

多发性骨髓瘤患者骨髓涂片 与骨髓活检同步检查的比较分析*

韩秀蕊¹, 杨娣娣¹, 李艳春¹, 赵园¹, 张丽洁¹, 王九菊¹, 魏绪仓¹, 周家琛²

(1. 陕西省人民医院血液病研究室, 西安 710068; 2. 大连医科大学, 辽宁大连 116044)

摘要:目的 旨在了解骨髓涂片及活检在多发性骨髓瘤诊断与疗效判断中的优势与不足, 明确骨髓涂片与活检同步检查在多发性骨髓瘤诊断以及治疗观察中的价值。方法 采用二步抽吸-活检双标本取材术, 获取骨髓涂片及活检标本, 回顾分析 283 例多发性骨髓瘤患者的骨髓涂片及活检结果, 对骨髓增生程度、骨髓瘤细胞形态、浆细胞浸润度、增殖模式、骨髓间质病理改变及纤维化情况进行比较研究。结果 多发性骨髓瘤患者骨髓活检的增生程度及浆细胞浸润度明显高于涂片, 差异有统计学显著性意义 ($P < 0.01$); 骨髓活检对多发性骨髓瘤诊断的敏感度高于涂片, 两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 骨髓活检中浆细胞增殖模式: 簇片结节型 33 例 (11.66%)、间质型 86 例 (30.39%)、结节间质型 112 例 (39.58%)、弥漫塞实型 52 例 (18.37%); 骨髓涂片中骨髓瘤细胞形态: 小成熟浆细胞型 77 例 (27.21%)、幼稚浆细胞型 148 例 (52.30%)、原始浆细胞型 36 例 (12.72%)、网状浆细胞型 22 例 (7.77%)。结论 骨髓活检能够准确地反映骨髓增生程度、浆细胞增殖模式及浸润度、骨髓纤维化情况; 骨髓涂片骨髓瘤细胞形态清晰、特征典型, 容易辨认。骨髓涂片与活检同步检查能够提高多发性骨髓瘤诊断的敏感度及准确率, 对于多发性骨髓瘤的诊断、治疗观察具有十分重要的意义。

关键词: 多发性骨髓瘤; 骨髓涂片; 骨髓活检; 浆细胞

中图分类号: R446.113 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)03-129-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.03.039

Comparative Analysis of Bone Marrow Smears and Biopsies Synchronous Check for Myeloma Patients

HAN Xiu-rui, YANG Di-di, LI Yan-chun, ZHAO Yuan, ZHANG Li-jie, WANG Jiu-ju, WEI Xu-cang, ZHOU Jia-chen² (1. Department of Hematology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China; 2. Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116044, China)

Abstract: **Objective** The purpose of this paper is to understand the advantages and disadvantages of the bone marrow smears and bone marrow biopsy in multiple myeloma diagnosis and efficacy judgment, explicit the value of bone marrow smears and bone marrow biopsy synchronous check in the diagnosis and treatment observation of multiple myeloma. **Methods** With two step-suction two biopsy specimens assay, obtained specimens of bone marrow smears and bone marrow biopsy, retrospectively analysed results of 283 multiple myeloma patients bone marrow smear and biopsy, and made a comparative study on the degree of bone marrow hyperplasia, myeloma cell morphology, the degree of tumor cell infiltration, proliferation pattern, bone marrow stromal pathological changes, and fibrosis cases. **Results** The degree of proliferation of bone marrow biopsy sections and infiltration of plasma cells was significantly higher than that of bone marrow smears, statistically there was a significant difference ($P < 0.01$). Multiple myeloma diagnostic sensitivity by bone marrow biopsy sections was significantly higher than by the bone marrow smears, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Plasma cells in bone marrow biopsy tumor proliferation modes: clusterpiece nodular type 33 cases (11.66%), interstitial-type 86 cases (30.39%), among nodular interstitial type 112 cases (39.58%), diffuse cyptot real 52 cases (18.37%). Plasma cells in bone marrow smears tumor morphology: small mature plasma cell type 77 cases (27.21%), immature plasma cell type 148 cases (52.30%), protoplastic cell type 36 cases (12.72%), reticular plasma cell type 22 cases (7.77%). **Conclusion** Marrow biopsy can accurately reflect the degree of bone marrow hyperplasia, plasma cell tumor proliferation mode and infiltration degree, myelofibrosis situation; bone marrow smears Wright-Giemsa staining, plasma cell tumor morphology was clear, typical featured, and easily identifiable. Bone marrow smear and biopsy synchronous check can improve the sensitivity and accuracy for multiple myeloma diagnosis, which has very important significance for multiple myeloma diagnosis and treatment observation.

Keywords: multiple myeloma; bone marrow smears; bone marrow biopsy; plasma cells

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是一种骨髓内单克隆浆细胞的异常增殖引起的恶性肿瘤。骨髓涂片作为最基本的传统诊断和疗效观察方法, 有时因骨髓瘤细胞局灶性或多发性分布、单

* 作者简介: 韩秀蕊 (1963—), 女, 本科, 副主任技师, 从事血液病实验诊断与研究工作。

通讯作者: 魏绪仓, 研究员, Tel: 029-85251331-2371; E-mail: weixucang62@sina.com。

克隆球蛋白生成过度、粘滞性增高以及不同程度的骨髓纤维组织增生等,致使骨髓抽吸困难而难以提供令人满意的诊断结果。骨髓活检通过专用穿刺针取一小块完整骨髓组织进行分析,则不受骨髓稀释等因素影响,能较如实反映骨髓瘤细胞的真实分布定位情况。本文将骨髓涂片与骨髓活检检查诊断结果进行比较分析,以探讨两种方法联合应用对MM的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2005年1月~2013年12月,在我院血液病研究室检查的初诊及复诊MM患者283例,其中男性164人,女性119人,年龄37~80岁,中位年龄59岁,所有病例初次诊断均符合参考文献[1]诊断标准。

1.2 试剂与仪器 ①试剂:染色液、固定液、脱水剂均自行配制,塑料包埋液购自西安今迈公司;②仪器:Y-111病理组织漂烘仪,英国山顿公司AS325型切片机,2T-12M型组织脱水机,OLYMPUS显微镜,骨髓细胞图文分析系统。

1.3 取材与制片

1.3.1 骨髓涂片的制备:患者髂后上棘常规消毒、局部麻醉,B65-01型骨髓活检针行二步法取材^[2]。先抽吸少量骨髓液涂片,自然干燥,进行瑞-姬氏染色。

1.3.2 骨髓活检切片的制备:同一部位距抽吸点约1~2 cm处,环钻法取0.8~1.5 cm的骨髓组织,Bouin液固定,乙醇脱水,塑料包埋液包埋、切片(厚2~5 μm)、制片。2~3 μm 厚者进行HGF染色,5 μm 厚者进行Gomori网状纤维银染色、胶原蛋白三色染色。

1.4 观察内容

1.4.1 骨髓涂片:①增生程度:增生程度分五级:I级增生重度减低;II级增生减低;III级增生活跃;IV级增生明显活跃;V级增生极度活跃。②初步阅读3~5张骨髓涂片,选择浆细胞分布较多、染色良好部位,分类计数200个有核细胞,算出浆细胞比例,观察骨髓瘤细胞形态特征并进行分析。

1.4.2 骨髓活检:①增生程度分四级^[3]:I级增生减低:造血组织面积<34Vol%;II级增生活跃:造血组织面积(35~49)Vol%;III级增生明显活跃:造血组织面积(50~89)Vol%;IV级增生极度活跃:造血组织面积 ≥ 90 Vol%。②浆细胞增殖模式:根据瘤细胞浸润模式分为簇片结节型、间质型、结节间质型、弥漫塞实型^[3]。组织学改变:根据活检切片内骨髓瘤细胞的负荷容量百分率(%)的不同分三期:I期:浆细胞<20%;II期:浆细胞介于20%~50%之间;III期:浆细胞>50%。④网状纤

维积分采用改良Manoharan等分级标准^[2]: \pm (正常)偶见纤细或较大之单一纤维丝,1+可见局限性纤细网络,粗纤维偶见,2+可见弥漫性细纤维网络,伴散性局限性粗纤维增多,3+可见弥漫性粗纤维网络,但胶原纤维三色染色阴性,4+弥漫性粗纤维网络,伴以三色染色阳性的胶原纤维形成区。

1.5 统计学分析 两种检验方法比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨髓涂片与活检增生程度比较 283例MM患者骨髓涂片与活检增生程度一致的有169例(59.72%),骨髓涂片增生程度小于骨髓活检的87例(30.74%),骨髓涂片增生程度大于骨髓活检的27例(9.54%)。骨髓涂片增生程度减低及以下的88例(31.10%),增生程度活跃及以上的195例(68.90%);骨髓活检增生程度减低及以下的29例(10.25%),增生程度活跃及以上的254例(89.75%)。两种方法比较,骨髓活检增生程度明显优于骨髓涂片($\chi^2=37.36$, $P<0.01$)。

2.2 骨髓涂片与活检浆细胞浸润度比较 骨髓涂片与活检一致的147例(51.94%),骨髓涂片低于活检的117例(41.34%),骨髓涂片高于活检的19例(6.72%),其中有2例初诊患者,骨髓涂片浆细胞百分率>20%,且有形态学异常,而骨髓活检浆细胞瘤负荷为阴性。骨髓涂片浆细胞<20%的78例(27.56%),浆细胞介于20%~50%之间的141例(49.82%),浆细胞>50%的64例(22.62%);骨髓活检浆细胞<20%的34例(12.01%),浆细胞介于20%~50%之间的169例(59.72%),浆细胞>50%的80例(28.27%)。两种方法比较,骨髓活检浆细胞浸润度大于骨髓涂片($\chi^2=22.64$, $P<0.01$)。

2.3 骨髓涂片与活检对MM诊断敏感度比较 以骨髓涂片浆细胞>15%与骨髓活检切片中检见结节状浆细胞瘤为阳性诊断标准。283例MM患者骨髓涂片浆细胞>15%的231例(81.63%),骨髓活检结节状浆细胞瘤阳性的252例(89.05%)。骨髓活检阳性率明显高于涂片($\chi^2=6.23$, $P<0.01$)。

2.4 骨髓涂片瘤细胞形态学分型 根据欧洲会议分型标准^[4],283例MM患者中小成熟浆细胞型的77例(27.21%);幼稚浆细胞型的148例(52.30%);原始浆细胞型的36例(12.72%);网状细胞型的22例(7.77%)。

2.5 骨髓基质内纤维增生及骨小梁改变 采用Gomori网状纤维银染色及胶原蛋白三色染色,283例MM患者中网状纤维积分(\pm)45例(15.90%);

(1+)149例(52.65%);(2+)58例(20.50%);(3+)31例(10.95%)。有骨小梁破坏的78例(27.56%),主要表现为骨小梁稀疏、减少、周边不

整齐、少数有瘤细胞侵蚀其中。

2.6 骨髓涂片骨髓瘤细胞形态学分型与活检切片浆细胞增殖模式比较 见表1。

表1 283例MM患者骨髓瘤细胞分型与浆细胞增殖模式比较[n(%)]

瘤细胞分型	n	浆细胞增殖模式			
		簇片间质型(n=33)	间质型(n=86)	结节间质型(n=112)	弥漫塞实型(n=52)
小成熟浆细胞型	77	8(10.4)	34(44.2)	26(33.8)	9(11.6)
幼稚浆细胞型	148	14(9.5)	38(25.6)	71(48.0)	25(16.9)
原始浆细胞型	36	4(11.1)	10(27.8)	7(19.4)	15(41.7)
网状浆细胞型	22	7(31.8)	4(18.2)	8(36.4)	3(13.6)

骨髓瘤细胞形态学分型以小成熟浆细胞型、幼稚浆细胞型为主,浆细胞增殖模式以间质型、结节间质型较多见。

3 讨论 多发性骨髓瘤(MM)是常见的血液恶性肿瘤之一,约占全部血液系统恶性肿瘤的15%。随着社会人群老龄化以及医疗诊断技术的提高,MM发病率有逐年上升趋势。在美国,大约有1%~2%肿瘤患者的死亡与本病有关^[5]。骨髓涂片细胞形态学检查操作简单、快速,易于普及,细胞核结构清晰,胞浆着色鲜艳,特征明显。MM不仅浆细胞数量增多,形态多变,大小悬殊,既可以是小而成熟的浆细胞,也可以是大而幼稚并具有明显核仁的原始浆细胞,且伴有明显的形态学异常,有双核、多核、分叶核等,胞浆量丰富,可着深蓝、红蓝色、有空泡、有泡沫感。浆细胞内可见Russell小体(球形红色包涵体)、类Auer小体(深红色、针形免疫球蛋白包涵体)以及火焰浆细胞等特异性改变,较骨髓活检容易辨认。MM的诊断仍以骨髓涂片中浆细胞的百分率为主要依据,但由于骨髓涂片取材量少,骨髓组织结构致密,骨小梁旁区与中央区域不易被抽出,并且在MM的早期,骨髓瘤细胞病灶小、量少,加之浆细胞散在分布在造血细胞和脂肪细胞之间,使骨髓涂片取材难度大、容易稀释、浆细胞不易被抽出,往往达不到诊断标准,临床怀疑MM的病人需要换部位多次穿刺。再由于MM时髓内非赘生性骨髓基质细胞能产生大量黏附分子以及瘤细胞分泌M球蛋白,使骨髓瘤细胞较正常有核细胞具有与骨髓基质更强的黏附性,细胞类型越幼稚,黏附力越强,且骨髓纤维化形成也阻碍细胞被抽吸的作用^[6],使得抽吸物涂片内浆细胞少,肿瘤负荷低估。同时,近年对骨髓微环境中“龕”的研究表明,在MM发病过程中,“龕”可异常分泌产生细胞因子、化学因子、黏附分子等多种因子,这些因子互相作用,支持骨髓瘤细胞的生长、播散^[7],从而增强瘤细胞之间以及瘤细胞与骨髓基质间的黏

附性。骨髓活检采用环钻法取一块完整的骨髓组织,可以避免黏附分子、瘤细胞局灶分布、纤维化以及抽吸力小等因素的影响,可以弥补骨髓涂片的不足。

骨髓增生程度的正确估计对临床化疗方案的制定具有重要意义,本研究显示,骨髓活检增生程度明显好于骨髓涂片,与文献^[8]报道一致。骨髓活检的优点是可以直接观察造血细胞多少、分布、定位,间质水肿,骨小梁改变以及纤维细胞增生情况,根据造血组织与脂肪组织的比例,能准确地估计骨髓增生程度。但本组研究有27例(9.54%)MM患者骨髓涂片增生程度大于活检,其中5例骨髓涂片增生良好,而骨髓活检却增生减低,可能因取活检时动作过慢致基质出血造成,此时该骨髓增生程度应以骨髓涂片为准。骨髓涂片与活检相结合能够为临床治疗提供更可靠的骨髓增生程度。

骨髓瘤细胞浸润度是MM诊断、临床分期、治疗及疗效观察的重要依据。因此准确了解瘤细胞负荷、浸润程度非常重要。本研究结果显示骨髓活检浆细胞的敏感度高于涂片,但也有6.72%骨髓涂片浆细胞浸润度高于活检。可以看出,在反映浆细胞敏感度方面骨髓活检虽优于骨髓涂片,若二者能同步检查诊断阳性率会更高、更准确。

骨髓涂片稀释常与恶性浆细胞四周病理性网硬蛋白纤维增生、瘤细胞及周围组织产生的大量黏附分子有关^[9]。本组研究Gomori网状纤维银染色>1+的占84.10%,纤维组织增生会影响骨髓液的抽吸。骨髓活检在观察增生程度、瘤细胞的检出率、浆细胞的增殖模式、肿瘤负荷、骨髓纤维化方面有明显的优势。我们采用的二步抽吸-活检双标本取材法,抽吸与活检不在同一点,扩大了取材范围,尽可能最大限度地减少漏诊;同时减少了因人为因素带来的骨髓活检切片内基质出血而使增生程度减低的可能。另外,我们在实际工作中,若发现抽吸标本困难,未见骨髓小粒,考虑稀释时,在取

活检标本时可以给以补救,效果不错,明显降低了骨髓涂片的稀释率。

通过我们的研究证实,骨髓涂片与活检同步进行可以明显提高MM诊断的阳性率,减少误诊;能够准确判断骨髓增生程度、骨髓瘤细胞浸润度;了解骨髓纤维化程度以及间质的病理变化。对MM的临床诊断和疗效观察十分重要。

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.
Zhang ZN, Shen T. Blood disease diagnostic and curative standard [M]. 3th Ed. Beijing: Science Press, 2007:232.
- [2] 蒲 权,杨梅如. 血液病骨髓诊断病理学[M]. 北京:科学出版社,2002:4-342.
Pu Q, Yang MR. Diagnostic pathology of the bone marrow in hematology [M]. Beijing: Science Press, 2002:4-342.
- [3] 蒲 权. 实用血液病理学[M]. 北京:科学出版社,2013:62,494-495.
Pu Q. Practical hematopathology [M]. Beijing: Science Press, 2013:62,494-495.
- [4] 赵应斌,吕桂桦,丁燕玲,等. 多发性骨髓瘤细胞形态学分型分析[J]. 现代检验医学杂志,2006,21(1):57-58.
Zhao YB, Lü GH, Ding YL, et al. Multiple myeloma cells form for credit analysis [J]. Journal of Modern

Laboratory Medicine, 2006, 21(1):57-58.

- [5] Ludwig H, Durie BG, Bolejack V, et al. Myeloma in patients younger than age 50 years presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10 549 patients form the International Myeloma Working Group [J]. Blood, 2008, 111(8):4039-4047.
- [6] Terpstra WE, Lokhorst HM, Blomjous F, et al. Comparison of plasma cell infiltration in bone marrow biopsies and aspirates in patient with multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 1992;82(1):46-49.
- [7] Basak GW, Srivastava AS, Malhotra R, et al. Multiple myeloma bone marrow niche [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2009, 10(3):345-346.
- [8] 苏基滢,陶 英,刘蕙芝,等. 多发性骨髓瘤骨髓活检切片与涂片的比较 [J]. 中国实验血液学杂志, 2012; 20(6):1389-1391.
Su JY, Tao Y, Liu YZ, et al. Comparison of bone marrow biopsy and smear efficacy in patients with multiple myeloma [J]. Journal of Experimental Hematology, 2012;20(6):1389-1391.
- [9] Stifter S, Babarovic E, Valkovic T, et al. Combined evaluation of bone marrow aspirate and biopsy is superior in the prognosis of multiple myeloma [J]. Diagn Pathol, 2010(5):30.

收稿日期:2014-12-24

修回日期:2015-03-09