

成人 *NUP98* 融合基因阳性 AML 患者的 临床特点及生物学特征*

伦 燕¹, 黄菁草¹, 龙 丹², 王方芳¹, 代 阳¹, 杨 艳¹, 赵婷婷¹, 李 清¹, 吴 侯^{1△}

1. 四川大学华西医院/华西临床医学院 血液内科(成都 610041);

2. 四川大学华西医院 移植工程与移植免疫重点实验室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨成人急性髓细胞白血病(AML)患者中核孔蛋白 98(*NUP98*)融合基因阳性患者的临床特点及生物学特征,以及 *NUP98* 融合基因与 AML 常见融合基因、预后基因的共表达对 AML 预后的影响。方法 收集四川大学华西医院 2014 年 7 月 1 日至 2017 年 3 月 1 日间住院的成人初发 AML 和骨髓增生异常综合征(MDS)患者的骨髓或外周血标本,检测 *NUP98* 融合基因,并检测 AML 患者染色体核型。将染色体 11p15 重排或 *NUP98* 相关融合基因阳性的 AML 患者作为研究组,此期间初诊的其余 AML 患者作为对照组,并将其分为低、中、高危对照组。通过对照研究,分析其血液学特点、完全缓解率(CR)、与预后基因的共表达率以及生存分析。结果 样本总量为 197 例。共 16 例(8.1%)患者存在 *NUP98* 相关融合基因(即研究组),发现我院首例 *NUP98*-拓扑异构酶 I (*TOP1*)融合基因阳性 AML。研究组患者按 FAB 分型,主要为 M2 和 M5;研究组 Fms 样酪氨酸激酶-3(*FLT3*)-基因内部串联重复突变(*ITD*)发生率[31.25%(5/16)]和死亡率[80.00%(4/5)]高于对照组[发生率 9.95%(19/181),死亡率 42.11%(8/19), $P < 0.05$];研究组诱导化疗获 CR 率为 78.57%,高于总对照组及其中高、中危亚组($P < 0.05$)。研究组中位总生存期(OS)为 13 月,中位无白血病生存期(LFS)仅为 5 月。结论 *NUP98* 融合基因阳性 AML 易合并其它融合基因及预后基因的共表达,LFS 和 OS 较短,尤其发生 *FLT3-ITD* 共表达时,死亡率高。

【关键词】 急性髓细胞白血病 *NUP98-HOXA9* *NUP98-NSD1* *NUP98-TOP1* *FLT3-ITD*

Molecular Characteristics and Clinical Features of Adults with *NUP98* Fusions in Acute Myeloid Leukemia LUN Yan¹, HUANG Jing-cao¹, LONG Dan², WANG Fang-fang¹, DAI Yang¹, YANG Yan¹, ZHAO Ting-ting¹, LI Qing¹, WU Yu^{1△}. 1. Department of Hematology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Transplant Engineering and Immunology, Ministry of Health, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: wu_yu@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To determine the molecular characteristics and clinical features of patients with nucleoporin 98 (*NUP98*) fusion gene positive acute myeloid leukemia (AML) and the impact of coexistence of *NUP98* fusion genes and other prognosis-related genes. **Methods** Samples of bone marrow or peripheral blood were collected from the adult patients with de novo AML and myelodysplastic syndrome (MDS) in our hospital from July 1st, 2014 to March 1st, 2017. *NUP98* fusion genes and their karyotype were detected by PCR. The AML patients with chromosome 11p15 rearrangement or *NUP98* fusion genes were studied as the research group and the remaining AMLs in this period as the control group. Meanwhile, the control AML group was divided into low-risk, medium-risk and high-risk groups respectively. Through comparison, analyzing the hematological characteristics, CR rates, the frequency of coexpression with other prognosis-related genes, and over all survival were done between these *NUP98* fusion gene positive AMLs and control. **Results** A total of 197 AML patients participated in this study, including 16 (8.1%) having *NUP98* fusion genes and the first case of positive *NUP98*-topoisomerase I (*TOP1*) fusion gene. The *NUP98* positive AMLs were mainly M2 and M5 in FAB classifications. Fms-like tyrosine kinase-3 (*FLT3*)- internal tandem duplication (*ITD*) (*FLT3-ITD*) occurred [31.25% (5/16)] and mortality [80.00% (4/5)] of the patients with *NUP98* positive AMLs, higher than control group [occurred; 9.95% (19/181), mortality: 42.11% (8/19), $P < 0.05$]. The CR rate of the study group induced chemotherapy was 78.57%, higher than the control group and the middle, high and middle risk control group. The median overall survival (OS)

* 国家自然科学基金(No. 81470327)、四川省科技厅科技支撑项目(No. 2014SZ0202)、四川省人力资源和社会保障厅 2016 年度省学术和技术带头人培养支持经费资助

△ 通信作者, E-mail: wu_yu@scu.edu.cn

and leukemia free survival (LFS) of the patients with *NUP98* positive AMLs were 13 months and 5 months, respectively. **Conclusion** *NUP98* fusion positive AMLs have high level of coexistence with other prognostic-related genes, especially *FLT3-ITD*, leading to poor prognosis, short survival.

【Key words】 Acute myeloid leukemia *NUP98-HOXA9* *NUP98-NSD1* *NUP98-TOP1*
FLT3-ITD

细胞遗传学、分子生物学异常对急性髓细胞白血病(AML)的诊断、危险分层和预后意义重大。如慢性粒细胞白血病(CML)患者, *t(9;22)*染色体易位产生的 *BCR-ABL* 融合基因, 目前通过酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的治疗, 融合基因可转阴, 并获得长期生存^[1]。而 *t(15;17)*染色体易位产生 *PML-RAR α* 融合基因, 已成为 AML-M3 通过全反式维甲酸及亚砷酸可以治愈的基础^[2]。近年来, 不少文献^[3-6]报道 11p15 染色体的重排, 导致核孔蛋白 98 基因(*NUP98*)重排, 形成新的融合基因。*NUP98* 基因相关的染色体重排、融合基因形成, 主要发生在 AML 的各种亚型、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性粒细胞白血病急变期(CML-bc)等患者, 提示 *NUP98* 基因的易位与髓系肿瘤关系密切。

NUP98 与同源基因(*HOX*)融合最为常见, 如 *NUP98-HOXA9* 和 *NUP98-HOXA11* 等, 研究显示^[3], 这类患者多为中年女性, 按法、美、英分型系统(FAB)分型以 M2 为主; *NUP98*-核受体结合 SET 域蛋白 1(*NSD1*)易与 *Fms* 样酪氨酸激酶-3(*FLT3*)-基因内部串联重复突变(*ITD*)共表达, 且多发生在青年 AML 患者; *NUP98*-人赖氨酸特异性脱甲基酶(*JARID1A*)以及 *NUP98*-植物内域指蛋白 23(*PHF23*)多见于儿童患者^[3]; *NUP98*-拓扑异构酶 I(*TOP1*)和 *NUP98*-天冬氨酸-谷氨酸-丙氨酸-天冬氨酸(DEAD)框架蛋白(*DDX10*)等发生率相对较低。各种 *NUP98* 融合基因阳性 AML 有其自身的特点, 但多种不同的 *NUP98* 融合基因或许有相通的致病通路, 且 *NUP98* 相关融合基因阳性 AML, 一旦出现 *EVI1*、*Meis1*、*FLT3-ITD* 等预后基因的共表达, 疾病进展快, 预后差^[3], 国内相关研究和预后分析仅有一个中心报道。

本研究主要通过 RT-PCR 检测 *NUP98-HOXA9*、*NUP98-NSD1*、*NUP98-JARID1A* 和 *NUP98-PHF23* 融合基因, 并对其融合基因阳性的 AML 患者的临床特点、与 AML 常见预后基因的共表达情况和预后进行分析。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性纳入 2014 年 7 月 1 日至 2017 年 3 月 1 日就诊于四川大学华西医院血液内科、初诊为 AML 和 MDS 的患者 197 例为研究对象。纳入标准: AML 和 MDS 诊断符合世界卫生组织(WHO)诊断标准, 患者年龄大于 15 岁, 患者可随访; 排除标准: 无可溯源的生物样本, 无法获得必要的生物学信息; 急性早幼粒细胞白血病; 合并其他血液或者非血液系统肿瘤。

197 例中以染色体 11p15 重排或 *NUP98* 融合基因阳性的患者作为研究组(16 例), 其余随访资料完整的初发 AML 患者作为对照组(181 例), 根据美国国家综合癌症网络(NCCN)指南的 AML 危险分层, 将对照组分为低危、中危、高危亚组。

1.2 资料收集

1.2.1 收集患者一般情况及临床特征 收集患者性别、年龄、发病时间、初发全血图和生化指标, AML 骨髓形态学诊断、骨髓细胞化学诊断、白血病细胞免疫分型、骨髓染色体核型分析、常见融合基因(包括 *AML1-ETO*、*CEBF β MYH11*、*EVI* 表达、*MLL* 融合)和预后基因突变(包括 *FLT-ITD*、*CEPBP*、*DNMT3a*、*NPM1*、*c-kit*)结果。

1.2.2 随访资料 收集患者化疗方案和疗程数, 缓解时间、复发时间、是否行骨髓移植、目前生存情况, 若死亡, 记录死亡时间及死亡原因。

1.2.3 终点指标定义 主要终点指标: 总生存(OS)期, 定义为患者初诊到死亡的时间; 次要终点指标: 完全缓解(CR), 经过一个标准疗程诱导化疗后, 患者外周血无原始细胞, 无髓外疾病, 骨髓三系造血活跃且原始细胞比例小于 5%; 无白血病生存(LFS)期, 患者第一次 CR 后到第一次复发或死亡的时间; 其它定义: 因为疾病的恶性程度高, 因复发入院而最终失访的患者按死亡计算。其余未能达到终点的指标定义为删失。

1.3 实验主要试剂

逆转录试剂盒、PCR 试剂盒(TaKaRa 公司), 胶回收试剂盒(天根生物公司), 人外周血淋巴细胞分离液(天津灏洋生物公司), Trizol RNA 提取试剂(Life Technology 公司)。

1.4 NUP98融合基因检测

所有患者初诊时 EDTA 抗凝采血管采集外周血或者骨髓液 4 mL, 24 h 内人外周血淋巴细胞分离液(Ficoll)分离单个核细胞。用 Trizol 法提取细胞总 RNA。用 DNA 酶去除基因组 DNA 并反转录为 cDNA;取 100 ng RNA 进行逆转录,20 μ L 反应体系:5 \times Prime Script Buffer 4.0 μ L,PrimeScript RT Enzyme Mix I 1 μ L,RT Primer Mix 1 μ L,Rnase-free 水补至 20 μ L。*NUP98-HOXA9* 和 *NUP98-JARID1A* 的特异性引物由 Genewiz 公司设计,参考文献设计 *NUP98-NSD1*^[7]、*NUP98-TOP1*^[8]、*NUP98-PHF23*^[3] 特异性引物,引物序列见表 1,所有引物合成由 Genewiz 公司完成。*NUP98-HOXA9* (258 bp)、*NUP98-NSD1* (135 bp)、*NUP98-JARID1A* (237 bp) *NUP98-PHF23*(2 391 bp)用 PCR 试剂盒扩增,其反应条件为 98 $^{\circ}$ C 10 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,进行第一轮 40 个循环,得到的产物用同样的引物同样的条件,进行第二轮 PCR 扩增;*NUP98-TOP1*(1 677 bp)融合基因 PCR 扩增,扩增条件为 98 $^{\circ}$ C 10 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,68 $^{\circ}$ C 6 min,共进行 40 个循环。上述 PCR 产物,分别取 5 μ L 通过 20 g/L 琼脂糖凝胶进行电泳,鉴定 PCR 产物。部分 PCR 阳性的标本,扩大 PCR 扩增体系后取产物 100 μ L 进行胶回收纯化,回收产物送 Genewiz 公司进行一代测序获得产物序列后,NCBI 数据库中 *NUP98-HOXA9* 融合基因的 RNA 序列加以比对。

表 1 引物序列信息

Table 1 Primer sequence information

Fusion gene	Primer sequence (5'-3')
<i>NUP98-HOXA9</i>	Forward: TCTTGGTACAGGAGCCTTTGG
	Reverse: GGGCACCGCTTTTTCCGAGTG
<i>NUP98-NSD1</i>	Forward: TCTTGGTACAGGAGCCTTTG
	Reverse: TCCAAAAGCCACTTGCTTGGC
<i>NUP98-TOP1</i>	Forward: GCCACTTGGGCTTTGGAGCCCC
	Reverse: ATCAGCCTTAGCACTTTTCAGGTC
<i>NUP98-JARID1A</i>	Forward: GCTGGACAGGCATCTTTGTT
	Reverse: CCGTTTTCCGTTTCTTCTCTG
<i>NUP98-PHF23</i>	Forward: CCAAGCACAGTGTAATTACTGC
	Reverse: CCCAGGAGGTGGGAGTCTAT
<i>GAPDH</i>	Forward: CCACAGTCCATGCCATCAC
	Reverse: TCCACCACCTGTGTCTGTA

NUP98: Nucleoporin98; *HOXA9*: *HomeoboxA9*; *NSD1*: Nuclear receptor binding SET domain protein 1; *TOP1*: Topoisomerase 1; *JARID1A*: Jumonji, AT rich interactive domain 1A; *PHF23*: Plant homeodomain finger protein 23; *GAPDH*: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

1.5 统计学方法

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验,分类资料采用卡方检验,生存分析用 Kaplan-Meier 法,采用

log-rank 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NUP98 相关融合基因的鉴定

测序结果见图 1。经 BLAST 序列比对,9 号和 10 号标本,确认为 *NUP98-HOXA9* 融合基因序列,且均为 Type I 转录本。

本研究中第 196 号患者,为我院第 1 例发现 *t*(11;20)(p15;q11)染色体易位的 AML,其 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳、并经测序,确认为我院首例 *NUP98-TOP1* 融合基因阳性 AML,见图 2。

2.2 NUP98 融合基因阳性检出率以及染色体核型分析,与其他融合基因和预后基因共表达分析

197 例患者中 16 例患者(含 MDS 1 例)经 RT-PCR 检测出含有 *NUP98* 融合基因(研究组),*NUP98-HOXA9* 融合基因阳性 12 例(检出率 6.1%,12/197),其中 AML 患者 11 例,MDS 患者 1 例;*NUP98-NSD1* 融合基因阳性 2 例,*NUP98-TOP1* 和 *NUP98-DDX10* 融合基因阳性各 1 例,均为 AML。

NUP98 融合基因 PCR 检出率高于染色体异常检出率。检测出 11p15 染色体重排 4 例(均为研究组患者),检出率为 2.0%(4/197),其中 *t*(7;11)(p15;p15)染色体易位 2 例,*t*(11;20)(p15;q11)染色体易位 1 例,*Inv*(11)(p15q22)染色体重排 1 例。

与 *NUP98-HOXA9* 或 *NUP98-NSD1* 融合基因共表达的基因见表 2。而 *NUP98-TOP1* 或表 2 *NUP98* 融合基因阳性 AML 共表达的预后基因和常见融合基因

Table 2 Coexistence of prognosis-related genes and fusion genes in AML patients

Co-expressed genes	<i>NUP98</i> fusion gene	Case
<i>FLT3-ITD</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	3
<i>c-kit</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	2
<i>CEBPA</i> double mutation	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>MLL</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>EVII</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>CBFβ-MYH11</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>AML1-ETO</i>	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>DNMT3A</i> deletion mutation	<i>NUP98-HOXA9</i>	1
<i>FLT3-ITD</i>	<i>NUP98-NSD1</i>	2

c-kit: c-kit proto-oncogene protein; *CEBPA*: CCAAT/enhancer-binding protein alpha; *MLL*: Myeloid/legume leukemia gene; *CEBPA*: CCAAT/enhancer-binding protein alpha; *EVII*: Ecotropic viral integration site 1; *CBF β -MYH11*: Core-binding factor subunit beta-myosin heavy chain; *AML1-ETO*: Acute myeloid leukemia 1-eightytwentyone; *DNMT3A*: DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A

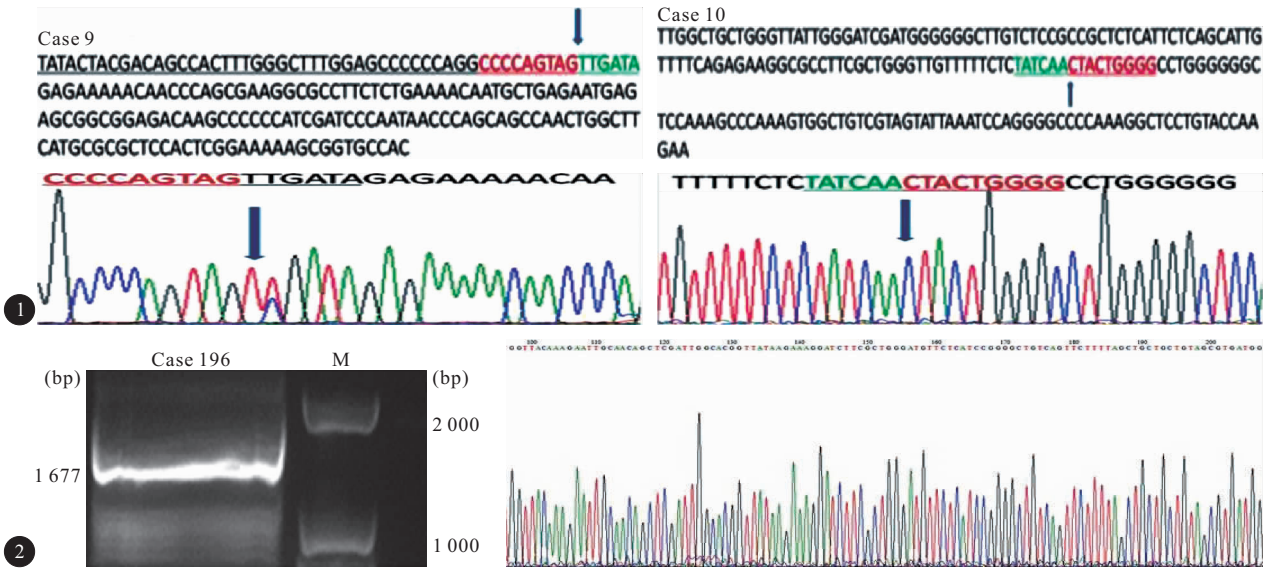


图 1 9 号和 10 号标本 *NUP98-HOXA9* 转录本和测序图 图 2 196 号 AML 患者 *NUP98-TOP1* 融合基因 RT-PCR 电泳(左)和测序图(右)
Fig 1 *NUP98-HOXA9* transcript and sequencing of case 9 and 10 Fig 2 Electrophoresis (left) and sequencing (right) of *NUP98-TOP1* fusion gene of case 196

NUP98-DDX10 阳性 AML 患者未检测到与其它融合基因或预后基因共表达。

2.3 研究组患者一般情况

研究组患者平均年龄为 30.6 岁,男性 11 例,女性 5 例。其中 12 例 *NUP98-HOXA9* 融合基因阳性 AML(含 1 例 MDS)患者,平均年龄 43.2 岁,男性 9 例,女性 3 例。2 例 *NUP98-NSD1* 融合基因阳性 AML 患者,平均年龄 20.5 岁(15~26 岁)。1 例 *NUP98-TOP1* 阳性 AML 患者为 42 岁女性。1 例 *NUP98-DDX10* 阳性 AML 患者为 56 岁男性,见表 3。

研究组患者血常规特点和大多数 AML 患者相似。研究组与对照组白细胞计数分别为 $(64.30 \pm 74.44) \times 10^9 L^{-1}$ 和 $(42.00 \pm 66.70) \times 10^9 L^{-1}$,血红蛋白含量分别为 $(73.06 \pm 24.58) g/L$ 和 $(78.00 \pm 44.44) g/L$,血小板计数 $(78.38 \pm 143.21) \times 10^9 L^{-1}$ 和 $(48 \pm 68.33) \times 10^9 L^{-1}$,两组比较差异均无统计学意义。与低、中、高危对照亚组比较,差异也无统计学意义。

2.4 研究组患者 FAB 分型

研究组患者除 1 例未进行 FAB 分型,其余患者以 M2 和 M5 居多。其中 M2、M5 各 4 例,M1、M4 各 3 例,MDS 1 例,见表 3。

2.5 研究组患者免疫表型

研究组患者除 1 例无法查到 AML 初发时的流式细胞仪分析免疫表型结果,其余患者的免疫表型为:14 例表达 HLA-DR、CD117,15 例表达 CD33,

14 例表达 CD13,13 例表达 CD34,4 例表达 CD64,2 例表达 CD14 和 CD36。除 3 例表达 CD7、1 例部分表达 CD19 抗原表型外,无其它淋巴系抗原表型的表达)均符合 AML 特点。

2.6 研究组与对照组患者临床治疗反应与预后

2.6.1 CR 率比较 研究组 16 例患者中 14 例接受了标准化疗,有 9 例(9/14,64.29%)首次诱导化疗即获 CR,另 2 例分别于 2、3 次诱导化疗后获 CR,总 CR 率(78.57%,11/14)高于对照组中的高危组(8/26,30.77%)、中危组(44/99,44.4%)及总 AML 对照组(84/181,46.4%),差异均有统计学意义($P < 0.05$);与低危组 CR 率(32/56,57.14%)比较,差异无统计学意义。

2.6.2 研究组患者与其它融合基因、预后基因的共表达及死亡率 研究组患者中 *NUP98* 相关融合基因与其它融合基因、预后基因共表达 13 例,死亡率 76.9%(10/13 例);其中 5 例合并 *FLT3-ITD* 突变(31.25%,5/16 例),突变率高于对照组突变率 10.49%(19/181 例, $P = 0.007$),低于对照组中的高危亚组突变率 73.08%(19/26, $P = 0.035$)。合并 *FLT3-ITD* 突变的研究组患者死亡率(80.00%,4/5 例)高于对照组中的高危亚组(42.11%,8/19 例)。研究组中 *NUP98-HOXA9* 融合基因阳性 AML 患者,发生 *FLT3-ITD* 共表达率为 25.00%(3/12),死亡率 66.67%(2/3),而 *NUP98-NSD1* 融合基因阳性的 2 例 AML 患者均发生 *FLT3-ITD* 共表达,无 *NPM1*、*CEBPA* 突变,2 例患者均短时间内死亡,

表 3 16 例 *NUP98* 融合基因阳性 AML(含 1 例 MDS)患者的临床资料

Table 3 Clinical characteristics of 16 patients with *NUP* fusion gene (including 1 MDS)

No.	Sex	Age	<i>NUP98</i> Type	FAB Type	Karyotype	Mutations	Number of induction chemotherapy before CR	OS/month	LFS/month
7	M	19	NH	M4	Normal	<i>c-kitD816</i>	1	12	5
9	M	34	NH	M1	Normal	<i>CEBPA</i> double mutation	1	18	17
18	M	52	NH	M1	46XY,t(7;11)(p15;p15)	<i>FLT3-ITD, EVI1</i>	2	7	5
34	M	45	NH	M5	46-47,XY,+8,t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL-AF9</i>	1	18	17
35	M	32	NH	M4EO	46,Y,t(X;16)(q13;p13)[7]/46XY	<i>CBFβ-MYH11</i>	1	50	42
57	M	49	NH	AML	Lose	<i>FLT3-ITD</i>	Lose	Lose	Lose
72	M	60	NH	M5	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)	<i>AML1-ETO, c-kitD816</i>	1	13	5
195	F	45	NH	M2	47XX,t(7;11)(p15;p15)		1	3	0
196	F	42	NT	M2	46XX,t(11;20)(p15;q11)		—	4	0
197	M	56	ND	M5	46XX,inv(11)(p15;q22)		—	4	0
B7	M	26	NN	M4	47XY+8	<i>FLT3-ITD</i>	—	7	0
B10	M	72	NH	MDS	Normal		—		
B16	M	53	NH	M1	Normal	<i>IDH2/R140, DNMT3A</i> deletion mutation	1	17	16
B20	F	15	NN	M5	Normal	<i>FLT3-ITD</i>	1	8	5
B28	F	35	NH	M2	Normal	<i>FLT3-ITD</i>	1	14	13
B51	F	51	NH	M2	46XX,+1;der(1;22)(q10;q10);del(5)(q22;q35)[20]		3	49	9

NH: *NUP98-HOXA9*; NN: *NUP98-NSD1*; NT: *NUP98-TOP1*; ND: *NUP98-DDX10*; IDH2: Isocitrate dehydrogenase 2; *c-kit*, *CEBPA*, *EVI1*, *MLL*, *CBFβ-MYH11*, *AML1-ETO*, *IDH2* and *DNMT3A* note the same as those in table 2

死亡率同样高于对照组。提示 *NUP98* 融合基因阳性 AML 患者, 较容易合并 *FLT3-ITD* 突变, 且预后差。

2.6.3 研究组患者治疗、OS 与 LFS 研究组 16 例患者, 除 1 例失访, 1 例 MDS 患者长期输血维持存活, 余 14 例患者均接受常规的标准诱导化疗方

案, 首次化疗未达 CR 的患者, 换用氟达拉滨或地西他滨联合阿糖胞苷等二线方案化疗, 中位 OS 为 13 月(3~50 月), 中位 LFS 为 5 月(0~42 月)。Kaplan-Meier 分析生存曲线结果显示(图 3), 研究组患者 OS 及 LFS 与对照组中低危及高危亚组相比, 差异均具有统计学意义。

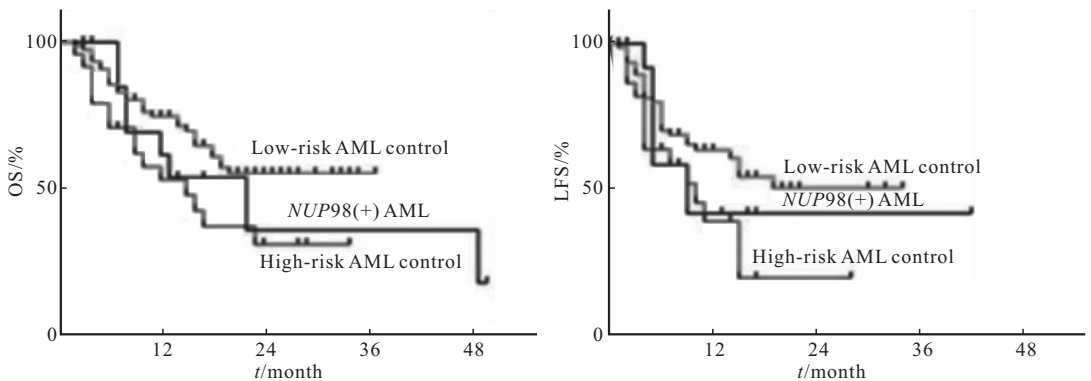


图 3 *NUP98*(+)AML 患者的 OS 及 LFS

Fig 3 OS and LFS of *NUP98*(+) AML patients

3 讨论

近年来 *NUP98* 融合基因阳性 AML 越来越受到学者们关注, *NUP98* 基因易位时, 多数情况下,

是在 11 号染色体短臂第 11~13 号内含子位点之间断裂, 其富含编码 FG 重复序列的氨基末端, 与不同的伴侣基因融合, *NUP98* 基因通过易位或者插入的方式, 与其伴侣基因形成的融合基因多达 29 种,

并产生相应的融合蛋白^[1,9]。而引起的血液系统恶性肿瘤,多数是 AML,但也有部分是 MDS、急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)、CML 急性变及双表型急性白血病^[1,9-10]。*NUP98* 融合基因阳性 AML 患者其 OS、LFS 明显低于 *NUP98* 融合基因阴性的 AML 患者^[9-11]。

研究显示,由于 *NUP98* 的断裂点大多位于目的基因的内含子区^[9],其编码阅读框仍保留,异常的融合蛋白通过负性调控的方式,干扰野生型 *NUP98* 的转录活性,从而介导肿瘤发生^[12]。

NUP98-HOXA9 融合基因的存在,导致细胞内 *wnt-NUP98* 及 *RAE1* 表达减低,导致整个基因组不稳定^[13],这最终导致 *NUP98* 相关融合基因阳性 AML,同时存在其它基因突变或其它融合基因共表达。而有关研究已经证实 *Meis1*、*FLT3*、*BCR-ABL1*、*MLL*、*EVI1*、*HOXA5* 能与 *NUP98* 融合基因相互作用,促使发生白血病,并导致疾病预后极差^[14-15]。本研究中,31.30%(5/16)的 *NUP98* 融合基因阳性患者,合并 *FLT3-ITD* 融合基因共表达,这类患者的死亡率达 80.00%。其中 25.00%(3/12)的 *NUP98-HOXA9* 融合基因阳性 AML,发生 *FLT3-ITD* 共表达,死亡率 66.67%(2/3 例),而 *NUP98-NSD1* 融合基因阳性 AML,发生 *FLT3-ITD* 共表达的概率及死亡率更高。研究显示^[16],*NUP98-NSD1* 阳性 AML 中,*FLT3-ITD* 阳性率高达 82%(37/45 例),而二者共表达的 AML,3 年生存率仅为 28%,本研究因 *NUP98* 融合基因阳性的 AML 样本量有限,且总的随访时间仍较短,目前尚无法得出 3 年生存率。

本研究组中 *NUP98-TOP1* 阳性和 *NUP98-DDX10* 阳性各 1 例,经过 2 个疗程的诱导化疗未获 CR,一般情况极差,预期总生存期不会高于本研究中 *NUP98* 融合基因阳性 AML 的中位总生存期(13 月)。ARAI 等^[17]和 POTENZA 等^[18]报道了 *NUP98* 与非 *HOX* 同源基因家族融合形成的蛋白,及其在 AML 中的发病机制,该研究结果显示 *inv(11)(p15q22)* 染色体重排,导致 *NUP98-DDX10* 融合基因表达,*NUP98-DDX10* 与治疗相关的 AML 和 MDS 密切相关,尤其是接受过 *TOP II* 抑制剂治疗的 AML 或者 MDS。*NUP98-TOP1* 融合基因阳性 AML,临床特点往往为较年轻的患者,白细胞高,FAB 分型为 M2 型,且预后极差^[18]。

综上所述,*NUP98* 融合基因在 AML 的检出率较低,11p15 染色体重排的检出率则更低。然而,由

于 *NUP98* 融合基因易与其它融合基因、预后基因共表达,尤其 *FLT3-ITD*、*MLL* 等基因共表达时,AML 预后极差,死亡率高。本研究组患者其 OS 及 LFS 分别是 13 月和 5 月,虽然诱导 CR 率明显高于对照组中的中、高危亚组,但患者死亡率高,预后差,分析原因可能和我们样本量偏少,或者 AML 合并的其他不良基因导致后期疾病进展耐药等多因素有关,需要更多病例数来证实。早期进行异基因造血干细胞移植,或许是目前能使这部分患者最终获益的唯一手段,若通过大样本的研究,对于临床的早期干预具有重要指导意义。

FORRESTER 等^[19]进行研究发现,*NUP98-HOXA9* 基因在髓系肿瘤发生过程中的作用,主要是通过激活下游基因 *MEIS1* 联通 PTGS/QX 通路或者通过 DNA 甲基化转移酶(*DNMT1*)使基因组高度甲基化完成。

YASSIN 等^[20]研究发现,*NUP98-HOXA9* 融合基因在调控下游基因表达的过程中,均可使 *HOX* 基因家族(*COX-2*、*MYCN*、*ANGPT1*、*REN*、*HEY1*、*SOX4*)以及其它基因的表达上调,即 *NUP98* 融合基因在致白血病的过程中,可能存在“共同通路”,这一发现,对进一步研究 *NUP98* 融合基因的共同致病原理,具有极大的指导意义,并使最终相关靶向药物的研发及疾病预后的改善成为可能。

在现今对 AML 的预后分层中,已经开始关注融合基因和预后基因之间的相互关联对疾病预后影响。通过对 *NUP98* 融合基因阳性 AML 的早期诊断、预后判断、新药物单药或者联合治疗的研究,有可能使其成为 AML 的独立分型,对于疾病的预后评估及治疗手段的选择,意义重大。因此在初诊时,对 *NUP98* 融合基因及 11p15 染色体重排的筛查,显得尤为重要,通过化疗使患者获得完全缓解,并尽早进行造血干细胞移植,作为改善 *NUP98* 融合基因阳性 AML 整体预后的重要治疗手段,值得更多的关注和重视。

参 考 文 献

- [1] GOUGH SM, SLAPE CI, APLAN PD. *NUP98* gene fusions and hematopoietic malignancies: common themes and new biologic insights. *Blood*,2011,118(24):6247-6257.
- [2] DE THE H, LE BRAS M, LALLEMAND-BREITENBACH V. The cell biology of disease: acute promyelocytic leukemia, arsenic, and PML bodies. *J Cell Biol*,2012,198(1):11-21.

- [3] READER JC, MEEKINS JS, GOJO I, *et al.* A novel *NUP98-PHF23* fusion resulting from a cryptic translocation t(11;17)(p15;p13) in acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2007,21(4):842-844.
- [4] CHOU WC, CHEN CY, HOU HA, *et al.* Acute myeloid leukemia bearing t(7;11)(p15;p15) is a distinct cytogenetic entity with poor outcome and a distinct mutation profile; comparative analysis of 493 adult patients. *Leukemia*, 2009, 23(7):1303-1310.
- [5] NISHIYAMA M, ARAI Y, TSUNEMATSU Y, *et al.* 11p15 translocations involving the *NUP98* gene in childhood therapy-related acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome. *Genes Chromosomes Cancer*, 1999, 26(3): 215-220.
- [6] CRESCENZI B, NOFRINI V, BARBA G, *et al.* *NUP98/11p15* translocations affect CD34+ cells in myeloid and T lymphoid leukemias. *Leuk Res*, 2015,39(7):769-772.
- [7] JAJU RJ, FIDLER C, HAAS OA, *et al.* A novel gene, *NSD1*, is fused to *NUP98* in the t(5;11)(q35;p15.5) in de novo childhood acute myeloid leukemia. *Blood*, 2001,98(4): 1264-1267.
- [8] AHUJA HG, FELIX CA, APLAN PD. The t(11;20)(p15;q11) chromosomal translocation associated with therapy-related myelodysplastic syndrome results in an *NUP98-TOP1* fusion. *Blood*, 1999,94(9):3258-3261.
- [9] TAKEDA A, YASEEN NR. Nucleoporins and nucleocytoplasmic transport in hematologic malignancies. *Semin Cancer Biol*, 2014,27:3-10[2017-06-25]. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.02.009>.
- [10] KALVERDA B, PICKERSGILL H, SHLOMA VV, *et al.* Nucleoporins directly stimulate expression of developmental and cell-cycle genes inside the nucleoplasm. *Cell*, 2010, 140(3):360-371.
- [11] WEI S, WANG S, QIU S, *et al.* Clinical and laboratory studies of 17 patients with acute myeloid leukemia harboring t(7;11)(p15;p15) translocation. *Leuk Res*, 2013, 37(9): 1010-1015.
- [12] FRANKS TM, HETZER MW. The role of *Nup98* in transcription regulation in healthy and diseased cells. *Trends Cell Biol*, 2013,23(3):112-117.
- [13] FUNASAKA T, NAKANO H, WU Y, *et al.* RNA export factor RAE1 contributes to *NUP98-HOXA9*-mediated leukemogenesis. *Cell Cycle*, 2011,10(9):1456-1467.
- [14] SHIMA Y, YUMOTO M, KATSUMOTO T, *et al.* MLL is essential for *NUP98-HOXA9*-induced leukemia. *Leukemia*, 2017,31(10):2200-2210.
- [15] BURILLO-SANZ S, MORALES-CAMACHO RM, CABALLERO-VELAZQUEZ T, *et al.* *NUP98-HOXA9* bearing therapy-related myeloid neoplasm involves myeloid-committed cell and induces *HOXA5*, *EVI1*, *FLT3*, and *MEIS1* expression. *Int J Lab Hematol*, 2016,38(1):64-71.
- [16] OSTRONOFF F, OTHUS M, GERBING RB, *et al.* *NUP98/NSD1* and *FLT3/ITD* coexpression is more prevalent in younger AML patients and leads to induction failure; a COG and SWOG report. *Blood*, 2014, 124(15): 2400-2407.
- [17] ARAI Y, HOSODA F, KOBAYASHI H, *et al.* The inv(11)(p15q22) chromosome translocation of de novo and therapy-related myeloid malignancies results in fusion of the nucleoporin gene, *NUP98*, with the putative RNA helicase gene, *DDX10*. *Blood*, 1997,89(11):3936-3944.
- [18] POTENZA L, SINIGAGLIA B, LUPPI M, *et al.* A t(11;20)(p15;q11) may identify a subset of nontherapy-related acute myelocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*, 2004, 149(2):164-168.
- [19] FORRESTER AM, GRABHER C, MCBRIDE ER, *et al.* *NUP98-HOXA9*-transgenic zebrafish develop a myeloproliferative neoplasm and provide new insight into mechanisms of myeloid leukaemogenesis. *Br J Haematol*, 2011,155(2):167-181.
- [20] YASSIN ER, ABDUL-NABI AM, TAKEDA A, *et al.* Effects of the *NUP98-DDX10* oncogene on primary human CD34+ cells: role of a conserved helicase motif. *Leukemia*, 2010,24(5):1001-1011.

(2018-01-07 收稿, 2018-04-02 修回)

编辑 沈进