

伴胸腔侵犯多发性骨髓瘤患者的实验室特征及临床分析

高胜海 王晓毅 朱海燕

作者单位: 264200 山东威海, 山东大学附属威海市立医院检验科(高胜海、朱海燕), 血液科(王晓毅)

通信作者: 高胜海, Email: weihainap@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.02.019

【摘要】 目的 总结伴胸腔侵犯多发性骨髓瘤(MM)患者的临床及实验室特征。方法 回顾并分析山东大学附属威海市立医院收治 6 例伴胸腔侵犯 MM 患者的实验室检测结果, 包括血红蛋白(Hb)、血生化检测、骨髓象检验、胸腔积液常规、细胞形态学及免疫表型、遗传学检查结果等临床资料。结果 在 6 例患者中, 初诊时高血钙 3 例, 肾功能受损 4 例, 中度贫血 5 例, 轻度贫血 1 例, 乳酸脱氢酶(LDH)升高 2 例, β 2-微球蛋白(β 2-MG)升高 6 例, 白蛋白降低 5 例。骨髓涂片瘤细胞比例为 12.0%~76.5%, 其中<20%、20%~50%、>50% 分别有 1 例、3 例、2 例。免疫固定电泳结果可见, 免疫球蛋白 G(IgG)型 1 例、免疫球蛋白 A(IgA)型 4 例、轻链 λ 型 1 例。胸水均为渗出液, 涂片可见, 骨髓瘤细胞比例为 1%~93%。瘤细胞表达 CD38、CD117, 细胞质轻链限制性表达, 部分表达 CD138、CD56, 不表达 CD19。细胞遗传学异常(CA)检出 5 例, 其中: 1q+ 检出 3 例, 17p- 检出 1 例, t(4; 14) 检出 2 例, t(14; 16) 未检出, t(14; 20) 未检出, 13q- 检出 1 例, t(11; 14) 检出 2 例, IgH 重排(14q32) 检出 3 例。结论 伴胸腔侵犯 MM 患者初诊时具有典型 CRAB 症状, 胸水中可见骨髓瘤细胞, 瘤细胞多表达 CD38、CD138 和 CD56, 患者多携带高危 CA。积液细胞形态学和流式细胞术(FCM)免疫表型检查是诊断伴胸腔侵犯 MM 的主要依据。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 胸腔侵犯; 流式细胞术; 细胞遗传学

Laboratory characteristics and clinical analysis of multiple myeloma patients with thoracic invasion

Gao Shenghai, Wang Xiaoyi, Zhu Haiyan. Department of Clinical Laboratory, Weihai Municipal Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Weihai 264200, Shandong, China (Gao SH, Zhu HY); Department of Hematology, Weihai Municipal Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Weihai 264200, Shandong, China (Wang XY)

Corresponding author: Gao Shenghai, Email: weihainap@163.com

【Abstract】 **Objective** To summarize the clinical and laboratory characteristics of multiple myeloma (MM) patients with thoracic invasion. **Methods** The laboratory test results of 6 cases of MM patients with thoracic invasion admitted to Weihai Municipal Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University were reviewed and analyzed, including hemoglobin (Hb), blood biochemical test, bone marrow examination, routine pleural effusion, cytomorphology and immunophenotype, genetic examination results and other clinical data. **Results** Among the six patients at the time of initial diagnosis, three cases had hypercalcemia, four cases had impaired renal function, five cases had moderate anemia and one case had mild anemia, two cases had increased lactic dehydrogenase (LDH) level, six cases had increased β 2-microglobulin (β 2-MG) level, and five cases had decreased albumin. Bone marrow cytology in 6 patients showed myeloma cell proportions ranged from 12.0% to 76.5%, including one patient with less than 20%, three patients with myeloma cells between 20% and 50%, and two patients with myeloma cells greater than 50%. Immunofixation electrophoresis showed one case of immunoglobulin G (IgG) type, four cases of immunoglobulin A (IgA) type, and one case of cytoplasmic light chain λ type. Pleural effusion was exudative, and the cytology showed myeloma cells accounting for 1% to 93%. Myeloma cells expressed CD38 and CD117, with restricted expression of cytoplasmic light chains, partial expression of CD138 and CD56, and without expression of CD19. Cytogenetic abnormalities (CA) were detected in 5 of the 6 patients, including 3 cases of 1q+, 1 case of 17p-, 2 cases of t(4; 14), no detection of t(14; 16), no detection of t(14; 20), 1 case of 13q-, 2 cases of t(11; 14), and 3 cases of IgH rearrangement (14q32). **Conclusions** MM with thoracic invasion is initially diagnosed with typical CRAB symptoms, and

myeloma cells could be seen in the pleural effusion, which mostly express CD38, CD138 and CD56, and patients often carry high-risk CA. Pleural effusion cytomorphology and immunophenotyping by flow cytometry are the main basis for the diagnosis of MM with thoracic invasion.

【Key words】 Multiple myeloma; Thoracic invasion; Flow cytometry; Cytogenetics

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)以骨髓中克隆性浆细胞恶性增殖和异常积聚为特征,产生过量单克隆免疫球蛋白(monoclonal immunoglobulin, M 蛋白),引起 CRAB [血钙升高(calcium deviation)、肾功能损伤(renal insufficiency)、贫血(anemia)、骨病(bone disease)]^[1]。一部分 MM 患者在初诊或治疗过程中骨髓瘤细胞发生血源性播散,浸润肝脏、中枢神经系统、胸膜、肾脏、淋巴结和胰腺等组织器官,称为髓外病变(extramedullary disease, EMD)的多发性骨髓瘤(extramedullary myeloma, EMM)。EMM 的发病率较低,约占 MM 的 3.9%~19.0%^[2], EMM 患者的临床特征及生存期均与 MM 差异较大,疾病呈现异质性,因此 MM 患者伴发胸腔积液时判断是否为骨髓瘤细胞胸腔侵犯尤为重要。本研究分析和总结 6 例伴胸腔侵犯 MM 患者的实验室指标特征,旨在提高对此类疾病的认识,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2018 年 12 月—2022 年 1 月在山东大学附属威海市立医院血液科就诊的 6 例伴胸腔侵犯 MM 患者作为研究对象,诊断均符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2022 年修订)》^[1]中对 MM 的诊断标准,且胸水涂片和/或流式细胞术(flow cytometry, FCM)检出骨髓瘤细胞。对 MM 患者的实验室检查结果及临床特征进行回顾和分析,收集患者实验室检验指标[包括血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血钙(Ca^{2+})、血肌酐(serum creatinine, SCr)、血清免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)、血清蛋白、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、 β -2-微球蛋白(β 2-microglobulin, β 2-MG)]、免疫固定电泳(isoelectric focusing electrophoresis, IFE)结果、初诊时骨髓涂片瘤细胞百分比以及遗传学检查结果等临床资料。

1.2 仪器与试剂 FC-500 流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特有限公司,奥林巴斯 Bx53 显微镜购自日本奥林巴斯株式会社;荧光素标记单克隆抗体为美国贝克曼库尔特有限公司生产,EDTA 抗凝管购自威海鸿宇医疗器械有限公司,瑞氏-吉姆萨染液购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 胸腔积液细胞形态学检查 采集所有受检者胸腔积液标本,置入乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝管,并在 2 h 内送检。以 $1\ 000\times g$ 离心 5 min,弃去上清液,吸取少许沉淀,采用推片法制作有尾薄片、有尾厚片以及无尾厚片各 2 张,进行瑞氏-吉姆萨染色。由两位有经验的工作人员双审阅片,选择厚片在低倍显微镜下观察全片,选择薄片细胞清晰易辨认的区域,在油镜下观察,分类计数 200 个有核细胞。

1.3.2 采用 FCM 检测胸腔积液细胞免疫表型 荧光素标记单克隆抗体包括 CD38-FITC、CD138-PE、CD19-PC5、Kappa-FITC、Lambda-PE、CD45-PC7、CD56-PC5、CD117-ECD。采集标本后于 4 °C 保存,在 24 h 内上机,CD45/SSC 配合 CD38/CD138 设门。

1.3.3 荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 采用 FISH 检测细胞遗传学异常(cytogenetic abnormality, CA),标本外送至天津血液病研究所,检测 MM 常见的 CA: $1q+$ 、 $17p-$ 、 $t(4; 14)$ 、 $t(14; 16)$ 、 $t(14; 20)$ 、 $13q-$ 、 $t(11; 14)$ 、IgH 重排($14q32$)。

2 结果

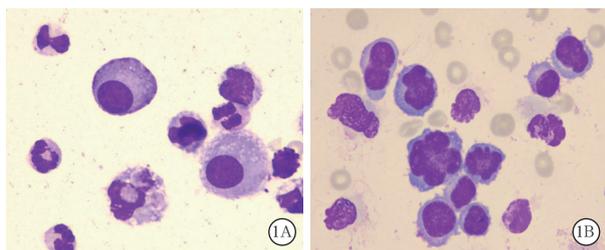
2.1 临床资料及实验室检查结果 6 例伴胸腔侵犯 MM 患者的实验室检查结果及临床信息见表 1。6 例患者中,初诊时有高血钙 3 例,肾功能受损 4 例,中度贫血 5 例,轻度贫血 1 例;LDH 水平升高 2 例, β 2-MG 水平升高 6 例,白蛋白降低 5 例。骨髓涂片瘤细胞百分比为 12.0%~76.5%, $<20\%$ 、 $20\% \sim 50\%$ 、 $>50\%$ 分别为 1、3、2 例。免疫固定电泳结果: IgG 型 1 例、IgA 型 4 例、轻链 λ 型 1 例。2 例初诊时伴胸腔积液,4 例在治疗过程中瘤细胞累及胸膜,分别第 3、3、5 和 14 个月发生。

2.2 胸腔积液检查 6 例患者胸水均为渗出液,外观黄色、微浑或浑浊 4 例,血性浑浊 2 例,李凡他试验阳性,腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA) $>20\text{ U/L}$ 4 例;白细胞计数(white blood cell count, WBC) $2.48(0.20 \sim 7.04) \times 10^9/\text{L}$,可见数量不等的骨髓瘤细胞($1\% \sim 93\%$)。见图 1。4 例患者行 FCM 检测免疫表型:瘤细胞表达 CD38(4 例)、CD117(4 例),

表 1 6 例 MM 患者的临床资料及实验室检查结果

病例	性别	年龄 (岁)	Hb (g/L)	SCr (umol/L)	LDH (U/L)	β 2-MG (ug/ml)	Ca ²⁺ (mmol/L)	白蛋白 (g/L)	IFE	骨髓涂片瘤细胞比例 (%)	DS 分期
1	女性	49	84	60.0	196	2.67	2.43	34.2	IgA κ	45.0	III A
2	男性	75	64	181.0	145	14.71	3.24	26.6	轻链 λ	64.0	III B
3	男性	83	58	64.6	132	4.19	1.96	31.7	IgA λ	36.0	III A
4	女性	55	66	188.9	90	7.69	3.47	32.4	IgA κ	76.5	III B
5	男性	54	63	130.4	262	19.80	2.52	26.3	IgG κ	27.5	III A
6	男性	55	104	112.0	1122	7.43	2.72	42.3	IgA κ	12.0	III A

注: MM 为多发性骨髓瘤, Hb 为血红蛋白, SCr 为血肌酐, LDH 为乳酸脱氢酶, β 2-MG 为 β 2-微球蛋白, Ca²⁺ 为血钙, IFE 为免疫固定电泳



注: 1A 为患者 2, 1B 为患者 4

图 1 2 例多发性骨髓瘤患者胸水中骨髓瘤细胞 (瑞氏-吉姆萨染色, 1 000 \times)

细胞质轻链限制性表达[κ 轻链 3 例, λ 轻链 1 例], 部分表达 CD138 (3 例)、CD56 (3 例), 不表达 CD19。

2.3 荧光原位杂交 FISH 检测 CA 6 例患者细胞遗传学异常的检出率为 83.33% (5/6), 其中 1q+ 检出 3 例, 17p- 检出 1 例, t(4; 14) 检出 2 例, t(14; 16) 未检出, t(14; 20) 未检出, 13q- 检出 1 例, t(11; 14) 检出 2 例, IgH 重排 (14q32) 检出 3 例。

3 讨论

MM 多发于老年人群, 在我国是血液系统第 2 位常见恶性肿瘤, 目前仍无法治愈^[3]。MM 髓外病变一般有两种形式: ① 瘤细胞累及骨皮质, 然后浸润临近软组织, 称为髓外骨旁浆细胞瘤 (extramedullary-bone related, EM-B), 受累部位常见于临近椎骨、肋骨、胸骨、颅骨; ② 瘤细胞通过血液循环转移至骨髓远端器官或组织, 常见受累部位有皮肤、肝脏、胸膜、肾脏等, 形成髓外软组织浆细胞瘤 (extramedullary extraosseous, EM-E)。Damaj 等^[4]报道了 19 例髓外软组织浆细胞瘤患者, 最常见的浸润部位为胸膜, 其次为软组织、淋巴结, 侵犯胸膜的发生机制与瘤细胞归巢受阻、侵袭能力增强以及血管生成能力增强等有关。王静等^[5]认为 EM-B 患者与 EM-S 患者有不同的临床特征及预后, 后者的预后明显较前者差, 蛋白酶体抑制剂可延长 EM-S 患者的无进展生存期 (progression-free survival, PFS)。

MM 患者发生胸腔积液的原因包括肺部感染、

低蛋白血症、肿瘤细胞胸膜浸润、静脉回流受阻等, 对此类患者首先应明确胸腔积液是否为肿瘤胸膜转移所致, 积液中找到异常浆细胞是确诊骨髓瘤细胞胸膜浸润的主要依据。胸腔积液细胞学诊断具有快速、微创、价廉、可重复检查等优点, 但对形态学特征不典型的恶性细胞则不能准确判断其来源, 且形态学诊断有一定的主观性, 可受多种因素影响: ① 肿瘤细胞分化程度, 异型性低的骨髓瘤细胞无法与正常浆细胞区分, 异型性越小, 细胞学诊断价值越低^[6]; ② 浆细胞在离体后或处理标本时易破碎, 因而胸腔积液标本的质量 (包括送检是否及时、涂片的优良率等) 尤为重要; ③ 阅片人员的经验很重要, 本研究标本制成有尾薄片、有尾厚片及无尾厚片, 采用高年资人员双审制度, 能提高瘤细胞检出率。

FCM 是 MM 诊断和分型的重要依据^[7]。通常骨髓瘤细胞表达 CD138、CD38, 不表达或弱表达 CD45, 因此 CD38、CD138 可以作为识别浆细胞的特异性标志物^[8]。本研究采用 CD45/SSC 配合 CD38/CD138 设门方法来识别和分选骨髓瘤细胞。CD138 在细胞的生长和迁移中具有重要的调控作用, 在表达缺失时, 骨髓瘤细胞不能与基质细胞相互黏附, 而进入血浆中引起播散, 导致患者预后不良。CD56 是细胞黏附分子, 其介导的信号通路可能对骨髓瘤细胞与骨髓微环境的相互作用具有很重要的调节作用, 瘤细胞完全脱离骨髓微环境生长可能与 CD56 进一步减少有关^[5]。CD56 可在骨髓瘤细胞中表达, 而在正常浆细胞中不表达, 因此是区分良性与恶性浆细胞的重要标志物。有研究表明, CD56⁻ MM 患者的 β 2-MG 和 Ig 水平均明显高于 CD56⁺ 的患者, 且具有更高的髓外病变和肾功能损伤比例, 总生存期 (overall survival, OS) 明显缩短^[9]。邱荃等^[10]研究表明, CD56⁺ 患者预后较好, 且 PFS 和 OS 较 CD56⁻ 患者均明显延长。本研究中 4 例患者胸水骨髓瘤细胞表达 CD38 (4 例)、CD138 (3 例)、CD56 (3 例)。

CA 是 MM 发生和疾病进展的驱动因素^[11],也是决定 MM 预后的关键因素之一,已成为 MM 危险分层/预后评价体系的核心指标,因此遗传学检查对 MM 的精准治疗至关重要。MM 的 CA 多为可累及任一或数条染色体的复杂核型异常^[12], 1q+、17p-、t(4; 14)、t(14; 16)、t(14; 20)被列为 MM 的高危 CA^[13]。Grzasko 等^[14]研究表明,伴 1q+ 的患者瘤细胞表现出较高的侵袭性,包括广泛的骨质、髓外及中枢神经系统受累; 17p- 患者的 PFS 及 OS 均较未缺失者明显缩短^[15]。陈婷等^[16]报道 t(4; 14) 异常可能与 EM-S 发病相关。原瑞凤等^[17]报道我国携带高危 CA 的 MM 患者约占全部患者的 58%。本组 6 例患者中有 5 例检出 CA, 携带高危 CA 的数量分别为 1、0、2、2、0、1 种。

MM 时骨髓瘤细胞分泌大量的 M 蛋白,免疫固定电泳能对 M 蛋白进行分型,特异度和敏感度均较高,在 MM 的临床分期及预后评估中具有重要意义^[18]。MM 中 IgG 型约占 40%~50%, IgA 型约占 15%~20%,轻链型约占 15%~20%。黄蓓晖等^[2]研究结果显示,骨髓瘤细胞髓外浸润可能与 Ig 的类型有关。Raci-wetherbee 等^[19]报道浆细胞胸膜侵犯患者中 40% 为 IgG 型。本组患者中免疫固定电泳证实 IgG 型 1 例、IgA 型 4 例、轻链 λ 型 1 例,可能与纳入本组的病例数较少有关。伴胸腔侵犯 MM 与 M 蛋白种类之间的关联性尚需更多病例进一步验证。

综上所述,伴胸腔侵犯 MM 初诊时有典型 CRAB 症状,胸水中可见骨髓瘤细胞,且瘤细胞表达 CD38、CD138 和 CD56,患者多携带高危 CA。胸水细胞形态学和 FCM 免疫表型检查是伴胸腔侵犯 MM 诊断的主要依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2022 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(5): 480-487. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20220309-00165.
- 2 黄蓓晖,李娟,刘俊茹,等. 多发性骨髓瘤并发髓外浸润的临床分析[J]. 临床血液学杂志, 2011, 24(2): 151-154, 157. DOI: 10.3969/j.issn.1004-2806.2011.02.008.
- 3 WANG S, XU L, FENG J, et al. Prevalence and incidence of multiple myeloma in Urban Area in China: a national population-based analysis [J]. Front Oncol, 2019, 9: 1513. DOI: 10.3389/fonc.2019.01513.
- 4 DAMAJ G, MOHTY M, VEY N, et al. Features of extramedullary and extraosseous multiple myeloma: a report of 19 patients from a single

- center [J]. Eur J Haematol, 2004, 73(6): 402-406. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2004.00331.x.
- 5 王静,张丽娜,史青林,等. 伴髓外病变的初诊多发性骨髓瘤患者临床特征及预后分析[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(10): 822-828. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.10.006.
- 6 于宝江,高胜海. 多发性骨髓瘤合并胸膜侵犯 1 例[J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8(2): 122-123. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.017.
- 7 CARULLI G, OTTAVIANO V, CANNIZZO E, et al. Multiparameter immunophenotyping by flow cytometry as a diagnostic tool in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance [J]. Clin Ter, 2012, 163(5): 387-392. DOI: 10.1586/ERI.12.88.
- 8 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. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2015.01.026.
- 9 SAHARA N, TAKESHITA A, SHIGENO K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2002, 117(4): 882-885. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03513.x.
- 10 邱荃,朱平,王茫桔,等. 初诊多发性骨髓瘤患者 CD56 与 CD19 表达与染色体核型及预后的关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(4): 1071-1078. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2016.04.021.
- 11 KUMAR S K, RAJKUMAR S V. The multiple myelomas: current concepts in cytogenetic classification and therapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(7): 409-421. DOI: 10.1038/s41571-018-0018-y.
- 12 吴昊,张慧,何海燕,等. 532 例多发性骨髓瘤患者细胞遗传学异常及对预后的影响[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(9): 739-743. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.09.002.
- 13 SONNEVELD P, AVET-LOISEAU H, LONIAL S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group [J]. Blood, 2016, 127(24): 2955-2962. DOI: 10.1182/blood-2016-01-631200.
- 14 GRZASKO N, HUS M, PLUTA A, et al. Additional genetic abnormalities significantly worsen poor prognosis associated with 1q21 amplification in multiple myeloma patients [J]. Hematol Oncol, 2013, 31(1): 41-48. DOI: 10.1002/hon.2018.
- 15 丁路,周美玲,左学兰,等. 17 号染色体缺失与乳酸脱氢酶相关性研究及其对多发性骨髓瘤预后的影响[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(1): 115-118, 119. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.01.031.
- 16 陈婷,何国民,蔡亚云,等. 多发性骨髓瘤髓外病变的临床特征分析[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(14): 2510-2515. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2021.14.025.
- 17 原瑞凤,董玉君,李春蕊,等. 初治多发性骨髓瘤患者细胞遗传学异常流行病学的多中心回顾性研究[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(1): 10-15. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.01.003.
- 18 崇慧峰,孙芸,王传发,等. 免疫固定电泳和骨髓细胞形态学检查在多发性骨髓瘤临床分期中的价值比较[J]. 检验医学, 2015, 30(7): 720-722. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2015.07.012.
- 19 RACI-WETHERBEE E, DINCER H E. IgG myeloma presenting as a large mediastinal mass and pleural effusion [J]. J Bronchology Interv Pulmonol, 2012, 19(1): 65-67. DOI: 10.1097/LBR.0b013e31823fcc5b.

(收稿日期: 2023-01-23)

(本文编辑: 郜文)