

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.08.019

54 例慢性淋巴细胞白血病的临床回顾性分析*

薛艳明¹ 董秀帅¹ 苗丽¹ 关悦¹ 王凯² 王京华^{1△}

(1 哈尔滨医科大学附属第二医院血液内科 黑龙江 哈尔滨 150086;

2 哈尔滨医科大学附属第四医院影像科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:本研究旨在探讨慢性淋巴细胞白血病(CLL)的实验室检查特点及特征性临床表现。**方法:**利用血细胞分析仪、流式细胞术、骨髓形态分析及 R 显带技术等对我院 2002 年 4 月-2012 年 4 月收治的 54 例慢性淋巴细胞白血病患者的相关临床资料如血细胞计数、骨髓形态、染色体及免疫表型等进行检测并对结果进行回顾性分析。**结果:**CLL 多发于老年患者,男性多见,中位年龄 65 岁(45-82 岁)。大部分患者初诊时可出现典型的临床表现,37 例(68%)患者初诊时淋巴结大,49 例(91%)初诊时白细胞 $\geq 10 \times 10^9/L$,淋巴细胞绝对值 $\geq 5 \times 10^9/L$ 。13 例(24%)初诊时肝脾或者脾大,17 例(31%)初诊时乏力、消瘦。34(63%)例患者可见典型的 CLL 免疫表型,CD5、CD19、CD23、CD20 的阳性率分别为 90%、87%、72%、67%。32 例患者染色体检测结果表明:13q-2 例,17p-2 例,11q-1 例,+12 有 1 例,6q-1 例,t(14,16)1 例。2 例患者发生了自身免疫性溶血性贫血(AIHA)。1 例患者发生了 Richter 转化,肿大淋巴结活检显示部分区域为弥漫性大 B 细胞淋巴瘤,其高表达 CD20、CD19、CD22。**结论:**慢性淋巴细胞白血病具有其典型的临床表现、免疫表型及遗传学改变,并且对诊断及治疗有重要意义。

关键词:慢性淋巴细胞白血病;免疫分型;回顾性分析

中图分类号: R733.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)08-1471-04

Retrospective Clinical Analysis on 54 Cases of Chronic Lymphocytic Leukemia

XUE Yan-ming¹, DONG Xiu-shuai¹, MIAO Li¹, GUAN Yue¹, WANG Ka², WANG Jing-hua^{1△}

(1 Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China;

2 Department of Imaging, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the clinical manifestations and laboratory features of chronic lymphocytic leukemia (CLL).

Methods: Medical record of 54 patients from our institution with CLL diagnosed from April 2002 to April 2012 were retrospectively reviewed by hematology analyzer, including blood cell count, bone marrow morphology, chromosome and immunophenotype. Flow cytometer, bone marrow morphological analysis and r-banding techniques. **Results:** CLL is likely to occur in the elder patients. Male has an excess of attack rate over female. The median age was 65 (from 45 to 82). Most of the patients had typical clinical manifestations when newly diagnosed, 37 cases (68%) with lymphadenectasis, 49 cases (91%) with hyperleucocyte ($\geq 10 \times 10^9/L$) and increased lymphocyte ($\geq 5 \times 10^9/L$), 13 cases (24%) with hepatosplenomegaly, 17 cases (31%) with fatigue and emaciation, 34 cases (63%) with typical immunophenotype, the positive rate of CD5, CD19, CD23 and CD20 was 90%, 87%, 72% and 67%, respectively. Chromosome results of 32 patients indicated that 2 cases with 13q-, 2 cases with 17p-, 1 cases with 11q-, 1 cases with +12, 1 cases with 6q- and 1 cases with t(14,16). Among 54 cases, two cases were complicated by autoimmune hemolytic anemia (AIHA). 1 case was complicated by Richter transformation, tumid lymph node biopsy indicated that some regions progressed to diffuse large B cell lymphoma, highly expressing CD20, CD19 and CD22. **Conclusion:** The typical clinical manifestations, immunophenotype and genetic change help the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia.

Key words: Chronic lymphocytic leukemia; Retrospective analysis; Lactic dehydrogenase

Chinese Library Classification (CLC): R733.72 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)08-1471-04

慢性淋巴细胞白血病(CLL)是一种形态近似成熟的淋巴细胞的恶性增殖性疾病,为血液系统恶性肿瘤之一,其特征为近似成熟的小淋巴细胞在外周血、骨髓、外周淋巴器官高度聚集^[1]。从 2001 年始,WHO 分型^[2]定义 CLL 均为 B 细胞型。CLL 多发于中老年人,为欧美等西方国家常见白血病类型,年发病率在 5/10 万左右。在亚洲人中发病率明显低于西方人^[3]。但近

年随着人口老龄化及诊断技术的提高和临床医生对本病认识的深入,其发病率也逐渐提高,同时本病的异质性较大,临床表现、自然病程、实验室检查等差异性较大,尤其与一些套细胞淋巴瘤、单克隆淋巴细胞增多症等难以区分。本文通过对 2002 年 4 月-2012 年 4 月我院收治的 CLL 患者的临床表现及实验室检查包括细胞形态学、FISH 检测等相关临床资料进行回顾性

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511339);黑龙江省自然科学基金(D-2007-97)

作者简介:薛艳明(1980-),男,硕士研究生,住院医师,主要研究方向:慢性淋巴细胞白血病的诊断与治疗;

电话:13895750546, E-mail:doctor0319@aliyun.com

△ 通讯作者:王京华, E-mail: wangjinghuaeryuan@163.com

(收稿日期:2013-08-10 接受日期:2013-09-12)

分析,进一步探讨 CLL 的临床特点。

1 材料和方法

1.1 临床资料

2002 年 4 月—2012 年 4 月于我院确诊为 CLL 的 54 例患者,其中男 31 例,女 23 例;年龄 45-82 岁(中位年龄 65 岁),诊断依据:诊断标准^[47]:1、外周血 B 淋巴细胞绝对值 $\geq 5 \times 10^9/L$,且 ≥ 3 个月。2、形态以近似成熟小淋巴细胞为主,外周血淋巴细胞中幼稚淋巴细胞 $< 10\%$;如幼稚淋巴细胞 $10\% \sim 54\%$,诊断为 CLL/PL; $> 55\%$,则诊断为 PLL。3、流式细胞术(FCM)显示克隆性 B 细胞,并符合典型的 CLL 免疫表型特点。4、排除其他易误诊为 CLL 的慢性淋巴增殖性疾病(chronic lymphoproliferative disease, CLPD);如套细胞淋巴瘤(MCL)、滤泡淋巴瘤(FL)、毛细胞淋巴瘤(HCL)、脾边缘区淋巴瘤(MZL)等以白血病样表现小 B 细胞肿瘤。其中 54 例 CLL 按 Binet 分期^[8]: I 期 32 例、II 期 15 例、III 期 7 例。

1.2 仪器与方法

1.2.1 仪器 COULTER LH 750 Hematology Analyzer,美国贝克曼库尔特有限公司生产(型号:EPICS® ALTRA™)流式细胞仪,奥林巴斯 BX53 显微镜。

1.2.2 方法 回顾性总结初诊时临床表现包括初诊时是否发热、浅表淋巴结肿大、肝脾大等。利用血细胞分析仪、骨髓涂片染色镜检、流式细胞术及 R 显带技术等对实验室检查包括血细胞分析、骨髓形态学、染色体核型改变、免疫表型等进行检测分析,并对以上结果进行系统性总结,分析 CLL 实验室特点。

2 结果

2.1 初诊时临床表现见表 1。

表 1 54 例 CLL 患者临床特征

Table 1 Clinical characteristic of 54 patients with CLL(n=54)

临床表现	病例数	百分比
Clinical manifestations	Cases of number (n)	Percent (%)
发热(Fever)	6	11
乏力(Fatigue)	17	31
消瘦(Marasmus)	12	23
淋巴结肿大 (Lymphadenectasis)	37	68
肝脾大 (Hepatosplenomegaly)	13	24
自身免疫性溶血性(AIHA)	2	3
高白细胞 (Hyperleucocyte)	49	91

2.2 血细胞分析

所有患者中,白细胞数 $> 10 \times 10^9/L$ 淋巴细胞比例 $> 50\%$,绝对值 $> 5 \times 10^9/L$ 的有 49 例,占 91%,镜下白细胞分类发现均为近似成熟的小淋巴细胞。2 例患者初诊时发现血红蛋白进行性下降,经 Coombs 试验检测,证实发生了自身免疫性溶血性贫血(AIHA)。其余 5 例初诊时白细胞虽未达到以上标准,但随访后发现 B 淋巴细胞也逐渐升高,同时随疾病发展开始出现不

同程度的贫血和/或血小板减少,白血病细胞类似成熟小淋巴细胞,胞质少、染色深少数淋巴细胞体积大偶见原始细胞。

2.3 骨髓形态检查

所有研究对象都做了骨髓形态检查,结果显示:92%的患者骨髓增生 I—III 级,淋巴细胞比例 $> 40\%$ 的患者占 86%。似成熟小淋巴细胞,胞质明显但量较少,嗜碱性、无颗粒;胞核和胞质边缘规则或轻度肾形;核染色质致密或块状,核/质比高;偶见原始淋巴细胞,红系、粒系、巨核系细胞均减少,见图 1。

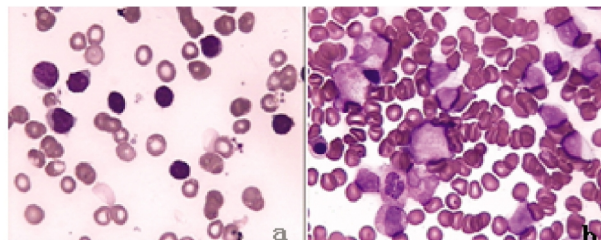


图 1 CLL 患者骨髓形态:a.低倍镜(10× 10)b.高倍镜(10× 100)

Fig.1 The bone marrow morphology of CLL: a. (10× 10). b. (10× 100)

2.4 细胞免疫表型特点

采用三色流式细胞仪检测患者免疫表型,具体结果见表 2。

表 2 54 例 CLL 患者免疫分型

Table 2 The immune phenotype of 54 patients with CLL(n=54)

抗原	抗原阳性率	阳性表达率
Antigen	Positive rate of antigen	Positive expression rate
CD5	48	90
CD11b	22	33
CD23	39	72
CD19	47	87
CD20	36	67
CD22	41	76
CD38	32	59
cCD79a	7	13

CD5 本是 T 细胞表达的表型,但是 CLL 时却异常表达为 CLL 的一大特点。

2.5 FISH 检测染色体结果

治疗前患者常规采取 5 mL 骨髓液肝素抗凝,按常规制备染色体标本,然后按 R 显带技术进行核型分析,每例患者最少分析 20 个中期分裂细胞,染色体核型具体描述按照《人类细胞遗传学国际命名(ISCN2005)》^[9]。共对 32 例进行检测,其中 8 例异常(见表 3)。

3 讨论

慢性淋巴细胞白血病(CLL)为血液系统的恶性克隆性疾病,CLL 在欧美等西方国家发病率较高,占成人白血病的 30%左右,而亚洲国家该病相对少见,发病率的差异除与种族差异有关外,不排除国内以往诊断手段和临床医师对 CLL 认识不足造成误诊或漏诊有关。但近年随着免疫分型、FISH 等一系列诊断技术的应用和临床医生对 CLL 认识的提高,以及人口老

表 3 8 例 CLL 患者染色体核型改变

Table 3 The karyotype of 9 patients with CLL(n=32)

患者 Patients	性别 Gender	年龄 Age	染色体 Karyotype
1	M	46	47,XY,+12
2	M	52	46,XY,del(13q14)
3	M	56	46,XY,del(11q21)
4	F	62	46,XX,del(13q14)
5	M	47	46,XY,del(6q12)
6	F	71	46,XX,del(17p13)
7	M	68	46,XY,del(17p13)
8	M	77	46,XY,t(14,16)

龄化的发展,其文献报道 CLL 发病率有逐年提高的趋势。

CLL 的发生随年龄的增长而逐渐增加,60-80 岁达高峰。就本组 54 例患者 CLL 患者临床资料分析,CLL 大多发生于 45 岁以上,其中位发病年龄为 65 岁,性别差异不显著,但是文献报道男女比例为 2:1,此差异可能与观察样本例数不足有关。同时 CLL 临床表现差异性大,早期患者就诊时多无明显的临床症状,或者常规体检时发现单纯白细胞及淋巴细胞比例和绝对值的增高,或部分患者因淋巴结肿大而就诊。本研究通过临床观察发现早期患者多以发现白细胞或淋巴细胞增高为主。甚至极早期患者白细胞及淋巴细胞增高不明显,若初诊时非血液病专科医院,非常容易造成误诊或者漏诊。但随着病情进展,B 淋巴细胞的克隆性增生,肿瘤性细胞的逐渐增多,从而积累、浸润各器官,患者会逐渐出现发热、贫血、淋巴结大、肝脾肿大等其他临床表现,通过观察发现,54 例患者中白细胞高、淋巴结肿大的患者比例分别为 91%、68%,淋巴结肿大、肝脾大分别为 68%、24%,证明大部分患者发病时都有典型的临床表现。另外我们观察到 2 例 Binet C 期的患者发生了自身免疫性溶血性贫血(AIHA),其中 1 例因溶血无法控制而死亡,另 1 例经给予足量激素及丙球治疗后好转,CLL 的患者并发 AIHA 时,尤其 AIHA 多发生于病程的中晚期,一些 AIHA 的典型临床症状可能缺如,所以患者多表现为贫血突然加重、网织红细胞迅速增高、外周血涂片发现球形或者其他异形红细胞。文献报道,AIHA 的发生与患者自身免疫耐受、B 淋巴细胞产生的克隆性抗体及化疗相关。另 1 例患者发生了 Richtig 转化,经过对颈部肿大淋巴结活检发现部分区域表达弥漫大 B 细胞淋巴瘤^[10],转化为 DLBCL 的淋巴结病理显示大细胞性淋巴瘤细胞弥漫性浸润,亦可见同一标本中 CLL 细胞和 DLBCL 细胞混合存在^[11,12]。

CLL 虽有典型的临床表现,但是仍与套细胞淋巴瘤等以白血病样表现的淋巴瘤鉴别困难,所以免疫表型、染色体检查等实验室检查对 CLL 的诊断尤为重要。通过应用 FCM 检测特征性免疫性抗原,可以对其做出明确诊断。据文献报道,B-CLL 高表达 CD5、CD19、CD23,部分表达 CD20、FMC7 等抗原^[13,14]。CD5 阳性为 CLL 的重要特征,多数国内外报道 CD5 的阳性表达率在 90%左右^[15],但也有 CD5 表达较低的相关报道^[16],54 例患者中 CD5 的阳性率为 90%,CD19、CD23 的阳性率分别为 87%、72%,CD5、CD23、CD19、CD20 同时阳性的有 28%。与文献报道相符。

与慢性粒细胞白血病不同,CLL 无特定染色体改变,存在多种染色体核型改变,且有复杂核型的相关文献报道。但是 Dohner^[17]等研究指出 13q- 是 CLL 最常见的染色体改变,10% 的患者可发现其异常。本研究 32 例检查染色体,其中发现 13q- 的 2 例,17p-2 例,11q-1 例,1 例 +12,t(14,16)1 例,6q-1 例,其余核型正常。总体检出率 25%,略低于其他文献报道,但是其检测出染色体异常核型,皆为 CLL 常见类型。经分析总结认为,由于 CLL 的白血病细胞体外培养有丝分裂较慢,从而获取中期分裂相细胞少,从而利用常规显带技术受限制,而荧光原位杂交技术(FISH)可将染色体异常检出率提高到 80%左右且探针的组合能检测到复杂核型的改变^[18],目前认为,染色体异常是判定 CLL 预后的重要因素,Dewald^[19]指出单纯 13q- 通常疾病进展较慢,生存期长,不需要过度的干预治疗,与正常核型预后相当。而 17p- 则疾病进展快、生存期短预后差^[20],研究表明 P53 基因位于 17P13 上,因为嘌呤核苷类似物和烷化剂治疗是基于 P53 依赖的凋亡,P53 基因失活突变可造成 CLL 患者对该类化疗药物的抗药,而 6q 缺失的患者生存期与正常核型无异。经过长期观察,上述 2 例 17p- 的患者预后较差,病情进展较快。2 例患者分别于 13、17 个月由于病情进展而放弃“观察与等待”开始治疗。

总之,CLL 为一慢性异质性的恶性肿瘤性疾病,多发于老年患者。CLL 的临床表现不一、病程长短各异,给临床诊断及治疗带来困难,通过对血细胞分析、骨髓象、免疫分型及染色体检查对 CLL 的诊断、鉴别诊断等有重要意义^[21]。

参考文献(References)

- [1] 张之南,沈悛.血液病诊断与疗效标准 [M].第 3 版,北京:科学技术出版社,2007: 139-146
Zhang Zhi-nan, Shen Ti. Diagnostic and curative standard of haematology [M]. Version 3, Beijing: Science and Technology publishing house, 2007: 139-146
- [2] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues[J]. Lyon: IARC Press, 2001
- [3] Gale RP, Cozen W, Goodman MT, et al. Decreased chronic lymphocytic leukemia incidence in Asians in Los Angeles country[J]. Leuk Res, 2000, 24(8): 665-669
- [4] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [J]. International Agency for Research On Cancer, Lyon, 2008: 180-182
- [5] 王建祥,邱录贵,李建勇.中国慢性淋巴细胞白血病诊断与治疗专家共识[J].中华血液学杂志, 2010, 3: 141
Wang Jian-xiang, Qiu Lu-gui, Li Jian-yong. The consensus of China's experts about the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia[J]. Chinese Journal of Haematology, 2010, 3: 141
- [6] 中华医学会血液学分会.中国慢性淋巴细胞白血病的诊断与治疗指南(2011 版)[J].中华血液学杂志, 2011, 32: 498
The Haematological association of The Chinese Medical Association. The guidelines of the diagnosis and treatment about chronic lymphocytic leukemia (2011)[J]. Chinese Journal of Haematology, 2011, 32: 498
- [7] 徐卫,李建勇.努力提高慢性淋巴细胞白血病的规范化诊断与治疗

- 水平[J].国际输血与血液学杂志, 2011, 34: 1
- Xu Wei, Li Jian-yong. Effort to improve the standard diagnosis and treatment level of chronic lymphocytic leukemia [J]. International Journal of Blood Transfusion and Hematology, 2011, 34: 1
- [8] Huang CJ, LinCY, Haataja L, et al. High expressions rates of hunnan islet amyloid polypeptide induce endoplasmic reticulum stress mediated beta-cell apoptosis,a characteristic of humans with type 2 but not type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2007, 56: 2016-2026
- [9] 宋鹏,张鑫,赵海岳,等. 早幼粒白细胞白血病分子遗传学诊疗技术在临床中的应用[J]. 现代生物医学进展, 2012, 24: 4638-4641
- Song Peng, Zhang Xin, Zhao Hai-yue, et al. Promyelocytic Leukemia Molecular Genetic Diagnosis Technology in Clinical Application[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(24): 4638-4641
- [10] Molica S. A systematic review on Richter syndrome: What is the published evidence[J]. Leukemia Lymphoma, 2010, 51(3): 415-421
- [11] Tsimberidou AM, Keating MJ, Wierda WG. Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia [J]. Curr Hematol Malig Rep, 2007, 2(4): 265-271
- [12] Tsimberidou AM, Keating MJ. Richter's syndrome: biology, incidence and therapeutic strategies[J]. Cancer, 2005, 103(2): 216-228
- [13] 刘艳荣,常艳,王卉,等.慢性淋巴细胞系统白血病免疫表型分析[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(1): 17-21
- Liu Yan-rong, Chang Yan, Wang Hui, et al. Analysis the immunophenotyping of chronic lymphoid leukemia [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2003, 26(1): 17-21
- [14] 李增军,邱录贵,吴瞳,等.263 例慢性淋巴细胞白血病临床与实验室检查分析[J]. 中华血液学杂志, 2008, 29(5): 300-303
- Li Zeng-jun, Qiu Lu-gui, Wu Tong, et al. Clinical and laboratory analysis in 263 patients with chronic lymphoid leukemia [J]. Chinese Journal of Hematology, 2008, 29(5): 300-303
- [15] Gesiler CH, Larsen JK, Hansen NE, et al. Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-CLL chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 1991, 78(7): 1795-1802
- [16] 易莎,张小斌,陈燕.103 例慢性淋巴细胞白血病患者免疫表型的研究[J].临床血液学杂志, 2010, 23(2): 87-88
- Yi Sha, Zhang Xiao-bin, Chen Yan. Study on immunophenotype in 103 patients with chronic lymphoid leukemia [J]. Journal of Clinical Hematology, 2010, 23(2): 87-88
- [17] Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Frequent deletions and downregulation of micro RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 15524-15528
- [18] Dohner H, Stilgenbauer S, Fisher K, et al. Cytogenetic and molecular cytogenetic analysis of B cell chronic lymphocytic leukemia :specific chromosome aberrations identify prognostic subgroups of patients and point to loci of candidate genes[J]. Leukemia, 1997, 11(suppl 2): S19
- [19] Dewald GW, Brockman SP, Patemoster SF, et al. Chromosome anomalies detected by interphase fluorescence in situ hybridization correlation with significant biological features of B-cell chronic lymphocytic leukemia[J]. Br J Haematol, 2003, 121(2): 287-295
- [20] Dicker F, Herholz H, Schnittger S, et al. The detection of p53 mutations in chronic lymphocytic leukemia independently predicts rapid disease progression and is highly correlated with a complex aberrant karyotype[J]. Leukemia, 2009, 23(1): 117-124
- [21] Wierda WG, Brien S, Wang X, et al. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated with chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 2007, 109(11): 4679-4684

(上接第 1478 页)

- [17] Döring Y, Drechsler M, Wantha S, et al. Lack of neutrophil-Derived CRAMP reduces atherosclerosis in mice[J]. Circ Res, 2012, 110(8): 1052-1056
- [18] Nick Newall, MRCP, Antony D. Grayson, et al. Preoperative White Blood Cell Count is Independently Associated With Higher Perioperative Cardiac Enzyme Release and Increased 1-Year Mortality After Coronary Artery Bypass Grafting[J]. Ann Thorac Surg, 2006, 81: 583-590
- [19] Major AS, Fazio S, Linton MF. B-lymphocyte deficiency increases atherosclerosis in LDL receptor-null mice.Arterioscler [J]. Thromb, Vasc Biol, 2002, 22(11): 1892-1898
- [20] Núñez J, Sanchis J, Bodí V, et al. Relationship between low lymphocyte count and major cardiac events in patients with acute chest pain, a non-diagnostic electrocardiogram and normal troponin levels [J]. Atherosclerosis, 2009, 206(1): 251-257
- [21] Hansson GK, Holm J, Holm S, et al. Tlymphocytes inhibit the vascular response to injury [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 10530-10534
- [22] Lomivorotov VV, Efremov SM, Boboshko VA, et al. Preoperative total lymphocyte count in peripheral blood as a predictor of poor outcome in adult cardiac surgery [J]. J Cardiothorac Vasc Anesth, 2011, 25(6): 975-980