

流式定量检测的骨髓浆细胞水平对初诊多发性骨髓瘤预后的价值

李春晖¹ 聂飞鹏² 余秋霞¹ 安宁¹ 王欣然¹ 王迪¹ 张沛凌¹ 李春蕊¹

¹华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科,湖北武汉 430030

²孝昌县第一人民医院,湖北孝感 431600

摘要 目的:探索流式细胞免疫分型测定的初诊多发性骨髓瘤(MM)患者的骨髓单克隆浆细胞(BMPC)百分比与患者临床特征及预后判断的价值。方法:回顾性分析175例初诊MM患者的临床资料,根据诊断时BMPC=10%,将患者分为高浆细胞负荷组(61例)和低浆细胞负荷组(114例),分析各组的临床特征及其预后。结果:初诊时低浆细胞负荷患者的肿瘤负荷更低,临床分期更早,生存期也 longer。多因素回归分析显示,在高浆细胞负荷组,BMPC \geq 13.45%和高危细胞遗传学是影响MM患者总生存期(OS)的独立危险因素,肌酐 \geq 177 μ mol/L、高危细胞遗传学、BMPC \geq 13.45%是影响高浆细胞负荷MM患者无疾病进展生存期(PFS)的独立危险因素。在低浆细胞负荷组,年龄 \geq 65岁是影响MM患者OS和PFS的唯一独立危险因素。结论:对于初诊MM患者,低浆细胞负荷与较低的肿瘤负荷、更好的临床分期和 longer 生存期相关。对于骨髓浆细胞占比 \geq 10%的患者,骨髓浆细胞占比是预后的独立预测因素。初诊MM患者的流式细胞学测定的BMPC数量对预后评估具有重要意义。

关键词 多发性骨髓瘤;多参数流式细胞术;骨髓浆细胞负荷;预后分析

中图分类号 R733.3

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzz20240210

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一类异质性较强的浆细胞恶性肿瘤,由骨髓中异常增殖的单克隆浆细胞引起,这些细胞能无限增长,抑制正常造血,导致骨损害、肾损伤、贫血和高钙血症^[1]。近年来,在微小残留病(minimal residual disease, MRD)检测中,多参数流式细胞术因其高敏感度、易操作性及成本效益,成为MM临床应用的优选技术^[2]。该技术能够准确地识别和量化异常浆细胞,并监测正常浆细胞的恢复情况,其灵敏度范围为 10^{-5} 到 10^{-6} 。二代流式细胞术的发展,极大提高了对初诊MM患者体内循环肿瘤浆细胞(circulating tumor plasma cells, CTC)的检测能力^[3],进一步细化了患者的危险分层,尤其是在CTC定量基础上,将原发性浆细胞白血病的诊断阈值更新为形态学CTC \geq 2%,以更准确地反映患者的高风险特征^[4]。本研究回顾性分析175例初诊MM患者流式检测中骨髓单克隆浆细胞(bone marrow monoclonal plasma cells, BMPC)占有核细胞的比例与患者临床特征及其预后的关系。

资料与方法

1. 一般资料:收集2018年1月至2019年12月在华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科

初诊MM 175例患者的临床资料,其中男性100例,女性75例,中位年龄61(36~83)岁,诊断标准参照更新的国际骨髓瘤工作组(International Myeloma Working Group, IMWG)标准^[5]。

2. 临床资料收集:收集患者的白蛋白、血红蛋白、乳酸脱氢酶、血钙、血肌酐、 β_2 微球蛋白(β_2 -Microglobulin, β_2 -M)、M蛋白的定性和定量结果、骨髓荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)结果、流式细胞免疫分型检测的BMPC占有核细胞比例。依据美国梅奥诊所mSMART 3.0标准^[6],对MM进行风险分层时,包括1q21获得或扩增、del(17p)和IgH重排[涵盖t(4;14)、t(14;16)、t(14;20)]在内的特定细胞遗传学异常被归类为高风险因素。

3. BMPC占有核细胞的百分比(BMPC%):通过多参数流式细胞术(FACScanto, Becton Dickinson)检测细胞表面抗原。荧光染料偶联的抗人抗体购自BD Diagnostics。单克隆浆细胞通过CD45^{dim/-}、CD38⁺、CD138⁺、CD19⁻和CD56⁺的圈门策略来识别。如果浆细胞不表达CD56,则需要额外的标记物,例如clambda/ckappa、CD20和CD117来确定单克隆浆细胞。

4. 随访:通过查阅患者的电子病历以及电话进

行随访,随访时间截止至2023年4月15日。中位随访时间为14(0~66.64)个月。患者的总生存期(overall survival, OS)是指从确诊之日起至最后一次随访或患者死亡的日期间隔。无疾病进展生存期(progress free survival, PFS)是指从确诊之日起到疾病进展或患者死亡的时间。

5. 统计学分析:采用SPSS 25.0软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验;偏态分布的计量资料以中位数(范围)描述。分类变量以频数(百分比)表示,组间比较采用卡方检验;采用ROC曲线和约登指数确定BMPC的最佳截断值,生存分析采用Kaplan-Meier法,组间生存的比较采用Log-rank检验,采用Cox风险比例模型进行多因素分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 一般临床特征:175例初诊MM患者,根据诊断时BMPC占比,将患者分为高浆细胞负荷组(BMPC $\geq 10\%$, 61例)和低浆细胞负荷组(BMPC $< 10\%$, 114例)。低浆细胞负荷组的中位BMPC为2.8%,高浆细胞负荷组的中位BMPC为17.4%;平均血红蛋白含量显著低于低浆细胞负荷组($P = 0.021$)。高浆细胞负荷组的修订版国际分期系统(revised international staging system, RISS) III期患者比例显著高于低浆细胞负荷组(34.4% vs. 16.7%, $P = 0.005$)。而2组患者性别、年龄、血钙、血肌酐、白

蛋白、 β_2 -M、乳酸脱氢酶、M蛋白含量、FISH等指标比较,差异无显著统计学意义(P 均 < 0.05),见表1。

2. 骨髓浆细胞百分比最佳截断值的确定:以3年OS作为预后指标,通过受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析,高浆细胞负荷的MM患者(图1A)和低浆细胞负荷的MM患者(图1B)的BMPC百分比ROC曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.817和0.566($P < 0.001$ 或 $P < 0.255$)。根据约登指数计算BMPC的最佳截断值,高浆细胞负荷MM患者的截断值为13.45%时,敏感度为0.733,特异性为0.886;低浆细胞负荷MM患者截断值为2.15%时,敏感度为0.529,特异性为0.610。因此,本研究分别以BMPC = 13.45%和BMPC = 2.15%为分界值,研究高浆细胞负荷组和低浆细胞负荷组的临床特征及其预后。

3. BMPC与临床特征的关系:在高浆细胞负荷组MM患者中,BMPC $\geq 13.45\%$ 组(44例,72.13%)和BMPC $< 13.45\%$ 组(17例,27.87%)在血红蛋白、乳酸脱氢酶、 β_2 -M和RISS分期上有统计学差异(P 均 < 0.05)。在低浆细胞负荷MM患者中,BMPC $\geq 2.15\%$ 组(63例,55.26%)和BMPC $< 2.15\%$ 组(51例,44.74%)仅在年龄上有统计学差异($P = 0.005$),见表2。

4. 生存分析:截至2023年4月,共计随访到170例MM患者,失访5例,中位随访时间为14(0~66.64)个月。其中59例高浆细胞负荷MM患者的中位OS为10.64(0.07~66.43)个月,中位PFS为

表1 175例MM患者基线特征

项目	高浆细胞负荷组($n = 61$)	低浆细胞负荷组($n = 114$)	P 值
男性[例(%)]	38(62.30)	62(54.39)	0.314
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	62.59 \pm 8.46	60.25 \pm 9.37	0.106
血红蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	82.33 \pm 24.21	92.54 \pm 29.31	0.021
血钙(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.66 \pm 0.45	2.57 \pm 0.47	0.202
血肌酐(μ mol/L, $\bar{x} \pm s$)	158.97 \pm 137.95	152.81 \pm 175.26	0.812
M蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	28.72 \pm 24.37	26.19 \pm 30.51	0.572
白蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	33.39 \pm 6.75	33.88 \pm 7.47	0.668
β_2 -M(mg/L, $\bar{x} \pm s$)	11.24 \pm 12.12	10.87 \pm 19.42	0.897
乳酸脱氢酶(IU/L, 中位数)	187(85~1495)	191(69~775)	0.325
BMPC(% , 中位数)	17.4(10.8~79)	2.8(0.02~9.73)	< 0.001
RISS(例)			
I/II	7/33	5/90	0.005
III	21	19	0.269
FISH[例(%)]			
标危	30(49.18)	54(47.37)	
高危	18(29.50)	21(18.42)	

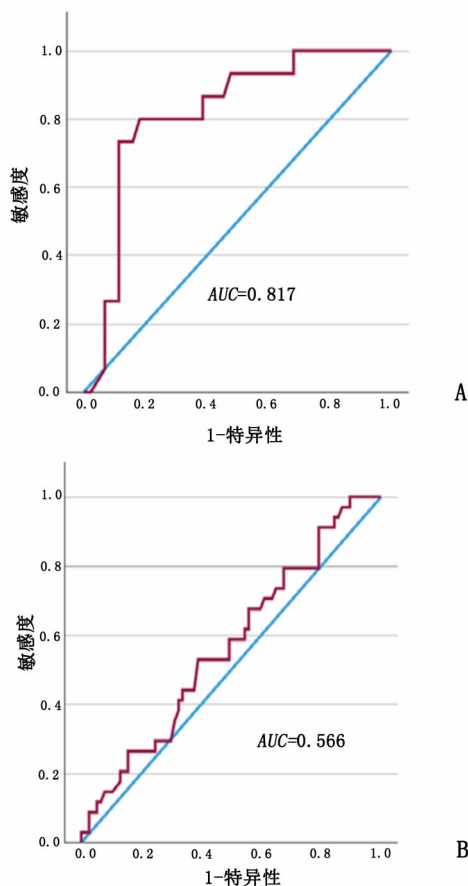


图1 2组MM患者的BMPC预测患者总体死亡的ROC曲线(A:高浆细胞负荷组;B:低浆细胞负荷组)

6.40(0~50)个月;111例低浆细胞负荷MM患者的中位OS为14(0.01~69.18)个月,中位PFS为5.96(0~50.54)个月。2组患者的PFS与OS比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

在高浆细胞负荷组,BMPC $\geq 13.45\%$ 患者和BMPC $< 13.45\%$ 患者的中位OS分别为3.07(0.07~55.5)个月和46.93(6.11~66.43)个月($P=0.004$);中位PFS分别为2.81(0~50)个月和17.63(0~37.07)个月,差异有统计学意义($P=0.003$)。

在低浆细胞负荷组,BMPC $\geq 2.15\%$ 患者和BMPC $< 2.15\%$ 患者的中位OS分别为6.38(0.07~63.75)个月和23.39(0.04~69.18)个月;中位PFS分别为6.14(0~49.46)个月和5.79(0~50.54)个月。2组患者的PFS与OS比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

5. 影响预后的因素分析:将年龄、性别、血红蛋白、血钙、肌酐、 β_2 -微球蛋白水平、BMPC、FISH、RISS分期纳入Cox多因素分析模型(见表3)。在高浆细胞负荷患者中,BMPC $\geq 13.45\%$ ($P=0.037$, $HR=$

4.537)和高危细胞遗传学($P=0.006$, $HR=3.283$)是影响MM患者OS的独立危险因素,肌酐 $\geq 177\mu\text{mol/L}$ ($P=0.007$, $HR=3.528$)、高危细胞遗传学($P=0.021$, $HR=4.785$)、BMPC $\geq 13.45\%$ ($P=0.008$, $HR=3.781$)是影响高浆细胞负荷MM患者PFS的独立危险因素。在低浆细胞负荷患者中,年龄 ≥ 65 岁是影响低浆细胞负荷MM患者OS($P=0.01$, $HR=2.853$)和PFS($P=0.006$, $HR=2.477$)的唯一独立危险因素。

讨论

本研究通过回顾性分析对比了BMPC比例 $< 10\%$ 的114例初诊MM患者与 $\geq 10\%$ 的61例MM患者,前者的肿瘤负荷更低,临床分期更早,生存期也 longer。对于低浆细胞负荷患者,年龄 ≥ 65 岁是影响其OS和PFS的唯一独立危险因素,而骨髓浆细胞比例则不是一个独立的预后预测因子。而对于高浆细胞负荷MM患者,当BMPC比例 $\geq 13.45\%$ 时,患者的血红蛋白、乳酸脱氢酶、 β_2 -微球蛋白和RISS分期呈现出显著差异。血清 β_2 -微球蛋白异常增高的表达水平与MM的肿瘤负荷增加、肾功能损害相关,并受机体免疫状态的影响^[7,8]。在B淋巴细胞与浆细胞肿瘤中,血清 β_2 -微球蛋白是仅次于细胞遗传学异常的相对危险度最高的指标,具有独立的预后意义^[9,10]。肾功能不全是MM的主要并发症之一,高达50%的MM患者在诊断时存在肾功能不全^[11,12],IMWG和国家综合癌症网络指南对MM伴肾功能不全的定义为:血肌酐 $> 170.0\text{ mmol/L}$ (2 mg/dL),或内生肌酐清除率 $< 40\text{ mL/min}$ 。肾功能不全可导致MM患者的OS缩短和早期死亡风险增加,相对于不伴肾功能不全的MM患者,伴肾功能不全的初诊MM患者发生疾病进展或死亡的相对风险为1.07^[13]。MM遗传学异常是影响MM预后的一个核心因素,与疾病进展和预后不良相关的高危事件包括^[14]:①t(4;14)、t(14;16)和t(14;20);②TP53的双等位基因改变;③1q获得或扩增。本研究采用梅奥MM风险分层系统(mSMART)对MM患者进行风险分层,发现伴高危细胞遗传学异常的初诊MM患者的OS和PFS显著缩短,与其他骨髓瘤预后相关研究结果一致^[15~18]。

流式细胞术检测的BMPC的比例一般低于骨髓活检和细胞学的结果,这可能归因于样本采集过程中的血液稀释效应,Rawstron等^[19]报道第一次抽吸的骨髓样本中单克隆浆细胞的浓度最高,以后每次

表2 MM患者的BMPC与临床特征的相关性

因素	高浆细胞负荷组				低浆细胞负荷组			
	BMPC≥13.45% (44例)	BMPC <13.45% (17例)	χ^2 值	P 值	BMPC≥2.15% (63例)	BMPC <2.15% (51例)	χ^2 值	P 值
年龄(岁)			0.212	0.645			7.824	0.005
≤65	23	10			35	41		
>65	21	7			28	10		
性别(例)			2.016	0.156			0.228	0.633
男	25	13			33	29		
女	19	4			30	22		
血红蛋白			5.284	0.022			0.518	0.472
≤100g/L	36	9			40	29		
>100g/L	8	8			23	22		
血清钙			1.594	0.207			1.785	0.181
≤2.75mmol/L	29	14			51	41		
>2.75mmol/L	15	3			12	10		
肌酐			3.041	0.081			0.162	0.688
≤177μmol/L	29	15			50	42		
>177μmol/L	15	2			13	9		
乳酸脱氢酶			4.129	0.042			0.032	0.857
≤220IU/L	27	15			43	34		
>220IU/L	17	2			20	17		
β ₂ -M			7.770	0.005			0.527	0.468
≤5.5mg/L	27	15			41	31		
>5.5mg/L	17	2			22	20		
RISS 分期			8.506	0.004			0.064	0.800
I、II	24	16			53	42		
III	20	1			10	9		

表3 影响初诊MM患者预后的多因素分析结果

因素	高浆细胞负荷组				低浆细胞负荷组			
	OS		PFS		OS		PFS	
	P 值	HR	P 值	HR	P 值	HR	P 值	HR
性别	0.329	1.658	0.895	1.054	0.443	1.369	0.644	0.857
年龄≥65岁	0.063	2.441	0.705	1.147	0.010	2.853	0.006	2.477
RISS III期	0.264	2.651	0.829	1.176	0.344	1.665	0.947	1.032
血红蛋白≥100g/L	0.884	1.102	0.145	0.455	0.918	0.954	0.210	0.644
血钙≥2.75 mmol/L	0.367	0.547	0.667	0.800	0.208	2.139	0.449	1.386
肌酐≥177μmol/L	0.150	2.488	0.007	3.528	0.109	2.314	0.399	1.478
β ₂ -M≥5.5μg/mL	0.532	0.696	0.827	0.897	0.616	1.266	0.466	1.302
乳酸脱氢酶≥220U/L	0.469	0.529	0.417	0.558	0.864	1.077	0.890	1.052
高危细胞遗传学	0.006	3.283	0.021	4.785	0.784	0.893	0.576	1.213
BMPC≥13.45%	0.037	4.537	0.008	3.781	0.432	0.713	0.469	0.789

抽吸都会明显下降。此外,储存介质的选择对保持单克隆浆细胞的检测灵敏度至关重要,其中乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)比肝素钠能更有效地维持CD138标记的稳定性^[20]。鉴于流式细胞术在MRD检测中显示出的巨大潜力,

建议制定统一的检测标准,如检测方法、灵敏度要求、结果解读及质量控制等方面的标准化^[21]。提升检测准确性与可比性,正如MRD检测在MM治疗与预后评估中所起的作用一样,确立流式细胞免疫分型BMPC检测的统一标准,对指导临床治疗具有重要价值。

参考文献

- 1 陶怡糜. 2023年美国国立综合癌症网络(NCCN)《多发性骨髓瘤指南》(第2版)更新解读[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(2): 121-126.
- 2 Mohty M, Avet-Loiseau HAO, Malard F, et al. Potential future direction of measurable residual disease evaluation in multiple myeloma [J]. Blood, 2023, 142(18): 1509-1517.
- 3 Kostopoulos IV, Ntanasis-Stathopoulos I, Rousakis P, et al. Low levels of circulating tumor cells correlate with favorable clinical outcome and unique biological features in newly diagnosed multiple myeloma patients [J]. Blood, 2023, 142(Suppl 1): 880.
- 4 Jelinek T, Bezdekova R, Zihala D, et al. More than 2% of circulating tumor plasma cells defines plasma cell leukemia-like multiple myeloma [J]. J Clin Oncol, 2023, 41(7): 1383-1392.
- 5 Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(12): e538-e548.
- 6 Mikhael JR, Dingli D, Roy V, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma; updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013 [J]. Mayo Clin Proc, 2013, 88(4): 360-376.
- 7 Hofbauer D, Mougiakakos D, Broggin L, et al. $\beta(2)$ -microglobulin triggers NLRP3 inflammasome activation in tumor-associated macrophages to promote multiple myeloma progression [J]. Immunity, 2021, 54(8): 1772-1787.
- 8 Hussain A, Almenfi HF, Almehdewi AM, et al. Laboratory features of newly diagnosed multiple myeloma patients [J]. Cureus, 2019, 11(5): e4716.
- 9 Durie BG, Stock-Novack D, Salmon SE, et al. Prognostic value of pre-treatment serum beta 2 microglobulin in myeloma; a Southwest Oncology Group Study [J]. Blood, 1990, 75(4): 823-830.
- 10 杜长星, 李增军, 邱录贵. 多发性骨髓瘤的预后与分层策略[J]. 国际输血及血液学杂志, 2017, (2): 113-119.
- 11 Callander NS, Baljevic M, Adekola K, et al. NCCN Guidelines® In-sights: Multiple Myeloma, Version 3. 2022 [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(1): 8-19.
- 12 Dimopoulos MA, Sonneveld P, Leung N, et al. International Myeloma Working Group Recommendations for the Diagnosis and Management of Myeloma-Related Renal Impairment [J]. J Clin Oncol, 2016, 34(13): 1544-1557.
- 13 Dimopoulos MA, Merlini G, Bridoux F, et al. Management of multiple myeloma-related renal impairment; recommendations from the International Myeloma Working Group [J]. Lancet Oncol, 2023, 24(7): e293-e311.
- 14 Mikulasova A, Morgan GJ, Walker BA. Chromosomal abnormalities in multiple myeloma [J]. Nature Reviews Disease Primers, 2022, 8(1): 42.
- 15 Furukawa Y, Kikuchi J. Molecular basis of clonal evolution in multiple myeloma [J]. Int J Hematol, 2020, 111(4): 496-511.
- 16 刘珊, 尚晋, 林芸, 等. 双打击型高危多发性骨髓瘤患者临床疗效和预后分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, (11): 1209-1214.
- 17 Facon T, San-Miguel J, Dimopoulos MA, et al. Treatment regimens for transplant-ineligible patients with newly diagnosed multiple myeloma: a systematic literature review and network meta-analysis [J]. Adv Ther, 2022, 39(5): 1976-1992.
- 18 Ziogas DC, Dimopoulos MA, Kastritis E. Prognostic factors for multiple myeloma in the era of novel therapies [J]. Expert Rev Hematol, 2018, 11(11): 863-879.
- 19 Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders [J]. Haematologica, 2008, 93(3): 431-438.
- 20 Lin P, Owens R, Tricot G, et al. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma [J]. Am J Clin Pathol, 2004, 121(4): 482-488.
- 21 Soh KT, Wallace PK. Evaluation of measurable residual disease in multiple myeloma by multiparametric flow cytometry: Current paradigm, guidelines, and future applications [J]. Int J Lab Hematol, 2021, 43 Suppl 1: 43-53.

(2024-01-15 收稿 2024-03-30 修回)

(上接第141页)

- 11 卢万俊, 彭剑, 徐春富, 等. 单侧大脑中动脉慢性闭塞患者 FLAIR 高信号血管征变化规律及对脑梗死的预测价值[J]. 中风与神经疾病杂志, 2022, 39(2): 143-146.
- 12 Aoki R, Shimoda M, Oda S, et al. Clinical significance of the CSF pulsation flow sign in the foramen of monro on FLAIR in patients with aneurysmal SAH -preliminary report[J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2019, 59(7): 271-280.
- 13 施斌, 陈里. MRI 扫描 FLAIR 序列 HVS 征对急性期脑梗死的诊断及预后评估价值探讨[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2020, 18(8): 10-12.
- 14 Farag S, Kenawy FF, Shokri HM, et al. The clinical characteristics of patients with Pre-Existing leukoaraiosis compared to those without leukoaraiosis in acute ischemic stroke[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2021, 30(9): 105956.
- 15 Huang X, Shi X, Yang Q, et al. Topography of the hyperintense vessel sign on fluid-attenuated inversion recovery represents cerebral hemodynamics in middle cerebral artery occlusion: a CT perfusion study [J]. Neuroradiology, 2019, 61(10): 1123-1130.
- 16 Saccaro LF, Bekri I, De Malherbe M, et al. Ipsilateral blooming of microbleeds after hyperintense acute reperfusion marker sign in an ischemic stroke patient, a case report[J]. BMC Neurol, 2022, 22(1): 142.
- 17 Apfaltrer P, Wenz H, Böhme J, et al. FLAIR vascular hyperintensities indicate slow poststenotic blood flow in ICA stenosis[J]. Clin Neuro-radiol, 2021, 31(3): 827-831.
- 18 王雪琳, 郭宏伟, 陈鹏宇, 等. 血清缺氧诱导因子-1 α 、微小 RNA-210 水平对急性脑梗死患者早期神经功能改善有预测价值[J]. 内科急危重症杂志, 2022, 28(4): 312-314.
- 19 Wang LX, Wang H, Hao FB, et al. Ivy sign in moyamoya disease: a comparative study of the FLAIR vascular hyperintensity sign against contrast-enhanced MRI[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2021, 42(4): 694-700.
- 20 王磊磊, 朱幼玲, 唐敏, 等. 液体衰减反转恢复序列高信号征联合灌注加权成像对急性前循环脑梗死的预后评估[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2019, 21(10): 1023-1027.
- 21 Lee KY, Kim JW, Park M, et al. Interpretation of fluid-attenuated inversion recovery vascular hyperintensity in stroke[J]. J Neuroradiol, 2022, 49(3): 258-266.

(2022-07-26 收稿 2023-09-08 修回)