

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.21.009

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200717.1545.016.html\(2020-07-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200717.1545.016.html(2020-07-17))

APL 伴嗜碱性粒细胞明显增多 1 例并文献复习*

黄兴琴,白海雁,杨丽莎,蒋玲琳,姚元友,吴韦铷,孙燕泥,侯宇[△],陈洁平[▲]

(陆军军医大学第一附属医院血液科,重庆 400038)

[摘要] **目的** 探讨急性早幼粒细胞白血病(APL)伴嗜碱性粒细胞增多患者的诊断、治疗及预后。**方法** 回顾性分析该院收治的 1 例 APL 伴嗜碱性粒细胞增多患者的临床资料,并对相关文献进行复习。**结果** 该患者以全血细胞减少入院,血常规显示白细胞计数(WBC) $1.69 \times 10^9/L$ 、红细胞计数(RBC) $1.98 \times 10^{12}/L$ 、血红蛋白(Hb) 70 g/L、血小板计数(PLT) $20 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞(NEU) 33.20%,淋巴细胞 49.70%,单核细胞 11.00%,嗜碱性粒细胞 5.30%。凝血相关检查结果显示,D-二聚体(D-Di) 18.23 mg/L、纤维蛋白降解产物(FDP) 70.20 mg/L、纤维蛋白原(Fib) 3.72 g/L。骨髓细胞形态免疫组织化学染色显示粒系异常增生,以异常早幼粒细胞为主(46.00%),可见蝴蝶型,内外浆,偶见柴捆 Auer 小体,嗜碱性粒细胞明显增多(28.00%);外周血分类异常早幼粒细胞占 35.00%,嗜碱性粒细胞占 27.00%;过氧化物酶(POX)染色异常早幼粒细胞呈强阳性,嗜碱性粒细胞呈阴性。流式细胞仪检测显示异常表型的早幼粒细胞占全部细胞的 56.00%,该群细胞表达 CD13、CD33、CD64,部分表达人类白细胞抗原 DR(HLA-DR)、CD15dim、CD117、CD56、CD34。染色体核型分析显示异常核型 46,XY,t(15;17)(q24;q21)/46,idem,der(12),可见克隆性异常 t(15;17),荧光原位杂交(FISH)检测早幼粒细胞白血病-维甲酸受体 α (PML-RAR α)融合基因阳性,伴融合基因阳性的间期核占 78.00%;ASXL1 突变频率为 46.80%,组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶(KMT2D)突变频率为 51.70%。诊断为 APL 伴嗜碱性粒细胞数量增多,予以亚砷酸、维甲酸及柔红霉素等治疗,至今患者骨髓完全缓解及 PML/RAR α 融合基因持续阴性达 11 个月。**结论** 伴嗜碱性粒细胞增多的 APL 的诊断需结合多项实验室检查,本病例中嗜碱性粒细胞可能是从伴 t(15;17)易位的早幼粒细胞分化而来,并且与染色体异常相关。

[关键词] 急性早幼粒细胞白血病;嗜碱性粒细胞;流式细胞术;融合基因;治疗结果**[中图分类号]** R446.9**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)21-3544-04

Acute promyelocytic leukemia with significantly increased basophils: a case report and literature review*

HUANG Xingqin, BAI Haiyan, YANG Lisha, JIANG Linglin, YAO Yuanyou,
WU Weiru, SUN Yanni, HOU Yu[△], CHEN Jieping[▲]

(Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Army Military Medical
University, Chongqing 400038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the diagnosis, treatment and prognosis of acute promyelocytic leukemia (APL) with basophilia increase. **Methods** One patient with APL complicating basophilia admitted in this hospital was retrospectively analyzed and the relevant literatures were reviewed. **Results** The patient was admitted to the hospital due to pancytopenia, the blood routine showed WBC $1.69 \times 10^9/L$, RBC count $1.98 \times 10^{12}/L$, Hb 70 g/L, PLT count $20 \times 10^9/L$, neutrophils 33.20%, lymphocytes 49.70%, monocytes 11.00% and basophils 5.30%. The coagulation related detection results showed D-dimer (D-Di) 18.23 mg/L, FDP 70.20 mg/L and Fib 3.72 g/L. The bone marrow cellular morphology/ histochemical staining showed the abnormal proliferation of granulocyte system, which was dominated by abnormal promyelocytes (46.00%), the butterfly type, internal and external cytoplasm could be seen, the faggot Auer body was occasionally seen, the basophilic granulocytes were significantly increased (28.00%); the peripheral blood classification was abnormal, promyelocytes

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81970100);陆军军医大学第一附属医院医务人员军事医学创新能力提升计划项目(SWH2018LJ-07)。作者简介:黄兴琴(1984-),主管技师,本科,主要从事血液病诊断与鉴别诊断的研究。△ 通信作者, E-mail: houyuxn@vip.126.com;▲ 通信作者, E-mail: chenjpxn@163.com。

accounted for 35.00% and basophilic granulocytes accounted for 27.00%; the POX staining abnormal promyelocytes showed the strongly positive, and basophils showed negative. The flow cytometry detection results showed that the abnormal phenotype promyelocytes accounted for 56% of whole cells, this group of cells expressed CD13, CD33 and CD 64, and partially expressed HLA-DR, CD15dim, CD117, CD 56 and CD34. The chromosome karyotyping analysis showed abnormal karyotype 46,XY,t(15;17)(q24;q21)/46,idem,der(12), the clone abnormal t(15;17) could be seen. The fluorescence in situ hybridization (FISH) detection showed that PML-RAR α fusion gene positive, the interphase nucleus with fusion gene positive accounted for 78.00%; ASXL1 mutation frequency was 46.80%, KMT2D mutation frequency was 51.70%. This patient was diagnosed as APL complicating basophilia and treated by arsenious acid, retinoic acid, daunorubicin, etc. This patient had complete bone marrow remission until now and the PML/RAR α fusion gene was persistently negative for 11 months. **Conclusion** The diagnosis of APL with basophilia increase needs to be combined with multiple laboratory tests. In this case, basophils may be differentiated from promyelocytic cells with t(15;17) translocation, moreover which is correlated to chromosome abnormalities.

[Key words] acute promyelocytic leukemia; basophil; flow cytometry; fusion gene; treatment outcome

急性早幼粒细胞白血病 (APL) 是一种特殊类型的急性髓系白血病 (AML), 绝大多数患者具有特异性染色体易位 t(15;17), 形成早幼粒细胞白血病-维甲酸受体 α (PML-RAR α) 融合基因, 其蛋白产物导致细胞分化阻滞和凋亡不足, 是 APL 发生的主要分子机制^[1]。APL 的诊断依赖于细胞形态学、细胞免疫学、细胞遗传学、分子生物学 (MICM), 形态学是诊断的基础, 遗传学是诊断的金标准, 以流式细胞术 (FCM) 为基础的免疫分型技术与细胞形态学相比更加客观、准确, 与遗传学相比又具有快速的优势^[2], 而分子生物学在预测疾病预后和微小残留病 (MRD) 监测方面发挥着重要作用。本研究所报道病例是含紫红色、粗大颗粒的粗颗粒型 APL (FAB 分型: AML-M3a 型), 同时伴有嗜碱性粒细胞明显增多现象, 通过 MICM 检测结果相结合诊断为 APL 伴嗜碱性粒细胞明显增多, 现将该病例诊治情况报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患者, 男, 47 岁, 以右下腹痛、咳嗽 6 d, 全血细胞减少为主诉于 2019 年 1 月 12 日入住本院。

1.2 方法

患者入院后进行血常规检查、凝血相关检查、骨髓细胞形态学检查、FCM 检查、染色体核型分析、分子生物学检查等^[3]。

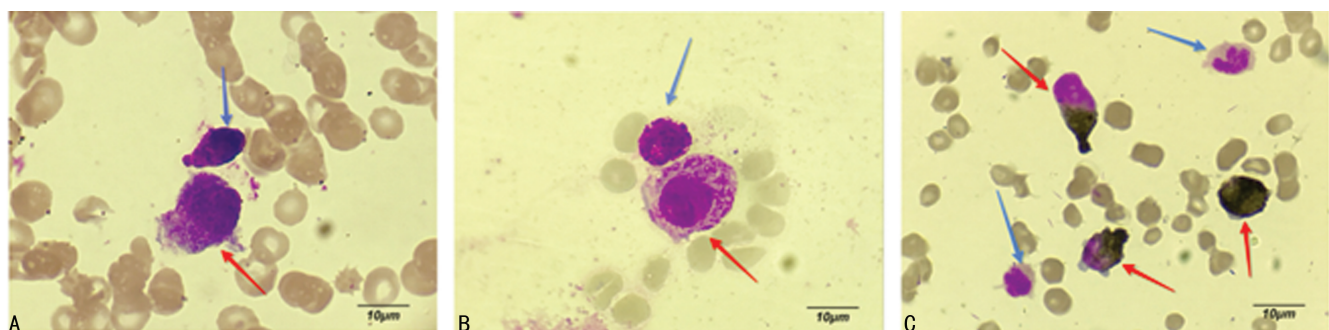
2 结果

2.1 患者血常规及凝血相关检查结果

血常规检查结果显示, 白细胞计数 (WBC) $1.69 \times 10^9/L$ 、红细胞计数 (RBC) $1.98 \times 10^{12}/L$ 、血红蛋白 (Hb) 70 g/L、血小板计数 (PLT) $20 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞 (NEU) 33.20%, 淋巴细胞占 49.70%, 单核细胞 11.00%, 嗜碱性粒细胞 5.30%。凝血相关检查结果显示, D-二聚体 (D-Di) 18.23 mg/L、纤维蛋白降解产物 (FDP) 70.20 mg/L、纤维蛋白原 (Fib) 3.72 g/L, 其余正常。

2.2 患者骨髓细胞形态学检查结果

骨髓细胞形态学检查结果显示, 粒系异常增生, 以异常早幼粒细胞为主, 占 46.00%, 可见蝴蝶型, 内外浆, 偶见柴捆 Auer 小体, 嗜碱性粒细胞明显增多, 占 28.00% (图 1A); 外周血分类异常早幼粒占 35.00%, 嗜碱性粒细胞占 27.00% (图 1B); 过氧化物酶 (POX) 染色异常早幼粒细胞呈强阳性, 嗜碱性粒细胞呈阴性, 见图 1C。



A: 骨髓涂片 (瑞士染色); B: 外周血涂片 (瑞士染色); C: 骨髓涂片 (POX 染色); 红色箭头: 异常早幼粒; 蓝色箭头: 嗜碱性粒细胞。

图 1 细胞形态学及化学染色结果 ($\times 1000$)

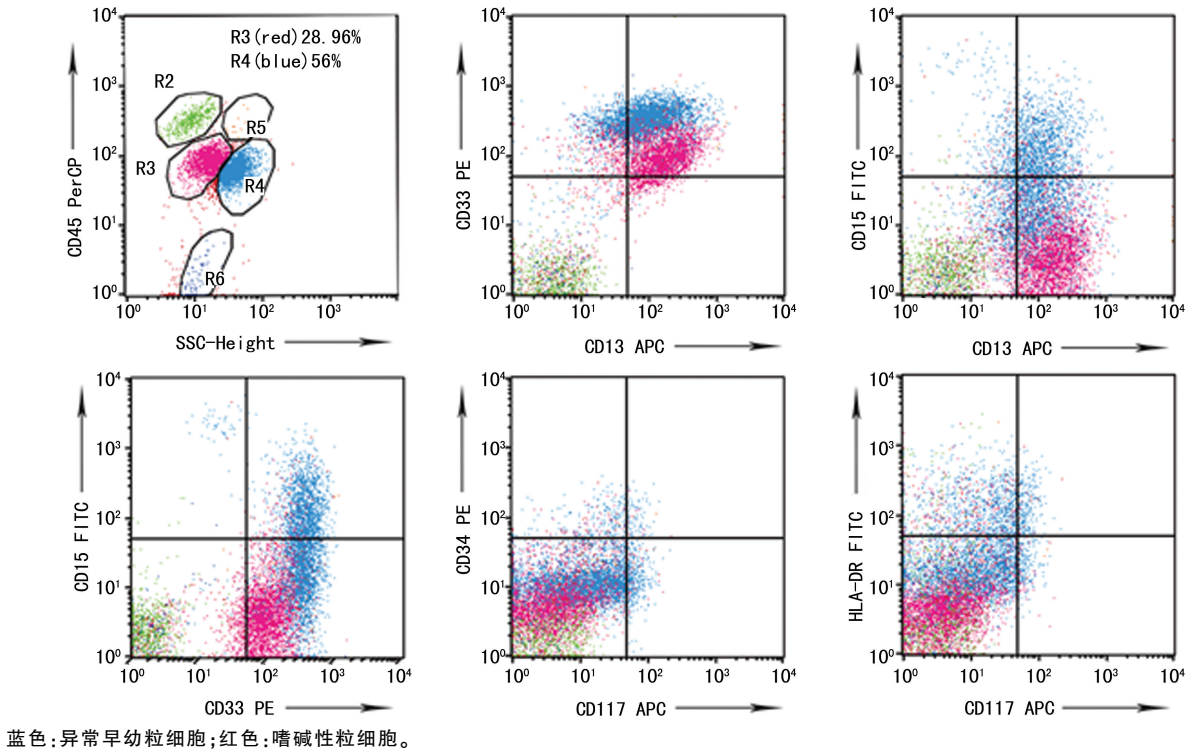
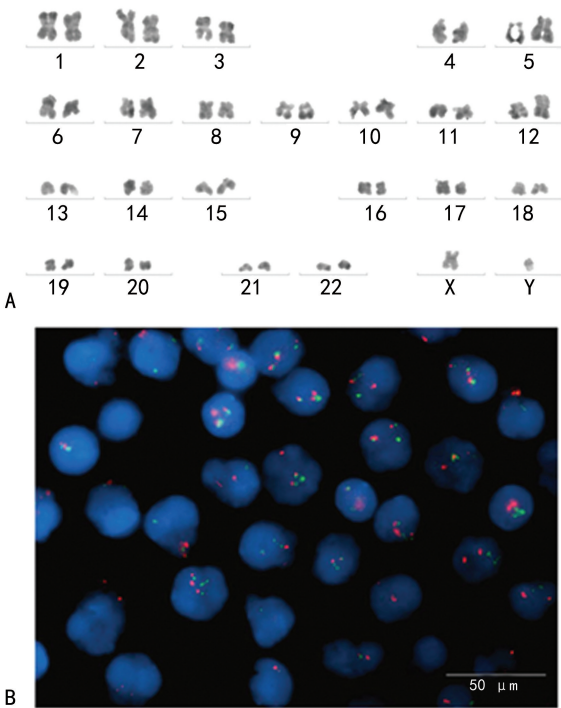


图 2 免疫分型结果



A: 染色体核型分析结果; B: PML-RAR α 融合基因 FISH 检测。

图 3 染色体核型分析及 FISH 检测结果

2.3 患者 FCM 检查结果

FCM 检查结果显示,异常表型的早幼粒细胞占全部细胞的 56.00%,该群细胞表达 CD13、CD33、CD64,部分表达人类白细胞抗原 DR (HLA-DR)、CD15dim、CD117、CD56、CD34,可溶性固形物(SSC)较大,考虑为异常早幼粒细胞,不表达淋巴细胞相关标志。另发现 1 群细胞占全部细胞的 28.96%,CD45/SSC 散点图上位于原始细胞左上方,SSC 值偏

小,其表达 CD13、CD33,不表达 CD117、CD15、CD34、CD19、CD4、CD3、CD8、CD14、CD7,表型似嗜碱性粒细胞。免疫分型结果,见图 2。

2.4 患者染色体核型

染色体核型: 46, XY, t(15; 17)(q24; q21)/46, idem, der(12), 可见克隆性异常 t(15; 17), 荧光原位杂交(FISH)检测 PML-RAR α 融合基因阳性,伴融合基因阳性的间期核占 78.00%,正常细胞的间期核占 22.00%;BCR-ABL1 融合基因呈阴性表达。AML 相关基因突变二代测序(NGS)结果显示,ASXL1 突变频率为 46.80%,组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶 2D (KMT2D)突变频率为 51.70%,KMT2D 基因位于 12 号染色体上。染色体核型分析及荧光 FISH 检测结果,见图 3。

2.5 诊断及治疗

综合以上检查结果,临床诊断为 APL。随即予以亚砷酸(10 mg 静脉滴注,每天 1 次)+维甲酸(20 mg 口服,每天 2 次)治疗,化疗 33 d 后达到完全缓解,PML/RAR α 融合基因转阴;再予以维甲酸(20 mg 口服,每天 2 次,14 d)+柔红霉素(75 mg 静脉滴注,每天 1 次,3 d)方案巩固治疗 2 个疗程,骨髓持续完全缓解及 PML/RAR α 融合基因持续阴性;然后再次给予维甲酸(20 mg 口服,每天 2 次)+亚砷酸(10 mg 静脉滴注,每天 1 次)巩固治疗 14 d;期间因使用维甲酸两次出现明显维甲酸综合征,故给予复方黄黛片 16 片(4.32 g)口服,每天 1 次,治疗 6 个疗程,至今患者骨髓完全缓解及 PML/RAR α 融合基因持续阴性达 11 个月。

3 讨 论

APL 伴嗜碱性粒细胞增多的诊断需要结合多种实验室检查方法。在形态学检测中,嗜碱性粒细胞有时难以与含粗大紫黑颗粒的早幼粒细胞区分开^[4],可以通过 POX 染色和甲苯胺兰染色做进一步判断^[5-6]。此外,通过免疫表型的不同也可特异性的识别嗜碱性粒细胞,在免疫分型检测时,嗜碱性粒细胞由于容易出现脱颗粒而导致 SSC 值偏小,在 CD45/SSC 散点图中位于原始细胞区域,夹在成熟淋巴细胞和髓系细胞之间,表达 CD13、CD33,不表达 CD117、CD15、CD34、CD19、CD4、CD3、CD8、CD14、CD7,所以 FCM 是检测嗜碱性粒细胞更敏感特异的检测方法^[7-8]。

APL 伴嗜碱性粒细胞增多相关的报道非常少,目前国际上的报道不足 10 例^[9-15]。其中,嗜碱性粒细胞增多的原因,也存在争议。有报道认为,全反式维甲酸(ATRA)治疗过程中出现的嗜碱性粒细胞本质上是反应性^[12]。但是,更多的研究认为嗜碱性粒细胞是从白血病早幼粒细胞发育成熟而来。1992 年, KOIKE 等^[13]报道了 1 例 APL 病例,在诊断时白血病细胞具有嗜碱性粒细胞的特征,经 ATRA 治疗后出现嗜碱性粒细胞增多,认为这些嗜碱性粒细胞是从白血病早幼粒细胞发育成熟而来的。1993 年, TALLMAN 等^[14]也发表了同样的观点,该研究发现在 1 例 APL 伴嗜碱性粒细胞增多患者中出现了两种染色体异常: $t(15;17)$ 和 $t(12p13;?)$ 重排,且每个 $t(12p13;?)$ 细胞中都同时存在 $t(15;17)$,故推测嗜碱性细胞是由于伴 $t(15;17)$ 易位的早幼粒细胞克隆演化获得了 $t(12p13;?)$,进一步分化为嗜碱性粒细胞。2019 年, MASAMOTO 等^[15]的报道证实了这一观点,该研究在 1 例 APL 伴嗜碱性粒细胞增多的患者中发现了多种染色体异常,包括 $t(15;17)$ 、 $del(6)(q15q23)$ 、 $der(3)add(3)(p25)add(3)(q12)$ 、 $del(16)(q11.2)$ 等,通过 FCM 分选出嗜碱性粒细胞后进行 FISH 检测,其中 97% 的嗜碱性粒细胞为 PML-RAR α 阳性^[15]。

在本病例中,患者染色体检查结果显示不仅伴有 $t(15;17)$ 易位,同时还存在 $der(12)$,且每个 $der(12)$ 细胞中都同时存在 $t(15;17)$,因此,本研究推测该病例中嗜碱性粒细胞是从伴 $t(15;17)$ 易位的早幼粒细胞分化而来,并且与 $der(12)$ 染色体异常相关。此外,该患者行 NGS 检测发现 ASXL1 和 KMT2D 基因突变,KMT2D 基因位于 12 号染色体上,突变频率高达 51.70%,可能与 $der(12)$ 共同促进了嗜碱性粒细胞的增多;ASXL1 基因突变与预后不良相关,但主要体现在非 M3 型 AML 中^[16],仅有 1 例报道在复发的 APL 患者中,ASXL1 基因突变可降低患者的总生存期^[17]。

综上所述,APC 伴嗜碱性粒细胞增多十分少见,需要结合 MICM 4 种方法学来共同诊断,本病例根据遗传学分析预测 $t(15;17)$ 早幼粒细胞经过克隆演化

形成亚克隆 $t(15;17)$, $der(12)$,进一步分化发育为嗜碱性粒细胞增多,为嗜碱性粒细胞增多的原因提供了理论基础。但是, $der(12)$ 是否与嗜碱性粒细胞直接相关,12 号染色体上的 KMT2D 基因突变是否在嗜碱性粒细胞增多中也发挥了作用,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 中华医学会血液学分会,中国医师协会血液科医师分会. 中国急性早幼粒细胞白血病诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华血液学杂志,2018,39(3): 179-183.
- [2] 贡金英,李元媛,李承文,等. 免疫表型分析及分子遗传学在急性早幼粒细胞白血病诊断中的应用[J]. 中华血液学杂志,2019,40(4):288-293.
- [3] 陈芳,胡延平,王孝会,等. 急性早幼粒细胞白血病免疫表型特点[J]. 中国实验血液学杂志,2016,24(2):321-325.
- [4] 崔巍,韩冰. 实用临床检验诊断学丛书之血液系统疾病[M]. 北京:北京科学技术出版社,2014: 153-154.
- [5] MCGOWAN E C, SAINI S. Update on the performance and application of basophil activation tests[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2013, 13(1):101-109.
- [6] 夏薇,岳保红. 临床血液学检验[M]. 武汉:华中科技大学出版社,2014:262-265.
- [7] 刘茵,陈苑婷,李俊勋,等. 71 例急性早幼粒细胞白血病患者白血病细胞免疫表型分析[J]. 中国实验血液学杂志,2012,20(4):806-811.
- [8] 张皓月,侯养栋,高彩荣,等. 流式细胞术分析嗜碱性粒细胞活化试验在过敏性疾病诊断中的应用[J]. 中国医药导报,2014,11(10):164-168.
- [9] 史敏,王彩云,刘永春. APL 细胞伴嗜碱颗粒 1 例报告及文献复习[J]. 河北医科大学学报,2008,29(1):106-107.
- [10] GOTOH H, MURAKAMI S, OKU N, et al. Translocations $t(15;17)$ and $t(9;14)(q34;q22)$ in a case of acute promyelocytic leukemia with increased number of basophils[J]. Cancer Genet Cytogenet, 1988,36(1):103-107.
- [11] LEBECQUE B, LECHEVALIER N. B & B: basophils and bleeding, an atypical case of acute promyelocytic leukemia[J]. Blood, 2018, 132(19):2107.
- [12] IWAKIRI R, INOKUCHI K, DAN K, et al. Marked basophilia in acute promyelocytic leukaemia treated with all-trans retinoic (下转第 3552 页)

- [9] MALAS M, ARHUIDESE I, QAZI U. Perioperative mortality following repair of abdominal aortic aneurysms: application of a randomized clinical trial to Real-World practice using a validated nationwide data set[J]. *J Vasc Surg*, 2015, 61(4):1098.
- [10] 孙鑫, 谭婧, 唐立, 等. 重新认识真实世界研究[J]. *中国循证医学杂志*, 2017, 17(2):126-130.
- [11] 刘光华. 针灸配合康复治疗对中风偏瘫患者运动功能及日常生活能力的影响[J]. *国外医学(医学地理分册)*, 2019, 40(4):398-400.
- [12] HE X K, SUN Q Q, LIU H H, et al. Timing of acupuncture during LTP-Like plasticity induced by Paired-Associative stimulation[J]. *Behav Neurol*, 2019, 2019(4):1-10.
- [13] ALEXANDER D N, CEN S, KATHERINE J S, et al. Effects of acupuncture treatment on poststroke motor recovery and physical function: a pilot study[J]. *Neurorehabil Neural Repair*, 2004, 18(4):259-267.
- [14] SÁNCHEZ-MILA Z, SALOM-MORENO J, FERNÁNDEZ-DE-LAS-PENAS C. Effects of dry needling on Post-Stroke spasticity, motor function and stability limits: a randomised clinical trial[J]. *Acupunct Med*, 2018, 36(6):358-366.
- [15] CUMMING T B, THRIFT A G, COLLIER J M, et al. Very early mobilization after stroke fast-tracks return to walking: further results from the phase II AVERT randomized controlled trial[J]. *Stroke*, 2011, 42(1):153-158.
- [16] AKHTAR N, SAADAT K, SINGH R, et al. The impact of diabetes on outcomes after acute ischemic stroke: a prospective observational study[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(3):619-626.
- [17] BAILI S, LIU Y K, LINDA N, et al. A COACHS nomogram to predict the probability of Three-Month unfavorable outcome after acute ischemic stroke in Chinese patients[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2019, 47(1/2):80-87.
- [18] GUSTAVO S, FANG J M, KAPRAL M K, et al. The iScore predicts effectiveness of thrombolytic therapy for acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2012, 43(5):1315-1322.
- [19] EMBERSON J, LEES K R, LYDEN P, et al. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: a meta-analysis of individual patient data from randomised trials[J]. *Lancet*, 2014, 384(9958):1929-1935.

(收稿日期:2020-02-18 修回日期:2020-06-02)

(上接第 3547 页)

- acid: molecular analysis of the cell origin of the basophils[J]. *Br J Haematol*, 1994, 86(4):870-872.
- [13] KOIKE T, TATEWAKI W, AOKI A, et al. Brief report: severe symptoms of hyperhistaminemia after the treatment of acute promyelocytic leukemia with tretinoin (all-trans-retinoic acid)[J]. *N Engl J Med*, 1992, 327(6):385-387.
- [14] TALLMAN M S, HAKIMIAN D, SNOWER D, et al. Basophilic differentiation in acute promyelocytic leukemia[J]. *Leukemia*, 1993, 7(4):521-526.
- [15] MASAMOTO Y, NANNYA Y, ARAI S, et al. Evidence for basophilic differentiation of acute promyelocytic leukaemia cells during arsenic trioxide therapy[J]. *Br J Haematol*, 2009, 144(5):798-799.
- [16] METZELER K H, BECKER H, MAHARRY K, et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category[J]. *Blood*, 2011, 118(26):6920-6929.
- [17] CHOU W C, HUANG H, HOU H A, et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations [J]. *Blood*, 2010, 116(20):4086-4094.

(收稿日期:2020-02-20 修回日期:2020-07-09)