

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.17.011

骨髓细胞形态学与多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤检测中的应用*

何 丽¹, 刘莲芳², 周 谦¹, 周勤峰^{1△}

南京中医药大学附属张家港医院:1. 检验科;2. 肿瘤科, 江苏张家港 215600

摘 要:目的 探讨骨髓细胞形态学与多参数流式细胞术这两种方法在多发性骨髓瘤(MM)诊断中的应用价值。方法 选取 2019 年 10 月至 2021 年 5 月于该院就诊的 MM 患者 36 例为研究对象,其中初诊患者 19 例(新发组),复查患者 17 例(复诊组)。根据骨髓细胞形态学检测出浆细胞比例的结果将 36 例 MM 患者分成以下 3 组:A 组浆细胞比例 $\geq 30\%$;B 组浆细胞比例在 $10\% \sim < 30\%$;C 组浆细胞比例 $< 10\%$ 。分析两种方法检测 MM 患者浆细胞比例的相关性、差异性、诊断敏感性,以及多参数流式细胞术检测 cKappa/cLambda 的阳性例数。比较 MM 患者新发组和复诊组两种方法检测的敏感性。结果 两种方法检测浆细胞比例的结果呈正相关($r=0.786, P<0.05$)。骨髓细胞形态学检测浆细胞比例的结果为 $(25.72 \pm 8.33)\%$,多参数流式细胞术检测浆细胞比例的结果为 $(11.48 \pm 3.29)\%$,差异有统计学意义($P<0.05$)。A、B、C 这 3 组中多参数流式细胞术检测浆细胞比例的敏感性分别为 80.00% 、 50.00% 、 0.00% ,骨髓细胞形态学检测浆细胞比例的敏感性分别为 100.00% 、 100.00% 、 0.00% 。两种方法在新发组和复诊组中的敏感性比较,差异无统计学意义($P=0.833$ 、 0.825)。采用多参数流式细胞术检测 C 组 cKappa/cLambda 的阳性例数有 12 例。结论 骨髓细胞形态学与多参数流式细胞术的联合应用可以提高 MM 异常浆细胞的检测率,减少漏诊率。

关键词:多发性骨髓瘤; 骨髓细胞形态学; 多参数流式细胞术

中图法分类号:R738.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)17-2349-04

Application of bone marrow cell morphology and multiparameter flow cytometry in the detection of multiple myeloma*

HE Li¹, LIU Lianfang², ZHOU Qian¹, ZHOU Qinfeng^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Oncology, Zhangjiagang Hospital Affiliated to Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiagang, Jiangsu 215600, China

Abstract: Objective To investigate the value of bone marrow cell morphology and multiparameter flow cytometry in the diagnosis of multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 36 MM patients who were treated in this hospital from October 2019 to May 2021 were selected as the research objects, including 19 newly diagnosed patients (new-onset group) and 17 reexamination patients (follow-up group). According to the results of the proportion of plasma cells detected by bone marrow cell morphology, 36 patients with MM were divided into the following three groups: the proportion of plasma cells in group A was $\geq 30\%$; the proportion of plasma cells in group B was $10\% - < 30\%$; the proportion of plasma cells in group C was $< 10\%$. The correlation, difference and diagnostic sensitivity of the two methods for detecting the proportion of plasma cells in MM patients, as well as the number of positive cases of cKappa/cLambda detected by multiparameter flow cytometry were analyzed. The sensitivity of the two methods was compared between the new-onset group and the follow-up group of MM patients. **Results** The results of the two methods for detecting the proportion of plasma cells were positively correlated ($r=0.786, P<0.05$). The percentage of plasma cells detected by bone marrow cell morphology was $(25.72 \pm 8.33)\%$, and the percentage of plasma cells detected by multiparameter flow cytometry was $(11.48 \pm 3.29)\%$, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). In groups A, B, and C, the sensitivity of multiparameter flow cytometry to detect the proportion of plasma cells were 80.00% , 50.00% , and 0.00% , respectively, respectively, and the sensitivity of bone marrow cell morphology to detect the proportion of plasma cells were 100.00% , 100.00% , 0.00% , respectively. There was no significant differ-

* 基金项目:江苏省苏州市临床重点病种诊疗技术专项项目(LCZX202018);江苏省张家港市科技计划项目(ZKS2022、ZKS2037)。

作者简介:何丽,女,副主任技师,主要从事血液学相关研究。△ 通信作者, E-mail:zhouqinfeng520@163.com。

ence in the sensitivity of the two methods in the new-onset group and the follow-up group ($P=0.833, 0.825$). There were 12 positive cases of cKappa/cLambda in group C detected by multiparameter flow cytometry. **Conclusion** The combined application of bone marrow cell morphology and multiparameter flow cytometry can improve the detection rate of abnormal plasma cells in MM and reduce the missed diagnosis rate.

Key words: multiple myeloma; bone marrow cell morphology; multiparameter flow cytometry

多发性骨髓瘤(MM)是以骨髓中恶性浆细胞异常增生和聚集为特征的一种恶性肿瘤,同时伴随广泛的浸润,浸润范围包括淋巴结、骨质、肝脾、神经系统等^[1]。MM好发于中老年人群,随着年龄的增长发病率逐渐升高^[2]。临床表现主要为贫血、高钙血症、肾功能不全、溶骨性损伤等^[3]。由于MM的临床表现多样化,在临床工作中容易将其首发症状诊断为相应的常见病,因此误诊和漏诊率比较高^[4-5]。本研究通过回顾性分析本院近年来已经确诊的36例MM患者骨髓细胞形态学与多参数流式细胞术检查结果,分析其相关性,以加强临床医生对MM诊断的认识,提高MM的检出率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年10月至2021年5月于本院就诊的MM患者36例为研究对象,其中初诊患者19例(新发组),复查患者17例(复诊组);36例患者中男20例、女16例,年龄36~83岁,患者均符合《血液学诊断与疗效标准》中相关诊断标准^[6]。根据骨髓细胞形态学检测出浆细胞比例的结果将36例MM患者分成以下3组:A组浆细胞比例≥30%;B组浆细胞比例在10%~<30%;C组浆细胞比例<10%。

1.2 仪器与试剂 流式细胞仪为BD FACS Calibur,检测抗体为CD19、CD56、CD117、CD138、CD81、CD27、CD38、CD45、胞质cLambda、胞质cKappa的混合抗体,骨髓细胞形态学检测主要通过刘氏染液染色观察。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 经患者知情同意,按常规方法进行骨髓穿刺术,取0.2 mL骨髓液进行推片以备骨髓细胞形态学检测;此外,另取2 mL骨髓液置于肝素锂抗凝管做多参数流式细胞学检测,所有标本在6 h内完成上机检测。

1.3.2 骨髓细胞形态学检查 待骨髓推片自然干燥后,行刘氏染色5 min,用流水冲洗、晾干。显微镜下镜检并按细胞的种类、发育阶段分类计数200~500个有核细胞,计算出各类细胞的百分率,包括粒系、红系、淋巴细胞系、单核细胞系、浆细胞及组织网状细胞等。其中以浆细胞≥10%并伴有形态异常为MM的诊断标准。

1.3.3 多参数流式细胞术分析 按说明书提供的多

参数流式细胞术细胞表面抗原及胞内抗原方法进行标记,在试管中加入50 μL骨髓抗凝血和相关荧光标记抗体各2 μL,涡旋混匀后避光孵育15 min,加入氯化铵溶血剂,涡旋混匀后再避光放置10 min。洗涤、离心去除上清液,加入生理盐水重悬并通过流式细胞仪进行检测,分析骨髓细胞抗原表达荧光强度及荧光阳性细胞百分率,其中阳性定义为细胞膜抗原表达超过20%。

1.4 统计学处理 采用SPSS23.0和GraphPad Prism 8.0软件进行数据处理和分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两种方法检测浆细胞比例的相关性分析 36例患者中,A组15例,占41.67%;B组6例,占16.67%;C组15例,占41.67%。两种方法检测浆细胞比例的结果呈正相关($r=0.786, P<0.05$);此外,两种检测方法检测浆细胞比例的结果在A组、B组中不相关($r=0.425, 0.033, P>0.05$),但在C组中呈正相关($r=0.734, P<0.05$)。

2.2 两种方法检测MM患者的浆细胞比例的结果比较 骨髓细胞形态学检测浆细胞比例为 $(25.72 \pm 8.33)\%$,多参数流式细胞术检测浆细胞比例为 $(11.48 \pm 3.29)\%$,结果比较差异有统计学意义($P<0.05$);此外,两种检测方法检测浆细胞比例在A组、C组中比较,差异有统计学意义($P<0.05$),但在B组中比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 两种方法检测浆细胞比例的结果比较($\bar{x} \pm s, \%$)				
组别	<i>n</i>	骨髓细胞形态学	多参数流式细胞术	<i>P</i>
A组	15	51.57±14.32	22.58±7.54	<0.05
B组	6	17.08±5.14	10.67±3.00	>0.05
C组	15	3.33±1.39	0.70±0.07	<0.05

2.3 两种方法检测浆细胞比例对诊断MM患者的敏感性比较 A、B、C这3组中多参数流式细胞术检测浆细胞比例≥10%的例数分别有12例、3例、0例,骨髓细胞形态学检测浆细胞比例≥10%的例数分别有15例、6例、0例;36例MM患者中,骨髓细胞形态学检测浆细胞比例≥10%的总例数有21例,敏感性为58.33%;多参数流式细胞术检测浆细胞比例≥10%

的总例数有 15 例,敏感性为 41.67%。见表 2。

表 2 两种方法检测浆细胞比例对诊断 MM 的敏感性比较(%)

组别	n	骨髓细胞形态学敏感性	多参数流式细胞术敏感性
A 组	15	100.00	80.00
B 组	6	100.00	50.00
C 组	15	0.00	0.00

2.4 两种方法在新发组和复诊组中的敏感性比较
结果显示,两种方法在新发组和复诊组中的敏感性比较,差异无统计学意义($P=0.833,0.825$),见表 3、4。

表 3 骨髓细胞形态学在新发组和复诊组中的敏感性比较(n)

组别	n	浆细胞比例≥10%	浆细胞比例<10%
新发组	19	15	4
复诊组	17	6	11

表 4 多参数流式细胞术在新发组和复诊组中的敏感性比较(n)

组别	n	浆细胞比例≥10%	浆细胞比例<10%
新发组	19	11	8
复诊组	17	4	13

2.5 多参数流式细胞术检测 cKappa、cLambda 的情况统计
A、B、C 这 3 组中多参数流式细胞术检测 cKappa/cLambda 的阳性例数共有 33 例,A、B、C 组中阳性例数分别有 15 例、6 例、12 例。

3 讨 论

骨髓细胞形态学检查在血液系统疾病临床诊断中有重要作用,它能够清晰地显示 MM 细胞的形态特征,尤其是单克隆浆细胞,可作为 MM 的诊断标准之一^[7]。MM 中单克隆浆细胞比例一般≥10%且形态异常,胞体体积较大,常成堆出现。尽管如此,但由于浆细胞在骨髓中为灶性分布,导致临床上不同部位穿刺的肿瘤细胞差异较大,部分分化良好的浆细胞与正常浆细胞在形态学上非常难区分^[8],因此早期诊断 MM 比较困难。若该病未得到有效治疗,病情发展至晚期,会导致疗效不佳或患者失去治疗机会^[9]。

近年来,随着对 MM 研究的不断深入、诊断及治疗要求的不断提高和完善,MM 的诊断模式已从单纯的骨髓细胞形态学逐步扩展为与细胞生物学及临床医学相结合^[10]。例如多参数流式细胞术为 MM 的精确诊断、治疗及预后判断提供了越来越多试验依据。尤其是多参数流式细胞术能够客观、快捷、准确地定量检测单个细胞的膜上或者胞内表达的多种抗原成分,提高了 MM 检测的灵敏度,逐渐成为 MM 诊断的常规方法^[11-12]。本研究结果显示,36 例 MM 患

者中,骨髓细胞形态学检测浆细胞比例的与多参数流式细胞术检测浆细胞比例呈正相关($r=0.786,P<0.05$),骨髓细胞形态学检测浆细胞比例的结果较多参数流式细胞术高($P<0.05$),与相关研究结果一致^[13]。此外,两种方法检测浆细胞比例结果在 A 组、C 组中比较,差异有统计学意义($P<0.05$),但在 B 组中比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。以上结果说明骨髓细胞形态学在检测浆细胞的“量”上有明显优势,造成多参数流式细胞术检测的浆细胞比例要比骨髓细胞形态学比例少的原因可能为多参数流式细胞术检测浆细胞易被破坏。此外,在骨髓细胞形态学与多参数流式细胞术检测浆细胞比例对诊断 MM 的敏感性分析中比较发现,骨髓细胞形态学在检测浆细胞比例敏感性方面较多参数流式细胞术高。进一步以新发及复诊患者分层,比较在新发组和复诊组中两种检测方法的敏感性,结果显示骨髓细胞形态学和多参数流式细胞术在新发组和复诊组中敏感性差异无统计学意义($P>0.05$),说明复诊治疗患者并不影响两种检测方法诊断 MM 的敏感性。

cKappa 轻链、cLambda 轻链为 MM 中异常浆细胞的标志特征之一^[14]。本研究结果显示,A 组、B 组、C 组这 3 组中采用多参数流式细胞术检测到的 cKappa/cLambda 阳性例数分别有 15 例、6 例、12 例,结果表明在浆细胞比例<10%时多参数流式细胞术对 MM 的诊断有提示作用,可以敏感地检测出异常浆细胞。

骨髓细胞形态学一直以来在 MM 浆细胞比例检测方面存在着不可替代的作用,但由于其局限性,多参数流式细胞术的应用可以提高 MM 异常浆细胞的检测率,从而减少漏诊率。此外,多参数流式细胞术可通过对标本进行多参数分析,应用范围更大,可同时检测到异常浆细胞表面和胞内多个抗原,为判断疾病进展、靶向治疗及预后监测等提供有力依据^[15-16]。因此,有条件的实验室,可联合两种检验方法进行 MM 的检测,从而提高 MM 的检出率。

参考文献

[1] 杨珉钰,高素君,靳风艳,等. 105 例初诊多发性骨髓瘤患者微小残留病的动态监测及其预后价值[J]. 中华血液学杂志,2019,40(7):584-588.

[2] KAZANDJIAN D. Multiple myeloma epidemiology and survival;a unique malignancy[J]. Semin Oncol,2016,43(6):676-681.

[3] RAJKUMAR S V. Multiple myeloma;every year a new standard[J]. Hematol Oncol,2019,37(1):62-65.

[4] 程薇,李玉龙,黄洲风,等. 血清免疫固定电泳分型结合流式细胞术免疫表型分析在诊断多发性骨髓瘤中的作用[J]. 广东医学,2018,39(2):265-267. (下转第 2357 页)

- (2):305-319.
 - [7] OBOKATA M, REDDY Y N V, BORLAUG B A. Diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction: understanding mechanisms by using noninvasive methods[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2020, 13(2):245-257.
 - [8] BIANCO C M, FARJO P D, GHAFAR Y A, et al. Myocardial mechanics in patients with normal LVEF and diastolic dysfunction[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2020, 13(2):258-271.
 - [9] VON HAEHLING S, JANKOWSKA E A, MORGENTHALER N G, et al. Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in predicting survival in patients with chronic heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 50(20):1973-1980.
 - [10] NAGUEH S F, ABRAHAM T P, AURIGEMMA G P, et al. Interobserver variability in applying American society of echocardiography/European association of cardiovascular imaging 2016 guidelines for estimation of left ventricular filling pressure[J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2019, 12(1):e008122.
 - [11] MAISEL A, MUELLER C, NOWAK R, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial[J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 55(19):2062-2076.
 - [12] TRETJAK M, VEROVNIK F, BENKO D, et al. Tissue doppler velocities of mitral annulus and NT-proBNP in patients with heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2005, 7(4):520-524.
 - [13] FLINT K M, SHAH S J, LEWIS E F, et al. Variation in clinical and patient-reported outcomes among complex heart failure with preserved ejection fraction phenotypes[J]. ESC Heart Fail, 2020, 7(3):811-824.
 - [14] RØRTH R, JHUND P S, YILMAZ M B, et al. Comparison of BNP and NT-proBNP in patients with heart failure and reduced ejection fraction[J]. Circ Heart Fail, 2020, 13(2):e006541.
 - [15] SANTAGUIDA P L, DON-WAUCHOPE A C, OREMUS M, et al. BNP and NT-proBNP as prognostic markers in persons with acute decompensated heart failure: a systematic review[J]. Heart Fail Rev, 2014, 19(4):453-470.
 - [16] MASSON S, LATINI R, CARBONIERI E, et al. The predictive value of stable precursor fragments of vasoactive peptides in patients with chronic heart failure: data from the GISSI-heart failure (GISSI-HF) trial[J]. Eur J Heart Fail, 2010, 12(4):338-347.
 - [17] FUNKE-KAISER A, HAVULINNA A S, ZELLER T, et al. Predictive value of midregional pro-adrenomedullin compared to natriuretic peptides for incident cardiovascular disease and heart failure in the population-based FINRISK 1997 cohort[J]. Ann Med, 2014, 46(3):155-162.
- (收稿日期:2021-11-06 修回日期:2022-05-28)
-
- (上接第 2351 页)
- [5] 靳小可, 黄东平. 多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤微小残留病变检测中的应用进展[J]. 安徽医药, 2018, 22(7):1223-1226.
 - [6] 张之南, 沈悌. 血液学诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京:北京科学出版社, 1998.
 - [7] STEINER N, HAJEK R, SEVCIKOVA S, et al. The plasma levels of the angiogenic cytokine endocan are elevated in patients with multiple myeloma[J]. Anticancer Res, 2018, 38(9):5087-5092.
 - [8] 黄国虹, 李智伟, 王昌敏. 不同免疫表型多发性骨髓瘤患者外周血淋巴细胞亚群分析[J]. 肿瘤研究与临床, 2018, 30(3):176-179.
 - [9] 许艳洁, 张翼鹭. 微小残留病检测在多发性骨髓瘤移植后患者中的应用现状与思考[J]. 中国肿瘤临床, 2018, 10(11):548-552.
 - [10] 王璐. 比较三种不同实验室检测方法在多发性骨髓瘤诊断及残留病灶检测的应用价值[D]. 郑州:郑州大学, 2016.
 - [11] MORICE W G, HANSON C A, KUMAR S, et al. Novel multi-parameter flow cytometry sensitively detects phenotypically distinct plasma cell subsets in plasma cell proliferative disorders[J]. Leukemia, 2007, 21(9):2043-2046.
 - [12] 唐洁, 梁效功, 薛丽, 等. 多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤早期诊断中的应用价值[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, 26(2):236-239.
 - [13] 路军. 细胞形态学与流式细胞术在诊断多发性骨髓瘤中的价值比较[D]. 安徽:安徽医科大学, 2019.
 - [14] 郭冬芳, 张爱荣, 钟亚平, 等. 多发性骨髓瘤患者免疫表型特征分析[J]. 现代医用影像学, 2018, 27(3):1056-1058.
 - [15] 靳小可, 黄东平. 多参数流式细胞术在多发性骨髓瘤微小残留病变检测中的应用进展[J]. 安徽医药, 2018, 22(7):1223-1226.
 - [16] 林阳, 万岁桂. 多参数流式细胞术免疫表型分析在多发性骨髓瘤诊疗中的应用[J]. 肿瘤学杂志, 2020, 26(2):102-105.
- (收稿日期:2021-12-06 修回日期:2022-05-08)