

异基因造血干细胞移植治疗 DEK-NUP214 融合基因阳性急性髓系白血病 16 例临床观察

夏晶^{1,2} 赵晔^{1,2} 吴小津^{1,2} 仇惠英¹ 唐晓文¹ 王荧¹ 金正明¹ 苗瞄¹ 马骁^{1,2}
吴德沛¹ 陈苏宁¹ 陈峰^{1,2}

¹苏州大学附属第一医院血液科,江苏省血液研究所,国家血液系统疾病临床医学研究中心,苏州 215000;²苏州弘慈血液病医院血液科,苏州 215000

通信作者:陈峰,Email:13584861215@163.com

基金项目:国家重点研发计划(2019YFC0840604)、江苏省重点研发计划(BE2019798)、江苏省科教强卫工程-临床医学中心(YXZX2016002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.12.014

Clinical observation on 16 cases of DEK-NUP214 fusion gene positive acute myeloid leukemia treated with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Xia Jing^{1,2}, Zhao Ye^{1,2}, Wu Xiaojin^{1,2}, Qiu Huiying¹, Tang Xiaowen¹, Wang Ying¹, Jin Zhengming¹, Miao Miao¹, Ma Xiao^{1,2}, Wu Depai¹, Chen Suning¹, Chen Feng^{1,2}

¹ Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, National Clinical Research Center for Hematologic Diseases, Suzhou 215000, China;

² Department of Hematology, Soochow Hopes Hematology Hospital, Suzhou 215000, China

Corresponding author: Chen Feng, Email: 13584861215@163.com

约60%的急性髓系白血病(AML)存在克隆性染色体结构、数量异常,并发生与细胞分化、增殖有关的基因突变或表达异常。t(6;9)(p23;q34)是AML中不常见的一类染色体异常,在成人AML中占比为1%~5%,在儿童AML中占比为1%~2%,也有慢性髓性白血病及骨髓增生异常综合征(MDS)的个案报道^[1-2]。DEK-NUP214融合基因由6号染色体上的DEK基因与9号染色体上的NUP214基因产生基因重排形成。DEK-NUP214融合基因阳性AML患者复发率高、预后差,因此世界卫生组织(WHO)分型将其定义为一种独特的临床类型。以往研究结果表明尽早实施异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)能够克服DEK-NUP214对AML患者的不良影响^[3-4]。本研究中,我们对近年来在本院接受allo-HSCT治疗的16例DEK-NUP214融合基因阳性AML患者进行回顾性分析。

病例与方法

一、病例

本研究纳入2017年7月至2022年10月苏州大学附属第一医院和苏州弘慈血液病医院接受allo-HSCT的16例DEK-NUP214融合基因阳性AML患者。中位发病年龄为38(23~58)岁,女7例、男9例,全部病例均符合WHO(2016)的AML诊断标准。

二、融合基因及基因突变检测

取骨髓标本3 ml,分离单个核细胞。按照TRIzol方法提取总RNA,反转录获得cDNA,多重巢式PCR技术进行急性白血病有关的29类融合基因(包括DEK-NUP214)检测。抽提基因组DNA,建立包含DNMT3A、CEBPA、KIT、FLT3、NRAS等51个白血病关联的高频基因IonAmpliSeq文库,采用ABI Ion Torrent S5测序仪进行检验。

三、染色体核型分析

骨髓细胞历经24~48 h培养、制片、R显带,分析中期细胞20个,遵从《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN)(2016)》进行核型分析。

四、诱导及巩固治疗方案

诱导化疗方案选择IA(去甲氧柔红霉素+阿糖胞苷)、地西他滨+HAAG(高三尖杉酯碱+阿克拉霉素+阿糖胞苷+G-CSF)或HA(高三尖杉酯碱+阿糖胞苷)联合Bcl-2抑制剂(维奈克拉),部分病例存在FLT3基因突变,加用索拉非尼或富马酸吉瑞替尼靶向治疗。巩固方案包括原诱导方案或中剂量阿糖胞苷方案(2 g/m²,每12 h 1次×3 d)等。血象恢复后行骨髓穿刺评估疾病缓解情况,如获得完全缓解(CR)则给予巩固治疗,未获得CR的患者再行诱导化疗。

五、移植方案

全部病例均采用改良BUCY预处理方案。采用钙调磷酸酶抑制剂+短程甲氨蝶呤预防移植物抗宿主病(GVHD)。无关供者全相合、单倍体移植患者在此基础上联合霉酚酸酯

(MMF)、兔抗人胸腺细胞球蛋白(rATG)。其他移植有关并发症的预防及治疗参见文献[5]。

六、随访

随访截至 2023 年 1 月 15 日,中位随访时间为 22.8(3.2~66.9)个月,无失访病例。采用查阅门诊/住院病历和电话联系获得患者移植后生存资料。总生存(OS)时间设定为造血干细胞回输到随访截止或死亡的时间,无病生存(DFS)时间定义为移植后获得 CR 至疾病复发、随访截止或死亡的时间。

七、统计学处理

使用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,使用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 DFS 和 OS。

结 果

一、一般情况

16 例 DEK-NUP214 融合基因阳性 AML 患者发病时血常规(中位数):WBC 12.5(0.8~99.0)×10⁹/L,5 例患者 WBC >20×10⁹/L,PLT 66(30~157)×10⁹/L,多为轻、中度贫血,中位骨髓原始细胞比例为 0.568(0.225~0.830)。按照 FAB 分型,急性单核细胞白血病(M5)1 例,急性粒-单核细胞白血病(M4)2 例,急性粒细胞白血病部分分化型(M2)13 例。染色体核型 R 显带分析,正常核型 4 例,异常核型 12 例,其中 10 例检出 t(6;9)(p23;q34)。16 例患者多重巢式 PCR 检测 DEK-NUP214 融合基因均为阳性。全部患者均行二代测序检测 51 种白血病高频基因突变,突变比例最高的基因是 FLT3(68.8%,11 例),其中 FLT3-ITD 10 例,FLT3-TKD 1 例;5 例未检出 FLT3 基因突变,其中 4 例均检出 N-RAS 基因突变。详见表 1。

二、移植前结果

16 例 DEK-NUP214 融合基因阳性的 AML 患者中,1 个疗程获 CR 7 例,≥2 个疗程获 CR 8 例,总缓解率为 93.7%(15/16),获得 CR 的 15 例患者接受 1~4 个疗程巩固化疗后均行 allo-HSCT(单倍体移植 5 例,全相合同胞供者移植 8 例,全相合无关供者移植 3 例),诊断至移植的中位时间为 5(3~7)个月。

三、移植特征

移植前疾病状态:CR 15 例(7 例患者 DEK-NUP214 融合基因未转阴),NR 1 例。全部患者均获得造血重建,中位粒细胞植活时间为 11(10~15)d,中位血小板植活时间为 13(10~22)d。发生巨细胞病毒血症 3 例(1 例出现巨细胞病毒肺炎),EB 病毒血症 3 例(无淋巴细胞增殖性疾病发生),经积极治疗后病毒均转阴。移植后 6 例(37.5%)患者发生急性 GVHD,其中 I、II、III、IV 度分别为 1 例(16.7%)、2 例(33.3%)、1 例(16.7%)、2 例(33.3%)。移植 100 d 后 9 例(56.2%)发生慢性 GVHD,其中局限型 6 例、广泛型 3 例。8 例经积极治疗后症状好转,病情稳定,1 例广泛型慢性 GVHD 患者发生细菌、真菌、病毒混合肺部感染并死于呼吸衰竭。详见表 2。

四、生存分析

3 例(18.8%)患者移植后出现疾病复发,其中微小残留病复发 1 例(移植后 105 d)、血液学复发 2 例(移植后 321 d、479 d)。2 例血液学复发患者分别在形态学复发前 48 d、132 d 出现 DEK-NUP214 融合基因转阳。1 例患者通过减停免疫抑制剂、阿扎胞苷治疗,但 DEK-NUP214 融合基因表达进行性升高,后出现形态学复发,再诱导化疗失败,死于本病。另

表 1 16 例 DEK-NUP214 融合基因阳性急性髓系白血病(AML)患者一般资料及诊断时疾病状态

例号	性别	年龄(岁)	FAB 分型	骨髓原始细胞(%)	染色体核型	融合基因检测
1	女	24	M2	33	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
2	男	47	M4	29.5	46,XY[12]	DEK-NUP214 阳性
3	男	58	M2	79	46,XY[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
4	女	36	M2	23	46,XX,del(9)(q12q34)[10]	DEK-NUP214、NRAS、KRAS 阳性
5	男	30	M2	57.5	46,XY[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
6	女	48	M5	77.5	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[18]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
7	女	50	M2	22.5	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[6]	DEK-NUP214、FLT3-TKD、TP53 阳性
8	男	46	M2	56	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[16]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
9	男	30	M2	75	45,XY,t(6;9)(p23;q34),-17,der(18)t(17;18)(q11.2;q23)[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
10	男	26	M2	78	48,XY,+8,+13,15p-[10]	DEK-NUP214、IDH2、NRAS 阳性
11	男	23	M4	36	46,XY[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
12	女	41	M2	63.5	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[16]	DEK-NUP214、FLT3-ITD、IDH2 阳性
13	女	25	M2	83	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[15]	DEK-NUP214、FLT3-ITD 阳性
14	男	41	M2	75	45X,-Y,t(5;12)(q31;p13),t(6;9)(p23;q34)[20]	DEK-NUP214、IDH1、NRAS 阳性
15	女	30	M2	24.5	46,XX,t(6;9)(p23;q34)[20]	DEK-NUP214、FLT3-ITD、TET2 阳性
16	男	42	M2	35	46,XY,t(6;9)(p23;q34)[8]/47,idem,+13[4]	DEK-NUP214、WT1、NRAS 阳性

注 M5:急性单核细胞白血病;M4:急性粒-单核细胞白血病;M2:急性粒细胞白血病部分分化型

表 2 16 例 DEK-NUP214 融合基因阳性急性髓系白血病(AML)患者移植特征及随访结果

例号	供者类型	移植前 疾病状态	移植前 DEK-NUP214	干细胞来源	GVHD 预防	CMV 感染	EBV 感染	aGVHD	cGVHD	复发	转归	DFS (月)	OS (月)
1	单倍体	CR	阴性	骨髓+外周血+ 脐血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阴性	皮肤(IV度)	局限型	否	存活	66.9	66.9
2	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	局限型	否	存活	63	63
3	单倍体	CR	阳性	骨髓+外周血+ 脐血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阳性	无	局限型	否	存活	59.3	59.3
4	全相合同胞	CR	阳性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	皮肤、肠道 (II度)	广泛型	否	存活	39.1	39.1
5	全相合同胞	CR	阳性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	无	否	存活	35.5	35.5
6	全相合同胞	CR	阳性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	无	否	存活	24.7	24.7
7	单倍体	CR	阴性	外周血+脐血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阳性	无	无	否	存活	20.8	20.8
8	全相合同胞	NR	阳性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	无	是	死亡	6.3	13.1
9	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX	阳性	阴性	皮肤、肠道 (III度)	广泛型	否	存活	17.0	17.0
10	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阳性	阳性	肠道(II度)	无	否	存活	42.3	42.3
11	单倍体	CR	阴性	骨髓+外周血+ 脐血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阳性	阴性	皮肤、肠道 (IV度)	广泛型	否	死亡	5.9	5.9
12	单倍体	CR	阳性	骨髓+外周血+ 脐血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阴性	无	无	是	死亡	14.4	17.7
13	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	局限型	否	存活	36.6	36.7
14	全相合同胞	CR	阳性	外周血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阴性	无	无	是	存活	3.5	3.7
15	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX+ MMF+rATG	阴性	阴性	皮肤(I度)	局限型	否	存活	3.2	3.2
16	全相合同胞	CR	阴性	外周血	CsA+MTX	阴性	阴性	无	局限型	否	存活	4.6	4.6

注 CR:完全缓解;NR:未缓解;MTX:甲氨蝶呤;CsA:环孢素A;rATG:兔抗人胸腺细胞球蛋白;CMV:巨细胞病毒;EBV:EB病毒;aGVHD:急性移植物抗宿主病;cGVHD:慢性移植物抗宿主病;DFS:无病生存;OS:总生存

外 1 例发现 DEK-NUP214 融合基因转阳后未予特殊干预,1 月余后复查骨髓示血液学复发,放弃治疗后死亡。1 例微小残留病复发患者通过减停免疫抑制剂, IDH1 抑制剂(艾伏尼布)联合阿扎胞苷治疗中,目前骨髓暂未复查,密切随访中。3 例患者死亡,2 例死因为疾病复发,1 例广泛型慢性 GVHD 发生重症肺部细菌、真菌、病毒混合感染,后死于呼吸衰竭,死亡时间分别为移植后 5.9、13.1、17.7 个月。中位随访时间为 22.8(3.2~66.9)个月,预期 3 年 OS 率为(76.2±6.6)%,3 年 DFS 率为(76.9±6.8)%。

讨 论

t(6;9)(p23;q34)是血液系统肿瘤中少见的随机染色体异常,由 Rowley 和 Poter 在 1976 年在 1 例 AML 患者中发现^[6],后来 1992 年发现该染色体异位形成 DEK-NUP214(DEK-CAN)融合蛋白。FAB 分型中,DEK-NUP214 融合蛋白与 AML-M2 和 M4 高度相关,我们这组病例中 M2 13 例

(81.2%),M4 2 例(12.5%),与既往文献报道一致。本组病例染色体 R 显带核型分析发现,正常核型 4 例,异常核型 12 例,其中 10 例患者检出 t(6;9)(p23;q34)。染色体核型分析尽管能发现具体的易位染色体,但存在细胞增殖不良导致分析失败的可能,且不能检出隐性易位,但逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)法可检出 DEK-NUP214 融合基因。我们这组病例使用 RT-PCR 法均检出 DEK-NUP214 融合基因。因此,在临床工作中,联合应用这两种检测方法可以最大程度防止漏诊。

多项研究发现,DEK-NUP214 融合基因阳性 AML 患者 FLT3 基因突变检出率高达 70%以上,尤其是 FLT3-ITD 基因突变的检出率较其他 AML 患者高 3 倍^[7-8]。本组病例中 11 例(66.7%)患者检出 FLT3 基因突变,其中 10 例为 FLT3-ITD 突变,与既往文献报道相似。我们还发现,5 例未检出 FLT3 基因突变的患者中,4 例检出 N-RAS 基因突变,可能提示 N-RAS 基因与 FLT3 基因的互排性,但需要更多的病例来

验证。大量临床研究发现伴FLT3-ITD突变的AML患者预后差,FLT3抑制剂联合标准方案化疗可提高患者的缓解率^[9-10],为后续allo-HSCT提供机会,且多项研究证实移植后FLT3抑制剂维持治疗可明显减少复发及死亡风险^[11]。本研究中存在FLT3基因突变的部分病例加用FLT3抑制剂(索拉非尼或富马酸吉瑞替尼)靶向治疗,总缓解率达93.7%,治疗效果满意。

研究DEK-NUP214蛋白功能时发现,该融合蛋白只是对个别造血干细胞存在诱发白血病作用,还具有维持白血病细胞干性的功能^[12]。DEK-NUP214阳性AML患者化疗效果差、复发率高可能与此有关。Sandahi等^[13]研究发现,DEK-NUP214阳性儿童AML患者第一次CR(CR₁)时进行allo-HSCT 5年无事件生存率、OS率均为68%,而单纯化疗组为18%、54%。Garçon等^[14]对5例DEK-NUP214阳性AML患者行allo-HSCT,4例中位随访时间达到18.5个月,均无病生存,预后良好。国内高梦鸽等^[15]对15例DEK-NUP214阳性AML的患者进行回顾性分析,allo-HSCT OS率、DFS率分别为60.5%、61.5%,与该中心标准危险分层AML患者的总体OS率大致相当。本研究大部分DEK-NUP214融合基因阳性AML患者在CR₁状态下行allo-HSCT,移植后3年OS率为(76.2±6.6)%,3年DFS率为(76.9±6.8)%,取得了不错的效果。分析其原因,我们这组病例较早减停免疫抑制剂,后期56.2%的病例出现慢性GVHD,带来持续的移植物抗白血病反应。对于未发生持续慢性GVHD患者采用去甲基化药物(地西他滨或阿扎胞苷)或者FLT3抑制剂维持治疗,对控制复发及延长生存起一定作用。3例死亡患者中2例死于本病复发,是影响总体预后的主要因素。我们发现2例血液学复发患者分别在形态学复发前48、132 d出现DEK-NUP214融合基因转阳,常规治疗未能控制病情,这提示我们需要进一步探索治疗方法。

总之,DEK-NUP214阳性AML是一类少见的白血病类型,尽早进行allo-HSCT可能有助于改善预后。本研究病例数较少,以上结论尚需开展多中心研究加以验证。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 夏晶:病例资料收集,数据分析,文章撰写;陈峰:设计研究、实施,数据分析,文章审阅;其他作者:参与研究

参考文献

- [1] Shearer BM, Knudson RA, Flynn HC, et al. Development of a D-FISH method to detect DEK/CAN fusion resulting from t(6;9)(p23;q34) in patients with acute myelogenous leukemia[J]. *Leukemia*, 2005, 19(1): 126-131. DOI: 10.1038/sj.leu.2403557.
- [2] 赵霄晨, 何苗, 白海. 伴DEK-CAN融合基因阳性急性髓系白血病二例并文献复习[J]. *海南医学*, 2018, 29(23): 3395-3397. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2018.23.043.
- [3] Ishiyama K, Takami A, Kanda Y, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) dramatically improves the patient prognosis: a matched-pair analysis [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 461-464. DOI: 10.1038/leu.2011.229.
- [4] Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies [J]. *Leukemia*, 2006, 20(7): 1295-1297. DOI: 10.1038/sj.leu.2404233.
- [5] 夏晶, 陈苏宁, 陈佳, 等. 单倍型造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症17例疗效和安全性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(11): 904-907. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.11.006.
- [6] Rowley JD, Poter D. Chromosomal banding patterns in acute nonlymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 1976, 47(5): 705.
- [7] Thiede C, Steudel C, Mohr B, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis [J]. *Blood*, 2002, 99(12): 4326-4335. DOI: 10.1182/blood.v99.12.4326.
- [8] Oyarzo MP, Lin P, Glassman A, et al. Acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34) is associated with dysplasia and a high frequency of flt3 gene mutations [J]. *Am J Clin Pathol*, 2004, 122(3): 348-358. DOI: 10.1309/5DGB-59KQ-A527-PD47.
- [9] Röllig C, Serve H, Hüttmann A, et al. Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in patients aged 60 years or younger with newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML): a multicentre, phase2, randomised controlled trial [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(16): 1691-1699. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00362-9.
- [10] Larson RA, Mandrekar SJ, Huebner LJ, et al. Midostaurin reduces relapse in FLT3-mutant acute myeloid leukemia: the Alliance CALGB 10603/RATIFY trial [J]. *Leukemia*, 2021, 35(9): 2539-2551. DOI: 10.1038/s41375-021-01179-4.
- [11] Xuan L, Wang Y, Huang F, et al. Sorafenib maintenance in patients with FLT3-ITD acute myeloid leukaemia undergoing allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation: an open-label, multicentre, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(9): 1201-1212. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30455-1.
- [12] Oancea C, Riister B, Henschler R, et al. The t(6;9) associated DEK/CAN fusion protein targets a population of long-term repopulating hematopoietic stem cells for leukemogenic transformation [J]. *Leukemia*, 2010, 24(11): 1910-1919. DOI: 10.1038/leu.2010.180.
- [13] Sandahi JD, Coenen EA, Forestier E, et al. t(6;9)(p23;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: an international study of 62 patients [J]. *Haematologica*, 2014, 99(5): 865-872. DOI: 10.3324/haematol.2013.098517.
- [14] Garçon L, Libura M, Delabesse E, et al. DEK-CAN molecular monitoring of myeloid malignancies could aid therapeutic stratification [J]. *Leukemia*, 2005, 19(8): 1338-1344. DOI: 10.1038/sj.leu.2403835.
- [15] 高梦鸽, 付强, 秦亚臻, 等. 急性髓系白血病患者异基因造血干细胞移植后监测DEK-NUP214融合基因的预后意义 [J]. *中华内科杂志*, 2021, 60(10): 868-874. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20201015-00868.

(收稿日期:2023-01-30)

(本文编辑:徐茂强)