

# 47例MLL重排急性白血病患者EVI1和BRE基因表达及其临床意义

公艳蕾 张静人 张俊 白淑潇 岑建农 沈宏杰 仇惠英 陈苏宁 潘金兰

**【摘要】** 目的 分析伴有11q23/MLL重排急性白血病(AL)患者中EVI1及BRE基因高表达的发生率、相关性及其临床意义。方法 采用骨髓细胞短期培养法制备染色体,R显带技术进行核型分析;采用MLL双色断裂点分离探针和FISH技术对47例患者进行MLL重排检测;实时定量RT-PCR(RQ-PCR)法检测患者EVI1和BRE基因的表达,并对其相关性和临床意义进行分析。结果 47例患者核型均涉及11q23易位,FISH检测MLL重排均为阳性。其中37例患者行免疫表型检测,5例表达B淋系抗原CD19、CD79a或CD10,1例表达T淋系抗原CD7,余表达髓系或髓单核系抗原CD33、CD13、CD14和CD15,其中16例同时CD34(+)。RQ-PCR检测显示18例患者EVI1基因高表达,其中以t(6;11)核型和M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型最多见;t(6;11)组和t(9;11)组EVI1表达水平平均高于正常对照组(P值分别为0.038和0.022)。15例患者BRE基因高表达,其中以t(9;11)核型和M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型最多见。t(4;11)、t(6;11)、t(9;11)、t(11;19)组EVI1表达水平与正常对照组相比均增高(P值均<0.05);t(4;11)、t(9;11)组均高于t(6;11)组(P值分别为0.004和0.012)。47例患者中35例死亡,12例存活,中位生存期为10.0个月。总体比较EVI1基因高表达组中位生存期较低表达组短(P=0.049)。各MLL对手基因组中,仅t(9;11)组EVI1基因高表达者中位生存期短于低表达者(P=0.024)。t(9;11)伴BRE高表达者中位生存期较低表达者长(P=0.024)。在t(9;11)组中可见BRE高表达而EVI1低表达者预后好于BRE低表达而EVI1高表达者。结论 11q23/MLL重排AL患者中EVI1基因高表达发生率高,为预后不良指标。其中尤以t(6;11)和M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>多见。BRE基因高表达在该类白血病中发生率较高,以t(9;11)和M<sub>5</sub>多见。

**【关键词】** 白血病,急性; 基因重排,MLL; 原位杂交,荧光; 基因,EVI1; 基因,BRE

**Clinical significance of expressions of EVI1 and BRE genes in 47 acute leukemia patients with MLL rearrangement** Gong Yanlei, Zhang Jingren, Zhang Jun, Bai Shuxiao, Cen Jiannong, Shen Hongjie, Chou Huiying, Chen Suning, Pan Jinlan. Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and Homeostasis, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Pan Jinlan, Email: jinlanpan@aliyun.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the overexpression frequencies of BRE and EVI1, the correlation between BRE and EVI1 expressions and their possible clinical implications in 11q23/MLL rearrangement acute leukemia. **Methods** Cytogenetic examination of bone marrow cells was performed by short-term culture method. R-banding technique was used for karyotype analysis. 47 patients were detected by interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) with dual-color break apart MLL probe. The expressions of EVI1 and BRE genes were detected by real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RQ-PCR). The correlation and prognostic significance were statistically tested. **Results** 11q23/MLL rearrangements were confirmed by karyotyping and FISH, respectively in 47 patients. According to immunophenotypic analyses of 37 patients, 5 patients showed positive for CD19, CD79a or CD10, 1 for CD7; the others for CD33, CD13, CD14 and CD15, and 16 of them for CD34. Of the 47 patients, 18 patients showed EVI1 overexpression and most of them presented with t(6;11) and M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>. The EVI1 expression was high in t(6;11) or t(9;11) subgroup comparable with levels observed in normal subgroup (P=0.038, 0.022, respectively). 15 patients showed high BRE expression, and most of

them presented with t(9;11) and M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>. High BRE expression was found in t(4;11), t(6;11), t(9;11) and t(11;19) subgroups, respectively by comparing with normal subgroup. The BRE expression was higher in t(4;11) ( $P=0.004$ ) or t(9;11) ( $P=0.012$ ) subgroup than in t(6;11) subgroup. Patients with EVI1 overexpression had a short survival compared with those with low EVI1 expression ( $P=0.049$ ) and it also did in t(9;11) subgroup ( $P=0.024$ ). Patients with t(9;11) and high BRE expression had a long survival compared with those with t(9;11) and low BRE expression ( $P=0.024$ ). **Conclusion** The EVI1 overexpression was significantly frequent in acute leukemia patients with 11q23/MLL rearranged, especially within t(6;11) subgroup and M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>, which was associated with an inferior outcome. High BRE expression was observed frequently in 11q23/MLL-rearranged acute leukemia especially within t(9;11) subgroup and M<sub>5</sub>.

**【Key words】** Leukemia, acute; Gene rearrangement, MLL; In situ hybridization, fluorescence; Gene, EVI1; Gene, BRE

混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 基因又称为 HRX (human trithor-ax), 急性淋巴细胞白血病-1 (acute lymphoblastic leukemia-1, ALL-1) 基因, 位于 11 号染色体长臂 2 区 3 带 (11q23)。MLL 基因重排是成人和儿童白血病中常见的染色体异常, 尤其是婴儿白血病中发生率可高达 70%<sup>[1]</sup>, 已成为急性白血病中一种独特的亚型, WHO 将其单独列为 11q23/MLL 白血病症。11q23/MLL 可与多种染色体发生易位, 与不同的对手基因形成不同的融合基因。多项研究表明, 伴有 MLL 重排的急性白血病患者大多具有恶性程度高、缓解率低、化疗不敏感、预后不佳的特征。尽管如此, 该类白血病仍具有一定的异质性。近来的分子生物学研究显示, 部分 11q23/MLL 重排急性白血病同时伴有逆转录病毒结合位点 1 (ecotropic viral integration 1, EVI1) 或 BRE 基因的异常表达, 并且这些基因的异常表达与否可为该类疾病的预后评估和临床治疗提供更为准确的信息。我们回顾性分析了本院 47 例 11q23/MLL 重排急性白血病患者的 EVI1 和 BRE 基因的表达水平, 并对 EVI1 基因和 BRE 基因表达的相关性及其临床意义进行了研究。

## 病例与方法

1. 病例: 47 例患者均为 2005 年 7 月至 2014 年 8 月来本院进行染色体核型分析并留有样本的初诊急性白血病患者, 包括男 22 例, 女 25 例, 中位年龄 44 (12~70) 岁。诊断均参照 FAB 分型标准。47 例患者按照两种方法进行分类, 首先按照 FAB 分型分为 ALL 组、急性髓系白血病 (AML)-M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub> 组和非单核系 AML 三组; 另外再按照 MLL 对手基因进行分组, 分为 t(4;11)/MLL、t(6;11)/MLL、t(9;11)/MLL、t(11;19)/MLL 和其他类型 5 组。以 15 名健康志愿者骨髓标本为正常对照。

2. 细胞遗传学分析: 采用骨髓细胞直接法和

(或) 24 h 培养法, 按常规制备染色体, 正常核型者至少分析 20 个分裂象, 异常核型者至少分析 10 个分裂象。核型异常依据《人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN 2013)》<sup>[2]</sup> 的规定进行描述。

3. 免疫表型分析: 应用流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司 FC500-MCL 型) 和一组荧光标记的单克隆抗体检测白血病细胞的表面抗原。判断标准为胞质抗原  $\geq 10\%$  为阳性, 细胞膜表面抗原  $\geq 20\%$  为阳性。

4. 双色间期 FISH 检测 MLL 重排: MLL 双色断裂点分离探针购自美国 Vysis 公司,  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用, 参照说明书进行操作。应用 Olympus BX60 荧光显微镜, 在 DAPI/FITC/Texas Red 三色滤光片的激发下观察细胞荧光杂交信号, 伴有 MLL 重排阳性的细胞显示为一红一绿和一黄色荧光信号, 正常细胞显示两黄色荧光信号。每例至少分析 300 个间期细胞 (不计重叠细胞), 计算阳性细胞的百分率。

5. EVI1 及 BRE 基因表达检测: TRIzol 试剂盒和 TaqMan<sup>®</sup> 探针均为美国 Invitrogen 公司产品, 按说明书进行操作, 提取细胞 RNA 进行逆转录, 在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪上进行基因表达水平检测。以 PBGD 基因作为内参照<sup>[3]</sup>, 如果 PBGD 基因的表达水平低于  $10^3$ , 则视为 RNA 质量不合格予以剔除。待测基因表达水平以  $2^{-\Delta\text{CT}}$  计算,  $\Delta\text{CT}$  为待测基因的 CT 均数减去内参基因的 CT 均数<sup>[4-5]</sup>。PBGD、EVI1 及 BRE 基因的扩增引物<sup>[6]</sup> 序列见表 1。

6. 治疗: 所有患者均接受正规化疗, 其中 12 例患者于化疗后缓解状态行异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 治疗。

7. 随访: 47 例患者治疗后 3 个月左右随访 1 次, 包括电话及来院复查随访, 末次随访时间为 2015 年 2 月 15 日。

8. 统计学处理: 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。Kaplan-Meier 方法进行总体生存分析及生存

曲线的绘制, Pearson 检验用于检验两种基因表达间的关联性, Cox 比例风险模型用于多因素预后分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

表1 基因扩增引物序列

引物	序列(5'→3')
PBGD	F:GATACGAAGGGATGTACCA
	R:CTCGGCCAGGGTGTGAA
	P:FAM-TGCTTCTGATGGCAAGCTCTACGTCTCCT-TAMRA
EVI1	F:ACCCACTCCTTTCTTTATGGACC
	R:TGATCAGGCAGTTGGAATTGTG
	P:FAM-TGAGGCCTTCTCCAGGATTCTGTTCAC-TAMRA
BRE <sup>a</sup>	BRE 基因引物和探针使用成品荧光探针引物预混液

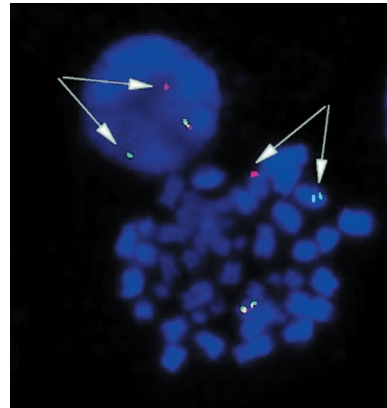
注:F:正向引物;R:反向引物;P:探针;<sup>a</sup>引物序列参考文献[6]购买

### 结 果

1. 染色体核型分析:47例急性白血病患者均涉及11q23易位,按MLL对手基因分类,t(4;11)/AF4 9例,t(6;11)/AF6 17例,t(9;11)/AF9 11例,t(11;19)/ELL 5例,其他类型组包括:t(10;11)/AF10 2例,t(11;17)/AF17、t(1;11)/AF1p及t(3;11)各1例。本组病例ALL 8例,M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型28例,非单核系AML 11例,具有明显单核系倾向。各种类型易位在急性白血病FAB亚型中的分布情况见表2。

2. 免疫表型分析:37例进行免疫表型检测的患者中,5例表达B淋系抗原CD19、CD79a或CD10,1例表达T淋系抗原CD7,余表达髓系或髓单核系抗原CD33、CD13、CD14和CD15,其中16例同时表达CD34。

3. 双色间期FISH检测MLL重排:15名正常对照者的MLL基因重排阳性细胞率为(0.54±0.51)%,取大于 $\bar{x}+3s$ 为阳性界值,即>2.07%定义为阳性。结果显示,47例患者均为MLL重排阳性。图1为1例患者的FISH结果。



—红—绿—黄色荧光信号为MLL基因重排阳性细胞(箭头所示)  
图1 患者骨髓细胞的中期及间期FISH结果

4. EVI1 基因的表达水平分析:15名正常对照者EVI1 基因中位表达水平为0.94(0.13~1.27),将EVI1 基因表达水平>8定义为高表达<sup>[4]</sup>。EVI1 基因表达在各组间的具体情况见表3。EVI1 基因高表达患者为18例(38.3%),在不同MLL对手基因组中,EVI1 基因高表达发生率从高到低依次为t(6;11)组(10/17, 58.8%)、t(9;11)组(5/11, 45.4%)、t(11;19)组(1/5, 20.0%)、其他组(1/6, 16.7%)、t(4;11)组(1/9, 11.1%)。其中以t(6;11)核型和M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型最多见。ALL、AML-M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>、非单核系AML组EVI1 基因表达水平分别与正常对照组比较,差异无统计学意义(P值均>0.05)。如将AML-M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>和非单核系AML归为髓系AML组,则髓系组与正常对照组的EVI1 基因表达水平比较差异有统计学意义(P=0.012);EVI1 基因表达水平在MLL不同对手基因组间的差异明显,t(6;11)组、t(9;11)组EVI1 表达水平均显著高于正常对照组,且差异有统计学意义(P值分别为0.038和0.022);t(4;11)组、t(11;19)组及其他类型组与正常对照组相比差异无统计学意义。另外,按照以上两种方法分类后,各组间EVI1 基因表达量比较差异均无统计学意义。

5. BRE 基因表达水平分析:正常对照组中BRE 基因中位表达水平为9.97(6.03~15.34),将BRE 基

表2 MLL重排类型在急性白血病FAB亚型中的分布情况[例(%)]

组别	例数	t(4;11)/AF4	t(6;11)/AF6	t(9;11)/AF9	t(11;19)/ELL	其他类型
ALL	8	7(87.5)	1(12.5)	0	0	0
M <sub>4</sub> /M <sub>5</sub>	28	1(3.5)	11(39.3)	8(28.6)	4(14.3)	4(14.3)
AML(除M <sub>4</sub> /M <sub>5</sub> )	11	1(9.1)	5(45.4)	3(27.3)	1(9.1)	1(9.1)
合计	47	9(19.1)	17(36.2)	11(23.4)	5(10.6)	5(10.6)

注:ALL:急性淋巴细胞白血病;AML:急性髓系白血病

因表达水平>32 定义为高表达<sup>[5]</sup>。BRE 基因表达在各组间的具体情况见表3。BRE 基因高表达患者为15例(31.9%)。在不同MLL对手基因组中, BRE 基因高表达发生率从高到低依次为t(4;11)组(5/9, 55.56%)、t(9;11)组(6/11, 54.55%)、t(11;19)组(2/5, 40.0%)、其他组(1/6, 16.67%)、t(6;11)组(1/17, 5.88%)。AML中以t(9;11)核型和M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型最多见, 8例ALL患者中有3例BRE 基因高表达, 均为t(4;11)异常核型。BRE 基因表达水平在MLL重排急性白血病FAB各分型组间差异无统计学意义。t(4;11)、t(6;11)、t(9;11)和t(11;19)组分别与正常对照组相比, BRE 表达水平均增高, 且差异有统计学意义(*P*值分别为<0.001、0.005、0.009、0.001)。另外, t(4;11)组与(6;11)组相比, BRE 基因表达水平明显升高(*P*=0.004)。t(6;11)组与t(9;11)组相比, 后者BRE 基因表达水平高于前者, 差异有统计学意义(*P*=0.012)。

6. EVI1 及BRE 基因表达对预后影响的多因素分析: 对可能影响预后的参数包括年龄、性别、WBC、HGB、PLT、是否移植、EVI1 基因和BRE 基因的表达水平纳入Cox 比例风险模型进行预后多因素分析, 其中仅是是否移植和EVI1 基因的表达为影响总生存的独立因素(*P*值分别为0.000、0.002)(表4)。另外, 在总体患者及不同MLL对手基因组间, EVI1 和BRE 基因表达水平未发现相关性(*r*=-0.127, *P*=0.395)。

7. 生存期分析: 47例患者中35例患者因各种原因死亡, 12例存活。总体中位生存期为10.0(0.8~

31.0)个月。根据EVI1 表达情况将患者分为高表达组18例, 低表达组29例, 两组中位生存期分别为7.0和13.0个月, 差异有统计学意义(*P*=0.049)(图2)。t(6;11)组中EVI1 高表达者(10例)和低表达者

表4 47例MLL重排急性白血病患者影响总生存的多因素分析

因素	HR	95% CI	<i>P</i> 值
年龄≥45岁	2.641	0.934~7.466	0.067
男性	0.578	0.268~1.243	0.161
WBC≥50×10 <sup>9</sup> /L	1.368	0.496~3.776	0.545
HGB≥100 g/L	2.160	0.846~5.516	0.107
PLT≥100×10 <sup>9</sup> /L	0.555	0.914~2.876	0.505
移植	0.050	0.013~0.191	0.000
EVI1 基因高表达	4.646	1.793~12.039	0.002
BRE 基因高表达	0.509	0.206~1.258	0.144

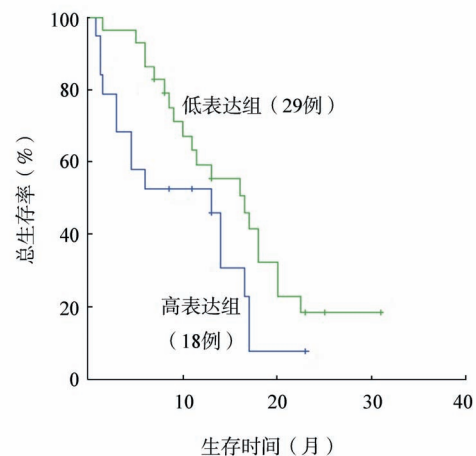


图2 EVI1 基因表达对急性白血病患者生存的影响(*P*=0.049)

表3 47例MLL重排急性白血病患者EVI1 及BRE 基因表达

因素	组别	例数	EVI1		BRE	
			中位表达水平	高表达[例(%)]	中位表达水平	高表达[例(%)]
年龄	≥45岁	24	0.20	9(37.5)	31.46	7(29.2)
	<45岁	23	8.10	9(39.1)	31.36	8(34.8)
性别	男	22	0.30	6(27.3)	34.20	9(40.9)
	女	25	0.44	12(48.0)	30.26	6(24.0)
FAB分型	ALL	8	0.09	1(12.5)	32.99	3(37.5)
	M <sub>4</sub> /M <sub>5</sub>	28	2.75	12(42.9)	31.57	9(32.1)
	非单核系AML	11	0.11	5(45.5)	30.40	3(27.3)
MLL对手基因	t(4;11)/AF4	9	0.05	1(11.1)	31.55	5(55.6)
	t(6;11)/AF6	17	24.54	10(58.8)	19.49	1(5.9)
	t(9;11)/AF9	11	8.10	5(45.5)	39.53	6(54.5)
	t(11;19)/ELL	5	0.22	1(20.0)	25.99	2(40.0)
	其他	5	0.04	1(20.0)	30.85	1(20.0)

注: ALL: 急性淋巴细胞白血病; AML: 急性髓系白血病



(7例)中位生存期分别为8.75和13.0个月,两组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ );t(9;11)组中EVI1基因高表达(5例)和低表达组(6例)中位生存期分别为4.5和11.0个月。其他组因例数少,未进行统计学分析。根据BRE表达情况,将患者分为高表达组15例,低表达组32例,两组中位生存期分别为13.0和10.75个月,差异无统计意义( $P>0.05$ )。t(9;11)组中BRE高表达(6例)和低表达组(5例)中位生存期分别为11.0和4.5个月。而17例伴t(6;11)核型患者中仅1例为BRE基因高表达。根据EVI1和BRE两者的表达情况,将患者分成BRE高表达而EVI1低表达组(15例),BRE低表达而EVI1高表达组(18例)和BRE及EVI1均低表达组(14例),三组中位生存期分别为13.0、8.25和12.25个月,三组之间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。将t(6;11)异常患者同上分成三组,第一组仅1例,生存期为16.0个月,第二组10例,中位生存期为8.75个月,第三组6例,中位生存期为12.25个月。因病例数较少,三者之间无法进行统计学分析。将t(9;11)患者同样分组,BRE高表达而EVI1低表达组6例,BRE低表达而EVI1高表达组5例,未见BRE及EVI1均低表达患者。前者中位生存期11.0个月,后者为4.5个月。

## 讨 论

MLL基因重排急性白血病患者常规治疗效果差,预后不佳,因此MLL基因重排是影响该类患者长期生存的独立的因素之一。AML中最常见的异常为t(9;11)、t(6;11)、t(11;19)、t(10;11),ALL中最常见的为t(4;11)。越来越多的研究发现,伴有不同甚至相同MLL融合基因的急性白血病,其临床特征也有一定的异质性,表明该类白血病在具有一定的共同特征基础上,又具有一定的生物学背景差异。

EVI1基因位于人类染色体3q26.2,研究发现8%~10%成人AML有EVI1基因高表达,其中20%为11q23/MLL重排急性白血病。EVI1基因高表达预后不良,被认为是独立的预后不良指标<sup>[7]</sup>。Bindels等<sup>[4]</sup>报道,43%的11q23/MLL重排AML有EVI1基因高表达,且EVI1高表达与MLL对手基因无特异相关性。他们将MLL重排急性白血病分成EVI1高表达组和低表达组,前者预后不良,可发生于多种FAB亚型,后者较为良好,常为M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>亚型。Gröschel等<sup>[8]</sup>研究显示EVI1高表达发生于45.8%的11q23/MLL重排AML,其中t(6;11)AML中发生率

为83.9%,t(9;11)AML中为40%,其他易位AML中为34.8%,并认为EVI1低表达且核型为t(9;11)者M<sub>5</sub>多见,初诊时白细胞计数较低,EVI1高表达组5年生存期明显低于低表达组。

本组47例急性白血病患者均伴有11q23易位,经FISH证实均为MLL重排阳性。其中39例为AML,8例为ALL。18例为EVI1基因高表达,其中17例为AML,1例为ALL。因此EVI1高表达在11q23/MLL重排AML中发生率为43.6%,尽管t(6;11)组和t(9;11)组EVI1表达水平较之正常对照组均有显著增高,且差异有统计学意义,但EVI1基因表达水平在t(6;11)和t(9;11)两组间差异无统计学意义(58.8%对45.4%)。在EVI1高表达AML中,12例(70.59%)为M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>,而在EVI1低表达AML中,16例(72.73%)为M<sub>4</sub>/M<sub>5</sub>,后者略高于前者,差异无统计学意义。本组病例中t(9;11)AML共11例,其中EVI1低表达者6例,5例(83.33%)为M<sub>5</sub>,中位白细胞计数为 $14.28 \times 10^9/L$ ,而EVI1高表达者5例,3例(60.0%)为M<sub>5</sub>,中位白细胞计数为 $46.14 \times 10^9/L$ 。尽管病例数较少,但似乎与Gröschel等<sup>[8]</sup>报道一致。EVI1高表达主要见于AML,目前尚未见ALL中EVI1基因高表达的报道,本组8例ALL中1例伴有t(4;11)者为EVI1高表达,因病例数少,故EVI1高表达ALL患者的临床特征尚不清楚。

BRE基因编码DNA损伤修复酶复合物中的亚单位。对11q23/MLL重排急性白血病的基因表达谱研究发现,t(9;11)急性白血病与BRE基因高表达相关。Noordermeer等<sup>[9]</sup>研究报道,AML中BRE基因高表达发生率为3%左右,且绝大多数发生于11q23/MLL重排AML<sup>[10]</sup>,尤以t(9;11)异常多见,尚可见于t(10;11)等其他异常,并经统计学分析发现,t(9;11)AML预后良好并不是与易位本身有关,而是与BRE基因高表达有关,BRE高表达t(9;11)AML患者5年生存率明显高于低表达患者(80%对0),因此认为BRE基因高表达为独立的预后良好指标,并建议将BRE基因高表达AML单独列为一种新的亚型。Balgobind等<sup>[5]</sup>在53例11q23/MLL重排AML中发现19例(35.85%)BRE基因高表达,其中17例(89.47%)为M<sub>5</sub>,2例为M<sub>4</sub>。另外,53例AML中,21例为t(9;11)异常,其中15例(71.43%)为BRE基因高表达。因此认为BRE基因高表达与M<sub>5</sub>及t(9;11)相关。另外,研究者未能在11q23/MLL重排ALL中发现BRE基因高表达,由此推测BRE基因高表达在AML的发生、发展中起着重要作用。

本组39例AML中,12例(30.8%)为BRE高表达,其中9例(75.0%)为M<sub>5</sub>。同时,39例AML中11例为t(9;11)异常,其中6例(54.6%)为BRE高表达。尽管本组病例数较少,且发生率略低于文献报道,但总体结果一致,即BRE高表达多见于M<sub>5</sub>和t(9;11)异常。与文献不同的是本组中有3例ALL为BRE基因高表达,且均为t(4;11)异常,因病例数少,其意义尚不明确。

本组中35例死亡,12例存活,中位生存期为10个月。死亡病例中,4例行allo-HSCT。存活的12例中8例患者行allo-HSCT,仅4例行常规化疗。在EVII高表达组中仅4例存活,均行allo-HSCT,低表达组中8例存活,其中4例行allo-HSCT。BRE高表达组中5例存活,仅1例行allo-HSCT,低表达组中7例存活,均行allo-HSCT。经生存分析发现,EVII高表达为预后不良因子。统计学分析未能发现BRE高表达与预后良好相关性。对本组病例包括EVII、BRE基因表达,是否移植等在内的多因素分析发现,除了再次确定EVII高表达为预后不良因子外,是否移植也为与预后相关的因子,即移植患者预后好于未移植患者,仍未发现BRE高表达与预后良好有关。从本组病例可以看出,allo-HSCT是该类患者获得良好疗效的有效治疗手段。另外,本组病例中t(9;11)组未能体现出较其他类型组更好的预后,可能与本组中行移植病例较少有关。

Noordermeer等<sup>[10]</sup>报道,在BRE高表达t(9;11)患者中未见EVII高表达,并认为可以将t(9;11)急性白血病分为更精细的三组,即BRE高表达且EVII低表达组,该组患者预后良好;BRE低表达且EVII高表达组,该组患者预后不良;BRE和EVII均低表达组,该组因病例数较少,预后意义不明。Balgobind等<sup>[5]</sup>同样发现两种基因表达呈负相关性。我们也对两种基因表达的相关性进行了研究。本组病例中同样未发现EVII和BRE均高表达病例,可能表明两种基因表达一定程度上互相排斥,但相关性检验未发现显著性负相关。将患者分成与文献一致的三组,但三组之间预后差异无统计学意义。

11例t(9;11)病例组仅见BRE高表达而EVII低表达和BRE低表达而EVII高表达两种情况,未见均低表达病例,前组预后好于后组,且差异有统计学意义,与文献报道一致。

目前关于11q23/MLL重排ALL的EVII及BRE基因表达研究甚少,本组8例ALL中7例为t(4;11),

1例为t(6;11),其中两种基因均低表达者4例,BRE高表达而EVII低表达者3例,1例为EVII高表达而BRE低表达。因病例数极少,故两种基因的表达在11q23/MLL重排ALL中是否具有独特的特征和意义尚未可知。

#### 参考文献

- [1] Balgobind BV, Zwaan CM, Pieters R, et al. The heterogeneity of pediatric MLL-rearranged acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2011, 25(8):1239-1248. DOI: 10.1038/leu.2011.90.
- [2] Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclature [M]. Basel: Karger, 2013:41-82.
- [3] Martejn JA, Van Emst L, Erpelinck-Verschuereen CA, et al. The E3 ubiquitin-protein ligase Triad1 inhibits clonogenic growth of primary myeloid progenitor cells [J]. *Blood*, 2005, 106(13):4114-4123. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1450.
- [4] Bindels EM, Havermans M, Lugthart S, et al. EVII is critical for the pathogenesis of a subset of MLL-AF9-rearranged AMLs [J]. *Blood*, 2012, 119(24):5838-5849. DOI: 10.1182/blood-2011-11-393827.
- [5] Balgobind BV, Zwaan CM, Reinhardt D, et al. High BRE expression in pediatric MLL-rearranged AML is associated with favorable outcome [J]. *Leukemia*, 2010, 24(12):2048-2055. DOI: 10.1038/leu.2010.211.
- [6] Noordermeer SM, Sanders MA, Gilissen C, et al. High BRE expression predicts favorable outcome in adult acute myeloid leukemia, in particular among MLL-AF9-positive patients [J]. *Blood*, 2011, 118(20):5613-5621. DOI: 10.1182/blood-2011-06-359182.
- [7] Arai S, Yoshimi A, Shimabe M, et al. Evi-1 is a transcriptional target of mixed-lineage leukemia oncoproteins in hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2011, 117(23):6304-6314. DOI: 10.1182/blood-2009-07-234310.
- [8] Gröschel S, Schlenk RF, Engelmann J, et al. Deregulated expression of EVII defines a poor prognostic subset of MLL-rearranged acute myeloid leukemias: a study of the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group and the Dutch-Belgian-Swiss HOVON/SAKK Cooperative Group [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(1):95-103. DOI: 10.1200/JCO.2011.41.5505.
- [9] Noordermeer SM, Monteferrario D, Sanders MA, et al. Improved classification of MLL-AF9-positive acute myeloid leukemia patients based on BRE and EVII expression [J]. *Blood*, 2012, 119(18):4335-4337. DOI: 10.1182/blood-2012-02-405019.
- [10] Noordermeer SM, Sanders MA, Gilissen C, et al. High BRE expression predicts favorable outcome in adult acute myeloid leukemia, in particular among MLL-AF9-positive patients [J]. *Blood*, 2011, 118(20):5613-5621. DOI: 10.1182/blood-2011-06-359182.

(收稿日期:2016-05-12)

(本文编辑:王叶青)