

川东北地区MM患者骨髓瘤细胞免疫表型特征及其临床意义

祝静^{1,2}, 龙思琪¹, 蒋瑶², 王静³, 刘文^{1,2}

(1.川北医学院医学检验系, 四川南充 637000;

2.川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000;

3.川北医学院附属医院血液科, 四川南充 637000)

摘要:目的 明确我国川东北地区多发性骨髓瘤(MM)患者骨髓瘤细胞免疫表型的特征及其临床意义。方法 流式细胞术检测川北医学院附属医院2018年1月~2020年1月血液科住院的MM患者骨髓瘤细胞的免疫表型, 分析CD38、CD138、CD19、CD56、CD20、CD117、CD27、CD28、CD33、cKappa、cLambda在不同临床分期之间表达率的差异以及其与病情评估指标LDH、白蛋白、 β_2 -MG、血红蛋白的关系。结果 川东北地区MM患者骨髓瘤细胞CD分子的阳性表达率从高到低依次为CD38(100.00%)、CD138(100.00%)、CD56(77.88%)、CD19(55.77%)、cLambda(55.77%)、CD28(54.81%)、CD117(48.28%)、CD27(44.23%)、cKappa(44.23%)、CD33(26.92%)、CD20(21.15%)。ISS不同分期CD27的阳性表达率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); CD56⁺组LDH、白蛋白低于CD56⁻组, CD117⁺组白蛋白水平高于CD117⁻组, CD27⁺组 β_2 -MG低于CD27⁻组, CD28⁺组的血红蛋白高于CD28⁻组($P < 0.05$); CD19⁺组与CD19⁻组、CD20⁺组与CD20⁻组及CD33⁺组与CD33⁻组血清LDH、 β_2 -MG、白蛋白及血红蛋白分别比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 骨髓瘤细胞的免疫表型具有高度异质性和地域差异, CD27的表达阳性率越低, ISS分期越晚, 可能病情更重。CD27⁺、CD56⁺、CD117⁺及CD28⁺患者的疾病活动度、肿瘤负荷、肿瘤消耗及瘤细胞可能对骨髓的浸润及抑制程度均分别的低于相应的阴性患者。

关键词: 多发性骨髓瘤; 免疫表型; 血液肿瘤

中图分类号: R733.3

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.10.024

文章编号: 1006-1959(2021)10-0088-04

Immune Phenotype Characteristics and Clinical Significance of Myeloma Cells in Patients with MM in Northeastern Sichuan

ZHU Jing^{1,2}, LONG Si-qi¹, JIANG Yao², WANG Jing³, LIU Wen^{1,2}

(1.Department of Medical Laboratory Science, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2.Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China;

3.Department of Hematology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

Abstract: **Objective** To clarify the characteristics and clinical significance of the immunophenotype of myeloma cells in patients with multiple myeloma (MM) in northeastern Sichuan. **Methods** Flow cytometry was used to detect the immunophenotype of myeloma cells in MM patients hospitalized in the Department of Hematology from January 2018 to January 2020 in the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College. Analyzing the differences in the expression rates of CD38, CD138, CD19, CD56, CD20, CD117, CD27, CD28, CD33, cKappa, and cLambda between different clinical stages and their relationship with disease evaluation indicators LDH, albumin, β_2 -MG, and hemoglobin. **Results** The positive expression rate of CD molecules in myeloma cells of MM patients in Northeast Sichuan was CD38 (100.00%), CD138 (100.00%), CD56 (77.88%), CD19 (55.77%), and cLambda (55.77%), CD28 (54.81%), CD117 (48.28%), CD27 (44.23%), cKappa (44.23%), CD33 (26.92%), CD20 (21.15%). The positive expression rate of CD27 in different stages of ISS was compared, the difference was statistically significant ($P < 0.05$); CD56⁺ group LDH and albumin were lower than CD56⁻ group, CD117⁺ group albumin level was higher than CD117⁻ group, CD27⁺ group β_2 -MG was lower than CD27⁻ group, CD28⁺ group had higher hemoglobin than CD28⁻ group ($P < 0.05$); There was no significant difference in serum LDH, β_2 -MG, albumin and hemoglobin between CD19⁺ group and CD19⁻ group, CD20⁺ group and CD20⁻ group, and CD33⁺ group and CD33⁻ group respectively ($P > 0.05$). **Conclusion** The immunophenotype of myeloma cells is highly heterogeneous and regionally different. The lower the positive rate of CD27 expression, the later the stage of ISS, and the more severe the disease may be. CD27⁺, CD56⁺, CD117⁺ and CD28⁺ patients' disease activity, tumor burden, tumor wasting, and tumor cell infiltration and inhibition of bone marrow may be lower than the corresponding negative patients.

Key words: Multiple myeloma; Immunophenotype; Hematological tumors

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种高度异质性的血液系统恶性肿瘤, 以骨髓内恶性、单克隆浆细胞增生伴单克隆免疫球蛋白或轻链增多为特征, 引起溶骨性骨骼破坏、贫血、肾功能衰

竭、肿瘤浸润等症状, MM 在我国发病率已接近2/10万, 多发于中老年人^[1]。流式细胞术(flow cytometry, FCM)以单克隆抗体为基础, 检测白细胞族分化抗原(cluster of differentiation, CD), 作为一种

基金项目: 川北医学院校级科研发展计划项目(编号: CBY18-A-YB52)

作者简介: 祝静(1987.9-), 女, 四川南充人, 硕士, 助教, 主要从事临床检验及教学工作

通讯作者: 刘文(1981.10-), 男, 四川南充人, 硕士, 讲师, 主要从事临床检验及教学工作

新型、高效、特异的检测方法运用到MM的临床诊断及微小残留病检测中。多参数FCM通过检测浆细胞胞膜及膜内抗原的表达情况,能够准确区分正常浆细胞与肿瘤性浆细胞^[2],成为MM研究的热点。MM的发病率有逐渐增多的趋势,MM的免疫表型具有异质性,本实验通过研究我国川东北地区MM患者骨髓瘤细胞免疫表型的特点,分析不同CD分子在MM不同临床分期中表达率的差异以及其与病情评估的关系、明确不同CD分子的表达在疾病分期与病情评估中的具体作用,旨在为川东北地区MM患者疾病的诊断与病情评估提供重要的实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为川北医学院附属医院2018年1月~2020年1月住院的104例多发性骨髓瘤患者,其中男性71例,女性33例,年龄45~87岁,平均年龄(66.13±10.08)岁。MM患者按照国际骨髓瘤基金会2005年提出的国际分期标准(ISS)分为3期,I期12例,II期37例,III期55例。本研究得到本院伦理委员会支持,且所有参与者均知情同意。

1.2 方法 MM患者无菌抽取骨髓液1~2 ml注入肝素抗凝管后混匀。将骨髓液用PBS配成(10~20)×10⁶/ml的细胞悬液。将适量抗体加入流式试管,再加入50 μl的骨髓细胞悬液,混匀后室温避光孵育15 min。加入适量溶血剂,混匀后室温避光溶血10 min,去

上清,用PBS液洗2遍,重悬后用美国BD公司的FACScanto II多参数流式细胞仪上机检测。胞浆Kappa与Lambda检测需要经过细胞固定、破膜,与胞内抗原反应,清洗后再上机检测。试剂为来自美国BD公司或丹麦DAKO公司的鼠抗人单克隆抗体。流式分析采用CD45/CD38设门P3,分析P3门内浆细胞抗原的表达情况。

1.3 观察指标 分析CD19、CD56、CD20、CD117、CD27、CD33、CD28各自的阳性组与阴性组在血浆LDH、白蛋白、β₂-MG及血红蛋白的平均值,比较CD分子的阳性组和阴性组之间LDH、白蛋白、β₂-MG及血红蛋白的表达是否具有差异。

1.4 统计学分析 实验数据采用SPSS 20.0统计软件进行统计分析。计数资料采用(n)和(%)表示,两组数据间的比较采用χ²检验。定量资料数据为正态分布时,统计描述采用($\bar{x} \pm s$)表示,各组数据间的比较采用成组或配对t检验;数据为非正态分布时,统计描述采用中位数和四分位间距[M(P₂₅, P₇₅)]表示,各组数据间的比较采用秩和检验。以P<0.05认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者骨髓瘤细胞抗原表达情况 CD分子阳性表达率从高到低依次为CD38、CD138、CD56、CD19、cLambda、CD28、CD117、CD27、cKappa、CD33、CD20,见表1。

表1 患者骨髓瘤细胞免疫表型分析(n,%)

CD名称	总数	阳性数	阴性数	阳性率
CD38	104	104	0	100.00
CD138	104	104	0	100.00
CD56	104	81	23	77.88
CD19	104	58	46	55.77
cLambda	104	58	46	55.77
CD28	104	57	47	54.81
CD117	104	50	54	48.08
CD27	104	46	58	44.23
cKappa	104	46	58	44.23
CD33	104	28	76	26.92
CD20	104	22	82	21.15

2.2 不同分期患者骨髓瘤细胞抗原的表达情况 不同分期CD27的阳性表达率比较,差异有统计学意义(P<0.05),而CD38、CD138、CD19、CD56、CD20、CD117、CD27、CD33、CD28、cKappa、cLambda的阳性表达率比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表2。

2.3 患者骨髓瘤细胞各CD分子阳性组与阴性组实

验室指标比较 CD56⁺组LDH、白蛋白低于D56⁻组,CD117⁺组的白蛋白水平高于CD117⁻组,CD27⁺组的β₂-MG低于CD27⁻组,CD28⁺组的血红蛋白高于CD28⁻组(P<0.05);CD19⁺组与CD19⁻组、CD20⁺组与CD20⁻组、CD33⁺组与CD33⁻组血清LDH、β₂-MG、白蛋白及血红蛋白分别比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表3。

表2 MM不同ISS分期之间骨髓瘤细胞抗原表达情况[n(%)]

CD名称	I期阳性数(n=12)	II期阳性数(n=37)	III期阳性数(n=55)	χ^2	P
CD38	12(100.00)	37(100.00)	55(100.00)	/	>0.05
CD138	12(100.00)	3(100.00)	55(100.00)	/	>0.05
CD19	6(50.00)	25(67.57)	27(49.09)	3.244	>0.05
CD56	8(66.67)	30(81.08)	43(78.18)	1.099	>0.05
CD20	1(8.33)	11(29.73)	10(18.18)	3.105	>0.05
CD117	7(58.33)	20(54.05)	23(41.82)	1.898	>0.05
CD27	7(58.33)	21(56.76)	18(32.73)	6.272	<0.05
CD33	2(16.67)	7(18.92)	19(34.55)	3.471	>0.05
CD28	9(75.00)	22(59.46)	26(47.27)	3.559	>0.05
cKappa	6(50.00)	18(48.65)	22(40.00)	0.854	>0.05
cLambda	6(50.00)	19(51.35)	33(60.00)	0.854	>0.05

表3 各个CD分子阳性组与阴性组实验室指标比较[M(P₂₅, P₇₅), $\bar{x} \pm s$]

组别	LDH(U/L)	白蛋白(g/L)	β_2 -MG(mg/L)	血红蛋白(g/L)
CD19 ⁺ 组	167.02(119.03, 207.01)	30.79±6.71	7.70±6.73	81.44±22.73
CD19 ⁻ 组	136.00(103.03, 215.04)	30.48±7.37	7.50±5.13	79.31±24.17
CD56 ⁺ 组	140.03(108.03, 200.46)*	29.51±6.64*	7.66±6.07	79.04±24.01
CD56 ⁻ 组	191.02(150.79, 218.02)*	34.59±7.03*	7.42±5.69	85.72±20.13
CD20 ⁺ 组	119.01(103.03, 200.04)	29.17±6.53	6.92±5.47	83.52±20.31
CD20 ⁻ 组	164.54(116.25, 222.02)	31.03±7.11	7.93±6.07	79.63±24.11
CD117 ⁺ 组	174.03(130.47, 221.52)	31.88±5.82*	6.71±4.92	80.02±23.17
CD117 ⁻ 组	142.01(104.52, 215.26)	29.21±7.63*	8.47±6.82	80.91±23.54
CD27 ⁺ 组	160.03(111.82, 193.76)	30.01±7.12	6.11±4.63*	84.11±25.32
CD27 ⁻ 组	155.02(111.33, 233.04)	31.16±6.89	8.92±6.73*	77.61±21.21
CD33 ⁺ 组	167.03(114.75, 320.32)	30.63±7.84	8.22±4.81	75.71±20.32
CD33 ⁻ 组	151.03(111.46, 195.02)	30.72±6.68	7.41±6.36	82.22±24.11
CD28 ⁺ 组	173.03(114.02, 220.04)	30.91±7.17	7.52±6.68	84.92±25.92*
CD28 ⁻ 组	140.03(109.51, 201.47)	30.32±6.82	7.83±5.09	75.12±18.53*

注:*表示两组比较, P<0.05;余CD分子阳性组与阴性组比较, P>0.05

3 讨论

正常人骨髓浆细胞的免疫表型为CD38⁺、CD138⁺、CD19⁺、CD56⁻、CD117⁻、CD20⁻，胞浆Kappa与Lambda均表达，而MM中骨髓瘤细胞的CD38与CD138表达减弱，CD19表达减弱或呈阴性，CD56、CD117与CD20表达均可增强，胞浆Kappa与Lambda呈单克隆表达或不表达，除此之外，CD27、CD28、CD33也存在异常表达，但此方面的研究国内少见报道。CD38和CD138是欧洲骨髓瘤工作组推荐的MM流式细胞术检测的设门抗体，正常骨髓瘤细胞和绝大多数MM患者的骨髓瘤细胞这两个CD分子呈阳性表达^[3]。CD19是B细胞的系列标志，B细胞全程表达一直持续到浆细胞。CD56是一种血细胞粘附分子，有研究表明CD56与MM的病情发展程度具有相关性^[4,5]。CD117是一种髓细胞抗原。CD20是成熟B细胞抗原。CD27属于肿瘤坏死因

子-肿瘤坏死因子受体超家族成员，是一种共刺激分子。CD28是一种T淋巴细胞抗原。CD33是髓细胞分化抗原，有研究表明MM患者骨髓瘤细胞表达CD33，可使细胞发生形态学改变，CD33有望成为MM治疗的新靶点^[6]。

本研究采用多参数流式细胞术对我国川东北地区104例MM患者骨髓标本的骨髓瘤细胞进行免疫表型分析，CD分子的阳性表达率从高到低依次为CD38、CD138、CD56、CD19、cLambda、CD28、CD117、CD27、cKappa、CD33、CD20。所有患者的骨髓瘤细胞CD38与CD138呈阳性或弱阳性表达。CD分子的异常表达率从高到低依次为CD56⁺、CD27⁺、CD28⁺、CD117⁺、CD19⁻、CD33⁺、CD20⁺。有研究显示，江苏省泰州市MM患者骨髓瘤细胞CD分子异常表达阳性率从高到低依次为CD19⁻、CD56⁺、CD28⁺、CD117⁺、CD20⁺。本研究与以往结果明显不

同,这进一步展示了骨髓瘤细胞抗原的表达具有异质性和地域差异。

在充分了解川东北地区MM患者骨髓瘤细胞免疫表型特征的基础上,本研究分析各个CD分子在MM患者不同ISS分期的阳性表达率并比较其在不同分期之间是否存在差异。本研究显示,不同分期CD27的阳性表达率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),而CD38、CD138、CD19、CD56、CD20、CD117、CD27、CD33、CD28、cKappa、cLambda的阳性表达率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CD27主要表达在活化的B细胞和T细胞上,通过与其配体CD70的相互作用可以促进细胞凋亡^[7]。CD27在I期患者骨髓瘤细胞中的阳性表达率为58.3%,在II期的表达率是56.8%,在III期的表达率是32.7%,由此推导,CD27的阳性率表达率越低,可能其促进凋亡的作用越弱,对应的临床分期越靠后,可能与疾病的严重程度有关。

为了研究CD分子表达与病情严重程度的关系,本研究将MM患者按各个CD分子是否表达分成阳性组和阴性组,比较两组患者临床实验室指标结果是否存在差异。血清LDH与MM的肿瘤负荷及疾病严重程度相关^[8]。 β_2 -MG是肾功能早期损伤的灵敏指标,同时与MM的肿瘤细胞及疾病活动度相关^[9], β_2 -MG与白蛋白水平都是MM国际ISS分期的指标。血红蛋白间接反映骨髓瘤细胞对骨髓的浸润程度以及对骨髓造血功能的抑制程度。本研究结果显示CD56+组的LDH、白蛋白显著低于D56-组($P<0.05$),由此推测CD56+组的MM患者肿瘤负荷更低。CD117+组的白蛋白水平高于CD117-组($P<0.05$),推测CD117+组的肿瘤消耗低于CD117-组,但两组的白蛋白平均值都在35 g/L以下,处于较低水平。CD27+组的 β_2 -MG显著低于CD27-组($P<0.05$),由此推测CD27+组的MM患者的疾病活动度更低,反之,CD27-组的疾病活动度更高;本研究前部分显示CD27的阳性率表达率越低,可能其促进凋亡的作用越弱,对应的临床分期越靠后,这两部分研究结果的方向是一致的,表明CD27的阳性率越低,疾病活动度越高,分期越靠后,病情可能越严重,Chu B等^[10]研究显示初诊多发性骨髓患者CD27阴性表达提示预后不良,本研究结果与其一致。CD28+组的血红蛋白显著高于CD28-组($P<0.05$),由此推测CD28+组MM患者的骨髓瘤细胞可能对骨髓的浸润及抑制程度低于CD28-组。此外,CD19+组与CD19-组、CD20+组与CD20-组、CD33+组与CD33-组血清LDH、 β_2 -MG、白蛋白及血红蛋白分别比较,差异无统计学

意义($P>0.05$)。

综上所述,骨髓瘤细胞的免疫表型具有高度异质性和地域差异,可为川东北地区MM的诊断和治疗提供实验室检查参考。CD27的表达阳性率在不同ISS分期之间具有显著差异,其阳性率越低,ISS分期越晚,可能病情更重。CD27+组、CD56+组、CD117+组以及CD28+组的疾病活动度、肿瘤负荷、肿瘤消耗及瘤细胞可能对骨髓的浸润及抑制程度均分别的低于相应的阴性患者。但本研究也有不足之处,在现有结果的基础上,后期可进一步深入研究骨髓瘤细胞免疫表型与MM患者对化疗的疗效反应以及免疫表型与预后评价的关系,为MM患者的个体化治疗与预后评估提供更多参考。

参考文献:

- [1]葛均波,徐永健,王辰.内科学[M].第九版,北京:人民卫生出版社,2018:592-595.
- [2]Schouweiler KE,Karandikar NJ,Holman CJ.Immunophenotypic Heterogeneity of Polytypic Plasma Cells and the Impact on Myeloma Minimal Residual Disease Detection by Multiparameter Flow Cytometry [J].Cytometry B Clin Cytom,2019,96(4):310-318.
- [3]Sonneveld P,Broijl A.Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma[J].Haematologica,2016,101(4):396-397.
- [4]常子维,朱华峰,冯苗娟,等.160例多发性骨髓瘤患者免疫表型特征及其临床意义 [J].现代生物医学进展,2016,16(26):5179-5183.
- [5]Ilii HRB,Dasari S,Dispenzieri A,et al.ClonoType Light Chain Peptides Identified for Monitoring Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma Without Bone Marrow Aspirates[J].Clinical Chemistry,2016,62(1):243-251.
- [6]许超平,周涛,胡桂英,等.vdac-1基因调控多发性骨髓瘤细胞表达髓系分化抗原CD33实验研究 [J].临床血液学杂志,2017,30(5):368-371.
- [7]Remedios KA,Meyer L,Zirak B,et al.CD27 Promotes CD4+ Effector T Cell Survival in Response to Tissue Self-Antigen[J].J Immunol,2019,203(3):639-646.
- [8]Maiso P,Huynh D,Moschetta M,et al.Metabolic signature identifies novel targets for drug resistance in multiple myeloma[J].Cancer Res,2015,75(10):2071-2082.
- [9]段丽娟,李超,杨如玉.多发性骨髓瘤患者血清 β_2 -微球蛋白、TNF- α 、CRP及IL-6水平检测[J].中国实验血液学杂志,2015,23(5):1362-1365.
- [10]Chu B,Bao L,Wang Y,et al.CD27 antigen negative expression indicates poor prognosis in newly diagnosed multiple myeloma[J].Clin Immunol,2020(213):108363.

收稿日期:2020-11-30;修回日期:2020-12-11

编辑/宋伟