



安刚, 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 实验血液学国家重点实验室II级PI, 中国抗癌协会血液肿瘤第二届青年委员会副主任委员, “2020年度中国肿瘤青年科学家奖”获得者, 主持参与多项国家自然科学基金。从事多发性骨髓瘤临床与基础研究, 近年主要从事多发性骨髓瘤耐药机制与免疫抑制微环境的相关研究。以第一作者或通讯作者在 *Blood*、*Leukemia*、*Clinical Cancer Research*、*Haematologica*、*Blood Advances* 等国际学术期刊上发表研究成果18篇。

## 多发性骨髓瘤遗传学异常和克隆演变

许婧钰 王轶 邱录贵 安刚\*

(中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020)

**摘要** 多发性骨髓瘤(MM)是一种难以治愈的血液系统恶性肿瘤, 从意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)进展到冒烟型骨髓瘤(SMM), 再进一步进展至有症状MM甚至浆细胞性白血病(PCL), 遗传学异质性和克隆演变在其中有着关键推动作用。近年来有关该转化进程的MM遗传学研究取得了很大的进展, 该文将对其及临床意义进行综述, 以期对科研及临床治疗提供新的思路。

**关键词** 多发性骨髓瘤; 遗传学异常; 克隆演变

## Genetic Abnormalities and Clonal Evolution of Multiple Myeloma

XU Jingyu, WANG Yi, QIU Lugui, AN Gang\*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

**Abstract** MM (multiple myeloma) is an incurable hematological malignancy characterized by complex genetic changes and clonal evolution involved in the disease progression from MGUS (monoclonal gammopathy of undermined significance), SMM (smoldering myeloma) and eventually to PCL (plasma cell leukemia). In the recent years extensive studies about MM genomics have shed light on the malignant transformation. This review summarizes the genomic landscape and prognostic significance of MM and reveals targets for scientific research and clinical intervention.

**Keywords** multiple myeloma; genetic abnormality; clonal evolution

收稿日期: 2021-11-15 接受日期: 2021-12-06

国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(批准号: 81920108006)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 022-27279171, E-mail: angang@ihcams.ac.cn

Received: November 15, 2021 Accepted: December 6, 2021

This work was supported by International (Regional) Cooperation and Exchange Project of National Natural Science Foundation of China (Grant No.81920108006)

\*Corresponding author. Tel: +86-22-27279171, E-mail: angang@ihcams.ac.cn

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是以浆细胞恶性增殖为特征的一种高度异质性的血液系统恶性肿瘤,发病率在血液系统恶性肿瘤中排名第二<sup>[1]</sup>。虽然MM治疗相关新药物层出不穷,但该病目前仍不可治愈<sup>[2]</sup>。MM是一个多阶段进展的疾病,几乎所有患者都要经历从意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(monoclonal gammopathy of undermined significance, MGUS)到冒烟型骨髓瘤(smoldering myeloma, SMM)再进展至有症状MM的过程,复杂的遗传学异常及克隆演变不仅是推动此过程的内在动力,也是MM难以治愈的重要原因,对患者预后具有重要影响<sup>[3-4]</sup>。

## 1 多发性骨髓瘤的遗传学异常

### 1.1 遗传学异常的发生机制及预后意义

MM发病的具体机制尚不明确,目前的研究表明MM细胞起源于后生发中心B细胞,发病与发展和细胞内部的遗传学异常及外部的骨髓微环境密切相关<sup>[3]</sup>。几乎所有的MM患者都具有遗传学异常,常涉及染色体结构改变、染色体拷贝数变异(copy number variables, CNVs)、基因突变等多种异常。原发遗传学异常是指参与了疾病的起始、在MGUS时期即可检测到的一类异常,包括超二倍体(hyperdiploidy, HRD)和非超二倍体(non-HRD),后者常为涉及免疫球蛋白重链

基因(immunoglobulin heavy-chain, *IGH*)的染色体易位,如t(4;14)、t(6;14)、t(11;14)、t(14;16)和t(14;20)<sup>[4-6]</sup>。继发的遗传学异常主要为基因频发突变、继发性易位、染色体CNVs如amp(1q21)、del(17p)等,在促进疾病的进展中发挥了重要的作用<sup>[3-4,7]</sup>(图1)。遗传学异常是影响患者预后最重要的因素,基于患者的遗传学异常不同,可对患者进行危险度分层,从而进行个性化治疗<sup>[8]</sup>。目前危险度分层主要依据ISS和R-ISS分期<sup>[9]</sup>(表1)。R-ISS分期系统将del(17p)、t(4;14)、t(14;16)视为高危细胞遗传学异常,是疾病进展及预后不良的相关指标<sup>[9]</sup>。

1.1.1 染色体拷贝数变异(染色体CNVs) 频发的染色体CNVs被认为是MM发展的驱动事件,目前发生染色体CNVs的具体机制仍不清楚。近期有研究对MM及SMM患者进行全基因组测序(whole-genome sequencing, WGS)和全外显子测序(whole-exome sequencing, WES)发现染色体CNVs并不是爆炸式产生的而是在病程进展中不断累积的<sup>[10-12]</sup>。染色体CNVs可分为HRD和亚二倍体,HRD是最多见的一种常涉及奇数染色体的染色体CNV类型,与其他遗传学异常相比常具有较好的预后<sup>[13]</sup>。而亚二倍体多预后不良,可能是因为缺失了在正常细胞中具有肿瘤抑制作用的染色体和基因<sup>[10]</sup>。除了涉及整条染色体的数目变异,染色体臂或更小结构位点的局

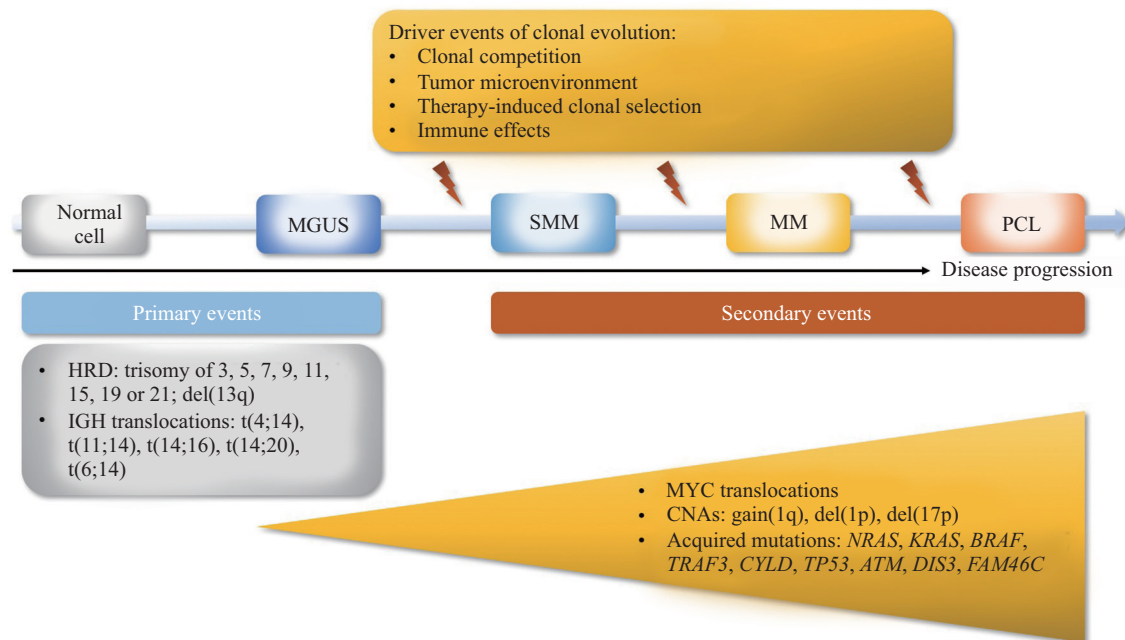


图1 多发性骨髓瘤进展中的遗传学变化过程(根据参考文献[3-4,7]修改)

Fig.1 The genomic events in the progression of multiple myeloma (modified from references [3-4,7])

表1 多发性骨髓瘤的ISS和R-ISS分期

Table 1 International Staging System and Revised International Staging System

分期 Stage	ISS分期 ISS stage	R-ISS分期 R-ISS stage
I	Serum albumin $\geq$ 35 g/L $\beta$ 2-MG $<$ 3.5 mg/L	ISS stage I and standard-risk CA by FISH and normal LDH
II	Not ISS stage I or III	Not R-ISS stage I or III
III	$\beta$ 2-MG $\geq$ 5.5mg/L	ISS stage III and either high-risk CA by FISH or high LDH

High-risk CA: defined by the presence of del(17p), t(4;14), or t(14;16).  $\beta$ 2-MG: serum  $\beta$ 2-microglobulin; CA: chromosomal abnormalities; FISH: fluorescent *in situ* hybridization; ISS: International Staging System; LDH: lactate dehydrogenase; R-ISS: Revised International Staging System.

部扩增及缺失也具有致肿瘤效应, 常见的染色体臂变异包括1q扩增、1p缺失[del(1p)]、13q缺失[del(13q)]及17p缺失[del(17p)]。

35%~40%的MM患者可出现1q扩增, 发生机制可能与1q21着丝粒周围低甲基化导致的局部染色体不稳定有关, 通过上调关键调节基因*CSKIB*进一步影响染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)<sup>[14-15]</sup>。近期的研究表明, 1q21扩增与癌基因如*CCND1*和*CCND2*以及其他致癌基因(*AURKA*、*AURKB*和*PLK1*)的表达有关<sup>[16]</sup>。国内对于MM的研究起步较晚, 中国医学科学院血液病医院淋巴瘤诊疗中心(以下简称“淋巴瘤诊疗中心”)2015年首次报道了中国大系列MM患者遗传学异常, 发现中国患者的遗传学特征与国外患者存在差别, 突出表现在高危分子遗传学异常的患者相对多见, 尤其是1q21扩增比例明显高于西方患者, 并系统研究了1q21的拷贝数变化及预后价值, 发现在中国初治MM(newly diagnosed MM, NDMM)患者中的检出率为47.8%, 复发难治的MM患者(relapsed/refractory MM, RRMM)中检出率为66.7%。对于接受硼替佐米或来那度胺为基础化疗方案的NDMM, 1q21扩增对患者的预后具有不良影响, 对于患者的危险度分层具有重要价值<sup>[17-18]</sup>, 且1q拷贝数 $\geq$ 4时, 疾病早期进展风险增加<sup>[19-20]</sup>。

del(1p)约发生在30%的MM患者中, 1p染色体最常缺失的位点为1p12、1p21、1p22.1和1p32.3, 涉及到*FAM46C*、*CDC14A*、*MTF2*和*CDKN2C*基因, 在蛋白质翻译过程、细胞周期的调节和细胞凋亡通路中起到重要作用, 具有显著的细胞遗传学意义<sup>[4,21]</sup>。del(1p)对MM患者生存具有负性作用, 其中具有del(1p32.3)的患者死亡风险明显增加<sup>[6,21]</sup>。del(1p12)导致的*FAM46C*下调可促进患者对来那度胺和地塞米松的耐药, *FAM46C*的缺失与MM细胞系

中由PI3K/Rac1通路激活介导的细胞迁移增加有关, 因此应用PI3K和Rac1抗体可能会使该类患者群体获益<sup>[22-23]</sup>。

45%~50%的MM患者存在del(13q)或13号染色体单体, 使得细胞周期调节基因*RBI*缺失或被抑制, 造成正常的细胞周期失调<sup>[4,10]</sup>。与前述的MM不良预后相关的遗传学异常不同, del(13q)虽然与MGUS发展为MM相关, 但目前的研究表明其对MM的无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)尚无显著影响, 其预后价值取决于与其共存的t(4;14)和del(17p)<sup>[17]</sup>。然而BINDER等<sup>[24]</sup>的临床研究发现, 13号染色体单体对患者的OS具有独立的负性影响, 而del(13q)对OS则有保护性作用, 当将两者合并为一种细胞遗传学异常时上述效应则不明显。del(17p)主要涉及*TP53*抑癌基因的缺失或突变, 从而进一步影响CIN。当del(17p)与*TP53*突变同时发生即发生“双打击”时, 患者预后极差。与对照组相比, 单独的del(17p)改变也是预后不良的因素<sup>[25]</sup>。淋巴瘤诊疗中心在对中国MM患者的细胞遗传学异常研究中还发现, 大克隆17p缺失( $>$ 50%)患者预后最差<sup>[17]</sup>。

1.1.2 染色体结构改变 MM的染色体结构变异有易位、串联重复、缺失或倒位等, 其中主要是涉及*IGH*的染色体易位。V(D)J重排和类别转换重组是B细胞发育的两个关键特征, 该过程需要活化诱导的胞苷脱氨酶(activation induced cytidine deaminase, AICDA)介导的DNA双链的断裂和重组, 但该生理过程中造成的异常易位可诱导恶性转化。*IgH*易位通过细胞周期蛋白(Cyclin)通路直接或间接地上调CyclinD1、CyclinD2、CyclinD3, 最终影响G<sub>1</sub>/S导致高危MM的产生<sup>[10,14]</sup>。在MM患者中, 约90%的染色体易位都与染色体14q32.33上的*IgH*位点有关, 使得一些癌基因受到*IgH*增强子的控制而高表达, 如

t(4;14)(MMSET/FGFR3)、t(6;14)(CCND3)、t(11;14)(CCND1)、t(14;16)(MAF)和t(14;20)(MAFB),因此多种转录因子、生长因子受体和其他细胞周期介质可能会过度表达并使浆细胞的细胞周期失调,从而导致细胞异常增殖<sup>[13-14,26]</sup>。

del(17p)、t(4;14)、t(14;16)在R-ISS分期中被视为高危遗传学异常,其他遗传学异常的预后意义近年来也逐渐被人们发掘。t(11;14)(q13;q32)是MM最常见的易位,是一种异质性疾病,具有其鲜明的特点:①该染色体易位导致cyclinD1高表达,但此类细胞增殖具有惰性,S期比例低;②具有该染色体易位的MM患者为标危,但少数可迅速进展为继发性浆细胞性白血病(secondary PCL, sPCL)<sup>[27]</sup>。淋巴瘤诊疗中心的临床研究发现,在PCL中t(11;14)频率明显高于NDMM中,且t(11;14)在IgD、IgM和非分泌型MM中更常见,具有该遗传学异常的MM常表达CD20和CD79a等抗原。具有t(11;14)的MM患者根据是否表达CD20可分为两组,在硼替佐米为基础的治疗组中,CD20表达缺失的患者生存期显著缩短<sup>[27]</sup>。此外,IgH易位的患者中约有15%为未确定伙伴基因,该部分患者的预后较具有t(4;14)、t(14;16)的患者更好<sup>[28]</sup>。

MYC易位为继发性细胞遗传学异常,可发生于30%~50%的NDMM患者中,在MGUS和SMM中少有出现,与肿瘤高负荷相关,是MM生存不良的独立危险因素,可显著缩短患者的生存期<sup>[29-30]</sup>。MYC易位涉及到一些免疫球蛋白(Ig)基因座和非Ig伙伴基因,使得MYC基因受到增强子的控制而过度表达,从而导致DNA损伤、活性氧水平增加、细胞周期失调、基因组不稳定性增加等<sup>[22,29]</sup>。

**1.1.3 基因突变** 大多数基因突变是单核苷酸突变,会对最终蛋白质的结构产生影响,它们可以在克隆和亚克隆水平上存在,并随着疾病的发展而演变<sup>[22]</sup>。疾病进展过程中基因突变频率会增加,并且高危患者也具有更高的突变负荷。BOYLE等<sup>[30]</sup>和MULLIGAN等<sup>[31]</sup>通过WES发现,RAS/MAPK通路和NF-κB通路是MM中最常发生突变的通路,对于前者KRAS、NRAS和BRAF均可发生基因突变,其中KRAS突变与TP53突变和t(11;14)显著相关,NRAS突变则可明显降低疾病对硼替佐米治疗的敏感性,BRAF突变对生存率也具有负面影响。NF-κB通路中包括了突变基因TRAF3、CYLD和LTB,它们促进了肿瘤

细胞的生存。影响DNA修复通路的突变涉及TP53、ATR、ATM和ZFHX4等基因,发生在大约15%的患者中,该通路负责控制DNA损伤的细胞凋亡过程及其他功能,这些突变被认为是与较短生存期相关的预后生物标志物<sup>[22,32]</sup>。而IgH易位也可导致FGFR3、CCND1等突变<sup>[32]</sup>。

CIN是导致MM遗传学异常的主要原因,促进基因组不稳定性的同时更易诱发新的基因突变,对MM的耐药及不良预后产生了重要影响<sup>[10,33]</sup>。淋巴瘤诊疗中心首次发现NEK2基因是诱发CIN的关键基因且与MM患者预后相关<sup>[34]</sup>,其通过激活NF-κB通路使得患者PFS和OS明显缩短。NEK2蛋白通过与去泛素化酶USP7相互结合,抑制蛋白酶体系统对NEK2的降解、稳定自身表达<sup>[35]</sup>。另一个CIN相关基因AUKRA也具有预后意义,位于1p上的microRNA-137通过靶向AURKA基因,导致MM细胞耐药性的产生及CIN的发生,这可能是1p缺失的MM患者预后不良的关键机制<sup>[36]</sup>。此外,检查点激酶1(checkpoint kinase 1, CHEK1)可通过诱导CIN促进MM细胞的增殖性和耐药性,也是预后不良的因素之一<sup>[33]</sup>。

## 1.2 遗传学异常的检测方法

目前针对MM遗传学异常的检测手段主要有染色体核型分析、荧光原位杂交(fluorescent *in situ* hybridization, FISH)、基因表达谱分析、二代测序等。核型分析对判断MM患者的预后具有一定的价值,目前仍把染色体核型分析作为遗传学检测方法之一,但由于难以获得足够数量的中期分裂细胞,因此该方法具有一定的局限性。由于FISH具有高特异性、灵敏快速的特点,目前已成为MM遗传学的主要检测方式,也是R-ISS分期中的重要内容<sup>[13,37]</sup>。2015年淋巴瘤诊疗中心应用多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)技术检测MM患者的遗传学异常并将数据与间期荧光原位杂交(interphase fluorescent *in situ* hybridization, iFISH)检测数据比较,证实了在多量肿瘤细胞存在时MLPA的高效性与iFISH结果的高度一致性<sup>[38]</sup>。为了规范MM遗传学异常的检测,该中心发现对MM的标本在FISH检测前使用CD138磁珠分选可大大提高遗传学异常的检出率,此方法目前已成为国内最常用的检测方法<sup>[39]</sup>。然而,各研究机构FISH阳性阈值的判定标准不统一,严重影响FISH检测的临床应用。淋巴瘤诊疗中心既往的大型临床数据分析发现IgH

易位相关的初始遗传学异常不会随着疾病的发展出现累积, 其阳性阈值的判定影响较小, 但继发遗传学异常比例可随着病情进展出现累积, 如将 *del(13q)*、*del(17p)*、*amp(1q21)* 的阈值分别设定为 10%、50%、20% 时能更好地诠释患者的预后<sup>[17]</sup>。此后, 在 2020 年的多发性骨髓瘤诊疗共识中指出, 应由多中心大型临床试验推出针对中国患者的阳性阈值<sup>[37]</sup>, 若实验室目前无法得出阳性阈值, 可暂参考欧洲骨髓瘤工作组标准——基因拷贝数数目异常阈值设为 20%, 融合基因阈值设为 10%<sup>[40]</sup>。

## 2 克隆异质性与克隆演变

### 2.1 克隆异质性

在肿瘤发展过程中, 随机突变不断积累进而产生不同的亚克隆, 使得肿瘤不断进展、复发甚至耐药, 即肿瘤内部的克隆异质性。内部克隆异质性及克隆演变是肿瘤的普遍特征, 早在 1976 年, 就有研究者提出“肿瘤自然选择论”阐释了这一特征<sup>[41]</sup>, 对于 MM 也不例外, 1993 年 JELINEK 等<sup>[42]</sup>对一名 PCL 患者的外周血肿瘤细胞进行流式及染色体核型分析, 首次揭示了 MM 中存在克隆演变。2011 年 CHAPMAN 等<sup>[43]</sup>通过 WGS 和 WES 对 38 个 MM 患者进行分析, 发现 MM 患者的 *KRAS*、*NRAS*、*TP53*、*CCND1* 等 10 个基因受到非沉默体细胞突变的影响, 突变率均具有统计学意义, 证实 MM 是一种异质性疾病, 为后续的研究奠定了基础。2012 年 KEATS 等<sup>[44]</sup>对 28 例 MM 患者进行了连续的比较基因组杂交分析, 发现了无变化型、增多型及增多+减少型三种拷贝数变异形式, 该分析首次提出了 MM 克隆演变模式, 并且证实高危/标危患者演变模式不同。同年 EGAN 等<sup>[45]</sup>则对患者不同阶段标本进行 WGS, 证实随着疾病进展遗传学不稳定性增加, 并且药物可以诱发克隆演变。2015 年 WALKER 等<sup>[32]</sup>通过英国的大样本 WES 进一步分析了遗传学异常与预后的影响。此后越来越多的研究聚焦于 MM 的克隆异质性和克隆演变并将其应用于临床。

### 2.2 克隆演变发生机制及克隆演变模式

克隆异质性在 MM 诊断时就存在, 并且随着疾病发展逐渐增多。MM 患者在初诊时、首次复发和后续多次复发时的主克隆常不同, 可能是因为在此过程中骨髓中不同的克隆群体相互竞争并按照达尔文定律演化<sup>[46]</sup>。CIN 是克隆异质性和克隆演变发生的主要驱动因素, 主要包括上述遗传学异常发生机

制的相关方面, 即染色体 CNVs、结构异常及基因突变, 促进新发的亚克隆的产生, 进一步增加了肿瘤的克隆异质性<sup>[22,47]</sup>(图 1)。

2013 年 ROCCARO 等<sup>[48]</sup>证实 MM 骨髓基质细胞可通过分泌外泌体调控肿瘤细胞增殖等, 说明肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)也参与 MM 克隆演变。MM 细胞与 TME 之间存在相互促进作用, 一方面, 肿瘤细胞可以促进 TME 的免疫抑制作用, 另一方面, TME 可形成癌前状态, 且其改变可早于细胞遗传学异常的发生, 并在细胞的恶性转变增殖及肿瘤细胞优势克隆方面起重要作用<sup>[49-50]</sup>。破骨细胞(osteoclasts, OCs)是 TME 中的重要细胞, 淋巴瘤诊疗中心首次提出了“破骨细胞检查点”的概念, 发现 OCs 可以显著抑制 CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞的增殖, 从而保护 MM 细胞免受特异性细胞毒 T 淋巴细胞的杀伤, 该研究从肿瘤免疫的角度, 解释了 MM 细胞激活大量 OCs 的原因<sup>[51]</sup>。Treg 细胞和 Breg 细胞在 TME 中的作用也不可忽视。MM 患者循环 Tregs 比例较正常供者显著升高, 且表达更高水平的 CD38, CD38 单抗能够下调 Tregs 比例并抑制 Tregs 对 Tcons 的免疫抑制作用<sup>[52]</sup>。Breg 细胞则通过与 MM 细胞的相互作用参与了 MM 免疫抑制性微环境的构建调节<sup>[53]</sup>。CIN 和 TME 还存在协同作用, 共同导致高危 MM 的发生。CIN 相关基因 *NEK2* 通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路上调 heparanase 表达和分泌, 而 TME 中高表达的 heparanase 作用于 OC 前体, 促进单核巨噬细胞向 OC 的分化成熟, 从而导致患者骨病的发生和发展<sup>[54]</sup>。

近年来层出不穷的新药虽然对 MM 的治疗产生了有益的作用, 但随之而来的治疗选择压力所诱导的克隆演变也是不可忽视的, 清除敏感细胞的同时留下了耐药肿瘤细胞, 可能进一步导致耐药和复发。CORRE 等<sup>[46]</sup>对进行相同周期和方案治疗的 MM 患者的肿瘤细胞进行测序, 证实了治疗压力选择诱导的克隆演变, 且耐药和复发不仅可以由新出现的突变诱导产生, 还可由原本存在的克隆突变诱导产生。近期淋巴瘤诊疗中心通过对 MM 患者标本进行前后序贯分析首次发现大多数患者治疗后残留浆细胞(plasma cells, PCs)中仍可检测到细胞遗传学异常, 且肿瘤细胞在治疗选择压力下相对耐药的克隆获得生长优势, 根据不同遗传学异常的克隆大小演变规律, 将 MM 的克隆演变模式分为五组, 不同克隆演变模式的生存预后存在明显差异, 提出治疗后残留

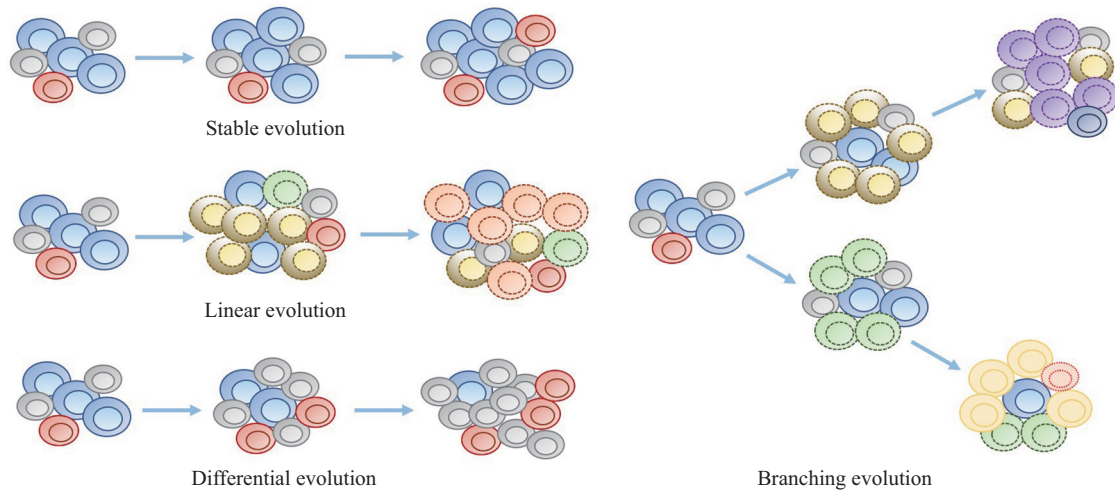


图2 多发性骨髓瘤克隆演变模式(根据参考文献[13,56,58]修改)

Fig.2 The clonal evolution models of MM (modified from references [13,56,58])

PCs的遗传学检测一定程度上可以预测患者复发时的进化模式并预测患者生存。揭示了治疗相关克隆演变是不良预后因素,同时也揭示了高危细胞遗传学异常的患者容易发生治疗相关克隆演变,提示高危患者之所以治疗效果不佳,与其具有更多的克隆异质性和基因组不稳定有关<sup>[55]</sup>。该中心另一项研究在单细胞水平分析了MM患者的复发进展时的克隆演变模式,发现了克隆异质性是MM患者的共同特征,大多数的患者在初诊时已存在3或4个亚克隆,并将复发进展的克隆演变模式分为四种,发现克隆稳定型患者的总生存和复发后生存时间较分化型、分枝型和线性型患者明显延长。提示克隆演变模式对生存预后的重要意义,强调了MM复发进展后重复进行细胞遗传学评估的重要性<sup>[56]</sup>。近期该团队在国际骨髓瘤大会报告了进一步的研究成果,应用多基因定量荧光原位杂交(quantitative multi-gene fluorescence in situ hybridization, QM-FISH)检测技术在单细胞水平探索患者复发进展时的克隆演变与传统FISH具有高度一致性和互补性,指出了QM-FISH是一种可以有效研究克隆演变的技术,并揭示了具有1q21扩增及拷贝数对RRMM患者预后的影响<sup>[57]</sup>。

目前MM的克隆演变模式可以总结为以下4种<sup>[13,56,58]</sup>(图2): ① 克隆稳定型,即多次复发进展,遗传学异常基本不变,复发时没有新的亚克隆出现,也没有现有的亚克隆消失; ② 线性进展型,即随着复发进展,不断出现新的克隆并成为优势克隆,既往克隆

仍然存在; ③ 分枝进展型,即在每一次复发进展中出现新的克隆成为优势克隆,而之前的克隆消失; ④ 分化进展型,即诊断时的优势克隆消失或减少为次要克隆,而亚克隆显示出生长优势,复发时转为优势克隆。

### 2.3 克隆演变的临床意义

克隆演变可导致疾病复发进展和对化疗的耐药,是MM难以治愈的重要原因。持续存在的微小残留病(minimal residual disease, MRD)与不良预后相关,被认为是MM复发的根本原因。PAIVA等<sup>[59]</sup>通过对MRD的表型及基因组进行分析首次报道了MRD的生物学特性,发现治疗诱导的克隆演变在MRD阶段已经存在,其中具有耐药性的PCs具有特定的表型特征。标危和高危的MM患者在治疗后都达到完全缓解的情况下,后者的预后往往不如前者,最近一项研究通过分析MRD肿瘤细胞解释了这一现象,标危细胞遗传学异常往往有更大的克隆选择性,但高危细胞遗传学异常往往具有更大的基因不稳定性,使得MRD中的PCs更易突变,造成不良预后<sup>[60]</sup>。这提示我们不仅要了解MM的发病机制和遗传学异常,更应该重视应用高敏感技术手段进行MRD的检测,根据患者克隆演变模式调整治疗方案,将高敏感性( $10^{-6}$ )MRD阴性作为新的治疗终点被认为是推动MM治愈的重要策略<sup>[61]</sup>。此外,免疫微环境和治疗选择压力对克隆演变的影响也应在临床治疗中引起重视。

## 3 结语与展望

MM的遗传学异常及克隆演变对于MM的诊

断、个体化治疗及预后判断具有重要意义。遗传学异常是影响MM预后的核心因素, 克隆演变是MM进展中的常见现象和重要形式, 提示MM可能存在更佳的治疗时机和治疗靶点有待更多的研究。不同MM个体之间具有异质性, 且在MM发展阶段同样具有异质性, 因此应多次规范检测遗传学异常, 了解其克隆演变过程, 将MM视为一个动态靶标, 考虑所用药物的类型、组合以及治疗时长, 设定更加有效的个体化治疗方案。

### 参考文献 (References)

- [1] VAN DE DONK N W C J, PAWLYN C, YONG K L. Multiple myeloma [J]. *Lancet*, 2021, 397(10272): 410-27.
- [2] DUTTA A K, HEWETT D R, FINK J L, et al. Cutting edge genomics reveal new insights into tumour development, disease progression and therapeutic impacts in multiple myeloma [J]. *Br J Haematol*, 2017, 178(2): 196-208.
- [3] MORGAN G J, WALKER B A, DAVIES F E. The genetic architecture of multiple myeloma [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(5): 335-48.
- [4] MANIER S, SALEM K Z, PARK J, et al. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(2): 100-13.
- [5] VAN DE DONK N, PAWLYN C, YONG K L. Multiple myeloma [J]. *Lancet*, 2021, 397(10272): 410-27.
- [6] WALLINGTON-BEDDOE C T, MYNOTT R L. Prognostic and predictive biomarker developments in multiple myeloma [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 151.
- [7] DUTTA A K, FINK J L, GRADY J P, et al. Subclonal evolution in disease progression from MGUS/SMM to multiple myeloma is characterised by clonal stability [J]. *Leukemia*, 2019, 33(2): 457-68.
- [8] CHNG W J, DISPENZIERI A, CHIM C S, et al. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2014, 28(2): 269-77.
- [9] PALUMBO A, AVET-LOISEAU H, OLIVA S, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: a report from international myeloma working group [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(26): 2863-9.
- [10] NEUSE C J, LOMAS O C, SCHLIEMANN C, et al. Genome instability in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 2887-97.
- [11] MAURA F, BOLLI N, ANGELOPOULOS N, et al. Genomic landscape and chronological reconstruction of driver events in multiple myeloma [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3835.
- [12] BUSTOROS M, SKLAVENTIS-PISTOFIDIS R, PARK J, et al. Genomic profiling of smoldering multiple myeloma identifies patients at a high risk of disease progression [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(21): 2380-9.
- [13] AWADA H, THAPA B, AWADA H, et al. A comprehensive review of the genomics of multiple myeloma: evolutionary trajectories, gene expression profiling, and emerging therapeutics [J]. *Cells*, 2021, doi: 10.3390/cells10081961.
- [14] PAWLYN C, MORGAN G J. Evolutionary biology of high-risk multiple myeloma [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(9): 543-56.
- [15] VARMA A, SUI D, MILTON D R, et al. Outcome of multiple myeloma with chromosome 1q gain and 1p deletion after autologous hematopoietic stem cell transplantation: propensity score matched analysis [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2020, 26(4): 665-71.
- [16] ZICCHEDDU B, DA VIA M C, LIONETTI M, et al. Functional impact of genomic complexity on the transcriptome of Multiple Myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4366.
- [17] AN G, LI Z, TAI Y T, et al. The impact of clone size on the prognostic value of chromosome aberrations by fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2148-56.
- [18] AN G, XU Y, SHI L, et al. Chromosome 1q21 gains confer inferior outcomes in multiple myeloma treated with bortezomib but copy number variation and percentage of plasma cells involved have no additional prognostic value [J]. *Haematologica*, 2014, 99(2): 353-9.
- [19] SCHMIDT T M, BARWICK B G, JOSEPH N, et al. Gain of Chromosome 1q is associated with early progression in multiple myeloma patients treated with lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone [J]. *Blood Cancer J*, 2019, 9(12): 94.
- [20] HANAMURA I. Gain/amplification of chromosome arm 1q21 in multiple myeloma [J]. *Cancers*, 2021, doi: 10.3390/cancers13020256.
- [21] LI F, HU L, XU Y, et al. Identification of characteristic and prognostic values of chromosome 1p abnormality by multi-gene fluorescence in situ hybridization in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2016, 30(5): 1197-201.
- [22] CARDONA-BENAVIDES I J, DE RAMON C, GUTIERREZ N C. Genetic abnormalities in multiple myeloma: prognostic and therapeutic implications [J]. *Cells*, 2021, doi: 10.3390/cells10020336.
- [23] HERRERO A B, QUWAIDER D, CORCHETE L A, et al. FAM46C controls antibody production by the polyadenylation of immunoglobulin mRNAs and inhibits cell migration in multiple myeloma [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(7): 4171-82.
- [24] BINDER M, RAJKUMAR S V, KETTERLING R P, et al. Prognostic implications of abnormalities of chromosome 13 and the presence of multiple cytogenetic high-risk abnormalities in newly diagnosed multiple myeloma [J]. *Blood Cancer J*, 2017, 7(9): e600.
- [25] CORRE J, PERROT A, CAILLOT D, et al. del(17p) without TP53 mutation confers a poor prognosis in intensively treated newly diagnosed patients with multiple myeloma [J]. *Blood*, 2021, 137(9): 1192-5.
- [26] HOANG P H, CORNISH A J, SHERBORNE A L, et al. An enhanced genetic model of relapsed IGH-translocated multiple myeloma evolutionary dynamics [J]. *Blood Cancer J*, 2020, 10(10): 101.
- [27] AN G, XU Y, SHI L, et al. t(11;14) multiple myeloma: a subtype associated with distinct immunological features, immunophenotypic characteristics but divergent outcome [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(10): 1251-7.
- [28] MAO X H, ZHUANG J L, ZHAO D D, et al. IgH translocation with undefined partners is associated with superior outcome in

- multiple myeloma patients [J]. *Eur J Haematol*, 2020, 105(3): 326-34.
- [29] JOVANOVIĆ K K, ROCHE-LESTIENNE C, GHOBRIAL I M, et al. Targeting MYC in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2018, 32(6): 1295-306.
- [30] BOYLE E M, ASHBY C, TYTARENKO R G, et al. BRAF and DIS3 mutations associate with adverse outcome in a long-term follow-up of patients with multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(10): 2422-32.
- [31] MULLIGAN G, LICHTER D I, DI BACCO A, et al. Mutation of NRAS but not KRAS significantly reduces myeloma sensitivity to single-agent bortezomib therapy [J]. *Blood*, 2014, 123(5): 632-9.
- [32] WALKER B A, BOYLE E M, WARDELL C P, et al. Mutational spectrum, copy number changes, and outcome: results of a sequencing study of patients with newly diagnosed myeloma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(33): 3911-20.
- [33] GU C, WANG W, TANG X, et al. CHEK1 and circCHEK1\_246aa evoke chromosomal instability and induce bone lesion formation in multiple myeloma [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 84.
- [34] ZHOU W, YANG Y, XIA J, et al. NEK2 induces drug resistance mainly through activation of efflux drug pumps and is associated with poor prognosis in myeloma and other cancers [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(1): 48-62.
- [35] FRANQUI-MACHIN R, HAO M, BAI H, et al. Destabilizing NEK2 overcomes resistance to proteasome inhibition in multiple myeloma [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(7): 2877-93.
- [36] QIN Y, ZHANG S, DENG S, et al. Epigenetic silencing of miR-137 induces drug resistance and chromosomal instability by targeting AURKA in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2017, 31(5): 1123-35.
- [37] 陈丽娟, 安刚. 多发性骨髓瘤遗传学检测专家共识[J]. 中华医学遗传学杂志(CHEN L J, AN G. The consensus for genetic detection in multiple myeloma [J]. *Chin J Med Genet*), 2019, 36(2): 99-102.
- [38] ZANG M, ZOU D, YU Z, et al. Detection of recurrent cytogenetic aberrations in multiple myeloma: a comparison between MLPA and iFISH [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 34276-87.
- [39] 安刚, 李承文, 李倩, 等. 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 (AN G, LI C W, LI Q, et al. Influence of immunogenetic sorting on detecting genetic aberration of multiple myeloma cells by interphase fluorescence in situ hybridization [J]. *Journal of Experimental Hematology*), 2011, 19(1): 54-8.
- [40] ROSS F M, AVET-LOISEAU H, AMEYE G, et al. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders [J]. *Haematologica*, 2012, 97(8): 1272-7.
- [41] NOWELL P C. The clonal evolution of tumor cell populations [J]. *Science*, 1976, 194(4260): 23-8.
- [42] JELINEK D F, AHMANN G J, GREIPP P R, et al. Coexistence of aneuploid subclones within a myeloma cell line that exhibits clonal immunoglobulin gene rearrangement: clinical implications [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(21): 5320-7.
- [43] CHAPMAN M A, LAWRENCE M S, KEATS J J, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma [J]. *Nature*, 2011, 471(7339): 467-72.
- [44] KEATS J J, CHESI M, EGAN J B, et al. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2012, 120(5): 1067-76.
- [45] EGAN J B, SHI C X, TEMBE W, et al. Whole-genome sequencing of multiple myeloma from diagnosis to plasma cell leukemia reveals genomic initiating events, evolution, and clonal tides [J]. *Blood*, 2012, 120(5): 1060-6.
- [46] CORRE J, CLEYNEN A, ROBIU DU PONT S, et al. Multiple myeloma clonal evolution in homogeneously treated patients [J]. *Leukemia*, 2018, 32(12): 2636-47.
- [47] BACH D H, ZHANG W, SOOD A K. Chromosomal instability in tumor initiation and development [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(16): 3995-4002.
- [48] ROCCARO A M, SACCO A, MAISO P, et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma progression [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(4): 1542-55.
- [49] LLOYD M C, CUNNINGHAM J J, BUI M M, et al. Darwinian dynamics of intratumoral heterogeneity: not solely random mutations but also variable environmental selection forces [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(11): 3136-44.
- [50] SUZUKI K, NISHIWAKI K, YANO S. Treatment strategy for multiple myeloma to improve immunological environment and maintain MRD negativity [J]. *Cancers*, 2021, doi: 10.3390/cancers13194867..
- [51] AN G, ACHARYA C, FENG X, et al. Osteoclasts promote immune suppressive microenvironment in multiple myeloma: therapeutic implication [J]. *Blood*, 2016, 128(12): 1590-603.
- [52] FENG X, ZHANG L, ACHARYA C, et al. Targeting CD38 suppresses induction and function of T regulatory cells to mitigate immunosuppression in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15): 4290-300.
- [53] ZHANG L, TAI Y T, HO M, et al. Regulatory B cell-myeloma cell interaction confers immunosuppression and promotes their survival in the bone marrow milieu [J]. *Blood Cancer Journal*, 2017, doi: 10.1038/bcj.2017.24.
- [54] HAO M, FRANQUI-MACHIN R, XU H, et al. NEK2 induces osteoclast differentiation and bone destruction via heparanase in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2017, 31(7): 1648-50.
- [55] AN G, YAN Y, XU Y, et al. Monitoring the cytogenetic architecture of minimal residual plasma cells indicates therapy-induced clonal selection in multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2020, 34(2): 578-88.
- [56] YAN Y, QIN X, LIU L, et al. Clonal phylogeny and evolution of critical cytogenetic aberrations in multiple myeloma at single cell level [J]. *Blood*, 2020, 136(Sup1): 43-4.
- [57] YAN Y, QIN X, LIU J, et al. Clonal phylogeny and evolution of critical cytogenetic aberrations in multiple myeloma at single cell level by QM-FISH [J]. *Blood Adv*, 2021, doi: 10.1182/bloodadvances.2021004992.
- [58] DAGOGO-JACK I, SHAW A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 81-94.
- [59] PAIVA B, CORCHETE L A, VIDRIALES M B, et al. Phenotypic and genomic analysis of multiple myeloma minimal residual disease tumor cells: a new model to understand chemoresistance [J]. *Blood*, 2016, 127(15): 1896-906.
- [60] GOICOECHEA I, PUIG N, CEDENA M T, et al. Deep MRD profiling defines outcome and unveils different modes of treatment resistance in standard- and high-risk myeloma [J]. *Blood*, 2021, 137(1): 49-60.
- [61] RODRIGUEZ-OTERO P, PAIVA B, SAN-MIGUEL J F. Roadmap to cure multiple myeloma [J]. *Cancer Treat Rev*, 2021, 100: 102284.