

PML-RAR α 与AML1-ETO融合基因共表达 急性髓系白血病一例报告并附文献复习

李娟 陈秀花 张轶群 覃艳红 李国霞 常建梅 徐智芳 任方刚 张耀方 王宏伟

Co-expression of PML-RAR α and AML1-ETO rearrangements in a case with acute myeloid leukemia and literature review Li Juan, Chen Xiuhua, Zhang Yiqun, Tan Hongyan, Li Guoxia, Chang Jianmei, Xu Zhifang, Ren Fanggang, Zhang Yaofang, Wang Hongwei

Corresponding author: Wang Hongwei, Department of Hematology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi Key Laboratory of Molecular Diagnosis and Treatment of Blood Diseases, Taiyuan 030001, China. Email: wanghw68@hotmail.com

急性早幼粒细胞白血病(APL)是急性髓系白血病(AML)的一个特殊亚型,其特异性的细胞遗传学异常为t(15;17)(q22;q12),即15号染色体上的PML基因和17号染色体上的维甲酸受体基因(RAR α)断裂重接,形成PML-RAR α 融合基因^[1]。AML部分成熟型的M₂亚型特异性遗传学标志为t(8;21)(q22;q22),形成AML1-ETO融合基因^[2]。这两种融合基因在急性白血病患者中均是独立存在,同时存在的病例较为罕见。目前国内文献已报道8例PML-RAR α 和AML1-ETO融合基因共表达AML患者,本实验室最近新发现1例,现结合文献病例总结报告如下。

病例资料

患者,女,58岁。主因“头晕、乏力1个月余,加重伴齿龈出血10d”于2013年5月31日入院。血常规:WBC 1.52 $\times 10^9$ /L, HGB 64.7 g/L, PLT 23.2 $\times 10^9$ /L,嗜中性粒细胞0.44 $\times 10^9$ /L。凝血检查:凝血酶原时间16.50 s(对照13.50 s)。肝、脾及淋巴结肿大。骨髓象:增生明显活跃,原始+早幼粒细胞占0.670,此类细胞部分胞体稍规则,核染色质细致,核仁可见,红系增生受抑,淋巴细胞占0.070,未见巨核细胞。POX染色:强阳性。免疫分型:有核细胞中淋巴细胞占2.3%,单核细胞占0.5%,粒细胞占1.4%,原始细胞占85.4%,有核红细胞占3.9%,原始细胞白血病相关的免疫表型(LAIP)为表达CD117、CD13、CD34、CD14、HLA-DR、cyMPO,部分细胞

表达CD33、CD36、CD15、CD11b,不表达CD7、CD16、CD19、CD64、CD38、CD56、cyCD79a、cyCD3,提示髓系幼稚细胞表型。骨髓细胞遗传学核型分析为46,XX,r(6)(p25;q27),t(15;17)(q22;q21)[12]/46,XX,t(8;21)(q22;q22)[4]/46,XX,t(8;21)(q22;q22),add(16)(p13)[4](图1)。提取骨髓总RNA,巢式RT-PCR检测融合基因:AML1-ETO(+),PML-RAR α (L型)(+)。根据上述检测结果,诊断考虑为AML。首次给予亚砷酸(ATO)+全反式维甲酸+柔红霉素(DNR)+阿糖胞苷(Ara-C)联合化疗,患者达完全缓解(CR),给予MA(米托蒽醌+Ara-C)方案进行巩固治疗,融合基因复查示PML-RAR α 转阴,而AML1-ETO仍为阳性。后分别尝试给予口服砷剂+IA、口服砷剂+HA、口服砷剂+DA、HAA方案再诱导化疗4次,多次融合基因复查示PML-RAR α 阴性,AML1-ETO持续为阳性,生存期为1年。

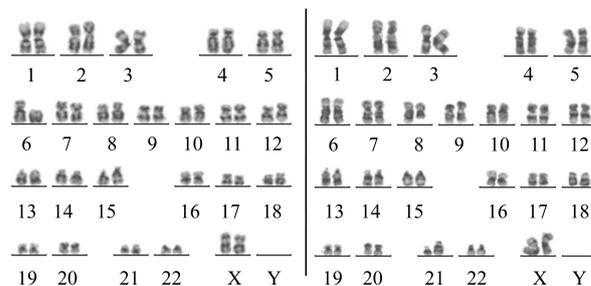


图1 患者初诊骨髓细胞G带染色体核型分析

讨论及文献复习

目前报道的AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因同时存在的病例共有8例,本文报道为第9例(表1)。虽然AML1-ETO与PML-RAR α 两个融合事件共发生于同一患者,但是细胞遗传学染色体核型结果显示9例AML患者AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因的克隆形式却存在不同,即包括四种克隆形式:第一种是t(15;17)与t(8;21)分别独立发生于两种细胞克隆(Abreu等^[5]以及本文报道的患者);第二种是以t(15;17)、t(8;21)、t(15;17)+t(8;21)三种克隆存在(Movafagh等^[4]与高彦荣等^[3]报道的两例);第三种是以t(15;17)、t(15;17)+t(8;21)两种克隆存在(Charrin等^[6]);第四种在传统的细胞遗传学水平仅可检测到t(15;17)或t(8;21)其中的一种染色体易位,另一种则呈现隐匿性易位,但通过RT-PCR或FISH法均显示AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因双阳性(4例,Bonomi等^[7]、Sttavroyianni等^[8]、郭慧梅等^[10]采用RT-PCR法,Varella-Garcia等^[9]采用FISH法),虽然

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.01.017

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81670126);国家自然科学基金青年项目(81500104)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第二医院血液病研究所;血液病分子诊疗山西省重点实验室

通信作者:王宏伟,Email:wanghw68@hotmail.com

细胞遗传学难以确定两种染色体易位在细胞中的克隆关系,但复发时RT-PCR法仅能检测到AML1-ETO存在,该结果提示至少存在一种独立的t(8;21)细胞克隆。

我们对上述四种克隆形式患者的免疫表型特征进行了比较,典型的伴AML1-ETO重现性异常AML免疫表型为:部分原始细胞强表达CD34、HLA-DR、MPO、CD13,且SSC较小,当白血病细胞出现CD19、CD33弱阳性时,多提示存在

AML1-ETO重现性异常。典型的PML-RAR α 阳性APL免疫表型以CD34、HLA-DR、CD11b、CD11c、CD18低表达或阴性为特征,同时表现为SSC较大。Abreu等^[5]报道的病例免疫分型结果显示存在两种细胞克隆:一种是CD33⁺CD13⁺HLA-DR⁺CD34⁺CD15⁻,SSC较小,占骨髓细胞的13%,为典型的AML伴t(8;21)(q22;q22)表型;另一种是CD33⁺CD13⁺HLA-DR⁻CD34⁻CD15^{low},SSC较大,占骨髓细胞的25%,为

表1 9例PML-RAR α 和AML1-ETO融合基因共表达的急性髓系细胞白血病患者资料

作者	年龄 (岁)	性别	染色体核型	免疫表型	临床治疗及预后
高彦荣等 ^[3]	24	女	45,X,-X,t(8;21)(q22;q22)[5]/45,X,-X,t(8;21)(q22;q22),t(15;17)(q22;q12)[2]/43,X,-X,t(8;21)(q22;q22),-19,-21[1]/42,-X,-X,t(8;21)(q22;q22),-19,-20[1]/40,X,-X,t(8;21)(q22;q22),-3,-13,-15,-15,-17[1]	表达HLA-DR(100%)、CD13(60%)、CD68(80%)、MPO(100%),而CD34、CD14、CD15、CD33、CD2、CD3、CD5、CD7、CD10、CD19、CD20、CD21阴性	治疗后达CR,AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因均转阴性,随访中
Movafagh等 ^[4]	40	女	45,XX,t(8;21)(q22;q22),del(10)(q11),del(11)(q23),t(15;17)(q22;q22),-20[14]/46,XX,t(8;21)(q22;q22),t(15;17)(q22;q12)dic(X)(q24),dic(5)(q22),del(10)(q11),del(11)(q23)[18]/46,XX,t(8;21)(q22;q22)ort(15;17)(q22;q22)[8]/46,XX[2]	CD33、CD13阳性,HLA-DR阴性	化疗前死亡
Abreu等 ^[5]	47	女	46,X,iso(X)(q11),t(8;21)(q22;q12)[18/18](G显带)隐性t(15;17)[5/5](SKY)	CD33 ⁺ CD13 ⁺ HLA-DR ⁻ CD34 ⁻ CD15 ^{low} ,高SSC,占骨髓细胞的25%;CD33 ⁺ CD13 ⁺ HLA-DR ⁺ CD34 ⁺ CD15 ⁻ ,低SSC,占骨髓细胞的13%	治疗后未CR,AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因均阳性,第67天死于血液感染
Charrin等 ^[6]	49	女	46,XX,t(15;17)(q22;q12)[66]/46,XX,t(15;17)(q22;q12),t(8;21)(q22;q22)[34]	CD13(85%)、CD15(80%)、HLA-DR(37%)、CD11(1%)、CD14(2%)、CD16(2%)、CD33(1%)、CD34(10%)	首次治疗后达CR,AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因均转阴性,12个月后复发,治疗后达CR
Bonomi等 ^[7]	-	-	t(15;17)(q22;q12)	-	-
Sttavroyianni等 ^[8]	33	女	46,XX,t(8;21)(q22;q22)	CD34(9%)、CD33(90%)、CD13(50%)、CD14(6%)、CD15(72%)、CD19(2%)、HLA-DR(35%)、CD33/CD34(9%)、CD33/CD15(65%)	治疗后AML1-ETO融合基因仍为阳性,9个月后复发,移植1年后M ₂ 复发死亡
Varella-Garca等 ^[9]	39	女	46,XX,der(2),t(15;17)(q22;q12)[12]/46,XX,t(15;17)(q22;q12)[29]	-	-
郭慧梅等 ^[10]	24	男	46,XY[12]/46,XY,t(8;21)(q22;q22)[4]	幼稚细胞群约占核细胞的59.5%,CD13(64.1%)、CD15(37.1%)、CD64(24.9%)、CD34(59.0%)、CD117(53.3%)、HLA-DR(91.6%)阳性,CD14、CD19、CD10、CD25、CD56、CD33、CD5、CD11b、CD7、CD2阴性	治疗4个月复发,AML1-ETO融合基因阴性,AML1-ETO融合基因阳性,2个月后复发,1年后死亡
本例	58	女	46,XX,r(6)(p25;q27),t(15;17)(q22;q21)[12]/46,XX,t(8;21)(q22;q22)[4]/46,XX,t(8;21)(q22;q22),add(16)(p13)[4]	原始细胞LAIP为表达CD117、CD13、CD34、CD14、HLA-DR、cyMPO,部分细胞表达CD33、CD36、CD15、CD11b,不表达CD7、CD16、CD19、CD64、CD38、CD56、cyCD79a、cyCD3	治疗后PML-RAR α 融合基因阴性,AML1-ETO融合基因阳性,2个月后复发,1年后死亡

注:CR:完全缓解;-:无数据

典型的AML伴t(15;17)(q22;q12)表型,该现象可能与t(15;17)与t(8;21)分别独立发生于两种亚克隆细胞有关。当t(15;17)+t(8;21)亚克隆存在或AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因双阳性但传统的细胞遗传学检测仅含有t(15;17)、t(8;21)其中之一时,患者免疫表型结果显示为AML伴t(8;21)(q22;q22)或AML伴t(15;17)的混合表型:高彦荣等^[3]、Sttavroyianni等^[8]、郭慧梅等^[10]报道的病例显示AML伴t(8;21)而无CD19表达。高彦荣等^[3]、Sttavroyianni等^[8]、郭慧梅等^[10]、Charrin等^[6]报道的病例显示伴t(15;17)AML但HLA-DR却高表达。这些数据提示对于临床上免疫表型不典型AML患者均应考虑进行AML1-ETO与PML-RAR α 的检测,以免漏诊。

9例患者中有6例提供治疗情况,我们进一步分析6例患者经过治疗后的克隆变化。Abreu等^[5]报道的病例治疗后未缓解(ATRA+化疗),RT-PCR检测仍为AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因双阳性;Charrin等^[6](化疗)与高彦荣等^[3](DA方案化疗)报道的患者治疗后AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因均转阴性;Sttavroyianni等^[8](ATRA+化疗)与郭慧梅等^[10](ATRA+DA方案化疗)报道的患者治疗后PML-RAR α 融合基因阴性,AML1-ETO融合基因阳性。本例患者给予ATO+ATRA+DNR+Ara-C联合化疗后呈现PML-RAR α 融合基因阴性,AML1-ETO融合基因阳性,与Sttavroyianni等^[8]报道的一致。6例患者治疗后的克隆变化提示单独t(15;17)易位的细胞克隆因对ATRA敏感而容易被清除,t(15;17)+t(8;21)这种细胞克隆,可能由于存在t(15;17)而对ATRA敏感而被清除,单独的t(8;21)细胞克隆则是患者持续不缓解的主要原因。

文献报道的8例患者中除2例患者临床随访数据不详之外,6例患者的临床预后情况不一。其中,Movafagh等^[4]的病例化疗前死亡。Abreu等^[5]报道的病例治疗后未缓解,RT-PCR检测仍为AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因双阳性,治疗后第67天死于血流感染。高彦荣等^[3]报道的患者巩固治疗5个疗程后达CR,AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因全部转为阴性。Charrin等^[6]、Sttavroyianni等^[8]、郭慧梅等^[10]报道病例治疗缓解后均出现复发。本例患者首次治疗达CR,2个月后复发,1年后死亡。4例复发患者中3例显示复发后AML1-ETO融合基因阳性。

总之,t(15;17)与t(8;21)可同时存在于AML患者中,且产生至少存在2种或2种以上的白血病细胞克隆。t(15;17)与t(15;17)+t(8;21)细胞克隆对含ATRA的联合化疗方案敏感而容易被清除,而t(8;21)细胞克隆则表现为不

敏感而成为持续不缓解或复发的主要原因。另外对于临床免疫表型特征不典型的病例,建议同时检测AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因以帮助诊断。

参考文献

- [1] 王艳芳,刘佳,董菲,等.具有隐匿型PML-RAR α 融合基因的罕见急性早幼粒细胞白血病一例报告并文献复习[J].中华血液学杂志,2016,37(11):1001-1002. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.11.016.
- [2] 王平,彭贤贵,陈幸华,等. AML1-ETO融合基因阳性的AML患者骨髓细胞形态学分析[J].重庆医学,2010,39(12):1503-1504.
- [3] 高彦荣,王椿,徐岚,等.同时具有染色体t(8;21)和t(15;17)的急性白血病一例[J].中华血液学杂志,2001,22(2):94-95. DOI: 10.3760/j.issn:0253-2727.2001.02.010.
- [4] Movafagh A, Varma N, Varma S. Co-expression of two FAB-specific chromosome changes, t(15;17) and t(8;21), in a case of acute promyelocytic leukemia [J]. Ann Hematol, 1996, 72(6): 375-377.
- [5] Abreu eLRS, Baruffi MR, de Lima AS, et al. The co-expression of PML/RAR alpha and AML1/ETO fusion genes is associated with ATRA resistance [J]. Br J Haematol, 2005, 128(3):407-409. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05343.x.
- [6] Charrin C, Ritouet D, Campos L, et al. Association of t(15;17) and t(8;21) in the initial phase of an acute promyelocytic leukemia [J]. Cancer Genet Cytogenet, 1992, 58(2):177-180.
- [7] Bonomi R, Giordano H, Moreno P, et al. Chimeric M3:M2 case of acute promyelocytic leukemia (APL): differential responses to all-trans retinoic acid (ATRA) and chemotherapy [J]. Blood, 1992, 79(12):2492.
- [8] Stavroyianni N, Kalmantis T, Yataganas X, et al. Simultaneous PML/RAR alpha and AML 1/ETO gene rearrangements in a patient with acute myeloid leukemia [J]. Leukemia, 1999, 13(8):1294-1295.
- [9] Varella-Garcia M, Brizard F, Roche J, et al. Aml1/ETO and Pml/RARA rearrangements in a case of AML-M2 acute myeloblastic leukemia with t(15;17) [J]. Leuk Lymphoma, 1999, 33(3-4): 403-406.
- [10] 郭慧梅,化罗明.同时具有AML1-ETO与PML-RAR α 融合基因的急性髓系白血病一例[J].中华血液学杂志,2009,30(7): 439-439. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2009.07.003.

(收稿日期:2017-05-12)

(本文编辑:王叶青)