

单体核型急性髓系白血病的细胞遗传学和预后特点

李哲 魏辉 林冬 周春林 刘兵城 王迎 刘凯奇 李巍 宫本法 魏述宁
张广吉 赵邢力 李艳 刘云涛 弓晓媛 顾闰夏 邱少伟 秘营昌 王建祥

【摘要】 目的 探讨成人单体核型急性髓系白血病(AML)的细胞遗传学和预后特点。方法 2002年9月至2014年11月在中国医学科学院血液病医院诊断、治疗的96例细胞遗传学预后不良AML患者和1例预后中等单纯单体核型AML患者纳入研究,对比分析单体核型患者与其他不良遗传学预后患者的临床特征。**结果** 97例患者中,单体核型者31例(占同期收治的AML患者的2.5%),按照美国西南肿瘤研究组预后分层标准,其中30例染色体异常 ≥ 3 种的复杂核型者归入预后不良组,另1例单纯单体核型者归入预后中等组;非单体核型者66例。单体核型常见的染色体单体为-17、-5、-7、-21、-8、-22。96例细胞遗传学预后不良患者中,单体核型患者中位总生存(OS)时间为6.1个月,非单体核型患者中位OS时间未达到,两组中位无复发生存(RFS)时间分别为3.1和18.6个月,差异均有统计学意义(P 值分别为0.001和 <0.001)。49例复杂核型患者中,单体核型(30例)和非单体核型(19例)组中位OS时间分别为6.1和10.8个月($P=0.088$),中位RFS时间分别为3.1和8.6个月($P=0.009$)。**结论** 单体核型主要见于预后不良组中的复杂核型患者,在预后不良及复杂核型群体中单体核型患者具有比非单体核型患者更差的预后。

【关键词】 单体核型; 白血病,髓样,急性; 预后; 复杂核型

基金项目:国家自然科学基金(81270635);国家科技重大专项:重大新药创制(2012ZX09101215)

Cytogenetic and prognostic characteristic of acute myeloid leukemia with monosomal karyotype Li Zhe, Wei Hui, Lin Dong, Zhou Chunlin, Liu Bingcheng, Wang Ying, Liu Kaiqi, Li Wei, Gong Benfa, Wei Shuning, Zhang Guangji, Zhao Xingli, Li Yan, Liu Yuntao, Gong Xiaoyuan, Gu Runxia, Qiu Shaowei, Mi Yingchang, Wang Jianxiang. Leukemia Centre, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, State Key Laboratory of Experimental Hematology, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Wang Jianxiang, Email: wangjx@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To explore the cytogenetic and prognostic significance of monosomal karyotype (MK) in adult patients with acute myeloid leukemia (AML). **Methods** From September 2002 to November 2014 in Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, 97 cases with AML were enrolled, including 96 cases within unfavorable cytogenetic category and an MK case within the intermediate category. The clinical data of MK-positive cases and unfavorable risk MK-negative cases were analyzed. **Results** There were 31 MK cases, accounting for 2.5% of the AML patients treated at the same period. Thirty of them were complex aberrant karyotypes defined as showing three or more clonal abnormalities and classified into adverse group based on SWOG criteria. The rest one of these 31 MK was intermediate risk according to SWOG criteria. Among MK cases, the most frequent monosomal chromosome were -17, -5, -7, -21, -8, -22. In 96 cytogenetic unfavorable AML cases, the median OS period was 6.1 months for MK, the median OS period did not reach for non-MK AML ($P=0.001$). And the median relapse free survival (RFS) period was 3.1 and 18.6 months for MK and non-MK AML ($P<0.001$), respectively. Both overall survival (OS) and RFS varied significantly between MK and non-MK categories. In 49 complex karyotype AML cases, the median OS was 6.1 and 10.8 months for MK and non-MK AML ($P=0.088$), respectively. And the median RFS was 3.1 and 8.6 months for MK and non-MK AML

($P=0.009$), respectively. The RFS varied significantly between MK and non-MK categories. **Conclusion** Most MK patients were complex karyotype in cytogenetic unfavorable group. Within unfavorable or complex karyotype categories, MK-positive cases had a more adverse prognosis than MK-negative cases.

【Key words】 Monosomal karyotype; Leukemia, myeloid, acute; Prognosis; Complex karyotype

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81270635); Major Drug Discovery of National Science and Technology Major Project(2012ZX09101215)

成人急性髓系白血病(AML)是一类临床特征高度异质性的疾病,根据细胞和分子遗传学对AML进行分层治疗是目前AML治疗中非常核心理念。近年发现的一系列分子遗传学突变,如FLT3-ITD、NPM1、CEBPA突变,为AML的危险度分层提供了更加丰富的信息。尽管各临床研究组预后分层标准不尽完全一致^[1-4],但目前包括NCCN等治疗指南中的危险度分层仍然是以细胞遗传学为基础。在细胞遗传学危险度分组的研究中,单体核型的预后意义是近年来的一个重要进展。2008年Breems等^[5]首次提出单体核型比复杂核型更能提示AML患者预后不良,此后,国外一些研究也证实了这一结论^[6-8]。最近国内有学者对我国单体核型AML患者进行了总结,也发现单体核型预后不良^[9]。我们通过回顾性分析我院31例成人单体核型AML患者资料,探索单体核型AML患者的细胞遗传学和预后特点。

病例与方法

1. 研究对象:2002年9月至2014年11月1236例成人初诊AML患者就诊于我院白血病诊疗中心,患者均根据美国西南肿瘤研究组(SWOG)细胞遗传学预后分层标准分组,将96例细胞遗传学预后不良(其中单体核型30例)及1例预后中等单纯单体核型患者纳入研究,比较分析单体核型患者与其他非单体核型不良预后患者临床资料。

2. 遗传学分析:骨髓细胞经24~48 h培养后,收集细胞,常规制片,R或G显带。染色体核型判定依据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)》。克隆性异常定义为 ≥ 2 个分裂中期细胞具有同样的染色体增加或结构异常,或 ≥ 3 个分裂中期细胞具有同样的染色体丢失。单体核型是指在一个克隆内存在两个常染色体单体或一个常染色体单体伴有其他常染色体结构异常。根据SWOG细胞遗传学预后分层标准,细胞遗传学预后不良组为-5/del(5q),-7/del(7q),inv(3q),11q、20q、21q异常,del(9q),t(6;9),t(9;22),17p异常以及染色体异

常 ≥ 3 种的复杂核型。FLT3突变检测采用PCR产物琼脂糖凝胶电泳法。

3. 治疗方法:诱导方案为包含蒽环/蒽醌类、阿糖胞苷(Ara-C)和(或)高三尖杉酯碱(HHT)的联合化疗。因研究对象多为预后不良组,完全缓解(CR)后首选异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),如未行allo-HSCT则给予联合化疗。单纯化疗者共接受7~8个疗程化疗。

4. 随访:采用查阅病历或电话联系的方式进行随访。所有患者随访至2015年7月27日,总生存(OS)时间指从确诊之日至随访截止日的时间,死亡患者则计算至死亡日止;无复发生存(RFS)时间指从CR之日至随访截止日的时间,复发患者则计算至复发日止。

5. 统计学处理:采用SPSS17.0软件进行统计学分析,临床特征及实验室检查连续变量的组间比较采用独立样本 t 检验,率的比较采用卡方检验,生存分析应用Kaplan-Meier法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 临床特征:根据美国SWOG细胞遗传学预后分层标准,1236例成人初诊AML患者中细胞遗传学预后不良患者96例,其中单体核型30例,均为复杂核型。另有1例27岁男性,初诊时FAB分型为AML-M₅,WBC $66.35 \times 10^9/L$,HGB 126 g/L,PLT $30 \times 10^9/L$,核型为45,XY,-10,11p+[3]/46,XY,-10,11p+,+Mar[1],按照SWOG标准为预后中等组,但患者也为单纯单体核型,故也纳入此次分析。31例单体核型患者占同期收治的AML患者的2.5%,按FAB分型以M₅、M₆和M₄最多见,分别占74.2%、12.9%和9.7%。中位年龄为40岁,与除外急性早幼粒细胞白血病的非单体核型患者相比,差异无统计学意义($P=0.499$)。

96例不良预后患者临床特征见表1。单体核型患者与非单体核型患者相比,在年龄、性别组成、初诊时HGB、WBC、PLT方面,差异均无统计学意义

(*P*值均>0.05)。96例不良预后患者,按FAB分型以M₅、M₄和M₂最多见,分别占66.7%、12.5%和11.5%。

纳入研究的97例患者中复杂核型49例,其中单体核型者30例,非单体核型者19例。复杂核型患者临床特征见表2。按FAB分型以M₅、M₄和M₂

最多见,分别占69.4%、12.2%和8.2%。

2. 单体核型患者遗传学特征:31例单体核型患者常见的染色体单体为-17(10例)、-5(8例)、-7(8例)、-21(8例)、-8(7例)、-22(7例),伴发的预后不良核型如表3所示。

表1 96例细胞遗传学预后不良急性髓系白血病患者的临床特征

项目	所有患者(96例)	单体核型(30例)	非单体核型(66例)	<i>P</i> 值
性别(例)				0.515
男	59	17	42	
女	37	13	24	
年龄[岁, <i>M</i> (范围)]	39.5(15~83)	42.5(15~73)	38(16~83)	0.434
≤45岁(例)	60	16	44	
>45~≤60岁(例)	32	11	21	
>60岁(例)	4	3	1	
WBC[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	11.0(0.6~276.6)	6.0(1.1~147.0)	19.0(0.6~276.6)	0.286
<30×10 ⁹ /L(例)	70	23	47	
(≥30~<50)×10 ⁹ /L(例)	3	0	3	
≥50×10 ⁹ /L(例)	23	7	16	
HGB[g/L, <i>M</i> (范围)]	77(34~150)	75(45~120)	78.5(34~150)	0.357
<60 g/L(例)	17	5	12	
≥60~<100 g/L(例)	56	20	36	
≥100 g/L(例)	23	5	18	
PLT[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	55(4~2 830)	38.5(5~501)	57.5(4~2 830)	0.417
<20×10 ⁹ /L(例)	12	4	8	
(≥20~<50)×10 ⁹ /L(例)	33	12	21	
≥50×10 ⁹ /L(例)	51	14	37	

表2 49例复杂核型急性髓系白血病患者的临床特征

项目	全部复杂核型(49例)	单体核型(30例)	非单体核型(19例)	<i>P</i> 值
性别(例)				0.411
男	30	17	13	
女	19	13	6	
年龄[岁, <i>M</i> (范围)]	40(15~73)	42.5(15~73)	37(19~52)	0.523
≤45岁(例)	27	16	11	
>45~≤60岁(例)	19	11	8	
>60岁(例)	3	3	0	
WBC[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	5.9(0.6~147.0)	6.0(1.1~147.0)	4.4(0.6~128.1)	0.433
<30×10 ⁹ /L(例)	39	23	16	
(≥30~<50)×10 ⁹ /L(例)	1	0	1	
≥50×10 ⁹ /L(例)	9	7	2	
HGB[g/L, <i>M</i> (范围)]	77(34~142)	75(45~120)	79(34~142)	0.417
<60 g/L(例)	6	5	1	
≥60~<100 g/L(例)	34	20	14	
≥100 g/L(例)	9	5	4	
PLT[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	54(5~501)	38.5(5~501)	61(12~163)	0.768
<20×10 ⁹ /L(例)	7	4	3	
(≥20~<50)×10 ⁹ /L(例)	16	12	4	
≥50×10 ⁹ /L(例)	26	14	12	

97例患者中95例进行了FLT3基因突变检查,16例(16.8%)存在FLT3突变,其中8例(8.4%)为FLT3-ITD,9例(9.5%)为FLT3-TKD,1例(1.1%)为FLT3-ITD和FLT3-TKD双突变。伴FLT3-ITD和FLT3-TKD突变的患者初诊时中位WBC分别为 $83.9(4.5\sim 221.8)\times 10^9/L$ 和 $6.2(3.3\sim 105.2)\times 10^9/L$,而FLT3突变阴性者为 $7.6(0.6\sim 276.6)\times 10^9/L$ 。伴FLT3-ITD者WBC显著高于FLT3突变阴性者($P=0.010$),而伴FLT3-TKD者尽管中位WBC也偏高,但与FLT3突变阴性者相比差异无统计学意义($P=0.732$),这可能与FLT3-TKD突变患者样本量较小有关。

表3 31例单体核型急性髓系白血病患者伴发的预后不良核型[例(%)]

预后不良核型	例数	占单体核型患者比例(%)
-5	8	25.8
del(5q)	4	12.9
-7	8	25.8
11q异常	8	25.8
20q异常	1	3.2
21q异常	2	6.5
del(9q)	1	3.2
17p异常	4	12.9
复杂核型	30	96.8

3. 疗效分析:全部96例细胞遗传学预后不良患者中9例诊断后自动出院,1例化疗开始1d后因心血管事件中止化疗后出院,3例患者诱导治疗后未能评价疗效。83例可评价疗效的患者中,2个疗程CR 60例(72.3%),诱导相关死亡5例(6.0%),原发耐药(标准方案诱导治疗2个疗程不缓解)12例(14.5%),而6例患者诱导治疗1个疗程不缓解,未行进一步治疗或诱导化疗第2个疗程后未评价疗效,1例患者行3个疗程化疗未缓解后失访。CR₁期行allo-HSCT者13例,CR₂期行allo-HSCT者5例,未缓解行allo-HSCT者1例。随访期间全部不良预后患者中位OS和RFS时间分别为18.3和13.7个月。我们进一步比较预后不良组中单体核型和非单体核型患者的长期预后,两组中位OS时间分别为6.1个月和未达到,差异有统计学意义($P=0.001$)(图1);中位RFS时间分别为3.1和18.6个月,差异有统计学意义($P<0.001$)(图2)。提示在预后不良组中,单体核型预后尤其差。

复杂核型往往提示复杂的克隆异常,而预后不良,我们进一步分析了复杂核型中单体核型与非单体核型患者的生存情况。49例复杂核型患者随访期间中位OS和RFS时间分别为10.0和5.8个月,其中单体核型和非单体核型患者中位OS时间分别为6.1和10.8个月($P=0.088$),差异无统计学意义,可能主要与病例数量有关(图3)。中位RFS时间分别为3.1和8.6个月,差异有统计学意义($P=0.009$)(图4)。

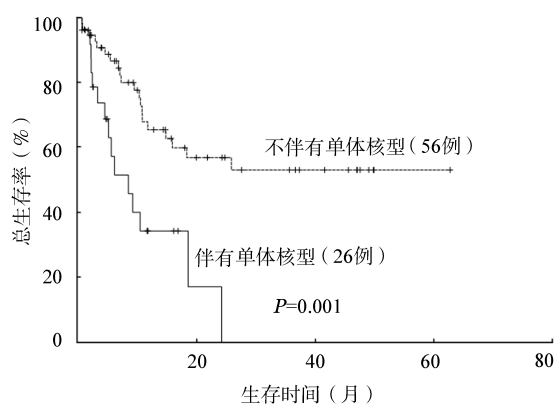


图1 伴有和不伴有单体核型预后不良急性髓系白血病患者总生存曲线

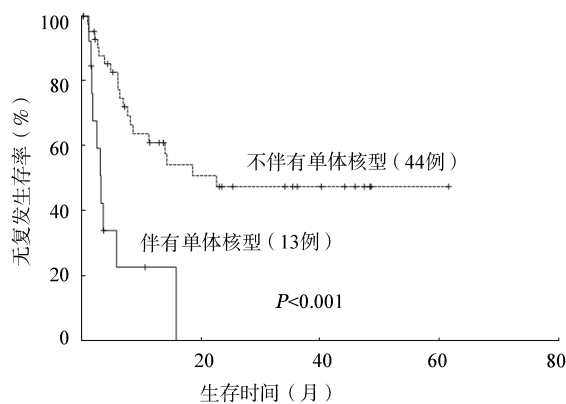


图2 伴有和不伴有单体核型预后不良急性髓系白血病患者无复发生存曲线

讨论

我们通过对31例单体核型AML患者的回顾性研究,发现单体核型主要见于染色体异常 ≥ 3 种的复杂核型,在其他预后不良组和预后中等组均较为少见。在预后方面,无论是与传统的细胞遗传学预后不良组,还是与染色体异常 ≥ 3 种的复杂核型的AML患者相比,单体核型者预后更差。目前,对于单体核型AML患者,allo-HSCT仍然是首选治疗方案。由于其极差的预后,未来需要探索新的更加有

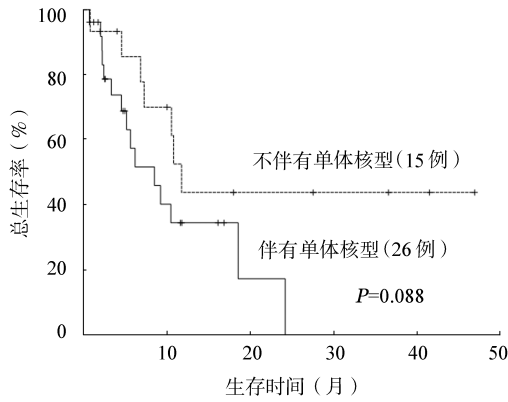


图3 伴有和不伴有单体核型复杂核型急性髓系白血病患者总生存曲线

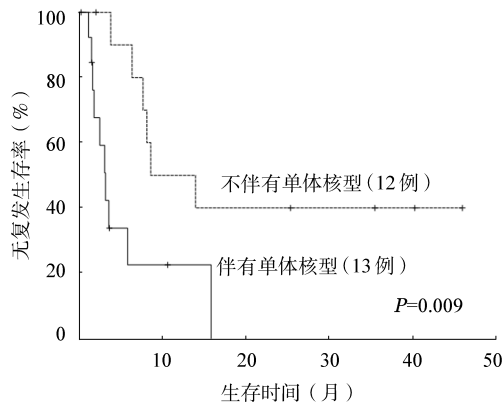


图4 伴有和不伴有单体核型复杂核型急性髓系白血病患者无复发生存曲线

效的治疗方案,尤其是靶向药物的应用。

2008年HOVON研究组首先发现伴单体核型的AML预后尤其不良^[5]。美国SWOG通过资料分析,也发现伴单体核型者预后不良,同时发现单体核型主要见于预后不良组中的复杂核型患者^[6]。我们的研究与之相似,31例单体核型患者,仅有1例患者为细胞遗传学预后中等组患者,其余均为预后不良组中的复杂核型患者。进一步通过预后分析,我们发现单体核型是不良预后组中预后极差的一组患者。预后不良组患者在剔除单体核型者后的中位RFS时间为18.6个月,中位OS未达到,与预后中等组差异不大^[10]。

根据单体核型的定义,可以将单体核型分为两类:一类为一个克隆内存在两个或以上常染色体单体;另一类为一个克隆内存在一个常染色体单体伴有其他常染色体结构异常。最近,来自韩国的一项研究显示仅有一个常染色体单体的单体核型患者预后相对较好,而有两个及以上单体的单体核型患

者预后更差^[11]。本组31例单体核型患者可评价疗效的有27例,随访期间中位OS和RFS时间分别为6.1和3.1个月。我们将这27例患者按照定义分为两组,一个克隆内存在两个或以上常染色体单体的占22例,一个克隆内存在一个常染色体单体伴有其他常染色体结构异常的占5例,我们发现这两组的OS及RFS差异并无统计学意义。由于我们的病例数较少,这一结论还有待进一步的验证。

本组中有1例单体核型患者,按照SWOG分组为预后中等组。这例患者诱导1个疗程后获CR,继续巩固化疗,未行allo-HSCT,缓解4.5个月后复发,1个月后死亡。这提示即使是预后中等的单体核型也预后不良,但由于本组中这类病例数量太少,这一结论有待未来更大规模的临床研究证实。

对于单体核型AML,allo-HSCT无疑是首选治疗方案。而对于剔除单体核型的不良预后组患者,由于其预后已经接近预后中等组,其缓解后治疗的选择可能需要更多地结合分子遗传学突变检查。已有研究发现仅仅依靠分子遗传学突变检查,就可以对AML实现非常精准的预后分层^[12]。其中p53突变的患者预后不佳,同时研究也发现,p53突变常见于复杂核型和单体核型^[13-14]。因此,对于非单体核型的不良预后组患者,如果存在不良预后分子突变,可以行allo-HSCT治疗;对于不存在不良预后分子突变的患者,可以探索是否通过化疗达到治愈的目的。

目前关于单体核型的发生机制尚不明确,以往的临床研究表明,单体核型患者容易伴发p53突变^[14-15],是否单体核型的发生是由于p53突变后造成基因组的不稳定,需要更多的基础研究予以证实。另外,由于单体核型常见p53突变,未来可以通过靶向p53实现对单体核型AML的靶向治疗,如MDM2抑制剂的临床前和临床研究均取得了不错的疗效^[16-17]。

一些研究显示单体核型患者多重耐药基因呈现高表达^[18],这是否与其化疗疗效不良有关尚不清楚,通过在治疗中加入多药耐药基因的抑制剂是否可以改善其预后,也值得研究。

参 考 文 献

[1] Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients

- treated in the United Kingdom Medical Research Council trials [J]. *Blood*, 2010,116(3): 354-365. doi:10.1182/blood-2009-11-254441.
- [2] Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461)[J]. *Blood*, 2002, 100(13): 4325-4336. doi: 10.1182/blood-2002-03-0772.
- [3] Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study[J]. *Blood*, 2000, 96(13):4075-4083.
- [4] Grimwade D, Walker H, Harrison G, et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial[J]. *Blood*, 2001, 98(5):1312-1320.
- [5] Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(29):4791-4797. doi: 10.1200/JCO.2008.16.0259.
- [6] Medeiros BC, Othous M, Fang M, et al. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience [J]. *Blood*, 2010, 116(13): 2224-2228. doi: 10.1182/blood-2010-02-270330.
- [7] Kayser S, Zucknick M, Döhner K, et al. Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies[J]. *Blood*, 2012, 119(2):551-558. doi: 10.1182/blood-2011-07-367508.
- [8] Perrot A, Luquet I, Pigneux A, et al. Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities [J]. *Blood*, 2011, 118(3): 679-685. doi: 10.1182/blood-2010-09-307264.
- [9] 栾彦彦, 徐俊卿, 黄葆华, 等. 单体核型在急性髓系白血病中的预后意义[J]. *中华血液学杂志*, 2015, 36(4): 286-290. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.04.005.
- [10] 林冬, 周春林, 魏辉, 等. 822例成人急性髓系白血病的临床特点及疗效分析——单中心报道[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(12):1058-1064. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.12.003.
- [11] Jang JE, Min YH, Yoon J, et al. Single monosomy as a relatively better survival factor in acute myeloid leukemia patients with monosomal karyotype [J]. *Blood Cancer J*, 2015, 5:e358. doi: 10.1038/bej.2015.84.
- [12] Grossmann V, Schnittger S, Kohlmann A, et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations [J]. *Blood*, 2012, 120(15):2963-2972. doi: 10.1182/blood-2012-03-419622.
- [13] Haferlach C, Dicker F, Herholz H, et al. Mutations of the TP53 gene in acute myeloid leukemia are strongly associated with a complex aberrant karyotype [J]. *Leukemia*, 2008, 22(8):1539-1541. doi: 10.1038/leu.2008.143.
- [14] Rucker FG, Schlenk RF, Bullinger L, et al. TP53 alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome [J]. *Blood*, 2012, 119(9):2114-2121. doi: 10.1182/blood-2011-08-375758.
- [15] Gaillard JB, Chiesa J, Reboul D, et al. Monosomal karyotype routinely defines a poor prognosis subgroup in acute myeloid leukemia and is frequently associated with TP53 deletion [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(2):336-337. doi: 10.3109/10428194.2011.608453.
- [16] Zhang Z, Ding Q, Liu JJ, et al. Discovery of potent and selective spiroindolinone MDM2 inhibitor, RO8994, for cancer therapy [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(15):4001-4009. doi: 10.1016/j.bmc.2014.05.072.
- [17] Andreeff M, Kelly KR, Yee K, et al. Results of the Phase I Trial of RG7112, a Small-Molecule MDM2 Antagonist in Leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4):868-876. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0481.
- [18] Ahn HK, Jang JH, Kim K, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia predicts adverse treatment outcome and associates with high functional multidrug resistance activity [J]. *Am J Hematol*, 2012, 87(1): 37-41. doi: 10.1002/ajh.22193.

(收稿日期:2015-12-28)

(本文编辑:王叶青)