

诊疗经验

慢性中性粒细胞白血病 1 例报告并文献复习

安海云 肖敏 何成 王瑾*

华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科,湖北武汉 430030

关键词 慢性中性粒细胞白血病; CSF3R 基因突变

中图分类号 R557+.3 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20230514

慢性中性粒细胞白血病 (chronic neutrophilic leukemia, CNL) 是一种骨髓增殖性疾病,其特点为外周血中性粒细胞持续增多,骨髓粒细胞显著增生,脾肿大,pH 染色体或 BCR-ABL1 融合基因阴性。1920 年 Tuohy^[1] 首次报道 CNL,目前国际报道仅有 200 多病例。该疾病易与因其他原因引起的中性粒细胞增多的疾病相混淆,从而导致误诊或漏诊。既往对于该疾病的诊断基本上是排他性诊断,直到 2013 年新英格兰杂志报道 CSF3R 基因突变与 CNL 的相关机制研究^[2],2016 年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 新修订的诊断标准中将 CSF3R 基因突变作为 CNL 诊断的重要标准之一。本文对华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科收治的 1 例 CNL 患者的临床资料及相关实验室检查结果总结如下,以期对 CNL 的诊断提供一定的帮助。

病例资料

患者男,71 岁,因“腹胀 1 月余”于 2021 年 6 月 8 日入院,患者 1 个月前无明显诱因出现腹胀,腹部膨隆,伴双下肢凹陷性水肿,无发热、咳嗽、胸痛,无恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状,小便正常。患者 4 天前在当地医院就诊,彩超示:胆囊壁水肿;肝硬化、腹水;脾大。既往史:否认高血压、糖尿病、冠心病病史;否认乙肝、结核等传染病史;否认手术、输血、外伤史;否认食物及药物过敏史;否认饮酒史;自诉年轻时诊治过血吸虫病。入院查体:T 36.6℃,P 66 次/min, R 18 次/min,BP 110/70 mmHg。发育正常,营养中等,全身浅表淋巴结无肿大;甲状腺触及正常,双肺叩诊正常,听诊未及啰音;HR 66 次/min,叩诊心界不大,听诊未及杂音;腹部膨隆,无压痛及反跳痛;脾肋下 3 cm;腹水征阳性;双肾区无叩击痛;肠鸣音正常;双

侧下肢重度凹陷性水肿。

辅助检查:血常规:白细胞计数 $63.27 \times 10^9/L$,中性粒细胞 (绝对值) $58.47 \times 10^9/L$,血红蛋白 90.0 g/L,血小板计数 $164 \times 10^9/L$;血生化:丙氨酸转氨酶 62 U/L,总蛋白 62.8 g/L,白蛋白 29.6 g/L,直接胆红素 13.8 $\mu\text{mol/L}$,碱性磷酸酶 941 U/L,谷氨酰转氨酶 472 U/L,血乳酸脱氢酶 (LDH) 320 U/L,尿酸 623.1 U/L;凝血功能:D-二聚体定量 3.32 $\mu\text{g/mL}$,腹水总蛋白 15.2 g/L (TP > 30 g/L 考虑渗出液;TP < 25 g/L 考虑漏出液),腹水乳酸脱氢酶 (LDH) 67 U/L (LDH > 200 U/L 考虑渗出液),结核菌涂片及结核分枝杆菌培养均为阴性,EB 病毒 DNA、巨细胞病毒 DNA、类风湿因子定量、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗核抗体等均为正常值,血吸虫抗体阴性,自身免疫性肝炎组合阴性。全腹部 CT 增强+体层成像检查:肝脏形态比例失调,肝裂增宽,肝表面欠光整,呈锯齿状,肝左内叶近胆囊窝可见直径约 13 mm 弱强化灶,余肝内散在多发小圆形低密度灶,未见明显强化。肝内外胆管无扩张,门静脉增粗,胃壁及小肠管壁增厚、强化;脾大;盆腹腔积液,双侧胸腔积液,心包积液。双侧髋关节间隙局部稍窄,关节面下骨质密度不均稍高,右侧耻骨近联合处类圆形稍低密度区。骨髓细胞学:骨髓增生极度活跃,分类中未见原始细胞,粒系占 87.5%,其中早幼粒细胞占 4%,中性中幼粒细胞占 23%,中性晚幼粒细胞占 17%,中性杆状核粒细胞占 29%,中性分叶核粒细胞占 13.5%,嗜酸性及嗜碱性粒细胞分别占 2% 和 1%,红系统占 7%,全片见巨核细胞 128 个,形态未见明显异常。外周血涂片:中性粒细胞比例增高,以中性杆状核及分叶核粒细胞为主,占 94%。骨髓活检:骨髓增生极度活跃 (> 90%),粒系统比例增高,以中幼及以下阶段细胞为主,未见早

* 通信作者:王瑾,E-mail:wangjin_327@163.com,湖北省武汉市硚口区解放大道 1095 号

期阶段细胞明显增多,红系统比例减低,巨核细胞无明显异常。局部纤维组织增生。网状纤维嗜银染色:MF-2(局灶),见图 1。骨髓流式免疫分型:髓系原始细胞占 0.1%,中性粒细胞各阶段可见,约占全部有核细胞的 96.3%,未见明显发育异常,单核细胞比

例不高,见图 2。染色体核型分析:46,XY [15],为正常男性核型,见图 3。融合基因及基因突变检测:BCR/ABL 融合基因阴性,JAK2、MPL、CALR 基因突变均为阴性。CSF3R 基因突变(T618I)、ASXL1 基因突变(E635Rfs * 15)、SRSF2 基因突变(P95H)阳性,见图 4。

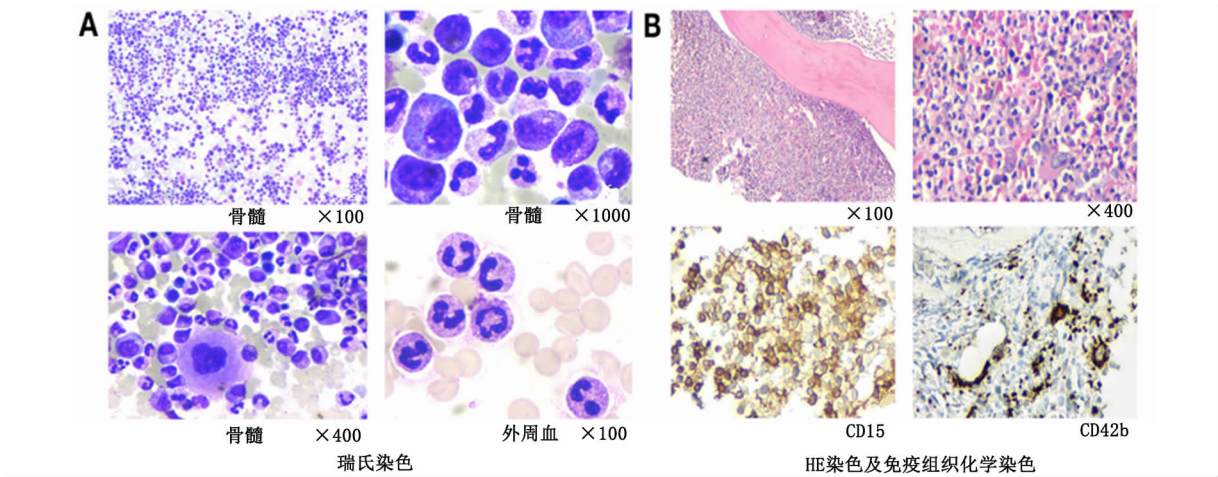


图 1 骨髓、外周血细胞形态及骨髓组织学

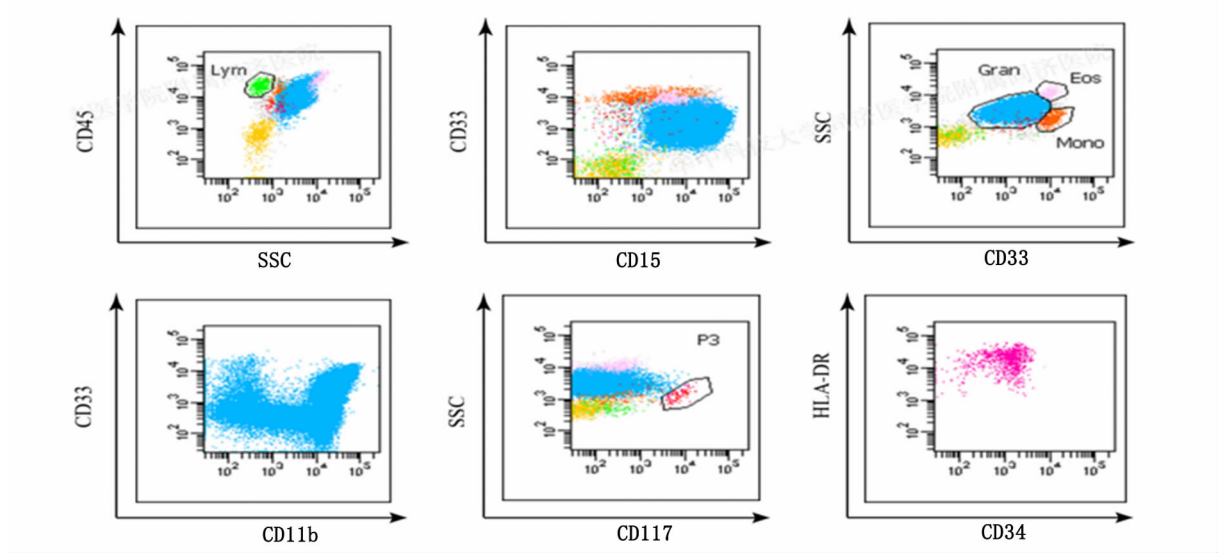


图 2 骨髓流式免疫分型

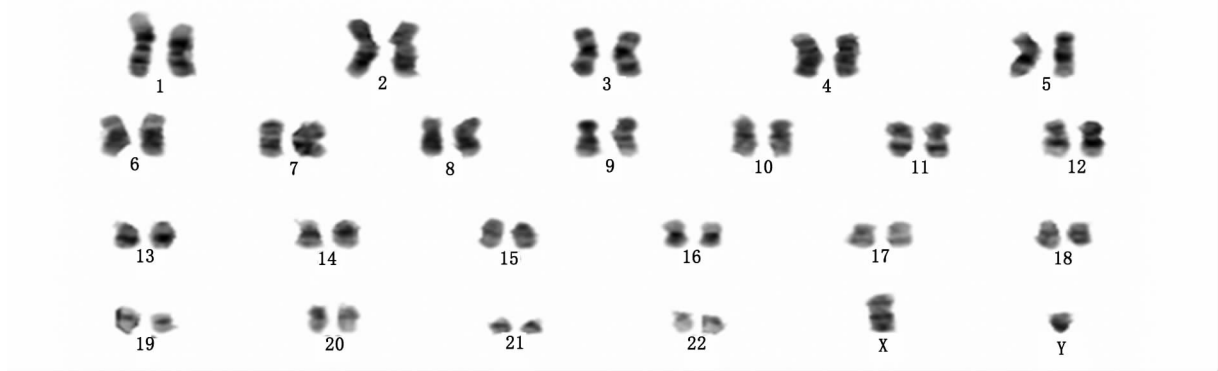


图 3 染色体核型分析

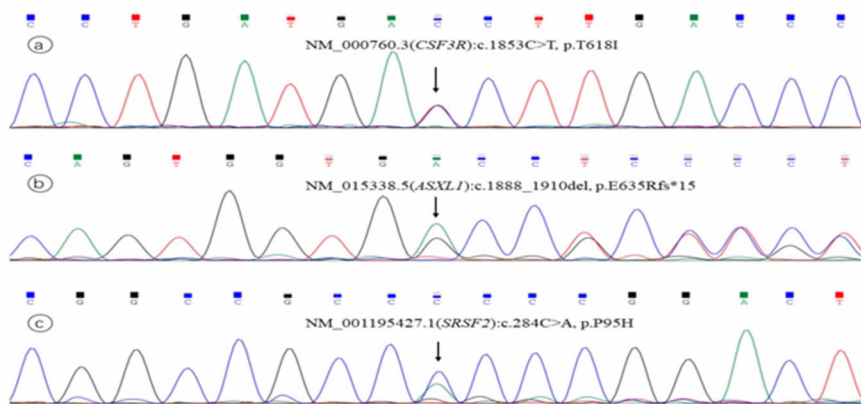


图4 一代测序基因检测:CSF3R、ASXL1、SRSF2 基因突变

根据临床特点及上述检查诊断为 CNL。治疗:患者入院后予以羟基脲 1 g 口服,2 次/d 及对症支持治疗,5 d 后改为 0.5 g 口服,2 次/d,白细胞计数 $18 \times 10^9/L$,下肢浮肿明显消退,一般情况好,出院。院外予以芦可替尼 15 mg 口服,2 次/d,定期复查,调整药物剂量,嘱若出现中性粒细胞 $<0.5 \times 10^9/L$,血小板 $<20 \times 10^9/L$ 或出现发热、出血等立即血液内科就诊。患者一个月后再次入院查血常规:白细胞计数 $44.63 \times 10^9/L$,中性粒细胞(绝对值) $41.96 \times 10^9/L$,血红蛋白 93 g/L,血小板计数 $161 \times 10^9/L$ 。脾脏肿大,较治疗前无明显变化。该患者芦可替尼治疗无效,之后予羟基脲维持治疗,并密切监测血象。2022 年 6 月电话随访患者死亡。

讨论

CNL 是一种罕见的 BCR/ABL1 阴性的骨髓增殖性疾病,主要表现为外周血持续的成熟中性粒细胞增多、骨髓粒细胞增生和脾肿大。1920 年, Tuohy^[1]首次报道了这一现象;2001 年 WHO 将 CNL 作为一种独立的疾病纳入髓系肿瘤分类中^[3],此时 CNL 基本上是排除性诊断;2008 年 WHO 修订了诊断标准,排除了有 PDGFRA、PDGFRB 或 FGFR1 基因重排的疾病^[4];2013 年 CSF3RT618I 基因突变的发现为 CNL 的诊断提供了重要的分子学依据;2016 年 WHO 将 CSF3R 基因突变作为 CNL 的重要诊断标准。其他的诊断标准还包括:白细胞增多 $\geq 25 \times 10^9/L$,大于 80% 的中性杆状和分叶核粒细胞和小于 10% 的不成熟粒细胞(包括早幼粒细胞、中幼粒细胞和晚幼粒细胞)及罕见的原始细胞,无发育异常和单核细胞增多,不符合其他骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm, MPN)的诊断标准。根

据 2019 年美国国家癌症研究所“监测、流行病学和最终结果”(Surveillance, Epidemiology, and End Results, SEER)数据库的数据显示,CNL 仍是一种罕见的骨髓增殖性肿瘤,其真实发病率尚不清楚^[5]。综合文献病例报告,CNL 在老年人的发病率较高,这与本例患者年龄(71 岁)一致。通常中位年龄为 66.5 岁^[6],在性别方面,男性略多于女性^[7,8]。

CNL 初诊时最常见的症状包括疲劳、体重减轻、皮肤瘀斑、腹胀、盗汗等,但这些症状并没有特异性。脾肿大是 CNL 的主要特征之一,它也是区分类白血病反应和 CNL 的关键指标,类白血病反应一般无脾肿大,通常因感染、应激等原发病引起,在去除病因后症状和血象明显好转或恢复正常。血吸虫病也可引起肝脾肿大,但是与 CNL 不同,血吸虫病的症状主要是发热、皮炎、荨麻疹、腹痛、腹泻等。另外,病原学诊断技术、抗原或抗体等免疫学诊断技术也可鉴别。白细胞升高也是 CNL 的特征之一,但是除 CNL 外,慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)、非典型慢性粒细胞白血病(atypical CML, aCML)、慢性粒-单核细胞白血病(chronic myelomonocytic leukaemia, CMML)、MPN 等也可有白细胞升高,容易混淆,应结合患者的骨髓细胞学及外周血结果、染色体核型分析、基因检查结果等进行鉴别诊断,有助于降低误诊率。在本病例中,患者骨髓细胞学及外周血涂片示粒系细胞明显增多且以成熟阶段细胞为主,无明显发育异常;嗜酸性、嗜碱性粒细胞、单核细胞少见;染色体核型正常;BCR-ABL1 融合基因及经典 MPN 相关基因均为阴性;CSF3R T618I 突变阳性。结合患者临床表现、脾肿大等体征及各项检查结果,最终诊断为 CNL。

CSF3R 是造血细胞受体超家族之一,定位于染

染色体 1p34.3, 由 17 个外显子组成^[9], 在粒细胞的增殖和分化过程中起重要作用。CSF3R 可以通过配体结合改变其构象, 刺激与其细胞活性范围相关的各种酪氨酸激酶, 包括 JAKs、SRC 激酶家族和酪氨酸激酶。其中涉及的重要信号通路包括 STAT、PI3K-AKT 和 RAS-MAPK^[10~12], 其作用机制非常复杂。根据最新的研究结果, CSF3R 基因突变与许多疾病有关, 其中大部分与髓系疾病相关, 如遗传性中性粒细胞减少症(严重的先天性中性粒细胞缺乏症)、骨髓增生异常综合征、急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)和 CNL 等^[11]。CNL 患者中约 80%~95% 存在 CSF3R 突变, 其中以膜近端突变 CSF3R T618I 为主要类型。CSF3R 突变在 aCML 中发生率为 0%~40%^[13,14], 在成人 AML 中发生率极低, 约为 0.5%~1%^[15], 在儿童 AML 中发生率约为 2%^[16,17]。具有 CSF3R 基因突变的儿童和成人 AML 患者均表现出对 CEBPA 突变的显著富集^[17,18]。CSF3R 基因突变在 CMML 患者中也有报道, 发生率约为 4%^[19]。与 CNL 或 AML 相比, 这些突变影响 CSF3R 的不同碱基, 通常与 ASXL1 基因突变相关, 在单变量分析中与较差的总生存率相关^[19]。

CSF3R 基因突变阳性的 CNL 患者可同时存在其他突变, 包括影响表观遗传学的基因突变, 如 ASXL1、TET2 突变, SETBP1 突变; 剪接因子突变, 如 SRSF2、U2AF1 突变, 以及 JAK-STAT 信号通路相关基因突变, 如 JAK2 等。

ASXL1 主要调节组蛋白的修饰, 在 CNL 中出现的频率很高, ASXL1 突变的特点是范围广、以移码突变为主。在 Elliott 等^[7]的一项研究中发现 ASXL1 突变及血小板减少为独立预后不良因素。此外, 在存在 ASXL1 突变和缺乏 SETBP1 突变的患者中发现 CNL 向 CMML 的转化, 提示 ASXL1 突变在向 CMML 转化中具有致病作用。据文献报道, CNL 中 SETBP1 突变的发生率为 14%~56%^[11,13,20~22], 该基因编码 SET 结合蛋白, 主要参与细胞凋亡、转录和核小体组装^[23]。Pardanani 等^[11]和 Cui 等^[21]在研究中分别发现 40% 和 75% 的 CSF3R T618I 突变阳性的 CNL 患者共表达 SETBP1 突变。Elliott 等^[7]发现 13 例 CNL 患者中的 5 例共同表达 SETBP1 突变和 CSF3R T618I 突变。在最近一项对符合 WHO 定义的 16 例 CNL 患者的回顾报告中发现, 所有患者均存在 CSF3R T618I 突变, SETBP1 突变为 63%^[24]。尽管有一些证据显示 SETBP1 和 CSF3R

突变同时发生是一种不利的组合, 但是对于预后的相关性还有待进一步的了解^[11]。在治疗方面, Lasho 等^[25]报道 1 例同时携带 SETBP1 D868N 和 CSF3R T618I 突变的患者对芦可替尼缺乏临床反应, 但是相比之下, 另一文献报道的 1 例同时携带 SETBP1 和 CSF3R 基因突变的 CNL 患者采用芦可替尼治疗后, 在血液学、临床、分子学方面均有所改善^[26]。剪接因子突变如 SRSF2 和 U2AF1 突变在 CNL 中报道较少, Meggendorfer 等^[13]发现在 CNL 中 SRSF2 突变频率为 21%。此外, Dao 等^[27]发现在 10 例 CSF3R T618I 突变阳性的髓系肿瘤中有 4 例出现 U2AF1 突变。这些突变和其他剪接体突变在 CNL 发病机制中的共同作用及其预后意义尚待明确。JAK2 V617F 及 CALR 突变是 BCR-ABL 阴性 MPN 患者常见的突变^[28], 但是根据现有的文献报道, 两种基因突变在 CNL 中发生的频率很低^[20,29]。有文献报道了 1 例同时合并 CSF3R T618I 突变和 CALR 突变的患者^[24]。至目前, 在 CNL 中 CARL 突变还没有明确的预后和治疗意义。

目前 CNL 常用的治疗方法主要包括羟基脲、干扰素、诱导化疗等, 但是这些都是非特异性的, 只能缓解症状, 对于改善患者的生存期意义不大。鉴于现有治疗药物的有限疗效, 造血干细胞移植可作为 CNL 治疗的有效手段, 但是移植相关死亡和移植相关并发症的发生率很高^[30]。随着 CSF3R 基因突变的发现, CNL 的靶向治疗应运而生。目前, 研究表明 JAK 和 SRC 激酶是 CSF3R 的下游基因。CSF3R 膜近端突变主要激活 JAK-STAT, 可能对 JAK 抑制剂芦可替尼敏感, 而截短突变主要激活 SRC 激酶信号分子, 可能对 SRC 激酶抑制剂达沙替尼敏感^[31,32]。

综上, CNL 目前仍是一种罕见的髓系恶性肿瘤, 在该疾病诊断过程中, 细胞形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学综合诊断至关重要, 尤其通过基因测序发现 CSF3R T618I 突变阳性为最终诊断提供了依据。除了 CSF3R 基因突变外, CNL 中还存在 SETBP1、剪接因子 (SRSF2, U2AF1) 和表观遗传调节因子 (TET2, ASXL1) 等突变, 未来对这些突变的发生顺序及其与 CSF3R 突变的相互作用的研究将为这种罕见的髓系恶性肿瘤的诊断和治疗提供靶向依据。CNL 克隆演变的过程及其对药物的治疗反应也将是未来研究的方向之一。

参考文献

- 1 Tuohy E. A case of splenomegaly with polymorphonuclear neutrophil

- hyperleukocytosis[J]. *Am J Med Sci*, 1920, 160: 18-25.
- 2 Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, et al. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(19): 1781-1790.
- 3 Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. World health organization classification of tumours: pathology and genetics of tumours and lymphoid tissue[M]. Lyon: IARC Press, 2001: 204-207.
- 4 Bain BJ, Brunning RD, Vardiman JW, et al. Chronic neutrophilic leukaemia//Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. Lyon. France: IARC Press, 2008: 38-39.
- 5 SEER Hematopoietic and Lymphoid Neoplasm Database; Chronic Neutrophilic Leukemia. Accessed November 8, 2019.
- 6 Elliott MA, Hanson CA, Dewald GW, et al. WHO-defined chronic neutrophilic leukemia: a long-term analysis of 12 cases and a critical review of the literature[J]. *Leukemia*, 2005, 19(2): 313-317.
- 7 Elliott MA, Pardanani A, Hanson CA, et al. ASXL1 mutations are frequent and prognostically detrimental in CSF3R-mutated chronic neutrophilic leukemia[J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(7): 653-656.
- 8 Szuber N, Finke CM, Lasho TL, et al. CSF3R-mutated chronic neutrophilic leukemia: long-term outcome in 19 consecutive patients and risk model for survival[J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(2): 21.
- 9 Zhang BS, Chen YP, Lv JL, et al. Comparison of the efficacy of nilotinib and imatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29: 631-634.
- 10 Elliott MA, Tefferi A. Chronic neutrophilic leukemia 2014: Update on diagnosis, molecular genetics, and management[J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(6): 651-658.
- 11 Pardanani A, Lasho TL, Laborde RR, et al. CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(9): 1870-1873.
- 12 Liongue C, Ward AC. Granulocyte colony-stimulating factor receptor mutations in myeloid malignancy[J]. *Front Oncol*, 2014, 4(93): 1-7.
- 13 Meggendorfer M, Haferlach T, Alpermann T, et al. Specific molecular mutation patterns delineate chronic neutrophilic leukemia, atypical chronic myeloid leukemia, and chronic myelomonocytic leukemia[J]. *Haematologica*, 2014, 99(12): e244-e246.
- 14 Wang SA, Hassarjian RP, Fox PS, et al. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms[J]. *Blood*, 2014, 123(17): 2645-2651.
- 15 Beekman R, Valkhof M, vanStrien P, et al. Prevalence of a new auto-activating colony stimulating factor 3 receptor mutation (CSF3R-T5951) in acute myeloid leukemia and severe congenital neutropenia[J]. *Haematologica*, 2013, 98(5): e62-e63.
- 16 Sano H, Ohki K, Park MJ, et al. CSF3R and CALR mutations in paediatric myeloid disorders and the association of CSF3R mutations with translocations, including t(8; 21)[J]. *Br J Haematol*, 2015, 170(3): 391-397.
- 17 Maxson JE, Ries RE, Wang YC, et al. CSF3R mutations have a high degree of overlap with CEBPA mutations in pediatric AML[J]. *Blood*, 2016, 127(24): 3094-3098.
- 18 Lavallée VP, Kros J, Lemieux S, et al. Chemo-genomic interrogation of CEBPA mutated AML reveals recurrent CSF3R mutations and subgroup sensitivity to JAK inhibitors[J]. *Blood*, 2016, 127(24): 3054-3061.
- 19 Kosmider O, Itzykson R, Chesnais V, et al. Mutation of the colony-stimulating factor-3 receptor gene is a rare event with poor prognosis in chronic myelomonocytic leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(9): 1946-1949.
- 20 Gotlib J, Maxson JE, George TI, et al. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment[J]. *Blood*, 2013, 122(10): 1707-1711.
- 21 Cui Y, Li B, Gale RP, et al. CSF3R, SETBP1 and CALR mutations in chronic neutrophilic leukemia[J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 15(7): 77.
- 22 Tefferi A, Elliott M, Pardanani A. Chronic neutrophilic leukemia: novel mutations and their impact on clinical practice[J]. *Curr Opin Hematol*, 2015, 22: 171-176.
- 23 Minakuchi M, Kakazu N, Gorin-Rivas MJ, et al. Identification and characterization of SEB, a novel protein that binds to the acute undifferentiated leukemia-associated protein SET[J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(5): 1340-1351.
- 24 崔亚娟, 江倩, 刘晋琴, 等. 慢性中性粒细胞白血病临床和实验室特征及预后因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 28-32.
- 25 Lasho TL, Mims A, Elliott MA, et al. Chronic neutrophilic leukemia with concurrent CSF3R and SETBP1 mutations: single colony clonality studies, in vitro sensitivity to JAK inhibitors and lack of treatment response to ruxolitinib[J]. *Leukemia*, 2014, 28(6): 1363-1365.
- 26 Nooruddin Z, Miltgen N, Wei Q, et al. Changes in allele frequencies of CSF3R and SETBP1 mutations and evidence of clonal evolution in a chronic neutrophilic leukemia patient treated with ruxolitinib[J]. *Haematologica*, 2017, 102(5): e207-e209.
- 27 Dao KH, Tyner JW. What's different about atypical CML and chronic neutrophilic leukemia? [J]. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*, 2015, 2015: 264-271.
- 28 邢学仰, 冯志金, 苏永忠, 等. BCR/ABL 阴性骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2、CALR、MPL 基因突变的临床分析[J]. *内科急危重症杂志*, 2019, 25(2): 98-102.
- 29 Lasho TL, Elliott MA, Pardanani A, et al. CALR mutation studies in chronic neutrophilic leukemia[J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(4): 450.
- 30 Itonaga H, Ota S, Ikeda T, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of BCR-ABL1-negative atypical chronic myeloid leukemia and chronic neutrophil leukemia: A retrospective nationwide study in Japan[J]. *Leuk Res*, 2018, 75: 50-57.
- 31 Maxson JE, Tyner JW. Genomics of chronic neutrophilic leukemia[J]. *Blood*, 2017, 129(6): 715-722.
- 32 Mak KY, Au CH, Chan TL, et al. Next-generation sequencing panel for diagnosis and management of chronic neutrophilic leukaemia: a case report[J]. *Hong Kong Med J*, 2019, 25: 248-250.

(2022-06-12 收稿 2023-04-27 修回)