),裸核巨核细胞数增多^[4]。2008 年 WHO 依据纤维组织增生程度,将 PMF 分为 MF-0、MF-1、MF-2 和 MF-3。其中 PMF 早期(MF-0、MF-1)与原发性血小板增多症(ET)在临床表现与实验室检查上存在诸多相似之处,极易混淆^[14-18]。

在 WHO 2008 年版 MPN 诊断分类中,JAK2 突变被添加到 PV、ET 和 PMF 诊断标准中。尽管 JAK2 V617F 突变可以诊断超过 72.1% 的 PV,但约 68.1% 的 ET 和 50% 的早期 PMF 患者也携带 JAK2 V617F 突变^[19],以及 PV 携带 JAK2 存在阴性突变; CALR 及 MPL 基因突变对 MPN 这一大类的诊断有帮助,但其在本文研究的 3 种类型都存在一定阳性率^[20],所以 JAK2、CALR 及 MPL 基因突变不适用于三者之间的鉴别。

除正常巨核细胞核型外,2006 年有学者指出,客观观察巨核细胞大小和形状可协助 MPN 类型的诊断^[21],但没有提出不同型巨核细胞所占的百分比在 3 种 MPN 鉴别上有意义。有研究^[22-23]从骨髓切片分析,但临床上很大一部分没有活检,活检并不是 MPN 的诊断要点,而骨髓涂片创伤较活检轻,也是 3 种 MPN 的诊断要点;寿爽等^[24]对巨核细胞的多形性分型多,较繁琐,不易理解及推广,较难应用于实际阅片。

综上发现 3 种不同的增殖性疾病,都表现为三系增生,各型胞核在众多疾病中都可出现,其他方法不能高效地提供鉴别依据,鉴别存在一定的难度。本研究基于骨髓涂片的巨核细胞胞核形态的多形性,分析得到,3 种优势类型的胞核占其相关骨髓增殖性肿瘤的百分比高于占其他两种疾病的百分比;并且当高分叶型巨核细胞所占的百分比>21.8%,核固缩型巨核细胞所占的百分比>16.2%时,ET、早期 PMF 疾病组的特异度高,当低分叶型巨核细胞所占的百分比>24.9%时,PV 疾病组的特异度也较高;各疾病的诊断效率分别为 90.1%、87.9%、97.2%,表明使用优势巨核细胞胞核形态的临界百分比辅助鉴别 3 种骨髓增殖性肿瘤是有较好

的评价;也证明高分叶型胞核与 ET、低分叶型胞核与 PV、核固缩型与早期 PMF,存在相关性,为更好利用胞核形态的多形性鉴别 3 种增殖性肿瘤提供辅助依据。

在日常实验室阅片中三系增生明显时,可计算 3 种类型的胞核的百分比,并在骨髓报告单中体现出,按照上述研究得到的临界百分比进行判断,帮助阅片者鉴别和验证 3 种骨髓增殖性肿瘤,辅助临床进一步诊断和治疗,是一种较强实用性的方法,易于推广。

【参考文献】

- [1] 陆道培.白血病治疗学[M].2 版.北京:科学出版社,2012:456-473.
- [2] 许文荣,王建中.临床血液学检验[M].5 版.北京:人民卫生出版社,2012:48-51,307.
- [3] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes [J]. Blood, 2009, 114(5): 937-951.
- [4] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组.原发性血小板增多症诊断与治疗中国专家共识(2016 年版)[J].中华血液学杂志,2016,37(10):833-836.
- [5] Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia [J]. Blood, 2006, 107(11): 4214-4222.
- [6] 周小鸽,陈辉树.造血与淋巴组织肿瘤 WHO 分类[M].2008 版.北京:人民卫生出版社,2008:40-46.
- [7] 张之南,郝玉书.血液病学[M].2 版.北京:人民卫生出版社,2011:933-938.
- [8] Barbui T, Thiele J, Carobbio A, et al. Masked polycythemia vera diagnosed according to WHO and BCSH classification [J]. Am J Hematol, 2014, 89(2): 199-202.
- [9] Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, et al. Rethinking the diagnostic criteria of polycythemia vera [J]. Leukemia, 2014, 28(6): 1191-1195.
- [10] 郑连强,胡志华.真性红细胞增多症漏诊 1 例[J].东南国防医药,2013,15(5):493,518.
- [11] Thiele J, Kvasnicka HM, Tefferi A, et al. Primary myelofibrosis [M]. In Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon, France, IARC Press, 2008:44-47.
- [12] Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms [J]. Leukemia, 2008, 22(1): 14-22.
- [13] Tefferi A, Thiele J, Orazi A, et al. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for poly-

- cythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel [J]. *Blood*, 2007, 110(4):1092-1097.
- [14] Spivak JL, Silver RT. The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal [J]. *Blood*, 2008, 112(2):231-239.
- [15] 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.
- [16] 聂子元, 罗建民. 《原发性骨髓纤维化诊断与治疗中国指南(2019 年版)》解读——原发性骨髓纤维化从指南到实践 [J]. *河北医科大学学报*, 2019, 40(7):745-748, 752.
- [17] Wilkins BS, Erber WN, Bareford D, *et al.* Bone marrow pathology in essential thrombocythemia: interobserver reliability and utility for identifying disease subtypes [J]. *Blood*, 2008, 111(1):60-70.
- [18] 龚旭波, 张晓红, 卢兴国, 等. 原发性骨髓纤维化早期患者骨髓形态学特征研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33:25-29.
- [19] 胡晓於, 秋燕, 徐文, 等. 骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2V617F 突变与临床特征的关联性分析及其临床意义 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2019, 45(5):1106-1112.
- [20] 崔文静, 朱华锋, 董莹, 等. 132 例 BCR-ABL 融合基因阴性骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2、CALR 及 MPL 基因突变的临床分析 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(24):4011-4014.
- [21] Rudzki Z, Kawa R, Okoń K, *et al.* Objective, planimetry-based assessment of megakaryocyte histological pictures in Philadelphia-chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders: a perspective for a valuable adjunct diagnostic tool [J]. *Virchows Archiv*, 2006, 448(1):59-67.
- [22] 顾李霖, 潘玉玲, 王会中, 等. 巨核细胞形态在 3 种骨髓增殖性肿瘤鉴别诊断中的价值 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37(2):120-124.
- [23] 包淑贞, 张如峰, 马凤英, 等. 骨髓活检中巨核细胞形态在原发性血小板增多症和真性红细胞增多症及原发性骨髓纤维化鉴别诊断中的价值 [J]. *河北医学*, 2019, 25(7):1147-1151.
- [24] 寿爽, 谭焕腾, 成军, 等. 巨核细胞数量及形态学改变在四种类型 MPN 中的诊断价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2014, 29(1):79-82.
- (收稿日期:2019-09-23; 修回日期:2020-03-16)
(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一起)