

意义未明克隆性血细胞减少症临床诊断研究

施均 聂能 黄振东 范斯斌 邵英起 张静 黄金波 李星鑫 葛美丽 郑以州

Diagnosis of clonal cytopenia of undetermined significance

Shi Jun, Nie Neng, Huang Zhendong, Fan Sibin, Shao Yingqi, Zhang Jing, Huang Jinbo, Li Xingxin, Ge Meili, Zheng Yizhou
Corresponding author: Shi Jun, State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China.
Email: shijun@ihcams.ac.cn

获得性骨髓造血衰竭综合征的临床诊断及鉴别诊断是比较难以准确把握的临床问题,相当一部分患者的临床特征不典型,与目前再生障碍性贫血(AA)、骨髓增生异常综合征(MDS)的诊断标准不符。Wimazal等^[1]及Valent等^[2]提出意义未明特发性血细胞减少症(Idiopathic cytopenia of undetermined significance, ICUS)来表述一组尚不能明确诊断的骨髓造血衰竭。近些年来,随着二代测序技术的发展,我们发现不仅80%~90%的MDS患者存在至少一种克隆性突变^[3],AA患者也可以伴有克隆性造血标志^[4-5],约35%的ICUS患者也有克隆性突变^[6],并且健康人随着年龄增大也会出现髓系肿瘤基因突变^[7-9]。对于健康人但伴有克隆性突变者,界定为不确定潜能的克隆性造血(Clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP)^[10];对于伴有克隆性突变的ICUS患者,界定为意义未明克隆性血细胞减少症(Clonal cytopenias of undetermined significance, CCUS)^[6,10]。

CCUS及ICUS这些概念的提出很好地解决了我们临床诊断工作中的困窘:对于不符合AA诊断标准,类似MDS而不满足MDS最低诊断标准的那部分患者如何界定?事实上,我们在临床工作中常遇到该类患者,所以,厘清这部分患者的临床特征及基因突变证据,建立科学、客观的诊断思路显得尤为重要。本研究中,我们报道一组CCUS患者的诊断性研究,旨在提高对CCUS的认识。

病例与方法

1. 病例:2016年1月至6月我院诊治的血细胞减少患者常规进行血细胞计数分析,骨髓细胞形态学检测,骨髓病理活检,染色体核型分析,骨髓细胞免疫表型分析,血清叶酸、

维生素B₁₂、铁蛋白、红细胞生成素水平测定,风湿性抗体筛查。骨髓单个核细胞标本送我院分子病理中心通过二代测序分析112个血液肿瘤基因外显子常见突变位点,1000 Genomes和癌症数据库比对确定热点突变和(或)血液肿瘤(髓系)疾病报道的突变位点为阳性突变。

2. 诊断标准:参照文献[6]的CCUS建议诊断标准,包括:①一系或多系血细胞减少:HGB<110 g/L,PLT<100×10⁹/L,ANC<1.5×10⁹/L。②骨髓/外周血标本髓系肿瘤相关基因突变阳性[等位基因变异频率(VAF)≥2.0%]或染色体核型异常(髓系肿瘤非重现性异常)。③不满足下列任何一项MDS最低诊断标准:骨髓原始细胞比例≥5.0%;骨髓粒系、红系、巨核系病态造血比例均不超过10%;MDS特征性染色体核型异常。④不符合其他引起血细胞减少的血液系统疾病诊断标准。

结 果**一、病例资料**

9例患者符合CCUS标准纳入本研究,男5例,女4例,中位年龄29(14~67)岁,中位病程12(0.5~48)个月。

二、CCUS临床特征分析(表1)

1. 主要表现及血常规特征:9例患者中7例以单纯血小板减少为主要表现(例4伴有中性粒细胞减少,例5伴有轻度贫血),2例表现为严重的单纯粒细胞缺乏(HGB及PLT正常)。

2. 骨髓细胞形态学:2例单纯粒细胞缺乏患者髂骨骨髓增生程度正常(病理活检提示分别为50%和70%),巨核细胞数目正常;7例单纯血小板减少患者中2例髂骨骨髓增生重度减低,另2例患者经病理活检提示增生程度均<30%,其他3例患者增生程度正常,但是这7例患者中巨核细胞数均明显减少(除例1髂骨骨髓有18只巨核细胞,例2胸骨有42只巨核细胞)。所有患者均无MDS特征性病态造血,无网状纤维增生(骨髓纤维化分期0级)。

3. 染色体核型:例5有1个结构易位t(2;14)(q13;q32),其他患者染色体均为正常核型。

4. 其他:所有患者骨髓细胞免疫分型无异常,无阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆,无造血原料缺乏,无风湿免疫性疾病,无发热、感染性疾病表现,无低热、盗汗、消瘦等表现。无血液系统疾病家族史。

5. 基因突变分析:9例CCUS患者伴发13个髓系肿瘤相关基因突变,每例患者平均1.4个突变。9例患者中4例发生了2种突变类型。

6. 突变基因种类及负荷:ASXL1(4人次,30.8%)和

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.014

基金项目:国家自然科学基金(81370606);天津市临床医学研究中心科技重大专项(15ZXLCYSY00010)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院;实验血液学国家重点实验室

通信作者:施均,Email:shijun@ihcams.ac.cn

表1 9例意义未明克隆性血细胞减少症患者临床诊断特征

例号	性 别	年 龄	主要表现	HGB (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	ANC ($\times 10^9/L$)	骨髓形态学			染色体核型	基因突变		
							髂骨/胸骨增生程度	MDS特征 性病态造血	巨核细胞数		骨髓病理 增生程度/网状纤维增生	类型	突变负荷(%)
1	女	53	血小板减少	152	89	3.25	活跃/-	无	18	60%/无	46, XX[20]	TET2, p.F868L	51.69
2	男	27	血小板减少	145	23	3.46	活跃/活跃	无	8~42	50%/无	46, XY[20]	RUNX1, p.H68N ASXL1, p.G652S	48.48 60.39
3	男	67	血小板减少	129	23	4.57	活跃/活跃	无	5~6	50%/无	46, XY[2]	EZH2, p.G159R ETV6, p.P253L	3.88 5.15
4	男	26	血小板减少	165	82	1.27	重度减低/活跃	无	0~9	-/无	46, XY[13]	ASXL1, p.G652S	54.84
5	男	14	血小板减少	118	49	1.59	重度减低/活跃	无	0	10%/无	t(2;14)(q13; q32)[1]	U2AF1, p.S34F TP53, p.P152L	4.09 2.04
6	女	15	血小板减少	115	20	2.61	活跃/活跃	无	3	30%/无	46, XY[10]	TET2, p.S1039L	49.09
7	男	29	血小板减少	142	24	2.31	活跃/活跃	无	5~7	10%/无	46, XY[20]	ASXL1, p.G652S	49.39
8	女	32	粒细胞缺乏	126	245	0.58	活跃/-	无	182	50%/无	46, XX[20]	ASXL1, p.G643fs U2AF2, p.L175fs	47.13 9.27
9	女	64	粒细胞缺乏	124	182	0.35	活跃/-	无	34	70%/无	46, XX[20]	IDH1, p.R132G	46.34

注:-:未检测;MDS:骨髓增生异常综合征

TET2(2人次, 15.4%)是9例CCUS患者较为常见的突变基因,其他突变基因也常见于MDS患者,如TP53、EZH2、RUNX1、U2AF1、IDH1及U2AF2。本组CCUS患者中位突变负荷为47.13%(2.04%~60.39%)。

讨 论

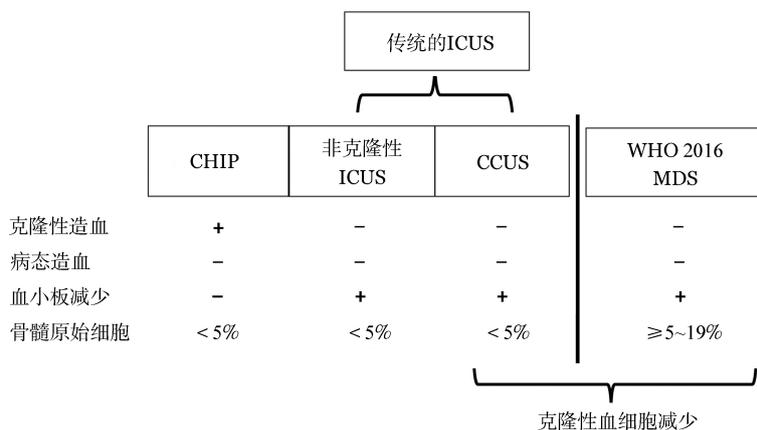
以血细胞减少为主要表现的骨髓造血衰竭综合征是一组比较难以鉴别的疾病,AA和MDS的鉴别诊断是临床医师经常困惑的难题。2016版WHO髓系肿瘤分型诊断标准中再次强调了骨髓形态学发育异常(病态造血比例超过10%)、原始细胞增多及特征性染色体核型异常(+8,-Y及del20q除外)是MDS的基本生物学特征和重要诊断依据^[11]。而我们在临床工作中,经常接诊不明原因一系或多系血细胞减少伴有不同程度的骨髓造血功能减低的患者,没有典型MDS病态造血或轻度病态造血(<10%),排除内科系统其他疾病引起的继发性血细胞减少,这部分患者难以给出明确的诊断。国外学者建议用ICUS来客观描述这种不符合AA和MDS诊断标准的“中间状态”患者群体^[1-2,12]。ICUS由于没有确定的阳性诊断依据,只是作为血细胞减少患者不符合目前所有骨髓造血衰竭综合征诊断时的一种客观描述,没有得到大多数血液学专家的重视。建立在髓系肿瘤基因突变阳性生物学证据基础上的CCUS概念很好地弥补了AA和MDS诊断之间的“灰区”地带,当患者不符合AA和(或)MDS诊断标准,而有克隆性造血证据的血细胞减少患者应当考虑CCUS。当随访过程中疾病发展符合相应的AA或MDS诊断标准,可以修正为最终诊断。

2014年开始,国外研究显示MDS相关基因突变也存在于健康人^[7-9]及AA患者^[4],因此学者们提出了CHIP的概

念^[10],对于ICUS患者群体中伴有MDS相关基因突变这部分患者界定为CCUS(图1)。Kowk等^[6]研究报道,约三分之一的ICUS患者有MDS相关基因突变和(或)染色体异常,这部分CCUS患者群体要超过可以明确诊断的MDS患者。特别是对于伴有轻度病态造血的ICUS,超过60%的患者有基因突变,而无病态造血的ICUS只有20%的比例发生基因突变,平均每例患者基因突变的个数为1.3~1.5,与我们这组CCUS的1.4个突变数量接近。Kowk等^[6]还比较了CCUS与低危MDS患者基因突变种类、频率及突变负荷的异同,发现CCUS的突变种类与低危MDS相似,以TET2、DNMT3A、TP53、ASXL1、EZH2、U2AF1等为主,CCUS的VAF也与低危MDS差异无统计学意义,说明CCUS生物学本质更接近于MDS。研究者也指出,尽管CCUS大多倾向于进展为MDS,但的确有部分CCUS保持疾病稳定,还有部分CCUS不经过MDS过程直接发展为急性髓系白血病(AML)^[6]。

Cargo等^[13]回顾性分析初诊为ICUS患者69例,经过随访观察后确诊为MDS或AML的患者诊断ICUS时及MDS/AML时的基因突变结果,发现63例(91%)患者初诊时已经存在MDS相关基因突变,中位突变负荷达到40%,2个及以上基因突变患者比例高达64%,TET2、SRSF2、ASXL1、IDH2和TP53突变与更快进展为MDS/AML相关,TP53、U2AF1及超过3个以上突变与预后不良有关。

综合国外文献研究,CCUS建议诊断标准的核心要素是:①骨髓细胞形态学不够MDS病态造血最低诊断标准,且无MDS特征性细胞遗传学异常;②存在髓系肿瘤相关基因突变阳性(VAF \geq 2.0%)或非重现性血液肿瘤染色体异常;③不符合可以引起血细胞减少的其他血液系统疾病诊断标准。本组纳入的CCUS病例诊断标准更为严格,为避免主观



CHIP: 不确定潜能的克隆性造血; CCUS: 意义未明克隆性血细胞减少症; ICUS: 意义未明特发性血细胞减少症; MDS: 骨髓增生异常综合征

图1 CHIP、CCUS、MDS与克隆性造血

因素对骨髓细胞形态学病态造血的错判,我们提出的9例CCUS患者骨髓均无病态造血,而且以单系血细胞减少为主要临床表现。单纯血小板减少伴骨髓增生程度降低及巨核细胞数目减少,多数临床医师已认识到不能简单地诊断为免疫性血小板减少症,而倾向于AA;对于单纯中性粒细胞减少/缺乏的患者,血液科医师多建议查内科其他系统疾病或假性白细胞减少症。但是,这部分患者群体中如果存在髓系肿瘤基因突变阳性,则应考虑CCUS的诊断,并随访观察其血液肿瘤发生的风险。

综上所述,与单克隆免疫球蛋白血症(MGUS)和单克隆B淋巴细胞增殖(MBL)在淋巴系统肿瘤性疾病诊断地位类似,CCUS概念是对现有骨髓造血衰竭综合征诊断体系有益的补充,丰富了诊断层次,解决了AA和MDS现有诊断体系之间的“灰区”地带,因此也更为科学、客观、合理。当然,我们需要前瞻性随访观察一定样本量的CCUS患者,分析克隆性造血动态演变过程、最终疾病演变模式,这可能将给骨髓造血衰竭综合征临床诊断带来新的认识。

参考文献

[1] Wimazal F, Fonatsch C, Thalhammer R, et al. Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) versus low risk MDS: the diagnostic interface[J]. Leuk Res, 2007, 31(11):1461-1468. DOI: 10.1016/j.leukres.2007.03.015.

[2] Valent P, Bain BJ, Bennett JM, et al. Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) and idiopathic dysplasia of uncertain significance (IDUS), and their distinction from low risk MDS [J]. Leuk Res, 2012, 36 (1):1- 5. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.08.016.

[3] Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes [J]. Leukemia, 2014, 28(2):241-247. DOI: 10.1038/leu.2013.336.

[4] Yoshizato T, Dumitriu B, Hosokawa K, et al. Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia [J]. N Engl J Med, 2015, 373(1):35-47. DOI: 10.1056/NEJMoa1414799.

[5] 施均, 郑以州. 再生障碍性贫血伴克隆性造血再认识[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36 (11):897- 898. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.11.001.

[6] Kwok B, Hall JM, Witte JS, et al. MDS-associated somatic mutations and clonal hematopoiesis are common in idiopathic cytopenias of undetermined significance [J]. Blood, 2015, 126 (21):2355-2361. DOI: 10.1182/blood-2015-08-667063.

[7] Xie M, Lu C, Wang J, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies [J]. Nat Med, 2014, 20(12):1472-1478. DOI: 10.1038/nm.3733.

[8] Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence [J]. N Engl J Med, 2014, 371 (26):2477-2487. DOI: 10.1056/NEJMoa1409405.

[9] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes [J]. N Engl J Med, 2014, 371 (26):2488- 2498. DOI: 10.1056/NEJMoa1408617.

[10] Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes [J]. Blood, 2015, 126(1):9-16. DOI: 10.1182/blood-2015-03-631747.

[11] Arber DA, 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. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.

[12] Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia [J]. Blood, 2016, 128 (3):337- 347. DOI: 10.1182/blood-2016-01-636381.

[13] Cargo CA, Rowbotham N, Evans PA, et al. Targeted sequencing identifies patients with preclinical MDS at high risk of disease progression [J]. Blood, 2015,126(21):2362-2365. DOI: 10.1182/blood-2015-08-663237.

(收稿日期:2016-08-19)

(本文编辑:刘爽)