

• 论 著 •

高免疫球蛋白血症多发性骨髓瘤 临床与实验室综合分析

白志瑶 包艳 戴宏斌 李晓东 朱星成 尹春琼

作者单位: 655000 云南曲靖, 曲靖市第二人民医院检验科

通信作者: 白志瑶, Email: bzy3339399@sohu.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.011

【摘要】 目的 分析多发性骨髓瘤(MM)的临床症状特征和实验室相关指标,了解 MM 的发病特点,减少临床及实验室误诊、漏诊。**方法** 选择 2014 年 5 月—2019 年 12 月在曲靖市第二人民医院住院的 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者作为研究对象,另选本院 20 例健康体检人群作为正常对照组。使用 Olympus BX53 显微镜观察原始、幼稚浆细胞形态学及比例;使用日本 Sysmex-XT 4000 I、Sysmex-XN 9000 血细胞分析仪及配套试剂进行血液细胞分析;使用法国 Sebia-Hydras 2 全自动电泳分析仪及配套试剂进行血清蛋白电泳和血清免疫固定电泳检测,根据检测结果进行免疫球蛋白分型;使用美国 BD 公司 BD FACS Cantoll 三激光八色通道进行骨髓流式细胞免疫分型;使用德国 SIEMENS BN II 特定蛋白仪及配套试剂进行免疫球蛋白、血 κ 和血 λ 定量检测。分析所有受检者的临床症状及实验室检查资料。**结果** 20 例 MM 患者均有不同程度贫血表现,以中度正细胞贫血最多见(占 45%);临床以骨质疏松、骨痛、腰痛最常见(占 85%);MM 组免疫球蛋白 G(IgG)升高 12 例, IgA 升高 7 例, IgM 升高 1 例。MM 组 IgG 型的 IgG 水平和 IgA 型的 IgA 水平均较正常对照组明显升高 [IgG(g/L): 62.05 ± 19.50 比 8.33 ± 6.59 , IgA(g/L): 33.99 ± 23.63 比 1.57 ± 1.12 , 均 $P < 0.05$]。MM 组 κ 型 14 例,血清 κ 为 (21.53 ± 12.53) g/L; λ 型 6 例,血清 λ 为 (15.26 ± 6.27) g/L。20 例骨髓涂片均检出原始和幼稚浆细胞,平均 $(32.27 \pm 20.41)\%$; 20 例血清蛋白电泳均检出 M 蛋白,平均 $(46.32 \pm 14.88)\%$ 。免疫固定电泳显示:20 例 MM 患者中, IgG κ 型 8 例, λ 型 4 例; IgA κ 型 5 例、 λ 型 2 例; IgM κ 型 1 例。MM 组 10 例行流式细胞免疫分型患者均检出单克隆浆细胞, 9 例表达 CD38, 9 例表达 CD56, 5 例表达 CD138, 2 例表达 CD27, 1 例表达 CD13, 1 例表达 CD200, 胞质 κ 限制表达 7 例, 胞质 λ 限制表达 3 例。尿蛋白和本周蛋白以两者均阳性最多见(占 40%),其次为尿蛋白定性阴性+本周蛋白阳性(占 25%)。结合临床及实验室相关指标确诊 III 期 MM 患者 15 例、II A 期 4 例, II B 期 1 例。**结论** MM 临床表现复杂多样,首诊入住科室多,临床误诊、漏诊率较高,诊断 MM 时依据细胞形态学结合流式细胞免疫分型、蛋白电泳,能提高 MM 诊断及分期的准确性,为临床提供可靠依据。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 骨髓涂片; 流式细胞免疫分型; 蛋白电泳

Clinical and laboratory analysis of multiple myeloma with hyperimmunoglobulinemia

Bai Zhiyao, Bao Yan, Dai Hongbin, Li Xiaodong, Zhu Xingcheng, Yin Chunqiong. Department of Laboratory, the Second People's Hospital of Qujing City, Qujing 655000, Yunnan, China

Corresponding author: Bai Zhiyao, Email: bzy3339399@sohu.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical symptoms and laboratory indicators of multiple myeloma (MM), to understand the pathogenesis of MM, and to reduce misdiagnosis and missed diagnosis in clinic and laboratory. **Methods** Twenty-two MM patients with hyperimmunoglobulinemia admitted to the Second People's Hospital of Qujing City from May 2014 to December 2019 were selected as the study subjects, and 20 healthy subjects in our hospital were selected as the normal control group. The morphology and proportion of primary and juvenile plasma cells were observed by Olympus BX53 Microscope. Japanese Sysmex-XT 4000 I, Sysmex-XN 9000 Hematological Analyzer and auxiliary reagents were used for blood cell analysis. Serum protein electrophoresis and serum immunofixation electrophoresis were carried out by Sebia-Hydras 2 Automatic Electrophoresis Analyzer and its supporting reagents, and the immunoglobulin typing was carried out according to the test results. Bone marrow flow cytometry (FCM) immunotyping was performed using BD FACS Cantoll Three-laser Eight-color Channel. The quantitative detection of immunoglobulin, blood κ and blood λ were performed using Germany SIEMENS BN II Specific Protein Analyzer and auxiliary reagents. The clinical symptoms and laboratory examination data of all subjects were analyzed. **Results** All the 20 MM patients showed anemia of different degrees, and moderate positive cell anemia was the most common symptoms (45%). Osteoporosis, bone pain and Lumbar pain were the most

common (accounting for 85%) in clinic. In the MM group, immunoglobulin G (IgG) was increased in 12 cases, IgA in 7 cases and IgM in 1 case. IgG and IgA in MM group were significantly higher than those in normal control group [IgG (g/L): 62.05 ± 19.50 vs. 8.33 ± 6.59 , IgA (g/L): 33.99 ± 23.63 vs. 1.57 ± 1.12 , both $P < 0.05$]. There were 14 cases of κ type, the serum κ was (21.53 ± 12.53) g/L; 6 cases of λ type, the serum λ was (15.26 ± 6.27) g/L. Primary and juvenile plasma cells [(32.27 $\pm$ 20.41)%] were detected in all the 20 cases of bone marrow smear. M protein was detected by protein electrophoresis in all 20 cases, with an average of (46.32 ± 14.88)%. Immunofixation electrophoresis showed that among the 20 MM patients, 8 had IgG κ type, 4 had λ type, 5 had IgA κ type, 2 had λ type, and 1 had IgM κ type. Monoclonal plasma cells were detected in 10 patients undergoing FCM immunotyping, 9 cases expressing CD38, 9 cases expressing CD56, 5 cases expressing CD138, 2 cases expressing CD27, 1 case expressing CD13, 1 case expressing CD200, 7 cases with cytoplasm κ restrictive expression and 3 cases with cytoplasm λ restrictive expression. Urine protein and Bence-Jones protein both positive were the most (40%), followed by urine protein negative + weekly protein positive (25%). Combined with clinical and laboratory indicators, 15 patients were diagnosed with stage III MM, 4 patients with stage II A MM and 1 patient with stage II B MM. **Conclusions** The clinical manifestations of MM are complex and diverse, with many first-admitted departments, and the rate of clinical misdiagnosis and missed diagnosis is high. The accuracy of MM diagnosis and staging can be improved by combining cell morphology with FCM immunotyping and protein electrophoresis, which can provide reliable basis for clinical practice.

【Key words】 Multiple myeloma; Bone marrow smear; Flow cytometry immunotyping; Protein electrophoresis

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是恶性浆细胞在骨髓中克隆性增生的疾病,约占血液系统恶性肿瘤的 10%^[1],占恶性肿瘤的 1%~2%,欧美国家发病率约为 2~5/10 万人口,我国发病率约为 1/10 万人口^[2]。MM 临床表现复杂多样,多见于中老年人,主要表现为骨髓瘤细胞在骨髓中克隆性增殖,骨髓细胞分泌单克隆免疫球蛋白,正常的多克隆免疫球蛋白合成受到抑制,血清或尿液出现单克隆免疫球蛋白,并伴有贫血、肾功能衰竭和髓外浸润等。因 MM 首诊就诊科室和接诊医生多,易发生漏诊、误诊。本院 2014 年 5 月—2019 年 12 月共诊断 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 5 月—2019 年 12 月初在本院住院的 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者,男性 16 例,女性 4 例;年龄 38~80 岁,平均(64 ± 12)岁;所有病例的诊断均符合国内诊断标准^[3]。另选 20 例健康体检人群作为正常对照组。

1.2 检测方法

1.2.1 骨髓检查 使用 Olympus BX53 显微镜观察原始、幼稚浆细胞形态学及比例。

1.2.2 血液细胞分析 使用日本 Sysmex-XT 4000I、Sysmex-XN 9000 血细胞分析仪及配套试剂进行血液细胞分析。

1.2.3 蛋白电泳 使用法国 Sebia-Hydrys 2 全自动电泳分析仪和配套试剂进行血清蛋白电泳和免疫固定电泳检测,根据检测结果进行免疫球蛋白分型。

1.2.4 流式细胞免疫分型 使用美国 BD 公司 BD FACS Cantoll 三激光八色通道进行骨髓流式细胞免

疫分型。

1.2.5 免疫球蛋白定量 使用德国 SIEMENS BN II 特定蛋白仪及配套试剂进行免疫球蛋白、血 κ 和血 λ 定量检测。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 贫血类型 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者中,贫血类型以中度正细胞贫血最多见(占 45%),其中男性占 30%,女性占 15%。见表 1。

表 1 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者贫血类型

贫血类型	例数 (例)	占比 (%)	男性		女性	
			例数(例)	占比(%)	例数(例)	占比(%)
中度正细胞贫血	9	45	6	30	3	15
轻度正细胞贫血	5	25	5	25	0	0
全血细胞减少	4	20	3	15	1	5
中度大细胞贫血	1	5	1	5	0	0
重度正细胞贫血	1	5	1	5	0	0

2.2 首诊入院情况 首诊以贫血、全血细胞减少收入血液科 10 例(2 例为外院诊断不清转入);以骨质疏松、骨痛、腰背痛收入骨科 3 例;以发热伴喘息收入呼吸内科 3 例;以纳差、乏力收入消化内科 1 例;以肾功能不全收入肾内科 1 例;以上腹部疼痛半年余收入肝胆外科 1 例;有肺癌、白内障病史收入眼科 1 例。

2.3 临床症状 临床症状以骨质疏松、骨痛、腰背痛最多见(占 85%)。见表 2。

2.4 免疫固定电泳类型 免疫固定电泳类型以 IgG 型为主,其中 κ 型最多见(占 40%)。见表 3。

表 2 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者首诊临床症状

临床症状	例数(例)	占比(%)
骨质疏松、骨痛、腰椎痛	17	85
骨质疏松、骨痛、骨质破坏 合并肾功能不全	13	65
发热、咳嗽、咳嗽伴喘息	3	15
纳差、乏力	1	5
反复上腹痛半年余	1	5
有肺癌、白内障病史	1	5
肾衰竭血液透析	1	5

表 3 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者免疫固定电泳分型

电泳 类型	例数 (例)	κ 型		λ 型	
		例数(例)	占比(%)	例数(例)	占比(%)
IgG 型	12	8	40	4	20
IgA 型	7	5	25	2	10
IgM 型	1	1	5	0	0

2.5 免疫球蛋白检测 MM IgG 型组 IgG 水平和 IgA 型组 IgA 水平较正常对照组明显升高(均 $P < 0.05$)。IgM 型因病例数较少,未进行组间比较。见表 4。

表 4 高免疫球蛋白血症 MM 患者与正常对照组
免疫球蛋白指标水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
正常对照组	20	8.33 ± 6.59	1.57 ± 1.12	0.58 ± 0.59
MM 组				
IgG 型	12	62.05 ± 19.50 ^a	0.62 ± 0.48	1.20 ± 0.63
IgA 型	7	5.10 ± 3.43	33.99 ± 23.63 ^a	1.26 ± 0.56
IgM 型	1	4.00	0.10	6.60

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$

2.6 轻链检测 MM κ 型组血清 κ 和 MM λ 型组血清 λ 均明显高于正常对照组(均 $P < 0.05$)。见表 5。

表 5 高免疫球蛋白血症 MM 患者与正常对照组
轻链水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	血清 κ(g/L)	血清 λ(g/L)
正常对照组	20	2.89 ± 0.53	1.26 ± 0.57
MM 组			
κ 型	14	21.53 ± 12.53 ^a	0.49 ± 0.32
λ 型	6	1.52 ± 0.91	15.26 ± 6.27 ^a

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$

2.7 骨髓涂片及血清蛋白电泳 骨髓涂片均检出原始和幼稚浆细胞[其比例为 9.8% ~ 80.4%,平均为 $(32.27 \pm 20.41)\%$],血清蛋白电泳均检出 M 蛋白[其比例为 16.08% ~ 65.8%,平均为 $(46.32 \pm 14.88)\%$]。

2.8 临床分期 结合临床及实验室指标确诊 MM 后行 Durie-Salmon 分期(DS 分期)结果:Ⅱ A 期 4 例(占 20%),Ⅱ B 期 1 例(占 5%),Ⅲ期 15 例(占 75%)。

2.9 尿蛋白和本周蛋白检测 以尿蛋白定性和本周蛋白均为阳性最多见(占 40%)。见表 6。

表 6 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者
尿蛋白和本周蛋白检测情况

检测情况	例数(例)	占比(%)
尿蛋白(+),本周蛋白(+)	8	40
尿蛋白(-),本周蛋白(+)	5	25
尿蛋白(-),本周蛋白(-)	4	20
尿蛋白(2+),本周蛋白(+)	1	5
尿蛋白(±),本周蛋白(-)	1	5
尿蛋白(-),本周蛋白(±)	1	5

2.10 流式细胞免疫分型 10 例进行流式细胞免疫分型,均检出单克隆浆细胞,其中 CD38 和 CD56 最多见(均占 90%)。免疫表型见表 7。

表 7 10 例高免疫球蛋白血症 MM 患者流式细胞免疫分型

CD 分子 类型	例数 (例)	占比 (%)	CD 分子 类型	例数 (例)	占比 (%)
CD38	9	90	胞质 λ 限制表达	3	30
CD56	9	90	CD27	2	20
胞质 κ 限制表达	7	70	CD13	1	10
CD138	5	50	CD200	1	10

3 讨论

由于 MM 患者早期无明显临床症状的改变,后期出现的发热、腰腿痛、肾功能不全等症状容易被误诊而延误病情,临床上 MM 误诊率高达 40% ~ 50%^[4]。因此,许多 MM 患者错过了最佳治疗时机,在临床诊治中应高度重视^[5]。近年来,随着 MM 治疗的研究进展和新化疗药物的使用,MM 患者的生存期明显延长,但目前仍然难以治愈。

本研究对 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者进行临床及实验室相关指标综合分析,显示仅 50% 患者首诊以贫血待查、全血细胞减少收入血液科,另 50% 患者首诊分布于临床多个科室。首诊临床症状中,以骨痛、腰椎痛最为多见(占 85%),骨痛合并肾功能不全次之(占 65%),15% 患者表现为发热、咳嗽、咳痰等呼吸道感染症状,另 5% 患者存在纳差、乏力症状,表明患者临床表现复杂多样。20 例患者均有不同程度贫血,贫血类型以中度正细胞贫血最多见(占 45%),轻度正细胞贫血次之(占 25%),全血细胞减少占 20%,贫血类型亦缺乏特异性。20 例 MM 患者中,8 例符合血细胞复检规则,7 例报告红细胞缗钱状分布,建议临床骨髓穿刺涂片检查确诊,1 例为血涂片正常。DS 分期显示,Ⅲ期患者最多(占 75%),Ⅱ A 期次之(占 20%),Ⅱ B 期最少(占 5%),说明患者早期症状改变不明显,同时临床症状亦缺乏特异性,首诊入院分布科室较多,是造成该类患者未得到及时准确诊断和治疗的主要原因。

本研究综合分析 20 例高免疫球蛋白血症 MM 患者实验室检查,显示骨髓穿刺涂片原始+幼稚浆细胞比例多少不一,为 9.8%~80.4%,平均 $(32.27 \pm 20.41)\%$,95% 患者首诊骨髓涂片原始+幼稚浆细胞 $>10\%$,其中 1 例 $<10\%$ 。由于 MM 肿瘤性浆细胞呈局灶性分布的特点,2018 年出版的新诊断标准^[3]不再强调骨髓检查中浆细胞的具体数值。

免疫球蛋白定量检测显示,MM 组 IgG 型 12 例, IgA 型 7 例, IgM 型 1 例, IgM 为 6.6 g/L; IgG 型的 IgG 水平和 IgA 型的 IgA 水平均较正常对照组明显升高。血清蛋白电泳 100% 检出 M 蛋白,其比例为 16.08%~65.8%,平均 $(46.32 \pm 14.88)\%$,免疫固定电泳以 IgG κ 型最多(占 40%),其次为 IgA κ 型、IgG λ 型, IgM κ 型最少,与陈云峰等^[4]报道一致。肿瘤性浆细胞分泌免疫球蛋白的能力存在很大差异,部分 MM 甚至不分泌免疫球蛋白,高免疫球蛋白血症 MM 患者由于入院检查示血清总蛋白(total protein, TP)、球蛋白(globulin, GLB)、免疫球蛋白升高,再结合外周血涂片,检验科通常较易第一时间发现。本研究 20 例 MM 患者中,首诊收入骨科、呼吸内科、消化科和肝胆科等科室的 50% 患者均是经检验科入院检查 TP、GLB、免疫球蛋白升高,从而及时通知患者行骨髓穿刺确诊;而另一类 TP 和 GLB 正常、免疫球蛋白正常或降低的轻链型 MM 患者,由于无明显实验室检查特征,更易漏诊和误诊,本院 2015 年之前基本未诊断轻链型 MM。因此,2018 年出版的新诊断标准中免疫球蛋白已不再作为诊断必要条件,而血尿 M 蛋白鉴定是判断浆细胞克隆性的良好手段。

20 例 MM 患者中 10 例进行流式细胞免疫分型, 100% 检出单克隆浆细胞, 90% 表达 CD38、CD56, 50% 表达 CD138, 70% 胞质 κ 限制表达, 30% 胞质 λ 限制表达。CD38 可出现在早期前 B 细胞和不成熟 B 细胞中,在 B 细胞分化过程中丢失,而在浆细胞中重新出现并超强表达,虽然早期髓系、单核细胞和粒细胞等也有不同程度 CD38 表达,但其在浆细胞表面的表达强度明显高于其他造血细胞,而骨髓瘤细胞的 CD38 表达强度低于正常浆细胞^[6]。CD138 主要表达于上皮细胞,但在前 B 细胞、不成熟 B 细胞和浆细胞中也有表达,在骨髓中淋巴细胞、单核细胞和粒细胞均不表达,是目前认为最具特异性的浆细胞标记^[7]。CD56 在正常浆细胞表面一般不表达,常用于检测异常浆细胞,与不良预后相关^[8]。有研究表明,循环浆细胞数量与 CD56 表达呈负相

关,缺乏 CD56 表达与 λ 轻链相关^[9]。CD27 属于肿瘤坏死因子家族,表达于 B 细胞和大部分外周 T 细胞,在正常浆细胞和意义未明的单克隆丙种球蛋白病(monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)患者的浆细胞表面均可表达,而在 MGUS 患者疾病进展期丢失^[10],是临床判断疾病转归的指标。CD200 是一种膜糖蛋白,CD200⁻骨髓瘤患者较 CD200⁺骨髓瘤患者有较好的无事件生存期^[11]。

MM 是一种高度异质性肿瘤,生存期差别很大,诊断后应对患者进行危险度分层,进行个性化治疗。通常单一因素不能决定预后,需要多因素联合对患者进行分期和危险度分层。现已明确分子遗传学异常是 MM 最重要的预后因素,也是预后分层的基础。

综上所述,由于 MM 起病隐匿缓慢,症状复杂多样,接诊科室较多,易被首诊医生漏诊和误诊,所以实验室检查尤为重要。发现老年患者不明原因贫血、持续性蛋白尿、高球蛋白血症、成熟红细胞为缙钱状分布时,应建议临床骨髓穿刺涂片检查,结合流式细胞免疫分型及蛋白电泳确诊类型和分期,进行分子遗传学预后及危险度分层,以便及时进行治疗,让患者获得更长的生存期。

参考文献

- 1 李翰卿,翟勇平.流式细胞术检测多发性骨髓瘤免疫表型和残留病灶的研究进展[J].中国实验血液学杂志,2015,23(1):241-245. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2015.01.045.
- 2 卢兴国.骨髓细胞学和病理学诊断[M].北京:科学出版社,2008:836.
- 3 沈悌,赵永强,周道斌,等.血液病诊断及疗效标准[M].4版.北京:科学出版社,2018:290-293.
- 4 陈云峰,葛亮,沈建江.免疫固定电泳及免疫球蛋白定量在多发性骨髓瘤诊断和分型中的应用[J].中国实验诊断学,2016,20(11):1881-1883.
- 5 鲁真真,栾芳,鞠瑛,等.免疫固定电泳在多发性骨髓瘤辅助诊断中的应用价值[J].临床输血与检验,2014,16(2):125-128. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2014.02.004.
- 6 Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders [J]. Haematologica, 2008, 93(3): 431-438. DOI: 10.3324/haematol.11080.
- 7 朱明清,耿美菊,陈黎,等.多发性骨髓瘤的免疫表型特征[J].白血病·淋巴瘤,2006,15(5):347-348.
- 8 Kraj M, Sokolowska U, Kopeć-Szlezak J, et al. Clinicopathological correlates of plasma cell CD56 (NCAM) expression in multiple myeloma [J]. Leuk Lymphoma, 2008, 49(2): 298-305. DOI: 10.1080/10428190701760532.
- 9 Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders [J]. Br J Haematol, 2010, 149(3): 334-351. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2010.08121.x.
- 10 Guikema JE, Hovenga S, Vellenga E, et al. CD27 is heterogeneously expressed in multiple myeloma: low CD27 expression in patients with high-risk disease [J]. Br J Haematol, 2003, 121(1): 36-43. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04260.x.
- 11 Moreaux J, Hose D, Reme T, et al. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma [J]. Blood, 2006, 108(13): 4194-4197. DOI: 10.1182/blood-2006-06-029355.

(收稿日期:2019-12-04)

(本文编辑:张耘菲)