

成人急性B淋巴细胞白血病患者基因突变谱及预后意义

冯娟 弓晓媛 贾玉娇 刘凯奇 李艳 董小宝 房秋云 汝昆 李庆华
王慧君 赵邢力 贾艳楠 宋洋 田征 王敏 唐克晶 王建祥 秘营昌

【摘要】 目的 探讨成人急性B淋巴细胞白血病(B-ALL)患者的基因突变谱,并分析其对患者预后的影响。方法 收集113例2009年6月至2015年9月收治的成人B-ALL患者DNA标本,采用靶向特异的二代测序技术,针对血液恶性疾病相关的112种基因进行突变分析,通过多个数据库筛选出可能致病的基因突变,描述其发生频谱,并通过Kaplan-Meier、Cox回归模型分析突变基因对患者总生存(OS)和无复发生存(RFS)的影响。结果 113例患者中103例(92.0%)发生至少一种基因突变,29例(25.6%)患者发生 ≥ 3 种基因突变。所有患者中突变率较高的基因有SF1、FAT1、MPL、PTPN11、NRAS等,Ph阳性B-ALL和Ph阴性B-ALL患者中基因突变特点不尽一致。进一步分析基因突变对患者预后的影响,发现在Ph阴性B-ALL中伴JAK-STAT信号通路相关基因突变的患者(如JAK1、JAK2突变)较该信号通路未受影响的患者预后差(OS:P值分别为0.011和0.001;RFS:P值分别为0.014和 < 0.001),而伴PTPN11突变的B-ALL患者较不伴PTPN11突变的患者有较好的OS及RFS,但差异无统计学意义(P 值均 > 0.05);在Ph阳性B-ALL患者中,表观遗传学修饰相关的信号通路异常的患者预后较差(OS: $P = 0.038$;RFS: $P = 0.047$)。结论 基因突变在成人B-ALL中存在普遍性,发生频谱因亚型而异,涉及多种信号通路,JAK家族相关基因突变常提示患者预后较差,突变基因之间的共存现象也预示着成人B-ALL患者的遗传复杂性和不稳定性。

【关键词】 白血病, B细胞; 二代测序技术; DNA突变分析; 预后

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAI09B12);天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JCZD-JC36400);天津市科技计划项目(15ZXLCSY00010)

Spectrum of somatic mutations and their prognostic significance in adult patients with B cell acute lymphoblastic leukemia Feng Juan, Gong Xiaoyuan, Jia Yujiao, Liu Kaiqi, Li Yan, Dong Xiaobao, Fang Qiuyun, Ru Kun, Li Qinghua, Wang Huijun, Zhao Xingli, Jia Yannan, Song Yang, Tian Zheng, Wang Min, Tang Kejing, Wang Jianxiang, Mi Yingchang. State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Mi Yingchang, Email: miyingchang@ihcams.ac.cn

【Abstract】 Objective To investigate the spectrum of gene mutations in adult patients with B-acute lymphoblastic leukemia (B-ALL), and to analyze the influences of different gene mutations on prognosis. **Methods** DNA samples from 113 adult B-ALL patients who administered from June 2009 to September 2015 were collected. Target-specific next generation sequencing (NGS) approach was used to analyze the mutations of 112 genes (focused on the specific mutational hotspots) and all putative mutations were compared against multiple databases to calculate the frequency spectrum. The impact of gene mutation on the patients' overall survival (OS) and recurrence free survival (RFS) was analyzed by the putative mutations through Kaplan-Meier, and Cox regression methods. **Results** Of the 113 patients, 103 (92.0%) harbored at least one mutation and 29 (25.6%) harbored more than 3 genes mutation. The five most frequently mutated genes in B-ALL are SF1, FAT1, MPL, PTPN11 and NRAS. Gene mutations are different between Ph⁺ B-ALL and Ph⁻ B-ALL patients. Ph⁻ B-ALL patients with JAK-STAT signal pathway

related gene mutation, such as JAK1/JAK2 mutation showed a poor prognosis compared to the patients without mutation (OS: $P=0.011$, 0.001 ; RFS: $P=0.014$, <0.001). Patients with PTPN11 mutation showed better survival than those without mutation, but the difference was not statistically significant (P value >0.05). Besides, in Ph⁺B-ALL patients whose epigenetic modifications related signaling pathway genes were affected, they had a worse prognosis (OS: $P=0.038$; RFS: $P=0.047$). **Conclusion** Gene mutations are common in adult ALL patients, a variety of signaling pathways are involved. The frequency and spectrum are varied in different types of B-ALL. JAK family gene mutation usually indicates poor prognosis. The co-occurrence of somatic mutations in adult B-ALL patients indicate the genetic complex and instability of adult B-ALL patients.

【Key words】 Leukemia, B-cell; Target-specific next-generation sequencing; DNA mutational analysis; Prognosis

Fund program: National Science and Technology Support Plan(2014BAI09B12); Tianjin Research Plan for Applied Fundamental and Advanced Technology (15JCZDJC36400); Tianjin Clinical Research Center for Blood Diseases (15ZXLCSY00010)

急性淋巴细胞白血病(ALL)是一种由原始淋巴细胞在造血和淋巴组织(特别是骨髓、脾脏和淋巴结)无限增殖所致的恶性血液病,是儿童最常见的白血病类型,占成人急性白血病的15%~25%^[1]。成人ALL生物学特征多样,临床异质性大,治疗效果较差。随着遗传学及分子生物学的发展,WHO2008白血病淋巴瘤分类标准将ALL归入前体淋巴细胞肿瘤并且进行了新的以遗传学(包括细胞遗传学和分子遗传学)为基础的分类,在WHO2016标准中这一趋势更加明显。60%以上的ALL患者存在细胞遗传学异常,更多的患者可测出分子遗传学异常,这些分子遗传学异常对疾病的发生、治疗及预后均具有重要意义^[2]。近年来随着二代测序技术的应用,基因组学研究已在儿童ALL中广泛开展,在成人ALL中也日益受到重视,主要包括全基因组/外显子组/转录组测序分析、基于基因芯片技术的基因组多态性分析以及表观遗传学研究等。这些技术的应用对于确定体细胞突变、表观遗传学修饰等具有重要意义^[3]。我们收集于中国医学科学院血液病医院就诊的113例成人B-ALL患者的标本和临床资料,应用Ion Ampliseq二代测序方法靶向检测血液恶性疾病相关的112种基因,分析高频的基因突变与患者预后的关系。

病例与方法

1. 研究对象:2009年6月至2015年9月在我院就诊的113例B-ALL患者纳入研究,其中男70例,女43例,中位年龄30(14~61)岁。采用MICM(形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学)诊断模式,分型采用WHO2008标准,同时参考欧洲白血病免疫学分型协作组(EGIL)诊断标准。其中包括伴

t(9;22)/BCR-ABL异常(Ph阳性)的患者46例(40%),Ph阴性患者67例(60%)。初诊时外周血中位WBC 36.90(0.59~539.06) $\times 10^9/L$ 。纳入本研究的患者均签署知情同意书。

2. 治疗:113例患者中,5例患者未在我院治疗,治疗情况不详。其余均采用CALLG2008方案^[4]治疗,诱导治疗根据有无BCR-ABL融合基因分为VDCP+酪氨酸激酶抑制剂(TKI)和VDCLP方案。

3. 测序方法:取患者骨髓或外周血,分离单个核细胞,提取DNA,采用靶向特异的二代测序技术(超高多重PCR捕获,超深高通量平行测序),利用Ion Torrent半导体平台检测预先设计的血液恶性疾病相关的基因面板(覆盖112种基因的完整编码区或点突变),结果映射到NCBIhg19RefSeq,平均覆盖率 $>97%$,平均深度800x,排除在dbSNP135中注释的基因多态性,所有检测出的基因(外显子区)通过千人基因组计划、COSMIC(癌症中的体细胞突变目录)及PolyPhen-2(Polymorphism Phenotyping 2)数据库进行筛选。

4. 随访:采用电话联系方式随访,随访截至2017年6月1日。中位随访时间为25.9(5.6~87.0)个月,失访11例,失访率9.7%(11/113)。总生存(OS)期指自诊断到死亡或未次随访日期。无复发生存(RFS)期指自治疗后第1次完全缓解(CR)到第1次复发或缓解期死亡或未次随访日期。

5. 统计学处理:所有统计学处理均采用SPSS23.0软件完成。计量资料如符合正态分布,结果用均值 \pm 标准差表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用卡方检验,生存曲线采用Kaplan-Meier分析,多因素分析采用Cox回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基因突变发生频谱及共突变情况:113例患者中有104例(92.0%)患者发生至少1种基因突变,中位突变数为2(0~7)种,29例(25.6%)患者有≥3种基因突变。我们通过上述介绍的数据库筛选出56种可能致病的突变基因,突变率排在前五位依次为SF1、FAT1、MPL、PTPN11、NRAS(均>6%),其后依次为TP53、KRAS、JAK2、DIS3、EZH2、KMT2D、SF3B1、CREBBP(均>4%)。分别分析Ph阳性组和阴性组患者基因突变率,Ph阳性B-ALL患者中突变率较高的基因有FAT1、SF1、EP300、MPL、CREBBP、UNC13D、NF1;而Ph阴性B-ALL患者中突变率较高的基因有SF1、PTPN11、FAT1、NRAS、MPL、TP53、JAK2、DIS3、EZH2及JAK1。PTPN11、JAK1/JAK2突变主要发生于Ph阴性B-ALL患者中。共有6例患者发生TP53突变,其中5例为Ph阴性B-ALL(图1)。图2展示了突变基因之间的共存关系,广泛的共突变现象表明成人B-ALL患者中的遗传复杂性和不稳定性。

在所有B-ALL患者中,SF1基因突变率最高,达10.62%(12例),突变位点包括p.M449V、p.M475V、p.M600V、p.Y476C、p.T474A、p.Y476C、p.A1574T、

p.T2321M、p.G2480S。其余突变率较高的基因及相应突变位点详见表1。

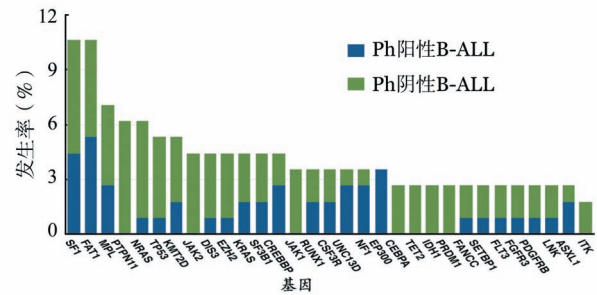


图1 成人急性B淋巴细胞白血病(B-ALL)患者的基因突变频谱

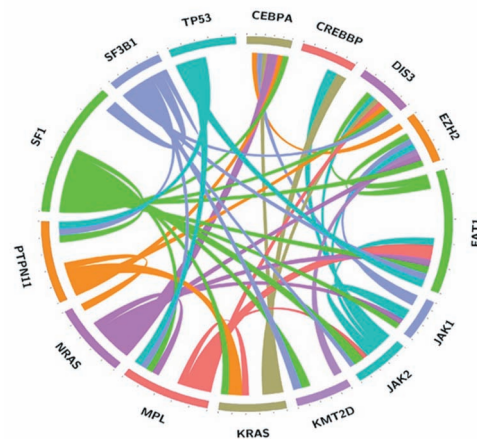


图2 成人急性B淋巴细胞白血病突变基因之间的共存关系

表1 成人急性B淋巴细胞白血病患者突变基因及相应的氨基酸改变位点

突变基因	氨基酸改变位点
FAT1	p.R1257Q、p.V3694I、p.A4551G、p.T1679I、p.T1492S、p.E1141D、p.D1113N
SF1	p.M449V、p.M475V、p.M600V、p.Y476C、p.T474A、p.Y476C、p.A1574T、p.T2321M、p.G2480S
NRAS	p.G12D、p.G12A、p.G12S、p.Q61K、p.G12V、p.G12D、p.G12C
CREBBP	p.L513I、p.L551I、p.A254T
PTPN11	p.D61Y、p.P491S、p.S502T、p.E76G、p.A72D、p.K308D、p.T73I
JAK2	p.R683G、p.D873N、p.R683S、p.P933Q、p.T875N、p.V617F
DIS3	p.S557、p.S587F
MPL	p.R321Q
KMT2D	p.R3714K、p.V401M、p.M3349V、p.R2401H
EP300	p.S507G
RUNX1	p.I114I、p.I87I、p.R177X、p.R204X、p.R135K、p.R162K、p.R293X、p.R320X
TP53	p.R116W、p.R209W、p.R248W、p.R89W、p.S109F、p.S202F、p.S241F、p.S82F、p.R123P、p.R150P、p.R243P、p.R282P、p.R124L、p.R151L、p.R244L、p.R283L、p.I112V、p.Y220C、p.A144V
EZH2	p.R628C、p.R640C、p.R670C、p.R679C、p.R684C、p.D146H、p.D674-Y675delinsX、p.D730-Y731delinsX
KRAS	p.G60D、p.G13D、p.A146T、p.A18D、p.G12D
SF3B1	p.R625C、p.G740R、p.K700E、p.D907Y、p.L747W
JAK1	p.S703I、p.Y652H、p.A701V、p.S646F
CSF3R	p.P733T、p.P760T
UNC13D	p.G863D

表2 受影响的信号通路涉及的突变基因及发生率

信号通路	基因	发生率(%)
Ras/蛋白磷酸酶/MARK/PI3K	NRAS、KRAS、PTPN11、NF1、CBL、TP53	27.43
转录因子/调控	CREBBP、RUNX1、EP300、DNM2、CEBPA、PHF6、WT1、PRDM1、GATA3、UNC13D、ITK	25.66
表现遗传学修饰	TNFAIP3、CYLD、TET2、DNMT3A、IDH1、SETBP1、ASXL1、KMT2D、EZH2、WHSC1	23.01
剪接与mRNA加工调控	SF1、U2AF1、DIS3、SF3A1、SF3B1	22.12
酪氨酸激酶受体/非受体	FGFR3、PDGFRB、FLT3、ABL1、CSF3R	15.04
JAK-STAT	JAK1、JAK2、JAK3、CRLF2	11.50
WNT	FAT1	10.62
NOTCH	NOTCH2、NOTCH1、FBXW7	2.65
其他	MUM1、NPM1、CUX1、ECT2L、STXBP2、MPL、ARID1A	15.04

2. 突变基因的功能:二代测序芯片涵盖的基因主要涉及Ras/蛋白磷酸酶/有丝分裂原活化蛋白激酶通路(Ras/Protein phosphatase/MARK)、转录因子/调控(Transcription factor/regulation)、表观遗传学修饰、剪接与mRNA加工调控(Splicing and mRNA processing regulation)、JAK-STAT等信号通路^[5-7],各信号通路涉及的突变基因和发生频率见表2。27.43%的B-ALL患者Ras/Protein phosphatase/MARK信号通路基因发生突变,包括NRAS、KRAS、NF1、PTPN11、CBL1及TP53基因,主要发生在Ph阴性B-ALL患者中,占35.82%(24/67)。

11.50%的B-ALL患者JAK-STAT信号通路异常,涉及的突变基因有JAK1、JAK2、JAK3及CRLF2,主要发生在Ph阴性B-ALL患者中[Ph阳性B-ALL:6.52%(3/46);Ph阴性B-ALL:14.93%(10/67)]。而JAK基因高频突变预示较多的患者会伴有CRLF2重排^[8]。这一信号通路异常也提示Ph样ALL的可能^[9]。

表观遗传学修饰相关的基因突变率达23.01%,具体包括DNA甲基化(TET2、DNMT3A、IDH1)、组蛋白修饰(SETBP1、ASXL1、EZH2、WHSC1)、泛素化途径(CYLD)。近年比较重视的剪接与mRNA加工调控相关的基因突变,也有较高的发生率。

3. 基因突变对临床预后的影响:全组患者中位OS时间为26.28(5.59~87.00)个月,中位RFS时间为23.31(0~86.00)个月。我们分析了发生频率较高的基因突变对患者OS及RFS的影响。单因素分析结果显示:在成人B-ALL中,伴PTPN11突变的患者较不伴有PTPN11突变的患者有较好的预后,但差异无统计学意义(OS: $P=0.072$;RFS: $P=0.068$);FAT1和SF1基因突变率最高,均达10.62%,但未发现对预后有明显的影响(P 值均 >0.05)。在Ph阳性和阴性组中分析基因突变对预后的影响,发现在Ph

阴性B-ALL中,伴有JAK1或JAK2突变的患者预后较不伴突变者差,差异有统计学意义(OS: $P=0.011$,RFS: $P=0.014$;OS: $P=0.001$,RFS: $P<0.001$)(图3、4)。PTPN11基因突变率为6.19%(7/67),伴有该突变的患者较不伴该突变者有较好的OS及RFS,但差异无统计学意义(P 值均 >0.05)。

进一步分析各信号通路相关基因突变对预后的影响。在Ph阴性B-ALL中,JAK-STAT信号通路异常患者(7/61)与无异常者比较有较差的OS($P=0.002$)及RFS($P=0.003$)(图5A、5B)。Ras/Protein phosphatase/MARK信号通路相关基因(NRAS、KRAS、NF1、PTPN11、CBL、TP53、AKT1)总的突变率为27.43%,该通路相关基因突变患者与未突变患者的预后差异无统计学意义(P 值均 >0.05)。另外我们发现,在Ph阳性B-ALL患者中,表观遗传学修饰相关的信号通路异常患者(5/41)预后较无异常者差(OS: $P=0.038$;RFS: $P=0.047$)(图6A、6B)。

多因素分析结果显示,WBC(OS: $P=0.021$,HR=2.113,95%CI 1.120~3.989;RFS: $P=0.037$,HR=1.963,95%CI 1.043~3.697)在成人B-ALL中有独立预后意义。在Ph阴性B-ALL中,JAK2突变(OS: $P<0.001$,HR=9.469,95%CI 2.673~33.551;RFS: $P<0.001$,HR=11.809,95%CI 3.354~41.575)、WBC(OS: $P=0.044$,HR=2.709,95%CI 1.029~7.128;RFS: $P=0.046$,HR=2.608,95%CI 1.017~6.687)有独立预后意义。

讨 论

ALL是一种常见的血液系统恶性肿瘤,随着二代测序技术的应用,对ALL的遗传学改变有了比较深入的了解,陆续发现了一系列与疾病诊断、危险度分层、治疗相关的分子标志,如IKZF1、FLT3/ITD、NOTCH1、FBXW7、CREBBP、PHF6、

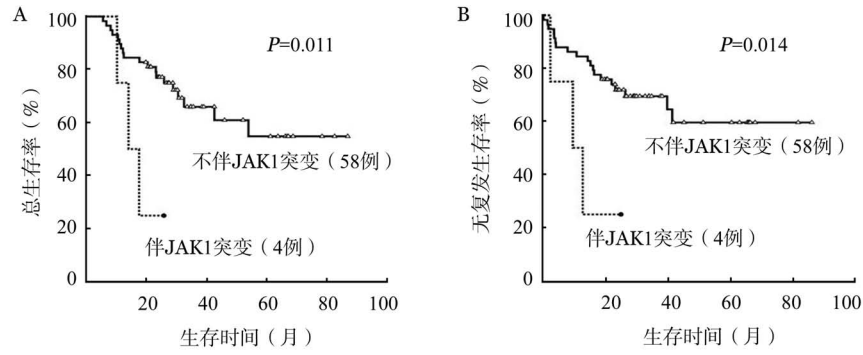


图3 伴JAK1突变的Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者总生存(A)和无复发生存曲线(B)

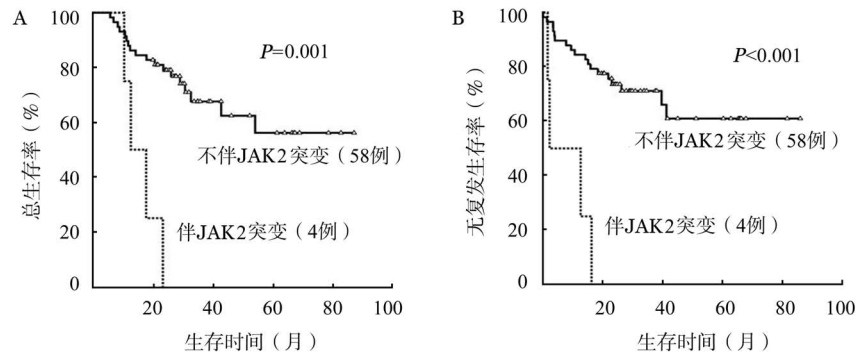


图4 伴JAK2突变的Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者总生存(A)和无复发生存曲线(B)

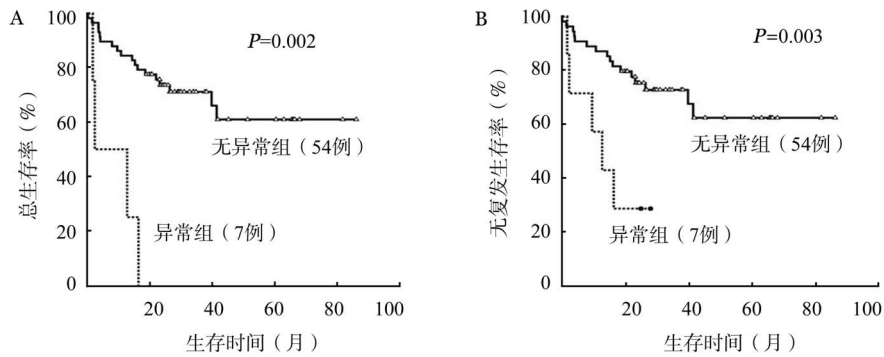


图5 JAK-STAT信号通路异常的Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者总生存(A)和无复发生存曲线(B)

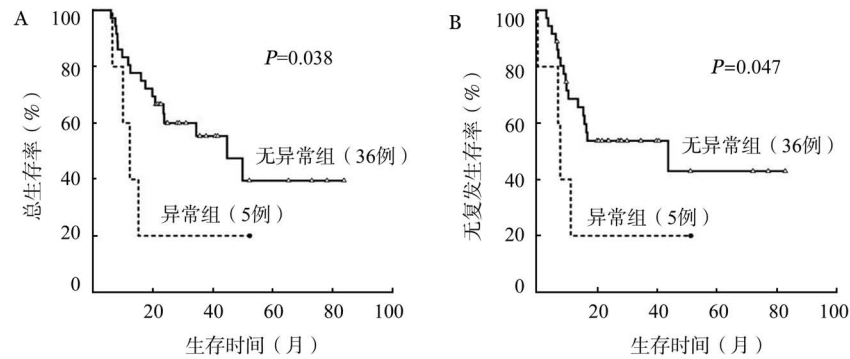


图6 表观遗传学修饰相关信号通路异常的Ph阳性急性B淋巴细胞白血病患者总生存(A)和无复发生存曲线(B)

CDKN2A、CDKN2B、CRKL、BAK1、PAX5等基因突变, CRLF2、JAK2重排等。正是基于这些发现,提

出了Ph样ALL、ETP-ALL等疾病类型, WHO2016分类将这些疾病类型定为建议分类。

采用外显子捕获测序技术,利用 Ion Torrent 半导体平台检测预先设计的血液恶性疾病相关的112种基因,此种检测方法对点突变的检测效果好,对于短的插入缺失(<8 bp)的异常亦能检测,但对长片段的插入缺失突变检测效果差。在此面板中,常以插入缺失突变为主的基因如 IKZF1、CEBPA、NPM1、CALR、FLT3-ITD,以及以重排变异为主的基因如 CRLF2、PDGFRB 等,检测效果均不理想。所有检测出的基因通过多个数据库进行筛选,进一步分析可能致病的突变基因,这些基因涉及 Ras/Protein phosphatase/MARK 通路、转录因子/调控、表观遗传学修饰、剪接与 mRNA 加工调控、JAK-STAT 等多个信号通路。共分析 113 例患者,其中 103 例(92.0%)患者发生至少 1 种基因突变,29 例患者有≥3 种基因突变;突变率较高的基因有 SF1、FAT1、MPL、PTPN11、NRAS 等。Ph 阳性 ALL 和 Ph 阴性 ALL 中基因突变特点不尽一致,Ph 阳性 B-ALL 中突变率较高的基因有 FAT1、SF1、EP300、MPL、CREBBP、UNC13D、NF1;而 Ph 阴性 B-ALL 中突变率较高的基因有 SF1、PTPN11、FAT1、NRAS、MPL、TP53、JAK2、DIS3、EZH2 及 JAK1。PTPN11、JAK1/JAK2 突变主要发生于 Ph 阴性 B-ALL 中。

JAK-STAT 信号通路一直是研究的热点,该信号通路由 JAK 家族(JAK1、JAK2、JAK3 和酪氨酸激酶 2)和 STAT 家族(STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT 6)组成^[10-11]。有研究者报道在成人 B-ALL 中 JAK1 突变率为 3.4%^[12],在儿童高危组 ALL 及唐氏综合征相关的 ALL 中 JAK2 突变率分别为 10%、20%^[13-16]。本研究中我们采用特异的二代测序技术分析,结果显示,在成人 B-ALL 中 JAK1、JAK2 突变率分别为 3.54%、4.42%;在 Ph 阴性 B-ALL 中分别为 5.97%、7.46%。数据显示,在 Ph 阴性 B-ALL 中,JAK-STAT 信号通路基因突变(如 JAK1 或 JAK2 突变)的患者预后较差;JAK2 突变在 Ph 阴性 B-ALL 中有独立预后意义,与文献报道一致。

PTPN11 基因位于染色体 12q24.1,编码 protein tyrosine phosphatase SHP-2^[17],它的突变可能通过异常的 Ras/MAPK 激酶途径介导血液肿瘤的发生、发展^[18]。既往文献报道,317 例儿童 B-ALL 中有 23 例发生 PTPN11 突变,突变率为 7.3%。Barbosa 等^[19]分析了 134 例儿童 B-ALL 患者中 PTPN11 基因突变对预后的影响,发现 PTPN11 基因突变并不改变儿童 B-ALL 的 OS 率。本组存在 PTPN11 突变的患者有

较好的预后,但差异无统计学意义,与既往报道趋势相同^[20]。

总之,我们的研究结果提示基因突变在成人 B-ALL 中存在普遍性,发生频谱因 ALL 的类型而异,涉及多种信号通路,JAK 家族突变常提示患者预后较差,突变基因之间共存现象明显。

参考文献

- [1] Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Nature*, 2007, 446(7137):758-764. DOI: 10.1038/nature05690.
- [2] Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros [J]. *Nature*, 2008, 453(7191):110-114. DOI: 10.1038/nature06866.
- [3] Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2015, 12(6):344-357. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.38.
- [4] 傅明伟, 秘营昌, 邱录贵, 等. 成人急性淋巴细胞白血病的化疗及预后因素分析 [J]. *中华血液病杂志*, 2008, 29(7): 435-440.
- [5] Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types [J]. *Nature*, 2013, 502(7471):333-339. DOI: 10.1038/nature12634.
- [6] Neumann M, Vosberg S, Schlee C, et al. Mutational spectrum of adult T-ALL [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(5):2754-2766. DOI: 10.18632/oncotarget.2218.
- [7] 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.
- [8] Maude SL, Tasián SK, Vincent T, et al. Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2012, 120(17):3510-3518. DOI: 10.1182/blood-2012-03-415448.
- [9] Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(2):153-166. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.005.
- [10] Stark GR, Darnell JE. The JAK-STAT pathway at twenty [J]. *Immunity*, 2012, 36(4): 503-514. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.03.013.
- [11] Levy DE, Darnell JE. Stats: transcriptional control and biological impact [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(9):651-662. DOI: 10.1038/nrm909.
- [12] Flex E, Petrangeli V, Stella L, et al. Somatic acquired JAK1 mutations in adult acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(4):751-758. DOI: 10.1084/jem.20072182.
- [13] Mullighan CG, Zhang J, Harvey RC, et al. JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(23):9414-9418. DOI: 10.1073/pnas.0811761106.
- [14] Bercovich D, Ganmore I, Scott LM, et al. Mutations of JAK2 in acute lymphoblastic leukaemias associated with Down's syndrome [J]. *Lancet*, 2008, 372(9648):1484-1492. DOI:

- 10.1016/S0140-6736(08)61341-0.
- [15] Kearney L, De Castro DG, Yeung J, et al. Specific JAK2 mutation (JAK2R683) and multiple gene deletions in Down syndrome acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 2009, 113 (3):646-648. DOI: 10.1182/blood-2008-08-170928.
- [16] Izraeli S. Beyond Philadelphia: 'Ph-like' B cell precursor acute lymphoblastic leukemias - diagnostic challenges and therapeutic promises [J]. Curr Opin Hematol, 2014, 21 (4):289-296. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000050.
- [17] Dechert U, Duncan AM, Bastien L, et al. Protein-tyrosine phosphatase SH-PTP2 (PTPN11) is localized to 12q24.1-24.3 [J]. Hum Genet, 1995, 96(5):609-615.
- [18] Matozaki T, Murata Y, Saito Y, et al. Protein tyrosine phosphatase SHP-2: a proto-oncogene product that promotes Ras activation [J]. Cancer Sci, 2009, 100 (10):1786-1793. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01257.x.
- [19] Barbosa TC, Andrade FG, Lopes BA, et al. Impact of mutations in FLT3, PTPN11 and RAS genes on the overall survival of pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Brazil [J]. Leuk Lymphoma, 2014, 55 (7):1501-1509. DOI: 10.3109/10428194.2013.847934.
- [20] Feng J, Li Y, Jia Y, et al. Spectrum of somatic mutations detected by targeted next-generation sequencing and their prognostic significance in adult patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. J Hematol Oncol, 2017, 10 (1):61. DOI: 10.1186/s13045-017-0431-1.

(收稿日期:2017-09-14)

(本文编辑:王叶青)

·病例报告·

慢性淋巴细胞白血合并副肿瘤天疱疮一例

王凯乐 谢亚萍 徐颖 施鹏飞 钱申贤

Paraneoplastic pemphigus associated with chronic lymphocytic leukemia: a case report

Wang Kaile, Xie Yaping, Xu Ying, Shi Pengfei, Qian Shenxian

Corresponding author: Qian Shenxian, Department of Hematology, Hangzhou First People's Hospital, Hangzhou 310006, China. Email: sxqian@hotmail.com

患者,男,35岁。因口腔黏膜溃烂5个月,全身皮肤出现皮疹及水泡1个月,于2017年5月2日入院。患者5个月前出现口腔黏膜破损伴疼痛,呈进行性加重。1个月前出现鼻黏膜及全身皮肤皮疹、水泡,伴瘙痒,破溃后糜烂伴疼痛;无发热、畏寒等,同时出现张口困难,自觉颌下有一肿块。为明确诊断来我院就诊。查体:生命体征正常,颈部双侧、腋下、腹股沟可及肿大淋巴结,触诊脾脏肿大。全身皮肤散在红色丘疹伴部分皮肤剥脱,以前胸、背部、四肢皮肤为主;结膜充血,双唇糜烂、结痂。口腔黏膜溃烂,覆盖白色分泌物,易出血;肛门外轻度糜烂。实验室检查:WBC $10.8 \times 10^9/L$,淋巴细胞占0.095,中性粒细胞占0.750,HGB 129 g/L,PLT $230 \times 10^9/L$;肌酐 $52 \mu\text{mol/L}$,白蛋白 36 g/L,ALT 26 U/L,总胆红素 $10.2 \mu\text{mol/L}$;血清天疱疮抗体(抗棘细胞桥粒抗体)滴度 1:320。PET-CT:全身多发淋巴结肿大,考虑淋巴瘤可能性大。颌下淋巴结穿刺活检及左侧腹股沟淋巴结活检:病理及免疫组化检查提示符合小淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病(SLL/CLL)。骨髓象:淋巴细胞占0.775,原始+幼稚淋巴细

胞占0.045。患者皮损处行皮肤活检:病理见局灶表皮基底上层棘层松解、裂隙及水泡形成,基底细胞液化、变性伴散在细胞坏死及较多淋巴细胞浸润。直接免疫荧光:补体C3见基底膜带阳性,IgA、IgG、IgM均阴性,符合副肿瘤天疱疮(PNP)。最终确诊为CLL合并PNP。治疗:入院后予以静注甲泼尼龙 80 mg/d 治疗2周,同时加用丙种球蛋白 5 g/d 治疗5 d,皮损未见好转,仍有新发水泡、皮疹,考虑激素及丙种球蛋白效果不佳。查阅相关资料及科内讨论后,于5月20日行R-FC方案化疗,具体为:利妥昔单抗 700 mg+氟达拉滨 50 mg(第1~3天)+环磷酰胺 0.4 g(第1~3天)。患者仍有多发口腔溃疡,全身皮疹、水泡。患者化疗后出现发热、C反应蛋白升高,予注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠、利奈唑胺抗感染;GM试验阳性,加用卡泊芬净抗真菌感染。1周抗感染治疗后,患者体温正常,炎症指标下降。颈部皮损较前稍有好转,但口腔及鼻腔黏膜糜烂仍较严重,全身仍有多处皮疹,伴瘙痒,部分皮肤糜烂。于6月12日行第2次R-FC方案化疗,用药及剂量与第1次相同,化疗后患者浅表淋巴结及脾脏较前缩小,血常规正常,提示CLL疾病稳定,但皮损无好转遂行血浆置换。行2次血浆置换后患者无新发皮疹及水泡,皮损无进展,血清天疱疮抗体滴度 1:160,较前下降,遂又行2次血浆置换,过程顺利。4次血浆置换后,患者结膜充血缓解,口腔及鼻腔黏膜溃疡范围缩小,全身皮肤原有水泡干涸结痂,颜色减退,未再有新发皮疹,复查天疱疮抗体滴度 1:80,可认为血浆置换治疗有效。予以口服泼尼松 40 mg/d,出院随访1个月,患者皮肤损害逐渐消退,口腔及鼻腔黏膜溃疡进一步好转。

(收稿日期:2017-07-27)

(本文编辑:王叶青)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.02.005

作者单位:310006 浙江中医药大学附属杭州市第一人民医院血液科

通信作者:钱申贤,Email:sxqian@hotmail.com