

# KIT及其他克隆性基因突变对核心结合因子相关急性髓系白血病的预后价值

吴天梅 薛胜利 李正 于景秋 王隽 王斌儒 万超玲 申向东 邱桥成  
鲍协炳 吴德沛

苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所、国家血液系统疾病临床医学研究中心、国家卫生健康委员会血栓与止血重点实验室, 苏州 215006

通信作者: 薛胜利, Email: slxue@suda.edu.cn

**【摘要】** 目的 评价基于二代测序(NGS)检测技术下的克隆性基因突变对核心结合因子相关急性髓系白血病(CBF-AML)预后的影响。方法 回顾性分析2011年7月至2017年8月在苏州大学附属第一医院血液科诊治的195例成人初治CBF-AML患者,其中诱导化疗达完全缓解的患者190例,包括134例RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML和56例CBFβ-MYH11<sup>+</sup> AML,年龄15~64岁,中位随访时间43.6个月。采用Log-rank检验和Cox回归模型分析临床因素和基因突变对患者总生存(OS)和无病生存(DFS)的影响。结果 在195例患者中,KIT基因突变发生率最高(47.6%),其次为NRAS(20.0%)、FLT3(18.4%)、ASXL2(14.3%)、KRAS(10.7%)、ASXL1(9.7%)。按基因功能分类,酪氨酸激酶信号通路基因突变发生率最高(76.4%),其次为染色质修饰相关基因(29.7%)。在接受强化巩固治疗的患者中,CBFβ-MYH11<sup>+</sup> AML患者的OS有优于RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML患者的趋势( $P=0.062$ )。染色质修饰相关基因突变仅在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML中检出,但对患者的DFS无明显影响( $P=0.557$ )。染色质修饰相关基因突变阳性且接受异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)的患者预后最好。多因素分析显示KIT exon17突变为影响RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML患者DFS的独立危险因素( $P<0.001$ ),allo-HSCT能明显改善RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML患者的DFS( $P=0.010$ )。结论 合并KIT exon17突变的RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML患者预后差,allo-HSCT可改善这部分患者的预后,allo-HSCT也能使染色质修饰相关基因突变阳性患者的预后得到改善。

**【关键词】** 核心结合因子; 白血病,髓样,急性; 基因突变; 基因,KIT

**基金项目:** 国家自然科学基金(81970138); 国家血液系统疾病临床医学研究中心转化研究课题(2020ZKMB05); 江苏省“333工程”人才项目(BRA2018391); 江苏省青年医学人才项目(QN-RC2016719); 姑苏卫生人才项目(GSWS2019007)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.08.006

## Prognostic value of KIT and other clonal genetic mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia

Wu Tianmei, Xue Shengli, Li Zheng, Yu Jingqiu, Wang Jun, Wang Binru, Wan Chaoling, Shen Xiangdong, Qiu Qiaocheng, Bao Xiebing, Wu Depei

The First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, National Clinical Research Center for Hematologic Diseases, NHC Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Xue Shengli, Email: slxue@suda.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To evaluate the prognostic significance of clonal gene mutations using next-generation sequencing in patients with core-binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML) who achieved first complete remission after induction chemotherapy. **Methods** The study, which was conducted from July 2011 to August 2017 in First Affiliated Hospital of Soochow University, comprised 195 newly diagnosed patients with CBF-AML, including 190 patients who achieved first complete remission after induction chemotherapy. The cohort included 134 patients with RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML and 56 patients with CBFβ-MYH11<sup>+</sup> AML. The cohort age ranged from 15 to 64 years, with a median follow-up of 43.6 months. Overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were assessed by the log-rank test, and the Cox proportional hazards regression model was used to determine the effects of clinical

factors and genetic mutations on prognosis. **Results** The most common genetic mutations were in KIT (47.6%), followed by NRAS(20.0%), FLT3(18.4%), ASXL2(14.3%), KRAS(10.7%), and ASXL1 (9.7%). The most common mutations involved genes affecting tyrosine kinase signaling (76.4%), followed by chromatin modifiers (29.7%). Among the patients receiving intensive consolidation therapy, the OS tended to be better in patients with CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup> AML than in those with RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML ( $P=0.062$ ). Gene mutations related to chromatin modification, which were detected only in patients with RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML, did not affect DFS ( $P=0.557$ ). The patients with mutations in genes regulating chromatin conformation who received allo-hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) achieved the best prognosis. Multivariate analysis identified KIT exon 17 mutations as an independent predictor of inferior DFS in patients with RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML ( $P<0.001$ ), and allo-HSCT significantly prolonged DFS in these patients ( $P=0.010$ ). **Conclusions** KIT exon 17 mutations might indicate poor prognosis in patients with RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML. Allo-HSCT may improve prognosis in these patients, whereas allo-HSCT might also improve prognosis in patients with mutations in genes related to chromatin modifications.

**【Key words】** Core binding factors; Leukemia, myeloid, acute; Genetic mutations; Gene, KIT

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81970138); Translational Research Grant of NCRCH (2020ZKMB05); Jiangsu Province “333” project (BRA2018391); Jiangsu Province Medical Youth Talent Program (QNRC2016719); Gusu Key Medical Talent Program (GSWS2019007)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.08.006

急性髓性白血病(AML)是一组常见的具有高度异质性的恶性克隆性血液病。染色体 t(8;21)(q21;q22)和 inv(16)(p13;22)/t(16;16)(p13;q22)是 AML 中常见的重现性细胞遗传学异常,分别形成 RUNX1-RUNXIT1 和 CBF $\beta$ -MYH11 融合基因。由 RUNX1 和 CBF $\beta$ 组成的核心结合因子(CBF)蛋白复合物对于髓系分化至关重要,上述两种重排均会破坏 CBF 功能,导致髓样分化受阻,最终导致 CBF-AML。CBF-AML 占成人初治 AML 的 10%~15%,患者有较好的临床预后<sup>[1-3]</sup>。然而 45% 的 CBF-AML 患者在标准化疗后复发<sup>[4-6]</sup>,且多个研究表明 CBF-AML 患者间存在异质性<sup>[7-11]</sup>。超过 80% 的 CBF-AML 患者可出现 KIT、FLT3、NRAS 及 KRAS 基因突变,这些基因突变可能通过促进增殖充当白血病的协作因子,通常与不良的临床预后相关<sup>[12-13]</sup>。近年来,随着二代测序技术(NGS)的广泛应用,基于 NGS 的分子遗传学检测在 AML 患者诊治中的临床价值已被逐渐认识。本研究收集了本院收治的 195 例成人初治 CBF-AML 患者的临床资料,评价 KIT 等基因突变对 CBF-AML 临床预后的影响,以进一步优化 CBF-AML 的治疗选择。

## 病例与方法

### 一、病例

纳入 2011 年 7 月至 2017 年 8 月在苏州大学附属第一医院血液科诊治的 195 例初治的 CBF-AML 患者(年龄 15~64 岁)。患者的入选标准:RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML 或 CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup> AML 诊断符合 WHO 标准<sup>[14]</sup>;既往无血液系统疾病或肿瘤疾病史;

美国东部肿瘤协作组(ECOG)体能评分 < 2 分;无严重器官功能不全合并症;染色体核型分析和 NGS 资料完整。其中诱导化疗达完全缓解(CR)状态的 190 例患者用于预后分析,包括 134 例 RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML 和 56 例 CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup> AML 患者。这些患者接受 1~2 个疗程标准诱导化疗方案达第 1 次 CR(CR<sub>1</sub>),并接受高剂量化疗或自体造血干细胞移植(auto-HSCT)(两者统称为强化巩固治疗)或异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)。10 例患者在强化巩固治疗期间出现复发并接受 allo-HSCT 治疗,本研究将这部分患者纳入接受强化巩固治疗组,随访时间截至 allo-HSCT 前,结局按照删失处理。

### 二、研究方法

1. MICM 分型:完善骨髓细胞形态学、流式细胞术免疫分型、染色体核型、43 种融合基因筛查。

2. NGS:利用 Ion Torrent S5 NGS 测序平台(美国 Thermo Fisher 公司产品)采用靶向扩增子法对获得足够数量基因组 DNA 的样本进行 49 个白血病相关基因靶向高通量基因测序。NGS 测序结果由 Ion Torrent S5 仪器自带软件和插件进行初步分析,得到该 540 芯片上样率、人类基因组参考序列匹配度、整体数据量和中位测序长度等,在靶率 97%~99%,平均深度 2 000 $\times$ ,均一度 94%~97%,中位测序长度 195 bp。并用 PCR-毛细管电泳法检测 FLT3-ITD 突变,Sanger 测序法检测 CEBPA CDS 区和 NPM1 第 12 号外显子突变。

3. 治疗方案:所有患者依照成人 AML 中国诊疗指南(2017 年版)<sup>[15]</sup>,接受阿糖胞苷联合去甲氧柔红霉素(“7+3”方案:阿糖胞苷 100 mg/m<sup>2</sup> 第 1~7 天,

去甲氧柔红霉素8或10或12 mg/m<sup>2</sup>第1~3天)为基础的诱导化疗方案,诱导化疗达到CR<sub>1</sub>后采用大剂量阿糖胞苷(3 g/m<sup>2</sup>,每12 h 1次,6个剂量)3~4个疗程或结合患者意愿及经济状况选择性进行auto-HSCT或allo-HSCT治疗。

4. 随访及指标定义:采用电话、门诊随诊、医院病例登记系统等方式进行随访。随访时间截至2020年9月1日,总生存(OS)时间定义为从疾病确诊至患者死亡或末次随访日期。无病生存(DFS)时间定义为从患者化疗后达到CR<sub>1</sub>至疾病复发、患者死亡或末次随访日期。复发定义为在达到CR后骨髓中再次出现>5%原始细胞,或外周血中出现任何比例的原始细胞,或髓外复发。基因突变阳性定义为突变比例≥1%。

### 三、统计学处理

采用IBM SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料符合正态分布用 $\bar{x}\pm s$ 描述;不符合正态分布用M(范围)描述,计数资料以百分率表示。方差齐时使用t检验,否则使用非参数秩和检验。分类资料采用 $\chi^2$ 检验或Fisher精确检验。生存曲线采用Kaplan-Meier法描绘,单因素生存分析使用Log-rank检验进行组间比较。将单因素分析中 $P<0.1$ 的变量纳入Cox回归模型进行多因素分析。所有统计检验以 $\alpha=0.05$ , $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、一般临床特征

纳入成人初治CBF-AML患者共195例,中位年龄39(15~64)岁,其中男121例,女74例。CBF-AML患者初诊时的一般临床特征、MICM分型和发生频率≥3%的相对常见基因突变特征见表1。

### 二、分子遗传学特征

本研究中,195例CBF-AML患者中有107例(54.8%)合并附加染色体异常,RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML发生率高于CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML(63.3%对33.9%, $P<0.001$ ),两种CBF-AML亚型常见染色体异常分布具有明显的异质性。RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML最常见的附加染色体异常为性染色体缺失(LOS)和del(9q),CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML最常见的附加染色体异常为+22和+8。

195例CBF-AML患者均接受二代基因测序,其中175例(90.8%)合并突变阳性。基因突变发生率由高到低分别涉及酪氨酸激酶信号通路(76.4%)、染色质修饰(29.7%)、转录因子(9.2%)、DNA甲基

化(8.7%)和肿瘤抑制因子(8.2%)五个功能分类(表1)。最常见的基因突变是KIT突变(47.6%),其次为NRAS(20.0%)、FLT3(18.4%)、ASXL2(14.3%)、KRAS(10.7%)、ASXL1(9.7%)。不同CBF-AML亚型的突变状态有所差异。在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML中,JAK、ASXL1、ASXL2突变更频繁。相比之下,CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML中NRAS、KRAS和FLT3-TKD突变更常见。

### 三、KIT突变对CR率和预后的影响

190例达CR<sub>1</sub>状态的CBF-AML患者中接受去甲氧柔红霉素8、10、12 mg/m<sup>2</sup>诱导方案者分别为65、79和46例,后续行高剂量化疗88例,auto-HSCT 20例,allo-HSCT 82例。中位随访43.6(1.2~121.8)个月,随访过程中有30例(15.8%)患者复发,61例(32.1%)患者死亡。治疗方案和结局的分布情况在两种CBF-AML亚型中差异无统计学意义。总人群的3年OS率和DFS率分别为72.8%(95%CI 67.0%~79.8%)和65.6%(95%CI 59.3%~72.9%)。两种CBF-AML亚型患者的OS和DFS差异无统计学意义(OS, $P=0.302$ ;DFS, $P=0.630$ ),按治疗方案分组,发现在强化巩固治疗组中RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML的OS有比CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML差的趋势( $P=0.062$ ),诱导方案对患者OS和DFS的影响均不具有统计学意义。

195例CBF-AML患者中有93例患者合并KIT突变,合并KIT突变的患者CR率为95.7%。KIT突变位置主要包括exon8、exon17两种类型,CR率分别为100%和93.5%。KIT exon17突变主要涉及D816、N822两个突变热点,CR率分别为93.1%和95.7%。对190例达CR<sub>1</sub>状态的CBF-AML患者进行预后分析,KIT突变阳性和阴性患者的3年DFS率分别为54.6%(95%CI 44.9~64.6)和75.2%(95%CI 67.9~84.9)。KIT突变是影响CBF-AML患者DFS的危险因素[ $HR=1.929$ (95%CI 1.207~3.085), $P=0.006$ ](图1A),根据KIT突变类型进行亚组分析,仅exon17突变对CBF-AML患者DFS影响显著[ $HR=2.124$ (95%CI 1.336~3.375), $P<0.001$ ](图1B)。KIT exon17突变中只有D816位点突变对DFS影响具有统计学意义( $P=0.022$ )(图1C)。尽管两种CBF-AML亚型患者的DFS差异无统计学意义,但根据亚组分析,KIT突变仅对RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者的DFS有影响。RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者中KIT突变阳性和阴性患者的3年DFS率分别为49.4%(95%CI

表 1 195 例核心结合因子相关急性髓系白血病(CBF-AML)患者一般临床特征和基因突变特征

项目	CBF-AML(195例)	RUNX1-RUNXIT1 <sup>+</sup> AML(139例)	CBFB-MYH11 <sup>+</sup> AML(56例)	P值
性别(例,男/女)	121/74	85/54	36/20	0.683
年龄[岁, M(范围)]	39(15~64)	38(15~62)	39(16~64)	0.438
WBC[×10 <sup>9</sup> /L, M(范围)]	11.3(0.8~178.2)	9.0(0.8~79.1)	30.1(2.4~178.2)	<0.001
HGB[g/L, M(范围)]	74.0(32.0~155.0)	72.0(32.0~155.0)	76.5(44.0~150.0)	0.109
PLT[×10 <sup>9</sup> /L, M(范围)]	28(4~201)	29(4~201)	27(7~198)	0.470
LDH[U/L, M(范围)]	412(72~3036)	443(72~3036)	406(107~1411)	0.060
外周血原始细胞[%, M(范围)]	39.5(2~90)	38.5(2~87)	42(7~90)	0.298
骨髓原始细胞[%, M(范围)]	46.0(5.5~98.0)	43.0(5.5~98.0)	53.5(13.5~87.0)	0.107
CD19阳性[例数/总例数(%)]	93/191(48.7)	93/135(68.9)	0/56(0)	<0.001
染色体核型[例(%)]				
单独染色体易位	88(45.1)	51(36.6)	37(66.1)	<0.001
附加LOS	68(34.8)	68(48.9)	0(0)	<0.001
-Y	51(26.1)	51(36.6)	0(0)	<0.001
-X	17(8.7)	17(12.2)	0(0)	0.004
附加del(9q)	11(5.6)	11(7.9)	0(0)	0.036
附加+22	12(6.1)	1(0.7)	11(19.6)	<0.001
附加+8	6(3.0)	1(0.7)	5(8.9)	0.001
基因突变[例(%)]				
酪氨酸激酶信号通路				
KIT	93(47.6)	66(47.4)	27(48.2)	0.926
KIT exon8	27(13.8)	12(8.6)	15(26.8)	0.001
KIT exon17	75(38.4)	57(41.0)	18(32.1)	0.250
KIT D816	43(22.0)	29(20.8)	14(25.0)	0.528
KIT N822	35(17.9)	30(21.5)	5(8.9)	0.037
FLT3	36(18.4)	23(16.5)	13(23.2)	0.278
FLT3-ITD	11(5.6)	9(6.4)	2(3.6)	0.403
FLT3-TKD	21(10.7)	11(7.9)	10(17.9)	0.053
NRAS	39(20.0)	15(10.7)	24(42.9)	<0.001
KRAS	21(10.7)	7(5.0)	14(26.8)	<0.001
JAK1	6(3.0)	6(4.3)	0(0)	0.180
JAK2	4(2.0)	4(2.8)	0(0)	0.580
JAK3	10(5.1)	10(7.1)	0(0)	0.065
CSF3R	10(5.1)	9(6.4)	1(1.8)	0.325
CBL	7(3.5)	5(3.5)	2(3.6)	1.000
PTPN11	4(2.0)	0(0)	4(7.1)	0.006
染色质修饰				
ASXL1	19(9.7)	19(13.6)	0(0)	0.002
ASXL2	28(14.3)	28(20.1)	0(0)	<0.001
EZH2	12(6.1)	12(8.6)	0(0)	0.020
SETD2	5(2.5)	5(3.5)	0(0)	0.324
DNA甲基化				
TET2	11(5.6)	10(7.1)	1(1.8)	0.255
DNMT3A	3(1.5)	1(0.7)	2(3.6)	0.412
肿瘤抑制因子				
WT1	13(6.6)	6(4.3)	7(12.5)	0.079
转录因子				
RUNX1	5(2.5)	3(2.1)	2(3.6)	0.949

注:LOS:性染色体缺失

37.7% ~ 62.4%) 和 77.7% (95% CI 69.7% ~ 89.2%), 合并 KIT 突变的患者 DFS 显著缩短 [ $HR = 2.652$  (95% CI 1.505 ~ 4.672),  $P = 0.001$ ] (图 2A)。

此外, RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML 患者中也只有 KIT exon17 突变是影响 DFS 的危险因素 [ $HR = 2.880$  (95% CI 2.21 ~ 6.60),  $P < 0.001$ ] (图 2B), 但除了

KIT exon17 D816 位点突变, N822 位点突变也对 DFS 影响具有统计学意义 ( $P$  值分别为 0.005 和 0.022) (图 2C)。相反, KIT 突变不影响 CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML 患者的 DFS。KIT 突变还与 RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML 较差的 OS 相关, 但与 CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML 的 OS 不相关, 不同 KIT 突变类型对 OS 和 DFS 的影响相同。此外, 我们将 KIT 突变比例以 25% 为界, 分为 KIT 突变低比例组 (low) 和高比例组 (high), 未发现两组 OS 和 DFS 有明显差异 (OS,  $P=0.612$ ; DFS,  $P=0.377$ )。

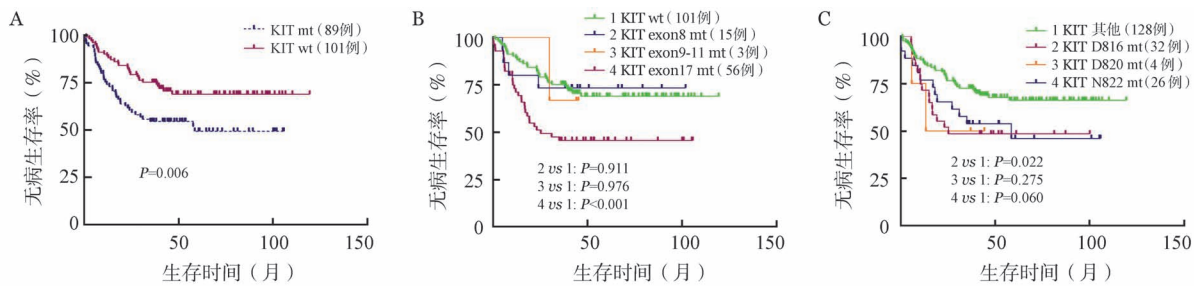
四、预后分析

按照 CBF-AML 总体和不同 CBF-AML 亚型分别对可能影响 DFS 的临床因素及基因突变进行单因素分析, 将单因素分析中  $P$  值  $<0.1$  的变量纳入 Cox 模型中进行多因素分析。CBF-AML 总体多因

素分析结果显示, KIT exon17 突变是影响患者 DFS 的独立危险因素 [ $HR=2.257$  (95%  $CI$  1.408 ~ 3.617),  $P=0.001$ ], 进行 allo-HSCT 是 DFS 的保护因素 [ $HR=0.502$  (95%  $CI$  0.293 ~ 0.859),  $P=0.012$ ] (表 2)。RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML 多因素分析的结果与 CBF-AML 总体一致, 因 CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML 病例数较少, 多因素分析未发现具有统计学意义的因素 (表 2)。

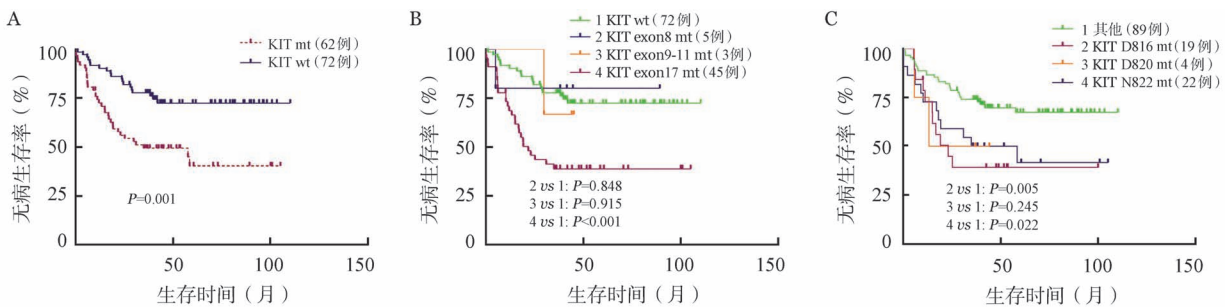
五、allo-HSCT 对 KIT 突变和染色质修饰相关突变患者的预后价值

鉴于 KIT 基因突变在 CBF-AML 患者中对预后的不良影响, 我们分析了其不同治疗组中的表达情况和预后意义, 结果见图 3A。在 CBF-AML 总人群中, 按治疗方案分组, 发现在行强化巩固治疗的患者中, KIT 突变阳性的患者较 KIT 突变阴性患者



A: 不同 KIT 突变状态; B: 不同 KIT 突变类型; C: 不同 KIT exon17 突变位点。mt: 突变型; wt: 野生型

图 1 KIT 基因突变状态及类型对核心结合因子相关急性髓系白血病患者无病生存的影响



A: 不同 KIT 突变状态; B: 不同 KIT 突变类型; C: 不同 KIT exon17 突变位点

图 2 KIT 基因突变状态及类型对 RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>急性髓系白血病患者无病生存的影响

表 2 影响 190 例核心结合因子相关急性髓系白血病 (CBF-AML) 患者无病生存的多因素分析

因素	CBF-AML			RUNX1-RUNXIT1 <sup>+</sup> AML			CBF $\beta$ -MYH11 <sup>+</sup> AML		
	HR	95% CI	P 值	HR	95% CI	P 值	HR	95% CI	P 值
年龄 $\geq$ 45 岁	1.512	0.929 ~ 1.460	0.096	1.504	0.847 ~ 2.673	0.164			
KIT exon17 突变	2.257	1.408 ~ 3.617	0.001	2.996	1.714 ~ 5.234	$<0.001$			
allo-HSCT	0.502	0.293 ~ 0.859	0.012	0.425	0.222 ~ 0.812	0.010			
+22 异常							0.179	0.024 ~ 1.344	0.094
FLT3-TKD 突变							2.058	0.784 ~ 5.401	0.143
WT1 突变							2.533	0.839 ~ 7.652	0.099

注: allo-HSCT: 异基因造血干细胞移植

DFS差( $P < 0.001$ )。而在行allo-HSCT治疗的患者中,未见KIT突变对患者DFS有不良影响。按是否合并KIT突变分组,发现在KIT突变阳性的患者中,接受allo-HSCT治疗的患者的DFS优于接受强化巩固治疗患者( $P = 0.002$ )。但在KIT突变阴性的患者中,allo-HSCT治疗并不能改善患者的DFS。在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者中,结果与此一致(图3B)。进一步证明了KIT突变是影响患者DFS的独立危险因素,接受allo-HSCT能明显改善这部分患者的预后。

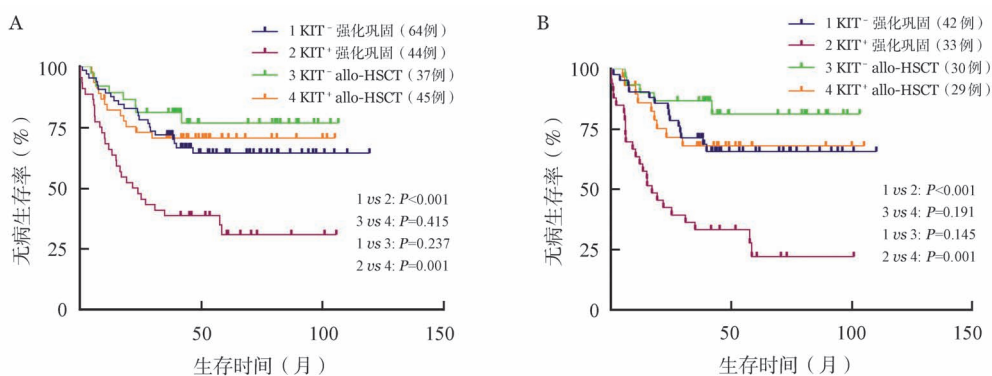
由于本研究中染色质修饰突变和JAK突变仅在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML中发现,我们单独分析了染色质修饰突变和JAK突变在不同治疗组中对RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML预后的影响,结果见图4A、4B。尽管染色质修饰基因突变对RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者的DFS无明显影响,但在染色质修饰突变阳性的患者中,行allo-HSCT治疗的患者DFS优于行强化巩固治疗患者( $P = 0.001$ )。而在染色质修饰突变阴性的患者中,allo-HSCT治疗并不能改善患者的DFS。表明allo-HSCT能改善合并染色质

修饰突变的患者的预后。通过亚组分析我们还发现在行强化巩固治疗的患者中,合并JAK突变的患者DFS时间较长( $P = 0.031$ )。

## 讨 论

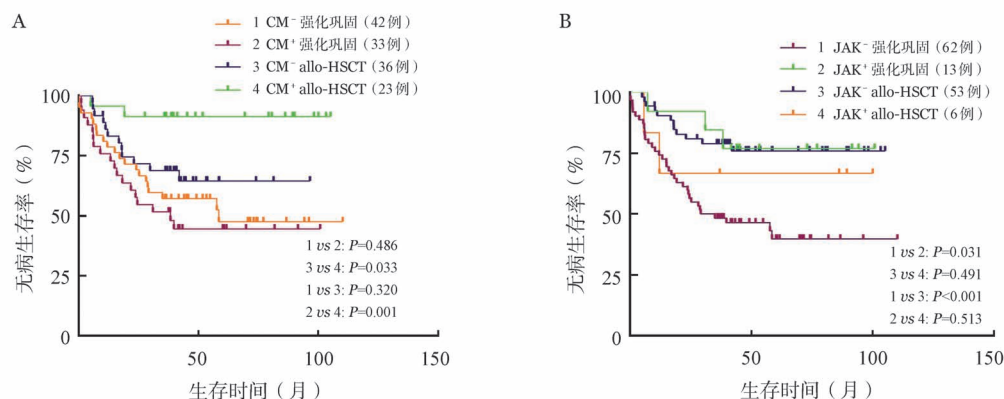
尽管CBF-AML具有相对较好的CR率和预后,但已有大量研究表明,不同CBF-AML亚型间存在异质性,CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者的预后往往优于RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者<sup>[16]</sup>。我们中心的结果显示,在接受强化巩固治疗的患者中,RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者的OS有比CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML差的趋势。最近一项研究显示,以中剂量阿糖胞苷为诱导治疗方案RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML的累积复发率、OS和RFS优于常规剂量阿糖胞苷方案<sup>[17]</sup>,我们的研究显示不同剂量去甲氧柔红霉素诱导治疗对患者的OS和DFS影响无明显统计学意义。

研究表明单一CBF-AML的特征性融合蛋白不足以导致白血病,需要其他驱动突变共同参与致病,已有小鼠模型证明受体酪氨酸激酶(如KIT和FLT3)中的协同突变可导致疾病发生<sup>[18-20]</sup>。然而,目



A: CBF-AML 患者; B: RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup> AML 患者

图3 核心结合因子相关急性髓系白血病(CBF-AML)患者以KIT基因突变状态结合治疗方案分组各组的无病生存率比较



A: 染色质修饰; B: JAK

图4 RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>急性髓系白血病(AML)患者以染色质修饰(CM)和JAK基因突变状态结合治疗方案分组各组的无病生存率比较

前各种基因突变在CBF-AML中的预后意义尚不清楚。NCCN指南将具有KIT突变的患者归为中危组,并建议进行allo-HSCT治疗或临床试验。本研究表明,KIT、FLT3和RAS等驱动基因突变对RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML和CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者的预后影响不同。

KIT突变在CBF-AML患者中的发生率最高,大部分研究认为其与不良预后有关。在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者中,多数研究认为KIT exon17突变,尤其是KIT D816突变与复发率高、生存时间短相关,而在CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者中,研究结果则显示KIT exon8突变与不良预后相关<sup>[12,21-23]</sup>。我们的研究结果表明,KIT突变可显著影响RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML的OS和DFS,尤其是KIT exon17突变,且D816突变比N822更能代表其不良预后特征。相反,KIT突变不影响CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML的预后,但考虑本研究中该组患者纳入数较少,应进一步扩大样本量检验。

FLT3突变主要有FLT3-ITD和FLT3-TKD两种类型,这两种类型突变累及约30%的AML患者<sup>[24]</sup>。FLT3-ITD突变在两种CBF-AML亚型的发生率均较低,约为5%;FLT3-TKD突变在CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML比RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML高,分别为15%和5%<sup>[7,12]</sup>。既往多数研究表明FLT3-ITD在CBF-AML中预后较差<sup>[25-26]</sup>。我们的研究显示其对CBF-AML患者预后无显著影响,与一项意大利的研究类似<sup>[16]</sup>。FLT3-TKD突变在CBF-AML中的预后意义不明,一些研究认为其预后好<sup>[25]</sup>,另一些研究则提示其预后差<sup>[12,26-27]</sup>,我们的队列仅单因素分析显示FLT3-TKD与CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者不良OS相关。因此,FLT3对CBF-AML患者的预后意义有待进一步研究。

RAS突变,包括NRAS和KRAS突变,在CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者中的发生率显著高于RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML。RAS突变对CBF-AML的预后影响具有争议,大部分研究表明RAS突变不影响预后<sup>[28]</sup>,而部分研究显示伴有RAS突变预后较好或较差<sup>[8,21,29]</sup>。我们的研究未发现RAS突变对CBF-AML患者的预后意义。同时未发现其余克隆性突变与OS、DFS的相关性。

已有不少研究发现染色质修饰相关突变(如ASXL2、ASXL1)、JAK突变、黏蛋白复合物相关突变(如STAG2)仅在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML中发生<sup>[11]</sup>。部分研究表明伴有染色质修饰和黏蛋白复

合物相关突变的患者预后较差<sup>[8]</sup>。我们的研究发现虽然染色质修饰相关突变不影响预后,但是合并该突变的患者进行allo-HSCT有更长的生存期。JAK突变在RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML中发生率较低,很少有研究报道其预后意义。Illmer等<sup>[30]</sup>的研究发现JAK2突变在CBF-AML中的检出率为3.6%,合并JAK2V617F基因突变的患者有80%复发。在我们的研究中,通过对治疗方案进行亚组分析,发现在行强化巩固治疗组合并JAK突变的患者预后较好,这一结果可能与合并JAK突变的患者较少合并KIT突变有关。

本研究表明RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML和CBF $\beta$ -MYH11<sup>+</sup>AML患者具有不同的分子遗传学特点。未来的研究可以集中在两种CBF-AML亚型共有途径以及特异性途径的分子基础上,开发出新的治疗方法以指导临床决策。我们的研究结果显示RUNX1-RUNXIT1<sup>+</sup>AML患者伴KIT exon17突变预后差,而allo-HSCT能改善这部分患者的预后,伴有染色质修饰相关基因突变的患者进行allo-HSCT能达到最佳预后。提示allo-HSCT在治疗高危CBF-AML中具有重要价值。最后,针对这些途径进行药物评估以及将这些分子发现与临床试验相结合的转化研究可能会改善CBF-AML患者的治疗。

本研究为单中心、回顾性、非随机研究,由于缺乏初诊时RUNX1-RUNXIT1和CBF $\beta$ -MYH11融合基因转录水平、缺乏强化巩固化疗时的微小残留病数据、缺乏详细的免疫学资料、治疗方案的非统一性、随访时间限制以及转诊后失访,均会影响统计检验效能。有必要进行样本量更大的随机对照临床试验,验证上述因素的预后意义,以进一步优化CBF-AML的个体化治疗。

志谢:样本来自于江苏省重大疾病生物资源样本库

## 参考文献

- [1] Speck NA, Gilliland DG. Core-binding factors in haematopoiesis and leukaemia [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(7):502-513. DOI: 10.1038/nrc840.
- [2] Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel [J]. Blood, 2017, 129(4):424-447. DOI: 10.1182/blood-2016-08-733196.
- [3] Sinha C, Cunningham LC, Liu PP. Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: New Prognostic Categories and Therapeutic Opportunities [J]. Semin Hematol, 2015, 52(3):215-222. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2015.04.002.
- [4] Schlenk RF, Benner A, Krauter J, et al. Individual patient data-based meta-analysis of patients aged 16 to 60 years with core

- binding factor acute myeloid leukemia: a survey of the German Acute Myeloid Leukemia Intergroup[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(18):3741-3750. DOI: 10.1200/JCO.2004.03.012.
- [5] Marcucci G, Mrózek K, Ruppert AS, et al. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): a Cancer and Leukemia Group B study[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(24):5705-5717. DOI: 10.1200/JCO.2005.15.610.
- [6] Solh M, Yohe S, Weisdorf D, et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia: Heterogeneity, monitoring, and therapy[J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(12):1121-1131. DOI: 10.1002/ajh.23821.
- [7] Krauth MT, Eder C, Alpermann T, et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome[J]. *Leukemia*, 2014, 28(7):1449-1458. DOI: 10.1038/leu.2014.4.
- [8] Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2016, 127(20):2451-2459. DOI: 10.1182/blood-2015-12-688705.
- [9] Faber ZJ, Chen X, Gedman AL, et al. The genomic landscape of core-binding factor acute myeloid leukemias[J]. *Nat Genet*, 2016, 48(12):1551-1556. DOI: 10.1038/ng.3709.
- [10] Jahn N, Terzer T, Sträng E, et al. Genomic heterogeneity in core-binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication[J]. *Blood Adv*, 2020, 4(24):6342-6352. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002673.
- [11] Opatz S, Bamopoulos SA, Metzeler KH, et al. The clinical mutome of core binding factor leukemia[J]. *Leukemia*, 2020, 34(6):1553-1562. DOI: 10.1038/s41375-019-0697-0.
- [12] Paschka P, Du J, Schlenk RF, et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG) [J]. *Blood*, 2013, 121(1):170-177. DOI: 10.1182/blood-2012-05-431486.
- [13] Allen C, Hills RK, Lamb K, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(9):1891-1901. DOI: 10.1038/leu.2013.186.
- [14] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. *Blood*, 2009, 114(5):937-951. DOI: 10.1182/blood-2009-03-209262.
- [15] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组.成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2017年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(3):177-182. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.001.
- [16] Mosna F, Papayannidis C, Martinelli G, et al. Complex karyotype, older age, and reduced first-line dose intensity determine poor survival in core binding factor acute myeloid leukemia patients with long-term follow-up[J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(6):515-523. DOI: 10.1002/ajh.24000.
- [17] Wei H, Liu X, Wang Y, et al. Optimized clinical application of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1[J]. *Exp Hematol*, 2021, 96:63-72.e3. DOI: 10.1016/j.exphem.2021.01.007.
- [18] Schessl C, Rawat VP, Cusan M, et al. The AML1-ETO fusion gene and the FLT3 length mutation collaborate in inducing acute leukemia in mice[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(8):2159-2168. DOI: 10.1172/JCI24225.
- [19] Wang YY, Zhao LJ, Wu CF, et al. C-KIT mutation cooperates with full-length AML1-ETO to induce acute myeloid leukemia in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(6):2450-2455. DOI: 10.1073/pnas.1019625108.
- [20] Zhao L, Melenhorst JJ, Alemu L, et al. KIT with D816 mutations cooperates with CBFβ-MYH11 for leukemogenesis in mice[J]. *Blood*, 2012, 119(6):1511-1521. DOI:10.1182/blood-2011-02-338210.
- [21] Ishikawa Y, Kawashima N, Atsuta Y, et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CBFβ-MYH11 [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(1):66-75. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000709.
- [22] Kim T, Moon JH, Ahn JS, et al. RNA sequencing as an alternative tool for detecting measurable residual disease in core-binding factor acute myeloid leukemia[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):20119. DOI: 10.1038/s41598-020-76933-2.
- [23] 于景秋, 薛胜利, 李正, 等. 二代测序检测克隆性基因突变对 RUNX1-RUNX1T1 阳性急性髓系白血病的预后价值[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(3):210-215. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.03.005.
- [24] Daver N, Schlenk RF, Russell NH, et al. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence[J]. *Leukemia*, 2019, 33(2):299-312. DOI: 10.1038/s41375-018-0357-9.
- [25] Allen C, Hills RK, Lamb K, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(9):1891-1901. DOI: 10.1038/leu.2013.186.
- [26] Jourdan E, Boissel N, Chevret S, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2013, 121(12):2213-2223. DOI: 10.1182/blood-2012-10-462879.
- [27] 王隽, 薛胜利, 李正, 等. 克隆性基因突变对接受强化巩固治疗的 CBFβ-MYH11 融合基因阳性急性髓系白血病预后的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(10):853-857. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.10.011.
- [28] Boissel N, Leroy H, Brethon B, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML) [J]. *Leukemia*, 2006, 20(6):965-970. DOI: 10.1038/sj.leu.2404188.
- [29] Rogers HJ, Wang X, Xie Y, et al. Comparison of therapy-related and de novo core binding factor acute myeloid leukemia: A bone marrow pathology group study[J]. *Am J Hematol*, 2020, 95(7):799-808. DOI: 10.1002/ajh.25814.
- [30] Illmer T, Schaich M, Ehninger G, et al. Tyrosine kinase mutations of JAK2 are rare events in AML but influence prognosis of patients with CBF-leukemias[J]. *Haematologica*, 2007, 92(1):137-138. DOI: 10.3324/haematol.10489.

(收稿日期:2021-02-26)

(本文编辑:王叶青)