

T 细胞型急性淋巴细胞白血病患者 HOX11L2 基因的表达及其临床意义

郭晓波^{1a}, 蔺京^{1a}, 史敏², 杨乐^{1b}, 张养民^{1c}, 杨瑞利³

(1. 西安交通大学附属西安市中心医院 a. 血液科; b. 肿瘤科; c. 输血科, 西安 710004;
2. 西安培华学院医学院, 西安 710065; 3. 西安长安医院检验科, 西安 710016)

摘要: 目的 研究 T 细胞型急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 患者 HOX11L2 基因的表达及其临床意义。方法 采用回顾性分析方法对 50 例患者性别、年龄、白细胞数量、FAB 分类 (L1, L2 and L3)、分子生物学特点以及生存时间进行分析, 观察 HOX11L2 基因表达与临床特点及预后关系。结果 50 例 T 细胞型急性淋巴细胞白血病患者中, 表达 HOX11L2 基因患者为 12 例 (24%), 其中男性 7 例 (58.3%), 女性 5 例 (41.7%), HOX11L2 基因表达者在男女性别之间的比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.119, P=0.730$)。表达 HOX11L2 基因患者年龄在 5~10 岁间居多, 表达率为 58.3%, 与其它年龄组之间的比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=11.577, P=0.018$)。HOX11L2 基因表达患者中白细胞计数 $\leq 50 \times 10^9/L$ 的患者 10 例 (83.3%), 白细胞计数 $> 50 \times 10^9/L$ 的患者 2 例 (16.7%), 两组比较差异有统计学意义 ($\chi^2=5.469, P=0.019$)。FAB 分类中, 有 75% 的 HOX11L2 基因表达患者为 L1 型, 与 L2 和 L3 组相比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.766, P=0.008$)。其中 34 例获得随访资料的患者, HOX11L2 基因表达组比非表达组生存时间短 (中位生存时间分别为 8.0 个月和 11.0 个月), 两组差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 研究结果表明 HOX11L2 基因主要表达于 T-ALL 患者, 且以 L1 型儿童 T-ALL 为主, HOX11L2 基因表达者预后不良, 生存时间短。临床上通过 HOX11L2 基因检测结果与常规细胞形态学、遗传学、荧光原位杂交等技术检测结果相结合, 将对急性淋巴细胞白血病的鉴别诊断、分型、预后及微小残留病检测等具有十分重要的意义。

关键词: 急性淋巴细胞白血病; 染色体; HOX11L2 基因; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: R557.4; Q786 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-009-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.003

Expression and Clinical Significance of HOX11L2 Gene in Patients with T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia

GUO Xiao-bo^{1a}, LIN Jing^{1a}, SHI Min², YANG Le^{1b}, ZHANG Yang-min^{1c}, YANG Rui-li³

(1a. Department of Hematology; 1b. Department of Oncology; 1c. Department of Blood transfusion, Xi'an Central Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 2. Medical College of Xi'an Peihua University, Xi'an 710065, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Xi'an Chang'an Hospital, Xi'an 710016, China)

Abstract: Objective To study the expression and clinical significance of HOX11L2 gene in patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). **Methods** The sex, age, leukocyte count, FAB classification (L1, L2 and L3), molecular biological characteristics and survival time of 50 patients were analyzed retrospectively. The relationship between HOX11L2 gene expression, clinical characteristics and prognosis was observed. **Results** Among the 50 patients with T-ALL, 12 (24%) expressed HOX11L2 gene, 7 (58.3%) males and 5 (41.7%) females. There was no significant difference between the two groups in gender ($\chi^2=0.119, P=0.730$). Most of the patients with HOX11L2 gene were aged 5~10 years old, the expression rate was 58.3%, compared with other patients, the difference between the age groups was statistically significant ($\chi^2=11.577, P=0.018$). Among the patients with HOX11L2 gene expression, 10 patients (83.3%) had WBC count $\leq 50 \times 10^9/L$, and 2 patients (16.7%) had WBC count $> 50 \times 10^9/L$, and the difference between the two groups was statistically significant ($\chi^2=5.469, P=0.019$). In the FAB classification, 75% of the patients with HOX11L2 gene expression were L1 type, and the difference was statistically significant compared with L2 and L3 groups ($\chi^2=8.766, P=0.008$). Among the 34 patients who obtained follow-up data, the survival practice of HOX11L2 gene expression group was shorter than that of non expression group

基金项目: 陕西省科技厅重点研发计划项目 (2018SF-205)。

作者简介: 郭晓波 (1981-), 男, 硕士研究生, 副主任检验技师, 主要从事白血病分子诊断研究, E-mail: 258442579@qq.com。

通讯作者: 杨瑞利, 女, 本科, 副主任检验技师, 主要从事临床检验工作, E-mail: 172454089@qq.com。

(median survival time was 8.0 months and 11.0 months respectively), and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The results showed that HOX11L2 gene was mainly expressed in T-ALL patients, and it was mainly expressed in L1 children. The prognosis of HOX11L2 gene expression patients was poor, and the survival time was short. Clinically, the results of HOX11L2 gene detection combined with the results of conventional cytomorphology, genetics, fluorescence in situ hybridization and other technologies will be used for the differential diagnosis, typing, prognosis and microanalysis of acute lymphoblastic leukemia. Detection of small residual diseases is of great significance.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia; chromosome; HOX11L2 gene; real-time fluorescence quantitative PCR

急性淋巴细胞白血病 (acute lymphocytic leukemia, ALL) 是由于早期淋巴细胞在造血组织中异常增殖, 并浸润各组织器官的恶性克隆性疾病, 是儿童最常见的白血病类型之一, 在成人发病率较低, 其中 80% 为 B 细胞型 ALL (B-ALL), 约 20% 为 T 细胞型 ALL (T-ALL)^[1-3], 其临床表现主要为出血、贫血、发热和感染症状, 以及肿瘤细胞对全身各组织器官的浸润引起的症状和肝、脾、淋巴结肿大等体征。近年来的研究表明, 大约有 20% 儿童 T-ALL 由于 t(5; 14)(q35; q32) 从而导致 HOX11L2 基因激活表达, 此基因定位在 1 号染色体短臂 3 区 2 带, 是最常见的 T-ALL 分子生物学的异常, 同时也是儿童 T-ALL 中最常见的特征性分子生物学改变之一^[4-5]。

本研究通过对 50 例 T-ALL 患者临床资料的收集, 分析 HOX11L2 基因与性别、年龄、白细胞数量、FAB 分类以及生存率之间的关系, 为临床在 T-ALL 的鉴别诊断、分型、预后以及白血病的微小残留检测中提供有力帮助。

1 材料和方法

1.1 研究对象 所有 T-ALL 患者均为 2009 年 1 月~2020 年 1 月西安市中心医院血研所住院的患者, 其中男性 27 例, 年龄 0~42 岁, 中位年龄 19 岁; 女性 23 例, 年龄 0~38 岁, 中位年龄 16 岁。以上所有病例的诊断均符合世界卫生组织修订的急性淋巴细胞白血病的分类和诊断标准^[6]。所有患者均经实时荧光定量 PCR 行分子生物学检测。

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量 PCR 检测仪为美国伯乐 CFX96 产品, 总 RNA 提取试剂为德国凯杰公司生产, HOX11L2 基因检测试剂为厦门至善生物科技有限公司生产, 瑞士-吉姆萨染色试剂盒为南京沐赛生物技术有限公司生产。血细胞分析仪采用迈瑞 BC-5800, 试剂为迈瑞公司配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 HOX11L2 基因检测: 抽取 EDTA-K₂ 抗凝的骨髓或者外周血 2~5ml, 按照 RNA 提取试剂说明书提取有核细胞 RNA, 并利用 CFX96 实时荧光定量 PCR 对 HOX11L2 基因进行定性检测。PCR 仪循环参数: 50℃ × 20min → 95℃ × 10min; 按 95℃ × 15sec → 65℃ × 1min (每个循环下降 1℃)

→ 72℃ × 1min, 循环 10 次; 再按 95℃ × 20sec → 56℃ × 32sec (4 通道采光, FAM, HEX, ROX, CY5) → 72℃ × 1min, 循环 40 次。通过收集荧光信号的变化来实时检测 PCR 扩增反应过程中每一个循环扩增产物的变化量, 进一步通过 Ct 值对起始模板进行定性分析。整个实验操作过程均严格按照标准的操作规程进行, 同时做阳性、阴性对照和內参, 结果均在室内质量控制范围。

1.3.2 形态学检查: 骨髓及外周血涂片经瑞士-吉姆萨染色分类, 并同时做过氧化物酶化学染色 (myeloperoxidase, POX)。

1.3.3 白细胞计数: 所有研究对象均采集 2ml EDTA-K₂ 抗凝外周静脉血, 充分混匀, 及时送检, 采集后的标本均在 2 h 内进行测定, 测定前再次颠倒充分混匀。研究样本检测前对血细胞仪采用标准血浆进行测定, 要求结果在室内质量控制范围, 方可进行研究样本测定。

1.3.4 患者其它临床资料: 包括年龄、性别以及随访预后等指标通过病案室病例查阅收集, 本研究均取得医院伦理委员会批准和患者家属知情同意。

1.4 统计学分析 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计学数据分析。计数资料采用百分率 (%) 表示, 组间的比较采用 χ^2 检验, 生存率之间的比较用 Kaplan-Meier 法和 log-rank 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HOX11L2 基因的表达在 T-ALL 患者不同临床特征中的比较 见表 1。50 例 T-ALL 患者, 检测结果显示 HOX11L2 基因阳性患者 12 例 (24%), HOX11L2 基因阴性患者 38 例 (76%)。阳性患者中, 男性 7 例 (58.3%), 女性 5 例 (41.7%), HOX11L2 基因阳性患者在男女性别方面, 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.119$, $P=0.730$)。表达 HOX11L2 基因患者年龄在 5~10 岁间居多, 表达率为 58.3%, 与其它年龄组之间比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=11.577$, $P=0.018$)。白细胞计数 $\leq 50 \times 10^9/L$ 的患者 10 例 (83.3%), $>50 \times 10^9/L$ 的患者 2 例 (16.7%), 两组间比较差异有统计学意义 ($\chi^2=5.469$, $P=0.019$)。FAB 分类中, 有 75% 的 HOX11L2 基因表达者为 L1 型, 与 L2, L3 组相

比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.766$, $P=0.008$)。

表1 HOX11L2基因在T-ALL患者不同临床特征中的表达情况 [n (%)]

临床参数	HOX11L2		χ^2	P
	阳性 (n=12)	阴性 (n=38)		
性别	男	7	0.119	0.730
	女	5		
年龄 (岁)	<1	0	11.577	0.018
	1~5	4 (33.3)		
	5~10	7 (58.3)		
	10~15	1 (8.4)		
	>15	0		
WBC ($\times 10^9/L$)	≤ 50	10	5.469	0.019
	>50	2		
FAB分类	L1	9 (75.0)	8.766	0.008
	L2	3 (25.0)		
	L3	0		

2.2 HOX11L2基因表达者与非表达者生存率比较 34例患者获随访资料, 随访率为68.0%, 中位随访时间为20(6~120)个月, 死亡23例。12例HOX11L2基因表达者死亡8例, 存活4例, 中位生存期为8个月, 1年生存率为14.4%。22例HOX11L2基因非表达者死亡19例, 存活3例, 中位生存期为11个月, 1年、2年生存率分别为46.8%和8.9%, 两组病例生存率进行比较, 差异具有统计学意义 (log-rank $P=0.026$)。

3 讨论

急性淋巴细胞白血病是血液肿瘤中最常见的疾病之一, 约60%~75%的ALL患者可以被发现特征性的遗传学异常和分子生物学改变, 比如染色体的增减所导致的低二倍体和高二倍体, 染色体易位所形成的融合基因, 以及引起抑癌基因失活和基因表达失控等^[7]。血液肿瘤中分子生物学的异常, 可作为血液病诊断、分型的重要依据, 也可作为微小残留病变的分子标志^[8]。同源盒基因HOX11L2是表达于T-ALL的原癌基因, 由t(5;14)(q35;q32)形成, 可使T细胞发育停滞在某一阶段, 从而导致T-ALL的发生^[9-11]。还有研究表明T-ALL是未成熟T细胞或者祖细胞过度增殖所导致的恶性造血系统疾病, 通常伴有白细胞数量增高、纵隔肿块, 以及中枢神经系统浸润和预后差等特征^[12]。

此研究结果中50例T-ALL患者HOX11L2基因表达患者为24%(12/50), HOX11L2基因在男女性别组间差异无统计学意义。HOX11L2基因表达患者主要分布在5~10岁年龄范围, 1~5岁年龄

范围次之, 而且以L1型ALL为主, 组间差异具有统计学意义。HOX11L2基因表达者白细胞计数以 $\leq 50 \times 10^9/L$ 为主, 与 $>50 \times 10^9/L$ 的患者比较, 组间差异有统计学意义 ($\chi^2=5.469$, $P=0.019$)。上述研究结果与西方研究者^[13-14]的结果相似。

本研究显示HOX11L2基因表达者与非表达者在生存率方面比较, 差异有统计学意义, 这与国内研究者左文丽等^[15]对HOX11L2基因表达对儿童T-ALL预后影响观察的结果相吻合。研究表明同源盒HOX11L2基因可能是通过甲基化的修饰来影响白血病其它基因的表达, 从而来改变可能影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 进一步影响白血病的预后。也有一些研究者认为中枢神经系统白血病的发生与HOX11L2基因的表达存在相关性^[2, 16]。因此, HOX11L2基因的表达作为T-ALL MICI分型必不可少的分子生物学标记, 已成为T-ALL诊断和治疗以及预后观察中的重要指标, 其结果对于临床进行明确诊断、分型判断, 以及预后具有非常重要的意义。

综上所述, T-ALL具有其特有的细胞与分子生物学特征, HOX11L2基因主要表达于T-ALL, 并且以L1型儿童T-ALL为主, HOX11L2基因表达可能是T-ALL独立不良预后因素。临床上通过HOX11L2基因检测结果与常规细胞形态学、遗传学、荧光原位杂交等技术检测结果相结合, 将对急性淋巴细胞白血病的鉴别诊断、分型、预后及微小残留病(MRD)检测等具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] 刘晓明, 陈晓娟, 邹尧, 等. 中国儿童白血病组

- 织急性淋巴细胞白血病 2008 方案治疗急性 T 淋巴细胞白血病 84 例分析 [J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(10): 761-766.
- LIU Xiaoming, CHEN Xiaojuan, ZOU Yao, et al. Outcome of children with T cell acute lymphoblastic leukemia treated with Chinese Children leukemia Group acute lymphoblastic leukemia(CCLG-ALL)2008 protocol[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2019, 57(10): 761-766.
- [2] 蔡春霞, 李健, 乐少华, 等. 达沙替尼联合中国儿童白血病协作组急性淋巴细胞白血病 2008 方案治疗儿童费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病的疗效及安全性 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2019, 28(12): 728-733.
- CAI Chunxia, LI Jian, LE Shaohua, et al. Clinical effect and safety of dasatinib combined with Chinese Children's Leukemia Group-acute lymphoblastic leukemia 2008 protocol in treatment of childhood Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia [J]. Journal of Leukemia and Lymphoma, 2019, 28(12): 728-733.
- [3] EL-KHAZRAGY N, ELSHIMY A A, HASSAN S S, et al. Dysregulation of miR-125b predicts poor response to therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 120(5): 7428-7439.
- [4] YEH T C, LIANG D C, LIU H C, et al. Clinical and biological relevance of genetic alterations in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia in Taiwan[J]. Pediatric Blood & Cancer, 2019, 66(27): e27496.
- [5] 侯振江, 杨晓斌. 血液学检验 [M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 163-165.
- HOU Zhenjiang, YANG Xiaobin. Hematological examination [M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 163-165.
- [6] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. Blood, 2016, 127(20): 2391-2405.
- [7] 马晶晶, 陈月. 急性淋巴细胞白血病耐药机制的研究进展 [J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1): 261-265.
- MA Jingjing, CHEN Yue. Research Progress on drug-resistance of acute lymphoblastic leukemia-review[J]. Journal of Experimental Hematology, 2016, 24(1): 261-265.
- [8] 张建平, 杨君芳, 王芳, 等. 1 392 例初诊儿童急性淋巴细胞白血病患者 36 种融合基因筛查分析 [J]. 临床与病理杂志, 2018, 38 (5): 956-960.
- ZHANG Jianping, YANG Junfang, WANG Fang, et al. Analysis of 36 fusion genes in 1 392 patients of de novo pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2018, 38 (5): 956-960.
- [9] ZHUANG Mengli, CHAOLUMEN Qiqige, LI Linlin, et al. MiR-29b-3p cooperates with miR-29c-3p to affect the malignant biological behaviors in T-cell acute lymphoblastic leukemia via TFAP2C/GPX1 axis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 527(2): 511-517.
- [10] SOTO-MERCADO V, MENDIVIL-PEREZ M, JIMENEZ-DEL-RIO M, et al. Cannabinoid CP55940 selectively induces apoptosis in Jurkat cells and in vivo T-cell acute lymphoblastic leukemia through H₂O₂ signaling mechanism[J]. Leukemia Research, 2020, 95: 106389.
- [11] PFLUGRATH A E, BRAR V S. Bilateral optic nerve and retinal infiltration as an initial site of relapse in a child with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. American Journal of Ophthalmology Case Reports, 2020, 18: 100695.
- [12] LA STARZA R, PIERINI V, PIERINI T, et al. Design of a comprehensive fluorescence in situ hybridization assay for genetic classification of T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. The Journal of Molecular Diagnostics, 2020, 22(5): 629-639.
- [13] ZHAO X, HONG Y, QIN Y, et al. The clinical significance of monitoring the expression of the SIL-TAL1 fusion gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. International Journal of Laboratory Hematology, 2017, 39(6): 613-619.
- [14] PAN Jing, ZHANG Yang, ZHAO Yanli, et al. Impact of clinical factors on outcome of leukemia patients with TLS-ERG fusion gene[J]. Leukemia & Lymphoma, 2017, 58(7): 1655-1663.
- [15] 左文丽, 邓梅, 林全德, 等. HOX11L2 基因表达对儿童 T 细胞型急性淋巴细胞白血病预后影响观察 [J]. 肿瘤基础与临床, 2018, 31 (6): 478-480.
- ZUO Wenli, DENG Mei, LIN Quande, et al. Effect of HOX11L2 gene expression on the prognosis of children with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Basic and Clinical Oncology, 2018, 31 (6): 478-480.
- [16] MOUSSA H, SIDHOM I. NKX2-5, SIL/TAL and TLX3/HOX11L2 expression in Egyptian pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology, 2016, 12(1): e1- e10.
- 收稿日期: 2020-06-09 修回日期: 2020-07-07

(上接第 4 页)

- [13] 李晓华, 蒙以良, 漆光紫, 等. 基于 2008 分期标准的壮族鼻咽癌各期患者中 EB 病毒 Zta/IgG 等抗体阳性率的比较 [J]. 现代免疫学, 2013, 33 (2): 142-145.
- LI Xiaohua, MENG Yiliang, QI Guangzi, et al. Comparison between 2008 clinical stages of nasopharyngeal carcinoma and Epstein-Barr virus antibodies positive

rate of EBNA1/IgA, Zta/IgG and Rta/IgG the zhuang nationality [J]. Current Immunology, 2013, 33(2): 142-145.

- [14] FENG P, CHAN S H, SOO M Y, et al. Antibody response to Epstein-Barr virus Rta protein in patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer, 2001, 92(7): 1872-1880.

收稿日期: 2020-04-21 修回日期: 2020-05-25