

Диагностика опухоли из бластных плазмацитоидных дендритных клеток методом проточной цитометрии

Дрокова Д.Г.

ЦКДЛ

Группа проточной цитометрии

Определение

Бластная плазмацитоидная дендритно-клеточная неоплазия (БПДКН) – редкий, клинически агрессивный тип опухоли, характеризующийся клональной пролиферацией предшественников плазмацитоидных дендритных клеток с вовлечением в патологический процесс, главным образом, кожи и костного мозга с последующей лейкоемизацией процесса (ВОЗ,2017)

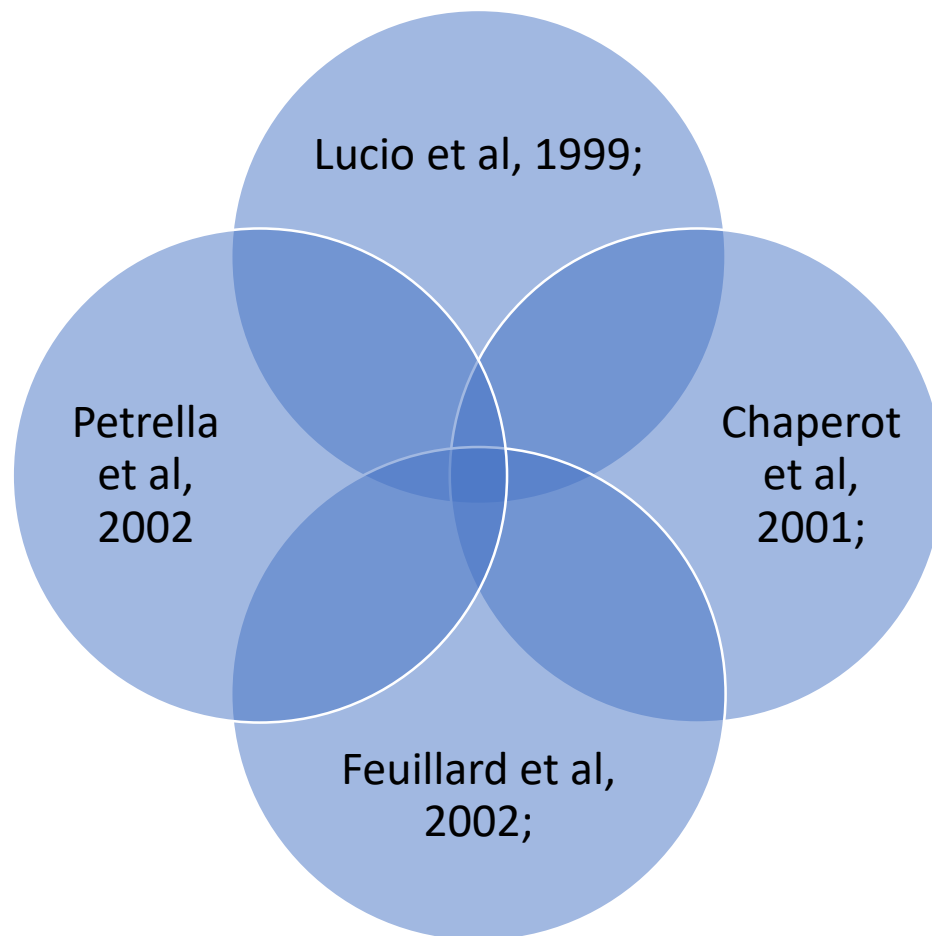
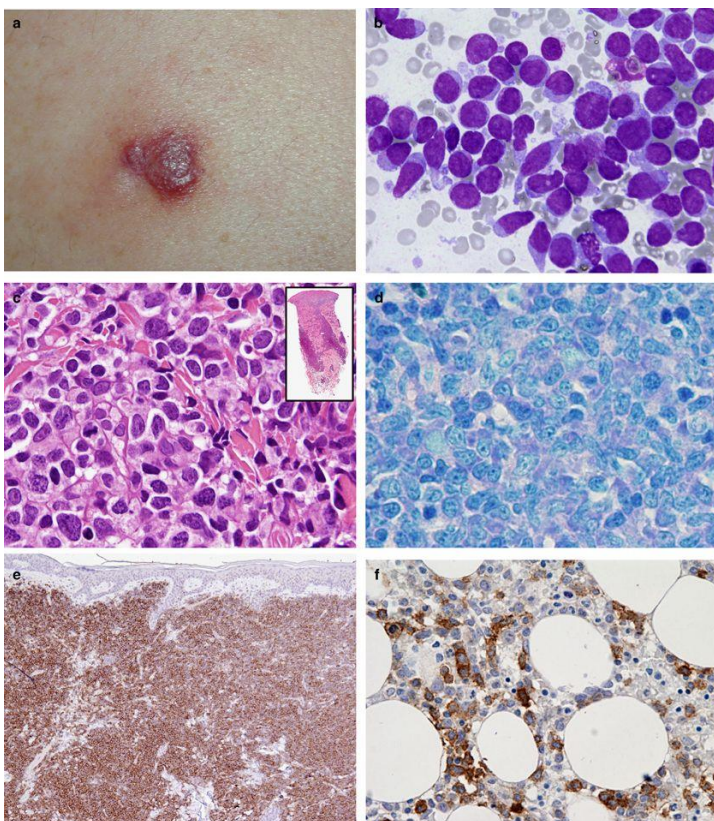


- Этиология неизвестна
- 10-20% случаев БПДКО ассоциированы с ХММЛ, МДС или ОМЛ
- Дифференциальный диагноз с неходжкинскими лимфомами; острыми лейкозами, сопровождающимися кожными проявлениями; меланомой; системной красной волчанкой

Классификация ВОЗ, 2017

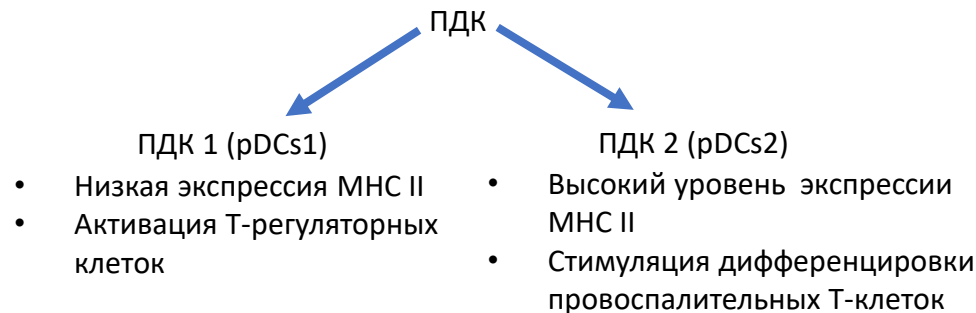
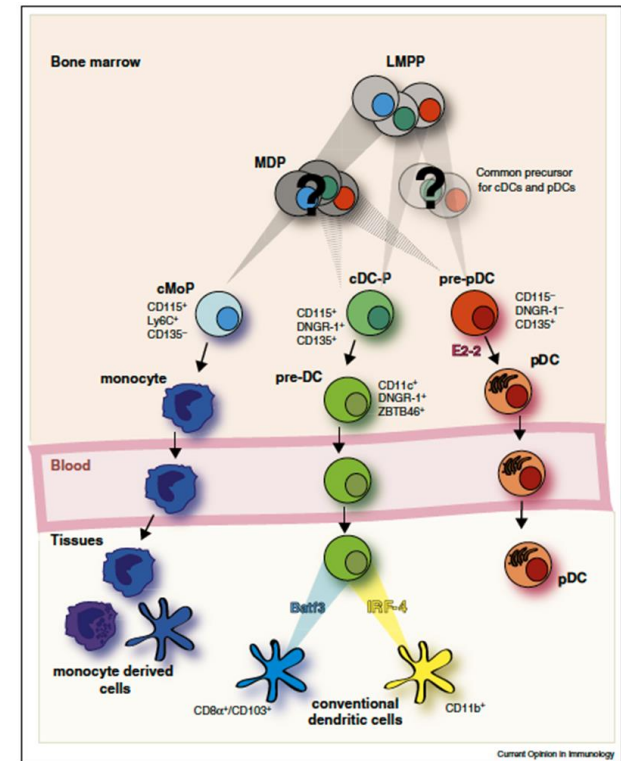
Myeloid proliferations associated with Down syndrome	169	Heavy chain diseases	237
Transient abnormal myelopoiesis associated with Down syndrome	169	Mu heavy chain disease	237
Myeloid leukaemia associated with Down syndrome	170	Gamma heavy chain disease	238
		Alpha heavy chain disease	240
9 Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm	173	Plasma cell neoplasms	241
		Non-IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance	241
10 Acute leukaemias of ambiguous lineage	179	Plasma cell myeloma	243
Acute undifferentiated leukaemia	182	Plasma cell myeloma variants	249
Mixed-phenotype acute leukaemia with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>	182	Smouldering (asymptomatic) plasma cell myeloma	249
Mixed-phenotype acute leukaemia with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> -rearranged	183	Non-secretory myeloma	250
Mixed-phenotype acute leukaemia, B/myeloid, not otherwise specified	184	Plasma cell leukaemia	250
Mixed-phenotype acute leukaemia, T/myeloid, not otherwise specified	185	Plasmacytoma	250
Mixed-phenotype acute leukaemia, not otherwise specified, rare types	186	Solitary plasmacytoma of bone	250
Acute leukaemias of ambiguous lineage, not otherwise specified	187	Extrasosseous plasmacytoma	251
		Monoclonal immunoglobulin deposition diseases	254
11 Introduction and overview of the classification of the lymphoid neoplasms	189	Primary amyloidosis	254
		Light chain and heavy chain deposition diseases	255
12 Precursor lymphoid neoplasms	199	Plasma cell neoplasms with associated paraneoplastic syndrome	256
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma, not otherwise specified	200	POEMS syndrome	256
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities	203	TEMPI syndrome	257
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>	203	Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	259
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> -rearranged	203	Nodal marginal zone lymphoma	263
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>	204	Paediatric nodal marginal zone lymphoma	264
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with hyperdiploidy	205	Follicular lymphoma	266
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with hypodiploidy	206	Testicular follicular lymphoma	268
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.1); <i>IGH/IL3</i>	206	In situ follicular neoplasia	274
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>	207	Duodenal-type follicular lymphoma	276
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma, <i>BCR-ABL1</i> -like	208	Paediatric-type follicular lymphoma	278
B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma with <i>iAMP21</i>	208	Large B-cell lymphoma with <i>IRF4</i> rearrangement	280
T-lymphoblastic leukaemia/lymphoma	209	Primary cutaneous follicle centre lymphoma	282
Early T-cell precursor lymphoblastic leukaemia	212	Mantle cell lymphoma	285
NK-lymphoblastic leukaemia/lymphoma	213	Leukaemic non-nodal mantle cell lymphoma	290
		In situ mantle cell neoplasia	290
13 Mature B-cell neoplasms	215	Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS	291
Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma	216	T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma	298
Monoclonal B-cell lymphocytosis	220	Primary diffuse large B-cell lymphoma of the CNS	300
B-cell prolymphocytic leukaemia	222	Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type	303
Splenic marginal zone lymphoma	223	EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, NOS	304
Hairy cell leukaemia	226	EBV-positive mucocutaneous ulcer	307
Splenic B-cell lymphoma/leukaemia, unclassifiable	229	Diffuse large B-cell lymphoma associated with chronic inflammation	309
Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma	229	Fibrin-associated diffuse large B-cell lymphoma	311
Hairy cell leukaemia variant	230	Lymphomatoid granulomatosis	312
Lymphoplasmacytic lymphoma	232	Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma	314
IgM Monoclonal gammopathy of undetermined significance	236	Intravascular large B-cell lymphoma	317
		ALK-positive large B-cell lymphoma	319
		Plasmablastic lymphoma	321
		Primary effusion lymphoma	323
		HHV8-associated lymphoproliferative disorders	325
		Multicentric Castelman disease	325
		HHV8-positive diffuse large B-cell lymphoma, NOS	327
		HHV8-positive germinotropic lymphoproliferative disorder	328
		Burkitt lymphoma	330
		Burkitt-like lymphoma with 11q aberration	334
		High-grade B-cell lymphoma	335
		High-grade B-cell lymphoma with <i>MYC</i> and <i>BCL2</i> and/or <i>BCL6</i> rearrangements	335
		High-grade B-cell lymphoma, NOS	340

1994 г -...

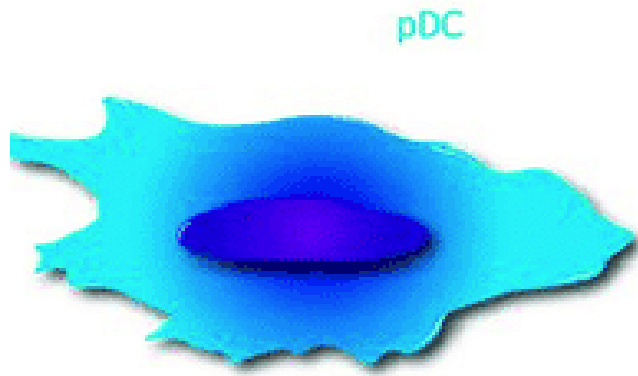


Плазмацитоидные дендритные клетки

- **Вырабатывают большое количество интерферона I в ответ на вирусную инфекцию**
- Имеют TLR 7 и 9 типов (распознавание ДНК, РНК вирусов и бактерий)
- Могут функционировать как антигенпрезентирующие клетки (активируют CD8+ Т-клетки; низкая способность активировать CD4+ Т-клетки)
- Экспрессируют хемотаксические рецепторы CCR7, CXCR3, CXCR4 и CMKLR1 (миграция в лимфоидные органы и/или в воспаленную ткань)
- Способствуют дифференцировке Т-хелперов 17 типа



Иммунофенотип ПДК



TLR1, TLR 6, TLR 7, TLR 9, TLR 10

HLA DR⁺

DEC 205⁺

Langerina⁺

CD303⁺ (CLEC 4c)

CD304⁺ (BDCA4)

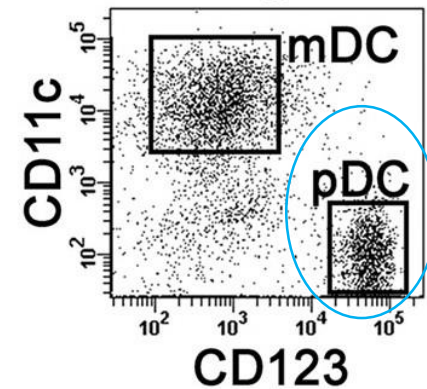
CD123^{hi} (IL3R)

CD45RA⁺

CD1c^{low}

No present:

CD11c



Особенности БПДКО

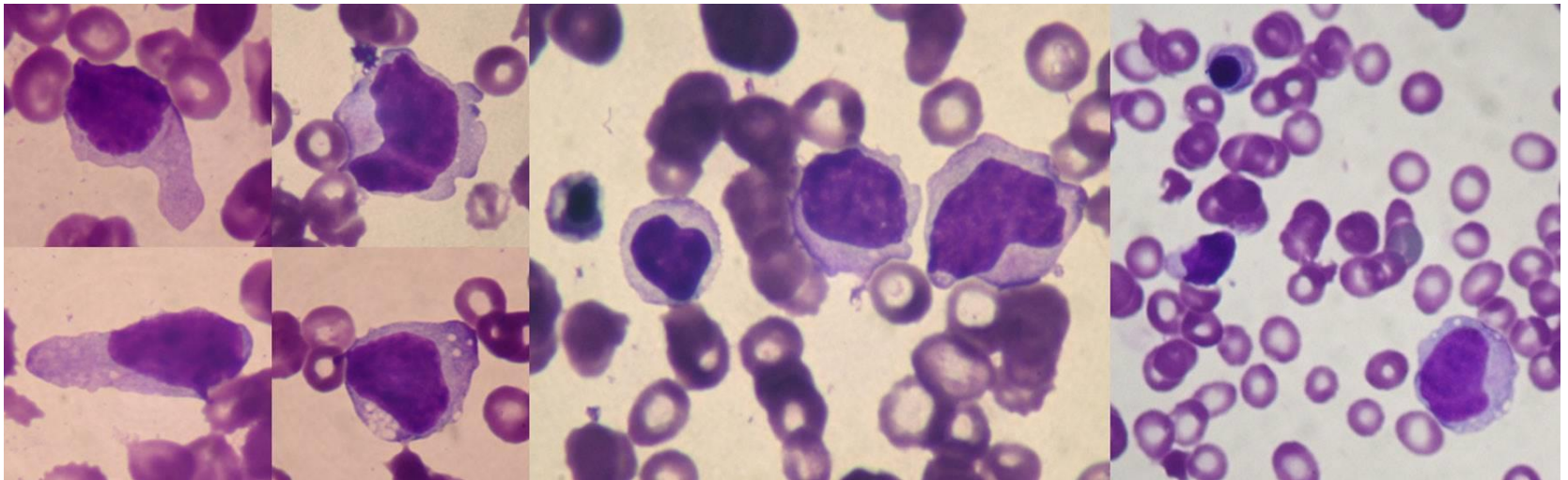
- Точная частота встречаемости заболевания неизвестна
- Возникновение опухоли не сопряжено с какой-либо расовой или этнической группой
- Соотношение мужчин и женщин - 3,3:1
- Большинство пациентов старше 60 лет (средний возраст 61-67 лет), но это новообразование может возникнуть в любом возрасте, в том числе у детей

Клинические проявления

- Манифестация болезни – поражения кожи различной локализации (90% случаев)
- Периферическая кровь и костный мозг (80%), часто одновременно с кожными проявлениями
- Прогрессия болезни - лимфатические узлы, селезенка, печень, ЦНС, легкие, почки
- Тромбоцитопения - 2/3 случаев
- Анемия - часто
- Нейтропения – прогрессия болезни
- Гиперлейкоцитоз – крайне редко

Морфология опухолевых клеток

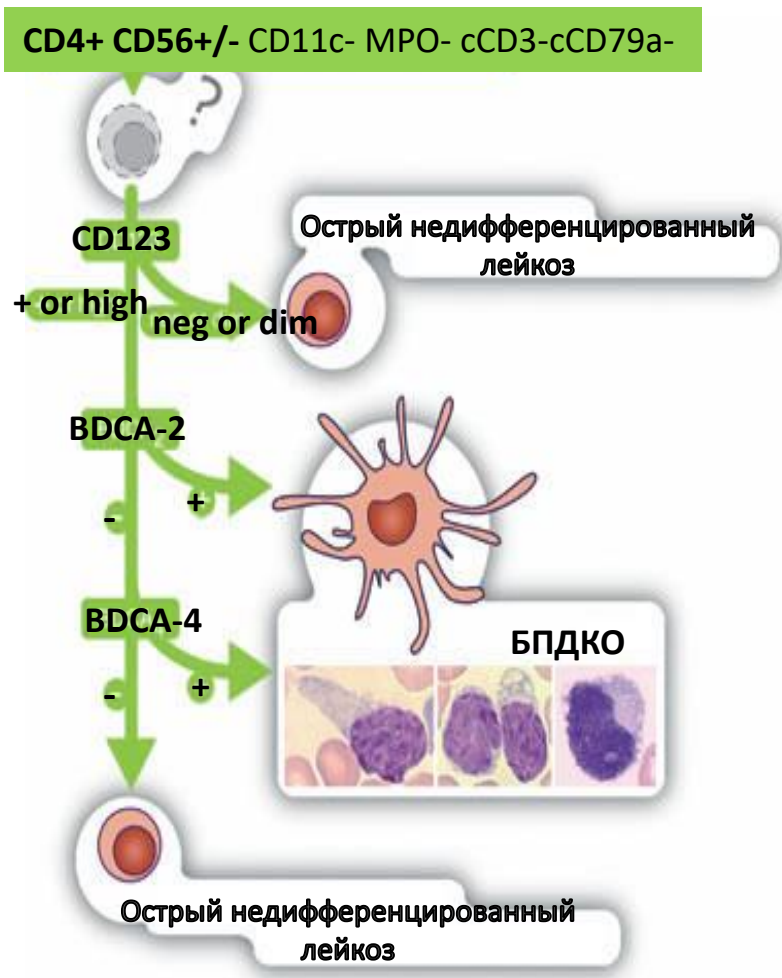
- Средние или крупные клетки с округлой или овальной формой ядра, с тонким хроматином
- Обильная, слабобазофильная цитоплазма, может содержать микровакуоли



Фенотип ОБПДК

- Опухолевые клетки экспрессируют CD4, CD56
- Отсутствует экспрессия ключевых маркеров других клеточных линий:
MPO, iCD3, iCD79a
- Яркая экспрессия CD123
- Часто позитивны по CD45RA, HLA-DR, CD36, CD116, TCL-1
- Негативны по CD34, **CD11c**

Диагностические критерии



1. Опухолевая популяция CD4+CD56+/-
2. Отсутствует экспрессия основных маркеров других клеточных линий (MPO, cyCD3, cyCD79a-)
3. Экспрессия CD123 (отсутствие, слабая, яркая)
4. Дополнительные маркеры:

BDCA-2(CD303)+ и/или BDCA-4 (CD304)+

Опухоль из бластных плазмацитоидных дендритных клеток

BDCA-2(CD303)- и BDCA-4(CD304)-

Острый недифференцированный лейкоз

Молекулярно-генетические особенности

66% БПДКО - аномальный кариотип

Специфические хромосомные aberrации отсутствуют, но комплексные кариотипы распространены

Наиболее часто встречаемые хромосомные аномалии:

- 5q21 или 5q34 (в 72% случаев)
- 12p13 (в 64%)
- 13q13-21 (в 64%)
- 6q23-qter (в 50%)
- 15q (в 43%)
- потеря хромосомы 9 (в 28%)

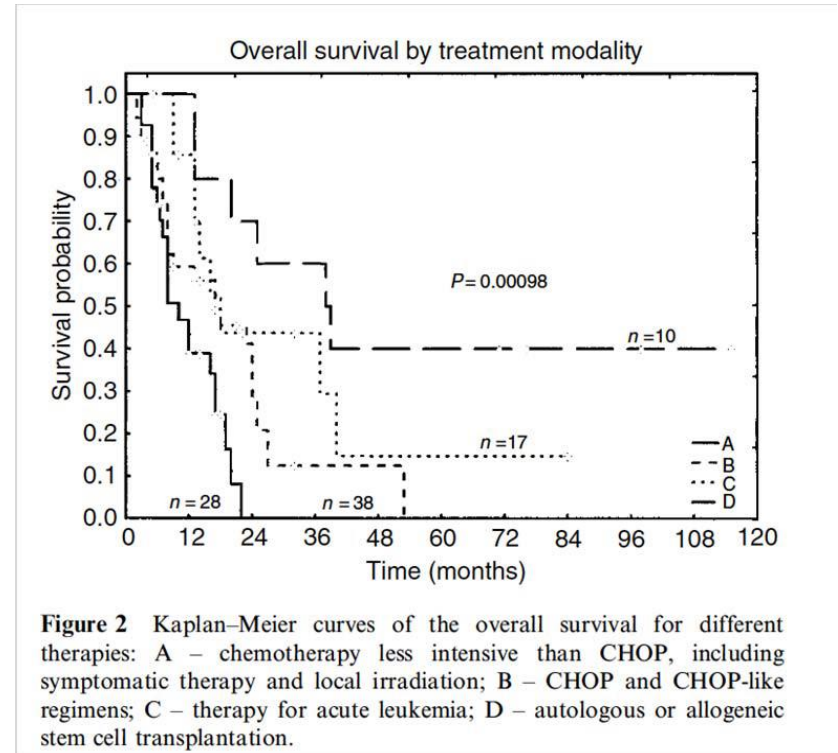
В сравнении с нормальными ПДК:

- Повышение продукции генов BCL2, CCND1, IRF4
- Активация сигнального пути NF-κB

Терапия

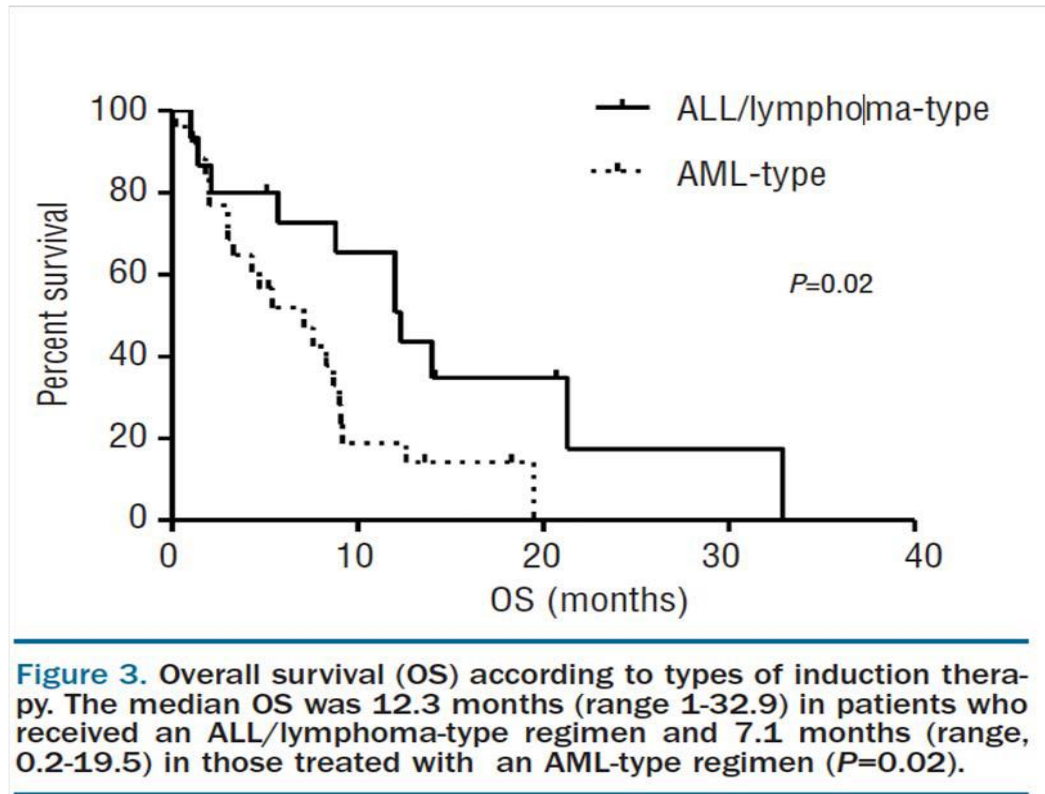
В настоящее время не разработано эффективного протокола лечения БПДКО

- ТГСК является наиболее эффективным подходом;
- Лучшие результаты - при ТГСК в первой ремиссии



Терапия

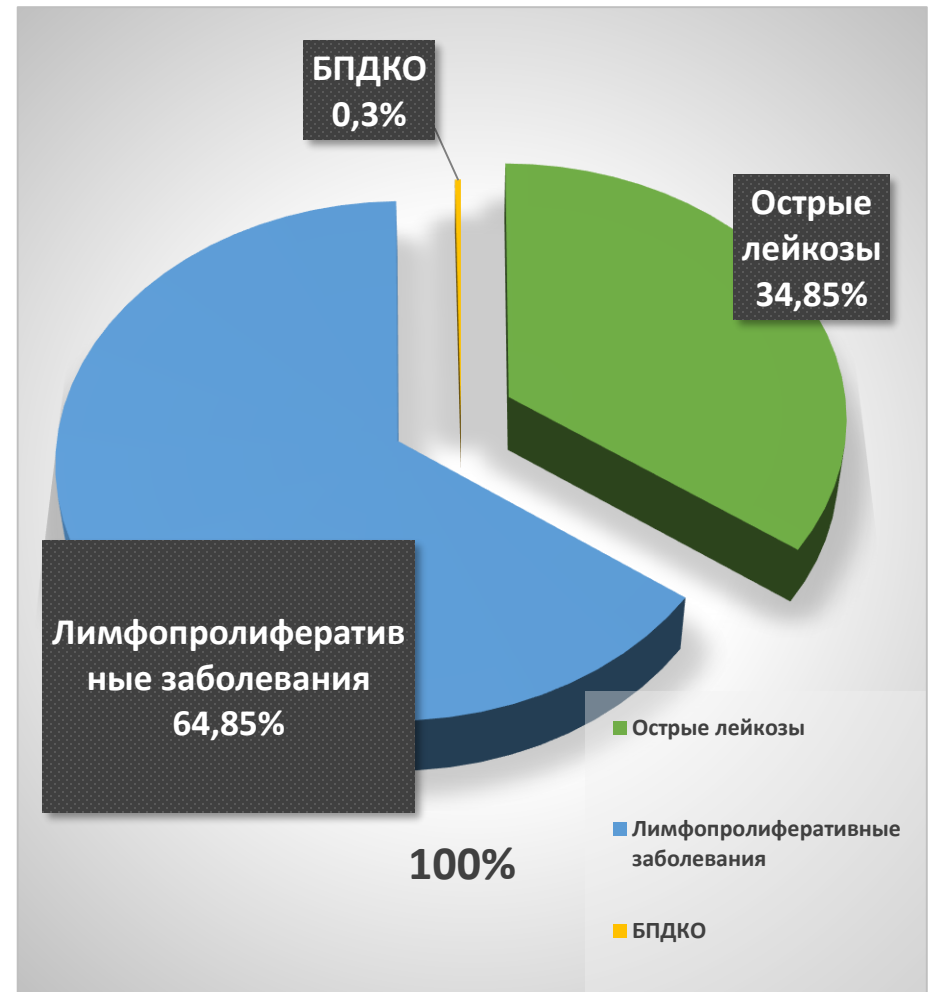
Индукционная терапия в режимах ОЛЛ более эффективна, чем ОМЛ тип индукционной терапии



Статистика

Диагностика гемобластозов в ЦКДЛ – 1743 случая с 2015 по 2018гг

- Выявлено **5 случаев БПДКО** (0,3% от всех гемобластозов)
- М:Ж- 1:4; медиана возраста- 61 год
- Два случая: ОМЛ и БПДКО в дебюте
- Один случай: ОМЛ развился впоследствии
- Один случай: БПДКО и МДС



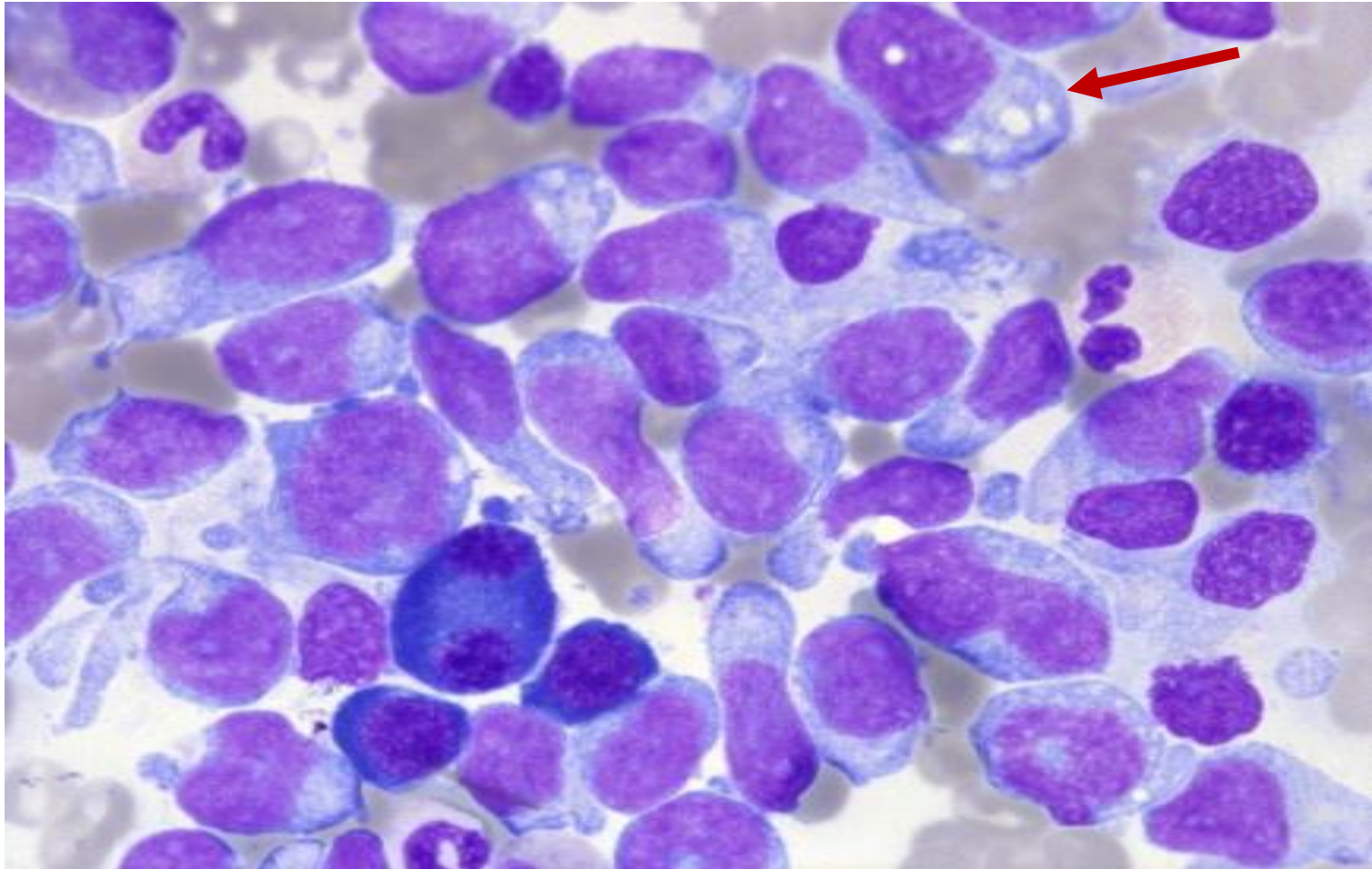
Клинический случай 1

- Мужчина, 56 лет
- Клинические данные: периферическая лимфаденопатия, гепатоспленомегалия
- Анамнез: проходил лечение по поводу абсцесса передней поверхности шеи в стационаре по месту жительства. При проведении КТ ОГК: объёмное образование правого легкого (Mts?). В ОАК- бластемия
- В гемограмме при поступлении: гем -97г/л, эритро - $2,87 \cdot 10^{12}$ /л, лейко - $9,71 \cdot 10^9$ /л, тромбо - $237 \cdot 10^9$ /л, **бластные клетки - 34%**, ммц- 2%, миел- 4%, ,п/я-7%, с/я-21%, лф-30%, мон-2%, СОЭ -64мм/час

Цитология

Случай 1

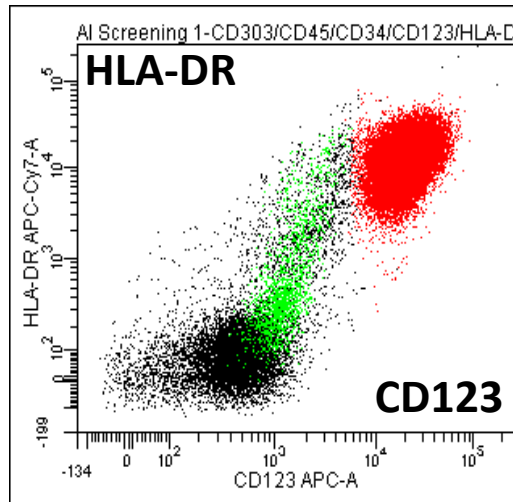
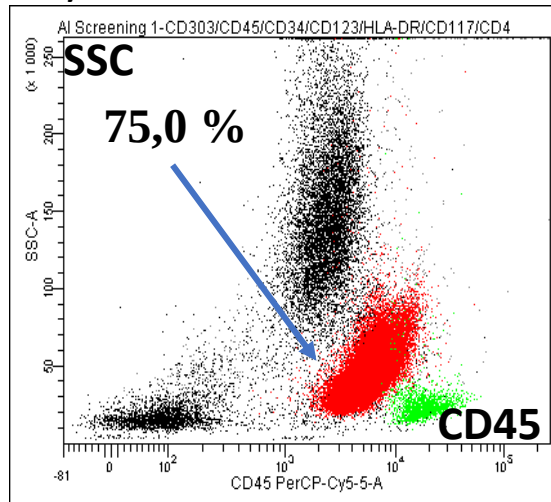
Костный мозг



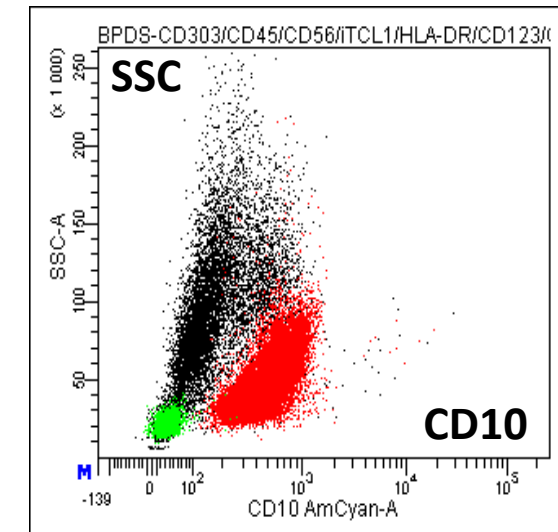
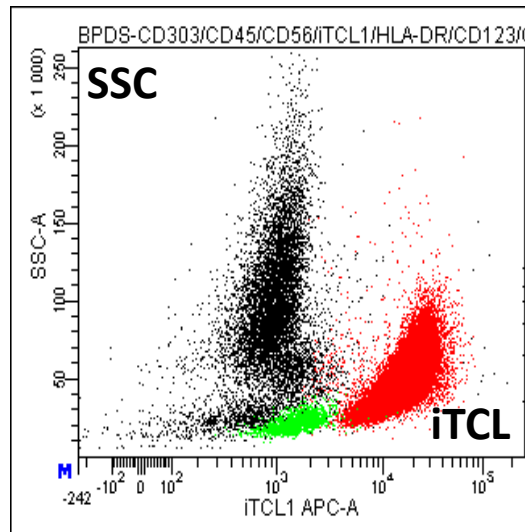
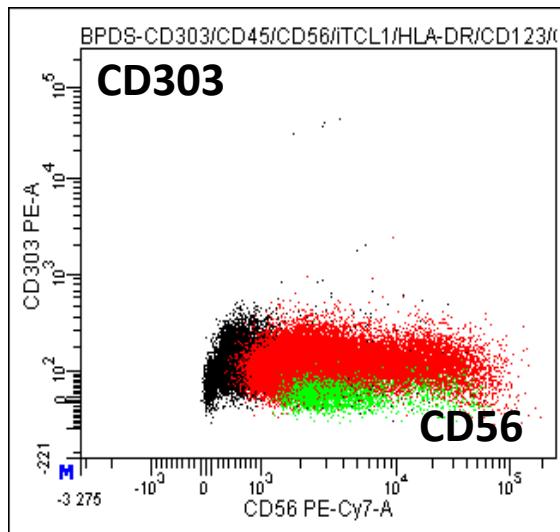
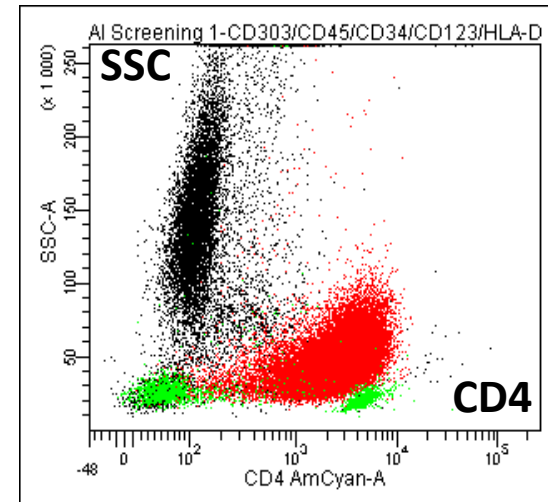
Гиперклеточный костный мозг, бластные клетки

Проточная цитометрия

Случай 1



Костный мозг

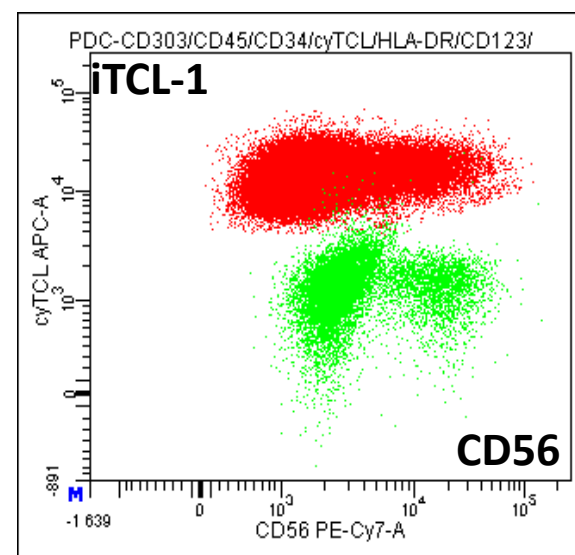
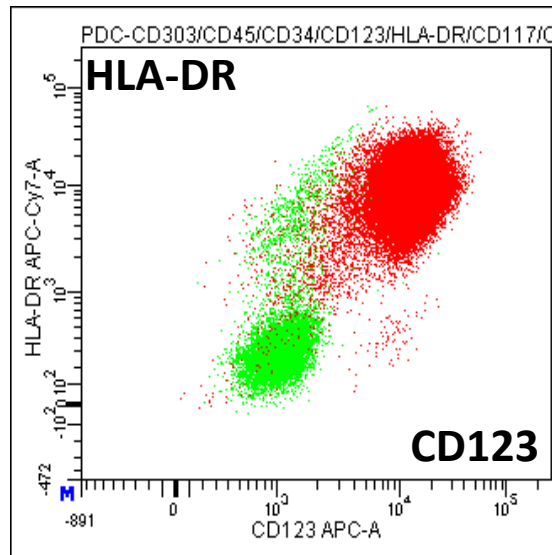
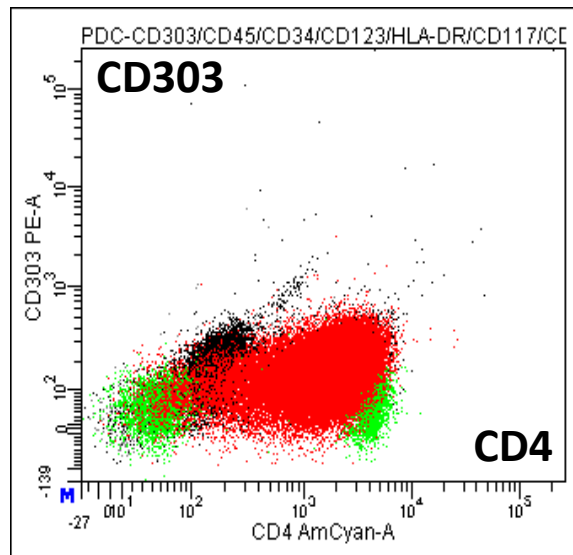


■ опухолевые клетки
■ лимфоциты
■ гранулоциты

CD45+ CD123+HLA-DR+CD4+CD56+cyTCL-1+CD10+CD303-

Проточная цитометрия

Случай 1



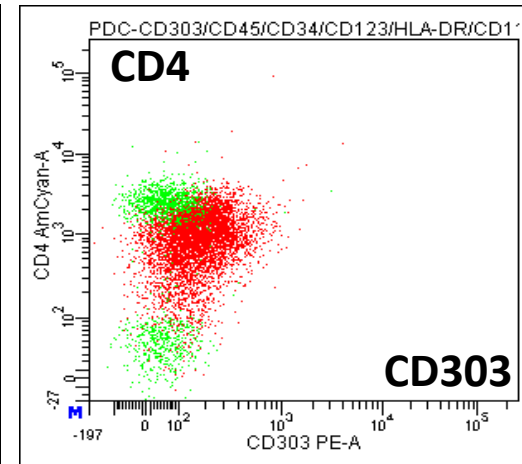
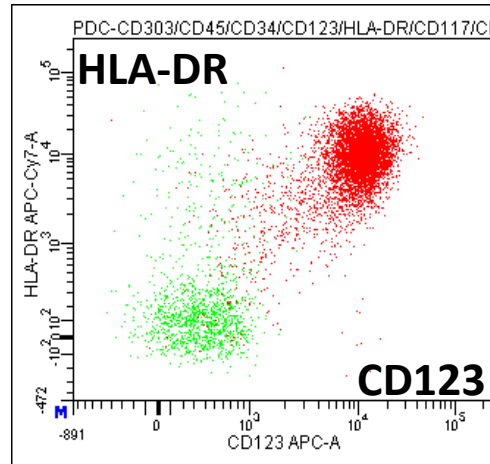
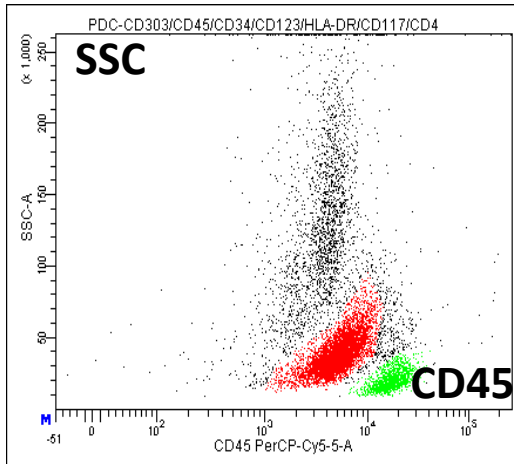
CD45+CD123+HLA-DR+CD4+CD56+cyTCL-1+CD303-

 опухолевые клетки
 лимфоциты
 гранулоциты

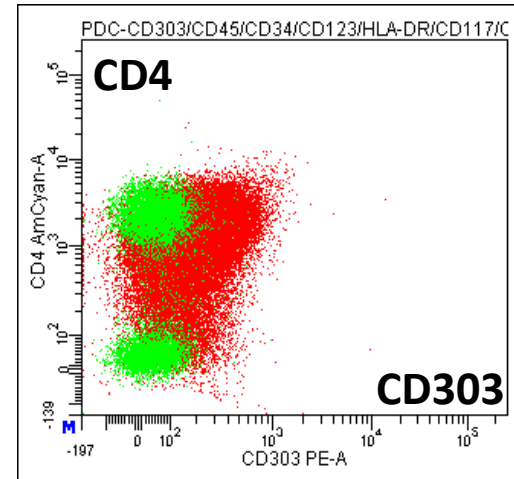
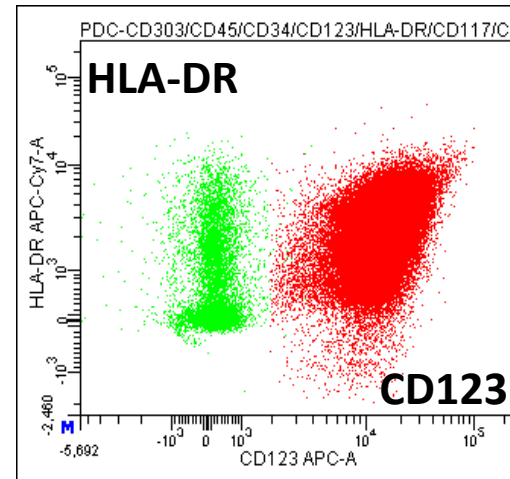
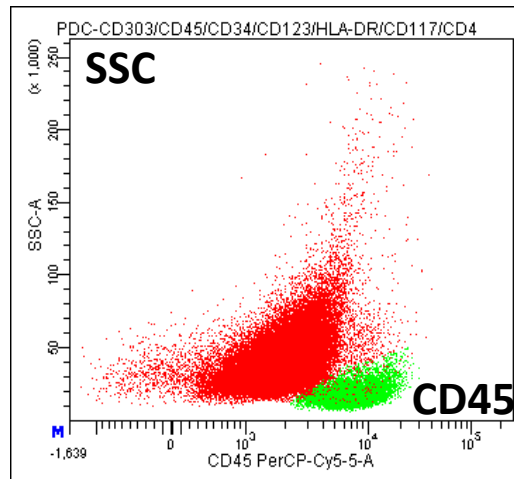
Проточная цитометрия

Случай 1

Кожа



Лимфатический узел



■ опухолевые клетки
■ лимфоциты
■ гранулоциты

CD45+CD123+HLA-DR+CD4+CD56+cyTCL-1+CD303-

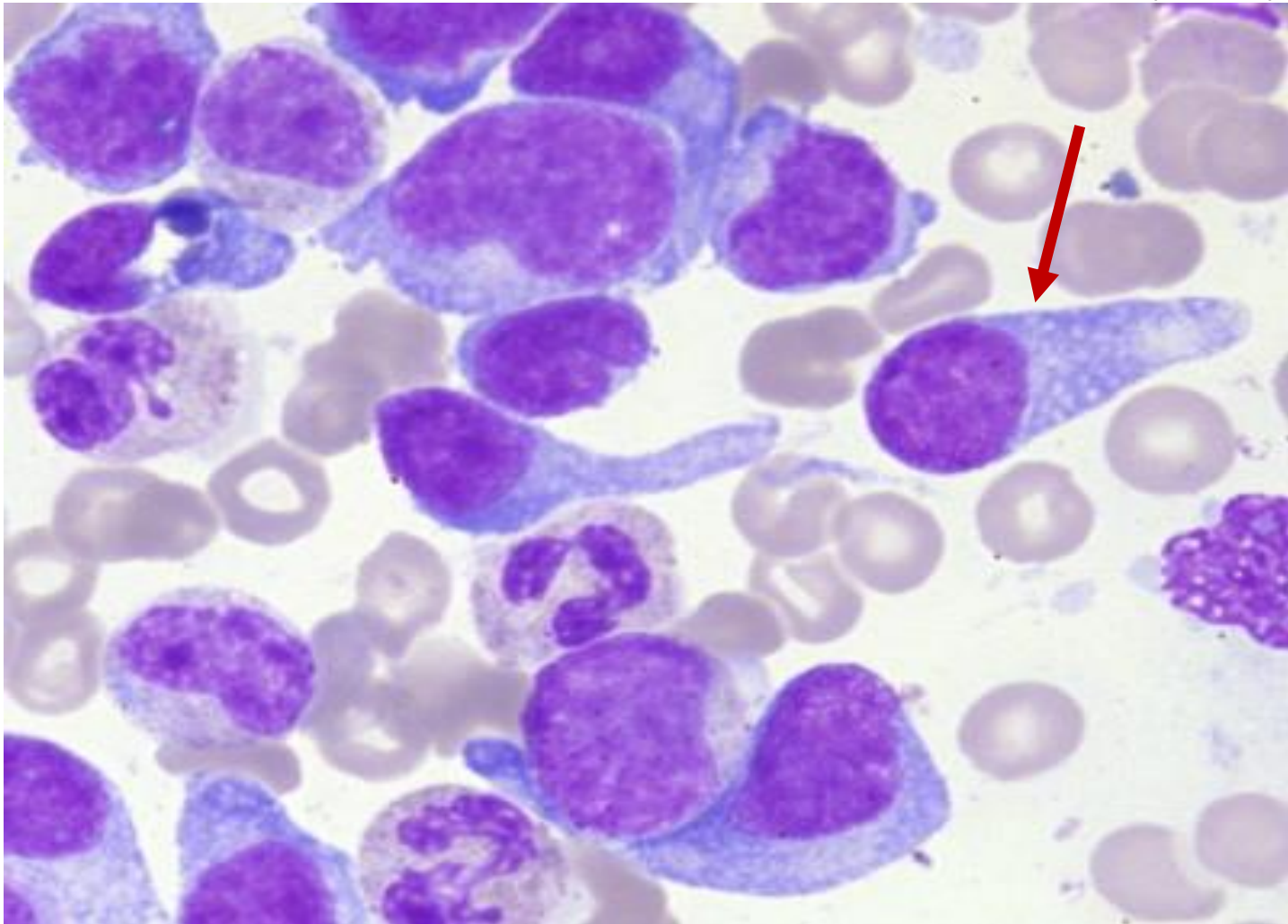
Клинический случай 2

- Женщина, 56 лет
- Клиническая манифестация заболевания с поражения периферических лимфатических узлов. Поражения кожи не наблюдалось
- Анамнез заболевания: жалобы на боли в горле, субфебрильную температуру, увеличение периферических лимфатических узлов. Наблюдалась в клинике по м/ж. В анализе крови Нв-108г/л, Л-6,2тыс, б-3%, э-1%, миел-1%, ю-1%, п-21%, с-18%, л-17%, м-28%, СОЭ-50мм/ч.
В миелограмме бласты 21,4%
- Проводилась терапия преднизолоном
- Обратилась в НМИЦ гематологии для уточнения диагноза

Цитологическое исследование

Случай 2

Костный мозг(х1000)

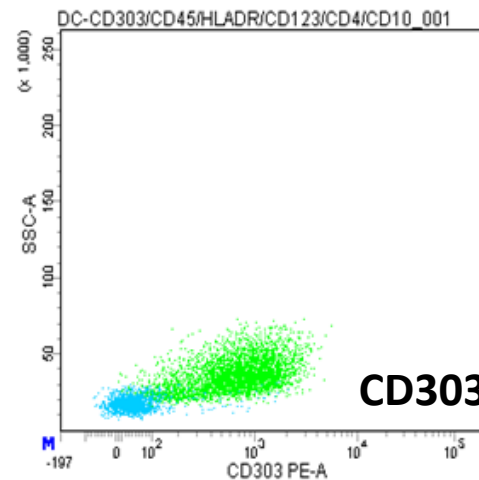
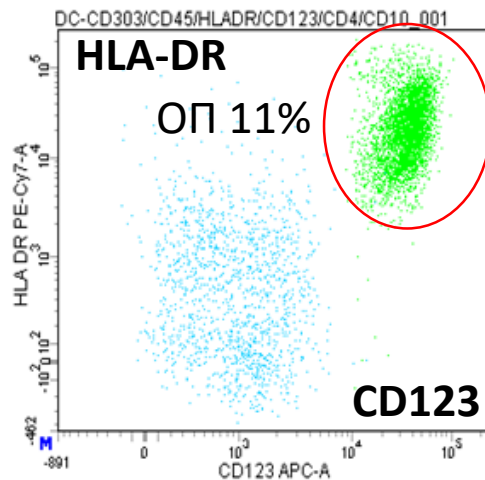
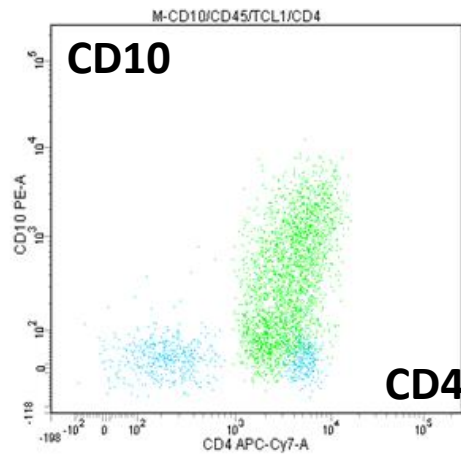
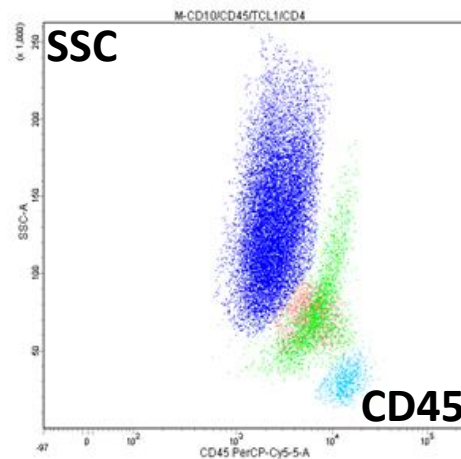


Опухолевые клетки имеют тонкодисперсный хроматин и обильную отросчатую цитоплазму, содержащую микровакуоли

Проточная цитометрия

Случай 2

Костный мозг

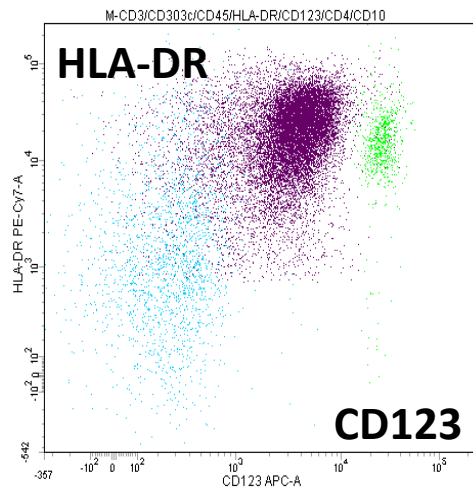
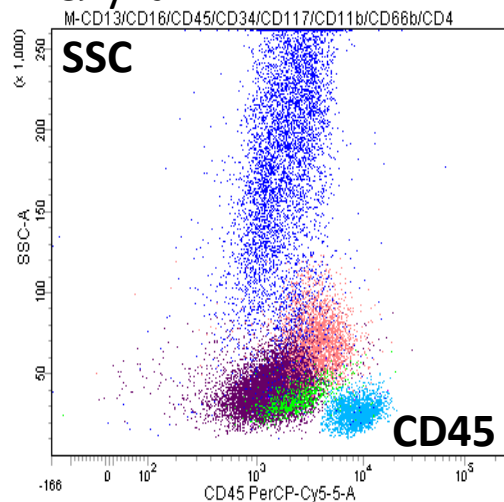


опухолевые клетки
лимфоциты
гранулоциты

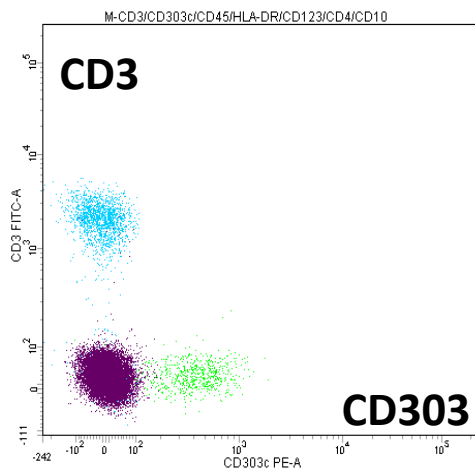
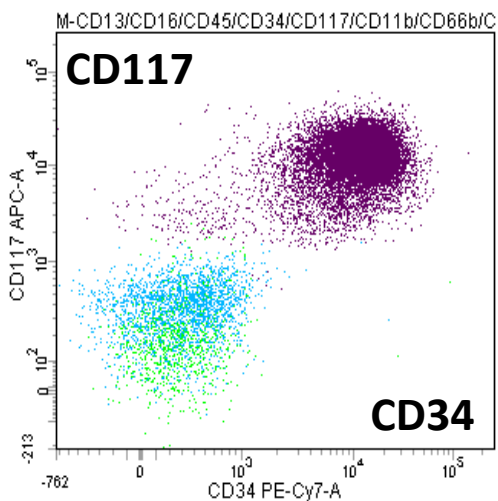
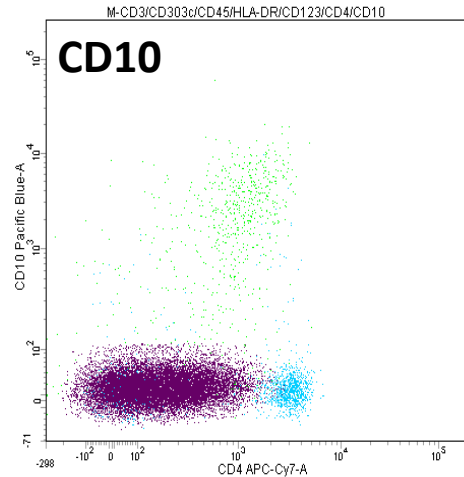
Опухолевые клетки экспрессируют CD4, HLA-DR, CD10;
ПДК-ассоциированные маркеры: CD123 CD303

Проточная цитометрия

Случай 2



Костный мозг

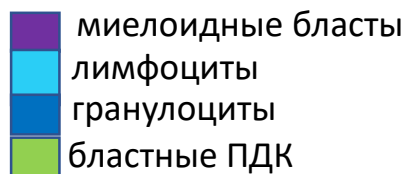


52% миелоидные бластные клетки

CD45+CD34+CD117+CD13+CD15+CD33+CD7+
CD56+CD123+HLA-DR+CD303-

2,4% популяция БПДК

CD4+CD10+CD303+CD123bright+
HLA-DR+



Данные СЦИ: кариотип 46 XX

FISH-исследование: аномалий 5,7 хромосом не выявлено

Мутации в генах FLT3, NPM1, СЕВРА не выявлены ²⁴

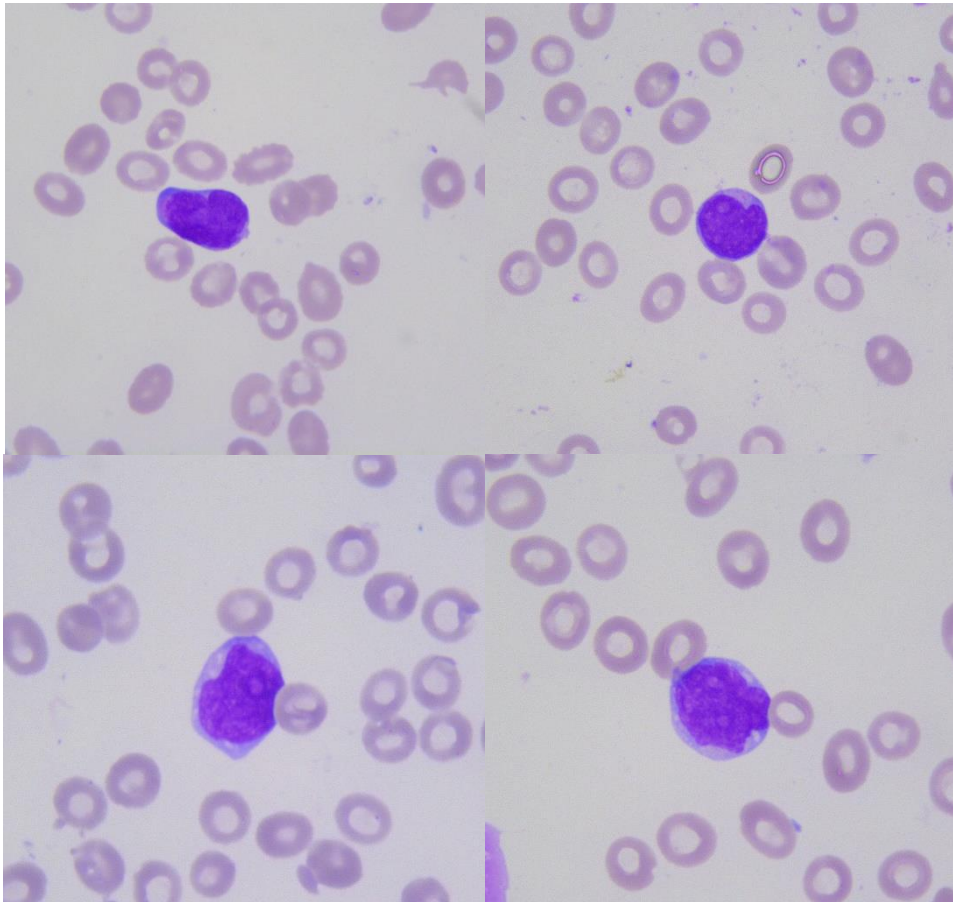
Клинический случай 3

- Женщина, 53 года
- Анамнез: после перенесенного острого тонзиллита появилась слабость, лихорадка
- При рентгенографии ОГК – двусторонняя пневмония
- ОАК – бластемия
- При дополнительном обследовании установлен диагноз острого лейкоза
- Пациентка госпитализирована в НМИЦ гематологии

Клинический случай 3

Костный мозг

Цитологическое исследование



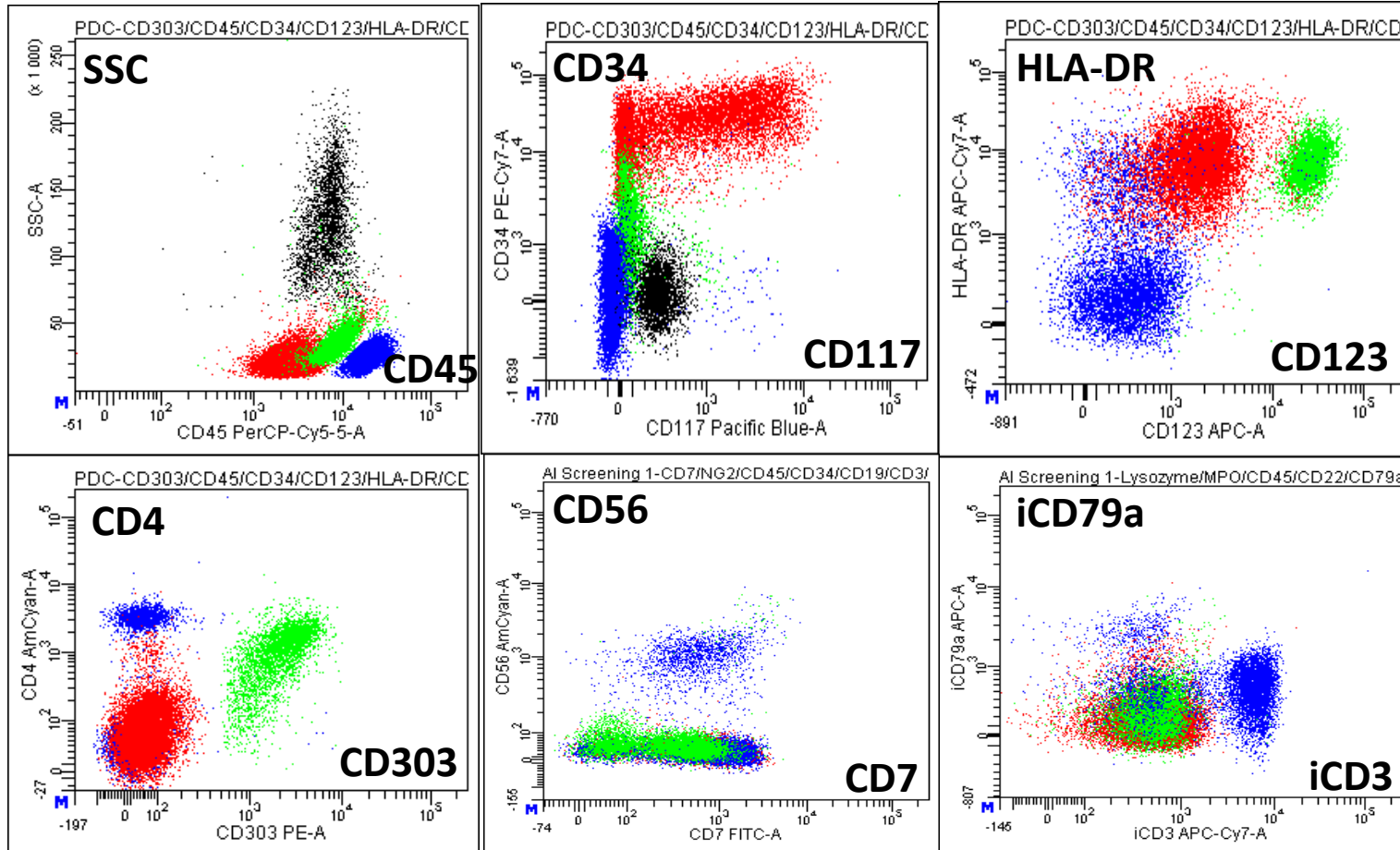
- Цитохимия – недифференцированные бластные клетки
- Цитогенетика: хромосомных аномалий не выявлено

Гипоклеточный костный мозг, бластные клетки

Клинический случай 3

Проточная цитометрия

Костный мозг

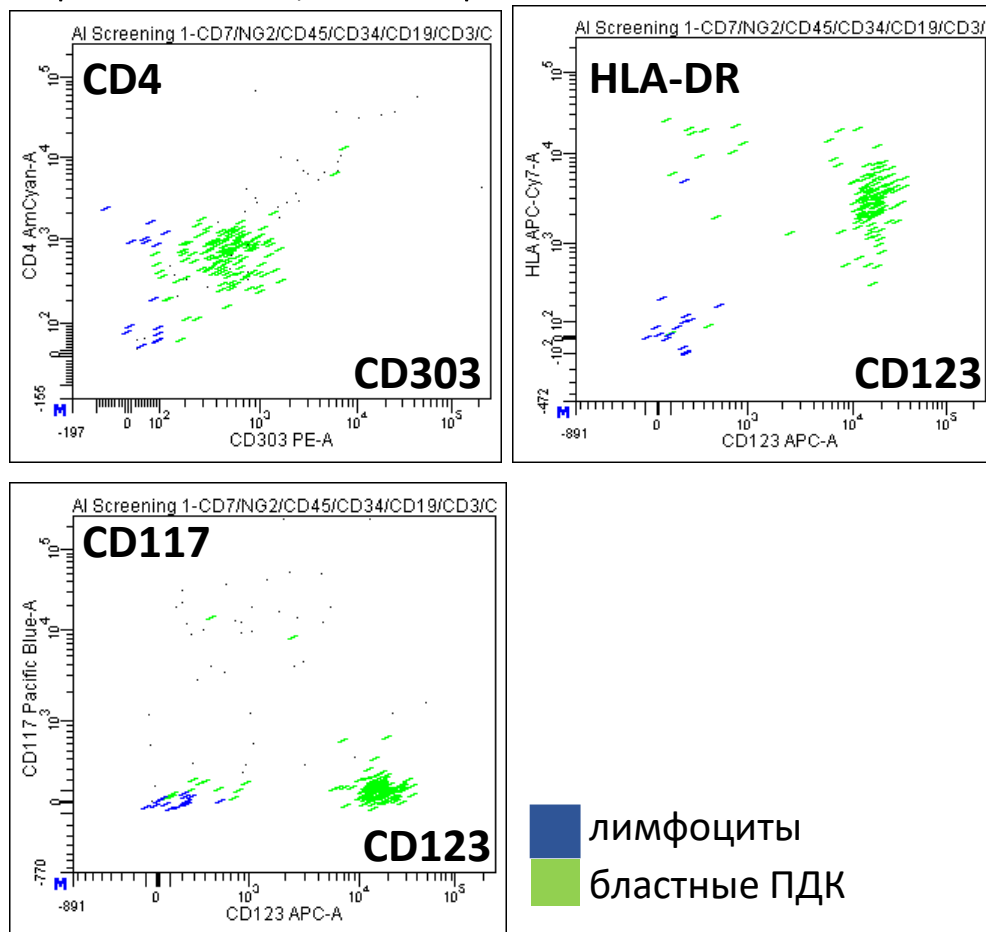


■ миелоидные бласты I (35,0%) CD45+CD34+CD117+HLADR+CD13+CD7+CD123low+
■ лимфоциты
■ гранулоциты
■ бластные ПДК II (19,0%) CD45+CD123(hi)+HLA-DR+CD303+CD4+CD7+

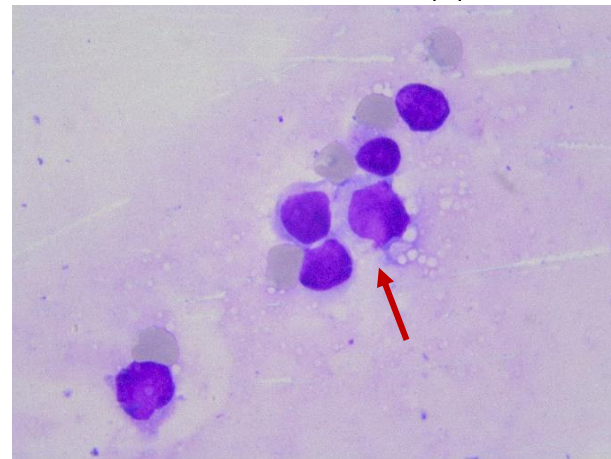
Клинический случай 3

Кожа

Проточная цитометрия



Цитологическое исследование



Бластные клетки

19,5% CD45+CD123+HLA-DR+CD303+CD4+CD7+CD34-CD117-

Заключение

- БПДКН это редкая гематологическая опухоль, в типичных случаях характеризующаяся экспрессией CD4, CD56 и CD123
- При отсутствии экспрессии CD4 и/или CD56 диагноз БПДКО не исключается, если есть экспрессия ПДК-ассоциированных антигенов CD123, TCL-1, CD303, CD304
- Диагностика этого редкого типа гематологической опухоли остается трудной из-за разнообразия клинических проявлений, морфологии, иммунофенотипа
- Иммунофенотипическое исследование методом проточной цитометрии в диагностике БПДКО обладает рядом достоинств, среди которых доступность большой панели антител и возможность оценить интенсивность антигенной экспрессии

Благодарности

Савченко В.Г., академик РАН, профессор, доктор медицинских наук, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Паровичникова Е.Н., врач-гематолог, доктор медицинских наук, руководитель отдела химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и ТКМ ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Троицкая В.В., врач-гематолог, кандидат медицинских наук, заведующий отделением интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Кохно А. В., врач-гематолог, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения интенсивной высокодозной химиотерапии гемобластозов и депрессий кроветворения с круглосуточным и дневным стационарами ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Обухова Т.Н., врач—лабораторный генетик, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией кариологии ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Двирнык В.Н., врач-морфолог высшей квалификационной категории, кандидат медицинских наук, заведующий Централизованной клинико-диагностической лабораторией ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Захарько Е.И., врач клинической лабораторной диагностики, руководитель группы проточной цитометрии Централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Фектистова Е.П., врач клинической лабораторной диагностики Централизованной клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ

Спасибо за внимание!