

- [5] Carniti C, Gimondi S, Vendramin A, et al. Pharmacologic inhibition of JAK1/JAK2 signaling reduces experimental murine acute GVHD while preserving GVT effects [J]. Clin Cancer Res, 2015, 21 (16):3740-3749. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2758.
- [6] Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, et al. Graft-versus-host disease [J]. Lancet, 2009, 373(9674):1550-1561. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
- [7] Koç ON, Gerson SL, Phillips GL, et al. Autologous CD34+ cell transplantation for patients with advanced lymphoma: effects of overnight storage on peripheral blood progenitor cell enrichment and engraftment[J]. Bone Marrow Transplant, 1998, 21(4):337-343. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701096.
- [8] Zubair A, Zahrieh D, Daley H, et al. Early neutrophil engraftment following autologous BMT provides a functional predictor of long-term hematopoietic reconstitution [J]. Transfusion, 2003, 43(5):614-621.
- [9] Shanavas M, Popat U, Michaelis LC, et al. Outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelofibrosis with prior exposure to janus kinase 1/2 inhibitors[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2016, 22(3):432-440. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.10.005.
- [10] Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey [J]. Leukemia, 2015, 29(10):2062-2068. DOI: 10.1038/leu.2015.212.
- [11] Choi J, Cooper ML, Alahmari B, et al. Pharmacologic blockade of JAK1/JAK2 reduces GvHD and preserves the graft-versus-leukemia effect [J]. PLoS One, 2014, 9 (10):e109799. DOI: 10.1371/journal.pone.0109799.
- [12] Khandelwal P, Teusink-Cross A, Davies SM, et al. Ruxolitinib as salvage therapy in steroid-refractory acute graft-versus-host disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2017, 23 (7):1122-1127. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.03.029.
- (收稿日期:2018-07-09)
(本文编辑:王叶青)

芦可替尼治疗慢性中性粒细胞白血病一例报告并文献复习

胡耐博 方力维 秦铁军 肖志坚 徐泽锋

Ruxolitinib for chronic neutrophilic leukemia: a case report and literature review Hu Naibo, Fang Liwei, Qin Tiejun, Xiao Zhijian, Xu Zefeng

Corresponding author: Xu Zefeng, State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China. Email: gbxzf@163.com

慢性中性粒细胞白血病(chronic neutrophilic leukemia,

CNL)是一种罕见的骨髓增殖性肿瘤(MPN)。此前,CNL的诊断多为排除性诊断,且确诊病例数较少。2013年Maxson等^[1]通过对1 862个基因进行深度测序发现CNL患者中存在CSF3R T618I突变,随后的研究证实CSF3R T618I为CNL特异性突变,从而,CNL从排除性诊断进入前瞻性诊断时代。该研究进一步表明JAK和SRC激酶是CSF3R的下游基因,并推论截短型CSF3R可能对SRC激酶抑制剂如达沙替尼敏感,而近跨膜区的突变(如CSF3R T618I突变)可能对JAK抑制剂如芦可替尼(Ruxolitinib)敏感,并从临床上证实芦可替尼对1例伴有CSF3R T618I突变的CNL患者有效。芦可替尼治疗CNL有效在小鼠CNL模型中也得到了证实^[2]。我们用芦可替尼治疗1例CNL患者并获得一定的疗效,现报道如下,并对相关文献进行复习。

病例资料

患者,女,16岁,主因“乏力、头晕1个月余,发热4 d”入院。患者1个月前无明显诱因出现乏力、头晕,活动后加重,

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.12.012

基金项目:中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-1-001);国家自然科学基金(81530008、81600098、81770129);协和学者与创新团队发展计划;天津市科技计划项目(15ZXLC5Y00010)

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(血液学研究所);实验血液学国家重点实验室

通信作者:徐泽锋,Email:gbxzf@163.com

未予重视。患者因发热4 d,最高体温38.1℃,无咳嗽、咯痰,无鼻塞、流涕,无腹痛腹泻,无四肢关节疼痛,到当地医院就诊。血常规:HGB 62 g/L, WBC $61.5 \times 10^9/L$, PLT $50 \times 10^9/L$ 。当地医院给予头孢哌酮等抗感染治疗后体温正常,并予以红细胞输注,但白细胞仍高,血小板减少,为进一步明确诊断来我院就诊。入院时查体:生命体征平稳,发育正常,贫血貌,浅表淋巴结未触及肿大,胸骨无压痛,心肺查体未见明显异常,肝肋缘下未及,脾左肋缘下8 cm。血常规:HGB 76 g/L, WBC $66.79 \times 10^9/L$, PLT $37 \times 10^9/L$,外周血涂片分类:原始粒细胞占0.010,早幼粒细胞占0.010,中幼中性粒细胞占0.020,晚幼中性粒细胞占0.040,中性杆状核粒细胞占0.250,中性分叶核粒细胞占0.570,嗜酸粒细胞占0.040,成熟淋巴细胞占0.050,成熟单核细胞占0.010。ENA抗体谱和抗核抗体均阴性,免疫球蛋白定量正常,肿瘤标记物(甲胎蛋白、癌胚抗原、糖类抗原19-9、癌抗原125、癌抗原15-3)均正常。腹部B型超声:肝脏肋缘下0 cm,肝实质回声增强;脾脏长19.2 cm,厚5.2 cm,肋缘下8.9 cm \times 3.7 cm。骨髓细胞形态学示:增生极度活跃,粒系占0.830,红系占0.140;其中原始粒细胞占0.045,早幼粒细胞占0.040,中幼中性粒细胞占0.120,晚幼中性粒细胞占0.145,中性杆状核粒细胞占0.310,中性分叶核粒细胞占0.105,嗜酸粒细胞占0.065;全片见巨核细胞5个,骨髓造血细胞未见明显发育异常形态改变。中性粒细胞碱性磷酸酶阳性率98%,阳性指数182。骨髓组织病理学检查示:骨髓增生极度活跃(>90%),粒红比例明显增大,粒系各阶段细胞可见,幼稚阶段细胞略增多,红系比例减低,以中晚幼红细胞为主,巨核细胞少见,网状纤维染色(MF-0级)。骨髓细胞流式免疫分型:髓系原始细胞占5.4%,表达HLA-DR、CD38、CD13、CD33,部分表达CD56、CD64和CD7,粒系以不成熟粒细胞为主。染色体核型:46,XX[20]。BCR-ABL(P190、P210和P230)、FIP1L1-PDGFR和TEL-PDGFRB等43种白血病相关融合基因均阴性。应用高通量测序技术对114种血液系统疾病基因突变筛查,检测到与疾病密切相关的热点突变基因仅为CSF3R,突变位置Exon14,核苷酸改变c.1853C>T,氨基酸改变p.T618I,突变频率47.6%;未检测到JAK2、CALR、MPL和SETBP1等其他基因突变。该患者诊断为CNL。

针对该年轻CNL患者,首先建议进行异基因造血干细胞移植,因患者无同胞兄妹,对患者及其父母进行HLA基因分型检测。该患者在高通量测序结果证实存在CSF3R T618I突变之前,给予伊马替尼300 mg/d治疗2周,但WBC仍继续升高,血小板继续下降,治疗无效。在明确诊断后,停用伊马替尼,改予芦可替尼5 mg,每日两次口服治疗。应用芦可替尼治疗7周,患者WBC逐渐下降至 $10.55 \times 10^9/L$,HGB稳定在80 g/L左右,PLT逐步升高至 $62 \times 10^9/L$ (图1),治疗期间患者一般状况良好,未出现其他非血液学不良反应,未输注血制品。复查腹部B型超声:脾脏肋缘下8.3 cm \times 2.9 cm,较治疗前略缩小。因患者PLT仍低于正常水平,芦可替尼没有增加剂量。患者应用芦可替尼治疗有效8周后失效,表现

为白细胞计数逐步升高,再次出现贫血加重,PLT下降。患者外周血原始细胞增高为0.085,骨髓原始粒细胞比例为0.135,进入CNL加速期;1个月后行亲缘半相合异基因造血干细胞移植,外周血细胞计数渐恢复正常,目前已随访8个月。

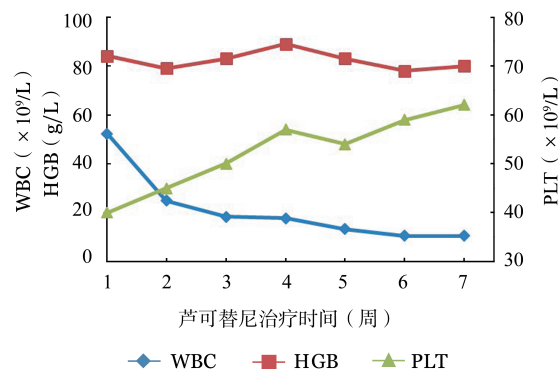


图1 该例慢性中性粒细胞白血病应用芦可替尼治疗后外周血细胞计数变化

讨论及文献复习

CNL是一种罕见的骨髓增殖性肿瘤,可发生于各个年龄段,以50岁以上多见。之前由于发病率低,且缺乏特异性的诊断标志,该病临床诊断较为困难。2013年Maxson等^[1]通过对1 862个基因的编码区深度测序发现89%(8/9)的CNL患者有CSF3R基因突变,提出CSF3R基因突变为CNL的分子克隆性标志。随后,Pardanani等^[3]对符合WHO(2008)标准确诊的12例CNL患者和9例不典型慢性髓性白血病(aCML)患者进行了CSF3R外显子测序分析,发现检测出的10个(83%)CSF3R T618I突变仅见于CNL患者,而在aCML患者未能检测到CSF3R T618I突变,由此确认CSF3R T618I突变是CNL一个高度特异而敏感的分子诊断标志。因此,在最新的WHO 2016版CNL的诊断标准^[4]修订如下:外周血WBC $\geq 25 \times 10^9/L$, $\geq 80\%$ 为中性杆状核和中性分叶核粒细胞,幼稚粒细胞(早幼粒、中幼粒和晚幼粒细胞) $< 10\%$,原始粒细胞极少见,单核细胞计数 $< 1 \times 10^9/L$,无粒细胞发育异常;骨髓高度增生,中性粒细胞比例和数量增高,中性粒细胞成熟表现正常,原始粒细胞占有核细胞比例 $< 5\%$;不符合WHO标准中BCR-ABL⁺ CML、真性红细胞增多症、原发性血小板增多症或原发性骨髓纤维化的诊断;无PDGFRA、PDGFRB、FGFR1或PCM1-JAK2重排;有CSF3R T618I或其他激活的CSF3R突变(如果无CSF3R突变,需有至少3个月持续中性粒细胞增多,有脾大和无明确的反应性中性粒细胞增多原因,包括无浆细胞肿瘤;如有,则需用细胞遗传学或分子生物学研究证实髓系细胞的克隆性)。

由于CNL是一种罕见疾病,国际上均为小样本量的研究,发现CNL患者除了特异性的CSF3R T618I突变外,33%~56%的患者同时伴有SETBP1突变^[3,5]。本中心2014年亦证实我国CNL患者同时伴有SETBP1突变^[6],并在国际

表 1 文献报道芦可替尼治疗伴有 CSF3R T618I 突变患者的临床资料

例号	诊断	年龄 (岁)	性别	治疗前血常规	脾大	染色体核型	基因突变	芦可替尼用量	达到最佳疗效时血常规 (时间)	脾脏有效持续缩小时间	参考文献及备注
1	CNL	69	-	WBC 100.1×10 ⁹ /L ANC 93.1×10 ⁹ /L PLT 102×10 ⁹ /L HGB 100 g/L	是	46,Y,t(x;7)(p22.1;q36) [20]	CSF3R T618I SETBP1 G870S	5 mg bid 加量至 20 mg bid	WBC 5.5×10 ⁹ /L PLT 137×10 ⁹ /L HGB 102 g/L (治疗 4 个月)	是 9 个月	[11]; 疾病进展时基因突变: CSF3R T618I, SETBP1 G870S, GATA2 K392fs, KIT D816V, RUNX1 337_341del
2	CNL	74	女	WBC 54.6×10 ⁹ /L ANC 51.9×10 ⁹ /L PLT 181×10 ⁹ /L HGB 118 g/L	否	正常核型	CSF3R T618I CSF3R Q739stop	5 mg bid 加量至 15 mg/d	正常(文献未给具体数值) (治疗 5 个月)	- 26 个月	[12]; 临床有效时, 突变负荷下降; 疾病进展时, 突变负荷增加
3	CNL	76	男	WBC 147×10 ⁹ /L ANC 107.3×10 ⁹ /L PLT 235×10 ⁹ /L HGB 97 g/L	是	FISH 检测: +8(10%)	CSF3R T618I SETBP1 G870S ASXL1 R404 ASXL1 Y700	5 mg bid 加量至 20 mg bid	正常(文献未给具体数值) (治疗 3 个月)	是 5 个月	[13]
4	CNL	66	女	WBC 86.5×10 ⁹ /L PLT 122×10 ⁹ /L HGB 118 g/L	-	正常核型	CSF3R T618I SETBP1 D868N	10 mg bid 加量至 20 mg bid	无效	-	[14]; 体外试验细胞对 Fedratinib 敏感, 患者对芦可替尼无效
5	CNL	53	男	WBC 96.5×10 ⁹ /L ANC 87.8×10 ⁹ /L PLT 65×10 ⁹ /L HGB 108 g/L	-	-	CSF3R T618I	10 mg bid 加量至 15 mg bid	WBC 25×10 ⁹ /L PLT > 100×10 ⁹ /L (治疗 5 个月)	- >6 个月	[1]
6	aCML	75	男	WBC 71.3×10 ⁹ /L ANC 42.1×10 ⁹ /L PLT 97×10 ⁹ /L HGB 98 g/L	是	-	CSF3R T618I CBL I383T KDM6A S114C	10 mg bid 加量至 20 mg bid	正常(文献未给具体数值) (治疗 3 个月)	是 >6 个月	[15]; 持续有效时, CSF3R T618I 突变负荷并未下降
7	aCML	57	男	WBC 97×10 ⁹ /L PLT 127×10 ⁹ /L HGB 73.6 g/L	是	正常核型	CSF3R T618I SETBP1 G870S	15 mg bid	无效	否	[16]

注: CNL: 慢性中性粒细胞白血病; aCML: 不典型慢性髓性白血病; ANC: 中性粒细胞绝对计数; bid: 每日 2 次; -: 文献未提供资料

上率先报道了 CNL 中存在 ASXL1 突变^[7]; 通过对我院依据 WHO(2008) 造血组织和淋巴组织肿瘤分类标准临床疑诊的 12 例“CNL”患者进行回顾性分析, 6 例确诊为 CNL, 2 例诊断为意义未明的单克隆免疫球蛋白病(MGUS)伴 CNL 表现, 4 例诊断为感染、炎症或肿瘤继发的反应性中性粒细胞增多。6 例(100%) CNL 患者均伴有 CSF3R T618I 突变, 其中 4 例(66.7%) 合并 ASXL1 及 SETBP1 突变, 1 例合并 CALR 突变(C.1154-1155insTTGT); 2 例 MGUS 伴 CNL 表现及 4 例反应性中性粒细胞增多患者均不伴有 CSF3R、ASXL1、SETBP1 或 CALR 基因突变。所有患者均无 JAK2 V617F 突变。在 2017 年我们进一步对符合 WHO2016 诊断标准的 16 例 CNL 患者进行临床特征和预后分析^[8]。结果表明, 在 16 例 CNL 患者中, 除 1 例 t(1;7)(p32;q11)、1 例 +21 克隆异常及 1 例 14ps+ 外, 其余患者均为正常染色体核型。16 例 CNL 患者中, CSF3R T618I 突变检出率为 100%(16/16), ASXL1 突变

检出率为 81%(13/16), SETBP1 突变检出率为 63%(10/16), 1 例患者携带 CALR K385fs*47 突变, 所有患者均无 JAK2 V617F 突变及 MPL 突变。CNL 患者中位生存期为 24(95% CI 18~30) 个月。初诊 WBC ≥ 50×10⁹/L 者中位生存期较 < 50×10⁹/L 者短(11 个月对 39 个月, $P=0.005$)。因此, 我们的研究结果进一步证实 CSF3R T618I 突变是 CNL 的特异性突变, 并发现确诊时 WBC ≥ 50×10⁹/L 是 CNL 的不良预后因素。同时国外亦有研究显示 ASXL1 突变及血小板减少是 CNL 患者生存期缩短的独立不良因素^[9]。

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是目前唯一能治愈 CNL 的手段, 由于 CNL 是罕见疾病且多为老年患者, 目前接受 allo-HSCT 患者极少^[10]。CNL 的非移植传统治疗药物是羟基脲, 疾病早期应用可控制白细胞及脾脏肿大症状, 但是疾病进展期应用疗效不佳。干扰素也是 CNL 传统治疗选择之一, 可在羟基脲不耐受或无效的 CNL 患者中取得一定的

疗效,但在疾病进展期应用无效^[9]。迄今为止,国际上文献报道^[1,11-16]应用芦可替尼治疗伴有CSF3R T618I突变的患者共7例(表1),均为中老年患者,其中CNL患者5例,治疗有效4例,无效1例,有效持续时间为5~26个月,该例治疗无效的患者同时存在CSF3R T618I和SETBP1突变,其骨髓细胞体外培养可以被JAK2抑制剂fedratinib抑制,但是该患者使用芦可替尼治疗无效^[14];2例aCML患者,1例芦可替尼治疗有效,1例无效。

本文报道的这例CNL患者发病年龄仅16岁,较为罕见。该患者仅存在近跨膜区CSF3R T618I突变,不伴有既往文献报道的其他ASXL1、SETBP1等常见基因突变。该患者在高通量测序结果证实存在CSF3R T618I突变之前,曾给予伊马替尼300 mg/d治疗2周,但治疗无效,WBC仍继续升高,PLT继续下降,换用芦可替尼治疗之后该患者很快取得临床疗效,亦表明CSF3R近跨膜区突变可能对SRC酶抑制剂无效,而对JAK抑制剂可能有效。该例CNL患者应用芦可替尼治疗有效持续时间短,8周后进展为加速期,可能与该患者发病时即表现为WBC增高,PLT明显减少,骨髓原始粒细胞比例偏高有关;也可能与该患者因血小板计数较低,无法增加芦可替尼治疗剂量有关。

总之,芦可替尼虽然是目前CNL除了传统治疗药物以外新的治疗选择,但有效持续时间较短,在其治疗有效期间,有条件的患者仍应尽早行allo-HSCT达到治愈该疾病的目的。

参考文献

- [1] Maxson JE, Gotlib J, Pollyea DA, et al. Oncogenic CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia and atypical CML [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(19):1781-1790. DOI: 10.1056/NEJMoa1214514.
- [2] Fleischman AG, Maxson JE, Luty SB, et al. The CSF3R T618I mutation causes a lethal neutrophilic neoplasia in mice that is responsive to therapeutic JAK inhibition [J]. *Blood*, 2013, 122(22):3628-3631. DOI: 10.1182/blood-2013-06-509976.
- [3] Pardanani A, Lasho TL, Laborde RR, et al. CSF3R T618I is a highly prevalent and specific mutation in chronic neutrophilic leukemia [J]. *Leukemia*, 2013, 27(9):1870-1873. DOI: 10.1038/leu.2013.122.
- [4] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20):2391-2405. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- [5] Gotlib J, Maxson JE, George TI, et al. The new genetics of chronic neutrophilic leukemia and atypical CML: implications for diagnosis and treatment [J]. *Blood*, 2013, 122(10):1707-1711. DOI: 10.1182/blood-2013-05-500959.
- [6] Cui Y, Li B, Gale RP, et al. CSF3R, SETBP1 and CALR mutations in chronic neutrophilic leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7:77. DOI: 10.1186/s13045-014-0077-1.
- [7] 崔亚娟, 李冰, 江倩, 等. 慢性中性粒细胞白血病CSF3R、ASXL1、SETBP1、JAK2 V617F和CALR基因突变研究[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(12):1069-1073. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.12.005.
- [8] 崔亚娟, 江倩, 刘晋琴, 等. 慢性中性粒细胞白血病临床和实验室特征及预后因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1):28-32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.006.
- [9] Elliott MA, Pardanani A, Hanson CA, et al. ASXL1 mutations are frequent and prognostically detrimental in CSF3R-mutated chronic neutrophilic leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(7):653-656. DOI: 10.1002/ajh.24031.
- [10] Goto H, Hara T, Tsurumi H, et al. Chronic neutrophilic leukemia with congenital Robertsonian translocation successfully treated with allogeneic bone marrow transplantation in a young man [J]. *Intern Med*, 2009, 48(7):563-567.
- [11] Nooruddin Z, Miltgen N, Wei Q, et al. Changes in allele frequencies of CSF3R and SETBP1 mutations and evidence of clonal evolution in a chronic neutrophilic leukemia patient treated with ruxolitinib [J]. *Haematologica*, 2017, 102(5):e207-e209. DOI: 10.3324/haematol.2016.163089.
- [12] Gunawan AS, McLornan DP, Wilkins B, et al. Ruxolitinib, a potent JAK1/JAK2 inhibitor, induces temporary reductions in the allelic burden of concurrent CSF3R mutations in chronic neutrophilic leukemia [J]. *Haematologica*, 2017, 102(6):e238-e240. DOI: 10.3324/haematol.2017.163790.
- [13] Stahl M, Xu ML, Steensma DP, et al. Clinical response to ruxolitinib in CSF3R T618-mutated chronic neutrophilic leukemia [J]. *Ann Hematol*, 2016, 95(7):1197-1200. DOI: 10.1007/s00277-016-2664-4.
- [14] Lasho TL, Mims A, Elliott MA, et al. Chronic neutrophilic leukemia with concurrent CSF3R and SETBP1 mutations: single colony clonality studies, in vitro sensitivity to JAK inhibitors and lack of treatment response to ruxolitinib [J]. *Leukemia*, 2014, 28(6):1363-1365. DOI: 10.1038/leu.2014.39.
- [15] Dao KH, Solti MB, Maxson JE, et al. Significant clinical response to JAK1/2 inhibition in a patient with CSF3R-T618I-positive atypical chronic myeloid leukemia [J]. *Leuk Res Rep*, 2014, 3(2):67-69. DOI: 10.1016/j.lrr.2014.07.002.
- [16] Ammatuna E, Eefting M, van Lom K, et al. Atypical chronic myeloid leukemia with concomitant CSF3R T618I and SETBP1 mutations unresponsive to the JAK inhibitor ruxolitinib [J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(5):879-880. DOI: 10.1007/s00277-014-2272-0.

(收稿日期:2018-10-07)

(本文编辑:王叶青)