

# 慢性粒细胞白血病患者 BCR-ABL 融合基因 P210 表达对病程判断和预后评估的临床价值<sup>\*</sup>

刘伟平<sup>1</sup>, 官凡琪<sup>2</sup>, 宋耀辉<sup>1</sup>, 阮艳秋<sup>1</sup> (1. 自贡市第一人民医院检验科, 四川自贡 643000; 2. 遵义医科大学医学与科技学院, 贵州遵义 563000)

**摘要:**目的 探讨 BCR-ABL 融合基因 P210 的表达与外周血象、 $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶(HBDH)、乳酸脱氢酶(LDH)和血糖(GLU)对慢性粒细胞白血病(CML)的病程判断和预后评估中的临床意义。方法 收集2017年4月~2018年5月在自贡第一人民医院初诊确诊的慢性粒细胞白血病患者外周血标本;采用实时荧光定量PCR方法测定30例慢性粒细胞白血病患者外周血 BCR-ABL 融合基因 P210 表达水平。同时测定 GLU、LDH、HBDH、血清钾(K<sup>+</sup>)和尿酸(UA)的含量,并结合患者血象进行综合分析。结果 30例慢性粒细胞白血病患者 BCR-ABL 融合基因 P210 阳性表达率为93.3%,白血病不同分期 BCR-ABL 融合基因 P210 表达量差异有统计学意义( $P<0.05$ )。其中13例慢性期患者采用酪氨酸激酶抑制剂(伊马替尼)治疗1年后,BCR-ABL P210 阳性率由100%降低为23.1%(3/13)。不同时期慢性粒细胞白血病患者在白细胞数量(WBC)、中性粒细胞/淋巴细胞比值(NEU/LYM)、血红蛋白(HGB)差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 BCR-ABL P210 表达水平结合外周血 WBC、HGB、NEU/LYM、GLU、LDH 的检测,有助于慢性粒细胞白血病病程判断和预后评估。

**关键词:**慢性粒细胞白血病;BCR-ABL P210;病程判断

中图分类号:R557.3;Q786 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)05-012-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.004

## Clinical Value of BCR-ABL Fusion Gene P210 Expression of Patients with Chronic Myeloid Leukemia for Course Judgment and Prognosis Evaluation

LIU Wei-ping<sup>1</sup>, GUAN Fan-qi<sup>2</sup>, SONG Yao-hui<sup>1</sup>, RUAN Yan-qiu<sup>1</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zigong City, Sichuan Zigong 643000, China; 2. School of Medicine and Science Technology, Zunyi Medical University, Guizhou Zunyi 563000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the clinical significance of the expression of BCR-ABL fusion gene P210 and peripheral blood images, lactate dehydrogenase (LDH),  $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase (HBDH), serum glucose (GLU), K<sup>+</sup> and uric acid (UA) in the course judgment and prognosis evaluation of chronic myelogenous leukemia (CML). **Methods** Peripheral blood samples of 30 CML patients diagnosed in the First People's Hospital of Zigong City from April 2017 to May 2018 were collected. The expression level of BCR-ABL fusion gene P210 in peripheral blood of 30 CML patients was determined by Real Time-PCR. Serum GLU, LDH and HBDH dehydrogenase were determined simultaneously and combined with blood and bone marrow images of CML patients for comprehensive analysis. **Results** The positive expression rate of BCR-ABL fusion gene P210 in 30 CML patients was 93.3%, and the expression level of bcr-abl fusion gene P210 in different stages of leukemia was statistically significant ( $P<0.05$ ). After 1 year of treatment with tyrosine kinase inhibitor (imatinib), the positive rate of bcr-abl P210 in 13 patients with CML decreased from 100% to 23.1% (3/13). There were statistically significant differences in the number of WBC, the number of neutrophils, and the ratio of neutrophils/lymphocytes between chronic myelogenous leukemia patients at different stages ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The expression of BCR-ABL P210 combined with WBC, hemoglobin, NEU/LYM, serum GLU and LDH is helpful for the course judgement and prognosis evaluation of CML.

**Keywords:** chronic myelogenous leukemia; BCR-ABL P210; course judgement

慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)是骨髓造血干细胞的恶性克隆增殖性疾病。临床上通常按照病程将 CML 分为慢性期、加速期和急变期。一旦疾病进入急变期,预后极差<sup>[1]</sup>。90%以上的 CML 患者的血细胞中出现 Ph 染色体,即 t(9;22)(q34;q11),9 号染色体长臂

上 abl 原癌基因易位至 22 号染色体长臂的断裂点集中区(bcr),形成 BCR-ABL 融合基因,并表达 BCR-ABL 融合蛋白<sup>[2]</sup>。BCR-ABL 融合基因以不同剪接方式形成 mRNA-b3a2 和 b2a2,编码形成 P210 融合蛋白<sup>[3]</sup>;该蛋白具有异常活跃的酪氨酸激酶活性,并可活化细胞内相关的信号转导通路,

<sup>\*</sup> 基金项目:四川省医学科研课题计划(编号 Q18025)。

作者简介:刘伟平(1980—),男,硕士,副主任技师,主要从事免疫学及分子生物学检验诊断研究,E-mail: freeliuweiping@163.com。

从而调控细胞的分裂与增殖,使细胞凋亡信号降低、存活率延长,这是引起白血病细胞恶性增殖及凋亡抵抗的主要机制之一<sup>[4]</sup>。因此,本研究旨在探讨不同病程 BCR-ABL 融合基因 P210 的表达水平以及外周血象、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、 $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶( $\alpha$ -hydroxybutyrate, HBDH)和血糖(glucose, GLU)的变化,以期为临床的早期诊断、病程判断和预后评估提供一良好指标。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2017 年 4 月~2018 年 5 月期间自贡市第一人民医院住院的 CML 患者共计 30 例,其中男性 18 例,女性 12 例,年龄 24 岁~86 岁。疾病分期:慢性期 13 例,加速期 8 例,急变期 9 例。

1.2 试剂和仪器 Agilent StrataGene MX 3005P 实时荧光定量 PCR 仪购自美国安捷伦科技公司;BCR/ABL210 融合基因定量检测购自上海源奇生物医药科技有限公司。XN-1000 全自动血液分析仪购自希森美康生物有限公司,血清 GLU, LDH, UA 和 HBDH 购自迈克生物有限公司。

1.3 实验方法 CML 诊断依据中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2016 年版),结合骨髓细胞形态学、流式细胞术免疫表型、临床症状等进行综合分析。采用 RT-PCR 测定 BCR-ABL 融合基因 P210 表达水平,结果以 BCR-ABL 转录本水平与 ABL(内参基因)转录本水平的比值(P210/ABL)

来表示<sup>[5]</sup>;血细胞计数及分类采用 XN-1000 全自动血液分析仪,分类采用手工显微镜法进行确认;血清 LDH 和 HBDH, GLU, UA,  $K^+$  分别运用速率法、葡萄糖氧化酶法、尿酸酶法、电极法进行检测。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 23.0 统计学软件进行统计分析,符合正态分布的定量资料,三组间比较采用方差分析,非正态分布的定量治疗采用 Mann-Whitney U 检验,率的比较采用卡方( $\chi^2$ )检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同病程 CML 患者 BCR-ABL 融合基因 P210 检测结果 见表 1。30 例 CML 患者中,BCR-ABL 融合基因 P210 阳性表达的有 28 例,占 93.3%,其表达量通过 Mann-Whitney U 检验分析比较,发现不同分期 CML 患者中 BCR-ABL 融合基因 P210 的表达差异有统计学意义( $Z = 9.561, P = 0.000$ ),且运用伊马替尼治疗一年后,检测各病程 BCR-ABL 融合基因 P210 的阳性表达情况,运用卡方检验分析比较治疗前后 BCR-ABL 融合基因 P210 阳性表达率的差异,得出在 13 例慢性期 CML 患者中,治疗后此基因阳性表达率较治疗前差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.047, P = 0.029$ )。此结果表明,BCR-ABL 融合基因 P210 的表达在不同病程 CML 患者中表达差异有统计学意义,可用于临床对 CML 患者病程判断及预后评估。

表 1 不同病程 CML 患者 BCR-ABL P210 检测结果

类 别	慢性期(n=13)	加速期(n=8)	急变期(n=9)	Z/ $\chi^2$	P
P210/ABL	0.502(0.026~2.958)	3.880(0.913~10.451)	5.609(0.624~41.364)	9.561	0.000
治疗前阳性数[n(%)]	13(100.0)	8(100.0)	7(77.8)	5.000	0.082
治疗后阳性数[n(%)]	3(23.1)	5(62.5)	7(77.8)	7.047	0.029

2.2 不同病程 CML 患者外周血象检测结果 见表 2。测定 30 例不同病程 CML 患者外周白细胞(white blood cell, WBC)、血红蛋白(hemoglobin, HGB)含量及中性粒细胞/淋巴细胞比值(NEU/LYM)并运用单因素方差分析比较。外周 WBC,

HGB 和 NEU/LYM 在不同病程 CML 患者中的表达差异均具有统计学意义(均  $P = 0.000$ )。由此得出,测定外周血中 WBC, HGB 的含量及 NEU/LYM 比值可用于临床对 CML 患者的病程进行判断,从而为其有效治疗提供一可靠指标。

表 2 不同病程 CML 外周血指标的比较

项 目	慢性期(n=13)	加速期(n=8)	急变期(n=9)	统计量(F)	P
WBC( $\times 10^9$ )	42.6 $\pm$ 19.9	12.1 $\pm$ 11.7	96.3 $\pm$ 19.0	18.16	0.000
NEU/LYM	17.6 $\pm$ 5.0	3.9 $\pm$ 4.1	32.3 $\pm$ 6.0	12.83	0.000
HGB(g/L)	119.7 $\pm$ 24.6	86.7 $\pm$ 21.6	64.5 $\pm$ 17.9	17.44	0.000

2.3 不同病程 CML 患者血清部分生化指标比较

见表 3。利用单因素方差分析比较不同病程

CML 患者血清 GLU, LDH, HBDH,  $K^+$  和 UA 的表达差异。不同病程 CML 患者血清中 GLU, LDH 的表达差异有统计学意义 ( $P = 0.026$ ,  $0.0482$ ), 但血清 HBDH,  $K^+$  和 UA 的含量在不同

病程 CML 患者之间比较, 差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。由此得出, CML 患者血清中 GLU, LDH 在不同病程的差异表达可为临床对其病程诊断提供一早期指标。

表 3

不同病程 CML 部分生化指标的比较

项 目	慢性期( $n=13$ )	加速期( $n=8$ )	急变期( $n=9$ )	统计量( $F$ )	$P$
GLU(mmol/L)	$5.67 \pm 1.503$	$5.75 \pm 0.773$	$7.31 \pm 1.726$	4.364	0.026
HBDH(U/L)	$327.3 \pm 91.2$	$431.0 \pm 99.8$	$426.8 \pm 139.7$	0.726	0.496
LDH(U/L)	$403.7 \pm 111.6$	$555 \pm 150.4$	$627 \pm 165.1$	3.964	0.048 2
$K^+$ (mmol/L)	$3.78 \pm 0.64$	$3.51 \pm 0.25$	$3.72 \pm 0.64$	3.323	0.056
UA( $\mu$ mol/L)	$403.3 \pm 101.0$	$367.1 \pm 155.5$	$404.0 \pm 130.0$	2.273	0.128

3 讨论 BCR-ABL 融合基因是白血病发生的必要条件之一, 利用实时荧光定量 PCR 技术可有效检测 BCR-ABL 融合基因表达水平<sup>[6]</sup>。本研究显示, 不同疾病分期 BCR-ABL P210 转录本差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且急变期患者的 BCR-ABL P210 的转录水平明显高于加速期和慢性期的患者。由此得出, 通过对 CML 患者 BCR-ABL P210 的检测, 有助于临床准确判断患者病程和病情变化, 从而有效实施个体化治疗。

获得深层的分子生物学反应是酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKI) 治疗 CML 追求的目标<sup>[7-8]</sup>。骨髓或外周血中 BCR-ABL P210 转录本为 0 或定性检测结果为阴性是 CML 完全缓解的重要指标<sup>[6]</sup>。本研究结果显示, 13 例慢性期 CML 患者采用伊马替尼治疗一年后, BCR-ABL P210 阳性率明显降低。因此, 对伊马替尼治疗的慢性期 CML 患者进行 BCR-ABL P210 基因表达水平的检测, 有助于临床判断其疗效和监测其复发, 此与文献报道相符<sup>[6,8]</sup>。

本研究表明, 不同分期 CML 患者外周血 WBC, NEU/LYM 和 HGB 差异均有统计学意义。这提示针对不明原因的 WBC, NEU/LYM 异常升高和 HGB 下降对于 CML 患者的早期诊断具有重要意义。另外, 各期 CML 患者 LDH 一般呈轻度或重度升高, 其原因可能在于 Ph 染色体易位产生 BCR-ABL 融合基因并表达蛋白 P210, 使白血病细胞大量增殖, 糖酵解增强, 进而使血清中 LDH 及其同工酶活性增高。另有研究表明, CML 患者骨髓增生程度极度活跃, 各组织和器官被恶性细胞浸润, 其肝脾肿大及功能受损使 LDH 加速释放入血, 从而可导致血清 LDH 及其同工酶活性升高<sup>[10]</sup>。在对各期 CML 患者血糖测定过程中发现, 血糖水平与 CML 分期密切相关。以上结果表明, 在排除患者其它疾病情况下, 测定 LDH 及 GLU

水平可用于 CML 临床分期诊断及预后评估指标之一。

综上所述, BCR-ABL 融合基因 P210 表达水平可作为 CML 早期诊断、病程判断和预后评估的良好指标。此外, 外周血 WBC 数量, NEU/LYM, GLU 及 LDH 可用于 CML 的分期诊断和预后评估。两者结合起来, 可提高 CML 诊断和治疗的敏感度及准确度。然而本研究检测的临床样本较少, 且分布较为局限, 仍需纳入不同地区, 不同人种的临床样本进行分析研究, 以增加本研究的可信度, 以期临床对 CML 患者的分期诊断和预后提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 董鑫. FoxM1 调控 DNA 损伤修复在慢性髓性白血病伊马替尼耐药中的作用及机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2017.  
DONG Xin. The role of FoxM1 induced DNA damage response in imatinib resistant chronic myeloid leukemia and its regulatory mechanisms[D]. Jinan: Shandong University, 2017.
- [2] 江锦红. 伊马替尼治疗新诊断和干扰素治疗失败的慢性髓性白血病疗效比较[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.  
JIANG Jinhong. Imatinib mesylate for chronic phase chronic myeloid leukemia: initial treatment versus after failure of INF- $\alpha$ [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.
- [3] HUGHES A, YONG A S M. Immune effector recovery in chronic myeloid leukemia and treatment-free remission[J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 469.
- [4] AYATOLLAHI H, KERAMATI M R, SHIRDEL A, et al. BCR-ABL fusion genes and laboratory findings in patients with chronic myeloid leukemia in northeast Iran[J]. Caspian Journal of Internal Medicine, 2018, 9(1): 65-70.
- [5] BACCARANI M, DEININGER M W, ROSTI G, et al. European leukemia Net recommendations for the management of chronic myeloid leukemia, 2013[J]. Blood, 2013, 122(6): 872-884.
- [6] WANG Wenjun, ZHENG Chaofeng, LIU Zhuang, et

- al. Droplet digital PCR for BCR/ABL(P210) detection of chronic myeloid leukemia: a high sensitive method of the minimal residual disease and disease progression[J]. *European Journal of Haematology*, 2018,101(3):291-296.
- [7] WANG Rui, CONG Yue, LI Caili, et al. Predictive value of early molecular response for deep molecular response in chronic phase of chronic myeloid leukemia [J]. *Medicine*, 2019,98(15):e15222.
- [8] SHANMUGANATHAN N, HUGHES T P. Molecular monitoring in CML: how deep? How often? How should it influence therapy? [J]. *Hematology*, 2018, 2018(1):168-176.
- [9] 邹媛, 杜翠, 陈红梅, 等. BCR/ABL 融合基因少见型实时荧光 PCR 定量检测在慢性髓系白血病中的应用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2017,25(4):1016-1021.
- ZOU Yuan, DU Cui, CHEN Hongmei, et al. Application of real-time quantitative PCR in detecting atypical BCR/ABL transcripts in chronic myelocytic leukemia[J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2017, 25(4):1016-1021.
- [10] PAN Jia, MIAO Dong. Germacrone reverses adriamycin resistance in human chronic myelogenous leukemia K562/ADM cells by suppressing MDR1 gene/P-glycoprotein expression[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2018,288:32-37.
- 收稿日期:2019-04-21  
修回日期:2019-07-22
- 
- (上接 11 页)
- [2] AMETT F C, EDWORTHY S M, BLOCH D A, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 1988, 31(3):315-324.
- [3] INGEGNOLI F, CASETELLI R, GUALTIEROTTI R. Rheumatoid factors: clinical applications[J]. *Disease Markers*, 2013,35(6):727-734.
- [4] ATZENI F, TALOTTA R, MASALA I F, et al. Biomarkers in rheumatoid arthritis[J]. *The Israel Medical Association Journal*, 2017,19(8):512-516.
- [5] 杨阳, 李晓军. 类风湿关节炎生物标志物研究进展:从蛋白质到非编码 RNA[J]. *临床检验杂志*, 2017, 35(1):1-4.
- YANG Yang, LI Xiaojun. Progress in biomarkers of rheumatoid arthritis: from protein to non-coding RNA [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2017,35(1):1-4.
- [6] AHMED M M, OBAID AL-RUHAIMI K A, MOHAMMED S H. Evaluation of the rheumatoid factors of the IgG, IgM and IgA isotypes as prognostic parameters for rheumatoid arthritis among Iraqi patients [J]. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 2010,53(3):433-438.
- [7] JONSSON T, ARINBJAMARSON S, THORSTEINSSON J, et al. Raised IgA rheumatoid factor (RF) but not IgM RF or IgG RF is associated with extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis[J]. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 1995,24(6):372-375.
- [8] JORGENSEN C, LEGOUFFE M C, BOLOGNA C, et al. IgA isotype rheumatoid factor in rheumatoid arthritis: clinical implications[J]. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 1996,14(3):301-304.
- [9] YOUNG A, KODURI G. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis[J]. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2007,21(5):907-927.
- [10] ALESSANDRI C, BARTOSIEWICZ I, PENDOLINO M, et al. Anti-carbamylated protein antibodies in unaffected first-degree relatives of rheumatoid arthritis patients: lack of correlation with anti-cyclic citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor[J]. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2015,33(6):824-830.
- [11] 舒少为, 蔡长争, 梁国琼, 等. 自身抗体 RF, CCP, AKA 及 IgM-RF 联合检测诊断类风湿关节炎的临床价值[J]. *浙江临床医学*, 2016,18(7):1325-1326.
- SHU Shaowei, CAI Changzheng, LIANG Guoqiong, et al. The clinical value of autoantibody RF, CCP, AKA and IgM-RF combined diagnosis and diagnosis of rheumatoid arthritis [J]. *Zhejiang Clinical Medicine Journal*, 2016,18(7):1325-1326.
- [12] 赵辉. 抗 CCP 抗体, AKA 与 RF 联合检测在类风湿关节炎诊断中的临床意义[J]. *现代检验医学杂志*, 2015,30(5):159-161.
- ZHAO Hui. Clinical significance of anti-CCP antibody, and anti-AKA and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015,30(5):159-161.
- [13] 谭立明, 张玉红, 彭卫华, 等. HLA-DR4 和 HLA-DR53 与自身抗体检测对诊断类风湿关节炎的价值[J]. *广东医学*, 2014,35(9):1351-1354.
- TAN Liming, ZHANG Yuhong, PENG Weihua, et al. The value of HLA-DR4 and HLA-DR53 and autoantibody detection in the diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. *Guangdong Medicine Journal*, 2014, 35(9):1351-1354.
- [14] 李亚波, 周芳, 邹映东, 等. 类风湿性关节炎合并核抗体阳性的临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(2):184-186.
- LI Yabo, ZHOU Fang, ZOU Yingdong, et al. The clinical significance of rheumatoid arthritis merger antinuclear antibody positive[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2017,38(2):184-186.
- [15] 钟海平, 王建中. 2 325 例患者抗核抗体核型与抗核抗体谱检测结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2017,38(11):1517-1519.
- ZHONG Haiping, WANG Jianzhong. Analysis of anti-nuclear antibody and anti-nuclear antibody spectrum in 2 325 patients[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2017,38(11):1517-1519.
- 收稿日期:2019-06-03  
修回日期:2019-07-17