

[29] Cristofanilli M, Mendelsohn J. Circulating tumor cells in breast Cancer; Advanced tools for “tailored” therapy? [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(46): 17073-17074.

[30] Bidard FC, Mathiot C, Delaloge S, et al. Single circulating tumor cell detection and overall survival in nonmetastatic breast Cancer [J]. Ann Oncol, 2010, 21(4): 729-733.

[31] Barradas AM, Terstappen LW. Towards the biological understanding of CTC: capture technologies, definitions and potential to create metastasis [J]. Cancers (Basel), 2013, 5(4): 1619-1642.

[32] Barriere G1, Fici P, Gallerani G, et al. Circulating tumor cells and epithelial, mesenchymal and stemness markers; characterization of cell subpopulations [J]. Ann Transl Med, 2014, 2(11): 109.

[33] Mego M, Mani SA, Lee BN, et al. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast Cancer; The effect of neoadjuvant therapy [J]. Int J Cancer, 2012, 130(4): 808-816.

[34] Kurata T, Tamura K, Kaneda H, et al. Effect of re-treatment with gefitinib (‘Iressa’, ZD1839) after acquisition of resistance [J]. Ann Oncol, 2004, 15(1): 173-174.

[35] Krawczyk N, Meier-Stiegen F, Banys M, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in circulating tumor cells of breast cancer patients [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 415721.

[36] Hayes DF, Walker TM, Singh B, et al. Monitoring expression of HER-2 on circulating epithelial cells in patients with advanced breast Cancer [J]. Int J Oncol, 2002, 21(5): 1111-1117.

[37] Fehm T, Becker S, Duerr-Stoerzer S, et al. Determination of HER2 status using both serum HER2 levels and circulating tumor cells in patients with recurrent breast cancer whose primary tumor was HER2 negative or of unknown HER2 status [J]. Breast Cancer Res, 2007, 9(5): R74.

[38] Ignatiadis M, Rothé F, Chaboteaux C, et al. HER2-positive circulating tumor cells in breast cancer [J]. PLoS One, 2011, 6(1): 15624.

[39] Markou A, Strati A, Malamos N, et al. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast Cancer by a liquid bead array hybridization assay [J]. Clin Chem, 2011, 57(3): 421-430.

[40] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells [J]. N Engl J Med, 2008, 359(4): 366-377.

[41] Connolly RM, Carducci MA, Antonarakis ES. Use of androgen deprivation therapy in prostate Cancer: indications and prevalence [J]. Asian J Androl, 2012, 14(2): 177-186.

[42] Yang MJ, Chiu HH, Wang HM, et al. Enhancing detection of circulating tumor cells with activating KRAS oncogene in patients with colorectal Cancer by weighted chemiluminescent membrane array method [J]. Ann Surg Oncol, 2010, 17(2): 624-633.

[43] Li Y, Zhang X, Ge S, et al. Clinical significance of phenotyping and karyotyping of circulating tumor cells in patients with advanced gastric Cancer [J]. Oncotarget, 2014, 5(16): 6594-6602.

[44] Divella R, Daniele A, Abbate I, et al. The presence of clustered circulating tumor cells (CTCs) and circulating cytokines define an aggressive phenotype in metastatic colorectal Cancer [J]. Cancer Causes Control, 2014, 25(11): 1531-1541.

[45] Yu M, Bardia A, Wittner BS, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition [J]. Science, 2013, 339(6119): 580-584.

(收稿日期: 2015-04-18)

• 综 述 •

急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病研究进展

唐 雪 综述, 肖剑文 审校

(重庆医科大学附属儿童医院血液肿瘤科, 400014)

关键词: 白血病; 急性早前 T 细胞淋巴细胞; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 20. 044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)20-3027-03

急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病 (early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, ETP-ALL) 属于早期非成熟 T-ALL 的一种^[1], 约占儿童 T-ALL 的 12. 2%~13%^[2], 是儿童急性淋巴细胞白血病非常高危的一类亚型^[3], 其诱导缓解失败率、复发率及总体生存率较经典 T-ALL 差。ETP-ALL 在基因表达谱、免疫分型等方面具有特异性及诊断价值, 现综述如下。

1 临床表现

现代观点认为, 对儿童而言初诊时年龄及外周血白细胞计数等临床特点作为对进行强化疗方案的 T-ALL 患儿预后判断指标并不可靠。对既往诊断为 T-ALL 的 91 例患儿进行回顾性分析发现, 有 5 名患儿符合 ETP-ALL 的免疫学诊断, 然而这些患儿与其他 86 名经典 T-ALL 患儿在发病年龄、性别、外周血白细胞计数、中枢神经系统浸润等方面无显著差异^[1]。对

222 名既往诊断为 T-ALL 患儿进行回顾性分析发现, ETP-ALL 患儿外周血白细胞水平较经典 T-ALL 低。Ma 等^[3]分析研究发现初诊时外周血高白细胞与预后差亦无确切相关性。

2 免疫分型

原始胸腺细胞从骨髓释放后, 通过一系列分化最终成熟为 CD4⁺CD8⁺T 细胞, 其在分化最初阶段缺乏 CD4 或 CD8 表达。处于 CD4⁻CD8⁻ (Double Negative, DN) 分化阶段的胸腺细胞依据 CD25、CD44 表达情况分为 DN1 (CD44⁺CD25⁻)、DN2 (CD44⁺CD25⁺)、DN3 (CD44⁻CD25⁻)、DN4 (CD44⁻CD25⁺) 四个不同分化阶段。研究发现处于 DN1 和早期 DN2 阶段的胸腺细胞具有向髓系、树突细胞、NK 细胞分化潜能^[4]。急性早前 T 细胞淋巴细胞白血病有淋系、髓系及干细胞特点, 因此猜想导致 ETP-ALL 的肿瘤起始细胞可能起源于处于 DN1 和早期 DN2 阶段的胸腺细胞^[5]。

Coustan-Smith 等^[2]通过基因探针对 55 例新诊儿童 T-ALL 进行基因分析,发现 13 例与 ETPs 有强烈的相关性。其中 9 例有显著的独特的非成熟的免疫分型,并认为其免疫分型具有诊断价值;白血病患者缺乏 CD1a 和 CD8 表达,CD5 弱表达或者不表达,至少一个髓系或干细胞相关的抗原表达(CD13、CD33、CD34、CD117、HLA-DR 等)^[6]。见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 与 ETP-ALL 相关的基因突变

通过对 12 名儿童 ETP-ALL 进行全基因测序分析及对 52 名 ETP-ALL 和 42 名经典 T-ALL 患儿突变基因的频率分析,发现编码细胞因子受体和介导 RAS 信号传导系统等基因(NRAS、KRAS、FLT3、ILR7、JAK3、JAK1、SH2B3 和 BRAF 等)激活突变出现频率较高^[7]。除此之外,编码造血干细胞发育过程转录因子的基因(GATA3、EVT6、RUNX1、IKZF1 和 EP300 等)和编码组蛋白修复的基因(EZH2、EED、SUZ12、SETD2 和 EP300 等)的失活性突变频率在 ETP-ALL 中较高,这些基因突变谱与髓系肿瘤相似。目前这些基因与 ETP-ALL 发病机制关联的研究是有限的。

3.1 IL7R 基因突变 最近研究发现持续的 IL7R 激活突变可能是导致 ETP-ALL 的起始因素^[8-9]。Zhang 等^[7]把已在人 ETP-ALL 明确的 IL7R 突变基因序列(IL7R-241-242TC 或 IL7R-GCinsL243)用 MSCV 载体转染至从 Arf^{-/-}老鼠提取的 DN 胸腺细胞中,发现被转染的胸腺细胞分化停滞在 DN2 阶段,而该阶段细胞具有髓系和 T 淋巴分化潜能。Treonor 等^[5]发现被转染了 IL7R-241-242TC 的 MSCV 载体的胸腺细胞有内源性 Lmo2 mRNA 高表达。Treonor 等^[5]将有 Lmo2 表达的逆转录病毒载体转染至胸腺细胞,然后将被转染的胸腺细胞接种至被放射过的小鼠,将重组的初代小鼠的胸腺细胞移植至第二代小鼠。ETP-ALL 均在第二代小鼠上产生,且其白血病患者有髓系核型和 CD3 的共表达、TCR- β 链重排。也许 IL7R 基因突变通过传导信号可引起 Lmo2 表达而至细胞停止在分化成熟的 DN2 阶段。

3.2 NOTCH1 突变 NOTCH1 信号传导对双阴性和单阴性胸腺细胞的分化是必要的,其表达的增加通常在 DN2 阶段以后。NOTCH1 突变导致的结构性增加信号传导在人类经典的 T-ALL 中是多见的^[3,10],Zhang 等^[7]和 Treanor 等^[5]研究发现鼠科和人类 ETP-ALL 均缺乏 NOTCH1 活化突变。Patrick 等^[11]通过回顾性分析亦证实了 ETP-ALL 患儿较经典 T-ALL 患儿少有 NOTCH1 突变。在鼠科 ETP-ALL 中缺乏 NOTCH1 信号传导可能反应出其不依赖 NOTCH1 信号的早期的分化阶段特异性。这一特点可将 ETP-ALL 和经典的 T-ALL 区分开来。

3.3 BCL11B 基因突变 BCL11B 是胸腺细胞分化过程中的转录因子,其在胸腺细胞分化的 DN2 阶段和确保 T 细胞系不可逆分化中是必须的^[12]。在正常胸腺细胞发育过程中,通过 IL-7 信号传导负调控 BCL11B 的表达^[13]。Treonor 等^[5]通过 Western Blot 分析被 IL7R-241-242TC 或 GCinsL243 载体转染而导致的鼠科白血病的脾脏白血病患者细胞发现 BCL11B 呈低表达或没有表达。在造血干细胞有 LMO2 高表达及一例 IL7R-GCinsL243 突变而致的经典 CD4⁺CD8⁺鼠科 T-ALL 中,BCL11B 表达有显著的升高。同样的,在 Lmo2 载体介导的 ETP-ALL 脾脏白血病患者细胞其细胞核提取物未检测到 BCL11B

表达。BCL11B 表达的抑制是鼠科 ETP-ALL 的特征,也许其可以将 ETP-ALL 与经典的 ALL 区分开来。

3.4 TCR γ 链双等位基因缺失 TCR γ 链双等位基因缺失(Absence of Biallelic TCRG Deletion, ABD)是胸腺细胞发育停滞在极早期的标志,在儿童 ETP-ALL 中被认为是预后差的标志,其存在预示着对化疗药物不敏感和诱导缓解失败的高风险^[14]。Coustan-Smith 等^[2]研究发现,TCR γ 等位基因缺失在 ETP-ALL 中是很少见。然而,Gutierrez 等^[14]应用比较基因组学杂交及聚合酶链式反应发现大多数 ABD T-ALL 患儿有 ETP-ALL 基因表达,而 8 例 ABD 患儿中仅有 1 例患儿符合 ETP-ALL 的免疫分型诊断标准。这矛盾的发现也许支持一小部分 ETP-ALL 细胞也许来源于更成熟细胞^[6]。

3.5 RUNX1 基因点突变 RUNX1 在胸腺细胞双阴性阶段干扰 T 细胞发育。RUNX1 相关染色体重排和染色体数量改变常见的有 t(8,21)、inv(16)、t(12;21)、+21 等,然而既往报道的 RUNX1 点突变仅见于髓系肿瘤^[6]。近几年研究发现,RUNX1 点突变在 T-ALL 亦可见,特别是在 ETP-ALL 中^[7,15-16]。研究发现,RUNX1 突变位于 C 端一部分,其是在髓系肿瘤中通常是极少见的,因此在之前研究中少见^[17]。在 T 系肿瘤中,RUNX1 的 C 端与 ALY 相互作用,促进 RUNX1、PEBP2 β 、CBF β 、LEF1 和 ALY 形成可调节 TCR 和 MHC class I 基因转录表达的增强体。任何 RUNX1 扰动可影响该增强体稳定性,而阻断 T 细胞分化,使其具有白血病特质^[18]。

4 细胞形态学

根据 FAB 分类标准,ETP-ALL 细胞形态学主要为 L1 及 L2,与经典 T-ALL 无显著差异^[3],但 ETP-ALL 亦存在特殊细胞形态,如显著的细胞表面水泡、有关畸变的嗜酸性粒细胞的髓系异常、血小板和有核物质的吞噬现象、细胞化学的髓过氧化物酶表达等^[2]。

5 染色体核型

ETP-ALL 基因不稳定性较经典 T-ALL 有所增加^[2]。Coustan-Smith 等^[2]应用微阵列单核苷酸多态性技术对 11 例 ETP-ALL(共 17 例)和 43 例经典 T-ALL(共 122 例)进行基因损伤筛查,发现 ETP-ALL 较经典 T-ALL 有更多的 DNA 拷贝数的异常(包括基因组的获得或丢失),而且这些基因组区域跨度显著大于经典 T-ALL。Coustan-Smith 等^[2]研究发现 17 例 ETP-ALL 患儿具有高度畸变的染色体核型,其中 4 例有 13q-异常,而 116 例经典 T-ALL 中仅有 4 例有相似染色体改变,具有统计学意义。其他重要染色体改变尚未发现。

6 治疗与预后

ETP-ALL 诱导缓解失败率、复发率及整体生存率较经典 T-ALL 差。研究发现,ETP-ALL 和经典 T-ALL 患儿口服一周泼尼松后的外周血象并无显著差异,而在诱导缓解的 D15 天的骨髓和外周血的幼稚细胞有显著差异^[1]。在获得缓解后,22 名经典 T-ALL 患儿(共 82 名)发生了复发,4 名 ETP-ALL 患儿(共 5 名)发生复发,3 名 ETP-ALL 患儿经 allo-SCT 后获得了第二次缓解,异基因干细胞移植可作为 ETP-ALL 患儿第一次缓解后的一线治疗。Coustan-Smith 等^[2]通过对第一阶段诱导缓解后的 MRD 分析,发现 ETP-ALL 患儿白血病患者清除显著差于经典 T-ALL 患儿($P=0.0037$),且 MRD 水平也显著高于经典 T-ALL。ETP-ALL 患儿 10 年整体生存率为 19%,而经典 T-ALL 患儿的 10 年整体生存率为 84%。

Ruxolitinib 在体外有重要的抗 ETP-ALL 白血病效应,也许可靶向抑制癌基因转录因子具有重要的治疗意义^[11]。因 ETP-ALL 白血病停滞在 T 细胞分化早期且具有髓系分化潜能,髓系白血病化疗方案也许有治疗 T-ALL 的潜能^[3,10]。通过抑制相关基因阻止已转化的 ETPs 进入 T 细胞分化途径,从而使其对常规治疗敏感也许是其治疗选择^[2]。

综上所述,ETP-ALL 是急性淋巴细胞白血病非常高危的一类亚型,属于早期非成熟 T-ALL 的一种,其免疫分型及基因表达有一定特异性及诊断价值,其预后差,也许在获得一次缓解后及时行异基因干细胞移植可获得长期生存率。

参考文献

[1] Haydu JE, Ferrando AA. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Curr Opin Hematol*, 2013, 20(4):369-373.

[2] Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(2):147-156.

[3] Ma M, Wang X, Tang J, et al. Early T-cell precursor leukemia: a subtype of high risk childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Front Med*, 2012, 6(4):416-420.

[4] Bell JJ, Bhandoola A. The earliest thymic progenitors for T cells possess myeloid lineage potential[J]. *Nature*, 2008, 452(7188):764-767.

[5] Treanor LM, Zhou S, Janke L, et al. Interleukin-7 receptor mutants initiate early T cell precursor leukemia in murine thymocyte progenitors with multipotent potential[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(4):701-713.

[6] Mok MM, Du L, Wang CQ, et al. RUNX1 point mutations potentially identify a subset of early immature T-cell acute lymphoblastic leukaemia that May originate from differentiated T-cells[J]. *Gene*, 2014, 545(1):111-116.

[7] Zhang J, Ding L, Holmfeldt L, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Nature*, 2012, 481(7380):157-163.

[8] Shochat C, Tal N, Bandapalli OR, et al. Gain-of-function mutations in interleukin-7 receptor- α (IL7R) in childhood acute lymphoblastic leukemias[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(5):901-908.

[9] Zenatti PP, Ribeiro D, Li W, et al. Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(10):932-939.

[10] Weng AP, Ferrando AA, Lee W, et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Science*, 2004, 306(5694):269-271.

[11] Patrick K, Wade R, Goulden, et al. Outcome for children and young people with Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia treated on a contemporary protocol, UKALL 2003[J]. *Br J Haematol*, 2014, 166(3):421-424.

[12] Li L, Leid M, Rothenberg EV. An early T cell lineage commitment checkpoint dependent on the transcription factor Bcl11b[J]. *Science*, 2010, 329(5987):89-93.

[13] Ikawa T, Hirose S, Masuda K, et al. An essential developmental checkpoint for production of the T cell lineage[J]. *Science*, 2010, 329(5987):93-96.

[14] Gutierrez A, Dahlberg SE, Neuberg DS, et al. Absence of biallelic TCRgamma deletion predicts early treatment failure in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(24):3816-3823.

[15] Della Gatta G, Palomero T, Perez-Garcia A, et al. Reverse engineering of TLX oncogenic transcriptional networks identifies RUNX1 as tumor suppressor in T-ALL[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3):436-440.

[16] Grossmann V, Kern W, Harbich S, et al. Prognostic relevance of RUNX1 mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Haematologica*, 2011, 96(12):1874-1877.

[17] Taniuchi I, Osato M, Ito Y. Runx1: no longer just for leukemia[J]. *EMBO J*, 2012, 31(21):4098-4099.

[18] Howcroft TK, Weissman JD, Geron A, et al. A T lymphocyte-specific transcription complex containing RUNX1 activates MHC class I expression[J]. *J Immunol*, 2005, 174(4):2106-2115.

(收稿日期:2015-04-22)



(上接第 3017 页)

[3] 肖婷,徐超,李瑾,等. 3 种方法提取血膜疟原虫 DNA 的比较研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2014, 27(5):447-451.

[4] 罗恩杰,王继春,牟玲,等. 薄血膜及滤纸片干血滴分离疟原虫 DNA 方法的比较[J]. *中国医科大学学报*, 2001, 30(1):74-75.

[5] Strøm GE, Tellevik MG, Hanevik K, et al. Comparison of four methods for extracting DNA from dried blood on filter paper for PCR targeting the mitochondrial Plasmodium genome[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2014, 108(8):488-494.

[6] Baidjoe A, Stone W, Ploemen I, et al. Combined DNA extraction and antibody elution from filter papers for the assessment of malaria transmission intensity in epidemiological studies[J]. *Malar J*, 2013, 12(3):272.

[7] 张奎. 疟原虫镜检[M]. 上海:科学技术出版社,1957.

[8] 张兵,田斌,廖瑜,等. 巢式 PCR 在输入性疟疾诊断和分型中的应用价值[J]. *实用预防医学*, 2013, 20(2):229-231.

[9] 田斌,段绩辉,徐明忠,等. 三例输入性卵形疟的实验室诊断[J].

检验医学, 2014, 29(8):851-855.

[10] Morris U, Aydin-Schmidt B, Shakely D, et al. Rapid diagnostic tests for molecular surveillance of Plasmodium falciparum malaria -assessment of DNA extraction methods and field applicability[J]. *Malar J*, 2013, 12(1):106.

[11] 王秀珍. 斑点杂交试验诊断恶性疟:特异性、敏感性和现场适用性[J]. *国外医学:寄生虫病分册*, 1987, 9(5):221-222.

[12] 林敏,吴少庭,高世同,等. 疟原虫 DNA 模板制备用于 PCR 诊断方法的研究[J]. *中国寄生虫病防治杂志*, 1998(4):22-25.

[13] 李雨春,王善青,胡锡敏,等. 群组 PCR 策略高通量筛选疟疾患者的可行性研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2014, 27(11):1009-1011.

[14] Färnert A, Arez AP, Correia AT, et al. Sampling and storage of blood and the detection of malaria parasites by polymerase chain reaction[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1999, 93(1):50-53.

(收稿日期:2015-06-15)