



· 论著 ·

流式细胞术在套细胞淋巴瘤骨髓侵犯及预后预测中的研究

王迪, 李梦涵, 吴皓辰, 孙金淼, 谢紫腾, 李继伟,
张蕾, 张明智, 常宇

郑州大学第一附属医院肿瘤科, 河南 郑州 450000

[摘要] 背景与目的: 在套细胞淋巴瘤 (mantle cell lymphoma, MCL) 中, 骨髓侵犯十分常见。目前骨髓活检 (bone marrow biopsy, BMB) 仍是判断淋巴瘤患者骨髓侵犯的金标准, 但易出现假阴性结果且会增加患者的痛苦。同时, 骨髓侵犯在 MCL 中的预后预测价值也不明确。因此, 本研究旨在研究流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 在 MCL 骨髓侵犯诊断及预后评估中的应用价值, 并进一步探讨骨髓侵犯状态对 MCL 患者预后的影响。方法: 收集 2010 年 1 月—2024 年 4 月在郑州大学第一附属医院初治的 MCL 患者的病历资料, 对其中具有治疗前¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖正电子发射断层显像/计算机断层扫描 (¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, ¹⁸F-FDG PET/CT)、骨髓穿刺及活检结果和有效随访数据的患者进行回顾性队列研究。通过受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析确定骨髓 FC 阳性的判断阈值, 采用配对 χ^2 检验进行灵敏度和特异度分析, 采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析, 采用 COX 回归模型分析影响无进展生存期 (progression-free survival, PFS)、总生存期 (overall survival, OS) 的独立预后危险因素, 采用列线图构建预后模型并通过 ROC 曲线、校准曲线及限制性立方样条 (restricted cubic spline, RCS) 进行验证。结果: 共 97 例患者纳入本研究。利用 FCM 检测的不同淋巴瘤细胞比例与 BMB 结果进行拟合绘制 ROC 曲线, 确定骨髓 FCM 中的淋巴瘤细胞比例 >5.31% 为骨髓 FCM 阳性的判断阈值。以此为标准, FCM 检测骨髓侵犯的灵敏度为 93.3% (42/45), 特异度为 73.1% (38/52), 阳性预测值为 75.0% (42/56), 阴性预测值为 92.7% (38/41)。Kaplan-Meier 生存分析结果显示, 基于 BMB、¹⁸F-FDG PET/CT 及 FCM 判定的骨髓侵犯阳性与否, 对患者 PFS ($P=0.956, 0.964, 0.748$) 及 OS ($P=0.900, 0.852, 0.145$) 均无显著影响, 而骨髓 FCM 中的淋巴瘤细胞比例 $\geq 30.0\%$ 组的 PFS 和 OS 均显著短于对照组 (2 年 PFS 率: 42.4% vs 62.5%, $P=0.010$; 2 年 OS 率: 63.6% vs 82.8%, $P=0.011$)。多因素回归分析显示, 年龄、套细胞淋巴瘤国际预后指数 (mantle cell lymphoma international prognostic index, MIPI) 评分 ≥ 6 分、MCL 分型均为 MCL 患者 PFS、OS 的独立预后危险因素, 而骨髓 FCM 中的淋巴瘤细胞比例 $\geq 30\%$ 仅为 PFS 的独立预后危险因素 (P 均 < 0.05)。进一步将上述潜在预后危险因素纳入构建 PFS 风险预测模型, 结果显示, 年龄、MIPI 评分、MCL 病理学分型及骨髓淋巴瘤细胞比例在模型中均表现出优异的预测效能。从多维度对预测模型及骨髓淋巴瘤细胞比例的临床价值进行验证后展现出与研究结果良好的一致性。结论: 采用传统定性方法判定的骨髓侵犯状态对 MCL 患者的预后无显著影响; 而骨髓 FCM 检测的淋巴瘤细胞比例在诊断骨髓侵犯和预后评估中均展现出良好的效能。将该指标纳入预后模型并校正其他混杂因素后, 仍保持稳定且优异的预测性能, 提示其具备精准、客观的临床应用价值。

[关键词] 套细胞淋巴瘤; ¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖正电子发射断层显像/计算机断层扫描; 骨髓活检; 流式细胞术; 骨髓侵犯; 诊断; 预后

中图分类号: R733.4 文献标志码: A

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2026.01.007

基金项目: 无。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

伦理批件: 2023-KY-1018-001。

知情同意: 豁免。

引用本文: 王迪, 李梦涵, 吴皓辰, 等. 流式细胞术在套细胞淋巴瘤骨髓侵犯及预后预测中的研究[J]. 中国癌症杂志, 2026, 36(1): 67-76.

CC 协议: CC BY-NC-ND 4.0。

Funding: no.

Conflicts of interest: authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: 2023-KY-1018-001.

Informed consent: exemption.

Cite this article: WANG D, LI M H, WU H C, et al. Investigation of flow cytometry in bone marrow involvement and prognostic prediction of mantle cell lymphoma[J]. Chin Oncol, 2026, 36(1): 67-76.

CC license: CC BY-NC-ND 4.0.

Investigation of flow cytometry in bone marrow involvement and prognostic prediction of mantle cell lymphoma WANG Di, LI Menghan, WU Haochen, SUN Jinmiao, XIE Ziteng, LI Jiwei, ZHANG Lei, ZHANG Mingzhi, CHANG Yu (Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China)

Correspondence to: CHANG Yu E-mail: fcchangy1@zzu.edu.cn

[Abstract] Background and purpose: In mantle cell lymphoma (MCL), bone marrow involvement is prevalent. Currently, bone marrow biopsy (BMB) is considered the gold standard for detecting bone marrow involvement. However, BMB is associated with a high risk of false-negative results and can cause discomfort and pain. Meanwhile, the prognostic value of bone marrow involvement remains ambiguous. Therefore, this research aims to explore the clinical significance of flow cytometry (FCM) in the diagnosis of bone marrow involvement and prognostic evaluation of MCL, and further investigate the association between bone marrow involvement and the prognosis. **Methods:** A retrospective analysis was conducted on patients with newly diagnosed MCL who were treated at the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2010 to April 2024. Among them, patients had pre-treatment ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (^{18}F -FDG PET/CT), bone marrow examination results as well as effective follow-up data. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was conducted to determine the optimal diagnostic threshold for FCM positive, paired χ^2 test was employed to analyze the sensitivity and specificity, survival analysis was performed using the Kaplan-Meier method, and independent prognostic risk factors affecting progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) were analyzed using the COX regression model. A nomogram was constructed to predict prognosis and was verified using ROC curves, calibration curves, and restricted cubic splines (RCS). **Results:** A total of 97 patients were enrolled in this study. The various ratios of lymphoma cells detected by FCM were fitted with BMB results to construct the ROC curve. Through this analysis, a ratio of lymphoma cells $>5.31\%$ was determined as the threshold to define the FCM positive. Based on this standard, the sensitivity of FCM increased to 93.3% ($42/45$), and the specificity was 73.1% ($38/52$). The positive predictive value (PPV) was 75.0% ($42/56$), and the negative predictive value (NPV) was 92.7% ($38/41$). Whether bone marrow involvement was positive or negative, as determined by BMB, PET/CT and FCM, there was no significant impact on the PFS (0.956 , 0.964 and 0.748 respectively) and OS (0.900 , 0.852 and 0.145 respectively) of patients. The PFS and OS rates for the group with a ratio of lymphoma cells $\geq 30.0\%$ were significantly shorter compared to those in the control group (2-year PFS rate: 42.4% vs 62.5% , $P=0.010$; 2-year OS rate: 63.6% vs 82.8% , $P=0.011$). Multivariate analysis showed that age, mantle cell lymphoma international prognostic index (MIPI) score ≥ 6 and morphological variants were independent prognostic risk factors for PFS and OS (All $P < 0.05$), and a ratio of lymphoma cells $\geq 30\%$ was solely an independent prognostic risk factor for PFS. The PFS risk prediction model was constructed by incorporating collected potential prognostic variables. The results indicated that age, MIPI score, MCL pathological classification, and the ratio of lymphoma cells all demonstrated excellent predictive performance within the model. Subsequent multi-dimensional validation of the predictive model and the clinical significance of the ratio of lymphoma cells in bone marrow fluid revealed a strong alignment with the research findings. **Conclusion:** In MCL, conventional qualitative assessments of bone marrow involvement have no impact on survival prognosis. The ratio of lymphoma cells in bone marrow fluid exhibits considerable clinical utility in both the diagnosis of bone marrow involvement and the assessment of prognosis, and it retains stable and robust predictive performance when incorporated into the prognostic model and adjusted for other confounding variables, indicating its precise, objective clinical utility.

[Key words] Mantle cell lymphoma; ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography; Bone marrow biopsy; Flow cytometry; Bone marrow involvement; Diagnosis; Prognosis

套细胞淋巴瘤 (mantle cell lymphoma, MCL) 是一种起源于成熟B细胞的非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 亚类, 占NHL的 $6\% \sim 8\%$ [1]。大多数患者诊断时已处于疾病晚期 (III~IV期), 骨髓侵犯十分常见 [2]。骨髓侵犯的评估方式包括骨髓活检和影像学检查, 前者主要包括骨髓活检 (bone marrow biopsy, BMB)、流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 及骨髓涂片等, 后者主要包括 ^{18}F -氟代脱氧葡萄糖正电子发射断层显像/计算机断层扫描 (^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography, ^{18}F -FDG PET/CT)、磁共振成像 (magnetic resonance

imaging, MRI) 等。目前BMB仍是判断淋巴瘤患者骨髓侵犯的金标准 [3-5], 但易出现假阴性结果 [6] 且会增加患者的痛苦。

作为一种灵敏、快速的细胞及微粒定量分析手段, FCM的临床应用价值已得到多项队列研究 [7-9] 验证, 其在弥漫大B细胞淋巴瘤骨髓侵犯的诊断中具有较高的灵敏度和特异度, 特别是在骨髓微小浸润的场景下, FCM检测可发挥更优的预后评估作用, 其相关检测数据可作为判断疾病进展的独立危险因素 [10]。随着PET/CT在淋巴瘤中的广泛应用, 越来越多的研究证明了其在诊断淋巴瘤骨髓侵犯中的应用价值, 如在霍奇金淋巴瘤中, 已完成

PET/CT的患者可豁免BMB这一传统有创检查手段^[11-12]；在新诊断的弥漫大B细胞淋巴瘤中，利用PET/CT评估是否存在骨髓侵犯具有更好的诊断性能^[13-14]。然而，目前在MCL中关于骨髓淋巴瘤细胞比例诊断骨髓侵犯的检验效能及其预后评估作用仍有待深入探索。因此，本研究旨在通过分析骨髓FCM检测的淋巴瘤细胞比例在MCL骨髓侵犯中的诊断价值，探讨FCM、BMB和PET/CT的检查结果与预后的相关性，明确FCM在MCL骨髓侵犯诊断及预后评估中的临床意义，并进一步探索骨髓侵犯本身的预后预测价值。

1 资料和方法

1.1 病例资料

回顾性分析2010年1月—2024年4月在郑州大学第一附属医院初治的MCL患者的病历资料。纳入标准为：①病理科医师根据世界卫生组织（World Health Organization, WHO）分类标准确诊的MCL患者；②治疗前具有完整的PET/CT及骨髓检查结果；③治疗及随访资料完整。排除标准：①合并其他血液系统疾病或需要同时治疗的其他活动性恶性肿瘤；②骨髓活检或影像学检查相关结果无法用于结果判读的患者。末次随访时间为2024年7月，对符合纳入标准的患者进行随访，随访方式为查阅患者住院病历记录、电话随访，排除失访和删失患者。收集的临床资料包括患者性别、年龄、Ann Arbor分期、套细胞淋巴瘤国际预后指数（mantle cell lymphoma international prognostic index, MIPI）评分、受累器官情况、BMB结果、骨髓FCM结果、PET/CT结果、白细胞、血小板计数、血红蛋白水平及Ki-67增殖指数等。无进展生存期（progression-free survival, PFS）定义为患者第1次接受治疗到发生疾病进展、疾病相关死亡或最后1次随访结束的时间；总生存期（overall survival, OS）定义为患者第1次接受治疗至死亡或最后1次随访结束的时间。本研究已获得郑州大学第一附属医院伦理委员会的批准（伦理编号：2023-KY-1018-001），并豁免知情同意。

1.2 骨髓检查结果及PET/CT图像评估标准

FCM分析流程：取经肝素抗凝的骨髓液2 mL，制备单细胞悬液。采用直接免疫荧光标记法进行抗体标记，特异性抗体包括CD3、CD5、CD10、CD19、CD20、CD22、CD23、CD38、CD45、CD56、CD79b、FMC7、Kappa和Lambda抗体。应用美国BD公司FACS Canto™型流式细胞仪上机获取细胞，并采用Kaluza软件分析至少

500 000个细胞，通过CD45/侧向散射光（side scatter, SSC）和CD19/SSC联合设门识别B淋巴细胞，并计算该群中各抗原的阳性表达率，阳性率 $\geq 20\%$ 判断为该抗原表达阳性。当B淋巴细胞膜表面免疫球蛋白轻链Kappa/Lambda比值 $>3:1$ 或 $<0.3:1$ 时，判读为免疫球蛋白轻链限制性（immunoglobulin light chain restriction, iLCR）阳性，定义为克隆性B细胞。根据所得到的异常表型及是否单克隆表达免疫球蛋白轻链确定异常细胞及其比例。

骨髓病理组织学检查确诊为骨髓浸润即为骨髓侵犯；骨髓FCM通过其检测出的淋巴瘤细胞比例（骨髓液中淋巴瘤细胞占全部有核细胞的比例）进行诊断。利用BMB结果与骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例拟合绘制受试者工作特征（receiver operating characteristic, ROC）曲线，并计算曲线下面积（area under curve, AUC）及临界值，将临界值作为FCM提示骨髓侵犯与否的界限标准。

PET/CT评估骨髓侵犯的判定标准如下：骨髓最大标准摄取值（maximum standardized uptake value, SUV_{max} ）与肝血池 SUV_{max} 比值 <1 或骨髓无 ^{18}F -FDG摄取增高记作PET/CT阴性；骨髓 SUV_{max} 与肝血池 SUV_{max} 比值 ≥ 1 ，且伴随全身骨髓弥漫性 ^{18}F -FDG摄取增高，或出现单部位/多部位异常灶性 ^{18}F -FDG摄取增高视为存在骨髓侵犯，记作PET/CT阳性^[13, 15-16]。

1.3 统计学处理

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计学分析，采用GraphPad Prism 9.3.0软件、R语言进行绘图。用 n （%）描述计数资料。正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，不符合正态分布的计量资料以 M （ Q_1 , Q_3 ）表示，对独立样本的计量资料进行正态性检验和方差齐性检验，使用非参数检验进行基线分析，对计数资料两样本组间比较，采用Fisher精确概率法进行基线分析。诊断一致性采用灵敏度、特异度、阳性预测值（positive predictive value, PPV）和阴性预测值（negative predictive value, NPV）进行分析。生存分析采用Kaplan-Meier方法，采用log-rank检验进行生存曲线比较。采用COX回归模型进行单因素、多因素生存分析，采用Schoenfeld残差检验进行协变量的等比例风险假设检验。将相关预后因素纳入列线图构建预后模型，通过ROC曲线、校准曲线及限制性立方样条（restricted cubic spline, RCS）进行验证。所有检验均为双侧， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者的临床资料

共97例患者纳入本研究, 患者纳入和排除流程图见图1。其中男性69例(71.1%), 女性28例(28.9%); 中位年龄60(41~79)岁, 其中>65岁者32例(33.0%); 根据Ann Arbor分期, I~II期6例(6.2%), III期7例(7.2%), IV期84例

(86.6%); 结外受累器官2个以上者34例(35.1%), 高危MIPI评分(6~11分)者17例(17.5%); 经典型MCL患者69例(71.1%), 侵袭性MCL患者23例(23.7%), 其中母细胞型13例, 多形性型10例, 5例无法分类(5.2%); 根据评判PET/CT的Deauville评分, 初诊时骨髓1~3分者50例(51.5%), 4~5分者47例(48.5%), 详见表1。

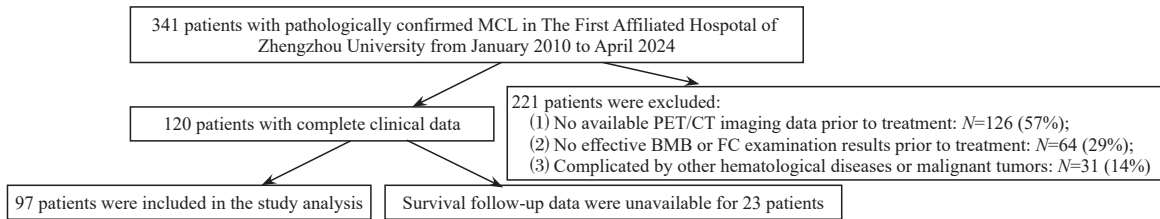


图1 患者纳入和排除流程图

Fig. 1 Diagram of patient inclusion and exclusion

表1 MCL患者的临床特征

Tab. 1 The clinical characteristics of MCL patients

Characteristic	Case [n (%)]
Gender	
Male	69 (71.1)
Female	28 (28.9)
Age/year	
≤65	65 (67.0)
>65	32 (33.0)
Morphological variants	
Classical	69 (71.1)
Pleomorphic-blastoid	23 (23.7)
NA	5 (5.2)
Ann Arbor stage	
I - II	6 (6.2)
III	7 (7.2)
IV	84 (86.6)
Deauville score	
1-3	50 (51.5)
4-5	47 (48.5)
Extranodal sites	
≤2	63 (64.9)
>2	34 (35.1)
MIPI score	
0-3	45 (46.4)
4-5	31 (32.0)
6-11	17 (17.5)
NA	4 (4.1)

2.2 BMB与骨髓FC的一致性分析

97例患者中, 利用不同的骨髓淋巴瘤细胞比例与BMB结果进行拟合绘制ROC曲线(图2), 并计算AUC及临界值。结果显示, 当骨髓FC中的淋巴瘤细胞比例>5.31%时, BMB结果常呈阳性,

AUC为0.85 ($P<0.001$), 以临界值5.31%为界限, FC提示56例(57.7%)存在骨髓侵犯。根据BMB结果, 45例(46.4%)存在骨髓侵犯, 其中3例患者的FC结果为阴性, 42例为阳性。BMB与FCM的一致性分析见表2。以BMB结果阳性作为金标准, FC检测骨髓侵犯的灵敏度为93.3% (42/45), 特异度为73.1% (38/52), PPV为75.0% (42/56), NPV为92.7% (38/41)。

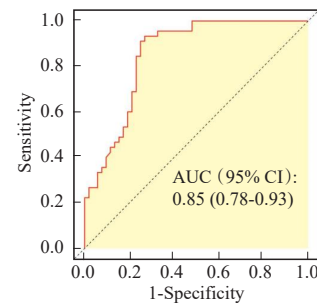


图2 不同淋巴瘤细胞比例与BMB结果拟合的ROC曲线

Fig. 2 ROC curve obtained by fitting different ratios of lymphoma cells with the results of BMB

The cut-off value for the ratio of lymphoma cells was 5.31%, AUC was 0.85, and the accuracy was 0.82.

表2 BMB与FCM的一致性分析 (Kappa=0.653)

Tab. 2 Consistency analysis between BMB and FCM (Kappa=0.653)

FCM	BMB		Total
	+	-	
+	42	14	56
-	3	38	41
Total	45	52	97

2.3 3种骨髓侵犯评估方式对预后判断的价值

截至2024年7月, 97例患者的中位随访时间

为33 (3~118)个月,中位PFS为24个月(95%CI: 18~36),2年PFS率和OS率分别为55.7% (54/97)和76.3% (74/97)。各组患者的基线临床资料和人口学特征比较未见明显差异,仅在FCM阴性组与FCM阳性组间,临床分期分布差异有统计学意义($P=0.009$,表3)。生存分析结果显示,BMB阳性组患者的2年PFS率和OS率分别为55.6%和75.6%,阴性组为55.8%和76.9%。骨髓

FCM阳性组患者的2年PFS率和OS率分别为53.6%和69.6%,阴性组为58.5%和85.4%。PET/CT阳性组患者的2年PFS率和OS率分别为54.9%和72.5%,阴性组为56.5%和80.4%。提示BMB、FCM及PET/CT的结果是否阳性对MCL患者的2年PFS率和OS率无显著影响(P 均 >0.05 ,图3),其中FCM阴性组较FCM阳性组在OS上有更长的生存获益趋势。

表3 不同分组患者间的基线分析

Tab3 Baseline analyses across different patient subgroups

Characteristic	PET/CT		BMB			Ratio of lymphoma cells			FCM			
	-	+	-	+	P value	<30%	≥30%	P value	-	+	P value	
Age/year					0.098			0.617			0.959	0.836
≤65	27 (58.7)	38 (74.5)	36 (69.2)	29 (64.4)		43 (67.2)	22 (66.7)		27 (65.9)	38 (67.9)		
>65	19 (41.3)	13 (25.5)	16 (30.8)	16 (35.6)		21 (32.8)	11 (33.3)		14 (34.1)	18 (32.1)		
Morphological variants					0.665			0.875			0.129	0.933
Classical	34 (73.9)	35 (68.6)	37 (71.2)	32 (71.1)		47 (73.4)	22 (66.7)		30 (73.2)	39 (69.6)		
Pleomorphic-blastoid	9 (19.6)	14 (27.5)	13 (25.0)	10 (22.2)		12 (18.8)	11 (33.3)		9 (22.0)	14 (25.0)		
NA	3 (6.5)	2 (3.9)	2 (3.8)	3 (6.7)		5 (7.8)	0 (0.0)		2 (4.9)	3 (5.4)		
Ki-67 proliferation index					0.073			0.094			0.464	0.839
≤40%	38 (82.6)	34 (66.7)	35 (67.3)	37 (82.2)		49 (76.6)	23 (69.7)		30 (73.2)	42 (75.0)		
>40%	8 (17.4)	17 (33.3)	17 (32.7)	8 (17.8)		15 (23.4)	10 (30.3)		11 (26.8)	14 (25.0)		
Ann Arbor stage					0.176			0.074			0.111	0.009
I - II	5 (10.9)	1 (2.0)	5 (9.6)	1 (2.2)		6 (9.4)	0 (0.0)		6 (14.6)	0 (0.0)		
III	4 (8.7)	3 (5.9)	6 (11.5)	1 (2.2)		6 (9.4)	1 (3.0)		3 (7.3)	4 (7.1)		
IV	37 (80.4)	47 (92.2)	41 (78.8)	43 (95.6)		52 (81.3)	32 (97.0)		32 (78.0)	52 (92.9)		
Number of extranodal sites					0.365			0.923			0.799	0.873
≤2	32 (69.6)	31 (60.8)	34 (65.4)	29 (64.4)		41 (64.1)	22 (66.7)		27 (65.9)	36 (64.3)		
>2	14 (30.4)	20 (39.2)	18 (34.6)	16 (35.6)		23 (35.9)	11 (33.3)		14 (34.1)	20 (35.7)		

为探索骨髓FCM结果与预后的关系,进一步基于骨髓液淋巴瘤细胞比例进行分组分析。结果显示,当以30.0%为临界值时,淋巴瘤细胞比例<30.0%组的PFS和OS均显著优于≥30.0%组,差异有统计学意义($P=0.010$ 和 0.011 ,图4)。其中,淋巴瘤细胞比例<30.0%的患者共64例(65.9%),2年PFS率和OS率分别为62.5%和82.8%;比例≥30.0%的患者有33例(34.1%),2年PFS率和OS率分别为42.4%和63.6%。

2.4 预后因素生存分析及模型建立

为探究患者的年龄、MIPI评分、病理学分型、PET/CT风险分层(局灶性骨髓高摄取或骨髓摄取Deauville评分5分定义为高危组)、骨髓SUV_{max}/肝

血池SUV_{max}、骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例、受累器官个数、Ki-67增殖指数、BMB结果、白细胞、血小板计数及血红蛋白水平等因素是否显著影响预后,将上述一些因素进行合理的二分类变量转换后纳入PFS、OS单因素分析,结果显示,年龄>65岁、MIPI评分≥6分、母细胞变型/多形性变型、PET/CT高危组、骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例≥30%、Ki-67增殖指数>40%对PFS、OS有预测价值(表4、5)。多因素COX分析显示,年龄、MIPI评分≥6分、MCL分型均为MCL患者PFS、OS的独立预后危险因素,而骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例≥30%仅为PFS的独立预后危险因素(P 均 <0.05 ,表4、5)。

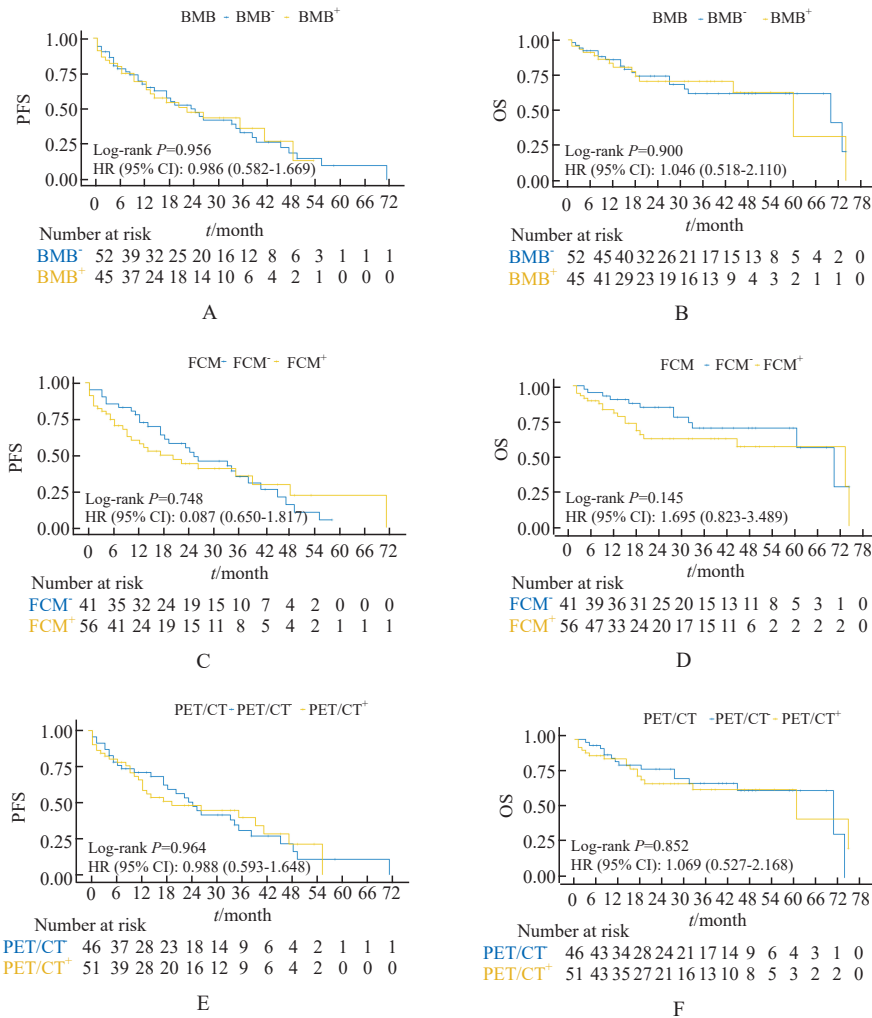


图3 根据BMB、FCM及PET/CT结果分组后,不同组间的PFS、OS生存分析

Fig. 3 Survival analysis of PFS and OS among different groups classified based on the results of BMB, FCM and PET/CT

A: PFS between group BMB⁺ and BMB⁻; B: OS between group BMB⁺ and BMB⁻; C: PFS between group FCM⁺ and FCM⁻; D: OS between group FCM⁺ and FCM⁻; E: PFS between group PET/CT⁺ and PET/CT⁻; F: OS between group PET/CT⁺ and PET/CT⁻; HR: Hazard ratio.

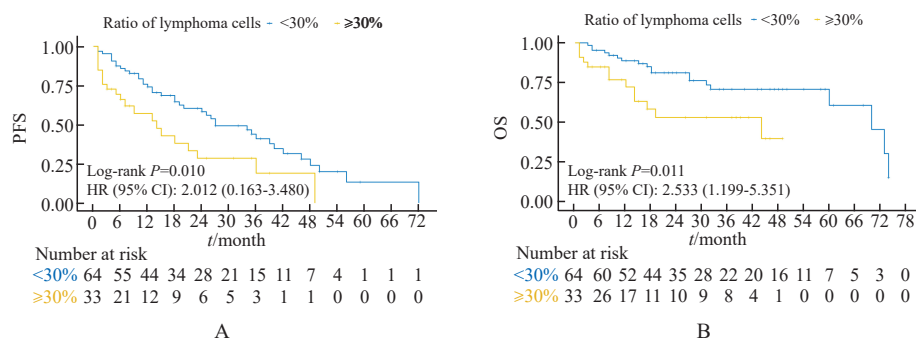


图4 以30%的骨髓淋巴瘤细胞比例为界限分组,不同组间的PFS、OS预后分析

Fig. 4 Prognostic analysis of PFS and OS among different groups divided by a lymphoma cell ratio of 30% in bone marrow fluid

A: PFS between groups with the ratio of lymphoma cells <30.0% and ≥30%; B: OS between groups with the ratio of lymphoma cells <30.0% and ≥30%.

使用列线图展示收集的相关预后风险因素及对患者2年PFS率的影响(图5A),并通过ROC曲线、校准曲线对预后模型进行检验。2年PFS风险预测模型的AUC为0.789,表明模型具有较高的准确度;预测生存率与实际生存率基本吻合,证明模

型的预测能力良好(图5B~5C)。预测模型显示,与其他相关预后因素比较,年龄、MIPI评分、MCL分型及骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例这4个独立预后影响因素表现更为优异,在PFS预测中具有主导作用。同时,应用RCS在控制其他混杂因

素后对骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例与PFS的关系进行COX回归趋势分析,结果显示,总体关联显著性及非线性检验显著性的P值均小于0.05,表明骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例与PFS之间存在

显著的非简单线性关联。当骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例≥30%时,随着淋巴瘤细胞比例的增多,风险比(Hazard ratio, HR)存在显著升高的趋势且置信区间不包含参考线(图5D)。

表4 PFS相关临床因素的单因素及多因素预后风险分析

Tab. 4 Univariate and multivariate analyses of clinical factors associated with PFS

Factor	Univariate analysis				Multivariate analysis					
	β	SE	Z value	P value	HR (95% CI)	β	SE	Z value	P value	HR (95% CI)
MIPI score										
0-5					1.00 (reference)					1.00 (reference)
6-11	1.44	0.35	4.15	<0.001	4.22 (2.14-8.33)	1.29	0.39	3.29	0.001	3.63 (1.68-7.84)
BMB										
BMB ⁻					1.00 (reference)					
BMB ⁺	-0.04	0.30	-0.12	0.906	0.97 (0.53-1.74)					
Ki-67 proliferation index										
>40%					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≤40%	-0.68	0.31	-2.19	0.028	0.50 (0.27-0.93)	-0.58	0.38	-1.51	0.132	0.56 (0.26-1.19)
Age/year										
>65					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≤65	-0.65	0.31	-2.14	0.032	0.52 (0.29-0.95)	-0.69	0.34	-2.04	0.041	0.50 (0.26-0.97)
WBC count										
<6.70					1.00 (reference)					
≥6.70	0.31	0.28	1.09	0.274	1.37 (0.78-2.39)					
Morphological variants										
Classical					1.00 (reference)					1.00 (reference)
Pleomorphic-blastoid	1.17	0.31	3.81	<0.001	3.23 (1.77-5.90)	0.97	0.37	2.63	0.008	2.65 (1.28-5.46)
Ratio of lymphoma cells										
<30%					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≥30%	0.87	0.31	2.82	0.005	2.39 (1.31-4.39)	0.86	0.34	2.55	0.011	2.36 (1.22-4.56)
Number of extranodal sites										
>2					1.00 (reference)					
≤2	-0.33	0.29	-1.14	0.255	0.72 (0.41-1.27)					
Hazard classification for PET/CT										
High risk					1.00 (reference)					1.00 (reference)
Low risk	-0.64	0.32	-2.03	0.042	0.53 (0.28-0.98)	-0.06	0.33	-0.18	0.856	0.94 (0.49-1.81)
PLT	-0.00	0.00	-1.29	0.197	1.00 (0.99-1.00)					
HGB	-0.01	0.01	-1.28	0.200	0.99 (0.98-1.00)					
BM SUV _{max} /liver SUV _{max}	0.08	0.10	0.82	0.412	1.08 (0.90-1.30)					

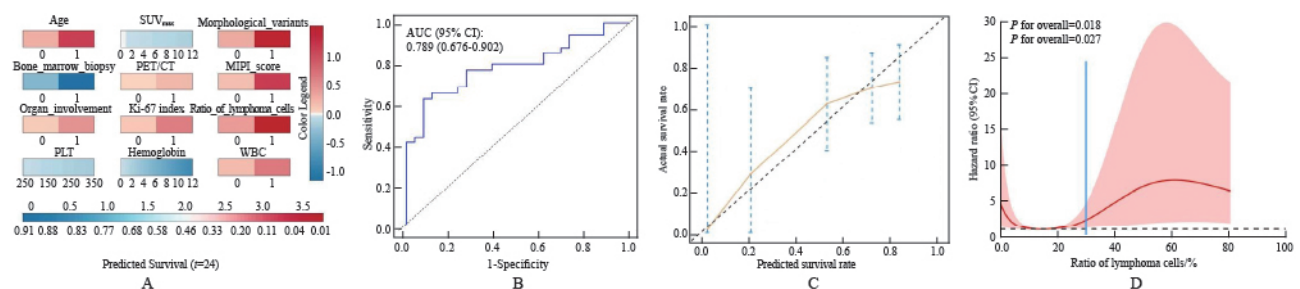


图5 2年PFS生存率预测列线图及预后模型准确度、预测能力、合理性的验证

Fig. 5 Nomogram for the prediction of the 2-year PFS rate and the validation of accuracy, predictive performance, and rationality within the prognostic model

A: Nomogram for 2-year PFS rate; B: Verification of the accuracy; C: Assessment of the predictive performance; D: Analysis of RCS between the ratio of lymphoma cells and PFS.

表5 OS相关临床因素的单因素及多因素预后风险分析

Tab. 5 Univariate and multivariate analyses of clinical factors associated with OS

Factor	Univariate analysis					Multivariate analysis				
	β	SE	Z value	P value	HR (95% CI)	β	SE	Z value	P value	HR (95% CI)
MIPI score										
0-5					1.00 (reference)					1.00 (reference)
6-11	1.29	0.42	3.10	0.002	3.63 (1.60-8.20)	1.06	0.51	2.09	0.036	2.89 (1.07-7.82)
BMB										
BM ⁻					1.00 (reference)					
BMB ⁺	0.09	0.39	0.23	0.819	1.09 (0.51-2.34)					
Ki-67 proliferation index										
>40%					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≤40%	-1.10	0.40	-2.79	0.005	0.33 (0.15-0.72)	-1.04	0.53	-1.96	0.050	0.35 (0.13-0.99)
Age/year										
>65					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≤65	-0.95	0.39	-2.45	0.014	0.39 (0.18-0.83)	-1.25	0.47	-2.67	0.008	0.29 (0.11-0.72)
WBC										
<6.70					1.00 (reference)					
≥6.70	0.39	0.38	1.02	0.309	1.48 (0.70-3.13)					
Morphological variants										
Classical					1.00 (reference)					1.00 (reference)
Pleomorphic-blastoid	1.42	0.40	3.58	<0.001	4.13 (1.90-8.99)	1.27	0.51	2.50	0.013	3.57 (1.31-9.67)
Ratio of lymphoma cells										
<30%					1.00 (reference)					1.00 (reference)
≥30%	0.92	0.40	2.33	0.020	2.51 (1.16-5.44)	0.84	0.44	1.92	0.054	2.32 (0.98-5.49)
Number of extranodal sites										
>2					1.00 (reference)					
≤2	-0.42	0.38	-1.09	0.277	0.66 (0.31-1.40)					
Hazard classification for PET/CT										
High risk					1.00 (reference)					1.00 (reference)
Low risk	-0.81	0.40	-2.01	0.045	0.45 (0.20-0.98)	-0.23	0.43	-0.53	0.595	0.80 (0.35-1.84)
PLT	-0.00	0.00	-0.69	0.489	1.00 (0.99-1.00)					
HGB	-0.01	0.01	-1.46	0.144	0.99 (0.98-1.00)					
BM SUV _{max} /liver SUV _{max}	0.15	0.09	1.59	0.112	1.16 (0.97-1.39)					

3 讨 论

MCL诊断时80%以上患者处于疾病晚期,常存在骨髓侵犯。BMB是现阶段评估MCL患者骨髓侵犯的金标准,但相关研究显示,BMB是一种与焦虑和疼痛相关的操作^[17],且在骨髓局灶性病变患者中容易出现假阴性结果^[6]。随着诊断技术的更新和进步,目前已有多种检测方法用于评估淋巴瘤患者的骨髓侵犯,包括FCM、骨髓涂片、PET/CT等,并且在多种亚型的淋巴瘤中表现出较好的诊断效能^[7-15]。然而,骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例在MCL中诊断骨髓侵犯的检验效能及预后评估中的应用,仍有待进一步发掘。因此,本研究通过评估骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例在MCL骨髓侵犯中的诊断价值,同时探讨不同检查手段的结果在预后评估中的作用,旨在明确FCM技术在MCL

骨髓侵犯的诊断及预后判断中的临床价值,并进一步探索骨髓侵犯这一指标本身的预后意义。

FCM在诊断骨髓微量肿瘤细胞浸润时更具有优势,灵敏度更高^[18]。本研究显示,在诊断MCL骨髓侵犯时,FCM表现出良好的灵敏度、特异度及阴性预测值,且提出骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例>5.31%对骨髓侵犯具有良好的区分能力。Hong等^[19]在弥漫大B细胞淋巴瘤中研究发现,骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例>2%具有较好的检验效能。因此,本研究证实,FCM在MCL骨髓侵犯诊断中所展现的高灵敏度、高特异度具有重要参考价值,并且具备显著的临床应用价值。在MCL骨髓侵犯的诊断体系中纳入骨髓FCM检测的淋巴瘤细胞比例指标,可构建更全面、多维度的诊断模式,从而提升诊断结果的准确率和临床应用效能,并为后续制定更完善的MCL骨髓侵犯诊断标准提

供参考依据。

本研究显示,骨髓侵犯与否对MCL预后无显著影响,而MIPI评分系统也仅通过年龄、ECOG评分、乳酸脱氢酶和白细胞计数4个指标进行预后分层^[20],并未包含骨髓侵犯、分期等因素。因此,我们应重新评估骨髓侵犯在MCL中的预后价值。例如,Sehn等^[21]在弥漫大B细胞淋巴瘤中用特定器官(包括骨髓、中枢神经系统、肝脏、胃肠道或肺)的侵犯替代受累部位数量进行风险分层,有效区分了低危与高危亚组,证明结外器官侵犯存在危险程度的异质性。结合本研究结果推测,骨髓侵犯在MCL诸多预后不良因素中,其风险权重可能相对较低;抑或因既往研究未对骨髓侵犯的肿瘤负荷进行精细化分层,导致其预后评估价值未能充分体现。因此,本研究针对骨髓FCM检测的淋巴瘤细胞比例开展精细化分层,并进一步进行预后生存分析。值得关注的是,本研究中骨髓FCM的淋巴瘤细胞比例 $\geq 30.0\%$ 组的PFS和OS均较对照组显著缩短,且该指标作为PFS的独立预后危险因素,在预后模型构建及非线性相关趋势分析中均表现出良好的适用性。上述结果表明,骨髓FCM检测的淋巴瘤细胞比例对于MCL患者的预后评估具有重要临床意义。

针对生存分析中不同组别患者的基线资料差异,进一步分析显示,FCM阳性组的IV期患者占比与FCM阴性组相比差异有统计学意义($P < 0.05$),造成两组间在疾病临床分期这一基线指标上分布不均衡,但该差异的出现与临床实际特征高度吻合,即FCM检测阳性通常提示骨髓侵犯,而骨髓侵犯的存在是MCL患者疾病分期判定为IV期的核心依据之一。基于此,本研究认为FCM阴性组与FCM阳性组间的临床分期基线差异,对两组预后分析结果的干扰程度相对有限,而该基线差异的形成,推测与FCM检测在诊断MCL骨髓侵犯方面具备的高灵敏度和高特异度密切相关。

多因素分析显示,年龄 > 65 岁、MIPI评分 ≥ 6 分、母细胞变型及多形性变型、骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例 $\geq 30\%$ 为PFS的独立预后危险因素,与Greenbaum等^[10]在弥漫大B细胞淋巴瘤中的研究结果相符,进一步表明应提高FCM骨髓液淋巴瘤细胞比例在MCL诊疗及评估中应用的优先级。将收集的相关预后危险因素纳入列线图预后模型中,并对该模型进行验证发现,其具有较高的准确率及预测能力。该模型与单纯的MIPI评分相比,纳入了免疫化疗时代MCL较明确的不良预后因素,且与常见预后因素比较表现出良好的预后预测价

值,使得对MCL的PFS预测更加准确全面。为进一步验证骨髓淋巴瘤细胞比例用于预测预后的可靠性和准确性,本研究在校正其他混杂因素后,针对该指标与PFS的关联性进行COX回归趋势分析。结果显示,以30%的骨髓淋巴瘤细胞比例为临界值,HR随淋巴瘤细胞比例的增多呈显著上升趋势,提示将该指标纳入预后模型具有良好的合理性和稳定性;同时,临界值对应的置信区间未跨越参考线,表明其区间效应显著,且结果具有较高可信度。

本研究对OS的预后影响因素进行了探索性生存分析,结果表明,骨髓淋巴瘤细胞比例并非OS的独立预后危险因素。这一结果的产生,一方面可能与样本量有限相关;另一方面,随着布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂、B细胞淋巴瘤因子2抑制剂等靶向药物的应用,MCL患者的长期生存得到显著改善,这也可能对OS相关分析结果产生一定影响。此外,与OS相比,PFS相关事件发生时间更早、频次更高,达到统计学检验效能所需的样本量和随访时间均更少,研究效益也相对更高。基于上述原因,本研究仅针对PFS开展预后模型的构建与验证工作。

本研究是一项真实世界回顾性研究,局限性在于纳入病例的数量尚少,可能存在患者选择偏倚,导致组间生存分析时样本量不足进而影响统计效力,后期可增加病例数和完善相关临床指标以便进一步论证结论。此外,TP53、IGH/CCND1基因突变的数据不足,因此未纳入本研究。鉴于其在MCL中预后中的重要提示作用,可能是生存预后分析时重要的混杂因素,条件允许时可通过前瞻性随访研究对相关指标进行探索。同时,BMB、PET/CT及FCM等检查存在操作者依赖性、仪器的客观误差及实验室间的差异均为本研究不可避免的局限性。

综上所述,在MCL患者中,FCM、BMB及PET/CT 3种检测手段判定的骨髓侵犯状态对患者预后生存无显著影响。与之相反,基于FCM的定量评估结果显示,骨髓FCM中的淋巴瘤细胞比例 $\geq 30\%$ 是MCL患者强有力的独立预后危险因素,且在预后预测模型中表现出优异的效能。提示骨髓FCM检测的淋巴瘤细胞比例在MCL诊疗中具有精准、客观且重要的应用价值。

第一作者:

王迪 (ORCID: 0009-0009-3577-4771), 硕士。

通信作者:

常宇 (ORCID: 0000-0003-1824-6124), 博士, 教授, E-mail: fccchangy1@zzu.edu.cn。

作者贡献声明:

王迪: 数据分析、可视化, 撰写初稿; 李梦涵: 调查、可视化和验证; 吴皓辰: 数据整理, 资源整合; 孙金森: 资源整合, 软件处理; 谢紫腾: 数据管理; 李继伟: 资源整合, 数据分析; 张蕾: 项目管理、监督; 张明智: 项目管理, 方法学处理; 常宇: 概念化、项目管理, 审查并修改稿件。

[参考文献]

- [1] SWERDLOW S H, CAMPO E, HARRIS N L, et al. World Health Organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [M]. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2008: ednp194-195.
- [2] 平凌燕, 郑文, 王小沛, 等. 98例套细胞淋巴瘤临床特点及预后分析[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(19): 1234-1238.
PING L Y, ZHENG W, WANG X P, et al. Analysis of clinical features and prognosis of 98 patients with mantle cell lymphoma [J]. Chin J Clin Oncol, 2014, 41(19): 1234-1238.
- [3] CHEN-LIANG T H, MARTÍN-SANTOS T, JEREZ A, et al. Bone marrow biopsy superiority over PET/CT in predicting progression-free survival in a homogeneously-treated cohort of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Cancer Med, 2017, 6(11): 2507-2514.
- [4] SAIKI Y, TOMITA N, UCHIDA A, et al. Biopsy remains indispensable for evaluating bone marrow involvement in DLBCL patients despite the use of positron emission tomography [J]. Int J Hematol, 2021, 113(5): 675-681.
- [5] CHEN Y M, ZHOU M G, LIU J J, et al. Prognostic value of bone marrow FDG uptake pattern of PET/CT in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma [J]. J Cancer, 2018, 9(7): 1231-1238.
- [6] CHESON B D, FISHER R I, BARRINGTON S F, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification [J]. J Clin Oncol, 2014, 32(27): 3059-3068.
- [7] WOLACH O, FRASER A, LUCHIANSKY M, et al. Can flow cytometry of bone marrow aspirate predict outcome of patients with diffuse large B cell lymphoma? A retrospective single centre study [J]. Hematol Oncol, 2015, 33(1): 42-47.
- [8] SORIGUE M, CAÑAMERO E, MILJKOVIC M D. Systematic review of staging bone marrow involvement in B cell lymphoma by flow cytometry [J]. Blood Rev, 2021, 47: 100778.
- [9] TALAULIKAR D, SHADBOLT B, BELL J, et al. Clinical role of flow cytometry in redefining bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) - a new perspective [J]. Histopathology, 2008, 52(3): 340-347.
- [10] GREENBAUM U, LEVI I, MADMONI O, et al. The prognostic significance of bone marrow involvement in diffuse large B cell lymphoma according to the flow cytometry [J]. Leuk Lymphoma, 2019, 60(10): 2477-2482.

- [11] EICHENAUER D A, ALEMAN B M P, ANDRÉ M, et al. Hodgkin lymphoma: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol, 2018, 29 (Suppl 4): iv19-iv29.
- [12] VOLTIN C A, GOERGEN H, BAUES C, et al. Value of bone marrow biopsy in Hodgkin lymphoma patients staged by FDG PET: results from the German Hodgkin Study Group trials HD16, HD17, and HD18 [J]. Ann Oncol, 2018, 29(9): 1926-1931.
- [13] 中华医学会核医学分会. 淋巴瘤¹⁸F-FDG PET/CT及PET/MR显像临床应用指南(2021版) [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2021, 41(3): 161-169.
Chinese Society of Nuclear Medicine. Clinical practice guideline of ¹⁸F-FDG PET/CT and PET/MR in lymphoma (2021 edition) [J]. Chin J Nucl Med Mol Imag, 2021, 41(3): 161-169.
- [14] BERTHET L, COCHET A, KANOUN S, et al. In newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma, determination of bone marrow involvement with ¹⁸F-FDG PET/CT provides better diagnostic performance and prognostic stratification than does biopsy [J]. J Nucl Med, 2013, 54(8): 1244-1250.
- [15] 蒋显勇, 邹东梅, 张迎强, 等. PET/CT、骨髓活检及骨髓涂片评估弥漫大B细胞淋巴瘤骨髓侵犯的应用及预后价值 [J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(8): 663-667.
JIANG X Y, ZOU D M, ZHANG Y Q, et al. Utility and prognostic value of PET/CT, bone marrow biopsy and aspirate for detection of bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma [J]. Chin J Hematol, 2022, 43(8): 663-667.
- [16] 程莉莉, 施晴, 秦维, 等. PET-CT能否替代骨髓检查弥漫性大B细胞淋巴瘤骨髓侵犯的研究 [J]. 中华转移性肿瘤杂志, 2022, 5(1): 26-30.
CHENG L L, SHI Q, QIN W, et al. Studies on whether PET-CT can replace bone marrow examination for bone marrow infiltration of diffuse large B cell lymphoma [J]. Chin J Metastatic Cancer, 2022, 5(1): 26-30.
- [17] LIDÉN Y, LANDGREN O, ARNÉR S, et al. Procedure-related pain among adult patients with hematologic malignancies [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2009, 53(3): 354-363.
- [18] KIM B, LEE S T, KIM H J, et al. Bone marrow flow cytometry in staging of patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. Ann Lab Med, 2015, 35(2): 187-193.
- [19] 洪韞, 万文丽, 李敏, 等. 流式细胞术在弥漫大B细胞淋巴瘤骨髓侵犯诊断和预后评估中的价值 [J]. 中华医学杂志, 2023, 103(29): 2258-2265.
HONG Y, WAN W L, LI M, et al. Diagnostic and prognostic values of flow cytometry in diffuse large B-cell lymphoma with bone marrow involvement [J]. Natl Med J China, 2023, 103(29): 2258-2265.
- [20] HOSTER E, DREYLING M, KLAPPER W, et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma [J]. Blood, 2008, 111(2): 558-565.
- [21] SEHN L H, SCOTT D W, CHHANABHAI M, et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(11): 1452-1457.

(收稿日期: 2025-09-09 修回日期: 2025-12-30)

(责任编辑: 李广涛)