

单纯 i(17q) 染色体异常在血液肿瘤中的表达及意义

段衍超¹ 张志臻¹ 刘艳¹

[摘要] 目的:探讨孤立性染色体异常 i(17q)在血液肿瘤中表达的意义。方法:对 172 例血液肿瘤患者的骨髓细胞进行常规核型分析,对伴有 i(17q)染色体异常者采用荧光原位杂交及 RT-PCR 技术检测 RAR α 基因重排,流式细胞术检测骨髓细胞免疫表型,并分析患者临床特点。结果:172 例患者中,12 例出现染色体异常 i(17q),其中 9 例伴有其他染色体异常,3 例为孤立性 i(17q)。3 例孤立性 i(17q)患者中,1 例为急性髓系白血病,1 例为骨髓增生异常综合征,1 例为慢性粒单核细胞白血病,均无 RAR α 基因重排,且对常规化疗效果差,生存期分别为 45 d、4 个月和 2 个月。结论:孤立性 i(17q)染色体异常在血液肿瘤中非常少见,主要见于髓系肿瘤,预后可能较差。

[关键词] 等臂染色体 i(17q);白血病;骨髓增生异常综合征

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2014.01.012

[中图分类号] R733.7 **[文献标志码]** A

Clinical significance of isolated isochromosome 17q in hematologic tumors

DUAN Yanchao ZHANG Zhirong LIU Yan

(Department of Hematology, Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Ta'an, 271000, China)

Corresponding author: DUAN Yanchao, E-mail: duansuper@aliyun.com

Abstract Objective: To explore the clinical significance of the expression of isolated isochromosome 17q in hematologic tumors. **Method:** Karyotype analysis was performed on the bone marrow samples of 172 hematologic tumor patients. RT-PCR and fluorescence in situ hybridization (FISH) were applied to detect RAR α gene rearrangement and flow cytometry was used to detect immunophenotype of bone marrow cells of patients with isolated isochromosome 17q. We analyzed the clinical characteristics of such patients. **Result:** Twelve of 172 patients were detected to carry isochromosome 17q. Nine of them were accompanied by other abnormalities and the other three cases were detected to carry only isolated isochromosome 17q. One of them was acute myeloid leukemia, one was myelodysplastic syndrome and the other one was chronic myelomonocytic leukaemia. Neither of them was detected to carry RAR α gene rearrangement. All of them responded poorly to routine chemotherapy and the overall survival was 45 days, 4 and 2 months respectively. **Conclusion:** Isochromosome 17q is a rare cytogenetic abnormality in hematologic tumors and such patients usually have poor prognosis.

Key words isochromosome 17q; leukemia; myelodysplastic syndrome

等臂染色体 i(17q)常出现在慢性粒细胞白血病(CML)加速期或急变期、急性髓细胞白血病(AML)以及骨髓增生异常综合征(MDS)中,但往往同时伴有其他染色体异常^[1-2]。但单纯 i(17q)染色体异常出现在血液肿瘤中非常少见,意义还不明确。我们对单纯 i(17q)染色体异常在血液肿瘤中的表达情况进行检测,并对其意义进行探讨。

1 资料与方法

1.1 资料

2008-10-2012-12 在我院住院确诊的成人血液肿瘤患者 172 例,年龄 15~85 岁,平均 47.5 岁;其中 AML 47 例,急性淋巴细胞白血病(ALL)19 例, CML 25 例,慢性淋巴细胞白血病(CLL)12 例, MDS 21 例,多发性骨髓瘤(MM)12 例,真性红细

胞增多症(PV)13 例,原发性血小板增多症(ET)12 例,原发性骨髓纤维化 8 例,慢性粒单核细胞白血病(CMML)3 例。

1.2 核型分析

无菌采取患者骨髓 3~5 ml,采用短期细胞培养胰酶消化 G 显带技术检测染色体,油镜下观察至少 20 核型。根据国际命名法(ISCN, 1991)分析核型结果。

1.3 免疫表型

取肝素抗凝骨髓 2 ml, Ficoll-Hypaque 密度梯度离心法分离单个核细胞,用 PBS 洗 3 次后配制成 5×10^6 /ml 的细胞悬液,加入荧光标记的单克隆抗体(McAb),用 FACSsort 流式细胞仪(BD 公司)和 CellQuest 软件获取并分析 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞。通过 CD45/SSC 设门识别异常细胞群,再分析计算该细胞群各白血病相关抗原的表达。所用单

¹泰山医学院附属医院血液科(山东泰安, 271000)

通信作者:段衍超, E-mail: duansuper@aliyun.com

克隆抗体包括 FITC、PE、PerCP 或 APC 标记的 CD34、CD33、CD38、CD117、HLA-DR、CD13、CD11b、CD14、CD61、CD42b、CD15、CD10、CD2、CD3、CD7、CD19、CD20、CD79a、CD56、CD45。单抗均购自 Beckman-Coulter 公司。

1.4 实时定量 PCR 检测 PML-RAR α 融合基因

取肝素抗凝骨髓 2 ml,用 Ficoll 密度梯度离心法分离单个核细胞,应用 Trizol 一步法提取总 RNA,利用六随机引物逆转录合成 cDNA。参照文献[2],实时定量 PCR(RQ-PCR)检测 PML-RAR α 融合基因长型、短型和变异型三种转录本,以管家基因 ABL 为内参,患者 PML-RAR α 转录本的值以相对量表示:PML-RAR α 转录本拷贝数/ABL 拷贝数 $\times 100\%$ 。

1.5 荧光原位杂交检测 RAR α 基因重排

用荧光原位杂交(FISH)培养法收获细胞,冻存于 -20°C 冰箱内。制片前以新鲜固定液洗3次,在 37°C 、50%的饱和湿度下滴片,系列乙醇(70%、85%、100%)脱水,气干过夜。选择 Vysis 公司的双色标记 RAR α 断裂分离探针(Vysis LSI RAR α Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe, 05N46-020),依据说明书进行样本及探针的变性、杂交。分析 200 个细胞,无 RAR α 基因重排的细胞信号为黄色或者绿色与红色叠加,有 RAR α 重排的则为绿色与红色信号分离。

2 结果

2.1 核型分析

172 例患者中,12 例出现染色体异常 i(17q),其中 3 例伴有孤立性 i(17q),见图 1。例 1 诊断为 AML,核型为 46,XY,i(17),(q10);例 2 诊断为 MDS-RAEB1,核型为 46,XX,i(17),(q10);例 3 诊断为 CMML,核型为 46,XY,i(17),(q10)。其余 9 例患者除了 i(17q)外伴有其他异常。

2.2 免疫表型

3 例孤立性 i(17q)异常患者的骨髓免疫表型见图 2。例 1 患者:CD117 $^{+}$ 母细胞占骨髓有核细胞总数的 79.2%,免疫表型为 CD34 $^{-}$,CD33 $^{+}$,CD13 $^{+}$,

MPO $^{+}$, HLA-DR $^{+}$, CD64 $^{+}$, CD56 $^{+}$, CD14 $^{+}$, CD10 $^{+}$, CD19 $^{+}$,符合急性早幼粒细胞白血病(APL)。例 2 患者:CD34 $^{+}$ CD117 $^{+}$ 母细胞占骨髓有核细胞总数的 2.2%,免疫表型为 CD34 $^{+}$,CD33 $^{+}$,CD13 $^{+}$,HLA-DR $^{+}$,CD17 $^{+}$,可见 CD13,CD15,CD16,CD11b 表达紊乱,符合 MDS。例 3 患者:CD34 $^{+}$ 细胞约占有核细胞总数的 2.6%,免疫表型为 CD34 $^{+}$,CD33 $^{+}$,CD13 $^{+}$,HLA-DR $^{+}$,CD56 $^{-}$,CD3 $^{-}$,CD19 $^{-}$,CD5 $^{-}$;粒细胞比值正常;单核细胞占有核细胞总数的 37.3%,免疫表型为 CD34 $^{-}$,CD117 $^{-}$,CD33 $^{+}$,HLA-DR $^{+}$,CD14 $^{++}$,CD64 $^{+}$,CD36 $^{+}$,符合 CMML。

2.3 RQ-PCR 检测

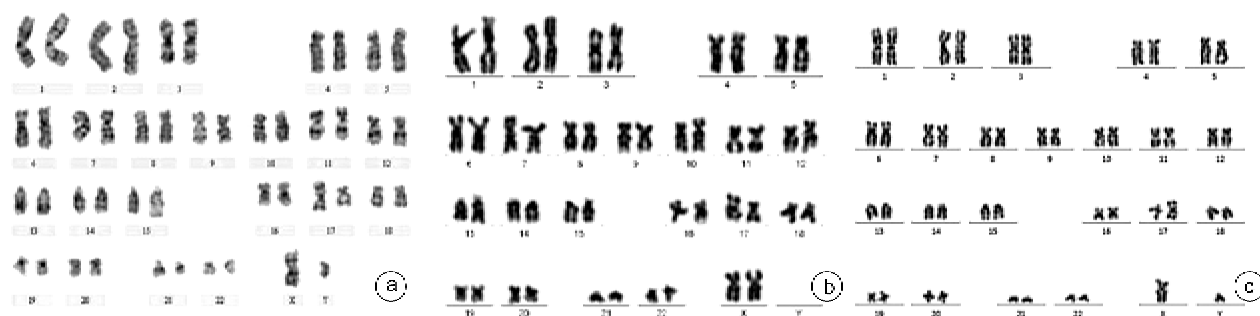
3 例患者均未检测到 PML-RAR α 融合基因。均 PML-RAR α -bcr1/ABL=0, PML-RAR α -bcr2/ABL=0, PML-RAR α -bcr3/ABL=0。

2.4 FISH 检测

3 例患者细胞信号均为黄色或者绿色与红色叠加,未检测到 RAR α 重排(图 3)。

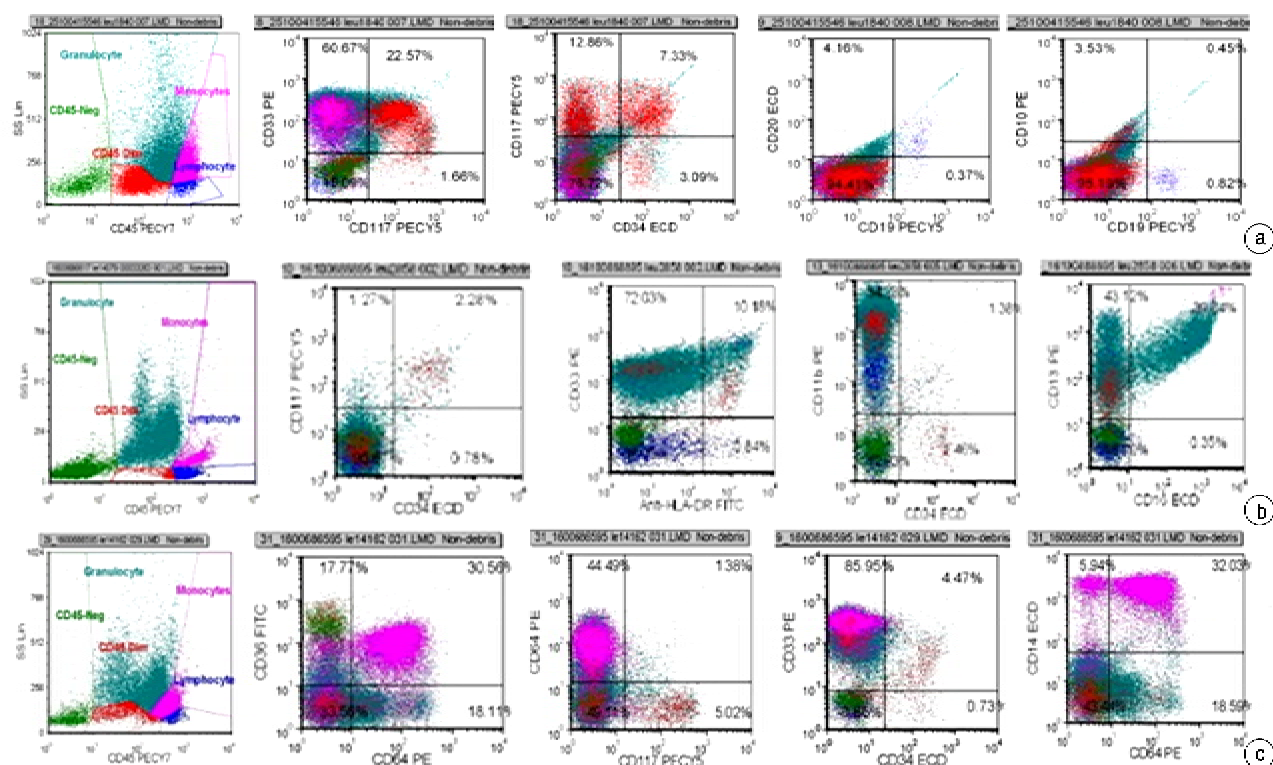
2.5 骨髓细胞形态特点

3 例患者的骨髓细胞形态见图 4。例 1 患者骨髓增生极度活跃,异常早幼粒细胞占有核细胞的 90%,胞质内可见 Auer 小体,过氧化物酶染色 POX(+++), α -乙酸萘酚酯酶 α -NAE(+),红系增生受抑,巨核细胞 3 个/片,血小板散在少见。由于 RAR α 重排阴性,诊断为形态类似 APL 的 AML。例 2 患者骨髓增生活跃,骨髓原始细胞占有核细胞的 7%,粒红巨三系可见病态造血,巨核细胞 117/片,诊断为 MDS-RAEB1。例 3 患者骨髓增生极度活跃,原始粒细胞 5%,原幼单核细胞 4%,成熟单核细胞 15%,巨核细胞 50/片。粒红巨三系病态造血均大于 10%,红系可见巨幼样变、花瓣样核、多核红细胞,粒系可见为颗粒减少、核分叶过少细胞、胞浆中出现空泡等,巨核系可见小巨核细胞、淋巴样巨核细胞、单圆核巨核细胞增多;结合血常规,诊断为 CMML-1。



a:例1患者;b:例2患者;c:例3患者。

图1 患者的骨髓细胞核型分析



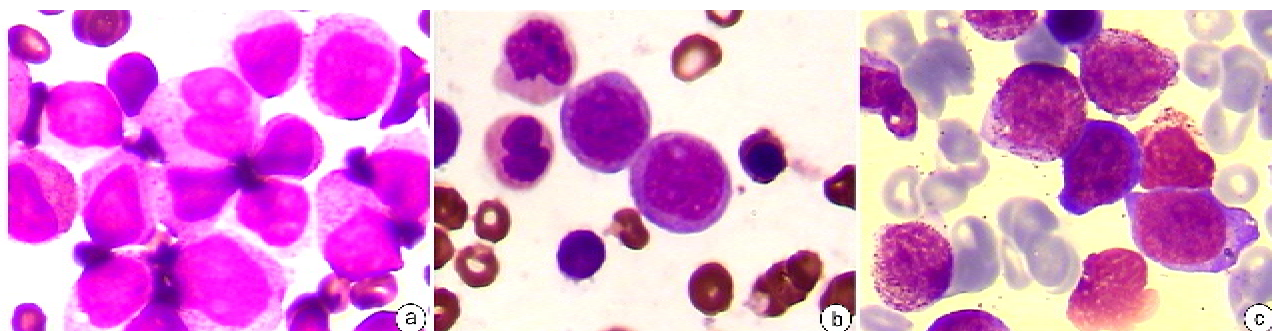
a: 例 1 患者; b: 例 2 患者; c: 例 3 患者。

图 2 患者的骨髓细胞免疫表型



a: 例 1 患者; b: 例 2 患者; c: 例 3 患者。

图 3 荧光原位杂交检测 RARα 重排



a: 例 1 患者; b: 例 2 患者; c: 例 3 患者。

图 4 患者骨髓细胞形态

2.6 患者临床特点

3 例患者的临床特点见表 1。

3 讨论

等臂染色体 i(17q) 是由 2 条 17 号染色体长臂在中心粒对接而形成, 被认为是 CML 急变期或

CML 慢性期将发展为急变期的一个重要标记染色体, 在 AML、ALL、MDS、淋巴瘤和实体瘤等中也可被检出, 但往往伴有其他染色体异常, 其功能意义尚不清楚。i(17q) 作为一种孤立的染色体异常在血液肿瘤中非常少见, 目前只有几十例报道^[3-6],

表 1 3 例患者的临床特点

病性 例别	年龄 /岁	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	Hb/ ($g \cdot L^{-1}$)	PLT/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	单核细 胞/%	乳酸脱 氢酶	β_2 -微 球蛋白	脾	化疗方案	效果	生存期
1 男	36	26.57	58	7	0	升高	升高	不大	1 个疗程 AT-RA 联合 DA 化疗、1 个疗程中剂量 Arac ¹⁾	未缓解	45 d
2 女	67	2.47	32	140	8.5	升高	正常	不大	2 个疗程 CAG ²⁾	未缓解	4 个月
3 男	83	36.00	103	20	30.4	升高	升高	增大	1 个疗程小剂量 Arac	未缓解	2 个月

¹⁾ ATRA;全反式维 A 酸;DA:柔红霉素、阿糖胞苷;Arac;阿糖胞苷;²⁾ CAG;阿柔比星、阿糖胞苷、粒细胞集落刺激因子。

而国内尚未见文献报道。McClure 等(1999)报道了 14 例伴有孤立性 i(17q)的血液肿瘤患者,均为 MDS/骨髓增生性肿瘤(MPN),平均年龄 60 岁,男女比例 5 : 2,中性粒细胞表现为低分叶形态,克隆异常出现在所有有核细胞,具有向 AML 转化的高风险,中位生存期 2. 5 年。Kanagal-Shamanna 等^[6] 回顾了 MD Anderson 癌症中心 1998—2011 年诊断的伴有孤立性 i(17q)的髓系肿瘤共 22 例,按照 WHO 2008 重新分型,8 例为原发性 AML,14 例为 MDS/MPN。大多数患者表现出高白细胞、贫血、血小板减少和脾大的特点,且大多数 i(17q)出现在疾病急变期或进展期。平均随访 8. 5 个月,15 例死亡,只有 1 例经过干细胞移植后完全缓解。由此推测伴有孤立性 i(17q)异常的血液肿瘤患者预后较差。形态学上,患者多数表现出 MDS/MPN 的特点,包括假 Pelger-Huet 样中性粒细胞和小巨核细胞增多,骨髓增生异常明显活跃伴纤维化,骨质硬化,原始细胞增多(原发性 AML 原始细胞数平均为 40%,MDS/MPN 平均为 9%)。至于是哪些基因异常导致出现这些表型特征尚未清楚。

APL 是 AML 中的一个特殊类型,绝大多数患者具有特征性的染色体 t(15;17)及形成的融合基因 PML-RAR α 。少数患者通过常规核型分析未发现 t(15;17),但它们可通过肉眼不能发现的 PML 或 RAR α 插入或者更复杂的核型异常而形成 PML-RAR α 融合基因^[7-8]。更有少数 APL 患者无融合基因 PML-RAR α ,但有其他形式的 RAR α 重排。欧洲协作组 2000 年研究了 60 例常规核型分析显示无 t(15;17)的 APL 患者,通过分子生物学方法检测到 42 例患者表达 PML-RAR α ,11 例表达 PLZF-RAR α ,2 例表达 NPM-RAR α 。但仍有 5 例通过 RT-PCR、FISH 和 Southern blot 均未检测到 RAR α 重排,核型分析示 3 例为正常核型,其中 1 例为 45,X,-Y,der(7)t(7;11)(q34;p15)ins(7;12)(q34;q24.3),der(11)t(7;11)/46,XY,1 例为 45,XX,+2,-12,+13,add(17)(q2?),该研究认

为可能其他机制参与阻碍了细胞分化从而在形态上表现为 APL^[9]。本文中我们报道的 1 例患者与上述 5 例相似,骨髓细胞形态学及免疫表型均支持 APL,但 RT-PCR 检查示 PML-RAR α 融合基因阴性,且 FISH 检查未发现 RAR α 重排,故诊断为类 APL 样 AML,核型分析示 46,XY,i(17)(q10)[10]/46,XY[10]。该患者常规化疗联合维 A 酸治疗 1 个疗程,未缓解,再次化疗后死于颅内出血,临床特征与文献报道有相似之处,即高白细胞,贫血,低血小板,骨髓增生明显活跃,生存期短,确诊后仅 1 个月余。

白血病发生通常需要 I 类和 II 类分子的 2 种突变,通常 I 类分子突变通过酪氨酸激酶途径导致细胞增生失控和凋亡受阻,通常涉及的有 JAK2,FLT3,KIT 和 RAS;II 类分子突变通常涉及转录因子如 CEBPA 和核结合因子从而导致细胞分化障碍。但 Kanagal-Shamanna 等^[6] 检测了部分伴有孤立性 i(17q)的髓系肿瘤患者,发现常见分子突变的阳性率为 JAK2(1/18),FLT3(2/16),NRAS(3/10),NPM1(0/15),KIT(0/4) 和 CEBPA(0/4),均比 i(17q)阴性的髓系肿瘤低。由于 i(17q)的形成使位于 17P13.1 的 TP53 的 1 个等位基因丢失,P53 等位基因缺失或者突变可能与伴 i(17q)髓系肿瘤的独特特征有关。但 Fioretos 等(1999)及 Kanagal-Shamanna 等^[6] 分别检测了 5 例和 14 例患者,未发现 TP53 突变。我们通过 FISH 检测也未发现涉及 RAR α 的基因重排。可能存在 17q 的其他癌基因或 17p 的抑癌基因在发病中发挥重要的作用,通过高通量测序或许能发现导致该类型肿瘤发生的分子机制。

本文中 3 例患者有 2 例白细胞升高,骨髓均活跃,幼稚细胞增多,伴有病态造血,对常规化疗效果差,生存期短,与文献报道一致。

总之,伴孤立性 i(17)染色体异常的血液肿瘤非常少见,目前报道主要见于髓系肿瘤,预后多数较差,发病的分子机制尚未清楚,需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] 薛志科,金洁,陈志妹,等. 12 例伴 17 号等臂染色体的慢性粒细胞白血病[J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(3):360—361.
- [2] 韩兰秀,林江,钱军,等. 实时定量 PCR 方法检测急性早幼粒细胞白血病患者 PML-RAR α 融合基因的评价[J]. 中华血液学杂志, 2008, 29(11):753—756.
- [3] MIHARA K, KIDO M, NAKAJU N, et al. Exacerbation of acute leukemia bearing isolated i(17q) along with proliferation of blasts with high BMI-1 expression[J]. Rinsho Ketsueki, 2007, 48:659—663.
- [4] NISHIDA H, UENO H, PARK J W, et al. Isochromosome i(17q) as a sole cytogenetic abnormality in a case of leukemic transformation from myelodysplastic syndrome (MDS)/myeloproliferative diseases (MPD) [J]. Leuk Res, 2008, 32:1325—1327.
- [5] POZDNYAKOVA O, MIRON PM, TANG G, et al. Cytogenetic abnormalities in a series of 1,029 patients with primary myelodysplastic syndromes: a report from the US with a focus on some undefined single chromosomal abnormalities [J]. Cancer, 2008, 113:3331—3340.
- [6] KANAGAL-SHAMANNA R, BUESO-RAMOS C E, BARKOH B, et al. Myeloid neoplasms with isolated isochromosome 17q represent a clinicopathologic entity associated with myelodysplastic/myeloproliferative features, a high risk of leukemic transformation, and wild-type TP53[J]. Cancer, 2012, 118:2879—2888.
- [7] KIM M J, CHO S Y, KIM M H, et al. FISH-negative cryptic PML-RARA rearrangement detected by long-distance polymerase chain reaction and sequencing analyses: a case study and review of the literature[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2010, 203:278—283.
- [8] PARK T S, KIM J S, SONG J, et al. Acute promyelocytic leukemia with insertion of PML exon 7a and partial deletion of exon 3 of RARA: a novel variant transcript related to aggressive course and not detected with real-time polymerase chain reaction analysis[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2009, 188:103—107.
- [9] GRIMWADE D, BIONDI A, MOZZICONACCI M J, et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t(15;17): results of the European Working Party. Groupe Francais de Cytogénétique Hématologique, Groupe de Français d'Hématologie Cellulaire, UK Cancer Cytogenetics Group and BIOMED 1 European Community-Concerted Action "Molecular Cytogenetic Diagnosis in Haematological Malignancies" [J]. Blood, 2000, 96:1297—1308.

(收稿日期:2013-07-05)

《临床血液学杂志》第四届编委会名单

顾问 王振义

主编 宋善俊 陆道培

副主编 邹萍 胡豫 刘开彦

常务编委 (按姓氏笔画排序)

于力	马军	王椿	王健民	王建祥	王鸿利	刘霆	刘开彦	刘文励	刘启发
阮长耿	吴德沛	吴彤	宋永平	宋善俊	张连生	李娟	沈志祥	邵宗鸿	邹萍
陆道培	陈燕	陈方平	侯明	侯健	胡豫	赵永强	高清平	黄晓军	赖永榕

编委 (按姓氏笔画排序)

万楚成	于力	马军	马西	方美云	毛平	牛挺	王丹	王欣	王椿
王兆钺	王季石	王学锋	王健民	王建祥	王冠军	王晓敏	王鸿利	王景文	付蓉
冯四洲	冯建明	白晓川	任汉云	刘林	刘霆	刘开彦	刘文励	刘代红	刘启发
刘卓刚	刘泽林	刘敏涓	刘新月	刘欣	孙慧	孙汉英	孙自敏	江明	江倩
江滨	纪春岩	阮长耿	吴彤	吴广胜	吴竞生	吴德沛	宋永平	宋善俊	张广森
张王刚	张克俭	张连生	张晓辉	张新华	李娟	李艳	李从荣	李军民	李建勇
杨仁池	杨林花	沈志祥	沈晓梅	肖志坚	邱录贵	邵宗鸿	邹萍	陆道培	陈虎
陈燕	陈元仲	陈方平	陈协群	陈国安	陈宝安	陈幸华	陈智超	周晋	周希江
周郁鸿	周剑峰	周道斌	孟凡义	林凤茹	林东军	罗军	罗斌	金洁	金润铭
侯明	侯健	姚春	姚红霞	洪梅	胡豫	胡灯明	胡亮钉	胡俊斌	胡建达
赵湜	赵永强	赵维莅	赵洪国	夏凌辉	郭涛	高清平	徐开林	梁英民	黄河
黄士昂	黄知平	黄晓军	彭军	程范军	韩明哲	赖永榕	谭获	潘峻	魏文宁
P. Meusers	E. Wenzel	大野竜三							