

A plazmasejtes mielóma genetikai sajátosságai és patológiája

TIMÁR BOTOND

Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Timár Botond, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.
Telefon: +36-20-8250255,
e-mail: timar.botond@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2016. január 5.

Elfogadva:

2016. február 23.

A plazmasejtes mielóma elsősorban az idősebb populációt érintő betegség, amelyet daganatos plazmasejtek okoznak. A jelenlegi tudásunk alapján a mielómát tünetmentes klonális plazmasejt-szaporulat előzi meg, amit monoklonális gammopátiának nevezünk. A mielóma patogenezisének genetikai hátteréről egyre többet tudunk, de összességében még mindig jóval kevesebbet, mint számos más jól jellemzett hematológiai malignitás esetén. Ennek egyik oka, hogy a malignus plazmasejtek, azok alacsony proliferációs készsége miatt nehéz hagyományos citogenetikai módszerekkel vizsgálni. Az elmúlt években, az új molekuláris technikák (génexpressziós profil meghatározása, újgenerációs szekvenálás) térhódításával viszont egyre több információ jut a birtokunkba, amellyel a betegség kialakulásának, progressziójának háttere egyre tisztábbá válik. Az összefoglaló ezeknek a régebbi és újabb ismereteknek egy részébe nyújt betekintést. Magyar Onkológia 60:145–153, 2016

Kulcsszavak: mielóma, genetika, plazmasejt, szubklonális

Plasma cell myeloma is a heterogeneous hematologic malignancy of plasma cells, occurring dominantly in the elderly population. It is now accepted that all myeloma cases are preceded by a clinically silent expansion of clonal plasma cells, known as monoclonal gammopathy of undetermined significance. Our knowledge on the genetics of myeloma is still limited and lags behind other well-characterized hematological malignancies. One of the reasons of this fact is the difficulty to induce metaphases within the malignant plasma cell population. With the development of new molecular techniques (microarrays and next generation sequencing), our understanding of the pathogenesis and progression of myeloma has been highly improved in the past years. This review offers an insight into this newly gained knowledge.

Timár B. The pathology and genetic background of myeloma. Hungarian Oncology 60:145–153, 2016

Keywords: plasma cell, myeloma, genetics, subclonality

BEVEZETÉS

A plazmasejtes daganatok (immunszekretoros megbetegedések) a B-sejt-differenciáció utolsó fázisát elérő sejtek daganatos megbetegedései. A malignus plazmasejtekre a monotipikus immunglobulin- (Ig) termelés, vagy az immunglobulin egyes polipeptid alegységeinek a termelése jellemző, ami a szérum és vizelet elektroforézise során, mint M-komponens látható. Azokat az immunszekretoros megbetegedéseket, ahol csak plazmasejtek vannak jelen, plazmasejtes neopláziáknak nevezzük, míg azokat, ahol a plazmasejtek mellett a limfociták is a betegség alkotóelemei közé tartoznak, a limfómák közé soroljuk (1). A plazmasejtes betegségek osztályozása jelenleg a WHO (World Health Organization) 2008-as ajánlása alapján történik. A plazmasejtes daganatok csoportjába klinikai, biológiai viselkedésükben eltérő entitások tartoznak (1. táblázat).

1. TÁBLÁZAT. A plazmasejtes daganatok WHO-osztályozása

- Monoklonális gammopátia, nem meghatározott szignifikanciával (MGUS)
- Plazmasejtes mielóma variánsok:
 - Aszimptomatikus (parázsló, „smoldering”) mielóma
 - Nem szekretoros mielóma
 - Plazmasejtes leukémia
- Plazmocitóma
 - Szoliter csontplazmocitóma
 - Extramedulláris plazmocitóma
- Immunglobulin-depozíciós betegségek
 - Primer amiloidózis
 - Szisztémás könnyű- és nehézlánc-betegség
- Oszteoszklerotikus mielóma (POEMS-szindróma)

Az osztályozás diagnosztikai kritériumait a nemzetközi mielómavizsgáló csoport (International Myeloma Working Group, IMWG) szokta frissíteni, amelyek közül a 2014-es a legújabb (1, 2) (2. táblázat).

MGUS – A PLAZMASEJTÉS MIELÓMA PREKURZORA

A mielómát, mint egy genetikailag heterogén, klonális plazmasejtes betegséget, a jelenleg elfogadott álláspont alapján majdnem mindig egy tünetmentes stádium előzi meg, amelyet monoklonális gammopátiának (monoclonal gammopathy of unknown significance, MGUS) nevezünk. Az MGUS az 50 év feletti populáció 3-4%-át érinti. Az MGUS diagnózisának feltétele, hogy kizárhatók legyenek az olyan tünetek [hiperkalcémia (C), veseelégtelenség (R), anémia (A), csontlézíók (B) – ún. CRAB-tünetek], amelyeket egy háttérben lévő plazmasejtes betegség (plazmasejtes mielóma, Waldenström-makroglobulinémia, primer amiloidózis vagy más daganatos plazmasejtes betegség) okozhat, és hogy a csontvelői plazmasejtarány ne haladja meg a 10%-ot. A mielómák 80%-a nem-IgM típusú M-komponenst hordozó MGUS (non-IgM MGUS), 20%-a könnyűlánc-MGUS

talaján alakul ki. IgM-MGUS esetén, a progresszió során Waldenström-makroglobulinémia alakul ki. Az IgM-MGUS csak nagyon ritkán progrediál mielómába. Az MGUS-esetek progressziója mielómába átlagosan 0,5%-1%/évre tehető, de ezt több tényező is befolyásolhatja (1, 2).

2. TÁBLÁZAT. MGUS, mielóma és „smoldering” mielóma definíciója a legújabb ajánlások alapján (2)

DEFINIÍCIÓ	
Non-IgM MGUS	<ul style="list-style-type: none"> – Szérum monoklonális protein (non-IgM típus) <30 g/l – Klonális csontvelői plazmasejtarány <10% – Szervi károsodás (CRAB-tünetek) hiánya, amelyek proliferatív plazmasejtes betegségekhez köthetők
IgM MGUS	<ul style="list-style-type: none"> – Szérum monoklonális protein (IgM típus) <30 g/l – Klonális csontvelői plazmasejtarány <10% – Anémia, hiperviszkozitás, limfadenopátia, hepatoszplenomegália és olyan szervi károsodás hiánya, amelyek háttérben meghúzódó limfoproliferatív betegségekhez köthetők
Plazmasejtes mielóma	<ul style="list-style-type: none"> – Klonális csontvelői plazmasejtek aránya $\geq 10\%$ vagy szövettanilag igazolt csont- ill. extramedulláris plazmocitóma és egy vagy több, az alábbi, mielómát meghatározó tényező fennállása: <ul style="list-style-type: none"> – Mielómát definiáló eltérések: <ul style="list-style-type: none"> – Szervi károsodás, amely plazmasejtes betegségre vezethető vissza (CRAB): <ul style="list-style-type: none"> – hiperkalcémia: szérum-Ca-szint 0,25 mmol/l-rel magasabb, mint a normális felső határa (2,75 mmol/l) – veseelégtelenség: kreatinin clearance <40 ml/min vagy szérumkreatinin >177 $\mu\text{mol/l}$ (>2 mg/dl) – anémia: a hemoglobinszint legalább 20 g/l-rel a normális alsó határa alá csökken vagy <100 g/l – csontlézio: egy vagy több oszteolitikus lézió, amely röntgennel, CT-vel vagy PET-CT-vel kimutatható – Egy vagy több malignitást jelző biomarker jelenléte: <ul style="list-style-type: none"> – klonális csontvelői plazmasejtarány >60% – érintett/nem érintett szérum könnyűlánc arány ≥ 100 – 1-nél több MRI-vel kimutatható fokális lézió
Aszimptomatikus „smoldering” mielóma	<ul style="list-style-type: none"> – Mindkét tényező egyidejű fennállása szükséges: <ul style="list-style-type: none"> – Szérum monoklonális protein (IgG vagy IgA) ≥ 30 g/l vagy a vizeletben megjelenő monoklonális protein ≥ 500 mg/24 h és/vagy a klonális csontvelői plazmasejtarány 10-60% közötti – Mielómát definiáló tényezők és amiloidózis hiánya

PLAZMASEJTES MIELÓMA

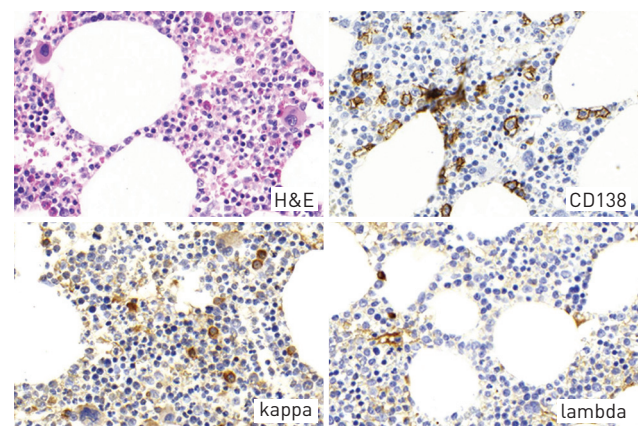
A plazmasejtes mielóma (PCM) régebbi, de máig általánosan elfogadott neve mielóma multiplex. A mielóma tumorsejtjei monoklonális intracitoplazmatikus Ig-t, legtöbbször IgG (55%) vagy IgA (20%) és ritka esetekben IgD (2%), IgE vagy IgM (1-1%) izotípust expresszálnak. Az esetek 18%-ában csak a könnyűlánc (kappa/lambda) expressziója figyelhető meg. A mielóma a leggyakoribb plazmasejtes daganat, mely elsősorban oszteolitikus csontléziókat hoz létre azáltal, hogy a csontvelőt infiltrálja. A csontvelői érintettségén túl a tumorsejtek extramedulláris infiltrátumokat is létrehozhatnak a bőrben, nyirokcsomóban és más szervekben. A WHO-klasszifikáció alapján a plazmasejtes mielómának három variánsát különböztetjük el, amelyek klinikai és biológiai viselkedésüket tekintve eltérnek a klasszikus, tüneteket okozó (szimptómás) plazmasejtes mielómától [1, 2] (1. táblázat). A nem-szekretoros mielóma az esetek 3%-át teszi ki, és az immunoglobulin szekréciójának elégtelensége jellemző rá, így az M-komponens nem mutatható ki. Ugyanakkor az esetek 85%-ában immunhisztokémiai vizsgálatokkal még kimutatható az intracitoplazmatikus klonális könnyűlánc. A maradék 15% esetén a könnyűlánc-termelés sem mutatható ki, Ig-t nem termel („nonproducer myeloma”). Aszimptomatikus vagy régebbi nevén „smoldering” (parázsló) mielóma esetén a diagnosztikus kritériumok megegyeznek a szimptómás mielóma kritériumaival, de a szervkárosodást okozó eltérések, CRAB-tünetek nélkül (2. táblázat). Ezek az esetek klinikailag MGUS-szerűen viselkednek, de sokkal magasabb arányban alakulnak át szimptómás mielómába. A plazmasejtes mielómák kb. 2%-ában fordul elő leukémiás vérkép. A plazmasejtes leukémia diagnosztikus kritériuma, hogy a keringő tumorsejtek száma nagyobb legyen, mint 2 G/l vagy a fehérvérsejtek több mint 20%-át alkossa. Ez a kép jelentkezhet a betegség diagnózisának időpontjában, ilyenkor a kórképet primer plazmasejtes leukémiának hívjuk, de kifejlődhet a mielóma terminális fázisában is, amit szekunder plazmasejtes leukémiának nevezünk. A betegség klinikai viselkedése agresszív, a túlélés kemoterápia mellett is rövid, átlagosan 7 hónap.

PLAZMASEJTES BETEGSÉGEK PATOLÓGIAI DIAGNOSZTIKÁJA

A betegség diagnosztikája klinikai, laboratóriumi, morfológiai és képalkotó eljárásokon alapul. A klinikai, laboratóriumi markerek mellett a mielóma diagnosztikájának legérzékenyebb módszere a csontvelő-biopsziás mintavétel. A biopsziás minta méretére vonatkozóan nincs olyan jellemző alsó határ, amely alapján a plazmasejtes betegség kizárható lenne. Általánosságban az 1,5 cm hosszú, nem szubkortikális velőűröket tartalmazó biopszia már elfogadható. Az egyedül a csontvelő-aspirátumon alapuló diagnózis az irodalom szerint is megbízhatatlan. Az aspirátum ugyanakkor fontos a plazmasejtes betegség mellett előforduló mielodiszplázia megítéléséhez,

valamint áramláscitometriai és citogenetikai vizsgálatokhoz. A malignus plazmasejtek (mielómasejtek) az aspirálást követően nagyon hamar szétesnek, így a vizsgálatok mielőbbi elvégzése nagyon fontos. Az aspirátumban, különösen annak áramláscitometriai vizsgálata során a plazmasejtarányt a fent említett okok miatt gyakran alulbecsüljük. Ennek ellenére az áramláscitometriának a fenotípusvizsgálatok miatt fontos szerepe van.

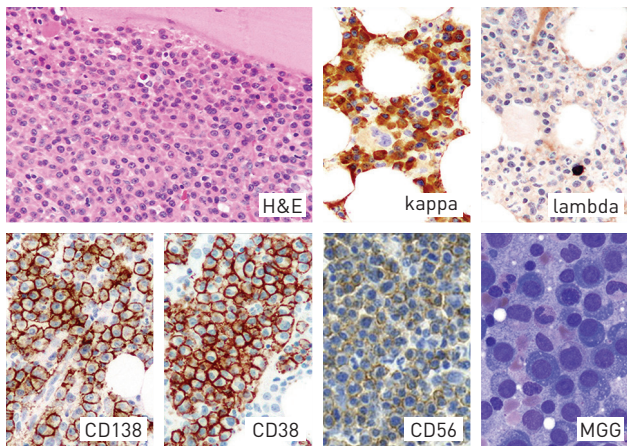
A mielóma morfológiai alapú diagnosztikájának egyik legfontosabb eleme a plazmasejtek citológiai megjelenésének, infiltrációs mintázatának és az infiltráció mértékének megítélése. Reaktív plazmasejt-szaporulat és MGUS esetén a plazmasejtek elszórtan helyezkednek el, esetleg kisebb sejtcsoportokban vagy perivaszkulárisan (1. ábra). Mielóma esetén az infiltrátum lehet intersticiá-



1. ÁBRA. MGUS-ra jellemző csontvelői morfológia. Hematoxilin-eozin (H&E) festéssel a metszetben a szabályos, teljes kiérést mutató vérképzés látható, és csak elszórtan láthatók plazmasejtek. CD138 elleni antitesttel jól láthatóvá válik az alacsony plazmasejtarány. Kappa és lambda könnyűláncokkal jelentős kappa-túlsúly figyelhető meg (10:1 feletti), ami kielégíti a klonalitás mértékét

lis, fokális vagy diffúz. Ebben az esetben is megfigyelhető a perivaszkuláris lokalizáció, de ezt gyakran már nem lehet észrevenni a nagy kiterjedésű aggregátumok, plazmasejtes mezők jelenléte miatt. Irodalmi adatok alapján a szimptomatikus mielómák csak 5%-ában van 10% alatti csontvelő-infiltráció. Amennyiben a plazmasejtek aránya a csontvelő cellularitásának legalább 60%-át teszi ki, a mielóma terápiát igénylő betegségnek tekintendő, mivel az ilyen esetek 90%-a két éven belül szimptómás formába progrediál [2-4].

A plazmasejtek citológiai megjelenése a plazmablasztos morfológia kivételével nem befolyásolja a prognózist. A plazmasejtek és azok aberráns fenotípusának kimutatásához immunhisztokémiai és áramláscitometriai vizsgálatok is alkalmasak. Az immunhisztokémiai vizsgálatok segítségével megállapíthatjuk az infiltráció pontos mértékét, a plazmasejtek proliferációját, a klonalitást, valamint segítségünkre lehet a differenciáldiagnosztikában is (2. ábra).



2. ÁBRA. Mielóma multiplex csontvelő-érintettsége a releváns immunhisztokémiai vizsgálatokkal. A H&E metszetekben jól látható a jelentős fokú plazmasejtes infiltráció, amely a velőürrészetet kitölti. A plazmasejtek intenzív CD138- és CD38-expresszió mellett egyértelműen kappa intracitoplazmatikus könnyűláncot fejeznek ki és CD56-pozitívak. A May-Grünwald-Giemsa (MGG) festett kenet ábráján jól láthatók a szabályos plazmasejteknél nagyobb plazmasejtek, excentrikus maggal, a magok jelentős részében megfigyelhető nukleolusszal

A normális plazmasejtek poliklonális immunglobulin-expresszió mellett CD19-, CD138- és intenzív CD38-jelölődést mutatnak. A mielómasejtek hasonlóan erős CD38-jelölődés mellett CD138-pozitívak és monoklonális citoplazmatikus immunglobulint expresszálnak, az esetek 70-80%-ában aberráns CD56-expresszióval, de majdnem mindig CD19-negatívak és általában a többi pan-B-sejtes markert (CD20, PAX5, CD22) sem fejezik ki [5]. Az esetek egy kisebb része mutathat CD20-expressziót, ami a terápia szempontjából fontos lehet. A CD79a-t a mielómasejtek majdnem mindig kifejezik, ami pan-B-markerként a legtöbb B-sejtes betegségben is kimutatható. A MUM-1 fehérjét mind a normális plazmasejtek, mind a mielómasejtek expresszálják. A CD56-negatív esetek rosszabb prognosztikai csoportot alkotnak [6]. Fontos megemlíteni, hogy a periférián keringő plazmasejtek általában már nem expresszálják a CD56-ot. Az említetteknél ritkábban használt, de hasznos marker még a CD28, ami szintén a kóros mielómasejteken pozitív, valamint a CD27, amely viszont az esetek 50%-ában negatív [7]. A CD81 is használható differenciáldiagnosztikai marker, mivel a normális plazmasejtek expresszálják, a neoplasztikus plazmasejtek pedig negatívak vagy gyenge kifejeződést mutatnak. Az utóbbi három markert elsősorban áramlási citometriával vizsgálhatjuk. A plazmasejtek klonalitását leggyakrabban a csontbiopsziás mintán immunhisztokémiai vagy aspirátumból áramláscitometriai módszerekkel, a kappa és lambda könnyűláncok expressziójának arányával határozzuk meg. Poliklonális, reaktív esetekben enyhe kappa-túlsúly látható (2-3:1), de egyes MGUS-esetek is mutathatnak ilyen mintázatot. A monoklonalitást általában a könnyűláncok

teljes restriktiója jellemzi. A ciklin D1 expressziója egyértelműen kóros fenotípust jelent, és az esetek 20-25%-ában kimutatható, aminek hátterében a t(11;14) transzlokáció áll (lásd a mielóma genetikai hátterénél) [8].

A mielóma genetikai eltéréseinek detektálása a rutinvizsgálatok szintjén jelenleg a citogenetikai, azon belül is a FISH (fluoreszcencia *in situ* hibridizáció) vizsgálatokat jelenti. A gyenge „*ex vivo*” életképességű mielómasejtek nemcsak a csontbiopszián kívüli morfológiai és immunfenotípus-vizsgálatokat (pl. áramlási citometria) teszik nehezebbé, hanem a klasszikus sávtechnikán alapuló citogenetikai vizsgálatokat is. A legtöbb esetben ugyanis nagyon alacsony a proliferációra bírható sejtek aránya, és így a vizsgálatok eredménye nagyon gyakran a nagyobb osztódási arányt mutató háttérvérképzést reprezentálja, és így fals negatív eredményt ad.

A MIELÓMA SEJTEREDETE

A plazmasejtek a B-sejt-differenciáció terminális fázisát reprezentálják. Az onkogén transzformáció elsődleges eltérései az eddigi tudásunk szerint nagy valószínűséggel a másodlagos nyirokszervek centrum germinativumaiban zajlanak az IgH szomatikus hipermutációja (somatic hypermutation, SHM) és/vagy az izotípusváltás (class switch recombination, CSR) folyamata során. Ennek bizonyítéka a malignus plazmasejtek immunglobulin nehézlánc génjének (IgH) magas szomatikus mutációs aránya, amely nem mutat heterogenitást. A monoklonális immunglobulin típusa IgG vagy IgA, és csak nagyon ritkán IgM vagy IgD, ami az izotípusváltáson átesett sejtekre jellemző, és így további bizonyítékul szolgál arra, hogy a sejtek primer eltérései a centrum germinativumban történnek. A mielómás esetekben megfigyelhető, IgH-t érintő visszatérő kromozómatranszlokációk közül a t(4;14) kizárólag a kapcsoló régiókat érinti, ami szintén CSR által vezérelt folyamatra utal [9]. Ez viszont ellentmondásban áll azzal, hogy általában az IgH gént érintő transzlokációk gyakrabban alakulnak ki a B-sejt-fejlődés korai (pro-B-sejt) szakaszában, a csontvelőben, az IgH-génátrendeződés fázisa alatt. Újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a szintén visszatérő eltérések közé tartozó t(11;14) és t(14;20) transzlokációk 20-25%-a már a génátrendeződés korai, DH-JH rekombinációs szakaszában létrejön [9]. Az IgH gén újgenerációs szekvenálásával (next generation sequencing, NGS) a mielómás betegek egy kis részében (4%) két független, különböző IgH-génátrendeződést mutató klónt sikerült azonosítani, ami felveti annak a lehetőségét is, hogy egyes klónok már korábban, az IgH-génátrendeződés előtt kialakulnak [10].

Összességében elmondható tehát, hogy a mielómasejtek ugyan a B-sejt-fejlődés végső fázisát jelentik, és az onkogén transzformáció elsődleges eseményeinek nagyobb része a centrum germinativum folyamataihoz köthető, de az IgH-transzlokációt hordozó esetek egy részében az onkogén transzformáció első lépései már a B-sejt-fejlődés sokkal korábbi szakaszában, a pro-B-sejtek szintjén kialakulhatnak.

A MIELÓMA GENETIKAI HÁTTERE

A plazmasejtes mielóma egy komplex és még mindig hiányosan ismert patogenezisű betegség. A kialakulásában jelenleg szélesebb körben elfogadott modell alapján két fő útvonal határozható meg. A hipotézis a ploiditás és a visszatérő, IgH gént érintő transzlokációk közötti szoros kapcsolaton alapul (11). A nem hiperdiploid csoportba tartozó esetek jelentős részében kimutatható az IgH gént érintő transzlokáció, a hiperdiploid csoportra viszont elsősorban a triszómiák jellemzők. Mindkét eltérés már az MGUS stádiumban is sokszor kimutatható. A két megfigyelt út, ill. ploiditás kategória egymástól függetlennek tűnik, általában stabil marad a betegség lefolyása során.

A hiperdiploid csoportban, ami a betegek kb. 55%-át teszi ki, a kromoszómanyerések specifikusan a 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 és 21-es páratlan számú kromoszómákat érintik (12).

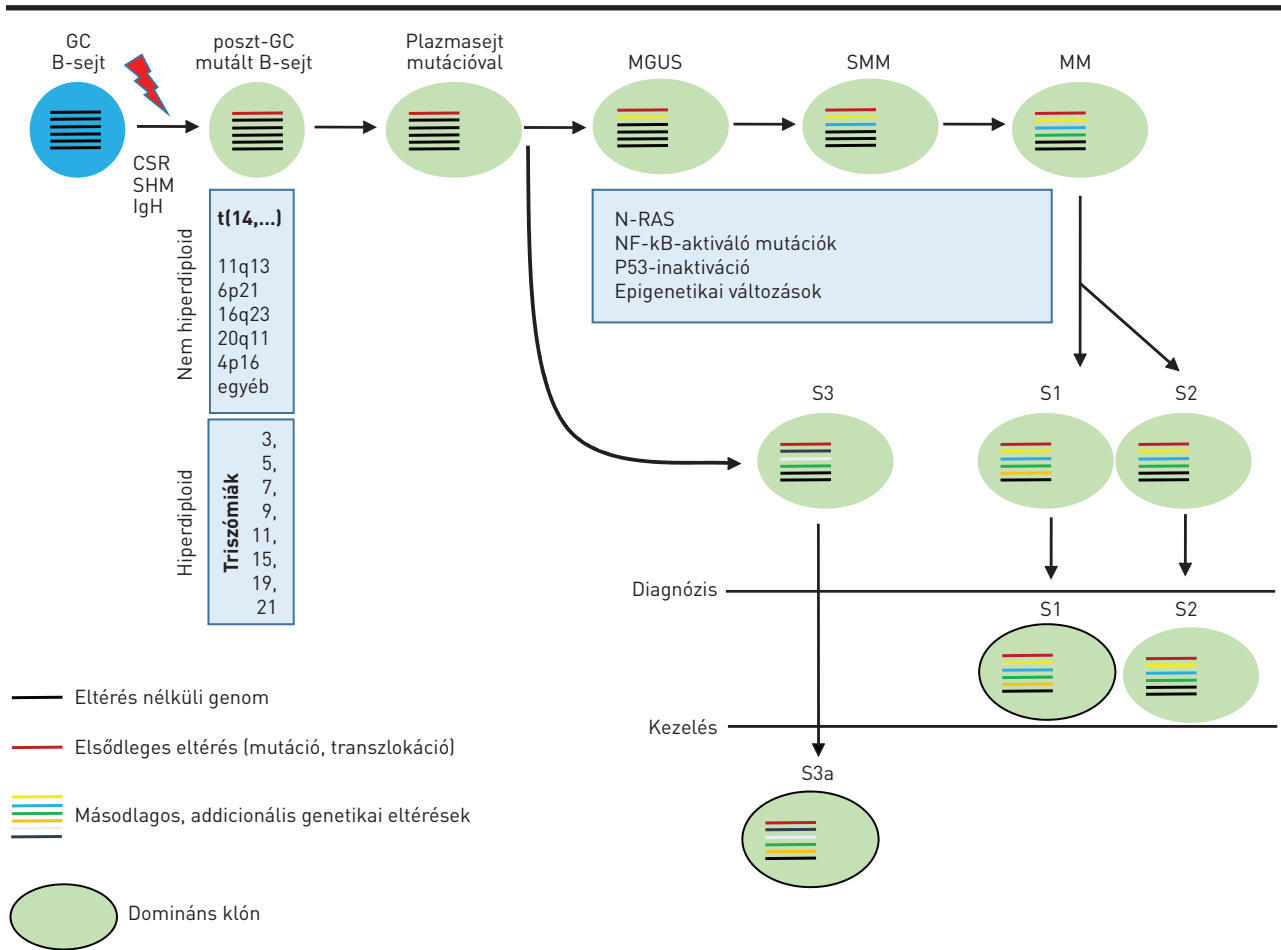
A másik útvonal az IgH gén (14q32) transzlokációján alapul, amelyeket a betegek 40-50%-ában lehet megfigyelni. Egyes transzlokációk visszatérő jellegűek, míg mások random alakulnak ki (13, 14). Az IgH „enhancer” régiói a transzlokációkban szereplő partnergének fokozott expressziójához vezetnek. A leggyakoribb transzlokáció a t(11;14)(q13;q32), amely a mielómás esetek 15-20%-ában van jelen, a *CCND1* fokozott expresszióját okozza, és az esetek jelentős részében CD20-expresszióval is jár. A transzlokáció gyakran már MGUS-ban is megfigyelhető. A tesztelt esetek jelentős részében jobb prognózis köthető hozzá, de statisztikailag ez nem elég szignifikáns. A második leggyakoribb transzlokáció a t(4;14)(p16;q32), amely a betegek 12-15%-át érinti, rossz prognózist jelent, és sajátos módon két gén, az *FGFR3* és a *MMSET (WHSC1/NSD2)* diszregulációjával jár, de fúziós transzkriptumot az utóbbival alkot. Az *FGFR3* egy onkogén, amely mutációk révén egyes szolid tumorokban is aktiválódik. Mielóma esetén csak a betegek mintegy 70%-ában mutatható ki az *FGFR3*-aktiváció, mivel nem kiegyensúlyozott transzlokáció esetén a 4-es kromoszóma telomerikus régiójának vesztese az *FGFR3*-at is érinti (15–18). Az *MMSET* fokozott expressziója viszont mindegyik esetre jellemző. Az *MMSET* egy hiszton-metiltranszferáz kódol, amit ha kísérleti modellekben kiütnek, az proliferációgátláshoz, apoptózisindukcióhoz és a sejtadhézió változásához vezet. Kimutatták azt is, hogy a transzlokáció az *MMSET* és/vagy az *FGFR3* fokozott expressziója mellett, eddig ismeretlen mechanizmuson keresztül a *CCND2*, illetve egyes esetekben a *CCND1* gén működését is fokozhatja. A transzlokáció MGUS-ban is már megfigyelhető, de sokkal ritkábban, mint aszimptomatikus mielóma esetén (19). A többi megfigyelt transzlokáció sokkal ritkábban, az esetek kevesebb mint 3%-ában fordul elő. Ilyen a t(14;16)(q32;q23) transzlokáció, amely a *MAF* onkogén diszregulációjához vezet. A t(14;20)(q32;q11) a *MAFB* onkogént érinti, a t(6;14)(p21;q32) pedig a *CCND3* gén fokozott expressziójával jellemezhető (20–22). A *MAF* és *MAFB* gének is olyan transzkripciós faktorokat szabályoznak, amelyek célpontja a ciklin D2. A fentiek alapján a ciklin D családnak egyértel-

3. TÁBLÁZAT. Mielómás betegek citogenetikai alapú rizikóbesorolása (24)

A. Standard rizikó
1. triszómiák (hiperdiploiditás)
2. t(11;14)
3. t(6;14)
B. Közepes rizikó
1. t(4;14)
2. 13/13q deléció
3. hipodiploiditás
C. Magas rizikó
1. 17p-deléció
2. t(14;16)
3. t(14;20)

műen fontos szerepe van a mielóma kialakulásában. Érdekes módon a t(14;20) transzlokáció szimptomás mielómában rosszabb prognózist jelent, de MGUS, illetve aszimptomatikus mielóma esetén a betegség hosszabb ideig tartó stabilitásával korrelál (3. táblázat) (23, 24). A transzlokációban részt vevő partnerek ilyen mértékű szelektivitásának jelenleg nem ismert a magyarázata, de felmerül, hogy a már korábban említett szomatikus hipermutáció és izotípusváltás bizonyos időpontjaiban a fent említett kromoszómák megfelelő régiói egymás mellé kerülnek.

E feltehetően elsődleges onkogén események mellett még számos kromoszómaeltérés észlelhető a kóros plazmasejtekben. A leggyakoribbak ezek közül a 13-as kromoszóma monoszómiája, amely az esetek 25%-ában kimutatható (25), illetve az 1-es kromoszóma hosszú karjának duplikációja (1q-nyerés/amplifikáció), amely 30-35%-ban van jelen. Az 1q-nyerés összességében rosszabb prognózist, progressziót jelent. Annak ellenére, hogy ez a tény ismert, nem tudjuk pontosan, hogy az érintett régióban mely géneknek van ebben fontos szerepe. Több onkogén is szerepel a jelöltek között, így a *CKS1B*, *ANP32E*, *BCL-9* és a *PDZK1* (26). A 13-as kromoszóma deléciója az esetek 85%-ában monoszómiát vagy a hosszú kar elvesztését – del(13/13q) – takarja, a maradék 15%-ban általában intersticiális deléciók figyelhetők meg. Molekuláris vizsgálatok alapján ezekben az esetekben gyakori az *RB1* gén alacsonyabb expressziója (27). A del(13/13q) gyakran más magas rizikójú eltéréssel asszociált, így a t(4;14)-val, ami miatt a prognosztikai szerepe nehezen megítélhető. Egyéb kromoszómarégiók deléciói is megfigyelhetők, így az 1p, 6q, 8p, 12p, 14q, 16q, 17p és 20p régióké (28). Az 1p-deléció az esetek 30%-ában azonosítható, és rosszabb prognózist jelent; gyakran jár együtt az 1q régió amplifikációjával. Az 1p régióban található *FAM46C* tumorszuppresszor gén pontos szerepe nem ismert, de mielómában megfigyelhető mutációi miatt fontosnak tartják (29). A 17p deléciója, del(17p), az esetek 10%-ára jellemző, és gyakran késői stádiumú betegséget reprezentál, rossz prognózissal, agresszív lefolyással. Releváns gének itt a *TP53* tekinthető, mivel 17p-deletált esetekben szignifikánsan alacsonyabb az expressziója, és a megfigyelt mutációk



3. ÁBRA. A mielóma patogenezeise. A kék sejt reprezentálja a normális B-sejteket. A zöld kerek sejt a poszt-centrum germinatívum sejtet reprezentálja, a zöld ovális sejt pedig plazmasejt, melyek a differenciáció terminális fázisát képviselik. A mielóma patogenezisének elsődleges eltérései, ezt reprezentálja a piros vonal a genomon belül, a centrum germinatívumban történnek, amelyeket az immunglobulin nehézlánc gén (IgH) transzlokációja, szomatikus hipermutációja és az izotípusváltás segíti elő. Mielómában két fő patogenetikai útvonalat különíthetünk el: a triszómiákkal jellemezhető hiperdiploid és az IgH különböző partneregénekkal alkotott transzlokációival jellemezhető nem hiperdiploid eltéréseket (kék szövegdobozok). A transzformáció és progresszió későbbi fázisában [MGUS, aszimptomatikus/„smoldering” mielóma (SMM), manifest mielóma (MM)] másodlagos eltérések alakulnak ki, ezeket jelölik a további színes vonalak a genomon belül. A halmozódó eltérések szubklonális szinten heterogének lehetnek, amiket az S1, S2 sejtet reprezentálnak. A szubklónok kialakulása már korán, az elsődleges mutációk utáni szakaszban is elkezdődhet (S3 sejt). A klónok dominanciája váltakozhat (fekete körvonalas sejt), a diagnóziskor észlelt domináns klón [az ábrán itt az S1 szubklón jelöli] helyett kezelés után akár teljesen más, a korábbiakban még nem detektált klón kerülhet előtérbe, amit az ábrán az S3a sejt jelöl, és amely az eredeti S3 szubklóntól is eltér

aránya is jóval magasabb [30]. Újabb adatok alapján egyéb kromoszomális eltérésekre is fény derült. Ilyenek a homozigóta deléciók, amik például az NF- κ B negatív regulátorait, a *BIRC2/3*, *TRAF3* és *CYLD* géneket érintik, és amelyek így az NF- κ B jelátviteli út aktivációjához vezetnek [31]. Gyakori eltérések (deléciók, transzlokációk, duplikációk, inszerciók, amplifikációk) figyelhetők még meg a 8q24 régióban is, amelyek a *MYC* onkogén diszregulációját okozzák, amelynek fontos biológiai szerepe van mielómában [32].

Az előző bekezdésben említett kromoszomális eltéréseknek feltehetően csak másodlagos szerepük van a mielóma onkogenezisében, amelynek talán egyik legfőbb bizonyítéka

az, hogy az említett eltérések nagyon gyakran csak szubklonális szinten észlelhetők, ellentétben az IgH gént érintő transzlokációkkal, amik viszont a plazmasejtet közel 100%-ában jelen vannak.

A MIELÓMA SZUBKLONÁLIS EVOLÚCIÓJA

Újabb tanulmányok a mielóma rendkívüli genetikai komplexitására világítanak rá és arra is, hogy a mielómában megfigyelhető kromoszomális szintű eltérések feltehetően önmagukban nem elegendőek a malignus transzformációhoz, hiszen ezek már a mielómát megelőző állapotokban, az MGUS-ban is jelen lehetnek. A korábbi dogma megújítására,

annak a szubklonális evolúcióval való kiegészítésére az újgenerációs szekvenáláson (next generation sequencing, NGS) alapuló tanulmányok adtak lehetőséget. 2012-ben három publikáció is megjelent, amelyekben a mielóma bizonyos szintű intraklonális heterogenitását írják le, melyet a klinikai és fenotípusos jegyek alapján is sejteni lehetett már. Az eredmények arra utalnak, hogy a tumorsejtek különböző evolúciós utakat is követhetnek a betegség lefolyása során. Az intraklonális diverzitás és a kópiaszám-eltérések vizsgálata alapján három, különböző időbeli lefolyást mutató tumortípus határozható meg (I-III). A relabáló betegség klonálisan azonos a diagnosztikus mintával, a tumor genetikailag stabilnak tekinthető. (II) Lineárisan fejlődő tumor esetén mindig csak addicionális kromoszómális/genetikai eltérések figyelhetők meg, a közös genetikai háttér megmarad. (III) A betegek több mint felében viszont a tumorok klonálisan heterogének, a relabáló klón teljesen más genetikai felépítést mutat, mint a kiinduló klón, ráadásul a predomináns tumorklónok időben tovább cserélődhetnek, így divergens (elágazó) fejlődést mutatnak [33–35]. Ezt megerősítve, egy másik vizsgálatban magas rizikócsoportba tartozó, az eddigiek alapján primer eltérésnek, drivernek tartott, t(4;14) transzlokációt hordozó eseteket vizsgáltak, ahol kiderült, hogy amikor a transzlokáció a diagnóziskor még csak minor szubklonális eltérésként azonosítható, akkor relapszusban domináns klónként jelenhet meg, de ennek a folyamatnak a fordítottja is megfigyelhető [36]. A fentiek alapján egyes szubklónok feltehetően már a transzformáció nagyon korai fázisában kialakulhatnak. Egy újabb érdekes kérdés, hogy az egyidejűleg megfigyelhető szubklónok a betegben milyen térbeli eloszlást mutathatnak, de erre választ adó közlemények még nem jelentek meg. A klonális kompetíció spontán és kemoterápiás szelekció alapján is kialakulhat. Egy klasszikus kemoterápiás kombinációt

(vinkrisztin-adriamicin-dexametazon) a bortezomib-dexametazon kombinációval összehasonlító tanulmányban azt találták, hogy az utóbbit kapó betegek nagy részénél divergens tumorevolúció (szubklonális heterogenitás) mutatható ki, ami arra utal, hogy a klasszikus kombináció feltehetően több szubklónra is hatással van [33] (3. ábra).

A MIELÓMA FELOSZTÁSA GÉNEXPRESSZIÓS PROFIL ALAPJÁN

A mielóma mind klinikai, mind citogenetikai, mind molekuláris módszerekkel nézve heterogén betegségnek tekinthető. Így felmerül a kérdés, hogy a mielómákat fel lehet-e osztani több alcsoportra, mint ahogy az már a diffúz nagy B-sejtes limfómáknál sikerült [37]. A génexpressziós profil analízisek (gene expression profile, GEP) alapján sajnos jelentősebb siker itt még nem született, de több munkacsoport is tudott, elsősorban a kromozómatranszlokációkon alapuló altípusokat definiálni. Az első ilyen vizsgálat nyolc altípust/csoportot határozott meg a transzlokációk és a ciklin D expressziója (TC) alapján, amit később más csoportok tovább finomítottak [38–40]. A 11q, 6p csoportokra a t(11;14) és t(6;14) transzlokációk miatt a ciklin D1 és ciklin D3 jelentősen emelkedett expressziója jellemző. A D1 tumorok ektópiás ciklin D1-expressziót mutatnak annak ellenére, hogy nincs jelen a t(11;14). A D1+D2 csoportban az előző csoporthoz képest további ciklin D2-expresszió is megfigyelhető. A D2-be olyan tumorok tartoznak, amik egyik másik csoportba sem sorolhatók és ciklin D2-t expresszálnak. A 4p tumorok a magas ciklin D2-kifejeződés mellett a t(4;14) transzlokáció miatt az MMSET és legtöbb esetben az FGFR3 fokozott expressziójával is járnak. A „nincs” jelölésű csoportban D ciklinek nem észlelhetők. A maf tumorok mutatják a legmagasabb ciklin D2-expressziót, ami magas c-maf- és mafB-szintekkel jár.

4. TÁBLÁZAT. Génexpressziós vizsgálatokkal meghatározott csoportok [11]

CSOPORT NEVE	TRANSZLOKÁCIÓ	ÉRINTETT GÉN	CIKLIN D TÍPUSA	PLOIDITÁS*	%	PROGNÓZIS
4p16	4p16	FGFR3/MMSET	D2	NH>H	15	rossz
6p21	6p21	CCND3	D3	NH	3	jó
11q13	11q13	CCND1	D1	D, NH	16	jó
D1	nincs	nincs	D1	H	34	jó
D1 + D2	nincs	nincs	D1 + D2	H	6	? rossz
D2	nincs	nincs	D2	H, NH	17	?
Nincs	nincs	nincs	nincs	NH	2	? jó
MAF	16q23	CMAF	D2	NH	5	rossz
	20q11	MAFB			2	

*D, diploid; H, hiperdiploid; NH, nem-hiperdiploid; ? – feltételezett prognosztikai érték

A tanulmány szerint a csoportokat definiáló, MGUS-ra és mielómára egyaránt jellemző eltérések nagyon korai onkogén eseményeknek felelhetnek meg (4. táblázat). Azt, hogy ezek a csoportok valóban igazi, különálló entitások-e, még nem sikerült demonstrálni. Azóta számos újabb, különböző mintázatokat meghatározó GEP-analízisek születtek, amelyek a korábbi eredmények prognosztikai erejét megkérdőjelezik (41). Az ellentmondó adatok ellenére több klinikai vizsgálat is indult, amik a profilanalíziseknek a prognosztikai szerepét, használhatóságát elemzik, így a későbbiekben nagyon valószínű, hogy ezek ismét előtérbe kerülnek (42).

Az NGS térhódításával nagyobb számú, a teljes tumorgenomot analizáló tanulmány jelent meg (29, 43, 44). Az egyikben a szerzők teljesgenom- és teljesexom-szekvenálással (whole-genom sequencing, WGS és whole-exome sequencing, WES) mintánként átlagosan 2,9/megabázis (Mb) tumorspecifikus pontmutációt észleltek, jelentős szórás mellett, de egyértelmű driver mutációt nem tudtak azonosítani. Ugyanakkor néhány új és nem várt onkogén mechanizmusra derült fény, olyan gének mutációival, amelyek a fehérjetranszlációban, hisztonmetilációban, véralvadásban vesznek részt. Az NF- κ B jelátviteli út eddigieknél sokkal nagyobb jelentőségére hívják fel a figyelmet a jelátviteli útban részt vevő elemek közül 11-ben is előforduló mutációk. Csupán néhány génben sikerült visszatérő jellegű mutációt észlelni, így az *NRAS*, *KRAS* és *BRAF* génekben, és ezeket is elsősorban csak szubklonális szinten. Az *NRAS*-, *KRAS*-mutációk MGUS-ban még ritkák, de korai fázisú mielómák 30-40%-ában már kimutathatók, és előrehaladott mielómáknál még ennél is magasabb arányban találhatóak. Közvetlenebb klinikai jelentősége talán a *BRAF* aktiváló mutációjának lehet, amelyet a betegek 4%-ában észleltek (45).

EPIGENETIKAI ELTÉRÉSEK

A mielómában megfigyelhető epigenetikai eltérések vizsgálata még viszonylag új területnek tekinthető. A mielóma genomjára is jellemzők azok az eltérések, amelyeket más tumorokban is már leírtak, így a globális hipometilációt és a génspecifikus promóter-hipermetilációt. Friss tanulmány alapján az MGUS-mielóma átmenet során jelentős a metilációvesztés, továbbá a génspecifikus hipermetiláció olyan géneket érint, amelyek a sejtciklus-szabályozásban, a transzkripciószabályozásban vesznek részt (*CALCA*, *GATA4*, *ONECUT2*, *CDKN2B*). A legtöbb hipermetilált gént a t(4;14) transzlokációt hordozó esetek mutatták (46).

A kromatinmódosításban és metilációban részt vevő gének közül több is deregulált, így a *KDM6A*, *MLL* és a *HOXA9*. Az

Ig-transzlokációt nem hordozó esetekben a *HOXA9* fokozott expressziót mutat. A *HOXA9* expresszióját elsősorban a hiszton-metiltransferázok szabályozzák, ahova az *MLL* géncsalád (*MLL*, *MLL2*, *MLL3* és *MMSET*) is tartozik. Sejtvonalon kimutatták, hogy a *HOXA9* kiütésével a sejtek kompetitív hátrányba kerülnek a többi, *HOXA9*-expresszáló sejthez képest. Az eredmények arra utalnak, hogy a *HOXA9*-nek fontos szerepe lehet a mielóma patogenezisében, és így új terápiás célpontnak is tekinthető (45).

A MIKROKÖRNYEZET SZEREPE MIELÓMÁBAN

A csontvelői mikrokozonyzetnek is kritikus, komplex szerepe van mielómában. A hosszú életű plazmasejtekhez hasonlóan a neoplasztikus plazmasejtek MGUS-ban és mielómában is függenek a csontvelői mikrokozonyzettől. Ehhez a millióhoz tartozik az extracelluláris mátrix és számos sejt, például oszteoblasztok, oszteoklasztok, stromális sejtek és immunreakciók sejtjei, így limfociták, dendritikus sejtek, valamint a vaszkuláris endotél sejtjei. Az említett sejtek között számos egymást befolyásoló hatás van, amelyeket citokinek, adhéziós molekulák, receptorok mediálnak. Mielómában számos lényeges folyamatot szabályoznak ezek a tumorsejt-köznyezet interakciók: a plazmasejtek csontvelői homingját; számos olyan faktor termelését, amelyek a tumorsejtek proliferációját, differenciálódását, túlélését szabályozzák (pl. IL-6, IGF-1, APRIL); az oszteogenezis gátlását; angiogenezist; humorális és celluláris immundeficiencia kialakulását (47, 48).

ÖSSZEFOGLALÁS

A mielóma egy olyan heterogén betegség, amely progressziója során indolens, aszimptomatikus formából agresszív, extramedulláris érintettséggel is járó formába alakulhat át, miközben számos genetikai eltérés halmozódik fel. Azokat az elsődleges genetikai eltéréseket, amelyek a plazmasejtek transzformációjához vezetnek, két nagy csoportra tudjuk felosztani; a páratlan számú kromoszómák triszómiájával karakterizálható hiperdiploid csoportra és az IgH-transzlokációkkal járó nem hiperdiploid csoportra. A primer események talán egyik legfontosabb következménye a ciklin D géncsalád fokozott expressziója. A másodlagos genetikai eltérések köre összetett, és elsősorban a betegség progressziójához vezetnek. Ide tartoznak további transzlokációk, kópiaszám-változások, szerzett mutációk és epigenetikai eltérések. Az említett eltérések nagy része jól karakterizált, így a megfelelő molekuláris módszerekkel személyre szabottan kaphatunk hasznos információkat a betegség lefolyásával kapcsolatban, de a célzott terápiák kialakítására is lehetőséget adnak.

IRODALOM

1. McKenna R, Kyle R, Kuehl W. Plasma cell neoplasms. In: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Ed. Swerdlow S, Campo E, Harris N. IARC, Lyon 2008, pp. 200–213
2. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 15:e538–e548, 2014
3. Rajkumar SV, Larson D, Kyle RA. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 365:474–475, 2011
4. Kastiris E, Terpos E, Moulopoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 27:947–953, 2013
5. Lin P, Owens R, Tricot G, et al. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. *Am J Clin Pathol* 121:482–488, 2004
6. Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Clinicopathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma. *Br J Haematol* 117:882–885, 2002
7. Bataille R, Jego G, Robillard N, et al. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of „many and multiple myelomas” and of new targets for myeloma therapy. *Haematologica* 91:1234–240, 2006
8. McKenna R, Kroft S. Plasma cell neoplasms. In: Hematopathology, Ed. Jaffe E, Harris NL, Vardiman J, et al. Saunders/Elsevier, Philadelphia 2011
9. Walker BA, Wardell CP, Johnson DC, et al. Characterization of IGH locus breakpoints in multiple myeloma indicates a subset of translocations appear to occur in pregerminal center B cells. *Blood* 121:3413–3419, 2013
10. Martinez-Lopez J, Fulciniti M, Barrio S. Deep sequencing reveals oligoclonality at the immunoglobulin locus in multiple myeloma patients. *Blood* 122:Abstr 401, 2013
11. Bergsagel PL, Kuehl WM. Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol* 23:6333–6338, 2005
12. Smadja NV, Bastard C, Brigaudeau C, et al. Hypodiploidy is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood* 98:2229–2238, 2001
13. Nishida K, Tamura A, Nakazawa N, et al. The Ig heavy chain gene is frequently involved in chromosomal translocations in multiple myeloma and plasma cell leukemia as detected by in situ hybridization. *Blood* 90:526–534, 1997
14. Fonseca R, Debes-Marun CS, Picken EB, et al. The recurrent IgH translocations are highly associated with nonhyperdiploid variant multiple myeloma. *Blood* 102:2562–2567, 2003
15. Chesi M, Nardini E, Brents LA, et al. Frequent translocation t(4;14)(p16.3;q32.3) in multiple myeloma is associated with increased expression and activating mutations of fibroblast growth factor receptor 3. *Nat Genet* 16:260–264, 1997
16. Chesi M, Nardini E, Lim RS, et al. The t(4;14) translocation in myeloma dysregulates both FGFR3 and a novel gene, MMSET, resulting in IgH/MMSET hybrid transcripts. *Blood* 92:3025–3034, 1998
17. Keats JJ, Maxwell CA, Taylor BJ, et al. Overexpression of transcripts originating from the MMSET locus characterizes all t(4;14)(p16;q32)-positive multiple myeloma patients. *Blood* 105:4060–4069, 2005
18. Santra M, Zhan F, Tian E, et al. A subset of multiple myeloma harboring the t(4;14)(p16;q32) translocation lacks FGFR3 expression but maintains an IGH/MMSET fusion transcript. *Blood* 101:2374–2376, 2003
19. Kuehl WM, Bergsagel PL. Early genetic events provide the basis for a clinical classification of multiple myeloma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 346–352, 2005
20. Chesi M, Bergsagel PL, Shonukan OO, et al. Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma. *Blood* 91:4457–4463, 1998
21. Hanamura I, Iida S, Akano Y, et al. Ectopic expression of MAFB gene in human myeloma cells carrying [14;20](q32;q11) chromosomal translocations. *Jpn J Cancer Res* 92:638–644, 2001
22. Bergsagel PL, Kuehl WM, Zhan F, et al. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. *Blood* 106:296–303, 2005
23. Ross FM, Chiecchio L, Dagrada G, et al. The t(14;20) is a poor prognostic factor in myeloma but is associated with long-term stable disease in monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Haematologica* 95:1221–1225, 2010
24. Mikhael JR, Dingli D, Roy V, et al. Management of newly diagnosed symptomatic multiple myeloma: updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) consensus guidelines 2013. *Mayo Clin Proc* 88:360–376, 2013
25. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, et al. Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: The experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood* 109:3489–3495, 2007
26. Hanamura I, Stewart JP, Huang Y, et al. Frequent gain of chromosome band 1q21 in plasma-cell dyscrasias detected by fluorescence in situ hybridization: incidence increases from MGUS to relapsed myeloma and is related to prognosis and disease progression following tandem stem-cell transplantation. *Blood* 108:1724–1732, 2006
27. Chiecchio L, Protheroe RK, Ibrahim AH, et al. Deletion of chromosome 13 detected by conventional cytogenetics is a critical prognostic factor in myeloma. *Leukemia* 20:1610–1617, 2006
28. Avet-Loiseau H, Li C, Magrangeas F, et al. Prognostic significance of copy-number alterations in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 27:4585–4590, 2009
29. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 471:467–472, 2011
30. Fonseca R, Blood E, Rue M, et al. Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* 101:4569–4575, 2003
31. Annunziata CM, Davis RE, Demchenko Y, et al. Frequent engagement of the classical and alternative NF- κ B pathways by diverse genetic abnormalities in multiple myeloma. *Cancer Cell* 12:115–130, 2007
32. Affer M, Chesi M, Chen WD, et al. Promiscuous MYC locus rearrangements hijack enhancers but mostly super-enhancers to dysregulate MYC expression in multiple myeloma. *Leukemia* 28:1725–1735, 2014
33. Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Gouraud W, et al. Minor clone provides a reservoir for relapse in multiple myeloma. *Leukemia* 27:473–481, 2013
34. Keats JJ, Chesi M, Egan JB, et al. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma. *Blood* 120:1067–1076, 2012
35. Egan JB, Shi CX, Tembe W, et al. Whole-genome sequencing of multiple myeloma from diagnosis to plasma cell leukemia reveals genomic initiating events, evolution, and clonal tides. *Blood* 120:1060–1066, 2012
36. Hébraud B, Caillot D, Corre J, et al. The translocation t(4;14) can be present only in minor subclones in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 19:4634–4637, 2013
37. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 403:503–511, 2000
38. Zhan F, Hardin J, Kordsmeier B, et al. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells. *Blood* 99:1745–1757, 2002
39. Zhan F, Huang Y, Colla S, et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood* 108:2020–2028, 2006
40. Bergsagel PL, Kuehl WM. Molecular pathogenesis and a consequent classification of multiple myeloma. *J Clin Oncol* 23:6333–6338, 2005
41. Amin SB, Yip WK, Minvielle S, et al. Gene expression profile alone is inadequate in predicting complete response in multiple myeloma. *Leukemia* 28:2229–2234, 2014
42. Chng WJ, Dispenzieri A, Chim CS, et al. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia* 28:269–277, 2014
43. Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun* 5:2997, 2014
44. Lohr JG, Stojanov P, Carter SL, et al. Widespread genetic heterogeneity in multiple myeloma: implications for targeted therapy. *Cancer Cell* 25:91–101, 2014
45. Chapman MA, Lawrence MS, Keats JJ, et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature* 471:467–472, 2011
46. Walker BA, Wardell CP, Chiecchio L, et al. Aberrant global methylation patterns affect the molecular pathogenesis and prognosis of multiple myeloma. *Blood* 117:553–562, 2011
47. Hideshima T, Mitsiades C, Tonon G, et al. Understanding multiple myeloma pathogenesis in the bone marrow to identify new therapeutic targets. *Nat Rev Cancer* 7:585–598, 2007
48. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med* 19:1423–1437, 2013