

· 临床研究 ·

## 多发性骨髓瘤染色体异常的荧光原位杂交技术检测\*

田祖国,袁 钟<sup>△</sup>,翁春岚

(遵义医学院附属医院血液内科,贵州遵义 563003)

**摘要:**目的 应用荧光原位杂交技术(FISH)检测多发性骨髓瘤(MM)的常见染色体异常情况及其临床意义。方法 运用 FISH,采用 5 种特异性探针检测 18 例 MM 患者染色体异常。结果 在 18 例 MM 患者中 13 例出现染色体异常,总异常检出率为 72%(13/18);其中 1q21 异常为 6%(1/18),13 号染色体的 D13S319 和 Rb-1 两种异常均为 17%(3/18),14 号染色体的 IGH 异常为 33%(6/18),17 号染色体的 p53 异常率为 6%(1/18)。并分析发现,染色体异常与患者的性别、年龄、DS 分期、ISS 分期、血红蛋白、血小板、浆细胞数、 $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)、清蛋白、肌酐、乳酸脱氢酶、C 反应蛋白无相关性。13 号染色体缺失的 MM 患者治疗效果不佳。结论 FISH 技术检测遗传学异常更敏感可靠;MM 患者 13 号和 14 号染色体异常多见。MM 染色体异常与患者的临床特征无相关性。

**关键词:**多发性骨髓瘤;染色体;原位杂交,荧光

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.26.018

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)26-3125-02

## Detection of chromosomal abnormalities in patients with multiple myeloma by fluorescence in situ hybridization\*

Tian Zuguo, Yuan Zhong<sup>△</sup>, Weng Chunlan

(Department of Hematology, Affiliated Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

**Abstract: Objective** To investigate the common chromosomal abnormalities and clinical significance of the patients with multiple myeloma(MM) by fluorescence in situ hybridization(FISH). **Methods** By using FISH, five specific probes were used to detect the chromosomal abnormalities of 18 patients with MM. **Results** Among 18 cases of MM, there were 13 cases of chromosome abnormalities, the overall detection rate of chromosomal abnormalities was 72%(13/18). And the frequencies of abnormalities in 1q21, the deletion of chromosome 13(including D13S319 and RB-1 two probes), translocation involving the 14q32 region, and deletion of chromosome 17 were 6%(1/18), 17%(3/18), 17%(3/18), 33%(6/18), 6%(1/18). Analysis showed that, there was no correlation between the incidence of chromosomal abnormalities and that the sex, age, D-S stage, ISS stage, hemoglobin, platelets, plasma cells,  $\beta_2$ -MG, albumin, creatinine, lactate dehydrogenase, C-reactive protein in the patients with MM. MM patients with chromosome 13 deletion, the treatment effect was poor. **Conclusion** The FISH technology for detecting genetic abnormalities is more sensitive and reliable. The deletion of chromosome 13 and the translocation involving the chromosome 14 is more common. There is no correlation between the clinical features of MM patients and their chromosomal abnormalities.

**Key words:** multiple myeloma; chromosomes; in situ hybridization, fluorescence

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种 B 细胞来源的恶性浆细胞肿瘤,研究表明几乎所有的 MM 患者均存在染色体异常改变,并发现这些染色体异常同 MM 的发病机制、分期及治疗、预后等方面有密切关系。荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)是一种新兴的分子细胞遗传学技术,明显提高了 MM 患者的染色体异常检出率。本研究采用间期 FISH 技术,针对 MM 患者较为常见 5 种染色体异常改变进行检测,了解和分析 MM 染色体异常的发生情况。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 18 例 MM 患者,均为遵义医学院附属医院和贵阳医学院附属医院 2008 年 3 月至 2009 年 3 月住院患者。诊断标准参照张之南主编的《血液病诊断及疗效标准》<sup>[1]</sup>,并且骨髓检查瘤细胞大于或等于 20%。其中男 13 例,女 5 例;年龄小于 60 岁 11 例,大于或等于 60 岁 7 例,DS 分

期:I 期 1 例,II 期 7 例,III 期 10;ISS 分期 I 期 2 例,II 期 9 例,III 期 7 例;血红蛋白(Hb)≥85 g/L 9 例,Hb<85 g/L 9 例;血小板(PLT)≥100 × 10<sup>9</sup>/L 14 例,PLT<100 × 10<sup>9</sup>/L 4 例;浆细胞大于或等于 0.3 15 例,小于 0.3 3 例; $\beta_2$ -微球蛋白( $\beta_2$ -MG)≥3.5 mg/L 9 例, $\beta_2$ -MG<3.5 mg/L 9 例;清蛋白(ALB)≥35 g/L 5 例,ALB<35 g/L 13 例;肌酐(CRE)≥176  $\mu$ mol/L 7 例,CRE<176  $\mu$ mol/L 11 例;乳酸脱氢酶(LDH)≥200 U/L 5 例,LDH<200 U/L 13 例;C 反应蛋白(CRP)≥5 mg/L 15 例,CRP<5 mg/L 3 例。同期选取 20 例非恶性血液病患者作为对照组。

**1.2 方法** 5 种特异性的基因探针购自北京金普嘉医疗科技有限公司。肝素抗凝新鲜骨髓 2 mL 经低渗、固定后滴片,过夜老化,按照探针试剂说明书进行 DNA 变性、杂交、洗片及复染。在荧光显微镜下选用合适的滤片组观察玻片上细胞的杂

\* 基金项目:卫生部科研基金资助课题(WKJ2007-3-001)。 作者简介:田祖国(1979~),主治医师,硕士,主要从事血液病方面的研究。

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel: (0852)8608237; E-mail: yuanzhong1963@126.com。

交信号。根据各探针检测图像标记情况,分析 20 份非恶性血液病患者的骨髓标本,每个探针观察 500 个细胞,计算出异常信号的细胞百分率和平均值、标准差,阈值= $\bar{x} \pm 3s$ 。然后每 1 份 MM 患者标本观察分析 200 个间期细胞,如果检测值大于阈值,判定为阳性结果。

**1.3 统计学处理** 对 5 种探针检测的染色体异常检出率,分别按照患者的一般临床资料进行分组比较,应用 SPSS16.0 软件进行分析( $\chi^2$  检验, Fisher 确切概率法),了解 MM 的染色体异常与患者的一般临床资料情况是否有关,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 5 种探针的检测阳性阈值** 1q21 5.02%、DBS319 10.06%、RB-1 12.28%、IGH 8.08%、p53 10.70%。

**2.2 5 种探针的检出结果** 18 例 MM 患者中 13 例出现染色体异常,总异常检出率为 72%(13/18);其中 1q21 异常率为 6%(1/18), D13S319 异常率为 17%(3/18), RB-1 异常率为 17%(3/18), IGH 易位异常率为 33%(6/18), p53 异常率 6%(1/18), 见图 1。其中有 1 例为同时有 IGH 易位和 D13S319 缺失两种异常。对 5 种探针检测的染色体异常检出率,分别按照患者的一般临床资料进行分组比较。结果显示染色体异常检出率与患者的一般临床情况之间无相关性(均  $P > 0.05$ )。

**2.3 共 18 例患者,治疗有效 10 例,总有效率 55.6%。** 其中 1 例 1q21 异常治疗有效,1 例 p53 异常患者治疗有效;6 例 IGH 异常患者 3 例有效,3 例无效,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。染色体检查阴性患者 5 例,4 例治疗有效。D13S319 及 RB-1 均为 13 号染色体异常,共 6 例阳性患者,其中治疗有效 1 例,无效 5 例,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

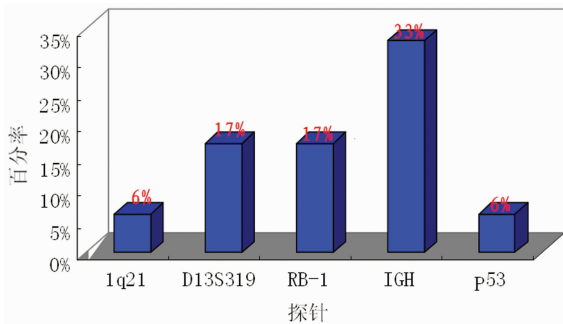


图 1 各染色体异常的检出率

## 3 讨 论

MM 是一种 B 细胞来源的恶性浆细胞肿瘤,研究发现其多具有染色体的异常改变,并且这些染色体的异常改变与患者的发病机制、病情发展、治疗效果及预后之间存在着密切关系,常规细胞遗传学技术染色体的异常检出率较低, FISH 技术能够应用特异性的基因探针检测染色体的异常改变,可明显提高异常染色体的检测效果。MM 染色体异常较为常见的包括, 1 号染色体异常、13 号染色体的缺失、14 号染色体的易位、17 号染色体的缺失。据报道,1 号染色体异常主要为 1p 缺失和 1q 扩增,目前认为 1q 扩增与预后不良密切相关<sup>[2]</sup>。13 号染色体缺失是 MM 最早被发现的染色体异常,多数研究认为其是独立的预后不良因素, Fonseca 等<sup>[3]</sup>应用特异性探针 RB-1 和 D13S319 对骨髓瘤患者进行检测,在约 54% 的患者中发现 13

号染色体缺失。14 号染色体中 14q32 含编码 B 细胞免疫球蛋白重链(IGH)基因,与之相关的易位达十余种,是 MM 中最常见的染色体异常。17 号染色体的缺失(del17p13)则导致 p53 基因缺失,目前认为其是 MM 疾病进展的继发性改变,与病程侵袭性发展和生存期较短相关。

据报道,运用常规细胞遗传学检查,MM 异常染色体检出率为 15%~30%,而 FISH 技术异常检出率为 65.0%~69.5%<sup>[4-6]</sup>。本实验 18 例患者中 13 例出现染色体异常改变,与文献报道相似,证明 FISH 技术是检测 MM 染色体异常的准确和敏感手段。MM 常见染色体异常改变情况,各类报道各不相同:Lee 等<sup>[7]</sup>的研究,13 号染色体缺失、IGH 重排及 1q 扩增异常中,1q 扩增最常见,发生率为 21.6%;也有报道 1q 扩增发生率在 7%~40% 不等<sup>[8-9]</sup>,而国内研究发现 1q21 异常为 35%~50%;13 号染色体缺失国外报道发生率在 38%~54%,国内报道为 29.4%~72%;14 号染色体异常导致 IGH 易位,外文报道发生率 74%,国内研究阳性率为 27.2%~68.0%;而 17 号染色体异常导致的 p53 基因缺失,国外研究报道阳性率为 10%~20%,国内文献报道则为 30%~35%<sup>[10-12]</sup>。

本研究各染色体异常的检出率分别为:1q21 扩增为 6%(1/18),13 号染色体缺失为 33%(6/18), IGH 易位为 33%(6/18), p53 缺失为 6%(1/18)。其中,13 号染色体及 14 号染色体异常较为多见。经过比较作者发现,本研究结果与文献报道存在一定差异,而各实验研究结果也各不相同,考虑可能与以下因素有关:(1)MM 患者的染色体异常改变可能存在着国家及区域间差异;(2)各实验研究的实验平台存在着差异;(3)大部分实验研究的样本量均不大,可能导致结果的差异。

对 5 种探针检测的染色体异常检测结果,按照患者的一般临床资料进行分组比较,结果显示染色体异常与患者的性别、年龄、DS 分期、ISS 分期、Hb、PLT、浆细胞数、 $\beta_2$ -MG、ALB、CRE、LDH、CRP 无相关性。染色体异常的 MM 患者中 1q21 阳性 1 例,治疗有效, P53 阳性患者 1 例,治疗有效; IGH 为 14 号染色体异常,共 6 例患者阳性,3 例有效,3 例无效。差异无统计学意义。染色体检查阴性患者 5 例,4 例治疗有效。D13S319 及 RB-1 均为 13 号染色体异常,共 6 例阳性患者,其中治疗有效 1 例,无效 5 例,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

但因本实验样本例数较少,可能会导致统计的误差,有待于大宗病例实验及长期的随访研究,以进一步明确和证实 MM 患者的染色体异常情况及其临床意义。

## 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] 罗赛群,胡维新. 1 号染色体长臂扩增与多发性骨髓瘤[J]. 生命化学, 2009, 29(6): 830-833.
- [3] Fonseca R, Oken M M, Harrington D, et al. Deletions of chromosome 13 in multiple myeloma identified by interphase FISH usually denote large deletions of the q arm or monosomy[J]. Leukemia, 2001, 15(6): 981.
- [4] Sawyer JR, Waldron JA, Jagannath S, et al. Cytogenetic findings in 200 patients with multiple (下转第 3128 页)

不能自行排出而发生尿潴留就诊。临床上明确诊断为尿道球部损伤后,给予留置导尿,在置入导尿管失败时,通常给予开放性尿道会师或尿道修补吻合术,及时恢复尿道连续性,对于伤情较重或伴有休克者,采取耻骨上膀胱造瘘,二期手术治疗尿道狭窄或尿道闭锁。前者手术创伤较大,后者仍需二期开放性手术或进一步腔道手术治疗,病程较长。

传统认为尿道损伤在诊断过程中,要避免人为损伤,尿道镜的检查是不适宜的<sup>[1]</sup>。但随着腔内泌尿外科技术及微创手术的发展及普及,尿道镜下尿道会师术治疗尿道球部损伤取得满意疗效,并逐渐普及,且有学者认为前尿道、后尿道损伤早期不必行膀胱尿道造影检查,均可行急诊内镜下诊治<sup>[2-3]</sup>。文献报道尿道镜下行尿道会师有诸多优点:(1)手术操作简单、损伤小,操作时间短、痛苦小,术后恢复快,住院时间短;(2)可一期达到恢复尿道连续性及引流尿液;(3)术后无性功能障碍、尿道狭窄等并发症;(4)可选择表面麻醉;(5)术后尿道狭窄的发生率与开放性手术相比无显著性差异<sup>[2,4]</sup>。

在使用窥镜时,有的选择膀胱镜,有的选择输尿管镜<sup>[5]</sup>。本科室在临床工作中选择置管镜,因置管镜带有插槽,可经插槽顺利快速插入气囊导尿管,且在观察时可带冷刀操作架,必要时可轻轻挑开损伤周围坏死组织或血凝块,更容易找到正常尿道黏膜,尽可能缩短了手术时间和减少副损伤。经耻骨上 2 cm 处小切口膀胱前壁戳孔,经切口插入 21 F 金属尿道探子,探及尿道内口并进入后尿道,此时窥镜可在断裂尿道处清楚见到尿道探子远端,若断裂尿道错位明显,可轻轻摆动探子,镜体轻轻触碰尿道探子并生理盐水灌注冲洗,也可清楚见到尿道探子,在探子引导下进入膀胱而顺利完成会师。该手术方式,从切皮到尿道探子顺利进入近端尿道所需时间 3~7 min,创伤小,所有病例均顺利完成会师,操作得当,不会形成假道,可避免进行传统开放性尿道会师术。

早期内镜治疗安全有效,可减少尿道狭窄形成,减少后续医疗费用,不会使阳痿、尿道狭窄、尿失禁的发病率升高<sup>[6-9]</sup>。因此,作者认为,球部尿道完全断裂在腔镜下尿道会师寻找断端困难时,采取膀胱穿刺尿道探子插入辅助引导,可完成一期腔镜下尿道会师术,腔镜下尿道会师术可取代传统耻骨上经膀

胱尿道会师术。

#### 参考文献:

- [1] 吴阶平,马永江.实用泌尿外科学[M].北京:人民军医出版社,1995:285.
  - [2] 孙颖浩,许传亮.尿道镜下尿道会师术治疗尿道球部损伤[J].临床泌尿外科杂志,1998,13(12):551.
  - [3] 孟晓,邵国兴,秦荣良,等.尿道损伤的急诊内镜诊治[J].中国内镜杂志,1997,3(3):64-65.
  - [4] 孙卫兵,刘辉,范治璐,等.膀胱尿道镜直视下尿道会师术治疗球部尿道损伤[J].医师进修杂志:外科版,2004,11(11):50-51.
  - [5] 王可兵,万跃平,王重南,等.输尿管镜下行尿道会师术治疗尿道断裂 11 例报告[J].临床泌尿外科杂志,2004,5(5):311.
  - [6] Chang PC, Hsu YC, Shee JJ, et al. Early endoscopic primary realignment decreases stricture formation and reduces medical costs in traumatic complete posterior urethral disruption in a 2-year follow-up[J]. Chang Gung Med J, 2011, 34(2):179-185.
  - [7] Hadjizacharia P, Inaba K, Pedro G, et al. Evaluation of immediate endoscopic realignment as a treatment modality for traumatic urethral injuries[J]. J Trauma, 2008, 64(6):1443-1449.
  - [8] Maheshwari PN, Shah HN. Immediate endoscopic management of complete iatrogenic anterior urethral injuries: a case series with long-term results[J]. BMC Urol, 2005, 5(1):13.
  - [9] Moudouni SM, Patard JJ. Early endoscopic realignment of post-traumatic posterior urethral disruption[J]. Urology, 2001, 57(4):628-632.
- (收稿日期:2013-03-18 修回日期:2013-05-22)
- 
- (上接第 3126 页)
- myeloma[J]. Cancer Genet Cytogen, 1995, 82(1):41-49.
- [5] 江涛. 荧光原位杂交检测多发性骨髓瘤分子细胞遗传学异常的研究[D]. 吉林:吉林大学, 2009.
  - [6] Yuregir J, Sahin FI, Yilmaz Z, et al. Fluorescent in situ hybridization studies in multiple myeloma[J]. Hematology, 2009, 14(2):90-94.
  - [7] Lee JW, Lee JK, Hong YJ, et al. Correlation of chromosomal aberrations with prognostic markers in multiple myeloma patients-a single institution study[J]. Korean J Lab Med, 2008, 28(6):413-418.
  - [8] Takimoto M, Ogawa K, Kato Y, et al. Close relation between 14q32/IGH translocations and chromosome 13 abnormalities in multiple myeloma: a high incidence of 11q13/CCND1 and 16q23/MAF[J]. Int J Hematol, 2008, 87(3):260-265.
  - [9] Wu KL, Beverloo B, Velthuisen SJ, et al. Sequential analysis of chromosome aberrations in multiple myeloma during disease progression[J]. Clin Lymphoma Myeloma, 2007, 7(4):280-285.
  - [10] 赵莹,郑冬. 荧光原位杂交在多发性骨髓瘤中的应用[J]. 浙江大学学报:医学版, 2009, 38(5):459-464.
  - [11] 谢菊芳,周永安,苏丽萍,等. 17 例多发性骨髓瘤患者 13 号染色体缺失的检测[J]. 中国现代医生, 2009, 47(11):7-10.
  - [12] 魏道林,秦尤文,王椿,等. 多发性骨髓瘤患者 13 号染色体缺失及其临床意义[J]. 中华内科杂志, 2006, 45(3):217-220.
- (收稿日期:2013-03-08 修回日期:2013-04-22)