

• 论 著 •

31 例轻链型多发性骨髓瘤实验室指标分析*

肖明锋, 刘基铎, 吴培洁, 袁 晴

(广州中医药大学第一附属医院检验科, 广州 510405)

摘要:目的 探讨实验室检测指标在轻链型多发性骨髓瘤(MM)诊治中的应用价值。方法 收集轻链型 MM 患者 31 例及对照组 60 例,对照组为健康者 20 例(健康组),以及该院诊断的 IgG κ 型和 IgA κ 型 MM 患者各 20 例。检测免疫球蛋白、血清蛋白电泳、免疫固定电泳、尿素氮(UREA)、肌酐(Cr)、β₂ 微球蛋白,并进行流式细胞免疫表型检测及骨髓细胞学检查。结果 血清蛋白电泳检测到 M 蛋白的阳性率为 29.03%,Durie-Salmon 临床分期 II 期与 III 期 M 蛋白水平差异有统计学意义(P<0.05);免疫固定电泳结果均需用琼脂糖凝胶电泳法加做 IgD 及 IgE 抗体复查;轻链型 MM 患者与健康者的 IgG、IgA、IgM、UREA、Cr、β₂ 微球蛋白比较,差异有统计学意义(P<0.05);MM 细胞形态特征改变显著,细胞抗原表达以 CD38、CD138、CD56 为主。结论 免疫球蛋白定量及免疫固定电泳可作为 M 蛋白的筛查方法,血清蛋白电泳可用于患者的临床分期和疗效观察;骨髓细胞学检查对轻链型 MM 起到重要的诊断作用,轻链型 MM 比其他类型 MM 有更加严重的肾功能损伤。

关键词:轻链型 MM; 免疫球蛋白定量; 血清蛋白电泳; 免疫固定电泳; 免疫表型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.19.007

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)19-2674-03

Laboratory analysis of 31 cases of light chain multiple myeloma*

XIAO Mingfeng, LIU Jiduo, WU Peijie, YUAN Qing

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangzhou TCM University, Guangzhou, Guangdong 510405, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of laboratory markers in the diagnosis and treatment of light chain multiple myeloma (MM). Methods Collected 31 cases of light chain MM patients and 60 cases of control group, the control group consisted of 20 health subjects (healthy group), 20 cases of type IgG κ MM, 20 cases of type IgA κ MM. The immune globulin, serum protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis, UREA, Cr, β₂-microglobulin, flow cytometry immunophenotyp and bone marrow cytology was detected. Results The positive rate of serum protein electrophoresis was 29.03%, the difference of the M protein comparison in Durie-Salmon stage of phase II and phase III was statistically significant(P<0.05); light chain multiple myeloma patient's immunofixation electrophoresis results required reviewing by agarose gel electrophoresis plusing IgD and IgE antibody; the IgG, IgA, IgM, UREA, Cr, β₂-microglobulin of light chain MM patients were different compared with healthy group(P<0.05); the morphological characteristics of MM cells changed significantly, and the expression of cell antigen was mainly CD38, CD138 and CD56. Conclusion Quantitative of immunoglobulins and immunofixation electrophoresis could be used as screening method of M protein, serum protein electrophoresis can be used for clinical staging and clinical observation of patients. Bone marrow smears plays an important role in the diagnosis of light chain MM. Light chain MM has more severe renal damage than other types of MM.

Key words: light chain multiple myeloma; quantitative of immunoglobulins; serum protein electrophoresis; immunofixation electrophoresis; immunophenotype

多发性骨髓瘤(MM)是由浆细胞异常增殖所致的血液系统恶性肿瘤^[1],MM可分为不同类型^[2],轻链型MM占10%左右,此型由于重链合成受抑制,M蛋白水平一般较低,检测的敏感性降低,影响临床的诊治。本文分析31例轻链型MM患者,研究实验室检测指标在其诊断和治疗中的应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院轻链型MM患者31例和对照组60例,对照组为健康者20例(健康组),以及本院诊断的IgG κ型和IgA κ型MM患者各20例,所有MM的诊断均符合中国MM诊治指南^[3]。对患者进行Durie-Salmon临床分期(D-S分期),采集3 mL静脉血待测。

1.2 仪器与试剂 采用Capillars 2全自动毛细管电泳仪、

Hydras琼脂糖凝胶电泳仪及其配套试剂进行电泳检测;采用IMAAGE 800及配套试剂进行免疫球蛋白定量检测;采用Abbott AxSYM及其配套试剂检测β₂微球蛋白;采用Roche cobas c 501及配套试剂检测尿素(UREA)、肌酐(Cr);采用贝克曼FC-500MPL及配套试剂进行流式细胞免疫表型检测。

1.3 方法

1.3.1 全自动毛细管电泳 标本离心后直接放入Capillars 2电泳仪检测架进行检测,待检测完毕,分析结果。

1.3.2 琼脂糖凝胶电泳 如毛细管电泳结果为单轻链型,需另外加入IgD和IgE抗体进行琼脂糖电泳以确定是否为单轻链型。

1.3.3 免疫球蛋白定量检测 采用IMAAGE 800及配套试

* 基金项目:广东省中医药局科研资助项目(20162075)。

作者简介:肖明锋,男,主管技师,主要从事临床血液学检验研究。

剂检测 IgG、IgA、IgM、IgE。

1.3.4 生化指标检测 分离血清, β_2 微球蛋白采用 Abbott AxSYM 仪器及其配套试剂检测, UREA、Cr 采用 Roche cobas c 501 仪器及配套试剂检测, 按仪器操作说明书进行。

1.3.5 流式细胞免疫表型检测 取肝素抗凝骨髓液 1~2 mL, 按五色免疫荧光直接标记法检测骨髓有核细胞的抗原表达, 以 CD45/SSC 设门, 分析 MM 细胞抗原表达情况。

1.3.6 骨髓细胞学检查 患者行骨髓穿刺涂片后平放晾干, 瑞氏染色 15 min, 流水冲洗, 待干后镜检, 选择体尾交界处分类计数 200 个有核细胞, 观察骨髓瘤细胞的形态和比例。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床首要症状 31 例轻链型 MM 患者中, 首要症状为骨

痛、肾功能受损、消化道症状、贫血的患者分别有 20、6、3、2 例。

2.2 血清蛋白电泳 31 例轻链型 MM 患者中, 有 9 例通过血清蛋白电泳检测出 M 蛋白, 阳性率为 29.03%, 其中 D-S 分期 II 期 2 例, III 期 7 例。两期 M 蛋白水平 [I 期 (7.05 ± 0.07)% vs. II 期 (13.29 ± 5.00)%] 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.3 免疫固定电泳 轻链型 MM 患者需另外加入 IgD 和 IgE 抗体进行琼脂糖电泳以确定是否为单轻链型。

2.4 免疫球蛋白定量 轻链型 MM 患者与 IgG κ 型的 IgG 及 IgM 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 IgA κ 型的 IgA 及 IgM 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与健康组的 IgG、IgA 及 IgM 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。IgG κ 、 λ 两型的水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。轻链型 D-S 各分期结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各类型 MM 的免疫球蛋白定量结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgE(ng/mL)
轻链型 MM	31	5.87 ± 2.77	0.39 ± 0.29	0.22 ± 0.13	59.53 ± 36.42
IgA κ	20	6.05 ± 2.46	18.01 ± 12.21	0.41 ± 0.26	103.02 ± 62.20
IgG κ	20	29.76 ± 25.39	0.78 ± 0.57	0.41 ± 0.28	91.83 ± 45.64
健康组	20	12.04 ± 1.51	2.84 ± 0.86	1.71 ± 0.50	79.71 ± 72.75

表 2 两种轻链型免疫球蛋白定量结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	IgE(ng/mL)
κ 轻链型	20	7.58 ± 3.13	0.63 ± 0.35	0.26 ± 0.17	3.86 ± 1.72
λ 轻链型	20	5.07 ± 1.87	0.31 ± 0.22	0.19 ± 0.11	13.18 ± 2.81
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.5 生化指标 轻链型的 UREA、Cr、 β_2 微球蛋白与 IgG κ 型、IgA κ 型及健康组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); IgG κ 型、IgA κ 型及健康组之间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 3。两种轻链型的 UREA、Cr、 β_2 微球蛋白比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。轻链型各临床分期 UREA、Cr、 β_2 微球蛋白结果比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 各类型 MM 的 UREA、Cr、 β_2 微球蛋白结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	UREA(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	β_2 微球蛋白(g/L)
轻链型 MM	31	14.10 ± 9.40	315.48 ± 244.81	10.20 ± 5.85
IgA κ	20	4.46 ± 1.85	87.37 ± 47.63	3.53 ± 2.80
IgG κ	20	5.75 ± 1.93	95.80 ± 56.35	4.92 ± 1.75
健康组	20	4.49 ± 1.70	68.36 ± 18.11	1.67 ± 0.31

表 4 两种轻链型免疫球蛋白定量结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	UREA(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	β_2 微球蛋白(g/L)
κ 轻链型	20	11.89 ± 7.22	202.00 ± 102.08	6.46 ± 4.47
λ 轻链型	20	14.65 ± 9.40	364.28 ± 265.31	11.32 ± 5.83
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05

2.6 流式细胞免疫表型 轻链型 MM 细胞 CD38、CD138、CD19、CD56、CD45 抗原表达率分别为 100.00%、100.00%、11.11%、66.67%、9.12%, 都存在着轻链的限制性表达。

2.7 骨髓细胞学及尿本周氏蛋白 31 例轻链型 MM 患者骨髓增生活跃至明显活跃 29 例 (93.55%), 增生减低有 2 例 (6.45%), 疑混外周血。骨髓涂片细胞学检查 MM 细胞 $\geq 10\%$ 的 26 例 (83.87%); MM 细胞 $< 10\%$ 的 5 例 (16.13%), 有 3 例瘤细胞形态特征明显, 症状典型, 2 例疑似混入外周血导致比例降低。骨髓瘤细胞形态主要见核染色质疏松, 多可见核仁, 核畸形明显, 可见双核、多核、巨大多核, 核染色质疏松, 细胞形态改变明显。

3 讨论

MM 异常增生的浆细胞可产生大量的单克隆免疫球蛋白或 Bence Jones 蛋白质, 称之为 M 蛋白。依据 M 蛋白的类型可对 MM 进行分型鉴定, 轻链型占 10% 左右^[4]。临床上 MM 患者的表现复杂, 本研究的 31 例轻链型 MM 患者中的首要症状和体征就多种多样, 因此, 轻链型 MM 临床诊断主要依据实验室检查。近年来, MM 的发病机制、治疗等方面的研究不断深化, 临床上诊断 MM 的方法不断改进, 为 MM 的精确诊断、治疗及预后判断提供了更多的实验依据。

骨髓涂片检测是临床上诊断 MM 的主要手段^[5-7]。MM 的骨髓涂片多增生活跃, 浆细胞多大于 15%, 低于 15% 时, 形

态的判断及畸形程度对 MM 的诊断极为重要。因为核的多型性和不成熟性很少发生在反应性的浆细胞,所以当出现时常提示肿瘤性浆细胞。本研究的 31 轻链型 MM 患者,除 2 例疑似混入外周血无法诊断外,其他 29 例都有典型的 MM 细胞形态特征及一定比例的 MM 细胞,充分说明了骨髓细胞学检查也是诊断轻链型 MM 的重要手段。值得注意的是,骨髓肿瘤细胞除了呈现弥散性浸润之外,还存在着灶性分布的特点,故当高度怀疑多发性骨髓瘤而骨髓穿刺未见骨髓瘤时,要多部位穿刺以防止漏诊^[5]。而对于不同类型多发性骨髓瘤之间形态学的比较,需要进一步地深入研究。

检测 M 蛋白的常用方法有免疫球蛋白定量、血清蛋白电泳、免疫固定电泳。血清蛋白电泳是最简单的方法之一,在临床上较常用。通过血清蛋白电泳可以获得血清蛋白质各组分的图谱,包括清蛋白、 α_1 、 α_2 、 β_1 、 β_2 及 γ 球蛋白 6 条区带,当机体血清蛋白质成分发生降低或升高时,常提示相关的疾病,通过电泳还可对血清中异常的蛋白质进行筛选。但血清蛋白电泳灵敏度不高,M 蛋白水平低时容易漏诊^[8],本研究 31 例轻链型 MM 患者的血清蛋白电泳阳性率仅为 29.03%,说明轻链型 MM 患者 M 蛋白水平低,单靠血清蛋白电泳不容易诊断。本研究还发现,轻链型 MM 患者的 M 带主要集中在 D-SII、III 期患者,且 III 期患者 M 蛋白水平较 II 期显著增高,提示血清蛋白电泳虽灵敏度低,不适合作为轻链型 MM 的筛查方法,但对其临床分期有指导意义。

免疫固定电泳特异度和灵敏度都较高,是临床上检测 M 蛋白时的参考方法,能检测出血清中水平很少的单克隆免疫球蛋白,应用于早期疾病的诊断效果好,被广泛应用于 MM 的鉴定分型及诊断^[9-10],现在临床上经常使用的免疫固定电泳方法有琼脂糖凝胶电泳法和全自动毛细管电泳法。本研究的轻链型 MM 患者,毛细管出现 M 蛋白时,尚不知这种 M 蛋白是游离轻链所致还是结合在 IgE 或 IgD 等少见类型 M 蛋白的轻链,因此,需结合抗 IgE、抗 IgD 血清进行琼脂糖凝胶电泳进一步鉴定,防止误诊。

临床上对免疫球蛋白的定量检测是辅助 MM 诊治的重要方法,可对 M 蛋白进行定量检测。本研究中,轻链型 MM 患者的 IgA、IgG、IgM 水平均减低,提示轻链型患者 MM 细胞只能合成单一的轻链,合成重链能力受到严重抑制,机体没有完整的免疫球蛋白用于维持正常的生理功能,于是 IgA、IgG、IgM 水平均降低,因此,轻链型的 MM 患者继发感染率高,且在所有多发性骨髓瘤类型当中感染率是最高的^[11]。此外,轻链型 MM 患者会出现轻链明显多于重链的情况,可在血清中出现轻链型的 M 蛋白成分,过多的轻链从肾脏排出后,在尿中出现本周氏蛋白,从而造成肾功能损伤^[12-13],这也是本研究中轻链型的 UREA、Cr、 β_2 微球蛋白比其他类型有更明显的增高,肾功能损伤更严重的原因;但这些指标在各临床分期的轻链型 MM 患者中无显著性意义,提示它们可能不适用于临床分期,也可能与病例数较少有关。

流式细胞免疫表型检测能准确、快捷、敏感地定量检测单个细胞的膜上或胞内表达的多种抗原,具有很高的客观准确性,是辨别和鉴定血液系统肿瘤细胞表达特征的一种重要手段,更是诊断血液系统肿瘤疾病的一项重要技术。Yuan 等^[14]研究发现,流式细胞免疫表型检测不仅能够从其他类型的浆细胞疾病中区分出瘤细胞并诊断 MM,还能用于治疗后残留 MM 细胞的检测。分析骨髓瘤细胞 CD38、CD138、CD45、

CD19、CD56 等抗原表达有助于 MM 的诊断。大多数 MM 细胞的抗原表达为 CD19⁻ CD38⁺ CD45⁻/弱阳性 CD56⁺ CD138⁺^[15],与本研究 31 轻链型 MM 患者大致符合,而对于 CD19⁺、CD56⁻的 MM 患者以及 MM 微小残留检测,有待进一步研究其临床意义,以便为 MM 的辅助诊断和治疗评估提供更加准确客观的依据。

参考文献

- [1] 张晓晖. 多发性骨髓瘤的实验室诊断评价[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(31): 3505-3506.
- [2] 韩青, 孙国华. 免疫固定电泳技术在多发性骨髓瘤诊断及分型中的应用[J]. 大连医科大学学报, 2012, 33(2): 175-177.
- [3] 中国医师协会血液科医师分会中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2015, 54(12): 1066-1070.
- [4] 颜绵生, 王松子, 廖慧芳. 54 例轻链型单克隆免疫球蛋白血症的蛋白水平分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(13): 1649-1650.
- [5] 苏显都, 林榕, 徐晓兰, 等. 47 例多发性骨髓瘤细胞形态学及免疫表型特征分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(1): 137-141.
- [6] 刘艳, 王贞, 李艳莲, 等. 10 例轻链型多发性骨髓瘤的实验室结果分析[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(2): 245-248.
- [7] 张慧, 姜华, 侯健. 多发性骨髓瘤细胞形态学与临床特点相关性分析[J]. 中国医师进修杂志, 2012, 35(12): 47-48.
- [8] 张利方, 阎有功, 汪薇, 等. IgD 型多发性骨髓瘤免疫学特征分析[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(5): 403-405.
- [9] 杨璐, 吴定昌, 黄晓华. 免疫固定电泳技术对多发性骨髓瘤的分型诊断及预后判断价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(16): 1975-1976.
- [10] 卢新兆, 徐俊荣, 顾兵, 等. 免疫固定电泳及分型对多发性骨髓瘤诊断的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(2): 1657-1659.
- [11] 肖明锋, 刘基铎, 袁晴, 等. 免疫球蛋白定量检测及蛋白电泳在少见型多发性骨髓瘤诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(15): 2126-2127.
- [12] Sekiguchi N, Takezako N, Nagata A, et al. Successful treatment of immunoglobulin D myeloma by bortezomib and dexamethasone therapy[J]. Intern Med, 2011, 50(21): 2653-2657.
- [13] 朱婉秋, 卢静, 路谨, 等. 初诊多发性骨髓瘤合并肾功能不全患者的临床分析[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(10): 741-744.
- [14] Yuan CM, Stetler-Stevenson M. Role of flow cytometry of peripheral blood and bone marrow aspirates in early myeloma[J]. Semin Hematol, 2011, 48(1): 32-38.
- [15] 丁润生, 秦燕, 陆伟, 等. 流式细胞术在多发性骨髓瘤诊断中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(7): 1117-1119.