DOI:10.16016/j.1000-5404.202003335

新型 CD45 阴性细胞分选技术在多发性骨髓瘤细胞遗传学检测中的临床应用

陈 果[1],曾韫璟[1],王 平[1],邓小娟[1],项 颖[2],李云龙[3],彭贤贵[1],高 力[1],张 曦[1] 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院血液病医学中心,全军血液病中心,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[1];400030 重庆,重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤科[2];401420 重庆,重庆市綦江区人民医院血液内科[3]

[**摘要**] **目的** 探讨新型 CD45 阴性细胞分选技术在多发性骨髓瘤中筛选和富集肿瘤浆细胞的临床价值。**方法** 纳入 2018 年 7 月至 2019 年 12 月重庆市 3 家医院 60 例初诊骨髓瘤患者,每例患者抽取骨髓液 3~4 mL,均分为两份,一份直接行流式细胞仪和 FISH 检测(直接检测组),另一份先行新型 CD45 阴性细胞分选,之后行流式细胞仪和 FISH 检测(CD45 分选组)。比较每位患者分选前后骨髓液中浆细胞的比例、细胞遗传学异常检出率和危险度分层的情况。**结果** 骨髓液直接检测组浆细胞的比例为(14.5±13.8)%,采用新型 CD45 阴性细胞分选技术处理后浆细胞比例明显增高为(51.5±30.3)%(P<0.001),分选组浆细胞比例平均为直接检测组(分选前)的 7.69 倍。骨髓液直接检测组 17 例患者检出细胞遗传学异常,而新型 CD45 阴性细胞分选后有 39 例患者检出细胞遗传学异常,检出率显著增高(P<0.001),IgH 重排、13q14 缺失、1q21 扩增和 17p 缺失的检测阳性率在分选后均显著增高。根据 mSMRAT3.0 标准,直接检测组高危患者仅占 28.3%,而新型 CD45 阴性细胞分选后高危患者的比例明显增高(P=0.002),占 53.3%。**结论** 新型 CD45 阴性细胞分选技术简单易行,提高骨髓瘤细胞遗传学异常检出率,准确进行危险度分层以指导治疗,可以推广至基层医院。

[**关键词**] CD45 阴性细胞分选;多发性骨髓瘤;细胞遗传学异常
[**中图法分类号**] R329-33; R394.2; R733.3 [**文献标志码**] A

Clinical application of a novel CD45-negative cell sorting in cytogenetic detection of multiple myeloma

CHEN Guo[1], ZENG Yunjing[1], WANG Ping[1], DENG Xiaojuan[1], XIANG Ying[2], LI Yunlong[3], PENG Xiangui[1], GAO Li[1], ZHANG Xi[1] [1]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Medical Center of Hematology, PLA Center for Hematology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037; [2]Department of Hematologic Oncology, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing, 400030; [3]Department of Hematology, Qijiang People's Hospital, Chongqing, 401420, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the clinical value of a novel CD45-negative cell sorting technology in sorting and enriching tumor plasma cells in multiple myeloma (MM). **Methods** A total of 60 newly diagnosed MM patients from 3 hospitals in Chongqing from July 2018 to December 2019 were recruited in this study. Bone marrow samples of 3~4 mL were taken from each patient and divided into 2 parts. One part (direct detection group) was directly detected by flow cytometry and FISH, and the other part (CD45 sorting group) was subjected to the novel CD45-negative cell sorting, followed by flow cytometry and FISH. The proportion of plasma cells in bone marrow, detection rate of cytogenetic abnormalities and risk stratification were compared in every patient before and after sorting. **Results** The proportion of plasma cells in bone marrow samples was (14.5±13.8)% and (51.5±30.3)%, respectively, in the direct detection group and CD45 sorting group, with that of the latter group 7.69 times higher than that of the former group (P<0.001).

[**基金项目**] 重庆市技术创新与应用示范(社会民生类)一般项目资助(CSTC2018jscx-msybX0045);重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(CSTC2016shms-ztzx10003)

[**通信作者**] 高 力,E-mail:1575423600@qq.com

Direct FISH indicated 17 cases of cytogenetic abnormality, while FISH after CD45 sorting found 39 patients having cytogenetic abnormalities ($P<0.001$). The positive rates of IgH rearrangement, 13q14 deletion, 1q21 amplification and 17p deletion were all increased significantly after sorting. According to mSMRAT3.0 standard, only 28.3% of the patients were identified at high risk before sorting, but the number was increased significantly after sorting (accounting for 53.3%, $P=0.002$). **Conclusion** The new CD45 negative cell sorting technology is simple and easy to operate, and can improve the detection rate of cytogenetic abnormalities and accurately carry out risk stratification for guiding treatment in MM patients. Thus, this technology is worthy of promotion in primary hospitals.

[**Key words**] CD45-negative cell sorting; multiple myeloma; cytogenetic abnormality

Supported by the General Project of Technology Innovation and Application Demonstration of Chongqing (Social Livelihood, CSTC2018jscx-msybX0045) and the Science and Technology Innovation Special Project of Social Undertakings and People's Livelihood Security of Chongqing (CSTC2016shms-ztzx10003).
Corresponding author: GAO Li, E-mail: 1575423600@qq.com

多发性骨髓瘤(multiple myeloma,MM)是一种单克隆浆细胞来源的恶性肿瘤,准确的危险度分层对指导个体化治疗至关重要[1]。细胞遗传学异常被认为是其最重要的预后因素,荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization,FISH)在 MM 的细胞遗传学检测中广泛应用,但骨髓瘤患者的肿瘤浆细胞在骨髓中呈灶性分布,直接进行 FISH 检测假阴性率高。未经分选直接进行 FISH 检测,其阳性率与抽取骨髓液中的浆细胞比例呈显著正相关[2]。CD138 磁珠分选(magnetic-activated cell sorting,MACS)可以有效地筛选和富集浆细胞[3],但需要磁珠分选仪(分选架及配套分选柱或全自动磁珠分选仪)和相应的 MACS 磁珠(CD138-Beads),且该方法对人员的技术要求相对较高,在国内大部分医院难以开展。浆细胞作为 B 淋巴效应细胞,从记忆 B→活化 B→浆母细胞→成熟浆细胞 4 个分化发育阶段中,CD19、CD20、CD27、CD45、CD38、CD138、CD269、MHC Ⅱ、CXCR4 均发生不同的变化。浆母细胞和成熟浆细胞之间存在一些差异,浆母细胞表型为 $CD45^{int/high}CD19^{+}CD20^{-}CD38^{high}CD27^{high}CD269^{+}CD138^{-}$ MHC Ⅱ$^{+}$,而成熟浆细胞表型为 $CD45^{int/high}CD19^{low}CD20^{-}CD38^{high}CD27^{+}CD269^{+}CD138^{+}$ MHC Ⅱ$^{-}$ $CXCR4^{+}$。针对 CD138 这一成熟浆细胞的标志进行磁珠分选能够富集所有的成熟浆细胞,但是对于 CD138 阴性或弱表达的浆母细胞富集效果欠佳。

CD45 是白细胞共同抗原,在造血系统所有白细胞表面均有不同程度表达,CD45 阴性细胞主要包括非造血系统来源的细胞,如实体瘤细胞和造血系统中的幼稚红细胞等。在实体瘤循环肿瘤细胞的研究中 CD45 阴性细胞分选的方法被广泛应用[4-6],主要原理是通过去除外周血中 CD45 阳性的白细胞,反向富集获得 CD45 阴性的肿瘤细胞群。骨髓液中正常成熟浆细胞的 CD45 呈中等强度表达,然而多发性骨髓瘤是一种恶性克隆性浆细胞疾病,骨髓瘤细胞为肿瘤浆细胞并非正常分化发育的浆细胞,起源于较早期的 B 细胞,病变发生在 B 细胞到成熟浆细胞各个发育阶段,故可表达高度异质性的 B 细胞系抗原和浆细胞抗原。肿瘤浆细胞表型与正常浆细胞是有差异的,如约 80%多发性骨髓瘤患者的肿瘤浆细胞 CD45 表达为阴性,60%~70%的肿瘤浆细胞 CD56 表达为阳性。那么我们是否可以利用这一表型特点进行浆细胞的筛选和富集呢?因此,本研究探讨新型 CD45 阴性细胞分选技术在筛选和富集浆细胞中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

纳入 2018 年 7 月至 2019 年 12 月陆军军医大学第二附属医院、重庆大学附属肿瘤医院、重庆市綦江区人民医院初诊骨髓瘤患者共 60 例。每个患者抽取骨髓液 3~4 mL,平均分为 2 份,一份直接进行流式细胞仪浆细胞含量鉴定和细胞遗传学 FISH 检测(直接检测组),另一份先进行新型 CD45 阴性细胞分选,之后进行流式细胞仪和 FISH 检测(CD45 分选组)。本研究经中国注册临床试验伦理审查委员会审查通过(ChiECRCT-20160046)。

1.2 试剂

RosetteSep 人 CD45 四聚抗体购自美国 Stemcell 公司,Ficoll-Paque Plus 购自美国 GE Healthcare 公司,抗人 CD38-APC、CD138-PE 荧光抗体购自美国 BD 公司,IgH 重排、13q14 缺失、1q21 扩增和 17p 缺失等 FISH 探针购自北京金菩嘉医疗科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 新型 CD45 阴性细胞分选 取 EDTA 抗凝的患者骨髓液 1 mL,估算有核细胞浓度,每 10^7 个有核细胞加入 RosetteSep CD45 抗体 500 μL,充分混匀后

室温孵育 30 min,加入等体积 PBS 稀释,后将标本小心沿离心管壁加入等体积 Ficoll 液上。4 ℃,1 200 r/min 离心 15 min。将血浆与 Ficoll 之间的白膜层吸出,放入一试管中,另将红细胞层吸出放入另一试管。两份样本分别加入 PBS,然后低速低温离心,弃去上清液。分别加入荧光抗体 CD38 和 CD138 各 150 μL,混匀后室温避光孵育 15 min。

1.3.2　流式细胞仪检测　　取白膜层细胞和红细胞层细胞各 50 μL,分别加入荧光抗体 CD38 和 CD138 各 20 μL,混匀后室温避光孵育 15 min。BD FACS CANTOII 上机检测,获取有核细胞至少 10^5 个,CD45/CD38/CD138 鉴定浆细胞群。

1.3.3　FISH 检测　　按照常规方法制片、配制探针、变性杂交过夜后,检测 IgH 重排、13q14 缺失、1q21 扩增和 17p 缺失的表达,若 IgH 重排阳性,则进一步完善 t(6;14)、t(11;14)、t(4;14)、t(14;16)、t(14;20)的检测。

1.4　统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析。骨髓液中浆细胞比例通过单样本 K-S 检验分析符合正态分布,采用配对样本 t 检验;FISH 检测结果采用配对样本卡方检验。检测水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　患者基本情况

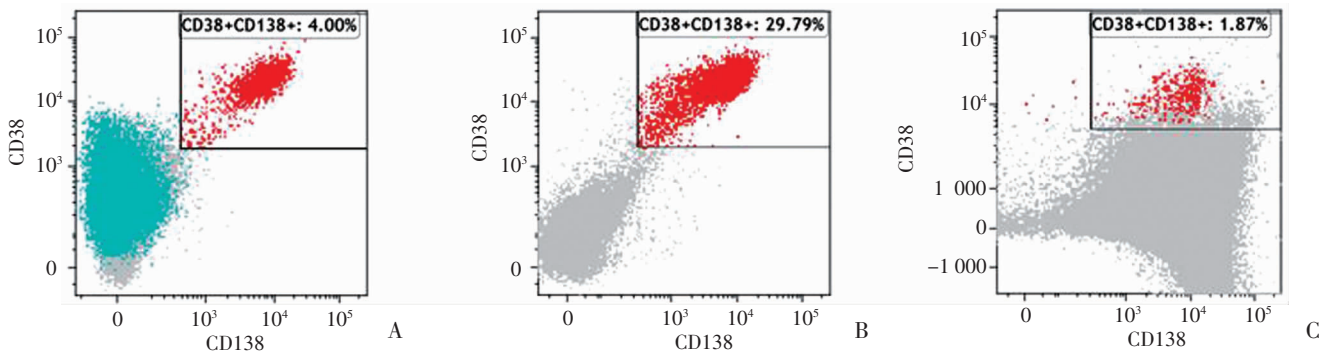
60 例初诊的骨髓瘤患者中,男性较多,占 71.7%,年龄 35~81 岁,中位年龄 61 岁,IgG 型最多占 53.3%,其次为轻链型和 IgA 型分别占 21.7%和 16.7%;初诊时Ⅱ~Ⅲ期患者占 80%(表 1)。

2.2　流式细胞仪检测浆细胞比例

流式细胞仪直接检测(分选前)骨髓液中浆细胞的比例为 0.2%~60.2%(14.5%±13.8%),而采用新型 CD45 细胞阴性分选技术处理后(分选后)浆细胞比例明显增高,为 0.5%~97.8%(51.5%±30.3%),差异有统计学意义($P<0.01$,图 1、2),其中 49 例患者分选后浆细胞比例大于 20%,仅有 7 例患者分选后浆细胞比例小于 10%。分选后浆细胞比例平均为分选前的 7.69 倍,最高达 68.4 倍;但其中有 4 例患者分选后浆细胞比例较前下降,为分选前的 30%~90%。从临床特征分析,这 4 例患者均为男性、IgG 型,其中 3 例为 ISS 分期Ⅲ期,1 例为 ISS 分期Ⅰ期,均有不同程度的骨质破坏。显微镜观察 4 例患者的骨髓涂片形态,发现浆细胞为胞体小、染色质粗的成熟浆细胞,而瘤样变原幼浆细胞少见;流式细胞仪检测显示上述患者的肿瘤浆细胞 CD45 表达阳性或弱阳性。同时,对分选后红细胞中的浆细胞也采用流式细胞仪检测,结果显示浆细胞比例平均为 4.63%(0.0%~40.4%),其中接近 80%的患者在分选后红细胞层中的浆细胞小于 5%,仅有 3 例患者红细胞层中的浆细胞比例高于白膜层中的骨髓瘤细胞比例,其中 2 例大于 20%,这 3 例均为分选后浆细胞比例下降的患者。

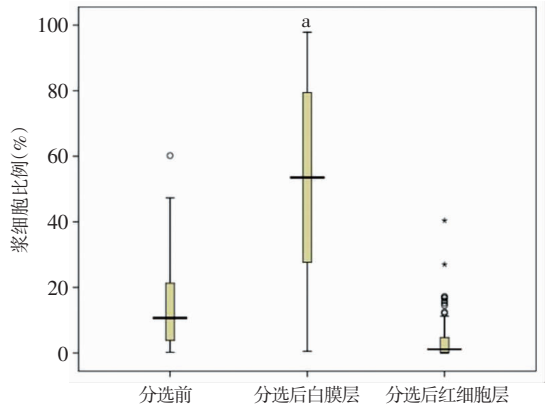
表 1　患者基本情况($n=60$)

基本情况	例(%)
性别	
男	43(71.7)
女	17(28.3)
疾病分型	
IgG 型	32(53.3)
IgA 型	10(16.7)
IgD 型	3(5.0)
轻链型	13(21.7)
不分泌型	2(3.3)
ISS 分期	
Ⅰ期	12(20.0)
Ⅱ期	21(35.0)
Ⅲ期	27(45.0)



A:直接检测组浆细胞比例;B:CD45 分选组分选后白膜层中浆细胞比例;C:CD45 分选组分选后红细胞层浆细胞比例

图 1　两种方式检测患者浆细胞比例



a:$P<0.01$,与分选前比较

图 2 流式细胞仪检测 60 例患者分选前后浆细胞比例

2.3 FISH 的检测结果

直接检测组(分选前)60 例患者有 17 例(28.3%)检测出细胞遗传学异常,其中 IgH 重排 12 例、13q14 缺失 12 例、1q21 扩增 15 例和 17p 缺失 5 例;CD45 分选组(分选后)60 例患者共 39 例检测出细胞遗传学异常,检出率为 65.0%,较直接检测组显著增高($P<0.001$),其中 IgH 重排 27 例、13q14 缺失 25 例、1q21 扩增 27 例和 17p 缺失 14 例,其阳性率均明显高于直接检测组($P<0.05$,表 2)。但分选后浆细胞比例下降的患者中有 3 例因骨髓液中细胞较少无法进行 FISH 检测。

表 2 两组患者遗传学异常检出率的比较[$n=60$,例(%)]

组别	IgH 重排	13q14 缺失	1q21 扩增	17p 缺失
直接检测组	12(20.0)	12(20.0)	15(25.0)	5(8.3)
CD45 分选组	27(45.0)	25(41.7)	27(45.0)	14(23.3)
P 值	0.006	0.017	0.035	0.043

2.4 危险度分层结果

根据 mSMRAT3.0 骨髓瘤危险度分层标准(www.msmart.org),直接检测组标危患者占大多数,为 43 例(71.7%),高危患者 17 例(28.3%);而 CD45 分选组,标危患者减少为 25 例(41.7%),高危患者增加至 32 例(53.3%),两组患者的危险度分层差异有统计学意义($P=0.002$,表 3),但 CD45 分选组有 3 例患者细胞较少不能进行 FISH 检测,故无法进行危险度分层。

表 3 两组患者危险度分层结果比较[$n=60$,例(%)]

组别	标危	高危	无法分类
直接检测组	43(71.7)	17(28.3)	0(0.0)
CD45 分选组	25(41.7)	32(53.3)	3(5.0)
P 值		0.002	

3 讨论

多发性骨髓瘤(MM)来源于单克隆浆细胞,目前仍是一种不可治愈的恶性肿瘤,危险度分层的差异导致了预后显著不同,故准确的危险度分层对治疗方案的选择至关重要[7-9]。细胞遗传学异常目前仍是 MM 最重要的预后因素,FISH 被广泛用于骨髓瘤患者细胞遗传学的检测,但由于肿瘤浆细胞为灶性分布,骨髓液直接检测阳性率低,因此需要先对浆细胞进行富集分选。目前经典的方法是 CD138 磁珠分选,但国内大部分医院不具备磁珠分选的仪器设备,检测时间较长、成本也较高,因此需要探索适合我国医疗条件的新的浆细胞分选技术方法。

细胞分选的方法包括阳性细胞分选和阴性细胞分选,近年来实体肿瘤外周血中循环肿瘤细胞的分选采用的是 CD45 阴性细胞分选,主要利用 RosetteSep™ Human CD45 这种新型的双特异性抗体四聚体复合物(tetrameric antibody complexes,TAC),一端结合白细胞表面的 CD45,另一端结合成熟红细胞表面的血型糖蛋白 A(CD235a)并相互交联使红细胞在白细胞周围形成花环样结构,其密度较大,而不表达 CD45 的循环肿瘤细胞不与红细胞交联故而密度较小,因此经过密度梯度离心后循环肿瘤细胞得以和其他细胞分离。

在正常骨髓中只有幼稚红细胞 CD45 表达阴性,包括正常成熟浆细胞在内的所有白细胞 CD45 表达均为阳性。但骨髓瘤患者的肿瘤浆细胞常出现抗原漂移,比如 CD45、CD19 的丢失,CD38、CD28 的异常减弱等,绝大部分多发性骨髓瘤患者的肿瘤浆细胞 CD45 为阴性表达。基于此,本研究利用 RosetteSep™ Human CD45 抗体去除 CD45 阳性细胞,从而富集和分选获得 CD45 阴性的肿瘤浆细胞,建立一种新型的 CD45 阴性细胞分选技术。

本结果显示,骨髓液经新型 CD45 阴性细胞分选技术处理后,流式细胞仪检测浆细胞的比例明显增高,从直接检测组的 14.5%增加到 51.5%,分选后浆细胞比例平均为直接检测组的 7.69 倍,提示新型 CD45 阴性细胞分选技术能够分选和富集浆细胞;而且 80%的患者红细胞层中的浆细胞比例小于 5%,显示新型 CD45 阴性细胞分选技术处理后残留在红细胞层中的浆细胞是极少的。但有 4 例患者分选后浆细胞比例较前下降,其中 3 例患者红细胞层中浆细胞比例高于分

选后白膜层中浆细胞的比例。进一步研究结果显示采用新型 CD45 阴性细胞分选技术后,患者细胞遗传学异常的检出率明显提高,IgH 重排、13q14 缺失、1q21 扩增和 17p 缺失的阳性率均明显高于直接检测组,因此也改变了患者的危险度分层。但 3 例分选后浆细胞比例下降的患者因骨髓中浆细胞过少无法进行 FISH 检测。这 4 例患者分选结果不理想的原因主要和其肿瘤浆细胞 CD45 弱阳性或阳性表达相关,虽然典型的肿瘤浆细胞 CD45 表达为阴性,但有 10%~20%的骨髓瘤患者肿瘤浆细胞 CD45 的表达为弱阳性或阳性[10]。因此,采用 CD45 阴性细胞分选技术处理后 CD45 阳性的肿瘤浆细胞被红细胞交联、沉积,导致极少部分患者红细胞层中富集较多的浆细胞,分选后的浆细胞比例反而低于直接检测组从而影响分选的效果。另外,我们从形态上发现这 4 例患者骨髓中主要为成熟浆细胞,瘤样变原幼浆细胞少见,提示 CD45 阴性细胞分选可能对肿瘤样原幼浆细胞的富集更有优势,但仍需要进一步累积病例以明确二者相关性。

CD138 免疫磁珠阳性分选后浆细胞比例理论上可达 90%以上,虽然新型 CD45 阴性细胞分选技术达不到该效果,但有研究表明当骨髓标本中浆细胞比例超过 10%~20%时,直接 FISH 检测和 CD138 免疫磁珠分选后检测的结果无统计学差异[2],有研究认为 20%可能是 FISH 出现假阴性结果的分界点[11-12]。本研究中超过 80%的患者分选后骨髓标本中浆细胞比例大于 20%,很大程度降低了假阴性结果的出现。本研究分选后 FISH 总检出率达到 65.0%,接近研究报道的 CD138 免疫磁珠分选后 FISH 异常检出率 80.0%左右的水平[11-13]。虽然新型 CD45 阴性细胞分选技术不可避免地去除了 CD45 阳性的异常浆细胞,但这部分细胞在患者中的比例较低,有研究显示 CD45 阴性异常浆细胞在骨髓瘤晚期患者中比例更高,与骨病和高密度血管新生相关,而且 CD45 阴性异常浆细胞占主导的患者总体生存率低于 CD45 阳性异常浆细胞为主的患者[4,14]。因此,新型 CD45 阴性细胞分选技术可能对高危的多发性骨髓瘤患者的识别有一定的意义,而本研究也显示分选后高危患者的比例从 28.3%增加到 53.3%,对于危险度分层改变的患者根据指南可给予更积极的治疗方案,有利于改善患者的预后。

免疫磁珠分选的方法分离细胞纯度高,但对样本量要求较高至少 4 mL 以上,需要专门的设备、耗材,分选时间约数小时,成本较高;而新型 CD45 阴性细胞分选技术虽然分离细胞纯度中等,但样本量仅需 1~2 mL,分选时间仅 30 min 且成本较低,操作简单,适合在我国基层医院推广。

综上,新型 CD45 阴性细胞分选技术简单易行,提高骨髓瘤细胞遗传学异常检出率,准确进行危险度分层以指导治疗,可以推广至基层医院。但因为骨髓中幼稚红细胞 CD45 的表达也为阴性,所以未来该技术还可以考虑通过加入其他 RosetteSep™ 抗体等方法进一步优化。

参考文献:

[1] SONNEVELD P, AVET-LOISEAU H, LONIAL S, *et al*. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group[J]. Blood, 2016, 127(24): 2955-2962. DOI:10.1182/blood-2016-01-631200.

[2] 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, 2011, 19(1): 54-58.
AN G, LI C W, LI Q, *et al*. Influence of immunomagnetic sorting on detecting genetic aberration of multiple myeloma cells by interphase fluorescence in situ hybridization[J]. J Exp Hematol, 2011, 19(1): 54-58.

[3] FONSECA R, BERGSAGEL P L, DRACH J, *et al*. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review[J]. Leukemia, 2009, 23(12): 2210-2221. DOI:10.1038/leu.2009.174.

[4] GONSALVES W I, TIMM M M, RAJKUMAR S V, *et al*. The prognostic significance of CD45 expression by clonal bone marrow plasma cells in patients with newly diagnosed multiple myeloma[J]. Leuk Res, 2016, 44: 32-39. DOI:10.1016/j.leukres.2016.03.003.

[5] KALLERGI G, POLITAKI E, ALKAHTANI S, *et al*. Evaluation of isolation methods for circulating tumor cells (CTCs)[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(3/4): 411-419. DOI:10.1159/000452556.

[6] WANG G K, BENASUTTI H, JONES J F, *et al*. Isolation of Breast cancer CTCs with multitargeted buoyant immunomicrobubbles[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2018, 161: 200-209. DOI:10.1016/j.colsurfb.2017.10.060.

[7] D'AGOSTINO M, BERTAMINI L, OLIVA S, *et al*. Pursuing a curative approach in multiple myeloma: a review of new therapeutic strategies[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(12):

E2015. DOI:10.3390/cancers11122015.

[8] MINA R, BONELLO F, PETRUCCI M T, *et al*. Carfilzomib, cyclophosphamide and dexamethasone for newly diagnosed, high-risk myeloma patients not eligible for transplant: a pooled analysis of two studies[J]. Haematologica, 2020. [Online ahead of print]. DOI: 10.3324/haematol.2019.243428.

[9] LI X Z, CHEN W M, WU Y, *et al*. 1q21 gain combined with high-risk factors is a heterogeneous prognostic factor in newly diagnosed multiple myeloma: a multicenter study in China[J]. Oncologist, 2019, 24(11): e1132-e1140. DOI: 10.1634/theoncologist.2019-0132.

[10] FLORES-MONTERO J, DE TUTE R, PAIVA B, *et al*. Immunophenotype of normal *vs*. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2016, 90(1): 61-72. DOI:10.1002/cyto.b.21265.

[11] 高露, 刘清, 师岩, 等. 应用 CD138 免疫磁珠分选结合荧光原位杂交技术检测多发性骨髓瘤细胞遗传学异常[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(3): 807-812. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2017.03.031.
GAO L, LIU Q, SHI Y, *et al*. Application of CD138 immunomagnetic sorting myeloma cells combined with fluorescence *in situ* hybridization for detecting cytogenetic abnormalities of multiple myeloma[J]. J Exp Hematol, 2017, 25(3): 807-812. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2017.03.031.

[12] LAI Y Y, HUANG X J, CAI Z, *et al*. Prognostic power of abnormal cytogenetics for multiple myeloma: a multicenter study in China[J]. Chin Med J, 2012, 125(15): 2663-2670.

[13] 吴昊, 张慧, 何海燕, 等. 532 例多发性骨髓瘤患者细胞遗传学异常及对预后的影响[J]. 中华血液学杂志, 2017, 38(9):739-743. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.09.002.
WU H, ZHANG H, HE H Y, *et al*. Cytogenetic abnormalities and prognosis of 532 patients with multiple myeloma[J]. Chin J Hematol, 2017, 38(9):739-743. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.09.002.

[14] KUMAR S, RAJKUMAR S V, KIMLINGER T, *et al*. CD45 expression by bone marrow plasma cells in multiple myeloma: clinical and biological correlations[J]. Leukemia, 2005, 19(8): 1466-1470. DOI:10.1038/sj.leu.2403823.

(**收稿**:2020-03-26;**修回**:2020-05-04)

(编辑 汪勤俭)