

伴U2AF1基因突变骨髓增生异常综合征患者 临床特征及预后分析

侯畅 蒋淑慧 沈宏杰 丁子轩 苗瞄 陈苏宁 徐杨 吴德沛

苏州大学附属第一医院,国家血液系统疾病临床医学研究中心,江苏省血液研究所,卫生部血栓与止血重点实验室,苏州大学造血干细胞移植研究所 215006

通信作者:吴德沛,Email:drwudepei@163.com

基金项目:国家科技重大专项课题(2017ZX09304021);国家重点研发计划(2017YFA0104502);江苏省医学杰出人才项目(JCRCA2016002);江苏省科教强卫工程-临床医学中心(YXZXA2016002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.01.014

Clinical features and prognostic analysis of myelodysplastic syndromes patients with U2AF1 mutation

Hou Chang, Jiang Shuhui, Shen Hongjie, Ding Zixuan, Miao Miao, Chen Suning, Xu Yang, Wu Depei

National Clinical Research Center for Hematologic Diseases, Jiangsu Institute of Hematology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Institute of Blood and Marrow Transplantation, Collaborative Innovation Center of Hematology, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Wu Depei, Email: drwudepei@163.com

骨髓增生异常综合征(MDS)是一组起源于造血干细胞的异质性髓系克隆性疾病,多种基因突变在MDS预后判断中有重要价值^[1-3]。10%~21%的MDS患者可检测到U2AF1基因突变,U2AF1基因突变的患者进展为急性髓系白血病(AML)的风险增高^[4-6],而这类患者对化疗或异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)治疗反应的报道较少。本研究我们回顾性分析59例U2AF1基因突变MDS患者的临床特征,比较化疗及allo-HSCT的疗效,并分析影响移植患者预后的危险因素。

病例与方法

1. 病例资料:回顾性分析2016年7月至2018年12月苏州大学附属第一医院进行二代测序(NGS)检测的251例MDS患者资料,MDS诊断均经骨髓形态学分析、骨髓活检等相关检查确诊,诊断符合参考文献[7]标准。其中U2AF1基因突变59例(23.5%)。根据WHO 2016分型标准^[8]分类:MDS伴单系病态造血(MLD-SLD)2例,MDS伴多系病态造血(MDS-MLD)19例,MDS伴原始细胞增多-1(MDS-EB-1)21例,MDS伴原始细胞增多-2(MDS-EB-2)17例。

2. NGS方法:提取初诊患者骨髓单个核细胞,抽提基因组DNA,构建51个血液病相关的常见热点基因Ion AmpliSeq文库,使用ABI Ion Torrent S5测序仪进行检测。NGS扩增子平均基因覆盖率98.03%,平均测序深度2 500×,95%以上的目标区域测序深度2 000×。致病性突变

位点主要根据COSMIC数据库及文献报道确定。

3. 治疗方法:10例患者接受去甲基化治疗,6例接受去甲基联合预激治疗,7例接受支持治疗。36例患者接受allo-HSCT,其中32例采用改良BuCy(白消安+环磷酰胺)±抗胸腺细胞球蛋白(ATG)预处理方案,2例采用FBAA(氟达拉滨+白消安+阿糖胞苷+ATG)预处理方案,1例采用FluCy(氟达拉滨+环磷酰胺)预处理方案,1例采用克拉屈滨+大剂量阿糖胞苷+白消安预处理方案;接受同胞HLA全相合移植的患者使用甲氨蝶呤(MTX)联合环孢素A(CsA)预防移植植物抗宿主病(GVHD),接受无关HLA全相合和单倍型移植的患者使用ATG、MTX、CsA及霉酚酸酯(MMF)预防GVHD。

4. 造血重建标准:中性粒细胞绝对计数连续3 d $>0.5 \times 10^9/L$ 为粒系造血重建,PLT连续3 d $>20 \times 10^9/L$ 且脱离血小板输注为巨核系造血重建。

5. 疗效评价及随访:根据修订的2006年MDS国际工作组(IWG)治疗反应标准^[9]进行评价。随访截止日期为2019年5月31日。化疗组总生存(OS)时间定义为确诊日期至患者任何原因死亡或末次随访日,无进展生存(PFS)时间定义为确诊日期至血液学复发、死亡日期或末次随访日;allo-HSCT组OS时间指定义为干细胞回输至死亡或末次随访日,PFS时间定义为干细胞回输至血液学复发、死亡日期或末次随访日。

6. 统计学处理:应用SPSS 25.0软件进行统计分析。计

量资料以中位数(范围)表示,采用Mann-Witney *U*检验进行比较。分类资料以例数(构成比)表示,采用卡方检验或Fisher精确概率法进行比较。采用Cox风险模型进行影响OS、PFS的单因素分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。应用R 3.4.2软件绘制统计图。

结 果

1. 临床特征: 59例U2AF1基因突变患者中,男43例(72.9%),女16例(27.1%),中位年龄44(17~72)岁。初诊时中位WBC $4.49(1.05 \sim 22.50) \times 10^9/L$ 、PLT $71(4 \sim 379) \times 10^9/L$ 、HGB $87(43 \sim 160)g/L$ 。中位骨髓原幼细胞比例为5.9%(0~18%)。IPSS分组:低危3例(5.1%),中危-1 33例(55.9%),中危-2 17例(28.8%),高危6例(10.2%);IPSS-R分组:低危11例(18.6%),中危19例(32.2%),高危21例(35.6%),极高危8例(13.6%)。52例患者接受了化疗或allo-HSCT,其中allo-HSCT组36例,化疗组16例,其临床特征见表1。allo-HSCT组中位年龄低于化疗组(41岁对50岁, $P = 0.002$)。

2. 突变基因检测: 251例患者中共检出165个基因突变,患者平均基因突变数为2.8个(范围1~6个)。48例(81.4%)患者合并其他基因突变。与U2AF1基因突变共存的突变频率较高的基因依次为ASXL1(25.6%, 21/59)、RUNX1(23.7%, 14/59)、ETV6(18.6%, 11/42)、SETBP1

(13.6%, 8/59)、CBL(8.5%, 5/59)、TET2(6.8%, 4/59)等(图1)。59例U2AF1突变的患者中检出63个U2AF1基因突变位点,其分布如下:2号外显子突变49例(83.1%),其中S34F 30例(50.8%),S34Y 17例(28.8%),R35L及R35W各1例(1.7%);6号外显子突变5例(8.5%),其中Q157R 3例(5.1%),Q157P 2例(3.4%);4例(6.8%)患者同时检出S34F和Q157R突变;1例患者为G159插入突变(c.472_477dup TATGAG, p.Glu159_Met160insTyrGlu),63个突变位点的中位等位基因变异频率(VAF)为37.9%(4.6%~49.7%)。

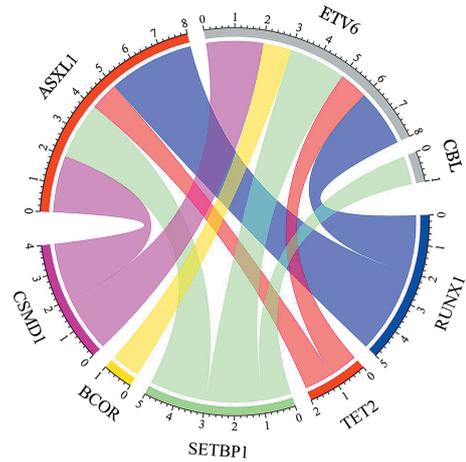


图1 59例伴U2AF1突变骨髓增生异常综合征患者基因突变谱

表1 52例U2AF1基因突变骨髓增生异常综合征患者临床特征

	化疗组(16例)	allo-HSCT组(36例)	统计量	<i>P</i> 值
性别(例,男/女)	11/5	26/10	0.729	0.69
年龄 > 45岁*[例数(%)]	13(81.3)	14(38.9)	8.156	0.02
WBC [$\times 10^9/L$, <i>M</i> (范围)]	3.96(1.30~22.50)	5.05(1.05~18.02)	2.003	0.05
HGB[g/L, <i>M</i> (范围)]	83(45~160)	91(51~137)	1.401	0.38
PLT [$\times 10^9/L$, <i>M</i> (范围)]	51(4~240)	60(4~355)	0.297	0.65
骨髓原幼细胞比例[% , <i>M</i> (范围)]	6.1(0~16)	6.4(0~18)	0.050	0.86
IPSS-R[例数(%)]			4.939	0.53
低危	2(12.5)	7(19.4)		
中危	6(37.5)	10(27.8)		
高危	4(25.0)	15(41.7)		
极高危	4(25.0)	4(11.1)		
染色体核型[例数(%)]				
正常核型	8(50.0)	15(41.7)	0.317	0.85
+8	3(18.8)	11(30.6)	0.790	0.67
-7/7q-	3(18.8)	1(2.8)	5.049	0.08
基因突变数目 ≥ 4 个[例数(%)]	6(37.5)	12(33.3)	1.256	0.53
ASXL1突变[例数(%)]	3(18.8)	14(38.9)	3.569	0.16
RUNX1突变[例数(%)]	6(37.5)	6(16.7)	2.759	0.25
SETBP1突变[例数(%)]	2(12.5)	5(13.9)	0.022	0.98
U2AF1突变类型			3.991	0.14
S34[例数(%)]	10(62.5)	31(86.1)		
其他[例数(%)]	6(37.5)	5(13.9)		
U2AF1 VAF[% , <i>M</i> (范围)]	37.95(4.6~49.7)	37.65(5.5~47.4)	0.268	0.79

注:a:allo-HSCT组为患者移植时年龄;IPSS-R:修订的国际预后积分系统;VAF:等位基因变异频率

3. 生存分析:截至2019年5月31日,中位随访时间为25.2(0.3~34.9)个月,化疗组中位OS时间25.3(1.1~27.1)个月,而allo-HSCT组中位OS时间未达到。allo-HSCT组2年OS及PFS率较化疗组显著增加[OS:(73.2±10.5)%对(51.1±13.9)%, $P=0.004$;PFS:(70.9±11.4)%对(43.6±14.1)%, $P=0.008$]。在allo-HSCT组患者中,未合并RUNX1基因突变的患者2年PFS率较合并该突变的患者显著增高(80.0%对50.0%, $P=0.002$)。12例(33.3%)移植患者存在4个以上的突变基因,突变基因 ≥ 4 个的患者移植后1年PFS率较突变基因 < 4 个患者显著降低[(61.7±15.6)%对(94.7±5.1)%, $P=0.015$],而接受化疗治疗的两组患者1年PFS率差异无统计学意义[(60.0±15.5)%对(66.7±15.2)%, $P=0.735$]。

4. 移植疗效及预后因素分析:36例allo-HSCT患者中,15例移植前获得完全缓解(CR),4例部分缓解(PR),3例处于疾病进展状态(PD),3例转化为AML,11例去甲基治疗桥接移植。HLA全相合移植13例(同胞供者7例,无关供者6例),单倍型移植23例。回输单个核细胞(MNC)9.44(4.35~17.59) $\times 10^8$ /kg、CD34⁺细胞4.76(2.50~10.55) $\times 10^6$ /kg。粒系重建、巨核系重建中位时间分别为12(9~28)d、13.5(9~29)d。11例(30.6%)患者发生急性GVHD(aGVHD),中位发生时间35(13~72)d,其中I、II度6例(16.7%),III、IV度3例(8.4%),不典型2例(5.6%)。9例(25%)患者发生慢性GVHD,中位发病时间140(93~262)d,其中局限型7例(19.4%),广泛型2例(5.6%)。单因素分析显示,突变基因 ≥ 4 个、RUNX1基因突变为影响患者PFS($HR=2.917$,95% CI 0.969~8.787, $P=0.057$; $HR=3.503$,95% CI 1.173~10.460, $P=0.025$)的危险因素。

讨 论

近年来随着NGS的广泛应用,在大部分MDS患者中发现了多种涉及RNA剪接机制的重现性体细胞突变^[10-11],目前已有大量研究报道这些突变的临床意义,Thol等^[12]研究表明SRSF2是MDS患者总体预后不良及高转白风险的独立危险因素,Li等^[13]发现突变组总体OS时间较阴性组显著缩短。Wu等^[14]表明在中低危组的MDS患者中,U2AF1基因突变与较短的转化为AML(转白)时间相关,类似结论在较早的文献中也有报道^[12]。关于allo-HSCT对U2AF1突变的MDS患者预后影响的文献较少,本研究我们观察到allo-HSCT组较化疗组2年OS及PFS率显著增高,伴有RUNX1基因突变是影响患者移植后PFS的危险因素。

本研究中59例患者检测出63个U2AF1突变位点,共4种突变类型,86.4%的基因突变位于S34,14.3%位于Q157,与文献[13-14]报道相似。Yip等^[15]研究发现U2AF1 S34F突变促进了红细胞的凋亡,提示S34F突变能够破坏细胞生长并增强其凋亡,从而导致骨髓细胞病态造血。本研究中未发现S34F突变患者与其他位点突变患者的临床特征差异具有统计学意义,由于其他位点的突变频率较低,若扩大

样本量可能得出更有意义的结论。

本研究中23.5%的患者伴有U2AF1基因突变。分析该组患者突变谱,与U2AF1突变合并出现频率最高的是ASXL1基因(25.6%),而与U2AF1作用机制相同的剪接体基因突变发生率为2.4%,是由于剪接因子的突变通常相互排斥,而与表观遗传修饰因子的突变共存,与文献[16]相一致。RUNX1基因突变检出率(23.7%)仅次于ASXL1基因,已有文献报道MDS患者伴有RUNX1基因突变往往提示预后不良,在髓系肿瘤中RUNX1基因突变型患者(13个月)较野生型(21个月)中位OS时间显著降低^[17]。值得注意的是,我们发现伴RUNX1基因突变的患者移植后2年OS率显著低于RUNX1基因突变阴性的患者,同样表示携带该基因的患者预后较差,提示移植可能改善此类患者的预后。此外,MDS患者伴随突变基因的数量是预测疾病进展的危险因素,随着突变数目的增加,患者转白的风险显著增高^[18]。本研究中存在4个以上突变基因的患者allo-HSCT后预后不佳,而在化疗组患者中,以上危险因素差异均无统计学意义。

本研究结果显示,allo-HSCT可以改善U2AF1基因突变MDS患者预后,基因突变 ≥ 4 个、RUNX1基因突变是影响移植疗效的危险因素。

参 考 文 献

- [1] Tefferi A, Lasho TL, Patnaik MM, et al. Targeted next-generation sequencing in myelodysplastic syndromes and prognostic interaction between mutations and IPSS-R [J]. *Am J Hematol*, 2017,92(12):1311-1317. DOI: 10.1002/ajh.24901.
- [2] Lindsley RC, Saber W, Mar BG, et al. Prognostic mutations in myelodysplastic syndrome after stem-cell transplantation [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376 (6):536-547. DOI: 10.1056/NEJMoa1611604.
- [3] 李冰,王静雅,刘晋琴,等. 靶向测序检测511例骨髓增生异常综合征患者基因突变[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(12):1012-1016. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.12.002.
- [4] Graubert TA, Shen D, Ding L, et al. Recurrent mutations in the U2AF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes [J]. *Nat Genet*, 2011, 44(1):53-57. DOI: 10.1038/ng.1031.
- [5] Qian J, Yao DM, Lin J, et al. U2AF1 mutations in Chinese patients with acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9):e45760. DOI: 10.1371/journal.pone.0045760.
- [6] 王继英,马娇,蒯亚妮,等. 118例骨髓增生异常综合征及相关疾病患者RNA剪接体复合物蛋白编码基因SF3B1、U2AF1和SRSF2突变分析[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(3):192-197. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.004.
- [7] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(2):89-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.02.001.
- [8] 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-2016-06-721662.

- [9] Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia [J]. *Blood*, 2006, 108(2):419-425. DOI: 10.1182/blood-2005-10-4149.
- [10] Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia [J]. *Nature*, 2011, 478(7367):64-69. DOI: 10.1038/nature10496.
- [11] Visconte V, Makishima H, Maciejewski JP, et al. Emerging roles of the spliceosomal machinery in myelodysplastic syndromes and other hematological disorders [J]. *Leukemia*, 2012, 26(12):2447-2454. DOI: 10.1038/leu.2012.130.
- [12] Thol F, Kade S, Schlarmann C, et al. Frequency and prognostic impact of mutations in SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 in patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2012, 119(15):3578-3584. DOI: 10.1182/blood-2011-12-399337.
- [13] Li B, Liu J, Jia Y, et al. Clinical features and biological implications of different U2AF1 mutation types in myelodysplastic syndromes [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2018, 57(2):80-88. DOI: 10.1002/gcc.22510.
- [14] Wu SJ, Tang JL, Lin CT, et al. Clinical implications of U2AF1 mutation in patients with myelodysplastic syndrome and its stability during disease progression [J]. *Am J Hematol*, 2013, 88(11):E277-282. DOI: 10.1002/ajh.23541.
- [15] Yip BH, Steeples V, Repapi E, et al. The U2AF1S34F mutation induces lineage-specific splicing alterations in myelodysplastic syndromes [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(6):2206-2221. DOI: 10.1172/JCI91363.
- [16] Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia*, 2014, 28(2):241-247. DOI: 10.1038/leu.2013.336.
- [17] Gaidzik VI, Teleanu V, Papaemmanuil E, et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinico-pathologic and genetic features [J]. *Leukemia*, 2016, 30(11):2160-2168. DOI: 10.1038/leu.2016.126.
- [18] Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2013, 122(22):3616-3627. DOI: 10.1182/blood-2013-08-518886.

(收稿日期:2019-08-24)

(本文编辑:刘爽)