

多重实时荧光定量PCR法筛查成人Ph样急性淋巴细胞白血病

徐梅珍 房秋云 弓晓媛 冯娟 贾玉娇 李庆华 刘凯奇
赵邢力 汝昆 田征 唐克晶 王敏 王建祥 秘营昌

【摘要】 目的 探讨多重实时荧光定量PCR法早期、快速筛查Ph样急性淋巴细胞白血病(ALL)的可行性,了解Ph样ALL的临床特征及预后。方法 2010年10月至2016年3月收治的118例初诊成人B-ALL患者纳入研究,利用多重实时荧光定量PCR法检测其中58例BCR-ABL融合基因和MLL重排均阴性患者Ph样相关融合基因及细胞因子受体样因子2(CRLF2)表达情况。比较分析Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达患者的临床特征、疗效和预后。结果 检出Ph样融合基因阳性患者9例(9/58, 15.5%),CRLF2高表达患者10例(10/58, 17.2%)。Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达组、Ph阳性组、MLL重排阳性组以及其他患者组在年龄、WBC、免疫分型、细胞遗传学、危险度分组方面差异有统计学意义(P 值均 <0.01)。四组患者的2年总生存率分别为65%、47%、64%、74%($P=0.043$),2年无复发生存率分别为51%、39%、62%、70%($P=0.010$)。结论 采用多重实时荧光定量PCR法筛查Ph样ALL患者可行,Ph样ALL患者预后较差。

【关键词】 白血病,B细胞,Ph样; 基因,CRLF2; 多重实时荧光定量PCR

基金项目:国家科技支撑计划(2014BAI09B12);天津市应用基础及前沿技术研究计划(15JCZD-JC36400);天津市血液病临床医学研究中心(15ZXLCSY00010)

Screening of adult Ph-like acute lymphoblastic leukemia by multiplex real-time quantitative PCR
Xu Meizhen, Fang Qiuyun, Gong Xiaoyuan, Feng Juan, Jia Yujiao, Li Qinghua, Liu Kaiqi, Zhao Xingli, Ru Kun, Tian Zheng, Tang Kejing, Wang Min, Wang Jianxiang, Mi Yingchang. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Mi Yingchang, Email: miyingch@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the feasibility of multiplex real-time RT-PCR with fluorescent probes in early screening of Ph-like acute lymphoblastic leukemia (ALL) and analyze the clinical feature and prognosis. **Method** A total of 118 adult B-ALL patients diagnosed between October 2010 and March 2016 were enrolled in this study. Multiplex RT-PCR was used to detect the Ph-like ALL related fusion gene and CRLF2 expression in 58 BCR-ABL and MLL rearrangement negative patients. The clinical features, treatment response and prognosis were analyzed in Ph-like fusion gene positive and/or CRLF2 over-expression patients. **Result** Among 58 patients, 9 patients (9/58, 15.5%) showed Ph-like ALL related fusion genes positive and 10 patients (10/58, 17.2%) showed CRLF2 over-expression. There were statistical differences in age, WBC count, immunophenotypes, cytogenetics and risk stratification among Ph-like fusion gene positive or CRLF2 over-expression patients, Ph⁺ patients, MLL⁺ patients and B-other patients. The 2-year overall survival rates were 65%, 47%, 64% and 74% respectively among these four groups ($P=0.043$). The 2-year relapse free survival rates were 51%, 39%, 62% and 70% respectively among these four groups ($P=0.010$). **Conclusion** Routine screening of Ph-like ALL by multiplex RT-PCR is feasible.

【Key words】 Leukemia, B-cell, Ph-like; Gene, CRLF2; Multiplex RT-PCR

Fund program: National Science & Technology Pillar Program during the Twelfth Five-year Plan Period (2014BAI09B12); Tianjin Research Program of Application Foundation and Advanced Technology

(15JCZDJC36400); Tianjin Clinical Research Center for Blood Diseases (15ZXLCSY00010)

急性淋巴细胞白血病(ALL)占成人急性白血病的20%~30%,其中B-ALL占70%~80%,T-ALL占20%~25%^[1]。ALL是一种高度异质性的疾病,预后主要与年龄、初诊时WBC、疾病亚型(免疫分型)、细胞遗传学/分子学特征、诱导治疗达完全缓解(CR)时间和微小残留病(MRD)水平等因素有关。成人ALL的预后明显差于儿童ALL,这一方面和治疗方案、治疗依从性等因素有关,更重要的是成人ALL和儿童ALL在生物学特征上有差异,尤其是在遗传学(包括细胞遗传学和分子遗传学)特征上有差异。儿童ALL中预后较好的遗传学异常,如超二体、t(12;21)发生率显著高于成人ALL,而成人ALL中预后较差的Ph染色体阳性、亚二体等的发生率较高^[2]。随着二代测序技术的应用,越来越多独特的疾病亚型被发现。

2009年Den等^[3]在儿童ALL中提出Ph样ALL(Ph-like ALL)的概念,指部分Ph阴性B-ALL患者具有和Ph阳性ALL相似的基因表达谱;发生率15%~19%不等,与较高的复发率和较短的无病生存期相关。WHO 2016前体淋巴细胞肿瘤分类将其列为B-ALL的一个建议分类,但是Ph样ALL的诊断多依赖于基因组学分析,缺乏简捷、认可度高的诊断方法^[4]。

为早期、快速诊断Ph样ALL,本研究采用PCR结合实时多重荧光探针技术,对Ph阴性且MLL重排阴性的初诊成人ALL患者骨髓标本进行Ph样相关融合基因定性检测,并检测了细胞因子受体样因子2(CRLF2)基因高表达情况,以期了解Ph样ALL的临床特征及预后,并指导临床药物的选择。

病例与方法

1. 研究对象:2010年10月至2016年3月在我院白血病诊疗中心确诊并治疗的118例初诊成人B-ALL患者,其中包括Ph和(或)BCR-ABL融合基因阳性(Ph阳性)患者48例,MLL重排阳性(MLL⁺)患者12例,BCR-ABL融合基因和MLL重排均阴性患者58例。ALL患者诊断采用形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学(MICM)诊断模式,分型采用WHO 2008年关于急性白血病的分型标准。预后分组参考Gökbuget等^[5]关于成人ALL危险度分组标准。

2. 治疗方案:Ph阳性患者诱导化疗采用VDCP(长春新碱+柔红霉素+环磷酰胺+泼尼松)方案。非Ph阳性患者诱导化疗采用VDCLP(长春新碱+柔红霉素+环磷酰胺+泼尼松+左旋门冬酰胺酶)方案^[6]。达CR后给予CAM(环磷酰胺+阿糖胞苷+6-巯嘌呤)、大剂量甲氨蝶呤(MTX)等方案序贯巩固治疗,Ph阳性患者治疗期间联合酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。有移植意愿的高危组患者根据有无合适供者进行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)或自体造血干细胞移植(auto-HSCT)。其他患者继续完成再诱导、晚期巩固和维持治疗。

3. 多重实时荧光定量PCR法检测Ph样ALL相关融合基因:58例BCR-ABL融合基因、MLL重排均阴性B-ALL患者初诊时留取骨髓标本并分离单个核细胞,TRIzol法提取细胞总RNA,合成cDNA。

采用上海源奇生物科技有限公司生产的Ph样ALL相关融合基因检测试剂盒对cDNA进行定性检测。产品由白血病相应融合基因特异性引物、荧光探针以及Taq酶等成分组成,采用核酸扩增技术结合荧光标记探针杂交技术,通过荧光信号的变化,定性检测骨髓标本中Ph样ALL相关融合基因。反应液融合基因的Ct值 ≤ 33 判定为融合基因阳性,Ct值 ≥ 35 判定为融合基因阴性,Ct值 $> 33 \sim < 35$ 需重新进行检测。CRLF2高表达的判定标准:CRLF2-ABL的 ΔCt 值 ≤ 5 。

试剂盒检测的融合基因包括:ETV6-ABL1、ZMIZ1-ABL1、NUP214-ABL1、RCS1-ABL1、RANBP2-ABL1、SNX2-ABL1、ZC3H4V1-ABL2、PAG1-ABL2、RCS1-ABL2、ETV6-JAK2、SSBP2-JAK2、PAX5-JAK2、TPR-JAK2、ATF71P-JAK2、PPFIBP1-JAK2、STRN3-JAK2、TERF2-JAK2、BCR-JAK2、EBF1-JAK2、SSBP2-PDGFRB、ZEB2-PDGFRB、EBF1-PDGFRB、TNIPI-PDGFRB、MYH9-IL2RB、SSBP2-CSF1R、ETV6-NTRK3、MYB-TYK,以及CRLF2基因表达水平,内参基因为ABL。

对Ph样融合基因初筛阳性的样本进行验证,利用Primer Premier 5软件在融合基因断裂点两端设计引物,取患者cDNA进行PCR扩增,10 g/L琼脂糖凝胶电泳,胶回收目的产物送Invitrogen公司测序。

4. 随访:采用电话联系方式随访,所有患者随访至2016年11月30日或至失访日期、死亡日期。

中位随访时间为21(6~75)个月,失访率为5.9%(7/118)。总生存(OS)期指自诊断到死亡或末次随访日期。无复发生存(RFS)期指自治疗后第1次CR到第1次复发或缓解期死亡或末次随访日期。

5. 统计学处理:所有统计学处理均采用SPSS21.0软件完成。计量资料以中位数表示,采用秩和检验分析;计数资料采用卡方检验,生存曲线采用Kaplan-Meier法和寿命表法分析,并进行Log-rank检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Ph样融合基因初筛阳性患者的特征:利用多重实时荧光定量PCR法对58例BCR-ABL融合基因阴性且MLL重排阴性患者进行Ph样融合基因定性检测,共检出阳性患者9例(15.5%)(表1),患者的中位年龄25(16~56)岁。其中PAX5-JAK2融合基因阳性4例,SSBP2-JAK2融合基因阳性3例,RCSD1-ABL1融合基因阳性1例,EBF1-PDGFRB融合基因阳性1例。免疫表型分型:普通型B-ALL 7例,前B-ALL 1例,早期前B-ALL 1例。染色体核型:正常核型3例,复杂染色体核型2例,超二倍体1例。3例患者伴特殊基因突变阳性,其中1例为FLT3-ITD突变阳性,1例为KRAS、CSF3R突变阳性,1例为JAK2、MPL突变阳性。融合基因阴性的患者中,6例(12.2%)患者检测到CRLF2基因高表达。

2. Ph样融合基因初筛阳性样本的鉴定:为证明初筛阳性患者的Ph样融合基因确实存在,我们对其中一例EBF1-PDGFRB阳性样本进行PCR产物测序鉴定。根据文献报道EBF1-PDGFRB融合基因由EBF1的15号外显子与PDGFRB的11号外显子融合形成^[7]。我们在断裂点两端设计引物,上游引物

(EBF1 exon14):5'-ACCTTCCTCAACGGCTCA-3',下游引物(PDGFRB exon12):5'-GGGTCCACGTA-GATGTACTCAT-3'。PCR鉴定及测序结果见图1,扩增片段为407 bp,胶回收产物测序显示目的片段为EBF1的15号外显子与PDGFRB的11号外显子融合形成。

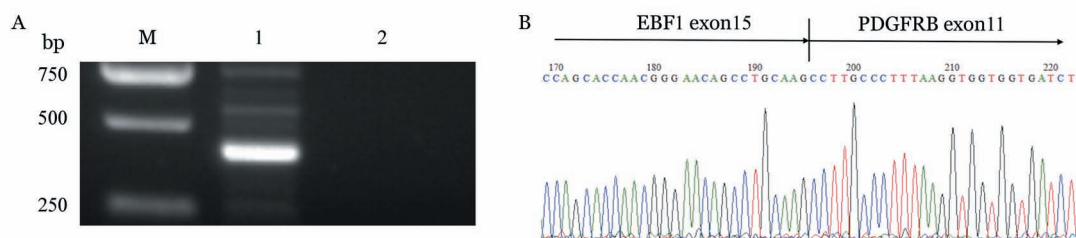
3. 不同组别患者的临床特征和治疗反应比较:118例患者中位年龄为29(15~65)岁, ≤ 35 岁74例(62.7%), > 35 岁44例(37.3%);男74例(62.7%),女44例(37.3%)。初诊时中位WBC为31.37(0.91~552.91) $\times 10^9/L$,WBC $\leq 30 \times 10^9/L$ 57例(48.3%),WBC $> 30 \times 10^9/L$ 61例(51.7%)。普通型B-ALL 81例(68.6%),前B-ALL 22例(18.6%),早期前B-ALL 15例(12.7%)。113例(95.8%)1个疗程诱导治疗后达CR,45例(38.1%)行HSCT,其中auto-HSCT 5例,allo-HSCT 40例。治疗随访过程中复发41例(34.7%)。

我们将患者分为4组:Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达组15例,Ph阳性组48例,MLL重排阳性组12例,其他患者43例。四组患者的年龄、WBC、免疫分型、细胞遗传学、危险度分组差异均有统计学意义(P 值均 < 0.01);单独比较Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达组和其他患者组临床特征,差异未见统计学意义(整体特征接近非Ph阳性、非MLL阳性的其他患者组)(表2)。

4. Ph样融合基因阳性、CRLF2高表达对成人ALL生存的影响:生存分析结果见图2。Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达组、Ph阳性组、MLL重排阳性组、其他患者组的2年OS率分别为65%、47%、64%、74%($P = 0.016$),2年RFS率分别为51%、39%、62%、70%($P < 0.01$)。

表1 9例Ph样急性淋巴细胞白血病(ALL)患者的特征

| 例号 | Ph样融合基因 | 年龄(岁) | WBC($\times 10^9/L$) | 免疫表型 | 染色体核型 | 特殊基因突变 |
|----|-------------|-------|------------------------|----------|--|------------|
| 1 | PAX5-JAK2 | 25 | 2.5 | 普通型B-ALL | 56,XY,+5,+6,+8,+10,+12,+17,+18,+21,+mar[4]/46,XY[16] | 无 |
| 2 | PAX5-JAK2 | 21 | 25.3 | 普通型B-ALL | 46,XX[20] | FIL3-ITD |
| 3 | PAX5-JAK2 | 16 | 2.0 | 普通型B-ALL | 未测 | 无 |
| 4 | PAX5-JAK2 | 16 | 41.7 | 普通型B-ALL | 45,XY,-?8,18,+mar[CP11]/46,XY[15] | KRAS、CSF3R |
| 5 | RCSD1-ABL1 | 32 | 83.0 | 普通型B-ALL | 46,XY,?del(20)(q11)[5]/46,XY[15] | JAK2、MPL |
| 6 | SSBP1-JAK2 | 18 | 6.1 | 普通型B-ALL | 46,XX[9] | 无 |
| 7 | SSBP1-JAK2 | 56 | 8.0 | 早期前B-ALL | 46,XY[1] | 无 |
| 8 | EBF1-PDGFRB | 30 | 358.8 | 前B-ALL | 48,XX,+?5,+8[6] | 无 |
| 9 | SSBP1-JAK2 | 37 | 2.6 | 普通型B-ALL | 46,XY,der(9),?del(21)(q21),inc[17]/46,XY[3] | 无 |



M:DL2 000 DNA Marker; 1:EBF1-PDGFRB 融合基因阳性样本; 2:阴性对照

图1 EBF1-PDGFRB 融合基因PCR 鉴定(A)和测序(B)结果

表2 四组急性淋巴细胞白血病(ALL)患者的临床特征和疗效比较[例(%)]

| 特征 | Ph样融合基因(+)和(或) CRLF2高表达组(15例) | Ph(+)组 ^a (48例) | MLL重排(+)组 (12例) | 其他患者组 (43例) | P ₁ 值 | P ₂ 值 |
|------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------|----------------|------------------|------------------|
| 性别 | | | | | 0.455 | 0.760 |
| 男 | 10(66.7) | 29(60.4) | 10(83.3) | 25(58.1) | | |
| 女 | 5(33.3) | 19(39.6) | 2(16.7) | 18(41.9) | | |
| 年龄 | | | | | 0.002 | 0.487 |
| ≤35岁 | 11(73.3) | 23(47.9) | 5(41.7) | 35(81.4) | | |
| >35岁 | 4(26.7) | 25(52.1) | 7(58.3) | 8(18.6) | | |
| WBC | | | | | 0.009 | 0.542 |
| ≤30×10 ⁹ /L | 9(60.0) | 18(37.5) | 2(16.7) | 27(62.8) | | |
| >30×10 ⁹ /L | 6(30.0) | 30(62.5) | 10(83.3) | 16(37.2) | | |
| 免疫表型 | | | | | <0.01 | 0.662 |
| 普通型B-ALL | 11(73.3) | 42(87.5) | 1(8.3) | 27(62.8) | | |
| 前B-ALL | 2(13.3) | 5(10.4) | 4(33.3) | 11(25.6) | | |
| 早期前B-ALL | 2(13.3) | 1(2.1) | 7(58.3) | 5(11.6) | | |
| 细胞遗传学 ^b | | | | | <0.01 | 0.596 |
| 预后较好 | 9(60.0) | 0 | 0 | 29(67.4) | | |
| 预后不良 | 3(20.0) | 48(100.0) | 12(100.0) | 10(23.2) | | |
| 未检测 | 3(20.0) | 0 | 0 | 4(9.3) | | |
| 危险分组 | | | | | <0.01 | 0.365 |
| 标危组 | 11(73.3) | 0 | 0 | 25(58.1) | | |
| 高危组 | 4(26.7) | 48(100.0) | 12(100.0) | 18(41.9) | | |
| CR ₁ | | | | | 0.911 | 0.600 |
| 是 | 14(93.3) | 46(95.8) | 12(100.0) | 41(95.3) | | |
| 否 | 1(6.7) | 2(4.2) | 0 | 2(4.7) | | |
| 复发 | | | | | 0.122 | 0.355 |
| 是 | 5(33.3) | 23(47.9) | 4(33.3) | 9(20.9) | | |
| 否 | 10(66.7) | 23(47.9) | 8(66.7) | 29(67.4) | | |
| 未知 | 0 | 2(4.2) | 0 | 5(11.6) | | |
| HSCT | | | | | 0.006 | 0.759 |
| auto-HSCT | 1(6.7) | 0 | 1(8.3) | 3(7.0) | | |
| allo-HSCT | 4(26.7) | 23(47.9) | 6(50.0) | 7(16.3) | | |
| 未移植 | 10(66.7) | 25(52.1) | 5(41.7) | 33(76.7) | | |

注:^a Ph染色体和(或)BCR-ABL 阳性;^b细胞遗传学分组参考NCCN2016建议;P₁值:四组患者总体比较;P₂值:Ph样融合基因(+)和(或)CRLF2高表达组与其他患者组比较;CR₁:化疗1个疗程完全缓解;auto-HSCT:自体造血干细胞移植;allo-HSCT:异基因造血干细胞移植

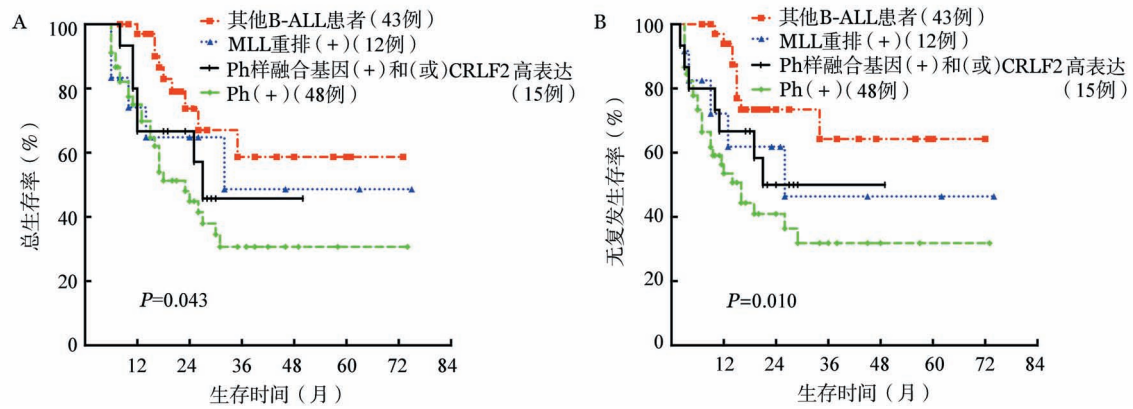


图2 四组急性淋巴细胞白血病(ALL)患者的总生存(A)和无复发生存(B)比较

讨 论

Ph样ALL在儿童和成人中均属于预后不良的亚型,有着较高的复发率和较短的OS期^[3]。体内外实验和前期临床试验证实TKI、JAK抑制剂、MEK抑制剂等靶向药物在Ph样ALL中的治疗作用^[8-9]。

Roberts等^[10-11]分析了1725例前体B-ALL,其中264例(15.3%)诊断符合Ph样ALL的特征,注意到Ph样ALL的共同特征是形成其他酪氨酸激酶或细胞因子受体融合基因以及酪氨酸激酶信号通路的激活(激活JAK或ABL相关的信号途径),这些患者可从靶向ABL途径的TKI、靶向JAK途径的TKI等靶向药物中获益。根据细胞因子受体或激酶改变的类型可以将Ph样ALL分为不同的亚组:①涉及ABL家族的融合基因(ABL1、ABL2、CSF1R、PDGFRB);②EPO受体或JAK2重排;③CRLF2重排(通常伴JAK2突变和JAK-STAT通路激活);④其他可激活JAK-STAT的基因突变(IL7R、FLT3、SH2B3、TYK2、IL2RB);⑤不常见的复杂激酶突变(NTRK3、DGKH);⑥激活RAS通路的基因突变(KRAS、NRAS、PTPN11、NF1);⑦无激酶基因突变。由于Ph样ALL存在多种潜在基因异常,包括一系列染色体异常(如染色体的易位、倒位、缺失,基因内部碱基的缺失、点突变等)、涉及超过15种酪氨酸激酶和细胞因子受体基因以及30多种影响细胞其他功能的基因改变,其筛查诊断多采用基因表达谱分析技术,没有统一的临床诊断标准和简单易行的检测手段^[12]。而全基因组、转录组等分析技术花费高、流程复杂,不适用于大规模临床检测。特异的FISH探针、多重RT-PCR或者靶向RNA测序可以克服这些不利因素,用来检测临床常见的Ph样融

合基因和染色体易位^[13-14]。

CRLF2基因编码蛋白为胸腺基质淋巴细胞生成素受体(TSLPR),CRLF2基因重排(形成IGH-CRLF2、P2RY8-CRLF2融合基因)可导致CRLF2高表达而活化JAK/STAT、PI3K信号通路。CRLF2高表达见于约15%的无其他分子异常(如MLL、TCF3、TEL、BCR-ABL)的成人B-ALL,多认为是预后不良因素^[15-16]。在Ph样ALL中约50%患者存在CRLF2重排,其中约50%同时伴有JAK基因突变,是Ph样ALL的重要特征之一^[10]。本研究所用试剂盒不包括CRLF2相关的融合基因,而是借助CRLF2的高表达作为Ph样ALL可能的提示。

在本研究中,我们采用多重实时荧光定量PCR的方法对58例BCR-ABL阴性且MLL重排阴性的B-ALL患者进行了27种Ph样融合基因定性检测,共检测到9例融合基因阳性的患者,涉及JAK1/2、ABL1、PDGFRB,49例融合基因阴性的患者中,6例伴CRLF2高表达。随后我们将Ph样融合基因阳性和CRLF2高表达患者合为一组,与Ph阳性、MLL重排阳性ALL患者以及其他B-ALL患者进行临床特征、治疗反应以及预后的比较。发现四组患者在年龄、初诊WBC、免疫分型、细胞遗传学、预后分组方面差异均具有统计学意义,而单独比较Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达组和其他患者组,临床特征差异未见统计学意义。可见,本组病例中Ph样ALL患者的临床特征和Ph阳性、MLL基因阳性的患者差别较大,最接近非Ph阳性、非MLL阳性的ALL患者。这一现象有两种可能:①这两组的临床特征相似;②可能与样本量较小以及试剂盒未能包括所有类型的Ph样ALL患者有关。而一项国外的研究比较了194例Ph样ALL患者和296例其他

ALL患者,发现Ph样ALL患者有着更高的WBC,男性患者比例更高^[17]。

生存分析发现(含干细胞移植患者),Ph样融合基因阳性和(或)CRLF2高表达患者组较非Ph阳性、非MLL阳性其他患者组预后差,和MLL基因重排阳性的患者接近,优于Ph阳性患者。Jain等^[18]报道成人Ph样ALL和非Ph阳性、非MLL阳性的其他ALL患者的5年OS率分别为23%和59%。由于本研究为回顾性的资料,未能根据基因检测结果加用相应的靶向药物,无法说明靶向治疗对疗效的可能影响。

总之,本研究结果表明采用多重实时荧光定量PCR方法常规筛查Ph样ALL患者是可行的。如果诊断时即明确这一亚型,及时采用相应的靶向药物治疗,有可能改善患者预后。

参考文献

- [1] Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9881):1943-1955. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62187-4.
- [2] Stock W. Adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2010, 2010:21-29. DOI: 10.1182/asheducation-2010.1.21.
- [3] Den BML, van Slegtenhorst M, De Menezes RX, et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(2):125-134. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70339-5.
- [4] 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.
- [5] Gökbuget N, Hoelzer D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia [J]. *Semin Hematol*, 2009, 46 (1):64-75. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2008.09.003.
- [6] 赵那力, 魏辉, 林冬, 等. 成人Ph阴性急性淋巴细胞白血病的优化治疗 [J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(10):873-879. DOI: 10.3760/ema.j.issn.0253-2727.2014.10.001.
- [7] 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.
- [8] Shi C, Han L, Zhang Q, et al. Combined targeting of JAK2 with a type II JAK2 inhibitor and mTOR with a TOR kinase inhibitor constitutes synthetic activity in JAK2-driven Ph-like acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood (ASH Annual Meeting)*, 2015, 126:2529a.
- [9] Roberts KG, Yang YL, Payne-Turner D, et al. Investigating the use of tyrosine kinase inhibitors in Ph-like ALL [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21:PR02a.
- [10] Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371 (11):1005-1015. DOI: 10.1056/NEJMoa1403088.
- [11] Roberts KG, Pei D, Campana D, et al. Outcomes of children with BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia treated with risk-directed therapy based on the levels of minimal residual disease [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32 (27):3012-3020. DOI: 10.1200/JCO.2014.55.4105.
- [12] 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.
- [13] Yap KL, Furtado LV, Kiyotani K, et al. Diagnostic evaluation of RNA sequencing for the detection of genetic abnormalities associated with Ph-like acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. *Leuk Lymphoma*, 2017, 58 (4):950-958. DOI: 10.1080/10428194.2016.1219902.
- [14] Boer JM, Steeghs EM, Marchante JR, et al. Tyrosine kinase fusion genes in pediatric BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (3):4618-4628. DOI: 10.18632/oncotarget.13492.
- [15] Russell LJ, Capasso M, Vater I, et al. Deregulated expression of cytokine receptor gene, CRLF2, is involved in lymphoid transformation in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2009, 114 (13):2688-2698. DOI: 10.1182/blood-2009-03-208397.
- [16] Yoda A, Yoda Y, Chiaretti S, et al. Functional screening identifies CRLF2 in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(1):252-257. DOI: 10.1073/pnas.0911726107.
- [17] Roberts KG, Gu Z, Payne-Turner D, et al. High Frequency and Poor Outcome of Philadelphia Chromosome-Like Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35 (4):394-401. DOI: 10.1200/JCO.2016.69.0073.
- [18] Jain N, Roberts KG, Jabbour E, et al. Ph-like acute lymphoblastic leukemia: a high-risk subtype in adults [J]. *Blood*, 2017, 129 (5):572-581. DOI: 10.1182/blood-2016-07-726588.

(收稿日期:2017-04-26)

(本文编辑:王叶青)