

- [J]. *Cell*, 2000, 103 (1):41-50
- 9 Van Campenhout A, Golledge J. Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 204 (2):321-329
- 10 王振刚. 非甾体抗炎药治疗强直性脊柱炎的再认识[J]. *中国医刊*, 2013, 48(7):1-2
- 11 李红兵. 海藻酸作为新型药物转运载体的开发[J]. *高分子通报*, 2006, 19(8):39-43
- 12 陆彬. 药物新剂型与新技术[J]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 168
- 13 张炜真, 于世凤, 郑麟蕃. 大鼠破骨细胞体外分离培养和鉴定[J]. *解剖学报*, 1995, 26(3):291-293
- 14 于明香, 金慰芳, 王洪复. 应用抗酒石酸酸性磷酸酶(Trap)染色观察体外培养破骨细胞的生存时间[J]. *泰山医学院学报*, 1996, 27(2):91-93
- 15 Epker BN, Frost HM. Correlation of bone resorption and formation with the physical behavior of loaded bone[J]. *J Dent Res*, 1965, 44 (1):33-41
- 16 Heymann D, Rousselle AV. Gp130 cytokine family and bone cells[J]. *Cytokine*, 2000, 12 (10):1455-1468
- 17 Jimi E, Nakamura I, Amano H, *et al.* Osteoclast function is activated by osteoblastic cells through a mechanism involving cell-cell contact[J]. *Endocrinology*, 1996, 137 (5):2187-2190
- 18 Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, *et al.* The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2004, 15 (6):457-475
- 19 朱晓庆, 金悦, 梁军波, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路与糖尿病骨质疏松的关系[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(8):17-19
- 20 Sotome S, Uemura T, Kikuchi M, *et al.* Synthesis and in vivo evaluation of a novel hydroxyapatite/collagen-alginate as a bone filler and a drug delivery carrier of bone morphogenetic protein[J]. *Materials Science and Engineering*, 2004, 24 (3):341-347
- 21 Yuan H, Chen N, Lv X. Experimental study of natural hydroxyapatite/chitosan composite on reconstructing bone defects[J]. *J Nanjing Medical University*, 2008, 22 (6):372-375
- 22 De la Riva B, Nowak C, Sánchez E, *et al.* VEGF-controlled release within a bone defect from alginate/chitosan/PLA-H scaffolds[J]. *European J Pharmaceutics Biopharmaceutics*, 2009, 73 (1):50-58
- 23 Rodeo SA, Kawamura S, Ma CB, *et al.* The effect of osteoclastic activity on tendon-to-bone healing: an experimental study in rabbits[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2007, 89 (10):2250-2259
- (收稿日期:2013-07-27)
- (修回日期:2013-09-22)

多发性骨髓瘤免疫表型的特点

朱 萍 吴蓓倩 丁天凌 黄 波 牛 强 许小平 陈 宇

摘 要 目的 研究多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)细胞的免疫表型特点及意义。方法 采用直接免疫荧光法及三色流式细胞术,分析30例多发性骨髓瘤免疫表型。结果 30例MM患者的CD38、CD138均为阳性,CD3、CD10、CD22、CD34均为阴性,CD56表达阳性25例(83.3%),CD28表达阳性8例(26.7%),CD117表达阳性3例(10.0%),CD45弱阳性表达5例(16.7%),仅1例低表达CD19及CD20。结论 细胞免疫表型可以鉴别良恶性浆细胞,对MM辅助诊断、监测微小残留及靶向治疗提供依据。

关键词 多发性骨髓瘤 免疫表型 流式细胞术

[中图分类号] R733 [文献标识码] A

Feature and Significance of the Cell Immunophenotype of 30 Multiple Myeloma Patients. Zhu Ping, Wu Beiqian, Ding Tianling, Huang Bo, Niu Qiang, Xu Xiaoping, Chen Zi. Hematology Department, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Abstract Objective To investigate the feature and significance of the cell immunophenotype on patients with multiple myeloma. **Methods** Multiple parameters of flow cytometry and direct immunofluorescence were used to analysis the cell immunophenotype from 30 patients with multiple myeloma. **Results** The cell immunophenotype CD38 and CD138 were all positive in all 30 patients, CD3, CD10, CD22, CD34 were all negative, CD56 were positive in 25 cases(83.3%), CD28 were positive in 8 cases(26.7%), CD117 were positive in 3 case(10.0%), CD45 was weakly positive in 5 cases (16.7%), CD19 and CD20 were weak expression in only one case. **Conclusion**

基金项目:上海市卫生局基金资助项目(2010079)

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院血液科

通讯作者:陈宇, 电子信箱:drchenzi@163.com

By detecting the cell immunophenotype, malignant or benign plasma cells can be evaluated. FCM detection is helpful in auxiliary diagnosis of MM, detection of minimal residual disease and targeted therapy.

Key words Multiple myeloma; Immunophenotype; Flow cytometry

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是 B 淋巴细胞起源的骨髓克隆性浆细胞恶性增生,并伴单克隆免疫球蛋白增多和溶骨性病变为特征的一种恶性肿瘤。部分骨髓瘤细胞和反应性增多的浆细胞在形态上也很难区分,并且由于骨髓瘤细胞呈灶性分布,浆细胞比例往往达不到诊断标准(克隆性浆细胞 > 10%),这给临床诊断带来困难,而且随着 MM 新的治疗方法的进展,也需要建立新的监测微小残留病灶的方法,以及为靶向治疗提供依据。

资料与方法

1. 病例资料:2008 年 6 月 ~ 2013 年 2 月复旦大学附属华山医院住院初诊 MM 患者 30 例,其中男性 24 例,女性 6 例,患者年龄 45 ~ 79 岁,中位年龄 63 岁。所有诊断均符合《血液病诊断及疗效标准》^[1]。

2. 主要试剂和仪器:溶血剂(BD FACS Lysing Solution)及单克隆抗体包括 CD3、CD10、CD19、CD20、CD22、CD28、CD34、CD38、CD45、CD56、CD117、CD138,均购自美国 Becton Dickinson 公司。流式细胞仪为美国 BD 公司的 FACScan 型,采用 CellQuest 分析软件。

3. 检测方法:采集肝素抗凝的新鲜骨髓液(6h 内),调整细胞数至 $(0.5 \sim 1.0) \times 10^6$ 个/毫升,采用三色流式分析方案检测胞膜抗原。每管取 100 μ l 样本加不同组合抗体各 20 μ l,同时做同型对照管,混匀,避光 20min,溶血后上机检测分析,每管至少获取 10000 个细胞。

4. 判断标准:膜抗原 $\geq 20\%$ 为阳性,CD19 及 CD20 抗原 $\geq 10\%$ 为阳性。

结 果

1. 各类细胞比例:每例标本经 CD45/SSC 设门后,在 MM 患者骨髓中均可见一群异常细胞,这群细胞占有核细胞总数的比例在 2.0% ~ 63.0% (中位数为 16.7%)。同时送检的骨髓涂片中原幼浆细胞比例在 0 ~ 69% (中位数为 24%),成熟型浆细胞比例在 1% ~ 30% (中位数为 8%)。

2. MM 患者免疫表型结果:见表 1。30 例 MM 患者的 CD38、CD138 均为阳性,CD3、CD10、CD22、CD34 均为阴性,CD56 表达阳性 25 例(83.3%),CD28 表达阳性 8 例(26.7%),CD117 表达阳性 3 例(10.0%),CD 45 弱阳性表达 5 例(16.7%),仅 1 例低表达 CD19 及 CD20、CD19⁻ 和 CD20⁻ 患者比例均为 96.7%。

表 1 21 例 MM 细胞免疫表型

抗原标志	样本数	阳性样本数	阳性率(%)
CD38	30	30	100
CD138	30	30	100
CD28	30	8	26.7
CD56	30	25	83.3
CD117	30	3	10
CD19	30	1	3.3
CD20	30	1	3.3
CD45	30	5	16.7
Cyκ	9	3	33.3
Cyλ	9	6	66.7

讨 论

骨髓中肿瘤性浆细胞的发现和确定对于诊断 MM 极为重要。但是在 MM 细胞形态不典型的情况下,仅依赖形态学判断浆细胞的良恶性有一定困难。既往 MM 诊断标准中强调原幼浆细胞比例,随着对疾病研究的深入以及分子生物免疫学的发展,新的诊断标准下已经不强调浆细胞的原幼形态和骨髓中浆细胞的比例,而强调浆细胞的恶性和克隆性。

浆细胞异常免疫表型是确定恶性和克隆性有重要意义,对于 MM 的诊断很有价值。

CD38 和 CD138 是浆细胞最具有特异性标志。有少数研究发现 CD138 在 MM 细胞中表达阳性率仅约一半,但是多数研究表明 CD138 和 CD38 在 MM 细胞的表达几近 100%,因此 CD138/CD38 可以作为识别浆细胞的特异标志物^[2,3]。但是 CD38、CD138 表达不特异,良性浆细胞也有表达,需要结合其他指标判定浆细胞的良恶性。

CD56 表达是常见的浆细胞异常免疫表型,正常浆细胞一般不表达 CD56。Rawstron 等^[4]报道 78.2% 的 MM 患者 CD56⁺,本研究结果与之相近。国内其他类似研究 CD56 在 MM 中阳性率高低不等,在 20.0% ~ 89.3% 之间^[5-7]。CD19 在正常浆细胞上表达而在 MM 细胞中常不表达或低表达^[8],CD56⁺CD19⁻ 可以作为区分良恶性浆细胞的重要标志。本组 MM 患者中有 2 例骨髓涂片仅发现 3% 及 4% 成熟型浆细胞,而流式细胞术均可以发现 2% 的 CD56⁺CD19⁻ 的异常浆细胞群,经过换部位穿刺,骨髓涂片中发现大量骨髓瘤细胞。CD56⁺ 和 CD19⁻ 在恶性浆细胞中出现概率较其他标志物高,可以作为常规的恶

性浆细胞标志, CD56⁺ 和 CD19⁻ 联合应用则更加具有诊断特异性。

CD28 是一种 I 型糖蛋白受体, 是 T 细胞表面重要的协同刺激分子受体, MM 细胞是唯一表达 CD28 的非 T 细胞。CD28 的异常表达与骨髓瘤细胞增殖及疾病进展有关, 是异常浆细胞的重要标志之一^[9]。国外研究发现 CD28 不但可以作为 MM 的有效诊断指标, 还可以作为重要的预后指标。CD28 在骨髓瘤细胞中的检测和应用, 国内罕有报道。我们的研究显示约有 1/4 的 MM 病例有 CD28 异常表达, 因此将 CD28 作为 MM 病例常规检测标志。

CD117 在正常浆细胞上是不表达的, 据文献^[10~12]报道, 在骨髓瘤细胞中的表达分别为 27% 和 35.5%, 本组 30 例 MM 中有 3 例 (10.0%) 为 CD117⁺, 较其他文献报告比例低, 可能和病例数较少有关, 有待进一步研究。

总之, FCM 检测免疫表型对于鉴定浆细胞良恶性有重要价值。CD38、CD138 可以作为浆细胞标志, κ 和 λ 轻链检表达限制性测有助于确定浆细胞克隆性, CD56⁺、CD19⁻、CD28⁺ 和 CD117⁺ 是恶性浆细胞异常表型特征。综合运用以上指标, 本组 30 例 MM 患者骨髓中恶性浆细胞诊断效率达到 100%。

参考文献

- 1 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 373-379
- 2 孙莹, 方美云, 刘越坚. 多发性骨髓瘤免疫表型特征及其意义

- [J]. 中国实验血液学, 2010, 18(2): 381-384
- 3 Jeong TD, Park CJ, Shim H, *et al.* Simplified flow cytometric immunophenotyping panel for multiple myeloma, CD56/CD19/CD138 (CD38)/CD45, to differentiate neoplastic myeloma cells from reactive plasma cells [J]. Korean J Hematol, 2012, 47(4): 260-266
- 4 Rawstron AC, Davies FE, DasGupta R, *et al.* Flow cytometric plasma disease monitoring in multiple myeloma: the relationship between normal and neoplastic plasma cells predicts outcome after transplantation [J]. Blood, 2002, 100(9): 100-3095
- 5 姜永芳, 戴海滨, 董家藩, 等. 多发性骨髓瘤中骨髓瘤细胞免疫表型检测及其意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2011, 45(5): 448-450
- 6 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
- 7 苏倩倩, 谢晓宝, 邱国强. 四色流式分析多发性骨髓瘤免疫表型及稳定性[J]. 临床血液学杂志, 2011, 24(5): 279-282
- 8 Adam C. Immunophenotypic differentiation between neoplastic plasma cells in mature B-cell lymphoma vs plasma cell myeloma [J]. Am J Clin Pathol, 2007, 127(6): 176-181
- 9 Nair JR, Carlson LM, Koorella C, *et al.* CD28 expressed on malignant plasma cells induces a pro-survival and immunosuppressive micro-environment [J]. J Immunol, 2011, 187(3): 1243-1253
- 10 Kraj M, Kopeć - Szlęzak J, Poglód R, *et al.* Flow cytometric immunophenotypic characteristics of plasma cell leukemia [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2011, 49(1): 168-182
- 11 李娟, 罗绍凯, 张国材, 等. CD117 在多发性骨髓瘤细胞中的表达及意义[J]. 癌症, 2004, 23(8): 951-954
- 12 张莹, 杨威, 刘冬梅. 多发性骨髓瘤诊治过程中血清脂联素、瘦素和抵抗素的变化研究[J]. 中国医刊, 2012, 47(6): 52

(收稿日期: 2013-10-10)

(修回日期: 2013-10-16)

高脂饲料喂养时间和 STZ 剂量对建立 2 型糖尿病大鼠模型的影响

魏占英 沈 丽 冯晓慧 孙文广 葛 声

摘 要 目的 探索高脂饲料喂养时间及 STZ 剂量对制备 2 型糖尿病大鼠模型及其血糖稳定性的作用。**方法** 60 只雄性 SD 大鼠随机分为 6 组: 正常对照组 (CN 组) 普通饲料喂养; 模型 1 组 (M1 组) HFD 喂养 4 周 + STZ35mg/(kg·bw) 腹腔注射; 模型 2 组 (M2 组) HFD 喂养 4 周 + STZ38mg/(kg·bw) 腹腔注射; 模型 3 组 (M3 组) HFD 喂养 8 周 + STZ25mg/(kg·bw) 腹腔注射; 模型 4 组 (M4 组) HFD 喂养 8 周 + STZ30mg/(kg·bw) 腹腔注射; 模型 5 组 (M5 组) HFD 喂养 10 周 + STZ25mg/(kg·bw) 腹腔注射。STZ 注射后观察大鼠空腹血糖 (FBG)、空腹胰岛素 (FINS)、甘油三酯 (TG)、胆固醇 (TC)、口服糖耐量实验 (OGTT) 及血糖曲

基金项目: 中国医师协会临床营养发展基金资助项目 (CN2012017)

作者单位: 200233 上海市第六人民医院营养科

通讯作者: 葛声, 电子信箱: gesheng607@126.com