

http://www.journals.zju.edu.cn/med

283例骨髓增生异常综合征染色体核型分析

潘含章, 陈志妹, 楼基余, 徐伟来, 金洁

(浙江大学医学院附属第一医院血液科, 浙江 杭州 310003)

[摘要] 目的: 探讨染色体核型异常在骨髓增生异常综合征(MDS)的诊断和预后评估中的作用。方法: 采用直接法、短期培养法和RHG显带技术制备染色体, 进行核型分析。结果: 283例MDS患者中, 77例检出染色体核型异常, 检出率为27.21%。核型异常包括数目异常和结构异常, 发生频率较高的染色体畸变依次为: +8, -20/20q-, -Y, 易位型, -7/7q-, +9, -5/5q-。难治性贫血伴原始细胞增多(RAEB)和难治性贫血伴原始细胞增多转化型(RAEB-t)较难治性贫血(RA)检测到更高的异常核型比例。随访78例中有17例转化为白血病, 转化率为21.79%。核型异常者及IPSS评分高危组向白血病转化的几率明显高于核型正常者及IPSS低危组($P < 0.05$)。结论: MDS是一组高度异质性的克隆性疾病, 染色体核型分析对MDS的正确诊断、病情监测及预后评估有重要价值。

[关键词] 骨髓增生异常综合征/遗传学; 染色体; 染色体核型; 核型异常

[中图分类号] R 733.73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2006)02-0143-04

Karyotype analysis of 283 cases of myelodysplastic syndrome

PAN Han-zhang, CHEN Zhi-mei, LOU Ji-yu, et al (Department of Hematology, The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the implication of karyotype analysis in diagnosis and prognosis of myelodysplastic syndrome (MDS). **Methods:** The chromosomes were prepared with direct method, brief culture of cells and R-banding techniques, and then the karyotypic analysis was performed. **Results:** Seventy-seven out of 283 patients (27.21%) had karyotypic abnormalities, including the numeral abnormalities of chromosomes and structural alterations. The most common chromosomal aberrations were +8, -20/20q-, -Y, translocation, -7/7q-, +9, -5/5q-. The rate of abnormal karyotype in refractory anemia with erythroblasts (RAEB) and refractory anemia erythroblasts-transformation (RAEB-t) was much higher than in refractory anemia (RA). Patients with abnormal karyotype or higher IPSS scores had a higher risk of transformation into acute leukemia than patients with normal karyotype or lower IPSS scores ($P < 0.05$). **Conclusion:** MDS is a highly heterogenous disorder and karyotype analysis is helpful for its diagnosis and prognosis estimation.

收稿日期: 2005-11-22 修回日期: 2006-01-23

基金项目: 浙江省科技厅重点科研基金资助项目(2003C23013)。

作者简介: 潘含章(1978-), 女, 硕士生。

通讯作者: 金洁(1957-), 女, 教授, 博导, 主要从事恶性血液病的临床与基础研究; E-mail: JieJ@mail.hz.zj.cn

[Key words] Myelodysplastic syndrome/genetics; Chromosomes; Chromosome karyotype; Abnormal karyotype

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2006,35(2):143—146.]

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome,MDS)是一组异质的造血干细胞克隆性疾病,以无效造血所致的血细胞减少、骨髓增生活跃或明显活跃、一系至三系病态造血及具有发展成急性白血病的高危倾向为特征^[1]。研究报道 MDS 的染色体异常的发生率为 20%~90%,存在多种染色体的异常往往显示预后不良。染色体核型分析在MDS的发病和诊断及预后评估上具有重要价值。本研究采用染色体 RHG 显带技术回顾性分析 283 例 MDS 患者的染色体核型,并探讨染色体异常克隆在 MDS 发病和预后评估中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象 1996 年 1 月至 2005 年 3 月在本院经骨髓细胞形态学(按 FAB 诊断及分型标准)和(或)骨髓活检确诊的 293 例 MDS 患者,其中 10 例未见分裂相,可分析的患者 283 例,男 166 例,女 117 例,年龄 3~83 岁,中位年龄 47 岁。因 WHO 分型标准中将 FAB 标准中的慢性粒单核细胞白血病(CMML)划入骨髓增生异常/骨髓增殖性疾病(MDS/MPD),本研究中不包括原诊断 CMML 的患者。

1.2 染色体制备及分析方法 抽取患者骨髓 2 ml,应用直接法和(或)不加植物血凝素的短期培养法制备染色体标本,然后采用 RHG 显带技术显带,再进行核型分析,每个病例分析中期分裂相 10~40 个,核型分析和异常克隆根据《人类细胞遗传学国际命名体制》(ISCN1995)进行确定。

1.3 染色体分类方法 采用复杂分类法^[2]。正常组:中期分裂相均为正常核型;简单异常组:中期分裂相涉及 1~2 条染色体异常;复杂异常组:中期分裂相涉及 3 条或 3 条以上的染色体异常。

1.4 IPSS 评分 参见文献^[3]进行 IPSS 评分。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 10.0 统计包进行统计。计数资料比较采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 染色体异常核型与 FAB 分型的关系 283 例 MDS 患者按 FAB 标准分型:难治性贫血(RA)189 例,难治性贫血伴环形铁粒幼细胞增多(RAS)13 例,难治性贫血伴原始细胞增多(RAEB)56 例,难治性贫血伴原始细胞增多转化型(RAEB-t)25 例。77 例检出异常核型,占 27.21%。RA 核型异常率 21.69%(41/189),RAS 核型异常率 30.80%(4/13),RAEB 核型异常率 37.50%(21/56),RAEB-t 核型异常率 44.00%(11/25)(表 1)。经 χ^2 检验,RA 组与 RAEB 组、RA 组与 RAEB-t 组、RA+RAS 与 RAEB+RAEB-t 的核型异常率有显著性差异($P<0.05$),而 RA 组与 RAS 组、RAEB 组与 RAEB-t 组的核型异常率差别无统计学意义($P>0.05$)。MDS 染色体核型异常的复杂程度与临床分型无明显相关性($P>0.05$)(表 2)。

表 1 MDS 异常核型比例
Table 1 Incidence of cytogenetic abnormalities in MDS

FAB subtype	Normal karyotype	Abnormal karyotype	Total	Incidence of abnormal karyotype/%
RA	148	41	189	21.69
RAS	9	4	13	30.80
RAEB	35	21	56	37.50
RAEB-t	14	11	25	44.00

表 2 MDS 染色体核型分类
Table 2 Complex karyotype of MDS patients according to FAB subtypes

FAB subtype	Normal /%	Simple abnormal/%	Complex abnormal/%
RA	148(52.30)	33(11.66)	8(2.83)
RAS	9(3.18)	4(1.41)	0
RAEB	35(12.37)	17(6.01)	4(1.41)
RAEB-t	14(4.95)	8(2.83)	3(1.06)
Total	206(72.79)	62(21.91)	15(5.30)

$\chi^2=1.41175,P=0.84215$

2.2 核型异常在MDS患者中的分布 77例检测到的异常核型包括染色体数目异常和染色体结构异常,其中单纯数目异常45例(58.44%),单纯结构异常21例(27.27%),数目结构均有异常11例(14.29%)。超二倍体染色体数目为47~51条,亚二倍体染色体数目为43~45条。亚二倍体例数多于超二倍体。发生频率较高的染色体畸变依次为+8(19/283);-20/20q-(13/283);易位型(9/283)(表3);-Y(9/283);-7/7q-(6/283);-5/5q-(5/283);+9(4/283);-15(4/283);-18(4/283)。RA患者的核型异常以单纯染色体数目异常(22/41,53.66%)和单一染色体节段缺失为主(10/41,24.39%),其中+8;-Y;-20;-7;20q-;5q-多见。染色体节段重复仅存在于RA患者,并且仅涉及1号染色体。RAEB和RAEB-t患者中以+8;+11;-Y及易位为主,RAEB检测到2例t(8;21)(q22;q22)易位和2例t(9;22)(q34;q11),RAEB-t检测到1例t(8;21)(q22;q22)易位。细胞遗传学异常几乎可发生于任何一条染色体。

2.3 MDS预后与染色体核型的关系 283例MDS患者中,78例获得随访资料,其中43例为正常核型,另35例具有核型异常。随访时间6~

67个月,中位时间27个月,不包括接受造血干细胞移植的患者。随访发现17例转化为急性髓性白血病(主要为M2及M4型),转化率为21.79%。此17例中有5例为正常核型,另12例均具有异常染色体克隆。将78例患者的急性白血病转化率按IPSS评分和染色体核型分类统计(表4)。经 χ^2 检验,结果显示根据染色体核型分类的各组,其急性白血病的转化率有显著性差异($P=0.016$),IPSS评分各组向急性白血病的转化率有显著性差异($P=0.012$)。

表3 9例易位型MDS
Table 3 Nine cases of MDS with chromosome translocation

Karyotype	Distribution(n)
t(1;3)(p21;q12)t(3;9)(q29;q32) t(4;15)(q22;q22)	RA(1)
t(1;11)(q32;q23)	RA(1)
t(3;5)(p16;q31)t(8;21)(q22;q22)	RAEB(1)
t(3;6)(q21;q21)	RAEB-t(1)
t(7;11)(p15;p15)	RA(1)
t(8;21)(q22;q22)	RAEB(1),RAEB-t(1)
t(9;22)(q34;q11)	RAEB(2)

表4 78例MDS患者的AML转化率
Table 4 Transformative rate of 78 cases with AML followed-up

Classification and score	Subtype (n)	AML transformative rate (%)	P
Complex karyotype	Normal (43)	5/43(11.63)	0.016
	Simple abnormal (24)	10/24(41.67)	
	Complex abnormal (11)	2/11(18.18)	
IPSS score	0 (10)	0/10(0.00)	0.012
	0.5~1.0 (33)	3/33(9.09)	
	1.5~2.0 (14)	6/14(42.86)	
	≥2.5 (21)	8/21(38.10)	

3 讨论

许多研究表明,MDS的骨髓细胞中存在克隆性染色体异常,这种异常导致患者预后较差,生存期缩短,转化为AL的几率升高^[4]。与原发性急性髓性白血病相比,染色体平衡性异位在MDS中较少见,而非平衡性染色体缺失如:

3q-,-5,5q-,+8,-7,7q-,+9,+21,20q-及复杂核型等较多见^[5]。本研究中MDS患者的染色体异常克隆检出率为27.21%,各FAB亚型异常克隆检出率有明显差异,RAEB及RAEB-t的异常克隆检出率明显高于RA。检出的常见异常核型类型与文献报道基本一致。+8是MDS最常见的异常核型,本研究中检出+8频率最高,

在FAB各亚型中均有分布。染色体易位在MDS患者中较少见,本研究中检出9例易位型染色体异常,其中5例具有白血病特异性染色体易位,包括3例t(8;21)(q22;q22)和2例t(9;22)(q34;q11),分布于4例RAEB和1例RAEB-t患者中。急性髓系白血病(AML)M2亚型中约40%具有t(8;21)(q22;q22)易位,动物实验证明特异性融合基因AML1-ETO可导致多系造血祖细胞的发育障碍^[6]。目前关于具有特异性染色体易位的MDS是否归入急性白血病尚有争议,大多数学者认为其本质是白血病,治疗上宜采取积极化疗^[7-8],但亦有学者持保留态度。

正常细胞有稳定的染色体组型,各组染色体之间保持恒定的比数,如果染色体结构或数目发生异常,就会破坏细胞内固有的平衡状态,进而导致肿瘤的发生。MDS患者中有10%~35%转化为AL,目前这种转化机制尚未明确,但染色体克隆性演变可能是其主要原因之一。在本研究获得随访资料的78例患者中,有17例转化为AL,具有染色体异常核型的患者向急性白血病转化的几率显著高于正常核型的MDS患者。MDS向急性白血病转化的几率不仅与有无染色体畸变有关,而且与染色体畸变的类型密切相关。染色体易位t(7;11)(p15;p15)产生的特异性融合基因NUP98-HOXA9与急性髓系白血病(AML)M2和M4亚型有关^[9],该易位也可见于MDS^[10]。骨髓移植小鼠使其表达NUP98-HOXA9可产生骨髓增生异常的表型并最终转化为AML^[11]。本研究中检测到一例具有该特异性染色体易位,但患者预后资料未能得到。综上所述,MDS的染色体核型与疾病的发生、发展和转归密切相关,对于MDS的诊断和预后判断具有重要价值。

References:

- [1] TONG Hong-yan, LIN Mao-fang, XIONG Hong, et al (佟红艳,林茂芳,熊红,等). Inhibition effect of arsenic trioxide on the growth of human MDS cell line MUTZ-1 cells [J]. *Journal of Zhejiang University: Medical Sciences* (浙江大学学报:医学版), 2004, 33(1): 68—72. (in Chinese)
- [2] PARLIER V, MELLA G V, BERIS P H, et al. Hematologic clinical, and cytogenetic analysis in 109 patients with primary MDS [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 1994, 78(2): 219—231.
- [3] GREENBERG P, COX C, LEBEAU M, et al. International Scoring System for Evaluating Prognosis in myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 1997, 89(6): 2 079—2 088.
- [4] TRICOT G J. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia Res*, 1992, 16(1): 109—115.
- [5] NOWELL P C. Chromosome abnormalities in myelodysplastic syndromes [J]. *Semin Oncol*, 1992, 19(1): 25—33.
- [6] OKUDA T, CAI Z, YANG S, et al. Expression of a knocked-in AML1-ETO leukemia gene inhibits the establishment of normal definitive hematopoiesis and directly generates dysplastic hematopoietic progenitors [J]. *Blood*, 1998, 91(9): 3 134—3 143.
- [7] KOJIMA K, OMOTO E, HARA M, et al. Myelodysplastic syndrome with translocation (8; 21): a distinct myelodysplastic syndrome entity or M2-acute myeloid leukemia with extensive myeloid maturation [J]? *Ann Hematol*, 1998, 76(6): 279—282.
- [8] SAKUGAWA M, KOJIMA K, KANEDA K, et al. Therapy-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia M2 and translocation (8; 21) [J]. *Ann Hematol*, 2001, 80(12): 763—766.
- [9] BORROW J, SHEARMAN A, STANTON J, et al. The t(7;11)(p15;p15) translocation in acute myeloid leukaemia fuses the genes for nucleoporin NUP98 and class I homeoprotein HOXA9 [J]. *Nat Genet*, 1996, 12(2): 159—167.
- [10] NATARO Y, MIURA I, NAKAMURA T, et al. Molecular heterogeneity of the NUP98/HOXA9 fusion transcript in myelodysplastic syndromes associated with t(7;11)(p15;p15) [J]. *Br J Haematol*, 1999, 107(3): 600—604.
- [11] KROON E, THORSTEINSDOTTIR U, MAYO-TTE N, et al. NUP98-HOXA9 expression in hemopoietic stem cells induces chronic and acute myeloid leukemias in mice [J]. *EMBO J*, 2001, 20(3): 350—361.