

染色体核型在急性髓系白血病诊断和预后中的作用探究*

高云龙¹, 欧阳芬¹, 徐妍凌², 卓兰云¹, 吴新忠^{1△} (1. 广州中医药大学第二附属医院检验医学部 510120; 2. 广州市妇女儿童医疗中心检验科 510623)

【摘要】 目的 探讨染色体核型在急性髓系白血病(AML)诊断及预后中的应用价值。**方法** AML 初诊患者 138 例采用 G 显带技术进行染色体核型分析, 随访分析患者的总生存时间。**结果** AML 中异常核型 73 例 (52.9%), 以 t(15;17)、t(8;21) 和 +8 最常见。初诊时患者年龄和白细胞计数在核型分组中差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。随访 110 例 AML 患者, 中位随访时间 8 个月, 生存分析的低危、中危和高危组 3 年累计生存率分别为 84.0%、45.3% 和 21.0%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 染色体异常在 AML 各亚型间存在差异, 可用于 AML 的诊断及预后监测。

【关键词】 白血病; 染色体核型; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.09.013 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)09-1187-03

Role of chromosome karyotype in the diagnosis and prognosis of acute myeloid leukemia* GAO Yun-long¹, OUYANG Fen¹, XU Yan-ling², ZHUO Lan-yun¹, WU Xin-zhong^{1△} (1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Centre, Guangzhou, Guangdong 510623, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of karyotype in the diagnosis and prognosis of acute myelocytic leukemia(AML). **Methods** Totally 138 newly diagnosed AML patients were selected and chromosome analysis was performed with G-banding techniques. The overall survival times were calculated by follow-up visit. **Results** Seventy-three(52.9%) chromosomal aberrations were detected. The most common types were t(15;17), t(8;21) and +8. There were statistically significant differences in age and white blood cell counts with initial diagnosis ($P < 0.05$). The median time of 110 follow-up visit patients was 8 months. The 3-year survival rates of the low risk group, intermediate risk group and high risk group were 84.0%, 45.3% and 21.0% respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** The various subsets of AML had different chromosomal aberrations, which could be applied for the diagnosis and prognosis monitoring of AML.

【Key words】 leukemia; karyotype; prognosis

急性髓系白血病(AML)是髓系原始细胞恶性肿瘤, 早期 FAB 分型诊断以骨髓细胞形态学分类为主要依据, 对临床预后稍显不足。随着细胞遗传学在血液病诊断中应用, 国内外许多组织将其列入了预后评价及危险度分级中。目前, 国内诊疗指南以初诊的细胞遗传学和分子生物学为主要分级预后指标^[1-3], 与病史及初期治疗缓解情况等指标相结合, 以评价患者总体生存预后。现对本院 AML 患者的染色体核型分布情况、参照危险度分层标准对患者的总体生存预后进行报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 6 月至 2014 年 10 月本院血液科初诊患者 138 例, 其中男性 66 例, 女性 72 例; 年龄 9~82 岁, 中位年龄 51 岁。材料主要为骨髓和外周血标本, 取自 AML 患者化疗前, 按照世界卫生组织分型标准进行诊断^[4]。参照美国国家癌症综合网络(NCCN)2013 版将所有患者按照染色体核型划分为预后良好组、预后中等组和预后不良组, 并

将每组患者初诊时的临床资料和检验结果加以分析比较。

1.2 方法

1.2.1 染色体核型检测方法 骨髓标本直接培养法培养 24 h, G 显带技术检测, 按照《人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN2009)》描述, 至少 2 个细胞有同样染色体增加或结果重排, 或者 3 个细胞有同样染色体丢失, 确认为 1 个异常克隆, 至少分析 10 个分裂中期细胞。

1.2.2 治疗 参考国内诊疗指南进行治疗, 疗效判断参考张之南等^[5]的《血液病诊断与疗效标准》。

1.2.3 生存分析 纳入标准: 所有死亡患者; 化疗或治疗超过 1 个疗程的患者。分组标准参考国内诊疗指南中染色体核型分组标准划分: 高危组(年龄大于 60 岁、继发血液病或治疗相关、染色体不良核型、2 个疗程未缓解, M3 亚型的白细胞计数大于 $10 \times 10^9/L$ 时、儿童标准方案 1 个疗程不缓解、中低危组的白细胞计数大于 $100 \times 10^9/L$)、中危组(预后中等核型除外

* 基金项目: 广东省科技厅基金资助项目(2012B031800198); 广东省中医药局基金资助项目(20142050)。

作者简介: 高云龙, 男, 主管检验师, 本科, 主要从事临床血液学检验及临床输血检验研究。 △ 通讯作者, E-mail: wuxinzhong5054@

高危组)和低危组(预后良好核型除外高危组)。

1.2.4 随访 138 例患者中随访 110 例,随访截止时间 2014 年 12 月 31 日,随访时间 5 d 至 46 个月,中位随访时间 8 个月。患者总生存时间为确诊至最后随访时间或死亡时间。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。初诊染色体核型各组间临床资料和检验结果的比较采用秩和检验,生存曲线绘制采用 Kaplan-Meier 法,生存分析采用 Log-Rank 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 染色体核型分布 138 例患者中正常核型 65 例(47.1%),异常核型 73 例(52.9%),见表 1。FAB 亚型有 M0、M1、M2、M3、M4、M5 及 M6。M0 异常核型:复杂核型 2 例;M1 异常核型:复杂核型 2 例、+8 1 例;M2 异常核型:复杂核型 7 例、+8 4 例、t(8;21)3 例、t(8;21)/-X 或 Y 10 例、t(8;21)/add(7)1 例、t(9;22)2 例、t(11;17)1 例、add(12)1 例、del(9)1 例、+mar 1 例、+21 1 例、t(6;9)1 例;M3 异常核型分类及例数:复杂核型 3 例、t(15;17)14 例;M4 异常核型分类及例数:inv(16)3 例、inv(16)/+22 1 例、复杂核型 1 例、+8 1 例、add(17)1 例;M5 异常核型分类及例数:复杂核型 4 例、+8 1 例、-7 1 例、-22 1 例、t(3;14)1 例、del(11)1 例;M6 异常核型分类及例数:+8 1 例、t(2;4)1 例。

表 1 FAB 亚型染色体异常分布表

FAB 亚型	n	异常(n)	异常比例(%)
M0	3	2	66.7
M1	6	3	50.0
M2	74	33	44.6
M3	19	17	89.5
M4	11	7	63.6
M5	19	9	47.4
M6	6	2	33.3

2.2 染色体核型分组 初诊时病史采集的患者信息及相关检测结果的比较,见表 2。3 组临床资料中年龄和白细胞计数差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 染色体核型分组的临床资料及检验结果比较

参数	良好组	中等组	不良组	P
年龄(岁)	41.3±15.8	54.4±15.9	38.9±20.7	0.000
性别(男/女,n)	14/18	39/41	13/13	0.866
白细胞计数(×10 ⁹ /L)	13.7±29.1	44.9±59.4	23.7±36.5	0.019
血红蛋白(g/L)	74.6±25.2	78.1±22.3	74.8±21.3	0.551
血小板计数(×10 ⁹ /L)	43.4±50.3	65.9±68.4	117.7±200.2	0.132
原幼细胞比例(流式细胞分析仪,%)	62.9±24.9	57.0±27.4	64.2±24.2	0.423
原幼细胞比例(骨髓细胞形态学,%)	55.6±23.2	51.1±24.2	51.1±25.8	0.926

注:流式细胞仪分析 10 000 个细胞,骨髓涂片分析 200 个有核细胞。

2.3 生存分析 纳入生存分析的患者分布:低危组 23 例,中危组 24 例,高危组 63 例;总体死亡 41 例,其中低危组 2 例,中

危组 9 例,高危组 30 例;生存曲线图见图 1。各组 3 年的累计生存率:低危组 84.0%,中危组 45.3%,高危组 21.0%,3 组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

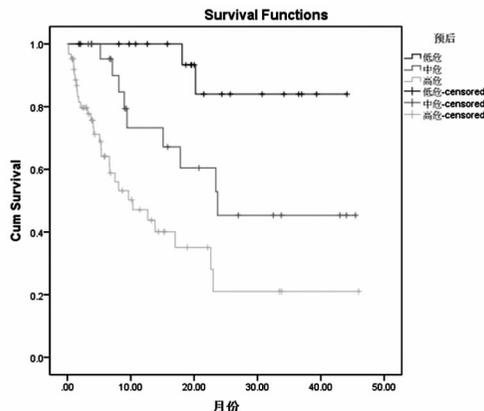


图 1 Kaplan-Meier 生存曲线图

3 讨 论

AML 的 FAB 形态学分型在临床诊断中应用广泛,但未将独立预后的染色体异常考虑在内,世界卫生组织在 2008 年新修订的造血与淋巴瘤组织肿瘤分类中将 AML 伴重现性细胞遗传学异常单独归类,包括 t(8;21)、inv(16)或 t(16;16)、t(15;17)、t(9;11)、t(6;9)、inv(3)或 t(3;3)、t(1;22)。

本研究中重现性细胞遗传学异常 35 例,占 AML 的 25.4%。重现性异常与 FAB 亚型密切相关,其中 t(8;21)15 例(10.9%),t(15;17)15 例(10.9%),inv(16)4 例,以及 t(6;9)1 例。t(8;21)比例与文献报道一致^[5],均出现在 M2 中,以年轻患者居多。其中,单纯易位 3 例,1 例为复杂核型,2/3 的患者伴有性染色体的丢失。该核型异常中复发 2 例,死亡 3 例,均伴性染色体丢失,与陈玉梅等^[6]报道(8;21)易位和仅伴性染色体丢失对患者生存没有不良影响不符合,可能与患者数多少及患者类型(后者均为儿童)有关。t(15;17)易位全部出现在 M3 中,提示对 M3 高度特异,在各年龄段均有分布,白细胞计数并未增高或减少,预后良好。2 例死亡患者中,1 例有再生障碍性贫血(AA)病史,另 1 例为高危组(白细胞计数大于 $10 \times 10^9/L$)。inv(16)4 例全部出现在 M4 亚型,2 例继发于肝癌和乳腺癌化疗后,1 例伴+22 和高白细胞。4 例经过 1 个疗程的化疗后均完全缓解(CR),预后良好,存活至随访截止日期,生存期 3~30 个月。因此,t(8;21)、t(15;17)和 inv(16)染色体异常也可用于 AML 亚型诊断。

在本研究中,染色体数目异常最常见+8(9 例),其中复杂核型 1 例。4 例继发于骨髓增殖异常综合征(MDS)或 AA,4 例分布在 M2 亚型。6 例随访患者均为预后中等核型,其中复发 1 例,2 个疗程未达 CR 2 例,死亡 1 例。死亡患者为单纯+8,原因为髓外浸润。目前,国内外研究结果对+8 核型的预后有分歧,NCCN 和国内诊疗指南认为,伴有+8 的核型异常不影响其预后分组,而孤立的+8 应视为预后中等。

复杂核型在本研究中共有 19 例,除 M6 外,其他亚型均有检出,6 例继发于 MDS 或其他血液系统疾病。随访患者 12 例,6 例 2 个疗程达 CR(其中 2 例复发),死亡 3 例,平均生存期 7.8 个月。死亡患者中复发未缓解 2 例,继发于 MDS 的初治未缓解 1 例。复杂核型患者初诊时白细胞计数较高(中位数 $19.5 \times 10^9/L$),多继发于其他血液系统恶性疾病,导致联合化

疗不敏感,CR 率低,预后较差。

按染色体核型分组的性别、血红蛋白、血小板计数及原幼细胞比例(流式细胞分析仪/骨髓细胞形态学)差异无统计学意义($P>0.05$),年龄和白细胞计数差异有统计学意义($P<0.05$);预后中等组年龄高于预后良好组和预后不良组,白细胞计数预后中等组高于预后良好组。预后中等组除外正常核型后年龄 $[(51.3\pm 13.3)$ 岁]、白细胞计数 $[(23.6\pm 34.0)\times 10^9/L]$ 差异无统计学意义($P>0.05$),说明此类差异由正常核型引起;预后中等组正常核型者大于 60 岁 30 例,正常核型高白细胞 14 例(21.5%)高于其他 2 组(3.1%和 7.7%),说明年龄、白细胞计数及核型在 AML 预后是相对独立的指标。

AML 患者联合化疗达 CR,经巩固化疗可行自体或异基因造血干细胞移植,本研究中行异基因干细胞移植 10 例(7 例 M2,2 例 M5,1 例 M1),其中 9 例在 CR 后行干细胞移植术,另有 1 例属难治性 AML,联合化疗 5 个疗程仍未达 CR。死亡 7 例,病死率高于 Wang 等^[7]报道。死亡患者移植后生存期 51~362 d,死亡原因为急、慢性移植物抗宿主病或免疫力低下而继发感染。

结合染色体核型、初诊临床资料和初期缓解状况的 Kaplan-Meier 生存曲线,显示 3 组生存期有明显差异,低危组优于中危组和高危组。低危组主要为 M3(13/23),均通过至少 1 个疗程的全反式维甲酸(ATRA)、柔红霉素(DNR)和(或)三氧化二砷(ATO)联合化疗。1 例复发患者通过 ATRA、阿糖胞苷(Ara-c)、善唯达联合化疗 1 个疗程再次缓解,1 例缓解后行自体干细胞移植术,至随访日期止 14 个月未复发。ATRA 对白血病细胞具有很强的诱导分化作用,ATO 可直接杀伤白血病细胞并抑制其增殖,使得 M3 的 CR 率高,长期预后良好。中危组以 M2 亚型为主(14/27),大部分患者通过 1 个疗程的联合化疗后达到 CR。本组有 12 例复发,7 例复发后未缓解,于 2~3 个月内死亡。1 例 CR 后行多次自体干细胞移植术存活至随访截止日期。复发主要是由于反复化疗促使白血病细胞对化疗药物产生了继发性耐药,导致生存期短,预后差。高危组中包含 8 例复发和 19 例难治性 AML 患者,复发患者死亡 4 例:1 例继发于 MDS,2 例为复杂核型,1 例高白细胞;难治性 AML 患者死亡 10 例:6 例继发于血液病,2 例高白细胞,2 例 70 岁以上的高龄患者。难治性 AML 多是由于对化疗药物的原发性耐药引起,需更换无交叉耐药的新药或行异基因干细胞移植术。在本组研究中,继发于其他血液病的 AML 共 25 例,其中死亡 13 例(52%),这是由于 MDS 和 AA 等血液疾病正常造血储备能力低下,对联合化疗的耐受性强,且患者骨髓抑制

明显,出血、感染等风险增加,导致中位存活期短^[8]。

本研究由于样本量少,随访数量及时间不足,未能进行中位生存期分析。但从上述研究可初步说明通过染色体核型的预后分析,结合初诊临床资料和治疗达 CR 时间,采取合适的治疗方案,能提高患者的生存期。

参考文献

- [1] 中华医学会血液学分会. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2011 年版)[J]. 中华血液学杂志,2011,32(11):804-807.
- [2] 中华医学会血液学分会. 急性早幼粒细胞白血病中国诊疗指南(2011 年版)[J]. 中华血液学杂志,2011,32(12):885-886.
- [3] 中华医学会血液学分会. 急性髓系白血病(复发难治性)中国诊疗指南(2011 年版)[J]. 中华血液学杂志,2011,32(12):887-888.
- [4] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [M]. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer(IARC), 2008:80-107.
- [5] 张之南,沈悌. 血液病诊断与疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:108-134.
- [6] 陈玉梅,刘天峰,阮敏,等. 79 例儿童 t(8;21)急性髓系白血病的核型及预后分析[J]. 中国医学科学院学报,2009,31(5):542-546.
- [7] Wang Y, Liu DH, Fan ZP, et al. Prevention of relapse using DLI can increase survival following HLA-identical transplantation in patients with advanced-stage acute leukemia: a multi-center study[J]. Clinical Transplantation, 2012,26(4):635-643.
- [8] Lubbert M, Suciu S, Baila L, et al. Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate-or high-risk myelodysplastic syndrome(MDS) ineligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study of the European organisation for research and treatment of cancer leukemia group and the German MDS study group[J]. Journal of Clinical Oncology, 2011,29(15):1987-1996.

(收稿日期:2015-10-27 修回日期:2015-12-20)

(上接第 1186 页)

- role of microRNAs in glioma initiation and progression [J]. Frontiers in Bioscience, 2012(17):700-712.
- [7] Dou H, Wang Y, Su G, et al. Decreased plasma let-7c and miR-152 as noninvasive biomarker for non-small-cell lung cancer[J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2015,8(6):9291-9298.
 - [8] Malta M, Ribeiro J, Monteiro P, et al. Let-7c is a candidate biomarker for cervical intraepithelial lesions: a pilot study [J]. Molecular Diagnosis and Therapy, 2015,19(3):191-196.

- [9] Griss T, Vincent EE, Egnatchik R, et al. Metformin antagonizes cancer cell proliferation by suppressing mitochondrial-dependent biosynthesis [J]. PLoS Biology, 2015,13(12):e1002309.
- [10] Gao J, Zhang JY, Li YH, et al. Decreased expression of SOX9 indicates a better prognosis and inhibits the growth of glioma cells by inducing cell cycle arrest[J]. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2015,8(9):10130-10138.

(收稿日期:2015-10-25 修回日期:2015-12-21)