Клиническая онкогематология. 2019;12(4):377–84

ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

Экспрессия молекулы адгезии CD56 на опухолевых плазматических клетках в костном мозге как фактор прогноза при множественной миеломе

М.В. Фирсова, Л.П. Менделеева, А.М. Ковригина, М.В. Соловьев, Н.Л. Дейнеко, М.Ю. Дроков, В.Г. Савченко

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,
Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

РЕФЕРАТ

Цель. Изучить иммуногистохимические параметры опухолевых плазматических клеток костного мозга и оценить влияние экспрессии молекулы адгезии CD56 на общую выживаемость (ОВ) больных множественной миеломой (ММ).

Материалы и методы. В исследование включено 35 пациентов (19 мужчин, 16 женщин) в возрасте 23–73 года (медиана 58 лет) с впервые диагностированной ММ. В дебюте заболевания плазмоцитома диагностирована у 21 больного. Всем пациентам выполнена трепанобиопсия костного мозга с последующими гистологическим и иммуногистохимическим (ИГХ) исследованиями. Для ИГХ-исследования использовалась панель антител к CD56, CD166, CXCR4, Ki-67, c-MYC/CD138. Кривые выживаемости построены методом Каплана—Мейера с оценкой статистической значимости с помощью F-теста Кокса.

Результаты. Средние значения экспрессии большинства исследуемых маркеров (CD56, CXCR4, c-MYC, Ki-67) в костном мозге у больных без плазмоцитомы (n = 14) оказались выше по сравнению с пациентами с плазмоцитомой в дебюте ММ. Под средним значением экспрессии подразумевается процентное отношение плазматических клеток, экспрессирующих исследуемый маркер, к общему числу клеток опухолевого субстрата. Вероятно, высокая экспрессия хемокиновых рецепторов (CXCR4) и молекул адгезии (CD56) сдерживает миграцию плазматических клеток и препятствует экстрамедуллярному росту опухоли. При сравнении экспрессии белков опухолевыми плазматическими клетками в костном мозге в группах с костной экстрамедуллярной плазмоцитомой отчетливая закономерность прослеживается в отношении молекулы адгезии CD56. Так, экспрессия CD56 статистически значимо (p < 0,05) ниже по числу экспрессирующих маркер опухолевых плазматических клеток в костном мозге у больных ММ с экстрамедуллярной плазмоцитомой, чем у пациентов с костной плазмоцитомой (1 ± 1 *vs* 65,71 ± 12,12 %). При сопоставлении ОВ больных ММ в зависимости от экс-

Клиническая онкогематология. 2019;12(4):377–84

ONCO clinical HEMATOLOGY

LYMPHOID TUMORS

Expression of Adhesion Molecule CD56 in Tumor Plasma Cells in Bone Marrow as a Prognostic Factor in Multiple Myeloma

MV Firsova, LP Mendeleeva, AM Kovrigina, MV Solov'ev, NL Deineko, MYu Drokov, VG Savchenko

National Research Center for Hematology,
4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

ABSTRACT

Aim. To study immunohistochemical parameters of tumor plasma cells in bone marrow and to assess how the expression of adhesion molecule CD56 impacts overall survival (OS) of multiple myeloma (MM) patients.

Materials & Methods. The trial included 35 patients (19 men and 16 women) aged 23 to 73 years (with median age of 58 years) with newly diagnosed MM. At disease onset plasmacytoma was diagnosed in 21 patients. In all patients bone marrow core biopsy was performed followed by histologic and immunohistochemical (IHC) examinations. IHC examination was based on the panel of CD56, CD166, CXCR4, Ki-67, and c-MYC/CD138 antibodies. Kaplan-Meier survival curves and significance assessment by means of Cox's F-Test were used.

Results. Expression mean values of most of studied markers (CD56, CXCR4, c-MYC, and Ki-67) in bone marrow of patients without plasmacytoma (n = 14) appeared to be higher than in patients with plasmacytoma at MM onset. Expression mean value is understood as percentage ratio of plasma cells expressing a studied marker to total cell count of tumor substrate. High expression of chemokine receptors (CXCR4), and adhesion molecules (CD56) probably inhibits plasma cell migration and impedes extramedullary tumor progression. Comparison of protein expression by tumor plasma cells in bone marrow in the groups with bone extramedullary plasmacytoma shows a distinct regularity referring to CD56 adhesion molecule. For example, CD56 expression is significantly (p < 0.05) lower in terms of the count of tumor plasma cells with marker expression in bone marrow of MM patients with extramedullary plasmacytoma compared with patients with bone plasmacytoma (1 ± 1 % *vs.* 65.71 ± 12.12 %). Comparison of MM patients' OS depending on CD56 expression by tumor plasma cells in bone marrow showed that 4-year OS of patients with CD56 expression in bone marrow was significantly higher being 80 % *vs.* 38 % in the group with CD56 expression less than in 10 % of tumor cells.

прессии CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга показано, что 4-летняя ОВ пациентов с экспрессией CD56 в костном мозге была статистически значимо выше и составила 80 *vs* 38 % в группе с экспрессией CD56 менее чем на 10 % опухолевых клеток.

Заключение. Экспрессия молекулы адгезии CD56 на опухолевых плазматических клетках в костном мозге может служить фактором прогноза при ММ. Вероятно, при обнаружении экспрессии CD56 менее чем на 10 % опухолевых плазматических клеток костного мозга в дебюте болезни необходимо более тщательное дополнительное обследование пациента для исключения экстрамедуллярных очагов поражения в различных органах и тканях.

Ключевые слова: множественная миелома, костная плазмоцитома, экстрамедуллярная плазмоцитома, трепанобиопсия костного мозга, CD56.

Получено: 12 мая 2019 г.
Принято в печать: 2 сентября 2019 г.

Для переписки: Майя Валерьевна Фирсова, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; e-mail: firs-maia@yandex.ru

Для цитирования: Фирсова М.В., Менделеева Л.П., Ковригина А.М. и др. Экспрессия молекулы адгезии CD56 на опухолевых плазматических клетках в костном мозге как фактор прогноза при множественной миеломе. Клиническая онкогематология. 2019;12(4):377–84.

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-4-377-384

Conclusion. Expression of adhesion molecule CD56 in tumor plasma cells in bone marrow can be regarded as a prognostic factor in MM. Probably, when at disease onset CD56 expression is identified in less than 10 % of tumor cells in bone marrow, more detailed additional examination of patients should be carried out to rule out extramedullary lesions in different organs and tissues.

Keywords: multiple myeloma, bone plasmacytoma, extramedullary plasmacytoma, bone marrow core biopsy, CD56.

Received: May 12, 2019
Accepted: September 2, 2019

For correspondence: Maiia Valer'evna Firsova, MD, PhD, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; e-mail: firs-maia@yandex.ru

For citation: Firsova MV, Mendeleeva LP, Kovrigina AM, et al. Expression of Adhesion Molecule CD56 in Tumor Plasma Cells in Bone Marrow as a Prognostic Factor in Multiple Myeloma. Clinical oncohematology. 2019;12(4):377–84 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-4-377-384

ВВЕДЕНИЕ

Микроокружение костного мозга — это сложная динамическая система, которая состоит из клеток стромы и межклеточного матрикса [1, 2]. Стромальные клетки костного мозга участвуют в выработке цитокинов, многообразных колониестимулирующих и ростовых факторов. Накопление этих факторов и передача сигналов к ранним кроветворным клеткам осуществляются в межклеточном матриксе, состоящем из коллагеновых волокон, адгезивных белков (фибронектина, ламинина), протеогликанов. Пролиферация опухолевых плазматических клеток находится в строгой зависимости от микроокружения костного мозга, которое играет ключевую роль в патогенезе множественной миеломы (ММ) [3]. Миеломные клетки реализуют свое взаимодействие с внеклеточным матриксом и стромальными клетками костного мозга посредством молекул адгезии (VLA-4, CD56, CD44).

N-CAM (адгезивная молекула нейрональных клеток), или CD56, — это мембранный гликопротеид из суперсемейства иммуноглобулинов. Молекула вовлечена в процессы клеточной адгезии и миграции. При различных нейроэндокринных опухолях, немелкоклеточном раке легкого обнаруживается высокая экспрессия CD56 опухолевыми клетками. Предполагается участие этой молекулы в процессах инвазии и метастазирования опухоли. Опухолевые клетки при ММ и моноклональной гаммапатии неясного значения (МГНЗ) могут экспрессировать CD56 в отличие от нормальных плазматических клеток. В то же время для плазмоклеточного лейкоза характерно отсутствие экспрессии данной молекулы на опухолевых клетках. В опубликованных работах представлено, что нарушение регуляции CD56 помимо возможного участия в экстрамедуллярном распространении опухолевых плазматических клеток связано с более агрессивным течением ММ [4, 5].

Еще один мембранный белок из суперсемейства иммуноглобулинов, относящийся к классу молекул клеточной адгезии, — CD166 (ALCAM — молекула клеточной адгезии активированных лейкоцитов). Молекула CD166 вовлечена в различные физиологические и патологические процессы, включая участие в клеточной адгезии, миграции, опухолевой прогрессии [6, 7]. Участие данной молекулы клеточной адгезии в патогенезе ММ активно изучается в настоящее время.

Семейство генов *MYC* состоит из 6 генов, активация трех из которых наблюдается при злокачественных опухолях человека (*c-MYC, N-MYC, L-MYC*). Продукт гена *c-MYC* — транскрипционный фактор, участвующий в пролиферации, дифференцировке клеток и процессах апоптоза, играя важную роль в регуляции клеточного цикла. Активация гена *c-MYC* необходима для перехода клетки в S-фазу клеточного цикла. По литературным данным, гиперэкспрессия гена *c-MYC* при ММ и МГНЗ наблюдается у 15–46 % пациентов [8, 9].

Антиген Ki-67 представляет собой ядерный белок, являющийся маркером клеточной пролиферации. Этот маркер присутствует в ядре клетки во всех активных фазах клеточного цикла (G1, S, G2, митозе), но отсутствует в покоящихся клетках (фаза G0) [10–12].

Определение индекса Ki-67 служит прогностическим маркером не только при злокачественных опухолях системы крови, но и при солидных новообразованиях. Пролиферативная активность миеломных клеток, как правило, невысокая. Увеличение индекса Ki-67 является маркером активного клеточного роста и коррелирует с прогрессированием заболевания. У больных ММ с высокой пролиферативной активностью плазматических клеток, как правило, отмечается активный неоангиогенез. В нескольких работах демонстрируется наличие положительной корреляции между экспрессией Ki-67 и такими маркерами ангиогенеза, как фактор роста гепатоцитов (HGF), интерлейкин-18, эндоглин [13–16].

В 1996 г. два ученых независимо друг от друга показали, что рецептором к стромальному фактору роста-1α (SDF-1α) является трансмембранный белок CXCR4, обнаруженный на клетках различных органов и тканей [17, 18]. Роль SDF-1α и его рецептора при ММ активно изучается до настоящего времени. SDF-1α, будучи хемоаттрактантом для CD34-позитивных кроветворных клеток-предшественниц, определяет хоминг этих клеток. SDF-1α усиливает адгезию клеток ММ к фибронектину и молекуле адгезии эндотелия сосудов 1-го типа (VCAM-1), благодаря чему миеломная клетка не покидает пределов костного мозга, причем менее дифференцированные клетки лучше реагируют на хемотаксис [19]. Все свои сигналы SDF-1 опосредует через рецептор CXCR4. Исследования, посвященные роли комплекса CXCR4–SDF-1α в патогенезе ММ, немногочисленные.

Остается неясным вопрос: почему у ряда больных ММ наблюдается экстрамедуллярное вовлечение различных органов и тканей? Под воздействием каких факторов плазматическая клетка теряет связь с микроокружением костного мозга и выходит за его пределы? Среди причин экстрамедуллярных опухолевых плазмоклеточных поражений предполагается подавление экспрессии молекул адгезии (CD56, VLA-4), нарушение регуляции хемокиновых рецепторов (CCR1, CCR2, CXCR4), тетраспанинов (CD81, CD82), увеличение активности гепараназы-1, неоангиогенез [20].

Наличие костных и экстрамедуллярных плазмоцитом отмечается у 3,5–20 % больных в дебюте ММ [20–23]. Ввиду недостаточности данных об особенностях костного мозга у этой категории пациентов представляется интересным оценить экспрессию ряда маркеров в опухолевых клетках костного мозга. Для выявления отличий в строении костного мозга у больных ММ с наличием или отсутствием плазмоцитом в настоящее исследование включены пациенты обеих групп.

Цель работы — изучить иммуногистохимические параметры опухолевых плазматических клеток костного мозга и оценить влияние экспрессии молекулы адгезии CD56 на общую выживаемость (ОВ) больных ММ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 35 пациентов (19 мужчин, 16 женщин) в возрасте 23–73 года (медиана 58 лет) с впервые диагностированной ММ. У 14 пациентов заболевание протекало без внекостномозгового поражения, у 21 больного в дебюте ММ диагностирована костная (n = 14) или экстрамедуллярная (n = 7) плазмоцитома. Диагноз установлен в соответствии с критериями Международной рабочей группы по изучению ММ (IMWG-2014). У всех больных, включенных в настоящее исследование, в миелограмме обнаруживалось более 10 % плазматических клеток, присутствовали признаки симптомокомплекса CRAB (гиперкальциемия, почечная недостаточность, анемия, поражение костей). Помимо стандартного обследования диагностические мероприятия включали иммуногистохимическое (ИГХ) исследование костного мозга с использованием панели антител к CD56, CD166, CXCR4, Ki-67. При ИГХ-исследовании трепанобиоптатов костного мозга, кроме того, одновременно использовали антитела к c-MYC и CD138 методом двойного ИГХ-окрашивания на одном стекле. Просмотр препаратов костного мозга осуществлен с помощью микроскопа LEICA DM4000B. Для определения экспрессии белков просматривали 10 полей зрения при 400-кратном увеличении. Оценку экспрессии маркеров проводили полуколичественным методом. Подсчитывали процентное содержание клеток, экспрессирующих исследуемый белок, по отношению к общему числу клеток опухолевого субстрата. При окрашивании антителами положительным результатом считали следующие значения экспрессии: CD56 ≥ 10 % опухолевых плазматических клеток костного мозга, CD166 ≥ 50 %, CXCR4 ≥ 20 %, c-MYC ≥ 40 %. Пролиферативная активность определялась в процентах на основе экспрессии маркера Ki-67 опухолевыми клетками. Срок наблюдения за первичными больными составил 5–62 мес. (медиана 24 мес.). В табл. 1 представлена клиническая характеристика пациентов.

Как видно из данных табл. 1, медиана возраста больных с плазмоцитомой и без таковой в дебюте ММ была примерно одинаковой (56 и 59 лет). У большинства пациентов отмечена III стадия по классификации Durie—Salmon. По Международной системе стадирования (ISS) III стадия превалировала у больных без плазмоцитом (57 *vs* 19 %).

У 14 больных опухоль в очагах остеодеструкции при костных плазмоцитомах распространялась за пределы разрушенного коркового слоя кости. У 5 из 14 пациентов очаги плазмоцитомы локализовались в телах шейных, грудных, поясничных позвонков и были размером от 36 × 19 × 11 до 76 × 38 × 44 мм. В 4 наблюдениях были поражены ребра с размерами очагов от 40 × 19 × 12 до 64 × 43 × 54 мм. У 3 больных выявлена костная плазмоцитома с локализацией очагов поражения в костях черепа размером от 43 × 32 × 56 до 60 × 29 × 62 мм. В 1 наблюдении отмечалось поражение ключицы (74 × 50 × 14 мм), в другом — плечевой кости (75 × 25 × 28 мм). Эти данные суммированы в табл. 2.

Таблица 1. Характеристика пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой

Показатель	Симптоматическая ММ с плазмоцитомой (*n* = 21)	Симптоматическая ММ без плазмоцитомы (*n* = 14)
Медиана (диапазон) возраста, лет	56 (23–73)	59 (42–72)
Пол (мужской/женский)	10/11	9/5
Плазмоцитома		
Костная	14 (67 %)	—
Экстрамедуллярная	7 (33 %)	
Иммунохимический вариант ММ		
G	11 (52 %)	9 (64 %)
A	5 (24 %)	1 (7 %)
B-J	4 (19 %)	4 (29 %)
Биклон (A+G)	1 (5 %)	—
Стадия по Durie—Salmon		
IIA	8 (38 %)	3 (22 %)
IIB	—	2 (14 %)
IIIA	13 (62 %)	7 (50 %)
IIIB	—	2 (14 %)
Стадия по ISS		
I	8 (38 %)	2 (14 %)
II	9 (43 %)	4 (29 %)
III	4 (19 %)	8 (57 %)
β2-микроглобулин > 3,5 мг/л	9 (43 %)	12 (86 %)
Медиана (диапазон) лактатдегидрогеназы, ед./л	370,5 (167–766)	317,5 (196–967)
Медиана (диапазон) гемоглобина, г/л	121 (86–156)	110 (75–138)

Таблица 2. Локализация костной и экстрамедуллярной плазмоцитом

Костная (*n* = 14)	Экстрамедуллярная (*n* = 7)
Позвонки — 5	Печень — 1
Ребра — 4	Желудок — 1
Череп — 3	Мягкие ткани шеи — 1
Ключица — 1	Молочная железа — 1
Плечевая кость — 1	Кожа — 1
	Забрюшинное пространство — 1
	Мышцы плечевого пояса — 1

Таблица 3. Показатели экспрессии маркеров в костном мозге больных множественной миеломой

Маркер	Больные ММ	Показатели экспрессии, % M	± m	*p*
CD56	с плазмоцитомой (*n* = 21)	44,14	10,50	0,094
	без плазмоцитомы (*n* = 14)	69,79	10,52	
CD166	с плазмоцитомой (*n* = 21)	30,52	6,81	0,784
	без плазмоцитомы (*n* = 14)	27,29	10,06	
CXCR4	с плазмоцитомой (*n* = 21)	24,57	5,82	0,0001
	без плазмоцитомы (*n* = 14)	61,43	5,22	
Ki-67	с плазмоцитомой (*n* = 21)	16,19	2,72	0,004
	без плазмоцитомы (*n* = 14)	34,79	5,14	
c-MYC/CD138	с плазмоцитомой (*n* = 21)	21,67	5,37	0,074
	без плазмоцитомы (*n* = 14)	36,21	5,31	

У 7 больных в период первичной диагностики ММ обнаружены экстрамедуллярные плазмоцитомы в различных органах и тканях, анатомически не связанных с костью (см. табл. 2). Наблюдалось поражение кожи живота (20 × 15 × 3 мм), молочной железы (13 × 10 × 11 мм), мягких тканей шеи (34 × 26 × 25 мм), желудка (49 × 39 × 20 мм), печени (несколько очагов поражения с наиболее крупным из них размером 19 × 21 × 20 мм). У 1 больного плазмоцитома с размерами 71 × 60 × 54 мм локализовалась в толще мышц плечевого пояса, у другого — в забрюшинном пространстве (174 × 94 × 120 мм). Следует отметить, что в 3 наблюдениях первичная биопсия объемного образования в мягких тканях шеи, печени и в забрюшинном пространстве позволила верифицировать плазмоклеточную опухоль, что и послужило поводом для дополнительного обследования с установлением диагноза ММ.

Статистический анализ

Результаты исследования подвергнуты статистической обработке с помощью статистического пакета SPSS 16.0.2. Анализ выживаемости проведен методом Каплана—Мейера с оценкой статистической значимости с помощью F-теста Кокса. Анализ таблиц сопряженности выполнен с применением критерия Фишера—Фримана. Для оценки статистической значимости различий в двух независимых выборках использовали *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Иммуногистохимические параметры опухолевых плазматических клеток костного мозга у больных с впервые диагностированной ММ

Мы провели сравнительный анализ количественных показателей экспрессии маркеров CD56, CD166, CXCR4, Ki-67, c-MYC в (на) клетках опухолевого субстрата костного мозга у больных с плазмоцитомой (*n* = 21) и без нее (*n* = 14) в дебюте ММ (табл. 3).

При анализе полученных результатов обращают на себя внимание более высокие средние значения экспрессии большинства исследуемых маркеров в костном мозге больных без плазмоцитомы по сравнению с пациентами, у которых в дебюте ММ плазмоцитома присутствовала. Так, средние значения экспрессии CXCR4 в опухолевых клетках костного мозга больных без плазмоцитомы были статистически значимо выше (p = 0,0001) и составили 61,43 ± 5,22 *vs* 24,57 ± 5,82 % у пациентов с наличием плазмоцитомы.

Средние значения экспрессии Ki-67 клетками костного мозга больных без плазмоцитомы были статистически значимо выше, чем у пациентов с плазмоцитомой, — 34,79 ± 5,14 *vs* 16,19 ± 2,72 % соответственно (p = 0,004). Близки к статистически значимым (p = 0,074) различия средних значений экспрессии c-MYC/CD138 в клетках костного мозга больных без плазмоцитомы и с плазмоцитомой — 36,21 ± 5,31 *vs* 21,67 ± 5,37 % соответственно. Несмотря на отсутствие статистически значимой разницы, прослеживается тенденция к более высоким показателям экспрессии CD56 опухолевыми плазматическими клетками в костном мозге больных без плазмоцитомы в сравнении с пациентами, у которых присутствовала плазмоцитома в дебюте ММ, — 69,79 ± 10,52 *vs* 44,14 ± 10,5 % соответственно.

Далее мы провели сравнительный анализ средних значений экспрессии исследуемых маркеров в костном мозге больных в зависимости от характера плазмоцитомы (табл. 4).

Как видно из данных табл. 3, статистически значимая разница прослеживается только в отношении маркеров CD56 и c-MYC/CD138. Так, средние значения экспрессии CD56 на опухолевых плазматических клетках костного мозга у больных с костной плазмоцитомой составили 65,71 ± 12,12 *vs* 1,0 ± 1,0 % у больных с экстрамедуллярной плазмоцитомой (p = 0,0001). Средние значения экспрессии c-MYC/CD138 в костном мозге пациентов с костной плазмоцитомой равны 27,86 ± 7,25 *vs* 9,29 ± 4,68 % у пациентов с экстрамедуллярной плазмоцитомой (p = 0,045). Пролиферативная активность опухолевых клеток костного мозга была одинаковой у больных обеих подгрупп.

В качестве иллюстрации на рис. 1 представлена микроскопия препаратов костного мозга больных ММ.

Таблица 4. Показатели экспрессии маркеров опухолевыми плазматическими клетками в костном мозге у больных ММ с плазмоцитомой различной локализации (костной и внекостномозговой)

Маркер	Больные ММ с плазмоцитомой	Показатели экспрессии, %		p
		M	± m	
CD56	костной (n = 14)	65,71	12,12	0,0001
	экстрамедуллярной (n = 7)	1,00	1,00	
CD166	костной (n = 14)	33,64	8,62	0,532
	экстрамедуллярной (n = 7)	24,29	11,51	
CXCR4	костной (n = 14)	26,50	7,58	0,651
	экстрамедуллярной (n = 7)	20,71	9,28	
Ki-67	костной (n = 14)	16,29	3,42	0,962
	экстрамедуллярной (n = 7)	16,00	4,83	
c-MYC/ CD138	костной (n = 14)	27,86	7,25	0,045
	экстрамедуллярной (n = 7)	9,29	4,68	

Таблица 5. Клиническая характеристика первичных больных множественной миеломой с экспрессией CD56 ≥ 10 % (группа CD56+) и < 10 % (группа CD56–) опухолевых плазматических клеток костного мозга

Показатель	Экспрессия CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга		p
	Группа CD56+ (n = 21)	Группа CD56– (n = 14)	
Мужчины	57,1 % (12/21)	50 % (7/14)	0,739
Женщины	42,9 % (9/21)	50 % (7/14)	
Медиана возраста, лет	58,2	53,3	
Без плазмоцитомы	52,4 % (11/21)	21,4 % (3/14)	0,088
С плазмоцитомой	47,6 % (10/21)	78,6 % (11/14)	
Костная плазмоцитома	100 % (10/10)	36,4 % (4/11)	0,004
Экстрамедуллярная плазмоцитома	0 % (0/10)	63,6 % (7/11)	
Лактатдегидрогеназа ≥ 400 ед./л	19,1 % (4/21)	50 % (7/14)	0,072
Лактатдегидрогеназа < 400 ед./л	80,9 % (17/21)	50 % (7/14)	
β2-микроглобулин ≥ 3,5 мг/л	66,6 % (14/21)	50 % (7/14)	0,483
β2-микроглобулин < 3,5 мг/л	33,4 % (7/21)	50 % (7/14)	
Нарушение функции почек	19,1 % (4/21)	0	0,133
Без нарушения функции почек	80,9 % (17/21)	100 % (14/14)	
III стадия по ISS	42,9 % (9/21)	21,4 % (3/14)	0,281
I–II стадия по ISS	57,1 % (12/21)	78,6 % (11/14)	

Особенности клинического течения ММ в зависимости от экспрессии молекулы адгезии CD56 на опухолевых клетках костного мозга первичных больных

Независимо от наличия или отсутствия плазмоцитом в дебюте ММ (n = 35) больные были разделены на две группы. В первую группу включен 21 пациент, в костном мозге которых отмечена экспрессия CD56 более чем на 10 % опухолевых плазматических клеток (группа CD56+); во вторую группу — 14 больных, в костном мозге которых экспрессия CD56 встречалась менее чем на 10 % клеток (группа CD56–). В табл. 5 представлены некоторые клинические параметры с учетом экспрессии CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга.

Как видно из данных табл. 4, высокая активность лактатдегидрогеназы определялась чаще у больных из группы CD56– по сравнению с больными из группы CD56+ (50 *vs* 19,1 %; p = 0,072). У 47,6 % больных из группы CD56+ отмечено наличие плазмоцитомы. В группе CD56– плазмоцитома встречалась чаще — 78,6 % случаев. Интересно отметить, что при наличии экспрессии CD56 более чем на 10 % клеток опухолевого субстрата костного мозга ни в одном наблюдении экстрамедуллярные плазмоцитомы не обнаруживались. При экспрессии CD56 менее чем на 10 % опухолевых плазматических клеток костного мозга экстрамедуллярные плазмоцитомы встречались чаще, чем костные (63,6 *vs* 36,4 %). Больные обеих групп значимо не отличались по таким клиническим характеристикам, как содержание β2-микроглобулина, частота нарушения функции почек, стадия по ISS. Далее были проанализированы результаты лечения больных в зависимости от экспрессии опухолевыми клетками костного мозга молекулы адгезии CD56 (табл. 6).

Как видно из данных табл. 6, больные обеих групп не отличались по степени достижения общего ответа после индукционного этапа лечения (66,7 % в группе CD56+ и 57,1 % в группе CD56–). Резистентность опухоли к первой линии терапии зафиксирована у 33,3 % больных из группы CD56+ и у 57,1 % — из группы CD56–. Количество линий терапии было одинаковым в обеих группах. Ко времени анализа 95,2 % (20/21) пациентов из группы CD56+ оставались под наблюдением, 1 больная умерла по причине прогрессирования заболевания. В группе CD56– только 42,9 % (6/14) больных оставались под наблюдением на момент проведения анализа, 57,1 % (8/14) пациентов умерли в результате прогрессирования ММ, причем 7 из 8 летальных исходов отмечены у больных с наличием экстрамедуллярной плазмоцитомы.

Мы сопоставили ОВ больных ММ в зависимости от экспрессии CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга. В анализ ОВ включены 21 пациент с экспрессией CD56 более чем на 10 % опухолевых клеток и 14 пациентов, в костном мозге

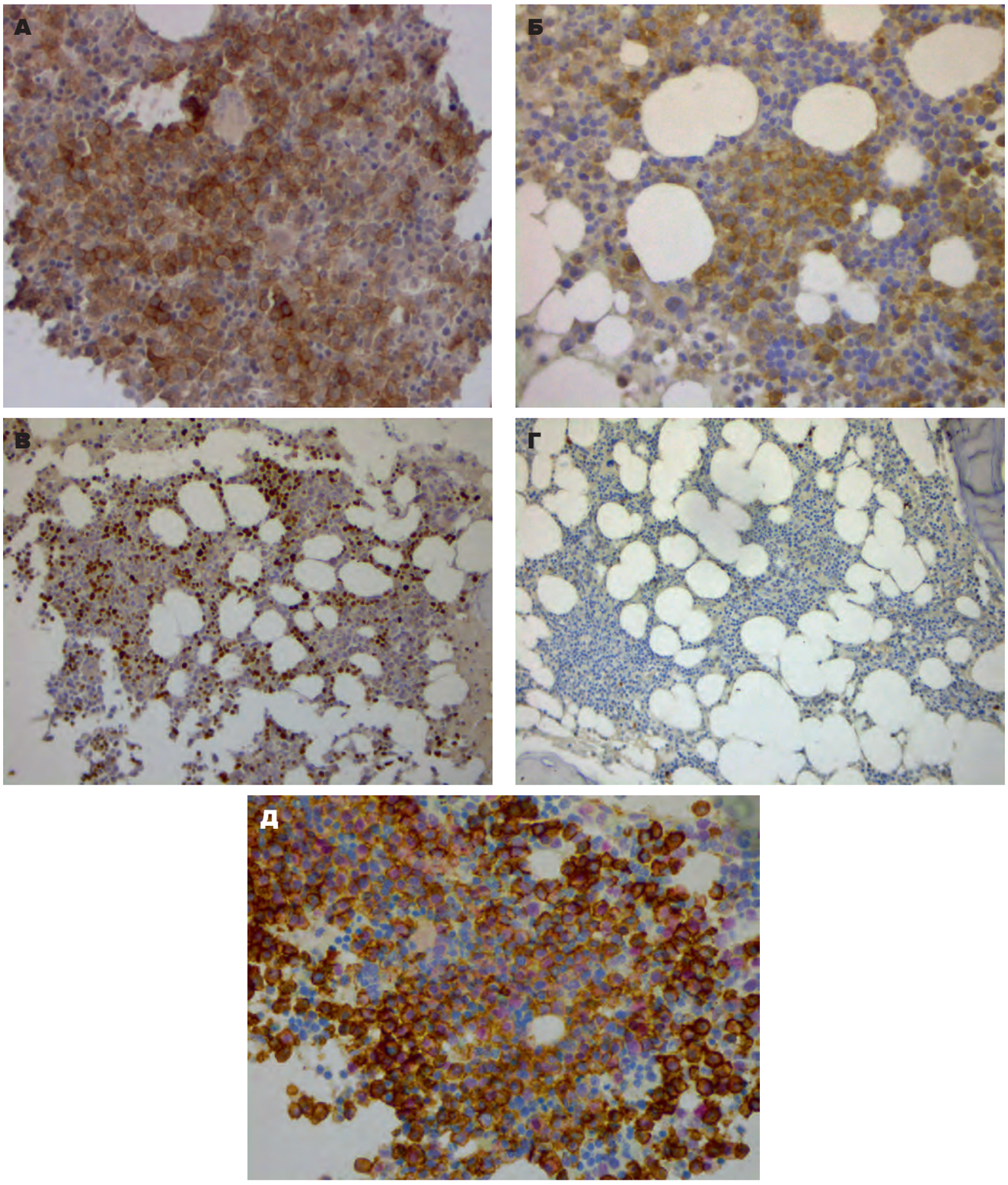

Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование костного мозга больных множественной миеломой (трепанобиопсия подвздошной кости):

А — мембранная экспрессия CD56 на 70 % опухолевых плазматических клеток. Иммуноферментный метод, ×200; *Б* — цитоплазматическая и мембранная экспрессия CD166 в 80 % опухолевых плазматических клеток. Иммуноферментный метод, ×400; *В* — ядерная экспрессия Ki-67 в 20 % опухолевых плазматических клеток. Иммуноферментный метод, ×200; *Г* — ядерная экспрессия Ki-67 в единичных опухолевых плазматических клетках. Иммуноферментный метод, ×200; *Д* — двойное окрашивание антителами к антигенам c-MYC и CD138: позитивны 50 % опухолевых плазматических клеток костного мозга. Мембранная реакция (коричневый цвет) — клетки CD138+; ядерная реакция (красный цвет) — клетки c-MYC+. Иммуноферментный метод, ×400

Fig. 1. Immunohistochemical examination of bone marrow of multiple myeloma patients (iliac bone marrow core biopsy):

А — membrane expression of CD56 in 70 % of tumor plasma cells. Enzyme immunoassay, ×200; *Б* — cytoplasmic and membrane expression of CD166 in 80 % of tumor plasma cells. Enzyme immunoassay, ×400; *В* — nuclear expression of Ki-67 in 20 % of tumor plasma cells. Enzyme immunoassay, ×200; *Г* — nuclear expression of Ki-67 in isolated tumor plasma cells. Enzyme immunoassay, ×200; *Д* — C-MYC and CD138 antibody double staining: 50 % of tumor plasma cells in bone marrow are positive. Membrane reaction (brown) — CD138+ cells; nuclear reaction (red) — c-MYC+ cells. Enzyme immunoassay, ×400

Таблица 6. Результаты лечения больных множественной миеломой с экспрессией CD56 ≥ 10 % (группа CD56+) и < 10 % (группа CD56–) опухолевых плазматических клеток костного мозга

Результаты лечения	Экспрессия CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга		
	Группа CD56+ (*n* = 21)	Группа CD56– (*n* = 14)	*p*
Ответ на первую линию терапии	66,7 % (14/21)	42,9 % (6/14)	0,187
Резистентность к первой линии терапии	33,3 % (7/21)	57,1 % (8/14)	
Медиана (диапазон) линий терапии	2 (1–5)	2 (1–5)	
Общий ответ после индукции (ПР + охЧР + ЧР)	66,7 % (14/21)	57,1 % (8/14)	0,724
Отсутствие ответа после индукции	33,3 % (7/21)	42,9 % (6/14)	
Остаются под наблюдением	95,2 % (20/21)	42,9 % (6/14)	0,0009
Смерть по причине прогрессирования	4,8 % (1/21)	57,1 % (8/14)	
Медиана времени наблюдения	27 мес.	23 мес.	

охЧР — очень хорошая частичная ремиссия; ПР — полная ремиссия; ЧР — частичная ремиссия.

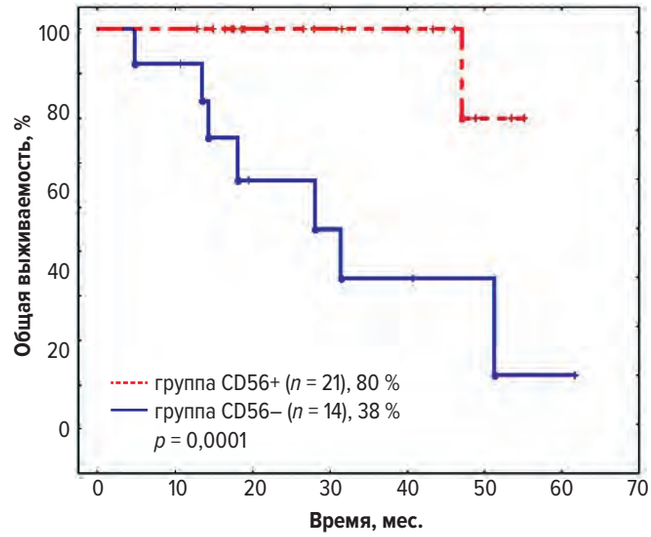

Рис. 2. Общая выживаемость больных множественной миеломой с экспрессией CD56 ≥ 10 % (группа CD56+) и < 10 % (группа CD56–) опухолевых плазматических клеток костного мозга

Fig. 2. Overall survival of multiple myeloma patients with CD56 expression ≥ 10 % (CD56+ group) and < 10 % (CD56– group) of tumor plasma cells in bone marrow

которых экспрессия CD56 наблюдалась менее чем на 10 % опухолевых клеток. В группе с экспрессией CD56 в костном мозге (≥ 10 % опухолевых плазматических клеток) 4-летняя ОВ была статистически значимо выше (p = 0,0001, F-тест Кокса) и составила 80 *vs* 38 % у больных, в костном мозге которых экспрессия CD56 отмечалась менее чем на 10 % опухолевых клеток (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения экспрессии большинства исследуемых маркеров (CD56, CXCR4, c-MYC, Ki-67) в костном мозге больных ММ без плазмоцитомы выше по сравнению с пациентами, у которых в дебюте ММ присутствовала плазмоцитома. Вероятно, высокая экспрессия хемокиновых рецепторов (CXCR4), адгезивных молекул (CD56) ухудшает миграцию миеломной клетки, что препятствует экстрамедуллярному росту опухоли.

Авторы из Китая провели исследование, посвященное изучению CXCR4 при ММ [24]. В работу было включено 227 больных с впервые диагностированной ММ. Показано, что у больных ММ с CXCR4-негативными плазматическими клетками были более высокое содержание β2-микроглобулина и поздние стадии заболевания. Кроме того, прослежена корреляция между отсутствием экспрессии молекулы CXCR4 на опухолевых плазматических клетках костного мозга и гиперкальциемией, остеодеструктивным процессом, развитием экстрамедуллярных поражений. Анализ выживаемости показал, что наличие экспрессии CXCR4 связано с лучшими показателями ОВ. Исследователи предлагают рассматривать CXCR4-негативность в качестве нового фактора риска при ММ, свидетельствующего о неблагоприятном прогнозе заболевания.

Роль экспрессии молекулы клеточной адгезии CD166 при ММ активно исследуется в настоящее время. В работе на мышиных моделях показано, что CD166 блокирует остеобластогенез посредством угнетения экспрессии RUNX2, который является важным транскрипционным фактором, влияющим на дифференцировку остеобластов. Помимо этого CD166 активирует остеокластогенез посредством нарушения баланса между RANKL и остеопротегерином. Блокирование CD166 на миеломных клетках мышей приводит к улучшению показателей выживаемости, меньшей суммарной опухолевой массе, меньшему остеолизису в сравнении с этими показателями у особей, клетки которых CD166-позитивны [25]. Таким образом, предполагается, что CD166 является предиктором литических поражений костей, участвуя в моделировании остеогенеза.

При сравнении экспрессии белков опухолевыми клетками в костном мозге в зависимости от локализации плазмоцитом особенно четкая закономерность прослеживается в отношении CD56. Так, экспрессия молекулы клеточной адгезии CD56 статистически значимо (p < 0,05) ниже в костном мозге больных ММ с экстрамедуллярной плазмоцитомой, чем у больных с костной плазмоцитомой (1 ± 1 *vs* 65,71 ± 12,12 % соответственно). Таким образом, основным ИГХ-параметром, отличающим костный мозг больного ММ с экстрамедуллярным вовлечением, является экспрессия CD56 менее чем на 10 % опухолевых клеток. Исходя из данных результатов, можно предположить, что мембранная экспрессия CD56 < 10 % миеломных клеток костного мозга может служить предиктором развития экстрамедуллярной плазмоцитомы. Вероятно, даже при экспрессии CD56 минимальным числом опухолевых плазматических клеток

(< 10 %) костного мозга в дебюте болезни необходимо тщательное дополнительное обследование больного для исключения экстрамедуллярных поражений в различных органах и тканях.

В опубликованных работах представлено, что нарушение регуляции CD56 связано с более агрессивным течением ММ [4, 5]. С данным утверждением согласуются результаты настоящего исследования. Мы сопоставили показатели ОВ больных ММ в зависимости от экспрессии CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга. Показано, что 4-летняя ОВ больных с экспрессией CD56 опухолевыми плазматическими клетками костного мозга была статистически значимо выше и составила 80 *vs* 38 % у пациентов, в костном мозге которых экспрессия CD56 обнаруживалась менее чем на 10 % миеломных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспрессия CD56 в костном мозге может служить фактором прогноза при ММ.

Углубленное изучение гистологических, иммуногистохимических, цитогенетических и молекулярных параметров опухолевого субстрата может способствовать выявлению новых факторов прогноза, что, как следствие, позволит модифицировать подходы к противоопухолевому лечению пациентов с ММ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. А.М. Ковригина, член редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика», не участвовала в рецензировании рукописи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: В.Г. Савченко, Л.П. Менделеева, А.М. Ковригина, М.В. Фирсова.
Сбор и обработка данных: М.В. Фирсова, М.В. Соловьев.
Предоставление материалов исследования: все авторы.
Анализ и интерпретация данных: Л.П. Менделеева, М.В. Фирсова, М.В. Соловьев, Н.Л. Дейнеко, М.Ю. Дроков.
Подготовка рукописи: М.В. Фирсова.
Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984. 272 с.

[Freidlin IS. Sistema mononuklearnykh fagotsitov. (The system of mononuclear phagocytes.) Moscow: Meditsina Publ.; 1984. 272 p. (In Russ)]

2. Van Furth R, Raeburn JA, van Zwet TL. Characteristics of human mononuclear phagocytes. Blood. 1979;54(2):485–500.

3. Mitsiades CS, McMillin DW, Klippel S, et al. The role of the bone marrow microenvironment in the pathophysiology of myeloma and its significance in the development of more effective therapies. Hematol Oncol Clin N Am. 2007;21(6):1007–34. doi: 10.1016/j.hoc.2007.08.007.

4. Van Camp B, Durie BG, Spier C, et al. Plasma cells in multiple myeloma express a natural killer cell-associated antigen: CD56 (NKH-1; Leu-19). Blood. 1990;76(2):377–82.

5. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. Br J Haematol. 2002;117(4):882–5. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03513.x.

6. Cayrol R, Wosik K, Berard JL, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule promotes leukocyte trafficking into the central nervous system. Nat Immunol. 2008;9(2):137–45. doi: 10.1038/ni1551.

7. Masedunskas A, King JA, Tan F, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule is a component of the endothelial junction involved in transendothelial monocyte migration. FEBS Lett. 2006;580(11):2637–45. doi: 10.1016/j.febslet.2006.04.013.

8. Avet-Loiseau H, Gerson F, Magrangeas F, et al. Rearrangements of the c-myc oncogene are present in 15% of primary human multiple myeloma tumors. Blood. 2001;98(10):3082–6. doi: 10.1182/blood.v98.10.3082.

9. Gabrea A, Martelli ML, Qi Y, et al. Secondary genomic rearrangements involving immunoglobulin or MYC loci show similar prevalences in hyperdiploid and nonhyperdiploid myeloma tumors. Genes Chromos Cancer. 2008;47(7):573–90. doi: 10.1002/gcc.20563.

10. Gerdes J. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. Semin Cancer Biol. 1990;1(3):199–206.

11. Endl E, Steinbach P, Knuchel R, et al. Analysis of cell cycle-related Ki-67 and p120 expression by flow cytometric BrdUrd-Hoechst/7AAD and immunolabeling technique. Cytometry. 1997;29(3):233–41. doi: 10.1002/(sici)1097-0320(19971101)29:3<233::aid-cyto6>3.3.co;2-3.

12. Kausch I, Lingnau A, Endl E, et al. Antisense treatment against Ki-67 mRNA inhibits proliferation and tumor growth in vitro and in vivo. Int J Cancer. 2003;105(5):710–6. doi: 10.1002/ijc.11111.

13. Greipp PR, Lust JA, O'Fallon WM, et al. Plasma cell labeling index and beta 2-microglobulin predict survival independent of thymidine kinase and C-reactive protein in multiple myeloma. Blood. 1993;81(12):3382–7.

14. Tsirakis G, Pappa CA, Spanoudakis M, et al. Clinical significance of sCD105 in angiogenesis and disease activity in multiple myeloma. Eur J Intern Med. 2012;23(4):368–73. doi: 10.1016/j.ejim.2012.01.012.

15. Tsirakis G, Pappa CA, Psarakis FE, et al. Serum concentrations and clinical significance of soluble CD40 ligand in patients with multiple myeloma. Med Oncol. 2012;29(4):2396–401. doi: 10.1007/s12032-012-0203-2.

16. Tsirakis G, Pappa CA, Kaparou M, et al. The relationship between soluble receptor of interleukin-6 with angiogenic cytokines and proliferation markers in multiple myeloma. Tumour Biol. 2013;34(2):859–64. doi: 10.1007/s13277-012-0618-6.

17. Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. Annu Rev Immunol. 2000;18(1):217–42. doi: 10.1146/annurev.immunol.18.1.217.

18. Oberlin E, Amara A, Bachelerie F, et al. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. Nature. 1996;382(6594):833–5. doi: 10.1038/382833a0.

19. Piazza R, Valletta S, Winkelmann N, et al. Recurrent SETBP1 mutations in atypical chronic myeloid leukemia. Nat Genet. 2013;45(1):18–24. doi: 10.1038/ng.2495.

20. Blade J, Fernandez de Larrea C, Rosinol L, et al. Soft-tissue plasmacytomas in multiple myeloma: incidence, mechanisms of extramedullary spread, and treatment approach. J Clin Oncol. 2011;29(28):3805–12. doi: 10.1200/JCO.2011.34.9290.

21. Usmani SZ, Heuck C, Mitchell A, et al. Extramedullary disease portends poor prognosis in multiple myeloma and is over-represented in high-risk disease even in the era of novel agents. Haematologica. 2012;97(11):1761–7. doi: 10.3324/haematol.2012.065698.

22. Varettoni M, Corso A, Pica G, et al. Incidence, presenting features and outcome of extramedullary disease in multiple myeloma: a longitudinal study on 1003 consecutive patients. Ann Oncol. 2009;21(2):325–30. doi: 10.1093/annonc/mdp329.

23. Weinstock M, Aljawai Y, Morgan EA, et al. Incidence and clinical features of extramedullary multiple myeloma in patients who underwent stem cell transplantation. Br J Haematol. 2015;169(6):851–8. doi: 10.1111/bjh.13383.

24. Bao L, Lai Y, Liu Y, et al. CXCR4 is a good survival prognostic indicator in multiple myeloma patients. Leuk Res. 2013;37(9):1083–8. doi: 10.1016/j.leukres.2013.06.002.

25. Xu L, Mohammad KS, Wu H, et al. Cell Adhesion Molecule CD166 Drives Malignant Progression and Osteolytic Disease in Multiple Myeloma. Cancer Res. 2016;76(23):6901–10. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0517.