

# 伴环状铁粒幼红细胞增多骨髓增生异常综合征基因突变特征及临床意义

蔡亚楠 徐泽锋 李冰 秦铁军 潘丽娟 曲士强 胡耐博 刘丹 黄慧君  
史仲琦 张瑜堤 肖志坚

中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,天津 300020

通信作者:肖志坚,Email:zjxiao@ihcams.ac.cn

**【摘要】** 目的 研究伴环状铁粒幼红细胞增多(RS)的骨髓增生异常综合征(MDS-RS)患者的基因突变特征及其临床意义。方法 收集2001年1月至2019年6月于中国医学科学院血液病医院新诊断的255例原发性MDS-RS患者资料。129例采用一代测序、126例采用包含112个血液肿瘤相关基因的二代测序(NGS)进行基因突变分析。结果 共193例(75.7%)检出SF3B1突变,其中SF3B1 K700E突变147例(76.2%)。非SF3B1基因突变较常见的有TET2(16.7%)、ASXL1(14.3%)、U2AF1(11.1%)、TP53(7.9%)、SETBP1(6.3%)和RUNX1(6.3%)。RS 5%~<15%患者SETBP1突变率显著高于RS≥15%患者(21.4%对4.5%, $P=0.044$ ),其余基因突变率差异无统计学意义( $P$ 值均>0.05)。在114例NGS检出SF3B1突变的患者中,RS 5%~<15%患者SF3B1等位基因突变频率(VAF)与骨髓RS比例呈正相关( $r=0.486, P=0.078$ );RS≥15%组SF3B1突变型患者骨髓RS比例显著高于野生型患者[40.0%(15.0%~80.0%)对25.5%(15.0%~82.0%)], $P<0.001$ ],且SF3B1 VAF与骨髓RS比例呈正相关( $P=0.009, rs=0.261$ )。全部患者SF3B1突变型与野生型年龄、ANC、PLT、平均红细胞体积、RS比例、IPSS-R染色体核型及IPSS-R预后分组等方面差异有统计学意义( $P$ 值均<0.05)。多因素分析显示,SF3B1突变是影响总生存(OS)时间的独立良好预后因素( $HR=0.265, 95\%CI 0.077\sim 0.917, P=0.036$ ),TP53突变是独立不良预后因素( $HR=6.272, 95\%CI 1.725\sim 22.809, P=0.005$ )。根据SF3B1和TP53突变状态将MDS-RS患者分为四组:SF3B1和TP53均突变组、SF3B1和TP53均野生组、SF3B1野生伴TP53突变组及SF3B1突变伴TP53野生组,四组患者OS时间差异显著( $P<0.001$ )。组间两两比较显示SF3B1突变伴TP53野生组OS时间显著长于SF3B1野生伴TP53突变组、SF3B1和TP53野生组,而与SF3B1和TP53均突变组比较差异无统计学意义。结论 SF3B1突变在MDS-RS中的发生率较高,几乎均是错义突变,以K700E突变最为常见。SF3B1突变是MDS-RS患者生存的独立良好预后因素,TP53突变是独立不良预后因素,二者联合可更精细地指导MDS-RS患者预后分层。

**【关键词】** 骨髓增生异常综合征; 环状铁粒幼红细胞; SF3B1基因; 突变; 预后

**基金项目:**国家自然科学基金(81530008、81870104、81470297);中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-001);天津市自然科学基金重点项目(18JCZDJC34900)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.05.004

## Features and clinical significance of gene mutations in patients with myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts

Cai Yanan, Xu Zefeng, Li Bing, Qin Tiejun, Pan Lijuan, Qu Shiqiang, Hu Naibo, Liu Dan, Huang Huijun, Shi Zhongxun, Zhang Yudi, Xiao Zhijian

Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, the State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Centre for Blood Diseases, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Xiao Zhijian, Email: zjxiao@ihcams.ac.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the features and clinical significance of gene mutations in patients with myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts (MDS-RS). **Methods** A total of 255 newly diagnosed primary MDS-RS patients were retrospectively reviewed from our center from January

2001 to June 2019. SF3B1 gene mutations were detected by Sanger sequencing in 129 patients, and next generation sequencing (NGS) was performed in the other 126 patients using a set of selected 112-genes. **Results** A total of 193 (75.7%) patients presented with SF3B1 mutation, predominantly mutant at amino acid position 700 (K700E) ( $n = 147, 76.2\%$ ). Non-SF3B1 gene mutations were TET2 (16.7%), ASXL1 (14.3%), U2AF1 (11.1%), TP53 (7.9%), SETBP1 (6.3%), and RUNX1 (6.3%). RS 5% - < 15% patients had a higher SETBP1 mutation frequency than RS  $\geq 15\%$  patients (21.4% vs 4.5%,  $P = 0.044$ ). Mutation frequencies of other genes were similar in both groups (all  $P > 0.05$ ). SF3B1 variant allele frequencies (VAF) had positive correlation with marrow RS percentage but without statistical significance in RS 5% - < 15% group ( $P = 0.078, r = 0.486$ ). SF3B1 mutant patients presented with higher marrow RS percentage compared with wild-type patients [40.0% (15.0% - 80.0%) vs 25.5% (15.0% - 82.0%),  $P < 0.001$ ], and SF3B1 VAF positively correlated with RS percentage ( $P = 0.009, rs = 0.261$ ) in RS  $\geq 15\%$  group. Age, ANC, PLT, mean RBC corpuscular volume, RS percentage, IPSS-R cytogenetics, and IPSS-R risk score were significantly different between patients with SF3B1 mutations and wild-type SF3B1 (all  $P < 0.05$ ). Multivariable survival analyses adjusted by age and IPSS-R cytogenetics revealed that SF3B1 mutation was an independent favorable prognostic factor ( $HR = 0.265, 95\% CI 0.077 - 0.917, P = 0.036$ ), and TP53 mutation was an adverse variable independent of SF3B1 mutation ( $HR = 6.272, 95\% CI 1.725 - 22.809, P = 0.005$ ). According to the mutant status of SF3B1 and TP53, MDS-RS patients were categorized into 4 groups, namely, with SF3B1 and TP53 mutation, with wild-type SF3B1 and TP53, with wild-type SF3B1 but TP53 mutation, and with SF3B1 mutation but wild-type TP53. There was a significant difference for OS among these 4 groups ( $P < 0.001$ ). The former 3 groups showed no significant difference in OS in multiple comparisons. However, the SF3B1 mutation but wild-type TP53 group had a better OS than wild-type SF3B1 but TP53 mutation group and wild-type SF3B1 and TP53 group, whereas a similar OS compared with SF3B1 and TP53 mutation group. **Conclusion** SF3B1 mutations were prevalent in MDS-RS patients with the most common mutation at amino acid position 700 (K700E). SF3B1 mutation was an independent favorable prognostic variable, whereas TP53 mutation was an independent adverse variable. SF3B1 mutation could coordinate with TP53 mutation for more sophisticated prognosis stratification in MDS-RS patients.

**【Key words】** Myelodysplastic syndromes; Ring sideroblasts; SF3B1 gene; Mutation; Prognosis

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81530008, 81870104, 81470297); Chinese Academy of Medical Sciences Initiative Fund for Medical Sciences (2016-I2M-1-001); Tianjin Key Natural Science Funds (18JCZDJC34900)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.05.004

骨髓增生异常综合征(MDS)的WHO 2008诊断标准将骨髓环状铁粒幼红细胞(RS)  $\geq 15\%$  伴单一红系或多系发育异常的患者归为难治性贫血伴环状铁粒幼红细胞增多(RARS)或难治性血细胞减少伴多系发育异常和环状铁粒幼红细胞增多(RCMD-RS)亚型<sup>[1]</sup>。我们此前的研究证实RCMD-RS患者的总生存(OS)显著差于RARS患者<sup>[2]</sup>。随后,我们和其他研究组相继报道RARS和RCMD-RS患者SF3B1突变率高达57%~80%,且SF3B1突变是MDS患者生存的良好预后因素<sup>[3-5]</sup>。WHO 2016诊断标准已将RARS及RS 5%~<15%且伴SF3B1突变的RA患者归为MDS-RS伴单系发育异常(MDS-RS-SLD),RCMD-RS及RS 5%~<15%且伴SF3B1突变的RCMD患者则诊断为MDS-RS伴多系发育异常(MDS-RS-MLD)<sup>[6]</sup>。本文重点探讨MDS-RS患者的基因突变,特别是非SF3B1基因突变的特征及其临床意义。

## 病例与方法

1. 病例:2001年1月至2019年6月于我中心确诊、具有完整临床资料及随访记录的255例初诊原发性MDS-RS患者入组本研究,按WHO 2016诊断标准<sup>[7]</sup>进行诊断或重新诊断。患者诊断前完成血细胞计数及分类、骨髓穿刺涂片及分类计数、骨髓涂片组织化学染色、染色体核型分析、血清EPO和铁蛋白水平检测等基线评估。RS比例依据MDS国际工作组标准评估<sup>[8]</sup>。男152例,女103例,中位年龄54(13~86)岁,MDS-RS-SLD 93例(36.5%),MDS-RS-MLD 162例(63.5%)。RS 5%~<15%患者26例(10.2%),RS  $\geq 15\%$ 患者229例(89.8%)。红细胞输注依赖定义为HGB  $\leq 90$  g/L的患者每月至少需要输注不少于2个单位红细胞,其中红细胞输注依赖者77例(30.2%)。血清EPO水平可评价者191例(74.9%),铁蛋白水平可评价者132例

(51.8%)。染色体核型可分析者 233 例(91.4%)，IPSS-R 预后分组：极低危组 10 例(4.3%)，低危组 132 例(56.7%)，中危组 63 例(27.0%)，高危组 22 例(9.4%)，极高危组 6 例(2.6%)。追踪到初治治疗方案的 243 例，接受雄激素治疗 20 例(8.2%)，接受雄激素+免疫调节或抑制治疗 66 例(27.2%)，接受 EPO±G-CSF 治疗 73 例(30.0%)，接受 EPO+雄激素治疗 33 例(13.6%)，接受 EPO+免疫调节或抑制治疗 14 例(5.8%)，接受 EPO+雄激素+免疫调节或抑制治疗 34 例(14.0%)，接受免疫抑制、维生素 B<sub>6</sub>和造血干细胞移植(HSCT)治疗各 1 例。

2. 染色体核型分析：骨髓细胞经过 24 h 培养，收集细胞常规制片，R 显带，根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2013)》描述核型异常<sup>[9]</sup>。按照 IPSS-R 染色体核型分组标准进行染色体核型预后分组<sup>[10]</sup>。

3. 基因突变分析：①Sanger 法检测 SF3B1 基因突变：取患者骨髓，分离单个核细胞，Qiagen 基因组提取试剂盒提取 DNA，测序具体方法参见本研究组此前已发表文献<sup>[2]</sup>。②靶向二代测序(NGS)：取患者骨髓，分离单个核细胞，常规提取 DNA 并制备 DNA 全基因组文库。使用 PCR 引物扩增目的基因组(112 个血液肿瘤相关基因)，将目标区域 DNA 富集后，采用 Ion Torrent 测序平台进行测序。具体方法参见本研究组此前已发表文献<sup>[11]</sup>。

4. 随访：所有病例随访至 2019 年 11 月 30 日，随访资料来源于门诊病历、住院病历及电话随访记录。对随访期间死亡的病例，根据病历记录或电话联系确认。OS 期按确诊至死亡的时间或随访截止日期计算。失访患者 48 例(18.8%)，中位随访时间

31(1~133)个月。

5. 统计学处理：采用 SPSS 22.0 及 R 3.5.3 软件进行统计分析。计量资料用中位数(范围)表示，采用 Mann-Whitney *U* 检验进行组间比较；计数资料采用卡方检验或 Fisher 精确概率法比较。相关性检验根据数据是否符合正态分布选择 Pearson 或 Spearman 检验。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线，以 Log-rank 检验进行单因素比较，多因素分析采用 Cox 比例风险模型分析。双侧 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、MDS-RS 患者基因突变特征

1. SF3B1 基因突变特征：SF3B1 基因突变检出率为 75.7%(193/255)，其中 1 例为缺失突变，其余均为错义突变。错义突变均位于 HEAT 结构域，氨基酸点突变频率由高到低依次为 K700E(147 例，76.2%)、R625C/G/H/L(19 例，9.8%)、K666M/N/Q/R/T(12 例，6.2%)、H662D/N(8 例，4.2%)、G740E/N(4 例，2.1%)、G742D(2 例，1.0%)和 E622D(1 例，0.5%)(图 1)。1 例患者同时有 K700E 和 K666N 突变。

MDS-RS-SLD 和 MDS-RS-MLD 患者 SF3B1 突变率分别为 78.5%(73/93)和 74.1%(120/162)，差异无统计学意义(*P* = 0.428)。RS ≥ 15% 患者 SF3B1 突变率为 72.9%(167/229)，RS 5% ~ < 15% 与 RS ≥ 15% 两组患者 K700E 突变频率差异无统计学意义(80.8%对 75.4%，*P* = 0.554)。

2. MDS-RS 基因突变谱系特征：126 例有 NGS 的患者中 SF3B1 突变 114 例(90.5%)，其他基因突

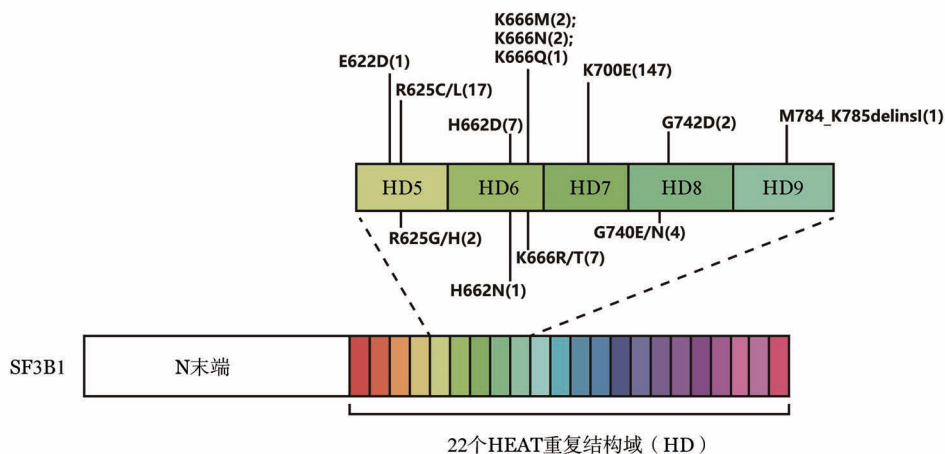


图 1 255 例伴环状铁粒幼红细胞的骨髓增生异常综合征患者 SF3B1 氨基酸突变位点分布示意图



变[仅列入等位基因突变频率(VAF)≥2%的基因突变]72例(57.1%),同时伴有SF3B1基因和其他基因突变者60例(47.6%)(图2)。

其他基因突变检出率依次为TET2(16.7%)、ASXL1(14.3%)、U2AF1(11.1%)、TP53(7.9%)、RUNX1(6.3%)、SETBP1(6.3%)、CUX1(3.2%)、DNMT3A(3.2%)、EZH2(3.2%)、CEBPA(2.4%)、ETV6(1.6%)和NRAS(1.6%),BCOR、GNAS、IDH1、JAK2、KIT、KRAS、SRSF2、ZRSR2突变者各1例(0.8%)。RS 5%~<15%患者SETBP1突变率显著高于RS≥15%患者[21.4%(3/14)对4.5%(5/112),*P*=0.044],其余基因突变率差异均无统计学意义(*P*值均>0.05)。

二、SF3B1基因突变与骨髓RS比例的关系分析

全部MDS-RS患者中,SF3B1突变型与野生型患者中位骨髓RS比例分别为32.0%(5.0%~80.0%)和25.5%(15.0%~82.0%),差异有统计学意义(*P*=0.045)。RS≥15%患者中,SF3B1突变型患者RS比例显著高于野生型患者[40.0%(15.0%~80.0%)对25.5%(15.0%~82.0%)],*P*<0.001]。

NGS检出SF3B1突变的114例患者中位SF3B1 VAF为38.2%(2.4%~50.8%),SF3B1 VAF与RS比例呈正相关(*P*=0.007, *r*<sub>s</sub>=0.251)。其中K700E突变患者(80例)SF3B1 VAF与RS比例呈正相关(*P*=0.008, *r*<sub>s</sub>=0.296),非K700E突变患者

(34例)SF3B1 VAF与RS比例无明显相关性(*P*=0.687, *r*<sub>s</sub>=0.072)。

RS 5%~<15%(14例)和RS≥15%(100例)患者中位SF3B1 VAF差异无统计学意义[35.4%(18.5%~46.5%)对38.6%(2.4%~50.8%)],*P*=0.360]。RS 5%~<15%患者SF3B1 VAF与RS比例呈正相关但无统计学意义(*P*=0.078, *r*<sub>s</sub>=0.486)。由于例数过低,无法评价K700E及非K700E突变患者SF3B1 VAF与RS比例的关系。RS≥15%患者SF3B1 VAF与RS比例呈正相关(*P*=0.009, *r*<sub>s</sub>=0.261),K700E突变患者(69例)SF3B1 VAF与RS比例呈正相关(*P*=0.006, *r*<sub>s</sub>=0.330),非K700E突变患者(31例)SF3B1 VAF与RS比例无明显相关性(*P*=0.967, *r*<sub>s</sub>=-0.008)。

三、临床和实验室特征分析

SF3B1突变型与野生型患者临床和实验室特征比较见表1。SF3B1突变患者年龄、RS比例、ANC、PLT、平均红细胞体积(MCV)、IPSS-R染色体核型很好/好/中等组比例及IPSS-R极低危/低危/中危组比例显著高于SF3B1野生型患者。两组患者性别、WBC、HGB、红细胞输注依赖、诊断分型、骨髓原始细胞比例、血清EPO和铁蛋白水平相比较,差异均无统计学意义。SF3B1突变型患者中,K700E突变和非K700E突变患者临床和实验室特征差异均无统计学意义(*P*值均>0.05)。

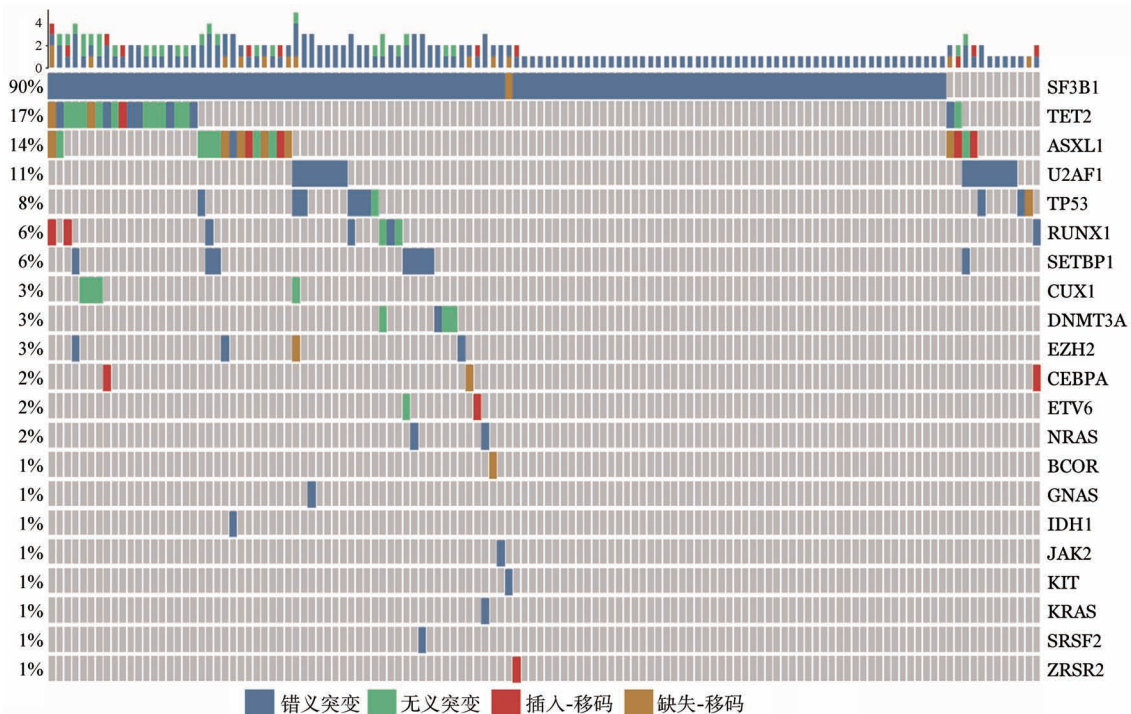


图2 255例伴环状铁粒幼红细胞的骨髓增生异常综合征患者基因突变谱系

RS 5% ~ <15% 患者外周血 PLT [123.5 (14 ~ 337) × 10<sup>9</sup>/L 对 159 (7 ~ 974) × 10<sup>9</sup>/L,  $P = 0.014$ ]、血清铁蛋白水平 [252 (25 ~ 1 382) μg/L 对 576 (37 ~ 4 338) μg/L,  $P = 0.008$ ] 显著低于 RS ≥ 15% 患者, 余临床和实验室特征差异均无统计学意义 ( $P$  值均 > 0.05)。

#### 四、生存分析

1. SF3B1 基因突变对患者 OS 的影响: 截至末次随访, 共 9 例患者接受 HSCT, 其中 1 例确诊后直接行 HSCT, 8 例药物治疗后行 HSCT。将未接受 HSCT 的 246 例 (RS 5% ~ <15% 患者 23 例, RS ≥ 15% 患者 223 例) 患者纳入生存分析, 其中死亡 86 例 (34.9%)。

SF3B1 突变型患者中位 OS 时间显著长于野生型患者 [71 (95% CI 60.90 ~ 81.09) 个月对 54 (95% CI 42.30 ~ 65.70) 个月,  $P = 0.039$ ] (图 3A)。SF3B1 K700E 突变患者 OS 时间 [67 (95% CI 58.38 ~ 75.62) 个月] 与非 K700E 突变患者 (未达到) 相比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.426$ )。RS 5% ~ <15% 患者 OS 时间 (未达到) 与 RS ≥ 15% 患者 OS 时间 [63 (95% CI 54.63 ~ 71.37) 个月] 比较差异无统计学意义 ( $P = 0.314$ )。在 RS ≥ 15% 患者中比较 SF3B1 突变与野生型患者 OS 时间, 差异无统计学意义 [67 (95% CI 59.57 ~ 74.43) 个月对 54 (95% CI 42.30 ~ 65.70) 个月,  $P = 0.057$ , 图 3B]。

2. MDS-RS 患者的预后因素分析: 单因素分析显示, 年龄 ≥ 60 岁、骨髓原始细胞 > 2%、ANC < 0.8 × 10<sup>9</sup>/L、MCV ≤ 100 fl、IPSS-R 染色体核型中等/差/很差及 TP53 突变患者 OS 时间显著缩短, SF3B1 突变患者生存预后较好, 诊断分型 (RS-SLD 和 RS-MLD) 及红细胞输注依赖与 OS 时间无关。

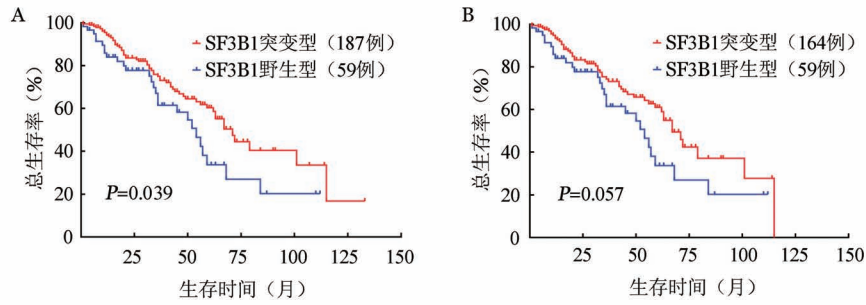
将  $P < 0.05$  的因素纳入 Cox 回归进行多因素分析, 结果显示 SF3B1 突变为独立良好预后因素 ( $HR = 0.265$ , 95% CI 0.077 ~ 0.917,  $P = 0.036$ ), 年龄 ≥ 60 岁、ANC < 0.8 × 10<sup>9</sup>/L、IPSS-R 染色体核型中等/差/很差组及 TP53 突变为独立不良预后因素 (表 2)。

进一步分析表明, SF3B1 突变伴 TP53 野生组、SF3B1 野生伴 TP53 突变组、SF3B1 和 TP53 野生组及 SF3B1 和 TP53 均突变组中位 OS 时间分别为 71 个月、7 个月、35 (95% CI 12.07 ~ 57.93) 个月和 17 (95% CI 6.57 ~ 27.43) 个月 ( $P < 0.001$ )。组间两两比较 (以 Bonferroni 校正的检验水准  $\alpha < 0.008$  为有统计学意义), 结果显示后三组患者 OS 差异无统计学意义 ( $P$  值均 > 0.05), 但 SF3B1 突变伴 TP53 野生组 OS 时

表 1 MDS-RS SF3B1 野生型与突变型患者临床和实验室特征比较

临床特征	SF3B1 野生型 (62 例)	SF3B1 突变型 (193 例)	$P$ 值
性别 [例 (%)]			0.229
男	41 (66.1)	111 (57.5)	
女	21 (33.9)	82 (42.5)	
年龄 [岁, $M$ (范围)]	47 (13 ~ 80)	55 (16 ~ 86)	0.005
骨髓 RS 比例 [% , $M$ (范围)]	25.5 (15 ~ 82)	32 (5 ~ 80)	0.045
骨髓原始细胞比例 [% , $M$ (范围)]	0.65 (0 ~ 4.5)	0.5 (0 ~ 4.5)	0.423
WBC [×10 <sup>9</sup> /L, $M$ (范围)]	3.00 (0.61 ~ 7.97)	3.47 (0.69 ~ 16.13)	0.088
ANC [×10 <sup>9</sup> /L, $M$ (范围)]	1.40 (0.21 ~ 4.28)	1.73 (0.10 ~ 11.19)	0.022
HGB [g/L, $M$ (范围)]	73 (43 ~ 120)	71 (36 ~ 123)	0.300
MCV [fl, $M$ (范围)]	99.5 (65.3 ~ 123.4)	104.8 (83.2 ~ 132.0)	< 0.001
PLT [×10 <sup>9</sup> /L, $M$ (范围)]	125 (7 ~ 537)	162 (12 ~ 974)	0.015
红细胞输注依赖 [例 (%)]			0.929
否	43 (69.4)	135 (69.9)	
是	19 (30.6)	58 (30.1)	
诊断分型 [例 (%)]			0.428
MDS-RS-SLD	20 (32.3)	73 (37.8)	
MDS-RS-MLD	42 (67.7)	120 (62.2)	
EPO 分组 [例 (%)]			0.143
< 0.5 IU/L	27 (56.3)	63 (44.1)	
≥ 0.5 IU/L	21 (43.7)	80 (55.9)	
血清铁蛋白水平 [μg/L, $M$ (范围)]	663 (153 ~ 1 755)	499 (25 ~ 4 338)	0.333
IPSS-R 染色体核型分组 [例 (%)]			0.002
很好	0 (0.0)	0 (0.0)	
好	30 (53.6)	118 (66.7)	
中等	15 (26.7)	47 (26.6)	
差	3 (5.4)	9 (5.1)	
极差	8 (14.3)	3 (1.6)	
IPSS-R 预后分组 [例 (%)]			0.002
极低危	3 (5.4)	7 (4.0)	
低危	24 (42.9)	108 (61.0)	
中危	14 (25.0)	49 (27.7)	
高危	11 (19.6)	11 (6.2)	
极高危	4 (7.1)	2 (1.1)	

注: MDS: 骨髓增生异常综合征; RS: 环状铁粒幼红细胞; MCV: 平均红细胞体积; MDS-RS-SLD: MDS-RS 伴单系发育异常; MDS-RS-MLD: MDS-RS 伴多系发育异常; EPO: 红细胞生成素; IPSS-R: 修订版国际预后积分系统



A:全部MDS-RS患者中比较;B:RS≥15%患者中比较

图3 SF3B1突变对伴环状铁粒幼红细胞的骨髓增生异常综合征(MDS-RS)患者总生存的影响

表2 影响伴环状铁粒幼红细胞的骨髓增生异常综合征患者总生存的单因素和多因素分析

因素	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)	P值	HR(95% CI)	P值
女性	0.958(0.617 ~ 1.487)	0.846		
年龄≥60岁	2.459(1.601 ~ 3.775)	<0.001	9.535(3.707 ~ 24.525)	<0.001
骨髓原始细胞比例 > 2%	2.920(1.884 ~ 4.525)	<0.001	1.027(0.394 ~ 2.678)	0.956
ANC < 0.8×10 <sup>9</sup> /L	1.888(1.108 ~ 3.216)	0.017	4.419(1.240 ~ 15.750)	0.022
HGB水平				
≥100 g/L	1			
80 ~ < 100 g/L	1.318(0.597 ~ 2.908)	0.494		
< 80 g/L	0.707(0.292 ~ 1.715)	0.443		
PLT < 100×10 <sup>9</sup> /L	1.481(0.942 ~ 2.329)	0.085		
MCV≤100 fl	1.842(1.204 ~ 2.818)	0.004	1.043(0.385 ~ 2.831)	0.933
SF3B1突变	0.623(0.394 ~ 0.984)	0.039	0.265(0.077 ~ 0.917)	0.036
红细胞输注依赖	1.547(0.984 ~ 2.430)	0.059		
诊断分型				
MDS-RS-SLD	1			
MDS-RS-MLD	1.535(0.977 ~ 2.413)	0.060		
EPO≥0.5 IU/L	0.732(0.450 ~ 1.190)	0.204		
血清铁蛋白 > 1 000 μg/L	0.569(0.220 ~ 1.475)	0.238		
IPSS-R 染色体核型				
很好/好	1	<0.001	1	
中等	2.357(1.423 ~ 3.907)	0.001	2.869(1.095 ~ 7.518)	0.032
差	3.232(1.341 ~ 7.788)	0.009	8.369(1.845 ~ 37.967)	0.006
极差	11.611(4.921 ~ 27.395)	<0.001	11.569(1.664 ~ 80.426)	0.013
ASXL1突变	1.435(0.617 ~ 3.342)	0.398		
CUX1突变	1.597(0.372 ~ 6.851)	0.524		
CEBPA突变	0.762(0.102 ~ 5.714)	0.790		
DNMT3A突变	3.817(0.885 ~ 16.452)	0.052		
EZH2突变	1.475(0.342 ~ 6.369)	0.600		
TET2突变	1.319(0.542 ~ 3.208)	0.538		
RUNX1突变	2.260(0.791 ~ 6.459)	0.116		
SETBP1突变	1.522(0.462 ~ 5.020)	0.485		
TP53突变	4.324(1.640 ~ 11.401)	0.001	6.272(1.725 ~ 22.809)	0.005
U2AF1突变	1.805(0.625 ~ 5.210)	0.266		

注:MCV:平均红细胞体积;MDS-RS-SLD:MDS-RS伴单系发育异常;MDS-RS-MLD:MDS-RS伴多系发育异常;EPO:红细胞生成素;IPSS-R:修订版国际预后积分系统



间显著长于SF3B1野生伴TP53突变组( $P < 0.001$ )、SF3B1和TP53野生组( $P = 0.007$ ),与SF3B1和TP53均突变组比较差异无统计学意义( $P = 0.042$ )。

## 讨 论

人类SF3B1基因定位于2q33.1,其编码蛋白由1304个氨基酸残基组成,主要参与mRNA前体剪接位点的识别。国外研究组报道,RS增多的MDS患者SF3B1突变率50%以上,突变位点主要集中于14~16号外显子,基本为错义突变,其中K700E突变最为常见<sup>[3-4,12]</sup>。我们研究组的既往研究结果与此相符<sup>[2,6]</sup>。本研究中,75.7%的MDS-RS患者检测到SF3B1突变,除1例缺失突变外其余患者均为错义突变,其中K700E突变占比76.2%,与文献报道一致<sup>[2-4,6,12]</sup>。

MDS-RS患者的基因突变谱系国外已有初步探讨。Martín等<sup>[13]</sup>对西班牙MDS-RS患者(122例)的报道中,检出突变频率较高的非SF3B1基因为TET2(31.1%)、DNMT3A(17.2%)、JAK2(6.6%)、SRSF2(4.9%)、SETBP1(4.9%)、EZH2(4.1%)、ZRSR2(4.1%)和RUNX1(2.4%)。Mangaonkar等<sup>[14]</sup>报道的北美MDS-RS患者(76例)常见的非SF3B1突变基因有ASXL1(16%)、DNMT3A(13%)、TET2(6%)、TP53(5%)、ZRSR2(2%)和U2AF1(2%)。本组患者依次为TET2(16.7%)、ASXL1(14.3%)、U2AF1(11.1%)、TP53(7.9%)、RUNX1(6.3%)、SETBP1(6.3%)、DNMT3A(3.2%)和JAK2(0.8%),突变谱系基本相似,但基因突变检出率存在差异。可能的原因有:①与种族遗传背景有关,此前相关研究表明亚洲MDS患者与白种人MDS患者相比患者发病中位年龄、贫血程度和染色体核型异常谱系等存在差异<sup>[15]</sup>;②TET2和DNMT3A参与基因组甲基化的调控,基因突变可能存在相似功能基因的互斥,因而本组患者TET2突变率较高而DNMT3A突变率较低;③基因突变检测的方法,如基因检测数、检测的深度等原因带来的结果偏倚。

本研究中,SF3B1突变的MDS-RS患者骨髓RS比例显著高于野生型患者,且SF3B1突变负荷与RS比例呈正相关,与Malcovati等<sup>[4-5]</sup>的结论一致。亚组分析表明,RS≥15%患者中SF3B1突变与RS比例关系呈正相关,提示SF3B1突变与RS密切相关<sup>[16]</sup>。RS 5%~<15%患者SF3B1突变负荷与RS比例呈正相关但无统计学意义,可能与病例数较少

有关。SF3B1各类型突变中仅K700E突变负荷与RS比例呈正相关,也许是因为K700E突变病例数较多,其他类型突变与RS比例的关系有待扩大病例数后加以进一步分析。

本组MDS-RS病例中SF3B1突变型与野生型患者的临床和实验室特征差异有统计学意义,RS≥15%亚组分析中两组患者也存在类似差异,与既往报道相符<sup>[2,5]</sup>。上述结果提示,SF3B1突变影响MDS-RS患者临床表现,是MDS-RS特异的分子生物学标志。本研究中RS 5%~<15%和RS≥15%患者仅外周血血小板计数、血清铁蛋白水平差异明显,其余临床和实验室特征差异均无统计学意义。生存分析表明RS 5%~<15%和RS≥15%患者OS时间差异无统计学意义。本研究组曾回顾性分析我中心160例符合WHO 2016诊断标准的MDS-RS患者,RS 5%~<15%患者16例,RS≥15%患者144例,两组患者仅外周血血小板计数差异明显,其余临床和实验室特征及OS时间差异均无统计学意义<sup>[6]</sup>。本研究在上述160例患者基础上新纳入95例MDS-RS患者,对研究结果进一步加以肯定。

本研究表明虽然RS 5%~<15%和RS≥15%患者SETBP1突变率差异显著,但两组患者各类型SF3B1突变检出率、除SETBP1外其余非SF3B1基因突变率差异均无统计学意义,提示两组患者基因突变谱系基本相似。因此,本研究在扩大病例后验证了我们之前的结论,即RS 5%~<15%伴SF3B1突变患者和RS≥15%患者主要临床和实验室特征及生存预后大体相近,提示两组患者为同一疾病实体,说明WHO 2016诊断标准将两组患者一并归入MDS-RS是合适的。SF3B1突变对RS≥15%的MDS-RS患者的生存预后无显著影响,这与我们研究组之前的研究结果相符<sup>[6]</sup>,进一步提示SF3B1突变检测对RS 5%~<15%的MDS患者的诊断和预后判断具有重要意义。

某些基因突变是MDS患者生存独立预后因素<sup>[17]</sup>。大多数欧美研究组报道SF3B1突变的MDS患者生存预后较好<sup>[4-5]</sup>。2012年我们分析了104例中国MDS患者的临床及实验室数据,证实SF3B1突变是中国MDS患者生存的良好预后因素<sup>[2]</sup>。本队列中,单因素及纳入年龄、IPSS-R染色体核型等相关参数的多因素分析显示SF3B1突变是MDS-RS患者生存的独立良好预后因素。SF3B1突变的MDS-RS患者预后较好的原因尚不清楚,可能是因为SF3B1突变患者ANC、PLT、MCV较高,IPSS-R

染色体核型及IPSS-R预后分层较好<sup>[4]</sup>。

除了SF3B1突变,单因素及多因素分析结果表明TP53突变是MDS-RS患者生存的独立不良预后因素,与Bejar等<sup>[17]</sup>的报道一致。本研究中SF3B1突变伴TP53野生患者生存预后较好,提示SF3B1突变与TP53突变联合分析可能会更精细地指导MDS-RS患者预后分层,为临床决策提供依据,但尚需更大规模的研究验证这一结论。Mangaonkar等<sup>[14]</sup>报道SF3B1突变伴ASXL1野生患者生存预后最好,但本研究并未重复出这一结论。我们还发现MDS-RS-SLD和MDS-RS-MLD患者OS时间无显著差异,与Mangaonkar等<sup>[14]</sup>的研究结果一致,提示单系或多系发育异常对MDS-RS患者预后价值不大,进一步说明分子标志对MDS-RS患者生存预后的重要意义。

综上,我们的研究结果提示SF3B1突变在MDS-RS中的发生率较高,几乎均是错义突变,以K700E突变最为常见。RS 5% ~ < 15%和RS ≥ 15%患者基因突变谱系、临床特征、生存预后大体相似。SF3B1突变是MDS-RS患者生存的独立良好预后因素,而TP53突变是独立不良预后因素,二者联合可更精细地指导MDS-RS患者预后分层。

#### 参考文献

- [1] 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.
- [2] Cui R, Gale RP, Xu Z, et al. Clinical importance of SF3B1 mutations in Chinese with myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts [J]. *Leuk Res*, 2012, 36 (11):1428- 1433. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.08.015.
- [3] Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365 (15):1384- 1395. DOI: 10.1056/NEJMoa1103283.
- [4] Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT, et al. Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2011, 118(24):6239-6246. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377275.
- [5] Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts [J]. *Blood*, 2015, 126 (2):233- 241. DOI: 10.1182/blood-2015-03-633537.
- [6] Li Y, Cui R, Qin T, et al. Validation of the WHO 2016 proposals for Myelodysplastic syndromes patients with the presence of ring sideroblasts but without excess blasts [J]. *Br J Haematol*, 2017, 178(5):813-816. DOI: 10.1111/bjh.14168.
- [7] 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.
- [8] Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts [J]. *Haematologica*, 2008, 93(11):1712-1717. DOI: 10.3324/haematol.13405.
- [9] Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. An international system for human cytogenetic nomenclature [M]. Basel: ISCN, 2013.
- [10] Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2012, 120(12):2454-2465. DOI: 10.1182/blood-2012-03-420489.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] Martín I, Such E, Navarro B, et al. Prognostic impact of gene mutations in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts [J]. *Blood Cancer J*, 2017, 7 (12):630. DOI: 10.1038/s41408-017-0016-9.
- [14] Mangaonkar AA, Lasho TL, Finke CM, et al. Prognostic interaction between bone marrow morphology and SF3B1 and ASXL1 mutations in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts [J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(2):18. DOI: 10.1038/s41408-018-0051-1.
- [15] Qu S, Xu Z, Zhang Y, et al. Impacts of cytogenetic categories in the Revised International Prognostic Scoring System on the prognosis of primary myelodysplastic syndromes: results of a single-center study [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(5):940-946. DOI: 10.3109/10428194.2011.634049.
- [16] Visconte V, Tabarrokhi A, Zhang L, et al. Splicing factor 3b subunit 1 (Sf3b1) haploinsufficient mice display features of low risk Myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts [J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7:89. DOI: 10.1186/s13045-014-0089-x.
- [17] Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364 (26):2496- 2506. DOI: 10.1056/NEJMoa1013343.

(收稿日期:2020-03-10)

(本文编辑:刘爽)