

FISH技术在多发性骨髓瘤中的优势与不足

赵子澜¹, 罗伟^{2*}

¹青海大学研究生院, 青海 西宁

²青海大学附属医院血液科, 青海 西宁

收稿日期: 2022年10月7日; 录用日期: 2022年11月3日; 发布日期: 2022年11月10日

摘要

多发性骨髓瘤是血液疾病中较为常见的恶性肿瘤, 随着时间的发展, 我们愈发发现遗传学技术对此疾病的影响。荧光原位杂交(FISH)是一种基因检测技术, 目前已应用在了多发性骨髓瘤的检测中, 并且体现出其自身的优势, 但它本身也有一些不足之处。本文就FISH技术在多发性骨髓瘤中的优势与不足进行综述。

关键词

多发性骨髓瘤, 荧光原位杂交技术

Advantages and Shortcomings of FISH Technology in Multiple Myeloma

Zilan Zhao¹, Wei Luo^{2*}

¹Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

²Department of Hematology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Oct. 7th, 2022; accepted: Nov. 3rd, 2022; published: Nov. 10th, 2022

Abstract

Multiple myeloma is one of the most common hematologic malignancies. With the development of time, we are increasingly discovering the impact of genetic techniques on this disease. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) is a genetic detection technology, which has been applied in the detection of multiple myeloma, and shows its own advantages, but it also has some shortcomings. This article reviews the advantages and disadvantages of FISH in multiple myeloma.

*通讯作者。

Keywords

Multiple Myeloma, Fluorescence *in Situ* Hybridization Technique

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

多发性骨髓瘤是一种浆细胞恶性增生疾病, 为血液恶性肿瘤中的第二大常见病, 多发于老年人, 且目前仍无法根治。随着技术的不断更新, 我们发现细胞遗传学在多发性骨髓瘤的危险分层中发挥重要作用, 同时跟疾病的临床症状、预后均有密切联系[1], 遗传学技术大大推动了多发性骨髓瘤遗传与基因的研究, 让我们对此疾病有了更加深刻的认识。本文对 FISH 技术在多发性骨髓瘤中的优势及不足作一综述。

2. 遗传学对 MM 的影响

MM 发病机制较为复杂, 主要表现为遗传的不稳定性[2]。目前已有多项研究发现, 几乎所有的 MM 患者都存在各种染色体的畸变[3], 且染色体异常往往与治疗效果及生存期有明显的关联[4]。高危患者的生存期很短, 即使对其进行各种治疗, 包括移植造血干细胞, 预后也不容乐观[5]。肿瘤细胞的遗传异质性较高同时造成疾病的自然病程异质性明显, 差异性很大[6], 不同患者的预后也各不相同。这使得多发性骨髓瘤的临床治疗面临各种困难, 虽然治疗手段的发展很迅速, 但仍旧无法彻底治愈。

3. FISH 的优势

由于浆细胞本身的细胞生物学特性导致我们很难获得足量的分裂中期的细胞, 且 MM 细胞的体外有丝分裂指数低, 骨髓浸润程度有差异, 骨髓样本中恶性浆细胞的比例偏低, 外周血的稀释会干扰结果, 使常规染色体的检查手段受到细胞增殖的影响比较大, 检出率低, 大约为 25% [7], 所以传统染色体的分析经常受到各种阻碍与限制。用传统检测手段检测出的异常核型, 只在 30%~45% 的新生病例中被报告过, 在既往治疗和复发的[8]患者中有 35%~60% 的报导。相较而言, 荧光原位杂交(FISH)技术进行的是小片段的染色体(<4 Mb)异常的检测, 极大增加了细胞遗传学分析的敏感性[9], 因为它在分析大量的间期细胞的同时绕过了中期分裂相, 这填补了常规染色体技术检测的弊端, 同时也提升了染色体的异常检出率, 所以对于 MM 这种中期分裂相很难获取、又存在一些很小的染色体畸变片段的疾病更能发挥技术的优点, 成为评价 MM 染色体畸变的一个更优选[10]。与传统细胞遗传学在 MM 中检测到的异常核型的发生率不同, 使用 FISH 技术的研究已经在 80% 以上的[11] [12]患者中发现了骨髓恶性浆细胞的染色体变化, 说明大多数 MM 患者的确存在各种染色体畸变, 证实 FISH 非常适合作为 MM 的诊断试验。将 FISH 作为 MM 患者的常规诊断方法, 可以更精准的评估预后和指导临床治疗。

4. FISH 的不足

随着技术的革新和发展, 越来越多的实验及研究表明, FISH 没办法检测未知的染色体缺失、扩增以及易位。此外, 在常规临床实践中, FISH 技术的使用与实验室的经验及能力相关联: 一些实验室没有进行所需的纯化或双染色, 有异质性的存在, 而且与 R-ISS 数据一样, 检测限和阳性阈值在不同机构之间有所不同。同时由于探针的选择不同, 目前 FISH 只能检测出 MM 常见的 5 种染色体异常, 存在着局限

性, 更多的异常染色体无法被检测出, 这需要联合常规细胞遗传学对MM染色体进行全面分析, 两者联合可互相弥补不足。而当MM患者的异常浆细胞在骨髓内比例小于20%的时候, 此时因存在着正常细胞的信号的干扰, 若直接去应用FISH技术检测, 非常容易得出假阴性的结果。但对浆细胞进行分选或富集后, 可提高异常染色体的检出率。

4.1. FISH 联合常规细胞学检测

既往的常规性细胞遗传学检测常常受限于各种条件。虽然FISH检测的敏感度要高于传统的细胞遗传学检测, 但有研究认为FISH检测的13q染色体缺失并无独立的预后价值, MM的预后差主要还是因为与其他的预后差的染色体异常相关, 例如17p缺失[13], 但常规细胞遗传学检测到的MM的del(13q)仍有其重要的预后意义[14]。这提示在对MM预后因素的评估中, FISH仍不能完全取代后者, 两者仍应结合使用, 进行综合判断。

4.2. 免疫组织化学(IHC)联合 FISH 技术

因为MM的FISH分子遗传学与免疫并无相关性, 且FISH难以应用于细胞含量较少的标本, 也无法剔除非肿瘤细胞对结果的影响, 联合免疫组织化学(IHC)进行的检测, 尤其是免疫表型结合间期原位杂交法(FICTION), 能够在同一个显微镜的视野下对正常细胞与骨髓异常浆细胞做区分, 并能很好的分析骨髓异常浆细胞基因缺失、扩增和抗原表达水平之间的关联[15], 能更好的研究恶性肿瘤的发病机制及其生物学特征, 更深入的了解MM并指导预后。

4.3. CD-138 免疫磁珠分选结合间期 FISH 技术(MACS-FISH)

国际骨髓瘤工作组[16]一直都推荐先进行浆细胞富集或分选, 再进行FISH的检测以提高检出率。在梅建刚[17]、安刚[18]的研究中发现, C-FISH所测定的全体有核细胞, 并不能真正反映基因异常的克隆程度。在进行MACS-FISH分选后再次使用中间期FISH测定时, 可明显提高MM细胞的阳性细胞比率和异常基因的检出率。并减少了由于人骨髓浆细胞比率太低所引起的假阴性结果, 因此特别适合于人骨髓浆细胞比率低于百分之二十的病例。

5. 小结与展望

因不同国家、地区、人种等也会造成疾病的差异(染色体异常的不同), 导致我国检测用FISH检测出的基因阳性率与一些研究的数据有所差异, 也导致治疗手段的不同。因此, 我们可以用一些特定探针来诊断和指导我国的MM预后; 在李玉滨的研究中[18]发现, 采用不同的FISH阳性阈值, 结果会有显著的差异, 因此我们也需要划分属于我们自己的血液阈值, 用于我们的规范化诊断; 同时我们可以更细致的应用于MM的相关不良预后因素, 有研究表明, FISH在MM肾损害中可作为划分肾脏病理类型的检测手段[19]。但目前因样本量小, 且暂无其他文献及数据支持, 需要进一步的相关临床研究评估此结果的可信度; 现有新的研究证明, 具有下一代测序测试的Seq-FISH可以被设计为同时检测临床FISH检测到的拷贝数异常和易位, 以及无法检测到的基因突变[20], 但因为纳入患者的符合程度, 可能会引入选择的偏差。而且在不同的现实世界人群中, 虽然一些验证研究显示了类似的结局, 但研究都有地理、大小或治疗的差异, 这限制了它们的普遍性[21]。MM的细胞遗传学技术仍旧需要不断更新和完善。

参考文献

- [1] Rajkumar, S., Dimopoulos, M., Palumbo, A., *et al.* (2014) International Myeloma Working Group Updated Criteria for the Diagnosis of Multiple Myeloma. *The Lancet Oncology*, **15**, e538-e548.

- [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70442-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70442-5)
- [2] Rajkumar, S.V. (2020) Multiple Myeloma: 2020 Update on Diagnosis, Risk-Stratification and Management. *American Journal of Hematology*, **95**, 548-567. <https://doi.org/10.1002/ajh.25791>
- [3] Stella, F., Pedrazzini, E., Agazzoni, M., Ballester, O. and Slavutsky, I. (2015) Cytogenetic Alterations in Multiple Myeloma: Prognostic Significance and the Choice of Frontline Therapy. *Cancer Investigation*, **33**, 496-504. <https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1080833>
- [4] 胡凯, 王晶, 朱明霞, 王艳芳, 克晓燕. 不同预后分层的多发性骨髓瘤患者免疫表型特征分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(6): 1624-1627.
- [5] Mikhael, J., Dingli, D., Roy, V., et al. (2013) Management of Newly Diagnosed Symptomatic Multiple Myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus Guidelines 2013. *Mayo Clinic Proceedings*, **88**, 360-376. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.01.019>
- [6] Greipp, P., San Miguel, J., Durie, B., et al. (2005) International Staging System for Multiple Myeloma. *Journal of Clinical Oncology*, **23**, 3412-3420. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.242>
- [7] Liebisch, P. and Döhner, H. (2006) Cytogenetics and Molecular Cytogenetics in Multiple Myeloma. *European Journal of Cancer*, **42**, 1520-1529. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.12.028>
- [8] Rajkumar, S.V., Fonseca, R., Dewald, G.W., et al. (1999) Cytogenetic Abnormalities Correlate with the Plasma Cell Labeling Index and Extent of Bone Marrow Involvement in Myeloma. *Cancer Genetics*, **113**, 73-77. [https://doi.org/10.1016/S0165-4608\(99\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0165-4608(99)00009-6)
- [9] Chen, L., Li, J., Xu, W., et al. (2007) Molecular Cytogenetic Aberrations in Patients with Multiple Myeloma Studied by Interphase Fluorescence in Situ Hybridization. *Experimental Oncology*, **29**, 116-120.
- [10] 王存邦, 吴静, 杨珂, 苏淼, 张海英, 潘耀柱, 吴涛, 蕙瑞, 白海. 多发性骨髓瘤遗传学异常的回顾性分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(6): 1681-1687.
- [11] Flactif, M., Zandecki, M., Laï, J., et al. (1995) Interphase Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) as a Powerful Tool for the Detection of Aneuploidy in Multiple Myeloma. *Leukemia*, **9**, 2109-2114.
- [12] Avet-Loiseau, H., Attal, M., Campion, L., et al. (2012) 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. *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 1949-1952. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.5726>
- [13] Shaughnessy, J., Jacobson, J., Sawyer, J., et al. (2003) Continuous Absence of Metaphase-Defined Cytogenetic Abnormalities, Especially of Chromosome 13 and Hypodiploidy, Ensures Long-Term Survival in Multiple Myeloma Treated with Total Therapy I: Interpretation in the Context of Global Gene Expression. *Blood*, **101**, 3849-3856. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-09-2873>
- [14] 杨璐璐, 聂玉, 刘欣, 汪健, 王晓秋, 王志华, 郑昌成, 王兴兵, 朱小玉, 朱薇波, 孙自敏, 蔡晓燕, 吴竞生. 免疫组织化学联合荧光原位杂交技术检测多发性骨髓瘤分子细胞遗传学异常[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(8): 3345-3350.
- [15] Terpos, E., Zamagni, E., Lentzsch, S., et al. (2021) Treatment of Multiple Myeloma-Related Bone Disease: Recommendations from the Bone Working Group of the International Myeloma Working Group. *The Lancet Oncology*, **22**, e119-e130. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30559-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30559-3)
- [16] 梅建刚, 李翰卿, 曹红琴, 邵靓婧, 翟勇平. CD138 磁珠分选结合间期荧光原位杂交在浆细胞病遗传学诊断中的应用价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(5): 1437-1442.
- [17] 安刚, 李承文, 李倩, 易树华, 刘旭平, 徐燕, 李增军, 齐军元, 邹德慧, 邱录贵. 免疫磁珠分选对荧光原位杂交检测多发性骨髓瘤细胞遗传学异常的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(1): 54-58.
- [18] 李玉滨. 209 例多发性骨髓瘤患者细胞遗传学异常回顾性分析[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2021.
- [19] 吕佳, 贺扬欣, 王锦程, 孙吉平, 解立怡, 贺鹏程, 陈颖. 多发性骨髓瘤伴肾损害患者肾脏病理及细胞遗传学检查的回顾性分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2020, 28(4): 1272-1277.
- [20] Hagen, P., Zhang, J. and Barton, K. (2020) High-Risk Disease in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: Beyond the R-ISS and IMWG Definitions. *Blood Cancer Journal*, **12**, Article No. 83. <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00679-5>
- [21] Goldsmith, S., Fiala, M., Dukeman, J., et al. (2019) Next Generation Sequencing-Based Validation of the Revised International Staging System for Multiple Myeloma: An Analysis of the MMRF CoMMpass Study. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, **19**, 285-289. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2019.01.003>