

## • 论 著 •

## inv(9)血液病患者造血干细胞移植后骨髓造血恢复特征研究

张 慧<sup>1</sup>, 顾国浩<sup>1△</sup>, 吴丽丽<sup>1</sup>, 潘金兰<sup>2</sup>(1. 苏州大学附属第一医院检验科, 江苏苏州 215006; 2. 江苏省血液研究所/卫生部  
血栓与止血重点实验室, 江苏苏州 215006)

**摘要:**目的 探讨 9 号染色体倒位[inv(9)]患者在接受造血干细胞移植后中性粒细胞计数(ANC)和血小板计数(PLT)等骨髓造血恢复特征。方法 选取 2010 年 1 月至 2015 年 10 月本院确诊的 39 589 例血液病患者作为研究对象, 采用 R 显带技术、聚合酶链反应(PCR)技术和流式细胞仪检测技术进行染色体核型检查、融合基因检测和骨髓造血恢复相关指标检测。结果 inv(9)血液病患者检出 PML-RAR $\alpha$ 、BCR-ABL1、AML-ETO、EVI1、CBF $\beta$ -MYH11、MLL-AF6、AML-AF4、SET-NUM214、SIL-TALI、IgH 重排、TCR 重排和 BCL1-IgH 等多种融合基因。inv(9)患者在接受造血干细胞移植后恢复情况: ANC 在移植后 12 d 恢复至大于  $0.5 \times 10^9/L$  水平, PLT 在移植后 16 d 恢复至大于  $20 \times 10^9/L$  水平。非 inv(9)患者在接受造血干细胞移植后恢复情况: ANC 在移植后 12 d 恢复至大于  $0.5 \times 10^9/L$  水平, PLT 在移植后 13 d 恢复至大于  $20 \times 10^9/L$  水平。结论 inv(9)血液病患者和非 inv(9)血液病患者造血干细胞移植后 ANC 恢复至大于  $0.5 \times 10^9/L$  水平所需的时间几乎相等, 而 inv(9)血液病患者 PLT 恢复所需的时间比非 inv(9)血液病患者所需时间稍长。

**关键词:**9 号染色体倒位; 血液系统疾病; 融合基因; 造血干细胞移植

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.22.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)22-3128-04

**Study of characteristics of bone marrow hematopoietic recovery after accepting  
hematopoietic stem cell transplantation in patients with inv(9) blood system diseases**

ZHANG Hui<sup>1</sup>, GU Guohao<sup>1△</sup>, WU Lili<sup>1</sup>, PAN Jinlian<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215006, China;

2. Jiangsu Provincial Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and  
Hemostasis of Ministry of Public Health, Suzhou, Jiangsu 215006, China)

**Abstract: Objective** To study the characteristics of bone marrow hematopoietic recovery such as absolute neutrophil count (ANC) and platelet (PLT) after accepting hematopoietic stem cell transplantation in the patients with inv(9). **Methods** A total of 39 589 cases of definitely diagnosed hematosis in our hospital from January 2010 to October 2015 served as the research subjects. The R banding technique, polymerase chain reaction(PCR) and flow cytometry instrument were adopted to check chromosome karyotype, fusion gene and bone marrow hematopoietic recovery related indicators. **Results** PML-RAR $\alpha$ , BCR-ABL1, AML-ETO, EVI1, CBF $\beta$ -MYH11, MLL-AF6, AML-AF4, SET-NUM214, SIL-TALI, IgH rearrangement, TCR rearrangement and BCL1-IgH and other fusion gene were detected in the patients with inv(9) hematosis. The recovery situation after receiving hematopoietic stem cell transplantation in the patients with inv(9): ANC recovered to  $>0.5 \times 10^9/L$  on 12 d after transplantation, PLT recovered to  $>20 \times 10^9/L$  on 16 d after transplantation. The recovery situation after receiving hematopoietic stem cell transplantation in the patients with non-inv(9): ANC recovered to  $>0.5 \times 10^9/L$  on 12 d after transplantation, and PLT recovered to  $>20 \times 10^9/L$  on 13 d after transplantation. **Conclusion** The time achieving ANC recovery  $>0.5 \times 10^9/L$  after hematopoietic stem cell transplantation in the patients with inv(9) and without inv(9) is almost similar, while the time achieving PLT count recovery in the patients with inv(9) is slightly longer than that in the patients without inv(9).

**Key words:** inversion of chromosome 9; blood system diseases; fusion gene; hematopoietic stem cell transplantation

染色体倒位是一条染色体两处断裂后的中间片段倒置 180 度与上下两段重接形成的染色体重排<sup>[1]</sup>。倒位几乎可涉及每条染色体, 但以 9 号染色体倒位[inv(9)]最为常见, 在普通人群中的发生率为 1%~3%。有学者认为 inv(9)与不孕、先天畸形、复发性流产等有关, 但是也有学者认为 inv(9)没有遗传物质的丢失, 无病理意义<sup>[2]</sup>。有研究报道 inv(9)可导致造血干细胞移植后延迟恢复和/或不稳定的造血作用<sup>[3-5]</sup>。相反, Lee 等<sup>[6]</sup>认为 inv(9)对骨髓造血细胞恢复和重建都几乎没有影响。为明确 inv(9)对骨髓造血细胞恢复和重建是否有影响, 本研究对 inv(9)患者和非 inv(9)患者的移植情况进行了详细

的检测和记录。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2010 年 1 月至 2015 年 10 月本院血液科确诊的 39 589 例各类血液病患者作为研究对象, 其中男 20 183 例, 女 19 406 例。研究对象中有 23 例 inv(9)患者和 22 例非 inv(9)患者找到合适的配体进行了造血干细胞移植, 其中 inv(9)患者主要包括骨髓增生异常综合征(MDS), 慢性粒细胞白血病(CML), 急性淋巴细胞白血病(ALL), 急性髓细胞白血病(AML), 淋巴瘤, 多发性骨髓瘤(MM)。血液病确诊采用细胞形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学分析方法, 并依照

FAB 和 WHO2008 诊断标准进行分型。

**1.2 方法** 取患者肝素抗凝外周血 5 mL, 培养 72 h 后常规制备染色体, 采用 R 显带技术, 每例计数至少 10~20 个分裂象。所有患者染色体核型按照人类细胞遗传学国际命名体制 (ISCN 2013) 进行描述。采用 PCR 技术对研究对象进行 PML-RAR $\alpha$ 、BCR-ABL1、AML-ETO、EVI1、CBF $\beta$ -MYH11、MLL-AF6、AML-AF4、SET-NUM214、SIL-TALI、IgH、TCR 重排及 BCL1-IgH 等融合基因检测。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS20.0 软件进行统计学处理, 记录接受造血干细胞移植后 ANC>0.5×10<sup>9</sup>/L 和 PLT>20×10<sup>9</sup>/L 的平均时间。

## 2 结 果

**2.1 inv(9)与融合基因检测结果** 39 589 例研究对象中检出 inv(9)571 例, 检出率为 1.44%。检测到的融合基因类型主要有: PML-RAR $\alpha$ 、BCR-ABL1、AML-ETO、EVI1、CBF $\beta$ -MYH11、MLL-AF6、AML-AF4、SET-NUM214、SIL-TALI、IgH 重排、TCR 重排和 BCL1-IgH。inv(9)患者中, 91 例未检测到常见的 43 种白血病融合基因转录本; 64 例检测到 PML-RAR $\alpha$  融合基因; 61 例检测到 BCR-ABL1 融合基因; 19 例检测

到 AML-ETO 融合基因, 其中 11 例 AML-ETO、WT1、EVI1 均为阳性, 5 例 AML-ETO、WT1 均为阳性; 5 例检测到 CBF $\beta$ -MYH11 融合基因; 3 例检测到 MLL-AF6 融合基因; 4 例检测到 AML-AF4 融合基因; 2 例检测到 BCL1-IgH、IgH 重排; 2 例检测到 SIL-TALI 融合基因; 1 例检测到 SET-NUM214 融合基因。

**2.2 inv(9)和非 inv(9)患者造血干细胞移植情况比较** 接受移植的 23 例 inv(9)患者和 22 例非 inv(9)患者的病例信息包括患者的性别、年龄、疾病诊断、染色体核型、融合基因、人类白细胞抗原(HLA)匹配情况、中性粒细胞计数(ANC)和血小板计数(PLT)恢复时间。inv(9)患者在接受造血干细胞移植后, ANC 恢复至大于 0.5×10<sup>9</sup>/L 所需的平均时间是移植后 12 d (范围 7~19 d), PLT 恢复至大于 20×10<sup>9</sup>/L 的平均时间是移植后 16 d(范围 7~33 d)。非 inv(9)患者在接受造血干细胞移植后, ANC 恢复至大于 0.5×10<sup>9</sup>/L 的平均时间是移植后 12 d (范围 7~27 d), PLT 恢复至大于 20×10<sup>9</sup>/L 的平均天数是移植后 13 d(范围 7~30 d)。inv(9)患者和非 inv(9)患者 ANC 恢复时间相似, 但是 inv(9)患者 PLT 恢复时间略高于非 inv(9)患者。见表 1、2。

表 1 inv(9)患者造血干细胞移植情况

序号	性别	年龄(岁)	诊断	染色体核型	HLA 匹配情况	ANC 恢复时间(d)	PLT 恢复时间(d)	存活情况
1	女	41	MDS	46,XX,inv(9)(p11q13)	同胞,完全匹配,B+供 B+	14	24	—
2	男	34	MDS	46,XY,inv(9)	男供男,完全相合,A+供 B+	11	22	无病生存 3 年,存活
3	女	54	CML	46,XX,inv(9)(p11q13)	胞兄,全相合	11	15	CR
4	男	40	AML-M5	46,XY,inv(9)	女供男,全相合,A+供 B+	13	14	无病生存 16 年,存活
5	女	16	ALL	46,XX,inv(9)(p11q12)	半相合,O+供 AB+	15	22	无病生存 6 年,存活
6	女	32	AML	46,XX,inv(9)(p11q13)	自体造血干细胞移植	10	7	无病生存 4 年,存活
7	男	55	AML-M5	46,XX,inv(9)(p11q13)	胞弟,全相合	11	15	CR
8	男	23	AML-M2	46,XX,inv(9)(p11q12)	男供女,全相合	6	16	无病生存 3 年,存活
9	男	49	ALL	46,XY,inv(9)	全相合,男供男,A+供 O+	10	10	—
10	男	11	AML	46,XY,inv(9) 46,XX,der(9)inv(9)(p12q12)t(9;22)(q34;	母供,子,半相合 AB+供 A+	11	13	—
11	女	42	CML	q11),der(22)t(9;22)/46,XX,inv(9) (p12q12)	全相合	13	14	复发
12	男	35	AML-M2	46,XX,inv(9)(p11q13)	全相合	14	15	复发
13	男	18	ALL	46,XY,inv(9)(p11q12)	女供男,全相合,B+供 AB+	11	12	无病生存 3 年,存活
14	女	51	淋巴瘤	46,XX,inv(9)(p11q13)	自体造血干细胞移植	9	14	CR
15	男	39	ALL	46,XY,inv(9)(p11q12)	自体造血干细胞移植	19	33	CR
16	男	65	AML	46,XY,inv(9)(p11q13),der(15)t(1;15)(q11; p11)	子供父,半相合	5	10	无病生存 1 年,存活
17	女	36	ALL	46,XX,inv(9)	父供女,半相合,AB+供 AB+	10	11	无病生存 7 年,存活
18	男	47	AML-M2	46,XY,inv(9)	同胞,HLA 高分辨 6/10 相合	15	27	CR
19	男	66	淋巴瘤	46,XY,inv(9)(p12q12)	男供女,全相合,O+供 O+	13	22	无病生存 3 年,存活
20	男	26	ALL	46,XX,inv(9)	全相合	11	12	复发
21	男	17	CML	46,XY,inv(9)	完全匹配	—	—	无病生存 6 年, 死于 3 年前
22	女	25	AML-M1	46,XY,inv(9)	女供母单倍体造血干细胞移植	11	11	CR
23	男	53	MM	46,XY,inv(9)	自体造血干细胞移植	—	—	CR

注: — 表示未查到信息; CR 表示缓解。

表 2 非 inv(9)患者造血干细胞移植情况

序号	性别	年龄(岁)	诊断	HLA 匹配情况	基因突变	ANC 恢复时间(天)	PLT 恢复时间(天)	存活情况
1	男	41	AML-M2	同胞,完全匹配,AB+供 AB+	未突变	11	12	CR
2	女	36	淋巴瘤	自体回输	—	8	10	无病生存 16 个月,存活
3	男	25	ALL	男供男,全相合,B+供 B+	未突变	12	13	CR
4	女	35	AML-M6	女供男,B+供 AB+,半相合	—	—	—	—
5	男	33	ALL	同卵双生,全相合	—	11	22	无病生存 5 年,存活
6	女	55	MM	自体移植	—	8	8	无病生存 13 个月,存活
7	女	32	ALL	同胞,匹配,O+供 B+	—	15	12	无病生存 2 年,存活
8	女	48	AML-M5	男供女,全相合,A+供 B+	—	—	—	—
9	男	12	ALL	父供子,A+供 AB+	未突变	13	10	CR
10	男	32	AML-M4	男供男,全相合,AB+供 A+	未突变	11	13	CR
11	女	49	淋巴瘤	—	—	—	—	—
12	女	64	AML-M2	儿供母,半相合,O+供 B+	—	8	7	无病生存 26 个月,存活
13	男	47	MM	自体移植	—	12	12	无病生存 3 年,存活
14	女	55	AA	完全匹配	—	27	30	无病生存 4 年,存活
15	男	35	AML	同胞全相合	—	12	12	无病生存 18 个月,存活
16	女	37	AML-M4	同胞全相合	FLT3-ITD 突变	12	11	无病生存 19 个月,存活
17	男	19	AML	男供男,完全匹配,A+供 O+	未突变	11	13	CR
18	女	60	AML-M5	女供母,半相合	—	7	7	无病生存 20 个月,存活
19	女	44	ALL	男供女,全相合,O+供 O+	未突变	22	27	CR
20	女	35	ALL	半相合	BCR-ABL elav2	—	—	CR
21	男	49	AML-M5	同胞,完全匹配	FLT3-ITD 突变	11	9	复发
22	男	34	MDS	女供男,全相合 A+供 A+	—	9	12	CR

注:—表示未查到信息;CR 表示缓解。

### 3 讨 论

有研究报道一些恶性肿瘤可以发生在 9 号染色体短臂近端<sup>[6]</sup>。许多学者也报道了 inv(9)与孕妇产前诊断、遗传效应、辅助生殖治疗和不孕不育的关系分析<sup>[7-9]</sup>。因此,探讨 inv(9)在血液病中的发病机制,分析 inv(9)患者造血干细胞移植情况具有重要的临床意义。

本研究中 inv(9)的检出率为 1.44%,与文献报道一致<sup>[10]</sup>。有研究报道 inv(9)有潜在损害造血干细胞的可能<sup>[3-4]</sup>,也有研究报道 inv(9)患者接受移植后血液学指标得到恢复<sup>[10-11]</sup>。因此,关于 inv(9)是否会延迟骨髓移植后的恢复或对造血干细胞重建造成损害仍具有争议,没有完全一致的结论。本研究结果显示:inv(9)和非 inv(9)患者在接受造血干细胞移植后,并没有影响骨髓移植后的恢复情况,也没有对造血干细胞重建造成损害;但 inv(9)患者移植后粒系恢复重建的时间比血小板恢复重建的时间短。本研究中,inv(9)患者和非 inv(9)患者 ANC 恢复到正常水平的平均天数相似,而 inv(9)患者 PLT 恢复正常的时间比非 inv(9)患者稍长一些,这可能与 inv(9)有关。inv(9)虽然没有遗传物质的丢失,但基因的排列顺序发生变化,就有可能引起不同程度的位置效应,倒位还可引起染色体某个阶段发生缺失或重组,破坏了基因间的平衡。另外,断裂点可能发生基因突变及断裂点的周围发生细微丢失,也会引起不同程度的遗传效应<sup>[12]</sup>。

综上所述,inv(9)对造血干细胞移植恢复没有影响,不会延迟造血干细胞移植后的恢复,但 inv(9)患者接受移植后血小板恢复的时间比非 inv(9)患者稍微长。本研究组将会进一步

完善 inv(9)患者移植的详细信息,为 inv(9)患者治疗和预后判断提供一些参考。

### 参考文献

- [1] 孙健,张颖,肖瑛,等.9号染色体两种臂间倒位的遗传效应[J].新疆医学,2014,44(2):55-56.
- [2] 张萍,白凤霞,陈景玉.16例9号染色体臂间倒位的遗传学分析[J].检验医学与临床,2012,(22):2801-2801.
- [3] Keung YK,Knovich MA,Powell BL,et al.Constitutional pericentric inversion of chromosome 9 and acute leukemia [J].Cancer Genet Cytogenet,2003,145(1):82-5.
- [4] Imashuku S,Naya M,An B,et al.Constitutional pericentric inversion of chromosome 9 and haemopoietic stem cell transplantation:delayed engraftment[J].Br J Haematol,2002,118(4):1195-1196.
- [5] Keung YK,Pettenati M,Hurd DD,et al.Allogenic marrow grafts from unrelated donors with congenital pericentric inversion of chromosome 9[J].Br J Haematol,2002,116(1):237-238.
- [6] Pellet P,Hillion J,Carroll AJ,et al.Heterogeneity of the breakpoint localization in malignant cells with a 9p11 chromosomal abnormality[J].Leukemia,1991,5(6):468-472.
- [7] 李东明,陶春凤,黄海峰,等.inv(9)(p22q34)孕妇产前诊断及遗传效应分析[J].中国优生与遗传杂志,2015,21(10):53-53.

(下转第 3133 页)

Murphy 等<sup>[3]</sup>在 50 例 EA 患者中发现 NOG 基因编码域一个同义突变的 SNP(468, C-T)存在于其中一人。Celli 等<sup>[4]</sup>在研究 ODED 综合征时发现在 2p23-p24 区域的基因的单倍剂量不足与 EA 相关。Shaw-Smith 等<sup>[5]</sup>在 VACTERL 联合征的研究中发现染色体 20q13.33 的一个新缺失,位于该缺失区域的 GTPBP5 基因可能是 EA 的候选致病基因,且位于染色体 16q24.1 的 FOX 基因簇(由 FOXF1, MTHFSD, FOXC2 和 FOXL1 组成)的微小缺失与 VACTERL 相关。Winberg 等<sup>[6]</sup>研究发现 VACTERL 患儿的 FANCB 基因存在一个杂合突变、(9;18)(p24;q12)不平衡易位及 CHD7 的一个致病性突变,这些突变可能与 EA 的发病相关。

本研究利用的 WES 技术是一种研究人类疾病致病基因的技术,与传统全基因组测序技术相比,其具有更深的覆盖度、更高的数据准确性及更低的成本优势,可更加经济、高效地发现与疾病或表型相关的个体遗传变异及罕见突变。WES 已被广泛用于罕见病的致病基因的研究,如不明原因结直肠腺瘤性息肉病的新的候选致病基因 PIEZO1 和 ZSWIM7<sup>[7]</sup>、白塞病的罕见遗传性变异基因 NEIL1 和 LIMK2<sup>[8]</sup>、Axenfeld-Rieger 综合征的家族性杂合错义突变基因 PRDM5<sup>[9]</sup>、Kabuki 综合征的致病基因 MLL2<sup>[10]</sup>和逆向性痤疮的致病基因 NCSTN<sup>[11]</sup>等。因此,WES 是鉴定孟德尔疾病或罕见病的致病基因最有效的策略,可准确地找到罕见病的致病基因<sup>[12-13]</sup>。

本研究运用 WES 研究 EA 患儿的致病基因,获得了高质量的测序数据,其结果显示 EA 患儿基因中存在大量的 SNP,分布在外显子区的 SNP 占 1.39%,对外显子 SNP 位点进行筛选注释发现多个位点发生 SNV。SNV 的发生可能影响体内各种蛋白质的表达及其功能,在 EA 的致病机制中可能发挥重要作用,至于具体的作用机制有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Sudjud R, Bisri T, Boom CE. Anesthetic Consideration on Neonatal Patient with Esophageal Atresia[J]. Open J Anesthesiol, 2016, 6(6):128-136.
- [2] Voigt C, Megarbane A, Neveling K, et al. Oto-facial syndrome and esophageal atresia, intellectual disability and zygomatic anomalies-expanding the phenotypes associated with EFTUD2 mutations[J]. Orphanet J Rare Dis, 2013, 8(1):110-110.
- [3] Murphy AJ, Li YA, Pietsch JB, et al. Mutational analysis of NOG in esophageal atresia and tracheoesophageal fistula patients[J]. Pediatr Surg Int, 2012, 28(4):335-340.
- [4] Celli J, Beusekom V, Hennekam R, et al. Familial syndromic esophageal atresia maps to 2p23-p24[J]. Am J Hum Genet, 2000, 66(2):436-444.
- [5] Shaw-Smith S, Charles. Genetic factors in esophageal atresia, tracheo-esophageal fistula and the VACTERL association: roles for FOXF1 and the 16q24.1 Fox transcription factor gene cluster, and review of the literature[J]. Eur J Med Genet, 2010, 53(1):6-13.
- [6] Winberg J, Gustavsson P, Papadogiannakis NA, et al. Mutation screening and array comparative genomic hybridization using a 180K oligonucleotide array in VACTERL association[J]. PLoS One, 2014, 9(1):e85313.
- [7] Spier I, Kerick M, Drichel D, et al. Exome sequencing identifies potential novel candidate genes in patients with unexplained colorectal adenomatous polyposis[J]. Fam Cancer, 2016, 15(2):281-288.
- [8] Ognenovski M, Renauer P, Koetter I, et al. Whole exome sequencing identifies rare protein-coding variants in behcet's disease[J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(10):6710.
- [9] Micheal S, Siddiqui SN, Zafar SN, et al. Whole exome sequencing identifies a heterozygous missense variant in the PRDM5 gene in a family with Axenfeld-Rieger syndrome[J]. Neurogenetics, 2016, 17(1):17-23.
- [10] Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome[J]. Nat Genet, 2010, 42(9):785-790.
- [11] Liu Y, Gao M, Lv YM, et al. Confirmation by exome sequencing of the pathogenic role of NCSTN mutations in acne inversa (hidradenitis suppurativa)[J]. J Invest Dermatol, 2011, 131(7):1570-1572.
- [12] Yang YP, Muzny DM, Reid JG, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of mendelian disorders[J]. N Engl J Med, 2013, 369(16):1502-1511.
- [13] Yang YP, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing[J]. JAMA, 2014, 312(18):1870-1879.

(收稿日期:2017-03-18 修回日期:2017-07-07)

(上接第 3130 页)

- [8] Gürel SA. Prenatal diagnosis of congenital hallux varus deformity associated with pericentric inversion of chromosome 9[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2015, 41(4):628-630.
- [9] ipek AJ, Panczak A, Mihalová R, et al. Pericentric Inversion of human chromosome 9 epidemiology study in czech males and females[J]. Folia Biol, 2015, 61(4):140-146.
- [10] Lee SG, Park TS, Lim G, et al. Constitutional pericentric inversion 9 and hematological disorders:a Korean tertiary

institution's experience over eight years. [J]. Ann Clin Lab Sci, 2010, 40(3):273-7.

- [11] Wei W, Ali S, Tang Z, et al. Constitutional pericentric inversion of chromosome 9 has no impact on survival in chronic myelogenous leukemia[J]. Ann Hematol, 2016, 95(4):1-3.
- [12] 侯红瑛,李小毛,范建辉,等.习惯性流产的细胞遗传学分析[J].中山大学学报(医学科学版),2000,21(5):397-399.

(收稿日期:2017-03-16 修回日期:2017-07-05)