

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.012
文章编号: 1005-8982 (2019) 12-0058-05

新进展研究·论著

FLT3-ITD 突变的急性髓系白血病免疫表型 及临床特征分析*

孙玲玲¹, 孙佳英¹, 杨威²

(1. 中国医科大学附属第四医院 第二 ICU, 辽宁 沈阳 110032; 2. 中国医科大学附属盛京医院 血液内科, 辽宁 沈阳 110004)

摘要: 目的 讨论 FLT3-ITD 突变的急性髓系白血病 (AML) 的免疫表型及临床特征。**方法** 回顾性分析 2015 年 6 月—2017 年 6 月中国医科大学附属第四医院收治的 FLT3-ITD⁺ 及 FLT3-ITD⁻ AML 组患者的免疫表型、临床资料, 并对两组患者化疗后临床结局及生存状况进行比较。**结果** FLT3-ITD⁺ AML 组患者 CD56、CD33、CD11b 及 CD7 表达高于 FLT3-ITD⁻ AML 组 ($P < 0.05$), 而 CD34、CD117 表达低于 FLT3-ITD⁻ AML 组 ($P < 0.05$)。与 FLT3-ITD⁻ AML 组患者比较, FLT3-ITD⁺ AML 组患者外周血白细胞计数及骨髓原始细胞比例升高 ($P < 0.05$), 而血红蛋白及血小板计数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); FLT-ITD⁻ AML 组患者总反应率高于 FLT3-ITD⁺ AML 组 ($P < 0.05$); FLT3-ITD⁻ AML 组患者无病生存率和总生存率高于 FLT3-ITD⁺ AML 组 ($P < 0.05$)。FLT3-ITD⁺ AML 组患者完全缓解患者 CD56、CD34、CD11b、CD7、CD33 及 CD117 的表达水平低于未缓解患者 ($P < 0.05$)。**结论** FLT3-ITD⁺ AML 患者白血病细胞抗原表达紊乱, 外周血白细胞及骨髓原始细胞高, 完全缓解率低, 预后差, 是 AML 预后不良因素。AML 患者早期检测 FLT3-ITD 突变及免疫分型对于指导治疗、判断预后具有重要临床意义。

关键词: 白血病; 免疫表型分型; 预后

中图分类号: R552

文献标识码: A

Immunophenotype and clinical characteristics of acute myeloid leukemia with FLT3-ITD positive*

Ling-ling Sun¹, Jia-ying Sun¹, Wei Yang²

(1. Department of Intensive Care Unit, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110032, China; 2. Department of Hematology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110004, China)

Abstract: Objective To study immunophenotype and clinical characteristics of acute myeloid Leukemia (AML) with FLT3-ITD positive. **Methods** The immunophenotype and laboratory characteristics of FLT3-ITD⁺ and FLT3-ITD⁻ acute myeloid leukemia patients admitted to our hospital from June 2015 to June 2017 were retrospectively analyzed. The clinical outcomes and survival of the two groups after chemotherapy were compared. **Results** The expression of CD56, CD33, CD11b, CD7 in FLT3-ITD⁺ AML patients was much higher than that in FLT3-ITD⁻ AML patients, while the expressions of CD34 and CD117 were much lower ($P < 0.05$); the white blood cell count and bone marrow leukemia cells in FLT3-ITD⁺ AML patients increased much more than those in FLT3-ITD⁻ AML patients ($P < 0.05$), while there was no statistical difference in hemoglobin and platelet count ($P > 0.05$); the rate of treatment objective response (OR) in FLT3-ITD⁺ AML patients was much higher than that in FLT3-ITD⁻ AML

收稿日期: 2019-01-21

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金 (No: 20170541015)

patients ($P < 0.05$); Patient-free survival and overall survival in FLT3-ITD-AML patients were much higher than those in FLT3-ITD⁺AML patients ($P < 0.05$). The expressions of CD56, CD34, CD11b, CD7, CD34 and CD117 in FLT3-ITD⁻patients with complete remission were significantly lower than those in patients without remission ($P < 0.05$). **Conclusions** The abnormal expression of leukemia cell antigen, high peripheral blood leukocytes and bone marrow primordial cells, low complete remission rate and poor prognosis in patients with FLT3-ITD⁺AML are the poor prognostic factors of AML. Early detection of FLT3-ITD mutation and immunotyping in AML patients has important clinical significance in guiding treatment and judging prognosis.

Keywords: leukemia; immunophenotyping; prognosis

急性髓系白血病 (acute myelogenous leukemia, AML) 发生、发展涉及多因素。其中, 酪氨酸激酶受体途径起重要作用, 存在于几乎所有的生长和增殖过程, 能促进细胞分化^[1]。FLT3 主要在正常骨髓 CD34⁺造血干/祖细胞中表达, FLT3 突变影响正常血细胞的增殖、分化和凋亡, 从而引起白血病。FLT3-ITD 是其突变的主要形式, 与预后密切相关^[2]。目前对其免疫表型的相关研究较少。本研究回顾性分析 FLT3-ITD⁺及 FLT3-ITD⁻ AML 患者的免疫表型及临床特征, 探讨 FLT3-ITD 突变在临床治疗中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

回顾性分析 2015 年 6 月—2017 年 6 月中国医科大学附属第四医院收治的 165 例初治 AML 患者。其中, FLT3-ITD⁺ 患者 33 例, 男性 19 例, 女性 14 例; 年龄 15 ~ 74 岁。FLT3-ITD⁻ 患者 132 例, 男性 63 例, 女性 69 例; 年龄 16 ~ 85 岁。全部患者符合 AML 临床诊断标准, 经过骨髓细胞形态学、免疫表型、染色体及融合基因检测最终得到确诊, 符合急性髓系白血病的分型诊断标准及世界卫生组织相关标准。

1.2 方法

检测白血病细胞抗原 CD2、CD3、CD34、CD38、CD117、HLA-DR、CD13、CD33、CD16、CD14、

CD64、CD56、CD79a 及 CD11b 表达情况。以 CD45/SSC 门控法分析白血病细胞的免疫表型, 计算抗原表达率。比较两组患者初诊时化疗前的临床特征。采用 DA 或 IDA 标准方案 (M3 患者加用维 A 酸或三氧化二砷) 为诱导缓解方案。观察两组患者 1 个疗程标准方案化疗后的缓解情况, 并结合患者综合情况, 继续化疗或者进行自体/异体造血干细胞移植。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验; 非正态分布的计量资料以中位数和四分位数间距 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 比较用秩和检验; 计数资料以百分比或率 (%) 表示, 比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较

两组患者年龄、性别、血红蛋白及血小板计数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而初诊时外周血白细胞计数、骨髓原始细胞比例比较, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), FLT3-ITD⁺ AML 患者初诊时外周血白细胞计数、骨髓中原始细胞比例高于 FLT3-ITD⁻ AML 患者。见表 1。

表 1 两组患者临床资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	男 / 女 / 例	白细胞计数 / ($\times 10^9$ 个/L, $\bar{x} \pm s$)	血红蛋白 / (g/L, $\bar{x} \pm s$)	血小板计数 / ($\times 10^9$ 个/L, $\bar{x} \pm s$)	骨髓原始细胞比例 / (% , $\bar{x} \pm s$)
FLT3-ITD ⁺ AML 组	33	43.1 \pm 17.2	16/17	56.8 \pm 14.8	86.5 \pm 22.7	80.1 \pm 16.9	68.4 \pm 22.5
FLT3-ITD ⁻ AML 组	132	42.1 \pm 13	59/73	20.5 \pm 9.2	89.6 \pm 23.9	79.8 \pm 13.2	60.1 \pm 21.3
t/χ^2 值		0.026	0.021	4.218	0.501	0.610	2.145
<i>P</i> 值		0.987	0.890	0.006	0.841	0.891	0.029

2.2 两组患者细胞免疫表型比较

共检测 14 个白血病细胞抗原表达。FLT3-ITD⁺ AML 组与 FLT3-ITD⁻ AML 患者 CD56、CD34、CD11b、CD7、CD33 及 CD117 表达比较,经秩和检验,

差异有统计学意义 ($P < 0.05$); FLT3-ITD⁺ AML 患者 CD56、CD11b、CD7 及 CD33 表达高于 FLT3-ITD⁻ AML 患者,而 CD34、CD117 表达低于 FLT3-ITD⁻ AML 患者。见表 2。

表 2 两组患者细胞免疫表型比较 [% , M (P₂₅ , P₇₅)]

组别	n	CD56	CD34	CD11b	CD7	CD33	CD117
FLT3-ITD ⁺ AML 组	33	11.1 (2.9, 29.8)	14.2 (1.1, 36.9)	14.2 (7.0, 50.1)	15.0 (1.7, 56.7)	82.1 (46.7, 97.6)	5.1 (1.4, 12.9)
FLT3-ITD ⁻ AML 组	132	5.8 (1.5, 14.1)	32.8 (1.1, 77.8)	6.0 (3.2, 32.4)	2.5 (0.6, 17.9)	70.2 (23.5, 89.7)	9.8 (2.4, 25.9)
Z 值		2.978	2.545	2.346	3.012	2.169	2.399
P 值		0.015	0.011	0.021	0.003	0.039	0.031

2.3 两组患者 1 个疗程标准方案诱导化疗结局比较

FLT3-ITD⁺ AML 组 33 例,参与评价的患者 30 例。完全缓解 (complete remission, CR) 7 例,部分缓解 (partial remission, PR) 5 例,总反应 (overall reaction, OR) 12 例 (40%)。FLT-ITD⁻ AML 组 132 例,参与评价 96 例。其中,CR 54 例,PR 23 例,OR 77 例 (80.2%)。两组患者 OR 率比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2=7.846$, $P=0.021$); FLT-ITD⁻ AML 患者 OR 率高于 FLT3-ITD⁺ AML 患者。

2.4 两组患者生存情况比较

两组患者随访至 2018 年 6 月或者患者死亡。随访时间 2 ~ 32 个月。无病生存 (disease free survival, DFS) 期定义为开始治疗至疾病复发、死亡或至末次随访的时间。总生存 (overall survival, OS) 期定义为疾病确诊至末次随访或死亡的时间。两组患者 3 年 DFS 率和 OS 率比较,经 χ^2 检验,差异有统计学意义 ($\chi^2=37.344$ 和 32.451, $P=0.013$ 和 0.021), FLT-ITD⁻

AML 组患者 3 年 DFS 和 OS 高于 FLT3-ITD⁺ AML 组患者。见表 3。

2.5 FLT3-ITD⁺ AML 患者 1 个疗程标准方案诱导化疗疗效与细胞免疫表型的关系

FLT3-ITD⁺ AML 患者 33 例,参与评价患者 30 例,根据化疗疗效分为 CR 7 例 (23.3%) 和未缓解 (non remission, NR) 18 例 (60.0%)。两组患者 CD56、CD34、CD11b、CD7、CD33 及 CD117 表达比较,经秩和检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$), CR 组患者 CD56、CD34、CD11b、CD7、CD33 及 CD117 表达低于 NR 组。见表 4。

表 3 两组患者生存情况比较 %

组别	n	DFS 率	OR 率
FLT3-ITD ⁺ AML 组	33	12.1	25.1
FLT3-ITD ⁻ AML 组	132	64.8	85.2
χ^2 值		37.344	32.451
P 值		0.013	0.021

表 4 FLT3-ITD⁺ AML 患者化疗疗效与细胞免疫表型比较 [% , M (P₂₅ , P₇₅)]

组别	n	CD56	CD34	CD11b	CD7	CD33	CD117
CR 组	7	9.6 (2.5, 16.2)	12.5 (1.0, 35.7)	7.2 (2.9, 21.1)	5.0 (1.7, 16.7)	80.1 (47.7, 86.2)	4.5 (1.6, 13.7)
NR 组	18	13.2 (2.6, 27.6)	30.9 (1.0, 68.9)	14.1 (7.2, 49.7)	12.5 (1.6, 57.9)	85.2 (24.1, 97.9)	7.9 (2.3, 24.8)
Z 值		2.782	2.351	2.214	2.989	2.231	2.289
P 值		0.022	0.017	0.019	0.009	0.035	0.029

3 讨论

AML 是造血干细胞功能障碍引起的恶性克隆性疾病。其发生、发展和预后具有高度异质性。目前的治疗方法是根据细胞遗传学的特点对患者的风险进

行分层和个体化治疗。越来越多的研究表明,AML 与基因突变有关。FLT3 是 AML 最常见的突变基因,其突变率约为三分之一,多见于核型正常的患者^[9]。近年来研究发现,FLT3 基因突变与 AML 的发生、发展

和预后密切相关。而 ITD 的突变是 AML 中最常见的 FLT3 突变类型。本研究中, 165 例新诊断 AML 患者, 33 例 (20.0%) 与 FLT3-ITD 突变相关, 与国内文献很接近。国内文献报道, 成人 AML 患者 FLT3-ITD 突变率为 15.9% ~ 20.8%^[4-5]。国外文献报道, 其突变率为 25% ~ 31%, 提示 FLT3-ITD 突变可能存在种族差异^[2, 6]。FLT3-ITD 突变引发酪氨酸激酶 3 近膜区结构改变, 可诱导细胞产生自发性的、非受体依赖性的增殖, 从而导致 AML 患者外周血白细胞增加^[7]。现已证实, FLT3-ITD 突变的 AML 患者具有外周血白细胞计数增加、骨髓原始细胞比例增加、CR 率低的临床特点^[8-10]。本研究显示, FLT3-ITD⁺ AML 患者外周血白细胞计数和骨髓原始细胞比例增高, OR、DFS 率和 OS 率低于 FLT3-ITD⁻ AML 患者, 提示 FLT3-ITD 是 AML 患者重要的不良预后因素。

MUNOZ 等^[11]发现, FLT3-ITD⁺ AML 过度表达 CD33、CD13 及 CD4, 而 CD117、CD34 表达不足, 提示 FLT3-ITD 突变 AML 患者白血病细胞存在免疫标记紊乱。本研究发现, FLT3-ITD⁺ AML 患者髓系抗原 CD56、CD33、CD11b 和淋系抗原 CD7 过度表达, 干/祖细胞 CD34 和抗原 CD117 表达不足。DANG 等^[12]研究发现, FLT3-ITD 突变和 CD56 的表达增加与 AML 预后不良相关。本研究发现, FLT3-ITD⁺ AML 患者 CD56 表达升高, CD34、CD117 表达下降, 而且 FLT3-ITD⁺ AML 患者, 经化疗后, NR 组患者 CD56、CD34、CD117 及 CD33 表达高于 CR 组, 提示 FLT3-ITD 突变患者预后不良与 CD56、CD34、CD117 及 CD33 有关。已发现一些 AML 白血病细胞常伴有淋巴细胞抗原的表达。CD7 是 T 淋巴细胞分化的标志物, 主要表达于胸腺细胞和外周血 T 淋巴细胞。淋巴细胞抗原 CD7 为 FLT3-ITD⁺ AML 细胞中最常见的差异性表达抗原^[2, 13]。本研究显示, FLT3-ITD⁺ AML 细胞高表达 CD7, 与之前报道相一致, 亦提示 FLT3-ITD 突变与 CD7 有关。目前认为, CD7 表达是 AML 的预后不良因素。有研究显示, CD7⁺ AML 患者因发生 DIC、中枢神经系统浸润等原因, 化学治疗 CR 低, OS 期及 DFS 期短^[14]。本研究发现, FLT3-ITD⁺ AML 患者, 经化疗后 NR 组 CD7 表达高于 CR 组, 提示 CD7 是 AML 预后不良指标之一。这与之前报道一致^[15]。CD11b 是 AML 预后不良的标志之一^[16]。该项研究发现, CD11b 在 FLT3-ITD⁺ AML 患者中高表达, 这与以前的研究一

致^[11, 17]。而且经化疗后 NR 组 CD11b 表达高于 CR 组, 亦提示 CD11b 高表达与预后有密切关系。

FLT3-ITD⁺ AML 患者白血病细胞表面存在抗原分化紊乱。FLT3-ITD、CD56、CD34、CD11b、CD7、CD34 及 CD117 可作为预后不良的指标。临床医生依据患者的临床及免疫表型特征, 有助于早期识别高危的急性髓系白血病患者、判断预后, 从而及早采取有效的诱导缓解及临床治疗方案, 提升诱导缓解率。

参 考 文 献:

- [1] NOGAMI A, OSHIKAWA G, OKADA K, et al. FLT3-ITD confers resistance to the PI3K/Akt pathway inhibitors by protecting the mTOR/4EBP1/Mcl-1 pathway through STAT5 activation in acute myeloid leukemia[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(11): 9189-9205.
- [2] CHAUHAN P S, IHSAN R, SINGH L C, et al. Mutation of NPM1 and FLT3 genes in acute myeloid leukemia and their association with clinical and immunophenotypic features[J]. *Dis Markers*, 2013, 35(5): 581.
- [3] TAMAMYAN G, KADIA T, RAVANDI F, et al. Frontline treatment of acute myeloid leukemia in adults[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2017, 110: 20-34.
- [4] 中美联合上海市白血病协作组. 468 例急性白血病患者 FLT3 基因突变及其预后价值分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2010, 31(1): 1.
- [5] 徐媛媛, 高丽, 丁一, 等. 急性髓系白血病中 FLT3-ITD 基因突变的检测及其临床意义 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(6): 1312.
- [6] ALMAWALI A, GILLIS D, LEWIS I. Characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplication in the FLT3 gene[J]. *Oman Med J*, 2013, 28(6): 432.
- [7] MESHINCHI S, APPELBAUM F R. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(13): 4263.
- [8] 李玲, 吕晓东, 米瑞华, 等. 急性髓系白血病患者 NPM1, FLT3-ITD 和 C-KIT 基因突变检测及其预后分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21, (3): 601-606.
- [9] LIU YAN, KE X Y, WANG J, et al. Clinical characteristics and prognosis of acute myeloid leukemia with FLT3-ITD mutation[J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2018, 26(2): 354-358.
- [10] CHEN Y, LI X M, MA T, et al. Analysis of immunophenotype and clinical features in AML patients with FLT3-ITD positive[J]. *Journal of Military Surgeon in Southwest China*, 2016, 18(4): 308-310.
- [11] MUNOZ L, AVENTIA A, VILLAMOR N, et al. Immunophenotypic findings in acute myeloid leukemia with FLT3 internal tandem duplication[J]. *Haematologica*, 2008, 88(6): 637.
- [12] DANG H, JIANG A, KAMEL-REID S, et al. Prognostic value of immunophenotyping and gene mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia with normal karyotype[J]. *Hum Pathol*,

- 2013, 44(1): 55-61.
- [13] CHAUHAN P S, IHSAN R, SINGH L C, et al. Mutation of NPM1 and FLT3 genes in acute myeloid leukemia and their association with clinical and immunophenotypic features[J]. Dis Markers, 2013, 35(5): 581.
- [14] KERKENT W, CHAHWAN C, LENORMAND C, et al. Usefulness of urethral endoprosthesis in the management of urinary retention after brachytherapy for localized prostate cancer[J]. Prog Urol, 2014, 24(3): 164.
- [15] 葛繁梅, 刘延香, 任羽, 等. 急性髓系白血病 128 例免疫表型与预后的关系研究 [J]. 陕西医学杂志, 2014, 43(4): 454-456.
- [16] CHEN M H, ATENAFU E, CRADDOCK K J, et al. CD11b expression correlates with monosomal karyotype and predicts an extremely poor prognosis in cytogenetically unfavorable acute myeloid leukemia[J]. Leuk Res, 2013, 37(2): 122.
- [17] 刘延方, 朱颖超, 张秋堂, 等. FLT3-ITD 突变急性髓系白血病的临床及免疫表型特征分析 [J]. 郑州大学学报, 2015, 50(3): 441-443.

(唐勇 编辑)