

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2020.02.07

伴有多种 FISH 异常多发性骨髓瘤患者的预后分析

何海燕, 侯楠, 刘进, 卢静, 李璐, 李荣, 姜华, 杜鹃, 傅卫军(海军军医大学附属长征医院血液科 & 全军骨髓瘤与淋巴瘤疾病中心, 上海 200020)

摘要:目的 分析同时伴有 2 种及 2 种以上的荧光原位杂交(FISH)结果异常的多发性骨髓瘤(MM)患者的预后情况, 筛选预后较差的 MM 者。方法 共计纳入 2011 年 7 月至 2017 年 2 月期间 767 例在长征医院就诊的初诊 MM 患者, 所有患者初诊时均进行 FISH 检测, 所检测的 FISH 异常包括 IgH 易位、t(4;14)、t(11;14)、t(14;16)、17p-、1q 扩增、-13/13q-, 分析所有 FISH 异常对预后的影响。结果 多因素 COX 回归分析结果显示 1q 扩增、17p-、t(4;14) 是 MM 患者的独立不良预后因素, 进一步将 1q 扩增、17p-、t(4;14) 3 种预后因素按不同组合将患者分为 7 组, 仅伴有 1q 扩增患者 295 例(38%), 仅伴有 17p- 患者 37 例(4.8%), 仅伴有 t(4;14) 的患者 38 例(4.9%), 同时伴有 1q 扩增和 17p- 的患者 42 例(5.4%), 同时伴有 1q 扩增和 t(4;14) 的患者 77 例(10.0%), 同时伴有 t(4;14) 和 17p- 的患者为 6 例(0.7%), 同时伴有 1q 扩增、t(4;14) 和 17p- 3 种 FISH 异常的患者为 13 例(1.7%)。因最后 2 种情况患者例数较少, 未纳入生存分析。前 5 组 MM 患者的 3 年无进展生存(PFS)率分别为: 32.6%、27.0%、60.4%、27.3%、25.7%, 3 年总生存(OS)率分别为: 63.0%、52.8%、86%、59.0%、55.2%。仅伴有 1q 扩增或仅伴有 17p- 的患者和同时伴有 1q 扩增及 17p- 患者比较, 其 OS 差异无统计学意义($P=0.651$, $P=0.339$)。结论 17p- 和 1q 扩变为 MM 的高危预后因素, 但同时伴有 17p- 和 1q 扩增的患者相较于仅单独伴有 17p- 或 1q 扩增的患者其不良预后风险并不增加。

关键词: 多发性骨髓瘤; 荧光原位杂交; 预后

中图分类号: R446

文献标志码: A

Analysis for prognosis of multiple myeloma patients with multiple FISH abnormalities

HE Haiyan, HOU Nan, LIU Jin, LU Jing, LI Lu, LI Rong, JIANG Hua, DU Juan, FU Weijun (Center for Myeloma and Lymphoma, Department of Hematology, Chang Zheng Hospital, Naval Military Medical University, Shanghai 200020, China)

Abstract: Objective To analyze the prognosis of the multiple myeloma (MM) patients with two or more kinds of abnormal FISH (Fluorescence in Situ Hybridization), and screen the MM patients with poor prognosis. **Methods** A total of 767 newly diagnosed MM patients who were admitted to our hospital from July 2011 to February 2017 were enrolled. All the patients were examined by FISH at the initial diagnosis. The detected probes of FISH were directed to IgH translocation, t(4;14), t(11;14), t(14;16), 17p-, 1q amplification and -13/13q-, and the effects of all the FISH abnormalities on prognosis were analyzed. **Results** Multivariate COX regression analysis showed that 1q amplification, 17p- and t(4;14) were independent factors for poor prognosis in MM patients. The patients were further divided into 7 groups by different combination of the three prognostic factors, i.e., 1q amplification, 17p- and t(4;14). Only 295 (38%) patients accompanied with 1q amplification, 37(4.8%) patients with 17p-, and 38(4.9%) patients with t(4;14). Furthermore, 42 (5.4%) patients accompanied with concomitant 1q amplification and 17p-, 77(10.0%) patients with concomitant 1q amplification and t(4;14), 6(0.7%) patients with concomitant t(4;14) and 17p-, and 13(1.7%) patients with 1q amplification, t(4;14) and 17p- simultaneously. The last two conditions were not included in the survival analysis due to the small number of patients. The 3-year PFS (progression free survival) rates were 32.6%, 27.0%, 60.4%, 27.3%, and 25.7% in the first 5 MM groups, respectively, and the 3-year OS (overall survival) rates were 63.0%, 52.8%, 86%, 59.0% and 55.2%, respectively. There was no significant difference of OS between the patients with only 1q amplification and those with combination of 17p- and 1q amplification, or between the patients with only 17p- and those with combination of 17p- and 1q amplification ($P=0.651$ and $P=0.339$, respectively).

Conclusion Both 17p- and 1q amplification should be the high-risk prognostic factors for MM, but the patients with combination of 17p- and 1q amplification did not increase their risk of poor prognosis compared with the patients with only 17p- or 1q amplification alone.

Key words: multiple myeloma; fluorescence in situ hybridization; prognosis

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是骨髓内浆细胞恶性克隆增殖导致的疾病,其临床表现及预后具有明显的异质性,不同的细胞遗传学改变是导致该病异质性的主要因素。荧光原位杂交(fluo-

rescence in situ hybridization, FISH)技术目前已作为常规检测细胞遗传学改变的技术,应用于 MM 的诊断及预后分层。MM 最常见的 FISH 异常包括 IgH 易位、t(4;14)、t(11;14)、t(14;16)、17p-、1q 扩增、

作者简介:何海燕,1985 年生,女,住院医师,硕士研究生,主要从事多发性骨髓瘤的诊治工作。

通信作者:傅卫军,主任医师, E-mail: fuweijun@smmu.edu.cn。

-13/13q-等^[1]。基于这些细胞遗传学的改变,梅奥医学中心提出梅奥骨髓瘤分层及风险调适治疗(Mayo stratification of myeloma and risk-adapted therapy, mSMART)分层系统^[2]。这一分层系统中,t(4;14)、t(14;16)、t(14;20)、17p-、1q 扩增等 FISH 异常被认为是 MM 的高危预后因素。在最新的 mSMART 3.0 版本中^[3],进一步将同时伴有 2 种和 3 种不良预后因素的骨髓瘤定义为双打击骨髓瘤和三打击骨髓瘤,双打击骨髓瘤和三打击骨髓瘤也属于高危预后不良。本研究通过分析 767 例初诊 MM 患者预后,并对其不良 FISH 异常进行不同组合分组从而分析其预后,以期筛选预后较差的 MM 患者。

1 材料与方法

1.1 研究对象 上海长征医院 2011 年 7 月至 2017 年 2 月收治的 767 例初诊 MM 患者,所有患者均符合 MM 诊断标准,其中男性 463 例,女性 304 例,年龄 32~78 岁,中位年龄 58 岁。767 例中,755 例患者接受以硼替佐米为基础方案的诱导化疗,7 例患者接受以沙利度胺为基础方案的诱导化疗,5 例患者接受传统药物的诱导化疗。本研究为回顾性分析,通过长征医院医学伦理学委员会审批,纳入的患者必须接受过至少 2 个疗程的诱导化疗、初诊时有 FISH 检测结果、有完整的随访资料。所有患者初诊时均签署知情同意书,允许其实验室检查结果及临床资料用于研究分析。

1.2 FISH 检测 研究对象初诊时采集 15~20 mL 骨髓,肝素钠抗凝,密度梯度离心法分离单个核细胞,磁性活化细胞分选法(MACS)分选纯化浆细胞。用 MACS 缓冲液制备细胞悬液,加入缓冲液及磁珠混匀,4 ℃ 温育 15 min 以上;过柱分离 CD138 阳性细胞,将纯化的浆细胞低渗处理后收获细胞,-20 ℃ 冻存。探针购自英国 CytoCELL 公司。严格按照试剂说明书检测 FISH 异常,包括 IgH 易位、t(4;14)、t(11;14)、t(14;16)、17p-、1q 扩增、-13/13q-。ThermoBrite 原位杂交仪购自美国自然基因公司。用 Olympus BX51 荧光显微镜在 DAPI/FITC/RED 三色滤光镜激发下观察,用 FISH 分析软件(美国 VideoTest 公司)分析图像,17p-、-13/13q-、1q 扩增的阈值设定为 20%,IgH 易位、t(4;14)、t(11;14)、t(14;16)的阈值设定为 10%,阈值判定标准参照欧洲骨髓瘤工作组标准^[4]。

1.3 随访 随访时间截至 2018 年 9 月,随访时间为 1.2~87.5 个月,中位随访时间为 30.1 个月,观察

无进展生存(PFS)时间和总生存(OS)时间。PFS 时间定义为从诊断至疾病进展、疾病复发或者患者死亡的时间;OS 定义为从诊断至患者死亡的时间,末次随访仍无以上事件发生则计算至末次随访日。患者中位 PFS 时间 29.6 个月,中位 OS 时间 46.8 个月。

1.4 统计学分析 用 SPSS 21.0 统计软件进行。生存分析用 Kaplan-Meier 法,多因素分析用 Cox 回归模型,率的比较用卡方检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 FISH 异常的检出率 767 例 MM 患者中,细胞遗传学异常的检出率为 76.9%(590/767)。其中,IgH 易位、t(11;14)、t(4;14)、t(14;16)、-13/13q-、17p-、1q 扩增的检出率分别为 70.2%(539/767)、15.6%(120/767)、17.4%(134/767)、1.5%(12/767)、41.5%(319/767)、12.7%(98/767)、55.6%(427/767)。

1q 扩增阳性患者中 t(4;14) 的阳性率为 21.0%,而 1q 扩增阴性患者中 t(4;14) 阳性率为 12.9%,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 17p-、-13/13q-、t(11;14) 阳性等 FISH 异常在 1q 扩增阳性组和 1q 扩增阴性组的表达率差异无统计学意义($P > 0.05$)。t(14;16) 因患者例数较少未纳入分析。见表 1。

表 1 1q 扩增和各种 FISH 异常的相关性

FISH 异常	1q 扩增阳性 [n(%)]	1q 扩增阴性 [n(%)]	P
17p-阳性	55(12.8)	43(12.6)	0.932
-13/13q-阳性	206(48.2)	113(33.2)	0.875
t(11;14)阳性	58(13.5)	62(18.2)	0.523
t(4;14)阳性	90(21.0)	44(12.9)	<0.01

2.2 各种 FISH 异常的多因素 COX 回归分析 将 17p-、-13/13q-、1q 扩增、t(11;14)、t(4;14)、t(14;16) FISH 异常进行 COX 回归分析,结果显示 17p-、1q 扩增、t(4;14) 为 MM 的独立预后因素。见表 2。

表 2 各种 FISH 异常的多因素 COX 回归分析

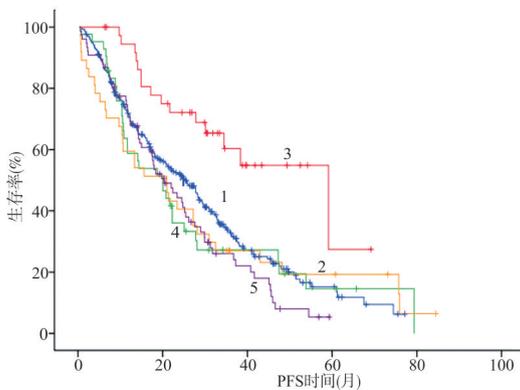
FISH 异常	B	SE	Wald χ^2	df	P	Exp(B) 的 95.0%CI	
						下限	上限
17p-	0.480	0.157	9.329	1	0.002	1.616	1.188 2.200
-13/13q-	0.107	0.124	0.737	1	0.391	1.113	0.872 1.420
1q 扩增	0.410	0.125	10.832	1	0.001	1.507	1.181 1.924
t(4;14)	0.358	0.166	4.671	1	0.031	1.431	1.034 1.980
t(11;14)	0.293	0.155	3.602	1	0.058	1.341	0.990 1.816
t(14;16)	-0.020	0.458	0.002	1	0.966	0.980	0.400 2.404

2.3 1q 扩增、17p-、t(4;14) 不同组合分组的预后

分析 以 17p-、1q 扩增、t(4;14) 3 个独立预后因素进行排列组合,将患者分为 1~7 组,见表 3。因最后 2 种情况患者例数较少,未纳入生存分析,前 5 种情况 MM 患者的 3 年 PFS 率分别为:32.6%、27.0%、60.4%、27.3%、25.7% (图 1); 3 年 OS 率分别为 63.0%、52.8%、86.0%、27.3%、25.7% (图 2)。

表 3 伴 17p-、1q 扩增、t(4;14) 不同分组 MM 患者的预后

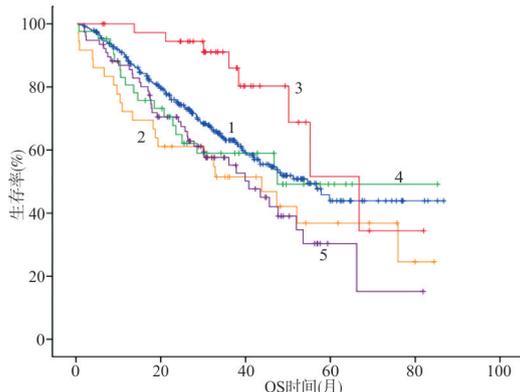
组合	1q 扩增	17p-	t(4;14)	n (%)	3 年 PFS 率 (%)	3 年 OS 率 (%)
1	+	-	-	295 (38)	32.6	63.0
2	-	+	-	37 (4.8)	27.0	52.8
3	-	-	+	38 (4.9)	60.4	86.0
4	+	+	-	42 (5.4)	27.3	59.0
5	+	-	+	77 (10.0)	25.7	55.2
6	-	+	+	6 (0.7)	/	/
7	+	+	+	13 (1.7)	/	/



曲线 1: 1q 扩增阳性、17p- 阴性、t(4;14) 阴性 (295 例)
 曲线 2: 1q 扩增阴性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性 (37 例)
 曲线 3: 1q 扩增阴性、17p- 阴性、t(4;14) 阳性 (38 例)
 曲线 4: 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性 (42 例)
 曲线 5: 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阳性 (77 例)

注: 1~5 组 MM 患者 3 年 PFS 率分别为: 32.6%、27.0%、60.4%、27.3%、25.7%。

图 1 根据不同危险因素组合分组的 MM 患者 PFS 情况



曲线 1: 1q 扩增阳性、17p- 阴性、t(4;14) 阴性 (295 例)
 曲线 2: 1q 扩增阴性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性 (37 例)
 曲线 3: 1q 扩增阳性、17p- 阴性、t(4;14) 阳性 (38 例)
 曲线 4: 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性 (42 例)
 曲线 5: 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阳性 (77 例)

注: 1~5 组 MM 患者 3 年 OS 率分别为 63.0%、52.8%、86.0%、59.0%、55.2%。

图 2 根据不同危险因素组合分组的 MM 患者 OS 情况

2.4 同时伴有 1q 扩增和 17p- 的 MM 预后分析 1q 扩增和/或 17p- 阳性的患者预后较 1q 扩增和 17p- 均为阴性的患者预后差,但进一步分析发现,同时伴有 17p- 和 1q 扩增的患者相较于仅单独伴有 17p- 或 1q 扩增的患者其不良预后风险并不增加。1q 扩增阳性、17p- 阴性、t(4;14) 阴性组和 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性组 2 组比较,其 3 年 OS 率分别为 63.0%、59.0%, 2 组差异无统计学意义 ($P=0.651$)。1q 扩增阴性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性组和 1q 扩增阳性、17p- 阳性、t(4;14) 阴性组 2 组比较,其 3 年 OS 率分别为 52.8% 和 59.0%, 2 组差异无统计学意义 ($P=0.339$)。

3 讨论

MM 细胞遗传学异常是其疾病异质性的主要原因。本研究中通过几种常见的 FISH 探针,其细胞遗传学异常的检出率为 76.9%,与既往报道结果相近^[5]。在几种常见的 FISH 异常中,-13/13q- 过去被认为是 MM 的不良预后因素,但研究发现,-13/13q- 的发生通常伴随 17p- 和 t(4;14) 等不良预后因素^[6],而仅伴有-13/13q- 的患者被纳入标危预后组,这说明同时伴有 2 种或 2 种以上的 FISH 异常患者其预后情况需进一步分层。

1q 扩增被认为是 MM 的不良预后因素^[7-9]。本研究中 1q 扩增的检出率为 55.6%,进一步分析了其他几种 FISH 异常和 1q 扩增的相关性,1q 扩增和 t(4;14) 的表达具有相关性,1q 扩增阳性的患者中 t(4;14) 的阳性率为 21.0%,而在 1q 扩增阴性的患者中 t(4;14) 阳性率为 12.9%。这一结果和既往报道结果一致^[10]。因 t(4;14) 的表达和 1q 相关,故进一步进行的多因素分析中,t(4;14) 仍为 MM 的独立预后因素。在 mSMART 3.0 分型中,t(4;14) 也被纳入高危组。

MM 最常用的预后模型为 ISS 分期,其是基于清蛋白和 β2 微球蛋白 2 个临床指标进行危险分层^[11]。2015 年提出的修订版 ISS 分期 (R-ISS) 整合了细胞遗传学异常和 ISS 分期,ISS 分期为 I、II 期的患者如伴有高危的细胞遗传学异常 17p- 和 t(4;14) 则划分为 III 期^[12]。通过二代测序的方法,最新的 MM 预后分期模型中提出了双打击骨髓瘤的概念^[13],双打击骨髓瘤包括 2 种情况,第 1 种为 ISS 分期为 I / II 期的患者伴有 P53 基因单等位基因或双等位基因的失活,第 2 种情况为 ISS 分期为 III 期的患者,同时伴有 P53 基因双等位基因失活和/或

1q 扩增的患者。双打击骨髓瘤的发生率为 6.1%，是预后最差的一组患者。这一分期模型的提出说明 17p- 和 1q 扩增 2 种细胞遗传学异常在预后分层中是影响预后的重要因素。在最新的 mSMART 3.0 版本中，也将同时伴有 2 种和 3 种高危基因组异常的骨髓瘤定义为双打击骨髓瘤和三打击骨髓瘤，双打击骨髓瘤和三打击骨髓瘤预后更差。本研究通过将高危 FISH 因素分组的方法，分析各组患者的预后情况，伴有 1q 扩增和/或 17p- 阳性的患者预后较 1q 扩增和 17p- 均为阴性的患者预后差，但进一步分析发现，同时伴有 17p- 和 1q 扩增的患者相较于仅伴单独有 17p- 或 1q 扩增的患者其不良预后风险并不增加。这一研究结果和 mSMART3.0 的结果不一致，可能的原因是因为治疗方案的不一，另外 17p- 的阳性阈值设定以及 17p- 是否为双等位基因失活、1q 扩增的具体拷贝数等因素也均影响预后分析的结果。因此，有待设计在统一治疗方案以及实验室标准下的前瞻性临床试验以进一步验证该研究结果。

最新的双打击骨髓瘤模型的提出是基于二代测序，但目前全基因组测序的方法尚未作为临床常规。通过 FISH 检测方法，对不良 FISH 异常进行不同组合分组，筛选预后较差的 MM 者仍具有较重要的临床价值。

4 参考文献

[1] Hastings R, Howell R, Betts D, *et al.* A common European framework for quality assessment for banded chromosome studies and molecular cytogenetic investigations of acquired abnormalities[J]. *Eur Cytogenet Assoc Newsl*, 2013, 31: 7-21.

[2] Vincent Rajkumar S. Multiple myeloma: 2014 update on diagnosis, risk stratification, and management [J]. *Am J Hematol*, 2014, 89 (10): 999-1009.

[3] Mayo Clinic. mSMART risk stratification of newly diagnosed myeloma [EB/OL]. [2019-05-15]. <https://www.msmaart.org/mm-treatment-guidelines>.

[4] Ross FM, Avet-Loiseau H, Ameye G, *et al.* Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and re-

lated disorders[J]. *Haematologica*, 2012, 97(8):1272-1277.

[5] Moreau P, Cavo M, Sonneveld P, *et al.* Combination of international scoring system 3, high lactate dehydrogenase, and t(4;14) and/or del(17p) identifies patients with multiple myeloma (MM) treated with front-line autologous stem-cell transplantation at high risk of early MM progression-related death [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32 (10):2173-2180.

[6] 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.

[7] Shah GL, Landau H, Londono D, *et al.* Gain of chromosome 1q portends worse prognosis in multiple myeloma despite novel agent-based induction regimens and autologous transplantation [J]. *Leuk Lymphoma*, 2017, 58(8):1823-1831.

[8] Kim M, Ju YS, Lee EJ, *et al.* Abnormalities in chromosomes 1q and 13 independently correlate with factors of poor prognosis in multiple myeloma [J]. *Ann Lab Med*, 2016, 36(6): 573-582.

[9] Smetana J, Berankova K, Zaoralova R, *et al.* Gain(1)(q21) is an unfavorable genetic prognostic factor for patients with relapsed multiple myeloma treated with thalidomide but not for those treated with bortezomib [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2013, 13 (2):123-130.

[10] Smol T, Dufour A, Tricot S, *et al.* Combination of t(4;14), del(17p13), del(1p32) and 1q21 gain FISH probes identifies clonal heterogeneity and enhances the detection of adverse cytogenetic profiles in 233 newly diagnosed multiple myeloma [J]. *Mol Cytogenet*, 2017, 10:26.

[11] Dimopoulos MA, Kastritis E, Michalis E, *et al.* The International Scoring System (ISS) for multiple myeloma remains a robust prognostic tool independently of patients' renal function [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(3):722-729.

[12] Avet-Loiseau H, Durie BGM, Cavo M, *et al.* Combining fluorescent in situ hybridization data with ISS staging improves risk assessment in myeloma; an International Myeloma Working Group collaborative project [J]. *Leukemia*, 2013, 27(3): 711-717.

[13] Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, *et al.* A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis [J]. *Leukemia*, 2019, 33(1):159-170.

(收稿日期:2019-06-15)

(本文编辑:王海燕)