

• 论 著 •

RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性急性髓系白血病骨髓
形态学特点分析*刘梦娜, 王洪玲, 廖焕金, 李 莉, 白 萍[△]

上海交通大学医学院附属第一人民医院检验医学中心, 上海 200080

摘要:目的 探讨 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性急性髓系白血病(AML)骨髓形态学特点。方法 选取 2017 年 1 月至 2023 年 1 月该院初诊的 20 例 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 病例作为 A 组, 20 例融合基因阴性的 AML 病例为 B 组, 24 例 PML-RARA 融合基因阳性 AML 病例为 C 组, 对骨髓形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学检查进行回顾性分析, 同时结合国内外文献分析类似病例骨髓细胞形态学特点。结果 A 组骨髓中出现不同程度增多的早幼粒细胞, 早幼粒细胞数目与 B 组相比, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与 C 组相比差异亦有统计学意义($P < 0.001$)。A 组部分早幼粒细胞存在形态异常且 A 组融合基因的表达量与骨髓早幼粒细胞数目呈正相关($r = 0.478, P = 0.039$)。A 组 CD56、CD19 表达及 c-Kit 突变情况明显高于 B 组($P < 0.05$), A、B 两组 1 个疗程化疗缓解情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。A 组易出现 CD56 和 CD19 同时表达, 易伴随性染色体的缺失。结论 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 在骨髓形态学、免疫学、细胞遗传学和分子生物学方面有其独特的特点。骨髓中粒细胞系统易见不同程度的病态造血, 变异性大, 早幼粒细胞数目的增多及形态异常亦可作为 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓形态学特点之一。

关键词: RUNX1-RUNX1T1; 融合基因; 急性髓系白血病; 骨髓形态学

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.007

中图法分类号: R446.6; R733.7

文章编号: 1673-4130(2024)17-2081-06

文献标志码: A

Analysis of bone marrow morphological characteristics in acute myeloid leukemia
with positive RUNX1-RUNX1T1 fusion gene*LIU Mengna, WANG Hongling, LIAO Huanjin, LI Li, BAI Ping[△]Department of Laboratory Medicine, Shanghai General Hospital, School of Medicine,
Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

Abstract: **Objective** To investigate the morphological characteristics of bone marrow in RUNX1-RUNX1T1 fusion gene-positive AML. **Methods** From January 2017 to January 2023, 20 cases of RUNX1-RUNX1T1 fusion gene-positive AML patients newly diagnosed in this hospital were selected as group A, 20 cases of AML patients without fusion gene were selected as group B, and 24 cases of PML-RARA fusion gene-positive AML patients were selected as group C. Results of bone marrow morphology, immunology, cytogenetics and molecular biology were analyzed retrospectively. The morphological characteristics in similar cases combined with domestic and foreign literature were summarized. **Results** The number of promyelocytes in group A increased in different degrees, the difference was statistically significant compared with group B ($P < 0.05$), and the difference was also statistically significant compared with group C ($P < 0.001$). In group A, some promyelocytes had abnormal morphology, and the mRNA level of fusion gene was positively correlated with the number of promyelocytes ($r = 0.478, P = 0.039$). Patients with expressions of CD56, CD19 and c-Kit mutation in group A was much more than that in group B ($P < 0.05$). No significant difference was detected in remission rate after the first course of chemotherapy between group A and group B ($P > 0.05$). Besides, the simultaneous expression of CD56 and CD19 in group A was easy to accompany the loss of sex chromosome. **Conclusion** AML with positive RUNX1-RUNX1T1 fusion gene could be identified with bone marrow morphology, immunology, cytogenetics and molecular biology. Granulocyte in the bone marrow is prone to different degrees of pathological hematopoiesis with great variability. The increased number and abnormal morphology of promyelocytes in bone marrow may be one of the morphologic features of AML with positive RUNX1-

* 基金项目: 上海市“科技创新行动计划”启明星项目(22YF1435600)。

作者简介: 刘梦娜, 女, 检验医师, 主要从事血液病形态学诊断及研究。 [△] 通信作者, E-mail: baipingxx@126.com。

RUNX1T1 fusion gene.

Key words: RUNX1-RUNX1T1; fusion gene; acute myeloid leukemia; bone marrow morphology

伴 t(8,21)(q22;q22.1)染色体易位的急性髓系白血病(AML)可产生特异性的 RUNX1-RUNX1T1(即 AML1-ETO)融合基因,其占 AML 的 5%~12%。1973 年该易位首次由 ROWLEY 等^[1]提出,2008 年 WHO 分类将这一类型白血病归入伴有重现性遗传学异常 AML,定义为预后良好组,而也有研究表明其预后情况不一^[2-5]。因此该类型白血病的早期诊断对患者的治疗尤为重要。目前研究认为融合基因的表达与形态学密切相关,形态学特征可预示相应的遗传学改变,但实际工作中,RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学特点不尽相同,部分病例易与其他血液病混淆,尤其在早幼粒细胞增多并伴有异常早幼粒细胞出现时,极难与急性早幼粒细胞白血病相鉴别,王洪玲等^[6]报道过 1 例伴异常早幼粒样细胞增多的 RUNX1-RUNX1T1 融合阳性 AML。目前 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学多见于个案报道,而病例数较多的有关该基因形态学特点的研究较少,本研究收集 20 例本院初诊为 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 患者的临床资料,主要探讨该类疾病骨髓形态学特点,以期积累更多的 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学诊断经验,为形态学工作者提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2023 年 1 月在本院初诊为 AML 伴 t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1 20 例患者作为 A 组,20 例融合基因阴性的 AML 患者作为 B 组,24 例 PML-RARA 融合基因阳性 AML 患者作为 C 组。该研究经本院伦理委员会批准并豁免知情同意。

1.2 仪器与试剂 Navios 多色流式细胞仪及配套试剂(美国 Beckman-Coulter 公司),Ikaros 核型分析系统(德国 Metasystems)。Wright-Giemsa 染液(珠海贝索生物技术有限公司),CX33 光学显微镜(日本 Olympus 公司),RNA 提取试剂盒、DNA 抽提试剂盒(江苏康为世纪生物科技公司),逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司),56 种融合基因筛查试剂盒(上海睿昂基因科技公司),骨髓染色体培养基(上海乐辰生物科技公司)。

1.3 方法

1.3.1 骨髓细胞形态学检查 于髂后上棘抽取骨髓液 0.2 mL 先涂片 5~8 张用于形态学检查。选取 2 张完全干燥、骨髓小粒丰富,对涂片良好的标本进行 Wright-Giemsa 染色,然后采用 CX33 光学显微镜观察细胞,低倍镜(×10)下计数全片巨核细胞数,高倍镜(×40)下观察骨髓增生程度,在分布均匀处通过油镜(×100)计数 200 个有核细胞,观察细胞形态,计数各类细胞的构成比。形态学分型标准采用 FAB 分型

标准。细胞化学染色采用过氧化物酶(POX)染色,计数 100 个原始细胞中阳性细胞数,计算阳性率。

1.3.2 融合基因检测 留取患者 EDTA-K₂ 抗凝骨髓 2~4 mL。提取 mRNA 后采用 PCR 法筛查 AML 相关 56 种融合基因,包括 RUNX1-RUNX1T1、PML-RARa、BCR-ABL1、CBF-MYH11 等,以 Ct 值<33 判为阳性。采用实时荧光定量 PCR 检测 RUNX1-RUNX1T1 融合基因相对表达量。

1.3.3 免疫分型检查 使用 Navios 多色流式细胞仪检测,荧光抗体标记包括 FITC、PE、PerCP-Cy5.5、PECY7、APC、APC-H7、V450、PB、BV421、V500,用于分析的抗体包括 CD34、CD117、CD13、CD33、HLA-DR、CD38、CD56、CD123、CD15、CD64、CD36、CD11b、CD19、cCD79b、CD10、CD20、CD5、CD2、CD7、cCD3、CD4、CD8、CD16、MPO 等。

1.3.4 染色体核型分析 留取患者肝素抗凝骨髓细胞 2~4 mL,短期培养法(RPMI 1640 培养液,含 20% 小牛血清),采用 G 显带技术进行核型分析(Ikaros 核型分析系统),染色体核型描述参照《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN,2016)》。

1.3.5 二代测序(NGS) 留取患者 EDTA-K₂ 抗凝骨髓 2~4 mL,采用磁珠法提取 DNA,illumina 测序平台进行测序,测序后进行生物信息学分析,确定突变位点,包括 ASXL1、c-Kit、FLT3、DNMT3A 等。

1.3.6 治疗及疗效评价 诱导治疗主要采用 IA 方案(去甲氧柔红霉素+阿糖胞苷)化疗或 DA 方案(柔红霉素+阿糖胞苷)化疗。缓解(CR)标准:骨髓原始细胞<5%,形态学完全缓解。

1.3.7 质量控制 所有入组患者骨髓细胞分类均由从事细胞形态工作 5 年以上的 3 位专业人员完成,取平均值作为最终计数。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,计数资料采用 n(%)表示,计量资料以中位数表示,非正态分布的数据差异采用两独立样本 Mann-Whitney U 检验,相关性采用 Pearson 或 Spearman 相关性分析,组间差异采用 Fisher 确切概率法。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例基本情况 A 组病例中,男性 15 例,占 75.0%,中位发病年龄 34.0 岁;女性 5 例,占 25.0%,中位发病年龄 43.0 岁。男性多于女性。其中形态学诊断为 M2 或 M4 有 3 例(占 15.0%),M2 有 15 例(占 75.0%),M4 有 2 例(占 10.0%)。融合基因相对表达量在 52.8%~604.6%。B 组病例中,男性 10 例,占 50.0%,中位发病年龄 59.0 岁;女性 10 例,占 50.0%,中位发病年龄 57.5 岁,其中形态学诊断为

M2 或 M4 有 2 例(占 10.0%),M2 有 8 例(占 40.0%),M4 有 10 例(占 50.0%)。C 组病例中,男性 8 例,占 33.3%,中位发病年龄 36.0 岁;女性 16 例,占 66.7%,中位发病年龄 44.5 岁,形态学诊断均为 M3。

2.2 骨髓细胞形态学 A 组中 2 例增生极度活跃,13 例增生明显活跃,4 例增生活跃,1 例较增生,POX 染色阳性率在 73.0%~100.0%。本研究中 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学具备以下特点:(1)原始细胞的细胞核大多不规则,凹陷处可见淡染区;(2)20 例病例中,骨髓早幼粒细胞增多($\geq 15.0\%$)的病例有 7 例,占 35.0%,且部分可见不同占比的异常早幼粒形态细胞,该类细胞胞体大小不一,部分可见瘤状突起,细胞质颗粒增多、增粗,内外浆,Auer 小体可见,胞核不规则、折叠、扭曲、凹陷可见,部分呈“臀样”核、“蝴蝶样”核,核染色质较细致,核仁隐显;(3)20 例病例中,有 7 例未见到异常中幼粒细胞,其余 13 例异常中幼粒细胞占比在 1.0%~5.0%。见表 1 和图 1A~D。

B 组中骨髓增生极度活跃 6 例,增生明显活跃 6 例,增生活跃 7 例,增生较减低 1 例,POX 染色阳性率在 5.0%~99.0%。(1)骨髓中原、幼细胞胞体圆或类圆,胞核较规则,染色质较细致,核仁隐显。(2)早幼粒细胞占比大于 15%有 3 例。B 组骨髓形态学具体情况见表 2 和图 1E。

C 组中骨髓增生极度活跃 8 例,增生明显活跃 8 例,增生活跃 3 例,较增生 3 例,增生减低 2 例。POX 染色阳性率在 92.0%~100.0%。(1)早幼粒细胞占比 $\geq 15.0\%$ 的病例占 100.0%,且大部分为异常早幼粒细胞,该类细胞具备以上 A 组中描述的异常早幼粒细胞特点,其中“柴捆状”Auer 小体较 A 组病例更易见。骨髓形态学具体情况见表 3 和图 1F。

本研究中的细胞占比,除 POX 染色为占骨髓白血病性细胞的百分比,其余均为占骨髓有核细胞的百分比。

表 1 20 例 A 组病例骨髓形态学情况(%)					
编号	POX 阳性	原始细胞占比	早幼粒细胞占比	异常中幼粒细胞占比	融合基因相对表达量
1	73.0	28.0	11.0	0	402.6
2	98.0	35.0	12.0	0	406.8
3	100.0	43.5	13.0	2.0	133.7
4	100.0	61.0	4.5	0	142.1
5	99.0	36.5	17.5	2.0	424.9
6	98.0	44.0	5.0	1.0	52.8
7	90.0	7.5	44.0	4.0	110.1
8	100.0	36.0	10.5	2.0	—
9	100.0	21.0	20.0	5.0	273.0
10	100.0	60.0	19.0	0	236.5
11	99.0	41.0	11.0	1.0	488.2
12	100.0	33.0	13.0	2.0	246.7

续表 1 20 例 A 组病例骨髓形态学情况(%)					
编号	POX 阳性	原始细胞占比	早幼粒细胞占比	异常中幼粒细胞占比	融合基因相对表达量
13	98.0	47.0	14.0	1.0	178.2
14	95.0	28.0	16.0	2.0	349.5
15	100.0	64.5	10.0	1.0	69.6
16	100.0	55.5	7.0	1.0	103.6
17	98.0	54.5	21.5	1.0	533.5
18	92.0	88.0	1.0	0	177.6
19	85.0	67.5	14.0	0	218.2
20	98.0	47.0	38.0	0	604.6

注:—表示未检测。

表 2 20 例 B 组骨髓形态学情况(%)			
编号	POX 阳性	原始细胞占比	早幼粒细胞占比
1	95.0	42.0	9.0
2	99.0	65.0	1.0
3	5.0	59.0	17.0
4	97.0	35.5	0
5	98.0	71.0	0
6	98.0	67.0	1.5
7	80.0	65.5	2.0
8	55.0	55.0	38.5
9	55.0	58.5	8.5
10	95.0	43.0	7.5
11	95.0	20.0	4.0
12	99.0	20.0	6.0
13	20.0	71.5	3.0
14	15.0	31.0	6.0
15	97.0	52.0	28.0
16	98.0	83.0	2.0
17	44.0	34.0	4.0
18	20.0	43.0	2.0
19	8.0	22.0	3.0
20	50.0	28.0	11.0

表 3 24 例 C 组骨髓形态学情况(%)			
编号	POX 阳性	原始细胞占比	早幼粒细胞占比
1	92.0	21.0	20.0
2	100.0	0	69.5
3	100.0	1.5	61.0
4	100.0	4.0	38.0
5	100.0	6.0	75.0
6	98.0	0	69.0
7	98.0	5.0	49.0
8	100.0	1.0	60.0
9	100.0	0	98.5
10	100.0	11.5	79.5
11	99.0	33.0	30.0
12	100.0	1.0	73.0

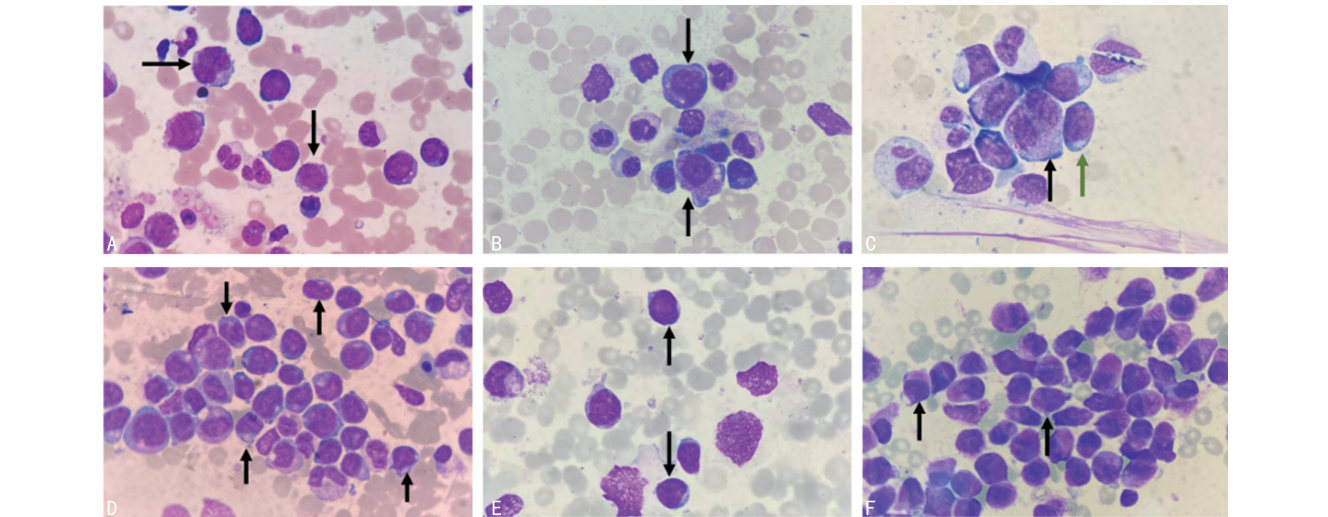
续表 3 24 例 C 组骨髓形态学情况(%)			
编号	POX 阳性	原始细胞占比	早幼粒细胞占比
13	100.0	12.0	70.0
14	100.0	0.5	93.0
15	100.0	14.5	67.5
16	100.0	2.0	47.0
17	100.0	4.0	57.0
18	100.0	1.0	80.0
19	100.0	1.0	15.0
20	100.0	1.5	64.0
21	100.0	0	74.0
22	100.0	0	91.5
23	100.0	13.0	75.0
24	100.0	8.0	79.0

2.3 A 组分别与 B 组和 C 组骨髓早幼粒细胞数目比较 将 A 组与 B 组早幼粒细胞数目比较,差异有统计学意义($P=0.002$),说明骨髓早幼粒细胞数目增多可能是 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学特点之一。A 组与 C 组早幼粒细胞数目比较,差异有统计学意义($P<0.001$),说明 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓早幼粒细胞数目增多,但与 AML-M3 的早幼粒细胞数目相比仍有明显差异。

2.4 A 组骨髓 RUNX1-RUNX1T1 融合基因相对表达量与原始细胞、早幼粒细胞数目的相关性分析 RUNX1-RUNX1T1 融合基因的表达会影响细胞的分化,已作为微小残留病灶用于监测疾病的复发及预

后。本研究结果发现,A 组病例中,骨髓出现不同程度的早幼粒细胞数目增多,为进一步探究其可能的分子机制,采用 Spearman 法统计发现,19 例 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性病例(A 组中有 1 例初诊未测融合基因表达量,该数据剔除)中 RUNX1-RUNX1T1 融合基因的相对表达量与骨髓早幼粒细胞的数目呈正相关($r=0.478, P=0.039$)。19 例 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性病例中 RUNX1-RUNX1T1 融合基因的相对表达量与原始细胞数目差异无统计学意义($P=0.423$),原始细胞和早幼粒细胞数目总和的相关性分析结果显示无相关性。

2.5 A 组与 B 组流式细胞免疫表型分析 A 组有 3 例未查见免疫表型结果,其余 17 例患者均表达髓系标记 CD34、CD38、HLA-DR、CD33、CD117、MPO, 94.1%(16/17)患者表达 CD56,70.6%(12/17)患者表达 CD19,64.7%(11/17)患者同时表达 CD56 和 CD19,部分患者除表达髓系原始细胞标记外,还表达髓系成熟细胞标记 CD15、CD64,个别表达 CD4、CD7、CD123、TDT、CD79a,表达组合不定;B 组均表达髓系标记 CD34、CD117、CD13、CD33,20.0%(4/20)患者表达 CD56,20.0%(4/20)患者表达 CD19,5.0%(1/20)患者同时表达 CD56 和 CD19,个别表达 CD15、CD64、CD4、CD123、CD7,表达组合不定。CD56、CD19 在 A 组和 B 组中表达差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。



注:A 中箭头所示为“蝴蝶样”核异常早幼粒细胞;B 中箭头所示为细胞质颗粒增多、增粗,区分内外浆的异常早幼粒细胞;C 中黑色箭头所示为畸形异常早幼粒细胞,绿色箭头所示为核周淡染,带凹陷的原始细胞;D 为细胞分化不好,以原始细胞增生为主的 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓涂片,箭头所示为核周淡染,带凹陷的原始细胞;E 为 B 组 AML 骨髓涂片,箭头所指为原始细胞,可见细胞核较规则;F 中大部分为异常早幼粒细胞的骨髓涂片,箭头所指为典型的细胞质颗粒增多、增粗,有“柴捆状”Auer 小体堆积;A 组(A~D)、B 组(E)、C 组(F)。

图 1 骨髓瑞氏染色典型形态学检查结果($\times 100$)

2.6 A 组与 B 组染色体核型分析 本研究中 A 组染色体仅结构异常的有 4 例,结构和数目均异常的有 13 例(其中 11 例数目异常为 Y 染色体缺失,1 例为 X 染

色体缺失),2 例正常,1 例未做;B 组 3 例结构和数目均异常,无性染色体缺失,仅 1 例结构异常,16 例正常。

2.7 A 组与 B 组预后基因突变情况及疗效分析 髓系预后基因 (ASXL1、c-Kit、FLT3、DNMT3A), 发现 A 组有 6 例 (30.0%) ASXL1 突变, 13 例 (65.0%) c-Kit 突变, 3 例 (15.0%) FLT3 突变, 1 例 (5.0%) DNMT3A 突变, 1 例无预后相关突变。B 组 1 例未做基因筛查, 4 例 (21.1%) ASXL1 突变, 1 例 (5.3%) c-Kit 突变, 4 例 (21.1%) FLT3 突变, 5 例 (26.3%) DNMT3A 突变。A 组 14 例 (77.8%) 第 1 个疗程缓解 (CR1), 4 例 (22.2%) 大于 CR1, 1 例未知, 1 例放弃治疗; B 组 11 例 (61.1%) CR1, 7 例 (38.9%) 大于 CR1, 2 例未知。A 组与 B 组 c-Kit 基因突变情况比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 两组 1 个疗程缓解情况比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.471$)。见表 4。

表 4 A 组和 B 组血液病相关结果比较[n (%)]			
项目	A 组	B 组	P
免疫表型			
CD19 ⁻	5(29.4)	16(80.0)	0.003
CD19 ⁺	12(70.6)	4(20.0)	
CD56 ⁻	1(5.9)	16(80.0)	
CD56 ⁺	16(94.1)	4(20.0)	
NGS			<0.001
c-Kit 野生型	7(35.0)	18(94.7)	
c-Kit 突变	13(65.0)	1(5.3)	
缓解疗程			0.471
CR1	14(77.8)	11(61.1)	
>CR1	4(22.2)	7(38.9)	

3 讨 论

AML 伴 t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1 是一种常见亚型的白血病, 该易位导致 8 号染色体的 RUNX1T1 和 21 号染色体的 RUNX1 基因融合, 形成具有 5 个结构域 (来自 RUNX1 的 RHD 和来自 RUNX1T1 的 NHR1-4 结构域) 的 RUNX1-RUNX1T1。许多正常组织中都有 RUNX1T1 的表达, 尤其是大脑和心脏, 与血管生成有关。RUNX1 是造血细胞的分化和骨髓细胞发育的关键转录因子, 在调节肿瘤转移、增殖、血管生成、肿瘤干性和抗癌药物耐药等方面具有间接和直接的生物学功能^[7]。融合基因的形成阻断了 RUNX1 与靶基因的结合, 从而阻止细胞分化, 增加细胞存活率, 促进白血病的发生^[8]。

WHO 对 AML 伴 t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1 的形态学特点大致概括为: 原粒细胞较大, 细胞质丰富, 有多数嗜天青颗粒或有假性 Chediak-Higashi 颗粒, Auer 小体常见; 早幼粒以下阶段粒细胞可有不同程度的病态造血, 少数患者原粒细胞可 <20%。本研究纳入了 20 例在本院初诊为 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 患者, 对其骨髓形态学、细胞免疫学、细胞遗传学、分子生物学 (MICM) 分型进行回顾性分析。在形态学上, 发现以下特点: (1) 原始细胞数目增多, 核大多不规则, 凹陷

处可见淡染区。这与何苗等^[9]的研究结论一致, 即分化差的病例原始粒细胞增多, 可见明显的核凹陷, 凹陷处淡染, 部分见 Auer 小体, POX 染色阳性。 (2) 早幼粒细胞有不同程度增多, 且部分可见不同占比的异常早幼粒形态细胞, 该类细胞的细胞核不规则, 可见“臀样”核和“蝴蝶样”核, 细胞质丰富, 颗粒粗大, 有内外浆, 未见“柴捆状”Auer 小体。该特点也是一种病态造血的表现, 类似特点病例在国内外均有报道。 (3) 异常中幼粒细胞比例偏低, 均达不到 M2b 的形态学诊断标准。AML 伴 t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1 和国内分型的 AML-M2b 密切相关。巩文玉等^[10]报道中 M2b 占 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性白血病的 19.6%, 王平等^[11]报道中占 34.7%。何苗等^[9]也提到异常中幼粒增多是 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓形态学特点之一。本研究结果与之不一致, 考虑原因如下: ①形态学分类受主观因素影响。为了尽量减少这方面的影响, 本研究结合杨崇礼等^[12]、张之南等^[13]对异常中幼粒细胞的描述, 本研究将核质发育明显不平衡、细胞质中可见中性颗粒、有核仁的细胞划入“异常中幼粒”, 同时每张骨髓片分类均由 3 位从事形态学工作 5 年以上的人员完成, 结果仍无病例可划入 M2b 类型。 ②可能受收集病例数及人群个体差异的影响。 (4) 当异常早幼粒细胞占比增多时, AML 伴 t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1 易与 AML-M3 混淆, 而 AML-M3 起病极为凶险, 是白血病诊断过程中临床需要首先鉴别出的疾病, 因此基于以上形态学特点, 本研究进一步比较了 A 组与 C 组早幼粒细胞的形态和数目, 结果发现 C 组的异常早幼粒细胞除了出现“臀样”核“蝴蝶样”核, 颗粒粗大, 内外浆这些特点外, 更容易见到“柴捆状”Auer 小体, 异常早幼粒细胞数目比 A 组多。同时发现, A 组与 B 组骨髓早幼粒细胞数目有明显差异, 且 A 组融合基因表达量与早幼粒细胞数目呈正相关。以上结论进一步佐证早幼粒细胞增多是 RUNX1-RUNX1T1 阳性 AML 骨髓特点之一。类似的融合基因表达与骨髓细胞数目的关系研究为: 王平等^[11]研究中提到 AML1-ETO (即 RUNX1-RUNX1T1) 融合基因的改变一定伴随异常中幼粒的表达, 但异常中幼粒细胞的数目与融合基因表达量不一致。由此可知, 融合基因的表达量与骨髓某一阶段的细胞数目是否呈一定的相关性尚无定论, 这可能与不同的病例受融合基因影响的细胞处于不同的分化阶段有关。

本研究总结的 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学特点尚待完善。在临床实践中, RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 形态学上极易与其他类型白血病相混淆。例如: (1) 白萍等^[14]和 LI 等^[15]均报道过极易与慢性粒细胞性白血病混淆的病例。 (2) 李菁原等^[16]报道了 1 例极易与骨髓增生异

常综合征混淆病例。(3)存在与其他融合基因同时表达情况,此时的骨髓细胞形态可能具备多种特点,如少数病例存在 RUNX1-RUNX1T1 和 PML-RARA 的同时表达,骨髓中异常细胞形态明显分为 2 种,一种对应 RUNX1-RUNX1T1 融合基因,即典型异常中幼粒形态,另一种对应 PML-RARA,即典型异常早幼粒形态^[17]。

此外,本研究还发现 A 组 CD56、CD19 表达,CD56 和 CD19 同时表达,c-Kit 突变情况,显著高于 B 组,两组 1 个疗程化疗缓解情况无明显差异。在已有研究中,CD56 阳性被认为可能与 AML-ETO 不良预后有关^[18],CD19 阳性可能与 AML-ETO 预后良好有关。合并 c-Kit 突变的 AML 较未合并者预后更差^[19]。综上所述,是否由于 A 组中 CD56、CD19 的高表达及 c-Kit 突变,三者对疾病预后存在综合效应,从而导致对 A 组和 B 组 1 个疗程化疗缓解率无明显差异,这一点还有待进一步研究。

随着分子生物学、细胞遗传学的发展,血液病的诊断需要结合以上检查及临床表现综合考虑,以免误诊。骨髓细胞形态学诊断作为 MICM 中最快速简洁的检测方法,其量化工作不易,但很多血液病的形态学诊断都离不开量化的标准。本研究在量化工作上做了新的尝试,在验证了 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓检查特点的基础上,进一步总结并提出其形态学可能的新特点,虽然目前无法从早幼粒细胞的占比情况将 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 和 PML-RARA 融合基因阳性 AML 完全区分开,但为二者的形态学识别提供了一定的参考。由于纳入病例数有限,本研究还有一些问题要进一步明确,如 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性 AML 骨髓形态学特点及融合基因表达量与骨髓某一阶段的细胞数目是否呈一定的相关性,以上问题尚需大样本数据的支持及更深入的相关分子机制的探索。

参考文献

[1] ROWLEY J D. Identificaton of a translocation with quina-crine fluorecence in a patient with acute leukemia[J]. Ann Genet,1973,16(2):109-112.

[2] HATZIDAKIS A M,MENDLICK R M,MCKILLIP T,et al. Preoperative autologous donation for total joint arthroplasty. An analysis of risk factors for allogenic transfusion [J]. J Bone Joint Surg Am,2000,82(1):89-100.

[3] ZHANG X,WU Y,WANG L,et al. A case of AML1/ETO positive child with acute myeloid leukemia with poor prognosis[J]. Clin Lab,2023,69(2):220533.

[4] ISHIKAWA Y,KAWASHIMA N,ATSUTA Y,et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CBFB-MYH11[J]. Blood Adv,2020,4(1):66-75.

[5] CHIN P S,BONIFER C. Modelling t(8;21) acute myeloid leukaemia: what have we learned[J]. Med Comm, 2020,1(3):260-269.

[6] 王洪玲,李莉,刘庆中,等. 伴有异常早幼粒样细胞的 RUNX1-RUNX1T1 融合基因阳性急性髓系白血病 1 例报道[J]. 检验医学,2022,37(5):502-504.

[7] LIN T C. RUNX1 and cancer[J]. BBA-Rev Cancer,2022, 1877(3):188715.

[8] AL-HARBI S,ALJURF M,MOHTY M,et al. An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1[J]. Blood Adv,2020,4(1):229-238.

[9] 何苗,赵霄晨,朱金辉,等. 细胞形态检查在伴 AML1-ETO 及 CBFβ-MYH11 阳性急性髓系白血病中的作用 [J]. 国际检验医学杂志,2020,41(5):573-577.

[10] 巩文玉,赵玮,李志刚,等. 携带 AML1/ETO+融合基因儿童急性髓细胞白血病患者骨髓细胞形态学特点[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):52-54.

[11] 王平,彭贤贵,陈幸华,等. AML1/ETO+融合基因阳性的 AML 患者骨髓细胞形态学分析[J]. 重庆医学,2010, 39(12):1503-1504.

[12] 杨崇礼,卞寿庚,严文伟. 一种新的 FAB 急性粒细胞白血病亚型(M 2b)特征的鉴定[J]. 中华血液学杂志,1990,11 (9):456.

[13] 张之南,杨天楹,郝玉书,等. 血液病学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:870-871.

[14] 白萍,许雯,秦尤文,等. 骨髓中原始细胞比例为 10% 的急性髓系白血病 1 例报道[J]. 检验医学,2018,33(4): 374-375.

[15] LI R,WU Y,ZHANG X,et al. A case of AML1-ETO positive acute myeloid leukemia morphologically similar to chronic myelogenous leukemia[J]. Clin Lab,2023,69 (5):220914.

[16] 李菁原,叶向军,卢兴国,等. 原始细胞低于 20% 伴 RUNX1-RUNX1T1 阳性 AML 1 例报道[J]. 检验医学, 2020,35(1):81-83.

[17] CHEN M,FU M,WANG A,et al. FACSsorting help to analyze a rare case of acute myeloid leukemia with concurrent AML1-ETO and PML-RARA[J]. Int J Lab Hematol,2021,43(6):e276-e279.

[18] 赵娟,张海涛. CD56 表达对伴有 AML/ETO 的急性髓系白血病患者预后影响的分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2020,28(1):63-67.

[19] SHIMONI A,LABOPIN M,SAVANI B,et al. Long-term survival and late events after allogeneic stem cell transplantation from HLA-matched siblings for acute myeloid leukemia with myeloablative compared to reduced-intensity conditioning:a report on behalf of the acute leukemia working party of European group for blood and marrow transplantation[J]. J Hematol Oncol,2016, 9(1):118.