

• 论著-研究报告 •

# t(8;21)隐匿复杂变异易位-t(8;4;21) 的遗传学及临床研究报道

李辉<sup>1</sup> 毛玥莹<sup>1</sup> 蒋显勇<sup>1</sup> 汪玄<sup>1</sup> 蔡昊<sup>1</sup> 周道斌<sup>1</sup> 李剑<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的:报道1例具有隐匿复杂变异易位-t(8;4;21)的M2型急性髓性白血病的遗传学及临床特征。方法:利用骨髓细胞短期培养法制备染色体标本;应用G显带技术进行核型分析;利用双色双融合荧光原位杂交检测RUNX1/RUNX1T1融合基因;采用实时荧光定量RT-PCR检测RUNX1/RUNX1T1融合基因转录本。结果:患者最初核型结果为46,XX,t(4;8)(p15;q22)[3]/45,sl,-X[17],但双色双融合荧光原位杂交证实存在RUNX1/RUNX1T1融合基因和变异易位,同时实时荧光定量RT-PCR检测到RUNX1/RUNX1T1融合基因转录本。因此核型结果最终修订为:46,XX,t(8;4;21)(q22;p15;q22)[3]/45,sl,-X[17],是一种t(8;21)隐匿复杂变异型易位。结论:联合双色双融合荧光原位杂交和实时荧光定量RT-PCR检测有助于鉴定出变异型t(8;21)易位。

**【关键词】** 急性髓性白血病;t(8;21);隐匿变异;荧光原位杂交;实时荧光定量RT-PCR

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.01.011

【中图分类号】 R733.71 【文献标志码】 A

## Genetic study of rare t(8;4;21)(q22;p15;q22): a cryptic and complex variant of t(8;21)

LI Hui MAO Yueying JIANG Xianyong WANG Xuan

CAI Hao ZHOU Daobin LI Jian

(Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing, 100730, China)

Corresponding author: LI Jian, E-mail: Lijian@pumch.cn

**Abstract Objective:** To report the genetic characters of acute myeloid leukemia with t(8;4;21), a cryptic complex variant of t(8;21). **Method:** Chromosome specimen was prepared by short-term culture of bone marrow cells, and karyotype analysis was carried out using G-banding techniques. Fluorescence in situ hybridization (FISH) was performed using dual color dual fusion probe to detect fusion gene RUNX1/RUNX1T1, and real-time RT-PCR was performed to detect the transcripts of this fusion gene. **Result:** The original karyotype of this patient was 46, XX, t(4;8)(p15;q22)[3]/45, sl, -X[17]. While dual color dual fusion FISH suggested the existence of fusion gene RUNX1/RUNX1T1 and a variant of the translocation, meanwhile transcripts of this fusion gene were detected by real-time RT-PCR. Therefore, the revised karyotype was 46, XX, t(8;4;21)(q22;p15;q22)[3]/45, sl, -X[17], which is a very rare cryptic and complex variant of t(8;21). **Conclusion:** Combined tests of dual color dual fusion FISH and real-time RT-PCR contribute to identification of rare variants of t(8;21).

**Key words** acute myeloid leukemia; t(8;21); cryptic variant; fluorescence in situ hybridization; real-time RT-PCR

t(8;21)(q22;q22)是急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)中最常见的重现性染色体异常之一,占伴有核型异常的AML-M2型的40%~50%<sup>[1]</sup>。位于8q22的RUNX1T1(ETO)基因与位于21q22的RUNX1(AML1)基因发生融合,形成了位于衍生8号染色体的RUNX1/RUNX1T1(AML1-ETO)融合基因。临床上多采用荧光原位

杂交(FISH)和实时荧光定量RT-PCR(qRT-PCR)等方法检测RUNX1/RUNX1T1融合基因<sup>[2]</sup>。该类疾病的完全缓解率和无病生存率均较高。但有文献报道仅约30%患者表现为单一的t(8;21),多数患者还伴有性染色体丢失(-X或-Y)、del(9q)和+8等附加染色体异常<sup>[3]</sup>。此外,还有不到3%的患者表现为累及8号、21号及第3或第4条其他染色体的复杂异常。这些复杂异常的患者应用常规细胞遗传学方法常常检测不到典型的t(8;21),

<sup>1</sup>中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院血液科(北京,100730)

通信作者:李剑,E-mail:Lijian@pumch.cn

但利用 FISH 和 qRT-PCR 等方法能检测到 RUNX1/RUNX1T1 融合基因,从而证实其实质上是 t(8;21)的复杂变异易位<sup>[4]</sup>。近期我院收治 1 例复杂变异易位 t(8;4;21)(q22;p15;q22)的 AML-M2 患者,为罕见的隐匿变异型 t(8;21),现报告如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

患者,女,26 岁,妊娠期 24 周产检血常规提示贫血和血小板减少。血常规:WBC  $8.48 \times 10^9/L$ , NEU  $0.53 \times 10^9/L$ , Hb 83 g/L, PLT  $25 \times 10^9/L$ ;骨髓涂片:骨髓增生明显活跃,原始粒细胞 31.5%,可见 Auer 小体;POX 染色阳性。免疫分型结果提示异常细胞占非红细胞 19.7%,主要表达 CD117、CD33、CD13、CD34、CD38、HLA-DR 和 cMPO<sup>dim</sup>。诊断为 AML-M2 型,于 2017 年 10 月收入我院治疗。

### 1.2 染色体核型分析

采用短期培养法按常规制备骨髓细胞染色体。核型分析采用 G 显带技术。核型异常描述按人类细胞遗传学国际命名体制[ISCN(2013)]。

### 1.3 FISH 检测

RUNX1/RUNX1T1 双色双融合探针(D-FISH)购自北京金普嘉医疗科技有限公司,-20℃保存备用,操作参照说明书进行。在 OLYMPUS BX51 荧光显微镜下观察间期及中期细胞荧光杂交信号,分析 200 个间期细胞。2 红 2 绿分离信号提示正常细胞;1 红 1 绿 2 黄融合信号提示典型 t(8;

21);2 红 2 绿 1 黄融合信号提示复杂变异型 t(8;21)。

### 1.4 qRT-PCR 检测

RNA 提取:用含 NH<sub>4</sub>CL 及 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 红细胞裂解液处理骨髓样本,取有核细胞,用 TRIzol (Invitrogen) 抽提细胞总 RNA,反转录(Invitrogen)为 cDNA 后-20℃保存备用。

qRT-PCR 检测:RUNX1/RUNX1T1 融合基因定量检测方法及结果判定根据文献[5-6]进行。

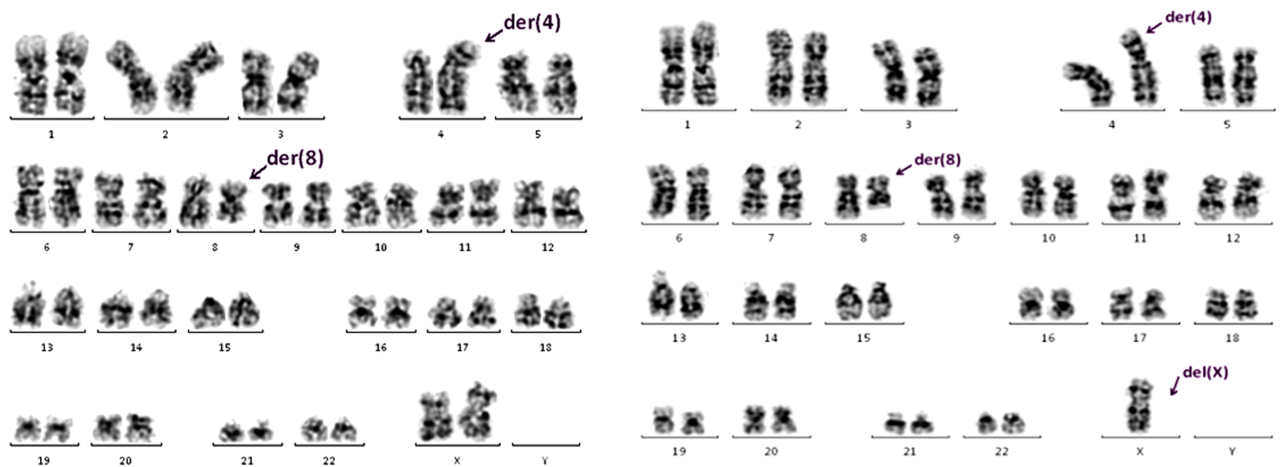
### 1.5 DNA 突变分析-NGS 测序

二代测序所包含的基因为:ASXL1、BCOR、BCORL1、CALR、CBL、CEBPA、CSF3R、DNMT3A、ETV6、EZH2、FLT3、GATA2、IDH1、IDH2、JAK2、KIT、KMT2A、KRAS、MPL、NPM1、NRAS、PDGFRA、PHF6、PIGA、RUNX1、SETBP1、SF3B1、SH2B3、SRSF2、TET2、TP53、U2AF1、WT1、ZRSR2。测序平台为 Illumina-miseq,文库构建采用扩增子技术(Righton gene),测序结果使用 Burrows-Wheeler Aligner(BWA)与 Refseq hg19 对齐,通过 Samtools version 1.3 进行 SNV 及插入缺失突变的标记,测序平均深度  $2500 \times$ , VAF cut-off 为 5%。

## 2 结果

### 2.1 核型结果

共分析 20 个中期分裂相,最初核型结果为:46,XX,t(4;8)(p15;q22)[3]/45,sl,-X[17],见图 1。后修正为:46,XX,t(8;4;21)(q22;p15;q22)[3]/45,sl,-X[17]。



46,XX,t(4;8)(p15;q22)[3]/45,sl,-X[17]。

图 1 染色体核型分析结果

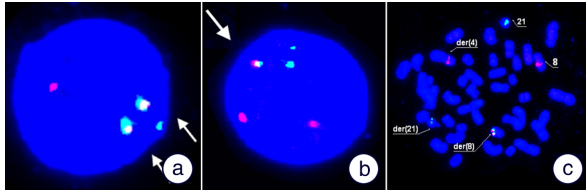
### 2.2 FISH 结果

观察 200 个间期细胞,发现 2 种异常信号类型:标准的 t(8;21)易位阳性信号:1 个红色、1 个绿色和 2 个黄色融合信号,异常比例为 5%;复杂变异

t(8;21)易位信号:2 个红色、2 个绿色和 1 个黄色融合信号,异常比例为 75%。FISH 检测结果见图 2。

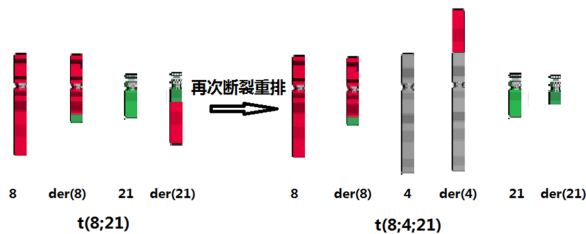
中期 FISH 检测结果显示:der(4)呈红色荧光,

der(8)呈红绿相融的黄色荧光,der(21)呈微小绿色荧光,提示是涉及 4,8 和 21 三条染色体的复杂易位。结合中期 FISH 结果,核型结果修正为:46,XX,t(8;4;21)(q22;p15;q22)[3]/45,sl,-X[17]。见图 3。



a:t(8;21)典型信号 1 红 1 绿 2 黄;RUNX1 为绿色信号,RUNX1T1 为红色信号,RUNX1/RUNX1T1 为黄色融合信号(箭头所示);b:t(8;21)复杂变异信号 2 红 2 绿 1 黄;RUNX1 为绿色信号,RUNX1T1 为红色信号,RUNX1/RUNX1T1 为黄色融合信号(箭头所示);c:中期分裂相 FISH 结果图:正常 8 号(RUNX1T1)红色信号,正常 21 号(RUNX1)绿色信号,der(8)RUNX1/RUNX1T1 黄色融合信号,der(4)(RUNX1T1)红色信号,der(21)(RUNX1)微小绿色信号。

图 2 FISH 检测结果



8 号 21 号染色体 q22 区带断裂重排,形成标准 t(8;21)。der(21)经再次断裂重排,先前重排到 21q22 区带的 8q22 区带断裂重排到 4p15 区带,形成 der(4),呈红色荧光,der(21)区带呈微小绿色荧光,der(8)仍为红绿相融的黄色荧光,形成复杂变异型 t(8;4;21)。

图 3 本例患者的复杂变异易位示意图

### 2.3 qRT-PCR 检测结果

qRT-PCR 可以检测到 RUNX1/RUNX1T1 基因融合转录本。

### 2.4 DNA 突变分析(NGS 测序)

k-RAS 基因检测到突变型,突变热点为 k-RAS 基因 2 号外显子 12 号密码子上 G12D,突变比例为 27.45%,其余各基因均未检测到突变型。

## 3 讨论

涉及 t(8;21)的变异易位有 2 种:一种是复杂变异易位,即受累染色体多达 3 条或 3 条以上,其中 2 条染色体及其断裂点和典型易位时相同,在分子水平上存在融合基因改变;而另一种是简单变异易位,即受累染色体中仅 1 条及其断裂点和典型易位所涉及的 2 条染色体中的 1 条相同,但 RT-PCR

检测不到融合基因转录本。此前报道了约 50 例患者的 t(8;21)(q22;q22)复杂变异型易位,额外受累染色体的断裂位点多达 21 种,除 9,16,22,X,Y 染色体外,其余染色体均被累及,例如 1p13、1p36、1q23、1q32、2q36、4q35、5q31、6q21、10p15、11p15、11q13、12q13、12q24、13q12、14q24、15q21、16p11、17q23、18q23、19q13、20q13。迄今,涉及 9,X 和 1q21,1q35 断裂位点的变异型易位也见报道<sup>[7-9]</sup>。

本例患者的核型分析结果为 t(4;8)异常,其 der(8)和典型 t(8;21)易位的 der(8)完全一致,而 2 条 21 号染色体正常;经 D-FISH 和 qRT-PCR 检测证实具有 RUNX1/RUNX1T1 融合基因;中期 FISH 显示:8q22 位点断裂易位到 4p15 位点,21q22 位点断裂易位到 8q22 位点形成融合基因,der(21)(q22)位点呈微小绿色荧光,表明其实质是涉及 4,8 和 21 三条染色体的复杂易位,故其核型结果修订为:46,XX,t(8;4;21)(q22;p15;q22)[3]/45,sl,-X[17],属罕见隐匿的 t(8;21)复杂变异类型。

t(8;21)复杂变异易位的形成机制目前尚无定论。多数学者认为第 3 条染色体的断裂是与 t(8;21)同时发生的。而 Gallego 等(1994)少数学者则认为变异易位是在典型 t(8;21)形成的基础上,由衍生 21 号染色体和另外一条染色体发生相互易位所形成的。此患者在 D-FISH 的检测中观察到 2 种异常信号类型:5%的典型 t(8;21)信号(1 红 1 绿 2 黄)(cut-off 值 3.25%)和 75%的变异型信号(2 红 2 绿 1 黄),更支持 Gallego 等提出的变异机制。

复杂变异染色体易位与典型 t(8;21)(q22;q22)易位患者的临床特征和预后相似,均具有较高的完全缓解率和无病生存率。但也有一些报道认为其预后较差,额外的染色体改变可能会改变白血病细胞的生物学特性,以抵抗化学药物的细胞毒作用。本例患者结合其 MICM 检测结果:RUNX1/RUNX1T1(+)和 KIT 突变阴性,考虑为 AML-M2 低危型,给予 DA 方案诱导化疗(柔红霉素 60 mg/m<sup>2</sup> d1~3,阿糖胞苷 100 mg/m<sup>2</sup> q12h d1~7),不幸的是患者于 d13 死于脑出血。

急性白血病是具有很大异质性的一类疾病,新一代测序技术的发展表明其异质性是多层面的,主要体现在遗传学和表观遗传学两大方面<sup>[10]</sup>。冶秀鹏等<sup>[11]</sup>曾报道 1 例临床少见的以慢性粒单核细胞白血病样表现的伴 t(8;21)(q22;q22),RUNX1/RUNX1T1(+),而本文表明 FISH 检测不仅能筛查 RUNX1/RUNX1T1 融合基因,还可揭示 t(8;21)复杂变异易位形成机制。综上所述,联合应用核型分析、FISH 及 qRT-PCR 筛查 RUNX1/

- 2015,6:19204-19216.
- [16] Sullivan JM, Rizzieri DA. Treatment of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2016, 2016:16-23.
- [17] Pagano L, Valentini CG, Grammatico S, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: diagnostic criteria and therapeutical approaches[J]. Br J Haematol, 2016, 174:188-202.
- [18] Pagano L, Valentini CG, Pulsoni A, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation: an Italian multicenter study[J]. Haematologica, 2013, 98:239-246.
- [19] Martín-Martín L, Almeida J, Pomares H, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm frequently shows occult central nervous system involvement at diagnosis and benefits from intrathecal therapy[J]. Oncotarget, 2016, 7:10174-10181.
- [20] 章忠明, 赖永榕. 急性移植抗宿主病防治进展[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(9):665-668.
- [21] Angelot-Delette F, Roggy A, Frankel AE, et al. In vivo and in vitro sensitivity of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm to SL-401, an interleukin-3 receptor targeted biologic agent[J]. Haematologica, 2015, 100:223-230.
- [22] Jegalian AG, Buxbaum NP, Facchetti F, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm in children: diagnostic features and clinical implications[J]. Haematologica, 2010, 95:1873-1879.
- [23] 高娜, 王学霞, 孙建荣, 等. 母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤 2 例并文献复习[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(11):962-965.
- [24] Sakashita K, Saito S, Yanagisawa R, et al. Usefulness of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in first complete remission for pediatric blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with skin involvement: A case report and review of literature[J]. Pediatr Blood Cancer, 2013, 60:E140-E142.
- [25] Zhong X, Wang L, Wang X, et al. Diffuse lung metastases in a child with blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm and review[J]. Eur J Pediatr, 2014, 173:1667-1670.
- [26] 谢冬, 秦先明, 孙立荣. 母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤 1 例报告并文献复习[J]. 青岛大学医学院学报, 2014, 50(4):366-369.
- [27] 熊竞舒, 陈浩, 张敏, 等. 母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤七例临床病理分析[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(8):599-602.
- [28] 刘恩彬, 陈辉树, 张培红, 等. 母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤病理学观察[J]. 诊断病理学杂志, 2011, 18(4):257-260.

(收稿日期:2018-01-06)

(上接第 43 页)

RUNX1T1 融合基因,对明确伴有变异易位 AML 性质是非常重要的;MICM 分型体系可使急性白血病的诊断更加精准和全面。

#### 参考文献

- [1] Camerding U, Teigler-Schlegel A, Pils S, et al. Cryptic chromosomal aberrations leading to an AML1/ETO rearrangement are frequently caused by small insertions[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2003, 36:261-272.
- [2] Peterson LF, Zhang DE. The 8;21 translocation in leukemogenesis[J]. Oncogene, 2004, 23:4255-4262.
- [3] Kuchenbauer F, Schnittger S, Look T, et al. Identification of additional cytogenetic and molecular genetic abnormalities in acute myeloid leukaemia with t(8;21)/AML1-ETO[J]. Br J Haematol, 2006, 134:616-619.
- [4] Vieira L, Oliveira V, Ambrósio AP, et al. Translocation (8;17;15;21)(q22;q23;q15;q22) in acute myeloid leukemia (M2): a four-way variant of t(8;21)[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2001, 128:104-107.
- [5] Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia-a Europe Against Cancer program[J]. Leukemia, 2003, 17:2318-2357.
- [6] Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR)-a Europe against cancer program[J]. Leukemia, 2003, 17:2474-2486.
- [7] Vundinti BR, Kerketta L, Madkaikar M, et al. Three way translocation in a new variant of t(8;21) acute myeloid leukemia involving Xp22[J]. Indian J Cancer, 2008, 45:30-32.
- [8] Ahmad F, Kokate P, Chheda P, et al. Molecular cytogenetic findings in a three-way novel variant of t(1;8;21)(p35;q22;q22): a unique relocation of the AML1/ETO fusion gene 1p35 in AML-M2[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2008, 180:153-157.
- [9] Kim H, Moon HW, Hur M, et al. Acute myeloid leukemia with a RUNX1-RUNX1T1 t(1;21;8)(q21;q22;q22) novel variant: a case report and review of the literature[J]. Acta Haematol, 2011, 125:237-241.
- [10] 于力. 血液系统恶性肿瘤精准诊疗现状与进展[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(5):335-338.
- [11] 冶秀鹏, 包慎, 魏玉萍, 等. 以慢性粒单核细胞白血病样表现的急性髓细胞白血病 1 例并文献复习[J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(11):915-917.

(收稿日期:2018-10-10)