

慢性粒细胞白血病额外染色体异常在加速期和急变期的意义

孙 川 李 倩 林 颖 张亚文 王 伟

摘 要 **目的** 探讨慢性粒细胞白血病(CML)的染色体变化在慢性期(CP)、加速期(AP)、急变期(BC)的特征,并分析遗传学变化对 CML 加速期、急变期的治疗和预后判断的意义。**方法** 24~48h 短期培养法,R 显带,对 63 例患者的遗传学资料进行回顾性分析。**结果** 63 例中 Ph 染色体阳性 61 例(96.8%),Ph 阴性但 BCR/ABL 阳性 2 例(3.2%),而 61 例 Ph 染色体阳性的患者中,典型 Ph 易位 51 例,非典型 Ph 染色体为 10 例(变异易位 1 例,伴有其他染色体平衡易位的 4 例,结构畸变 2 例,伴有超二倍体核型 1 例,双 Ph 1 例,-Y 1 例),1 例首诊为加速期,4 例在 1 年内加速或急变。在 51 例典型 Ph 易位的患者中,5 例形态学加速或急变,遗传学无额外染色体改变,6 例遗传学出现额外染色体异常的同时或之后表现为加速或急变。**结论** 染色体核型分析是 CML 诊断、临床分期及判断预后,指导治疗不可缺少的实验室指标,对预测 CML 加速、急变有重要的意义。

关键词 慢性粒细胞白血病 额外染色体异常 预后

[中图分类号] R733

[文献标识码] A

The Meaning of Additional Chromosomal Abnormalities in Chronic Myeloid Leukemia at Accelerated Phase and Blastic Crisis. Sun Chuan, Li Qian, Lin Ying, Zhang Yawen, Wang Wei. Department of Haematology, Hainan Provincial Nong Ken Hospital, Hainan 570311, China

Abstract **Objective** To study cytogenetic features of chromosome in chronic myelogenous leukemia (CML). To analyze the significance of genetic alterations in diagnosis, treatment and prediction of prognosis at different stages of CML. **Methods** Chromosome for bone marrow or peripheral blood cells was prepared by 24~48h short term culture. Analysis of genetic data were performed by R-band ing. **Results** Of 63 cases, 2 cases were detected Ph negative but BCR/ABL positive, 61 cases were Ph chromosome(93.85%). Of the 61 cases, 51 cases were detected typical Ph chromosome, and 10 patients had atypical Ph chromosome, including variant translocation in 1 case, with other chromosome balanced translocation in 4 cases, structural aberration in 2 cases, with hyperdiploid karyotype in 1 case, double Ph in 1 case, -Y in 1 case. The first diagnosis in 1 cases for accelerated phase, and 4 cases in 1 years to accelerated or blast crisis. In 51 patients with typical Ph, 5 patients without additional chromosome changes were morphological accelerated or blastic crisis, and 6 patients with additional chromosomal abnormalities of genetics at the same time or after were accelerated or blastic crisis. **Conclusion** Analysis of chromosome karyotypes was important laboratory index in prediction of prognosis of CML.

Key words Chronic myeloid leukemia; Additional chromosomal abnormalities; Prognosis

慢性粒细胞白血病的年发病率(1~1.5)/10万,各年龄均可发病,中位年龄组 50~60 岁。该病是以粒系增生为特征,伴有特征性 Ph 染色体的骨髓增殖性疾病,Ph 染色体是 9 号和 22 号染色体发生断裂,位于 9q34 的 ABL 基因和 22q11 的 BCR 基因交互易位,形成 BCR/ABL 融合基因。产生具有酪氨酸激酶活性的 P210 蛋白,使信号转导途径异常激活,MYC

和 BCL2 转录增加,使造血干细胞增殖失控,凋亡受阻,发生恶性转化。推测恶变发生在多能干细胞阶段。疾病呈多步进展,分 3 个阶段:慢性期、加速期和急变期。临床和实验室特征随疾病的进展而变化。对笔者医院 2007 年 1 月~2012 年 10 月用 R 显带的 63 例 CML 患者进行回顾性分析,旨在分析染色体变化与 CML 加速或急变的关系。

对象与方法

1. 对象:63 例 CML 患者为 2007 年 1 月~2012 年 10 月笔者医院门诊或住院患者,对所有病例进行跟踪观察至 2013 年 1 月。其中男性 39 例,患者中位年龄 43 岁(18~80 岁)。女性 24 例,患者中位年龄 41 岁(22~85 岁)。男女性别比例

作者单位:570311 海南省农垦总医院肿瘤血液内科(孙川);325003 温州医学院附属第二医院血液研究室(李倩);325003 温州医学院附属第二医院血液科(林颖);138000 吉林油田总医院检验科(张亚文、王伟)

通讯作者:李倩,电子信箱:lisunqian1@163.com

1.6:1。CML 诊断和分期参照张之南《血液病诊断与疗效标准》^[1]第 3 版。

2. 方法 :染色体核型分析:染色体检查共做 93 次,42 例仅做 1 次检查,24 例分别做了 2~7 次检查。全部病例均采用骨髓细胞培养法 24~48h,不加刺激剂,采用热变性吉姆萨 R 显带法。每例标本分析 20 个分裂相。核型异常按照《人类细胞遗传学国际命名体制 2005》加以描述。

结 果

63 例 CML 患者中,Ph 阴性但 BCR/ABL 阳性 2 例 (3.2%)。Ph 染色体阳性 61 例 (96.8%),其中 10 例为非典型 Ph 染色体易位,51 例为典型 Ph 易位,即 t(9;22)(q34;q11)。

2 例 Ph 染色体阴性 BCR/ABL 阳性 CML 患者,经格列卫治疗后,1 例 21 个月出现 +8,出现异常核型之后 9 个月,核型恢复正常。1 例 11 年后出现 +18,+20

核型,出现异常核型之后 1 年,核型恢复正常。整个治疗过程中,骨髓原始细胞比例均未出现过异常。

10 例以非典型 Ph 染色体易位为首发表现的 CML 患者,变异易位 1 例,伴有其他染色体平衡易位的 4 例,结构畸变 2 例,伴有超二倍体核型 1 例,双 Ph 1 例,-Y 1 例。1 例首诊为加速期(原始细胞增高>10%且<20%),4 例在 1 年内进入加速期或急变期(表 1)。

51 例典型 Ph 染色体易位的患者中,5 例形态学上进入加速期或急变期,遗传学无额外染色体改变,6 例遗传学出现额外染色体异常的同时或之后半年内出现加速、急变(表 2)。在仍然处于慢性期的 40 例患者中,有 1 例经格列卫治疗的第 9 个月遗传学完全缓解,第 29 个月出现 -Y 核型,第 41 个月后,核型恢复正常。其余患者未观察到额外染色体出现。

表 1 以非典型 Ph 染色体易位为首发表现的 10 例 CML 患者染色体核型及进入加速期或急变期的时间

患者 编号	年龄 (岁)	性别	染色体核型	加速或急变 时间(月)	加速期或急变期时 原始细胞比例(%)
1	40	男性	46,XY,t(7;9;22)(q31;q34;q11)[17]/47,XY,+21[3]	10	60
2	20	男性	46,XY,add(19)(p13),t(9;22)(q34;q11)[10]	-	-
3	38	男性	46,XY,t(9;22)(q34;q11),t(5;13)(q31;q13)[10]	6	30
4	42	男性	45X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[15]/46,XY,t(9;22)(q34;q11)[5]	-	-
5	44	女性	46,XX,t(9;22)(q34;q11),t(1;15)(q21;q26)[10]	-	-
6	39	女性	46,XX,t(9;22)(q34;q11),t(5;18)(p13;q21)[10]/46,XX,t(9;22)(q34;q11)[10]	-	-
7	43	女性	46,XX,del(1)(q22),t(9;22)(q34;q11)[3]/46,XX,t(9;22)(q34;q11),t(1;21)(q21;p13)[7]	-	-
8	36	男性	47,XY,t(9;22)(q34;q11),+der(22)t(9;22)(q34;q11)[10]	0(首诊即为加速期)	11
9	32	女性	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[20]/49,XX,idem,+8,+19,+21[7]	10	50
10	45	男性	46,XY,t(9;22)(q34;q11),t(1;3)(p36;q22)[10]	6	91

加速或急变的时间、额外染色体出现的时间均是以初诊时间为起点

表 2 以典型 PH 染色体易位为首发表现的 51 例 CML 患者中发生加速或急变的 11 例 CML 患者的核型变化及时间

患者 编号	年龄 (岁)	性别	染色体核型	额外染色体出现 时间(月)	加速或急变 时间(月)	加速或急变时原 始细胞比例(%)
1	76	男性	46,XY,[20]	无	18	80
2	27	女性	46,XX,[20]	无	36	64
3	61	女性	46,XX,[20]	无	120	63
4	34	男性	46,XY,[20]	无	24	14
5	36	男性	46,XY,[20]	无	84	90
6	40	男性	46,XY,t(7;9;22)(q31;q34;q11)[10]	17	17	38
7	70	男性	45,XY,-18,t(9;22)(q34;q11),der(17)t(17;18)(q10;q10)[10]	30	30	12
8	56	女性	44,-X,-X,der(9)t(9;14)(p21;q12),del(22)(q11),del(5)(q2),add(11)(q23)[10]	6	6	94
9	56	女性	46,XX,t(9;22)(q34;q11)[11]/47,XX,idem,+der(22)t(9;22)(q34;q11)[4]	12	12	19
10	52	男性	60-64,XY,+1,+2,+8,+8,+9,+11,+13,+13,+14,+18,+19,+19,+20q-,+20,+21,+21+22,+22,[CP10]	48	48	32
11	16	男性	46,XY,t(9;22)(q34;q11),add(18)(p11)[12]/46,XY,t(9;22)(q34;q11)[8]	31	36	17

加速或急变的时间、额外染色体出现的时间均是以初诊时间为起点

讨 论

慢性粒细胞白血病是一个自然地多步发病过程,慢性阶段通常以典型 t(9;22) 和复杂的变异易位为唯一的核型异常,CML 急性变患者中,60% ~ 80% 出现额外染色体异常,预示疾病可能进展^[2]。在治疗过程中任一阶段遗传学变化,为预后分析提供有用信息。

经典的 t(9;22) 易位和复杂的变异易位形成 BCR/ABL 融合基因。部分患者有正常的核型,用 FISH 或 RT-PCR 方法可检测到 BCR/ABL 阳性,是基因复杂重排的结果^[3]。如本组病例中 2 例 Ph 阴性 BCR/ABL 阳性患者,有报道认为是涉及 9 号和 22 号的多步过程,ABL 或 BCR 基因断裂,嵌入到对方形成 BCR/ABL 融合基因,而不是交互易位^[4]。而且常常伴有 BCR 或 ABL 邻近区域的基因丢失^[5]。这 2 例 Ph 阴性患者,1 例患病 13 年,1 例 3 年,格列卫治疗过程中检测到低超二倍体核型,但形态学未见异常,Ph 染色体未出现,之后超二倍体自然消失。是格列卫治疗过程中可能出现的现象,不代表疾病进展,也说明格列卫对 Ph 阴性,BCR/ABL 阳性患者治疗有效。

本研究通过跟踪观察 2 ~ 3 年发现,首诊为非典型费城染色体的患者中,50% 在 1 年内即出现加速或急变,而首诊为典型费城染色体的患者,发生加速或急变的为 21% (11/51),提示首诊出现额外染色体异常的患者预后不佳。在表 1 的 10 例非典型 Ph 染色体患者中,5 例患者跟踪 2 ~ 3 年未出现加速或急变,额外染色体涉及 1q-,Y,核型,在加速或急变的 5 例中,额外染色体涉及双 Ph 染色体(初诊加速)、7q31、5q31 以及 +8、+19、+21。11 例具有典型 Ph 染色体出现加速或急变患者中,出现双 Ph 染色体和亚二倍体伴 5q- 的两例患者,病情凶险,生存期短。有报道认为 7q31、5q31 缺失在 CML 中不常见,代表疾病的克隆性进展。16 例加速或急变患者中,染色体异常涉及数目的 1 例,结构异常 4 例,结构异常伴数目异常 6 例。11 例急变的患者,急淋变 7 变,急髓变 4 例。有研究认为 CML 急淋变生存期短于急髓变^[6]。这 11 例急变患者病情及治疗情况和核型密切相关,不论急淋变或急髓变患者,只要伴有双 Ph、亚二倍体患者,发病迅速、进展快、治疗效果差。CML 的额外染色体异常类型,常见的为 +8 (占额外异常的 34%),+Ph (30%),i(17q) (25%),+19 (13%),-Y (8%),+21 (7%),+17 (5%),单体 7 (5%),急髓变常发生 i(17q) 及 P53 突变,急淋变常出现单体 7

及亚二倍体,CML 患者额外遗传学进展和慢性期治疗及药物选择密切相关,因此不确定因素较大^[7]。2% ~ 10% 的 CML 患者发生变异易位,和典型 Ph 易位相比,衍生 9 号染色体缺失易见,生存期缩短^[8]。笔者观察到的 1 例变异易位患者,也发生了急变,预后差,与此观点相符。

CML 患者生存期从几个月到十几年不等,关于发病机制,认为 BCR/ABL 阳性的 CML 患者有多种类型的基因不稳定性,如假二倍体,染色体数量改变,DNA 缺失、嵌入等,导致了 Ph 染色体以外的染色体改变,关于这些基因的变化是 BCR/ABL 基因引起,还是先于 BCR/ABL 基因发生呢? 目前比较一致的观点认为基因不稳定性在异常造血干细胞克隆内先于 Ph 染色体发生,同时认为 BCR/ABL 基因促进了遗传不稳定性^[9,10]。

参考文献

- 1 张之南,沈悝. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版,北京:科学技术出版社,2007
- 2 Morris CM. Chronic myeloid leukemia: cytogenetic methods and applications for diagnosis and treatment[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011,730:33-58
- 3 De Melo VA, Milojkovic D, Marin D, *et al.* Deletions adjacent to BCR and ABL1 breakpoints occur in a substantial minority of chronic myeloid leukemia patients with masked philadelphia rearrangements [J]. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2008,182:111-115
- 4 Virgili A, Brazza D, Reid AG, *et al.* FISH mapping of Philadelphia negative BCR/ABL1 positive CML [J]. *Molecular Cytogenetics*, 2008;1-13
- 5 Bennour A, Bellaaj H, Ben Youssef Y, *et al.* Molecular cytogenetic characterization of philadelphia - negative rearrangements in chronic myeloid leukemia patients [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011,137:1329-1336
- 6 Wadhwa J, Szydlo RM, Apperley JF, *et al.* Factors affecting duration of survival after onset of blastic transformation of chronic myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2002, 99 (7):2304-2309
- 7 Johanson B, Fioretos T, Mitelman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia [J]. *Acta Haematol*, 2002, 107:76-94
- 8 Reid AG, Huntly BJ, Grace C, *et al.* Survival implications of molecular heterogeneity in variant philadelphia - positive chronic myeloid leukaemia [J]. *British Journal of Haematology*, 2003,121:419-427
- 9 Muvarak N, Nagaria P, Rassool FV. Genomic Instability in chronic myeloid leukemia: Targets for therapy [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2012,7:94-102
- 10 Skorski T. Genetic mechanisms of chronic myeloid leukemia blastic transformation [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2012,7:87-93

(收稿日期:2013-07-05)

(修回日期:2013-08-29)