

髓系肿瘤合并噬血细胞性淋巴组织细胞增多症 8 例临床特征

李艳旗 张宇卉 滕广帅 胡耐博 王艳 段依璠 白洁

天津医科大学第二医院血液科, 天津 300211

通信作者: 白洁, Email: janebai86@hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金(82170117); 天津市教委科研计划(2022ZD072)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.11.012

Clinical features of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with myeloid neoplasms: a report of 8 cases

Li Yanqi, Zhang Yuhui, Teng Guangshuai, Hu Naibo, Wang Yan, Duan Yifan, Bai Jie

Department of Hematology, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Corresponding author: Bai Jie, Email: janebai86@hotmail.com

噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH)是一种罕见的危及生命的综合征,根据发病原因可分为原发性或继发性^[1]。恶性肿瘤特别是血液系统恶性肿瘤是成人继发性 HLH 发病最常见的原因(约占 45%)^[2],淋巴瘤相关的 HLH 已有大量研究^[3],但髓系肿瘤相关的 HLH 报道有限。本研究回顾性分析了 8 例髓系肿瘤合并 HLH 临床特征、遗传学与表观遗传学基因突变情况以及疾病转归,现报道如下。

病例与方法

1. 病例资料:本研究为回顾性研究,收集 2017 年 11 月至 2022 年 5 月天津医科大学第二医院血液科收治的 8 例髓系肿瘤合并 HLH 患者的临床和实验室检查资料,诊断均符合 HLH-2004 标准和 2016 WHO 髓系肿瘤诊断指南^[4]。

2. 细胞因子检测:采用 AimPlex 多因子流式检测技术检测血清样本中各细胞因子的表达。应用 IFN- γ /IL-1 β /IL-2/IL-4/IL-5/IL-6/IL-8/IL-10/IL-12p70/IL-17A/IL-17F/IL-22/TNF α /TNF β 检测试剂盒(北京旷博生物技术股份有限公司),通过 Canto plus 流式细胞仪(美国 BD 公司)进行检测。

3. 染色体核型分析:染色体标本取自骨髓,肝素抗凝。经常规 24 h 短期培养,收获后制片,R+G 显带。核型描述依据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2013)》。

4. 二代测序(NGS):取患者骨髓标本提取 DNA,对 362 个血液肿瘤相关基因目标区域进行富集扩增,并采用超高多重 RCR 外显子富集技术进行高通量基因测序,平均测序深度为 800 \times ;使用 Ion Reporter 系统和 Variant Reporter 软件进行突变分析;利用 dbSNP、1000 Genomes、Polyphen-2 和 COSMIC 等数据库进行变异注释及氨基酸突变分析。

5. 全外显子测序(WES):构建插入片段为 200 bp 的文库,采用高效液相探针捕获平台捕获目标序列,利用 Illumina HiSeq X 二代测序平台,对文库进行双末端(Paired-

end, PE)测序,测序读长为 2 \times 150 bp。测序数据以 GRCh38.p13 为参考基因组,结合 dbSNP、COSMIC、ClinVar 等多个公共数据库和硕研贝肯自有数据库对数据进行整理、编辑和生物信息分析。

6. 统计学处理:对所收集的数据、治疗方法及预后转归进行回顾性综合分析,连续变量用中位数(范围)表示,分类变量用例数(构成比)表示。总生存(OS)时间定义为髓系肿瘤患者确诊 HLH 至任何原因死亡的时间,采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析。

结 果

1. 临床特征:8 例患者中,其中急性髓系白血病(AML)5 例,骨髓增生异常综合征(MDS)1 例,原发性血小板增多症继发性骨髓纤维化(Post-ET MF)1 例,慢性粒-单核细胞白血病(CMML)1 例,男 5 例,女 3 例,中位年龄 61.5(34~79)岁。5 例 HLH 发生于疾病的初始或疾病进展阶段,考虑为肿瘤诱发的 HLH(M-HLH),3 例发生于化疗后骨髓抑制期,称为化疗期间发生的 HLH(Ch-HLH)。其中合并感染 5 例(62.5%),均为肺感染,1 例合并 EB 病毒感染(表 1)。8 例患者均有持续性发热(体温 38~40 $^{\circ}$ C)(100.0%),脾大 5 例(62.5%),所有患者均有不同程度血细胞减少(100.0%),其中三系减少 5 例(62.5%),两系减少 3 例(37.5%)。血清铁蛋白水平平均升高(100.0%);甘油三酯升高 2 例(25.0%);纤维蛋白原降低 7 例(87.5%);骨髓吞噬现象 2 例(25.0%);乳酸脱氢酶水平升高 8 例(100.0%);肝功能异常 7 例(87.5%),包括转氨酶、胆红素升高;C 反应蛋白水平升高 8 例(100.0%)。

2. 实验室检查资料结果:3 例髓系肿瘤合并 HLH 患者进行了细胞因子检测,IL-6[(82.554 \pm 54.144) μ g/L]、IL-8[(86.933 \pm 43.650) μ g/L]、IL-17A[(14.727 \pm 6.453) μ g/L]等

细胞因子水平均明显升高。染色体分析结果显示5例患者有不同程度的染色体核型异常,例7是AML-M₅(MDS转)患者,发生HLH时染色体核型由最初-Y,der(5;17),-7,del(7),-10,-16,add(19)演变为der(3),der(5;17),der(7),-8,der(9),-12,-13,-15,-16,add(19q),+mar1,+mar2,+mar3,出现了13种附加异常,染色体复杂性增加(表1)。8例患者进行了NGS检测,其中3例TP53突变,2例U2AF1突变。存在DNA修复相关基因(TP53)、转录因子相关基因(ETV6等)、RNA剪接相关基因(U2AF1等)、组蛋白修饰相关基因(EZH2、ASXL1等)、信号通路异常相关基因(MPL、NRAS等)突变的患者分别占37.5%、12.5%、25%、25%和12.5%。6例患者进行WES检测,均未检测到先天性噬血相关基因突变。此外,分析本中心169例髓系肿瘤不合并HLH患者WES结果,发现5例患者[3例原发性骨髓纤维化(PMF)、1例MDS、1例真性红细胞增多症]存在先天性噬血相关基因,其中4例为杂合突变(UNC13D突变3例,STX11突变1例),1例存在SH2D1A:p.A3S纯合错义点突变。

3. HLH的治疗及预后转归:单纯激素治疗2例,芦可替尼治疗2例,依托泊苷+地塞米松治疗2例,支持治疗2例。8例患者均已死亡,生存分析显示确诊HLH后中位OS

时间14(95%CI 3~25)d。M-HLH与Ch-HLH两组患者确诊HLH后中位OS时间分别为23(95%CI 0~48.8)d和14(95%CI 6~22)d。

讨论

M-HLH与Ch-HLH应分别看待,化疗后病毒、真菌和细菌感染可能是Ch-HLH的主要诱因^[5],髓系肿瘤包括骨髓增殖性肿瘤(MPN)、MDS及AML。基于不同髓系肿瘤在遗传学和表观遗传学相关基因突变有较多的重叠,本研究综合分析其合并HLH的临床特征及预后。

Delavigne等^[6]总结了343例接受化疗的AML患者,32例(10%)AML患者化疗期间合并HLH,其中24例(75%)有微生物学证据,合并HLH的AML患者中位OS时间为14.9个月,明显短于无HLH的AML患者(22.1个月)。Lackner等^[7]报道AML中M₅型更容易发生HLH(占有AML的30%),他们认为这种急性单核细胞白血病亚型对HLH的发展具有易感性,可能是由于单核细胞白血病细胞自身释放的细胞因子和噬血单核细胞过度激活所致。本研究5例合并HLH的AML患者中3例为M₅型,经包括病原学NGS检测等多种方法证实无任何感染证据,OS时间分别为14、

表1 髓系肿瘤合并HLH基本情况、治疗及确诊HLH后生存时间

例号	肿瘤类型	感 染	EB病 毒感染	发生HLH时 临床阶段	发生HLH时染色体核型	HLH治疗	HLH确 诊后生 存时间	基因突变情况
1	CMML	肺	无	初始阶段	46,XY[20]	芦可替尼	11 d	U2AF1 Exon2(I类,46.4%)、EZH2 Exon16 (I类,43.5%)、XPO1 Exon14(II类,42.7%)
2	MDS、 食管癌	肺	无	初始阶段	未检测	激素	92 d	TP53 Exon5(I类,71.5%)
3	AML-M _{2b}	无	无	初始阶段	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[14]/46, XY[6]	激素	214 d	KDM6A Intron18(II类,12.5%)、ZBTB7A Intron2(II类,45.1%)
4	Post-ET MF	肺	有	初始阶段	46,XY[20]	芦可替尼	23 d	NRAS Exon2(I类,12%)、MPL Exon10 (I类,51.46%)、ASXL1 Exon12(I类, 3.06%)、ETV6 Exon4(II类,15.91%)
5	AML-M ₅	肺	无	化疗期间	47,XY,+9[4]/47,XY,+21[3]/46,XY [13]	支持治疗	14 d	ARID1A Exon1(II类,52.78%)、POT1 Exon13(II类,50%)、NOTCH1 Exon34 (II类,53.85%)、KMT2D Exon31(II类, 45.28%)、STAT5B Exon19(II类,34.86%)
6	AML-M ₅ (MDS转)	无	无	化疗期间	dup(1),20q-,+8	支持治疗	9 d	U2AF1 Exon2(I类,42.2%)、KRAS Exon2 (I类,16.8%)、EP300 Exon10(II类,31.3%)
7	AML (MDS转)	无	无	疾病复发	der(3),der(5;17),der(7),-8,der(9), -12,-13,-15,-16,add(19q),+mar1, +mar2,+mar3	依托泊苷+ 地塞米松	8 d	TP53 Exon5(II类,41.73%)
8	AML-M ₅ (MDS转)	肺	无	化疗期间	+2,+3,+der(4),-5,+6,-7,add(8p), +9,+10,+11,+12,-13,add(16q),+17, +18,-19,add(19q)×2,+20,+21,+22	依托泊苷+ 地塞米松	19 d	TP53 Exon7(I类,78.85%)

注 HLH:噬血细胞性淋巴组织细胞增多症;CMML:慢性粒-单核细胞白血病;MDS:骨髓增生异常综合征;AML:急性髓系白血病;Post-ET MF:原发性血小板增多症继发骨髓纤维化;I类:与疾病密切相关的热点突变;II类:与疾病可能相关的突变

9、19 d。单核细胞白血病易发 HLH 的机制仍需要进一步深入研究。尽早识别高风险 HLH 的患者,积极治疗 AML 原发病,是提高 AML 合并 HLH 患者生存率的重要举措。

Sun 等^[8]发现 1 例 MDS 继发 HLH 患者存在 DNMT3A p.Arg736His (c.2207G>A) 和 DNMT3A p.Leu859Ter (c.2576T>A) 双等位基因突变,推测 DNMT3A 突变引起的表观遗传学异常导致与免疫失调相关的异常干细胞基因表达,从而增加了免疫失调和炎症反应,诱发 HLH。包括 TET2、ASXL1 和 DNMT3A 在内的髓系肿瘤特异性表观遗传学基因突变可诱导炎症小体激活^[9],并加剧炎症反应^[10],可能与 AML 患者 HLH 发生相关^[8]。与国外学者的研究结果不同,本研究 8 例患者中,仅 1 例检出 ASXL1 基因突变,未检测到 TET2 及 DNMT3A 基因突变;而 3 例(37.5%)患者检测出 TP53 基因突变。在另一项非霍奇金淋巴瘤诱发 HLH 研究中,约 21.24% 的患者伴随 TP53 突变^[11]。不同体细胞突变影响细胞 DNA 修复、转录因子、RNA 剪接、表观遗传学修饰、DNA 甲基化等过程^[12]。本研究我们发现,8 例合并 HLH 的髓系肿瘤患者中 3 例 TP53 异常,提示 DNA 修复异常可能与 HLH 有一定的相关性。

遗传学不稳定性是细胞中染色体数量和(或)结构异常的状态^[13]。髓系肿瘤合并 HLH 患者更容易合并核型异常,如+8 染色体异常^[8]。另有报道 1 例 AML 合并 HLH 患者伴有复杂核型 t(8;21;22)^[14],Farias 等^[15]报道 1 例 AML 患者化疗前染色体为 46,XX,化疗后患者发生 HLH 时染色体核型为 1p,2p,3p,6q,8p,10qter,16q,17q,提示遗传学的不稳定也可能诱发 HLH^[15]。本研究 8 例髓系肿瘤患者中,5 例存在核型异常,其中 1 例 AML(MDS 转)患者出现染色体核型演变,提示对于细胞遗传学不稳定的髓系肿瘤患者,应警惕 HLH 的发生。

原发性 HLH 主要是由于基因缺陷(如 PRF1、UNC13D 等基因突变)导致细胞毒性 T 细胞和 NK 细胞释放穿孔素及颗粒酶等功能受损,从而不能有效杀伤靶细胞,引发过度免疫激活,其主要发生于儿童,多有明确的 HLH 家族史^[1]。本研究 8 例合并 HLH 的髓系肿瘤患者中 6 例进行 WES 检测,均未发现噬血相关基因突变,暂不考虑先天性因素导致的 HLH。我中心 169 例进行 WES 的髓系肿瘤患者中,5 例发现了 HLH 相关基因突变,其中 4 例为杂合突变,1 例 PMF 患者存在 SH2D1A:p.A3S 纯合错义点突变。但是此 5 例患者并没有发生 HLH。而因此,噬血相关基因突变在髓系肿瘤发生 HLH 的风险意义有待进一步验证。

总之,髓系肿瘤相关 HLH 预后极差,遗传学的不稳定、TP53 等基因突变与髓系肿瘤并发 HLH 相关性有待进一步研究。噬血相关基因突变在髓系肿瘤患者中发生 HLH 的风险预测需要更多探索。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 李艳旗:采集数据、分析/解释数据、起草文章;白洁:酝酿并设计研究、文章审阅、指导;其他作者:协助研究

参考文献

[1] Usmani GN, Woda BA, Newburger PE. Advances in understand-

ing the pathogenesis of HLH[J]. Br J Haematol, 2013, 161(5): 609-622. DOI: 10.1111/bjh.12293.

- [2] Schram AM, Comstock P, Campo M, et al. Haemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a multicentre case series over 7 years[J]. Br J Haematol, 2016, 172(3):412-419. DOI: 10.1111/bjh.13837.
- [3] 郑鑫琪,朱华渊,李建勇. 淋巴瘤相关噬血细胞综合征研究进展[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(9): 788-792. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.09.019.
- [4] Arber DA, 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. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- [5] Lehmborg K, Nichols KE, Henter JI, et al. Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies[J]. Haematologica, 2015, 100(8):997-1004. DOI: 10.3324/haematol.2015.123562.
- [6] Delavigne K, Bérard E, Bertoli S, et al. Hemophagocytic syndrome in patients with acute myeloid leukemia undergoing intensive chemotherapy[J]. Haematologica, 2014, 99(3):474-480. DOI: 10.3324/haematol.2013.097394.
- [7] Lackner H, Seidel MG, Strenger V, et al. Hemophagocytic syndrome in children with acute monoclonal leukemia- another cause of fever of unknown origin[J]. Support Care Cancer, 2013, 21(12):3519-3523. DOI: 10.1007/s00520-013-1937-x.
- [8] Sun Y, Blieden C, Merritt BY, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis and myelodysplastic syndrome: a case report and review of the literature[J]. J Med Case Rep, 2021, 15(1):98. DOI: 10.1186/s13256-020-02623-2.
- [9] Pan F, Weeks O, Yang FC, et al. The TET2 interactors and their links to hematological malignancies[J]. IUBMB Life, 2015, 67(6):438-445. DOI: 10.1002/iub.1389.
- [10] Lu R, Wang P, Parton T, et al. Epigenetic Perturbations by Arg882-Mutated DNMT3A Potentiate Aberrant Stem Cell Gene-Expression Program and Acute Leukemia Development[J]. Cancer Cell, 2016, 30(1):92-107. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.05.008.
- [11] Li B, Guo J, Li T, et al. Clinical Characteristics of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Associated with Non-Hodgkin B-Cell Lymphoma: A Multicenter Retrospective Study[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2021, 21(2):e198-e205. DOI: 10.1016/j.clml.2020.10.009.
- [12] Patel U, Luthra R, Medeiros LJ, et al. Diagnostic, Prognostic, and Predictive Utility of Recurrent Somatic Mutations in Myeloid Neoplasms[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2017, 17S:S62-S74. DOI: 10.1016/j.clml.2017.02.015.
- [13] Venkatesan S, Natarajan AT, Hande MP. Chromosomal instability--mechanisms and consequences[J]. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen, 2015, 793:176-184. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2015.08.008.
- [14] Wu Y, Xu J, Shen K, et al. Acute myeloid leukemia with new complex t(8;21;22) induced hemophagocytic lymphohistiocytosis: A case report[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(44): e12762. DOI: 10.1097/MD.00000000000012762.
- [15] Farias MG, Freitas P, Spagnol F, et al. Hemophagocytosis by blasts in a child with acute monocytic leukemia after chemotherapy[J]. Rev Paul Pediatr, 2021, 39:e2019290. DOI: 10.1590/1984-0462/2021/39/2019290.

(收稿日期:2023-03-19)

(本文编辑:刘爽)

