

# 白血病与骨髓瘤的微小残留病检测手段临床意义探讨

李金余

赤峰市医院 024000

【摘要】目的：对白血病与骨髓瘤的微小残留病检测手段的临床意义进行探讨。

方法：选取本院 2018 年 1 月到 2022 年 12 月之间收集的白血病与骨髓瘤患者进行研究，采用流式细胞术（FCM）对白血病和骨髓瘤患者进行检测，每组 40 例，对比检测结果。结果：以临床诊断为金标准，流式细胞术对白血病和骨髓瘤均具有较高的诊断准确率，和金标准差异较小（ $P>0.05$ ）。流式细胞术对白血病和骨髓瘤的灵敏度和特异度差异较小（ $P>0.05$ ）。结论：采取流式细胞术检测白血病和骨髓瘤具有较高的灵敏度、准确率和特异度，是一种较为理想的检测方法，可为疾病后续治疗提供参考。

【关键词】白血病；骨髓瘤；微小残留病；检测手段；临床意义

微小残留病是血液系统恶性肿瘤中常见的一种，也被叫做残余白血病细胞。采取一般的形态学方法进行检测缺乏有效性。再者有些学者认为，微小残留病更确切的定义应该是可以检出的残留病（measurable residual disease），由于 minimal 属于一个相对概念，且各种检测技术灵敏度有差异，因此也被称为 minimal。不一样的方式、在技术上 MRD 的检测限有一些不同。随着分子生物学和免疫学等学科的发展，越来越多研究表明微小残留病是一种独立于其他疾病或癌症之外的新类型血液学疾病<sup>[1]</sup>。MRD 的检测能够有效地评估患者的预后效果，并为后续的治疗提供相应的参考，同时也有助于预测患者的疾病复发和采取针对性治疗。在大量正常细胞群中查出残留的肿瘤细胞，采取 MRD 检测，至少要满足以下两个条件，首先要具有较强特异性，也就是说，测量的残余肿瘤细胞中没有掺杂的正常白细胞，其次是敏感性，在正常细胞内尽可能多的发现特异性肿瘤细胞，这要求具有较高灵敏度的检测技术<sup>[3, 4]</sup>。本研究旨在对白血病与骨髓瘤患者的微小残留病检测手段的临床意义进行探讨，现报道如下：

## 1. 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取本院 2018 年 1 月到 2022 年 12 月之间收集的白血病与骨髓瘤患者进行研究，采用流式细胞术（FCM）对白血病和骨髓瘤患者进行检测，每组 40 例；白血病组病人男性 21 例，女性 19 例，年龄 30 岁至 60 岁，均值 40.19 岁；骨髓瘤组病人男性 22 例，女性 18 例，年龄 20-60 岁，均值 40.17 岁；两组一般资料无较大差异（ $P>0.05$ ）。

### 1.2 方法

取患者骨髓标本肝素抗凝，取 20  $\mu$ L 的标本，用 380  $\mu$ L 溶血素振荡混合均匀，放置 10 min；离心沉淀取上清液加入琼脂平板上清做涂片检查。取 10  $\mu$ L 台盼蓝和 10  $\mu$ L 溶血标本，计数仪内计算有核细胞数（ $N \times 103$  个/微升）；以上述方法对血清样品作交叉反应检查，结果均为阴性。采用含 0.1%Na<sub>3</sub> 及 1%~2%BSA 磷酸盐缓冲液（PBS）洗液预处理；用两步法标记抗体。采用 Beckman Coulter Navios 多色流式细胞仪进行标本的自动采集，在电压及补偿调节时，一般获取 10 万个有核细胞；在此基础上，分别测定各染色时间点的淋巴细胞亚群比例，并计算出相应百分

比值。利用 Kaluza Analysis 软件分析检测数据，诊断参考 WHO 2008 造血及淋巴组织肿瘤的分类标准。

### 1.3 观察指标

1.3.1 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的准确率。

1.3.2 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的特异度和灵敏度。

### 1.4 统计学方法

统计学处理软件采用 SPSS24.0，用均数标准差（ $\pm$ ）表示计量资料，用 t 检验，用百分比（%）表示计数资料，用  $\chi^2$  检验，当  $P<0.05$  时视为差异有统计学意义。

## 2. 结果

### 2.1 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的准确率

以临床诊断为金标准，流式细胞术对白血病和骨髓瘤均具有较高的诊断准确率，和金标准差异较小（ $P>0.05$ ）。见表 1。

表 1 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的准确率（n/%）

组别	例数	阳性	阴性	准确率
白血病	40	38 (95.00)	2 (5.00)	95.00
骨髓瘤	40	37 (92.50)	3 (7.50)	92.50
P	-	--	--	--

### 2.2 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的特异度和灵敏度

流式细胞术对白血病和骨髓瘤的灵敏度和特异度差异较小（ $P>0.05$ ）。见表 2。

表 2 流式细胞术检测白血病与骨髓瘤的特异度和灵敏度（%）

组别	例数	灵敏度	特异度
白血病	40	92.00	100.00
骨髓瘤	40	94.00	100.00
P	-	--	--

## 3. 讨论

对于正常细胞或细胞中的特异性免疫标志物加以标记，是流式细胞术的检测原理，根据对正常细胞分布外的空白区异常表达进行检测，从

而识别 MRD。它可以快速准确地发现临床上常见或可疑的肿瘤及感染等疾病, 同时也可用于评估机体免疫系统功能状况, 并有助于指导治疗方案。流式细胞术已经广泛应用于 MRD 监测, 最近几年的趋势是采用多参数流式细胞术, 增加了灵敏度及特异性。随着分子生物学的发展以及分子遗传学研究的深入, 多组分基因表达谱测序技术的进步使我们能够从整体水平上了解单个或多个相关基因与疾病之间的关系<sup>[5-6]</sup>。多参数流式细胞术 (multiparameter flow cytometry, MP-FCM) 就是利用各种荧光标记抗体组合来标记细胞抗原, 然后就细胞一系列起源, 分化程度、分析和判断表型是否异常的一种高通量、高敏感性的检测技术。该方法不仅能准确地反映出正常及疾病状态下各类型细胞系的变化情况, 还可以用于鉴别诊断各种肿瘤组织, 并可作为其他临床检查手段的辅助手段。近年对 8-10 色度 MP-FCM 在 MRD 的监测上具有良好的特异性和灵敏度, 已经逐步成为 MRD 监测中最主要的技术手段<sup>[7]</sup>。

对于分子标记物不足的白血病患者来说, 采取多参数流式细胞检测数所获得的效果较为精准和准确。有国内学者研究发现, 采取多参数流式细胞术对 MRD 进行检测, 有助于促进预后效果和治疗效果的改善, 同时增加病人的生存几率。近年来, 结合我国的 AML 和 ALL 患者的临床资料加以分析, 发现采取流式细胞术进行检测后, 首次将 MRD 和调整后的临床变量些结合的模型用于急性白血病基因异常造血干细胞移植复发风险的监测结果, 有助于临床过程中对于 MDR 进行及时的更新, 更准确评估患者复发的几率<sup>[8]</sup>。然而, 对于基于 MRD 评价的 ALL 患者 AML 对 MRD 进行评价, 仍然存在一些不足和弊端, 包括不确定其预后能力和面临的标准化困难等。骨髓瘤患者采取 MRD 的状态检测, 以达到最佳疗效, 评估其预后价值, 发现 ALL 阴性患者在 OS 和 PFS 方面颇具优势。另一项研究则用十色流式细胞术对 MM 病人治疗后骨髓 MRD 进行了监测, 研究发现, MRD 治疗后转阴, 表明临床预后较好, MRD 水平对 MM 患者预后价值好于血清学指标疗效评价。在 MM 监测中, 通过特异抗原 CD138 或 CD38 识别浆细胞, 联合 CD45、CD56、CD19、CD20、CD117、CD200、CD27、CD28、CD81 膜抗原与胞浆免疫球蛋白 Kappa, Lambda 轻链对异常骨髓瘤细胞的识别能明显提高准确性。同时也可以利用免疫荧光技术对单核巨噬细胞系统进行标记来观察其功能状态。此外, 应用 8 色 FCM 对 MDS 病人移植前后 WT1 基因的表达量及异常免疫表型进行检测, 研究发现, 基于 WT1/FCM 的联合检测方案可作为骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndromes, MDS) 患者 MRD 监测的有效指标。最近对中国 MDS 患者进行了单中心调查, 结果表明, 以 FCM 为基础的 MRD 阳性和 allo-HSCT 后一个月持续的基因突变是疾病发生发展的独立危险因素, 提示植入后一个月采用 FCM 联合基因突变监测 MRD 有助于预测 MDS 病人病情发展。

有相关研究显示, 髓系和淋系抗原中最特异的抗原只能够在细胞浆中被检测出来, 同时在细胞浆中的表达要更早于细胞膜, 所以细胞内抗原检测决定了对于急性白血病, 比如浆细胞起源等罕见淋巴系统疾病的诊断价值, 如果是没有确诊的急性白血病患者进行胞浆抗原检测也有助于为白血病的诊治提供相应的参考价值, 特别是对于未分化型、双表型及双表型与其伴系表达的白血病患者来说, 对其鉴别诊断有很大价值。

对骨髓瘤的诊断, 流式细胞分析应与临床表现及形态学紧密结合, 以作出正确诊断。目前已广泛应用于临床, 并取得了一定效果。流式细胞分析技术既可应用于骨髓瘤、骨髓瘤, 白血病等疾病的诊断, 也能判断预后及处理情况。由于其敏感度很高, 从而可检测出非常微量残余急性白血病细胞。此外还可检测出肿瘤组织中存在的某些免疫球蛋白及抗体。流式细胞分析技术还有另外一个好处, 就是为治疗或者药物开发提供靶抗原。通过这种方法可检测出许多新发现的肿瘤标志物。随着流式细胞分析技术及分子生物学研究的不断深入, 流式细胞分析将更多地用于临床。

本研究结果显示, 以临床诊断为金标准, 流式细胞术对白血病和骨髓瘤均具有较高的诊断准确率, 和金标准差异较小 ( $P>0.05$ )。流式细胞术对白血病和骨髓瘤的灵敏度和特异度差异较小 ( $P>0.05$ )。

综上所述, 采取流式细胞术检测白血病和骨髓瘤具有较高的灵敏度、准确率和特异度, 是一种较为理想的检测方法, 可为疾病后续治疗提供参考。

#### 参考文献:

- [1]Van der Straeten Jona, De Brouwer Wouter, Kabongo Emmanuel le, Dresse Marie Françoise, Fostier Karel, Schots Rik, Van Riet Ivan, Bakkus Marleen. Validation of a PCR-Based Next-Generation Sequencing Approach for the Detection and Quantification of Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia and Multiple Myeloma Using gBlocks as Calibrators[J]. The Journal of Molecular Diagnostics, 2021, 23(5).
- [2]左晓佳, 冯尽意, 叶丽霖, 邢苗, 邓之奎, 刘定胜. 新免疫标志组合在多参数流式细胞术检测多发性骨髓瘤微小残留病中的应用[J]. 同济大学学报(医学版), 2020, 41(06): 722-728.
- [3]Bayly Emma, Nguyen Vuong, Binek Adrian, Pigginn Anna, Baldwin Kylie, Westerman David, Came Neil. Validation of a modified pre-lysis sample preparation technique for flow cytometric minimal residual disease assessment in multiple myeloma, chronic lymphocytic leukemia, and B-non Hodgkin lymphoma[J]. Cytometry. Part B, Clinical cytometry, 2020, 98(5).
- [4]郭志成, 吴涛, 白海. 急性髓系白血病异基因造血干细胞移植前微小残留病检测意义的 Meta 分析[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(09): 1542-1547.
- [5]刘小兰, 关涛, 苏丽萍. 多发性骨髓瘤微小残留病的检测方法及其临床应用[J]. 国际肿瘤学杂志, 2018, 45(01): 56-58.
- [6]王亚哲, 路瑾, 郝乐, 常艳, 贺玲玲, 黄晓军, 刘艳荣. 4 色与 8 色荧光抗体组合检测多发性骨髓瘤患者微小残留病的比较分析[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(04): 272-278.
- [7]白蕊. 流式细胞仪在白血病微小残留病灶检测中的应用研究[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(02): 25-27.
- [8]胡淑芬, 谭冬梅, 谢伟成, 逢婷, 刘志伟, 吴普昭. 黑色素瘤特异性抗原基因定量检测在急性髓系白血病及微小残留病监测中的应用[J]. 白血病·淋巴瘤, 2015, 24(02): 115-117.