

- older patients with relapsed/refractory aggressive lymphoma receiving salvage chemotherapy and autologous stem cell transplantation are similar to younger patients: a subgroup analysis from the phase III CCTG LY.12 trial [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(3):622-627. DOI: 10.1093/annonc/mdw653.
- [8] Sun L, Li S, El-Jawahri A, et al. Autologous stem cell transplantation in elderly lymphoma patients in their 70s: outcomes and analysis [J]. *Oncologist*, 2018, 23(5):624-630. DOI: 10.1634/theoncologist.2017-0499.
- [9] Musto P, Simeon V, Grossi A, et al. Predicting poor peripheral blood stem cell collection in patients with multiple myeloma receiving pre-transplant induction therapy with novel agents and mobilized with cyclophosphamide plus granulocyte-colony stimulating factor: results from a Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto Multiple Myeloma Working Party study [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6:64. DOI: 10.1186/s13287-015-0033-1.
- [10] Dahi PB, Tamari R, Devlin SM, et al. Favorable outcomes in elderly patients undergoing high-dose therapy and autologous stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(12):2004-2009. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.08.019.
- [11] Hermet E, Cabrespine A, Guièze R, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in elderly patients (≥ 70 years) with non-Hodgkin's lymphoma: A French Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy retrospective study [J]. *J Geriatr Oncol*, 2015, 6(5):346-352. DOI: 10.1016/j.jgo.2015.04.005.
- [12] Belete H, Burns LJ, Shanley R, et al. Transplantation related toxicity and mortality in older autologous hematopoietic cell transplantation recipients [J]. *Am J Hematol*, 2017, 92(9): E529-E533. DOI: 10.1002/ajh.24814.
- [13] Ellin F, Jerkeman M, Törnqvist J, et al. Impact of comorbidity on survival in peripheral T-cell lymphomas: A Swedish Lymphoma Registry study [J]. *Hematol Oncol*, 2018, 36(1):159-165. DOI: 10.1002/hon.2428.
- [14] Berro M, Arbelbide JA, Rivas MM, et al. Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index predicts morbidity and mortality in autologous stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(10):1646-1650. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.06.014.

(收稿日期:2018-05-14)

(本文编辑:徐茂强)

伴t(8;17)(p11;q24)易位8p11骨髓增殖综合征一例报告及其受累基因的克隆

张修文 陈梅玉 晁红颖 刘洁 陈苏宁 张日 周民 卢绪章 王谦

Clinical and molecular features of one case of 8p11 myeloproliferative syndrome with t(8;17)(p11; q24)

Zhang Xiuwen, Chen Meiyu, Chao Hongying, Liu Jie, Chen Suning, Zhang Ri, Zhou Min, Lu Xuzhang, Wang Qian

Corresponding author: Chao Hongying, Department of Hematology, Affiliated Changzhou Second Hospital of NanJing Medical University, Changzhou 213003, China. Email: chaohy2006@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.12.014

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81500103);江苏省自然科学基金面上项目(BK-20151230);常州市高层次卫生人才培养工程(2016CZLJ027)

作者单位:213003 常州,南京医科大学附属常州市第二人民医院血液科(张修文、刘洁、晁红颖、卢绪章);苏州大学附属第一医院血液科(陈苏宁、张日、王谦);常州市第三人民医院(周民)

通信作者:晁红颖,Email:chaohy2006@126.com

伴FGFR1异常的髓系和淋巴系肿瘤又称8p11骨髓增殖综合征(EMS),是一种罕见的侵袭性血液肿瘤,其致病机制主要为定位于染色体8p11的FGFR1基因发生断裂重排,与不同的对手基因形成融合,最终导致FGFR1的酪氨酸激酶异常激活,从而使正常造血细胞发生恶性转化^[1]。2008年,8p11/FGFR1重排被作为特异性分类标志纳入WHO髓系与淋巴组织肿瘤分型。目前,国内外报道的FGFR1对手基因共有15种,最常见的为位于13q12的ZNF198,而MYO18A非常罕见,国内尚未检索到文献报道,国外仅报道1例,且无分子克隆研究^[2]。现我们报告1例t(8;17)(p11;q23)/MYO18A-FGFR1阳性EMS患者,并对其受累基因进行全长克隆及鉴定。

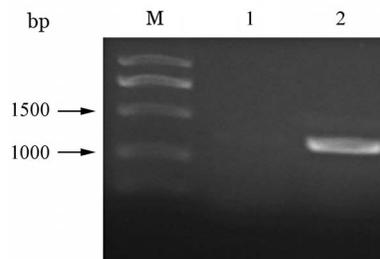
病例资料

患者,男,52岁。2015年7月因乏力不适至当地医院查血常规示WBC $62.0 \times 10^9/L$ 、HGB 13.9 g/L、PLT $411 \times 10^9/L$ 。

后多次复查血常规均提示白细胞明显升高,遂就诊于我院。查体:浅表淋巴结未触及肿大;扁桃体无肿大;胸骨无明显压痛,肝肋缘下未及,脾肋缘下3横指,质地中等。骨髓象:增生明显活跃,粒系占0.670,形态大致正常,嗜酸性粒细胞8%,嗜碱性粒细胞4%;红系占0.210,比例及形态大致正常,淋巴细胞占0.075,全片巨核细胞>100个,血小板大、中、小簇均可见。染色体核型:t(8;17)(p11;q24)。多重PCR未检测到29种常见白血病融合基因;FISH示FGFR1基因重排阳性。二代测序联合DNA-PCR未检测到常见51种肿瘤基因突变;转录组测序提示t(8;17)(p11;q23)相应受累基因分别为位于8p11上的FGFR1及位于17q24上的MYO18A;应用MYO18A及FGFR1特异性引物(上游引物:5'-AGATAGTGAGGAGAGTCACGC-3',下游引物:5'-GTTGTAGCAGTATCCAGCCC-3')进行RT-PCR扩增,可见一清晰条带,经测序证实为MYO18A-FGFR1融合基因产物(图1),其断裂位点分别位于MYO18A的31号外显子和FGFR1的10号外显子(图2)。综合临床表现及实验室检查,按照2008年WHO髓系与淋巴系肿瘤分型标准,诊断为“考虑伴有FGFR1重排EMS”。患者拒绝静脉化疗,予干扰素皮下注射(300万U,每周3次),并根据白细胞水平不规律口服羟基脲,WBC(5~11)×10⁹/L,但脾脏回缩不明显。2016年9月出现间断齿龈出血,复查骨髓象后诊断为“急性淋巴细胞白血病”。予以VP方案(长春地辛+泼尼松)诱导化疗,化疗结束2周复查骨髓未缓解。患者因病程中出现肺部感染,未再进一步诱导,于白血病转化3个月后死于疾病进展。

为进一步研究MYO18A-FGFR1融合基因功能,我们以患者cDNA为模板,用含有重叠序列的8对引物(表1),通过KOD高保真酶(日本TOYOBO公司产品)进行全长扩增,得到的8个片段共同为模板,得到的产物在15 g/L的琼脂糖上进行电泳,观察到330、828、1 121、1 245、1 223、1 184、826和

596 bp的目的片段(图3),与预期的片段大小一致。以8个片段的混合物为模板,以最外侧引物进行PCR扩增,产物在15 g/L琼脂糖凝胶上观察得到6 006 bp的目的条带(图4),



M: DNA Marker; 1: 正常阴性对照; 2: MYO18A-FGFR1融合基因特异性产物(1 048 bp)

图1 RT-PCR检测MYO18A-FGFR1融合基因

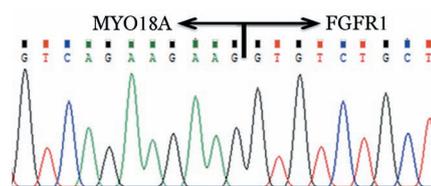
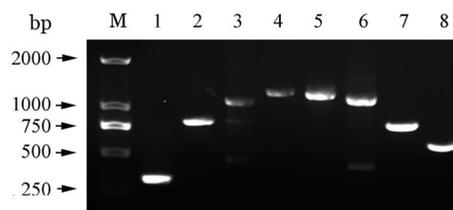


图2 测序证实MYO18A和FGFR1的融合位点分别位于MYO18A的31号外显子及FGFR1的10号外显子

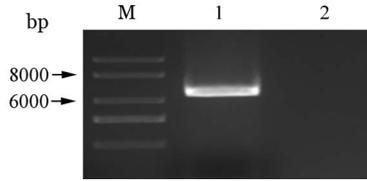


M: DNA Marker; 1~8为分别为引物F1R1、F2R2、F3R3、F4R4、F5R5、F6R6、F7R7、F8R8扩增产物

图3 重叠PCR扩增后电泳结果

表1 MYO18A-FGFR1融合基因分段扩增引物的碱基位置、序列、退火温度及片段大小

引物名称(碱基位置)	序列(5'→3')	退火温度(°C)	片段大小(bp)
F1(1)	上游引物: ATGTTTAACCTAATGAAGAAAGACAAGGACA	60	330
R1(330)	下游引物: CTCCTCACCCCTTGAGGTCATCG	59	
F2(225)	上游引物: CCTGCACCTGACTGACATTGACT	60	828
R2(1052)	下游引物: TTCTCCGTCTCATTCCAGGCCCTC	61	
F3(918)	上游引物: GGTGCAGCCCATCCAGAG	59	1 121
R3(2038)	下游引物: CTTTGGTGGCTCCCGCA	59	
F4(1835)	上游引物: AGCTCCACCTCAACCCTTGG	60	1 245
R4(3079)	下游引物: GCTTCATCTGGATGCACAGTGACT	60	
F5(2904)	上游引物: AATCATCAGCAACCTGTTTCTGGG	59	1 223
R5(4126)	下游引物: CATACTTCAGCCGCCACTCG	59	
F6(4028)	上游引物: TGGAATGGAGGTGATGGAGGC	60	1 184
R6(5211)	下游引物: ATACAAGGGACCATCCTGCGTG	60	
F7(4766)	上游引物: AGATGGAGAGTCGGGATGAGGAG	60	826
R7(5591)	下游引物: GACCACACATCACTCTGGTGGG	60	
F8(5411)	上游引物: CAGCCAGGAATGTCCTGGTGA	60	596
R8(6006)	下游引物: TCAGCGGCGTTTGAGTCC	59	



M: DNA Marker; 1: 外侧引物扩增的 MYO18A-FGFR1 全长融合基因特异性产物(6 006 bp); 2: 对照

图4 MYO18A-FGFR1 全长融合基因特异性产物

TA 克隆并克隆测序分析该融合基因保留了 MYO18A 的 PDZ 结构域和 FGFR1 的酪氨酸激酶结构域(图5)。

讨论及文献复习

EMS 是一种罕见的、具有高的白血病转化率的侵袭性血液肿瘤,平均白血病转化时间仅为4.2个月^[1],可见于任何年龄。常见临床表现包括乏力(35%)、盗汗(28%)、消瘦(18%)及发热(13%),分别有48%、15%的患者伴随全身淋巴结、局部淋巴结肿大,但纵隔淋巴结肿大并不常见;分别有58%、32%的患者伴有脾肿大、肝肿大,约28%的患者同时伴有肝脾肿大;主要实验室特征为:白细胞计数明显增高、骨髓中髓系高度增生、嗜酸细胞增多等^[1]。

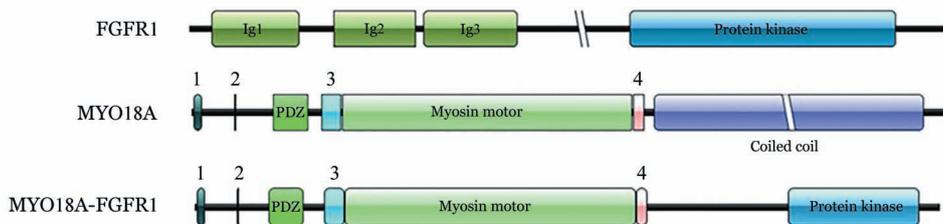
不同的 FGFR1 对手基因致 EMS 的临床表现不同,如伴 t(8;13)(p11;q12)/ZNF198-FGFR1 阳性患者常表现为淋巴结肿大和 T 淋巴母细胞淋巴瘤^[7]; 伴 t(8;22)(p11;q11)/BCR-FGFR1 阳性患者常呈现出白细胞增多、中性粒细胞增多、嗜碱性粒细胞增多等慢性髓性白血病(CML)样表现^[3]; 伴 t(8;9)(p11;q34)/CEP110-FGFR1 阳性患者则常表现为皮疹、扁桃腺肿大及单核细胞增多等^[8]。 伴 t(8;17)(p11;q23)/MYO18A-FGFR1 阳性的 EMS 患者目前国内外仅检索到1例文献报道,该患者为74岁老年女性,有类似 CML 病史两年,主要临床表现为反复发热、盗汗及3个月内体重减轻5 kg,骨髓形态学提示单核细胞、嗜酸细胞及嗜碱细胞增多^[2]。 本例患者慢性期病史1年,临床表现与既往报道类似,并在诊断1年后转化为急性淋巴细胞白血病。

既往研究显示,EMS 的发病与 FGFR1 基因密切相关。FGFR1 基因编码的相关蛋白是受体酪氨酸激酶家族成员之一,有3个免疫球蛋白样结构域,一个跨膜区和一个胞内酪氨酸激酶结构域,在非激活状态时以单体形式存在^[9]。当

FGFR1 蛋白胞外受体与相应配体结合后可发生构象变化并诱发二聚化,从而激活下游信号传导途径,在调节细胞增殖、凋亡、迁移和细胞表型转化等方面发挥重要作用^[10]。当 FGFR1 基因发生断裂重排时,保留胞内的酪氨酸激酶结构域,并与伙伴基因(如 ZNF198)相互易位形成新的融合基因,干扰了 FGFR1 正常功能并使伙伴基因的正常功能丧失^[11]。将 FGFR1 相关融合基因如 ZNF198-FGFR1 转染至 Ba/F3 细胞后,该细胞产生 IL-3 非依赖性生长,并使小鼠移植模型产生 EMS 临床表型^[12]。

MYO18A 基因定位于染色体 17q24,约 109 kb,其 N 段有 PDZ 结构域,该结构域能使蛋白之间相互作用,C 段富含 Coiled coil 结构域,可介导蛋白间的相互作用,参与细胞的多项重要生命活动^[13]。既往研究表明,MYO18A 基因有多种剪切形式,在多种组织中广泛表达。MYO18A 可与高尔基体分泌面膜上的 GOLPH3 结合,从而形成 MYO18A/GOLPH3 复合物,该复合物可促进高尔基体分泌面膜上分泌的液泡向细胞膜的转运,有证据表明 MYO18A/GOLPH3 复合物可增加细胞对 DNA 损伤的修复作用^[14]。最近研究显示,MYO18A 可通过结合高尔基体分泌面膜上的 GOLPH3 促进肿瘤的发生^[15]。以上研究发为肿瘤靶向治疗提供了新的分子靶点。本研究对 MYO18A-FGFR1 融合基因进行全长克隆及结构分析发现,MYO18A 保留了 PDZ 结构域,FGFR1 保留了酪氨酸激酶结构域,但二者之间的交互性作用机制尚在进一步研究中。近年来,高通量 DNA 深度测序已开始应用于血液肿瘤的多基因检测,但因 EMS 发病率低,关于 FGFR1 以外的协同基因事件尚未见大宗病例报道。Strati 等^[16]对 7 例伴 FGFR1 重排阳性的 EMS 患者进行深测序发现,78%(5/7)的患者携带 RUNX1 基因点突变,是最常见的伴随基因突变,但该组病例中无 MYO18A-FGFR1 阳性患者。本研究综合检测常见 51 种肿瘤基因突变均阴性,未见伴随基因事件。

目前,EMS 尚无有效、统一的治疗方案,针对 FGFR1 的酪氨酸激酶抑制剂是目前研究的热点。Chase 等^[17]报道酪氨酸激酶抑制剂 TKI258,通过抑制融合基因 FGFR1 激酶和下游通路活性,有效抑制转染 ZNF198-FGFR1 和 BCR-FGFR1 的 Ba/F3 细胞增殖、也可抑制 FGFR1OP2-FGFR1 阳性的 EMS 细胞株 KG-1 的增殖和生长并促进其凋亡。Landberg 等^[18]对伴有 BCR/FGF1 阳性的 EMS 患者原代细胞进行药物



1: lys-rich; 2: Interactin with actin; 3: SH3-like; 4: IQ

图5 经克隆测序及比对分析的 MYO18A-FGFR1 融合蛋白结构示意图

抑制性研究,结果显示,ponatinib、TKI258及dasatinib均显示出较好的抑制效应。Verstovsek等^[19]报道了1例伴CEP110-FGFR1阳性50岁男性患者,在口服FGFR1酪氨酸激酶抑制剂INCB054828后达完全分子学缓解,且耐受性良好。我们既往研究显示,小分子酪氨酸激酶抑制剂BGJ398能有效抑制伴FGFR1OP2-FGFR1阳性的KG-1细胞增殖并诱导其凋亡,抑制FGFR1蛋白表达并下调Bcl-2水平^[20],但尚无EMS患者的临床用药报道。异基因造血干细胞移植仍是目前唯一有潜在治愈可能的治疗手段。

总之,t(8;17)(p11;q24)阳性的EMS患者同样具有侵袭性临床过程,其相关融合基因MYO18A-FGFR1在EMS中非常罕见,基因克隆分析保留了MYO18A及FGFR1主要功能域,其临床表现类似CML,易被误诊误治,应及时行分子遗传学检测以便尽早诊断。

参考文献

- [1] Jackson CC, Medeiros LJ, Miranda RN. 8p11 myeloproliferative syndrome: a review [J]. Hum Pathol, 2010, 41 (4):461-476. DOI: 10.1016/j.humpath.2009.11.003.
- [2] Walz C, Chase A, Schoch C, et al. The t(8;17)(p11;q23) in the 8p11 myeloproliferative syndrome fuses MYO18A to FGFR1 [J]. Leukemia, 2005, 19 (6): 1005-1009. DOI: 10.1038/sj.leu.2403712.
- [3] 晁红颖,陈苏宁,张日,等. 伴FGFR1重排骨髓增殖性肿瘤一例报告并文献复习[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(10): 951-953. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.10.018.
- [4] 李志刚,吴敏媛,赵玮,等. 多重RT-PCR方法同时检测29种白血病融合基因[J]. 中华血液学杂志, 2003, 24(5): 256-258. DOI: 10.3760/j.issn:0253-2727.2003.05.010.
- [5] 周峰,何金媛,章艳,等. 伴MYST3-CREBBP融合基因阳性的继发性白血病一例并文献复习[J]. 白血病·淋巴瘤, 2017, 26(10):623-625. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2017.10.011.
- [6] 周峰,陈苏宁,晁红颖,等. 伴ins(13;8)(q12;p11p23)8p11骨髓增殖综合征一例报告及其受累基因的研究[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(4): 291-296. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.04.006.
- [7] Matsumoto K, Morita K, Takada S, et al. A chronic myelogenous leukemia-like myeloproliferative disorder accompanied by T-cell lymphoblastic lymphoma with chromosome translocation t(8;13)(p11;q12): a Japanese case [J]. Int J Hematol, 1999, 70(4):278-282.
- [8] 晁红颖,陈苏宁,周民,等. 伴CEP110-FGFR1融合基因阳性的8p11骨髓增殖综合征一例[J]. 中华医学遗传学杂志, 2015, 32(5): 679-682. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2015.05.015.
- [9] Katoh M, Nakagama H. FGF receptors: cancer biology and therapeutics [J]. Med Res Rev, 2014, 34(2): 280-300. DOI: 10.1002/med.21288.
- [10] Macdonald D, Reiter A, Cross NC. The 8p11 myeloproliferative syndrome: a distinct clinical entity caused by constitutive activation of FGFR1 [J]. Acta Haematol, 2002, 107(2):101-107. DOI: 10.1159/000046639.
- [11] Xiao S, McCarthy JG, Aster JC, et al. ZNF198-FGFR1 transforming activity depends on a novel proline-rich ZNF198 oligomerization domain [J]. Blood, 2000, 96(2):699-704.
- [12] Chen J, Deangelo DJ, Kutok JL, et al. PKC412 inhibits the zinc finger 198-fibroblast growth factor receptor 1 fusion tyrosine kinase and is active in treatment of stem cell myeloproliferative disorder [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(40):14479-14484. DOI: 10.1073/pnas.0404438101.
- [13] Buschman MD, Field SJ. MYO18A: An unusual myosin [J]. Adv Biol Regul, 2018, 67: 84-92. DOI: 10.1016/j.jbior.2017.09.005.
- [14] Farber-Katz SE, Dippold HC, Buschman MD, et al. DNA damage triggers Golgi dispersal via DNA-PK and GOLPH3 [J]. Cell, 2014, 156(3):413-427. DOI: 10.1016/j.cell.2013.12.023.
- [15] Makowska KA, Hughes RE, White KJ, et al. Specific myosins control actin organization, cell morphology, and migration in prostate cancer cells [J]. Cell Rep, 2015, 13(10):2118-2125. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.11.012.
- [16] Strati P, Tang G, Duose DY, et al. Myeloid/lymphoid neoplasms with FGFR1 rearrangement [J]. Leuk Lymphoma, 2017, 9: 1-5. DOI: 10.1080/10428194.2017.1397663.
- [17] Chase A, Grand FH, Cross NC. Activity of TKI258 against primary cells and cell lines with FGFR1 fusion genes associated with the 8p11 myeloproliferative syndrome [J]. Blood, 2007, 110: 3729-3734. DOI: 10.1182/blood-2007-02-074286.
- [18] Landberg N, Dreimane A, Rissler M, et al. Primary cells in BCR/FGFR1-positive 8p11 myeloproliferative syndrome are sensitive to dovitinib, ponatinib, and dasatinib [J]. Eur J Haematol, 2017, 99(5): 442-448. DOI: 10.1111/ejh.12957.
- [19] Verstovsek S, Subbiah V, Masarova L, et al. Treatment of the myeloid/lymphoid neoplasm with FGFR1 rearrangement with FGFR1 inhibitor [J]. Ann Oncol, 2018, 29(8):1880-1882. DOI: 10.1093/annonc/mdy173.
- [20] 姜玉,晁红颖,张修文,等. 新酪氨酸激酶抑制剂BGJ398对白血病细胞株KG-1细胞的抑制效应研究[J]. 中华血液学杂志, 2018, 39(2): 143-147. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.02.013.

(收稿日期:2018-04-25)

(本文编辑:徐茂强)