基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000822

CD13表达及其与FLT3-ITD、NPM1突变在急性髓系白血病中的研究

周 琛[1],李 东[1],张 凡[1],乔 纯[2],环亚红[1],宋艳智[1],董 平[1],夏素琴[1],
王 琼[1],李翠萍[1],张苏江[2],李建勇[2],卢应连[1],廖海英[1],隋雪梅[1]
(1. 南京明基医院、南京医科大学附属医院血液科,南京 210019;
2. 南京医科大学第一附属医院、江苏省人民医院血液科,南京 210019)

【摘 要】**目的**:探讨72例急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia,AML)患者CD13表达及其与FLT3-ITD、NPM1突变同步检测的临床意义,并分析FLT3-ITD、NPM1突变的关系及其与CD13表达水平的相关性。**方法**:收集72例AML患者病例资料,采用流式细胞仪检测72例AML患者CD13表达,PCR及Sanger测序法检测FLT3-ITD、NPM1突变。**结果**:72例AML患者中68例CD13表达阳性(68/72,94.44%),经诱导化疗,44例获得完全缓解(44/68,64.71%)。$CD13^+$与$CD13^-$患者相比,χ^2=2.118,P=0.148,完全缓解率差异无统计学意义(P>0.05)。68例$CD13^+$的AML患者中,$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$双突变患者白细胞计数明显高于其余3组,差异均有统计学意义(P=0.000、P=0.010、P=0.000),而完全缓解率明显低于$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$与$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$组,差异有统计学意义(χ^2=8.400,P=0.000;χ^2=8.880,P=0.000)。$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者中位生存期仅为24个月,较$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$与$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$患者,生存期更短。$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$患者的平均年龄、白细胞计数及血红蛋白均高于$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者(P=0.030;P=0.000;P=0.040),白细胞计数及血红蛋白均高于$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$患者(P=0.020;P=0.00),完全缓解为85.71%,明显高于$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$和$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者(χ^2=8.40,P=0.000;χ^2=13.45,P=0.000),中位生存期为41个月(95%*CI*=34.4~47.6个月),较$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$和$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者生存期长,提示NPM1突变患者预后良好。**结论**:68例$CD13^+$患者中,$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$双突变患者具有高白细胞数和低CR率;$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者生存期短;$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$患者诱导缓解率高,$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$较低。对于AML患者,提示可以同时分析CD13表达及FLT3-ITD和NPM1突变的情况,为AML的相关治疗提供一个更好的思路。

【关键词】CD13;FLT3-ITD突变;NPM1突变;急性髓系白血病;预后
【中图分类号】R733.7 【文献标志码】A 【收稿日期】2014-12-11

Analysis of CD13 expression and mutations of FLT3-ITD and NPM1 in patients with acute myeloid leukemia

Zhou Chen[1], Li Dong[1], Zhang Fan[1], Qiao Chun[2], Huan Yahong[1], Song Yanzhi[1], Dong Ping[1], Xia Suqin[1], Wang Qiong[1], Li Cuiping[1], Zhang Sujiang[2], Li Jianyong[2], Lu Yinglian[1], Liao Haiying[1], Sui Xuemei[1]
(*1. Department of Hematology, BenQ Medical Center, the Affiliated Hospital of Nanjing Medical University;*
2. Department of Hematology, Jiangsu Province People's Hospital, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University)

【Abstrat】***Objective***: To explore the clinical implications of CD13 expression level and the mutation of FLT3-ITD and NPM1 gene in 72 acute myeloid leukemia(AML) patients. ***Methods***: Clinical features(blood routine and CR rate) of 72 AML patients were collected. The CD13 expression level was analyzed by flow cytometry and the mutations of FLT3-ITD and NPM1 were detected by polymerase chain reaction(PCR) as well as Sanger sequencing. ***Results***: Totally 68(94.44%) out of 72 AML cases had CD13 expression in leukemia cells;44(64.71%) out of 72 AML cases had complete remission after induction chemotherapy. No statistical difference was found between $CD13^+$ and $CD13^-$ patients(P>0.05). Among 68 $CD13^+$ AML patients, WBC count was higher in patients with $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$ mutations than in other groups, with statistical differences(P=0.000;P=0.010;P=0.000) and CR rate was lower in patients with $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$ mutations than in patients with $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$ and $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$(χ^2=8.400,P=0.000;χ^2=8.88,P=0.000). The median overall survival of $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$ patients was 24 months, shorter than that of FLT3-

作者介绍:周 琛,Email:Chen.Zhou@benqmedicalcenter.com,研究方向:血液学。
通信作者:李 东,Email:lidongjs@hotmail.com。
基金项目:南京医科大学科技发展基金资助项目(编号:2011NJMU223)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20151215.1650.006.html (2015-12-15)

ITD⁻/NPM1⁺ and FLT3-ITD⁻/NPM1⁻ patients. FLT3-ITD⁻/NPM1⁺ patients was older than FLT3-ITD⁺/NPM1⁻ patients and had higher WBC and hemoglobin count (P=0.030; P=0.000; P=0.040). FLT3-ITD⁻/NPM1⁺ patients had higher WBC and hemoglobin count than FLT3-ITD⁻/NPM1⁻ patients (P=0.020; P=0.000). The CR rate was 85.71%, apparently higher than those of FLT3-ITD⁺/NPM1⁺ and FLT3-ITD⁺/NPM1⁻ patients (χ^2=8.400, P=0.000; χ^2=13.450, P=0.000). The median overall survival was 41 months, longer than those of FLT3-ITD⁺/NPM1⁺ and FLT3-ITD⁺/NPM1⁻ patients. All of these presented a favorable prognosis in FLT3-ITD⁻/NPM1⁺ patients. ***Conclusion***: In 68 CD13+ patients, FLT3-ITD⁺/NPM1⁺ patients have higher WBC count and lower CR rate. FLT3-ITD⁺/NPM1⁻ patients have shorter survival. FLT3-ITD⁻/NPM1⁺ patients have higher remission rate than FLT3-ITD⁺/NPM1⁻ patients. Combining detection of CD13 expression and the FLT-ITD/NPM1 mutations can make strong sense for AML cases.

【Key words】CD13; FLT3-ITD mutation; NPM1 mutation; acute myelogenous leukemia; prognosis

急性髓系白血病（acute myelogenous leukemia，AML）是造血系统的一种异质性疾病。通过流式细胞术（flow cytometry，FCM）对 AML 的免疫分型，不仅可以了解其所属细胞系列及其分化程度，并且可以发现某些特殊的抗原表达及亚型，有助于 AML治疗方案的选择及预后判断。CD13 是一种细胞膜糖蛋白，又名氨基肽酶 N（Aminopeptidase N），CD13 是在不同发育阶段的所有粒细胞上均可表达的分子，多见于单核细胞、前体细胞、嗜酸性粒细胞及中性粒细胞等。已有文献报道 CD13 是 AML 的特异性标志[1]，在 90%AML 的原始细胞表面表达，对 AML 的诊断具有重要意义。近年来，分子诊断水平的发展使我们从基因水平上重新评价 AML 患者对治疗的反应和预后存在的差异性，一些基因突变被证实具有重要的预后意义。FLT3 样酪氨酸激酶 3（FMS-like tyrosine kinase 3，FLT3）近膜结构域内部串联复制（internal tandem duplication，ITD），是酪氨酸激酶（RTK）家族的成员。大量的研究成果表明，FLT3 基因发生突变与急性白血病的发生有密切关系[2]，突变类型主要包括近膜区 ITD 和酪氨酸激酶结构域（tyrosin kinase domain，TKD）的突变。FLT3-ITD+ 的 AML 通常病情凶险，化疗反应差，缓解率低，早期死亡率高[3]，是 AML 患者中较常见的突变类型。FLT3-TKD 突变为酪氨酸激酶结构域的激活环（Activation loop）中个别氨基酸的缺失或插入，发生于约 7%的 AML 患者中。核仁磷酸蛋白（nucleophosmin，NPM1）基因突变造成所编码的穿梭蛋白定位信号异常，使该蛋白在胞质中异常聚集，引起的下游通路改变可能参与白血病形成[4]。现对 72 例 AML 患者 CD13 表达及 FLT3-ITD、NPM1 突变进行同步分析，并探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集我院血液科 2009 年 5 月至 2013 年 3 月期间收治的 72 例 AML 患者。所有患者均经过骨髓检查、免疫分型、细胞遗传学和分子生物学检测确诊，诊断标准参照张之南主编《血液病诊断及诊疗标准》[5]。其中男 39 例，女 33 例，年龄 5~76 岁，中位年龄 43 岁。按 FAB 分型，M1 7 例，M2 25 例，M3 24 例，M4 6 例，M5 6 例，M6 3 例。

1.2 实验方法

1.2.1 FCM 分析 取患者肝素抗凝骨髓液约 3~5 ml。先在测试管内加入单克隆抗体组合，再加入 100 μl 单细胞悬液，充分混匀，室温下避光孵育 20 min，加入 2 ml 红细胞裂解液，室温下避光 10 min，离心后去上清，PBS 液洗涤 2 次，将标记好的细胞溶于 0.5 ml 多聚甲醛磷酸盐缓冲液，4 ℃保存备用。采用 FACS Calibur 流式细胞仪，应用 Cell Quest 软件，分析计算 CD13 的阳性率。CD13 表达>20%为 CD13⁺。

1.2.2 染色体核型分析 所有病例组均在获得知情同意后抽取骨髓液 5 ml，按常规染色体制备技术及改良的热处理吉姆萨 R 显带技术分析 20 个以上分裂象细胞核型，核型按“人类染色体国际命名体制（ISCN2005）”进行描述。

1.2.3 DNA 制备 取采集的化疗后病例组骨髓液标本 3 ml，用淋巴细胞分离液分离单个核细胞，采用 QIAamp® DNA Blood mini kit 试剂盒提取基因组 DNA，-80 ℃保存备用。

1.2.4 PCR 扩增及结果判定 分别于 FLT3 基因 14 号外显子区、NPM1 基因 12 号外显子区设计引物，引物序列见表 1，合成及纯化由上海英潍捷基贸易有限公司合成。反应体系：DNA 模板 5 μl，10 × PCR Buffer 2.5 μl，25 mmol/L $MgCl_2$ 1.5 μl，10 mmol/L dNTP 2.5 μl，TaqDNA 酶 1.5 μl（Takara 公司）、20 μmol/L 上游与下游引物各 1 μl，去离子水补足 25 μl。FLT3 基因反应条件：95 ℃ 5 min，95 ℃ 30 s，56 ℃ 30 s，72 ℃ 40 s，35 个循环；72 伸 7 min。NPM1 基因反应条件：95 ℃ 5 min，95 ℃ 30 s，58 ℃ 30 s，72 ℃ 45 s，35 个循环；72 ℃延伸 7 min。分别取 PCR 扩增产物 5 μl 经 3%琼脂糖凝胶电泳后置于

Syngene凝胶成像扫描仪扫描条带，结果与正常序列比对，出现额外大于野生型 FLT3 条带者，再次 PCR 扩增、经过Sanger测序法判断结果。

表 1 FLT3、NPM1 引物序列

Tab.1 Primer sequences of FLT3 and NPM1

基因	引物序列	扩增产物长度
FLT3	上游引物 5'-GCATATCAAGTTGCCAAAGGAAT-3'	129 bp
	下游引物 5'-TCGAGCCAATCCAAAGTCACATA-3'	
NPM1	上游引物 5'-ATGAATTACGAAGGCAGTCCAAT-3'	185 bp
	下游引物 5'-TCTGACTCTGCATCTTCCTCCAC-3'	

1.2.5 治疗方案及疗效评价 所有 AML(非 M3)患者的诱导缓解方案包括蒽环类(包括去甲氧柔红霉素、柔红霉素或米托蒽醌)联合阿糖胞苷方案 61 例，高三尖杉酯碱联合阿糖胞苷方案 2 例，CAG 方案 9 例，高白细胞计数者在诱导化疗前单用羟基脲或联合白细胞单采清除进行预处理。巩固治疗主要以中大剂量阿糖胞苷为主的方案。疗效判断均参照张之南主编的《血液病诊断及疗效标准》第 3 版[5]评价。收集患者的临床特征、外周血象、骨髓检查、免疫分型、细胞遗传学、分子生物学检测、治疗效果等临床资料。所有患者随访至 2013 年 8 月，疾病确诊死亡或随访截止的时间段为总体生存(overall survival，OS)时间。

1.3 统计学方法

统计学分析均采用 SPSSA 16.0 分析。计数资料采用卡方检验进行差异性检验，计量资料采用独立样本 t 检验、秩和检验及单因素方差分析，多重比较采用 Dunnett-t 法，生存时间应用 Kaplan-Meier 计算并用双侧对数秩和检验比较，检验水准 α=0.05。

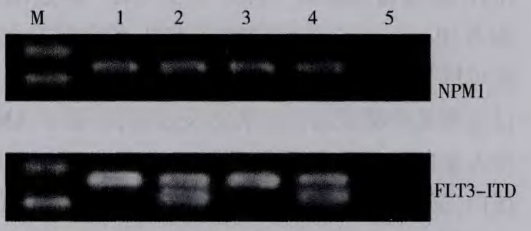
2 结 果

2.1 CD13 免疫表型分析

72 例 AML 患者中共检测出 68 例 $CD13^+$，阳性率 94.4%，其中 M1 8 例，M2 25 例，M3 23 例，M4 6 例，M5 5 例，M6 1 例；4 例 $CD13^-$，其中 M3 1 例，M5 1 例，M6 2 例。经过 1、2 个疗程的化疗，$CD13^+$组的患者中，44 例获得完全缓解(44/68，64.71%)；$CD13^-$组 4 例均获得完全缓解(4/4，100%)，二者的缓解率无统计学差异(χ^2=2.118，P=0.146)。$CD13^+$与$CD13^-$比较(见表 2)，白细胞计数差异有统计学意义(z=-2.040，P=0.041)；平均年龄、血红蛋白、血小板差异无统计学意义(P>0.05)。

2.2 基因突变检测结果

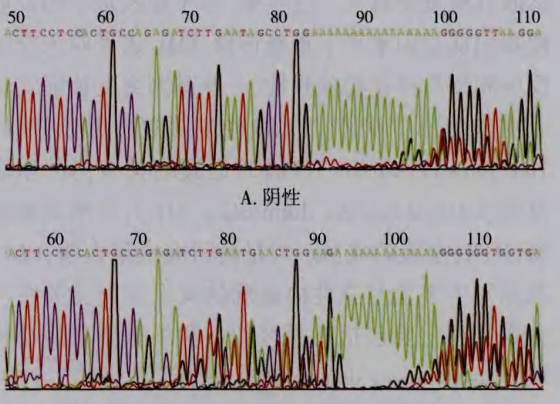
NPMI、FLT3-ITD 基因 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳结果如图 1。使用 PCR 方法扩增 NPM1 基因之后，由于突变型和野生型扩增产物的片段大小相近，使用普通琼脂糖凝胶电泳在紫外成像仪上无法将其区分(见图 1)，因此本实验对 NPM1 基因 PCR 产物直接测序。NPMI 基因突变分析：72 例 AML 患者标本 PCR 扩增产物进行直接测序后发现 NPM1 突变型 28 例(38.9%)，在测序引物后 80 bp 范围内部分出现重叠峰形，正常对照者未发生 NPM1 突变(图 2)。FLT3-ITD 基因突变分析：72 例 AML 患者标本 PCR 扩增产物进行直接测序后发现 25 例 FLT3-ITD 突变(34.7%)，测序结果见图 3。



M为 Marker；1、3 为阴性；2、4 为阳性；5 为阴性 control

图 1 AML 患者 NPMI、FLT3-ITD PCR 产物电泳图

Fig.1 PCR electrophoretogram of NPMI and FLT3-ITD



A. 阴性

B. 直接测序阳性

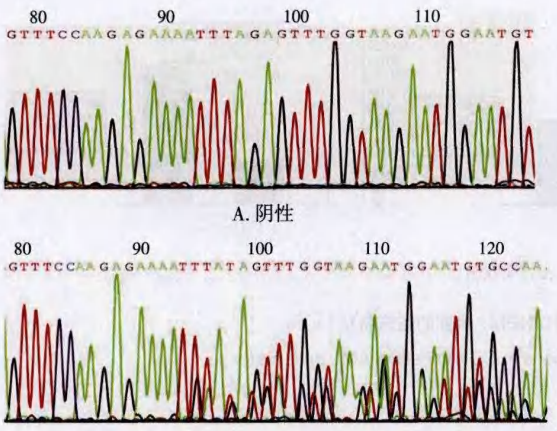
图 2 Sanger 测序法筛选 NPMI 测序结果

Fig.2 Results of NPMI by sanger sequencing

表 2 $CD13^+$与$CD13^-$AML 患者临床特征

Tab.2 Clinical features of $CD13^+$ and $CD13^-$ AML patients

组别	例数	男/女	平均年龄(岁)	WBC($\times10^9$个/L)	Hb(g/L)	PLT($\times10^9$个/L)	CR率
$CD13^+$	68	37/31	44.15±17.25	39.89±60.83	85.42±27.35	48.44±42.57	64.70%
$CD13^-$	4	2/2	32.50±8.35	6.93±9.07	79.80±33.78	89.50±68.44	100.00%
χ^2/z 值		0.000	-1.599	-2.040	-0.762	-1.377	0.827
P 值		1.000	0.110	0.041	0.446	0.168	0.363



A. 阴性

B. 直接测序阳性

图 3 Sanger 测序法筛选 FLT3-ITD 测序结果

Fig.3 Results of FLT3-ITD by sanger sequencing

2.3 临床表现

72 例 AML 患者中，CD13⁺/FLT3-ITD⁺共检测出 25 例（见表 3），占 36.76%，其中 M1 2 例，M2 9 例，M3 11 例，M4 2 例，M5 1 例，经诱导化疗有 7 例获得完全缓解（7/25，28.0%），其中发生 FLT3-ITD 突变与未发生突变的平均年龄、白细胞计数、CR 率比较，差异有统计学意义（P=0.005、P=0.000、P=0.000）。CD13⁺/NPM1⁺共检测出 28 例（见表 4），占 41.18%（28/68），其中 M1 4 例，M2 6 例，M3 14 例，M4 2 例，M5 2 例，经诱导化疗有 20 例获得完全缓解（20/28，71.43%），其中发生 NPM1 突变与未发生突变的年龄、白细胞计数、血红蛋白、血小板及 CR 率比较，差异均无统计学意义（P>0.05）。CD13⁻患者未检测出 FLT3-ITD⁺及 NPM1⁺。

68 例 CD13⁺的 AML 患者中，FLT3-ITD⁺/NPM1⁺双突变有 7 例（见表 5），占 10.29%（7/68），其中 M1 1 例，M2 1 例，M3 3 例，M4 1 例，M5 1 例。FLT3-ITD⁺/NPM1⁻有 18 例，占26.47%（18/68），其中 M1 1 例，M2 8 例，M3 8 例，M4 1 例。FLT3-ITD⁻/NPM1⁺有 21 例，占 30.88%（21/68），其中 M1 3 例，M2 5 例，M3 11 例，M4 1 例，M5 1 例。FLT3-ITD⁻/NPM1⁻有 22 例，占 32.35%（22/68），其中 M1 3 例，M2 11 例，M3 1 例，M4 3 例，M5 3 例，M6 1 例。

由上表可见，4 组平均年龄、血红蛋白及 CR 率比较，差异有统计学意义（P=0.004、P=0.029、P=0.000），因此进行多重比较，结果见图 4。4 组白细胞及血小板计数比较，差异均无统计学意义（P>0.05）。

表 3 68 例 CD13 表达阳性 AML 患者 FLT3-ITD 突变的临床特征（$\bar{x}\pm s$）

Tab.3 Clinical features of FLT3-ITD mutations in 68 CD13 positive AML patients（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	男/女	平均年龄（岁）	WBC（×10⁹ 个/L）	Hb（g/L）	PLT（×10⁹ 个/L）	CR率
FLT3-ITD⁺	25	16/9	36.56 ± 18.28	81.51 ± 83.69	93.4 ± 29.96	58.16 ± 47.64	28.00%
FLT3-ITD⁻	43	21/22	48.56 ± 15.16	15.69 ± 16.45	80.78 ± 24.91	42.79 ± 38.79	86.05%
$\chi^2/z/t$ 值		1.465	−2.916	−5.412	1.870	1.447	23.324
P 值		0.230	0.005	0.000	0.066	0.153	0.000

表 4 68 例 CD13 表达阳性 AML 患者 NPM1 突变的临床特征（$\bar{x}\pm s$）

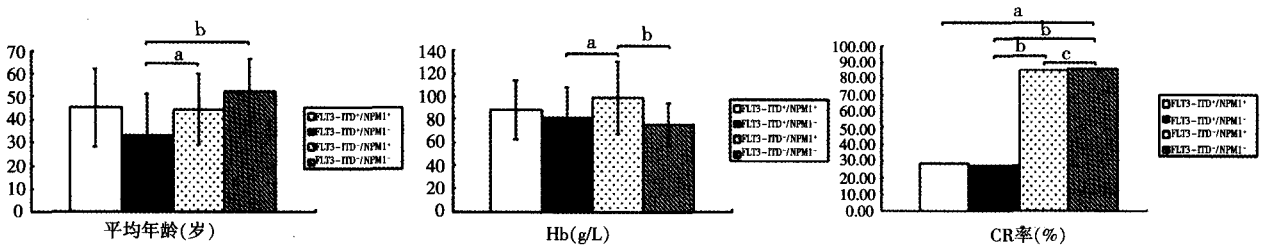
Tab.4 Clinical features of NPM1 mutations in 68 CD13 positive AML patients（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	男/女	平均年龄（岁）	WBC（×10⁹ 个/L）	Hb（g/L）	PLT（×10⁹ 个/L）	CR率
NPM1⁺	28	16/12	44.71 ± 15.61	38.97 ± 69.91	87.15 ± 27.84	51.46 ± 37.38	71.43%
NPM1⁻	40	21/19	43.75 ± 18.50	40.54 ± 54.53	84.21 ± 27.30	46.31 ± 46.20	60.00%
χ^2/t 值		0.143	0.225	−0.104	0.433	0.487	0.942
P 值		0.707	0.822	0.918	0.666	0.628	0.335

表 5 68 例 CD13 表达阳性 AML 患者 FLT3-ITD/NPM1 突变的临床特征（$\bar{x}\pm s$）

Tab.5 Clinical features of FLT3-ITD/NPM1 mutations in 68 CD13 positive AML patients（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	男/女	平均年龄（岁）	WBC（×10⁹ 个/L）	Hb（g/L）	PLT（×10⁹ 个/L）	CR率
FLT3-ITD⁺/NPM1⁺	7	5/2	45.28 ± 16.91	118.60 ± 106.76	88.46 ± 25.88	69.86 ± 26.86	28.57%
FLT3-ITD⁺/NPM1⁻	18	11/7	33.17 ± 18.08	13.25 ± 15.63	81.17 ± 26.71	47.78 ± 40.06	27.78%
FLT3-ITD⁻/NPM1⁺	21	11/10	44.52 ± 15.58	58.57 ± 69.15	98.86 ± 31.41	50.33 ± 51.17	85.71%
FLT3-ITD⁻/ NPM1⁻	22	10/12	52.40 ± 14.01	18.82 ± 17.66	75.11 ± 19.18	40.36 ± 39.46	86.36%
χ^2/F 值		1.889	4.835	2.762	3.189	0.865	23.328
P 值		0.596	0.004	0.101	0.029	0.464	0.000



a: $P<0.05$; b: $P<0.01$; c: $P<0.01$

图 4 CD13 表达阳性 AML 患者 FLT3-ITD/NPM1 突变的临床特征（$\bar{x}\pm s$）

Fig.4 Clinical features of FLT3-ITD/NPM1 mutations in CD13 positive AML patients ($\bar{x}\pm s$)

2.4 预后分析

68 例 $CD13^+$的 AML 患者中各组生存时间比较见图 5。7 例 $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$，随访期间 1 例死亡，明显低于 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$组，差异有统计学意义（$\chi^2=8.400$，$P=0.000$；$\chi^2=8.88$，$P=0.000$）；18 例 $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$，随访期间 2 例死亡，明显低于 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$组，差异有统计学意义（$\chi^2=13.450$，$P=0.000$；$\chi^2=14.160$，$P=0.000$）；$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$与 $FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$比较，差异无统计学意义（$\chi^2=0.000$，$P=0.970$）；21 例 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$，随访期间 2 例死亡；22 例 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$，随访期间 3 例死亡。$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$比较，差异无统计学意义（$\chi^2=0.000$，$P=0.950$）。$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^+$双突变患者中位总生存期为23个月（95%*CI*=12.2~33.8 个月）；$FLT3\text{-}ITD^+/NPM1^-$患者中位总生存期为 24 个月（95%*CI*=16.3~31.7 个月）；$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^+$患者中位总生存期为 41 个月（95%*CI*=34.4~47.6 个月）；$FLT3\text{-}ITD^-/NPM1^-$患者中位总生存期为 37 个月（95%*CI*=27.8~46.2 个月）。

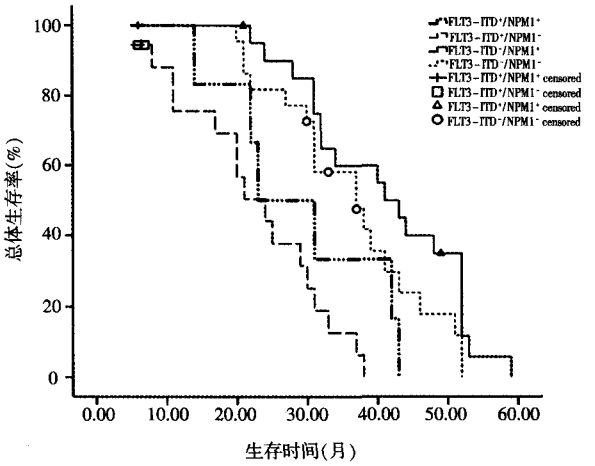


图 5 CD13 表达阳性 FLT3-ITD/NPM1 突变对患者生存时间的影响

Fig.5 Effects of $CD13^+$FLT3-ITD/NPM1 mutations on survival time

3 讨 论

AML 治疗方案的选择及预后判断与免疫分型关系密切。CD13 基因有近端和远端两个启动子，定位于第 15 号染色体长臂 25~26 区，全长 35 kb。在血细胞，CD13 表达在髓细胞分化发育的各阶段、成熟的单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞以及急性髓细胞白血病细胞、慢性髓细胞白血病急变危象期细胞以及少数淋巴细胞白血病细胞。CD13 作为最早被发现的髓细胞表面标志物，CD13 多年来被用于白血病或淋巴瘤细胞的定性和分型，提示对髓细胞的分化发育有重要的作用。本实验中 72 例 AML 患者中 CD13 阳性表达率 94.44%，与国内外研究结果基本一致[6-7]。本研究结果 $CD13^+$与 $CD13^-$患者相比（$\chi^2=2.118$，$P=0.148$），完全缓解率差异无统计学意义。$CD13^+$组白细胞计数较 $CD13^-$高，差异有统计学意义（$z=-2.040$，$P=0.041$）。

FLT3（Fms-like tyrosine kinase，FMS 样的酪氨酸激酶 3）属于Ⅲ型酪氨酸激酶受体家族，是存在于细胞膜上的原癌基因。FLT3-ITD 是 FLT3 近膜区的突变形式。本实验结果显示，$CD13^+$AML 患者$FLT3\text{-}ITD^+$突变率为 36.76%，较国内外报道 $FLT3\text{-}ITD^+$突变率（19.7%、18.5%）高[8-9]，可能与本研究选取的样本量较少有关。FLT3-ITD 突变患者诱导缓解率低，本实验 68 例 $CD13^+$患者检测出 25 例 FLT3-ITD 突变中，经诱导化疗仅有 7 例获得完全缓解，缓解率 28.0%，与 $FLT3\text{-}ITD^-$的完全缓解率（86.05%）比较，差异有统计学意义。FLT3-ITD 阳性突变患者与突变阴性患者比较，年龄较小，白细胞较高，差异有统计学意义。

核仁磷酸蛋白（Nucleophosmin，NPM1），又称 B23，mumatrin 或 N038。人 NPM1 基因定位于第 5 号染色体长臂，含 12 个外显子，全长 23 kb。NPM1 基因突变与原发的 AML 密切相关，大量研究表明 NPM1 突变是 AML 预后相对较好的判断指标。本研究 68 例 $CD13^+$患者中 28 例 $NPM1^+$，经诱导化疗后有 20 例获得完全缓解，占 71.43%，与 $NPM1^-$患者相比，差异无统计学意义。

将分选出的 68 例 $CD13^+$的患者进行突变分析，发现 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$双突变有 7 例虽例数偏少，但本研究发现 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$患者白细胞计数明显高于其余 3 组，而完全缓解率明显低于 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3-ITD^-/NPM1^-$组。$FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者平均年龄、白细胞计数及血红蛋白明显低于 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$患者，完全缓解率明显低于 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3-ITD^-/NPM1^-$组，$FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者中位总生存期仅为 24 个月，较 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$与 $FLT3-ITD^-/NPM1^-$患者，生存期更短，与文献报道的，FLT3-ITD 突变阳性患者的临床疗效差，诱导缓解率低、无事件生存率和总生存率低[10]一致。$FLT3-ITD^-/NPM1^+$患者的平均年龄、白细胞计数及血红蛋白均高于 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者，白细胞计数及血红蛋白均高于 $FLT3-ITD^-/NPM1^-$患者，完全缓解为 85.71%，明显高于 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$和 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者，中位总生存期为 41 个月（95%*CI*=34.4~47.6 个月），较 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$和 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者生存期长，提示 NPM1 突变患者预后良好，与报道一致[11]。未检测出 FLT3-ITD 和 NPM1 突变的患者较 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者，平均年龄偏高，白细胞较 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$和 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$患者偏低，血红蛋白较 $FLT3-ITD^-/NPM1^+$患者偏低，完全缓解率明显高于 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$和 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者，中位总生存期为 37 个月（95%*CI*=27.8~46.2 个月），较 $FLT3-ITD^+/NPM1^+$和 $FLT3-ITD^+/NPM1^-$患者生存期长。

在今后的研究中有必要进一步开展大样本、高质量的研究，为明确 CD13 表达及其与 FLT3-ITD、NPM1 突变对 AML 预后的影响提供可靠证据。

参 考 文 献

[1] 钟辉秀，殷明刚，杨新春. 113 例急性髓细胞白血病细胞形态学及免疫表型分析[J]. 重庆医科大学学报，2010，35(11)：1761-1763.

[2] Inaba H，Rubnitz JE，Coustan-Smith E，et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the multikinase inhibitor sorafenib in combination with clofarabine and cytarabine in pediatric relapsed/refractory leukemia[J]. J Clin Oncol，2011，29(24)：3293-3300.

[3] Pratz KW，Sato T，Murphy KM，et al. FLT3 mutant allelic burden and clinical status are predictive of response to FLT3 inhibitors in AML[J]. Blood，2010，115(7)：1425-1432.

[4] Hubmann M，Köhnke T，Hoster E，et al. Molecular response assessment by quantitative real-time polymerase chain reaction after induction therapy in NPM1-mutated patients identifies those at high risk of relapse[J]. Haematologica，2014，99(8)：1317-1325.

[5] 张之南，沈 悌. 血液学诊断及诊疗标准[M]. 3 版. 北京：科学技术出版社，2008：106-116.

[6] 陈 亮，严智昌. 47 例急性髓系白血病免疫分型特点分析[J]. 中国医疗前沿，2013，8(18)：8-9.

[7] Piedfer M，Dauzonne D，Tang R，et al. Aminopeptidase-N/CD13 is a potential proapoptotic target in human myeloid tumor cells[J]. FASEB J，2011，25(8)：2831-2842.

[8] Wang L，Xu WL，Meng HT，et al. FLT3 and NPM1 mutations in Chinese patients with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics[J]. J Zhejiang Univ Sci，2010，11(10)：762-770.

[9] 张泽川，鹿全意，赵江宁，等. 双重 PCR 检测急性髓系白血病 FLT3-ITD 和 NPM1 基因突变[J]. 中国实验血液学杂志，2011，19(3)：717-720.

[10] Martelli MP，Pettirossi V，Thiede C，et al. $CD34^+$ cells from AML with mutated NPM1 harbor cytoplasmic mutated nucleophosmin and generate leukemia in immunocompromised mice[J]. Blood，2010，116(19)：3907-3922.

[11] Becker H，Marcucci G，Maharry K，et al. Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically normal denovo acute myeloid leukemia and associated gene and micro RNA expression signatures：a cancer and leu-kemia group study[J]. J Clin Oncol，2010，28(4)：596-604.

（责任编辑：冉明会）