

MLL-AF10阳性急性白血病的临床特征及预后分析

王立娜 秦亚臻 贾晋松 赵婷 王婧 杨申森 温磊 路瑾 黄晓军

【摘要】 目的 探讨MLL-AF10阳性急性白血病患者临床特征及预后。方法 回顾性分析6例MLL-AF10阳性急性白血病患者临床资料,结合文献明确MLL-AF10阳性急性白血病患者临床特征及预后。结果 6例患者中男4例,女2例,中位年龄为19.5岁,其中5例患者以发热起病,4例患者起病时WBC $<10\times 10^9/L$,FAB分型M₃ 5例,M₄ 1例,初诊时MLL-AF10融合基因水平(实时定量PCR法)为0.23%~22.60%,4例患者均同时合并WT1基因突变,流式细胞术显示为髓系表达。5例可评估患者经规范化疗1个疗程均获得完全缓解,后均行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)。6例患者中2例复杂核型者死亡(1例死于诱导治疗期败血症,1例移植后未植入死亡),5例移植患者中4例获得长期生存。结论 MLL-AF10阳性急性白血病患者多为年轻男性,FAB分型以M₃、M₄居多,常以发热起病,初诊时白细胞计数低,起病时MLL-AF10融合基因水平低,常合并WT1基因突变,常规化疗具有较高的缓解率,但易复发,复杂核型者预后差,allo-HSCT有可能改善其预后。

【关键词】 白血病; 融合基因,MLL-AF10; 疾病特征; 预后

Clinical features and prognosis in MLL-AF10 positive acute leukemia Wang Li'na, Qin Yazhen, Jia Jinsong, Zhao Ting, Wang Jing, Yang Shenmiao, Wen Lei, Lu Jin, Huang Xiaojun. Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China
Corresponding author: Lu Jin, Email: jinllu@sina.com

【Abstract】 **Objective** To analyze the clinical features and prognosis of acute leukemia patients with the mixed lineage leukemia (MLL) gene rearrangements AF10 positive. **Methods** 6 cases with MLL-AF10 positive were analyzed retrospectively, related literatures were reviewed to clarify MLL-AF10 patients' clinical features and prognosis. **Results** The median age of 6 cases was 19.5 years old, 5 patients with fever onset, the onset white blood cells of 4 patients were less than $10\times 10^9/L$. 5 cases were as M₃ and 1 case M₄ according to FAB classification, the level of fusion gene (RQ-PCR) was 0.23%~22.60% when diagnosed, 4 cases had concomitant WT1 gene mutation, flow cytometry disclosed myeloid phenotype. Of 5 evaluated patients achieved the first complete remission after conventional chemotherapy, 2 cases of complex karyotype died, one case died of sepsis in induction, another died from failing of transplantation. 4 out of 5 transplant recipients gained long term survival. **Conclusions** The MLL-AF10 positive patients were mostly young men, the majority FAB classification was M₃ or M₄, often onset with fever, low white blood cells and low level of fusion gene, usually associated with WT1 mutation. Conventional chemotherapy produced a high response rate, but easy to relapse, while the complex karyotype had a poor prognosis, allo-HSCT may have the potential to improve the prognosis of MLL-AF10 positive patients.

【Key words】 Leukemia; Fusion genes, MLL-AF10; Disease attributes; Prognosis

混合系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)基因位于11号染色体长臂2区3带(11q23)。MLL基因重排产生的融合产物与白血病发病相关,MLL

基因重排在于该基因断裂点序列被“伙伴”基因所代替,形成融合基因,其转录的融合蛋白缺失了MLL基因的激活区,干扰下游HOX基因表达的调节,导致白血病的发生^[1],目前已发现70余种MLL伙伴基因^[2],最常见的11q23染色体易位为t(4;11)(q21;q23)和t(9;11)(q22;q23),而MLL-AF4多见于急性淋巴细胞白血病(ALL),MLL-AF9多见于急性髓系白血病(AML)^[3],其他融合基因还有MLL-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.10.007

基金项目:科技部重大专项(2012ZX09303019)

作者单位:100044 北京大学人民医院、北京大学血液病研究所

通信作者:路瑾,Email:jinllu@sina.com

AF10、MLL-PTD、MLL-AF6、MLL-ELL 和 MLL-ENL 等^[4]。MLL 基因重排在成人 AML 中检出率为 3%~4%，在 ALL 中为 3%~7%^[5-6]。目前研究表明伴 MLL 基因重排的白血病虽易获得完全缓解(CR)，但大多恶性程度高，易髓外浸润，长期生存率低，其中 MLL-AF9 和 MLL-AF19 为中等预后，MLL-AF4 预后较差^[7-9]，而 t(10;11)(p12;q23) 形成的 MLL-AF10 融合基因少见，其预后意义国内尚未有文献报道，国外文献也仅见 4 例个案报道。我们对 6 例 MLL-AF10 阳性急性白血病患者的临床特点和预后进行了分析，报道如下。

病例和方法

1. 病例：以 2008 年 7 月至 2014 年 8 月北京大学人民医院血液科住院治疗的 6 例 MLL-AF10 阳性急性白血病患者为研究对象。所有患者经骨髓细胞形态学检测，结合组织化学染色，进行 FAB 分型。

2. 免疫表型分析：取肝素抗凝骨髓 2 ml，应用我所常规免疫分型方法对 6 例 MLL-AF10 阳性患者进行免疫分型分析^[10]。

3. 细胞遗传学分析：取肝素抗凝的冰冻骨髓细胞标本，通过 24 h 培养法制备染色体，应用 G 显带技术显带处理，经过图像采集、分析，最后参照《人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN2009)》进行染色体核型分析。

4. 实时定量 PCR：MLL-AF10 融合基因检测采用实时定量 PCR 方法，另外检测了 BCR-ABL、TEL-AML1、E2A-PBX1、TCR、IgH、AML1-ETO、PML-RAR α 、CBF β -MYH11、WT1、PRAME、NPM1 及 FLT3-ITD 等基因，以 ABL 基因为内参，靶基因表达水平=靶基因拷贝数/ABL 拷贝数 \times 100%^[11]。

5. 治疗：AML 患者采用 IA(去甲氧柔红霉素 100 mg/m² \times 3 d，阿糖胞苷 100 mg/m² \times 7 d)或 MA(米托蒽醌 6 mg/m² \times 3 d，阿糖胞苷 100 mg/m² \times 7 d)诱导

方案化疗，巩固治疗采用原方案 1 个疗程，强化治疗采用中剂量阿糖胞苷(2 g/m²，每 12 h 1 次， \times 3 d)，CR 后化疗 2~3 个疗程可行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)。

6. 随访：随访截止时间为 2015 年 3 月 21 日，通过电话或病案查询方式进行随访。

结 果

1. 临床资料：6 例 MLL-AF10 基因重排阳性者中男 4 例，女 2 例，中位年龄 19.5(17~30)岁，5 例患者初诊时表现为发热，2 例表现为齿龈肿痛，1 例淋巴结肿大，1 例胸骨疼痛。其中 WBC $>$ 50 \times 10⁹/L 1 例，WBC (10~50) \times 10⁹/L 1 例，WBC $<$ 10 \times 10⁹/L 4 例，4 例合并贫血。6 例患者骨髓原始单核细胞均 $>$ 0.400(表 1)。

2. 免疫表型：6 例患者均为髓系表达，按 FAB 分型 AML-M₅ 5 例，M₄ 1 例。免疫分型多数表达髓系抗原 CD33(6 例)、HLA-DR(5 例)及 CD38(4 例)，此外还较多表达 CD56、CD19 及 CD64(均为 3 例)，而 CD117、CD56、CD19、CD34 及 CD7 各有 2 例表达阳性(表 2)。

3. 细胞遗传学分析：6 例患者均行染色体检查，其中 2 例表现为复杂染色体核型异常，分别为 45, XY, -4, -18, +mar[1] 和 45, XX, add(9)(p24), der(12)t(12;22)(q10;q10), -22[2]/46, XX[8], 2 例为标准 t(10;11)，2 例为正常核型。

4. 分子生物学特征分析：实时定量 PCR 检测显示 6 例患者 MLL-AF10 基因重排，其中 4 例伴有 WT1 基因突变，1 例伴有 PRAME 基因突变。

5. 疗效：6 例患者除 1 例在诱导期死亡外，5 例可评估的患者均达到 CR，5 例患者均进行了 allo-HSCT，2 例在移植前曾有复发，采用 MA 或 HAA(高三尖杉酯碱、阿糖胞苷、阿克拉霉素)方案化疗后再次缓解，5 例移植患者中 1 例因植入不良死

表 1 6 例 MLL-AF10 阳性急性髓系白血病患者临床资料

| 例号 | 性别 | 年龄(岁) | FAB 分型 | WBC (\times 10 ⁹ /L) | HGB (g/L) | PLT (\times 10 ⁹ /L) | 骨髓原始细胞 |
|----|----|-------|----------------|------------------------------------|-----------|------------------------------------|--------|
| 1 | 男 | 30 | M ₅ | 1.74 | 94 | 104 | 0.810 |
| 2 | 男 | 25 | M ₅ | 1.28 | 99 | 65 | 0.950 |
| 3 | 男 | 19 | M ₄ | 63.83 | 96 | 90 | 0.830 |
| 4 | 男 | 20 | M ₅ | 6.64 | 99 | 107 | 0.880 |
| 5 | 女 | 17 | M ₅ | 17.20 | 60 | 16 | 0.590 |
| 6 | 女 | 18 | M ₅ | 0.87 | 52 | 26 | 0.425 |

表2 6例MLL-AF10阳性急性髓系白血病患者免疫表型、细胞遗传学、分子生物学特征及转归

| 例号 | 免疫分型 | MLL-AF10水平(%) | 核型 | 其他基因突变 | 化疗方案 | allo-HSCT | 完全缓解 | 转归 | 生存期 |
|----|---|---------------|---|-------------|------|-----------|------|------|----------------|
| 1 | CD33、CD19、CD56、HLA-DR | 9.40 | 46,XY,t(10;11)(p12;q23)[4]/46,XY[11] | - | IA | 是 | 是 | 生存 | 12个月 |
| 2 | CD33、CD38、HLA-DR | 4.80 | 45,XY,-4,-18,+mar[1] | WT1 (4.8%) | IA | 是 | 是 | 死亡 | 19个月 (植入不良) |
| 3 | CD33、CD117 | 22.60 | 46,XY[20] | WT1 (5.5%) | MA | 是 | 是 | 生存 | 80个月 |
| 4 | CD33、CD64、CD38、HLA-DR、CD2 | 4.40 | 46,XY[20] | PRAME | IA | 是 | 是 | 生存 | 18个月 |
| 5 | CD33、CD38、CD64、CD34、HLA-DR、CD56、CD19、CD7 | 20.90 | 46,XX,t(10;11)(p12;q23)[20] | WT1 (59.1%) | IA | 是 | 是 | 生存 | 24个月 |
| 6 | CD33、CD117、CD64、CD56、CD34、CD10、HLA-DR、CD38、CD19、CD7 | 0.23 | 45,XX,add(9)(p24),der(12)t(12;22)(q10;q10),-22[2]/46,XX,[8] | WT1 (3.8%) | MA | 否 | 否 | 早期死亡 | 23 d |

注:allo-HSCT:异基因造血干细胞移植; IA:柔红霉素+阿糖胞苷; MA:米托蒽醌+阿糖胞苷; -:阴性

亡,2例发生了慢性移植物抗宿主病(GVHD),使用激素和(或)环孢素后均缓解,1例移植后复发,进行了造血干细胞再回输,5例移植患者中4例获得长期存活。

6. 生存期:6例患者中有2例死亡,生存期分别为23 d及19个月,4例存活患者的生存期为12至80个月不等。

讨 论

MLL基因重排因独特的临床与生物学特征在WHO髓系肿瘤分类中作为一个特殊的类别被单独列出,MLL基因重排阳性急性白血病中ALL多为B细胞系,AML多为M₄或M₅^[12],在婴儿ALL中约79%的MLL基因重排表现为MLL-AF4(41%)、MLL-ENL(18%)、MLL-AF9(11%)或MLL-AF10(2.4%)等^[13],在儿童和成人前B细胞ALL中90%以上表现为MLL-AF4(54.9%)和MLL-ENL(6.0%)^[14],MLL基因重排在AML中约84%表现为MLL-AF9(28.8%)、MLL-ENL(4%)、MLL-ELL(11.4%)、MLL-AF10(15.2%)、MLL-AF6(9.5%),部分表现为MLL-PTD(11.4%)^[3-4],可见MLL-AF10在婴儿ALL及AML患者中均有一定检出率,而MLL-AF10阳性急性白血病患者的临床特征及预后目前国内尚无文献报道,本研究为国内首个较大病例数报道,国外文献也仅为个案分析。

有文献报道72%的MLL-AF10阳性白血病患者其FAB分型为M₅^[15],与本研究中的5例(83.3%)患者为AML-M₅较一致,并且患者多为青年男性,这与

Meyer等^[3]报道一致,提示MLL-AF10具有一定的性别特异性。

Jarsova等^[16]报道的1例5'端重复MLL基因插入到10p12形成MLL-AF10融合基因AML-M₅患者,其初诊时白细胞计数高(53.8×10⁹/L),与本研究中大部分患者初诊时白细胞计数低不相符,而Matsuda等^[17]报道的1例5'端MLL基因插入到10p12同时3'端MLL基因缺失形成的MLL-AF10阳性AML-M₅患者初诊时白细胞计数同样低下,探究其原因可能与MLL-AF10不同形式的基因重排有关,据Van Limbergen等^[18]报道MLL-AF10基因重排比其他MLL基因复杂,共有四种形式的基因重排,使得不同类型的MLL-AF10表现形式不一致。Jarsova等^[16]报道的患者中80%以上原始细胞免疫表型为表达CD33和HLA-DR,与本研究中的6例患者均表达CD33、5例患者HLA-DR阳性一致,提示MLL-AF10免疫分型多为髓系表达,而非表达T或B系淋巴表型。

本研究中6例MLL-AF10阳性AML患者进行基因检测发现4例患者合并有WT1基因突变,MLL-AF10基因拷贝数较低,提示对于MLL-AF10阳性患者可同时检测WT1基因作为微小残留或复发的指标。

DiNardo等^[19]报道的2例MLL-AF10阳性急性白血病患者初次化疗时均发生了肿瘤溶解、肾衰竭、DIC、呼吸衰竭等多器官功能衰竭综合征(MODS),在很强的支持治疗后获得第1次CR,本研究中1例患者在骨髓抑制期因继发感染引发败血

症、出血而早期死亡,提示 MLL-AF10 阴性急性白血病早期病死率高,早期支持治疗具有重要意义。而本研究 5 例患者获得 CR,5 例行 allo-HSCT,其中 4 例移植患者目前仍存活,1 例目前已存活近 8 年,而 2 例死亡患者均为复杂核型,其中 1 例移植患者因移植植入不良死亡,提示 MLL-AF10 阳性患者常规化疗较易获得 CR,复杂核型者预后差,具有 MLL 基因重排所共有的特性,而 Dreyling^[20]和 DiNardo 等^[19]认为对于 AML 患者 MLL-AF10 阳性提示预后较差,其总体预后需进行多中心临床试验证实,但本研究中 4 例移植患者获得了长期生存,提示 allo-HSCT 在改善 MLL-AF10 预后方面可能是一个有价值的选择。

综上所述,MLL-AF10 作为 MLL 融合基因中一特殊亚型,患者多为年轻男性,FAB 分型以 M₅、M₄ 居多,常以发热起病,初诊时白细胞计数低,起病时 MLL-AF10 融合基因水平低,常合并 WT1 基因突变,常规化疗具有较高的缓解率,但易复发,复杂核型者预后差,其总体预后尚不明确,allo-HSCT 有可能改善 MLL-AF10 阳性患者的预后,需进一步通过多中心临床试验证明。

参考文献

- [1] Poppe B, Vandesompele J, Schoch C, et al. Expression analyses identify MLL as a prominent target of 11q23 amplification and support an etiologic role for MLL gain of function in myeloid malignancies[J]. *Blood*, 2004, 103(1):229-235.
- [2] Meyer C, Schneider B, Reichel M, et al. Diagnostic tool for the identification of MLL rearrangements including unknown partner genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(2):449-454.
- [3] Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2013[J]. *Leukemia*, 2013, 27(11):2165-2176.
- [4] Shih LY, Liang DC, Fu JF, et al. Characterization of fusion partner genes in 114 patients with de novo acute myeloid leukemia and MLL rearrangement[J]. *Leukemia*, 2006, 20(2):218-223.
- [5] Schoch C, Schnittger S, Klaus M, et al. AML with 11q23/MLL abnormalities as defined by the WHO classification: incidence, partner chromosomes, FAB subtype, age distribution, and prognostic impact in an unselected series of 1897 cytogenetically analyzed AML cases[J]. *Blood*, 2003, 102(7):2395-2402.
- [6] Pui CH, Chessells JM, Camitta B, et al. Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with 11q23 rearrangements[J]. *Leukemia*, 2003, 17(4):700-706.
- [7] Super H, Strissel P, Sobulo O, et al. Identification of complex genomic breakpoint junctions in the t(9;11) MLL-AF9 fusion gene in acute leukemia[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 1997, 20(2):185-195.
- [8] Gu Y, Nakamura T, Alder H, et al. The t(4;11) chromosome translocation of human acute leukemias fuses the ALL-1 gene, related to *Drosophila trithorax*, to the AF-4 gene[J]. *Cell*, 1992, 71(4):701-708.
- [9] Taki T, Kano H, Taniwaki M, et al. AF5q31, a newly identified AF4-related gene is fused to MLL in infant acute lymphoblastic leukemia with ins(5;11)(q31;q13q23)[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(25):14535-14540.
- [10] 刘艳荣, 于弘, 常艳, 等. 四色荧光标记抗体在白血病免疫分型中的应用及意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2002, 10(5):423-427.
- [11] 主鸿鹄, 刘艳荣, 秦亚漆, 等. 实时定量 PCR 检测 46 例初诊急性早幼粒细胞白血病患者 PML/RAR α mRNA 的分子表达[J]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(1):1-5.
- [12] 周春林, 王建祥. MLL 相关急性白血病的研究现状[J]. *国外医学输血及血液学分册*, 2002, 25(6):526-529.
- [13] Jansen MW, Corral L, van der Velden VH, et al. Immunobiological diversity in infant acute lymphoblastic leukemia is related to the occurrence and type of MLL gene rearrangement[J]. *Leukemia*, 2007, 21(4):633-641.
- [14] Burmeister T, Meyer C, Schwartz S, et al. The MLL recombinome of adult CD10-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results from the GMALL study group[J]. *Blood*, 2009, 113(17):4011-4015.
- [15] Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study[J]. *Blood*, 2009, 114(12):2489-2496.
- [16] Jarosova M, Takacova S, Holzerova M, et al. Cryptic MLL-AF10 fusion caused by insertion of duplicated 5' part of MLL into 10p12 in acute leukemia: a case report[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2005, 162(2):179-182.
- [17] Matsuda K, Hidaka E, Ishida F, et al. A case of acute myelogenous leukemia with MLL-AF10 fusion caused by insertion of 5' MLL into 10p12, with concurrent 3' MLL deletion[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2006, 171(1):24-30.
- [18] Van Limbergen H, Poppe B, Janssens A, et al. Molecular cytogenetic analysis of 10;11 rearrangements in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2002, 16(3):344-351.
- [19] DiNardo CD, Tang G, Pemmaraju N, et al. Acute myeloid leukemia with t(10;11): a pathological entity with distinct clinical presentation[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2015, 15(1):47-51.
- [20] Dreyling MH, Schrader K, Fonatsch C, et al. MLL and CALM are fused to AF10 in morphologically distinct subsets of acute leukemia with translocation t(10;11): both rearrangements are associated with a poor prognosis[J]. *Blood*, 1998, 91(12):4662-4667.

(收稿日期:2015-04-10)

(本文编辑:王叶青)