



## Plasmazellmyelom (Multiples Myelom, medulläres Plasmozytom)

### Diagnostische Empfehlung

Methode	Antikoagulans	Empfehlung
Zytomorphologie	EDTA	obligat
Immunphänotypisierung	EDTA oder Heparin	fakultativ
Chromosomenanalyse	Heparin	nein
FISH (nach CD138+ Separation)	EDTA oder Heparin	obligat
Molekulargenetik	EDTA oder Heparin	fakultativ

Das Plasmazellmyelom (nach WHO) oder auch multiple Myelom (MM) ist durch eine maligne Plasmazellvermehrung im Knochenmark charakterisiert und geht mit einer erhöhten Produktion monoklonaler Immunglobuline einher, welche meist im Serum als M-Gradient nachweisbar sind.

Die Diagnostik bei vermutetem oder gesichertem multiple Myelom ist vielschichtig und umfasst neben der Zytomorphologie unbedingt auch die Histologie, bildgebende Verfahren sowie Untersuchungen aus dem Serum und Urin wie Immunfixation oder Immunelektrophorese und Bestimmung der Leichten Ketten. Darüber hinaus haben die genetischen Methoden – derzeit in erster Linie die FISH-Analytik an vorher mittels Separation auf CD138 positive Plasmazellen verdichtetem Material – eine wichtige Bedeutung für die Festlegung der Prognose. Die Immunphänotypisierung kann ebenfalls in vielen Fällen wertvolle Hinweise geben, da sie mit hoher Sensitivität aberrante Expressionsmuster auf den Plasmazellen, und damit Monoklonalität nachweisen kann.

### Klassifikation

Das multiple Myelom zählt laut WHO-Klassifikation 2017 innerhalb der reifen B-Zellneoplasien zur Gruppe der Plasmazellneoplasien.

### MM WHO-Klassifikation 2017 (Swerdlow et al. 2017)

#### Reife B-Zell Neoplasie

- Plasmazellneoplasien
  - Plasmazellmyelom (MM)

Abhängig von der Konzentration des M-Proteins im Serum und dem Anteil der Plasmazellen im Knochenmark werden die asymptomatischen Phasen „monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz“ (MGUS) und smoldering multiple myeloma (SMM) unterschieden. Ein Übertritt zum symptomatischen Myelom erfolgt bei Patienten mit MGUS mit einer Wahrscheinlichkeit von 1% pro Jahr, während das Progressionsrisiko bei Patienten mit SMM in den ersten 5 Jahren 10% pro Jahr beträgt.

### Risikoeinteilung nach International Staging System (ISS), Laktatdehydrogenase und FISH

Zur Identifizierung der Risikogruppe wird eine Kombination aus International Staging System (ISS; siehe Tabelle 1), Laktatdehydrogenase im Serum und Zytogenetik mittels FISH empfohlen (Moreau et al. Ann Oncol. 2017). Für die zytogenetische Diagnostik empfiehlt die International Myeloma Working Group mindestens die Durchführung von FISH-Analysen zur Detektion der 17p Deletion und der Translokation t(4;14). Eine für die Risikostratifizierung hilfreiche Erweiterung stellen Analysen zur Detektion von 1q Zugewinnen und 1p Deletionen sowie der t(14;16) und t(14;20) dar (Sonneveld et al. 2016).

Tabelle 1: International Staging System und Risikofaktoren (ESMO-Leitlinie: Moreau et al. 2017)

#### International Staging System (ISS) (P. Greipp et al. 2005)

Stadium	Kriterien
I	Serum $\beta$ 2M <3,5 mg/l und Serumalbumin $\geq$ 3,5 g/dl
II	Nicht Stadium I oder III
III	Serum $\beta$ 2M $\geq$ 5,5 mg/l

	Hochrisiko	Standardrisiko
LDH	> ULN	< ULN
Zytogenetik	t(4;14), t(14;16), del(17p) zusätzlich t(14;20), 1q Zugewinn (Sonneveld et al. 2016)	alle anderen, inklusive t(11;14), t(6;14) (Sonneveld et al. 2016)

$\beta$ 2M =  $\beta$ 2 Mikroglobulin, LDH = Laktatdehydrogenase, ULN = upper limit of normal

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Genexpressionsanalysen für Patienten mit MM von hoher prognostischer Relevanz sind und die Kombination von Genexpressionsprofilen mit dem ISS einen bedeutenden prognostischen Faktor darstellt (Shaughnessy et al. 2007, Kuiper et al. 2015). In absehbarer Zeit werden auch molekulare Marker zur Routine gehören, BRAF Mutationen haben schon jetzt therapeutische Relevanz.



## Fakten

25%

der MM-Patienten haben keine Symptome bei Diagnosedstellung (Onkopedia Leitlinie Multiples Myelom)

## Diagnostik

### Zytomorphologie

#### Wichtig zur Differenzierung von MM, MGUS und SMM

Die zytomorphologische Untersuchung von Knochenmarkaspiraten oder -biopsien auf Plasmazell-Infiltration wird standardmäßig zur Beurteilung von Anzahl und Charakteristik der Plasmazellen im Knochenmark durchgeführt. Dies dient in erster Linie zur Abgrenzung des MM vom MGUS und SMM (siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2: Diagnostische Kriterien zur Abgrenzung von MM, MGUS und SMM**

Charakteristik	MGUS	SMM	MM
Anteil Plasmazellen im KM	< 10%	≥ 10%	≥ 10%
Endorganschäden*	keine	keine	vorhanden

\*CRAB-Kriterien: Hyperkalzämie, Niereninsuffizienz, Anämie, Knochenläsionen

### Immunphänotypisierung

Bei Nachweis eines Paraproteins oder bei klinischem Verdacht auf ein MM kann die Immunphänotypisierung in Ergänzung zu anderen Methoden (Immunhistologie) hinzugezogen werden. Auch für die Verlaufsdagnostik nach Therapie des MM ist die Immunphänotypisierung hilfreich und zur Bestimmung der minimalen Resterkrankung (MRD) zunehmend etabliert. Sie wird als Studienendpunkt diskutiert.

#### CD45, CD19, CD56 und CD138 sind relevante Oberflächenmarker beim MM

Maligne Plasmazellen zeigen im Vergleich zu gesunden Plasmazellen oftmals eine verminderte oder fehlende Expression des Pan-Leukozytenantigens CD45 sowie des B-Zellmarkers CD19. Darüber hinaus fällt in vielen Fällen eine aberrante Expression des Antigens CD56 auf, welches normalerweise auf Plasmazellen nicht relevant exprimiert wird.

#### Abgrenzung zu MGUS und Zuordnung der Plasmazellpopulation

Auf zytoplasmatischer Ebene ist der Nachweis einer Leichtkettenrestriktion möglich. Somit trägt die Immunphänotypisierung zur Abgrenzung einer benignen Plasmazellvermehrung von einer Plasmazelldyskrasie (MM oder MGUS) bei. An zytomorphologisch eingeschränkt beurteilbaren Knochenmarkaspiraten oder bei MM mit extrem atypischen Plasmazellen in der Zytomorphologie gelingt anhand der Immunphänotypisierung eine eindeutige Zuordnung der Plasmazellpopulation. Ferner kann die Immunphänotypisierung bei Paraproteinämien unklarer Genese zur Abgrenzung von anderen B-Zell-Lymphomen beitragen.

### Chromosomenanalyse

#### Aberrante Plasmazellen nur schwer detektierbar mittels Chromosomenanalyse

In der klassischen Chromosomenanalyse werden die aberranten Plasmazellen aufgrund der geringen Proliferationsaktivität *in vitro* meist nicht erfasst. Daher hat die FISH-Analyse an Interphase-Kernen beim MM einen zentralen Stellenwert. Nach Anreicherung durch die magnet-aktivierte Zellsortierung (MACS) für CD138<sup>+</sup>-Plasmazellen wird ein Reinheitsgrad an Plasmazellen sogar bei MGUS von zumeist > 80% erreicht, auch wenn der Infiltrationsgrad im nativen Knochenmark sehr viel niedriger ist. Durch die Anreicherung von CD138<sup>+</sup>-Zellen lassen sich mittels FISH dann in 90% aller MM chromosomale Veränderungen nachweisen mit Beweis der Monoklonalität, aber viel wichtiger: mit großer prognostischer Relevanz.

### Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)

#### Differenzierung hyperdiploides und nicht-hyperdiploides MM

Die FISH-Analyse besitzt beim MM einen besonderen Stellenwert. Mittels FISH wurden bei 88-97% aller Fälle chromosomale Veränderungen nachgewiesen. Zytogenetisch lässt sich die hyperdiploide-Gruppe von der nicht-hyperdiploiden-Gruppe unterscheiden (Sawyer et al. 2011):

#### Zytogenetische Unterscheidung des MM (International Myeloma Working Group, IMWG):

- ☑ **Hyperdiploides MM**
  - 50-60% der Patienten
  - multiple Trisomien, v.a. der Chromosomen 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 und 21
- ☑ **Nicht-hyperdiploides MM**
  - 30% der Patienten
  - unter Involvierung des IGH-Locus und Monosomien, v.a. der Chromosomen 13, 14, 16 und 22
- ☑ • 9-15% der Patienten zeigen multiple Trisomien und eine Translokation unter Involvierung des IGH-Locus. Das **hyperdiploide MM** findet sich bei etwa 50-60% der Patienten und zeichnet sich durch multiple Trisomien, insbesondere der Chromosomen 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 und 21, sowie eine Assoziation mit einer günstigeren Prognose aus. Strukturelle Chromosomenaberrationen sind in dieser Gruppe seltener zu finden.

Das **nicht-hyperdiploide MM** umfasst ca. 30% der Patienten. Charakteristisch hierfür sind hypodiploide/pseudodiploide Chromosomensätze und eine hohe Inzidenz von Translokationen unter Involvierung des IGH-Locus. Chromosomenverluste betreffen meist die Chromosomen 13, 14, 16 und 22. Rearrangements des IGH-Locus mit den häufigsten Translokationspartnern CCND1 (11q13), FGFR3 (4p16), MAF (16q23), MAFB (20q12) und CCND3 (6p21) beeinflussen die Expression eines Cyclin D-Gens und führen so zu einer Fehlregulation des Zellzyklus (Bergsagel et al. 2005).

Ferner zeigen 9 - 15% der Patienten sowohl multiple Trisomien als auch ein Rearrangement des IGH-Locus.

Weitere strukturelle Aberrationen, die bei Myelomen gehäuft auftreten, sind Zugewinne von 1q und 11q, Deletionen von 1p, 6q, 8p, 13q, 14q, 16q und 17p sowie MYC-Rearrangements.



Häufige *IGH*-Rearrangements und zytogenetische Aberrationen sind in Tabelle 3 und der folgenden Aufzählung zusammengefasst.

**Tabelle 3: Häufige Rearrangements des *IGH*-Locus**

Translokation	Inzidenz
t(4;14)(p16;q32) <i>IGH-FGFR3</i> -Rearrangement	6-22%
t(14;16)(q32;q23) <i>IGH-MAF</i> -Rearrangement	3-5%
t(14;20)(q32;q12) <i>IGH-MAFB</i> -Rearrangement	1-1,5%
t(11;14)(q13;q32) <i>IGH-CCND1</i> -Rearrangement	15-23%
t(6;14)(p21;q32) <i>IGH-CCND3</i> -Rearrangement	< 1%

(Nach Sawyer et al. 2011, Morgan et al. 2012, Avet-Loiseau et al. 2013, An et al. 2015)

### Molekulargenetik

#### Mutationen betreffen häufig MEK/ERK- und NFκB-Signalweg

Über 50% der Patienten mit multiplem Myelom weisen eine Mutation in einer Komponente des MEK/ERK-Signalwegs auf. So finden sich in 19 - 24% bzw. 21 - 27% der Patienten eine *NRAS*- bzw. *KRAS*-Mutation und in 4 - 7% eine *BRAF*-Mutation, wobei sich diese Mutationen nahezu gegenseitig ausschließen und nur in etwa 2% der Patienten gemeinsam auftreten (Chapman et al. Nature 2011, Walker et al. 2015).

Ferner zeigen etwa 17% der Patienten den NFκB-Signalweg betreffende Mutationen (z.B. in den Genen *TRAF3* und *CYLD*). Mutationen im *TP53*-Gen, die bei 3 - 8% der Patienten auftreten, sind mit der *del(17p)* und einer ungünstigen Prognose assoziiert. Außerdem finden sich rekurrente Mutationen und Deletionen beispielsweise in weiteren Tumorsuppressorgenen, wie *FAM46C*, *DIS3* und *RB1*, sowie in den für Rezeptortyrosinkinasen codierenden Genen *PDGFRA* und *JAK3*. (Chapman et al. 2011, Mulligan et al. 2014, Bolli et al. 2014, Walker et al. 2015) Bei Patienten mit einer *t(11;14)* wurde ein signifikantes Auftreten von *CCND1*-Mutationen beschrieben, während Patienten mit einem hyperdiploiden Karyotyp gehäuft Mutationen im *EGR1*-Gen aufweisen (Walker et al. 2015).

### Prognose

#### *IGH*-Rearrangements haben unterschiedliche Prognose

Translokationen betreffen meist den *IGH*-Locus mit den häufigen Translokationspartnern *CCND1* (11q13), *FGFR3* (4p16), *MAF* (16q23), *MAFB* (20q12) und *CCND3* (6p21). Tabelle 4 zeigt die prognostische Bedeutung der verschiedenen *IGH*-Rearrangements.

**Tabelle 4: Prognose häufiger *IGH*-Rearrangements**

Translokation	Prognose
t(4;14)(p16;q32) <i>IGH-FGFR3</i> -Rearrangement	ungünstig
t(14;16)(q32;q23) <i>IGH-MAF</i> -Rearrangement	ungünstig
t(14;20)(q32;q12) <i>IGH-MAFB</i> -Rearrangement	ungünstig
t(11;14)(q13;q32) <i>IGH-CCND1</i> -Rearrangement	günstig
t(6;14)(p21;q32) <i>IGH-CCND3</i> -Rearrangement	günstig

(Nach Sonneveld et al. 2016)

#### Prognose häufiger struktureller Aberrationen: Zugewinne, Deletionen und *MYC*-Rearrangements

Die prognostische Bedeutung der häufigsten strukturellen Aberrationen ist in Tabelle 5 zusammengefasst.

#### Zugewinne

1q Zugewinne gehen mit einer Krankheitsprogression und einer kürzeren Überlebenszeit einher (Avet-Loiseau et al. 2012).

#### Deletionen

1p Deletionen sind mit einer ungünstigen Prognose assoziiert, wobei die Prognose bei einer Deletion der Region 1p32 ungünstiger ist als bei einer Deletion der Region 1p22 (Hebraud B. et al. 2013 und 2015). Die publizierte Assoziation von mittels FISH detektierten 13q Deletionen mit einer ungünstigen Prognose basiert auf dem gehäuftem Vorkommen zusammen mit den prognostisch ungünstigen Aberrationen *t(4;14)* und *del(17p)* (Fonseca et al. 2009, Neben K et al. 2010 und 2012). Hingegen gehen mithilfe der konventionellen Chromosomenanalyse nachgewiesene *del(13q)* mit einer ungünstigeren Prognose einher (Chiecchio et al. 2006). 17p Deletionen sind mit einer ungünstigen Prognose assoziiert, wobei es weiterer Studien zur Klärung bedarf, ab welcher Klongröße der negative Einfluss zum Tragen kommt (An G et al. 2015).



### MYC-Rearrangements und Amplifikationen

Rearrangements und Amplifikationen des MYC-Gens treten in der Regel in einem späteren Stadium auf und gehen mit einer ungünstigen Prognose einher – so wird diese Aberration bei ca. 45% der Patienten mit fortgeschrittenem multiplem Myelom beobachtet (Morgan et al. 2012, Walker et al. 2014).

**Tabelle 5: Prognose verschiedener struktureller Aberrationen**

Aberration	Prognose
1q Zugewinn	ungünstig
1p Deletion	ungünstig
13q Deletion	-
17p Deletion	ungünstig
MYC-Rearrangement	ungünstig
6q Deletion	-
8p Deletion	-
11q Zugewinn	günstig
12p Deletion	ungünstig
16q Deletion	ungünstig

(Munshi, Avet-Loiseau 2011, Avet-Loiseau et al. 2012; Morgan et al. 2012, Neben et al. 2012, Avet-Loiseau et al. 2013, An et al. 2015)

### Prognostische Relevanz von Trisomien bei TP53 Deletion unklar

Ob das Vorliegen von Trisomien die Prognose von Patienten mit gleichzeitiger 17p Deletion, t(4;14), t(14;16) oder t(14;20) verbessert, wird kontrovers diskutiert. Die widersprüchlichen Resultate dürften unter anderem durch die unterschiedlichen in den Studien angewandten Therapieprotokolle bedingt sein (Kumar et al. 2012, Pawlyn et al. 2015). Zudem wurde für einzelne Trisomien ein divergenter prognostischer Effekt beschrieben. Während Trisomien der Chromosomen 3 und 5 positiven Einfluss auf das Überleben nehmen, führt die Trisomie 21 zu einer Verschlechterung der Prognose (Chretien et al. 2015).

### Kombiniertes Auftreten ungünstiger Aberrationen verschlechtert Prognose

Für die prognostisch ungünstigen Aberrationen t(4;14), t(14;16), t(14;20), 1q Zugewinn und del(17p) wurde gezeigt, dass der negative Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei alleinigem Vorkommen geringer ist, als wenn gleichzeitig mehrere dieser Aberrationen vorliegen (Boyd et al. 2012). Bei Auftreten der t(4;14) oder del(17p) verschlechtert sich die Prognose unabhängig vom ISS-Stadium (Avet-Loiseau et al. 2013).

## Therapie

### Therapieprotokolle mit Bortezomib verbessern Prognose bei t(4;14)-Patienten

Mit Bortezomib enthaltenden Therapieprotokollen konnte die sehr ungünstige Prognose für Patienten mit t(4;14) verbessert werden (Avet-Loiseau et al. 2010, Chng et al. 2014). Auch Patienten mit del(17p) profitierten von Bortezomib, wenn dieses vor und nach autologer Stammzelltransplantation eingesetzt wurde (Neben et al. 2012). Allerdings führte der Einsatz von Bortezomib bei autologer Stammzelltransplantation zu keiner prognostischen Verbesserung bei Patienten, die sowohl eine t(4;14) als auch eine del(17p) aufwiesen, was jedoch durch autologe Doppel-Stammzelltransplantation und Bortezomib enthaltende Therapieregime teilweise umgangen werden konnte (Cavo et al. 2013).

Patienten mit einer NRAS-Mutation, jedoch nicht Patienten mit einer KRAS-Mutation, sprechen schlechter auf Bortezomib an, wohingegen bei einer Therapie mit Dexamethason kein Einfluss der NRAS-Mutation auf das Ansprechen und die Zeit bis zur Progression nachgewiesen wurde (Mulligan et al. 2014).

### BRAF V600E-Mutation: Prädiktor für gutes Therapieansprechen bei MM in frühem Stadium

Der Nachweis einer BRAF V600E-Mutation ist beim MM im frühen Stadium mit einem guten Therapieansprechen auf Alkylanzien, Immunmodulatoren und Proteasom-Inhibitoren assoziiert (Rustad et al. 2015). Nach der derzeitigen Studienlage führt dies jedoch nicht zu einer verbesserten Prognose (Verlängerung PFS oder OS). Inwieweit eine zielgerichtete Therapie mit dem BRAF-Inhibitor Vemurafenib zu einer Verbesserung der Prognose führt bleibt abzuwarten. Es besteht damit auf jeden Fall eine zielgerichtete Therapiemodalität.

## Weitere Plasmazellneoplasien

### MGUS und SMM: unterschiedliche Symptomatik aber genetische Gemeinsamkeiten mit MM

Patienten mit monoklonaler Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) und smoldering multiple myeloma (SMM) weisen nicht die klinischen Symptome der Patienten mit multiplem Myelom (MM) auf, bezüglich genetischer Veränderungen finden sich allerdings sehr viele Gemeinsamkeiten. Für verschiedene Chromosomenaberrationen wurde gezeigt, dass sie bereits in der asymptomatischen Vorstufe vorlagen, die Frequenz der Aberration aber mit dem Progress der Erkrankung zunahm (Lopez-Corral et al. 2012).

### MGUS

Etwa 40% der Patienten mit MGUS zeigen einen hyperdiploiden Chromosomensatz. Rearrangements unter Involvierung des IGH-Locus sind bei 30 - 40% der Patienten zu beobachten, wobei die t(11;14) (20%), t(4;14) (2%) und t(14;16) (1%) die häufigsten Translokationen darstellen (Chiecchio et al. 2009, Bacher et al. 2010). Für die Rearrangements t(14;16) und t(14;20), welche bei Patienten mit multiplem Myelom mit einer ungünstigen Prognose assoziiert sind, konnte bei MGUS Patienten keine prognostische Relevanz nachgewiesen werden (Boyd et al. 2012). Die Inzidenz von 13q Deletionen ist bei der MGUS geringer (20%) als beim multiplen Myelom (45 - 58%).

### SMM

Für Patienten mit SMM wurden Risikogruppen hinsichtlich der Progression zum symptomatischen Myelom in Abhängigkeit von den häufigsten chromosomalen Veränderungen definiert. So wurde für die t(4;14) und del(17p) gezeigt, dass sie mit einem erhöhten Progressionsrisiko einhergehen und die Patienten schneller behandlungsbedürftig werden (Rajkumar et al. 2013). Einer Studie zufolge besteht diese Assoziation zudem für 1q



Zugewinne (Neben K. et al. 2013). Multiple Trisomien sind beim SMM ebenfalls mit einer kürzeren Zeit bis zur Progression zum symptomatischen Myelom assoziiert, jedoch verändert sich die prognostische Bedeutung der Hyperdiploidie im Krankheitsverlauf und geht bei Patienten mit multiplen Myelom mit einer günstigeren Prognose einher (Neben et al. 2013). Die del(13q) und t(11;14) haben keinen signifikanten Einfluss auf die Progression der Erkrankung (Rajkumar et al. 2013). Dementsprechend werden bei der Diagnose eines SMM zur Risikoklassifizierung FISH-Analysen zur Detektion von 1q Zugewinnen, der Deletionen 17p, 13q und 1p sowie der Translokationen t(11;14), t(4;14) und t(14;16) empfohlen (Ghobrial et al. 2014).

#### Referenzen

Die zugehörigen Referenzen finden Sie hier:

<https://www.mll.com/diagnostisches-angebot/reife-b-zellneoplasien/multiples-myelom-mm.html#referenzen>