

62例CD20阳性多发性骨髓瘤患者 临床特征分析

李增军 徐燕 安刚 王慧君 邓书会 赵耀中 邱录贵

【摘要】 目的 分析CD20阳性多发性骨髓瘤(MM)患者的临床和实验室检查特征。方法 回顾性分析62例CD20阳性初诊MM患者的临床及实验室检查资料,并与CD20阴性患者进行比较。结果 ①采用流式细胞术进行CD20分析的465例初诊MM患者中,CD20阳性者62例(13.3%)。②CD20阳性与阴性组患者比较,其性别、年龄、Durie-Salmon分期、ISS分期、肾功能损害、LDH水平、血小板计数及免疫球蛋白类型差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)。③CD20阳性组患者血红蛋白水平(74.5 g/L对83.5 g/L, $P=0.021$)、髓外浸润发生率(3.5%对13.7%, $P=0.029$)、CD56阳性细胞率(36.7%对68.8%, $P=0.000$)、t(4;14)发生率(2.4%对24.0%, $P=0.001$)明显低于CD20阴性组。④CD20阳性组患者骨髓浆细胞比例(0.400对0.295, $P=0.045$)及恶性浆细胞比例(20.0%对6.8%, $P=0.000$)、CD45阳性细胞率(12.1%对4.5%, $P=0.018$)、CD79a阳性细胞率(9.8%对1.5%, $P=0.013$)、t(11;14)发生率(60.5%对14.4%, $P=0.000$)明显高于CD20阴性组。⑤两组患者对治疗的反应率、完全缓解率、无进展生存及总体生存时间差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)。结论 MM患者CD20阳性发生率为13.3%,CD20阳性MM患者的瘤细胞更易在骨髓浸润,累及红系造血,免疫表型更多为不典型表现。与CD20阴性患者比较,CD20阳性患者t(11;14)发生率明显升高,而t(4;14)发生率明显降低。

【关键词】 多发性骨髓瘤; 抗原,CD20; 疾病特征; 对比研究

The characteristics of 62 cases of CD20-positive multiple myeloma Li Zengjun, Xu Yan, An Gang, Wang Huijun, Deng Shuhui, Zhao Yaozhong, Qiu Lugui. Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Qiu Lugui, Email: drqiu99@medmail.com.cn

【Abstract】 **Objective** To explore the clinical and laboratory characteristics of multiple myeloma patients with CD20 expression. **Methods** Review the data of multiple myeloma patients and analyze the clinical and laboratory characteristics of CD20 positive patients, compared with CD20 negative patients. **Results** ① Totally 465 cases of newly-diagnosed MM were collected with CD20 expression status detected by multi-color flow cytometry. Sixty two patients (13.3%) were CD20 positive and the others were negative. ② No statistical differences were found between CD20 positive and negative groups about the sex ratio, age predominance, D-S staging, ISS staging, renal insufficiency rate, platelet count, LDH level and classifications by paraprotein (all P value >0.05). ③ Compared with those of CD20 negative patients, the hemoglobin value (74.5 g/L vs 83.5 g/L, $P=0.021$), extramedullary involvement rate (3.5% vs 13.7%, $P=0.029$), CD56-positive rate (36.7% vs 68.8%, $P=0.000$), t(4;14) translocation rate (2.4% vs 24.0%, $P=0.001$) in CD20 positive patients were lower statistically. ④ Compared with those of CD20 negative patients, the percentage of plasma cells (0.400 vs 0.295, $P=0.045$) by marrow smear differential counting, the percentage of myeloma cells (20.0% vs 6.8%, $P=0.000$) by multi-color flow cytometry analysis, CD45-positive rate (12.1% vs 4.5%, $P=0.018$), CD79a-positive rate (9.8% vs 1.5%, $P=0.013$) and t(11;14) translocation rate (60.5% vs 14.4%, $P=0.000$) in CD20 positive patients were higher statistically. ⑤ There was no statistical differences about the overall response rate (ORR), complete response rate (CRR), TTP (time to progression), PFS (progression free survival) and overall survival (OS) between CD20 positive

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.01.011

基金项目:天津市科技支撑计划重大项目(12ZCDZSY17600)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院

通信作者:邱录贵,Email:drqiu99@medmail.com.cn

and negative groups. **Conclusions** CD20 positive rate is 13.3% in multiple myeloma patients according to our data. CD20 positive myeloma were prone to residing in bone marrow and affecting erythropoiesis. Atypical immunophenotypes were more common, and the incidence of t(11;14) were increased markedly while that of t(4;14) were rare for CD20 positive multiple myeloma.

【Key words】 Multiple myeloma; Antigens, CD20; Disease attributes; Comparative study

多发性骨髓瘤(MM)患者常表现为骨髓中异常浆细胞明显增多,并可分泌单克隆性免疫球蛋白或其轻链,造成骨质破坏、贫血、肾功能损害等,同时正常免疫球蛋白分泌减少,患者容易出现感染。MM的诊断主要依靠骨髓中异常增多的单克隆性浆细胞、血清或尿液中出现单克隆性免疫球蛋白或轻链以及出现骨痛、贫血等相关临床表现。MM患者的瘤细胞为异常浆细胞,免疫表型上与正常浆细胞既有相同之处,也有不同点。同时瘤细胞的免疫表型也有变异,如成熟B细胞的抗原CD20在部分MM患者也可表达,这部分患者临床及实验室检查有何特点,国外曾有报道^[1-2],但国内尚未见研究报道。我们通过对我院患者资料进行回顾性研究,旨在分析CD20阳性MM患者的特征。

病例和方法

1. 病例:以2003年1月至2013年12月我院门诊或住院的465例初诊MM患者为研究对象,取材时均征得患者同意并签署知情同意书。采集资料包括患者一般人口学特征(性别、年龄)、血常规、LDH水平、 β_2 微球蛋白水平、免疫球蛋白水平、Durie-Salmon(D-S)分期、国际分期系统(ISS)分期、是否存在髓外病灶、骨髓中浆细胞比例、免疫表型特征、分子细胞遗传学特点及治疗反应等。

2. 流式细胞术检测:采集患者骨髓液肝素抗凝,溶解红细胞,常规进行相关抗体标记,PBS洗涤后上机(FACS Callibur多色流式细胞仪为美国BD公司产品)检测。CD45/侧向散射(SS)进行设门,四色流式细胞术分析CD138阳性细胞抗原表达情况,分析20 000个细胞,以20%以上CD138细胞表达作为阳性标准,并进行CD38、CD19、CD20、CD45、CD56、CD79a及CD117等阳性细胞百分率检测。

3. FISH检测:采集患者骨髓液肝素抗凝,Ficoll密度梯度离心分离单个核细胞,应用CD138单克隆抗体(单抗)磁珠分选法分离MM患者瘤细胞,按照文献[3]的方法进行培养和FISH分析。FISH分析探针针对位点包括17p13.1(del17p)、13q34(del13q),易位包括IgH/CCND1、IgH/FGFR3、IgH/

MAF。所有探针均来自美国雅培公司(Abbott Laboratories)。每个标本共分析200个间期细胞,临界值采用欧洲骨髓瘤网络的建议,缺失或扩增采用20%作为阳性标准,易位采用10%作为阳性标准。

4. 治疗方案及治疗反应:CD20阳性与阴性组患者主要接受沙利度胺为基础的化疗或硼替佐米为基础的化疗,且两组接受硼替佐米治疗患者的比例分别为32.6%和29.5%($P=0.675$),3~4个疗程后部分患者进行自体造血干细胞移植(阳性组和阴性组分别为6例和47例),个别高危患者进行异基因造血干细胞移植(阳性组和阴性组分别为2例和1例),两组患者移植率分别为15.1%和13.8%($P=0.510$),治疗反应按照国际骨髓瘤工作组(IMWG)标准进行判断。

5. 随访:总体生存(OS)时间:患者开始治疗至死亡或末次生存随访日。无进展生存(PFS)时间:患者从开始治疗至复发、进展或死亡或随访截止时间。疾病进展时间(TTP):患者开始治疗至肿瘤客观进展的时间。随访截止时间为2014年4月30日。所有病例均通过电话随访、末次住院病历及门诊病历记录获得随访数据。

6. 统计学处理:采用SPSS 19软件进行统计学分析,计量资料采用中位数表示,计量资料的比较先进行Levene方差齐性检验,方差齐时,采用独立样本的双侧 t 检验;方差不齐时,采用矫正的 t 检验。率的比较采用双侧卡方检验或Fisher确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MM患者CD20阳性率:纳入研究的465例初诊MM患者中,CD20阳性者62例(13.3%),阴性者403例(86.7%)。

2. CD20阳性MM患者的主要临床特征:CD20阳性与阴性组患者比较,其性别、年龄、D-S分期、ISS分期、肾功能损害、LDH水平、血小板计数及免疫球蛋白类型差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)。CD20阳性组患者的血红蛋白水平($P=0.021$)、髓外浸润发生率($P=0.029$)明显低于CD20

阴性组。骨髓浆细胞比例($P=0.045$)及恶性浆细胞比例($P=0.000$)明显高于CD20阴性组(表1)。

3. 免疫表型特点:CD20阳性组患者的CD56阳性率($P=0.000$)明显低于CD20阴性组,CD45阳性率($P=0.018$)、CD79a阳性率($P=0.013$)明显高于CD20阴性组,两组患者的CD19阳性率均较低且差异无统计学意义($P=0.465$)(表1)。而作为MM主要标志的CD38和CD138其阳性率在两组患者中均

为100.0%。

4. 细胞遗传学特点:CD20阳性者t(11;14)发生率明显高于阴性者($P=0.000$),t(4;14)发生率明显低于CD20阴性组($P=0.001$)(表1)。

5. 治疗反应:中位随访时间为26.0(3.0~93.5)个月。CD20阳性与阴性组患者对治疗的总反应率分别为73.1%和82.8%($P=0.124$),完全缓解(CR)率分别为26.9%和32.0%($P=0.526$),中位PFS时间分别

表1 CD20阳性组与阴性组多发性骨髓瘤患者的临床与实验室检查特征

因素	CD20阳性组(62例)	CD20阴性组(403例)	P值
性别[例数(%)]			0.152
男	43(69.3)	241(59.8)	
女	19(30.7)	162(40.2)	
年龄[岁,中位数(范围)]	59.5(32~81)	58(25~83)	0.713
HGB[g/L,平均数(范围)]	74.5(51~163)	83.5(28~167)	0.021
PLT[$\times 10^9/L$,平均数(范围)]	149(21~362)	153.5(14~452)	0.729
LDH[升高例数/检测例数(%)]	8/55(14.5)	68/388(17.5)	0.694
髓外浸润[阳性例数/检测例数(%)]	2/54(3.5)	55/383(13.7)	0.029
D-S分期[阳性例数/检测例数(%)]			0.580
I期	0	21/394(5.3)	
II期	7/61(11.5)	32/394(8.1)	
III期	54/61(88.5)	341/394(86.5)	
ISS分期[阳性例数/检测例数(%)]			0.075
I期	8/59(13.6)	69/394(17.5)	
II期	16/59(27.1)	144/394(36.5)	
III期	35/59(59.3)	181/394(45.9)	
肾功能异常[阳性例数/检测例数(%)]	14/58(24.1)	87/393(22.1)	0.734
免疫球蛋白类型[阳性例数/检测例数(%)]			0.407
IgG	29/62(46.7)	198/402(49.3)	
IgA	13/62(21.0)	105/402(26.1)	
轻链 κ 型	7/62(11.3)	21/402(5.2)	
轻链 λ 型	6/62(9.7)	51/402(12.7)	
不分泌型	5/62(8.1)	10/402(2.5)	
其他	2/62(3.2)	17/402(4.2)	
免疫表型[阳性例数/检测例数(%)]			
CD19	3/56(5.4)	14/403(3.5)	0.465
CD45	7/58(12.1)	18/400(4.5)	0.018
CD56	22/60(36.7)	276/401(68.8)	0.000
CD117	20/59(33.9)	89/400(22.3)	0.070
CD79a	4/41(9.8)	4/263(1.5)	0.013
骨髓分类浆细胞比例[中位数(范围)]	0.400(0~0.915)	0.295(0~0.950)	0.045
恶性浆细胞比例[%,中位数(范围)]	20.0(0~79.2)	6.8(0~80.7)	0.000
FISH阳性率[阳性例数/检测例数(%)]			
del(13q)	17/44(38.6)	163/328(49.7)	0.199
del(17p)	3/43(7.0)	30/327(9.2)	0.782
IgH异位	34/44(77.3)	183/326(56.1)	0.164
t(11;14)	26/43(60.5)	44/305(14.4)	0.000
t(4;14)	1/42(2.4)	71/296(24.0)	0.001
IgH/MAF	2/42(4.8)	11/292(3.8)	0.672

注:LDH升高:LDH>247 U/L; D-S:Durie-Salmo; ISS:国际分期系统

为20.2和18.1个月($P=0.180$),中位OS时间分别为27.1和21.8个月($P=0.073$),差异均无统计学意义。

讨 论

虽然流式细胞术并非MM的主要诊断手段,但有时也可发挥重要作用,如对于不分泌型或寡分泌型MM,免疫球蛋白及轻链水平不高且免疫固定电泳阴性时,以及瘤细胞形态不典型或数量较少时,流式细胞术有助于鉴定异常表型的、单克隆性的浆细胞,对于确定诊断会发挥关键作用。另外部分分泌型的MM患者复发进展时,免疫球蛋白分泌量减少或不分泌,呈现“母细胞化”,形态上也不典型,此时流式细胞术也成为重要的鉴别诊断手段。在微小残留病(MRD)监测上,流式细胞术也发挥一定作用。

在免疫表型上,主要根据CD19、CD45、CD56、CD38、CD138的表达对正常浆细胞和瘤细胞进行鉴别。瘤细胞一般CD19、CD45表达阴性,CD56表达阳性(部分呈阴性),CD38表达阳性,CD138表达(弱)阳性;而正常浆细胞一般CD19表达阳性,CD45多表达阳性,CD56表达阴性,同时CD38表达阳性,CD138表达(强)阳性^[4-6]。CD20在正常浆细胞一般为阴性表达,在瘤细胞也多数呈阴性表达,但多项研究显示,5%~20%的MM患者可以表现为CD20阳性^[1]。有报道认为CD20阳性MM患者的预后与小细胞形态、t(11;14)有关,但也是异质性群体,表达CyclinD1和CyclinD2者预后不同,后者预后较差^[2,7]。最近澳大利亚墨尔本大学的Grigoriadis等^[8]应用免疫组化方法检测537例MM患者CD20表达情况,发现阳性者40例,阳性率7.5%。但未与同时期CD20阴性的MM患者进行对比,也未发现CD20阳性MM患者在临床上有何特征,免疫组化染色CyclinD1阳性者23例(56%),但由于FISH技术没有广泛采用,细胞遗传学上,仅2例发现t(11;14),因此认为CD20阳性MM患者为异质性群体。在本研究中我们的结果显示MM患者CD20阳性率为13.3%,与国外报道大致相当,与t(11;14)也有明确的相关性,阳性组60.5%的患者伴有t(11;14)。虽然我们没有检测CD20阳性MM患者CyclinD2的表达情况,也没有分析其细胞形态与CD20表达的关系,但我们在研究与同期CD20阴性的患者进行对比,结果更具有价值。对于CD20阳性患者,按照是否存在t(11;14)又可分为两组(分

别为26例和17例),该两组患者之间的特征如何也是有意思的问题,但由于例数较少,比较后两组患者间其他抗原表达率、临床特征(血红蛋白、髓外浸润情况、浆细胞比例)、治疗反应及PFS、OS时间差异均无统计学意义(P 值均 >0.05 ,资料未显示),这需要扩大样本继续观察。

在本研究中,我们还发现CD20阳性患者骨髓中浆细胞比例明显高于CD20阴性组,无论骨髓涂片人工分类结果还是按照流式细胞术检测的异常浆细胞比例均为如此,同时CD20阳性组患者血红蛋白水平较阴性组低,而髓外浸润发生较少,提示CD20阳性浆细胞更倾向于在骨髓中增殖并可影响红系造血,很少累及髓外组织,这似乎与此前认为的该类患者具有成熟B细胞淋巴瘤的特点相一致。这种特点此前尚未见报道,有待于更多研究证实。尤其是髓外浸润的发现又受到检查方法(如普通X线、CT、MRI、PET-CT等)和实施检查的医师主观因素影响,更需要在统一检查手段后的前瞻性研究中进行证实。

除了临床和细胞遗传学特点外,对于CD20阳性患者,其他表面抗原的检测也发现了一些特点,如与阴性组比较CD56的阳性率较低,而CD79a、CD45的阳性率相对较高,且差异均有统计学意义(P 值均 <0.05)。CD117的阳性率也较高,但差异无统计学意义($P=0.070$)。这些特点也反映了该类患者的瘤细胞与典型MM表型的差异,而与B细胞淋巴瘤有相似之处。

治疗上,由于我们并非前瞻性研究,治疗方案并不统一,同时例数较少,两组患者间治疗反应的差异无统计学意义,需要进一步研究。另外,CD20阳性MM患者是否对利妥昔单抗有效也是有意思的问题,目前报道并不一致,有研究显示,疗效与患者CD20阳性细胞的比例有关^[9],在本研究中患者均未应用利妥昔单抗进行治疗,对于部分CD20高表达患者,尤其是复发、难治患者,值得应用利妥昔单抗进行尝试治疗。

本组资料的分析结果显示,CD20阳性MM患者虽然仍是异质性群体,但其本身仍在临床、免疫表型及细胞遗传学上具有某些独特特征,它与淋巴瘤尤其套细胞淋巴瘤的关系值得深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Robillard N, Avet-Loiseau H, Garand R, et al. CD20 is associated with a small mature plasma cell morphology and t(11;

14) in multiple myeloma[J]. Blood, 2003, 102(3): 1070-1071.

[2] Quinn J, Percy L, Glassford J, et al. CD20- positive multiple myeloma is differential expression of cyclinsD1 and D2 suggests a heterogeneous disease[J]. Br J Haematol, 2009, 149 (1):156-159.

[3] Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome[J]. Blood, 2007, 109(8): 3489-3495.

[4] 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.

[5] Seegmiller AC, Xu Y, McKenna RW, et al. Immunophenotypic differentiation between neoplastic plasma cells in mature B-cell lymphoma vs plasma cell myeloma[J]. Am J Clin Pathol, 2007, 127(2):176-181.

[6] 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.

[7] Heerema-McKenney A, Waldron J, Hughes S, et al. Clinical, immunophenotypic, and genetic characterization of small lymphocyte-like plasma cell myeloma: a potential mimic of mature B-cell lymphoma [J]. Am J Clin Pathol, 2010,133 (2): 265-270.

[8] Grigoriadis G, Gilbertson M, Came N, et al. Is CD20 positive plasma cell myeloma a unique clinicopathological entity? A study of 40 cases and review of the literature [J]. Pathology, 2012, 44(6):552-556.

[9] Moreau P, Voillat L, Benboukher L, et al. IFM group Rituximab in CD20 positive multiple myeloma[J]. Leukemia, 2007, 21(4): 835-836.

(收稿日期:2014-07-10)
(本文编辑:刘志红)

本刊入围“百种中国杰出学术期刊”

根据中国科学技术信息研究所2013年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)统计及中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价结果,本刊荣获2013年“百种中国杰出学术期刊”和“第3届中国精品科技期刊和国际化精品科技期刊”,即“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”。

据《中国科技期刊引证报告》(2014年版)显示,本刊综合评价总分位居本学科第一位,核心总被引频次为1510,核心影响因子0.837,较2012年度明显增长。

中国科学技术信息研究所每年公布中国科技论文与引文数据库收录的中国科技论文统计源期刊的20余个科学计量指标,在此基础上,评选百种中国杰出学术期刊。评审过程公开、透明,评审结果公正、客观,入围期刊代表中国科技期刊的最高水平。

本刊编辑部

·读者·作者·编者·

关于提供伦理委员会批准文件及受试对象知情同意书的通知

根据中华医学会杂志社的相关规定,当以人体为研究对象时,作者应该说明其遵循的程序是否符合负责人体试验的委员会(单位、地区或国家)所制订的伦理学标准并提供该委员会的批准文件复印件,同时在正文中说明受试对象或其监护人是否知情同意。

本刊编辑部