

论著·临床研究

具有不同融合基因的 B 系 急性淋巴细胞白血病患儿的临床特征分析

左英熹 张乐萍 陆爱东 王彬 刘桂兰

(北京大学人民医院儿科, 北京 100044)

[摘要] **目的** 分析具有不同融合基因的 B 系急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)患儿的临床特征、分子遗传学特征与免疫分型和预后之间的差异。**方法** 总结 2006 年 3 月至 2008 年 12 月北京大学人民医院儿科收治的 B 系 ALL 患儿 80 例,其中 TEL/AML1 阳性组 18 例、E2A/PBX1 阳性组 14 例、BCR/ABL 阳性组 11 例、MLL/AF4 阳性组 2 例及 4 种融合基因均阴性的患儿 35 例,总结其临床特征、形态学、免疫分型及分子生物学、染色体等相关资料,并分析各组患儿的无病生存率(DFS),随访时间至 2009 年 4 月。**结果** TEL/AML1 阳性组中,年龄≤5 岁的患儿占 66.7%,发病时的肿瘤负荷不高,形态学以 FAB-L2 型多见,而染色体核型均未见 t(12;21)的异常,长期预后好,至今有 17 例患儿达到无病生存;14 例 E2A/PBX1 阳性组中,女性患儿多见,其中 13 例患儿形态学表现为 FAB-L1 型,12 例患儿的免疫分型为前 B 细胞型,DFS 接近 80%;11 例 BCR/ABL 阳性患儿中 10 例免疫分型为普通 B 细胞型,FAB-L1 和 L2 型各 4 例。DFS 不足 20%;而 MLL/AF4 阳性的 2 例患儿发病时肿瘤负荷均高,形态学均为 FAB-L1 型,免疫分型均为早前 B 细胞型。1 例化疗早期放弃治疗,另 1 例至今已无病生存达 21 个月。**结论** 具有不同融合基因的患儿,其临床特征、免疫分型及预后等方面具有显著差异。

[中国当代儿科杂志,2010,12(3):172-176]

[关键词] 急性淋巴细胞白血病;融合基因;儿童

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)03-0172-05

Clinical characteristics of children with B cell type acute lymphoblastic leukemia carrying different fusion gene

ZUO Ying-Xi, ZHANG Le-Ping, LU Ai-Dong, WANG Bin, LIU Gui-Lan. Department of Pediatrics, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China (Email: zuoyingxi800310@sohu.com)

Abstract: Objective To investigate whether there were differences in the clinical characteristics, cytogenetic characteristics, immunophenotype and prognosis in children with B cell type acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) carrying different fusion genes. **Methods** The research included 80 children with B-ALL from Peking University People's Hospital between March 2006 and December 2008. Eighteen children were positive for TEL/AML1, 14 for E2A/PBX1, 11 for BCR/ABL, and 2 cases for MLL/AF4, and 35 cases were negative for all of the 4 fusion genes. Data including clinical characteristics, morphology, immunophenotype and cytogenetic characteristics were collected, and the disease-free survival (DFS) was evaluated. The children were followed up until April 2009. **Results** In the 18 children with TEL/AML1⁺ B-ALL, 66.7% were younger than 5 years old. They had low tumor load. FAB-L2 morphology was commonly observed, but t(12;21) was often absence in these children. Up to now, 17 children who survived were disease-free. In the 14 children with E2A/PBX1⁺ B-ALL, the majority were female. Thirteen children showed FAB-L1 morphology. Twelve children showed pre-B-ALL immunophenotype. The EFS was close to 80%. In the 11 children with BCR/ABL⁺ B-ALL, 10 children showed common B type immunophenotype. FAB-L1 and FAB-L2 morphology was found in 4 children respectively. The DFS was less than 20%. Two children with MLL/AF4 positive B-ALL had high tumor load. Their morphologic diagnosis was FAB-L1. Both showed the Pro-B-ALL immunophenotype. One child discontinued treatment at the early stage of chemotherapy, and the other child survived disease-free until now. **Conclusions** The B-ALL children with different fusion genes have different clinical characteristics, immunophenotypes and prognosis.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12(3):172-176]

Key words: Acute lymphoblastic leukemia; Fusion gene; Child

急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukaemia, ALL)是以淋巴细胞克隆性增殖为特征的恶性肿瘤性疾病,占有儿童时期白血病的80%^[1]。白血病相关融合基因的研究不但在分子水平上进一步阐明了白血病的发病机制,更为临床评价治疗效果、判断预后、制订个体化的化疗方案提供了科学的依据。为研究具有不同融合基因的B系ALL患儿的临床特征,对我科收治的B系ALL患儿的临床特征进行总结,分析其临床特征、分子遗传学特征与免疫分型和治疗反应之间的关系。

1 资料和方法

1.1 对象及分组

2006年3月至2008年12月,北京大学人民医院儿科收治的B系ALL患儿,其中具有TEL/AML1融合基因的ALL患儿(TEL/AML1阳性组)18例,最小年龄2岁,最大年龄13岁5个月,中位年龄3岁5个月;具有E2A/PBX1融合基因的ALL患儿(E2A/PBX1阳性组)14例,最小年龄11个月,最大年龄15岁6个月,中位年龄8岁5个月;具有BCR/ABL融合基因的ALL患儿11例(BCR/ABL阳性组),最小年龄1岁11个月,最大年龄13岁7个月,中位年龄9岁2个月;具有MLL/AF4融合基因的ALL患儿(MLL/AF4阳性组)2例,年龄分别为13岁9个月和5个月。另外,选取于本科初治且长期随访的以上4种融合基因均阴性的B系ALL患儿(阴性组)35例,最小年龄1岁4个月,最大年龄15岁2个月,中位年龄5岁9个月。

所有患儿的诊断与分型均采用MICM分型,即形态学、免疫学、细胞遗传学及分子生物学分型。从完全缓解(complete remission, CR)后计算长期无病生存率(disease-free survival, DFS),随访时间至2009年4月。所有于本科初治的患儿的化疗均严格按照本研究所所述的化疗方案进行,化疗前均已征得患儿家属的知情同意。

1.2 治疗方法

采用改良的德国柏林-法兰克福-蒙斯特(BFM)方案,具体方案参考殷慧君主编的《小儿急性白血病的化学治疗》中的方案^[2]。

1.3 检查方法

1.3.1 形态学检查 骨髓及血涂片经瑞氏染色分类,同时进行髓过氧化物酶(POX)染色。

1.3.2 免疫学检查 取EDTA抗凝骨髓2 mL(标本中原始及幼稚细胞≥30%),分离单个核细

胞,用四色荧光(四种荧光素分别为FITC、PE、APC、PerCP)直接免疫标记法进行免疫分型检测,以幼稚细胞群中抗原表达细胞>20%作为阳性。

1.3.3 分子生物学检测 对初治时骨髓标本,采用反转录PCR(RT-PCR)方法对4种融合基因进行定性或定量检测;巩固化疗及停药后随访期间,定期采取骨髓标本对初治时阳性的融合基因进行定量检测。同时采用巢氏PCR方法对初治时骨髓标本的T细胞受体δ(TCRδ)和免疫球蛋白重链(IgH)的基因重排进行定性检测。

1.3.4 染色体检查 取肝素抗凝骨髓5 mL,经24 h培养G显带方法进行检测。

1.4 统计学分析

应用SPSS 16.0软件进行统计学分析。资料采用t检验,计数资料采用χ²检验及采用K-M法进行生存分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

所有患儿均经RT-PCR检测,其中无同时表达2种或2种以上融合基因者。

2.1 临床特点

2.1.1 性别与发病年龄 各组患儿的性别构成及年龄分布情况见表1。TEL/AML1阳性组中年龄≤5岁的患儿占66.7%,明显高于TEL/AML1阴性的患儿(χ²=4.405, P=0.036);且TEL/AML1阳性的7例女性患儿的年龄均≤5岁。另外,E2A/PBX1阳性组中女性患儿的比例也明显高于E2A/PBX1阴性的患儿(χ²=5.283, P=0.022)。

表1 各组患儿的性别构成及年龄分布 [例数(%)]

分组	总例数	男	女	≤5岁	>5岁
阴性组	35	22(62.9)	13(37.1)	16(45.7)	19(54.3)
TEL/AML1 阳性组	18	11(61.1)	7(38.9)	12(66.7)	6(33.3)
E2A/PBX1 阳性组	14	4(28.6)	10(71.4)	5(35.7)	9(64.3)
BCR/ABL 阳性组	11	7(63.6)	4(36.4)	2(18.2)	9(81.8)
MLL/AF4 阳性组	2	1(50)	1(50)	1(20)	1(20)

2.1.2 发病时浸润情况 各组患儿发病时的外周血白细胞数(WBC)水平见表2。TEL/AML1阳性组中,发病时WBC计数>25×10⁹/L者仅占11.1%,与阴性组相仿;E2A/PBX1阳性组和BCR/ABL阳性组中发病时WBC计数>25×10⁹/L者分别占57.2%和45.4%;而MLL/AF4阳性组的2例患儿发病时的WBC计数均>50×10⁹/L,明显高于其他各组;各组间发病时的外周血WBC水平差异有统计学意义(χ²=25.170, P=0.003),而HGB及PLT水平均差异无统计学意义。

表 2 各组患儿发病时的外周血 WBC 水平 [例数(%)]

分组	总例数	≤10×10 ⁹ /L	(10~)×10 ⁹ /L	(25~50)×10 ⁹ /L	>50×10 ⁹ /L
阴性组	35	20(57.1)	10(28.6)	3(8.6)	2(5.7)
TEL/AML1 阳性组	18	10(55.6)	6(33.3)	0(0)	2(11.1)
E2A/PBX1 阳性组	14	1(7.1)	5(35.7)	4(28.6)	4(28.6)
BCR/ABL 阳性组	11	4(36.4)	2(18.2)	2(18.2)	3(27.2)
MLL/AF4 阳性组	2	0(0)	0(0)	0(0)	2(100)

脏器浸润情况:TEL/AML1 阳性组的 18 例患儿中,仅 2 例存在严重的肝脾浸润(超过肋缘下 5 cm),且无淋巴结肿大直径≥2.5 cm 者;BCR/ABL 阳性组的患儿中,有 3 例存在严重的肝脾浸润(超过肋缘下 5 cm),其中 1 例同时伴有淋巴结肿大直径≥2.5 cm;E2A/PBX1 阳性组及 MLL/AF4 阳性组严重肝脾浸润发生的比例分别为 42.9% 和 50%;而阴性组则高达 54.3%。各组之间肝脾浸润的发生率差异有统计学意义($\chi^2=10.715, P=0.021$)。本组病例中,未见有皮肤粘膜、中枢神经系统、睾丸及其他部位浸润的情况发生。

2.2 形态学特点

全部 80 例患儿均经形态学诊断为 ALL,POX 染色均为阴性。各组患儿按照 FAB 分型进行形态学诊断的结果见表 3。TEL/AML1 阳性组中 L2 型所占的比例明显高于 TEL/AML1 阴性组($P=0.004$),E2A/PBX1 阳性组中 L1 型所占的比例明显高于 E2A/PBX1 阴性组($\chi^2=6.221, P=0.013$),而 MLL/

AF4 阳性组中的 2 例患儿均为 L1 型。

2.3 免疫表型的特点

全部 80 例患儿均经免疫分型诊断为 B 系 ALL,各组患儿免疫分型诊断的结果见表 3。E2A/PBX1 阳性组中前 B 细胞型所占的比例明显高于 E2A/PBX1 阴性的患儿($P<0.001$),而在本组 25 例前 B 细胞型的患儿中,E2A/PBX1 阳性者所占的比例也高达 48%。BCR/ABL 阳性组中普通 B 细胞型所占的比例明显高于 BCR/ABL 阴性的患儿($P=0.043$),而 MLL/AF4 阳性组中的 2 例患儿均为早前 B 细胞型。

各种抗原的表达率在各组患儿中亦有不同,全部患儿中,除 1 例仅表达 CD10 和 HLA-DR,无法进一步分型外,其余患儿均表达 CD19。E2A/PBX1 阳性组患儿 cIgM 的表达率明显高于 E2A/PBX1 阴性的患儿($P<0.001$),且均缺乏 CD34 的表达;而 MLL/AF4 阳性组患儿均缺乏 CD10、CD20 的表达,同时缺乏 CD13、CD117 等髓系抗原的表达。见表 4。

表 3 各组患儿的形态学及免疫分型诊断结果 (例数)

总例数	FAB 分型				免疫分型			
	L1	L2	L3	未分型	前 B	普通 B	早前 B	不能分型
阴性组	35	27	6	0	2	7	25	3
TEL/AML1 阳性组	18	7	10	1	0	5	12	0
E2A/PBX1 阳性组	14	13	1	0	0	12	2	0
BCR/ABL 阳性组	11	4	4	0	3	1	10	0
MLL/AF4 阳性组	2	2	0	0	0	0	2	0

表 4 各组患儿白细胞抗原表达情况 (例数)

总例数	CD ₁₉	CD ₃₄	CD ₁₀	CD ₂₂	CD ₉	CD ₄₅	CD ₃₃	CD ₅₆	cIgM	CD ₁₁₇	CD ₁₃	CD ₂₀	TdT
阴性组	35	35	33	32	31	30	15	3	8	7	1	1	8
TEL/AML1 阳性组	18	17	16	18	17	11	9	3	4	5	3	1	3
E2A/PBX1 阳性组	14	14	0	14	14	10	10	0	5	12	1	0	2
BCR/ABL 阳性组	11	11	9	11	9	6	5	3	1	1	0	3	3
MLL/AF4 阳性组	2	2	2	0	2	2	1	0	1	0	0	0	0

2.4 细胞遗传学特点

TEL/AML1 阳性组中 14 例患儿进行了染色体检查,6 例核型异常,其中 2 例存在复杂畸形,但均未见 t(12;21)。E2A/PBX1 阳性组中 11 例患儿行

染色体检查,6 例核型异常,其中 5 例存在 t(1;19)(平衡易位 1 例,非平衡易位 4 例),另外 1 例为假二倍体。BCR/ABL 阳性组中行染色体检查的 7 例患儿中,6 例核型异常,且均发现 t(9;22),其中 4 例为

平衡易位,2例为非平衡易位。MLL/AF4 阳性组的2例患儿中,1例核型正常,另外1例发现t(4;11)的畸形。

2.5 分子生物学特点

2.5.1 融合基因表达水平 TEL/AML1 阳性组的18例患儿的初治标本中2例定性检测为阳性。进行定量检测的16例患儿其初治时 TEL/AML1 表达水平为 5.2% ~ 478.6%,平均值为 213.2%。E2A/PBX1 阳性组的14例患儿的初治标本中2例定性检测为阳性。进行定量检测的12例患儿其初治时 E2A/PBX1 表达水平为 275.4% ~ 1503.6%,平均值为 739.5%。而 BCR/ABL 阳性组中获得初治时标本的7例患儿的 BCR/ABL 表达水平为 29.2% ~ 92.4%,平均值为 50.2%。MLL/AF4 阳性组的2例患儿亦存在融合基因低表达的情况。

2.5.2 融合基因表达与 TCRδ 和 IgH 重排的关系 本研究的全部患儿中,TCRδ 重排的发生率为 38.8%,IgH 重排的发生率为 67.2%。但各组患儿间两种基因重排的发生率差异无统计学意义。

2.6 疗效及转归

2.6.1 早期治疗反应 在诱导化疗结束时,80例患儿除1例诱导化疗中途放弃治疗外,完全缓解率(CR)达100%。TEL/AML1 阳性组的18例患儿中,13例的 TEL-AML1 转阴,另外5例的微小残留病(MRD)水平为 0.0049% ~ 0.24%;E2A/PBX1 阳性组的14例患儿也均获得CR,其中8例基因转阴,另外6例的MRD水平为 0.0098% ~ 22%。而 BCR/ABL 阳性组中的9例随访患儿中,仅1例于诱导化疗结束后基因检测阴性,另外8例的MRD水平为 0.024% ~ 12.3%。

2.6.2 远期疗效 对各组患儿进行 K-M 生存分析,TEL/AML1 阳性组中除1例化疗2疗程后放弃外,至今均长期无病生存,无复发,TEL/AML1 持续阴性。E2A-PBX1 阳性组中2例于化疗5~6个月时 E2A-PBX1 转阳,骨髓复发,另1例行造血干细胞移植治疗,其余均只应用化疗,现无病生存4~29个月,E2A-PBX1 持续阴性。而 BCR/ABL 阳性组中,除1例化疗早期放弃治疗外,7例于化疗同时给予口服格列卫(STI571)治疗,BCR/ABL 基因的拷贝数可减低,5例随后行造血干细胞移植,另外2例于化疗7~8个月时复发。未接受格列卫治疗的3例患儿中,2例分别于诱导缓解后13个月和36个月出现分子复发,另外1例目前已化疗5个月,融合基因转阴。MLL/AF4 阳性组的2例患儿中1例化疗早期放弃治疗,另1例为婴儿型白血病患者,至今已无

病生存达21个月。见图1。

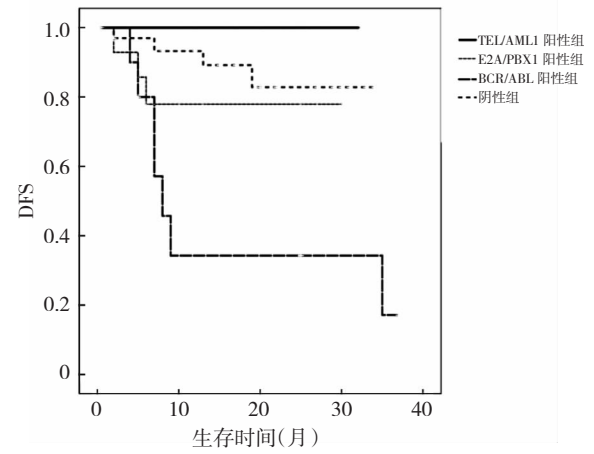


图1 各组患儿的 K-M 生存分析曲线

3 讨论

目前国际上公认的白血病的诊断方法为 MICM 分型诊断,包括形态学、免疫分型、细胞遗传学及分子生物学分型。白血病细胞的细胞遗传学及分子特征不仅有利于理解 ALL 的发病机理,对于治疗上按照不同的危险程度进行分组亦具有十分重要的意义。由于经济条件及技术水平的限制,白血病的细胞遗传学及分子生物学检测在我国尚未普及。因此,通过患儿的临床特征推测其可能的分子生物学特征,对于减少白血病患儿的检测费用,并指导临床治疗及判断预后有一定的积极作用。

t(12;21)(p12;q22)是 ALL 中最常见的染色体重排,导致位于 12p12 的 TEL(translocation-Ets-leukemia)基因与位于 21q22 的 AML1 基因相融合,该融合基因在 B 系 ALL 患儿中的发生率约为 25%^[3],我国的研究结果显示其发生率为 22.8%^[4]。一般认为 TEL/AML1 融合基因阳性患儿预后良好,长期 DFS 超过 80%,临床上也已将 TEL/AML1 融合基因阳性列为 ALL 患儿低危的指标之一^[5]。t(1;19)(q23;p13)形成的 E2A/PBX1 融合基因是与前 B 细胞型 ALL 密切相关的一种染色体改变,其发生率约为 2.3%,这种染色体易位存在平衡型 t(1;19)(q23;p13)和非平衡型 der(19)t(1;19)(q23;p13)两种形式,研究认为这种易位往往提示预后不良,但具有非平衡型易位的患儿的预后明显好于平衡易位的患儿^[6]。t(9;22)形成的 m-BCR/ABL 融合基因在儿童 ALL 中的发生率不超过 3%,且随年龄增长而逐渐增高,这种染色体易位也主要见于 B 系 ALL,是提示预后不良的独立预后因素^[7]。包含 MLL 基因

的染色体重排在婴儿 ALL 中的发病率接近 85% , 其中最多见的是 t(4;11) 形成的 AF4/MLL 融合基因, 而在年长儿中该染色体易位的发生率明显减低, t(4;11) 与早前 B 细胞型 ALL 关系非常密切, 同样提示预后不良^[6]。本研究结果显示, TEL/AML1 阳性组的患儿其长期 DFS 明显优于其他各组; E2A/PBX1 阳性患儿的长期 DFS 与阴性组患儿相仿, 接近 80% ; 而 BCR/ABL 阳性组的患儿长期预后差, 长期 DFS 不足 20% 。而 MLL/AF4 阳性组患儿例数少, 尚不足以判断远期疗效。

本研究发现, 年龄 ≤ 5 岁的女性患儿发病时肿瘤负荷不高, 且形态学为 FAB-L2 型, 其 TEL/AML1 阳性的可能性比较大; 而对于女性年长儿, 发病时外周血白细胞计数高, 形态学为 FAB-L1 型, 免疫分型为前 B 细胞型, 则应考虑到 E2A/PBX1 阳性的可能; BCR/ABL 阳性患儿男孩多见, 发病时肿瘤负荷高, 且免疫分型多为普通 B 细胞型; 而 MLL-AF4 阳性患儿发病时外周血白细胞计数均显著增高, 而肝脾淋巴结浸润不显著, 且免疫分型均为早前 B 细胞型。因此, 我们在临床上可通过患儿的临床特征, 有针对性的进行相应融合基因的检测。

目前白血病相关融合基因的检测方法主要有细胞遗传学方法及 PCR 技术。常规染色体核型分析的阳性率低, 而 PCR 技术检测白血病相关融合基因是比较有效且敏感的方法。从本研究的结果中可以看出, 35 例进行了染色体核型分析的融合基因阳性患儿中, 仅 20 例检出染色体异常, 而与融合基因相应的染色体重排的检出率仅为 37. 1% 。尤其对于

TEL/AML1 阳性患儿, 常规染色体核型分析均未发现 t(12;21) (p12;q22) 的异常, 说明融合基因的检测对于发现这类患儿具有无法取代的优势。

如前所述, 融合基因是白血病 MICM 分型诊断中必不可少的分子生物学标记物, 临床上已作为儿童 ALL 危险度分组的重要指标之一。本研究寻求患儿发病时的临床特征与不同融合基因之间的相关性, 以期尚无条件进行融合基因检测的医院在儿童白血病的诊断及治疗方面提供一定的参考。

[参 考 文 献]

[1] Pui CH, Relling MAV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia[J]. N Engl J Med, 2004, 350(15):1535-1548.

[2] 殷慧君. 小儿急性白血病化学治疗[M]. 北京: 科学出版社, 1996;58-66.

[3] Sawinska M, Ladon D. Mechanism, detection and clinical significance of the reciprocal translocation t(12;21) (p12;q22) in the children suffering from acute lymphoblastic leukaemia[J]. Leuk Res, 2004, 28(1):35-42.

[4] Gao YJ, Zhu XH, Yang Y, Wu Y, Lu FJ, Zhai XW, et al. Prevalence of ETV6-RUNX1 fusion gene in children with acute lymphoblastic leukemia in China[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2007, 178(1):57-60.

[5] Rubnitz JE, Pui CH. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukaemia[J]. Cancer Treatment Rev, 2003, 29(1):31-44.

[6] Harrison CJ. The genetics of childhood acute lymphoblastic leukaemia[J]. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol, 2000, 13(3):427-439.

[7] Advani AS, Pendergast AM. Bcr-Abl variants: biological and clinical aspects[J]. Leuk Res, 2002, 26(8):713-720.

(本文编辑: 黄 榕)

· 消息 ·

中国当代儿科杂志网站页面更新通知

自 2010 年 1 月 21 日起, 我刊网站的页面进行了较大的更新, 新的页面更美观, 使用更方便。如果您更新前收藏了本刊网址, 而现在打开网页出错, 请您直接在浏览器的地址栏中重新输入 [www. cjcp. org](http://www.cjcp.org) 打开网页, 然后再点“收藏”并添加到收藏夹, 下次从收藏夹打开就很方便了。感谢各位读者、作者、审稿专家多年来对本刊网站的关注和支持。

中国当代儿科杂志编辑部
2010 年 1 月 23 日