DOI:10.16016/j.1000-5404.202103215

罕见 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性的急性淋巴细胞白血病 2 例并文献复习

陈思宇,邓小娟,张雨薇,苟 阳,张 曦,彭贤贵,王 平 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院血液病医学中心,全军血液病中心

[摘要] **目的** 探讨 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性的急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia,ALL)的实验室特征和临床特点。**方法** 分析 2 例 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性 ALL 患者的临床资料及骨髓细胞学、流式免疫分型、染色体核型、荧光原位杂交术及实时荧光定量 PCR 结果,并结合文献复习。**结果** 2 例病例均符合 ALL 表型,FISH 检测示 BCR-ABL 阳性,RQ-PCR(p190、p210、p230)呈阴性,最后增加罕见型 BCR-ABL 融合基因检测而诊断为罕见 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性 ALL,1 例患者接受酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitions,TKI)治疗,持续完全缓解 4 月余;另 1 例患者未接受 TKI 治疗,诊断 1 月余后死亡。**结论** 融合基因多技术联检有助于发现和确诊 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性 ALL,TKI 治疗有助于改善预后。

[关键词] e1a3;BCR-ABL;融合基因;急性淋巴细胞白血病
[中图法分类号] R733.71 [文献标志码] A

Acute lymphoblastic leukemia with e1A3 BCR-ABL fusion protein: report of 2 cases and literature review

CHEN Siyu, DENG Xiaojuan, ZHANG Yuwei, GOU Yang, ZHANG Xi, PENG Xiangui, WANG Ping Medical Center of Hematology, PLA Center for Hematology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the laboratory and clinical characteristics of acute lymphoblastic leukemia (ALL) with e1a3 BCR-ABL fusion protein. **Methods** The clinical data, and results of bone marrow cytology, flow cytometry, karyotyping, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and real-time fluorescence quantitative PCR of 2 ALL cases with e1a3 BCR-ABL fusion protein admitted in our department were collected and analyzed. The related literature was reviewed. **Results** Both cases presented ALL phenotype. FISH test showed BCR-ABL positive, and RQ-PCR (p190, p210, p230) negative. Finally, the rare BCR-ABL fusion gene test was added and the 2 patients were diagnosed as rare e1a3 BCR-ABL positive ALL. One patient received TKI treatment and had achieved complete remission for more than 4 months. Another patient did not receive TKI and died in longer than 1 month after diagnosis. **Conclusion** Multi-technique joint detection for fusion gene is helpful for the detection and diagnosis of ALL with e1a3 BCR-ABL fusion protein, and TKI therapy is helpful to improve the prognosis.

[**Key words**] e1a3; BCR-ABL; fusion gene; acute lymphoblastic leukemia

Supported by the Special Project of Science and Technology Innovation of Social Undertakings and People's Livelihood Security of Chongqing (cstc2017shmsA130003) and the Joint Medical Scientific Research Project of Chongqing Science and Technology Commission and Chongqing Public Health Commission (2021MSXM140). Corresponding author: WANG Ping, E-mail: wpii_2002@sina.com

急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia,ALL)是一类以原幼淋巴细胞恶性增殖为特点的血液系统肿瘤。BCR-ABL 融合基因阳性 ALL(BCR-ABL$^+$ ALL)占成人 ALL 的 20%~30%,常规化疗效果差,极易复发,预后极差[1-2]。BCR-ABL p210(e13a2 或 e14a2)、p190(典型的 e1a2)、p230(e19a2)为常见分

[基金项目] 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shmsA130003);重庆市科卫联合医学科研项目(2021MSXM140)
[通信作者] 王 平,E-mail:wpii_2002@sina.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

型。e1a3 为 BCR-ABL 基因罕见突变类型,可见于慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML),也有文献报道 e1a3 型 BCR-ABL 阳性急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)[3],但 e1a3 型 BCR-ABL$^+$ALL 少见报道。本中心诊治 2 例 e1a3 型 BCR-ABL$^+$ALL,实验室特征和临床资料报告如下。

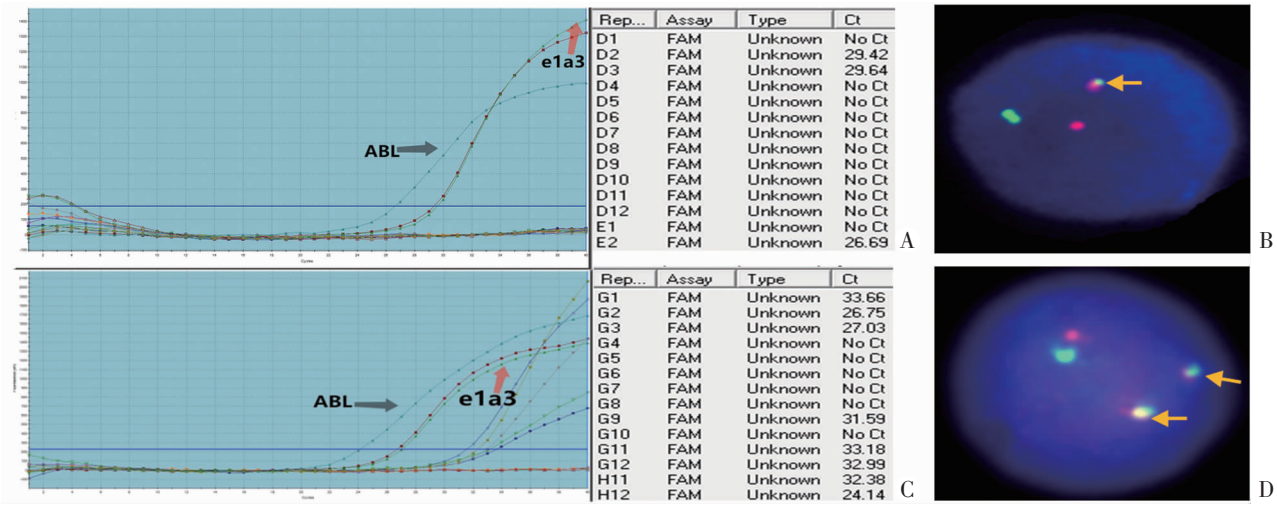
1　临床资料

1.1　病例 1

女性,22 岁,于 2020 年 11 月 25 日因咽痛、咳嗽就诊。外院血常规示:WBC 111.94× 10^9/L,Hb 92 g/L,PLT 111×10^9/L,骨髓细胞形态学示:骨髓增生极度活跃,以原始及幼稚淋巴细胞为主,占有核细胞的 86%,粒红巨三系受抑,流式细胞术示:异常前体细胞占有核细胞的 75.67%,表达 CD10、CD13、CD19、CD34、cCD22,部分表达 CD7、CD38、HLA-DR,少量表达 CD33,不表达髓系标志。采用实时荧光定量 PCR(RQ-PCR)法检测融合基因:取 EDTA 抗凝患者骨髓标本,提取单个核细胞,用 TRIzol 试剂提取总 RNA 为模板,随后用 RQ-PCR 检测 BCR-ABL 融合基因,分别在本院[用 BCR-ABL 融合基因分型试剂盒(上海源奇生物医学科技有限公司)]和外院[用 BCR-ABL 罕见型融合基因检测试剂盒(上海源奇生物医学科技有限公司)]进行扩增。以上检测结果示:BCR-ABL p210、p190 及 p230 融合基因 PCR 检测均为阴性,罕见型 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因呈阳性(图 1A)。外院荧光原位杂交(FISH)检出 BCR/ABL 融合基因占 97%(图 1B)。本院染色体核型:45,XX,-7[17]/46,XX[3]。综合诊断为伴 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性的 ALL。患者给予达沙替尼(100 mg/d)口服诱导治疗,14 d 后,骨髓细胞形态学检测结果示完全缓解(CR),流式细胞术微小残留病(minimal residual disease,MRD)检测阳性,占有核细胞的 0.105%。给予 IAOD(伊达比星+阿糖胞苷+长春地辛+地塞米松)联合 MTX 方案巩固化疗后,骨髓细胞形态学检测结果示持续 CR,流式细胞术 MRD 检测示阴性。目前随访 4 月余,患者情况稳定,院外口服达沙替尼(100 mg/d)。

1.2　病例 2

男性,43 岁,于 2021 年 9 月 12 日因气促、胸闷、腹胀、发热就诊。血常规示:WBC 11.32× 10^9/L,Hb 111 g/L,PLT 27 × 10^9/L。查体:左颈部淋巴结肿大。淋巴结活检考虑前驱 B 细胞淋巴瘤,免疫组化示:Pax-5(+),CD20(+),CD99(+),TDT(+),C-myc(10%~20%,弱+),CD10(+),Ki-67(>90%)。骨髓细胞形态学示:骨髓增生极度活跃,以原始及幼稚淋巴细胞为主,占有核细胞的 95%,粒红巨三系受抑。流式细胞术检测结果提示 B-ALL:异常前体细胞占有核细胞的 91.54%,表达 CD34、HLA-DR、CD38、CD19、CD22、CD10,少量表达 CD123。RQ-PCR 法检测融合基因(方法同病例 1)。结果示 BCR-ABL p210、p190 及 p230 融合基因均为阴性,罕见型 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性(图 1C),FISH 检出 BCR/ABL 融合基因占 89%(图 1D)。综合诊断为伴 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性的 ALL。患者予 VTCLD(长春地辛+柔红霉素+环磷酰胺+门冬酰胺酶+地塞米松)方案化疗,诱导结束后,骨髓细胞形态学检测结果提示 ALL-CR,流式细胞术 MRD 检测阴性。患者院外未行酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitions,TKI)治疗,1 个月后形态学检测结果提示复发,血常规 WBC 690.97×10^9/ L,Hb 78 g/L,PLT 77×10^9/L,LDH 2 000+,患者治疗无效死亡。



A、B 为病例 1,C、D 为病例 2;A、C:RQ-PCR 检测 ABL 内参基因为蓝色曲线(灰色箭头),e1a3 型 BCR/ABL 融合基因为绿色曲线(红色箭头);B、D:FISH 检测 BCR 显示绿色信号,ABL 显示红色信号,红绿融合信号为 BCR/ABL 融合基因(黄色箭头)。

图 1　BCR-ABL 融合基因 FISH 检测和 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因 RQ-PCR 检测分析

2 讨论

BCR-ABL 融合基因是由 9 号染色体断裂位点上的 ABL 基因和 22 号染色体上的 BCR 基因融合形成[4]。根据断裂位点的差别,可形成 BCR-ABL p210(e13a2 或 e14a2)、p190(典型的 e1a2)、p230 (e19a2)及其他少见类型。BCR-ABL$^+$ALL 占成人 ALL 20%~30%[1],常规化疗效果差,酪氨酸激酶抑制剂(TKI)是该融合蛋白的靶向药物,TKI 联合化疗可显著改善 BCR-ABL$^+$ALL 患者的预后,CR 可达 90%以上,5 年总生存率(OS)为 40%~60%[5-6],因此,BCR-ABL 融合基因的检测和诊断十分重要。

本中心诊治的 2 例 e1a3 型 BCR-ABL$^+$ALL,FISH 检测均为 BCR-ABL 融合基因阳性,PCR 检测常规 BCR-ABL 融合基因(P190/P210/P230)为阴性,罕见型 BCR-ABL 融合基因(e1a3 型)为阳性。大约有 5%的 BCR-ABL 融合基因不是常见的序列,e1a3 型 BCR-ABL 就是其中的一种。RQ-PCR 检测方便,灵敏度高,但目前实验室 BCR-ABL 常规引物只有 BCR-ABL p210(e13a2 或 e14a2)、p190(典型的 e1a2)、p230(e19a2)。由于方法学的弊端和常规 BCR-ABL 融合基因 PCR 引物组合的局限,可能造成假阴性结果。FISH 检测采用探针直接靶定基因断裂点两端,BCR 探针覆盖区域长 1.2×10^6 bp,ABL 探针覆盖区域长 7×10^5 bp,故 BCR 和 ABL 基因的不同断裂位点均能覆盖到,可见 FISH 法阳性检测率比 PCR 法更高。随着临床技术的发展,越来越多罕见型 BCR-ABL 基因逐渐被检出。现国外多采用二代测序的方法检测未知和少见融合基因类型,可以直接判断目标片段序列,但其成本昂贵。TONG 等[7]报道了用多重 RT-qPCR 快速检测 BCR-ABL 融合基因的方法,同时包含 14 个 BCR-ABL 融合基因片段(常见的 e12a2、e12a3、e13a2、e14a 和罕见的 e1a2、e1a3、e19a2、e19a3、e6a2、e6a3 等)。本研究报道的 2 例罕见 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性 ALL,由本实验室经 FISH 检出 BCR-ABL 基因阳性,PCR 常规检测示 p210、p190、p230 阴性,比对两者结果发现差异,再复检 PCR,增加不同的引物反应体系,筛检出罕见型 BCR-ABL 基因。这个实验诊断过程提示:在临床 BCR-ABL 基因筛检实践过程中,多维度、多技术联合应用能提高罕见型 BCR-ABL 融合基因的检出率。

e1a3 型 BCR-ABL 融合基因为罕见突变类型,可见于 CML,也有研究报道 e1a3 型 BCR-ABL 阳性 AML[3],但 e1a3 型 BCR-ABL$^+$ALL 报道极少,目前国内仅报道 3 例。e1a3 型 BCR-ABL 基因融合断裂位点为少见的第 3 号外显子(a3)处缺少 a2 序列,ABL 基因的 a2 序列能编码 ABLSH3 区的部分序列,SH3 能使酪氨酸激酶转化能力增强,SH3 区又通过 BCR-ABL 融合蛋白激活 STAT5 信号通路,导致白血病的发生。缺少 a2 序列不能编码 SH3 区的序列,一方面 SH3 的缺乏可能导致更多形式的 Ph 阳性白血病;另一方面 SH3 的缺失弱化了白血病细胞的增殖以及对正常组织的侵袭,使患者表现出相对缓和的临床病程[8-10]。也有研究提出 e1a3 和 e1a2(p190)的转录物具有相似的分子量,并且可能具有相似的临床特征,且 e1a3 的存在与髓外浸润和疾病加速存在相关性,可能预后更差且有更高的浸润性[11]。到目前为止,只有少数 e1a3 型 BCR-ABL 融合基因阳性的病例被报道,这种罕见的融合蛋白在 CML 及其在 B-ALL 中的作用尚不清楚。

BCR-ABL$^+$ALL 患者对传统治疗反应较差,异基因造血干细胞移植或 TKI 方案治疗在临床上取得了良好疗效[12-13]。e1a3 型 BCR-ABL 基因能编码 ABL 激酶的 ATP 结合位点,可以进行 TKI 靶向治疗。LÓPEZ-ANDRADE 等[11]分析 20 例 e1a3 型 BCR-ABL 基因阳性 ALL 患者,证实了采用 TKI 靶向治疗的患者生存率较没采用 TKI 治疗的患者生存率高,联合同种异基因造血干细胞移植效果更佳[9,11]。本研究报道的 2 例患者与文献报道基本一致,病例 1 在接受 TKI 治疗后 1 个疗程,形态学检测示缓解且后续持续缓解,表明 TKI 方案治疗对此患者有明显效果;然而病例 2 未行 TKI 治疗,导致死亡。

对罕见型 BCR-ABL 融合基因的检测,不仅可完善 BCR-ABL 融合基因阳性 ALL 的证据链,提供分子分型的差异性,同时,也是找出白血病 MRD 监测准确的靶标,对白血病复发的防控具有积极的临床指导意义。

参考文献:

[1] CHISSOE S L, BODENTEICH A, WANG Y F, *et al*. Sequence and analysis of the human ABL gene, the BCR gene, and regions involved in the Philadelphia chromosomal translocation[J]. Genomics, 1995, 27(1): 67-82. DOI: 10.1006/geno.1995.1008.

[2] 朱世为, 刘陶文. Ph 染色体阳性急性淋巴细胞白血病的治疗进展[J]. 实用肿瘤杂志, 2015, 30(4): 303-306. DOI:10.13267/j.cnki.syzlzz.2015.04.027.
ZHU S W, LIU T W. Progress in the treatment of Ph chromosome positive acute lymphoblastic leukemia [J]. J Pract Oncol, 2015, 30(4): 303-306. DOI:10.13267/j.

cnki.syzlzz.2015.04.027.

[3] SHEETS J W, EULITT P, HE R, *et al*. Philadelphia chromosome-positive acute myeloid leukemia with e1a3 BCR-ABL1 fusion transcript[J]. Hemasphere, 2020, 4(6): e484. DOI:10.1097/HS9.0000000000000484.

[4] 周永安, 张景萍. 慢性髓性白血病 bcr/abl 融合基因的克隆与表达[J]. 临床医药实践, 2009, 18(28): 730-731. ZHOU Y A, ZHANG J P. Cloning and expression of bcr/abl fusion gene in chronic myeloid leukemia[J]. Proc Clin Med, 2009, 18(28): 730-731.

[5] FUJISAWA S, MIZUTA S, AKIYAMA H, *et al*. Phase II study of imatinib-based chemotherapy for newly diagnosed BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia[J]. Am J Hematol, 2017, 92(4): 367-374. DOI: 10.1002/ajh.24653.

[6] OTTMANN O G, WASSMANN B, PFEIFER H, *et al*. Imatinib compared with chemotherapy as front-line treatment of elderly patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ALL)[J]. Cancer, 2007, 109(10): 2068-2076. DOI:10.1002/cncr.22631.

[7] TONG Y Q, ZHAO Z J, LIU B, *et al*. New rapid method to detect BCR-ABL fusion genes with multiplex RT-qPCR in one-tube at a time[J]. Leuk Res, 2018, 69: 47-53. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.04.001.

[8] AL-ALI H K, LEIBLEIN S, KOVACS I, *et al*. CML with an e1a3 BCR-ABL fusion: rare, benign, and a potential diagnostic pitfall[J]. Blood, 2002, 100(3): 1092-1093. DOI:10.1182/blood-2002-03-0930.

[9] BURMEISTER T, SCHWARTZ S, TAUBALD A, *et al*. Atypical BCR-ABL mRNA transcripts in adult acute lymphoblastic leukemia[J]. Haematologica, 2007, 92(12): 1699-1702. DOI:10.3324/haematol.11737.

[10] FUJISAWA S, NAKAMURA S, NAITO K, *et al*. A variant transcript, e1a3, of the minor BCR-ABL fusion gene in acute lymphoblastic leukemia: case report and review of the literature[J]. Int J Hematol, 2008, 87(2): 184-188. DOI:10.1007/s12185-008-0031-5.

[11] LÓPEZ-ANDRADE B, SARTORI F, GUTIÉRREZ A, *et al*. Acute lymphoblastic leukemia with e1a3 BCR/ABL fusion protein. A report of two cases[J]. Exp Hematol Oncol, 2015, 5: 21. DOI:10.1186/s40164-016-0049-y.

[12] SCHLIEBEN S, BORKHARDT A, REINISCH I, *et al*. Incidence and clinical outcome of children with BCR/ABL-positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). A prospective RT-PCR study based on 673 patients enrolled in the German pediatric multicenter therapy trials ALL-BFM-90 and CoALL-05-92[J]. Leukemia, 1996, 10(6): 957-963.

[13] GLEISSNER B, GÖKBUGET N, BARTRAM C R, *et al*. Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: a prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis[J]. Blood, 2002, 99(5): 1536-1543. DOI:10.1182/blood.v99.5.1536.

(**收稿**:2021-03-25;**修回**:2021-06-04)

(编辑 邓强庭)