

多发性骨髓瘤的免疫表型分析及预后价值的研究

蔡小慧, 刘波, 王林纤, 黄玉梅, 江源, 黄宏君, 吴白平

湖南省肿瘤医院暨中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院检验科, 湖南 长沙 410013

摘要: **目的** 探讨初诊多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者瘤细胞的免疫表型特征及其预后价值。 **方法** 应用流式细胞术, 分析 49 例初诊 MM 患者瘤细胞的免疫表型, 并搜集与患者预后相关的临床资料, 进行统计分析。 **结果** 1) 所有研究对象均可检测到骨髓瘤细胞, 其表达 CD45、CD38、CD138、CD19、CD56 的阳性率依次为: 8.16%、100%、89.80%、6.12%、42.86%; 2) 分析抗原表达与瘤细胞比例、 β_2 -MG、Hb、Alb、Ca 等临床指标的关系, 发现 CD45 阴性患者的 β_2 -MG 水平高于 CD45 阳性患者 ($P < 0.05$), CD19 阴性患者的 Hb 和 Alb 水平低于 CD19 阳性患者 ($P < 0.05$), CD56 阴性患者的骨髓瘤细胞比例高于 CD56 阳性患者 ($P < 0.05$), 而 CD138 的表达与上述临床指标的水平无明显关系。 **结论** 多发性骨髓瘤免疫分型能有效地协助临床诊断, 且 CD45、CD19 和 CD56 的缺失可能导致预后不良, 对 MM 患者的治疗和预后评估具有重要价值。

关键词: 多发性骨髓瘤; 流式细胞术; 免疫分型; 浆细胞

中图分类号: R733.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)10-1202-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.10.016

Immunophenotype of multiple myeloma and its prognosis value

CAI Xiao-hui, LIU Bo, WANG Lin-xian, HUANG Yu-mei, JIANG Yuan, HUANG Hong-jun, WU Bai-ping

Department of Clinical Laboratory, Hunan Cancer Hospital, The Affiliated Cancer Hospital

of Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China

Corresponding author: WU Bai-ping, E-mail: wbp55088@qq.com

Abstract: **Objective** To explore the immunophenotype characteristics of myeloma cells in newly diagnosed patients with multiple myeloma (MM) and its prognosis value. **Methods** Multiparameter flow cytometry was used to detect the immunophenotypes of myeloma cells in 49 newly diagnosed MM patients. The clinical data about the patients' prognosis were collected and statistically analyzed. **Results** Myeloma cells were detected in all the patients, and the positive rates of CD45, CD38, CD138, CD19 and CD56 were 8.16%, 100%, 89.80%, 6.12% and 42.86% respectively. The concentrations of serum β_2 -microglobulin (β_2 -MG) in the CD45-negative patients were higher than those in CD45-positive patients ($P < 0.05$). The levels of hemoglobin (Hb) and albumin (ALB) in CD19-negative patients were lower than those in CD19-positive patients ($P < 0.05$). The proportion of myeloma cells in bone marrow of CD56-negative patients was higher than that of CD56-positive patients ($P < 0.05$). However,

作者简介: 蔡小慧 (1986-), 女, 湖南娄底人, 硕士, 技师, 研究方向: 流式细胞术在肿瘤诊断中的应用。

通讯作者: 吴白平, E-mail: wbp55088@qq.com。

- [3] Barrera SDL, Aleman M, Musella R, et al. IL-10 down-regulates costimulatory molecules on *Mycobacterium tuberculosis*-pulsed macrophages and impairs the lytic activity of CD4 and CD8 CTL in tuberculosis patients[J]. Clin Exp Immunol, 2004, 138(1): 128-138.
- [4] Cooper AM, D'Souza C, Frank AA, et al. The course of *Mycobacterium tuberculosis* infection in the lungs of mice lacking expression of either perforin or granzyme mediated cytolytic mechanisms[J]. Infect Immun, 1997, 65(3): 1317-1320.
- [5] 于春宝, 左云, 王俊玲, 等. 肺结核病人细胞免疫功能的研究[J]. 临床肺科杂志, 2008, 13(2): 138-139, 141.
- [6] Gagatay T, Kiran B, Yurt S, et al. Levels of tumornecrosis factor- α and IL-1 α in newly diagnosed and multidrug resistant tuberculosis [J]. Respiriology, 2005, 10: 290-294.
- [7] Shahemabadi AS, Hosseini AZ, Shaghsempour S, et al. Evaluation of T cell immune responses in multi-drug-resistant tuberculosis (MDR-TB) patients to *Mycobacterium tuberculosis* total lipid antigens[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 149: 285-294.
- [8] Tsao TC, Chen CH, Hong JH, et al. Shifts of T4/T8 T lymphocytes from BAL fluid and peripheral blood by clinical grade in patients with pulmonary tuberculosis[J]. Chest, 2002, 122: 1285-1291.
- [9] 何纲, 丁佩佩, 甄沛林, 等. 非耐药与耐药肺结核患者外周血 T 淋巴细胞亚群及细胞因子的变化[J]. 中国感染控制杂志, 2013, 12(9): 1671-1673.
- [10] Beck Js, Yoneda T. T4 lymphopenin in patients with active pulmonary tuberculosis[J]. Clin Exp Immunol, 1985, 60: 49-50.
- [11] 宋礼章. 免疫疗法[J]. 哮喘与肺部疾病杂志, 1998, 2(1): 10.
- [12] Quiroga MF, Pasquinelli V, Martinez GJ, et al. Inducible costimulator: a modulator of IFN- γ production in human tuberculosis[J]. J Immunol, 2006, 176(10): 5965-5974.
- [13] 张贤兰, 吕江青, 林兆原, 等. 肺结核患者 CD4⁺T 淋巴细胞凋亡及相关细胞因子水平变化[J]. 广东医学, 2008, 29(10): 1664-1666.
- [14] 孙莹. 复治及耐药药结核患者的 Th1/Th2 细胞状态变化的研究[D]. 济南: 山东大学, 2009.
- [15] Zhang M, Lin Y, Iyer DV, et al. T-cell cytokine responses in human infection with *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Infect Immun, 1995, 63(8): 3231-3234.
- [16] 童健. MGIT960 法和绝对浓度法对耐药药结核杆菌药敏检测结果比较[J]. 实用预防医学, 2015, 22(3): 366-368.

收稿日期: 2016-03-11

no significant correlation was observed between the expression of CD138 and the proportion of myeloma cells, serum β_2 -MG, Alb, Hb and calcium. **Conclusions** Determination of the immunophenotype of multiple myeloma is conducive to its clinical diagnosis. CD45, CD19 and CD56 deficiencies may induce poor prognosis. Immunophenotype determination is of great significance in guiding therapy and predicting prognosis of multiple myeloma.

Key words: Multiple myeloma; Flow cytometry; Immunophenotype; Plasma cell

多发性骨髓瘤是以骨髓中克隆性浆细胞异常增生为特征,分泌单克隆免疫球蛋白并导致相关器官或组织损伤的恶性肿瘤,其发病率占血液系统恶性肿瘤的 10%,且近年来呈现上升趋势。多项研究^[1-2]表明,流式细胞术可较准确地区分正常和异常浆细胞群,对多发性骨髓瘤的诊断和预后判断具有重要意义。但由于各实验室采用的仪器试剂多样、检测方案和设门方法未统一,以及可能存在地域差异等原因,部分抗原表达的临床意义仍存在争议^[3]。本研究通过分析 49 例初诊 MM 患者骨髓瘤细胞的免疫表型特征及其与临床指标的关系,研讨多发性骨髓瘤免疫表型的临床意义及预后价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2013 年 8 月-2015 年 8 月湖南省肿瘤医院淋巴血液内科收治的 49 例初诊多发性骨髓瘤患者,均符合国内多发性骨髓瘤诊断标准,其中男 32 例,女 17 例,年龄 41~79 岁,中位年龄 59 岁。根据国际分期体系(ISS):I 期 11 例,II 期 18 例,III 期 20 例。所有研究对象均在入院次日清晨空腹抽血检查血常规、肝肾功能、电解质。

1.2 仪器与试剂 所使用的流式细胞仪为 BECKMAN COULTER FC500 APL;所有单克隆抗体、同型对照、荧光微球、溶血素和鞘液均购自美国 BECKMAN COULTER 公司。

1.3 实验方法 所有研究对象在治疗前无菌抽取骨

髓 2 ml,肝素抗凝,经荧光抗体标记后上机检测。用 MXP 软件分析至少 30 000 个细胞,用 CD45/SSC 配合 CD45/CD38 设门^[4],选取待检细胞群,分析该细胞群 CD45、CD38、CD138、CD19、CD56 的表达情况。

1.4 统计方法 应用 SPSS19.0 统计软件,数据分析采用两独立样本 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MM 患者瘤细胞表面抗原表达情况分析 49 例 MM 患者骨髓中均可检测到可疑瘤细胞,占有核细胞的比例为 0.7%~66.8%,存在不同程度的抗原异常表达。骨髓瘤细胞免疫表型主要为 CD45⁺/CD38⁺/CD138⁺/CD19⁻/CD56⁺,其表达 CD45、CD38、CD138、CD19、CD56 的阳性率依次为:8.16%(4)、100%(49)、89.80%(44)、6.12%(3)、42.86%(21)。

2.2 瘤细胞表面抗原表达情况与临床指标的关系 分析 CD45、CD138、CD19、CD56 抗原的表达与骨髓瘤细胞比例、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)、血红蛋白(Hb)、白蛋白(Alb)、血清 Ca 的关系,可见 CD45 阴性患者的 β_2 -MG 水平高于 CD45 阳性患者(*P*<0.05),CD19 阴性患者的 Hb 和 Alb 水平低于 CD19 阳性患者(*P*<0.05),CD56 阴性患者的骨髓瘤细胞比例高于 CD56 阳性患者(*P*<0.05),而 CD138 的表达与上述临床指标的水平无明显关系。见表 1。

表 1 瘤细胞表面抗原表达情况与临床指标的关系

临床指标	CD45				CD138				CD19				CD56			
	阴性	阳性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	阴性	阳性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	阴性	阳性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	阴性	阳性	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
瘤细胞比例(%)	13.44±13.28	10.60±9.70	0.386	0.701	25.75±7.71	12.40±12.03	1.191	0.240	12.78±14.06	19.87±8.40	-0.858	0.395	16.88±17.02	8.32±6.16▲	2.468	0.019
β_2 -MG(ng/L)	5.60±3.19	2.12±0.36▲	2.680	0.010	3.61±1.75	5.49±3.27	-1.726	0.091	5.33±2.41	4.85±1.26	0.339	0.736	5.10±2.52	5.56±3.65	-0.691	0.493
Hb(g/L)	100.93±31.56	102.00±27.71	-0.079	0.938	118.50±10.61	99.79±32.06	0.951	0.347	99.39±31.83	125.67±6.35▲	-2.060	0.045	98.29±25.06	104.61±30.45	-1.044	0.302
Alb(g/L)	33.81±7.91	34.55±4.10	-0.270	0.788	35.75±3.04	33.72±8.00	0.834	0.408	33.32±5.00	42.73±7.29▲	-3.084	0.003	33.31±5.43	34.68±8.89	-0.845	0.402
Ca(mmol/L)	2.24±0.29	2.21±0.06	0.202	0.841	2.25±0.02	2.24±0.30	0.382	0.705	2.24±0.26	2.26±0.06	-0.138	0.891	2.26±0.24	2.21±0.27	0.695	0.490

注:▲表示同一临床指标之间,与该抗原阴性的患者相比较,*P*<0.05。

3 讨论

流式细胞术由于具有分析细胞数量大、可多参数分析、高敏感性和可重复性等优点,正日益广泛地应用于临床,特别是血液系统疾病的诊断。本研究采用流式细胞术对 MM 患者进行免疫表型分析,用 CD45/SSC 配合 CD45/CD38 设门,所有研究对象均可检出骨髓瘤细胞,所检出的瘤细胞表型特征及主要抗原表达阳性率与采用同一检测仪器的杨佳等^[5]报道一致。

MM 患者常见的临床表现为贫血、肾功能损害、免疫力低下、骨破坏、感染等,并根据 β_2 -MG 和白蛋白水平将患者分为 ISS I 期、II 期和 III 期。本研究分别分析瘤细胞表面 CD45、CD138、CD19、CD56 的表达情况与骨髓中瘤细胞比例、 β_2 -MG、Hb、Alb、Ca 等临床指标的关系,来探讨免疫表型分析的预后价值。

Kumar 等^[6]研究表明,浆细胞 CD45 的表达缺失与 MM 的进展及预后不良有关,但另一大样本研究^[7]否认这种相关性。本研究中骨髓瘤细胞 CD45 表达阳性率为 8.2%,其中 ISS III 期患者中无 CD45 阳性病例,统计结果显示 CD45 阴性患者的 β_2 -MG 水平显著高于阳性患者($P < 0.05$),提示 CD45 缺失的患者可能更易发生肾功能损害,从而导致预后不良。

CD38 是一种多功能胞外酶,广泛表达于髓系和淋巴细胞,尤其高表达于浆细胞,但其表达无特异性。CD138 是多种细胞外基质蛋白的受体,是浆细胞特异的膜抗原。有研究认为,瘤细胞表面 CD138 抗原的脱落与 MM 患者预后有关^[8]。本研究中检出的异常浆细胞全部表达 CD38,CD138 表达阳性率为 89.80%,且 CD138 的表达与瘤细胞比例、 β_2 -MG、Alb、Hb、Ca 均无明显关系。

CD19 是调节 B 淋巴细胞生长、激活和分化的重要信号传导分子,正常浆细胞表达 CD19,而异常浆细胞常常出现 CD19 表达缺失。早期研究认为,CD19 是区分良性与恶性浆细胞的重要标志,且 CD19 的表达缺失可能与肿瘤的进展有关^[9]。本研究中 93.88% 的骨髓瘤细胞存在 CD19 表达缺失,且 CD19 缺失患者的 Alb 和 Hb 显著低于 CD19 阳性患者,提示 CD19 缺失患者可能更易出现贫血和低白蛋白血症。

CD56 是一种神经细胞粘附分子,与骨髓瘤细胞向骨髓基质定位有关。正常浆细胞不表达 CD56,骨髓瘤细胞可异常表达。本研究中 CD56 表达阳性率为 42.86%,且 CD56 阴性患者的骨髓中瘤细胞比例显著高于阳性患者。Naohi 等^[10]研究发现,CD56 阴性 MM 患者具有更高的 β_2 -MG 和异常浆细胞,总生存期明显

缩短。本研究中仅发现异常浆细胞比例这一差异,根据 Smock 等^[11]的研究,骨髓瘤细胞比例(采用流式细胞术)结合年龄因素是 MM 患者的独立预后因素,本研究中 CD56-MM 患者具有更高的瘤细胞比例,可能导致肿瘤进展和不良预后。

综上所述,多发性骨髓瘤的免疫表型分析可有效地协助临床诊断,且本研究结果显示,CD45、CD19 和 CD56 的缺失可能导致预后不良。虽然这一差异在杨佳等^[5]报道中并未发现,这可能与分析的样本量、实验室采用的设门方案等因素有关。将在今后的工作中进一步观察,希望运用流式细胞术尽可能多地提取出有用的信息,为临床服务。

参考文献

- [1] Ruiz GJ. Cell surface markers in multiple myeloma[J]. Mayo Clinic Proceedings, 1994, 69(7):684-690.
- [2] Sakalová A, Holománová D, Mikulecky M, et al. Prognostic value of plasma-cell immunophenotype in patients with multiple myeloma[J]. Neoplasma, 1993, 40(6):351-354.
- [3] 李翰卿,翟勇平. 流式细胞术检测多发性骨髓瘤免疫表型和残留病灶的研究进展[J]. 中国实验血液学杂志,2015,23(1):241-245.
- [4] 王亚哲,刘艳荣,常艳,等. 237 例多发性骨髓瘤的免疫表型分析及其在微小残留病检测中的应用[C]. 第 12 届全国实验血液学会议论文摘要,2009.
- [5] 杨佳,杨波,张丽. 多发性骨髓瘤细胞形态分型与流式细胞术检测抗原表达相关性研究[J]. 中华细胞与干细胞杂志,2012,2(2):107-110.
- [6] Kumar S, Rajkumar SV, Kimlinger T, et al. CD45 expression by bone marrow plasma cells in multiple myeloma: clinical and biological correlations[J]. Leukemia, 2005, 19(8):1466-1470.
- [7] Mateo G, Montalbán MA, Vidriales MB, et al. Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(16):2737-2744.
- [8] Lovell R, Dunn JA, Begum G, et al. Soluble syndecan-1 level at diagnosis is an independent prognostic factor in multiple myeloma and the extent of fall from diagnosis to plateau predicts for overall survival[J]. Brit J Haematol, 2005, 130(4):542-548.
- [9] Mahmoud MS, Fujii R, Ishikawa H, et al. Enforced CD19 expression leads to growth inhibition and reduced tumorigenicity[J]. Blood, 1999, 94(10):3551-3558.
- [10] Naohi S, Akihiro T, Kazuyuki S, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma[J]. Brit J Haematol, 2002, 117(4):882-885.
- [11] Smock KJ, Perkins SL, Bahler DW. Quantitation of plasma cells in bone marrow aspirates by flow cytometric analysis compared with morphologic assessment[J]. Arch Pathol Lab Med, 2007, 131(6):951-955.

收稿日期:2016-01-30