

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.07.023

274 例多发性骨髓瘤间期荧光原位杂交技术检测结果分析*

罗清文,陈万紫[△]

(福建医科大学附属协和医院/福建省血液病研究所细胞遗传室,福州 350001)

摘要:目的 探讨间期荧光原位杂交(FISH)技术在多发性骨髓瘤(MM)中的作用和临床意义。方法 回顾性分析 274 例初诊 MM 患者骨髓单个核细胞(MNC)的组合 FISH 技术检测结果,使用的 FISH 技术探针包括 RB1、P53、D13S319、IgH 及 1q21。结果 经 FISH 技术检测,274 例 MM 患者中有 149 例存在遗传学异常,检出率为 54.38%。在 MM 患者中最常见的细胞遗传学异常是 1q21 扩增和 IgH 重排,其次是 D13S319 及 RB1 缺失,P53 缺失最少见,其检出率依次为 32.48%、30.66%、28.46%、29.20% 和 13.50%。1q21 扩增、D13S319 缺失、IgH 重排与 RB1 缺失这 4 组遗传学异常两两之间呈正相关($P<0.05$),而 P53 缺失与 4 种遗传学异常不存在正相关性($P>0.05$)。结论 FISH 技术是检测 MM 患者细胞遗传学异常的一种重要方法,敏感且快速,对于 MM 的诊断、治疗及预后有十分重要的意义。

关键词:多发性骨髓瘤; 核型分析; 荧光原位杂交

中图法分类号:R551.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)07-0947-03

多发性骨髓瘤(MM)是恶性浆细胞病中的一种常见类型,细胞遗传学改变在 MM 发生、发展过程及预后判断中有重要作用,对其进行深入研究有助于指导治疗。在 MM 中染色体改变异常较多,其中以 1、13、14 及 17 号染色体异常较为常见。本研究采用间期荧光原位杂交(FISH)技术,使用 5 组特异性 DNA 探针(包括 RB1、P53、D13S319、IgH 及 1q21)检测 274 例 MM 患者骨髓标本的遗传学异常,探讨其在 MM 中的应用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2011 年 1 月至 2015 年 12 月福建医科大学附属协和医院血液科收治的 MM 患者 274 例作为研究对象,其中男 162 例,女 112 例,男:女=1.46:1.00;年龄 21~85 岁,中位年龄 59 岁。所有病例均参照《血液学诊断及疗效标准》^[1] 进行诊断。

1.2 组合探针 FISH 技术检测

1.2.1 试剂探针 选择 MM 组合探针(北京金菩嘉医疗科技有限公司),包括:D13S319(红色信号)、RB1(绿色信号)、IgH 重排探针(红绿色信号)、P53 探针(绿色信号)、1q21 探针(红色信号)。

1.2.2 FISH 技术检测 抽取肝素抗凝骨髓液 2~5 mL,直接加入秋水仙胺 4℃ 过夜。离心后,使用 0.075 mol/L 氯化钾低渗液 30 min 后,固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)固定 3 次,用新鲜固定液调至合

适毛玻璃样滴片,并严格按照 FISH 技术探针试剂盒说明书操作,经固定、探针变性杂交、依次经 2×柠檬酸钠缓冲液和梯度乙醇洗涤,4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)复染后,中性树脂封片。

1.2.3 FISH 结果判读 采用 Olympus BX51 荧光显微镜,通过 DAPI、异硫氰酸荧光素(FITC)与若丹明(RHOD)滤光片油镜下计数 300 个细胞内荧光信号,不计数重叠细胞。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据分析,计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验;采用 Pearson 进行相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组合 FISH 技术检测结果 经 FISH 技术检测,274 例 MM 患者中有 149 例存在遗传学异常,检出率为 54.38%。MM 患者 1q21 扩增、IgH 重排、D13S319 缺失、RB1 缺失及 P53 缺失遗传学异常检出率依次为 32.48%、30.66%、28.46%、29.20% 和 13.50%,见图 1。

2.2 4 组遗传学异常相关性分析 采用 SPSS18.0 统计软件对组合 FISH 技术检测出遗传学异常的 149 例 MM 患者的各种遗传学异常的相关性进行分析,结果发现,1q21 扩增、IgH 重排、D13S319 缺失及 RB1 缺失等 4 种遗传学异常两两之间呈正相关,1q21 & RB1、1q21 & D13S319、1q21 & IgH、RB1 & D13S319、RB1 & IgH、D13S319 & IgH($r=0.279,0.293,0.223,0.785,$

* 基金项目:福建省血液医学中心建设资助项目[闽政办(2017)4 号];福建省卫生和计划生育委员会青年科研课题资助项目(2014-1-46);福建医科大学启航科研基金资助项目(2016QH030)。

[△] 通信作者,E-mail:cwz19830219@126.com。

0.152、0.165, $P = 0.000$ 、 0.000 、 0.012 、 0.000 、 0.029 、 0.026);而 P53 缺失与 1q21 扩增、RB1 缺失、D13S319 缺失、IgH 重排 4 种遗传学异常不存在正相关性($r = 0.051$ 、 0.101 、 0.063 、 0.052 , $P = 0.651$ 、 0.242 、 0.340 、 0.601)。

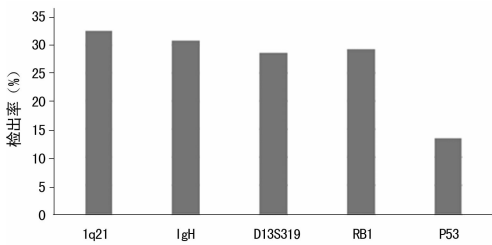


图 1 组合 FISH 技术检测各种遗传学异常检出率

3 讨 论

MM 是浆细胞异常增殖性恶性肿瘤,目前国际上已提出 MM 的危险分层体系,且根据该体系进行分层治疗。细胞遗传学异常是 MM 危险度分层、指导治疗及预后判断的指标,且具有重要意义^[2-3]。

本研究采用组合探针 FISH 技术检测 274 例 MM 患者骨髓细胞染色体异常情况,检测出染色体异常 149 例,检出率为 54.38%,其中 1q21 扩增、IgH 重排、D13S319 缺失、RB1 缺失及 P53 缺失的检出率依次为 32.48%、30.66%、28.46%、29.20% 和 13.50%,与 GAO 等^[4]的报道相近。

1q21 扩增是存在于 1 号染色体长臂的异常,1q21 扩增检出率最高(32.48%)。有研究表明,1 号染色体异常出现在 35%~50% 的 MM 患者中,与 MM 患者早期死亡相关的 70 种基因中有 30% 位于 1 号染色体^[5]。有研究认为,1q21 扩增与疾病进展有关,提示患者预后较差^[6]。有研究表明,1q21 是影响患者生存的独立预后不良因素,硼替佐米治疗可明显提高 1q21 患者的缓解率,但并不改善患者的总生存率^[7]。杨瑞芳等^[8]认为,1q21 扩增信号 ≥ 4 个的患者预后较扩增信号为 3 个的患者预后更差,由此表明,随着 1q21 扩增信号的增加,患者的预后愈来愈差的趋势。1q21 扩增常伴 IgH 重排^[9],1q21 扩增和 IgH 重排间相关性分析显示二者呈正相关。

IgH 存在于 14 号染色体长臂 3 区 2 带中含有编码免疫球蛋白重链的基因,IgH 重排在本研究中检出率(30.66%)仅次于 1q21 扩增,涉及 14q32 的易位是 MM 中较为特异的畸变,是 MM 患者较早出现的异常,在 MM 的发生、发展及患者预后转归中有重要作用^[10]。传统染色体核型分析方法检测出 IgH 易位可见性低下,而采用 FISH 技术可提高其检出率。

13 号染色体异常是最早在 MM 中被发现的,而且 13q14 缺失在 MM 中也是常见的基因异常之一。RB1 是一种抑癌基因,存在于 13 号染色体的长臂 1

区 4 带,其突变后容易导致视网膜母细胞瘤,在某些进展期的 MM 中也会有 RB1 缺失。RB1 和 D13S319 是最常检测的区域,有研究认为,D13S319 和 RB1 探针在检测 13q14 缺失上无差异,二者同时存在提示有较大片段缺失^[11]。13 号染色体缺失可诱导 MM 患者白细胞介素-6 的自分泌增加,组织某种调节蛋白与 DNA 结合,干扰细胞的有丝分裂,因此,MM 中染色体常规核型分析异常检出率较 FISH 低。RB1 缺失、D13S319 缺失与 1q21 扩增间均呈正相关。GRZAS-KO 等^[12]研究认为,13 号染色体缺失和 1q21 扩增阳性的患者预后均不良。

P53 基因存在于 17 号染色体短臂 1 区 3 带上,是一种抑癌基因,参与细胞的凋亡过程,其编码的蛋白可与 DNA 特异性结合,参与 DNA 损伤的修复,若修复失败,则引发凋亡,导致细胞发生癌变。本研究 P53 缺失检出率为 13.50%,与文献^[13]报道的 P53 的缺失率(9%~34%)基本一致,其缺失会导致患者对化疗不敏感,易进展为浆细胞白血病,预后较差。

有研究发现,几乎所有 MM 患者都有不同程度的遗传学异常^[14],而且患者的遗传学异常常涉及多条染色体。本研究发现,1q21 扩增、D13S319 缺失、IgH 重排与 RB1 缺失这 4 种遗传学异常两两之间呈正相关,与文献^[15]报道相符,而 P53 缺失与上述 4 种遗传学异常不存在正相关。

总之,FISH 技术不需要在染色体中寻找分裂相,因此可分析大量的间期细胞,操作简单且可重复性高,尤其在检测小克隆异常时更具有优势,是核型分析失败的重要补充。而且 FISH 技术的灵敏度高于常规核型分析,检测周期短,能较快为临床实验室提供依据,得到了广泛应用,对于 MM 的诊断、治疗及预后有十分重要的意义。

参考文献

[1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007;232-235.

[2] RAJKUMAR S V, DIMOPOULOS M A, PALUMBO A, et al. International myeloma working group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma[J]. Lancet Oncology, 2014, 15(12):538-548.

[3] CHAN N C, CHAN N P. Recurrent cytogenetic abnormalities in multiple myeloma[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1541(2):295-302.

[4] GAO L, LIU Q, SHI Y, et al. Application of CD138 immunomagnetic sorting myeloma cells combined with fluorescence in situ hybridization for detecting cytogenetic abnormalities of multiple myeloma[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2017, 25(3):807-812.

[5] 史青林,顾炎,沈旭星,等. 修订的国际分期系统对初诊多

- 发性骨髓瘤的预后意义[J]. 临床血液学杂志, 2018, 32(3):359-364.
- [6] LIM A S, KRISHNAN S, LIM T H, et al. Amplification of 1q21 and other abnormalities in multiple myeloma patients from a tertiary hospital in singapore[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2014, 30(4):253-258.
- [7] 刘雪莲, 杨珮钰, 于小源, 等. 1q21 扩增对硼替佐米治疗多发性骨髓瘤患者疗效和预后的影响[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(5):408-413.
- [8] 杨瑞芳, 李春溟, 仇海荣, 等. 胞质轻链免疫荧光原位杂交技术检测多发性骨髓瘤 1 号染色体异常及其意义[J]. 中华血液学杂志, 2010, 31(12):804-808.
- [9] 张佳佳, 陈世伦, 李新, 等. 染色体 1q21 扩增对多发性骨髓瘤预后及治疗效果的影响[J]. 白血病·淋巴瘤, 2015, 24(3):184-187.
- [10] 翟冰, 邹丹丹, 闰建军, 等. 荧光原位杂交检测 117 例多发性骨髓瘤细胞遗传学异常及预后分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1):127-130.
- [11] LI F, HU L P, AN G, et al. Cytogenetic abnormality of chromosome 13q14 in 112 patients with multiple myeloma detected by using LSI-RB1 and LSI-D13S319 probes[J]. Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi, 2012, 20(4):917-921.
- [12] 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.
- [13] DENG S, XU Y, AN G. Features of extramedullary disease of multiple myeloma: high frequency of p53 deletion and poor survival: a retrospective single-center study of 834 cases [J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2015, 15(5):286-291.
- [14] STELLA F, PEDRAZZINI E, AGAZZONI M, et al. Cytogenetic alterations in multiple myeloma: prognostic significance and the choice of frontline therapy[J]. Cancer Invest, 2015, 33(10):496-504.
- [15] GAO X, LI C M, ZHANG R, et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of chromosome aberrations in 60 Chinese patients with multiple myeloma[J]. Med Oncol, 2012, 29(3):2200-2206.

(收稿日期:2018-09-20 修回日期:2018-12-02)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2019. 07. 024

化脓性和病毒性脑膜炎患者的临床特征及血常规和脑脊液常规相关指标分析

张艳双¹, 胡晓芳², 王璐², 万楠², 刘静², 栾亮^{1△}

(1. 锦州医科大学/沈阳军区总医院研究生培养基地, 辽宁锦州 121000;

2. 沈阳军区总医院检验科, 沈阳 110016)

摘要:目的 回顾性分析沈阳军区总医院神经内科脑膜炎患者比例分布情况, 并对化脓性、病毒性脑膜炎患者的临床资料与血、脑脊液常规检验结果进行分析。**方法** 收集沈阳军区总医院神经内科 2010 年 1 月至 2018 年 7 月诊治的 121 例明确诊断为脑膜炎的住院患者临床资料, 采用回顾性分析方法探讨脑膜炎类型分布情况, 并比较确诊的化脓性、病毒性脑膜炎患者临床资料及血、脑脊液常规生化检验结果, 进一步分析临床资料与相关检验指标的差异和关联。**结果** 121 例确诊的脑膜炎患者中, 最常见的是病毒性脑膜炎, 占 36.36%, 其次是化脓性脑膜炎(35.54%), 真菌性、结核性脑膜炎分别占 5.79%、4.13%, 细菌性脑膜炎仅占 1.65%。化脓性、病毒性脑膜炎患者临床特征、相关检验指标特征类似, 发热是二者最常见的症状, 化脓性脑膜炎血、脑脊液常规指标普遍比病毒性脑膜炎升高幅度大, 病变程度重, 两种脑膜炎血常规白细胞计数均与中性粒细胞百分比呈正相关, 脑脊液中白细胞计数与脑脊液压力、蛋白定量呈正相关, 与葡萄糖定量呈负相关, 而与氯化物水平无明显相关性, 脑脊液结果异常程度越高, 临床症状越重。**结论** 依据患者血白细胞计数、中性粒细胞升高的百分比, 以及脑脊液白细胞计数与压力、蛋白及葡萄糖定量变化程度, 可对化脓性、病毒性脑膜炎患者的危重程度进行初步评估。

关键词:化脓性脑膜炎; 病毒性脑膜炎; 临床特征

中图法分类号:R512.3; R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)07-0949-04

中枢神经系统感染是脑或脊髓实质、被膜及血管被多种病原体侵入引起的急性和慢性炎性反应(或非炎性反应)性疾病, 可由细菌、真菌、病毒、寄生虫及立

克次体等多种病原体感染引起, 是神经病学的常见疾病之一, 多发于免疫力低下的老年人及儿童, 也可见于成年人^[1]。早诊断、早治疗是提高中枢神经系统感

△ 通信作者, E-mail: liang_luan@163.com.