

携带 ASXL1 突变干细胞在供受者体内分别发展为 FLT3-ITD 阳性 AML-M₂ 及 FLT3-ITD 阴性 AML-M₅ 一例报告并文献复习

孔黛¹ 孙恺¹ 时明月¹ 宋永平² 文梅英³ 刘忠文¹

¹河南省人民医院血液科, 郑州 450003; ²郑州大学附属肿瘤医院血液科 450008;

³中华骨髓库河南省分库, 郑州 450003

通信作者: 刘忠文, Email: liuzhongwen@126.com

基金项目: 河南省科技厅(112300410027)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.04.012

Donor HSCs with a preexisting ASXL1-mutation evolving FLT3-ITD positive AML-M₂ and FLT3-ITD negative AML-M₅ in the donor and recipient respectively: one case analysis and literatures review

Kong Dai¹, Sun Kai¹, Shi Mingyue¹, Song Yongping², Wen Meiyong³, Liu Zhongwen¹

¹Department of Hematology, Henan Province People's Hospital and Zhengzhou University People's Hospital, Zhengzhou 450003, China; ²Henan Tumor Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China; ³Henan Provincial Center for China Marrow Donor Program, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Liu Zhongwen, Email: liuzhongwen@126.com

造血干细胞移植后供者源白血病(Donor cell leukemia, DCL)的发生为研究白血病发生机制提供了一个独特的人体模型,因而备受关注。在此我们报告1例携带ASXL1突变的干细胞在供受者体内均发展为急性髓系白血病(AML),希望为阐明白血病的发生机制提供一点启示。

病例资料

患者,女,28岁。因四肢散在出血点伴齿龈出血1周于2006年4月入我院,骨髓中原始和幼稚淋巴细胞占0.700;流式细胞术检测免疫表型:表达CD34、CD10、CD19、CD22、CD13、HLA-DR;染色体核型:46,XX[15];诊断为急性B淋巴细胞白血病伴CD13表达。VDCLP方案诱导化疗1个疗程达完全缓解(CR),CAM、大剂量甲氨蝶呤(HD-MTX)、CAM方案依次巩固化疗,并给予6次鞘内注射,随后行非血缘全相合异基因造血干细胞移植。供者为中华骨髓库非血缘健康志愿者,男,33岁,血型相合。预处理采用改良Bu/Cy方案;移植抗宿主病(GVHD)预防方案:抗胸腺细胞球蛋白、环孢素A、短程MTX、吗替麦考酚酯。共回输供者外周血单个核细胞 $6.24 \times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺细胞 $5.72 \times 10^6/\text{kg}$ 。移植后第16天中性粒细胞及血小板植入,第50天染色体检查为供者型(46,XY),毛细管电泳-短串联重复序列多态性方法检测显示为100%供者嵌合。

移植后20个月,患者再次出现贫血症状,复查骨髓原始

及幼稚单核细胞占0.452;流式细胞术检测免疫表型:表达CD34、CD117、HLA-DR、CD13、CD33、CD64、CD14、MPO、B/T淋系标志均为阴性;染色体检查仍完全为供者型(46,XY);嵌合度检查也仍为完全供者嵌合(100%);诊断为供者源急性单核细胞白血病(AML-M₅)。DA、MEA方案各诱导治疗1个疗程后再次取得CR,随后予以大剂量阿糖胞苷(HD-Ara-C, 2.0 g/m²)巩固化疗5个疗程,诊断为供者源AML-M₅7个月后二次复发,以后未能取得CR并于4个月后死于严重感染。

非血缘健康志愿者在捐献外周血干细胞84个月后,因皮肤紫癜、发热半个月就诊,骨髓象示原始粒细胞占0.305;流式细胞术检测免疫表型:表达CD34、CD117、HLA-DR、CD13、CD33、CD123、CD38、MPO、B/T淋系标志均为阴性;染色体核型:46,XY;FLT3-ITD突变阳性;诊断为AML-M₂。先后经DA、IDA、CHG、CHAG方案+索拉菲尼诱导化疗均未能取得CR,与同胞兄弟HLA配型全相合,行挽救性移植,移植后4个月白血病复发并最终死亡。

为比较发生于急性淋巴细胞白血病患者供者源AML-M₅和发生于供者自身的原发性AML-M₂是否存在不同的基因突变,我们进行了回顾性基因突变筛查,采用双脱氧测序法,筛查基因包括ASXL1、CEBPA、DNMT3A、FLT3-ITD/TKD、IDH1、IDH2、KIT、NPM1、PHF6、TET2、TP53等11种^[1]。在ALL患者移植后各时间点、健康志愿者捐献干细

胞及随后发生白血病时均可检测到 ASXL1c.2597T > A/p.L866X 突变,但仅在健康志愿者发生白血病时检测到 FLT3-ITD 突变 (FLT3c.1780_1781 delins CAGGTGGCACAG-GTTCCACTCCC/p.F594 delins QVAQVPLP) (图 1、表 1)。此外,为进一步验证这一结果,我们设计针对性的引物序列 (上游引物 5'-AGCAATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3',下游引物 5'-GAACCTGTGCCACCTGATCAA-3'),对前述双脱氧测序法未能检测到 FLT3-ITD 突变的标本进行复查,敏感度为 0.01%,但仍未检测到 FLT3-ITD 突变。

讨论及文献复习

本例报道中,在供者捐献的外周血造血干细胞及捐献干细胞后 84 个月发生 AML-M₂ 时的骨髓标本中均可检测到 ASXL1 L866X 突变。与此同时,ALL 患者在移植前未检测到 ASXL1 L866X 突变,但在移植后第 50 天的 CR 期及 20 个月发生供者源 AML-M₂ 时,骨髓标本中均可检测到 ASXL1 L866X 突变。据此推测,ALL 患者非血缘异基因造血干细胞

移植后发生的供者源 AML-M₂ 及供者发生的 AML-M₂ 均起源于供者携带 ASXL1 L866X 突变的造血干细胞。

ASXL1 是 Trithorax 和 Polycomb 家族的增强子,在维持基因表达稳态中发挥着重要作用,与髓系肿瘤的发生、发展密切相关^[2-3]。供者在捐献干细胞时已携带 ASXL1 L866X 突变,但无血液学异常,可归为意义不明的克隆性造血 (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP),现有文献认为 CHIP 发展为血液恶性肿瘤的风险较高^[4],不幸的是该供者随后又获得了 FLT3-ITD 突变,最终促成 AML-M₂ 的发生,这也符合白血病发生的二次打击学说^[5-7]。另一方面这种有缺陷的造血干细胞在植入受者体内后,由于造血功能重建、干细胞快速扩增,而此时患者体内免疫监视功能缺陷,最终导致 DCL 的发生。虽然我们没有发现明确的二次突变,但仍然不能排除这种可能,因为只筛查了 11 种基因,较为局限。此外,由于供者的免疫系统功能较患者完善,能更好地对前白血病细胞进行免疫监视,因此供者 AML-M₂ 发生时间晚于受者的供者源 AML-M₂ (相隔 5 年)。与我们这例

表 1 ALL 患者及非血缘健康志愿者基因突变筛查

	疾病状态	嵌合度	ASXL1 L866X 突变	FLT3-ITD 突变
ALL 患者				
初诊时	ALL	/	-	-
移植后第 50 天	CR	100% 供者型	+	-
移植后 20 个月	DCL (AML-M ₂)	100% 供者型	+	-
非血缘健康志愿者				
捐献干细胞时	健康	/	+	-
捐献干细胞后 84 个月	AML-M ₂	/	+	+
指甲标本	AML-M ₂	/	-	-

注:ALL:急性淋巴细胞白血病;AML:急性髓系白血病;CR:完全缓解;DCL:供者源白血病;/:不适用

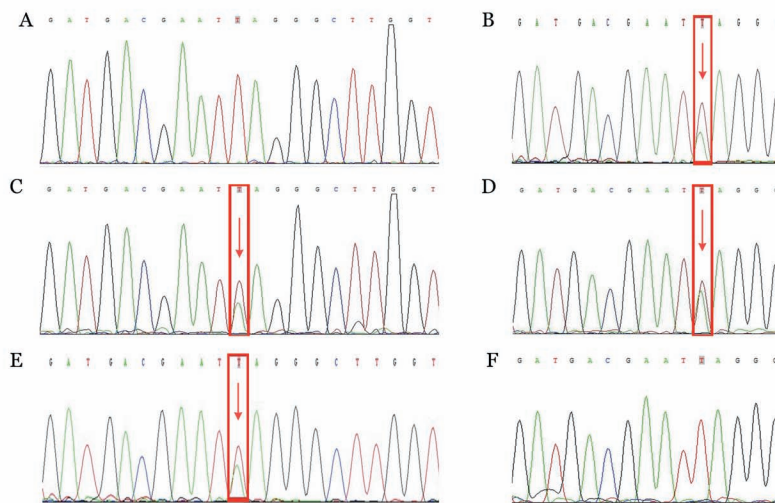


图 1 患者及供者的 ASXL1 L866X 突变序列分析
A: 急性淋巴细胞白血病 (ALL) 患者非血缘移植前,处于完全缓解状态的骨髓细胞;B: 非血缘健康志愿者捐献干细胞时经 G-CSF 动员的外周血干细胞;C: ALL 患者非血缘移植后第 50 天,处于完全缓解期并完全供者嵌合时的骨髓细胞;D: ALL 患者非血缘造血干细胞移植后 20 个月,诊断为供者源急性单核细胞白血病、完全供者嵌合时的骨髓细胞;E: 捐献干细胞 84 个月后,非血缘健康志愿者诊断 AML-M₂ 时的骨髓细胞;F: 非血缘健康志愿者诊断 AML 后的指甲标本

图 1 患者及供者的 ASXL1 L866X 突变序列分析

报道相似, Hahn等^[8]报道1例同胞间的骨髓移植病例, 干细胞存在DNMT3A突变, 移植后供者发展为AML, 存在DNMT3A、FLT3突变, 4个月后, 受者也发展为AML, 存在DNMT3A突变, 但FLT3为野生型。在Hahn等的报道中, 携带DNMT3A突变干细胞在供者及患者中进展为AML时间相差不大。据此推测, 不同的第一次打击基因突变可能与不同的白血病发病潜伏时间相关。我们这例报道和Hahn等的报道提示携带白血病前基因突变的造血干细胞有发展为AML的潜在可能, 且第一次打击相同的缺陷干细胞在不同的骨髓微环境及免疫状态下, 可发生不同的二次打击从而进展为不同类型的白血病。

我们这项报道也引申出一个重要的临床问题, 即是否应将白血病前基因突变筛查作为供者选择及跟踪观察的一部分。对于供者而言, 虽然现有文献中无关供者经G-CSF动员后发生造血系统恶性肿瘤的概率与普通人群相比差异无统计学意义, 但对于已携带白血病前基因突变的供者(CHIP), G-CSF的应用能否促进其白血病转化? 对于受者而言, 植入这种已携带基因缺陷的造血干细胞无疑会增加其发生DCL的概率, 破坏移植效果。尤其是目前单倍型移植工作广泛开展, 较为高龄的父母供子女移植数量明显增加, 而高龄供者的CHIP发生率也较高^[9], 基因突变筛查值得慎重考虑。

参考文献

- [1] 王芳, 张阳, 陈雪, 等. 初诊急性髓系白血病患者十种常见突变基因的突变组分析[J]. 白血病·淋巴瘤, 2015, 24(3):161-164. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2015.03.009.
- [2] Perry AM, Attar EC. New insights in AML biology from genomic analysis [J]. Semin Hematol, 2014, 51 (4):282-297.

- DOI: 10.1053/j.seminhematol.2014.08.005.
- [3] Abdel-Wahab O, Gao J, Adli M, et al. Deletion of Asx11 results in myelodysplasia and severe developmental defects in vivo [J]. J Exp Med, 2013, 210 (12):2641-2659. DOI: 10.1084/jem.20131141.
 - [4] Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence [J]. N Engl J Med, 2014, 371 (26):2477-2487. DOI: 10.1056/NEJMoa1409405.
 - [5] Corces-Zimmerman MR, Majeti R. Pre-leukemic evolution of hematopoietic stem cells: the importance of early mutations in leukemogenesis [J]. Leukemia, 2014, 28 (12):2276-2282. DOI: 10.1038/leu.2014.211.
 - [6] Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia [J]. Nature, 2014, 506(7488):328-333. DOI: 10.1038/nature13038.
 - [7] Bullinger L, Döhner K, Döhner H. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways [J]. J Clin Oncol, 2017, 35(9):934-946. DOI: 10.1200/JCO.2016.71.2208.
 - [8] Hahn CN, Ross DM, Feng J, et al. A tale of two siblings: two cases of AML arising from a single pre-leukemic DNMT3A mutant clone [J]. Leukemia, 2015, 29 (10):2101-2104. DOI: 10.1038/leu.2015.67.
 - [9] Herold S, Kuhn M, Bonin MV, et al. Donor cell leukemia: evidence for multiple preleukemic clones and parallel long term clonal evolution in donor and recipient [J]. Leukemia, 2017, 31 (7):1637-1640. DOI: 10.1038/leu.2017.104.

(收稿日期:2018-08-08)

(本文编辑:王叶青)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时, 只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然, 在医学的许多领域, 国内的研究水平确实有待提高, 有引用国外文献的必要。但是, 不引用国内相关文献, 将存在以下问题: ①作者没有阅读国内文献, 这样作者阅读的文献就不全面, 作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献, 就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展, 毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献, 但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂, 如轻视或忽略国内同行, 或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述, 均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性, 鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部