

初诊多发性骨髓瘤患者中性粒细胞与淋巴细胞比值与免疫表型、细胞遗传学的相关性及其对预后的影响

胡娟娟¹ 聂淑敏² 高燕¹ 颜学中¹ 黄俊霞¹ 李田兰¹ 刘珊珊¹ 毛春霞¹ 周静静¹
徐玉洁¹ 王伟¹ 孟繁军¹ 冯献启¹

¹青岛大学附属医院血液科 266000; ²青岛大学附属医院神经内科 266000

通信作者:冯献启, Email: qdfxq2005@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.12.015

The correlations and prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio, immunophenotype and cytogenetic abnormalities in patients with newly diagnosed multiple myeloma

Hu Juanjuan, Nie Shumin, Gao Yan, Yan Xueshen, Huang Junxia, Li Tianlan, Liu Shanshan, Mao Chunxia, Zhou Jingjing, Xu Yujie, Wang Wei, Meng Fanjun, Feng Xianqi

¹Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, China;

²Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qindao 266000, China

Corresponding author: Feng Xianqi, Email: qdfxq2005@163.com

多发性骨髓瘤(MM)是一种浆细胞克隆性异常增生的恶性血液系统肿瘤,目前仍不可治愈,其发病率约占血液系统肿瘤的10%^[1]。目前,随着对MM认识的加深及MM患者病情进展及预后的高度异质性,R-ISS分期作为广泛应用的预后评价体系已不能满足MM危险度分层和预后判断的临床需要。由于MM的克隆演变、影响因素的复杂性以及肿瘤微环境对MM发病和预后的影响,近年的研究发现,一些免疫标志物对MM的诊断、疗效评估及预后判断具有重要意义,如CD56、CD117、CD200^[2-5]。另有研究显示,外周血中性粒细胞(N)与淋巴细胞(L)比值(NLR)与胃癌、肺癌、食管癌、淋巴瘤以及其他实体肿瘤的预后相关^[6-9],高NLR患者预后不佳,可能与肿瘤微环境在肿瘤的发生发展及疗效中起重要作用相关。但目前仍不清楚NLR是否与MM的核型、免疫表型相关及其对MM预后的影响。本研究中我们对236例初诊MM患者的各项指标进行了系统性分析,尤其是NLR与免疫表型、细胞遗传学异常的相关性及其对疾病预后的影响。

病例与方法

1. 病例:回顾性分析2011年12月至2019年1月于青岛大学附属医院就诊的236例初诊MM患者的临床资料,其中男性147例(62.3%),女性89例(37.7%),中位发病年龄62(30~88)岁,中位骨髓浆细胞所占比例为36%(10%~98.5%)。分型:IgG型111例(47%),IgA型50例(21.2%),轻链及其他类型共占75例(31.8%)。DS分期:I期17例(7.2%),II期33例(14%),III期186例(78.8%)。ISS分期:I期53例(22.5%),II期71例(30.1%),III期112例(47.5%)。免疫表型:CD56⁺患者124例(52.5%),CD117⁺患

者33例(22.3%),CD200⁺患者31例(77.5%)。细胞遗传学分析包括常规染色体核型(中期R+G显带)+间期原位荧光杂交(FISH)检测。复杂染色体核型指常规中期R+G显带染色体检测存在≥3个染色体核型异常或多个预后不良染色体核型异常。常规R+G显带染色体核型检测中复杂染色体核型占18.7%。FISH检测中,遗传学异常检出率为79.2%(80/101),IgH重排阳性率为57.4%(58/101),TP53阳性率为13.9%(14/101),RB-1阳性率为47.5%(48/101),CKS1B/CDKN2C阳性率为44.6%(45/101)。纳入标准:全部患者均符合国际骨髓瘤工作组(IMWG)诊断标准,且均为初诊、既往未接受化疗的患者。排除标准:曾接受化疗、复发、合并其他肿瘤、初诊时肾功能不全且与原发病无关、伴其他影响NLR的因素(如感染、自身免疫性疾病、其他血液病)的患者。对照组选取35名健康者。

2. 观察指标:收集MM患者初次化疗前年龄、性别、骨髓浆细胞数、血细胞计数并计算NLR、白蛋白、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)、肌酐、血钙、LDH、骨破坏、常规染色体核型、免疫表型、FISH等指标。

3. 随访与疗效评价:采用电话、查阅门诊及住院病历的方式进行随访,随访截止至2019年1月30日。总生存(OS)时间定义为自确诊至临床死亡或随访结束的时间;无进展生存(PFS)时间指自确诊至疾病复发、疾病进展、死亡、随访结束的时间。

4. 统计学处理:采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。采用受试者工作特征(ROC)曲线确定最佳截断(cut-off)值,记录曲线下面积(AUC)。组间比较采用 χ^2 检验,单因素分析采用Kaplan-Meier法,组间生存率比较采用Log-rank法,多因素分析采用Cox回归分析, $P < 0.05$ 为差异为有统计学意义。

结 果

一、NLR与MM患者临床特征之间的关系

MM患者的NLR明显高于健康对照组($P < 0.05$)。根据ROC曲线,将MM患者外周血NLR=4作为最佳界值(AUC=0.789,敏感度为68.4%,特异度91.2%),分为NLR>4(高NLR)组和NLR≤4(低NLR)组。高NLR组患者CD56阴性、TP53阳性及RB-1阳性的发生率较低NLR组显著升高(CD56⁻:62.9%对41%, $P=0.002$;TP53⁺:29.7%对4.7%, $P=0.000$;RB-1⁺:62.2%对39.1%, $P=0.025$),且高NLR组较低NLR组患者更易出现贫血(67.1%对38.0%)、血小板减少(34.3%对13.9%)、髓外浸润(31.4%对9.6%)、复杂核型(34.7%对12.0%)(P 均<0.05),而两组在性别、年龄、分期、分型、骨破坏等方面的差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

二、预后危险因素分析

1. 单因素分析:CD56⁻、复杂核型、TP53⁺、RB-1⁺、1q+、髓外浸润、HGB≤85 g/L、NLR>4的MM患者PFS时间显著缩短(P 均<0.05),CD56⁻、复杂核型、TP53⁺、1q+、髓外浸润、HGB≤85 g/L、LDH>200 U/L、NLR>4的MM患者OS时间显著缩短(P 均<0.05)。

2. 多因素分析:结果显示,NLR>4、TP53⁺、复杂染色体核型是PFS不良的独立危险因素,NLR>4、TP53⁺、1q+、复杂染色体核型、HGB≤85 g/L是OS不良的独立危险因素。

3. NLR对生存的影响:高NLR组患者PFS及OS时间均较低NLR组患者显著缩短(PFS时间:9个月对43个月, $P < 0.05$;OS时间:15个月对65个月; $P < 0.05$)。在接受1种或多种新药治疗的患者中,高NLR组与低NLR组PFS率和OS率的差异均无统计学意义(P 均>0.05),提示新药可改善高NLR组患者的预后。我们进一步分析了免疫表型及细胞遗传学对高NLR组患者不良预后的影响,结果显示,高NLR组MM患者中,CD56阳性患者的中位PFS率和OS率较CD56阴性者高($P < 0.05$),而CD117、CD200、IgH、TP53、RB-1、1q的表达对高NLR组患者的生存无显著影响。

讨 论

近年研究发现肿瘤微环境在肿瘤发生发展、复发与转移过程中发挥重要作用,机体对肿瘤的免疫炎症反应与肿瘤的生物行为关系密切。免疫标志物参与肿瘤的炎症反应,并对预后具有重要意义^[6-11]。肿瘤免疫炎症反应及异质性肿瘤克隆通过促进细胞释放免疫调节因子改变肿瘤微环境,从而抑制肿瘤细胞凋亡、促进血管生成、激活细胞表面黏附分子、损伤DNA^[12],一定程度上引起瘤细胞表面抗原表达及细胞遗传学的改变。目前研究认为中性粒细胞属于骨髓微环境中髓源性抑制细胞(MDSC),可抑制MM患者T细胞功能^[13],并通过分泌各种生物活性物质促进肿瘤发生发展,参与血管生成、促进肿瘤侵袭及转移^[14]。参与肿瘤免疫反应的淋巴细胞所介导的细胞毒性作用及释放的细胞因子能够抑制肿瘤的增殖及转移。故NLR在一定程度上反映了机体的

免疫及炎症反应状态,被认为是促肿瘤性和抗肿瘤性炎症反应的平衡指标,NLR升高提示肿瘤微环境中免疫反应平衡失调,导致被募集至肿瘤部位的免疫细胞的抗肿瘤作用被抑制,形成了利于肿瘤生长的微环境,通过分泌细胞因子促进肿瘤的生长及复发^[15-16]。研究表明NLR与胃癌等实体瘤以及淋巴瘤、MM等血液系统肿瘤预后相关^[6-9],免疫表型及细胞遗传学在MM发病、诊治及预后判断中发挥重要作用^[2-5,17-22]。为建立一个更精准的包括临床特征、生化指标、遗传学等的预后分层模式并指导治疗,本研究对我院236例初诊MM患者的临床资料进行分析,探究NLR与MM患者免疫表型、细胞遗传学及预后的关系。

研究发现,免疫表型与细胞遗传学异常对患者预后存在影响。多项研究结果显示,17p-、t(4;14)、t(14;16)等是影响MM患者预后的危险因素^[5,17-18]。Sahara等^[2-3]研究发现,与CD56⁺的MM患者相比,CD56⁻患者更易发生贫血、肾功能不全及髓外浸润,OS期短,提示CD56⁻患者预后不佳。本研究通过单因素分析显示,CD56⁺MM患者具有更佳的OS及PFS,而CD117表达与预后无显著相关性。多因素分析显示17p-是PFS不良的独立危险因素,17p-、1q扩增是OS不良的独立危险因素,而免疫表型并不是影响MM患者预后的危险因素,与上述结果基本一致。本研究中CD56表达与否与细胞遗传学异常的相关性无统计学意义。

关于NLR和免疫表型及细胞遗传学异常是否在MM微环境中存在关联,目前尚无定论。Kelkitli等^[23]研究显示NLR≥2患者的OS和PFS时间短、分期晚、肾功能不全的发生率高,多因素分析显示高NLR是患者预后不良的独立危险因素。Shi等^[24]研究显示NLR>4患者ISS分期高、del(13q)及t(4;14)发生率低、OS及PFS时间短,高NLR对预后的影响与细胞遗传学异常无关。多因素分析显示TP53+、1q21+、IgH+、NLR高是PFS不良的独立危险因素,TP53+、1q21+是OS不良的独立危险因素。本研究发现,初治MM高NLR组患者较低NLR组患者的贫血程度更重,ISS分期更高,CD56阴性率更高,RB-1、TP53阳性率更高,OS时间更短。基于本研究的数据资料,高NLR组患者IgH、TP53、RB-1、1q是否表达对MM患者预后影响的差异无统计学意义,提示NLR对MM患者预后的作用可能不受染色体核型的直接影响,可作为一组高风险人群存在,原因可能是MM患者机体免疫炎症反应促进骨髓微环境改变,通过与黏附分子、骨髓基质细胞相互作用及损伤DNA使骨髓微环境有利于骨髓瘤细胞生长。与某些研究的结果不全相同,考虑可能受到样本量、地域等因素影响,后期需进一步验证。本研究结果还显示硼替佐米、来那度胺等新药可以克服NLR对MM患者的预后的不良影响,可能与新药促进骨髓瘤细胞凋亡、下调细胞因子刺激信号通路、干扰MM细胞与骨髓基质细胞黏附、抑制T淋巴细胞增殖、减少炎症因子分泌等相关^[25-27],从而抑制肿瘤的免疫炎症反应。

关于NLR界值的选取,国内外研究尚未达成一致意见,有研究采用中位数、ROC曲线等方式确定临界值,但由于是

单中心、回顾性研究,病例数不多。需要多中心、样本量大的研究以更深入地探讨NLR的临床应用价值及参考值。

参考文献

- [1] Gay F, Palumbo A. Management of older patients with multiple myeloma[J]. *Blood Rev*, 2011,25(2):65-73. DOI: 10.1016/j.bl-re.2010.10.003.
- [2] Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma[J]. *Br J Haematol*, 2002, 117(4): 882-885. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03513.x.
- [3] Sahara N, Takeshita A. Prognostic significance of surface markers expressed in multiple myeloma: CD56 and other antigens[J]. *Leuk Lymphoma*, 2004, 45(1):61-65.
- [4] Hundemer M, Klein U, Hose D, et al. Lack of CD56 expression on myeloma cells is not a marker for poor prognosis in patients treated by high-dose chemotherapy and is associated with translocation t(11;14)[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2007, 40(11):1033-1037. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705857.
- [5] 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. DOI: 10.1200/JCO.2007.15.4120.
- [6] Krenn-Pilko S, Langsenlehner U, Thurner EM, et al. The elevated preoperative platelet-to-lymphocyte ratio predicts poor prognosis in breast cancer patients[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(10): 2524-2530. DOI: 10.1038/bjc.2014.163.
- [7] Ishizuka M, Oyama Y, Abe A, et al. Combination of platelet count and neutrophil to lymphocyte ratio is a useful predictor of postoperative survival in patients undergoing surgery for gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2014, 110(8):935-941. DOI: 10.1002/jso.23753.
- [8] Diem S, Schmid S, Krapf M, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab[J]. *Lung Cancer*, 2017, 111: 176-181. DOI: 10.1016/j.lungcan.2017.07.024.
- [9] Kang MH, Go SI, Song HN, et al. The prognostic impact of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with small-cell lung cancer[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(3):452-460. DOI: 10.1038/bjc.2014.317.
- [10] Troppan K, Deutsch A, Gerger A, et al. The derived neutrophil to lymphocyte ratio is an independent prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(2):369-374. DOI: 10.1038/bjc.2013.763.
- [11] Koh YW, Jung SJ, Yoon DH, et al. The absolute lymphocyte to monocyte ratio is associated with poor prognosis in classical Hodgkin lymphoma patients younger than 60 years of age[J]. *Hematol Oncol*, 2015, 33(3):133-140. DOI: 10.1002/hon.2155.
- [12] André T, Najjar M, Stamatopoulos B, et al. Immune impairments in multiple myeloma bone marrow mesenchymal stromal cells[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(2):213-224. DOI: 10.1007/s00262-014-1623-y.
- [13] Görgün GT, Whitehill G, Anderson JL, et al. Tumor-promoting immune-suppressive myeloid-derived suppressor cells in the multiple myeloma microenvironment in humans[J]. *Blood*, 2013, 121(15):2975-2987. DOI: 10.1182/blood-2012-08-448548.
- [14] Mishalian I, Bayuh R, Levy L, et al. Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(11): 1745-1756. DOI: 10.1007/s00262-013-1476-9.
- [15] Oluwadara O, Giacomelli L, Brant X, et al. The role of the microenvironment in tumor immune surveillance[J]. *Bioinformatics*, 2011, 5(7): 285-290. DOI: 10.6026/97320630005285.
- [16] Halazun KJ, Hardy MA, Rana AA, et al. Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg*, 2009, 250(1):141-151. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181a77e59.
- [17] 吴昊, 张慧, 何海燕, 等. 532例多发性骨髓瘤患者细胞遗传学异常及对预后的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(9):739-743. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.09.002.
- [18] Avet-Loiseau H, Attal M, Campion L, et al. Long-term analysis of the IFM 99 trials for myeloma: cytogenetic abnormalities [t(4;14), del(17p), 1q gains] play a major role in defining long-term survival[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(16):1949-1952. DOI: 10.1200/JCO.2011.36.5726.
- [19] Sawyer JR, Tian E, Heuck CJ, et al. Evidence of an epigenetic origin for high-risk 1q21 copy number aberrations in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2015, 125(24):3756-3759. DOI: 10.1182/blood-2015-03-632075.
- [20] Walker BA, Boyle EM, Wardell CP, et al. Mutational Spectrum, Copy Number Changes, and Outcome: Results of a Sequencing Study of Patients With Newly Diagnosed Myeloma[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(33): 3911-3920. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.1503.
- [21] Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Gouraud W, et al. Minor clone provides a reservoir for relapse in multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2013, 27(2):473-481. DOI: 10.1038/leu.2012.226.
- [22] 刘雪莲, 杨珮钰, 于小源, 等. 1q21扩增对硼替佐米治疗初治多发性骨髓瘤患者疗效和预后的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(5): 408-413. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.05.013.
- [23] Kelkitli E, Atay H, Cilingir F, et al. Predicting survival for multiple myeloma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio[J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(5):841-846. DOI: 10.1007/s00277-013-1978-8.
- [24] Shi L, Qin X, Wang H, et al. Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio and monocyte-to-lymphocyte ratio and decreased platelet-to-lymphocyte ratio are associated with poor prognosis in multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12):18792-18801. DOI: 10.18632/oncotarget.13320.
- [25] Mitsiades CS, McMillin D, Kotoula V, et al. Antitumor effects of the proteasome inhibitor bortezomib in medullary and anaplastic thyroid carcinoma cells in vitro[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(10):4013-4021. DOI: 10.1210/jc.2005-2472.
- [26] Nencioni A, Schwarzenberg K, Brauer KM, et al. Proteasome inhibitor bortezomib modulates TLR4-induced dendritic cell activation[J]. *Blood*, 2006, 108(2):551-558. DOI: 10.1182/blood-2005-08-3494.
- [27] Berges C, Haberstock H, Fuchs D, et al. Proteasome inhibition suppresses essential immune functions of human CD4+ T cells[J]. *Immunology*, 2008, 124(2): 234-46. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2007.02761.x.

(收稿日期:2019-06-17)

(本文编辑:律琦)