

Bölüm 10

MULTİPL MİYELOMDA AKIM SİTOMETRİ

Emrah KILIÇASLAN

GİRİŞ

Çok parametrelili akım sitometrinin artan kullanımının yanı sıra, hücre yüzey ve hücre içi spesifik antijenlerin boyanması için artan reaktifler dizisi multipl miyelomun (MM) çeşitli yönlerini anlamamızı sağlamıştır.

Akım sitometri alanındaki gelişmeler hastalık biyolojisine daha iyi bir bakış açısı getirmekle birlikte tanı ve prognoz belirlemede de önemli katkılar sağladı. Ayrıca, akım sitometri; çok sayıda hücreyi hızlı bir şekilde analiz edebilme yeteneği, tedaviye verilen yanıtı ve minimal rezidüel hastalığı kısa sürede değerlendirme olanağı da sağlamaktadır. Bu durum, geleneksel morfolojik değerlendirme yöntemleri ve immünohistokimya ile karşılaştırıldığında büyük bir avantajdır.

Geçmişte akım sitometri; akut ve kronik lösemiler gibi hematolojik malignitelerde standart tanısal yaklaşımın bir parçası haline gelse de, plazma hücre hastalıklarında rutin kullanımları konusunda kesin fikir birliği yoktu. Bunun nedeni, önceden yapılan çoğu çalışmalarda görülen çelişkili sonuçlar ve evrensel olarak kabul edilebilir plazma hücresi spesifik belirteçlerin olmamasından kaynaklanmaktaydı. Ayrıca bu çalışmalarda; çalışmaya dahil edilen gruplar arasında hastalık evresi bakımından çok farklılıklar olması, kullanılan reaktiflerde değişiklikler, kapılama stratejileri açısından teknik farklar gibi nedenlerden dolayı kesin fikir birliği geliştirilememiştir (1,2).

Bu zorluklara rağmen, günümüzde yüksek duyarlılıklı akım sitometrinin kullanıma girmesi sayesinde akım sitometri plazma hücre hastalıklarının yönetiminin ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Ayrıca tanı ve sınıflandırma, prognoz belirleme, tedaviye yanıtın izlenmesi ve minimal rezidüel hastalık tayini, hastalık progresyon biyolojisinin anlaşılması, tümör mikroortamının rolünün incelenme-

CD44

CD44, tek bir gen tarafından kodlanan, ancak standart (CD44s) veya varyant formlar (CD44v) olarak ifade edilebilen bir adezyon molekülüdür. CD44'lerin ifadesinde anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, CD44v9 ve v10 izoformları içeren, stabil (CD44v9-v10 +) veya progresif (CD44v9 + v10-) hastalığı olan miyelom hastalarına karşı normal bireylerin (CD44v9 + v10 +) kemik iliği plazma hücrelerinde farklı şekilde eksprese edilmektedir (32). CD44 izoformlarının bazıları; miyelom hücresi migrasyonu, homing ve stromal hücrelere yapışmasında anahtar rol oynamaktadır (33,34). CD44v6'nın ekspresyonu hastalık ilerlemesi ile ilişkilendirilmiştir, MGUS ve Evre I MM, kromozom 13 delesyonu varlığı olan hastalarda çok düşük ekspresyonu saptanmıştır (35).

CD52

Bir panlenfoid antijeni olan CD52; MGUS, MM ve amiloidoz dahil olmak üzere çeşitli plazma hücre hastalıklarındaki plazma hücrelerinin bir bölümünde eksprese edilir (36-38). Bir çalışmada, MGUS, miyelom ve amiloidoz hastalarında sırasıyla % 67,% 52 ve% 35 oranında CD52 pozitif plazma hücreleri gösterilmiştir (37).

CD117

CD117 (c-kit), neoplastik plazma hücrelerinde aberan olarak ifade edilebilen, tirozin kinaz aktivitesine sahip bir hematopoetik büyüme faktörü reseptörüdür. Miyeloma hastalarının üçte birinde kemik iliğinde %83-99 oranında CD117 pozitif plazma hücreleri saptanırken sağlıklı insanların kemik iliğinde hiç saptanmamıştır. CD117'nin ekspresyonu miyelomda iyi bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir (39,40). Son zamanlarda yapılan çalışmalar CD117'nin neoplastik plazma hücrelerini normallerden ayırmada değerli bir belirteç olduğunu ortaya koymuştur (5).

CD200

CD200, T hücre aracılı immün yanıtların baskılanmasına aracılık eden bir membran glikoproteinidir. CD200 negatif plazma hücreli MM hastaları, yüksek doz KT ve kök hücre nakli sonrasında, CD200 pozitif hastalara göre daha iyi olaysız sağkalım süresine sahiptir. Olaysız sağkalım için CD200 ekspresyonunun prognostik önemi, Uluslararası Evreleme Sistemi (ISS) evresi ve beta-2 mikrogloblin seviyelerinden bağımsız olarak saptanmıştır (41).

KAYNAKÇA

1. Harada H, Kawano MM, Huang N, et al. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993;81:2658-2663.
2. San Miguel JF, Gonzalez M, Gascon A, et al. Immunophenotypic heterogeneity of multiple mye-

- loma: influence on the biology and clinical course of the disease. Castellano- Leones (Spain) Cooperative Group for the Study of Monoclonal Gammopathies. *Br J Haematol* 1991;77:185–190.
3. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol* 2010;149:334–351.
 4. Paiva B, Almeida J, Perez-Andres M, et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78:239–252.
 5. Almeida J, Orfao A, Ocqueteau M, et al. High-sensitive immunophenotyping and DNA ploidy studies for the investigation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1999;107:121–131.
 6. Terstappen LW, Johnsen S, Segers-Nolten IM, Loken MR. Identification and characterization of plasma cells in normal human bone marrow by high-resolution flow cytometry. *Blood* 1990;76:1739–1747.
 7. Morice WG, Hanson CA, Kumar S, Frederick LA, Lesnick CE, Greipp PR. Novel multi-parameter flow cytometry sensitively detects phenotypically distinct plasma cell subsets in plasma cell proliferative disorders. *Leukemia* 2007;21:2043–2046.
 8. Ocqueteau M, Orfao A, Almeida J, et al. Immunophenotypic characterization of plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance patients. Implications for the differential diagnosis between MGUS and multiple myeloma. *Am J Pathol* 1998;152:1655–1665.
 9. Pellat-Deceunynck C, Bataille R. Normal and malignant human plasma cells: proliferation, differentiation, and expansions in relation to CD45 expression. *Blood Cells Mol Dis* 2004;32:293–301.
 10. Asosingh K, De Raeve H, Van Riet I, Van Camp B, Vanderkerken K. Multiple myeloma tumor progression in the 5T2MM murine model is a multistage and dynamic process of differentiation, proliferation, invasion, and apoptosis. *Blood* 2003;101:3136–3141.
 11. Bataille R, Robillard N, Pellat-Deceunynck C, Amiot M. A cellular model for myeloma cell growth and maturation based on an intracлонаl CD45 hierarchy. *Immunol Rev* 2003;194:105–111.
 12. Moreau P, Robillard N, Avet-Loiseau H, et al. Patients with CD45 negative multiple myeloma receiving high-dose therapy have a shorter survival than those with CD45 positive multiple myeloma. *Haematologica* 2004;89:547–551.
 13. Mahmoud MS, Ishikawa H, Fujii R, Kawano MM. Induction of CD45 expression and proliferation in U-266 myeloma cell line by interleukin-6. *Blood* 1998;92:3887–3897.
 14. Ishikawa H, Tsuyama N, Abroun S, et al. Requirements of src family kinase activity associated with CD45 for myeloma cell proliferation by interleukin-6. *Blood* 2002;99:2172–2178.
 15. Pope B, Brown R, Gibson J, Joshua D. The bone marrow plasma cell labeling index by flow cytometry. *Cytometry* 1999;38:286–292.
 16. Drach J, Gatringer C, Huber H. Expression of the neural cell adhesion molecule (CD56) by human myeloma cells. *Clin Exp Immunol* 1991;83:418–422.
 17. Leo R, Boeker M, Peest D, et al. Multiparameter analyses of normal and malignant human plasma cells: CD38⁺⁺, CD56⁺, CD54⁺, cIg⁺ is the common phenotype of myeloma cells. *Ann Hematol* 1992;64:132–139.
 18. Kraj M, Sokolowska U, Kopec-Szlezak J, et al. Clinicopathological correlates of plasma cell CD56 (NCAM) expression in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2008;49:298–305.
 19. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002;117:882–885.
 20. Hundemer M, Klein U, Hose D, et al. Lack of CD56 expression on myeloma cells is not a marker for poor prognosis in patients treated by high-dose chemotherapy and is associated with translocation t(11;14). *Bone Marrow Transplant* 2007;40:1033–1037.

21. Pellat-Deceunynck C, Barille S, Puthier D, et al. Adhesion molecules on human myeloma cells: significant changes in expression related to malignancy, tumor spreading, and immortalization. *Cancer Res* 1995;55:3647–3653.
22. Dahl IM, Rasmussen T, Kauric G, Husebekk A. Differential expression of CD56 and CD44 in the evolution of extramedullary myeloma. *Br J Haematol* 2002;116:273–277.
23. Rawstron A, Barrans S, Blythe D, et al. Distribution of myeloma plasma cells in peripheral blood and bone marrow correlates with CD56 expression. *Br J Haematol* 1999;104:138–143.
24. 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;76:377–382.
25. Robillard N, Avet-Loiseau H, Garand R, et al. CD20 is associated with a small mature plasma cell morphology and t(11;14) in multiple myeloma. *Blood* 2003;102:1070–1071.
26. Guikema JE, Hovenga S, Vellenga E, et al. CD27 is heterogeneously expressed in multiple myeloma: low CD27 expression in patients with high-risk disease. *Br J Haematol* 2003;121:36–43.
27. Moreau P, Robillard N, Jego G, et al. Lack of CD27 in myeloma delineates different presentation and outcome. *Br J Haematol* 2006;132:168–170.
28. Pellat-Deceunynck C, Bataille R, Robillard N, et al. Expression of CD28 and CD40 in human myeloma cells: a comparative study with normal plasma cells. *Blood* 1994;84:2597–2603.
29. Robillard N, Jego G, Pellat-Deceunynck C, et al. CD28, a marker associated with tumoral expansion in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 1998;4:1521–1526.
30. Robillard N, Wuilleme S, Lode L, Magrangeas F, Minvielle S, Avet-Loiseau H. CD33 is expressed on plasma cells of a significant number of myeloma patients, and may represent a therapeutic target. *Leukemia* 2005;19:2021–2022.
31. Sahara N, Ohnishi K, Ono T, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD33-positive multiple myeloma. *Eur J Haematol* 2006;77:14–18.
32. Van Driel M, Gunthert U, Stauder R, Joling P, Lokhorst HM, Bloem AC. CD44 isoforms distinguish between bone marrow plasma cells from normal individuals and patients with multiple myeloma at different stages of disease. *Leukemia* 1998;12:1821–1828.
33. Asosingh K, Gunthert U, Bakkus MH, et al. In vivo induction of insulin-like growth factor-I receptor and CD44v6 confers homing and adhesion to murine multiple myeloma cells. *Cancer Res* 2000;60:3096–3104.
34. Van Driel M, Gunthert U, van Kessel AC, et al. CD44 variant isoforms are involved in plasma cell adhesion to bone marrow stromal cells. *Leukemia* 2002;16:135–143.
35. Liebisch P, Eppinger S, Schopflin C, et al. CD44v6, a target for novel antibody treatment approaches, is frequently expressed in multiple myeloma and associated with deletion of chromosome arm 13q. *Haematologica* 2005;90:489–493.
36. Lin P, Owens R, Tricot G, Wilson CS. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. *Am J Clin Pathol* 2004;121:482–488.
37. Kumar S, Kimlinger TK, Lust JA, Donovan K, Witzig TE. Expression of CD52 on plasma cells in plasma cell proliferative disorders. *Blood* 2003;102:1075–1077.
38. Rawstron AC, Laycock-Brown G, Hale G, et al. CD52 expression patterns in myeloma and the applicability of alemtuzumab therapy. *Haematologica* 2006;91:1577–1578.
39. Bataille R, Pellat-Deceunynck C, Robillard N, Avet-Loiseau H, Harousseau JL, Moreau P. CD117 (c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma with unexpectedly good prognosis. *Leuk Res* 2008;32:379–382.
40. Mateo G, Montalban MA, Vidriales MB, et al. Prognostic value of immunophenotyping in multiple myeloma: a study by the PETHEMA/GEM cooperative study groups on patients uniformly treated with high-dose therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:2737–2744.
41. Moreaux J, Hose D, Reme T, et al. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 2006;108:4194–4197.