



流式细胞术和病理骨髓活检在非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯的诊断价值比较

杨雯雯, 查艳芳, 毛菊, 胡世莲, 程民

引用本文:

杨雯雯,查艳芳,毛菊,胡世莲,程民. 流式细胞术和病理骨髓活检在非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯的诊断价值比较[J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(2): 227-230.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.02.023>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

反应性嗜血细胞综合征临床特征分析

Analysis of the clinical characteristics of reactive hemophagocytic syndrome

蚌埠医学院学报. 2019, 44(1): 41-44 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.01.012>

肺Castleman病1例误诊并文献复习

蚌埠医学院学报. 2019, 44(1): 63-67 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2019.01.018>

定量检测WT-1基因在急性白血病患者中的表达及临床意义

Quantitative detection of the WT-1 gene expression in acute leukemia patients and its clinical significance

蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 14-17 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.004>

血清维生素D水平在外周T细胞淋巴瘤患者预后中的意义

Significance of the serum vitamin D level in evaluating the prognosis of patients with peripheral T-cell lymphoma

蚌埠医学院学报. 2017, 42(2): 167-169 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2017.02.009>

流式细胞术和病理骨髓活检 在非霍奇金淋巴瘤骨髓侵犯的诊断价值比较

杨雯雯^{1,2}, 查艳芳¹, 毛 菊¹, 胡世莲², 程 民^{1,2}

[摘要] **目的:** 分析并比较流式细胞术免疫分型和病理骨髓活组织检查非霍奇金淋巴瘤(NHL)骨髓侵犯的诊断价值。**方法:** 初诊淋巴瘤的标本 253 例分别作流式细胞术免疫分型和病理骨髓活检,以临床综合诊断为金标准,分析 2 种方法的敏感度和特异度等检验效能,并对不同亚型 NHL 进行分类,分析不同检测方法的骨髓侵犯发生率。**结果:** 流式细胞术检测骨髓侵犯发生率的灵敏度为 91.67% (88/96),高于病理骨髓活检的 82.29% (79/96),但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.16, P > 0.05$),2 种方法的特异度均为 100.00% (157/157)。套细胞淋巴瘤的骨髓侵犯发生率较高,分别为 84.00% (金标准)、80.00% (流式细胞术)和 68.00% (病理骨髓活检),弥漫大 B 细胞淋巴瘤的骨髓侵犯发生率较低,分别为 23.75% (金标准)、22.50% (流式细胞术)和 22.50% (病理骨髓活检);慢性淋巴细胞白血病/小细胞淋巴瘤的病理骨髓活检与金标准相比,差异有统计学意义($P < 0.01$);套细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病/小细胞淋巴瘤、滤泡细胞淋巴瘤、B-NHL 未分类的骨髓侵犯率,流式细胞术较病理骨髓活检为高,而 T/NK 细胞淋巴瘤,流式细胞术检出的骨髓侵犯率偏低。**结论:** 流式细胞术对于 NHL 的检验效能较高,是一种灵敏、高效的检测方法。

[关键词] 非霍奇金淋巴瘤;流式细胞术;病理骨髓活组织检查;骨髓侵犯发生率

[中图分类号] R 733.1 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2022.02.023

Comparison of the diagnostic value between flow cytometry and pathological bone marrow biopsy in bone marrow invasion of non-Hodgkin's lymphoma

YANG Wen-wen^{1,2}, ZHA Yan-fang¹, MAO Ju¹, HU Shi-lian², CHENG Min^{1,2}

(1. Oncology Molecular Laboratory, 2. Key Laboratory of Tumor Immunity and Nutritional Therapy of Anhui Province, The First Affiliated Hospital of USTC, Hefei Anhui 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the diagnostic value between flow cytometry immunotyping and pathological bone marrow biopsy in bone marrow invasion of non-Hodgkin's lymphoma (NHL). **Methods:** Flow cytometry immunotyping and pathological bone marrow biopsy were performed in 253 cases of lymphoma. Using clinical comprehensive diagnosis as the gold standard, the sensitivity and specificity of two methods were analyzed, the different subtypes of NHL were classified, and the incidence rate of bone marrow invasion was analyzed using different detection methods. **Results:** The sensitivity of the flow cytometry in detecting the incidence rate of bone marrow invasion was 91.67% (88/96), which was higher than that of pathological bone marrow biopsy 82.29% (79/96), and the difference of which was not statistically significant ($\chi^2 = 0.16, P > 0.05$). The specificity of both methods were 100.00%. The incidence rates of bone marrow invasion of mantle cell lymphoma using gold standard, flow cytometry and pathological bone marrow biopsy were 84.00%, 80.00% and 68.00%, respectively. The incidence rates of bone marrow invasion of diffuse large B-cell lymphoma using gold standard, flow cytometry and pathological bone marrow biopsy were 23.75%, 22.50% and 22.50%, respectively. The differences of the detection between gold standard and pathological bone marrow biopsy in chronic lymphocytic leukemia/small cell lymphoma were statistically significant ($P < 0.01$). The incidence rates of bone marrow invasion in mantle cell lymphoma, chronic lymphocytic leukemia/small cell lymphoma, follicular cell lymphoma, B-NHL unclassified detected by flow cytometry were higher than that of pathological bone marrow biopsy, while for T/NK cell lymphoma, the bone marrow invasion rate detected by flow cytometry was lower. **Conclusions:** Flow cytometry is a sensitive and efficient method in the detection of NHL.

[Key words] non-Hodgkin's lymphoma; flow cytometry; pathological bone marrow biopsy; incidence rate of bone marrow invasion

[收稿日期] 2021-06-16 **[修回日期]** 2021-08-20

[基金项目] 安徽省中央引导地方科技发展专项项目(2019b11030012);肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室绩效项目(2019b12030026)

[作者单位] 中国科学技术大学附属第一医院,安徽省立医院西区
1. 肿瘤分子实验室,2. 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室,安徽 合肥 230031

[作者简介] 杨雯雯(1983-),女,硕士,研究实习员。

非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)是造血系统常见的恶性肿瘤。根据 GLOBOCAN 统计,2020 年中国 NHL 的年龄标准化发病率为 4.3/105,死亡率为 2.4/105^[1]。NHL 发

生骨髓侵犯为临床分期的Ⅳ期,预后较差^[2],发生率按不同亚型为18%~80%^[3]。对于骨髓侵犯的NHL病例,临床多结合病理骨髓活细胞检查、流式细胞术免疫分型检查和骨髓形态学检查等综合诊断。而部分NHL骨髓局域性侵犯,受取材部位所限,病理检查可能出现假阴性结果。流式细胞术作为一种敏感而快速的细胞及微粒的定量分析技术,对于NHL的诊断、分型、分期以及残存病灶的监测已成为不可缺少的依据。本文通过分析同批NHL病例的流式细胞术免疫分型和病理骨髓活组织检查骨髓侵犯结果,比较两种方法的敏感度和特异度等检验效能,以及不同分类的NHL骨髓侵犯发生率,为NHL诊断提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾分析2019年9月至2020年12月于安徽省肿瘤医院肿瘤分子实验室检测淋巴瘤免疫分型的初诊病例标本资料253例,全部标本均由流式细胞术作分型检测,采用自制Excel登记表,收集住院号、床号、姓名、性别、年龄、医嘱时间、流式免疫分型结果等信息,另收集同批病例的病理骨髓活检结果和临床诊断。流式和病理实验均遵医嘱,不对病人造成额外创伤。共检测NHL病例253例,其中男146例,女107例;年龄4~90岁,中位年龄57(56.56±15.59)岁,60岁以下139例,60岁及以上114例;B细胞淋巴瘤(B-NHL)189例,T/NK细胞淋巴瘤(T/NK-NHL)64例。

1.2 流式细胞术实验和检测方法 采集病人骨髓标本,肝素抗凝,取20 μL标本与380 μL溶血素震荡混匀,静置10 min;取10 μL台盼蓝与10 μL溶血后的标本在计数仪中计算有核细胞数($N \times 10^3$ 个/微升);用含有0.1% NaN₃和1%~2% BSA的磷酸盐缓冲液(PBS)洗液进行前处理;采用两步法进行抗体标记:第一步标记CD19、CD45、CD20、CD10、Kappa、Lambda、CD4、CD3、CD8、CD7、CD2、CD5初筛,判断侵犯与否以及B系或T系,第二步根据系别标记CD19、CD22、CD79b、CD34、CD23、CD38、CD138、CD200、CD56、CD103、CD25、FMC7、ki-67(膜内)、bcl-2(膜内)或CD16、CD56、CD25、CD34、TdT(膜内)、CD3(膜内)、CD1a、CD57、CD38、TCR αβ、TCR γδ进一步分析亚型;使用Beckman Coulter Navios多色流式细胞仪自动获取标本,同时进行电压和补偿调节,一般获取10万个有核细胞;使用Kaluza Analysis软件对检测数据进行分析,诊断参

照WHO 2008年造血和淋巴组织肿瘤分类标准^[4]。

1.3 病理骨髓活组织检查方法 于病人髂后上棘处穿刺并抽取活组织标本,标本经10%甲醛固定,石蜡包埋制片后切片做形态学观察和免疫组织化学检查,诊断参照WHO 2008年造血和淋巴组织肿瘤分类标准^[4]。

1.4 结果判断 以临床诊断为金标准,综合骨髓病理、淋巴结病理、骨髓流式免疫分型、骨髓形态学、B超、PET-CT、基因、荧光原位杂交(FISH)等检查判断。

1.5 统计方法 采用 χ^2 检验。灵敏度=真阳性/(真阳性+假阴性)×100%,特异度=真阴性/(真阴性+假阳性)×100%;正确率=(真阳性+真阴性)/总计;阳性预测值=真阳性/(真阳性+假阳性)×100%,阴性预测值=真阴性/(真阴性+假阴性)×100%。

2 结果

2.1 流式细胞术与病理骨髓活检 NHL骨髓侵犯结果 流式细胞术的灵敏度(91.67%)高于病理骨髓活检(82.29%),但差异无统计学意义($\chi^2=0.16$, $P>0.05$),2种方法的特异度均为100.00%(见表1、2)。

表1 流式细胞术和病理骨髓活检 NHL骨髓侵犯结果与金标准结果比较(n)

流式 细胞术	金标准		合计	病理 骨髓活检	金标准		合计
	+	-			+	-	
+	88	0	88	+	79	0	79
-	8	157	165	-	17	157	174
合计	96	157	253	合计	96	157	253

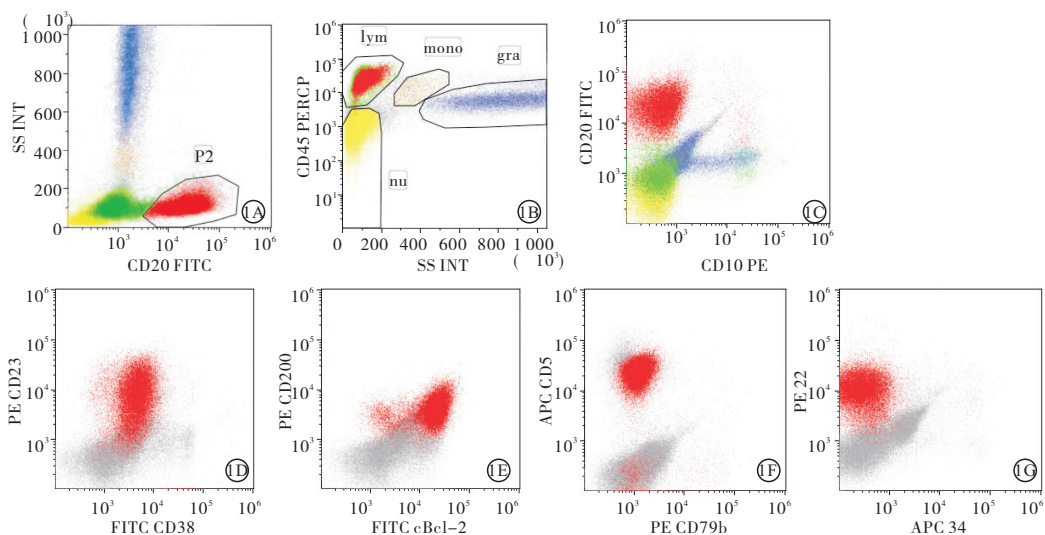
表2 流式细胞术和病理骨髓活检的诊断效能(%)

检测方法	灵敏度	特异度	准确率	阳性预测值	阴性预测值
流式细胞术	91.67	100.00	96.84	100.00	95.15
病理骨髓活检	82.29	100.00	93.28	100.00	90.23

2.2 流式细胞术、病理骨髓活检和金标准的骨髓侵犯率比较 套细胞淋巴瘤(MCL)的骨髓侵犯发生率较高,分别为84.00%(金标准)、80.00%(流式细胞术)和68.00%(病理骨髓活检),弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)的骨髓侵犯发生率较低,分别为23.75%(金标准)、22.50%(流式细胞术)和22.50%(病理骨髓活检);慢性淋巴细胞白血病/小细胞淋巴瘤(CLL/SLL)的病理骨髓活检与金标准相

比,差异有统计学意义($\chi^2 = 6.28, P < 0.01$);MCL、CLL/SLL、滤泡细胞淋巴瘤(FL)、B-NHL 未分类的骨髓侵犯率,流式细胞术较病理骨髓活检为高,而

T/NK-NHL,流式细胞术检出的骨髓侵犯率偏低(见图 1、2 及表 3)。



1A:红色为CD20阳性细胞;1B:分别为淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞和有核红细胞;1C~1G:红色细胞群CD20⁺CD10⁺CD23⁺CD38⁺cBcl-2⁺CD200^{dim}CD79b⁺CD5⁺CD34⁺CD22⁺,表型符合CLL/SLL

图1 CLL/SLL的流式分析图

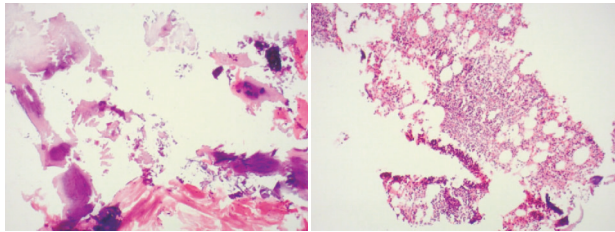


图2 CLL/SLL的病理活检图

表 3 3 种方法检测不同类型淋巴瘤的骨髓侵犯发生率 [n;百分率(%)]

类型	全部 NHL 病例 (含未骨髓侵犯病例)	骨髓侵犯		
		流式细胞术	病理骨髓活检	金标准
MZL	2	2(100.00)	2(100.00)	2(100.00)
MCL	25	20(80.00)	17(68.00)	21(84.00)
CLL/SLL	22	15(68.18)	10(45.45) *	18(81.82)
FL	16	6(37.50)	4(25.00)	6(37.50)
BL	3	1(33.33)	1(33.33)	1(33.33)
DLBCL	80	18(22.50)	18(22.50)	19(23.75)
B-NHL 未分类	41	7(17.07)	6(14.63)	7(17.07)
T/NK-NHL	64	19(29.69)	21(32.81)	21(32.81)

MZL:边缘带淋巴瘤;BL;Burkitt 淋巴瘤。* 示 $P < 0.01$

3 讨论

淋巴瘤为一组起源于淋巴结和结外淋巴网状组织的恶性肿瘤,以淋巴结肿大或局部肿块为先发,后可累及骨髓造血系统。淋巴瘤可分为霍奇金淋巴瘤(HL)和 NHL 两大类,NHL 约占全部淋巴瘤的

90%,发病率高于 HL,从惰性到侵袭性,范围广泛^[5],发病较隐蔽,易误诊误治。WHO 对淋巴瘤的界定依赖多种信息,如病理学、形态学、免疫表型、遗传学、临床表现等^[6],结合这些信息进行分类、分型以及分期,对治疗方案的选择和预后有重要的指导作用。

NHL 骨髓侵犯为临床分期的Ⅳ期,生存期短,预后差^[7]。病理骨髓活组织检查之免疫组织化学染色是诊断骨髓侵犯的主要手段之一,该检测显示 CD20 或 CD3 一种抗原表达为主时提示肿瘤细胞侵犯骨髓^[8]。但局域性侵犯时,受髂骨取材所限,可能造成假阴性的结果^[9]。本文中 NHL 的病理骨髓活检的假阴性结果高于流式细胞术,检测灵敏度较低。双侧骨髓活检可提高检出率,但多次侵入式取材对病人伤害较大。

流式细胞术是一种敏感而快速分析细胞及微粒的定量分析技术,其多参数相关分析可以对细胞固有的性质以及细胞的标记测定特征同时进行分析,必要时还可同时测定胞浆内抗原、核内抗原等,可以从一个复杂的细胞混合体中识别出某一特定的细胞亚群。淋巴瘤免疫分型采用的抗原标志是表达于正常造血细胞不同分化发育阶段的分化抗原,正常造血细胞不同阶段的抗原表达是受一系列基因严密控制的,在一定的分化阶段哪些抗原表达上调,哪些抗原表达下调,以及抗原表达量的多少存在着明显的

规律性,一部分淋巴瘤细胞反映了这种分化模式;但肿瘤细胞经常出现异常的抗原表达,这些异常表型可以作为诊断的重要标志,流式细胞术据此界定异常细胞的系别(B或T/NK系)以及成熟程度(前体细胞或成熟细胞),灵敏度高,更易发现较小的骨髓侵犯。本文中NHL的流式细胞术检测结果的灵敏度、准确率和阴性预测值均高于病理骨髓活检,特异度和阳线预测值与病理骨髓活检相同,提示两种检测方法的误诊率均低,流式细胞术的漏诊率更低。

本文中流式细胞术、病理骨髓活检和金标准三种方法检测不同类型淋巴瘤的骨髓侵犯率提示,B-NHL中,MZL 100%侵犯,可能与样本量较少有关。MCL为一种侵袭性淋巴瘤,占NHL的3%~10%,预后不佳,易复发^[10],文献^[8,10-11]显示其骨髓侵犯发生率为88%~100%,本研究中MCL的骨髓侵犯发生率为84.00%(金标准)、80.00%(流式细胞术)和68.00%(病理骨髓活检),前二者与文献接近。DLBCL是一种成人淋巴瘤的常见类型,约占NHL的25.00%^[12],骨髓侵犯发生率不高,文献^[13]中约为11%~34%,本文中DLBCL的骨髓侵犯发生率为23.75%(金标准)、22.50%(流式细胞术)和22.50%(病理骨髓活检),与文献一致。CLL/SLL的诊断参考MOREAU等^[14]提出的积分系统,病理骨髓活检与金标准相比,差异具有统计学意义,可能与病例数及取材次数较少有关。T/NK-NHL常见于东亚和拉丁美洲,约占NHL的10%^[15],结外受累多于骨髓侵犯^[16],文献中骨髓侵犯发生率约为35.80%^[17]。T/NK-NHL分类较复杂,分类标准常依赖形态学或受累部位来源,流式细胞术出现假阴性可能由于少量淋巴瘤细胞易与反应性T细胞混合,不易被检出^[18],一般需结合临床症状和其他检测作出判断,较难独立诊断,且部分特异性抗体如TCR系列价格高昂,国内大多实验室无法负担。本文中流式细胞术检测T/NK-NHL的骨髓侵犯发生率(29.69%)较病理骨髓活检(32.81%)和金标准(32.81%)为低,有上述缘故。

综上所述,NHL骨髓侵犯需参考多种检测结果综合判断,流式细胞术较骨髓病理活检的检验效能更高,是一种灵敏、高效的检测方法,B-NHL较T/NK-NHL更易检出骨髓侵犯。

[参 考 文 献]

[1] CANCER TODAY. [EB/OL] (2021. 5. 20) <https://geo.iarc.fr/today>

[2] MORSCHHAUSER F, FOWLER NH, FEUGIER P, *et al.* Rituximab plus lenalidomide in advanced untreated follicular lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(10):934.

[3] SORIGUE M, CAÑAMERO E, MILJKOVIC MD. Systematic review of staging bone marrow involvement in B cell lymphoma by flow cytometry[J]. *Blood Rev*, 2021, 47:100778.

[4] 周晓鸽. WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类[J]. *诊断病理学杂志*, 2008, 15(6):510.

[5] ARMITAGE JO, GASCOYNE RD, LUNNING MA, *et al.* Non-Hodgkin lymphoma[J]. *Lancet*, 2017, 390(10091):298.

[6] 刘艳荣. 实用流式细胞术——血液病篇[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2010:141

[7] LIU W, LIU J, SONG Y, *et al.* Burden of lymphoma in China, 2006-2016; an analysis of the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):115.

[8] 陈青, 朱璐婷, 岑溪南, 等. 不同病理类型淋巴瘤骨髓侵犯的发生率[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(3):765.

[9] MOSHREF RAZAVI H. Bone marrow involvement by aggressive B cell lymphoma undetected by aspirate immunophenotyping[J]. *J Hematol*, 2021, 10(1):14.

[10] WANG M, MUNOZ J, GOY A, *et al.* KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(14):1331.

[11] VOSE JM. Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management[J]. *Am J Hematol*, 2017, 92(8):806.

[12] SEHN LH, HERRERA AF, FLOWERS CR, *et al.* Polatuzumab vedotin in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(2):155.

[13] YAO Z, DENG L, XU-MONETTE ZY, *et al.* Concordant bone marrow involvement of diffuse large B-cell lymphoma represents a distinct clinical and biological entity in the era of immunotherapy[J]. *Leukemia*, 2018, 32(2):353.

[14] MOREAU EJ, MATUTES E, A'HERN RP, *et al.* Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8(CD79b)[J]. *Am J Clin Pathol*, 1997, 108(4):378.

[15] DIAB R, KAMRAN S, ADCOCK B, *et al.* Extra-nodal, nasal, natural killer T-cell lymphoma treated with a checkpoint inhibitor: a case report of a sustained complete response[J]. *Cureus*, 2021, 13(4):e14654.

[16] GURION R, MEHTA N, MIGLIACCI JC, *et al.* Central nervous system involvement in T-cell lymphoma: A single center experience[J]. *Acta Oncol*, 2016, 55(5):561.

[17] KOH Y, LEE JM, WOO GU, *et al.* FDG PET for evaluation of bone marrow status in T-cell lymphoma[J]. *Clin Nucl Med*, 2019, 44(1):4.

[18] SCOTT GD, LAU HD, KURZER JH, *et al.* Flow immunophenotyping of benign lymph nodes sampled by FNA: Representative with diagnostic pitfalls[J]. *Cancer Cytopathol*, 2018, 126(9):797.

(本文编辑 刘璐)