

83 例 AML1/ETO 阳性急性髓系白血病的 分子生物学和临床特点分析

赵杰¹ 殷宇明¹ 杨君芳¹ 费新红¹ 赵艳丽¹ 王静波¹ 孙媛¹ 张弦¹ 单福香¹
李倩¹ 刘红星¹ 王卉¹ 王彤¹ 童春容¹ 吴彤¹ 陆道培¹

[摘要] 目的:分析 AML1/ETO 阳性急性髓系白血病(AML)患者的分子生物学和临床特点,探讨治疗策略。方法:对 83 例 AML1/ETO 阳性的 AML 患者的形态学、免疫学、分子生物学、染色体特征以及治疗、生存情况进行分析总结。结果:83 例 AML1/ETO 阳性的 AML 患者中,髓外浸润 17 例(20.4%),白细胞大于 $10 \times 10^9/L$ 的 47 例(57.8%);45 例患者表达 CD56 抗原(60.8%),29 例表达 CD19 抗原(39.2%);有 65 例患者检测到 t(8;21)异位,其中包括单独 t(8;21)异位的 28 例(43.1%)、伴有附加染色体的 37 例(56.9%);83 例患者均进行了诱导化疗,总缓解率为 79.5%,66 例缓解后的患者有 17 例在 6 个月内复发,复发率为 25.9%;83 例患者共存活 42 例,死亡 41 例,中位生存期为 26(2~113)个月;有 36 例进行了异基因造血干细胞移植(HSCT),25 例存活,3 年 OS 率 67.5%,5 年 OS 是 56.6%,另外 47 例接受化疗的患者 3 年 OS 率 36.4%;预后因素分析显示,患者的年龄、CD56 的表达对 OS 率的影响差异无统计学意义,而初诊时白细胞数目、髓外浸润、有无附加染色体以及治疗的情况(化疗和移植)对 OS 率的影响差异有统计学意义;采用异基因造血干细胞移植的患者的 OS 率明显高于接受化疗的患者($P < 0.01$)。结论:AML1/ETO 阳性 AML 患者易并发高危因素,异基因造血干细胞移植可明显改善 AML1/ETO 阳性 AML 患者的生存。

[关键词] AML1/ETO 阳性 AML;疾病特征;治疗预后

[中图分类号] R733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2012)06-0341-04

Clinical and molecular characteristics in 83 cases of acute leukemia with AML1/ETO

ZHAO Jie YIN Yuming YANG Junfang FEI Xinhong ZHAO Yanli WANG Jingbo SUN Yuan
ZHANG Xian SHAN Fuxiang LI Qian LIU Hongxing WANG Hui WANG Tong
TONG Chunrong WU Tong LU Daopei

(Beijing Daopei Hospital, Beijing, 100049, China)

Corresponding author: ZHAO Jie, E-mail: zhaojie329@126.com

Abstract Objective: To analyze the clinical and molecular characteristics of acute leukemia with AML1/ETO and explore the reasonable therapeutic principles. **Method:** Characteristics in morphology, immunology, molecular biology, cytogenetics, treatment and overall survival in 83 cases of acute leukemia with AML1/ETO were studied and analyzed. **Result:** Within 83 cases of acute leukemia with AML1/ETO, 17 cases (20.4%) had extramedullary infiltration, 47 cases (57.8%) with WBC count greater than $10 \times 10^9/L$, 45 cases (60.8%) with CD56 antigen positive, 29 cases (39.2%) with CD19 antigen positive, 65 patients had t(8;21) translocation which included 28 cases of t(8;21) translocation alone (43.1%), 37 cases (56.9%) with additional chromosome abnormality. All the 83 patients received induction chemotherapy and the overall CR rate was 79.5%, 17 patients relapsed within 6 months after CR in 66 patients who had achieved CR and the relapse rate was 25.9%. In 83 cases, 42 cases survived and 41 cases died, the median survival time was 26 (range 2~113) months. 36 cases received allo-hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), 25 cases survived and 3-year overall survival rate was 67.5%, 5-year overall survival rate was 56.6%. The 3-year overall survival rate was 36.4% in 47 patients who received chemotherapy. The analysis of prognosis factors showed that the patients' age and whether they express CD56 antigen or not had no statistical effect on overall survival, but the WBC count at the presentation, extramedullary infiltration, additional chromosome abnormality and treatment regimen (chemotherapy or transplantation) had statistical effects on overall survival. The overall survival in patients after HSCT was much higher than that in patients who received chemotherapy ($P < 0.01$). **Conclusion:** Acute leukemia patients with AML1/ETO would be prone to accompanied with high-risk factors, and HSCT could obviously improve the survival conditions of these patients.

Key words acute leukemia with AML1/ETO; characteristics of disease; prognosis after treatment

1973 年 Rowley 等^[1]首次提出 t(8;21)(q22;q22)染色体易位,该易位可产生特异性的 AML1/

ETO 融合基因,见于 12%~20% 的 AML,尤其在 FAB 形态学分型的 M₂ 型中,其发生率可高达 40%~80%^[2]。2001 年世界卫生组织(WHO)将伴有 t(8;21)(q22;q22)(AML1/ETO)的 AML 定义为独立亚型。在 AML 的危险度分层中,AML1/ETO 阳性

¹北京市道培医院(北京,100049)

通信作者:赵杰, E-mail: zhaojie329@126.com

往往被认为是预后较好的类型,通过化疗可取得良好的疗效,尤其是采用含有大剂量阿糖胞苷的治疗方案^[3],但越来越多的研究表明,并不是所有患者都能取得较好的治疗效果,现对我院收治的 83 例 AML1/ETO 阳性 AML 患者进行了回顾性分析,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

自 2003-06—2010-12 我院共检测到 AML1/ETO 阳性的 AML 患者 83 例,全部为住院患者,其中我院初治患者 23 例,外院治疗后来我院的患者 60 例(包括复发、难治患者 21 例,缓解患者 39 例),这 60 例患者在外院初诊和既往治疗资料主要来源于患者的出院小结。83 例患者均符合 WHO 分类的 AML1/ETO 的 AML,83 例患者中有患儿 22 例。

1.2 诊断分型

1.2.1 细胞形态学检查 骨髓和外周血涂片采用瑞特染色分类计数,并进行化学染色,包括过氧化酶(POX)、特异性酯酶(CE)、非特异性酯酶加氟化钠抑制试验(NSE 加 NaF)、中性粒细胞碱性磷酸酶染色(NAP)和糖原染色(PAS)等,参照 FAB 标准。

1.2.2 免疫分型检测 按照我院流式细胞室常规,采用活细胞间接荧光标记法,4 色流式细胞仪(美国 BD 公司,FACSCalibur 机型)进行检测。有伴其他系别标志的 AL,按照 EGIL 和 2008 版 WHO 诊断标准,将标志做全,进行评价。

1.2.3 分子生物学 分别于每个治疗前取 EDTA 抗凝的骨髓或外周血标本 2~3 ml,采用 TRIzol(Invitrogen 公司)试剂提取 $(1\sim 2)\times 10^6$ 个有核细胞总 RNA,用 Maxima 试剂盒(Fermentas 公司)反转录为 cDNA。

1.2.4 细胞遗传学分析 取患者骨髓 5 ml,进行 24 h 短期培养法,采用 G 显带技术进行核型分析,染色体核型描述参照 ISCN2005 的标准。

1.3 治疗

1.3.1 化疗 我院初治的患者(23 例)均采用含标准剂量的 Ara-C 的化疗方案进行诱导治疗,缓解后的患者(包括外院的 39 例)采用 4 个疗程以上中、大剂量 Ara-C 及含中、大剂量 Ara-C 方案($1\sim 3\text{ g/m}^2$, $3\sim 5\text{ d}$)化疗,复发或难治的患者来我院后采用 CAG、ANE、FLAG 或中、大剂量 Ara-C 等方案化疗。初治高白细胞患者($>100\times 10^9/\text{L}$),如血小板允许可行白细胞分离术,术后立即进行化疗。在缓解期间行鞘内注射共 4~6 次,预防中枢神经系统白血病。

1.3.2 造血干细胞移植 根据供着来源不同,分别接受同胞全相合、非血缘、半相合的异基因造血干细胞移植。疗效判定标准参考 2003 年 Cheson 等报道的国际协作组 AML 疗效判定标准。

1.4 随访

自患者确诊之日起进行随访,死亡病例随访至死亡日,随访时间截止 2011 年 1 月 30 日,中位随访时间为 14(2~91)个月。总体生存率(OS)指确诊之日至死亡或随访截至日的生存时间,无病生存(DFS)期指形态学完全缓解(CR)至白血病复发或至在 CR 期间死亡的时间。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 软件,生存期分析用 Kaplan-Meier 方法,并描绘生存曲线,生存资料的比较均采用 Log-rank 和 χ^2 检验,预后因素分析采用 COX 分析。

2 结果

2.1 临床特征

83 例 AML1/ETO 阳性的 AML 患者中男 56 例,女 27 例,中位年龄 20(4~61)岁。按 FAB 分型: M_2 75 例, M_4 5 例, M_1 、 M_5 及 MDS 转化白血病的各 1 例,入院前中位病程 5(1~36)个月。

初诊时有 62 例表现为乏力、面色苍白等贫血症状,48 例有发热症状,27 例出现鼻、牙龈、皮肤、黏膜等出血现象,肝、脾、淋巴结肿大 6 例,髓外浸润 17 例(20.4%),包括绿色瘤、皮肤、胃、肾、肺部、纵膈、宫颈浸润和中枢神经系统白血病的 5 例(6.0%)。

2.2 发病时白细胞

83 例患者发病时 WBC 中位数 $11.3(0.9\sim 319.0)\times 10^9/\text{L}$ 。 $>10\times 10^9/\text{L}$ 48 例(57.8%)(其中 $>30\times 10^9/\text{L}$ 12 例, $>50\times 10^9/\text{L}$ 3 例), $<10\times 10^9/\text{L}$ 35 例(42.1%)。

2.3 免疫分型

83 例患者中 74 进行了免疫表型检测,均为髓系表达,其中 45 例表达 CD56 抗原(60.8%),29 例表达 CD19 抗原(39.2%),14 例 CD19、CD56 抗原共表达(18.9%)。

2.4 基因检测

83 例患者均检测到 AML1/ETO 基因,其中有 4 例伴 EV11 融合基因表达,1 例伴 MLL/AF9 融合基因表达。

2.5 细胞遗传学分析

83 例 AML1/ETO 阳性的 AML 患者中有 79 例进行了染色体检查,其中 65 例(82.3%)有 $t(8;21)(q22;q22)$;3 例非 $t(8;21)$ 但有其他复杂染色体异常,为 -14 、 -10 、 -6 、 $+mar(1)$ 、 $del(8)$ 、 $del(11)$ 等异常;7 例染色体未见异常;4 例生长无分裂相。

在 65 例 $t(8;21)$ 异常的患者中:单独为 $t(8;21)$ 异位的有 28 例(43.1%),伴有附加染色体异常的 37 例(56.9%),其中包括 5 例(7.7%) $9q-$ 、19 例(29.2%)性染色体缺失($-Y$ 或 $-X$)和 13 例(20%)复杂染色体核型异常。

2.6 治疗结果

83 例 AML1/ETO 阳性的 AML 患者均完成了

1个疗程诱导化疗,1疗程获形态学缓解(CR)45例,2个疗程获CR 21例,总的诱导缓解率79.5%(共66例,2个疗程内CR),3个疗程或以上缓解的有16例(19.3%),66例缓解后的患者中有17例在6个月内复发,复发率25.8%;诱导化疗后放弃的1例,因化疗后复发或复发不缓解放弃治疗的有18例(19例患者均死亡);还有11例患者化疗后因复发、髓外浸润、感染等死亡,47例接受化疗的患者有17例存活,30例死亡。

83例患者中有36例进行了造血干细胞移植,这36例患者均具备下面一项或多项预后不良因素:发病时白细胞大于 $10 \times 10^9/L$ 21例(58.3%);并发髓外浸润11例(30.5%);表达CD56抗原16例(44.4%);染色体除t(8;21)异位外,伴有-Y或-X的9例,伴9q-的3例,伴有复杂异常的7例,无t(8;21)异位但有其他复杂异常的1例。

移植前骨髓的状态:处于CR1、CR2的分别是15例和9例,这24例患者虽然形态学处于缓解状态,但均具备以下一项或多项预后不良因素:①伴有性染色体及其他复杂染色体异常;②有髓外浸润;③ETO基因的定量持续升高等。其余12例为带瘤移植的患者。36例移植患者中有25例存活,中位生存时间21(1~100)个月,11例死亡,死亡的原因为移植后复发、感染和GVHD等。

至随访截止时,83例患者存活42例(包括单纯化疗17例,移植25例),死亡41例,中位生存期为26(2~113)个月,3年OS率64.2%,5年OS 42.6%;47例接受化疗的患者3年OS率36.4%,5年OS 32.9%;36例进行造血干细胞移植的患者3年OS率67.5%,5年OS 56.6%,二者比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)(见图1)。

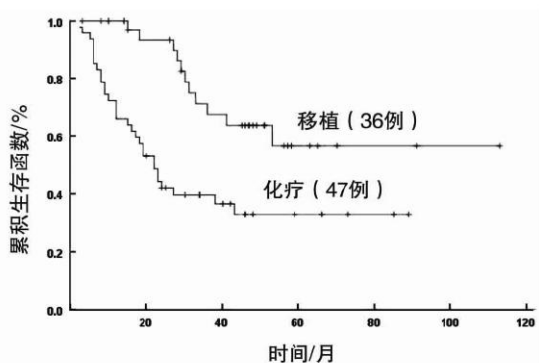


图1 采用异基因造血干细胞移植与接受化疗的AML1/ETO阳性AML患者OS比较

2.7 影响AML1/ETO阳性的AML患者预后因素分析

对患者的年龄、初诊时白细胞、有无髓外浸润、CD56是否表达、有无附加染色体以及治疗的选择进行了单因素分析。结果表明:患者的年龄、CD56是

否表达对OS率的影响差异无统计学意义,而初诊时白细胞数目、有无髓外浸润、有无附加染色体以及治疗的选择(化疗和移植)对OS率的影响差异有统计学意义(均 $P < 0.05$),采用异基因造血干细胞移植的患者的OS率明显高于接受化疗的患者($P < 0.01$)。

3 讨论

国内外病例报道AML1/ETO阳性的AML是预后较好的类型^[4-5],但近几年来通过深入的研究发现部分AML1/ETO阳性的患者长期生存和治愈率并不高,甚至预后较差。有学者报道在韩国人群中AML1/ETO阳性AML并不比AML1/ETO阴性表达的预后好(均采用含有大剂量阿糖胞苷4~6个疗程),故此认为非白种人要比白种人的治疗效果差^[16],这可能与不同种族白血病细胞存在生物多样性以及对化疗药物耐受性不同等因素有关。研究表明,初诊时高白细胞,有髓外浸润,免疫表型表达CD56,染色体有附加9q-和性染色体缺失等是t(8;21)预后不良的因素^[7-9],所以不能单凭是否具有t(8;21)来判断白血病的预后。

虽然文献报道使用含大剂量阿糖胞苷的化疗方案可使AML1/ETO阳性的AML诱导缓解率高达80%~90%,但因为有50%~80%的t(8;21)病例会同时伴有附加染色体异常,这类预后不良因素的存在使得AML1/ETO阳性AML患者虽然诱导缓解率高,但缓解后容易复发,而复发后的白血病细胞对化疗药物容易产生耐药,再缓解的概率大大减小,也使高危患者化疗后的生存率明显下降^[7,10]。我们的研究结果也表明,83例AML1/ETO阳性AML的患者合并预后不良因素的比例较高,如发病时髓外浸润占20.4%,白细胞大于 $10 \times 10^9/L$ 占57.8%,而染色体除t(8;21)异常外同时伴有附加染色体异常的占56.9%,故至少有一半以上的患者发病时并发有预后不良的因素,由于这些预后不良因素的存在,提示这些患者预后较差,虽然诱导缓解率达79.5%(与文献报道一致),但化疗后易复发、复发后难以达到再缓解,所以对于初治白血病的患者,特别是AML1/ETO阳性AML患者进行MICM的评估非常重要,有助于对预后因素进行分层及尽早制定治疗策略。本研究的83例AML1/ETO阳性的AML患者总体的生存率低于文献报道,这可能与下面因素有关:①83例患者中有60例是在外院治疗后来我院的,治疗中大剂量阿糖胞苷使用的剂量和疗程不够;②60例外院患者中复发难治的病例占21例,比例较高。

对于存在有预后不良因素的AML1/ETO阳性的AML患者,需要探索一条有效或者更积极的治疗,使更多患者获得长期生存。我院移植中心曾总结了24例AML1/ETO阳性的AML患者异基因造

血干细胞移植后的临床疗效,结果表明:移植后1、3年的OS分别是86.47%和69.00%显著高于文献报道的化疗患者^[11]。目前国内外有关AML1/ETO阳性的AML患者行异基因造血干细胞移植疗效的大宗病例报道较少,在本组83例AML1/ETO阳性的AML患者中有36例进行了造血干细胞移植,这些移植的患者均存在预后不良的因素(高危患者),如化疗后始终未达到分子学缓解(ETO基因持续升高),难治愈复发的病例,或虽化疗能达到缓解但伴有性染色体及其他复杂染色体异常,36例患者中25例存活,11例死亡,3年OS是67.5%,5年OS是56.6%,明显高于接受化疗的患者,因此异基因造血干细胞移植对AML1/ETO阳性的AML患者具有良好疗效,是具有高危因素患者的首选的治疗手段,本研究证明了这一治疗的价值。

本研究同样也对于AML1/ETO阳性AML的预后不良的因素研究进行了分析,与文献报道的相符,高白细胞、髓外浸润、附加染色体是AML1/ETO阳性AML的预后不良的因素,另外我们的结果也进一步证明了接受异基因造血干细胞移植患者与单纯化疗比较有较好的长期生存率。

研究表明,AML1/ETO融合蛋白在小鼠动物实验中并无致白血病作用,C-末端截短倒位的融合蛋白(AML1/ETO_{tr})却高度致白血病,而它的异构体AML1/ETO_{9a}融合蛋白几乎与AML1/ETO_{tr}完全相同,也具有较强的致白血病作用^[12-14]。近来的研究表明,伴t(8;21)AML患者中具有酪氨酸激酶信号通路的相关基因突变(包括FLT3、c-kit、c-FMS、N-ras、K-raft、JAK2基因突变),c-kit和基因突变的总发生率为26%~47%,而AML1/ETO_{9a}与c-kit突变的高度相关性进一步揭示了t(8;21)AML发病的分子机制^[15-16],从而为AML的预后评估提供了新的依据,同时对指导临床今后的治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] ROWLEY J D. Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia [J]. *Ann Geuet*, 1973, 16:109-112.
- [2] ZHOU G B, KANG H, WANG L, et al. Oridonin, a diterpenoid extracted from medicinal herbs, targets AML1-ETO fusion protein and shows potent antitumor activity with low adverse effects on t(801) leukemia in vitro and in vivo [J]. *Blood*, 2007, 109: 3441-3450.
- [3] PALLISGAARD N, HOKLAND P, RIISHOJ D C, et al. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia [J]. *Blood*, 1998, 92:574-588.
- [4] SLOVAK M L, KOPECKI K J, CASSILELH P A, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study [J]. *Blood*, 2000, 96: 4075-4083.
- [5] MROZEK K, HEINONEN K, BLCONLFIELD C D. Prognostic value of cytogenetic findings in adults with acute myeloid leukemia [J]. *Int J Hematol*, 2000, 72: 261-271.
- [6] LEE K W, CHOI I S, ROH E Y, et al. Adult patients with t(8;21) acute myeloid leukemia had no superior treatment outcome to those without t(8;21): a single institution's experience [J]. *Ann Hematol*, 2004, 83: 218-224.
- [7] 石红霞, 江滨, 丘镜莹, 等. 成人 t(8;21) 急性髓系白血病 M2 型治疗方案及预后分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2005, 26(8): 481-484.
- [8] BILLSTROM R, JOHANSSON B, FIORETOS T, et al. Poor survival of in t(8;21) (q22; q22) 2 associated acute myeloid leukaemia with leukocytosis [J]. *Eur J Haematol*, 1997, 59: 472-478.
- [9] 薛惠良, 陈静, 沈树红, 等. AML1-ETO 阳性的儿童急性髓系白血病疗效分析 [J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2010, 15(2): 62-64.
- [10] 李红艺, 岳寒, 魏旭东, 等. 含大剂量阿糖胞苷方案强化治疗 t(8;21) 和正常核型急性髓系白血病 M2 患者疗效比较 [J]. *中华血液学杂志*, 2008, 29(2): 110-112.
- [11] 殷宇明, 吴彤, 王静波, 等. 异基因造血干细胞移植治疗 AML1/ETO(+) 急性髓系白血病的疗效 [J]. *临床血液学杂志*, 2010, 23(5): 262-265.
- [12] LANCET J E, COJO I, GOFLIB J, et al. A phase study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in poor-risk and elderly patients with previously untreated acute myelogenous leukemia [J]. *Blood*, 2007, 109: 1387-1394.
- [13] 苗雨青, 陈子兴, 何军, 等. AML1/ETO_{9a} 异构体在 M₂ 型急性髓系白血病中表达的研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2007, 28(1): 27-29.
- [14] 曾慧敏, 郭晔, 竺晓凡, 等. t(8;21) 急性髓系白血病发病机制的研究进展 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18(6): 1632-1637.
- [15] SUSANNE S, TOBIAS M K, TORSTEN H, et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML areas associated with impaired event-free and overall survival [J]. *Blood*, 2006, 107: 1791-1799.
- [16] HANG D C, SHIH L Y, HUANG C F, et al. Different cooperating mutation patterns of receptor tyrosine kinase/Ras/JAK2 between de novo AML1-ETO and CBF-MYH11 acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2007, 110: 3487a-3492a.

(收稿日期:2011-10-05)