

• 临床检验研究论著 •

NPM1 和 *FLT3* 基因同时突变影响急性髓细胞白血病患者完全缓解率的 Meta 分析^{*}

吴 皓, 陈洁平[△]

(第三军医大学西南医院血液病中心, 重庆 400038)

摘要:目的 采用 Meta 分析评价 *NPM1* 和 *FLT3* 基因同时突变对急性髓细胞白血病(AML)患者完全缓解率的影响。方法 采用 Cochrane 系统评价, 计算机检索中国期刊全文数据库、万方数据库、维普中文科技期刊数据库, 收集关于 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变对 AML 预后影响的中文文献, 以完全缓解率为评价指标, 采用 RevMan5.0 软件进行 Meta 分析。结果 本研究共纳入 4 个随机对照研究, 包括 196 例受试对象。*NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 比较的 Meta 分析显示, 两组 AML 患者完全缓解率的差异无统计学意义 [*OR*=0.49, 95%*CI*(0.19~1.25), *P*=0.13]。结论 目前的证据尚不足以说明 *NPM1* 和 *FLT3* 基因同时突变对 AML 患者完全缓解率有影响。

关键词: 白血病, 髓样, 急性; 突变; Meta 分析; 基因, *FLT3*; 基因, *NPM1*

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)09-1071-03

A Meta-analysis of effects of simultaneous mutation in *NPM1* and *FLT3* gene on complete remission rate of patients with acute myeloid leukemia^{*}

Wu Hao, Chen Jieping[△]

(Center for Hematology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To evaluate effects of simultaneous mutation in *NPM1* and *FLT3* gene on complete remission rate of patients with acute myeloid leukemia(AML) by Meta-analysis. **Methods** Cochrane systematic evaluation was used to search Chinese literatures from China National Knowledge Internet, Wanfang Database and VIP Database of Chinese Journal, which related to effects of *NPM1* and *FLT3* gene mutation on prognosis of patients with AML. Complete remission rate served as evaluation index and RevMan5.0 software was employed to perform Meta-analysis. **Results** Four randomized controlled studies including 196 cases of subjects were selected to conduct Meta-analysis. Meta-analysis of comparison between *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ and *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ revealed that no statistically significant difference in complete remission rates of patients with AML between the two groups [*OR*=0.49, 95%*CI*(0.19~1.25), *P*=0.13]. **Conclusion** The current evidence is insufficient to confirm the effect of simultaneous mutation in *NPM1* and *FLT3* gene on complete remission rates of patients with AML.

Key words: leukemia, myeloid, acute; mutation; Meta-analysis; gene, *FLT3*; gene, *NPM1*

急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)是起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病, 具有高度的异质性^[1]。目前细胞遗传学技术已经作为常规检测方法用于 AML 的辅助诊断、治疗和预后判断。由于在分子水平上存在着异质性, 常规细胞遗传学技术的检出率并不高^[2]。近年来, 随着对 AML 遗传因素认识的进一步深化, 人们发现基因突变是影响 AML 患者预后的重要独立因素^[3]。

核仁磷酸蛋白 1(nucleophosmin, *NPM1*)和 *fms*-样酪氨酸激酶-3(*fms*-like tyrosine kinase-3, *FLT3*)基因突变是 AML 患者中最常见的基因突变类型。研究发现, 仅有单纯的 *NPM1* 基因突变的患者, 其完全缓解率高, 预后好^[4]; 而具有单纯的 *FLT3* 基因的内部串联重复(internaltandemduplication, ITD)基因突变的患者, 外周血高 WBC, 骨髓高原始细胞, 其诱导缓解率低, 预后差^[5]。近年来研究显示, *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变相伴发生的概率较高^[6], 但对其预后的报道不一。本研究旨在通过分析近年来国内发表的有关 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变对 AML 预后影响的文献, 进行系统评价, 为 AML 的分类及治

疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 文献纳入与排除标准

1.1.1 研究类型 选择随机对照试验(randomized controlled trial, RCT), 排除回顾性分析和非随机的临床试验。

1.1.2 研究对象 入选标准: (1) 经过骨髓细胞形态学、免疫表型以及染色体分析检测, 确定为 AML; (2) 无年龄、性别的限制; (3) 无初发或复发限制; (4) 治疗前无明显化疗禁忌证; (5) 排除同时或以前患有 2 种及以上恶性肿瘤者。

1.1.3 治疗方案 采用柔红霉素+阿糖胞苷、高三尖杉酯碱+阿糖胞苷、米托蒽醌+阿糖胞苷等标准联合化疗方案。

1.1.4 结局指标 观察化疗后的外周血 WBC 计数及骨髓原始细胞比例。

1.1.5 语言类型 只纳入中文文献。

1.2 检索策略 以“AML”、“*NPM1*”、“*FLT3*”为关键词检索中国期刊全文数据库(检索年限: 1994~2012 年)、万方数据库(检索年限: 1994~2012 年)、维普中文科技期刊数据库(检索

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(NSFC 30971066); 重庆自然科学基金资助项目(CSTC 2008BA5001); 重庆研究生教育改革项目(yjg123114); 第三军医大学 Clininc 和科学大基金项目(2101XLC03)。 作者简介: 吴皓(1987~), 男, 硕士研究生, 主要从事白血病的基础与临床研究。 [△] 通讯作者, E-mail: chenjp@163.com。

年限;1989~2012 年)已发表的期刊文献。

1.3 方法学质量评价 对纳入研究文献的方法学质量评价参考 Cochrane 系统评价推荐的方法^[1],将文献分为 3 级,A 级为符合以下质量标准者:(1)是否采用随机分配方法;(2)是否采用盲法;(3)是否有失访或退出;(4)有明确的疗效评价标准;(5)是否存在其他方面的偏倚。A 级研究发生各种偏倚的概率极小,结果明确可靠。B 级为其中任何一条或多条质量评价标准仅为部分满足,其研究存在中等程度偏倚可能,结果不明确。C 级是其中任何一条或多条质量评价标准完全不满足,即未采用或不正确,其研究存在高度偏倚可能,结论不可靠。

1.4 数据提取 制定数据提取表,独立对纳入的所有文献提取信息,提取的主要内容包括:研究的基本特征、研究的方法学评价指标、病例纳入标准、干预措施、受试者特征和结果测量指标等;对提取的数据进行核对,达成一致后再录入。

1.5 统计学处理 使用 Cochrane 系统评价软件 RevMan5.0

进行 Meta 分析。首先对纳入研究进行异质性分析。采用 χ^2 检验检测纳入研究之间的异质性,检验水平设定: $\alpha=0.1$,以 $P=0.1$ 为是否具有统计学意义的分界点。若 $P>0.1$,则研究间无异质性,将无异质性文献数据合并分析,使用固定效应模型;若 $P<0.1$,则研究间存在临床异质性,仅作描述性分析。Meta 分析结果在森林图中列出。

2 结 果

2.1 文献检索结果 初次检索到文献 208 篇,通过阅读文献题目和摘要排除 93 篇,筛选出 10 篇文献,获取全文后进一步全文阅读和评估,最终纳入 4 篇研究文献。

2.2 纳入研究的基本特征 纳入研究的 4 篇文献共包括 196 例受试对象,所有纳入病例经过骨髓细胞形态学和(或)免疫组织化学染色和(或)流式细胞术免疫学分型,并参照《血液病诊断及疗效标准》而确诊为 AML 患者。各纳入研究的基本特征见表 1。

表 1 纳入研究的基本特征

纳入研究	年份	病期	年龄(岁)	患者类型	例数(n)	治疗方案	结局指标
吴德沛 ^[7]	2007	初诊	15~73	AML	<i>NPM1</i> ⁺ / <i>FLT3</i> -ITD ⁺	DA、MA 等标准联合化疗方案	完全缓解率
					<i>NPM1</i> ⁻ / <i>FLT3</i> -ITD ⁻		
孙超 ^[8]	2011	初诊	14~86	AML	<i>NPM1</i> ⁺ / <i>FLT3</i> -ITD ⁺	DA、HA、IDA 等标准联合化疗方案	完全缓解率
					<i>NPM1</i> ⁻ / <i>FLT3</i> -ITD ⁻		
马亮 ^[9]	2011	初诊	14~86	AML	<i>NPM1</i> ⁺ / <i>FLT3</i> -ITD ⁺	DA、IA、MA 等标准联合化疗方案	完全缓解率
					<i>NPM1</i> ⁻ / <i>FLT3</i> -ITD ⁻		
陈建兰 ^[10]	2011	初诊	14~87	AML	<i>NPM1</i> ⁺ / <i>FLT3</i> -ITD ⁺	DA、MA 等标准联合化疗方案	完全缓解率
					<i>NPM1</i> ⁻ / <i>FLT3</i> -ITD ⁻		

2.3 纳入研究的实验方法学质量评价 4 个研究均描述了研究病例的患者类型、疾病期、年龄和治疗方案等,基线情况均可比,其中 3 个研究没有明确描述随机分配情况和失访情况,故本研究纳入的 4 篇文献中 3 篇属于 C 级文献,1 篇 B 级文献。

2.4 Meta 分析

2.4.1 *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 比较对完全缓解率的影响 有 4 个研究(共包括 196 例受试对象,其中,*NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 有 23 例,*NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 有 173 例)报告了 *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 对完全缓解率影响的数据,提取这些数据进行 χ^2 检验显示,各研究结果间无统计学异质性($P=0.91$)。故采用固定效应模型进行 Meta 分析。结果显示,*NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 的完全缓解率差异没有统计学意义[OR=0.49,95%CI(0.19~1.25), $P=0.13$]。结果见图 1。

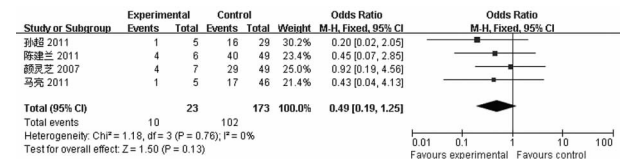


图 1 *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 对 AML 患者 CR 影响的 Meta 分析

2.4.2 敏感性分析 由于纳入研究文献的质量和数量的限制,未能就 *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 对 AML 患者的预后影响进行敏感性分析。

3 讨 论

AML 是一组起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病,在临床及遗传学上都具有高度的异质性。由基因突变所致细胞的增殖、分化及凋亡途径改变是 AML 的发病基础。目前,细胞遗传学改变是 AML 最重要的独立预后因素,大约 55% 的 AML 患者中可检测到染色体异常。这些特异的染色体改变与临床特点有很大的相关性,有助于选择有效的治疗方式。另外,45% 的 AML 患者用标准的核型分析方法不能检测出异常,其预后存在很大的差异,常被归为预后中等组^[11]。近年来随着对白血病分子遗传学及分子生物学等方面研究的不断深入,人们逐渐发现 AML 中存在多种不同的基因突变和基因表达的改变;如:*NPM1* 基因突变、*FLT3*-ITD 基因、*MLL*-ITD 基因、*BAALC* 基因高表达、*CEBPA* 基因突变等,这些基因改变与 AML 的临床表现和预后有很大的相关性^[12]。*NPM1* 和 *FLT3* 基因突变是 AML 中出现频率较高的突变形式,国外临床实践指南中将这 2 个基因推荐为 AML 的必要检测项目,作为治疗决策的重要参考指标^[13]。

NPM 基因位于第 5 号染色体长臂(5q35),含 12 个外显子,全长 23 kb;其编码的蛋白是一种多功能穿梭蛋白,主要定位于细胞核内,能穿梭于核仁、核质和细胞质之间,参与核糖体的合成,控制中心体复制,具有分子伴侣作用,并通过多种信号通路调控细胞的周期进程和增殖^[14],参与多种肿瘤的发生。*NPM1* 基因突变是 AML 中最常见的一种突变形式,其突变率为 47%~60%^[15]。近年来研究显示,*NPM1* 突变的 AML 患

者在完全缓解率、无病生存率、无事件生存率和无复发生存率方面优于 *NPM1* 阴性患者。因而, *NPM1* 被认为是预后良好的独立因素^[4]。 *FLT3* 基因是 1991 年发现的早期造血生长因子受体基因, 其编码的蛋白属于 III 型酪氨酸激酶受体家族, 对造血细胞起调节生长和分化功能^[16]。近年来研究发现, *FLT3* 基因突变及其过度表达与 AML 的预后负相关。 *FLT3*-ITD 阳性患者的无病生存期和总存活率均明显低于 *FLT3*-ITD 阴性的患者^[5]。 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变相伴发生的概率较高, 约占 40%^[6], 但对其预后的报道不一。

本研究共纳入 4 个随机对照研究, 4 个研究的样本量都比较少, 均小于 60 例; 循证医学认为, 小样本随机对照试验, 结果偏离真值, 结论不明确, 犯第一类错误或第二类错误概率较小。其次, 随机分配是减少某些外部因素对结果的影响, 随机化分组是实现组间均衡性的重要手段。本研究中纳入研究的 4 篇文献均未对随机方法进行描述, 因此, 难以判定是否采用随机方法, 从而影响结果的可靠程度。再次, 有 3 篇文献未描述随访情况和失访情况, 因此, 存在失访偏倚的可能。总的来说, 本研究中纳入研究的 4 篇文献质量不高, 均为 B 级和 C 级文献, 可信度不高。

本研究 Meta 分析结果显示, *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ AML 患者的完全缓解率与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ AML 患者的差异无统计学意义, 提示 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变相伴发生对 AML 患者的预后没有影响。此外, 由于纳入研究文献质量和数量的限制, 未能就 *NPM1*⁺/*FLT3*-ITD⁺ 与 *NPM1*⁻/*FLT3*-ITD⁻ 对 AML 的预后影响进行敏感性分析和发表偏倚分析。

由于现在可纳入的原始研究数量较少, 研究质量不高, 故现有证据不足以说明 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变对 AML 预后的影响。由于本系统评价可能存在的局限性, 有必要进一步开展大样本、高质量的随机对照试验, 为明确 *NPM1* 和 *FLT3* 基因突变对 AML 预后的影响提供可靠证据。

参考文献

[1] Löwenberg B. Acute myeloid leukemia: the challenge of capturing disease variety[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2008, 1-11.

[2] de Nully Brown P, Jurlander J, Pedersen-Bjergaard J, et al. The prognostic significance of chromosomal analysis and immunophenotyping in 117 patients with de novo acute myeloid leukemia[J]. Leuk Res, 1997, 21(10): 985-995.

(上接第 1070 页)

integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* complex[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(1): 27-32.

[9] Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*[J]. PLoS Genet, 2006, 2(1): e7.

[10] Perez F, Hujer AM, Hujer KM, et al. Global Challenge of Multi-drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(10): 3471-3484.

[11] Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acineto-*

[3] Kelly LM, Gilliland DG. Genetics of myeloid leukemias[J]. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2002, 3: 179-198.

[4] Schneider F, Hoster E, Unterhalt M, et al. *NPM1* but not *FLT3*-ITD mutations predict early blast cell clearance and CR rate in patients with normal karyotype AML (NK-AML) or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS)[J]. Blood, 2009, 113(21): 5250-5253.

[5] Stirewalt DL, Radich JP. The role of *FLT3* in haematopoietic malignancies[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(9): 650-665.

[6] Gale RE, Green C, Allen C, et al. The impact of *FLT3* internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with *NPM1* mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2008, 111(5): 2776-2784.

[7] 吴德沛, 颜灵芝, 杨莉, 等. 急性髓细胞白血病患者 *NPM1* 与 *FLT3* 基因突变的研究[J]. 中华内科杂志, 2007, 11: 211-214.

[8] 孙超, 夏珺, 沈云峰, 等. 正常核型急性髓系白血病患者 *NPM1* 基因突变的临床研究[J]. 山东医药, 2011, 51(12): 17-20.

[9] 马亮. 急性髓系白血病患者 *FLT3* 与 *NPM1* 基因突变检测及其临床意义[D]. 北京: 北京协和医学院基础医学院, 2011.

[10] 陈建兰. 急性髓细胞白血病患者 *NPM1* 及 *FLT3*-ITD 基因突变的检测及临床意义[D]. 广州: 广州医学院, 2011.

[11] Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461)[J]. Blood, 2002, 100(13): 4325-4336.

[12] Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2008, 358(18): 1909-1918.

[13] Ley TJ, Mardis ER, Ding L, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome[J]. Nature, 2008, 456(7218): 66-72.

[14] Grisendi S, Mecucci C, Falini B, et al. Nucleophosmin and Cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(7): 493-505.

[15] Chen W, Rassidakis GZ, Medeiros LJ. Nucleophosmin gene mutations in acute myeloid leukemia[J]. Arch Pathol Lab Med, 2006, 130(11): 1687-1692.

[16] Gilliland DG, Griffin JD. The roles of *FLT3* in hematopoiesis and leukemia[J]. Blood, 2002, 100(5): 1532-1542.

(收稿日期: 2012-12-24)

bacter[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(11): 868-873.

[12] Orsi GB, Falcone M, Venditti M. Surveillance and management of multidrug-resistant microorganisms[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2011, 9(8): 653-679.

[13] Mammina C, Bonura C, Aleo A, et al. Characterization of *Acinetobacter baumannii* from intensive care units and home care patients in Palermo, Italy[J]. Clin Microbiol Infect, 2011, 17(11): E12-15.

[14] Gaynes R, Edwards JR. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli[J]. Clin Infect Dis, 2005, 41(6): 848-854.

(收稿日期: 2012-11-23)