

儿童急性髓系白血病基因突变、染色体核型及融合基因与预后关联分析

潘俞凤, 王文鹏, 高吉照

(徐州医科大学附属医院儿科血液与肿瘤病区, 江苏 徐州 221002)

[摘要]目的 分析儿童急性髓系白血病(AML)基因突变、染色体核型及融合基因与预后的关联性。方法 选择2015年12月至2022年12月徐州医科大学附属医院儿科收治的92例初发AML患儿为研究对象,通过二代测序检测基因突变、染色体R带分析核型、RT-PCR法检测融合基因。生存分析采用Kaplan-Meier法,各组生存之间的比较采用log-rank检验;独立预后因素的评估采用Cox比例风险模型。结果 92例患儿随访中位时间37(1~87)个月,3年总生存率(OS)、无事件生存率(EFS)分别为 $(74.4\pm 4.9)\%$ 、 $(58.4\pm 5.4)\%$ 。单因素分析结果表明C-KIT突变、FLT3-ITD突变及TLS-ERG融合基因阳性是降低OS的因素(χ^2 值分别为9.039、4.376、4.279, $P<0.05$);C-KIT突变是降低EFS的因素($\chi^2=19.626$, $P<0.05$);Cox回归分析结果显示C-KIT突变是影响AML患儿OS及EFS的危险因素,其HR(95%CI)值分别为3.508(1.514~8.129)、3.342(1.744~6.403), $P<0.05$ 。结论 C-KIT突变是影响AML患儿预后的独立危险因素。

[关键词]急性髓系白血病;基因突变;染色体核型;融合基因;儿童;生存率

Doi:10.3969/j.issn.1673-5293.2025.06.002

[中图分类号]R179

[文献标识码]A

[文章编号]1673-5293(2025)06-0007-06

Association analysis of gene mutation, chromosome karyotype and fusion gene with prognosis of acute myeloid leukemia in children

PAN Yusu, WANG Wenpeng, GAO Jizhao

(Department of Pediatric Hematology and Oncology, Affiliated Hospital of
Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the association between gene mutations, chromosomal karyotypes, and fusion genes with prognosis in children with acute myeloid leukemia (AML). **Methods** A total of 92 newly diagnosed pediatric AML patients admitted to the Pediatric Department of the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University from December 2015 to December 2022 were enrolled. Gene mutations were detected using next-generation sequencing (NGS), chromosomal karyotypes were analyzed by R-banding, and fusion genes were identified using RT-PCR. Kaplan-Meier method was used for survival analysis, and comparisons between groups were performed using the log-rank test. Independent prognostic factors were assessed using the Cox proportional hazards model. **Results** The median follow-up time for the 92 patients was 37 months (range: 1-87 months). The 3-year overall survival (OS) and event-free survival (EFS) rates were $(74.4\pm 4.9)\%$ and $(58.4\pm 5.4)\%$, respectively. Univariate analysis showed that C-KIT mutation, FLT3-ITD mutation, and TLS-ERG fusion gene positivity were associated with decreased OS ($\chi^2=9.039$, 4.376 and 4.279, respectively, $P<0.05$), while C-KIT mutation was also associated with reduced EFS ($\chi^2=19.626$, $P<0.05$). Cox regression analysis revealed that C-KIT mutation was an independent adverse prognostic factor for both OS and EFS in pediatric AML, with HR (95%CI) values of 3.508 (1.514-8.129) and 3.342 (1.744-6.403), respectively ($P<0.05$). **Conclusion** C-KIT mutations are an independent risk factor for the outcome of children with AML.

[Key words] acute myeloid leukemia; gene mutation; chromosome karyotype; fusion gene; child; survival rate

儿童急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)由造血前体细胞的克隆扩增发展而来,是一组

异质性恶性肿瘤,其特征是多种基因突变和细胞遗传学异常。近几十年中,随着造血干细胞移植(he-

[收稿日期]2024-03-05

[作者简介]潘俞凤(1998—),女,在读硕士研究生,从事儿科疾病研究。

[通讯作者]高吉照,主任医师。

matopoietic stem cell transplantation, HSCT)、免疫及分子靶向治疗等的应用,AML 总缓解率得到提高,但仍存在较高的复发率和死亡率。除了早期临床反应外,细胞遗传学和分子畸变也是生存最可靠的预后因素,可以快速准确地将患儿分配到风险适应型治疗中。本文回顾性研究我院收治的 92 例儿童 AML,分析基因突变、染色体核型及融合基因对儿童 AML 预后的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2015 年 12 月至 2022 年 12 月徐州医科大学附属医院儿科收治的 92 例初发 AML 患儿为研究对象。入组条件:初诊年龄 ≤ 16 岁,无化疗史,诊断后有治疗意向,至少完成 1 疗程化疗。排除标准:急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL);放弃治疗及转外就诊者。诊治依据中国儿童白血病协作组急性髓系白血病 2015 方案多中心研究标准(CCLG-AML-2015)。本研究获得徐州医科大学附属医院医学伦理委员会批准及患者监护人的知情同意(批准文号:XYFY2023-KL390-01)。

1.2 研究方法

采用二代测序检测基因突变;采用染色体 R 带分析核型;采用 RT-PCR 法检测融合基因。

自疾病开始随访至 2023 年 6 月 1 日。总生存时间是确诊之日至死亡日期;无事件生存时间是疾病开始至第一次事件发生(包括复发、死亡、第二肿瘤),如果失访则以其最后随访时间为截点;如果患儿诱导未达完全缓解(complete remission, CR)则其无事件生存时间为零。

1.3 统计学方法

数据分析均由 SPSS 26.0 软件处理。计数资料用例数(n)和百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;非正态分布数据采用中位数及四分位间距 $M(Q_1 \sim Q_3)$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U test;生存分析采用 Kaplan-Meier 法,各组生存之间的比较采用 log-rank 检验;独立预后因素的评估采用 Cox 比例风险模型。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AML 患儿各项检查结果描述

AML 患儿基因突变检查结果显示 C-KIT 突变 16 例,CEBPA 突变 7 例,NRAS 突变 11 例,KRAS 突变 4 例,PTPN11 突变 6 例,FLT3-ITD 突变 14 例。染色体核型分析结果显示正常核型 40 例,异常核型 47 例,检出异常核型率为 51.1%。融合基因检查结果显示 AML1-ETO 阳性 21 例,CBF β -MYH11 阳性 10 例,TLS-ERG 阳性 4 例,MLL 重排 8 例。

2.2 影响 AML 患儿 OS 及 EFS 的单因素分析

92 例患儿随访中位时间 37(1~87)个月,3 年总生存率(overall survival, OS)、无事件生存率(event free survival, EFS)分别为(74.4 $\pm$ 4.9)%、(58.4 $\pm$ 5.4)%。单因素分析结果表明 C-KIT 突变、FLT3-ITD 突变及 TLS-ERG 融合基因阳性是降低 OS 的因素(χ^2 值分别为 9.039、4.376、4.279, $P < 0.05$); C-KIT 突变是降低 EFS 的因素($\chi^2 = 19.626$, $P < 0.05$),见表 1。

表 1 影响 AML 患儿 OS 及 EFS 的 Log-rank 单因素分析($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Log-rank univariate analysis of OS and EFS in children with AML ($\bar{x} \pm s$)

影响因素	例数	OS 率(%)	χ^2	P	EFS 率(%)	χ^2	P
C-KIT			9.039	0.003		19.626	<0.001
突变	16	53.7 $\pm$ 13.0			22.5 $\pm$ 11.0		
未突变	76	79.0 $\pm$ 5.1			66.1 $\pm$ 5.7		
CEBPA			0.003	0.958		0.679	0.410
突变	7	71.4 $\pm$ 17.1			71.4 $\pm$ 17.1		
未突变	85	74.7 $\pm$ 5.1			57.3 $\pm$ 5.6		

(转下表)

(续上表)

影响因素	例数	OS 率(%)	χ^2	<i>P</i>	EFS 率(%)	χ^2	<i>P</i>
NRAS			0.137	0.712		1.020	0.313
突变	11	72.7±17.7			43.6±15.5		
未突变	81	74.1±5.2			60.6±5.6		
KRAS			0.171	0.679		0.395	0.530
突变	4	50.0±35.4			50.0±2.5		
未突变	88	73.3±5.1			58.8±5.5		
PTPN11			0.241	0.623		1.706	0.191
突变	6	55.6±24.8			33.3±19.2		
未突变	86	75.4±5.0			60.4±5.56		
FLT3-ITD			4.376	0.036		3.558	0.059
突变	14	36.6±15.7			23.2±11.7		
未突变	78	80.8±4.7			65.0±5.6		
染色体核型			0.785	0.675		5.520	0.063
正常	40	70.8±7.3			77.8±7.0		
异常	47	80.4±6.7			42.6±7.4		
AML1-EFO			0.180	0.671		0.806	0.369
阳性	21	84.9±8.0			70.4±10.2		
阴性	71	71.1±5.9			54.9±6.2		
CBFβ-MYH11			0.533	0.465		0.545	0.460
阳性	10	80.0±12.6			60.0±5.6		
阴性	82	73.9±5.2			60.0±5.6		
TLS-ERG			4.279	0.039		1.271	0.260
阳性	4	37.5±28.6			37.5±28.6		
阴性	88	75.7±4.9			59.2±5.4		
MLL 重排			0.374	0.541		0.177	0.674
阳性	8	54.7±20.1			54.7±20.1		
阴性	84	76.2±5.0			58.6±5.6		

注:表格中 χ^2 检验是根据有无突变的例数进行的统计分析。

2.3 影响 AML 患儿 OS 及 EFS 的多因素分析

将单因素有统计学差异的因素进行 Cox 回归分析,结果显示 C-KIT 突变是影响 AML 患儿 OS 及

EFS 的独立危险因素,其 *HR* (95%*CI*) 值分别为 3.508(1.514~8.129)、3.342(1.744~6.403), *P* < 0.05,见表 2。

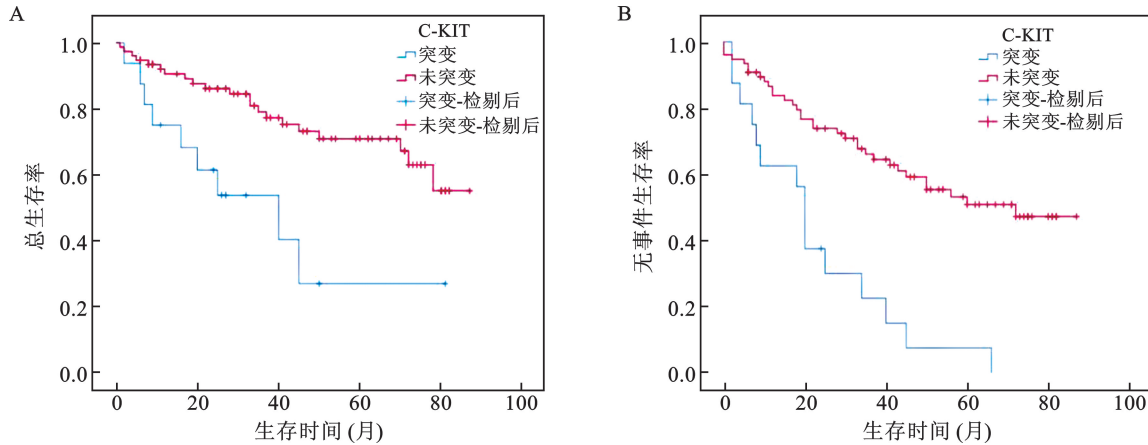
表 2 影响 AML 患儿 OS 及 EFS 的 Cox 多因素回归分析
Table 2 Multivariate analysis of Cox regression affecting OS and EFS in children with AML

预后因素	OS		EFS	
	<i>HR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i>	<i>HR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i>
C-KIT 突变	3.508(1.514~8.129)	0.003	3.342(1.744~6.403)	<0.001
FLT3-ITD 突变	2.314(0.945~5.666)	0.066	1.679(0.809~3.484)	0.164
TLS-ERG 阳性	3.849(0.821~18.042)	0.087	2.698(0.603~12.079)	0.194

2.4 C-KIT 未突变及突变患儿的生存曲线

C-KIT 未突变的 76 例患儿 1 年 OS 及 EFS 率分别为 $(92.0 \pm 3.1)\%$ 、 $(89.4 \pm 3.5)\%$ ，3 年 OS 及 EFS 率分别为 $(79.1 \pm 5.1)\%$ 、 $(66.1 \pm 5.7)\%$ 。突变

的 16 例患儿 1 年 OS 及 EFS 率分别为 $(75.0 \pm 10.8)\%$ 、 $(62.5 \pm 12.1)\%$ ，3 年 OS 及 EFS 率分别为 $(53.3 \pm 13.1)\%$ 、 $(22.5 \pm 11.0)\%$ ，其生存曲线见图 1。



注:A 为 C-KIT 突变与未突变患儿 OS 曲线;B 为 C-KIT 突变与未突变患儿 EFS 曲线。

图 1 C-KIT 突变与未突变患儿的生存曲线

Fig.1 Survival curves of children with mutated versus no KIT mutations

3 讨论

3.1 基因突变及染色体核型与 AML 患儿预后的关联性

在 AML 的诊断、治疗及判断预后的过程中,基因突变是一项重要指标。基因突变与白血病细胞中特殊的 DNA 折叠模式或染色质环有关,提示 AML 异质性与基因突变密切相关^[1]。C-KIT 为酪氨酸激酶家族 III 类受体基因,在 AML 患者中的突变率为 12%。有研究发现 C-KIT 与 AML 患儿,尤其是核心结合因子相关急性髓系白血病(core binding factor-associated acute myeloid leukemia,CBF-AML)患者的生存率低、复发率增加和不良结局显著相关^[2]。本研究比较生存曲线发现,C-KIT 突变为预后不良因素,与既往研究结果相同。伊马替尼、达沙替尼为 C-KIT 突变抑制剂,其治疗后可明确延长患儿生存期,但所有临床上可用的 KIT 抑制剂似乎对 KIT D816 点突变无效^[3],因此必须明确患儿突变位点,做到精准治疗。CEBPA 是一种转录因子,被认为通过阻断粒细胞分化来促进髓系白血病生成。有研究报道 CEBPA 突变为 EFS 和 OS 的独立有利指标,CEBPA 突变在 AML 患儿中具有极好的预后^[4]。Ho Phoenix 等于 2009 年研究表明接受 HSCT 的 CEBPA 突变患者的 OS 明显低于单独接受化疗的

患者,一般建议 CEBPA 突变患儿在首次 CR 时继续化疗,不进行 HSCT 治疗。本实验中 CEBPA 组间比较差异无统计学意义,可能与病例数相关。由于存在 CEBPA 突变可实现 CR 的机会更高、生存率更高、复发风险更低^[5],因此需要将 CEBPA 突变分析纳入初始筛查中,以便在诊断时识别风险和分配治疗。NRAS、KRAS 及 PTPN11 为 RAS 通路相关基因,在 AML 中的突变率分别为 7%~13%、6%~11%和 3%~4%,在既往大规模回顾性研究中认为 RAS 突变与预后无关^[6]。但也有研究表明 RAS 突变与晚期复发有关,NRAS 突变可能是与 AML 患儿低生存率相关的关键预后标志物,PTPN11 突变是 OS 的不利预后因素^[7-8]。本研究中由于病例数较少,未发现突变对预后的影响。关于 RAS 突变与预后的关系仍有较大争议,未来需要更多大规模和精心设计的研究来进一步明确。

FLT3-ITD 为酪氨酸激酶受体内部串联重复突变,在 AML 患者中突变率约 10%~15%。Czogala 等^[9]研究表明 FLT3-ITD 突变患者的 3 年 OS、EFS 和无复发生存率显著降低,接受 FLT3 抑制剂治疗和接受 HSCT 的患者结局有改善趋势,提示存在 FLT3-ITD 基因突变的 AML 患者接受 FLT3 抑制剂治疗及 HSCT 可以改善预后,所以对于携带

FLT3-ITD 的 AML 患者,通常推荐在首次 CR 后采用最佳供体 HSCT。索拉非尼为 FLT3-ITD 突变抑制剂,有报道称,索拉非尼耐受性良好,可有效降低 AML 患儿复发率,同时提高 HSCT 后的生存率^[10]。在本研究中,发现 FLT3-ITD 突变患儿与未突变的 3 年 OS 差异有统计学意义,FLT3-ITD 突变 OS 降低。

无论是在儿童 AML^[11]或急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)^[12]中,染色体核型异常(复杂核型、单体核型)都被认为是诊断的重要因素和独立的预后指标。本研究组中正常核型 40 例,异常核型 47 例,未发现染色体核型异常对 AML 预后存在影响。本研究未得出与以往一致的结果,可能因为本研究样本量有限,且有部分患儿存在其他影响因素,导致对生存分析有显著意义的病例较少。

3.2 融合基因与 AML 患儿预后的关联性

t(8;21)(q22;q22)是 AML 患儿中常见的结构异常,可产生 AML1-ETO 功能嵌合基因,在儿童 AML 中的检出率约 15%。AML1-ETO 通过抑制细胞内源性 DNA 修复以促进诱变^[13]。Inv(16)(p13;q22)或 t(16;16)(p13;q22)导致 CBF β -MYH11 融合基因,在儿童中检出率通常为 3%~8%。CBF β -MYH11 融合蛋白通过抑制 CBFA2 蛋白来阻断髓系白血病细胞的分化和成熟。存在以上两种融合基因阳性称为 CBF-AML。既往几项研究将 AML1-ETO 和 CBF β -MYH11 与良好的预后、较长的生存期联系起来^[14-16],因此在首次 CR 期间通常不推荐进行 HSCT。但有相关研究表明此类患儿诱导化疗缓解后复发是治疗失败的最常见原因,所以在治疗过程中监测 AML1-ETO 和 CBF β -MYH11 转录水平有助于防止复发,改善预后。本研究中由于病例数较少,未发现突变对预后的影响。

TLS-ERG 是 t(16;21)(p11;q22)形成的融合基因,较为罕见,发生率为 1.0%~3.5%。TLS-ERG 可下调周期蛋白依赖性激酶 1 并阻断祖细胞的分化成熟。伴 TLS-ERG 突变的 AML 患者病程进展快,预后不良,生存率差。因此,推荐将异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)作为缓解后治疗选择,且

HSCT 可能是唯一有效的治疗方法^[17]。Noort 等^[18]研究得出 TLS-ERG 是 EFS 和 OS 不良结局的独立预测因子,本研究中 TLS-ERG 是影响 OS 的因素,但对 EFS 无统计学意义,分析原因可能为本研究中阳性患儿仅 4 例,病例数太少。有研究表明 TLS-ERG 转录水平与预后密切相关且能指导治疗^[19],所以病程中应连续监测其转录水平,有助于减少患儿复发,改善预后。

MLL 基因重排是涉及 11q23 染色体易位导致的,在儿童 AML 中发生率为 15%~20%。融合蛋白可改变造血细胞的表观遗传调控,从而阻断分化并促进白血病的发生^[20]。研究表明存在 MLL 重排是一个独立的不良预后因素^[21],本研究中未得到 MLL 重排对预后的影响,与既往相关文献结果不同,可能与本研究病例数少、随访时间短有关。但不同 MLL 重排的预后存在异质性,Balgobind 等于 2009 年回顾性研究了 756 例 MLL 重排阳性患儿,结果显示 MLL/AF1q 患者化疗后 5 年 OS 为 100%,而 MLL/AF10、MLL/AF6、MLL/AF4 的患者 5 年 OS 明显降低,分别为 45%、22%和 27%,并且发现与无 MLL/AF9 的患者相比,携带 MLL/AF9 患者的 EFS 更高,所以需要筛查这些易位伴侣,以便在诊断时准确划分治疗层次。

综上所述,结合 AML 患儿基因突变、染色体核型及融合基因检测结果,可有效评估预后,为临床治疗提供依据,减少患儿复发风险、提高生存率。

[参考文献]

- [1]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): 1891-1901.
- [2]Shafik N F, Ibraheem D, Selim M M, et al. The prognostic significance of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2021, 22(6): e363-e375.
- [3]Padmakumar D, Chandraprabha V, Gopinath P, et al. A concise review on the molecular genetics of acute myeloid leukemia[J]. Leuk Res, 2021, 111(1): 106727.
- [4]Liao X Y, Fang J P, Zhou D H, et al. CEBPA are independent good prognostic factors in pediatric acute mye-

- loid leukemia[J].Hematol Oncol,2021,40(2):258-268.
- [5]Su L, Shi Y Y, Liu Z Y, et al.Acute myeloid leukemia with CEBPA mutations: current progress and future directions[J].Front Oncol,2022,12(1):806137.
- [6]Rahul E,Goel H,Chopra A,et al.An updated account on molecular heterogeneity of acute leukemia [J]. Am J Blood Res,2021,11(1):22-43.
- [7]Liu X, Ye Q, Zhao X P, et al.RAS mutations in acute myeloid leukaemia patients; a review and meta-analysis [J].Clin Chim Acta,2019,489(1):254-260.
- [8]Dos F V, Andrade F G, Sardou-Cezar I, et al.Childhood myeloid neoplasms with PTPN11 mutations in brazil[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk,2020,20(8):e496-e505.
- [9]Czogała M, Czogała W, Pawińska-Wąsikowska K, et al. Characteristics and outcome of FLT3-ITD-positive pediatric acute myeloid leukemia-experience of polish pediatric leukemia and lymphoma study group from 2005 to 2022[J].Cancers (Basel),2023,15(18):4557.
- [10]Chappell G, Geer M, Gatz E, et al.Maintenance sorafenib in FLT3-ITD AML following allogeneic HCT favorably impacts relapse and overall survival[J].Bone Marrow Transplant,2019,54(9):1518-1520.
- [11]Kim K, Berna H B, Martin Z, et al.Prognostic significance of chromosomal abnormalities at relapse in children with relapsed acute myeloid leukemia; a retrospective cohort study of the relapsed AML 2001/01 study [J].Pediatr Blood Cancer,2021,69(1):e29341.
- [12]陈茜,李培岭,刘豹,等.儿童急性淋巴细胞白血病临床特征及预后因素分析[J].中国妇幼健康研究,2020,31(10):1368-1373.
- [13]Mandoli A, Singh A A, Prange K, et al.The hematopoietic transcription factors RUNX1 and ERG prevent AML1-ETO oncogene overexpression and onset of the apoptosis program in t(8;21) AMLs[J].Cell Rep,2016,17(8):2087-2100.
- [14]Chen X, Zong S, Yi M, et al.Minimal residual disease monitoring via AML1-ETO breakpoint tracing in childhood acute myeloid leukemia[J].Transl Oncol,2021,14(8):101119.
- [15]Talami A, Bettelli F, Pioli V, et al.How to improve prognostication in acute myeloid leukemia with CBF-MYH11 fusion transcript: focus on the role of molecular measurable residual disease (MRD) monitoring[J]. Biomedicines,2021,9(8):953.
- [16]Sepúlveda-Robles O, Jiménez-Hernández E, Domínguez C, et al.Analytical study of RUNX1-RUNXT1, PML-RARA, CBF-MYH11, BCR-ABL1^{p210}, and KMT2-MLLT3 in Mexican children with acute myeloid leukemia: a multicenter study of the Mexican interinstitutional group for the identification of the causes of childhood leukemia (MIGICCL) [J]. Front Pediatr, 2022,10(1):946690.
- [17]Takashi T, Daisuke T, Hiroyuki T, et al.Acute myeloid leukemia in children: current status and future directions[J].Pediatr Int,2016,58(2):71-80.
- [18]Noort S, Zimmermann M, Reinhardt D, et al.Prognostic impact of t(16;21)(p11;q22) and t(16;21)(q24;q22) in pediatric AML: a retrospective study by the I-BFM study group[J].Blood,2018,132(15):1584-1592.
- [19]Qin Y, Chen Y, Xu L, et al.Outcome and minimal residual disease monitoring in patients with t(16;21) acute myelogenous leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J].Biol Blood Marrow Transplant,2018,24(1):163-168.
- [20]Meyer C, Burmeister T, Gröger D, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2017[J].Leukemia, 2018,32(2):273-284.
- [21]Ricky T, Katarzyna S, Paul M, et al.Epigenetic regulator genes direct lineage switching in MLL/AF4 leukemia[J].Blood,2022,140(17):1875-1890.

[专业责任编辑:肖延风]

[中文编辑:郭乐倩;英文编辑:方柳]