

บทความพิเศษ

Myeloma Pathology 2017

สัญญา สุขพนิชนันท์

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

Plasma cell myeloma (แปลตามศัพท์ “เนื้องอกไขกระดูกจากเซลล์พลาสมา”) หรือที่นิยมเรียกว่า multiple myeloma (แปลตามศัพท์ “เนื้องอกไขกระดูกหลายตำแหน่ง”) เป็นมะเร็งของเซลล์พลาสมา (plasma cell malignancy) ซึ่งเพิ่มจำนวนผิดปกติในโพรงกระดูกมากกว่า 1 ตำแหน่งขึ้นไป¹⁻³ ผู้ป่วยอาจจะไม่มีอาการจำเพาะในระยะแรกของโรค (smoldering myeloma) แต่ตรวจพบในขณะมาพบแพทย์ด้วยเรื่องอื่นที่ทำให้มีการตรวจเลือดพบปริมาณโกลบูลิน (globulin) สูงกว่าปกติ หรืออาจมีอาการเกี่ยวข้องกับโรคโดยตรงที่นิยมเรียกตัวย่อว่า CRAB (hyperCalcemia, Renal insufficiency, Anemia และ Bone lesions) ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีทำให้เราเข้าใจโรคนี้ได้ดีขึ้น ในปัจจุบันมีการรักษาที่ทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตยืนยาวมากขึ้น สำหรับบทความพิเศษนี้จะกล่าวเฉพาะแง่มุมทางพยาธิวิทยาที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวินิจฉัย การประเมินความรุนแรงของโรค พยากรณ์โรค และติดตามโรค ตลอดจนการวินิจฉัยแยกโรคกับภาวะโกลบูลินโคลนเดี่ยวที่ไม่ทราบความสำคัญ (monoclonal gammopathy of undetermined significance ต่อไปจะเรียกย่อว่า MGUS) เนื้องอกเซลล์พลาสมา (plasmacytoma) ลิมโฟมาชนิดลิมโฟพลาสมา-ซิติค (lymphoplasmacytic lymphoma ต่อไปจะเรียกย่อว่า LPL) ลิมโฟมานอกต่อมน้ำเหลืองชนิดมาจินัลโซนที่มีการเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์พลาสมา (extranodal marginal zone lymphoma with plasmacytic differentiation ต่อไปจะเรียกย่อว่า MZL+PCD) และลิมโฟมาชนิดพลาสมาบลาสต์ (plasmablastic lymphoma ต่อไปจะเรียกย่อว่า PBL) สำหรับการกล่าวถึงโรค plasma cell myeloma หรือ multiple myeloma ในบทความนี้ต่อไปจะใช้คำย่อว่า MM แทน

เนื้อเรื่อง

การวินิจฉัย MM มักไม่มีปัญหาหลังประเมินข้อมูลทางคลินิก ร่วมกับการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจเลือด การตรวจเคมีเลือด (blood chemistry) การตรวจหาโปรตีน

โคลนเดี่ยว (monoclonal protein ที่นิยมเรียกว่า M protein) การตรวจชนิดของอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulin) และการตรวจภาพวินิจฉัย (imaging) ด้วยเทคนิคต่าง ๆ แน่นอนว่า เกณฑ์การวินิจฉัยโรคต้องอาศัยการตรวจไขกระดูกเพื่อยืนยันว่ามีจำนวนเซลล์พลาสมาที่มากเพียงพออย่างน้อยร้อยละ 10 ของจำนวนเซลล์ไขกระดูกที่มีนิวเคลียสทั้งหมด^{1,2}

การประเมินเซลล์พลาสมาในไขกระดูกทางพยาธิวิทยาโดยการตรวจดูลักษณะของเซลล์เพียงอย่างเดียว (morphologic evaluation) เพื่อวินิจฉัย MM

โดยปกติเซลล์พลาสมาพบได้จำนวนเล็กน้อย ซึ่งมักเห็นเป็นเซลล์ชั้นเดียวอยู่โดยรอบหลอดเลือดฝอยในไขกระดูก (perivascular location) ในกรณีที่มีการเพิ่มของเซลล์พลาสมาจากสาเหตุใดก็ตาม จะพบเซลล์พลาสมาอยู่เป็นกลุ่มเล็กๆ (cluster) ซึ่งมักมีจำนวน 3-5 เซลล์ได้ แต่บางครั้งก็อาจเห็นกลุ่มที่ใหญ่กว่านั้นได้ ตำราส่วนใหญ่มักจะบรรยายว่า ใน MM จะเห็นเซลล์พลาสมาอยู่กันหนาแน่นเป็นปึกแผ่น (sheet of plasma cells) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาที่ยืนยันว่า กลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาเพียงอย่างเดียวไม่มีเซลล์ไขกระดูกอื่นเข้ามาแทรกปะปน (homogeneous nodule of plasma cells) ขนาดตั้งแต่ครึ่งหนึ่งของภาพที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยายสูง (1/2 high power field) ซึ่งใช้เลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ขนาดกำลังขยาย 40 เท่า (40x) พบได้เฉพาะแต่ MM เท่านั้น ไม่พบในโรคอื่นที่อาจกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์พลาสมา⁴ (Figure 1) ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยการเพิ่มจำนวนของเซลล์พลาสมาเมื่อกลายเป็นเซลล์มะเร็งไปแล้ว จากเซลล์มะเร็ง 1 เซลล์แบ่งตัวเพิ่มเป็น 2 จากนั้นเพิ่มจาก 2 เป็น 4, 4 เป็น 8, 8 เป็น 16, 16 เป็น 32, 32 เป็น 64, 64 เป็น 128, 128 เป็น 256 ... สร้างเป็นอาณาจักรของเซลล์มะเร็งขึ้นภายในไขกระดูก และเมื่อเซลล์มะเร็งแพร่กระจายไปตำแหน่งอื่นก็จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนสร้างอาณาจักรขึ้นใหม่เป็นกลุ่มก้อนขึ้นใหม่ที่ไขกระดูกรอบกวนการเพิ่มจำนวนของเซลล์ไขกระดูกปกติ แต่น่าเสียดายที่การตรวจพบกลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งโดยมีขนาด

หมายเหตุ: บทความพิเศษนี้เขียนขึ้นหลังการบรรยายพิเศษเรื่อง “Myeloma Pathology 2017” ในการประชุมวิชาการ Myeloma Academy. Case-based approach in plasma cell disorders: from bench to bedside เมื่อวันที่ 28 ตุลาคม 2560 ณ โรงแรมแกรนด์ไฮแอทเอราวัณ กรุงเทพมหานคร

ผู้พิมพ์ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุน “เฉลิมพระเกียรติ” คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

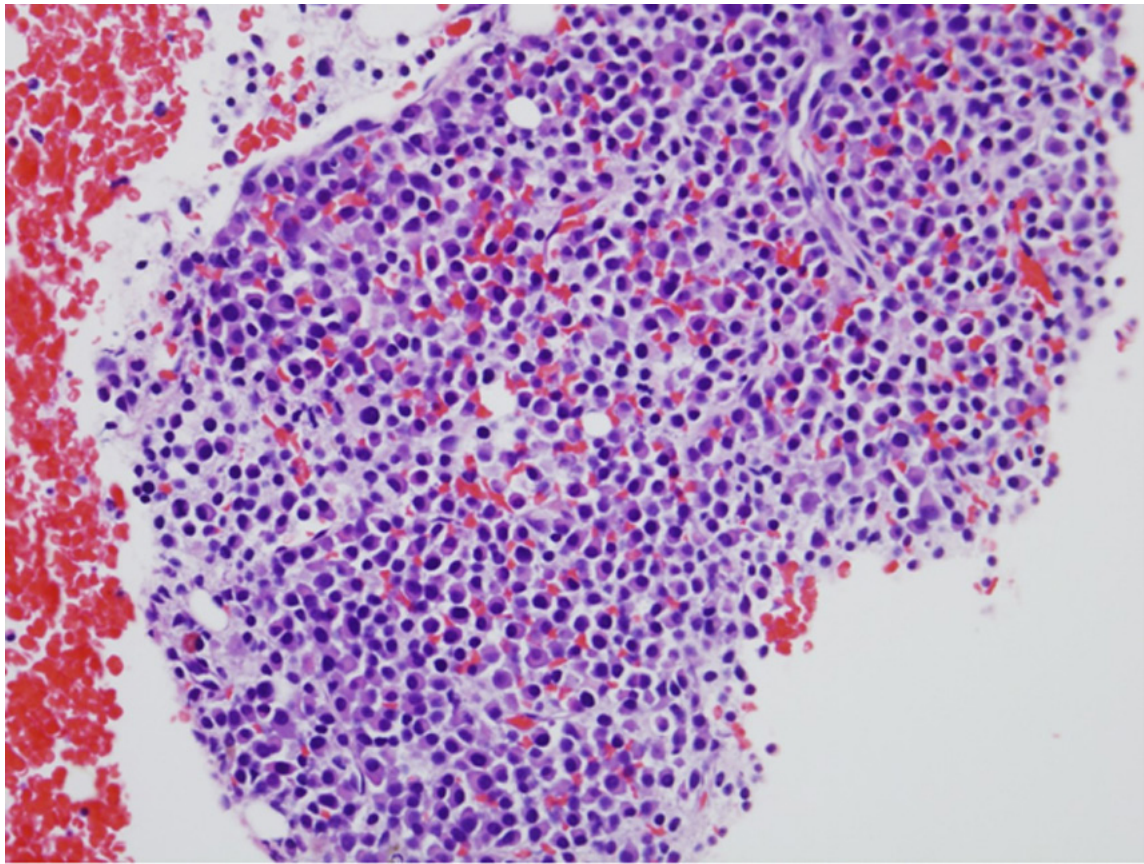


Figure 1 Homogeneous nodule of plasma cells at least 1/2 high power field described by Canale& Collins⁴ - a pathognomonic finding in diagnosis of MM.

ที่กำหนดนี้ พบได้เพียงร้อยละ 50-60 ของผู้ป่วย MM เท่านั้น^{3,5} ในรายที่ไม่มีกลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาขนาดดังกล่าว ก็จะมีปัญหาในการแยกระหว่างภาวะกระตุ้นให้เซลล์พลาสมาเพิ่ม (reactive plasmacytosis) กับ MM อยู่ (หมายเหตุ: ในบทความนี้ จะเรียก “เซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็ง” แทนการเรียก “เซลล์มัยอีโลมา” หรือ myeloma cell เพราะในการตรวจทางพยาธิวิทยา เซลล์มะเร็งใน MM อาจมีลักษณะเหมือนเซลล์พลาสมาในภาวะปกติได้)

การประเมินเซลล์พลาสมาในไขกระดูกทางพยาธิวิทยาโดยการย้อมพิเศษด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) เพื่อการวินิจฉัย MM

ในภาวะกระตุ้นให้เซลล์พลาสมาเพิ่มนั้น เซลล์พลาสมาเหล่านี้จะพัฒนามาจากบี-ลิมโฟไซต์ (B-lymphocyte) หรือบี-เซลล์ (B-cell) หลายหลากโคลน (polyclonal) ดังนั้น เมื่อย้อมพิเศษด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีหรือที่นิยมเรียกว่า การย้อมอิมมูโน (immunostaining) จะพบเซลล์พลาสมาที่ย้อมติดสีเมื่อใช้น้ำยาแอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบูลิน (antibody to immunoglobulin) ชนิดต่างๆ ดังที่ทราบกันว่า อิมมูโนโกลบูลินประกอบด้วยสายหนัก (heavy chain) 2 สายกับสายเบา (light chain) 2 สาย โดยที่คู่

สายจะต้องเหมือนกัน กล่าวคือ ถ้าสายเบาเป็นแคปปา (kappa) และสายหนักเป็นแกมมา (gamma) เซลล์พลาสมาที่เจริญมาจากโคลนเดียวกันก็จะสร้างสายเบาค่าป้า (kappa light chain) และสายหนักแกมมา (gamma heavy chain) เหมือนกันในทางปฏิบัตินิยมย้อมดูเปรียบเทียบระหว่างสายเบาค่าป้ากับสายเบาลัมดา (lambda light chain) เพราะมีอยู่เพียง 2 ชนิดเท่านั้น ในขณะที่สายหนักมีถึง 5 ชนิด คือ แกมมา, อัลฟา (alpha), มิว (mu), เดลตา (delta) และ เอปซิลอน (epsilon) สำหรับอิมมูโนโกลบูลินชนิดแกมมา (gamma immunoglobulin, ไอจีจี หรือ IgG), อัลฟา (ไอจีเอ หรือ IgA), มิว (ไอจีเอ็ม หรือ IgM), เดลตา (ไอจีดี หรือ IgD) และเอปซิลอน (ไอจีอี หรือ IgE) ตามลำดับ ดังนั้น การย้อมอิมมูโนในไขกระดูกทางพยาธิวิทยาจะย้อมดูเฉพาะสายเบาค่าป้ากับสายเบาลัมดา ก่อน ถ้าดูเปรียบเทียบกันแล้วพบว่า เซลล์พลาสมาที่ย้อมติดสีเฉพาะสายใดสายหนึ่งก็จะช่วยตัดสินเรื่องโคลนเดียวของเซลล์พลาสมาได้ที่เรียกว่า การย้อมติดเฉพาะสายใดสายหนึ่ง เช่น ย้อมติดเฉพาะสายเบาค่าป้า (kappa light chain restriction) เป็นต้น⁶ โดยมีการศึกษาพบว่าในภาวะโกลบูลินโคลนเดียว (monoclonal gammopathy) จากสาเหตุต่างๆ นั้น พบว่ามีเพียง MM เท่านั้นที่มีอัตราส่วนระหว่างสายเบา 2 สาย

(light chain ratio) กล่าวคือ อัตราส่วนระหว่างสายเบาคัปเปากับสายเบาลัมดา หรืออัตราส่วนระหว่างสายเบาลัมดากับสายเบาคัปเปาที่สูงที่สุด โดยอาจสูงถึง 16:1⁷ ซึ่งก็สามารถอธิบายได้ เพราะใน MM เซลล์มะเร็งเพิ่มจำนวนมากกว่าในภาวะโกลบูลินโคลนเดียวจากสาเหตุอื่น ดังนั้น จึงทำให้มีอัตราส่วนระหว่างสายเบาคัปเปา 2 สายสูงที่สุด อย่างไรก็ตาม ในบีเซลล์ลิ้มโฟมาที่มีการเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์พลาสมา (B-cell lymphoma with plasmacytic differentiation) เช่น LPL, MZL+PCD, หรือ PBL ก็อาจตรวจพบอัตราส่วนระหว่างสายเบาคัปเปา 2 สายสูงมากๆ เหมือน MM ได้ ดังนั้น จึงต้องระมัดระวังให้ดีในการแยกลิ้มโฟมาออกไปให้ได้ ซึ่งจะได้อธิบายต่อไปในหัวข้อการวินิจฉัยแยกโรค

การย้อมอิมมูโนสำหรับอิมมูโนโกลบูลินมักจะพบพื้นหลังของเนื้อเยื่อติดสีได้ (background staining) เพราะในซีรัม (serum) จะมีอิมมูโนโกลบูลินอยู่โดยเฉพาะไอจีจีกับแคปเปา แต่ในทางปฏิบัติก็มักจะแปลผลการย้อมได้ โดยให้ความสนใจเฉพาะการย้อมติดในไซโทพลาสซึมของเซลล์พลาสมาเท่านั้น ในกรณีที่มีปัญหาพื้นหลังติดสีย้อมสูงจนรบกวนการแปลผลมาก จำเป็นต้องใช้เทคนิคอินไซโตไฮบริไดเซชัน (in situ hybridization) สำหรับเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ของแคปเปากับลัมดาแทน⁸

ผู้นิพนธ์และคณะได้อาศัยการย้อมอิมมูโนร่วมกับการประเมินเซลล์พลาสมาในไขกระดูกทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วย MM จำนวน 176 รายเปรียบเทียบกับภาวะอื่นๆ พบว่า สามารถใช้การย้อม

อิมมูโนในการระบุกลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาให้เล็กลงกว่าขนาดที่กำหนดไว้เดิมได้ โดยเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งจะย้อมติดเฉพาะสายเบาคัปเปาเดียวเท่านั้น (light chain restriction) ทำให้กลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาดังกล่าวไม่มีเซลล์พลาสมาที่ย้อมติดสายเบาลัมดาอีกสายเข้ามาปะปน เรียกสิ่งตรวจพบนี้ว่า กลุ่มเซลล์พลาสมาที่มีชนิดเดียว (monotypic aggregate of plasma cells) ซึ่งโดยทั่วไป เซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งจะครองเนื้อที่ในไขกระดูกและต้นเซลล์อื่นๆ ในไขกระดูกออกไปอยู่รอบนอกกลุ่ม ทำให้หลายครั้งเห็นเฉพาะแต่กลุ่มเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งถูกล้อมรอบด้วยเซลล์ไขมันในไขกระดูก (marrow fat cell) เท่านั้น (Figure 2) จากการศึกษาดังกล่าว พบผู้ป่วย MM ประมาณร้อยละ 60 ที่สามารถตรวจพบกลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งโดยมีขนาดอย่างน้อย 1/2 hpf และประมาณร้อยละ 80 ที่สามารถตรวจพบกลุ่มเซลล์พลาสมาที่มีชนิดเดียว เมื่อใช้สิ่งตรวจพบทั้งสองนี้เป็นเกณฑ์วินิจฉัย MM จะพบได้ในผู้ป่วย MM เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 84 ในขณะที่ผู้ป่วย MM ประมาณร้อยละ 60 เท่านั้นที่มีผลการนับเซลล์พลาสมาในไขกระดูกไม่น้อยกว่าร้อยละ 10³

ลักษณะของเซลล์พลาสมาในเนื้องอกเซลล์พลาสมาและใน MM มีความหลากหลายได้สูง

เซลล์พลาสมาในเนื้องอกเซลล์พลาสมาและใน MM อาจดูไม่ต่างจากเซลล์พลาสมาปกติ (บทความนี้จึงไม่อยากเรียกเซลล์

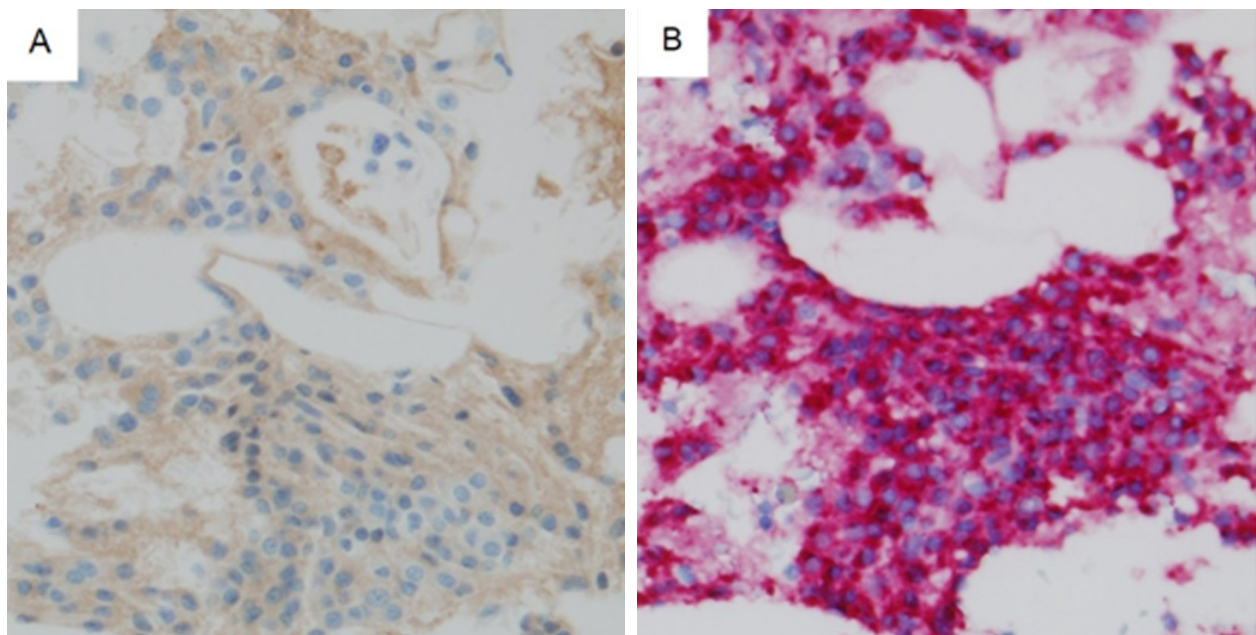


Figure 2 Monotypic aggregate of plasma cells described by Sukpanichnant et al.³ (A) Immunostaining for kappa light chain. No positive staining in the cytoplasm of plasma cells. (B) Immunostaining for lambda light chain. Note positive red staining in the cytoplasm of plasma cells, indicative of immunoglobulin light chain restriction. Also a pathognomonic finding in diagnosis of MM, similar to Figure 1.

มัยอีโกลมาดังที่ได้แจ้งแล้วข้างต้น) แต่จะแตกต่างจากภาวะกระตุ้นให้มีเซลล์พลาสมาเพิ่มในเรื่องจำนวนที่มากจนเกิดเป็นกลุ่มก้อน และไม่มีเซลล์อักเสบอื่นปน โดยเฉพาะลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ซึ่งมักพบในการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) ร่วมกับเซลล์พลาสมาอยู่เสมอ ดังนั้น กลุ่มก้อนของเซลล์พลาสมาในเนื้องอกเซลล์พลาสมาและใน MM นั้นจะมีแต่เซลล์พลาสมาที่หลุดเลือดฝอยที่สอดแทรกอยู่ในระหว่างกลุ่มเล็กๆ ของเซลล์พลาสมา โดยไม่มีเซลล์ชนิดอื่นแทรกปะปน (Figure 3) บางครั้งอาจดูคล้ายถุงลมในปอดที่มีเลือดออกปนกับเซลล์พลาสมา (alveolar growth pattern) หรือบางครั้งอาจดูคล้ายเนื้องอกของเซลล์สร้างฮอร์โมนหรือเม็ดหลังสารประสาท (neurosecretory granule) เมื่อดูด้วยกำลังขยายต่ำสุดของกล้องจุลทรรศน์ สามารถอธิบายได้จากการที่เซลล์พลาสมาจะหลั่งอิมมูโนโกลบูลิน ออกมาเพื่อเข้าสู่กระแสเลือดได้โดยตรง จึงเป็นธรรมดาที่จะเห็นหลอดเลือดฝอยเข้ามาแทรกอยู่ในระหว่างกลุ่มเล็กๆ ของเซลล์พลาสมา ซึ่งเมื่อดูด้วยตาเปล่าจะเห็นเป็นเนื้อนุ่มๆ ออกสีแดงที่ในอดีตมีการบันทึกว่าพบสารสีแดงที่มีลักษณะคล้ายเจลาตินที่ออกมันๆ (red substance หรือ gelatiniform substance of a blood-red colour and unctuous feel) ในไขกระดูกของผู้ป่วย MM²

นอกจากนี้แล้ว เซลล์พลาสมาในเนื้องอกเซลล์พลาสมาและใน MM อาจแสดงลักษณะของเซลล์ที่หลากหลาย¹ เช่น มีปริมาณไซโทพลาซึม (cytoplasm) น้อยกว่าเดิม โดยอาจจะน้อยที่เรียกว่าเซลล์คล้ายเซลล์พลาสมาหรือเซลล์พลาสมาไซโตยด์ (plasmacytoid cell) หรือเซลล์ลิมโฟพลาสมาไซโตยด์ (lymphoplasmacytoid cell) หรืออาจจะมีปริมาณไซโทพลาซึมมากจนดูผิดปกติ (dysplastic plasma cell) นอกจากนี้ อิมมูโนโกลบูลินที่สร้างขึ้นอาจเปลี่ยนสภาพเป็นเม็ดๆ สีชมพู (pink granular) สีหรือเป็นผลึก (crystal) ได้ทั้งใสไม่มีสีและสีชมพูซึ่งถ้ามีฮิสติโอไซต์มากเก็บกินเซลล์ที่ตายจำนวนมากก็อาจทำให้เกิดภาวะฮิสติโอไซต์เก็บผลึก (crystal-storing histiocytosis) ซึ่งอาจจะพบใน LPL หรือ MZL+PCD ได้เหมือนกัน อิมมูโนโกลบูลินที่เซลล์พลาสมาสร้างขึ้นนี้อาจมีกลัยโคโปรตีนเพิ่มขึ้นผิดปกติทำให้ย้อมติดสีชมพูในการย้อมพิเศษเพอร์ไอออริกแอซิดซิชฟฟ์ (periodic acid Schiff นิยมเรียกว่า PAS) และในบางครั้ง อิมมูโนโกลบูลินที่ผิดปกติเหล่านี้จะเบียดดันเข้าไปในนิวเคลียสทำให้เห็นเป็นอินคลูชัน (intranuclear inclusion) ซึ่งถ้าย้อมติดสี PAS ก็จะถูกเรียกว่า ดัทช์เชอร์บอดี (Dutcher body) (Figure 4)

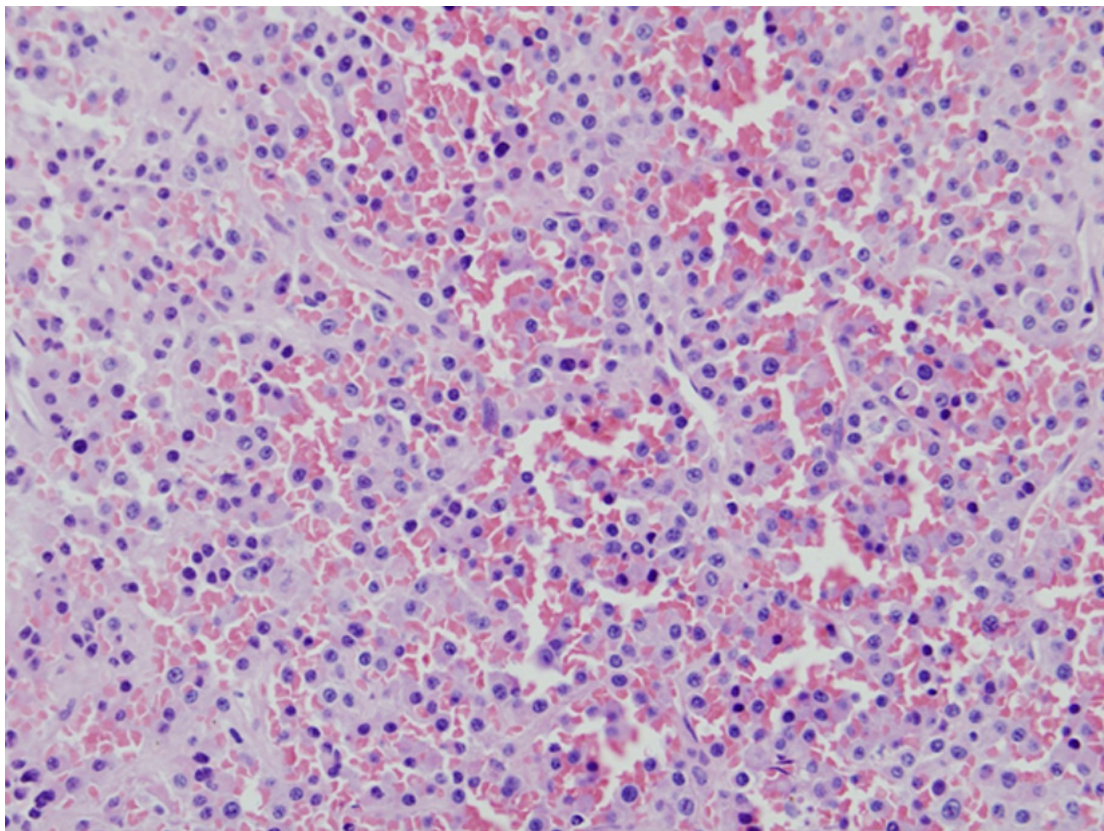


Figure 3 Neoplastic plasma cells in plasmacytoma and MM. Note delicate vasculature intervening among small groups of plasma cells without any other cell type, apparently simulating alveolar spaces filled with red blood cells and plasma cells (alveolar growth pattern).

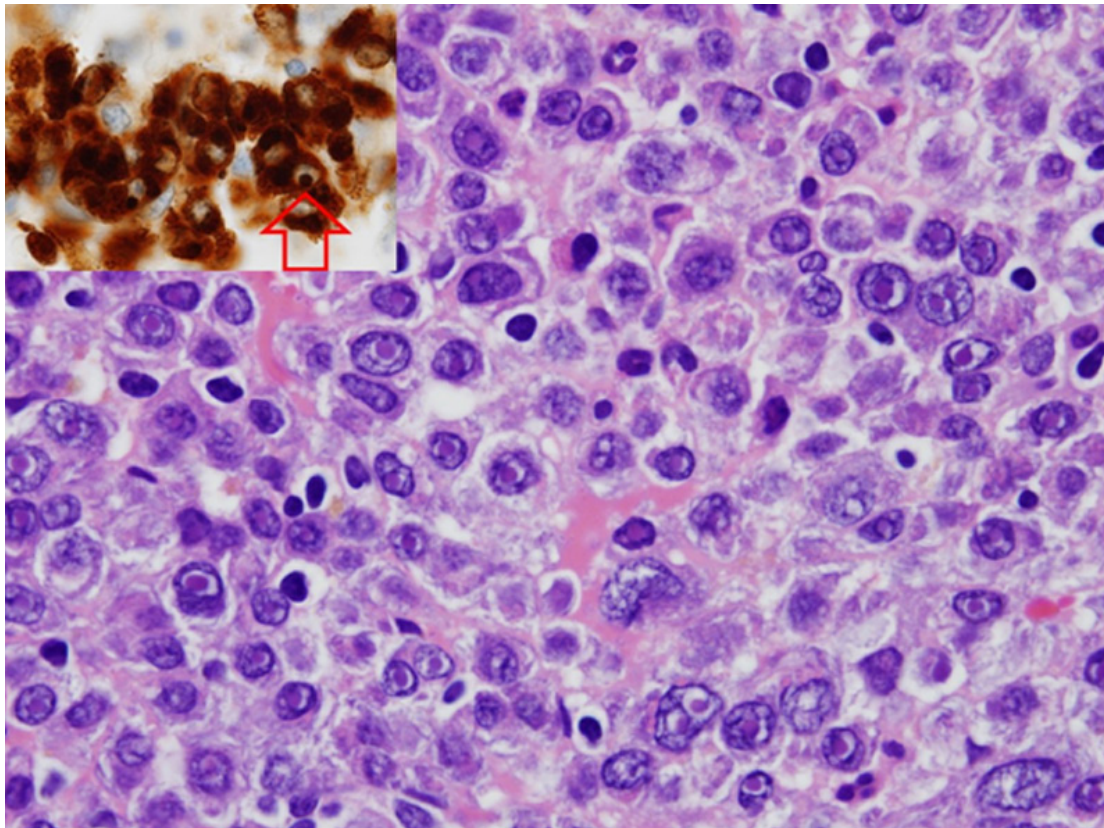


Figure 4 Dysplastic plasma cells with abnormal immunoglobulin as intranuclear inclusions. Note eosinophilic (pink) or amphophilic (pinkish purple) staining property, different from nucleolus in plasmablast that typically stains purple (basophilic). Inset at left upper corner - an arrow shows an intranuclear inclusion stained brown by immunostaining for kappa light chain. No positive staining with lambda light chain (not shown).

ลักษณะผิดปกติของเซลล์พลาสมาในเนื้อเยื่อเซลล์พลาสมา และใน MM ยังพบในนิวเคลียสได้หลากหลาย เช่น มีนิวเคลียสใหญ่เป็นพลาสมาบลาสต์ (plasmablast) หรืออาจมี 2 นิวเคลียส (binucleate), 3 นิวเคลียส (trinucleate) หรือหลายนิวเคลียส (multinucleate) ก็ได้ จากการศึกษพบว่า เซลล์พลาสมาในเนื้อเยื่อเซลล์พลาสมาและใน MM อาจไม่แตกต่างจากเซลล์พลาสมาตามปกติ (no dysplasia) หรือผิดปกติเล็กน้อย (minimal dysplasia), ปานกลาง (moderate dysplasia) หรือรุนแรง (marked หรือ severe dysplasia) โดยแยกระดับปานกลางกับรุนแรงด้วยการพบหรือไม่พบการแบ่งเซลล์ (mitosis) ซึ่งจากการศึกษาในผู้ป่วย MM พบว่าการผิดปกติระดับรุนแรงซึ่งพบการแบ่งเซลล์จะมีพยากรณ์โรคเลวที่สุด³ (Figure 5)

ดัชนีการเพิ่มจำนวน (proliferation index, PI) หรือดัชนีการติดฉลาก (labelling index, LI) ด้วยการย้อมอิมมูโนสำหรับเคไอ-หกสิบเจ็ด (Ki-67) ช่วยประเมิน MM

การย้อมอิมมูโนสำหรับ Ki-67 จะช่วยประเมิน PI หรือ LI (แล้วแต่ความนิยมเรียก) ในเซลล์มะเร็งชนิดต่างๆ มักถูกนำมาใช้

ทางพยาธิวิทยา เพราะสามารถช่วยประเมินได้ว่ามีเซลล์มะเร็งอยู่ในวงจรเซลล์ (cell cycle) มากน้อยเท่าใด โดยนิยามรายงานเป็นร้อยละของเซลล์มะเร็งที่ย้อมติดสีในการย้อมอิมมูโนสำหรับ Ki-67 เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์มะเร็งทั้งหมด ซึ่งใน MM ได้มีการศึกษาไว้แล้วว่า ค่ามัธยฐาน (median) อยู่ที่ร้อยละ 4.4 (มีได้ตั้งแต่ร้อยละ 0-15) โดยพบว่า MM ระยะที่ 3 หรือชนิดที่มีพลาสมาบลาสต์จำนวนมาก จะตรวจพบค่าสูงมากกว่าร้อยละ 7.2⁹ มีข้อควรระวังในการประเมินเรื่องนี้ถ้าไม่ได้ย้อมดู Ki-67 ในนิวเคลียส และ CD38 บนผิวเซลล์พลาสมาพร้อมกัน (dual immunostaining) คือ เซลล์ไขกระดูกปกติที่อาจหลงเหลืออยู่ในบริเวณใกล้เคียงอาจย้อมติด Ki-67 ได้ และทำให้นับผิดคิดว่าเป็นเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งใน MM ได้ (Figure 6)

การตรวจประเมิน CD38 บนผิวเซลล์พลาสมาในโรค MM

ปัจจุบันมีการรักษา MM ด้วย anti-CD38 immunotherapy¹⁰ แต่ยังไม่ชัดเจนว่าก่อนการรักษาควรประเมินการมี CD38 บนผิวเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็งมากน้อยเพียงใด ในทางปฏิบัติพบว่าส่วนใหญ่แล้ว การแสดงออก (expression) ของ CD38 กับ CD138

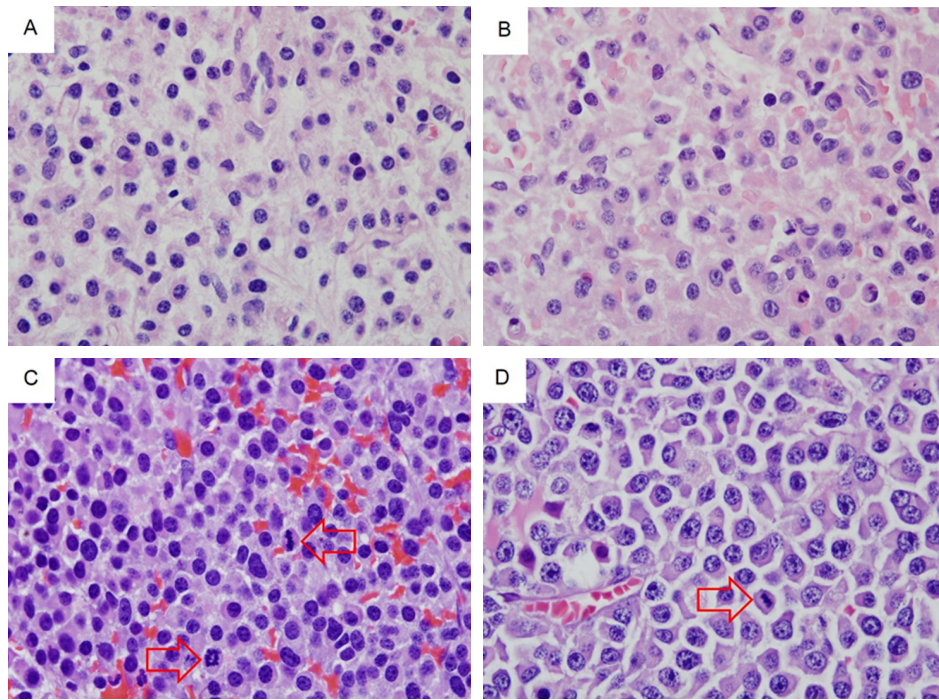


Figure 5 Dysplastic plasma cell (A) Minimal dysplasia. All or majority of the cells are not different from normal plasma cell. (B) Moderate dysplasia. Morphology different from normal plasma cell either in cytoplasm, nucleus, or both. Importantly, no mitosis is found. (C) & (D) Marked or severe dysplasia. May be similar to moderate dysplasia but need to have mitosis (arrows).

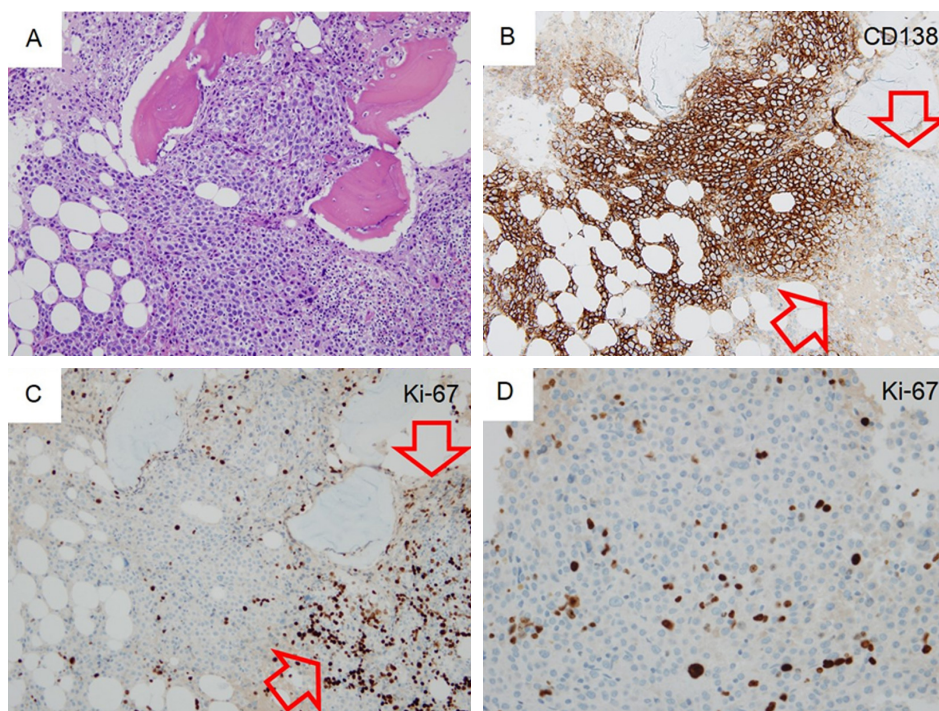


Figure 6 Immunostaining for Ki-67 to evaluate proliferation index (PI) or labelling index (LI). Caution should be exercised when only Ki-67 immunostaining is evaluated to ensure the mitosis of the neoplastic plasma cells. (A) MM in H&E-stained section. (B) Immunostaining for CD138 highlighting where plasma cells are (C) Immunostaining for Ki-67. Note arrows indicate an area with many Ki-67+ cells that are not plasma cells when compared to the same area in (B). These Ki-67+ cells are active hematopoietic cells, leading to a falsely high PI or LI. (D) Low Ki-67+ plasma cells (< 5%) in the area of neoplastic plasma cells.

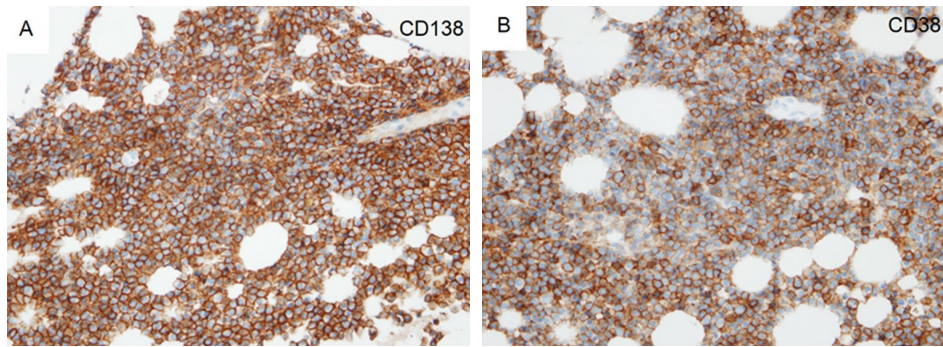


Figure 7 Comparison of CD138+ plasma cells and CD38+ plasma cells in the same marrow of one patient with MM. (A) CD138 (B) CD38.

ไม่ต่างกัน แต่ก็มีผู้ป่วยบางรายที่พบการแสดงออกไม่เท่ากัน (Figure 7) นอกจากนี้ ยังมีรายงานผู้ป่วย MM 1 รายที่ตรวจไม่พบ CD38 หลังการกลับเป็นซ้ำ ซึ่งน่าจะทำให้ไม่สามารถรับการรักษาใหม่นี้ได้¹¹

การประเมินสิ่งตรวจพบอื่นๆ ที่อาจพบได้ใน MM

พยาธิแพทย์ควรประเมินสิ่งตรวจพบอื่นๆ ที่อาจพบได้ใน MM ด้วยเสมอ เช่น การตรวจหาสารแอมิลอยด์ (amyloid deposit) ถ้าเป็นไปได้ควรย้อมพิเศษของโกเรต (Congo Red stain) เพื่อแสดงว่ามีสารแอมิลอยด์สะสมอยู่หรือไม่และควรประเมินเซลล์ไขกระดูกที่หลงเหลืออยู่ว่ามีลักษณะผิดปกติหรือไม่ เช่น การเจริญผิดปกติของเซลล์ไขกระดูก (myelodysplastic change) เป็นต้น เพื่อเป็นข้อมูลให้โลหิตแพทย์ได้รับทราบก่อนการรักษา สำหรับการประเมินเนื้อกระดูกที่บางลงนั้นก็อาจตรวจพบได้โดยมีเซลล์สลายกระดูก (osteoclast) ให้เห็นร่วมด้วยได้ แต่ก็ไม่จำเป็นต้องตรวจพบได้เสมอไป

การตรวจไขกระดูกเพื่อติดตามการดำเนินโรคในผู้ป่วย MM

เมื่อให้การวินิจฉัยโรค MM ได้แล้ว ประเด็นสำคัญทางพยาธิวิทยา คือ การตรวจไขกระดูกเพื่อติดตามการดำเนินโรคว่ายังมีเซลล์มะเร็งหลงเหลืออยู่หรือไม่หลังให้การรักษา การย้อมอิมมูโนมีประโยชน์มากในการตรวจหาว่ามีเซลล์พลาสมาที่มีชนิดเดียวกับที่ตรวจพบในการวินิจฉัย MM ครั้งแรกหรือไม่ ในทางปฏิบัติแนะนำให้ย้อม CD38 หรือ CD138 ชนิดใดชนิดหนึ่งที่ย้อมติดในการวินิจฉัยครั้งแรกสุด (โดยมากมักย้อมติดทั้ง CD38 และ CD138 แต่ก็มีข้อยกเว้นในผู้ป่วยบางรายซึ่งอาจย้อมติดเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น) ร่วมกับการย้อมดูสายเบาคาปและสายเบาลมดาเพื่อยืนยันชนิดของอิมมูโนโกลบูลินว่าเป็นชนิดเดียวกันกับที่ให้การวินิจฉัยครั้งแรกสุด แม้จะไม่ได้ย้อมไว้ในครั้งแรก แต่ถ้ารู้ชนิดของอิมมูโนโกลบูลินจากการตรวจซีรัมก็สามารถย้อมเปรียบเทียบเพื่อยืนยันได้

โดยทั่วไปแล้ว เซลล์พลาสมาที่สร้างอิมมูโนโกลบูลินสายเบาคาปจะมีมากกว่าเซลล์พลาสมาที่สร้างอิมมูโนโกลบูลินสายเบาลมดาประมาณ 2 เท่า เพราะในการพัฒนาเป็นบีเซลล์ปกตินั้นจะเปิดโอกาสให้มีการจัดลำดับจีน (gene rearrangement) เพื่อสร้างสายเบาคาปของอิมมูโนโกลบูลินก่อน ถ้าไม่สำเร็จ จึงจะเป็นโอกาสของการจัดลำดับจีนเพื่อสร้างสายเบาลมดา ทำให้อัตราส่วนระหว่างสายเบาคาปกับสายเบาลมดาเท่ากับ 2:1 ดังนั้น ถ้าอัตราส่วนนี้สูงกว่า 5:1 ก็มักจะยอมรับว่าเริ่มมีปัญหาของเซลล์มะเร็งที่หลงเหลืออยู่ในไขกระดูกในกรณีที่เซลล์นั้นสร้างอิมมูโนโกลบูลินสายเบาคาป แต่ถ้าจะให้แน่ใจอัตราส่วนนี้ควรจะสูงกว่า 10:1 แต่ถ้าเซลล์มะเร็งนั้นสร้างอิมมูโนโกลบูลินสายเบาลมดา การตรวจพบเซลล์พลาสมาในไขกระดูกที่มีการย้อมติดสายเบาลมดามากกว่าแคปตั้งแต่ 2:1 ขึ้นไป ก็น่าสงสัยแล้ว แต่ถ้าจะให้แน่ใจ อัตราส่วนนี้ควรจะสูงกว่า 5:1

การวินิจฉัยแยกโรค

ภาวะโกลบูลินโคลนเดี่ยวที่ไม่ทราบความสำคัญ (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)

แม้ว่า MGUS จะตรวจพบเซลล์พลาสมาที่มีชนิดเดียวได้ก็ตาม แต่ภาวะนี้ยังไม่ก่อโรคใดๆ คือ ยังไม่มีลักษณะจำเพาะทางคลินิกตรวจพบแต่ภาวะโกลบูลินโคลนเดี่ยวเท่านั้น จึงมักพบเซลล์พลาสมาจำนวนไม่มาก มักไม่เกินร้อยละ 10 ของจำนวนเซลล์ไขกระดูกที่มีนิวเคลียสทั้งหมดตามนิยามที่กำหนดกันไว้ นอกจากนี้เซลล์พลาสมามักไม่เกาะกลุ่มกัน³

เนื้องอกเซลล์พลาสมา (plasmacytoma)

การแยกว่าเป็นเนื้องอกเซลล์พลาสมาชนิดเกิดในกระดูก (osseous plasmacytoma) หรือเกิดนอกกระดูก (extra-osseous หรือ extramedullary plasmacytoma) นั้น ต้องอาศัยข้อมูลทางคลินิกเป็นสำคัญ ยกเว้นเสียแต่ว่าจะมีเนื้องอกให้ตรวจพบในการตรวจทางพยาธิวิทยาด้วยเท่านั้น ดังที่ทราบกันแล้วว่า เนื้องอก

งอกเซลล์พลาสมาถ้ามีเพียงตำแหน่งเดียวและไม่มีลักษณะทางคลินิกของ MM ก็จะทำให้การวินิจฉัยเป็นโรคนี้ได้โดยไม่จำเป็นต้องให้การรักษาเพิ่มเติมอะไร แต่ถ้าเป็นชนิดเกิดในกระดูก อาจมีโอกาสเกิด MM ได้สูงกว่าชนิดเกิดนอกกระดูก ซึ่งควรแนะนำให้ผู้ป่วยทราบเพื่อจะได้มารับการตรวจติดตามเป็นระยะ สำหรับพยาธิสภาพ (pathologic feature) ของเนื้องอกเซลล์พลาสมาไม่ได้แตกต่างจาก MM เลย โดยทั่วไปแล้ว ถ้ามีเนื้องอกเซลล์พลาสมาโดยเฉพาะชนิดที่เกิดในกระดูกตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป ก็จัดว่าเป็น MM แล้ว โดยอาจจะยังไม่มีลักษณะทางคลินิกอื่นๆ ของ MM ก็ได้

ลิมโฟมาชนิดลิมโฟพลาสมาซิติค (lymphoplasmacytic lymphoma, LPL)

สิ่งส่งตรวจทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยโรคนี้มักจะเป็นไขกระดูก เพราะผู้ป่วยมักจะไม่มีต่อมน้ำเหลืองโต แต่พบว่ามีตับม้ามโต มีภาวะเลือดหนืด (hyperviscosity) รวมทั้งอาการและอาการแสดงทางคลินิกที่เรียกว่าวอลเดนสตรอมแมคโครโกลบูลินีเมีย (Waldenström macroglobulinemia) โดยทั่วไปแล้ว มักไม่มีปัญหาในการวินิจฉัยโรค เพราะใน LPL จะตรวจพบทั้งลิมโฟไซต์ เซลล์พลาสมา และเซลล์ที่อยู่ระหว่างกลางของเซลล์ 2 ชนิดข้างต้นที่เรียกว่า เซลล์ลิมโฟพลาสมาไซโตยด์ ปะปนกัน นอกจากนี้ บางรายอาจตรวจพบอินคลูชันในนิวเคลียสได้ด้วย จะมีความยากในกรณีที่ MM อาจจะมีเซลล์ผิดปกติที่มีไซโทพลาซึมน้อยและมีนิวเคลียสคล้ายเซลล์ลิมโฟยด์ได้ (lymphoid variant) ซึ่งจำเป็นต้องย้อมอิมมูโนเพื่อดูแอนติเจนบนผิวเซลล์ชนิดต่างๆ เช่น CD20, CD38, CD45, CD56, CD138 หรือโปรตีนชนิดต่างๆ ในนิวเคลียส เช่น PAX5 ซึ่งเป็นโปรตีนปลุกฤทธิ์จำเพาะสำหรับบีเซลล์ (B-cell specific activator protein) หรือ cyclin D1 (ซึ่งมักพบใน MM, mantle cell lymphoma หรือ hairy cell leukemia) ตลอดจนชนิดของอิมมูโนโกลบูลิน ซึ่งได้แก่ IgG, IgA, IgM, IgD, kappa และ lambda (Figure 8)

ลิมโฟมาชนิดต่อมน้ำเหลืองชนิดมาจินัลโซนที่มีการเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์พลาสมา (extranodal marginal zone lymphoma with plasmacytic differentiation, MZL+PCD)

มีรายงานว่าลิมโฟมาชนิดนี้อาจมีการเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์พลาสมาที่เด่นมากจนไม่สามารถแยกได้จากเนื้องอกเซลล์พลาสมาชนิดเกิดนอกไขกระดูก¹² อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติแล้ว จะต้องพบหลักฐานบ่งชี้ว่าเป็นลิมโฟมา โดยอาจจะพบบริเวณที่ให้การวินิจฉัยว่าเป็นลิมโฟมาชนิดนี้ได้โดยไม่ต้องสงสัย หรืออาจจะมียีนยีนยืนยันว่าเคยเป็นลิมโฟมาชนิดนี้มาก่อน การย้อมอิมมูโน

อย่างที่ได้แสดงไว้ในกรณีวินิจฉัยแยกโรคจาก LPL ข้างต้นสามารถนำมาใช้ได้ในการวินิจฉัยเช่นกัน

ลิมโฟมาชนิดพลาสมาบลาสต์ (plasmablastic lymphoma, PBL)

ในอดีตมีรายงานการวินิจฉัยแยกโรคระหว่างเนื้องอกเซลล์พลาสมาที่มีพลาสมาบลาสต์กับลิมโฟมาที่มีอิมมูโนบลาสต์ (immunoblast) จำนวนมาก ซึ่งในอดีตเรียกว่าซาร์โคมาชนิดอิมมูโนบลาสต์ (immunoblastic sarcoma) ต่อมา เรียกลิมโฟมาชนิดนี้ว่า ลิมโฟมาชนิดอิมมูโนบลาสต์ที่เป็นบีเซลล์ (Immunoblastic lymphoma, B cell)¹³ หรือจัดไว้ในลิมโฟมาชนิดบีเซลล์ตัวใหญ่กระจาย (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) ที่เรียกว่า ชนิดอิมมูโนบลาสต์ (immunoblastic variant) และสุดท้ายได้เรียกลิมโฟมาที่แสดงลักษณะของเซลล์พลาสมาออกมา โดยมีเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียสโตชัดเจนว่า ลิมโฟมาชนิดพลาสมาบลาสต์ (plasmablastic lymphoma, PBL) โดยพบความลำบากในการแยกโรคจาก MM ที่มีพลาสมาบลาสต์มากขึ้น แต่เดิม PBL ถูกเอ่ยถึงใน WHO classification 2001 ว่าพอจะแยกได้จาก immunoblastic variant ของ DLBCL ตรงที่มีเซลล์จำนวนน้อยที่ย้อมติด CD20 และ CD45 อย่างใน DLBCL แต่จะย้อมติด CD38 และ CD138 ที่พบในเซลล์พลาสมา อย่างไรก็ตาม จะไม่พบเซลล์พลาสมาโตเต็มวัยที่มีชนิดเดียว (mature monoclonal plasma cell) เพื่อให้สามารถแยกออกจาก MM ได้¹⁴ แต่ต่อมา WHO classification 2008 กำหนดให้ PBL สามารถมีลักษณะทางพยาธิวิทยาคล้าย MM ที่มี plasmablast ได้โดยเสนอแนะให้พิจารณาจากการเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์พลาสมา (plasmacytic differentiation), การย้อมติด CD56 (มักไม่ติดใน PBL), การย้อมติด EMA และ CD30 (มักติดใน PBL), Ki-67 สูงมาก (> 90% ใน PBL) และการย้อมอินไซโตไฮบริไดเซชัน (in situ hybridization) สำหรับ EBV EBER ได้ผลบวก (มักติดทุกรายใน PBL ที่เกิดในช่องปาก)¹⁵ แต่ก็ยังคงมีปัญหาในทางปฏิบัติเสมอโดยเฉพาะการตรวจก้อนที่ตัดชิ้นเนื้อส่งตรวจทางพยาธิวิทยาว่าเป็น PBL หรือ MM ที่แพร่กระจายมาที่ก้อนดังกล่าว ตลอดจนการตรวจไขกระดูกเพื่อแยกว่าเป็น PBL ที่แพร่กระจายมาที่ไขกระดูกหรือว่าเป็น MM ซึ่งแนะนำให้หาข้อมูลทางคลินิกทั้งหมดมาร่วมพิจารณาเพื่อการวินิจฉัย ถ้าผู้ป่วยไม่มีลักษณะทางคลินิกของ MM เลย ควรให้การวินิจฉัยเป็น PBL ในทางตรงกันข้าม ก็ควรให้การวินิจฉัยเป็น MM ถ้าผู้ป่วยมีลักษณะทางคลินิกของ MM¹⁶ (Figure 9)

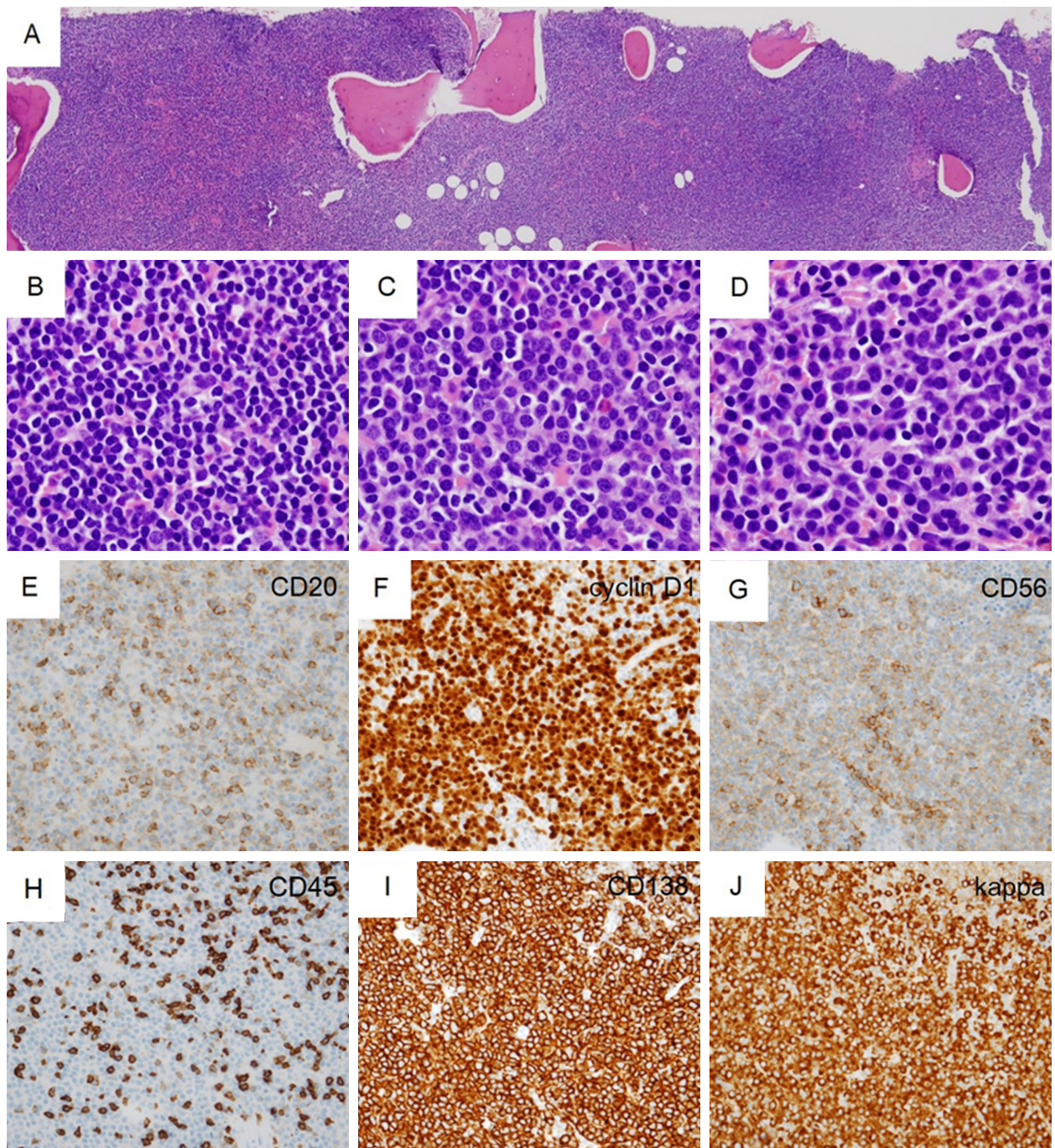


Figure 8 MM, lymphoid variant (A) Marrow replaced by neoplastic cells, including (B) lymphoid looking cells, (C) lymphoplasmacytoid cells, and (D) plasma cells. Immunostaining shows (E) some CD20+ cells, (F) nearly all cyclin D1+ cells, (G) many CD56+ cells, (H) some CD45+ cells, (I) nearly all CD138+ cells, and (J) kappa+ cells. The neoplastic cells are also IgG+ but they are negative for IgA, IgM, and lambda (not shown).

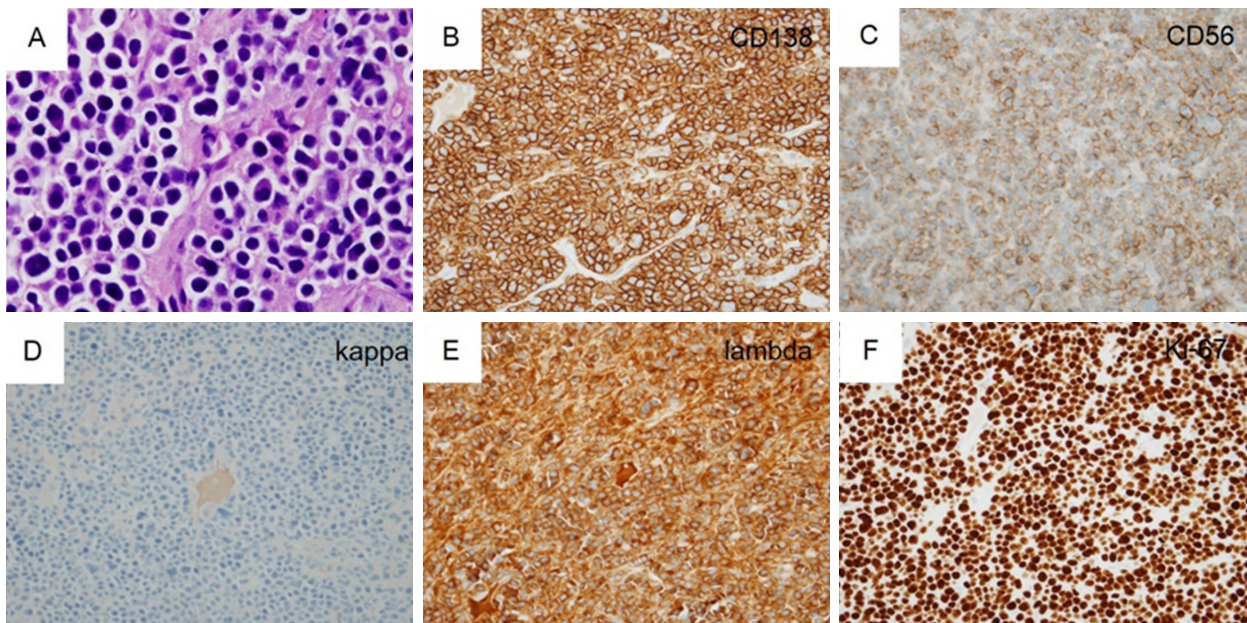


Figure 9 Differential diagnosis between MM and plasmablastic lymphoma (PBL). (A) Hyperchromatic nuclei in the neoplastic cells preclude plasmablastic morphology. The cytoplasmic feature raises the concern of plasma cell, leading to a proper immunostaining for making a definite diagnosis. (B) Distinct CD138 positivity. (C) CD56 positivity, uncommon in PBL. (D) Negative for kappa light chain but (E) positive for lambda light chain, indicative of lambda light chain restriction. (F) Nearly all Ki-67+ neoplastic cells, strongly supportive of PBL. No clinical features of MM so that the final diagnosis is PBL despite the lack of EBV EBER positivity (not shown).

สรุป

ลักษณะพยาธิสภาพของ MM ที่ได้แสดงมาทั้งหมดนั้นเป็นพื้นฐานที่ทำให้เข้าใจโรคนี้ได้ดีขึ้นในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการวินิจฉัยโรค การประเมินความรุนแรงของโรค การพยากรณ์โรค การดำเนินโรค การตรวจประเมินการแสดงออกของ CD38 บนผิวเซลล์พลาสมาที่เป็นมะเร็ง และการวินิจฉัยแยกโรค

เอกสารอ้างอิง

- McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris HL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon (France): IARC; 2008:200-13.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood*. 2008;111:2962-72.
- Sukpanichnant S, Cousar JB, Leelasiri A, Graber SE, Greer JP, Collins RD. Diagnostic criteria and histologic grading in multiple myeloma: histologic and immunohistologic analysis of 176 cases with clinical correlation. *Hum Pathol*. 1994;25:308-18.
- Canale DD Jr, Collins RD. Use of bone marrow particle sections in the diagnosis of multiple myeloma. *Am J Clin Pathol*. 1974;61:382-92.
- Buss DH, Prichard RW, Hartz JW, Cooper MR, Feigin GA. Initial bone marrow findings in multiple myeloma. Significance of plasma cell nodules. *Arch Pathol Lab Med*. 1986;110:30-3.
- Taylor CR, Burns J. The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using peroxidase-labelled antibody. *J Clin Pathol*. 1974;27:14-20.
- Peterson LC, Brown BA, Crosson JT, Mladenovic J. Application of the immunoperoxidase technic to bone marrow trephine biopsies in the classification of patients with monoclonal gammopathies. *Am J Clin Pathol*. 1986;85:688-93.
- Akhtar N, Ruprai A, Pringle JH, Lauder I, Durrant ST. In situ hybridization detection of light chain mRNA in routine bone marrow trephines from patients with suspected myeloma. *Br J Haematol*. 1989;73:296-301.
- Xu JL, Lai R, Kinoshita T, Nakashima N, Nagasaka T. Proliferation, apoptosis, and intratumoral vascularity in multiple myeloma: correlation with the clinical stage and cytological grade. *J Clin Pathol*. 2002;55:530-4.
- Federica Costa, Denise Toscani, Antonella Chillemi, Valeria Quarona, Marina Bolzoni, Valentina Marchica, et al. Expression of CD38 in myeloma bone niche: A rational basis for the use of anti-CD38 immunotherapy to inhibit osteoclast formation. *Oncotarget*. 2017;8:56598-611.

11. Ise M, Matsubayashi K, Tsujimura H, Kumagai K. Loss of CD38 Expression in Relapsed Refractory Multiple Myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2016;16:e59-64.
12. Hussong JW, Perkins SL, Schnitzer B, Hargreaves H, Frizzera G. Extramedullary plasmacytoma. A form of marginal zone cell lymphoma? *Am J Clin Pathol*. 1999;111:111-6.
13. Lukes RJ, Collins RD. Tumors of the Hematopoietic System (Atlas of Tumor Pathology, 2nd Series, Fascicle 28). Washington, DC: Armed Forces Institutes of Pathology; 1992:212-5.
14. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon (France): IARC Press; 2001.
15. Stein H, Harris NL, Campo E. Plasmablastic lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris HL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon (France): IARC; 2008:256-7.
16. Ahn JS, Okal R, Vos JA, Smolkin M, Kanate AS, Rosado FG. Plasmablastic lymphoma versus plasmablasticmyeloma: an ongoing diagnostic dilemma. *J Clin Pathol*. 2017;70:775-80.

