

非 IgM 型淋巴浆细胞淋巴瘤临床及生物学特征研究

邹德慧 易树华 刘慧敏 李增军 吕瑞 刘薇
汝昆 张培红 陈辉树 齐军元 赵耀中 邱录贵

【摘要】 目的 探索非 IgM 型淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)患者的临床及生物学特征,并与华氏巨球蛋白血症(WM)进行比较,探索两者的异同。方法 对 2000 年 1 月至 2013 年 12 月收治的 13 例非 IgM 型 LPL 患者临床资料进行回顾性分析,应用荧光原位杂交技术(FISH)对其中 7 例患者标本进行检查。结果 13 例患者中,男 7 例,女 6 例,中位发病年龄 63(43~74)岁。2 例分泌单克隆 IgA,6 例分泌单克隆 IgG,5 例不分泌单克隆性免疫球蛋白。以贫血为主要表现者 7 例,以皮肤黏膜出血和浅表淋巴结肿大为主要表现者各 2 例,出现 B 症状(发热、盗汗、体重减轻)者 8 例。所有患者均骨髓受累并表现贫血,10 例患者为血常规 2 系或以上减少。行流式细胞术检查的 5 例患者中 CD19、CD20、CD22 和 CD25 均阳性,CD10、CD38 和 CD103 均阴性,CD5 弱阳性 1 例(该患者 CD23 阴性),sIgM 阳性 1 例,CD23 和 CD11c 阳性各 2 例,FMC7 阳性 3 例。7 例患者行细胞遗传学检查,未见异常核型,应用 FISH 检查发现其中 2 例患者伴有 6q 缺失。结论 结合文献报道,非 IgM 型 LPL 与 WM 患者临床及生物学特征相似。

【关键词】 淋巴瘤; 非免疫球蛋白 M; 临床特征; 免疫表型分型; 细胞遗传学

Clinical and biological characteristics of non- IgM lymphoplasmacytic lymphoma Zou Dehui, Yi Shuhua, Liu Huimin, Li Zengjun, Lyu Rui, Liu Wei, Ru Kun, Zhang Peihong, Chen Huishu, Qi Junyuan, Zhao Yaozhong, Qiu Lugui. State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Qiu Lugui, Email:drqiu99@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To observe the clinical and biological characteristics of Non-IgM-secreting lymphoplasmacytic lymphoma (LPL) and draw the differences between non-IgM LPL and Waldenström macroglobulinemia (WM). **Methods** Records of 13 patients with non- IgM LPL were retrospectively analyzed between January 2000 and December 2013. The cytogenetic aberrations were detected by fluorescence in situ hybridisation (FISH). **Results** In the cohort, 7 males and 6 females with a median age of 63 years (range 43 to 74), two patients were IgA secreting, 6 with IgG secreting and 5 patients without monoclonal globulin. The major complaint at diagnosis included anemia associated symptom (53.8%), mucocutaneous hemorrhage and superficial lymphadenopathy (15.4%). Eight patients had B symptom at diagnosis. All of the 13 patients had bone marrow involvement and anemia, and 10 patients had 2 or 3 lineage cytopenia. In 5 patients with available immunophenotypic data, all expressed CD19, CD20, CD22 and CD25, but missed the expression of CD10, CD103 and CD38. Two cases had CD5 or sIgM positive alone. Another 2 patients were CD23 or CD11c positive and 3 patients were FMC7 positive. Cytogenetic aberrations had been detected by FISH in 7 patients, but only two (28.6%) patients had aberrations with del (6q). **Conclusions** The clinical and biological characteristics had no significantly difference between non-IgM LPL and WM.

【Key words】 Lymphoma; non-Immunoglobulin M; Clinical characteristics; Immunophenotyping; Cytogenetics

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.06.010

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAI09B12); 国家自然科学基金(81200395、81370632); 卫生公益性行业科研专项(201202017)

作者单位: 300020 天津, 中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院; 实验血液学国家重点实验室

通信作者: 邱录贵, Email: drqiu99@medmail.com.cn

淋巴浆细胞淋巴瘤 (lymphoplasmacytic lymphoma, LPL) 是一种较为罕见的惰性淋巴系统恶性肿瘤, 占血液系统恶性肿瘤的1%~2%, 占非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 的5%左右, 年发病率约3/100万^[1]。在WHO淋巴与造血肿瘤分类中, 将LPL定义为由小B淋巴细胞、浆细胞样淋巴细胞和浆细胞组成的肿瘤, 通常累及骨髓、淋巴结和脾, 亦可伴有其他结外器官受累, 同时又不符合任何其他一种伴有浆细胞分化的小B淋巴细胞肿瘤的诊断标准^[1-2]。大部分LPL患者常分泌单克隆性IgM成分, 少部分患者可伴有IgG或IgA升高, 或同时伴有IgM和IgG升高, 但亦有患者不分泌单克隆性免疫球蛋白^[3]。在WHO诊断标准中并未提及LPL分泌各种免疫球蛋白患者的比例, 分泌IgM或非IgM患者在临床表现或生物学行为上是否存在不同亦未见相关报道, 在本研究中我们对我院13例非IgM型LPL患者的临床及生物学特征进行了回顾性分析, 并与华氏巨球蛋白血症(WM)进行比较, 以探索两者的异同。

病例和方法

1. 病例: 收集2000年1月至2013年12月在我院诊断的133例LPL患者资料, 所有患者依据WHO淋巴与造血组织第3、4版的诊断标准进行LPL诊断^[1-2]。依据2002年WM工作组制订的诊断标准进行WM诊断^[4]。13例非IgM型LPL患者均经淋巴结和(或)骨髓病理学检查确诊。

2. 血清蛋白电泳及免疫固定电泳检测免疫球蛋白: 采用SPIFE/SPIFE2000全自动电泳仪及扫描仪分析并记录血清蛋白电泳和免疫固定电泳结果, 定性Ig重链及轻链类型。采用速率散射比浊法测定IgG、IgA和IgM表达水平, 所使用的Array360分析系统及配套试剂均为Beckman公司产品。

3. 染色体核型检查: 对于有骨髓侵犯者, 常规抽取骨髓液送染色体核型分析。采用骨髓细胞短期培养法制片, 热变性姬姆萨R显带, 平均分析中期细胞数15~20个, 染色体核型分析依据《人类细胞遗传学国际命名体系(ISCN)1995》的规定进行。

4. 荧光原位杂交(FISH)检查: 骨髓标本用肝素抗凝, 采取24h短期培养法, 不添加刺激因子, 收获后-20℃保存。FISH操作步骤参见文献^[5]。所用DNA探针包括: 13q14.3 (LSI RB1)、14q32 (LSI IGHC/IGHV)、17p13 (LSI TP53)、11q22 (LSI

ATM)、6q23 (LSI MYB)和+12(CEP12)。各个探针的阳性阈值为: +12和MYB缺失阳性值为7.5%, RB-1、ATM、P53缺失阳性值为6.5%, IgH易位阳性值为4.5%。

结 果

1. 非IgM型患者比例及免疫球蛋白水平: 133例LPL患者中116例(87.2%)分泌单克隆性IgM, 4例(3.0%)同时分泌单克隆性IgM和IgG, 这部分患者诊断为WM, 其相关研究参见我们的前期报道^[6]。非IgM型LPL患者为13例(9.8%), 包括分泌单克隆性IgA 2例(1.5%, 均为κ轻链), 分泌单克隆性IgG 6例(4.5%, 5例为κ轻链, 1例为λ轻链), 不分泌单克隆性免疫球蛋白5例。

2例IgA型患者IgA定量水平分别为35.4 g/L和72.6 g/L, 6例IgG型患者中位IgG水平47.4(8.05~74.3)g/L, 8例分泌单克隆免疫球蛋白的非IgM型LPL患者中位M蛋白水平为47.4(8.05~74.3)g/L。所有患者中位IgM蛋白水平为0.74(0.14~8.27)g/L, 5例不分泌型患者中2例IgM定量高于正常值高限(分别为8.01和8.27 g/L), 1例伴IgG水平轻度升高(19.9 g/L), 该3例患者各行2次血免疫固定电泳及血清蛋白电泳, 结果均为阴性。

2. 非IgM型患者临床特点: 13例患者中, 男7例, 女5例, 中位发病年龄为63(43~74)岁。以贫血为主要表现者7例, 以皮肤黏膜出血和浅表淋巴结肿大为主要表现者各2例, 出现B症状(发热、盗汗、体重减轻)者8例, 1例以周围性水肿为首表现, 无患者出现末梢神经炎或骨痛等。

所有患者均骨髓受累, 骨髓涂片中位成熟淋巴细胞/淋巴样浆细胞比例为0.535(0.145~0.935), 采用流式细胞术对其中5例患者骨髓进行免疫分型检查, 中位异常细胞比例为28.39%(11.00%~74.45%)。所有患者均有贫血, 中位HGB水平为82.5(48~105)g/L, 分别有7例患者出现外周血白细胞减低或血小板减低。单纯1系减少者3例, 2系减少者5例, 3系减少者5例。

肝炎病毒相关检查显示, 13例患者仅1例为HAV抗体阳性, HBV-Ab、HBV-Ag、HBc-Ag及HBC-Ab均为阴性。1例患者血肌酐升高(258 μmol/L)。

分泌和不分泌单克隆性免疫球蛋白的非IgM型LPL患者的临床特征见表1, 两组患者临床特征无明显差异。

表 1 分泌和不分泌单克隆性免疫球蛋白的非 IgM 型淋巴浆细胞淋巴瘤患者临床特征比较

临床特征	分泌型(8例)	不分泌型(5例)
男性[例(%)]	5(62.5)	2(40.0)
年龄[岁,M(范围)]	63.5(43~74)	48(44~71)
B症状[例(%)]	5(62.5)	3(60.0)
脾肿大[例(%)]	3(37.5)	1(20.0)
β_2 微球蛋白[mg/L,M(范围)]	4.41(1.55~14.50)	2.15(1.76~2.54)
WBC[$\times 10^9/L$,M(范围)]	5.07(3.33~11.22)	3.23(2.09~4.61)
HGB[g/L,M(范围)]	82.5(48.0~105.0)	85.0(57.0~94.0)
血小板减少[例(%)]	4(50.0)	4(80.0)
1系减少[例(%)]	3(37.5)	0
2系减少[例(%)]	3(37.5)	2(40.0)
3系减少[例(%)]	2(25.0)	3(60.0)

注:分泌型:分泌 IgA 2 例,分泌 IgG 6 例;B 症状:发热、盗汗、体重减轻

3. 非 IgM 型患者免疫表型及细胞遗传学特征: 5 例患者进行流式细胞术检查, 结果示 CD19、CD20、CD22 和 CD25 均阳性, CD10、CD38 和 CD103 均阴性, CD5 弱阳性 1 例(该患者 CD23 阴性), sIgM 阳性 1 例, CD23 和 CD11c 阳性各 2 例, FMC7 阳性 3 例。

13 例患者中有 7 例获得完整的染色体核型资料, 并进行慢性淋巴细胞白血病(CLL)相关的 FISH 检查。所有染色体核型均未见异常。FISH 探针检测 13q13、11q-、+12、17p13、t(14q32)均阴性, 2 例患者 del(6q23)阳性, 阳性率分别为 25.0%和 25.6%。

讨 论

依据 WHO 分类定义, LPL 细胞起源于生发中心后向浆细胞分化的阶段, 此阶段发生了免疫球蛋白重链(IGH)基因可变区(V 区)的高频突变, 获得特异且高效的抗原结合性 B 细胞, 从而促进抗体成熟, 同时发生免疫球蛋白基因(IG)的类别转换, 即从初始分泌 IgM 抗体向分泌 IgG、IgA 或 IgD 等进行转化^[1-2]。LPL 细胞被认为起源于 B 细胞经过了体细胞高频突变而未发生 IG 类别转化阶段, 其理论依据即多数 LPL 患者 IGHV 基因发生突变, 但同时绝大多数患者分泌单克隆性 IgM 抗体。但有文献报道部分 LPL 患者不分泌单克隆性 IgM, 却分泌单克隆性 IgG 或 IgA, 提示部分 LPL 患者细胞起源于 IG 发生类别转化之后^[3]。依据 WHO 分类定义, 如果分泌单克隆性 IgM 且侵犯骨髓, 则可诊断为 WM, 由于绝大多数 LPL 为 WM, 故文献研究多集中于 WM。

有文献报道非 IgM 型 LPL 所占比例为 NHL 的 5%左右^[3], 但无文献系统研究非 IgM 型 LPL 患者的临床及生物学特征。

本研究中, 我们对我院近 15 年间 13 例非 IgM 型 LPL 患者的临床及生物学特征进行了回顾性分析, 非 IgM 型 LPL 患者比例接近 10%, 略高于文献报道。与我们之前报道的 90 例 WM 患者临床及生物学特征进行比较^[6], 发现两者中位发病年龄、性别比例、主要起病症状等无明显差异; 虽然本组患者中 M 蛋白水平略高于之前报道的 WM 患者(47.4 g/L 对 39.6 g/L), 但本组患者未见末梢神经炎、高黏滞血症等高 M 蛋白相关表现, 可能与 WM 患者以分泌 IgM 为主, IgM 以五聚体或六聚体形式存在, 较在血清中以单聚体形式存在的 IgG 或 IgA 更容易出现高黏滞血症并对外周神经损伤有关。另外与 WM 比较, 非 IgM 型 LPL 患者更容易出现两系或以上血细胞减少(76.9%对 46.7%)。

免疫表型是 LPL 与其他 B-LPD 鉴别的重要标志之一, 但 LPL/WM 无特异的免疫标志, WHO 分类中 LPL/WM 的免疫表型描述为 CD19+、CD20+、CD5-、CD10-、CD23-^[1-2]。但文献报道与之有出入, 如在文献[7-9]的报道中 WM 患者 CD23 阳性率在 16%~61%。关于非 IgM 型 LPL 患者免疫表型尚未见文献报道。本组患者与同期 WM 患者比较, 两者免疫表型无显著差异(数据未发表)。本组患者中 CD23 阳性率为 40.0%, 与文献报道一致。本组 1 例患者表达 CD5 弱阳性, 经病理组织细胞形态学检查结合临床资料确诊为 LPL。

有文献报道 LPL/WM 最常见的细胞遗传学异常为 6q 缺失, 发生率接近 50%^[10-11], 其他遗传学改变少见, 本研究中我们应用 MYB 基因 DNA 探针行 FISH 检查, 7 例被检患者中 2 例 6q 缺失, 发生率 28.6%, 低于文献报道, 但与我院同时期 WM 患者发生率相当(数据未发表)。Braggio 等^[12]曾应用微阵列比较基因组杂交(aCGH)技术检测 55 例 LPL(其中 WM 42 例)患者的基因组学改变, 结果示 WM 患者中最常见的异常为 6q-, 发生率 41%, 最小缺失区域包括 6q21(PRDM1)和 6q23.3-q24.1(TNFAIP3), 13q14 中包括 MIRN15A 和 16-1 在内的最小缺失区域发生率为 10%。获得性异常中以 18 号染色体和 6p 的全部或部分获得最常见(12%), 其次为 3q13.3-q28 获得(10%)、8q 获得(10%)和 Xq27-q28 获得(10%)。有意思的是发现了 NF- κ B 信号通路负向调节基因 TRAF3 和 TNFAIP3 的双等位缺失和(或)单

亲二倍体的失活性突变,这种异常与WM中NF- κ B靶基因的转录活性增强显著相关;在非WM/LPL患者中,6q-的缺失率亦达61%,且70%的患者存在NF- κ B信号通路的异常,进一步证实LPL和WM为同一类型的淋巴瘤,NF- κ B信号通路在LPL/WM发病机制中发挥重要作用。对此我们在参考文献[13]中进行了综述。

关于LPL生物学特征的探讨多集中于WM,非IgM型LPL患者相关研究较少。近年来研究发现,MYD88 L265P基因突变是WM的主要遗传学事件,发生率高达90%以上^[14-15]。Treon等^[14]报道3例非IgM型患者中均存在MYD88 L265P位点突变,多个个案报道亦提示非IgM型LPL患者存在MYD88 L265P基因突变^[16],提示两者存在共同的遗传学异常。

综上所述,非IgM型LPL为罕见B-NHL亚型,占LPL的5%~10%,其临床及生物学特征与WM相似。

参考文献

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue[M]. 4th edn. Lyon: IARC Press, 2008: 194-195.
- [2] Berger F, Isaacson PG, Piris MA, et al. Lymphoplasmacytic lymphoma/ Waldenstrom macroglobulinemia. In: Jaffe ES, Harris NA, Stein H, et al, eds. Pathology and Genetics of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissue. World Health Organization Classification of Tumours[M]. Lyon: IARC Press, 2001: 132-134.
- [3] Treon SP. How I treat Waldenstrom macroglobulinemia [J]. Blood, 2009, 114(12): 2375-2385.
- [4] Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, et al. Clinicopathological definition of Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia [J]. Semin Oncol, 2003, 30(2): 110-115.
- [5] 易树华,李增军,王慧君,等. 260例CD5+慢性B淋巴增殖性疾病患者免疫表型分析[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(4): 337-341.
- [6] Yi S, Cui R, Li Z, et al. Distinct characteristics and new prognostic scoring system for Chinese patients with Waldenström macroglobulinemia [J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(12): 2327-2331.
- [7] Konoplev S, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE, et al. Immunophenotypic profile of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia [J]. Am J Clin Pathol, 2005, 124(3): 414-420.
- [8] Hunter ZR, Branagan AR, Manning R, et al. CD5, CD10, and CD23 expression in Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. Clin Lymphoma, 2005, 5(4): 246-249.
- [9] San Miguel JF, Vidriales MB, Ocio E, et al. Immunophenotypic analysis of Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. Semin Oncol, 2003, 30(2): 187-195.
- [10] Ocio EM, Schop RF, Gonzalez B, et al. 6q deletion in Waldenström macroglobulinemia is associated with features of adverse prognosis [J]. Br J Haematol, 2007, 136(1): 80-86.
- [11] Schop RF, Kuehl WM, Van Wier SA, et al. Waldenström macroglobulinemia neoplastic cells lack immunoglobulin heavy chain locus translocations but have frequent 6q deletions [J]. Blood, 2002, 100(8): 2996-3001.
- [12] Braggio E, Philipsborn C, Novak A, et al. Molecular pathogenesis of Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. Haematologica, 2012, 97(9): 1281-1290.
- [13] 易树华,邱录贵. 淋巴浆细胞淋巴瘤/华氏巨球蛋白血症发病机制研究进展[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(6): 568-570.
- [14] Treon SP, Xu L, Yang G, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia [J]. N Engl J Med, 2012, 367(9): 826-833.
- [15] Varettoni M, Arcaini L, Zibellini S, et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms [J]. Blood, 2013, 121(13): 2522-2528.
- [16] Anelli L, Zagaria A, Minervini A, et al. IgG-lymphoplasmacytic lymphoma following polycythemia vera: JAK2 V617F and MYD88 L265P mutations separated in the same house [J]. Ann Hematol, 2014, 93(9): 1605-1607.

(收稿日期:2015-02-15)

(本文编辑:刘志红)