

研究论文

急性髓系白血病伴t(8;21)的遗传学特点分析

李月华¹ 聂彦博² 张虹² 李宏宇² 张嘉懿² 王翠² 陈枝²
杨少斌² 蔺亚妮² 汝昆² 王建祥^{1*}

(¹中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 北京协和医学院, 实验血液学国家重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020; ²天津市见康华美医学诊断技术有限公司, 天津市血液病理智能化诊断企业重点实验室, 天津 300385)

摘要 该研究旨在分析急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)伴t(8;21)的患者伴随发生的其他遗传学异常。回顾性分析2015年6月至2021年10月天津见康华美实验室收集的207例AML伴t(8;21)患者的临床基本特征, 并对其染色体核型及基因突变结果进行系统性分析。该研究得出: (1) 在207例AML伴t(8;21)患者中, 62.8%的患者存在其他异常染色体, 主要包括性染色体缺失(48.3%)、9q-(8.2%)等, 12%的患者为复杂核型(complex karyotype, CK); (2) 对AML伴t(8;21)患者的56个基因进行筛查, 结果显示95%的患者共携带50个基因突变, 其中KIT突变发生率最高(53%), 其次为NRAS(18%)、ASXL2(17%)、FLT3(12%)、EZH2(10%)等; 突变基因主要涉及信号转导通路、染色质修饰及DNA甲基化; (3) 对AML伴t(8;21)患者的遗传学特点进一步分析显示, IDH1/2突变和CK易伴随出现, IDH1/2和ZBTB7突变以及ASXL2和CCND2突变也易伴随出现; 而KIT和NRAS为互斥基因。这些结果说明, AML伴t(8;21)患者经常携带其他染色体异常及基因突变, 不同基因与异常染色体可伴随出现或相互排斥。

关键词 t(8;21); 急性髓系白血病; 基因突变

Analysis of Genetics Characteristics in Acute Myeloid Leukemia with t(8;21)

LI Yuehua¹, NIE Yanbo², ZHANG Hong², LI Hongyu², ZHANG Jiayi², WANG Cui², CHEN Zhi²,
YANG Shaobin², LIN Yani², RU Kun², WANG Jianxiang^{1*}

(¹State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China;

²Tianjin Sino-US Diagnostics Lab., Tianjin Enterprise Key Laboratory of AI-aided Hematopathology Diagnosis, Tianjin 300385, China)

Abstract The purpose of this study was to analyze other genetic abnormalities in AML (acute myeloid leukemia) patients with t(8;21). It retrospectively studied the clinical features of 207 AML patients with t(8;21) retrieved from Sino-US diagnostics lab from June 2015 to October 2021. The karyotype and gene mutation were also be systematically analyzed. The studies showed that (1) among these 207 AML patients with t(8;21), 62.8% was detected other abnormal chromosomes, which mainly included sex chromosome deletion (48.3%) and 9q- (5.3%), etc. 12% had complex karyotype (CK). (2) 56 genes were screened in the patients with AML with t(8;21), the re-

收稿日期: 2022-03-09

接受日期: 2022-04-17

*通讯作者: Tel: 13821389157, E-mail: wangjx@ihcams.ac.cn

Received: March 9, 2022

Accepted: April 17, 2022

*Corresponding author. Tel: +86-13821389157, E-mail: wangjx@ihcams.ac.cn

sults illustrated that 95% of the patients carried 50 gene mutations. The incidence of *KIT* gene mutation was 53% (the highest), followed by *NRAS* (18%), *ASXL2* (17%), *FLT3* (12%), and *EZH2* (10%). Most mutations were enriched in signal transduction, chromatin modification, and transcriptional regulation pathways. (3) according to the further analysis of genetic characteristics of the AML patients with *t*(8;21), this study found that *IDH1/2* and *CK* might co-occurrence, *IDH1/2* and *ZBTB7A* mutations, *ASXL2* and *CCND2* mutations might co-occurrence. On the contrary, *KIT* and *NRAS* mutation were mutually exclusive. The results showed that AML patients with *t*(8;21) often carry other chromosome abnormalities and gene mutations. The different genes and chromosome abnormalities can be coexisted or be mutually exclusive.

Keywords *t*(8;21); acute myeloid leukemia; gene mutation

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是常见的血液系统恶性肿瘤之一, 主要多见于老年人。尽管高达75%的AML患者在化疗后获得了完全缓解(complete remission, CR), 但大多数(54%~92%)达到CR的患者最终会复发^[1]。核心结合因子(core binding factor, CBF)的异常涉及到AML的一个亚群, 此亚群具有明显的细胞遗传学特点、清晰的分子发病机制以及较好的预后。CBF是一种与DNA结合的异二聚体转录因子, 分别由*RUNX1(AML1)*和*CBFβ*基因编码的α和β亚基组成, 负责调节髓系分化的多个造血基因^[2-4]。CBF异常相关的AML占成人AML的12%~15%^[5], 包括*t*(8;21)(q22;q22)和*inv*(16)(p13q22), 分别产生*RUNX1-RUNX1T1*(又称*AML1-ETO*)和*CBFβ-MYH11*融合基因。其中*RUNX1-RUNX1T1*融合蛋白主要通过其构成性转录活性来破坏患者正常的造血功能, 并抑制髓系细胞的终末分化, 从而促进白血病的发生^[6]。AML伴*t*(8;21)被2017版WHO造血和淋巴组织肿瘤分类定义为“具有重现性遗传异常的AML”类别中的一个独立亚型^[7]。

既往研究发现, *t*(8;21)(q22;q22)引起的*RUNX1*与*RUNX1T1*融合是白血病的起始事件, 但不足以在小鼠或人类造血细胞系中引发白血病^[8-9], 这表明白血病的发生需要额外的遗传学异常。高通量测序研究揭示了AML伴*t*(8;21)可同时发生其他的体细胞基因突变。除了已知的RAS和酪氨酸激酶信号通路基因(*RAS/RTK:K/NRAS*, *CBL*, *FLT3*, *JAK2*, *KIT*, *PTPN11*等)异常之外, 染色质修饰/表观遗传调控(*ASXL1/2*, *BCOR/L1*, *TET2*), MYC信号通路(*MGA*, *MYC*, *CCND1/2*)和黏蛋白复合物(*SMC1A*, *SMC3*和*RAD21*)等相关的基因也均出现了重现性的异常^[10-16]。其中一些基因如*KIT*, *JAK2*和*FLT3-ITD*异常, 在很多研究中被报道会导致不良预后^[17-18]。有研究者

认为, 这种不良预后仅限于这些突变基因的等位基因频率(variant allele frequency, VAF)较高的患者^[19]。但由于受到样本数量相对较少或者检测基因数目较少的限制, 研究结论存在一定差异。本研究通过分析207例AML伴*t*(8;21)患者的分子相关检测结果, 采用56基因靶向测序的方法进行全面的回顾性分析, 明确了中国人群AML伴*t*(8;21)患者中的基因分布和涉及的相关通路, 以及不同突变基因与异常染色体之间的共存和互斥关系。

1 病例与方法

1.1 研究对象

回顾性分析2015年6月至2021年10月于天津见康华美实验室检测到的207例AML伴*t*(8;21)患者, 依据2017版WHO造血和淋巴组织肿瘤分类进行诊断, 通过骨髓形态学和流式细胞学免疫分型将其诊断为AML患者, 经染色体核型分析并结合43种融合基因筛查或荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)技术确定为*t*(8;21)(q22;q22)即*AML1-ETO*阳性。其中, 男性123例(56%), 女性84例(44%), 中位年龄45(3~79)岁。该研究经天津市见康华美医学诊断有限公司伦理委员会批准, 批准号为202201。

1.2 研究方法

1.2.1 骨髓细胞形态学 骨髓涂片经瑞氏-吉姆萨复合染液染色后, 通过分析骨髓有核细胞数量、相对构成比、形态改变等, 从而判断骨髓造血功能和异常改变, 根据形态学特点给出不同级别诊断意见。

1.2.2 免疫分型 采用肝素抗凝管抽取5 mL患者骨髓液, 并用红细胞裂解液OPTILYSE C处理, 采用荧光标记的单克隆抗体与白细胞细胞表面抗原作用, 加入PBS离心后去上清, 混匀后上机, 采用BC Navios多色流式细胞仪检测白血病相关抗原的表

达。

1.2.3 核型分析 取5 mL新鲜骨髓液, 肝素抗凝, 单个核细胞计数后接种于RPMI-1640培养基中, 浓度为 2×10^6 个/mL, 24 h短期培养法培养, 采用常规R显带技术及G显带技术分析20个中期分裂相。按照2020版人类染色体命名的国际规则(ISCN2020)对分析结果进行描述。

1.2.4 荧光原位杂交(FISH)技术 取新鲜骨髓液5 mL, 肝素抗凝, 经离心、低渗、固定等操作收获单个核细胞, 并制成涂片, 采用武汉康录生物技术有限公司探针、Thermo杂交仪进行杂交, 荧光显微镜下镜检, Isis Version 5.8软件分析, 按照人类染色体命名的2020版国际规则(ISCN2020)描述信号特征。

1.2.5 融合基因筛查 采用密度梯度离心的方法从患者的骨髓液中分离出单个核细胞。采用Trizol法提取RNA后将其逆转录为cDNA。采用厦门致善生命科学的检测试剂盒、多重PCR方法检测43种融合基因的表达情况。43种融合基因包括: *BCR-ABL1*、*SIL-TAL1*、*E2A-HLF*、*TEL-AML1*、*MLL-AF4*、*E2A-PBX1*、*AML1-ETO*、*MLL-AF9*、*PML-RAR α* 、*MLL-AF6*、*MLL-AF10*、*MLL-ELL*、*MLL-ENL*、*PLZF-RAR α* 、*STAT5b-RAR α* 、*NPM-MLF1*、*TEL-PDGFRB*、*FIP1L1-PDGFR α* 、*AML1-MDS1/EV11*、*AML1-MTG16*、*CBF β -MYH11*、*DEK-CAN*、*TEL-ABL*、*ETV6-PDGFR α* 、*NUP98-HoxA13*、*NUP98-HoxC11*、*NUP98-HoxD13*、*NUP98-HoxA9*、*NUP98-HoxA11*、*NUP98-PMX1*、*TEL-JAK2*、*MLL-AF17*、*MLL-AF17*、*MLL-AF1q*、*MLL-AF1p*、*MLL-AFX*、*MLL-SEPT6*、*NPM-RAR α* 、*FIP1L1-RAR α* 、*PRKARIA-RAR α* 、*NUMA1-RAR α* 、*NPM-ALK*、*SET-CAN*、*TLS-ERG*。

1.2.6 基因突变筛查 提取所有患者骨髓样本单个核细胞中的DNA, 采用靶向捕获法, 通过Illumina NextSeq 550测序平台, 对DNA样本进行56个AML相关基因靶向高通量测序。56个AML相关基因及其检测目标区域包括*ANKRD26*(Exon1/5'UTR)、*CCND2*(Exon4~5)、*DNMT3A*[蛋白编码区域(coding sequence, CDS)]、*JAK1*(CDS)、*NPM1*(CDS)、*SETBP1*(CDS)、*STAG2*(CDS)、*ASXL1*(CDS)、*CCND3*(CDS)、*ETV6*(CDS)、*JAK2*(CDS)、*NRAS*(CDS)、*SETD2*(CDS)、*TERT*(CDS)、*ASXL2*(CDS)、*CDC25C*(Exon8)、*EZH2*(CDS)、

JAK3(CDS)、*PHF6*(CDS)、*SF1*(CDS)、*TET2*(CDS)、*BCOR*(CDS)、*CDKN1B*(CDS)、*FLT3*(CDS)、*KDM6A*(CDS)、*PTEN*(CDS)、*SF3B1*(CDS)、*TP53*(CDS)、*BCORL1*(CDS)、*CEBPA*(CDS)、*GATA1*(CDS)、*KIT*(CDS)、*PTPN11*(CDS)、*SMC1A*(CDS)、*U2AF1*(CDS)、*CASP8*(Exon10)、*CSF3R*(CDS)、*GATA2*(CDS)、*KMT2A*(CDS)、*RAD21*(CDS)、*SMC3*(CDS)、*WT1*(CDS)、*CBL*(CDS)、*CUX1*(CDS)、*IDH1*(CDS)、*KRAS*(CDS)、*RELN*(CDS)、*SRP72*(CDS)、*ZBTB7A*(CDS)、*CCND1*(CDS)、*DDX41*(CDS)、*IDH2*(CDS)、*NF1*(CDS)、*RUNX1*(CDS)、*SRSF2*(CDS)、*ZRSR2*(CDS)。平均基因覆盖率99%, 平均测序深度1 000 $\times$ 。测序后原始数据利用人类基因组数据库(HG19)、dbSNP(v138)、COSMIC、Clinvar、ExAC、genomeAD、1000genomes、PolyPhen-2、SIFT、Mutationtaster等进行生物信息学分析, 筛选出致病性基因突变位点, 且变异位点满足VAF $\geq$ 1.0%。

1.2.7 统计学方法 采用pearson相关系数方法计算基因突变之间以及突变基因与额外异常染色体(-X、-Y、9q-、CK等)之间的关系, 然后用gg plot2软件包绘图。双侧检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AML伴t(8;21)患者的一般临床特征

207例AML伴t(8;21)患者的中位发病年龄为45岁, 男性略多于女性。中位白细胞计数(white blood cell, WBC)为 8.9×10^9 个/L, 中位血红蛋白(hemoglobin, HB)为72.5 g/L, 中位血小板(platelet, PLT)计数为 2.3×10^{10} 个/L。在检测的207例患者中, 130例(63%)患者发生额外的异常染色体, 其中性染色体缺失(loss of sex chromosome, LOS)最为常见, 占48.3%(-Y: $n=76$; -X: $n=24$); 复杂核型(CK)[即存在3种及以上通过核型显带分析(chromosome-banding analysis, CBA)所确定的包括结构及数目变异的染色体异常]的患者占12%(25/207); 9号染色体长臂的部分缺失占8.2%(17/207), 其余为较少见的染色体异常(表1)。

2.2 AML伴t(8;21)患者的基因突变谱系及涉及的相关通路

2.2.1 合并基因突变 在207例AML伴t(8;21)患者中, 共靶向检测了56个AML相关基因。其中, 不伴

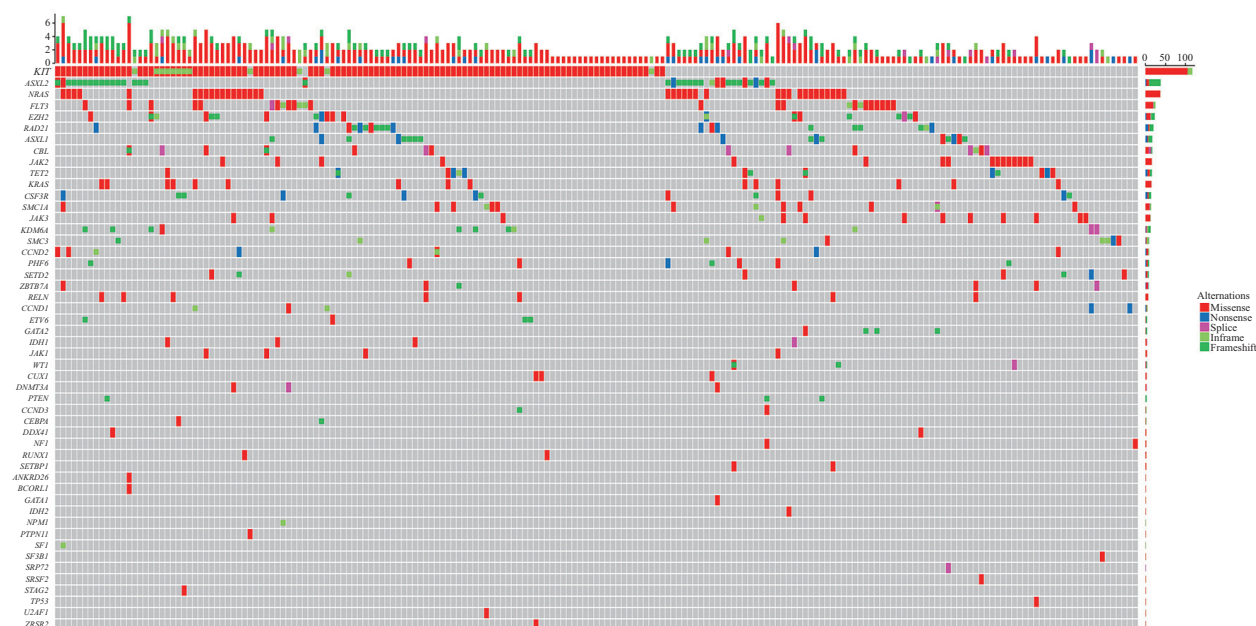
表1 207例AML伴t(8;21)患者的基本临床特征

Table 1 The basic clinical features of 207 AML patients with t(8;21)

临床特点 Clinical parameters	AML伴t(8;21) AML with t(8;21)
Age	
Median	45
Range	3-79
Gender	
Male No. (%)	123 (54%)
Female No. (%)	84 (46%)
Additional cytogenetic abnormalities	
-Y	76
-X	24
-7/7q-	4
9q-	17
+8	3
t(1;10)	1
11q-	1
t(X;9)	1
dup(7q)	1
9p+	1
10q-	1
der(5)	2
4q+	2
+4	4
Xq+	1
der(17)	1
der(2)	1
der(4)	1
-18	1
t(4;7)	1
+6	1
der(9)	1
der(15)	1
7q+	1
-17	1
CK	25
Bone marrow blast cell (%)	
Average (%)	47.7
WBC	
Median ($\times 10^9/L$)	8.90
Range ($\times 10^9/L$)	1.05-149.80
Hb	
Median (g/L)	72.50
Range (g/L)	2.36-207.00
PLT	
Median ($\times 10^9/L$)	23
Range ($\times 10^9/L$)	2-176

有基因突变的有10例(5%), 伴有1个基因突变者50例(24%), 伴有2个基因突变者61例(29%), 伴有3个及以上基因突变者86例(42%)(图1)。56个AML相关基

因中, 有6个基因(*BCOR*、*CASP8*、*CDC25C*、*CDKN1B*、*KMT2A*、*TERT*)未检测到突变, 38个基因出现了重现性的克隆性异常。在这些常见的突变基因



AML伴t(8;21)患者中体细胞突变的患病率和分布。每列代表一个患者, 每行对应1个基因。每个矩形的颜色代表每个患者的基因状态、突变类型。条形图表示每个患者的基因突变阳性率和突变类型。

The prevalence and distribution of somatic mutation in AML with t(8;21). Each column represents a patient, and each line corresponds to a gene. The color of each rectangle represents the genetic status and the mutation type of each patient. Bar chart represents mutation positive rate and mutation types of per patient.

图1 207例AML伴t(8;21)患者的基因突变谱
Fig.1 The gene mutations of 207 AML patients with t(8;21)

中, *KIT*基因以错义突变为主, 框内移码突变较少见; *ASXL2*基因则以移码突变多见, 错义突变及无义突变相对少见; *KRAS/NRAS*基因均为错义突变; *FLT3*基因中多见TKD突变; *ITD*突变比较少见(图1)。

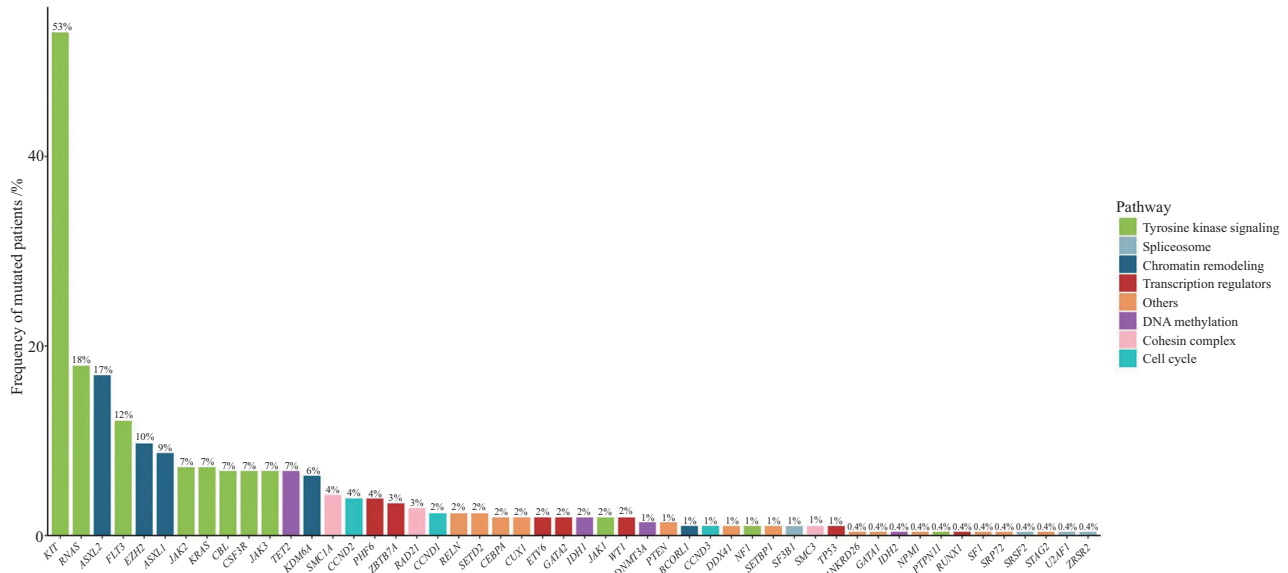
2.2.2 基因突变频率 在207例AML伴t(8;21)患者中, 突变阳性率 $\geq 5\%$ 的基因主要包括*KIT*(53%)、*NRAS*(18%)、*ASXL2*(17%)、*FLT3*(12%)、*EZH2*(10%)、*ASXL1*(9%)、*JAK2*(7%)、*KRAS*(7%)、*CBL*(7%)、*CSF3R*(7%)、*JAK3*(7%)、*TET2*(7%)、*KDM6A*(6%)等, 这些突变主要涉及信号转导相关基因(*KIT*、*NRAS*、*FLT3*、*JAK2*、*KRAS*、*CBL*、*CSF3R*、*JAK3*), 表观遗传调控基因中的染色质修饰相关基因(*ASXL2*、*EZH2*、*ASXL1*、*KDM6A*)和DNA甲基化修饰基因(*TET2*); 另外黏蛋白复合体相关基因(*SMC1A*、*RAD21/SMC3*)、细胞周期蛋白相关基因(*CCND1*、*CCND2*和*CCND3*)、转录调节因子相关基因(*PHF6*、*ZBTB7A*、*ETV6*、*GATA2*、*WT1*、*TP53*、*RUNX1*)及剪接子相关基因(*U2AF1*、*SF3B1*、*SRSF2*、*SF1*、*U2AF2*、*ZRSR2*)相对少见(图2)。

2.2.3 *KIT*突变位点 207例病例中有110例伴随*KIT*突变, 其中34例(31%)携带2个及2个以上的*KIT*

突变。我们在110例患者中发现154个*KIT*突变, 其中121个突变位于外显子17, 主要是D816或N822的单核苷酸变异(single nucleotide variation, SNV), 少数为D820或N823的SNV; 另外16个突变位于外显子8, 主要是416到419位的框内插入/缺失中; 其他少数突变发生在外显子4、5、7、9、10、11、13、14和18中。基本上具有多个*KIT*突变的患者(97%)都携带至少1个外显子17突变(图3)。

2.3 AML伴t(8;21)患者的突变基因与异常染色体的共存及互斥分析

在AML伴t(8;21)患者中, 当多个通路基因或额外染色体受到影响时, 它们的组合并不是完全随机的, 而是一些基因突变或/和染色体异常共同发生(共存)的频率比偶然预期的要高, 另一些则是以相互排斥的方式(互斥)存在。其中, *IDH1/2*突变和复杂核型(CK)($r=0.27$, $P<0.0001$)、*IDH1/2*和*ZBTB7*突变($r=0.27$, $P<0.0001$)、*ASXL2*和*CCND2*突变($r=0.29$, $P<0.0001$)、*NRAS*突变与del(9q)部分缺失($r=0.25$, $P<0.001$)更易伴随出现, 呈现为共存模式。与之相反, *KIT*突变与*NRAS*突变存在相互排斥($r=-0.22$, $P<0.01$)(图4)。

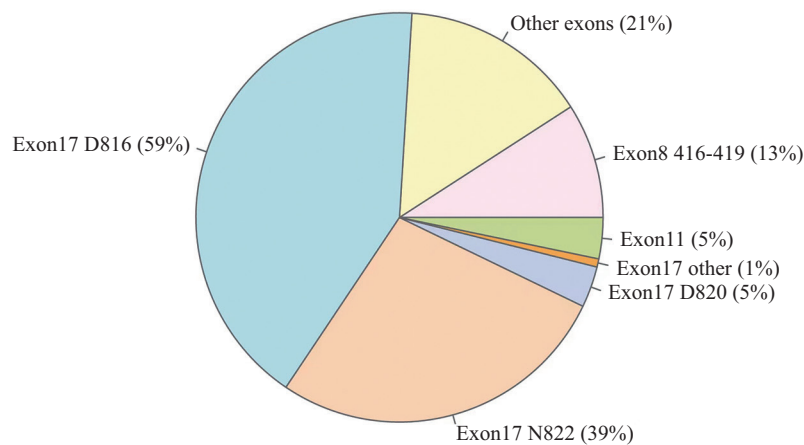


通过靶向测序确定基因突变通路概况,直方图显示所有检测到每个基因突变患者的频率。突变阳性率以百分比表示。

Overview of gene mutation pathways determined by targeting sequencing, the histogram shows the frequency of every gene mutation patients. The mutation positive rate is expressed in a percentage.

图2 207例AML伴t(8;21)患者的突变基因阳性率及分类

Fig.2 The gene mutation positive rate and classification of 207 AML patients with t(8;21)



饼状图显示了110例AML伴t(8;21)患者中最常见的154个KIT突变种类及外显子位置分布,突变阳性率以百分比表示。由于一些患者同时带有2种突变,在计算每种突变时,会将一些患者重复计算在内。

The pie chart shows the distribution of the most common 154 KIT mutation codons and exons. The mutation positive rate is expressed in a percentage. Since some patients have two mutations at the same time, some patients will be counted repeatedly when calculating each mutation.

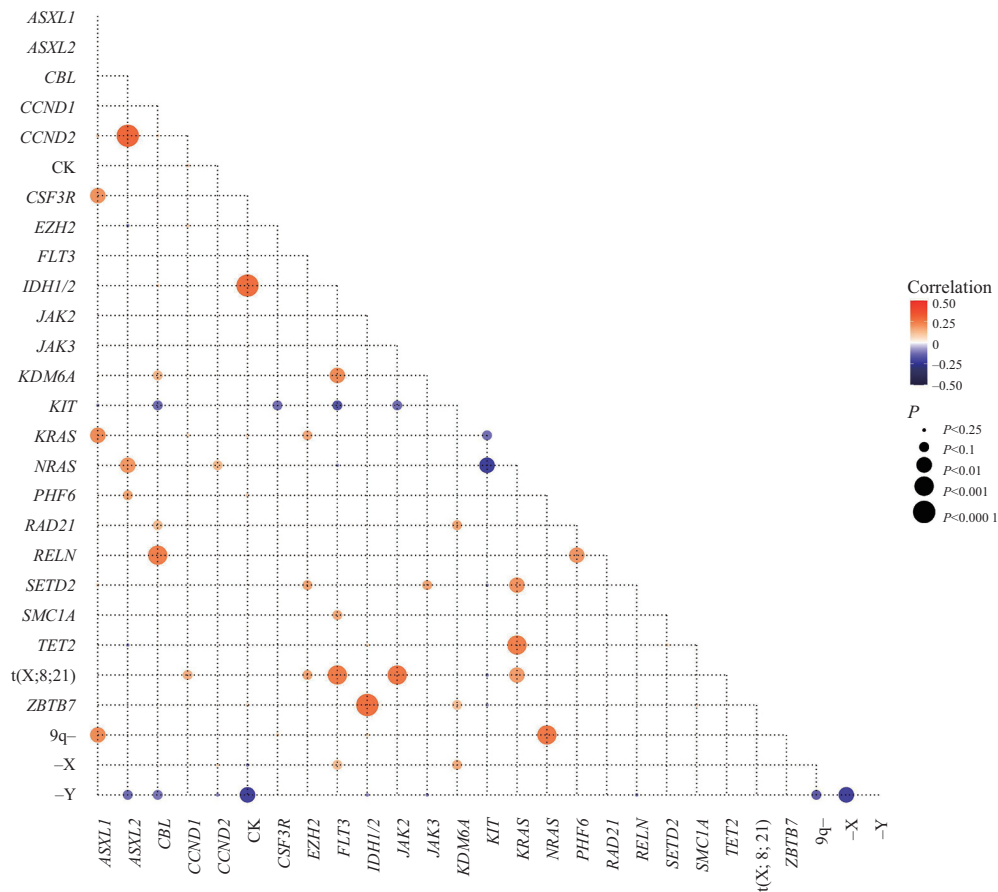
图3 110例AML伴t(8;21)患者发生的KIT基因突变的分布情况

Fig.3 The distribution of KIT gene mutations of 110 AML patients with t(8;21)

3 讨论

在本研究中,我们通过遗传学和分子生物学的方法,进一步阐明了AML伴t(8;21)患者分子改变的基础。在MDS中,基因突变以剪接体(SF3B1、SRSF2、U2AF1、ZRSR2)和DNA甲基化(TET2、DNMT3A、IDH1/2)相关的异常为主^[20-21],而在AML伴t(8;21)中,则以信号转导通路(KIT、

NRAS、FLT3、JAK2、KRAS和CBL)、染色质修饰(ASXL2、EZH2、ASXL1和KDM6A)等相关的基因突变更为常见,结果与既往研究大概一致^[10-11]。最近,在MDS进展为继发性急性髓系白血病(secondary acute myeloid leukemia, sAML)的过程中,同样以信号转导相关基因的突变为主,其中FLT3、NPM1、NRAS、PTPN11、WT1、IDH1和IDH2等基因突变



AML伴t(8;21)中基因突变和染色体异常之间的关系。纳入的基因和染色体以突变阳性率≥5例为标准。根据我们研究中的数据, 橙色和紫色圆圈分别显示了显著的共存和互斥变化, 其中效应大小和P值分别由圆圈大小和颜色梯度表示。

Correlation between gene mutations and chromosomal abnormalities in AML with t(8;21). The included genes and chromosomes were based on the mutation positive rate ≥ 5 cases. According to the data in this study, orange and purple circles showed significant co-occurrence and mutually exclusion, respectively. The degree of gene effect and P value were represented by circle size and colour gradient respectively.

图4 207例AML伴t(8;21)患者的基因与染色体共存及互斥分析
Fig.4 The coexistence and mutual exclusion of genes and chromosomes in 207 AML patients with t(8;21)

最为常见^[21-22]。既往研究表明, 信号转导相关基因突变多为疾病晚期事件, 并可影响患者的预后, 其中, *JAK2*和*FLT3-ITD*^{high}(*VAF*≥0.35)与CR率降低相关, *KIT*^{high}(*VAF*≥0.25)与较短无复发生存时间(recurrence free survival, RFS)相关, *JAK2*、*FLT3-ITD*^{high}和*KIT*^{high}与较短总生存期(overall survival, OS)相关^[18-23]。有所不同的是, 本研究中, *KIT*突变率约为53%(110/207), 略高于既往国外研究报道的14%~30%^[10,18,24], 推测除外地域异质性外, 高通量测序的高敏感性(*VAF*≥1%), 患者初次就诊时间较晚也是引起*KIT*基因较高突变率的重要原因。最新研究表明, 在中国人群中, *KIT*突变可影响AML伴t(8;21)的OS和无病生存率(disease free survival, DFS), 尤其是*KIT* Exon17突变的影响最为显著。 *KIT*突变多集中在Exon17的D816和N822, 且D816突变

比N822更能代表其不良预后特征^[18,25-28]。虽然ELN^[6]风险分类将*ASXL1*突变作为AML预后不良的标志, 但既往研究也发现*ASXL1*突变不会对伴t(8;21)的AML产生预后影响; 因此, *ASXL1*如果与t(8;21)同时发生, *ASXL1*突变并不能说明预后不良^[18]。最近ITZYKSON等^[29]研究发现, RAS/RTK通路中的克隆干扰发生在多达36%的AML伴t(8;21)中, 并且与较短的无事件生存率(event free survival, EFS)相关。而另一项研究则表明, RAS/RTK通路中出现多突变虽对CR率、RFS或OS没有影响, 但在复发时多出现RAS/RTK相关突变^[18]。和既往研究不同的是, 在突变基因与异常染色体的共存及互斥分析中, 我们发现*IDH1/2*和*CK*可伴随出现, *IDH1/2*和*ZBTB7*以及*ASXL2*和*CCND2*等也可伴随出现, 而*KIT*和*NRAS*可能出现互斥; 当*KIT*和*NRAS*突变在CBF-AML中伴随

出现时, 则与预后不良相关^[30]。

另外, 在AML伴t(8;21)中发现额外常见染色体异常如-Y、-X或9q-等与既往报道类似^[18,23,28]。KRAUTH等^[31]发现, X或Y染色体的丢失似乎对临床结果没有影响, 而具有9q-的AML伴t(8;21)患者的预后则相对较差^[32]。在本研究中, 约在12%的患者中检测到CK, 目前未发现关于AML伴t(8;21)与CK的大样本研究相关文献; 在MARCAULT等^[33]和MOSNA等^[34]的研究中发现, inv(16)/t(16;16) AML出现CK时提示预后不良。

综上所述, 我们研究分析了AML伴t(8;21)患者合并的基因突变、突变通路以及基因间及基因与染色体间的共存和互斥。由于本研究为单中心回顾性分析, 结论仍需更多的前瞻性研究加以证实。在未来临床实践工作中建议对AML伴t(8;21)患者定期监测治疗前、中、后以及复发时等不同阶段的分子遗传学定性和定量的数据, 从而为进一步精准分层、动态观测、调整治疗方案提供基础, 这对改善患者预后将具有重要的临床意义。

参考文献 (References)

- [1] MRÓZEK K, MARCUCCI G, NICOLET D, et al. Prognostic significance of the European LeukemiaNet standardized system for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(36): 4515-23.
- [2] MRÓZEK K, MARCUCCI G, PASCHKA P, et al. Advances in molecular genetics and treatment of core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Curr Opin Oncol*, 2008, 20(6): 711-8.
- [3] LEVANON D, NEGREANU V, BERNSTEIN Y, et al. AML1, AML2, and AML3, the human members of the runt domain gene-family: cDNA structure, expression, and chromosomal localization [J]. *Genomics*, 1994, 23(2): 425-32.
- [4] HAN S Y, MRÓZEK K, VOUTSINAS J, et al. Secondary cytogenetic abnormalities in core-binding factor AML harboring inv(16) vs t(8;21) [J]. *Blood Advances*, 2021, 5(10): 2481-9.
- [5] DÖHNER H, ESTEY E, GRIMWADE D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel [J]. *Blood*, 2017, 129(4): 424-47.
- [6] SOLH M, YOHE S, WEISDORF D, et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia: heterogeneity, monitoring, and therapy [J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(12): 1121-31.
- [7] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2391-405.
- [8] DE GUZMAN C G, WARREN A J, ZHANG Z, et al. Hematopoietic stem cell expansion and distinct myeloid developmental abnormalities in a murine model of the AML1-ETO translocation [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(15): 5506-17.
- [9] SCHESSL C, RAWAT V P S, CUSAN M, et al. The AML1-ETO fusion gene and the FLT3 length mutation collaborate in inducing acute leukemia in mice [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(8): 2159-68.
- [10] FABER Z J, CHEN X, GEDMAN A L, et al. The genomic landscape of core-binding factor acute myeloid leukemias [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(12): 1551-6.
- [11] DUPLOYEZ N, MARCEAU-RENAUT A, BOISSEL N, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20): 2451-9.
- [12] THOL F, BOLLIN R, GEHLHAAR M, et al. Mutations in the cohesin complex in acute myeloid leukemia: clinical and prognostic implications [J]. *Blood*, 2014, 123(6): 914-20.
- [13] MICOL J B, DUPLOYEZ N, BOISSEL N, et al. Frequent ASXL2 mutations in acute myeloid leukemia patients with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 chromosomal translocations [J]. *Blood*, 2014, 124(9): 1445-9.
- [14] EISFELD A K, KOHLSCHMIDT J, SCHWIND S, et al. Mutations in the CCND1 and CCND2 genes are frequent events in adult patients with t(8;21)(q22;q22) acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2017, 31(6): 1278-85.
- [15] HARTMANN L, DUTTA S, OPATZ S, et al. ZBTB7A mutations in acute myeloid leukaemia with t(8;21) translocation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11733.
- [16] SOOD R, HANSEN N F, DONOVAN F X, et al. Somatic mutational landscape of AML with inv(16) or t(8;21) identifies patterns of clonal evolution in relapse leukemia [J]. *Leukemia*, 2016, 30(2): 501-4.
- [17] PASCHKA P, DÖHNER K. Core-binding factor acute myeloid leukemia: can we improve on HiDAC consolidation [J]? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2013, 2013: 209-19.
- [18] CHRISTEN F, HOYER K, YOSHIDA K, et al. Genomic landscape and clonal evolution of acute myeloid leukemia with t(8;21): an international study on 331 patients [J]. *Blood*, 2019, 133(10): 1140-51.
- [19] ALLEN C, HILLS R K, LAMB K, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2013, 27(9): 1891-901.
- [20] KENNEDY J A, EBERT B L. Clinical implications of genetic mutations in myelodysplastic syndrome [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(9): 968-74.
- [21] OGAWA S. Genetics of MDS [J]. *Blood*, 2019, 133(10): 1049-59.
- [22] MAKISHIMA H, YOSHIZATO T, YOSHIDA K, et al. Dynamics of clonal evolution in myelodysplastic syndromes [J]. *Nat Gene*, 2017, 49(2): 204-12.
- [23] KAYSER S, KRAMER M, MARTÍNEZ-CUADRÓN D, et al. Characteristics and outcome of patients with core binding factor acute myeloid leukemia and FLT3-ITD: results from an international collaborative study [J]. *Haematologica*, 2022, 107(4): 836-43.
- [24] JAHN N, TERZER T, STRÄNG E, et al. Genomic heterogeneity in core-binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication [J]. *Blood Advances*, 2020, 4(24): 6342-52.
- [25] BOISSEL N, LEROY H, BRETHON B, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core

- binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML) [J]. *Leukemia*, 2006, 20(6): 965-70.
- [26] CARE R S, VALK P J M, GOODEVE A C, et al. Incidence and prognosis of c-KIT and FLT3 mutations in core binding factor (CBF) acute myeloid leukaemias [J]. *Br J Haematol*, 2003, 121(5): 775-7.
- [27] NEUBAUER A, MAHARRY K, MRÓZEK K, et al. Patients with acute myeloid leukemia and RAS mutations benefit most from postremission high-dose cytarabine: a cancer and leukemia group B study [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(28): 4603-9.
- [28] WU T M, XUE S L, LI Z, et al. Prognostic value of KIT and other clonal genetic mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2021, 42(8): 646-53.
- [29] ITZYKSON R, DUPLOYEZ N, FASAN A, et al. Clonal interference of signaling mutations worsens prognosis in core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2018, 132(2): 187-96.
- [30] JIN H, ZHU Y, HONG M, et al. Co-occurrence of KIT and NRAS mutations defines an adverse prognostic core-binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2021, 62(10): 2428-37.
- [31] KRAUTH M T, EDER C, ALPERMANN T, et al. High number of additional genetic lesions in acute myeloid leukemia with t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: frequency and impact on clinical outcome [J]. *Leukemia*, 2014, 28(7): 1449-58.
- [32] PRÉBET T, BOISSEL N, REUTENAUER S, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;21) or inversion (16) in elderly patients treated with conventional chemotherapy: a collaborative study of the French CBF-AML intergroup [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(28): 4747-53.
- [33] MARCAULT C, BOISSEL N, HAFERLACH C, et al. Prognostic of core binding factor (CBF) acute myeloid leukemia with complex karyotype [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2021, 22(3): 199-205.
- [34] MOSNA F, PAPAYANNIDIS C, MARTINELLI G, et al. Complex karyotype, older age, and reduced first-line dose intensity determine poor survival in core binding factor acute myeloid leukemia patients with long-term follow-up [J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(6): 515-23.