

论著·临床研究

类风湿性关节炎暴发噬血细胞综合征 1 例的临床形态学谱

张成林¹, 李 芬², 王清亮², 甘丽媛³

(重庆三博长安医院; 1. 检验科; 2. 病理科; 3. 血液科, 重庆 400023)

[摘要] **目的** 通过识别噬血细胞综合征(HLH)的临床病理特征, 结合探讨类风湿性关节炎(RA)暴发 HLH 的发病机制, 以期提高对该类疾病的早期鉴别。**方法** 将 1 例 RA 患者的临床、生化和其他生物学参数与骨髓中的发现相关联, 以巨噬细胞的免疫组织化学标志物(CD68)标记骨髓活检中的噬血细胞活性, 回顾性分析该患者 HLH 诊断标准中的各个参数。**结果** 患者符合 HLH-2004 的诊断标准, 而临床病理成为该病早期识别的显著支撑依据。**结论** 对疑似 HLH 患者的骨髓进行彻底和仔细的筛查, 对于早期鉴别诊断和及时治疗至关重要, 而使用 IHC 标志物 CD68 来标记活检中的巨噬细胞有助于协助细胞检查的灵敏度。

[关键词] 骨髓活检; 噬血性淋巴组织细胞增多症; 噬血细胞综合征; 类风湿性关节炎; 免疫组化染色 CD68

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.12.007

中图法分类号: R446.8

文章编号: 1009-5519(2024)12-2013-05

文献标识码: A

Clinical morphological spectrum of 1 case of rheumatoid arthritis
outbreak of hemophagocytic syndrome

ZHANG Chenglin¹, LI Fen², WANG Qingliang², GAN Liyuan³

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Pathology; 3. Department of Hematology, Chongqing Sanbo Changan Hospital, Chongqing 400023, China)

[Abstract] **Objective** By identifying the clinicopathological features of hemophagocytic syndrome (HLH), combined with the pathogenesis of rheumatoid arthritis(RA) outbreak of hemophagocytic syndrome, in order to improve the early identification of this disease. **Methods** The clinical, biochemical and other biological parameters of a RA patient were correlated with the findings in bone marrow. The activity of hemophagocytic cells in bone marrow biopsy was labeled with the immunohistochemical marker of macrophages (CD68). The parameters in the HLH diagnostic criteria of the patient were retrospectively analyzed. **Results** The patients met the diagnostic criteria of HLH-2004, and clinical pathology became a significant support for the early identification of the disease. **Conclusion** A thorough and careful screening of bone marrow in patients with suspected HLH is essential for early differential diagnosis and timely treatment. The use of the IHC marker CD68 to label macrophages in biopsy helps to assist the sensitivity of cell examination.

[Key words] Bone marrow biopsy; Hemophagocytic lymphohistiocytosis; Hemophagocytic syndrome; Rheumatoid arthritis; Immunohistochemical staining of CD68

噬血细胞综合征是一种病理性疾病, 其中受刺激的巨噬细胞吞噬骨髓细胞成分(红细胞、白细胞、血小板及其祖细胞)^[1-2]。该病又称为噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH), 是一种罕见的、可能致命的免疫失调疾病^[3]。细胞因子风暴、多器官衰竭、巨噬细胞活性病态增强, 通过实验室标志物(即铁蛋白、甘油三酯、可溶性 CD25、转氨酶、乳酸脱氢酶和纤维蛋白原升高)可测量^[3-5]。虽然 HLH 在所有年龄段的人群中都有发病, 但最常见于儿童和年轻人, 其通常分为两类: 原发性/家族性 HLH 和获得性/继发性 HLH。原发性 HLH 是一种影响儿童的疾病, 由遗传缺陷引起; 继发性 HLH 最常见于成人, 诊断时年龄为 48~50 岁, 感染、癌症、免疫功能不全和风湿病是继发性

HLH 的最常见病因^[6-7]。无论是原发性还是继发性, 高热、脾脏肿大和全血细胞减少是 HLH 的临床特征, 皮疹、肝功能不全、高铁蛋白血症、高甘油三酯血症、凝血问题和肾功能不全等临床表现也有报道^[4-7]。HLH 的病理特征是骨髓、淋巴结、脾脏或肝脏存在噬血现象, 骨髓、肝脏和脾脏最常受累, 肺、肠、肾和皮肤也经常受牵连, 某些神经系统受累的患者, 预后非常差^[7-9]。由于此类疾病在早期识别的诊断上具有挑战性, 患者的总体预后又取决于及时的诊断和治疗, 1994 年, 国际组织细胞学会发布了 HLH 的治疗建议, 并于 2004 年发布了一套修订后的诊断标准及其临床和实验室标准^[1-9]。报道本病例旨在希望通过识别骨髓中的噬血细胞活性, 将其与 HLH 检测中的临

床和生化参数相关联,进一步确定 HLH 的病理学特征范围,以期提高对该类疾病的早期鉴别和诊治。

1 临床资料

患者,男,71 岁,因“持续发热伴全身散在紫癜 1 周”于 2021 年 2 月 1 日入院。既往多年吸烟史,有消化性溃疡、消化道出血、慢性胃炎史 10 年余。有类风湿性关节炎(RA)1 余年,并口服糖皮质激素等药物治疗。主要表现为入院前 1 周,患者出现全身散在紫癜,以双手、双足及小腿远端为甚。伴间断牙龈出血、鼻出血。门诊查血常规:白细胞计数(WBC) $7.7\times 10^9\text{ L}^{-1}$,血红蛋白(Hb)100 g/L,血小板计数(PLT) $3.4\times 10^9\text{ L}^{-1}$ 。故入院进一步检查治疗。入院查体:体温 38.4℃,脉搏 92 次/分,呼吸 21 次/分,血压 170/84 mm Hg,神志尚可。全身皮肤可见散在紫癜,以双手、双足及小腿远端为甚,双小腿远端皮肤色素沉着。睑结膜无苍白,听力下降,口角无歪斜,口唇无发绀,咽充血,颈静脉无怒张,肝颈静脉回流征阴性,双肺呼吸音稍粗,未闻及明显湿啰音,无哮鸣音。叩心界向左扩大,心率 92 次/分,心律齐,心音低钝,各瓣膜区未闻及病理性杂音。腹软,全腹无压痛,无肌紧张或反跳痛,四肢肌力 V 级,病理征未引出。入院第 1 天超声检查示:肝囊肿、脾大、右胸腔积液。一般辅助检查结果见表 1。骨髓及相关病理检查:骨髓穿刺与活检在无菌条件和局部麻醉下进行。骨髓涂片

使用瑞吉氏染色镜检(图 1~5);骨髓活检样本送至病理科,切片进行苏木精伊红(HE)染色和免疫组织化学标志物(IHC)CD68 显色(图 6~7)。诊断与鉴别诊断:(1)发热原因待查。(2)患者炎性指标明显,呈高危反应。(3)全血持续性下降,完善骨髓穿刺、免疫球蛋白、自身抗体谱等进一步检查明确诊断。(4)高血压性心脏病心律失常依据高血压基础诊断,既往心脏彩超、心电图支持诊断;鉴别诊断冠心病等。(5)慢性胃炎既往诊断明确。(6)RA 既往诊断明确。治疗方案:病重留陪,一级护理。免疫球蛋白冲击治疗 5 d、激素治疗 4 d;继续口服泼尼松 30 mg,每天 1 次;升血小板胶囊 3 片,每天 3 次;若 PLT 仍低于 $10\times 10^9\text{ L}^{-1}$,加用特比奥;停用抗凝药物;继续予以抑酸防应激性溃疡、止血、补充钙剂治疗。患者入院第 19 天,炎症指标好转、体温正常,精神状态可,全身皮肤未见新发的瘀点瘀斑,无鼻出血、牙龈出血。血压控制在正常范围。查体:血压 130/68 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa),神志清楚,自主体位,四肢可见陈旧性瘀斑,双肺未闻及明显干湿啰音,心率 76 次/分,律齐,双下肢无水肿。入院第 15 天复查血图分析:WBC $10.63\times 10^9\text{ L}^{-1}$ 、Hb 107.00 g/L,PLT $59\times 10^9\text{ L}^{-1}$,止凝血功能检查正常。应患者要求,予以出院。嘱院外继续治疗,门诊定期随访。

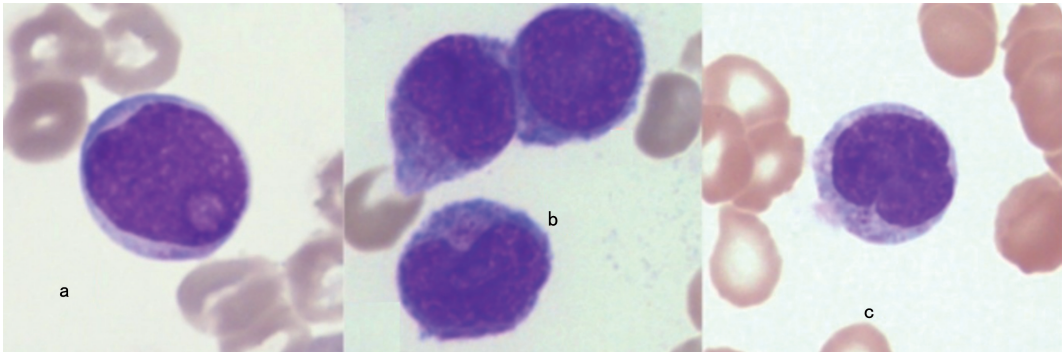


图 1 原始单核细胞(a)、幼稚单核细胞(b)及成熟单核细胞(c)形态回顾(瑞吉氏染色,10×100)

表 1 一般辅助检查结果

项目	入院第 1 天	入院第 3 天	入院第 11 天	参考范围
WBC($\times 10^9\text{ L}^{-1}$)	7.7	3.22	9.53	3.5~9.5
Hb(g/L)	100	82	105	130~175
PLT($\times 10^9\text{ L}^{-1}$)	3.4	1.0	9.4	85~320
谷草转氨酶(U/L)	63	97	36	<40
甘油三酯(mmol/L)	3.40	3.95	1.82	<1.7
超敏 C 反应蛋白(mg/L)	357.5	507.6	42.7	<5
类风湿因子(IU/mL)	99.2	93.0	54.0	0~20
纤维蛋白原(g/L)	1.9	1.1	2.2	2.0~4.0
血清铁蛋白($\mu\text{g/L}$)	2 097.5	/	/	15~200
免疫球蛋白 G(g/L)	28.51	/	/	7.0~16.6
抗 CCP	—	/	/	—
抗血小板抗体	—	/	/	—
尿蛋白定性	++	++	+-	—
免疫标记 sCD25(ng/L)	51 106.0	/	/	<6 400

续表 1 一般辅助检查结果

项目	入院第 1 天	入院第 3 天	入院第 11 天	参考范围
自身抗体谱(ENA/ANA/dsDNA)	ANA 核均质型 1 : 1 000	/	/	<1 : 100
优生 5 项(HSV- I、II /CMV/RV/TOX)	—	/	/	—
病毒抗体 5 项(MP/Adv/RSV/Cox/EB)	—	/	/	—

注：—表示阴性；+表示阳性；/表示无此项；sCD25 为可溶性白细胞介素-2 受体；ENA 为抗核提取物抗体谱；ANA 为抗核抗体谱；dsDNA 为抗双链 DNA 抗体；HSV- I、II 为单纯疱疹病毒 I、II 型；CMV 为巨细胞病毒；RV 为风疹病毒；TOX 为弓形虫；MP 为肺炎支原体；Adv 为腺病毒；RSV 为呼吸道合胞病毒；Cox 为柯萨奇病毒；EB 为 EB 病毒。

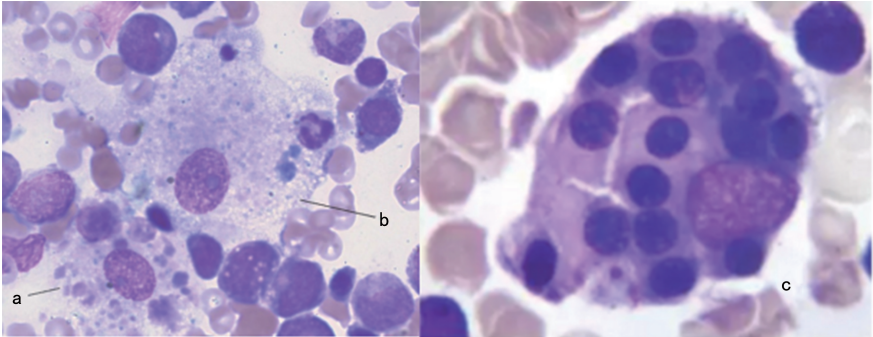


图 2 巨噬细胞(a,b)及噬血细胞(c)形态回顾(瑞吉氏染色,10×100)

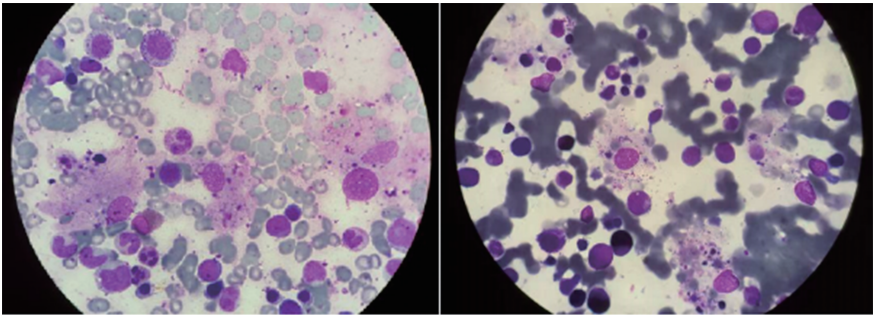
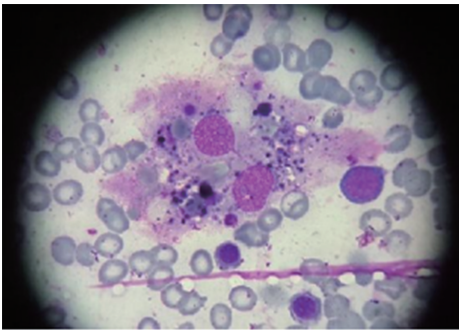


图 3 患者骨髓涂片有大量噬血细胞(占有核细胞计数的 3.0%,瑞吉氏染色,10×100)



注：活跃多形态；核 1 个或融合多个，囊泡状；核仁幽蓝明显；胞质淡薄，含大量已破坏血小板与部分红细胞。

图 4 噬血细胞内残存的大量裸核及血小板(瑞吉氏染色,10×100)

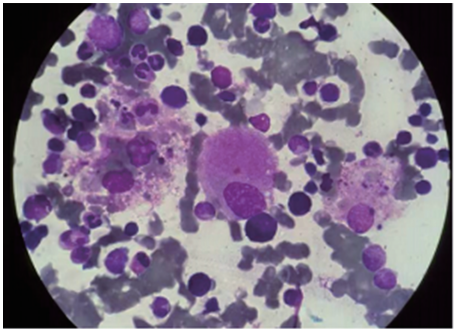


图 5 3 个噬血细胞之间为巨核细胞(瑞吉氏染色,10×100)

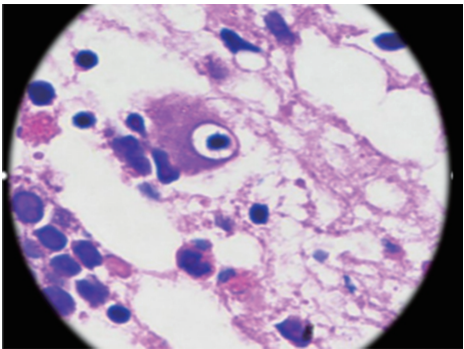


图 6 患者骨髓 HE 活检中的噬血细胞(HE 染色,10×20)

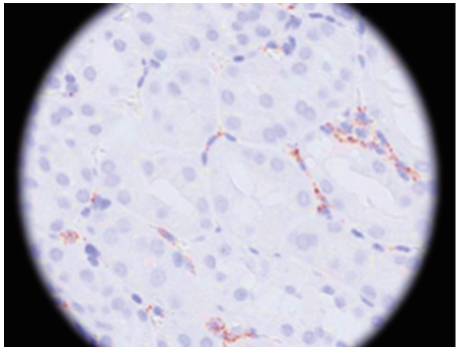


图 7 CD68 标记的多个极化的巨噬细胞(免疫组织化学染色,10×20)

2 讨 论

HLH 是一种综合征,而非一种特定疾病,可在各种情况下有临床表现^[10]。HLH 的发病率估计为 1/10 万,59%的个体是男性,41%是女性,男性和女性之间没有显著差异,平均年龄为 30.7 岁;65.2%的患者出现发热,可以推断,HLH 最普遍的症状是持续发热,对抗生素治疗无效;37.2%的患者出现脾肿大,80%的患者出现血细胞减少,87%的患者发现了高铁蛋白血症,59%的 HLH 患者检测到高甘油三酯血症,40%的受试者出现低纤维蛋白原血症^[10-12]。感染是继发性 HLH 的常见原因,占总病例的 70%,EB 和 CMV 相关病毒感染最为普遍,结核分枝杆菌是最常见的细菌感染,利什曼原虫是常见的寄生虫感染,荚膜组织胞浆菌是常见的真菌感染;第二大常见病因是肿瘤相关性 HLH(血液学和非血液学),16%的病例是由恶性肿瘤(血液和非血液系统)引起的;风湿免疫病相关 HLH 占第 3 位,感染诱因和药物等可能是 HLH 重要的触发因素^[13-16]。

目前,公认最佳 HLH 的诊断标准是 HLH-2004,符合以下 2 条标准中任何一条时可以诊断 HLH:(1)分子诊断符合 HLH,存在目前已知的 HLH 相关致病基因,如 PRF1、UNC13D、STX11、STXBP2、Rab27a、LYST、SH2D1A、BIRC4、ITK、AP3β1、MAGT1、CD27 等病理性突变(本例限于条件未做)。(2)符合以下 8 条指标中的 5 条或以上,①发热,体温>38.5℃,持续 7 d 以上;②脾大;③血细胞减少(累及外周血两系或三系):Hb<90 g/L(<4 周婴儿,Hb<100 g/L),PLT<100×10⁹ L⁻¹,中性粒细胞<1.0×10⁹ L⁻¹ 且非骨髓造血功能减低所致;④高甘油三酯血症和(或)低纤维蛋白原血症,甘油三酯>3 mmol/L 或高于同年龄的 3 个标准差,纤维蛋白原<1.5 g/L 或低于同年龄的 3 个标准差;⑤在骨髓、脾脏、肝脏或淋巴结中发现噬血现象;⑥自然杀伤(NK)细胞活性降低或缺如;⑦血清铁蛋白升高:铁蛋白≥500 μg/L;⑧sCD25 升高。本例患者检查指标符合以上①②③④⑤⑦⑧共 7 项。

HScore 诊断标准(2014),则适用于继发性 HLH^[17-18]。其对各参数进行计分(已知潜在的免疫抑制、体温、器官肿大、细胞减少、铁蛋白、甘油三酯、纤维蛋白原、谷草转氨酶、骨髓穿刺发现噬血现象),积分越高诊断 HLH 的可能性越大。最佳截断值为 169 分,敏感度为 93%,特异度为 86%,可以对 90%的患者进行精确的分类。本例患者统计得分 286 分,远超 169 分的标准值。

本例老年男性患者为多年烟民,在临床实践中意味着本身具备了复杂的免疫基础。实验室检查免疫球蛋白 G 28.51 g/L、ANA 核均质型 1:1 000、抗 CCP+、类风湿因子 99.2 IU/mL、C 反应蛋白 357.5 mg/L,均提醒患者 RA 未得到有效控制,经询问病史得知,患者入院前 1 年来的治疗过程及服药较为复

杂,疗程不完整且不规律,因此,免疫抑制剂等激素药物的断续使用,为药物诱发自身免疫病相关 HLH 的暴发提供了条件^[18-20]。本例患者高炎症反应,临床抗生素治疗无效,多项病毒抗体和寄生虫检测指标阴性,因此初步排除微生物感染引起相关 HLH 暴发。本例患者持续高热,血液三系进行性急速下降,心、肝、脾肾指标明显异常,均提示病理性检测的紧迫性,因此临床对全血细胞减少症的排查成为首选(全血细胞减少症同时具有面色苍白、长时间发热和出血倾向三联征)。

本例患者骨髓涂片显示,造血细胞增生活跃,粒系、红系、巨核系、淋巴系增生活跃,形态大致正常,血小板形态正常,除噬血细胞外,未见寄生虫及其他异常细胞,因此排除肿瘤、白血病、骨髓衰竭、骨髓功能减退,以及多种疾病继发的全血细胞减少症。骨髓内查见大量噬血细胞,平均 500 个有核细胞中可见 15 个噬血细胞(参考范围 0.05%),散在或区域聚集分布,其胞体内吞噬有大量血小板及残存的粒细胞和红细胞核。

LUQUE MARTIN^[21]指出,γ 干扰素(IFN-γ)是一种存在于多种炎症相关疾病中的分子,由 NK、Th1 和 CTLs 细胞产生,细胞毒功能缺陷时,由于负反馈机制原因,各种免疫细胞持续活化,产生严重“炎症因子风暴”,高水平炎症因子 IFN-γ 诱导循环单核细胞分化为巨噬细胞,产生病态的促炎与炎症反应;CD68 作为活化巨噬细胞的表位标记,与溶酶体密切相关,历来被用作巨噬细胞标记的“金标准”,高活性 CD68 也预示着巨噬细胞活跃的吞噬与消化能力,并与疾病的进程相关。王昭等^[18]在《噬血细胞综合征》一书中提到:吞噬血细胞现象反映了异常的免疫病理状态,是 HLH 的标准之一,同时也是 HLH-2004 诊断标准之一,84%的成人患者穿刺后发现阳性,骨髓活检有效性为 64%,敏感度约为 60%;吞噬血细胞现象不仅局限在骨髓,还包括肝脾、淋巴结、脑脊液甚至皮肤,骨髓没有噬血细胞并不能排除 HLH;对于骨髓细胞涂片不够理想的 HLH 患者,病理活检及免疫组织化学能协助观察造血组织的病理变化,以此提高噬血现象阳性的检出率。

本例患者血小板减少,结合紫癜体征,不容易与免疫性血小板减少性紫癜(ITP)相鉴别,因此后期又增加了 sCD25 和血小板自身抗体检测。患者免疫标记 sCD25 为 51 106.0 ng/L(参考范围<6 400 ng/L),血小板自身抗体阴性,同时考虑到 ITP 患者多为儿童和中青年,一般无脾大(继发性血小板减少性紫癜除外),无持续性高热,成人患者病程相对缓长,在病理方面,ITP 血小板常见畸形,破坏多在脾内而骨髓形态上却表现不明显。因此,结合本例临床检测指数及最终治疗效果考虑,ITP 不是关键病情,而是 RA 整个机体免疫功能紊乱暴发相关 HLH 的继发表现^[18]。

由于 HLH 在早期识别的诊断上具有挑战性, 患者的总体预后又取决于及时的诊断和治疗, 当患者出现持续发热、肝脾大和血细胞减少三联征时应当怀疑 HLH 的可能, 通常提示应尽早完善诊断 HLH 的相关检查。噬血现象不是 HLH 诊断的充要条件, 敏感度约为 60%, 但在结合临床和生物学, 以及实验室检查还未出结果的基础上, 骨髓作为尽早证实疑似 HLH 的优先解剖位点, 噬血现象却是 HLH 的关键标志^[18]。病理活检不是 HLH 诊断的必需条件, 但对于骨髓细胞涂片不理想的 HLH 患者, 病理活检及免疫组织化学能协助观察造血组织的病理变化, 提高阳性检出率, 因此应互为补充。

参考文献

[1] SOMASUNDARAM V, SRINIVASAGOWDA S, BALRAAM V, et al. Hemophagocytosis in bone marrow aspirates: an indication of hidden pathologies[J]. Med J DY Patil Vidyapeeth, 2019, 12(1): 22-27.

[2] CHANDRA H, CHANDRA S, KAUSHIK R, et al. Hemophagocytosis on bone marrow aspirate cytology: single center experience in north himalayan region of India[J]. Ann Med Health Sci Res, 2014, 4(5): 692-696.

[3] BAM I S, VAGRECHA A, SOBERMAN D, et al. The use of anakinra in the treatment of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Blood Cancer, 2020, 67(11): e28581.

[4] CAMPO M, BERLINER N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2015, 29(5): 915-925.

[5] SHAH A R, MUZZAFAR T, ASSI R, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: an under recognized entity [J]. BBA Clin, 2017, 7: 36-40.

[6] GARS E, PURINGTON N, SCOTT G, et al. Bone marrow histomorphological criteria can accurately diagnose hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Haematologica, 2018, 103(10): 1635-1641.

[7] LEHMBERG K, NICHOLS K E, HENTER J I, et al. Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies[J]. Haematologica, 2015, 100(8): 997-1004.

[8] GRZYBOWSKI B, VISHWANATH V A. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a diagnostic conundrum [J]. J Pediatr Neurosci, 2017, 12(1): 55-60.

[9] HAYDEN A, PARK S, GIUSTINI D, et al. He-

mophagocytic syndromes (HPSs) including hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in adults: a systematic scoping review [J]. Blood Rev, 2016, 30(6): 411-420.

[10] IQBAL W, ALSALLOOM A A, SHEHZAD K, et al. Hemophagocytic histiocytosis: a clinicopathological correlation [J]. Int J Health Sci (Qassim), 2017, 11(1): 1-7.

[11] OTROCK Z K, EBY C S. Clinical characteristics, prognostic factors, and outcomes of adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Am J Hematol, 2015, 90(3): 220-224.

[12] KIM Y R, KIM D Y. Current status of the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults [J]. Blood Res, 2021, 56(Suppl 1): S17-S25.

[13] GEORGE M R. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: review of etiologies and management [J]. J Blood Med, 2014, 5: 69-86.

[14] FARDET L, GALICIER L, LAMBOTTE O, et al. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(9): 2613-2620.

[15] HO C, YAO X, TIAN L, et al. Marrow assessment for hemophagocytic lymphohistiocytosis demonstrates poor correlation with disease probability [J]. Am J Clin Pathol, 2014, 141(1): 62-71.

[16] 朱俪, 孟海涛. 成人嗜血细胞综合征 [J]. 中外医疗, 2015, 34(13): 191-193.

[17] 噬血细胞综合征中国专家联盟, 中华医学会儿科学分会血液学组. 噬血细胞综合征诊治中国专家共识 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(2): 91-95.

[18] 王昭, 王晶石, 王旂旎, 等. 噬血细胞综合征 [M]. 北京: 科学出版社, 2017: 11.

[19] 闫丽娟, 马骥良, 王昭. 风湿性疾病相关 HPS 研究进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 15(12): 864-866.

[20] 黄文秋, 王旂旎, 王晶石, 等. 192 例成人噬血细胞淋巴组织细胞增生症患者的临床分析 [J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(9): 796-801.

[21] LUQUE MARTIN R. The fate of cells-Interference and study of macrophage differentiation and activation [J/OL]. Univers Van Amsterd, 2021 [2023-12-30]. <https://core.ac.uk/works/142265013>.

(收稿日期: 2023-11-25 修回日期: 2024-03-17)