

dupMLL、HOX11 和 WT1 基因阳性急性髓系白血病并发胸膜浸润 1 例并文献复习

王诗轩¹ 陈智超¹ 周浩¹ 吴秋玲¹

[摘要] 目的:提高对伴 dupMLL、HOX11 WT1 基因阳性的急性白血病髓外浸润的认识。方法:报告 1 例伴 dupMLL、HOX11 和 WT1 基因阳性急性髓系白血病合并胸膜侵犯并对相关文献进行复习总结。结果:dupMLL、HOX11 和 WT1 基因阳性急性髓系白血病患者易并发髓外浸润,髓外侵犯部位可同时表达融合基因。结论:伴 dupMLL、HOX11、WT1 基因阳性的急性白血病有较高的髓外浸润率并且对常规化疗耐药,预后较差。

[关键词] 白血病,髓系,急性;dupMLL 基因;HOX11 基因;WT1 基因

[中图分类号] R733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2013)03-0180-04

Acute myeloid leukemia with pleural invasion expressing dupMLL, HOX11, and WT1 genes: case report and literature review

WANG Shixuan CHEN Zhichao ZHOU Hao WU Qiuling

(Institute of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Corresponding author: WU Qiuling, E-mail: wuqiuling@medmail.com.cn

Abstract Objective: In order to increase our understanding of acute myeloid leukemia with pleural invasion expressing dupMLL, HOX11, and WT1 genes. **Method:** One case of acute myeloid leukemia with pleural invasion expressing dupMLL, HOX11, and WT1 genes was reported and the literature was reviewed. **Result:** DupMLL, HOX11, and WT1 fusion genes may lead to high extramedullary infiltration where same genes were expressed. **Conclusion:** Acute myeloid leukemia patients expressing dupMLL, HOX11, and WT1 genes were accompanied by high extramedullary infiltration, resistance to routine chemotherapy, and poor prognosis.

Key words leukemia, myeloid, acute; dupMLL genes; HOX11 genes; WT1 genes

急性白血病是起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病,表现为骨髓中异常的原始细胞及幼稚细胞大量增殖,同时抑制正常造血,并广泛浸润相关组织器官。急性白血病常常伴有异常融合基因的形成。我科诊治 1 例伴有 dupMLL、HOX11 和 WT1 基因阳性的急性髓系白血病并同时出现胸膜浸润的患者,查阅国内外文献未见相关报道。该患者对常规化疗疗效欠佳,提示伴有 dupMLL、HOX11 WT1 基因阳性的急性髓系白血病有独特的临床特点,现报道如下。

1 病例资料

患者,男,55 岁,因“发热伴腹胀 10 d”于 2012 年 1 月 10 日入院。患者缘于 10 d 前无明显诱因出现发热,最高达 38.1℃,无畏寒、寒战,伴腹胀、纳差,无恶心、呕吐,无腹痛、腹泻,无咳嗽、咳痰、头晕。入当地医院诊治,给予相关抗生素治疗后体温稍有下降。查血常规示:WBC $61.35 \times 10^9/L$, RBC $3.12 \times 10^{12}/L$, Hb 105 g/L, PLT $62 \times 10^9/L$ 。门诊拟“急性白血病待查”收入我科。体检:中度贫血

貌,皮肤未见出血点,口腔黏膜无出血,咽部稍红,扁桃体不大,左侧颈部可触及一个约 0.8 cm × 1.0 cm 大小淋巴结,质中,无触痛,活动度可。心肺未见异常。胸骨无压痛,肝肋下二指,脾肋下二指。患者 2012 年 1 月 12 日骨髓像:骨髓增生活跃,原粒 54%,胞体大小不等,少数细胞可见 Auer 小体。幼红细胞占 14.5%,巨核细胞未见。外周血:原始细胞占 67%,免疫分型:异常细胞群占有核细胞的 53%,主要表达 HLA-DR、CD13、CD33、CD34、CD38、CD117、CD123、MPO、TdT。dupMLL、HOX11 和 WT1 融合基因阳性,MLL/AF6、MLL/AF10、MLL/ELL、MLL/AF9、MLL/AF17、AML/ETO、PLZF/RARα、PML/RARα、NPM/RARα CBFβ/MYH11、NPM/MLF1、TLS/ERG、DEK/CAN 和 EV11 阴性。胸部 CT 示:双侧肺气肿并双下肺少许感染,双侧胸腔少量积液,纵隔淋巴结无肿大。B 超示:肝脏肋下 3.7 cm,脾大。诊断:急性髓系白血病-M₂(AML-M_{2a})。患者在入院后经过羟基脲降低白细胞后使用 DA 方案(柔红霉素 45 mg · m⁻² · d⁻¹ × 3 d,阿糖胞苷 200 mg/d × 7 d)化疗。在化疗第 4 天患者出现高热伴咳嗽、

¹ 华中科技大学同济医学院附属协和医院血液病研究所(武汉,430022)

通信作者:吴秋玲, E-mail: wuqiuling@medmail.com.cn

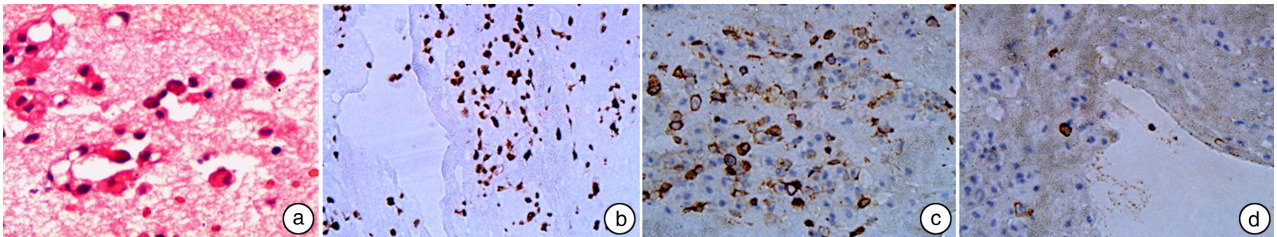
咳嗽,使用泰能、稳可信抗感染治疗,患者体温稍有下降,但患者逐渐出现胸闷、呼吸困难。复查胸部 CT 示左肺上叶舌段及双下肺感染,双侧胸腔积液,双下肺节段性不张,纵隔淋巴结无肿大。GM1. 2,遂加用伊曲康唑。患者咳嗽稍有缓解但仍觉胸闷、呼吸困难,B 超示双侧胸腔大量积液。在 B 超引导下行左侧胸腔穿刺,抽出黄色清亮胸水约 900 ml。术后在穿刺引流袋中发现一约 3.0 cm×3.0 cm 大小的囊泡样组织,粉红色(图 1),迅速送检细菌及病理学检查。胸水相关检查示:细胞学见少量淋巴细胞及间皮细胞。胸水常规示李凡他试验阴性,细胞总数 $490\times 10^6/L$,白细胞总 $5\times 10^6/L$,胸水生化示总蛋白 16.5 g/L,总胆固醇 0.53 mmol/L,LDH 391 U/L,ADA 54 U/L。抽出物真菌学检查阴性,病理学示:镜下见大片红染的渗出物及多量组织细胞、间皮细胞,其间可见个别核大浓染的细胞散在分布,免疫组织化学提示 HLA-DR(+)CD15(+)CD13(+)CD117(+)CD34(+)WT-1(部分+),考虑髓外白血病浸润。期间患者白细胞逐渐升高,最高达 $15.3\times 10^9/L$ 。在结束化疗后第 14 天复查骨髓示:骨髓增生活跃,粒系占 9.5%,原始细胞占 2.5%,偶见 Auer 小体,血片见原始细胞占 52.0%。在结束化疗第 21 天再次复查骨髓示:骨髓增生活跃,粒系占 6.0%,原始占 4.5%,幼红细胞占 90.5%,血片见原始细胞占 22.0%。患者血小板、血红蛋白逐渐恢复。遂给予标准 IA 方案化疗。化疗后第 14 天,查外周血发现原始细胞占 32%,骨髓原始粒细胞占 63.2%。提示难治性白血病。

2 讨论

恶性肿瘤是引起胸腔积液的常见原因,机制包括:①肿瘤细胞对胸膜的浸润,导致胸膜渗出增多;②肺部及纵隔淋巴结肿大导致的淋巴引流不畅;③胸导管受压迫阻塞也会造成乳糜胸。但是急性髓系白血病患者出现胸水的情况相对较少见。本例患者胸水脱落细胞中发现原始细胞,而且其免疫标记与骨髓中原始细胞完全一致,提示本例患者胸腔积液由白血病细胞对胸膜浸润导致。

该病例在就诊时出现胸腔积液并且在胸水中

发现了白血病细胞,而且多次检查发现骨髓原始细胞低于 5%的同时外周血中仍可检测到大量白血病细胞,提示该患者白血病细胞具有较强的侵袭性,这可能与该患者存在 dupMLL、HOX11、WT1 多种基因阳性密切相关。dupMLL 基因最早发现于 1994 年,位于染色体 11q23,全长 100 000 bp,由 36 个外显子组成,与果蝇的 thithorax 基因同源。对该区域基因的克隆分析显示在 MLL 基因 5'位置存在局部串联重复,这些串联重复由一些结构内的重复的外显子组成,导致翻译的转移。该基因是最早发现对于正常核型的 AML 的临床预后有帮助的基因。有 5%~10%的患者存在 dupMLL 基因异常,在这些患者中,有 30%~40%同时有 FLT3-ITD 基因突变。dupMLL 基因(MLL-PTD 基因)阳性的患者 CR 持续时间常常较短,所以认为 MLL-PTD 是一个对 CR 持续时间独立的预测因素^[1]。复习相关文献发现伴 MLL 基因异常的急性白血病常常有较独特的特征,如常见白细胞明显升高和较多的髓外浸润,髓外浸润可表现为髓外单核细胞肉瘤、牙龈肿胀或皮肤浸润性包块,肝、脾、淋巴结肿大及中枢神经系统受累等^[2]。研究也发现 MLL 基因与白血病细胞的侵袭性密切相关。Li 等^[3]利用具有 MLL 基因重排产生 MLL-AF4 融合基因的 1 例 AML-M_{5b} 患者的白血病细胞建立了 SHI-1 人单核细胞白血病细胞系,此细胞系具有高度的致瘤性,通过它可建立裸鼠中枢神经系统白血病及多器官浸润模型。将 SHI-1 人单核细胞白血病细胞系与白血病患者骨髓基质细胞共同培养发现,SHI-1 细胞的 MMP-2、MMP-9、TIMP-2 和 CXCR4 mRNA 以及无血清上清液中 SDF-1 的含量均有显著提高,而 SDF-1 已被证实能促进基质金属蛋白酶的分泌^[4]。而且,这些 SHI-1 细胞跨 matrigel 侵袭能力显著提高,提示其髓外浸润能力更强^[5]。其他研究也证实白血病的髓外浸润与基质金属蛋白酶(MMP)有关,尤其是 MMP-2、9^[6]。这说明 dupMLL 基因异常可能引起患者髓血屏障的破坏,从而导致白血病细胞大量释放到外周血,这可能部分解释本患者 2 次化疗均出现骨髓中原始细胞低于 6%,而外周血中出现大量原始细胞的现象。



a:组织学检查示大量核大、核染色质较深的细胞浸润;b:CD15;c:CD13;d:CD34

图 1 组织物免疫组织化学染色 苏木精-伊红×40

目前发现 HOX 基因参与造血的调控,与恶性血液病密切相关,研究认为 HOX11 基因阳性的急性白血病患者化疗效果差,完全缓解期短,且极易复发,但是具体机制并不清楚。HOX11 原癌基因位于 10q24,是 homeobox 家族成员之一,通过 homeobox 区与 DNA 结合发挥作用,在多细胞机体的分化途径中起关键作用,该基因的突变或异常表达都将引起有机体分化发育缺陷^[7]。Kawabe 等^[8]发现 HOX11 可与磷酸化酶蛋白 PP2A 和 PPI 相互作用,破坏 G₂/M 细胞周期检测点的作用,从而使异常细胞进入有丝分裂而大量增殖。HOX11 是一种致癌性转录因子,可能在白血病发生过程中起重要作用。MLL 蛋白是 HOX 基因的上游转录调控因子,目前已有报道部分 HOX11 原癌基因的活化与 MLL 基因有关,当 MLL 蛋白功能异常时,HOX 基因表达下调,从而影响正常的造血生成。其他研究证实 dupMLL 表达患者 HOX11 过度激活^[9]。Saivati 等^[10]报道了 11 例存在 HOX11 原癌基因活化的白血病标本伴有 dupMLL,因此推测该基因的活化很可能是 MLL 基因异常活化的结果。此患者同时存在 dupMLL 和 HOX11 基因阳性也说明二者存在密不可分的关系,并可能进一步增强了 MLL 蛋白的功能,这是否与患者白血病细胞极强的侵袭性有关还有待进一步研究的证实。

WT1 基因(Wilms tumor)定位于 11p13,是从 Wilms 瘤细胞分离出来的肿瘤基因,约 77.0% 人类白血病细胞中表达,WT1 持续表达可使白血病细胞分化受阻,促进其增殖,从而参与白血病的发展^[11]。WT1 突变对于预后的影响还存在一定争论,但是大部分研究者认为其与较差的预后有关。目前发现 WT1 基因与肿瘤的转移有关。Lee 等^[12]对 95 例转移腺癌进行分析时,在行脱落细胞学检查发现转移癌的 21 例病例的肿瘤细胞中 WT1 表达接近 100%。Barbolina 等^[13]研究证实通过把卵巢癌细胞株 DOV13 和 OVCA433 和三型胶原蛋白共同培养时,细胞中 WT1 mRNA 表达增强。当用 siRNA 抑制 WT1 的表达后,卵巢癌细胞对 3 型胶原蛋白的侵犯能力下降 30%~40%。这反映了 WT1 在肿瘤进展和转移过程中有其独特的地位。WT1 是 EGR 基因家族的重要成员,而 EGR 基因可以上调 MMP-1 的表达从而降解胶原蛋白。所以 WT1 可能通过上调 MMP 的表达来促进肿瘤的转移。部分研究证实 WT1 基因与 β 整合素之间存在联系^[14-15]。WT1 基因转录的蛋白能激活 β 整合素 Tcf/Lef 信号通路,促进肿瘤细胞的浸润和转移。同时也有人认为 WT1 能激活 $\alpha 4$ 整合素,重建细胞骨架,促进细胞粘附^[16]。这充分说明 WT1 在肿瘤进展和转移过程中有重要的地位。

本例病例同时出现 dupMLL、HOX11 和 WT1

基因阳性,两次标准剂量化疗均未达完全缓解,临床经过呈很强的侵袭性,综述文献提示该患者临床表现可能与多种、复合基因异常有关。此类患者预后极差,常规化疗缓解率低,深入探讨其发病机制同时寻找分子靶向药物对于提高此类患者的疗效具有重大意义,值得进一步探索。

参考文献

- [1] DÖHNER K, TOBIS K, ULRICH R, et al. Prognostic significance of partial tandem duplications of the MLL gene in adult patients 16 to 60 years old with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the Acute Myeloid Leukemia Study Group Ulm[J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 3254-3261.
- [2] BEHM F G, RAIMONDI S C, FRESTEDT J L, et al. Rearrangement of the MLL gene confers a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia, regardless of presenting age[J]. Blood, 1996, 87: 2870-2877.
- [3] LI Z J, CHEN Z X, LU J, et al. Establishment of a nude mice model of human monocytic leukemia with CNS and multiorgans extramedullary infiltration[J]. Eur J Haematol, 2006, 77: 128-133.
- [4] JANOWSKA-WIECZOREK A, MARQUEZ L A, DOBROWSKY A, et al. Differential MMP and TIMP production by human marrow and peripheral blood CD34(+) cells in response to chemokines[J]. Exp Hematol, 2000, 28: 1274-1285.
- [5] 李振江, 陈子兴, 黄明德, 等. 白血病骨髓基质细胞促进 SHI-1 细胞体外侵袭及其机制探讨[J]. 肿瘤, 2008, 28(12): 1081-1085.
- [6] JANOWSKA-WIECZOREK A, MARQUEZ L A, MATSUZAKI A, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and -9) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and -2) in acute myelogenous leukaemia blasts: comparison with normal bone marrow cells[J]. Br J Haematol, 1999, 105: 402-411.
- [7] KENNDY M A, GONZALEZ-SARMIENTO R, KEES U R, et al. HOX 11, a homeobox containing T-cell oncogene on human chromosome 10q24[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 8900-8904.
- [8] KAWABE T, MUSLIN A J, KORSMEYER S J, et al. HOX II interacts with protein phosphatases PP2A and PPI and disrupts a G2/M cell cycle checkpoint[J]. Nature, 1997, 385: 454-458.
- [9] RUBNITZ J E, RAIMONDI S C, TONG X, et al. Favorable impact of the t(9,11) in childhood acute leukemia[J]. J Clin Oncol, 2002, 20: 2302-2309.
- [10] SAIVATI P D, RANFORD P R, FORD J, et al. HOX-11 expression in pediatric acute lymphoblastic leukemia is associated with T-cell phenotype [J]. Oncogene, 1995, 11: 1333-1338.

proved outcome in central nervous system aspergillosis, using voriconazole treatment[J]. *Blood*, 2005, 106: 2641—2645.

[3] KLEINSCHMIDT DEMASTERS B K. Central nervous system aspergillosis; a 20-year retrospective series [J]. *Hum Pathol*, 2002, 33: 116—124.

[4] JANTUNEN E, VOLIN L, SALONEN O, et al. Central nervous system aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 31: 191—196.

[5] OKAFUJI T, YABUUCHI H, NAGATOSHI Y, et al. CT and MR findings of brain aspergillosis [J]. *Comput Med Imaging Graph*, 2003, 27: 489—492.

[6] MASCHKE M, DIETRICH U, PRUMBAUM M, et al. Opportunistic CNS infection after bone marrow transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 23: 1167—1176.

[7] ERDOGAN E, BEYZADEOGLU M, ARPACI F, et al. Cerebellar aspergillosis; case report and literature review [J]. *Neurosurgery*, 2002, 50: 874—877.

[8] LIAPIS K, MANAKA K, BALTADAKIS I, et al. Cerebral aspergillosis [J]. *Eur J Haematol*, 2009, 82: 327—328.

[9] HIDRON A I, GONGORA M C, ANDERSON A M, et al. Prolonged survival of a patient with AIDS and central nervous system aspergillosis [J]. *Med Mycol*, 2009, 47: 327—330.

[10] VISCOLI C, MACHETTI M, GAZZOLA P, et al. Aspergillus galactomannan antigen in the cerebrospinal fluid of bone marrow transplant recipient with probable cerebral aspergillosis [J]. *J Clin Microbiology*, 2002, 40: 1496—1499.

[11] WEBER C, SCHAPER J, TIBUSSEK D, et al. Diagnostic and therapeutic implications of neurological complications following paediatric haematopoietic stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 41: 253—259.

[12] KOMATSU H, FUJISAWA T, INUI A, et al. Molecular diagnosis of cerebral aspergillosis by sequence analysis with panfungal polymerase chain reaction [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2004, 26: 40—44.

[13] LACERDA J F, MARTINS C, CARMO J A, et al. Invasive aspergillosis of the central nervous system after allogeneic stem cell transplantation [J]. *J Infect*, 2005, 51: e191—194.

[14] YAMADA K, SHRIER D A, RUBIO A, et al. Imaging findings in intracranial aspergillosis [J]. *Acad Radiol*, 2002, 9: 163—171.

[15] SCHWARTZ S, RUHNKE M, RIBAUD P, et al. Poor efficacy of amphotericin B-based therapy in CNS aspergillosis [J]. *Mycoses*, 2007, 50: 196—200.

[16] SCHWARTZ S, REISMAN A, TROKE PF, et al. The efficacy of voriconazole in the treatment of 192 fungal central nervous system infections; a retrospective analysis [J]. *Infection*, 2011, 39: 201—210.

(收稿日期: 2012-07-18 修回日期: 2012-08-20)

(上接第 182 页)

[11] INOUE K, SUGIYAMA H, OGAWA H, et al. WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia [J]. *Blood*, 1994, 84: 3071—3079.

[12] LEE B H, HECHT J L, PINKUS J L, et al. WT1, Estrogen receptor and progesterone receptor as markers for breast or ovarian primary site in metastatic adenocarcinoma to body fluids [J]. *Am J Clin Pathol*, 2002, 117: 745—750.

[13] BARBOLINA M V, SHEA L D, ADLEY B P, et al. Wilms tumor gene protein 1 is associated with ovarian cancer metastasis and modulates cell invasion [J]. *Cancer*, 2008, 112: 1632—1641.

[14] FUKUZAWA R, HEATHCOTT R W, SANO M, et al. Myogenesis in Wilms' tumors is associated with mutations of the WT1 gene and activation of Bcl-2 and the Wnt signaling pathway [J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2004, 7: 125—137.

[15] LI C M, KIM C E, MARGOLIN A A, et al. CTNNB1 mutations and overexpression of Wnt/beta-catenin target genes in WT1-mutant Wilms' tumors [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165: 1943—1953.

[16] KIRSCHNER K M, WAGNER N, WAGNER K D, et al. The Wilms tumor suppressor Wt1 promotes cell adhesion through transcriptional activation of the alpha4 integrin gene [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 31930—31939.

(收稿日期: 2013-01-05)