

多发性骨髓瘤早期实验诊断相关 新兴生物标志物的最新研究进展

徐海燕, 陆学东 (中山大学附属第八医院医学研究中心, 广东深圳 518000)

摘要: 多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是骨髓中浆细胞恶性增殖并伴有单克隆免疫球蛋白分泌为特点的疾病。传统的 MM 实验诊断的生物标志物有很多种, 但敏感度和特异度较低, MM 的生存及预后仍很差。随着研究的进展, 一些新的生物标志物被证明可预测早期 MM 的疾病进展, 有利于 MM 的早期诊断和后续的靶点治疗。该文就近年来发现的一些潜在的 MM 早期实验诊断相关生物标志物包括骨髓微环境中相关标志蛋白、非编码 RNA、循环肿瘤细胞以及循环肿瘤 DNA 进行综述。

关键词: 多发性骨髓瘤; 生物标志物; 早期诊断

中图分类号: R733.3; R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 05-180-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.039

Recent Research Progress of Novel Biomarkers for Early Experimental Diagnosis of Multiple Myeloma

XU Hai-yan, LU Xue-dong

(Medical Research Central, the Eighth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangdong Shenzhen 518000, China)

Abstract: Multiple myeloma (MM) is characterized by malignant proliferation of plasma cells in bone marrow and secretion of monoclonal immunoglobulin. There are many traditional biomarkers for the experimental diagnosis of MM, but they lack sensitivity and specificity, and the survival and prognosis of MM are still poor. With the development of research, some novel biomarkers have been proved to be able to predict the progression of early MM, which is conducive to the early diagnosis and subsequent target therapy of MM. This article reviews some potential biomarkers for early experimental diagnosis of MM, including related marker proteins in bone marrow microenvironment, non coding RNA, circulating tumor cells and circulating tumor DNA.

Keywords: multiple myeloma; biomarker; early diagnosis

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 是骨髓中浆细胞恶性增殖并伴有单克隆免疫球蛋白分泌为特点的疾病, 其发病率占所有血液系统恶性肿瘤的10%^[1], 严重危害人群健康。虽然传统的实验诊断相关生物标志物很多, 但敏感度和特异度较低, 很难对 MM 进行早期诊断和早期干预, 即使 MM 治疗方法不断革新, 但 MM 的生存及预后仍不理想。随着研究的进展, 一些新的生物标志物被证明可预测早期 MM 的疾病进展, 有利于 MM 的早期诊断和后续的靶点治疗。本文就近年来发现的一些潜在的 MM 早期实验诊断相关生物标志物进行综述, 为提高 MM 的临床诊断率提供理论基础。

1 MM 的主要临床表现

MM 的疾病进展包括了两个重要的前期阶段, 即意义不明的单克隆丙种球蛋白病 (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS) 和冒烟型多发性骨髓瘤 (smoldering multiple myeloma, SMM)。

MGUS 进展为 MM 的速度约为每年 1%, SMM 是介于 MGUS 和 MM 之间的恶性临床前阶段, 其进展率约为每年 10%^[2]。MM 恶性浆细胞在骨髓内增殖和聚集, 疾病晚期时也可见于外周血和其他软组织器官中^[3]。恶性浆细胞会过度分泌 κ , λ 轻链, 以及单克隆免疫球蛋白 (monoclonal protein), 即 M 蛋白。该病的临床表现主要由 M 蛋白、游离轻链、恶性浆细胞或恶性浆细胞分泌的细胞因子引起, 最终造成终末性的器官损害, 如高钙血症 (hypercalcemia)、肾功能不全 (renal insufficiency)、贫血 (anemia) 以及骨病 (bone disease), 即典型的 CRAB 征^[4-5]。MM 的诊断标准就是根据轻链、M 蛋白的水平、骨髓中克隆浆细胞的浸润以及新确认的生物标志物和 CRAB 特性而制订的。用于 MM 的实验诊断的传统生物标志物虽有很多种, 但 MM 的生存率仍然很低, 因此, 需要鉴定一些更敏感的生物标志物来提高 MM 的早期诊断率。

作者简介: 徐海燕 (1993-), 女, 硕士, 初级医师, 研究方向: 多发性骨髓瘤病理机制研究, E-mail: haiyanxu1206@126.com。

通讯作者: 陆学东 (1961-), 男, 研究员, 研究方向: 医学分子微生物学和免疫学研究, E-mail: luxuedong2004@163.com。

2 骨髓微环境中的标志蛋白

2.1 骨髓间充质干细胞相关蛋白 骨髓微环境中骨髓间充质干细胞 (bone marrow stromal stem cells, BMSCs) 在 MM 进程中起着重要作用, 研究显示, 当骨髓瘤细胞与 BMSCs 或骨祖细胞共培养时, 吻素受体 (KISSIR) 的表达在这些细胞中均上调^[6], 进而抑制成骨分化。从 MM 患者骨髓液中分离得到的 BMSCs 进行体外培养, 观察到 BMSCs 分泌的白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、生长分化因子 15 和转化生长因子- β 等骨髓恶性浆细胞增殖有关因子水平升高, 而且还观察到 MM 患者的 BMSCs 中分泌型蛋白 dickkopf-1, IL-3 和 IL-7 等抑制成骨分化相关的因子表达水平比健康对照组高^[7]。此外, 有研究表明, 与健康对照组相比, MM 患者 BMSCs 中产生的基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinases 1, MMP-1), MMP-2 和趋化因子 CXCL13 等的表达显著增加, 促进骨髓瘤细胞的侵袭和转移^[8-9]。BMSCs 中这些差异表达的因子促进了 MM 及其骨病的进展, 这些新的生物标志物有可能用作早期敏感的 MM 或骨髓瘤骨病的实验诊断指标及治疗靶点。

2.2 骨髓细胞外基质蛋白 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 由胶原、纤维蛋白原、蛋白多糖和其他参与细胞黏附、迁移和分化的蛋白质组成。骨髓 ECM 与细胞间的相互作用在骨髓瘤细胞归巢和增殖分化中起重要作用。有研究观察到, MGUS 及 MM 患者骨髓 ECM 中双糖链蛋白多糖 Biglycan, 纤溶酶原激活物抑制因子 1、骨膜素表达水平增多, 纤连蛋白 fibulin-2, 蛋白赖氨酸 6-氧化酶及几丁质酶 3 样蛋白 1 表达减少, 这些差异性表达的 ECM 蛋白可促进 MM 恶性浆细胞的黏附、侵袭、迁移及增殖^[10]。骨髓成纤维细胞表面血小板源性生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR- β) 也参与肿瘤细胞迁移, 有研究报道, PDGFR- β 在 MGUS 患者的骨髓成纤维细胞上表达上调, 并且在 MM 患者的相应细胞中表达水平进一步升高, 而在正常者中 PDGFR- β 的表达量极低, 因此, PDGFR- β 可能作为 MM 病程逐渐进展的标志蛋白。Versican 是一种 ECM 硫酸软骨素蛋白聚糖, 与多种癌症的发病机理有关, 研究显示, MM 患者骨髓及血清中 Versican 表达水平均明显升高, 其水平与血清 β_2 -微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 -MG) 和 M 带呈正相关, 而且血清中 Versican 的 ROC 曲线分析显示其具有较高的敏感度和特异度, 表明 Versican 也可能被用作 MM 潜在的实验诊断标志物^[11]。

2.3 血管生成相关蛋白 肿瘤的生长都需要有效的

血液供应, 血管生成是 MM 进展的一个持续特征。研究表明, 从 MGUS, SMM 到新诊断的 MM 和复发性 MM, 骨髓血管生成程度逐渐增加, 而且, 骨髓微血管密度增加是 MM 患者重要的诊断/预后因素^[12]。研究显示, 骨髓恶性浆细胞和内皮细胞分泌的血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子和肝细胞生长因子等促血管生成因子水平增多, VEGF 的表达量与 MM 病情的严重程度相关^[13]。微血管内皮细胞和骨髓基质细胞会响应 VEGF 刺激而分泌 IL-6, IL-6 是骨髓瘤细胞的有效生长因子, 反过来又促进骨髓瘤细胞分泌 VEGF^[14]。此外, 血管生成素-2 (angiopoietin-2, Ang-2) 可通过增强 VEGF 的作用来促进肿瘤血管生成, Ang-1 与之作用相反。有研究表明, 与健康人比, 新诊断或复发/难治性 MM 患者血清 Ang-1/Ang-2 比值下降^[15]。另外, MM 患者的血清 Ang-2 水平随着疾病严重程度的增加而增加, 而且 Ang-2 水平与血清 β_2 -MG 水平及骨受累程度呈正相关, Ang-2 和 VEGF 检测的敏感度和特异度也较高, 表明 Ang-2, VEGF 可与 β_2 -MG 一起作为 MM 诊断或预后的潜在标志物^[16]。

3 非编码 RNA

非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 包括微小 RNA (microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 和环状 RNA (circular RNA, circRNA), 这些 ncRNA 在 MM 疾病进程中均起着重要作用。MM 患者外周血清的基因阵列分析发现三种表达差异较大的 miRNA (miR-720, miR-1308 和 miR-1246), 这三种 miRNA 对于区分健康对照、MGUS 及 MM 患者的敏感度和特异度较高^[17]。一些 miRNA 还与许多常见的 MM 实验室生物标志物显著相关。血清 miR-214 和 miR-135b 的表达水平可反映出骨病变的严重程度, 能够区分有或无伴骨病的 MM 患者, 可能成为替代影像学检查来鉴定 MM 相关骨疾病的有力实验诊断指标。而且, 血清 miR-744, miR-130a, let-7d 和 let-7e 水平与 MM 患者的血红蛋白水平、血小板计数呈正相关, 与肌酐、 β_2 -MG 呈负相关, let-7e 的表达还与 M 蛋白水平呈负相关, 这些 miRNA 可能成为 MM 的早期敏感生物标志物^[18-19]。

血清中异常表达的 lncRNA 同样影响着 MM 的发生发展。研究显示, MM 患者血清中 lncRNA MALAT-1, PDIA3P 表达上调, 可抑制肿瘤细胞死亡或凋亡, 促进肿瘤细胞增殖, 而且 PDIA3P 还能增加肿瘤细胞的耐药性^[20-21]。MM 患者血清 lncRNA H19 也上调, 临床病理学分析显示, lncRNA H19 的表达水平可以作为 MM 临床分期的

辅助标志物^[22]。MM的BMSCs中lncRNA MEG3的表达水平降低,能够抑制BMSCs成骨分化,促进MM的骨质破坏^[23]。这些lncRNA表达水平的变化可估计疾病的严重程度,有助于MM的早期诊断。

circRNA在MM中的研究较少,但也有研究表明circRNA在骨髓瘤中的重要作用。研究发现,MM肿瘤细胞中hsa_circ_0007841及hsa_circRNA_101237明显上调,促进了MM的溶骨性病变及肿瘤细胞耐药性^[24-25]。circ0000190在MM骨髓组织和外周血中均表达下降,促进了骨髓瘤细胞增殖^[26]。这些研究暗示了circRNA具有作为MM的新型实验诊断生物标志物和治疗靶标的潜力。

4 循环肿瘤细胞和循环肿瘤DNA

外周血中的循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)或循环肿瘤DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)是特征性的肿瘤生物标记。CTCs是从原发性或转移性肿瘤部位脱落进入到循环中的细胞,因此,它可准确反映疾病状况^[27]。通过多参数流式细胞仪,可检测到从MM患者骨髓进入到外周血的克隆性循环浆细胞,即骨髓瘤CTCs。研究表明,在新诊断的MM患者中,400个以上骨髓瘤CTCs的存在与较高的肿瘤增殖、不良的细胞遗传学、较低的总体生存率及较高的复发率相关^[28]。另一项研究表明,超过100个骨髓瘤CTCs预示活动性MM复发患者的生存率较差^[29]。此外,SMM患者中高水平的CTCs与其2~3年发展为MM的风险增高相关^[30]。研究还显示,MM患者CTCs携带的突变比例与骨髓克隆浆细胞的突变基本一致,外周血也许能用来确定MM患者在疾病表现和进展过程中的突变情况^[31]。这些数据表明CTCs的实验室检测有助于MM的早期诊断,并预测MM患者的疾病状态和生存率。

ctDNA是由肿瘤细胞的DNA片段释放入循环系统的胞外DNA,全面反映了肿瘤细胞的遗传复杂性和异质性^[32]。研究显示,MM患者ctDNA和骨髓样本的突变基因是一致的,ctDNA对骨髓克隆突变和亚克隆突变的敏感度较高,分别为100%和96%^[33]。研究还发现,高水平的ctDNA与早期疾病复发相关,患者总体生存率明显较差,且ctDNA中TP53突变比例比骨髓高,可能有助于MM的早期诊断和预后^[34]。与其他蛋白质标志物相比,ctDNA的半衰期不到3h,这表明它可以反映MM患者的实时肿瘤负担,也可以在常规蛋白质生物标志物和成像技术之前检测到肿瘤动力学的变化,比CTCs和蛋白生物标志物更敏感和特异^[32]。

5 展望

MM的病理过程复杂,其早期实验诊断较困难,

通过全面研究骨髓微环境中基因和蛋白质表达、外周血中ncRNAs,CTCs以及ctDNA等潜在生物标志物的动态变化,对在早期阶段识别和治疗MM患者具有重要意义。此外,外周血中ncRNAs的检测,以及在血液活检中对CTCs和ctDNA的检测,可以帮助临床医生在不进行侵入性骨髓检查的情况下评估疾病状态并早期诊断MM。这些新兴的生物标志物已展现出对MM的诊断和预后潜力,但是上述生物标志物的标准化,仍需要不断地进行试验和验证之后,才能在未来的MM临床检验中得到应用。

参考文献:

- [1] 霍豆,秦爽,吴永昌,等.血清总轻链与游离轻链定量检测在多发性骨髓瘤诊断中的临床价值探讨[J].现代检验医学杂志,2020,35(4):87-88,157.
HUO Dou, QIN Shuang, WU Yongchang, et al. Clinical value of quantitative detection of sTLC and sFLC in diagnosis of multiple myeloma [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020,35(4): 87-88,157.
- [2] ORMOND F A, CARNEIRO B C, PASTORE D, et al. Whole-Body imaging of multiple myeloma: diagnostic criteria[J]. Radiographics, 2019, 39(4): 1077-1097.
- [3] 田鸿来. 莜术醇对人多发性骨髓瘤细胞增殖抑制及促凋亡作用的研究[D]. 济南: 山东大学, 2018.
TIAN Honglai. The study of curcumin on proliferation and apoptosis of multiple myeloma cells[D]. Jinan: Shandong University, 2018.
- [4] 李玉玮. 多发性骨髓瘤伴肾损害患者的临床特点及危险因素分析[D]. 苏州: 苏州大学, 2019.
LI Yuwei. Clinical features and risk factors of multiple myeloma patients with renal impairment[D]. Suzhou: Soochow University, 2019.
- [5] NAKAYA A, FUJITA S, SATAKE A, et al. Impact of CRAB symptoms in survival of patients with symptomatic myeloma in novel agent era[J]. Hematology Reports, 2017, 9(1): 6887.
- [6] DOTTERWEICH J, TOWER R J, BRANDL A, et al. The KISS1 receptor as an in vivo microenvironment imaging biomarker of multiple myeloma bone disease[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155087.
- [7] XU Song, DE VEIRMAN K, DE BECKER A, et al. Mesenchymal stem cells in multiple myeloma: a therapeutic tool or target[J]. Leukemia, 2018, 32(7): 1500-1514.
- [8] ZHANG Guihua, MIAO Fa'an, XU Jing, et al. Mesenchymal stem cells from bone marrow regulate invasion and drug resistance of multiple myeloma cells by secreting chemokine CXCL13[J]. Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 2020, 20(2): 209-217.
- [9] URBANIAK-KUJDA D, KAPELKO-SLOWIK K, PRAJS I, et al. Increased expression of metalloproteinase-2 and -9 (MMP-2, MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 (TIMP-1, TIMP-2), and EMMRIN (CD147) in multiple myeloma[J]. Hematology (Amsterdam, Netherlands), 2016, 21(1):

- 26-33.
- [10] SLANYA, HAUDEK-PRINZ V, MESHCHERYAKOVA A, et al. Extracellular matrix remodeling by bone marrow fibroblast-like cells correlates with disease progression in multiple myeloma[J]. *Journal of Proteome Research*, 2014, 13(2): 844-854.
- [11] GUPTA N, KHAN R, KUMAR R, et al. Versican and its associated molecules: potential diagnostic markers for multiple myeloma[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2015, 442(1): 119-124.
- [12] PALTA A, KAUR M, TAHLAN A, et al. Evaluation of angiogenesis in multiple myeloma by VEGF immunoexpression and microvessel density[J]. *Journal of Laboratory Physicians*, 2020, 12(1): 38-43.
- [13] RIBATTI D, VACCA A. New insights in anti-angiogenesis in multiple myeloma[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(7): 2031.
- [14] HARMER D, FALANK C, REAGAN M R. Interleukin-6 interweaves the bone marrow microenvironment, bone loss, and multiple myeloma[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9(1): 788.
- [15] TERPOS E, MATSARIDIS D, KOUTOULIDIS V, et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging parameters correlate with advanced revised-ISS and angiopoietin-1/angiopoietin-2 ratio in patients with multiple myeloma[J]. *Annals of Hematology*, 2017, 96(10): 1707-1714.
- [16] JOSHI S, KHAN R, SHARMA M, et al. Angiopoietin-2: a potential novel diagnostic marker in multiple myeloma[J]. *Clinical Biochemistry*, 2011, 44(8/9): 590-595.
- [17] JONES C I, ZABOLOTSKAYA M V, KING A J, et al. Identification of circulating microRNAs as diagnostic biomarkers for use in multiple myeloma[J]. *British Journal of Cancer*, 2012, 107(12): 1987-1996.
- [18] KUBICZKOVA L, KRYUKOV F, SLABY O, et al. Circulating serum microRNAs as novel diagnostic and prognostic biomarkers for multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance[J]. *Haematologica*, 2014, 99(3): 511-518.
- [19] ZHU Bingying, JU Shaoqing, CHU Haidan, et al. The potential function of microRNAs as biomarkers and therapeutic targets in multiple myeloma[J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(5): 6094-6106.
- [20] RONCHETTI D, AGNELLI L, TAIANA E, et al. Distinct lncRNA transcriptional fingerprints characterize progressive stages of multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 14814-14830.
- [21] YANG Xiangchou, YE Haihao, HE Muqing, et al. LncRNA PDIA3P interacts with c-Myc to regulate cell proliferation via induction of pentose phosphate pathway in multiple myeloma[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 498(1): 207-213.
- [22] PAN Yafang, CHEN Hongmei, SHEN Xianjuan, et al. Serum level of long noncoding RNA H19 as a diagnostic biomarker of multiple myeloma[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2018, 480: 199-205.
- [23] ZHUANG Wenzhuo, GE Xueping, YANG Sijun, et al. Upregulation of lncRNA MEG3 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients by targeting BMP4 transcription[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(6): 1985-1997.
- [24] GAO Meng, LI Chengyuan, XIAO Han, et al. hsa_circ_0007841: A novel potential biomarker and drug resistance for multiple myeloma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 1261.
- [25] LIU Xiao, TANG Hao, LIU Jing, et al. hsa_circRNA_101237: A novel diagnostic and prognostic biomarker and potential therapeutic target for multiple myeloma[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12(1): 2109-2118.
- [26] FENG Yashu, ZHANG Ling, WU Jieying, et al. CircRNA circ_0000190 inhibits the progression of multiple myeloma through modulating miR-767-5p/MAPK4 pathway[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 2019, 38(1): 54.
- [27] CASTRO-GINER F, ACETO N. Tracking cancer progression: from circulating tumor cells to metastasis[J]. *Genome Medicine*, 2020, 12(1): 31.
- [28] GONSALVES W I, RAJKUMAR S V, GUPTA V, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in newly diagnosed multiple myeloma: implications for redefining high-risk myeloma[J]. *Leukemia*, 2014, 28(10): 2060-2065.
- [29] GONSALVES W I, MORICE W G, RAJKUMAR V, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma[J]. *British Journal of Haematology*, 2014, 167(4): 500-505.
- [30] BIANCHI G, KYLE R A, LARSON D R, et al. High levels of peripheral blood circulating plasma cells as a specific risk factor for progression of smoldering multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2013, 27(3): 680-685.
- [31] GARCÉS J J, BRETONES G, BURGOS L, et al. Circulating tumor cells for comprehensive and multiregional non-invasive genetic characterization of multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 3007-3018.
- [32] PESSOA L S, HERINGER M, FERRER V P. ctDNA as a cancer biomarker: a broad overview[J]. *Critical Reviews in Oncology Hematology*, 2020, 155(1): 103109.
- [33] BUSTOROS M, MOUHIEDDINE T H, DETAPPE A, et al. Established and novel prognostic biomarkers in multiple myeloma[J]. *American Society of Clinical Oncology Educational Book / ASCO. American Society of Clinical Oncology Meeting*, 2017, 37(1): 548-560.
- [34] MITHRAPRABHU S, MORLEY R, KHONG T, et al. Monitoring tumour burden and therapeutic response through analysis of circulating tumour DNA and extracellular RNA in multiple myeloma patients[J]. *Leukemia*, 2019, 33(8): 2022-2033.

收稿日期: 2021-01-28

修回日期: 2021-03-12