

Comparison of Systemic EBV-positive T-Cell and NK-Cell Lymphoproliferative Diseases of Childhood Based on Classification Evolution New Classification, Old Problems

Zihang Chen, MD, Mi Wang, MD,† Pujun Guan, PhD,* Sha Zhao, MD, PhD,*
Wenyan Zhang, MD, PhD,* Limin Gao, MD, PhD,* Yuan Tang, PhD,* Li Li, MD,†
and Weiping Liu, MD**

付欣

2020. 9. 14

背景知识：EBV

- 由Epstein和Barr于1964年首次从Burkitt淋巴瘤中分离出来并命名（ Epstein-Barr Virus , EB病毒);
- 属 γ -疱疹病毒亚科，又称人类疱疹病毒（ Human Herpesvirus 4 , HHV4);
- 在人群中感染率很高（ 全球90%以上人口被EBV感染： 血清EBV抗体阳性； ）
- 中国儿童3岁>50%， 8岁>90%被EBV感染；

EBV相关淋巴增殖性疾病:

2017版WHO

2008版WHO

慢性炎症相关的DLBCL

淋巴瘤样肉芽肿

浆母细胞淋巴瘤

原发性渗出性大B细胞淋巴瘤

HHV8相关的LPD

Burkitt淋巴瘤

经典型霍奇金淋巴瘤

侵袭性NK细胞白血病

免疫缺陷相关淋巴增殖性疾病

结外NK/T细胞淋巴瘤，鼻型

老年性EBV+DLBCL

儿童系统性EBV+T细胞LPD

种痘样水疱病样淋巴瘤

慢性炎症相关的DLBCL

淋巴瘤样肉芽肿

浆母细胞淋巴瘤

原发性渗出性大B细胞淋巴瘤

HHV8相关的LPD

Burkitt淋巴瘤

经典型霍奇金淋巴瘤

侵袭性NK细胞白血病

免疫缺陷相关淋巴增殖性疾病

结外NK/T细胞淋巴瘤，鼻型

EBV+DLBCL, NOS

EBV相关皮肤黏膜溃疡

儿童系统性EBV+T/NK细胞LPD

儿童系统性EBV+T细胞淋巴瘤

T/NK细胞型慢性活动性EBV感染 (CAEBV)，系统型

种痘样LPD

严重蚊虫叮咬过敏

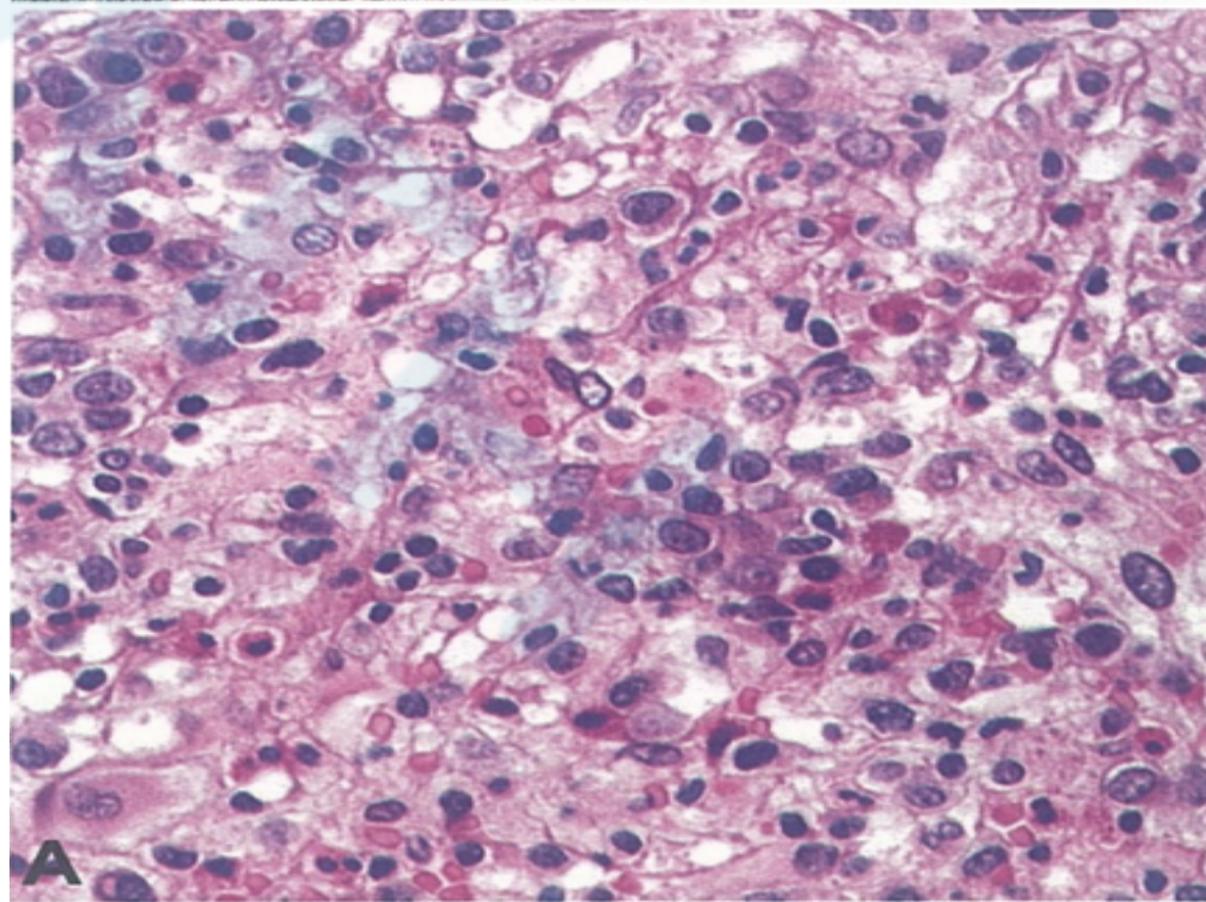
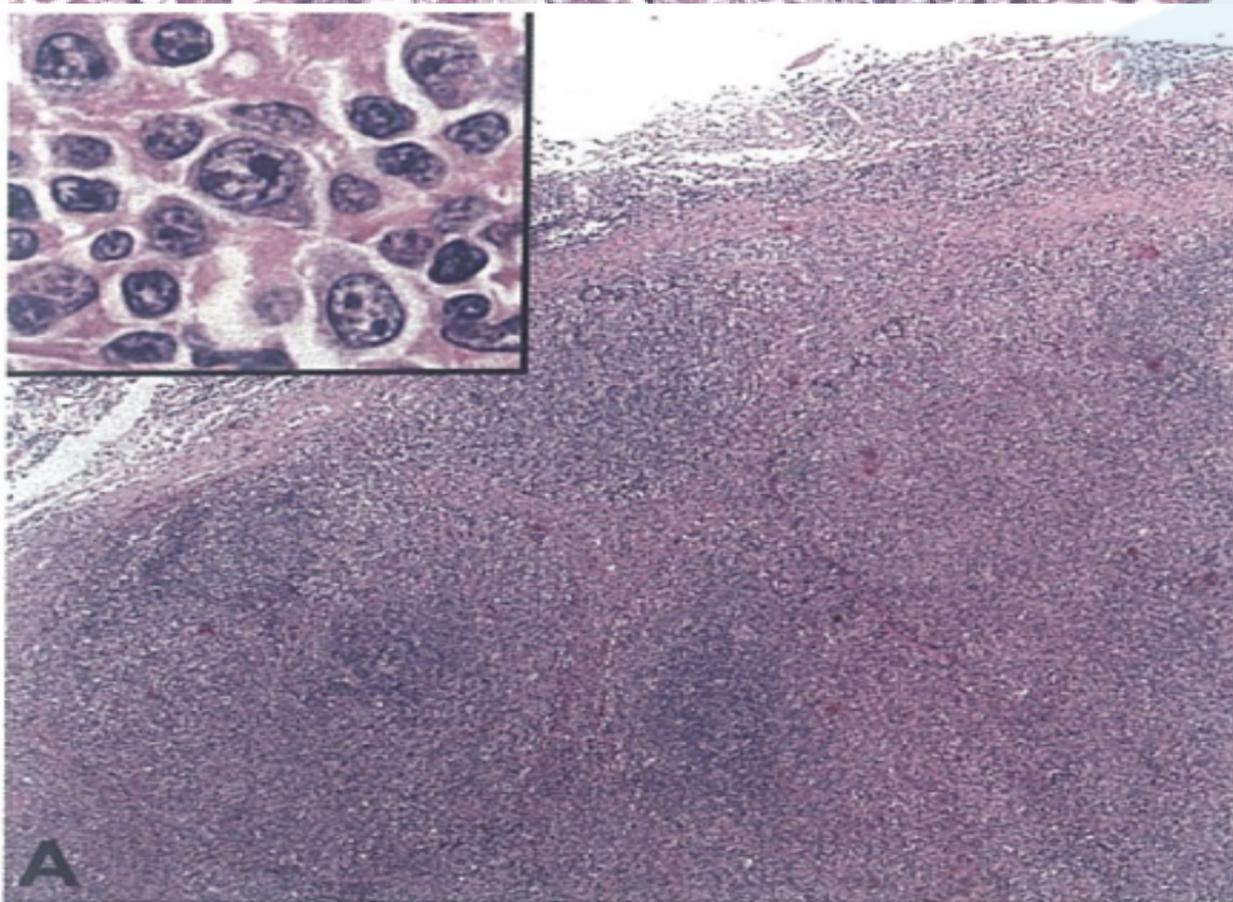
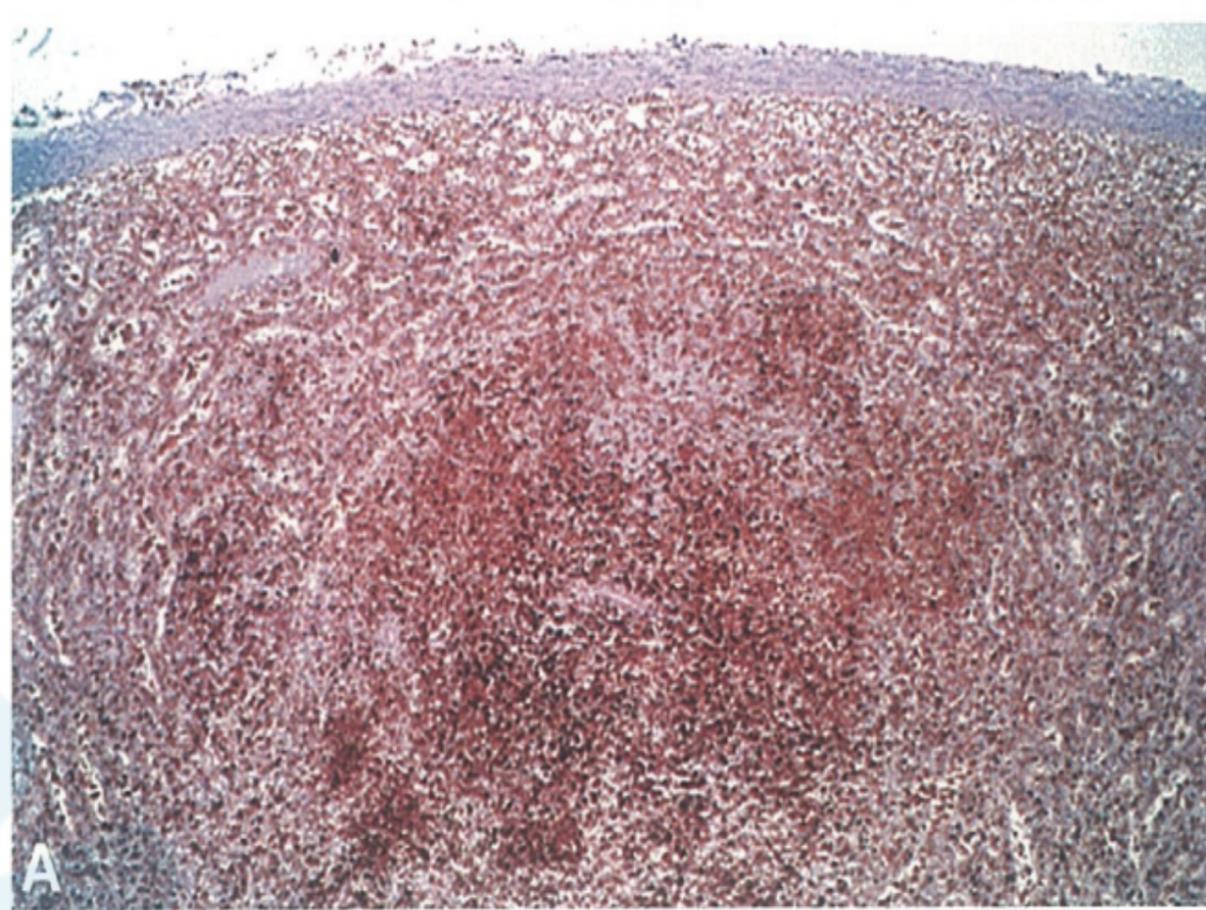
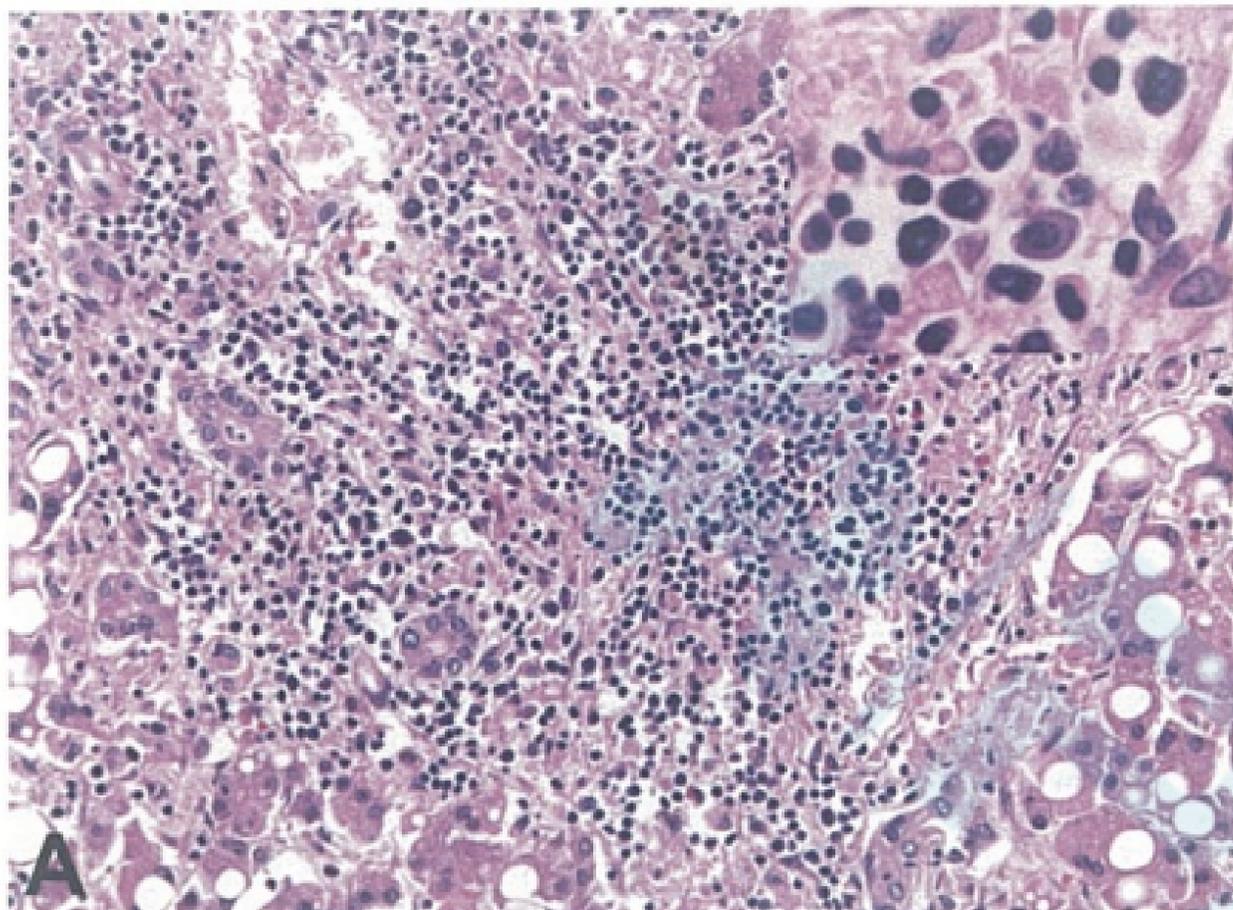
儿童系统性EBV+T/NK细胞淋巴增殖性疾病 (EBV+T/NK-LPDs-C)

- 包括一组疾病，主要分为2大类：
 - 急性/暴发性：儿童系统性EBV+T细胞淋巴瘤（STLC）
 - 慢性，活动性：
 - 系统型CAEBV：T/NK细胞型慢性活动性EBV感染，系统型
(CAEBV-T/NK，系统型)
 - 局限型CAEBV：种痘样LPD
(皮肤) 严重蚊虫叮咬过敏

儿童系统性EBV+T细胞淋巴瘤(STLC)

- 好发于亚洲和南美洲；多为儿童或青年人，男性多发；
- **最常累及的部位**：肝脏、脾脏，其次为淋巴结、皮肤、骨髓、肺、胃肠道等；
- **症状**：临床表现以发热最常见，其次为肝功能异常、肝脾肿大、血细胞减少、贫血、淋巴结肿大等；
- **并发症**：嗜血细胞综合征（HLH）、DIC、多器官功能衰竭等

- **形态学**：通常表现为散在或局灶性轻度非典型的小-中等大小淋巴细胞浸润；也有学者报道部分病例为中等-大的多形性淋巴细胞浸润，细胞核不规则，核分裂象易见。
 - 肝脏：窦内、肝汇管区及中央静脉内小淋巴细胞浸润，伴胆汁淤积、脂肪变性和坏死；
 - 脾脏：白髓消失，窦内多量小淋巴细胞浸润，伴多少不等的组织细胞增生及吞噬红细胞现象；
 - 淋巴结：淋巴结结构破坏，B细胞区消失，副皮质区扩大、淋巴窦扩张，小-中等大小淋巴细胞到大的非典型淋巴细胞浸润，细胞核深染和不规则，伴窦组织细胞增生症及噬红细胞现象；
 - 骨髓：常见小淋巴细胞浸润，伴组织细胞增生及显著的噬红细胞现象。



- **免疫表型**：主要为CD8+细胞毒性T细胞，或激活的CD4+T细胞；
- **EBV检测**：外周血中EBV-DNA拷贝数升高；组织中EBER+，且TCR基因重排
- **预后**：迅速进展至死亡

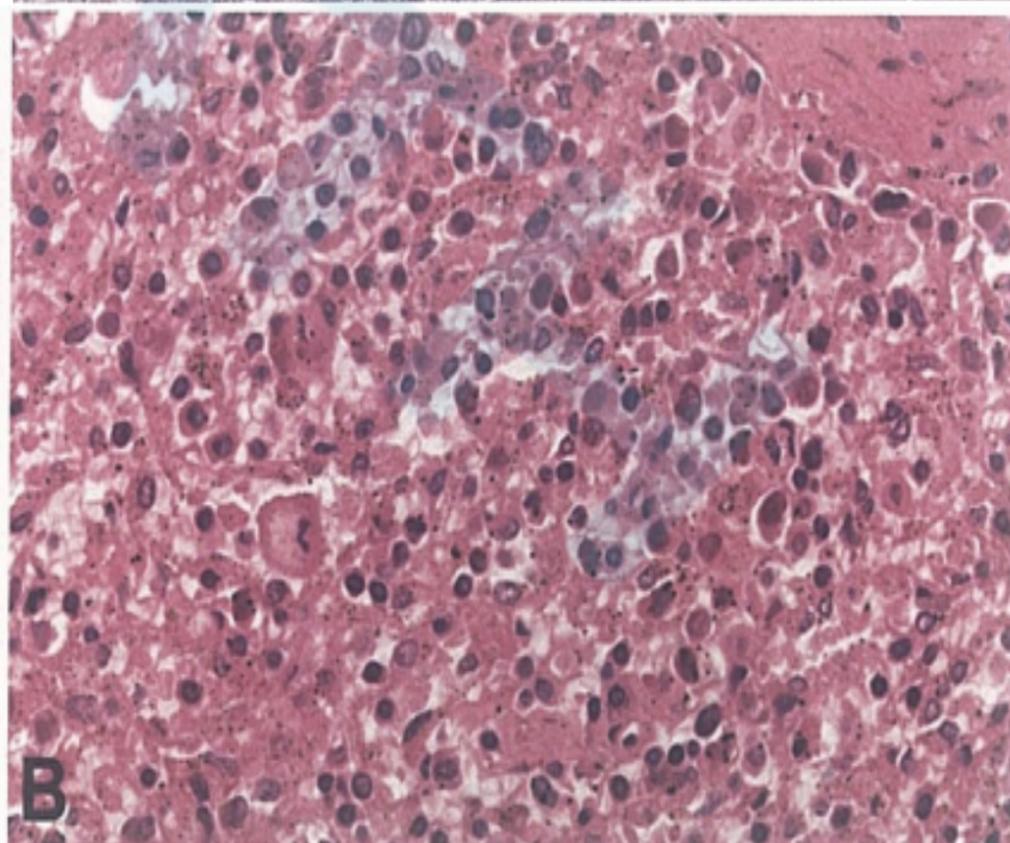
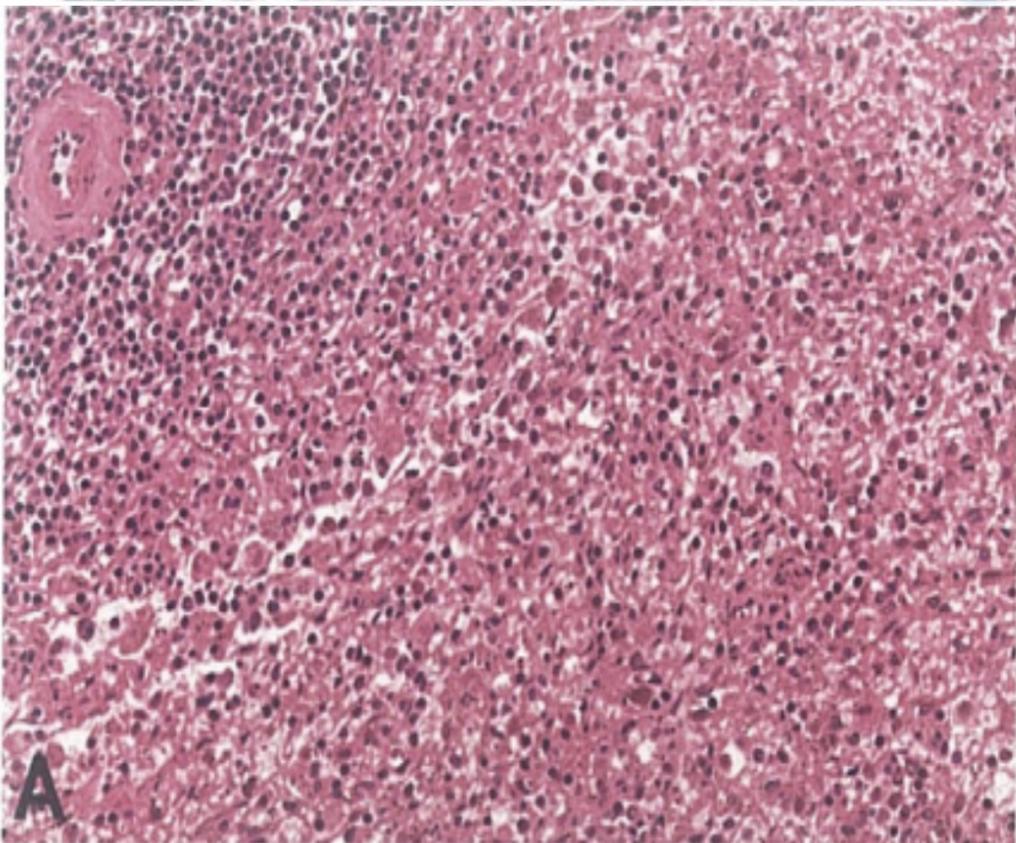
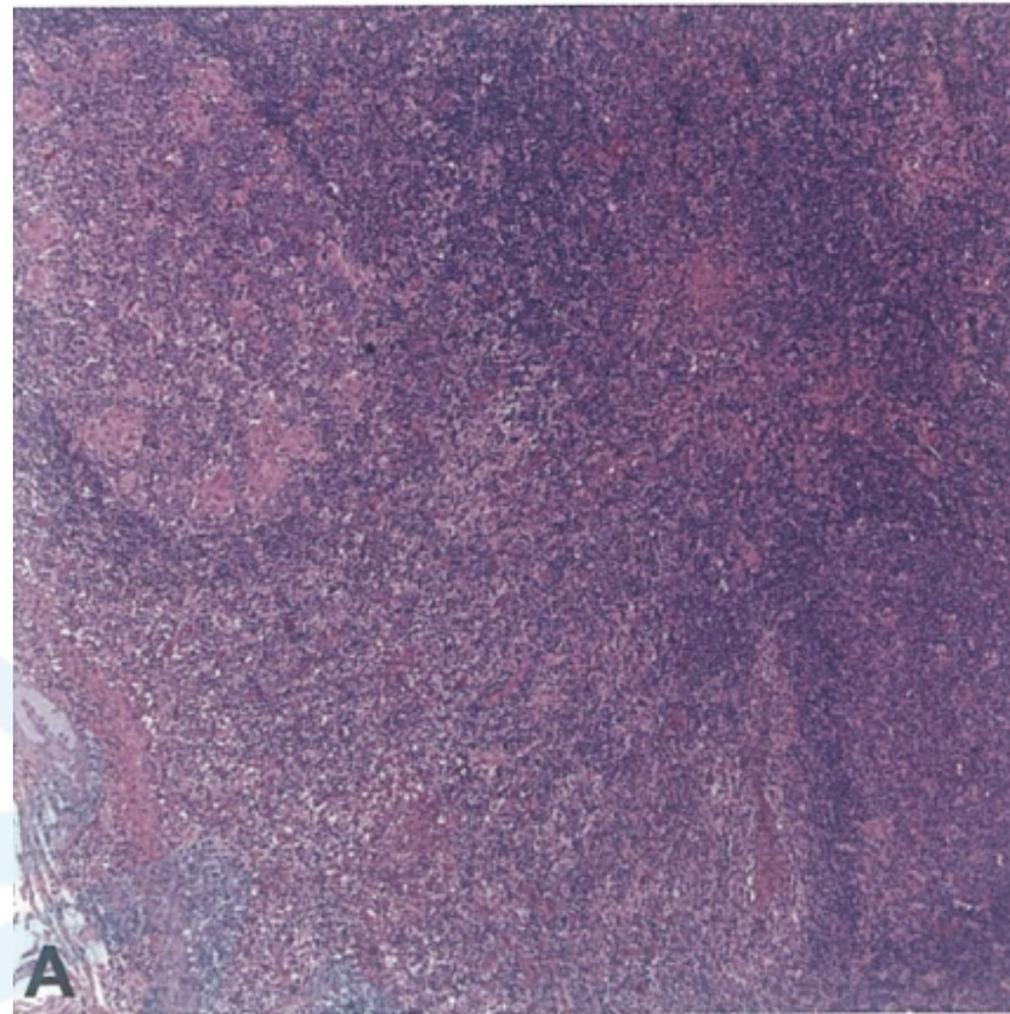
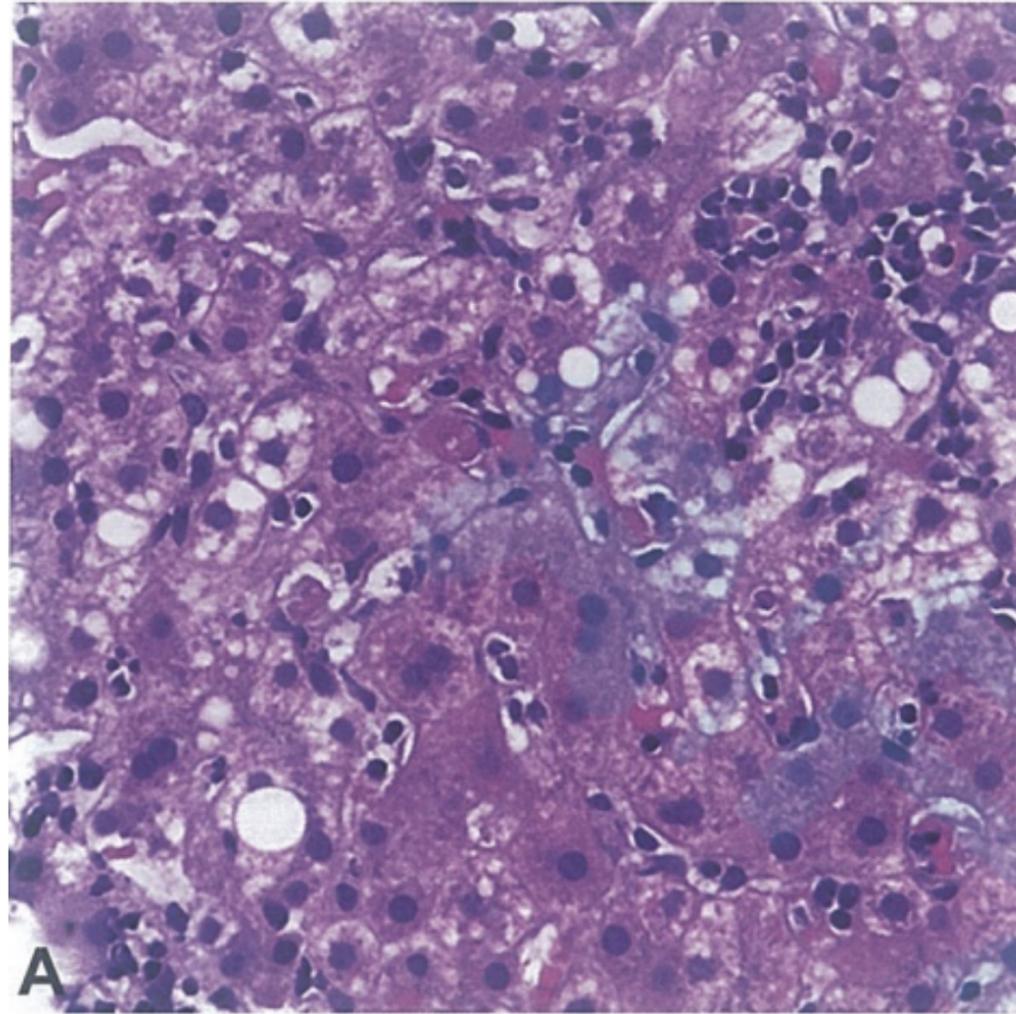
T/NK细胞型慢性活动性EBV感染，系统型（CAEBV-T/NK，系统型）

诊断要点：

- 主要发生于亚洲儿童和青少年，成人罕见；
- 病程常 > 3个月
- 常累及肝、脾、淋巴结、骨髓、皮肤等
- 约半数病例表现为传单症状：肝脾、淋巴结肿大，伴有皮肤病变（皮疹、HV样疹、严重蚊虫叮咬过敏），全血细胞减少；
- 所有患者外周血中EBV DNA负载水平升高（ $> 10^{2.5}$ copies/mg）

组织学形态：淋巴细胞浸润，但无特异性；

- 肝：门脉区和窦内浸润，提示病毒性肝炎；
- 脾：白髓萎缩，红髓充血；
- 淋巴结：基本结构保存，滤泡及副皮质区增生；
- 骨髓：无特异性发现，有嗜血细胞综合征着可见组织细胞增生并吞噬红细胞



• 免疫表型：

- 59%为T细胞型，其中多数为CD4+；
- 41%为NK细胞型；
- 4%为T和NK细胞型；
- B细胞罕见；

• EBER+

• TCR基因检测：单克隆 > 寡克隆/多克隆性

分级系统：

2008年，Ohshima等人基于病理和分子学的研究将EBV+T/NK-LPDs-C分为4类：

- (i) A1类，多形性淋巴组织增殖，EBV感染的细胞呈多克隆性增殖；
- (ii) A2类，多形性淋巴组织增殖，EBV感染的细胞呈单克隆性增殖；
- (iii) A3类，单形性淋巴组织增殖，EBV感染的细胞呈单克隆性增殖；
- (iv) B类，单形性淋巴组织增殖，EBV感染的细胞呈单克隆性增殖，伴爆发性临床过程。

A1-A3可视为一连续谱系，从淋巴组织增生性疾病（A1-A2）到明显的淋巴瘤，B则等同于儿童性系统性EBV+T细胞淋巴瘤。

2017版WHO

T/NK细胞型慢性活动性EBV感染
(CAEBV)，系统型

儿童系统性EBV+T细胞淋巴瘤

种痘样LPD

严重蚊虫叮咬过敏

研究目的：

Ohshima分类



2017版WHO
分类

回顾性分析在华西医院确诊为EBV+T/NK-LPDs-C并长期接受治疗的患者，总结其临床病理特征，并比较其在两个分类系统中的差异。

材料与amp;方法：

- 病例选择：

- 收集2009年1月-2012年12月华西医院诊断为EBV+T细胞LPD病例，36例；
- 由三位血液病理专家根据WHO诊断标准给出一致性意见，以下情况被排除在外：
 - 伴其他实体肿瘤或造血肿瘤；
 - 原发性或获得性免疫缺陷；
 - 由皮肤CAEBV发展而来（种痘样淋巴增殖性疾病或严重蚊虫叮咬过敏）

- 免疫组化染色：

- CD3, CD5, CD8, CD20, CD56, 粒酶 B, TIA-1和Ki-67
- CD2, CD4, CD30和 β F1

- TCR基因重排

- EBV检测

结果：

TABLE 1. Clinical Characteristics of Systemic EBV+T/NK-LPDs-C (N=36)

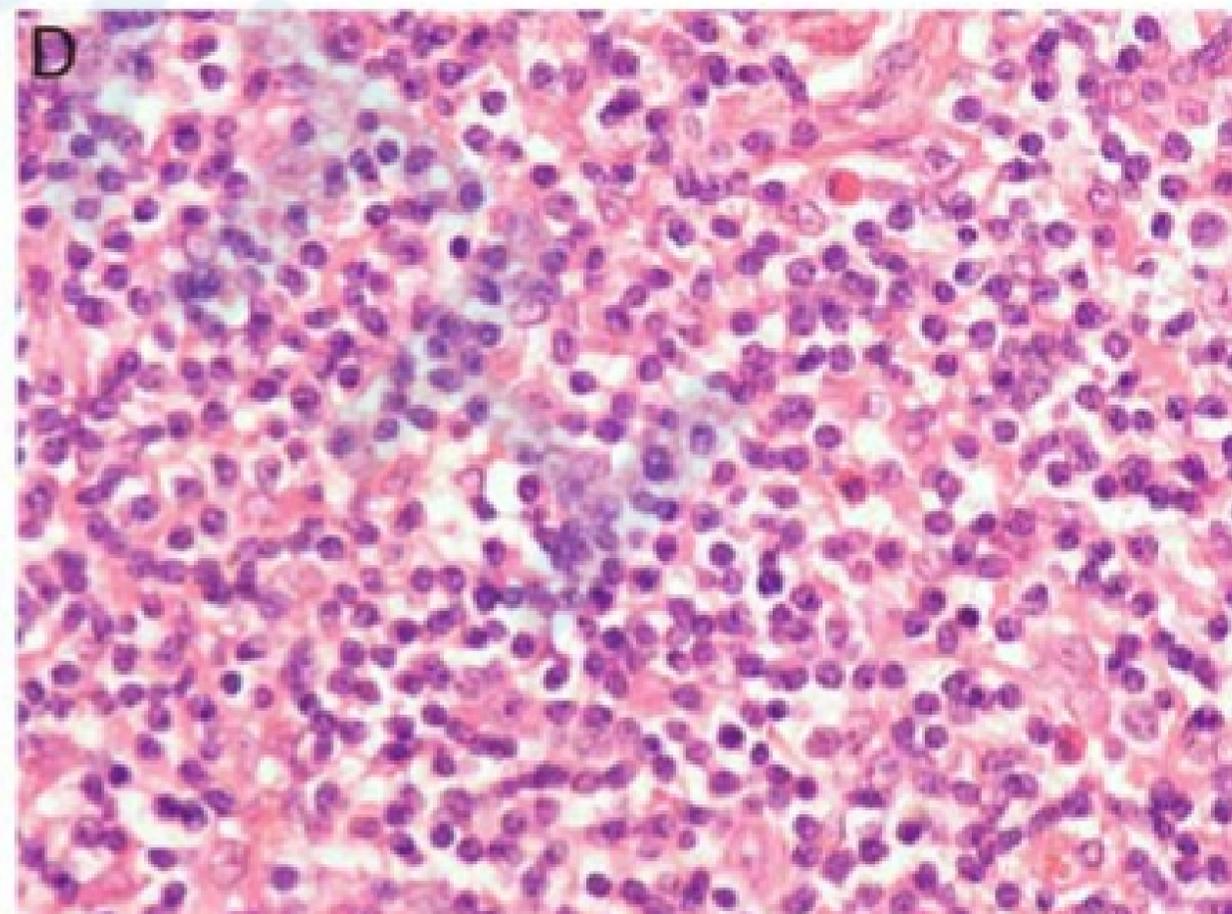
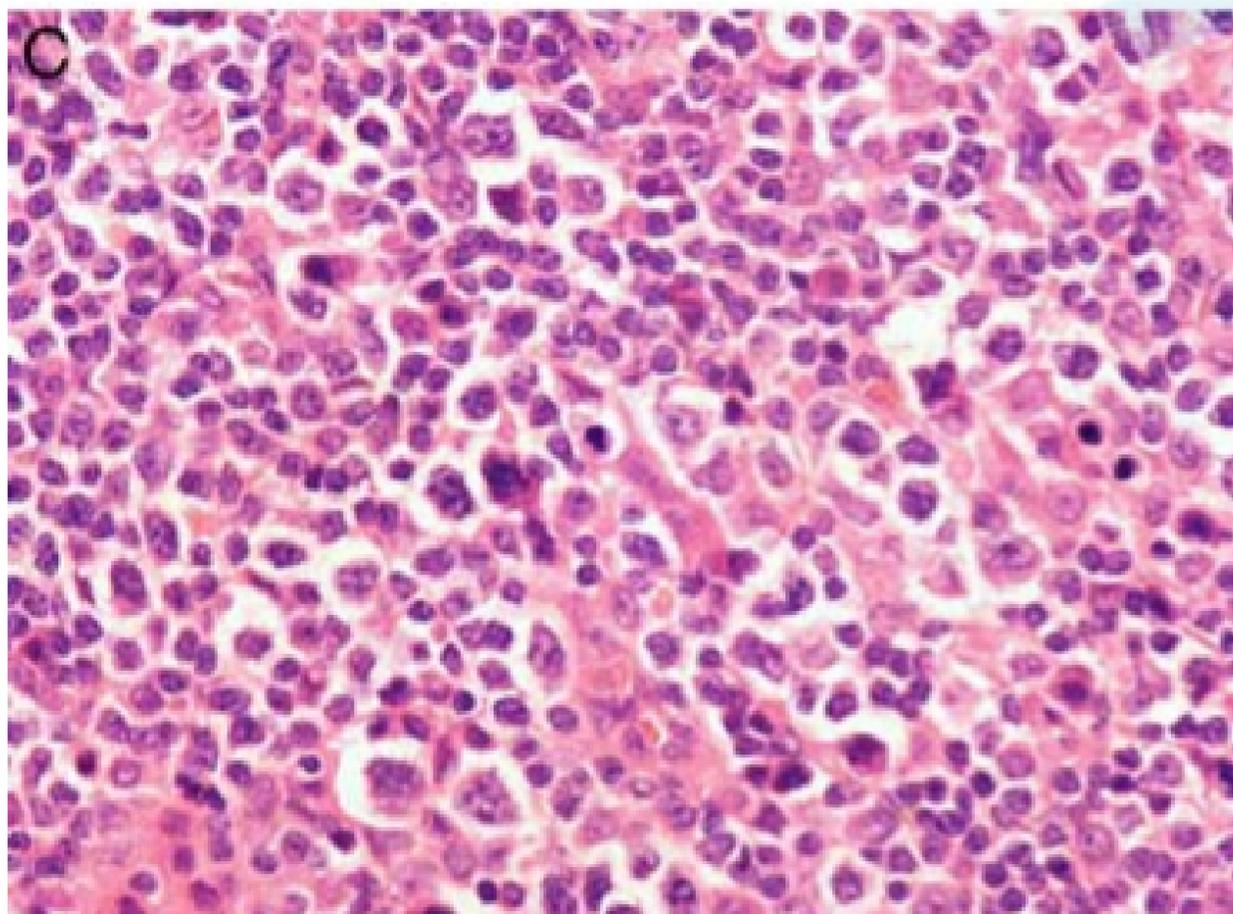
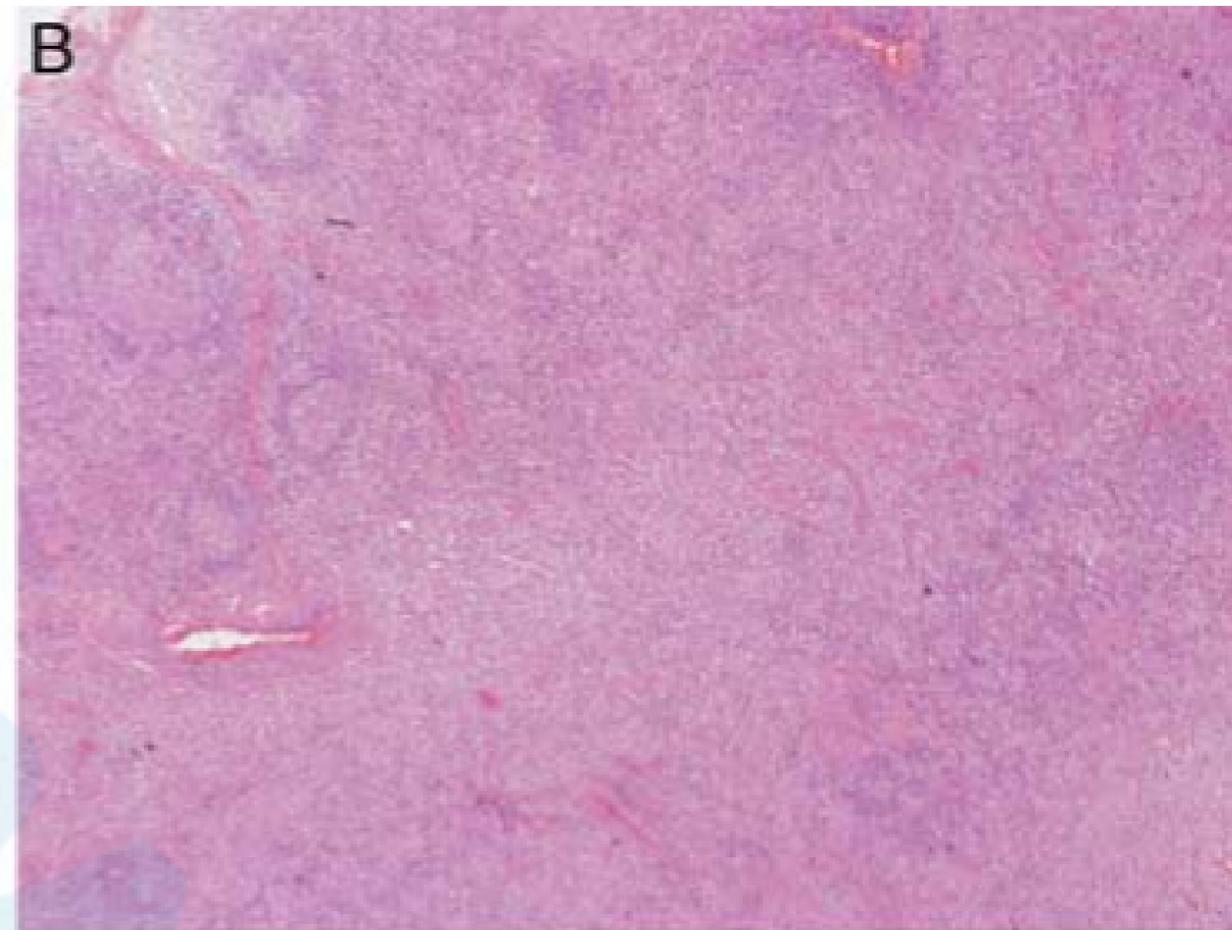
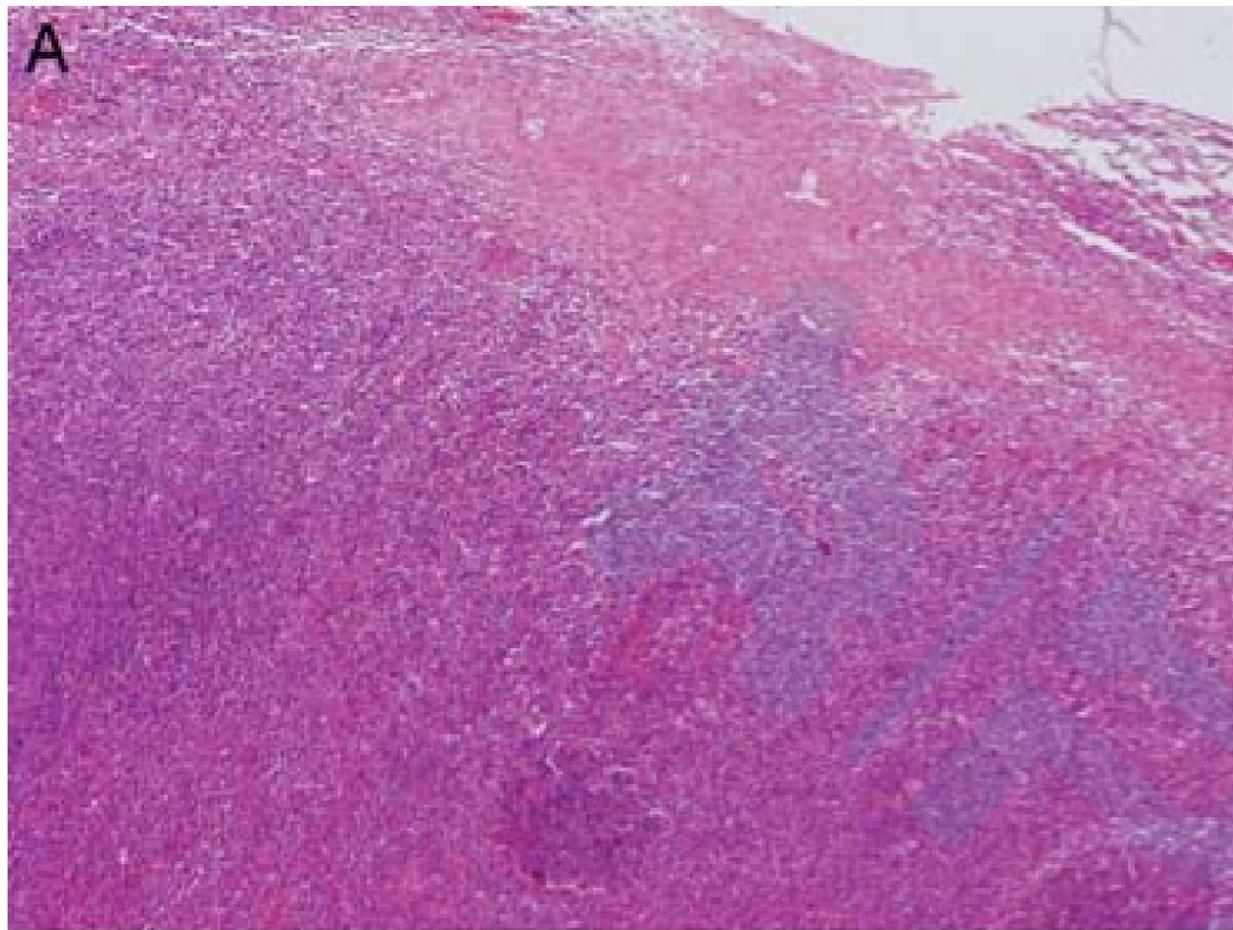
Clinical Features	n/N (%)
Age (y)	
Median (range)	19 (1-46)
< 18	15/36 (42)
≥ 18	21/36 (58)
Sex	
Male	25/36 (69)
Female	11/36 (30)
Course of disease (mo)	
Median (range)	3 (0.3-84)
≤ 1	7/36 (19)
> 1	29/36 (81)
Manifestation	
Fever	33/35 (94)
Lymphadenopathy	35/36 (97)
Splenomegaly	27/31 (87)
Hepatomegaly	18/31 (58)
Laboratory findings	
Anemia	19/33 (58)
Leukopenia	22/33 (67)
Elevated LDH	20/25 (80)
Liver dysfunction	18/29 (62)
EBV antibody (+)	13/15 (87)
EBV-DNA load ≥ 10 ^{2.5} copies/mL	18/20 (90)
BM involvement	6/23 (26)
HLH	14/32 (44)
Treatment	
Interferon-γ	6/33 (18)
Chemotherapy	14/33 (42)
Steroid	14/33 (42)
Antivirus therapy	4/33 (12)
Other therapies	12/33 (36)

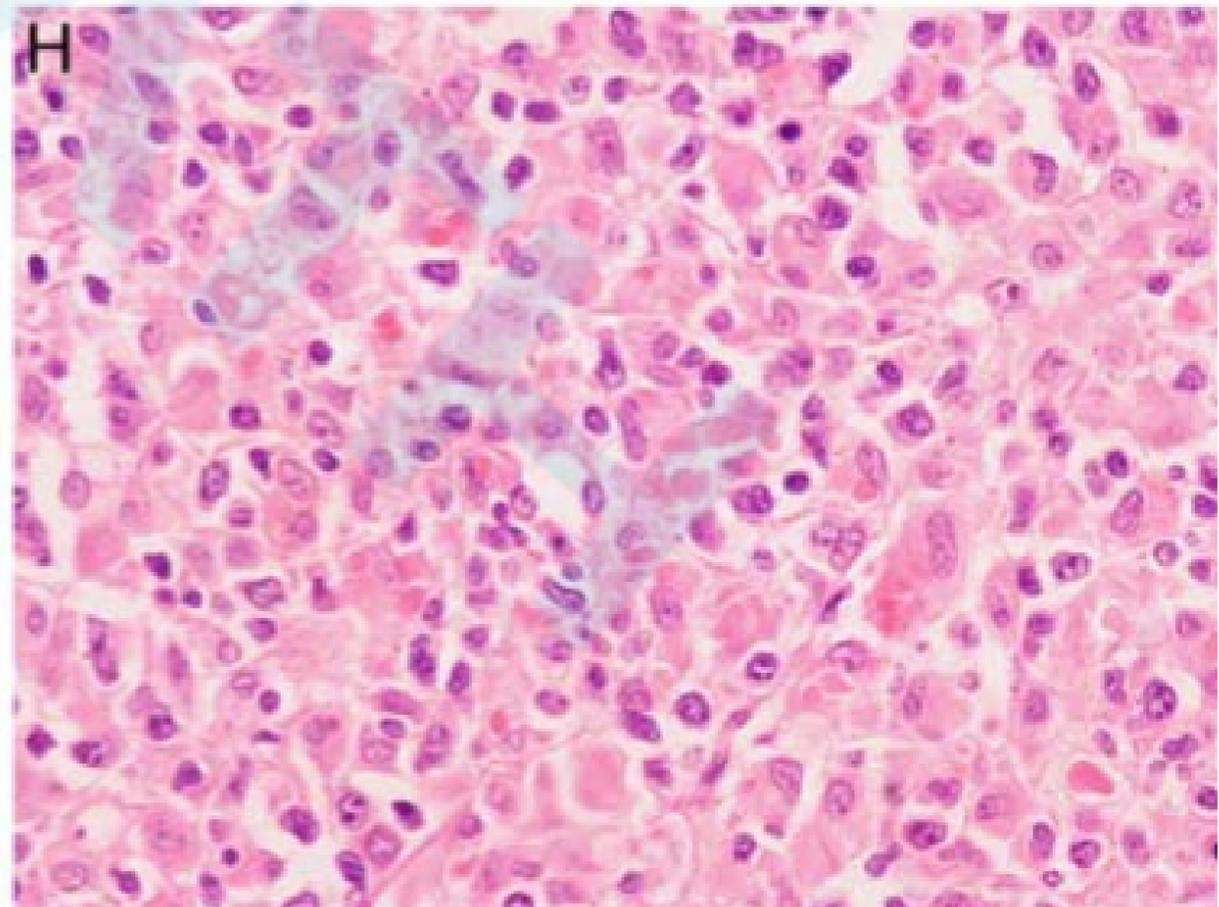
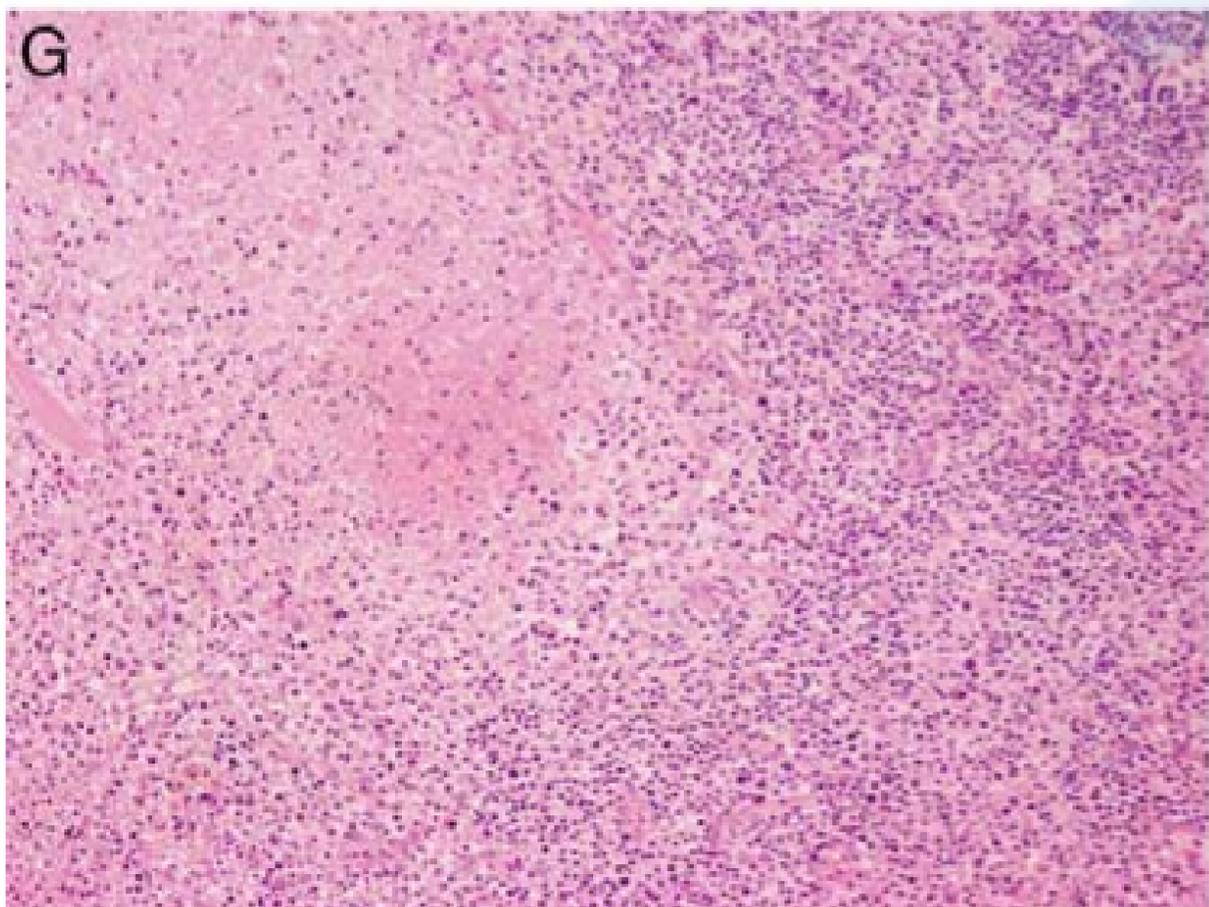
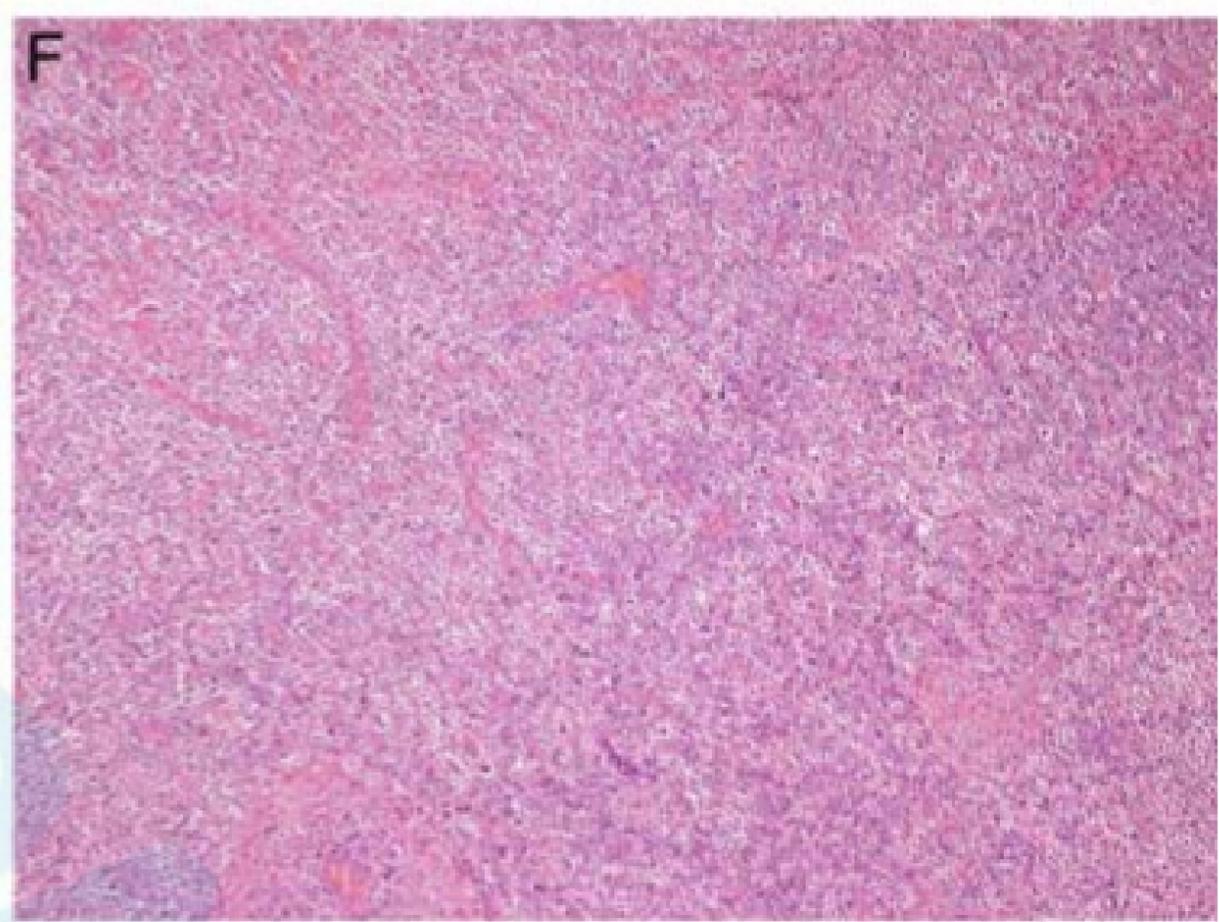
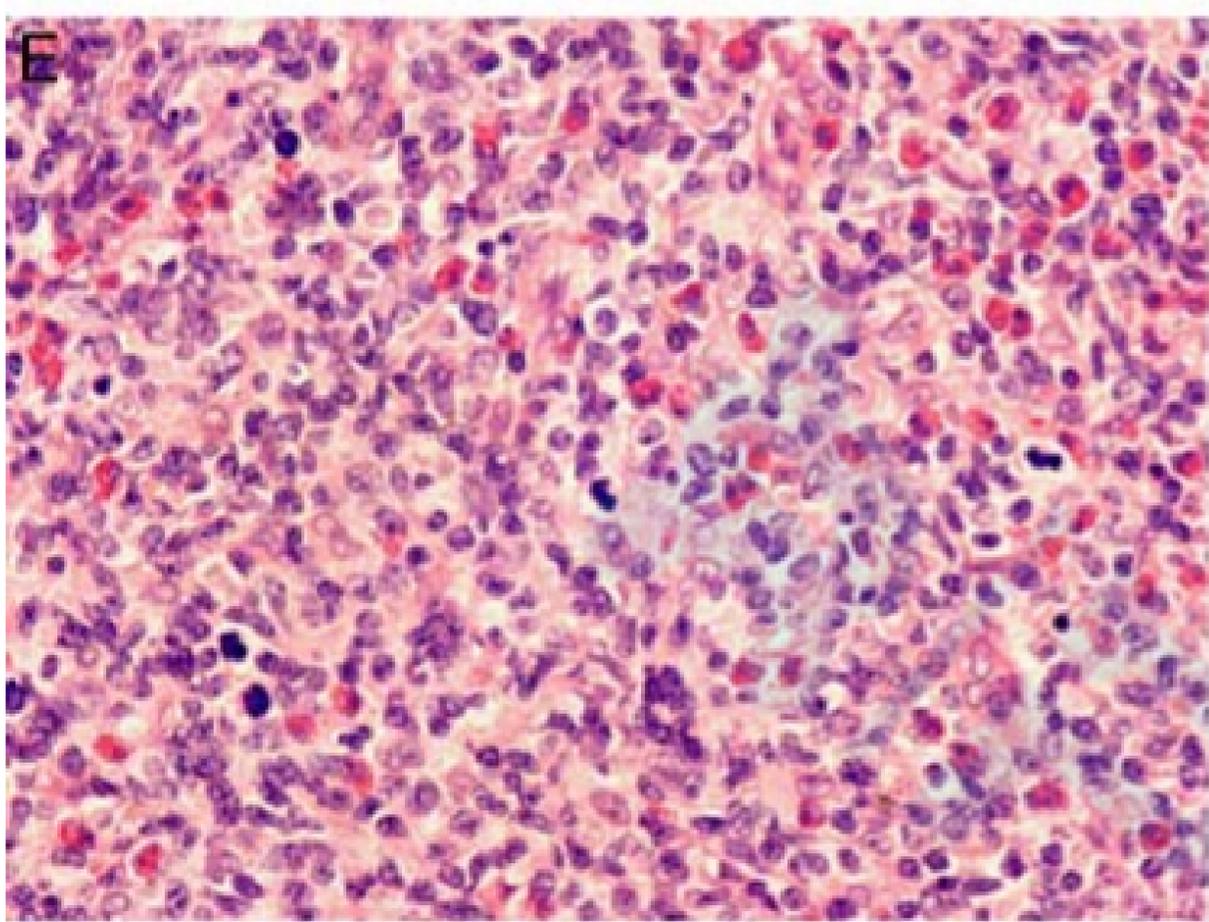
BM indicates bone marrow; other therapies: including symptomatic treatment and traditional Chinese medicine.

结果 :

TABLE 2. Morphology of Systemic EBV+T/NK-LPDs-C (Lymph Node, N= 35)

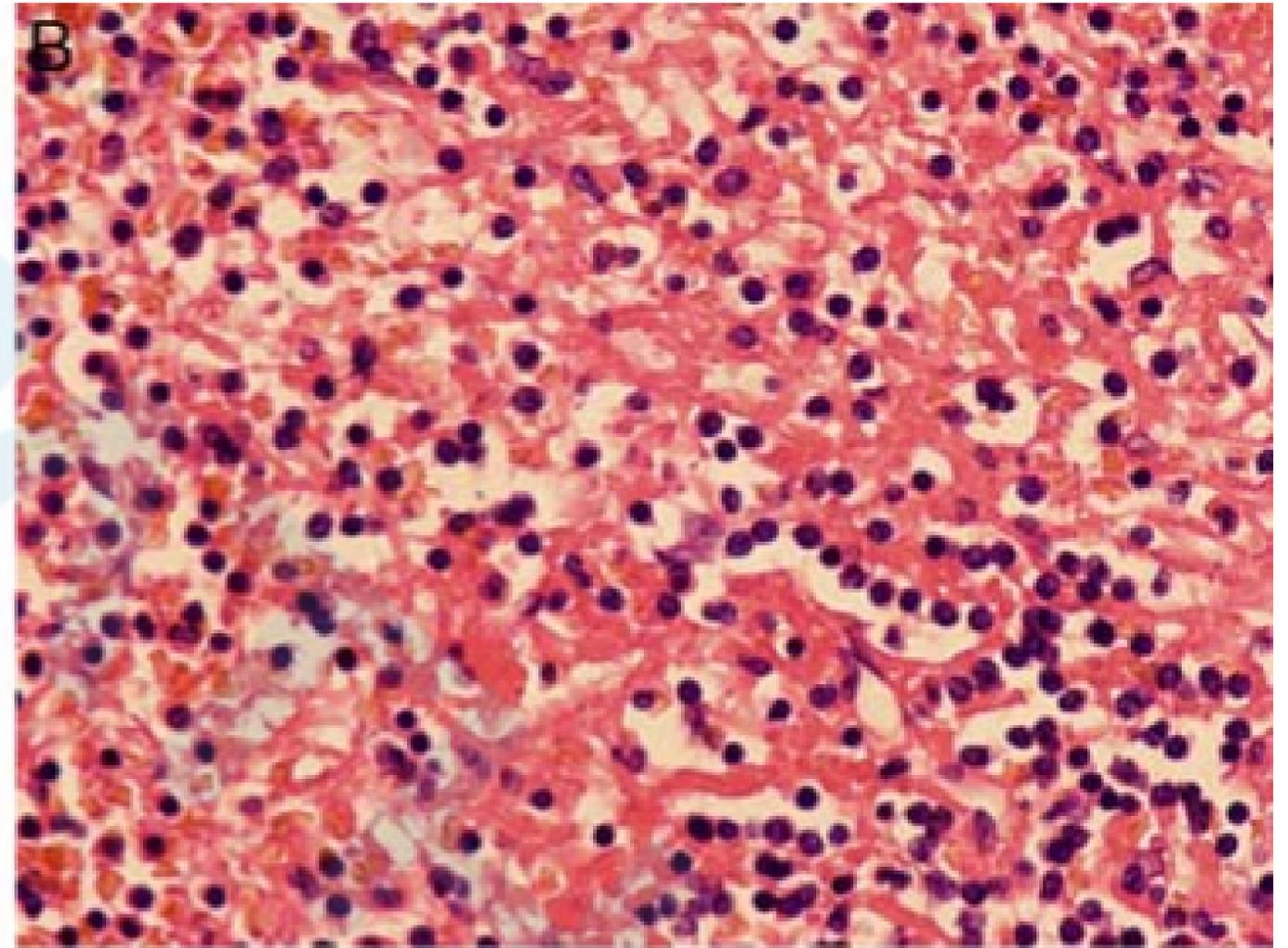
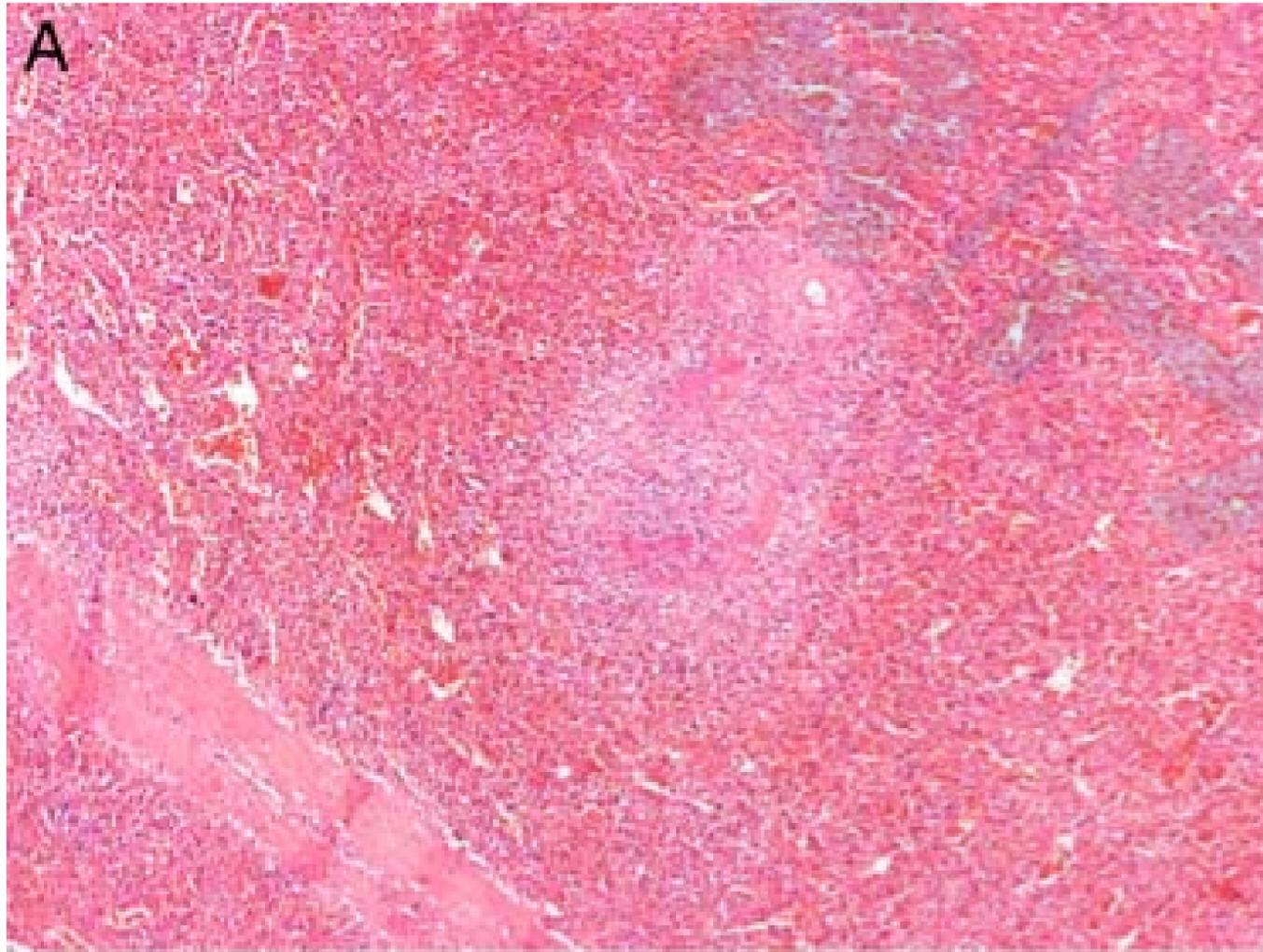
Items	n (%)
Obliterated architecture	12 (34)
Capsular infiltration	15 (43)
Interfollicular hyperplasia	29 (83)
Cell size	
Small	1 (3)
Medium	22 (63)
Large	12 (34)
Nucleus	
Regular	1 (3)
Irregular	34 (97)
Mitotic figures (/HPF)	
0-2	24 (69)
≥ 3	11 (31)
Vascular proliferation	16 (46)
Vascular infiltration	3 (9)
Necrosis	16 (46)
Apoptotic bodies	28 (80)
Other cells	
Plasma cell	16 (46)
Histiocyte	28 (80)
Eosinophil	8 (23)
Erythrophagocytosis	7 (20)
Morphologic pattern	
Polymorphic	31 (89)
Monomorphic	4 (11)





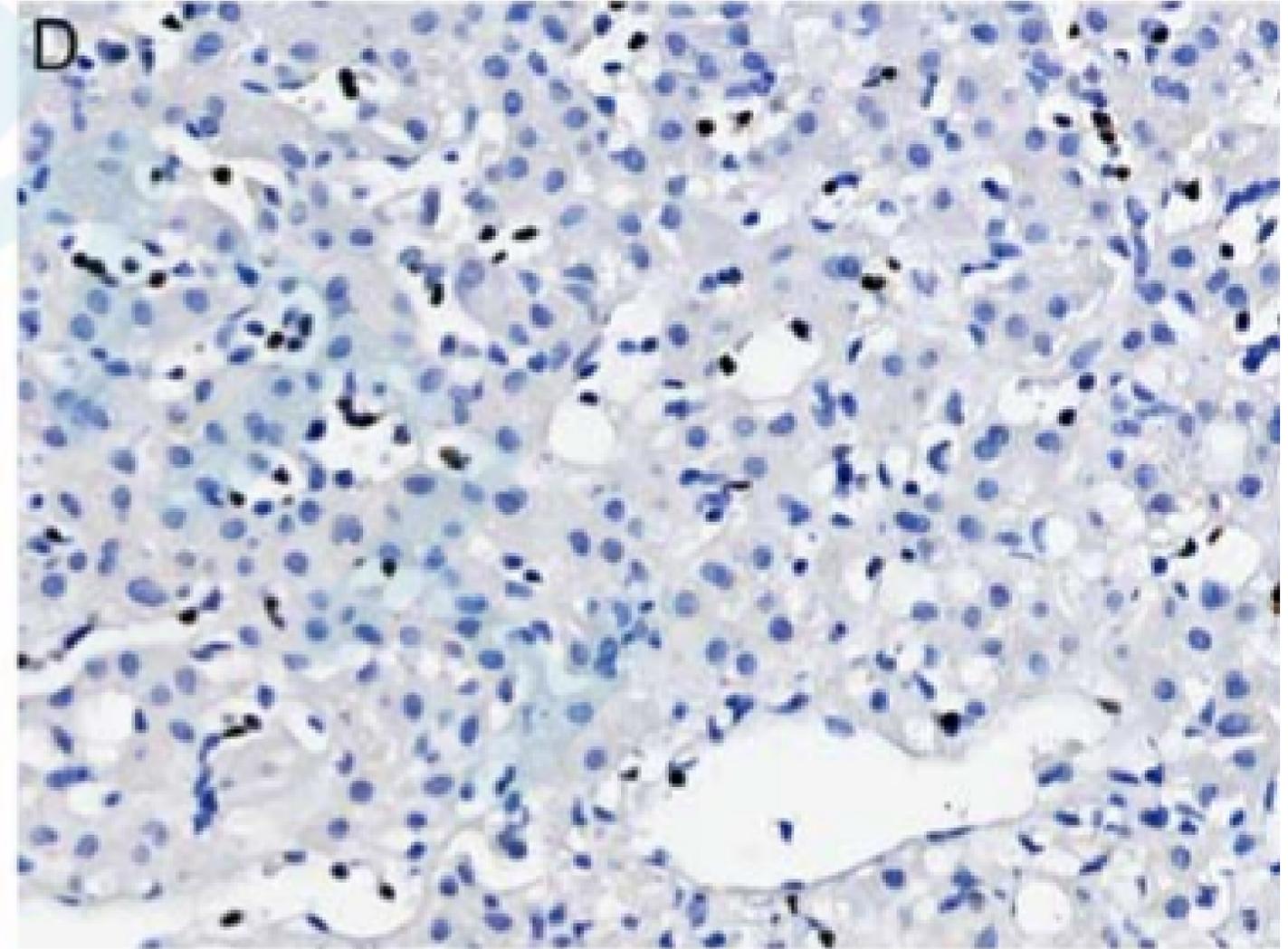
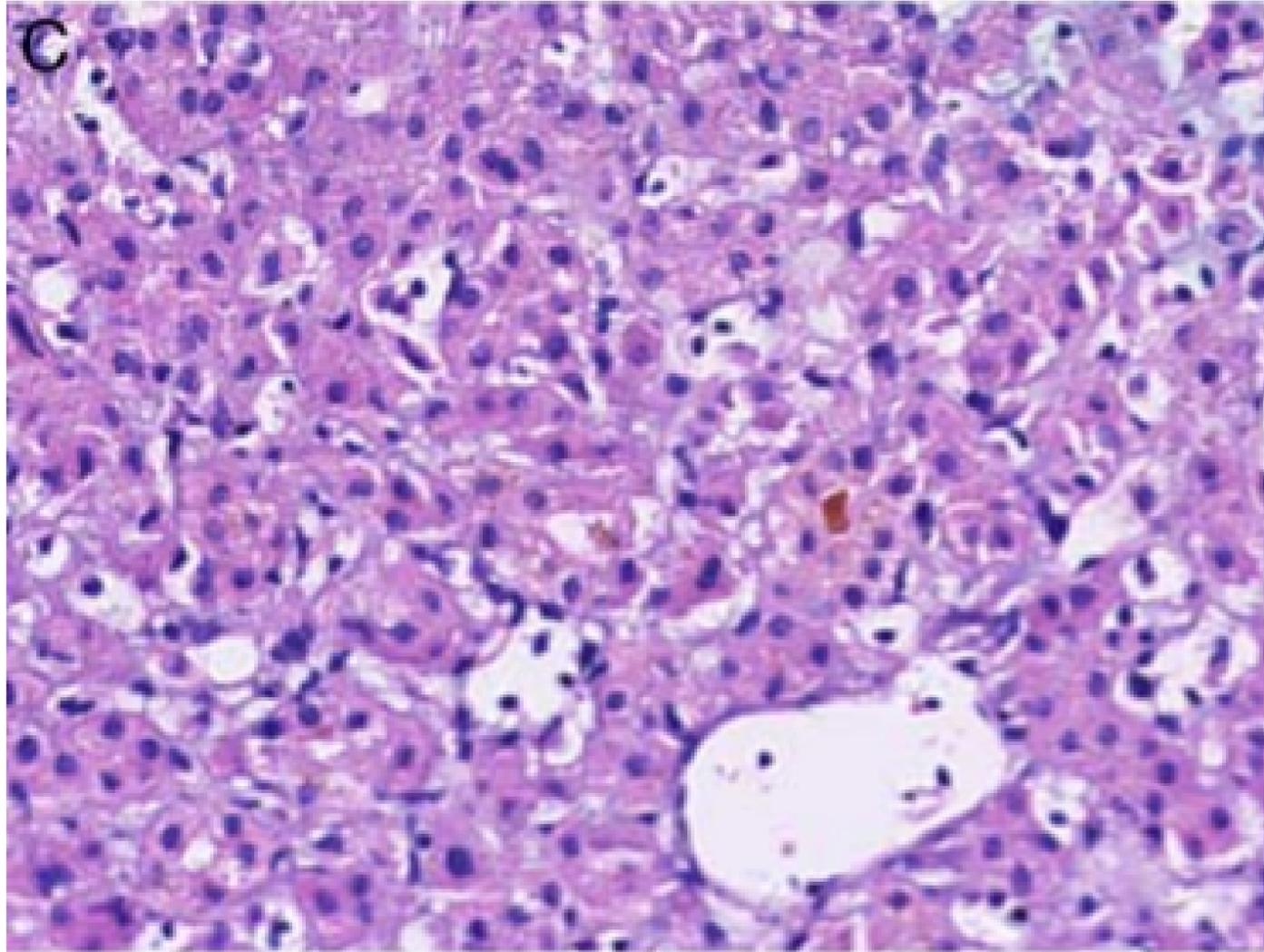
脾脏受累（3个标本）：

- 红髓扩张，细胞小-中等大；
- 可见凋亡小体和核分裂像，无血管增生及坏死；
- 1例可见吞噬红细胞现象，2例可见髓外造血；
- 1例为多态性，2例为单态性；



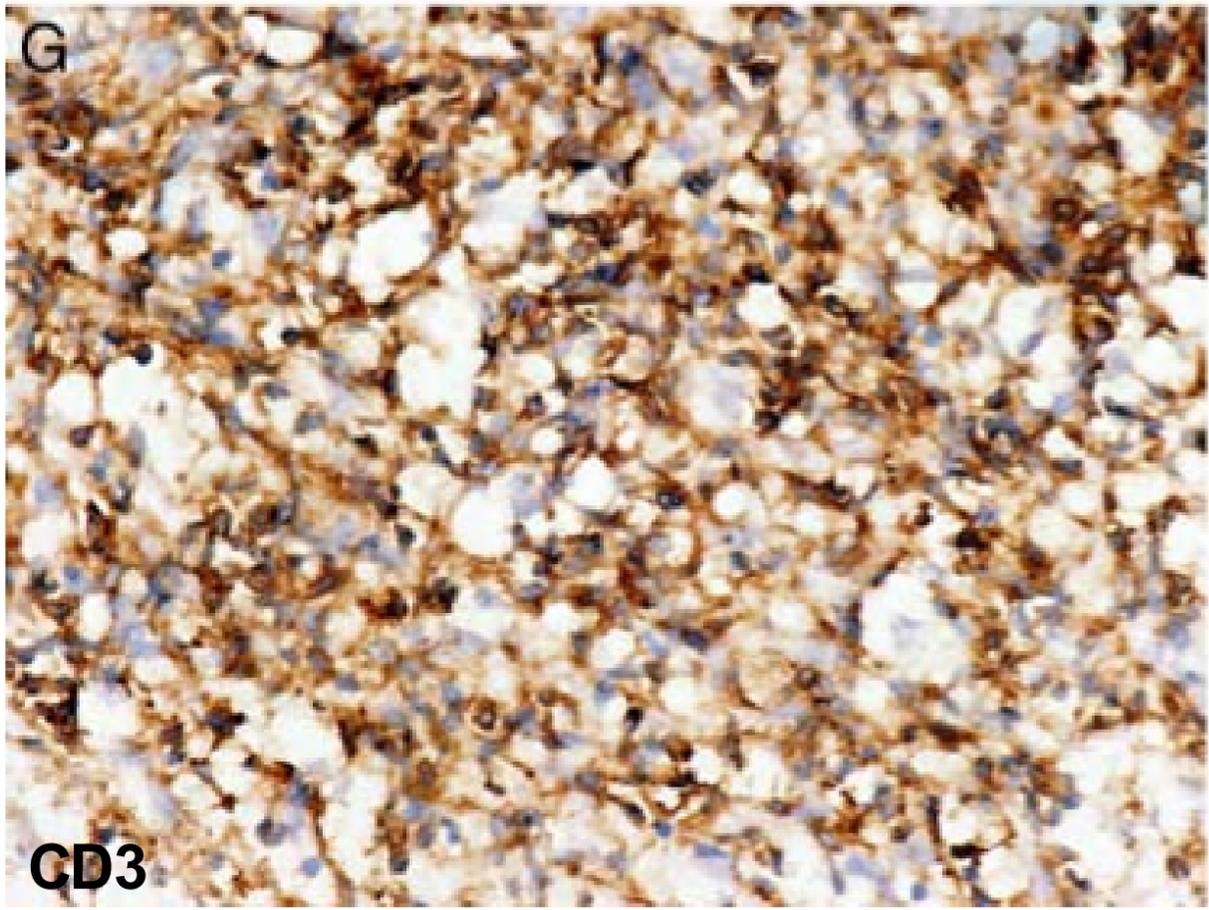
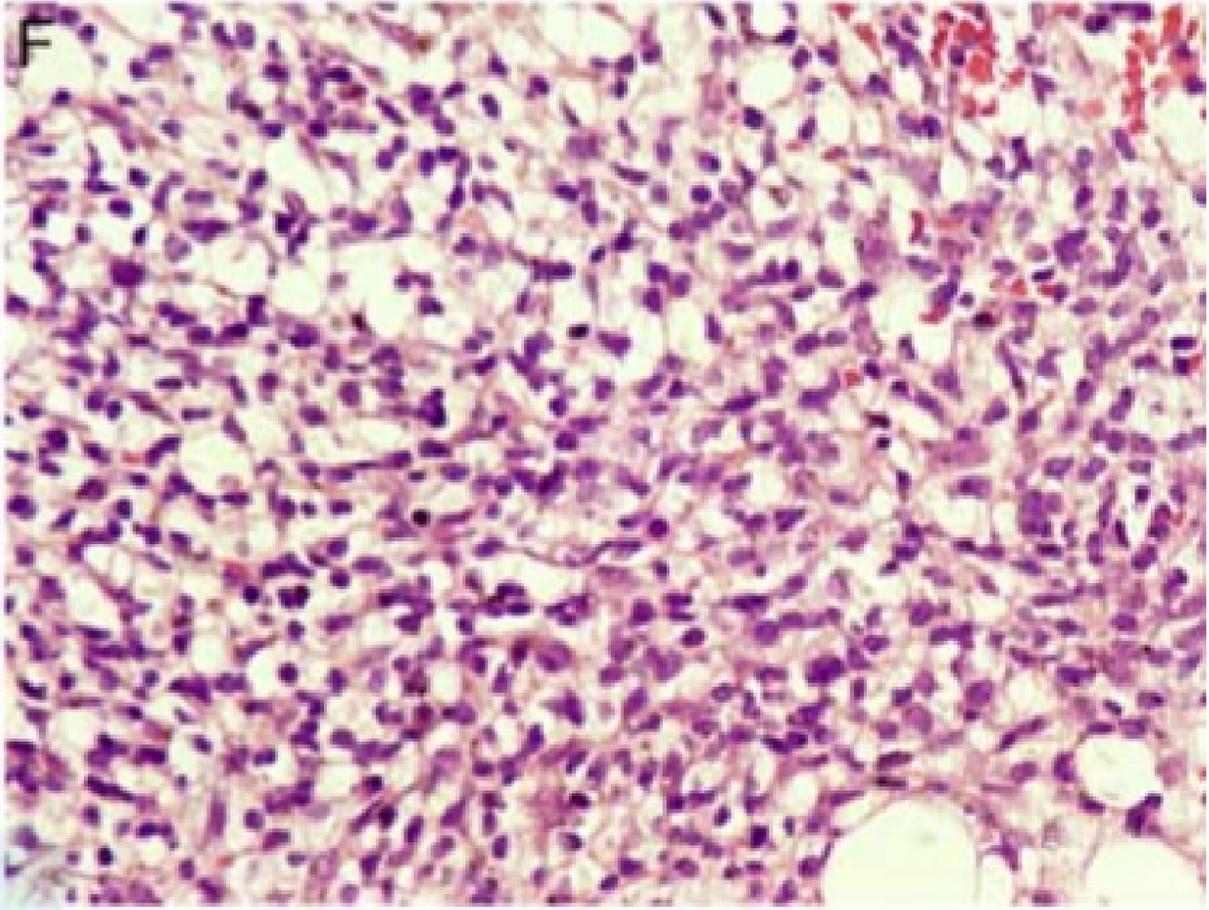
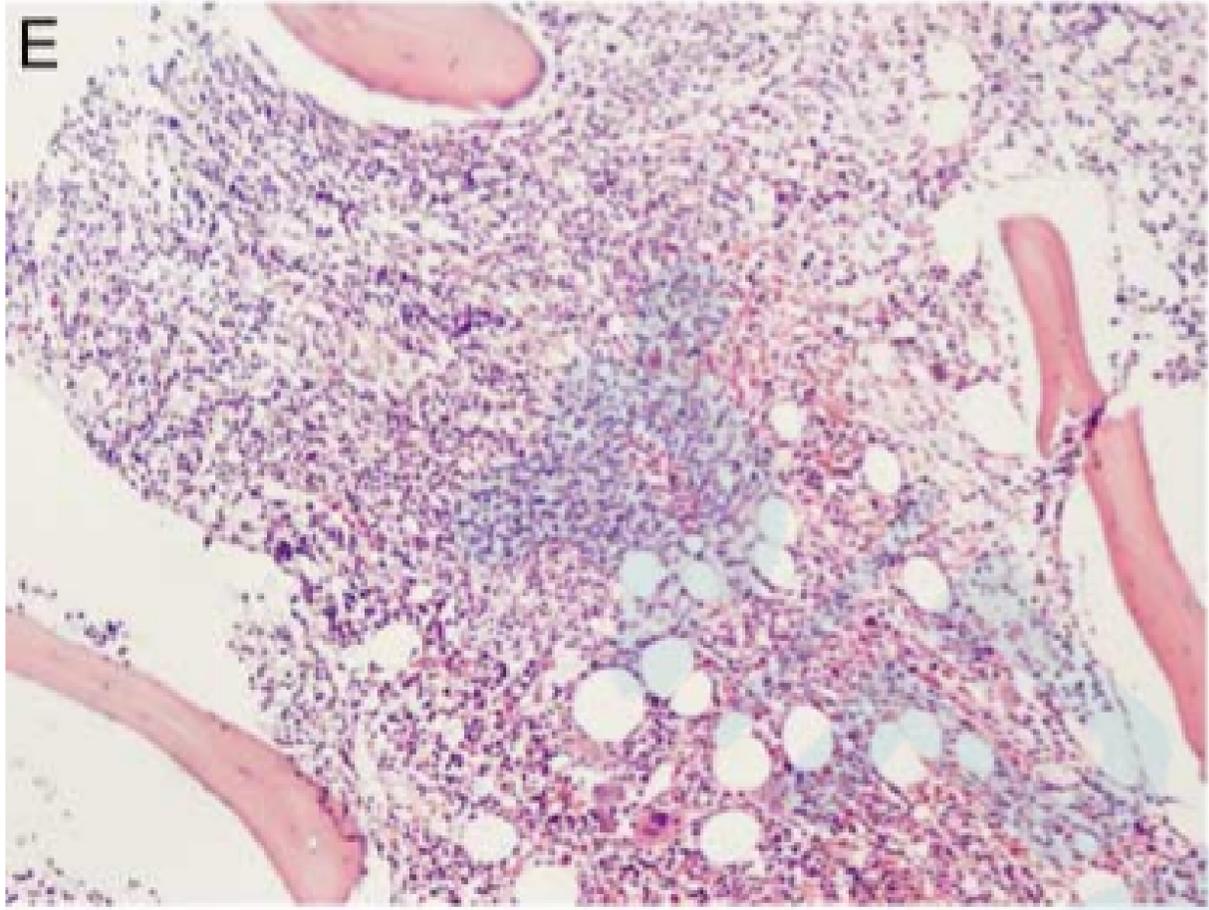
肝脏受累（1例，多态性）：

- 轻微，肝窦及门V区可见小而温和的淋巴细胞；

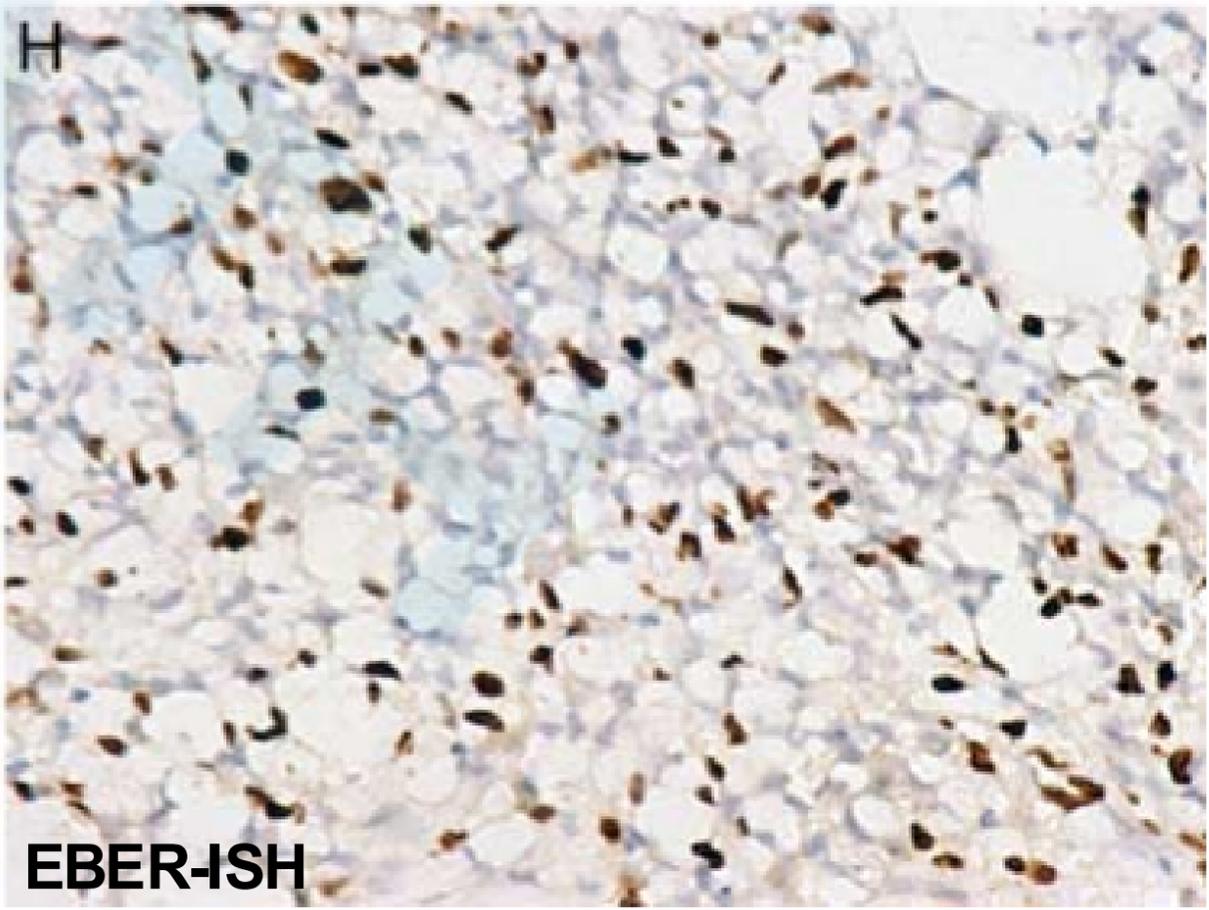


骨髓受累（2例）：

- 脂肪组织被小-中等大淋巴细胞取代；
- 无核仁、核分裂像以及凋亡；
- 可见骨髓纤维化；



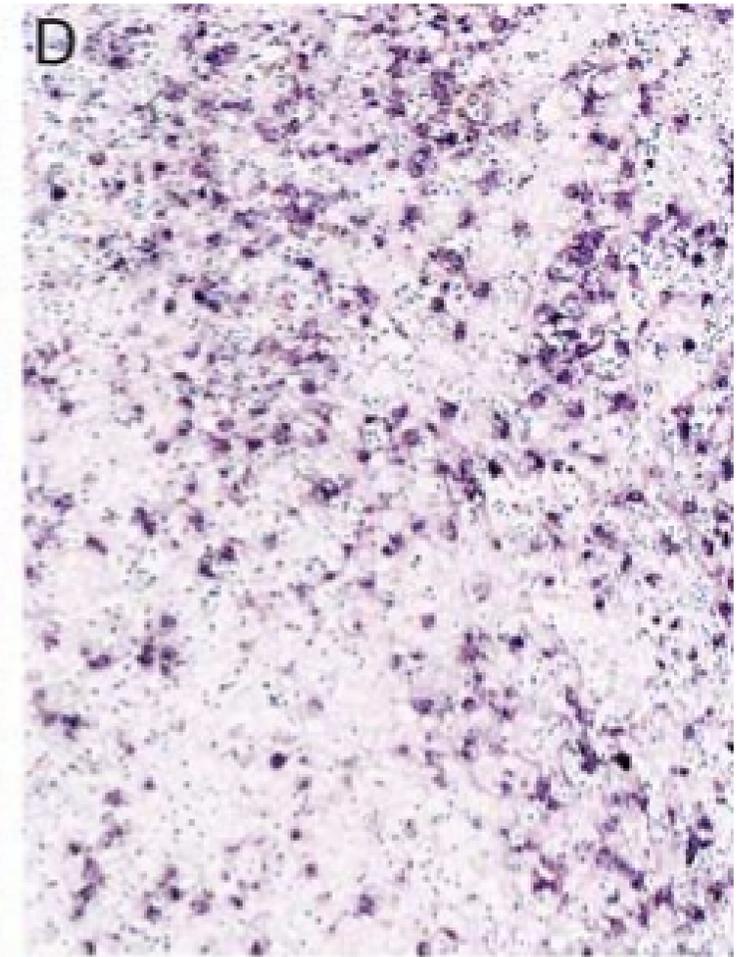
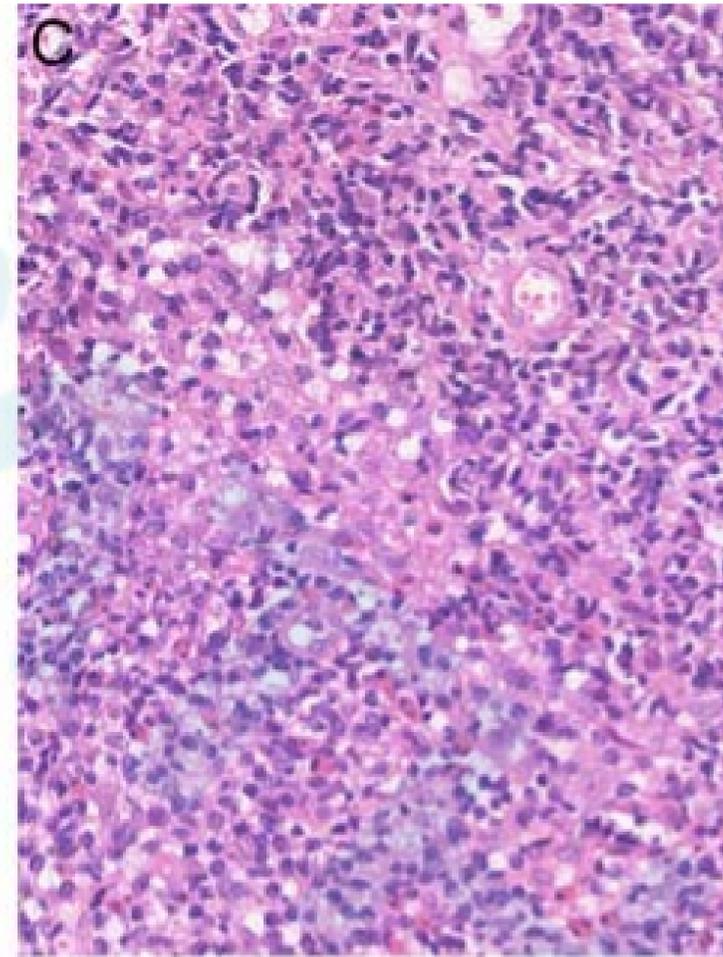
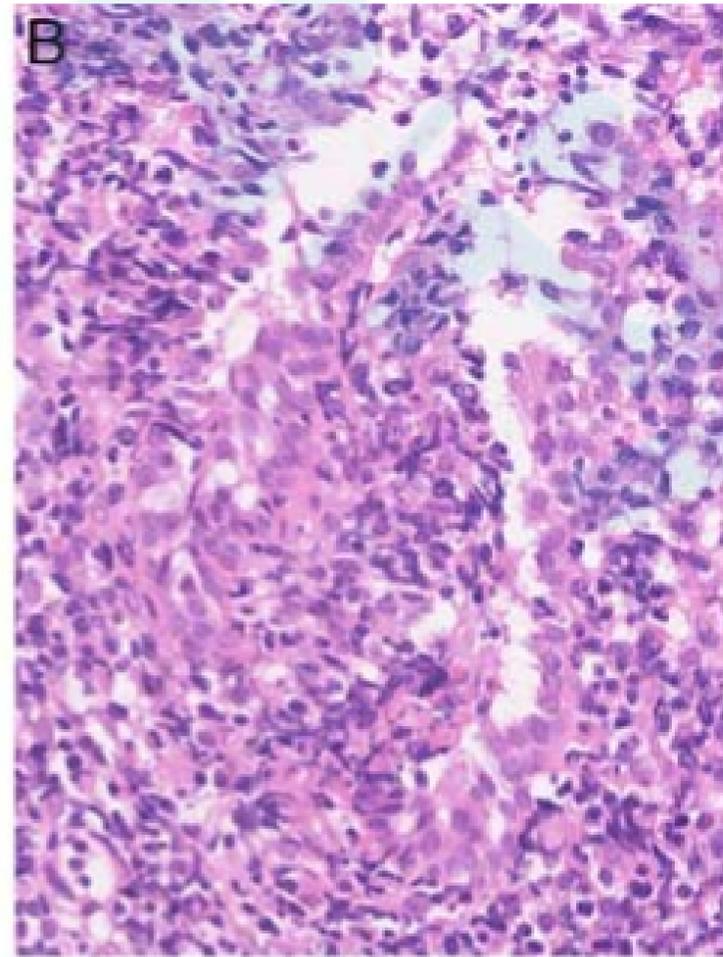
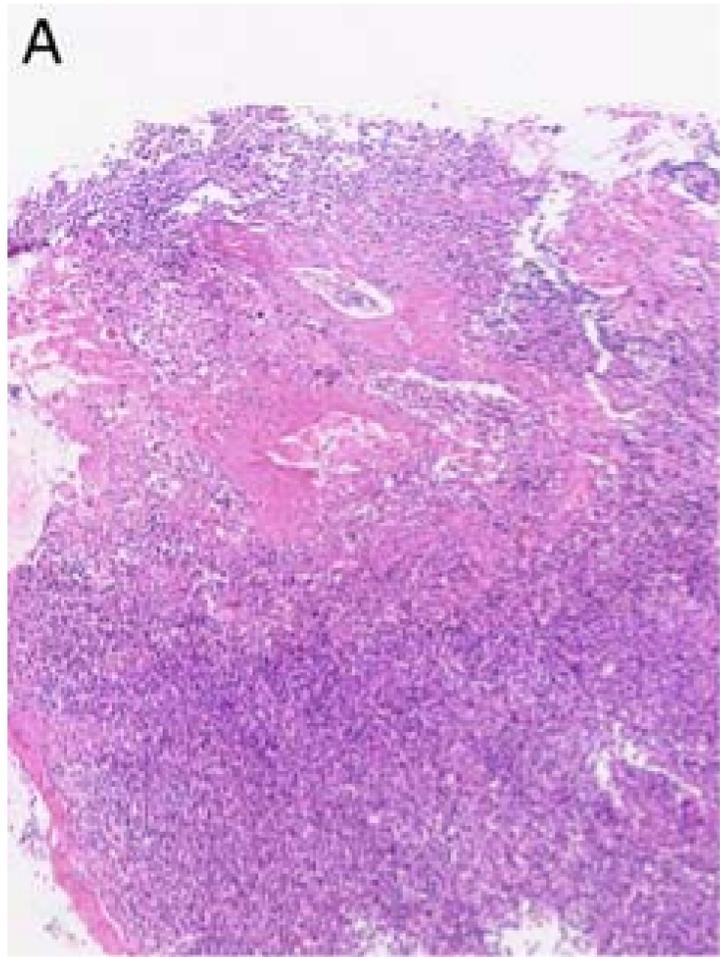
CD3



EBER-ISH

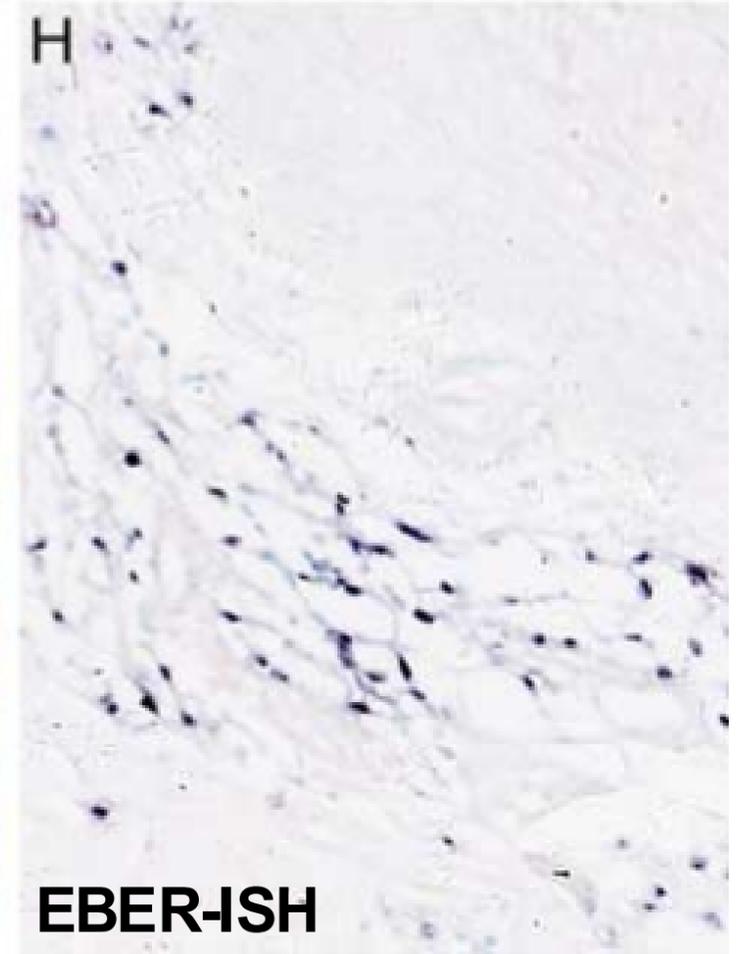
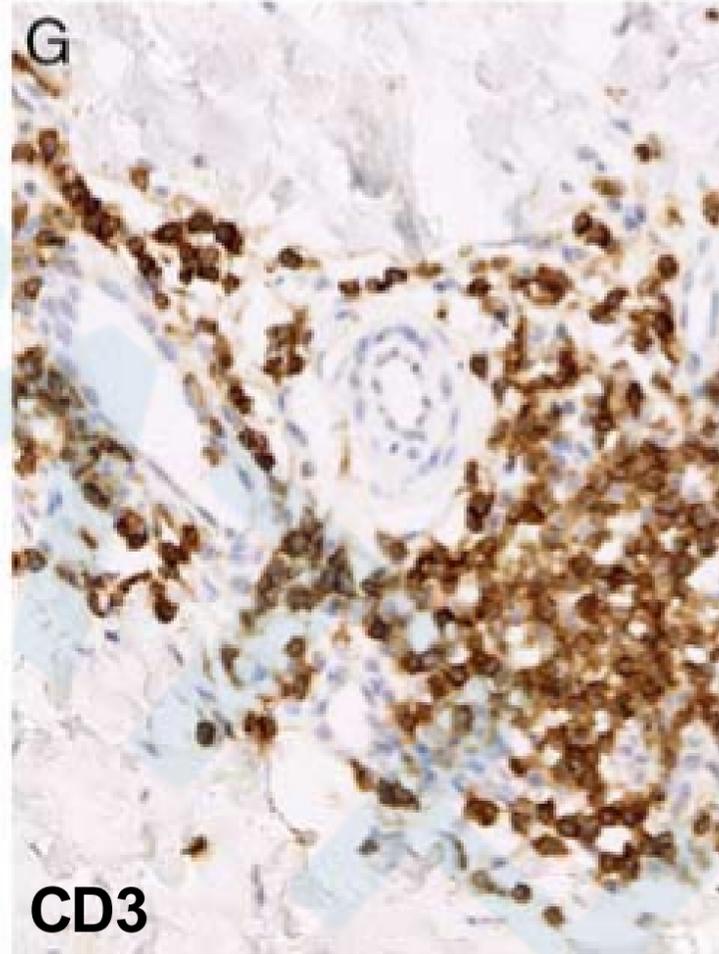
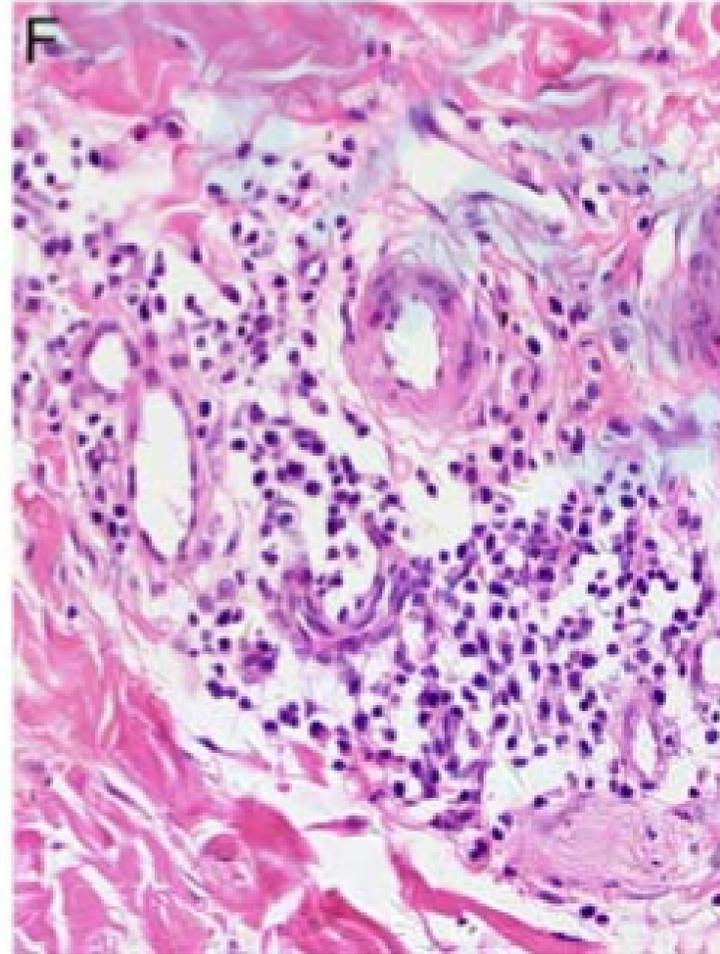
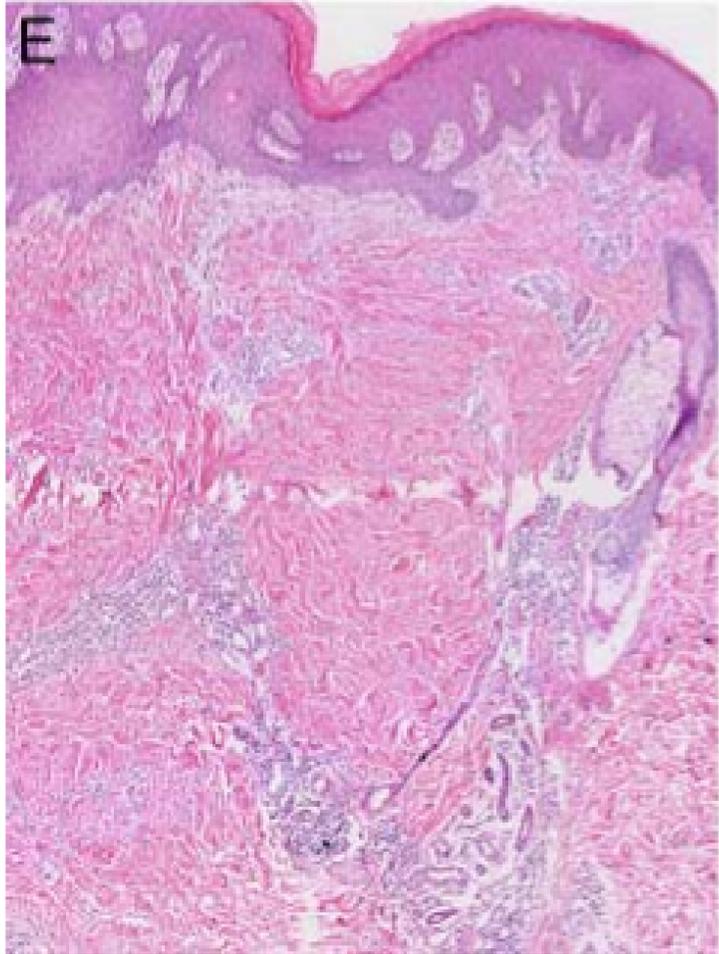
鼻腔受累（1例，多态性）：

- 表现为鼻腔黏膜溃疡形成伴假上皮瘤样增生；
- 粘膜下可见中等大小非典型淋巴细胞浸润，无明确核分裂象；
- 背景可见浆细胞、嗜酸性粒细胞、组织细胞浸润；



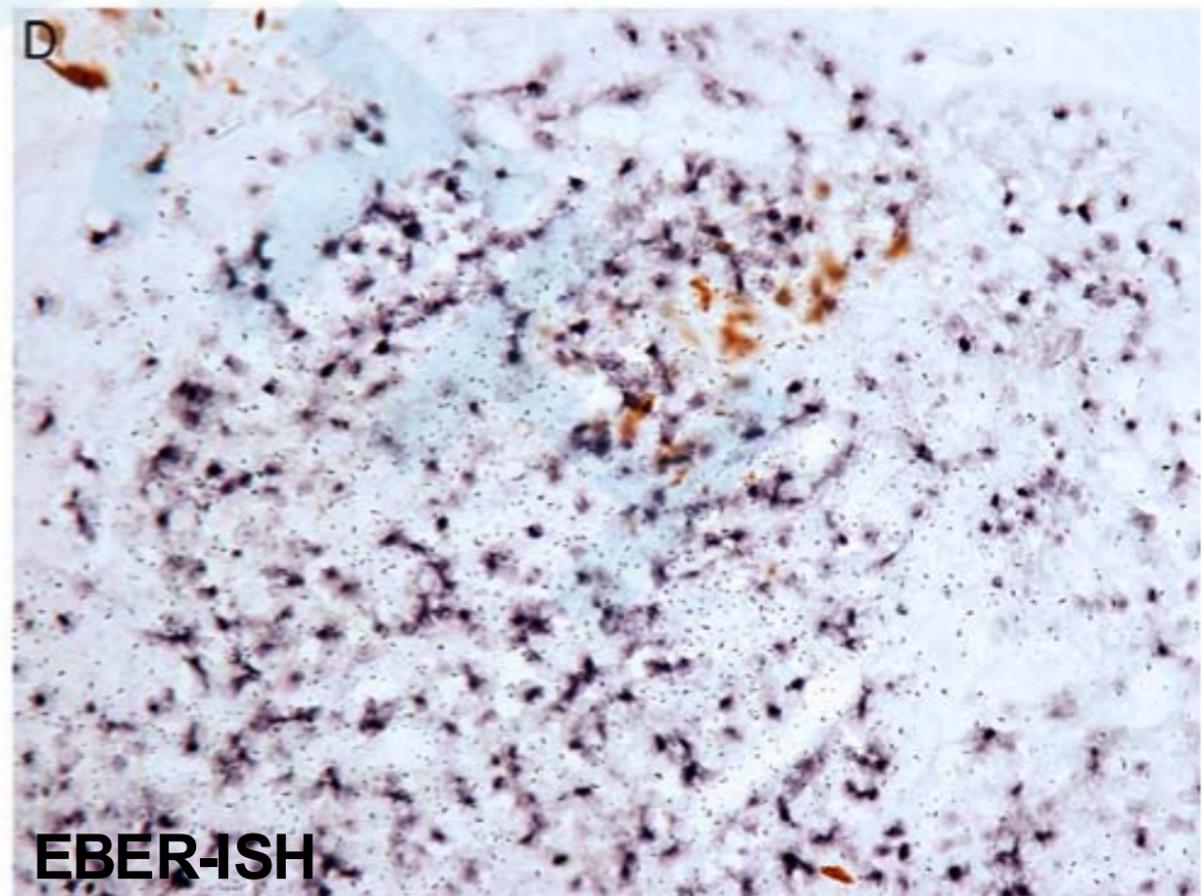
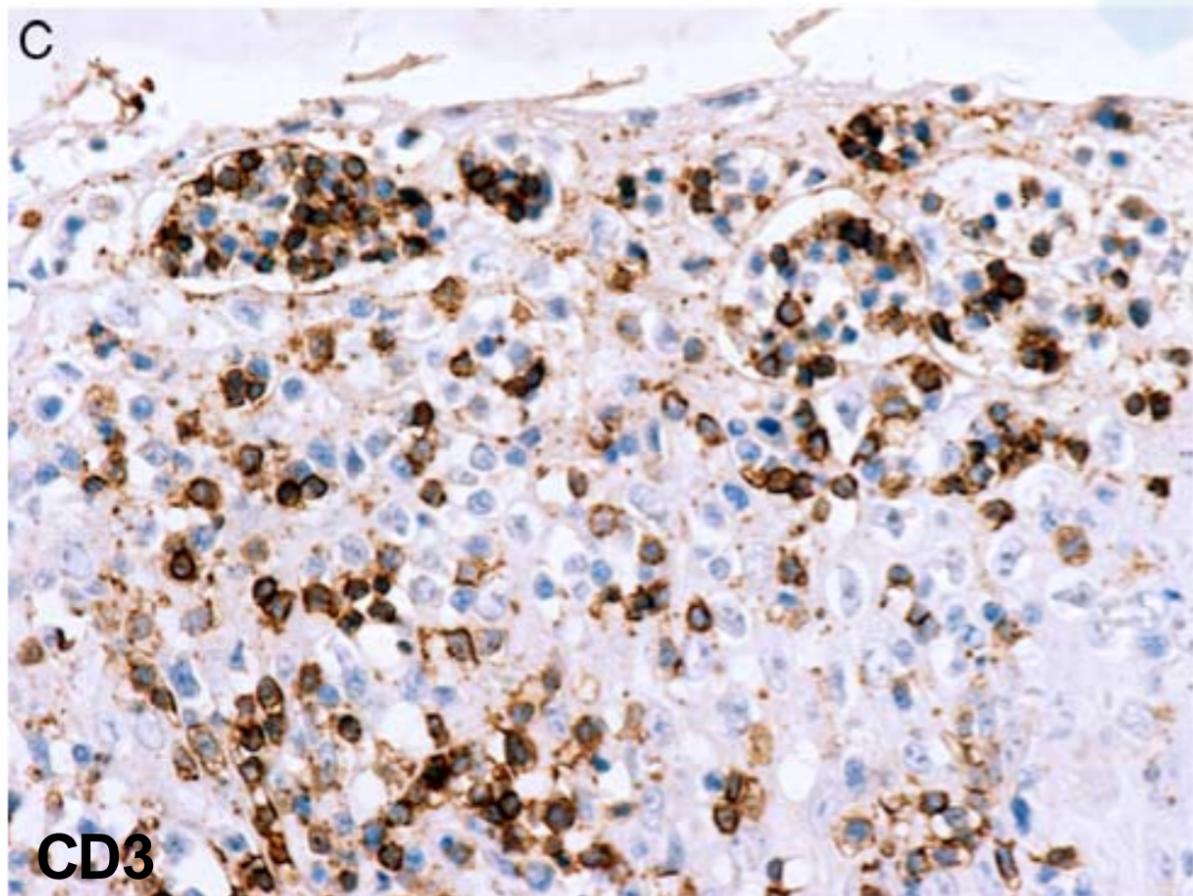
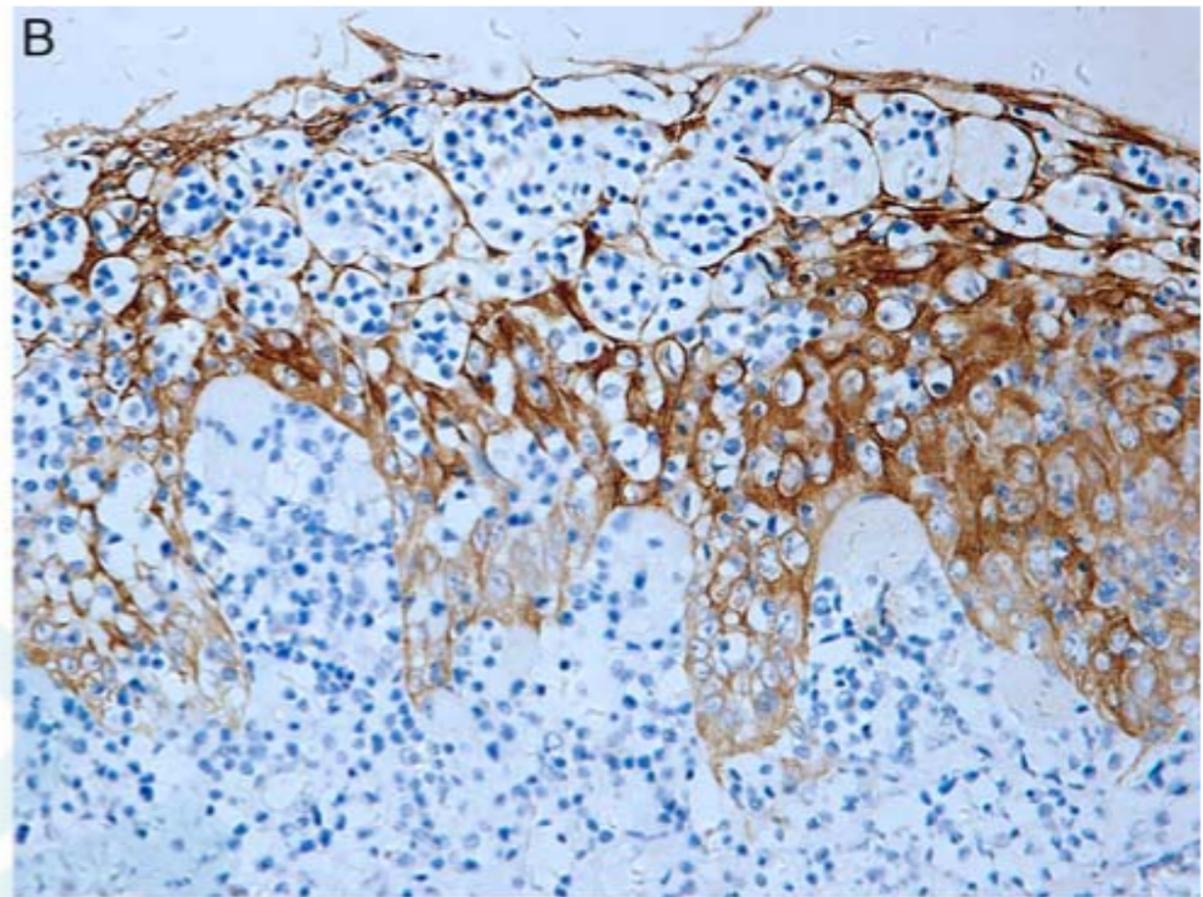
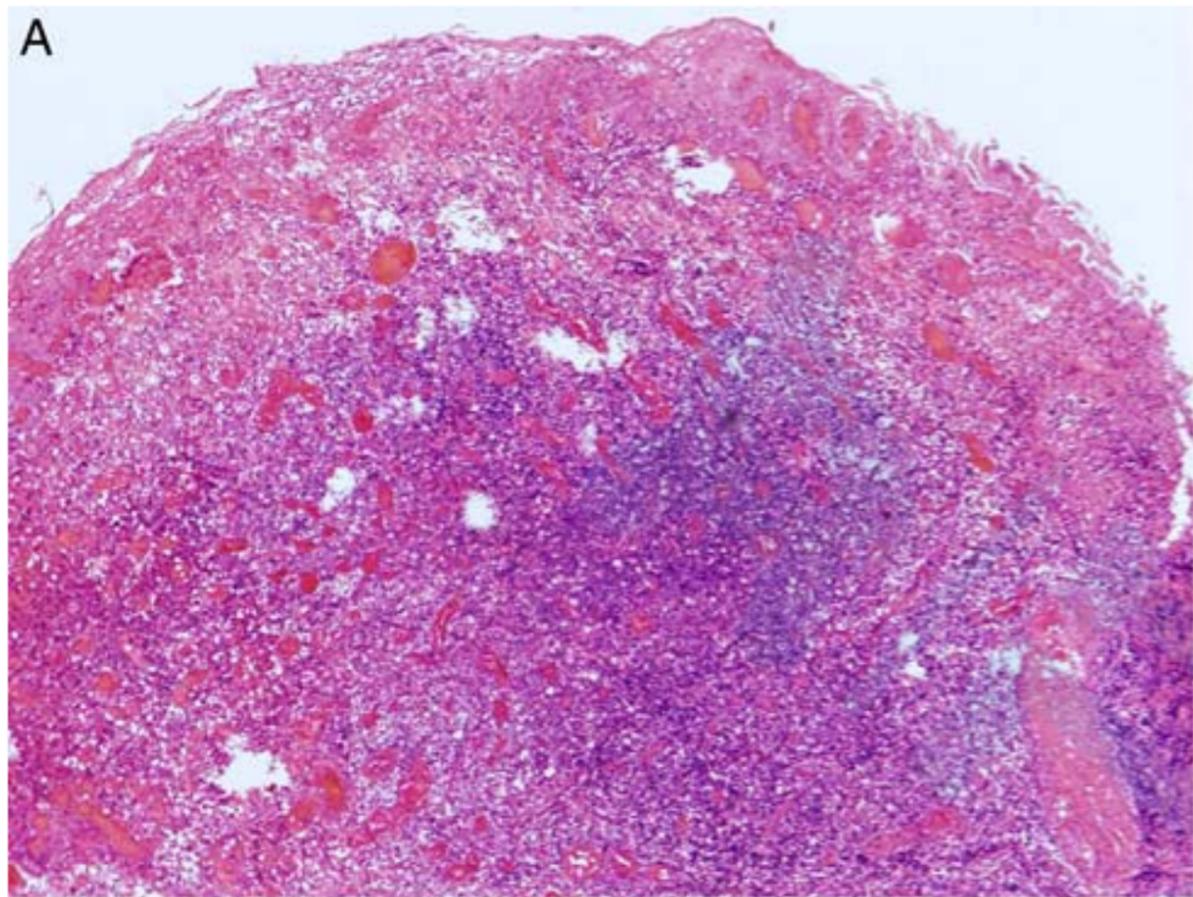
■ 皮肤受累（1例，多态性）：

- 左下肢红斑，无水疱或溃疡；
- 鳞状上皮未受累，皮下组织内可见小-中等大的非典型淋巴细胞浸润；
- 形态温和，围绕血管或皮肤附属器生长；
- 无核分裂像及凋亡；



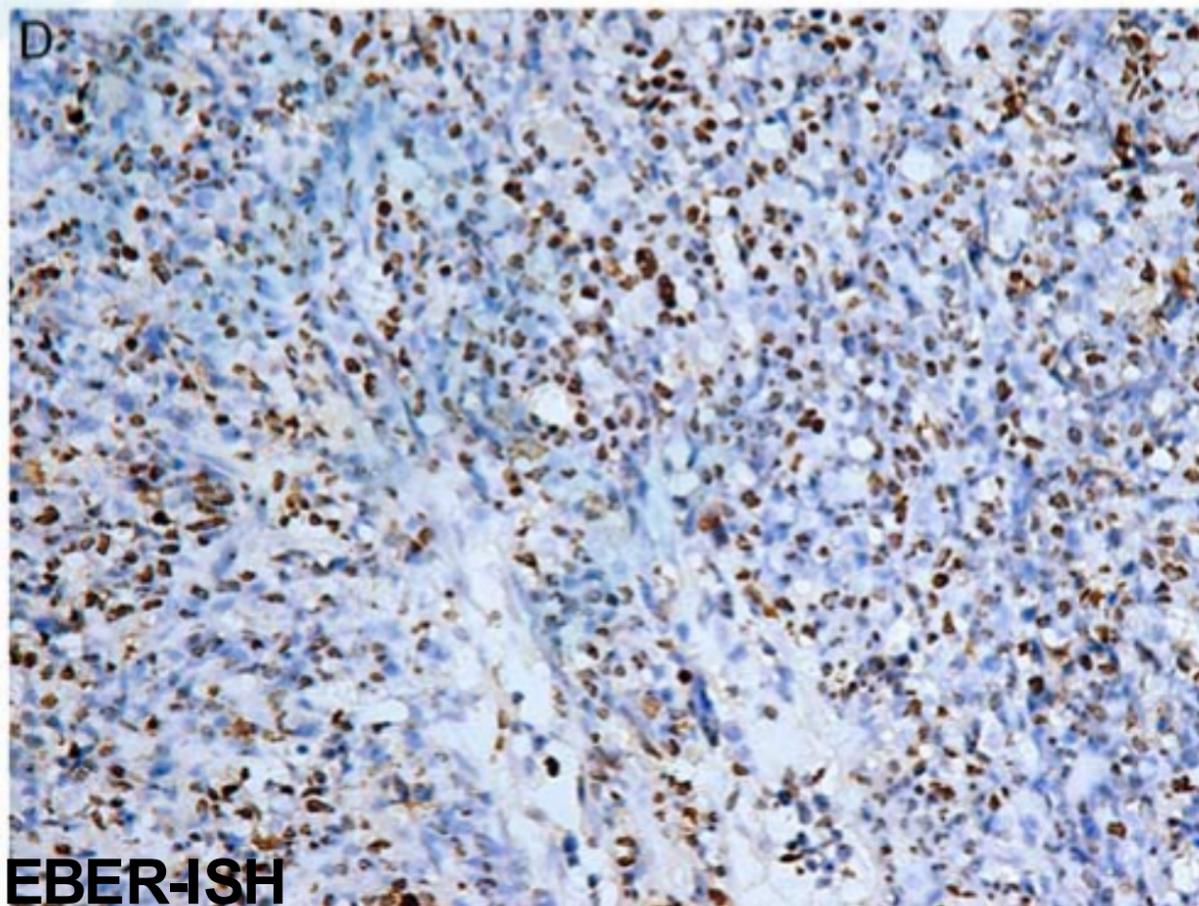
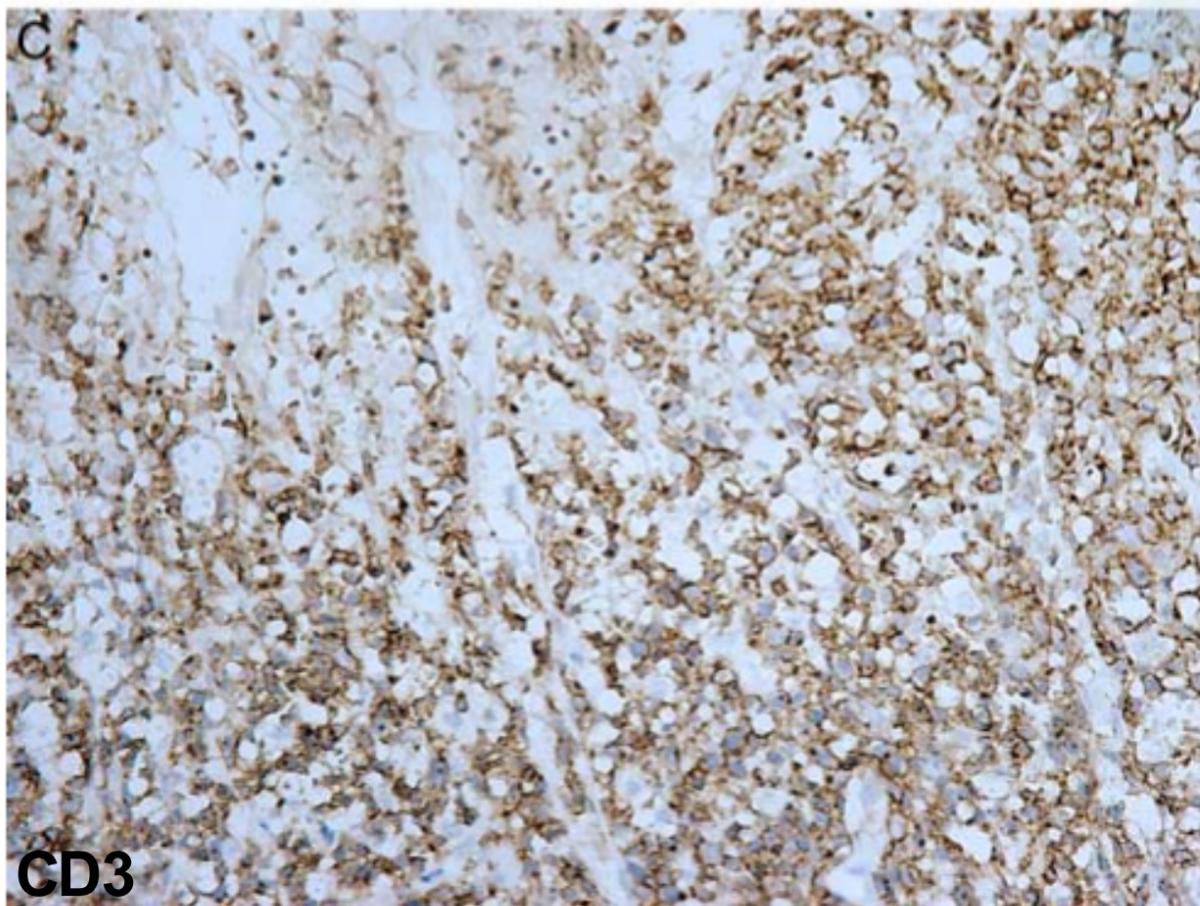
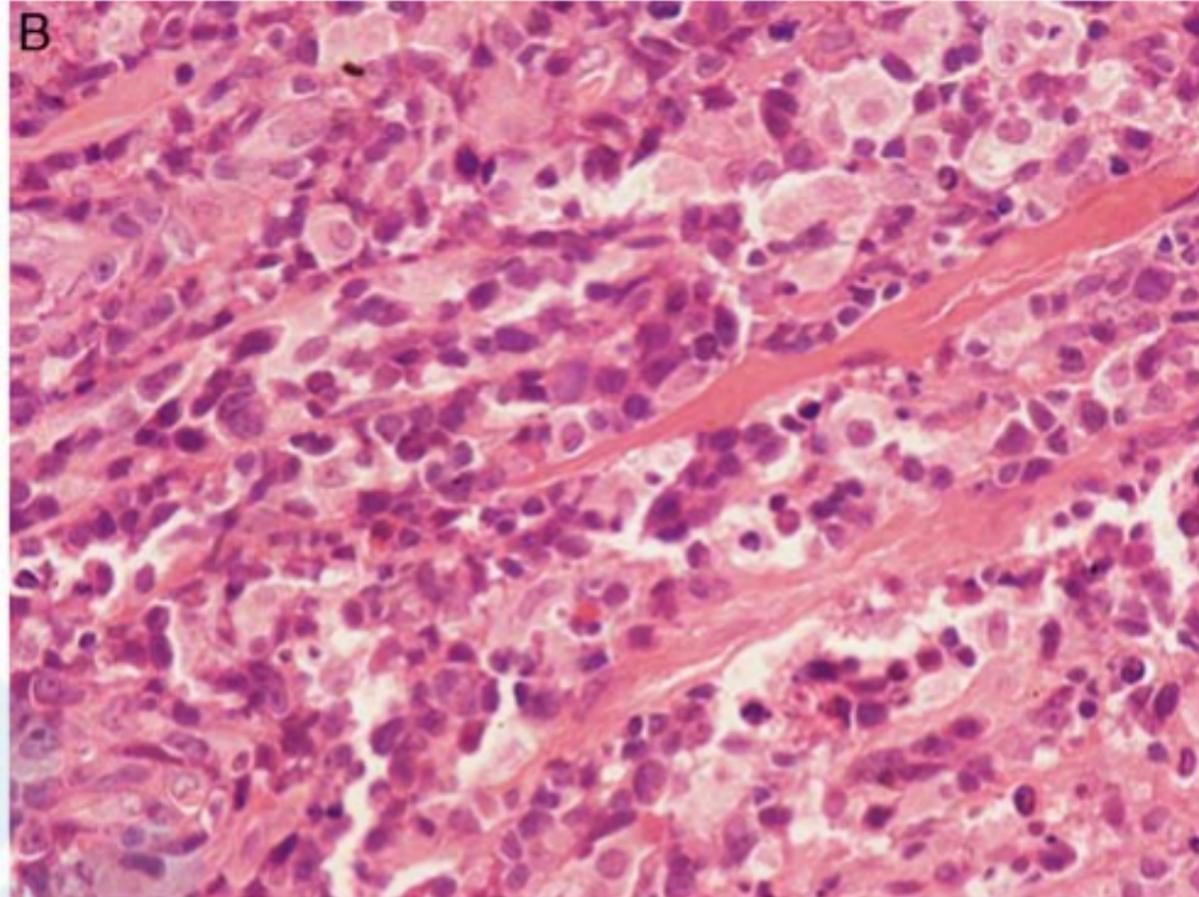
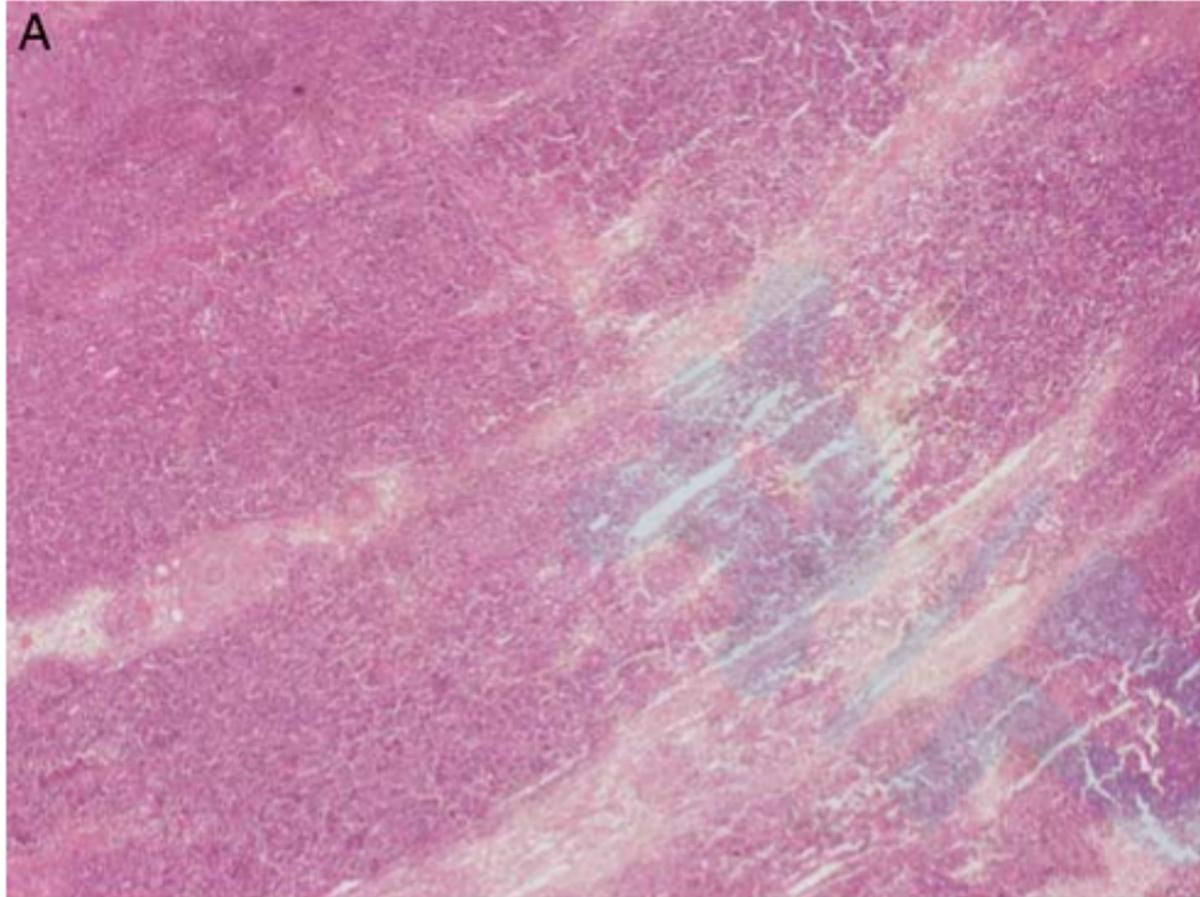
扁桃体受累（1例，多态性）：

- 黏膜溃疡形成伴中等大小非典型淋巴细胞浸润；
- 背景中可见组织细胞；



软组织受累（1例，单态性）：

- 位于腹部上直肌，无包膜；
- 表现为中等-大的非典型淋巴细胞浸润纤维组织和骨骼肌；
- 核分裂像易见。
- 局部可见坏死及血管浸润。



免疫组化及基因重排结果：

TABLE 3. Results of IHC, EBER-ISH, and *TRG/PCR* (N = 43)

Phenotype/Probe/Primer	n/N (%)
CD20	0/43 (0)
CD3	43/43 (100)
CD2	23/27 (85)
CD5	18/28 (64)
CD4	14/42 (33)
CD8	33/42 (79)
CD4 ⁻ /CD8 ⁻	7/42 (17)
CD4/CD8 < 1	27/42 (64)
CD4/CD8 > 1	8/42 (19)
CD30	26/41 (63)
CD56	4/43 (9)
Cytotoxic molecules*	43/43 (100)
βF1	25/31 (81)
Ki-67, median (range) (%)	50 (10-80)
LMP-1	1/28 (4)
EBER-ISH	43/43 (100)
<i>TRG/PCR</i>	
M	19/43 (44)
P	24/43 (56)

*Cytotoxic molecules including granzyme B and/or TIA-1.
M indicates monoclonal; P, polyclonal.

预后：

- 31/33死亡，另外2例正在随访中（各随访3个月和30个月）；
- 其中位生存期为5个月（0.3-43个月）；
- 与预后相关的危险因素：贫血、白细胞减少症和HLH；

比较两个分级系统：

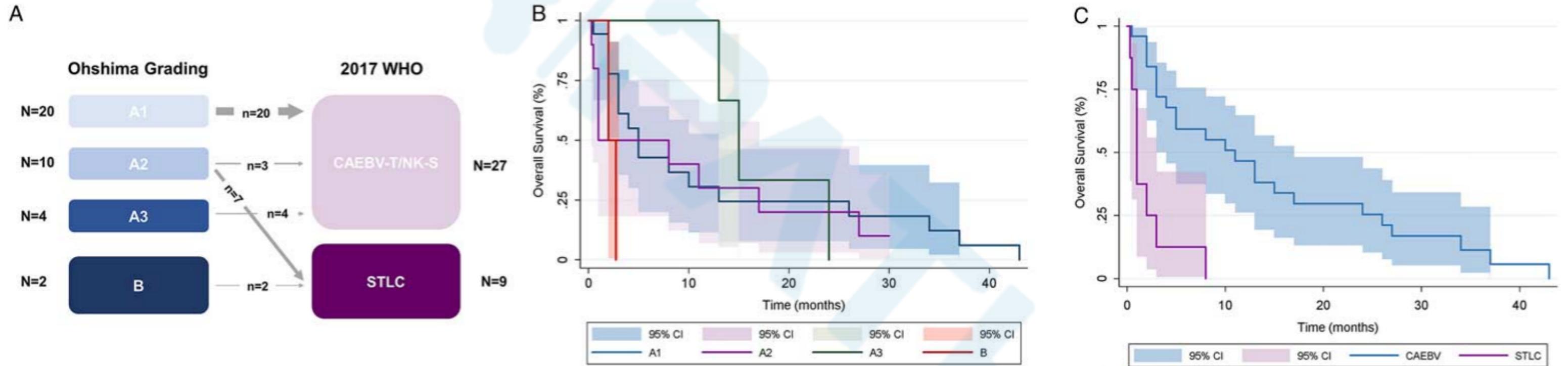


FIGURE 6. Comparison of the Ohshima Grading System and the 2017 WHO classification. A, Difference of case distribution between the Ohshima Grading System and the 2017 WHO classification. B, Kaplan-Meier survival plots (with 95% confidence intervals [CIs]) for the Ohshima Grading System. C, Kaplan-Meier survival plots (with 95% CIs) for the 2017 WHO classification;

讨论：

- EBV+T/NK-LPDs-C可累及淋巴结、脾、肝、扁桃体、黏膜、皮肤、软组织、骨髓等多个器官；
- 病理学特征：
 - 淋巴结主要表现为副皮质区增生、多态模式、局灶性坏死、显著凋亡，类似于非特异性淋巴结炎；
 - 肝、脾和骨髓常表现为小而温和的淋巴细胞浸润，缺乏坏死，易漏诊；
 - 累及其他结外器官（皮肤、黏膜、软组织）表现为原有结构破坏，中等大小的轻-中度非典型淋巴细胞浸润；
 - 免疫表型：本文中以CD8+ $\alpha\beta$ T细胞为主，LMP-1是通常是阴性；

- 诊断EBV+T/NK-LPDs-C在临床工作中非常具有挑战性：
 - 累及造血器官(肝脏、脾脏、骨髓)和淋巴结的病变容易被漏诊或误诊为反应性淋巴组织增生、非特异性淋巴结炎、充血性脾肿大等，因此，有必要对这些组织标本常规进行EBER-ISH，以避免漏诊；
 - 累及结外器官（皮肤、粘膜和软组织）时，在无病史的情况下可能被误诊为ENKTL，但EBV+T/NK-LPDs-C的预后明显差于单纯ENKTL（鉴别要点在于后者几乎仅见于成人，好发于上呼吸道）；
 - 因此，诊断时需综合分析各种因素，包括临床症状、实验室检查、形态学、免疫表型和基因检测等；

- **本结果表明**：2017版分级系统较Ohshima分级系统对于预后的预测更准确一些；
- **分析原因**：本组数据中50%的A1（10例）和70%的A2病例（7例）临床表现为爆发性，这可能是导致其预测准确性相对较低的主要原因；

- 同时存在的问题：

- 低估一些多克隆病例的风险：如有些多克隆病例可能迅速进展或死亡，但这些看似温和的术语（CAEBV-T/NK-S）会使临床医生放松警惕，导致这些患者被低估，从而治疗不足；

- 活检时对单克隆病例的分类不准确：从而导致过度治疗或延误治疗；

- 对于“暴发性临床过程”的定义，目前尚无明确的标准。一般认为迅速出现的严重并发症如多器官衰竭、凝血障碍和HLH代表一个暴发性的临床过程，但这些表现也可能出现在其它疾病（如感染、自身免疫性疾病等）中；
- 因此，在分级系统中加入其它预后相关因素，如：如年龄（8岁以上），脾肿大，贫血，血细胞减少，肝功能不全，乳酸脱氢酶升高等，可进一步提高预测的实用性。
- 同时，分析每个参数的权重（包括临床症状、实验室检查、影像学和病理学特征）来系统性描述EBV+T/NK-LPDs-C，从而构建一个综合风险评估方法，可能会被纳入未来的评分系统中；

总结：

- 本文总结了我国西南地区系统性EBV+T/NK-LPDs-C患者的临床病理特征：
 - 这些病例主要来源于CD8+ $\alpha\beta$ T细胞，临床表现重，预后差；
 - 形态学表现：在造血和淋巴组织中细胞形态温和，而在结外器官形态类似于ENKTL；
- 2017版WHO分级系统较Ohshima分级系统有所改善，但仍存在一些问题：如对多克隆病例风险的低估、对单克隆病例分类的不准确；
- 因此，期待构建一个预测更准确且更实用的综合评估系统来帮助诊断和治疗。

THANK YOU!