

重轻链检测在多发性骨髓瘤疗效评价中的意义

于晓晨 苏薇 庄俊玲

【摘要】 目的 评价重轻链(HLC)检测在多发性骨髓瘤(MM)疗效评价中的意义。方法 纳入2013至2016年北京协和医院诊治的45例MM患者,连续收集其治疗过程中115份血清。采用常规M蛋白检查及HLC比值(rHLC)法同时评估疗效。结果 ①45例患者中男30例,女15例,平均年龄59(43~80)岁,其中IgG型27例(IgG κ 12例,IgG λ 15例),IgA型18例(IgA κ 和IgA λ 各9例)。②治疗前34例患者留取了血清标本,rHLC异常检出率为94.1%(32/34),2例rHLC正常的患者均为IgG型,部分缓解(PR)、非常好的部分缓解(VGPR)、完全缓解(CR)时rHLC异常检出率分别为81.8%(18/22)、50.0%(9/18)、16.0%(4/25),结果显示随着治疗后缓解程度的加深,rHLC异常率逐渐下降。③25例CR患者中IgG型13例,IgA型12例,其中有4例患者rHLC异常(IgG型和IgA型各2例)。④对同一患者进行HLC动态监测,发现rHLC恢复正常较M蛋白转阴(血清蛋白电泳、免疫固定电泳)及游离轻链恢复正常延迟。结论 rHLC检测可以作为MM患者微小残留病的辅助评价手段。

【关键词】 免疫球蛋白重链; 免疫球蛋白轻链; 多发性骨髓瘤; 治疗结果

基金项目:中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-3-025)

The value of serum heavy/light chain immunoassay to assess therapeutic response in patients with multiple myeloma Yu Xiaochen, Su Wei, Zhuang Junling*. *Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China*

Corresponding author: Zhuang Junling, Email: zhuangjunling@pumch.cn

【Abstract】 Objective To assess the value of immunoglobulin heavy/light chain (HLC) immunoassay on therapeutic response in patients with multiple myeloma(MM). **Methods** A total of 45 newly diagnosed MM patients were retrospectively enrolled in Peking Union Medical College Hospital from 2013 to 2016, whose 115 serum samples were consecutively collected. HLC was tested to evaluate response and compare with other methods for M protein detection. **Results** ①There were 30 males and 15 females in total of whom the monoclonal immunoglobulin was IgG in 27 (IgG κ : IgG λ 12: 15) and IgA (IgA κ : IgA λ 9: 9) in 18. The average age of the studied population was 59 (range 43-80). ②In 34 patients with serum sample at diagnosis, 32 (94.1%) had abnormal HLC ratio (rHLC) while 2 patients with IgG had normal rHLC. The percentages of abnormal rHLC was 81.8% (18/22) at partial response, 50.0% (9/18) at very good complete response and 16.0% (4/25) at complete response. ③In 25 patients reaching CR, there were 13 with IgG and 12 with IgA. 4 patients equally split of IgG and IgA had abnormal rHLC at complete response. ④By monitoring the rHLC of some patients consecutively, we found that the remission of rHLC was to some extent behind the remission of SPE and IEF, or even rFLC. **Conclusion** Immunoglobulin HLC detection is one feasible method for minimal residual disease detection.

【Key words】 Immunoglobulin heavy chains; Immunoglobulin light chains; Multiple myeloma; Treatment outcome

Fund program: Innovation Team Project of Chinese Academy of Medical Sciences(2016-I2M-3-025)

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是以产生单克隆免疫球蛋白(monoclonal immunoglobulin, M蛋白)为特征的一种恶性浆细胞疾病。M蛋白监测在疾病评估中占有重要地位,起病时M蛋白水平反映肿瘤负荷,缓解时M蛋白水平反映缓解程度^[1]。目前有多种检测M蛋白的方法,血清蛋白电泳(SPE)和免疫固定电泳(IFE)为评估MM完全缓解(CR)的定量和定性指标,游离轻链比值(rFLC)正常作为严格完全缓解(sCR)的标准已于2006年纳入国际指南^[2]。免疫球蛋白重轻链(heavy/light chain, HLC)检测可以定量检测完整的免疫球蛋白,其抗体结合靶点为重轻链恒定结合区的抗原表位^[3]。以往的研究结果显示,HLC在监测患者病情、提示预后等方面均有一定意义^[4-6]。在本研究中我们旨在探讨其在监测病情、评估缓解程度等方面的意义。

病例与方法

1. 病例:以2013年3月至2016年1月于北京协和医院确诊并治疗的45例初治MM患者为研究对象,共收集115份血清标本(34例治疗前留取血清标本共34份,余81份标本为治疗和随访过程中采集)。患者诊断、分期依据中国MM诊治指南(2015年修订)^[7]标准进行。

2. 检验方法:SPE、IFE、免疫球蛋白定量、FLC为我院常规开展的检验项目。HLC检测试剂盒(IgGκ/λ、IgAκ/λ试剂盒)均购于英国The Binding

Site公司。患者血清采集、离心、分装后于-80℃保存备用。采用免疫比浊法定量检测rHLC(IgGκ/IgGλ比值,IgAκ/IgAλ比值)及rFLC(游离轻链κ/λ比值)。rHLC及rFLC正常值均参照文献^[8-9]。

3. 治疗方案及疗效判断:患者均采用沙利度胺(TCD)或硼替佐米(BCD)为主的治疗方案。疗效按照文献^[7]标准进行判断,分为CR、非常好的部分缓解(VGPR)、部分缓解(PR)(未纳入疾病稳定或疾病进展患者)。复发定义为从CR复发,参照国际骨髓瘤工作组(IMWG)的通用标准^[2]进行判断:血、尿IFE示M蛋白阳性,骨髓中浆细胞比例>0.050,出现新的软组织浆细胞瘤或溶骨性病变或残留骨病变扩大。

4. 随访:全部患者定期门诊随访,无失访病例,随访截止时间为2017年4月1日。总生存(OS)时间定义为从诊断至死亡或随访结束时的时间,无进展生存(PFS)定义为从诊断至复发的时间(本文仅讨论从CR复发)。

结 果

1. 患者基线临床资料:45例患者中男30例,女15例,平均年龄59(43~80)岁,其中IgG型27例(IgGκ 12例,IgGλ 15例),IgA型18例(IgAκ和IgAλ各9例)。表1结果显示,IgG、IgA型患者年龄及性别比例基本相似,国际分期系统(ISS)分期及Durie-Salmon(D-S)分期均以Ⅲ期为主,起病时M蛋白定量均>30.0 g/L,IgG平均水平为33.2 g/L,IgA

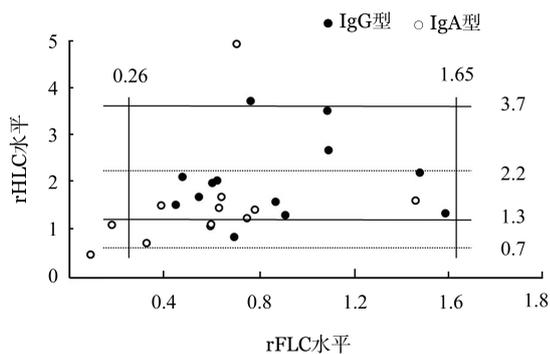
表1 45例多发性骨髓瘤患者基线临床资料

临床特征	总体(45例)	IgG型(27例)	IgA型(18例)
年龄[岁,均值(范围)]	59(43~80)	59(43~80)	58(45~75)
男性[例(%)]	30(66.7)	17(63.0)	13(72.2)
国际分期系统分期[例(%)]			
I期	10(22.2)	7(25.9)	3(16.7)
II期	15(33.3)	7(25.9)	8(44.4)
III期	20(44.4)	13(48.1)	7(38.9)
Durie-Salmon分期[例(%)]			
I期	1(2.2)	1(3.7)	0(0)
II期	11(24.4)	7(25.9)	4(22.2)
III期	33(73.3)	19(70.4)	14(77.8)
蛋白电泳[g/L,均值(范围)]	31.4(0~68.4)	30.7(0~68.4)	32.4(2.8~64.0)
IgG[g/L,均值(范围)]	21.9(1.8~77.4)	33.2(6.5~77.4)	4.9(1.5~10.0)
IgA[g/L,均值(范围)]	15.0(0.1~76.3)	0.53(0.10~1.96)	36.7(0.6~76.3)
IgM[g/L,均值(范围)]	0.29(0.04~1.20)	0.31(0.04~1.20)	0.26(0.05~0.51)
Igκ [例(%)]	21(46.7)	12(44.4)	9(50.0)
Igλ [例(%)]	24(53.3)	15(55.6)	9(50.0)

平均水平为 36.7 g/L。治疗前 34 例患者留取了血清标本, rHLC 异常检出率为 94.1%(32/34), 2 例 rHLC 正常者均为 IgG 型。rFLC 异常检出率为 91.2%(31/34)。

2. 不同缓解阶段时的 rHLC 及 rFLC 水平: 治疗后共收集患者血清标本 81 份, 其中 CR 时 25 份(初次达到 CR)、VGPR 时 18 份、PR 时 22 份, 另有 16 份标本为患者 CR 后为评估缓解程度采集。PR、VGPR、CR 时 rHLC 异常检出率分别为 81.8%(18/22)、50.0%(9/18)、16.0%(4/25), rFLC 异常检出率分别为 63.6%(14/22)、27.8%(5/18)、8.0%(2/25), 结果显示随着治疗后缓解程度加深, rHLC 和 rFLC 异常检出率均逐渐下降。

3. CR 患者的 rHLC 及 rFLC 水平: 45 例患者中有 25 例治疗后获得 CR, 其中 IgG 型 13 例, IgA 型 12 例; 共 5 例 CR 患者仍有不同程度 rHLC 和(或)rFLC 异常(图 1)。



IgG 型 rHLC 正常值范围为 1.3~3.7(横实线), IgA 型 rHLC 正常值范围为 0.7~2.2(横虚线); rFLC 正常值范围为 0.26~1.65(纵实线)

图 1 完全缓解阶段患者的重轻链比值(rHLC)和游离轻链比值(rFLC)水平

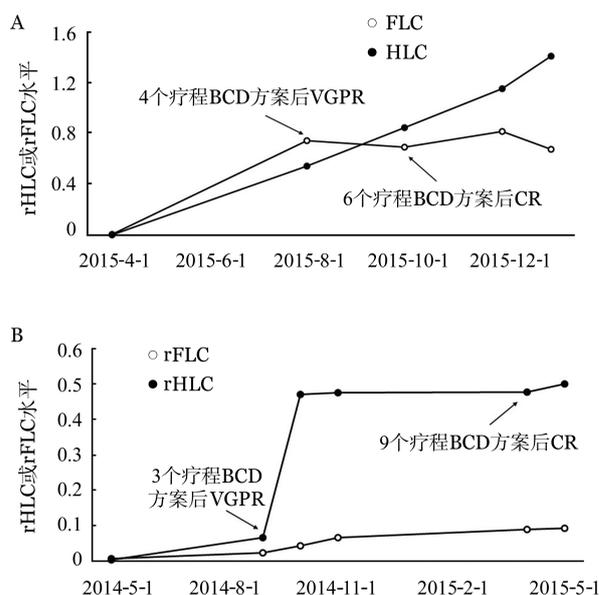
3 例 CR 仅 rHLC 异常患者中, 2 例 IgG 型者随访时间分别为 24 和 40 个月, 目前仍持续 CR 中; 1 例 IgA 型者已死亡, PFS 时间为 14 个月, OS 时间为 20 个月。1 例 CR 仅 rFLC 异常患者(IgA 型), 随访 33 个月, 持续 CR 中; 1 例 CR rHLC 及 rFLC 均异常患者(IgA 型), 目前已复发, 仍存活, PFS 时间为 34 个月。

全部患者中位随访时间为 29.4 个月, 其中有 3 例患者死亡, 均为 IgA 型, 死亡患者中 2 例 CR 时 rHLC 及 rFLC 正常, 但初诊时 rHLC 均 > 200, PFS 时间分别为 17 和 27 个月, OS 时间分别为 26 和 32 个月。

4. 同一患者的 rHLC 及 rFLC 动态监测: 图 2A

所示为 1 例 69 岁男性患者, 2015 年 4 月 8 日诊断为 MM, IgGλ 型, D-S 分期 III B, ISS 分期 III。治疗前 M 蛋白 47.8 g/L, 予以 BCD(硼替佐米 + 环磷酰胺 + 地塞米松) 方案治疗 6 个疗程后, IFE、SPE 检查示 M 蛋白均转阴, rFLC 正常, 但 rHLC 仍异常, 在 rFLC 正常 3 个月后才恢复正常, 随访至 2017 年 4 月仍处于 CR 中。

图 2B 所示为 1 例 56 岁男性患者, 2014 年 5 月 19 日诊断为 MM, IgAλ 型, D-S 分期 II A, ISS 分期 II。治疗前 M 蛋白 15.0 g/L, 予以 BCD 方案 3 个疗程后获 VGPR, 治疗 1 年后获 CR, 但此时 rFLC 及 rHLC 仍异常, 2017 年 3 月复发, M 蛋白阴性, 但出现髓外浆细胞瘤, PFS 时间为 32 个月。



A: 69 岁男性 IgGλ 型患者; B: 56 岁男性 IgAλ 型患者; CR: 完全缓解; VGPR: 非常好的部分缓解

图 2 2 例多发性骨髓瘤患者的重轻链比值(rHLC)和游离轻链比值(rFLC)水平动态监测结果

讨 论

近年来随着新药的不断问世, MM 治疗效果不断提升, 在部分研究中, 32%~43% 患者可以获得 CR^[10-11], 我们亟需一种简便易行的方法来评估缓解程度, 尤其是监测微小残留病(MRD)。流式细胞术及 PET-CT 虽有较好的敏感性^[12-13], 但因其方法复杂、价格昂贵, 不适于常规临床应用, 血清学检测为相对简便易行的方法。目前对 M 蛋白的血清学检测方法多种多样, 但仍未达到准确定量^[14]: SPE 及免疫球蛋白定量仅能部分反映 M 蛋白水平, SPE 中 46% 的 IgA 型和 4% 的 IgG 型可能因其他区带(如触

珠蛋白、转铁蛋白等)共迁移而造成微量免疫球蛋白难以定量^[15];IFE为定性检测;FLC为简便的评估缓解程度指标,但其半衰期仅2~4 h,且除轻链型外测量的并非真正M蛋白;HLC检测可以测定完整免疫球蛋白水平,且不受半衰期影响,虽然其定量中仍包含同型球蛋白的多克隆部分,但相比于其他方法,可以更加接近真正的M蛋白水平^[16]。

我们的研究结果显示,临床疗效达到CR的25例MM患者中仍有4例rHLC异常(16.0%)及2例rFLC异常(8.0%),提示CR患者体内仍存在异常克隆的免疫球蛋白,这与国内外相关研究结果一致^[17-18]。4例患者中IgG型2例虽然rHLC异常,但仍保持CR,而2例IgA型患者均出现疾病进展且1例死亡。说明rHLC这种方法对IgA型MM的评估更为精确。rHLC和rFLC检测均有高敏感性,可以联合应用评估患者的缓解程度。

在IgA型患者中,rHLC检测较SPE和IFE显示出更好的敏感性^[19-20]。在意义未明单克隆免疫球蛋白血症患者中,IgA型rHLC异常检出率亦高于IgG型(97%对56%)^[8],这可能是由于IgG中存在比IgA或IgM更多的多克隆免疫球蛋白。Suehara等^[20]在对120例MM患者进行的回顾性研究中,发现M蛋白为IgA型者,最佳缓解时rHLC异常者生存期更短,而在IgG型者中并无此发现。这与我们的研究结果相符,CR时rHLC异常的4例患者中仅1例IgA型患者死亡,其他仍持续CR中。而Bradwell等^[5]的研究结果显示,初诊时rHLC>200或<0.01为影响MM患者预后的独立危险因素。本研究中2例初诊时rHLC>200的患者尽管达到CR时rHLC及rFLC正常,但在随访中因疾病进展而死亡,较其他获得CR者预后差。

在研究中我们还发现,在PR时,仍有13.7%患者的rFLC和rHLC为正常,这与国外研究不完全相符。Ludwig等^[4]的研究结果显示,PR时所有患者的rHLC均为异常,80.4%的患者rFLC异常。本研究中rHLC正常的5例PR患者均为IgG型,说明rHLC对IgG型患者检测的敏感度相对较低,可能更适用CR或VGPR时的MRD监测,而对于SPE能检出的IgG型M蛋白并不具有优势。

此外rHLC检测对移植后患者亦有意义,Tovar等^[21]对37例移植后获CR的MM患者进行研究,发现rHLC正常者预后较好,这可能是由于MRD阴性,也可能是因为患者移植后形成较好的免疫重建。

本研究为国内首次研究不同缓解阶段患者rHLC及rFLC水平,包含了一定例数的IgA型患者,并对同一患者进行监测随访,发现rHLC未恢复正常或恢复延迟的患者易复发。但本研究的局限在于样本量小,为回顾性研究,而且因随访时间相对较短,死亡患者少,未能发现对于预后的明确提示意义。另外,尽管我国IgD患者比例达到8%~10%,显著高于欧美国家这一类型比例,但目前尚无IgD检测的HLC试剂盒,而且这种方法对轻链型MM评估也不适用,因此只限于检测IgG和IgA型MM。rHLC检测在评估缓解程度、检测MRD方面有一定意义,但其在中国的应用仍需要进一步的临床实践。

参考文献

- [1] Katzel JA, Hari P, Vesole DH. Multiple myeloma: charging toward a bright future [J]. *CA Cancer J Clin*, 2007, 57(5):301-318. DOI: 10.3322/CA.57.5.301.
- [2] Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2006, 20(9):1467-1473. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
- [3] Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, et al. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios [J]. *Clin Chem*, 2009, 55(9):1646-1655. DOI: 10.1373/clinchem.2009.123828.
- [4] Ludwig H, Milosavljevic D, Zojer N, et al. Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients [J]. *Leukemia*, 2013, 27(1):213-219. DOI: 10.1038/leu.2012.197.
- [5] Bradwell A, Harding S, Fourrier N, et al. Prognostic utility of intact immunoglobulin Ig 'κ/Ig' λ ratios in multiple myeloma patients [J]. *Leukemia*, 2013, 27(1): 202-207. DOI: 10.1038/leu.2012.159.
- [6] D'Souza A, Pasquini M, Logan B, et al. Heavy/light chain ratio normalization prior to transplant is of independent prognostic significance in multiple myeloma: a BMT CTN 0102 correlative study [J]. *Br J Haematol*, 2017, 178(5): 816-819. DOI: 10.1111/bjh.14170.
- [7] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会.中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015年修订)[J].*中华内科杂志*, 2015, 54(12):1066-1070. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2015.12.020.
- [8] Katzmam JA, Clark R, Kyle RA, et al. Suppression of uninvolved immunoglobulins defined by heavy/light chain pair suppression is a risk factor for progression of MGUS [J]. *Leukemia*, 2013, 27(1):208-212. DOI: 10.1038/leu.2012.189.
- [9] Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in

- multiple myeloma and related disorders[J]. *Leukemia*, 2009, 23(2): 215-224. DOI: 10.1038/leu.2008.307.
- [10] Dimopoulos MA, Oriol A, Nahi H, et al. Daratumumab, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(14): 1319-1331. DOI: 10.1056/NEJMoa1607751.
- [11] Stewart AK, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al. Carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone for relapsed multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(2): 142-152. DOI: 10.1056/NEJMoa1411321.
- [12] Cavo M, Terpos E, Nanni C, et al. Role of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(4): e206-e217. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30189-4.
- [13] Lahuerta JJ, Paiva B, Vidriales MB, et al. Depth of response in multiple myeloma: a pooled analysis of three PETHEMA/GEM clinical trials[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(25):2900-2910. DOI: 10.1200/JCO.2016.69.2517.
- [14] Keren DF, Schroeder L. Challenges of measuring monoclonal proteins in serum[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016, 54(6):947-961. DOI: 10.1515/cclm-2015-0862.
- [15] Wang H, Gao C, Xu L, et al. Laboratory characterizations on 2007 cases of monoclonal gammopathies in East China[J]. *Cell Mol Immunol*, 2008, 5(4): 293-298. DOI: 10.1038/cmi.2008.36.
- [16] Barley K, Chari A. Diagnostic advances in multiple myeloma[J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2016, 11(2): 111-117. DOI: 10.1007/s11899-016-0314-5.
- [17] 张慧, 周莉莉, 李荣, 等. 免疫球蛋白重/轻链检测在IgG型多发性骨髓瘤患者微小残留病监测中的作用[J]. *中华血液学杂志*, 2015, 36(2): 95-98. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.02.002.
- [18] Batinić J, Perić Z, Šegulja D, et al. Immunoglobulin heavy/light chain analysis enhances the detection of residual disease and monitoring of multiple myeloma patients[J]. *Croat Med J*, 2015, 56(3):263-271.
- [19] Katzmann JA, Willrich MA, Kohlhagen MC, et al. Monitoring IgA multiple myeloma: immunoglobulin heavy/light chain assays[J]. *Clin Chem*, 2015, 61(2): 360-367. DOI: 10.1373/clinchem.2014.231985.
- [20] Suehara Y, Takamatsu H, Fukumoto K, et al. Abnormal heavy/light chain ratio after treatment is associated with shorter survival in patients with IgA myeloma[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(2): 187-192. DOI: 10.1111/cas.13125.
- [21] Tovar N, Fernandez de Larrea C, Elena M, et al. Prognostic impact of serum immunoglobulin heavy/light chain ratio in patients with multiple myeloma in complete remission after autologous stem cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012, 7(18): 1076-1079. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.03.004.

(收稿日期:2017-09-23)

(本文编辑:刘志红)

·读者·作者·编者·

作者投稿须知

1. 按本刊要求写作:登录《中华血液学杂志》网站(<http://www.hematoline.com>),参见首页作者中心栏中的“投稿须知”及“写作指导”栏目。
2. 作者注册:请打开本刊网站首页点击“在线投稿”即进入中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)。在网站首页注册并申请为杂志作者(用户名和密码为您在中华医学会统一的登录信息,请牢记!忘记密码可通过电子信箱索取)。
3. 投稿:注册成功后进入“业务中心”。点击【远程稿件管理系统】,相应的功能即显示在下方。点击“作者投稿”,按要求填写内容,摘要在字数允许范围内尽可能详细,并上传原稿(点击“暂存”稿件进入【我的草稿】模块)。选择《中华血液学杂志》,并点击“投稿”。
4. 邮寄纸稿及介绍信:请在投稿平台上下载论文投送介绍信及授权书,签字盖章后连同原稿打印件(注明稿件编号)一并寄至本刊编辑部。

本刊编辑部