

二代测序在急性髓系白血病中的应用价值

赵芳

(大同市第三人民医院, 山西 大同 037008)

摘要:目的 分析二代测序在急性髓系白血病中的应用价值。方法 本文所选 60 例初发急性髓系白血病患者均为我院 2017 年 12 月至 2018 年 5 月所收治, 选择二代测序芯片对相关基因突变进行检测。结果 急性髓系白血病患者突变率最高的基因为 TET2, 其次则为 CEBPA、DNMT3A、C-KIT、FLT3。除 CEBPA 和 TP53 基因外, 其他基因均存在特定突变位点。7 例急性髓系白血病患者进行复检, 结果发现和初发时比较, 缓解时 CEBPA、C-KIT 和 FLT3 基因突变均转阴, 伴随的 TET2 基因突变率则无显著变化。结论 急性髓系白血病存在特定突变位点和突变基因, 可以将 CEBPA 等基因突变当成监测急性髓系白血病中微小残留白血病的有效指标。

关键词: 二代测序; 急性髓系白血病; 基因突变

中图分类号: R733.7

文献标识码: B

DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2018.75.110

本文引用格式: 赵芳. 二代测序在急性髓系白血病中的应用价值[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(75): 141+144.

0 引言

急性髓系白血病是一组具有较高异质性的血液肿瘤, 现阶段的治疗失败率较高, 所以对急性髓系白血病患者的分子遗传学信息进行了解, 结合患者的具体情况为其提供个体化的治疗就显得非常关键。分子遗传学研究结果显示, NPM1、CEBPA、FLT3 等与急性髓系白血病患者的预后有直接关系, 采用基因突变的危险分层系统能更加准确地判断急性髓系白血病患者的预后, 而对于同一危险层内的个体来讲, 其生存差异较大, 所以应对与急性髓系白血病患者预后相关的基因突变进行深入研究^[1]。本研究主要分析了二代测序在急性髓系白血病中的应用价值, 具体情况如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料。本文所选 60 例初发急性髓系白血病患者均为我院 2017 年 12 月至 2018 年 5 月所收治, 其中男 32 例, 女 28 例; 患者年龄为 23-66 岁, 平均 (41.1±3.5) 岁; 28 例患者为 M2 型, 3 例患者为 M4 型, 6 例患者为 M5 型, 23 例患者未分型。全部患者均经融合基因、染色体、免疫表型、骨髓细胞学检测, 满足急性髓系白血病的相关诊断标准和分型标准。

1.2 方法。抽取患者 2-4 mL 髂骨骨髓, 进行 EDTA 抗凝, 选择人淋巴细胞分离液对骨髓单个核细胞进行收集, 选择生理盐水对单个核细胞进行洗涤, 按照 DNA 提取试剂盒说明书来对 DNA 进行提取。选取 DNA1 μg, 选择二代测序芯片突变检测基因, 检测基因为 JAK2、ETV6、SETBPI、CBL、NRAS、ZRSR2、U2AF1、SRSF2、SF2B1、TP53、PHF6、ASXL1、AML1、EZH2、TET2、IDH2、IDH1、DNMT3A、CEBPA、C-KIT、NPM1、FLT3。

1.3 统计学分析。选择 SPSS 软件来分析和统计本实验相关数据, 计数资料选择卡方检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因突变及其特点分析。全部 60 例急性髓系白血病患者中, 有 50 例患者检测到至少 1 个突变基因。阳性率最高的基因为 TET2, 其次则分别为 CEBPA、NRAS、FLT3-ITD、C-KIT、DNMT3A、ASXL1、CBL、TP53、SRSF2 的阳性率较低, NPM1、IDH2、IDH1 基因均存在 1 例突变阳性, 其他基因没有出现阳性患者; 具体情况如表 1。在具有较高突变率的基因中, 除 CEBPA、TP53 不存在特点突变位点外, 其他基因均存在特定突变点, TET2 的特定突变位点主要为 V218M、I1762V、P29R; DNMT3A 的特点突变点主要为 F868V。

表 1 基因阳性率观察 (n=60)

检测基因	阳性例数 (n)	阳性率 (%)
TET2	33	55.0
CEBPA	7	11.7
NRAS	5	8.3
FLT3-ITD	5	8.3
C-KIT	5	8.3
DNMT3A	5	8.3
SRSF2	4	6.7
TP53	3	5.0
CBL	3	5.0
ASXL1	2	3.3
NPM1	1	1.7
IDH1	1	1.7
IDH2	1	1.7

2.2 微小残留白血病监测和复发预测。7 例急性髓系白血病患者进行复检, 结果发现和初发时比较, 缓解时 CEBPA、C-KIT 和 FLT3 基因突变均转阴, 伴随的 TET2 基因突变率则无显著变化。

3 讨论

二代测序也被称之为深度测序或者高通量测序, 1 次能分析和测定几十万到几百万条 DNA 片段, 其特点主要为高通量性, 同时敏感性也更理想, 能相对定量^[2]。二代测序在临床中的应用, 能让科研快速转化为临床, 特别是特定目的基因外显子测序, 对于检测急性髓系白血病相关基因突变非常重要。急性髓系白血病的发生为多基因、多步骤的参与过程, 应同时检测与急性髓系白血病发生、发展相关的多个基因突变, 部分基因需检测多个片段, 同时部分突变位点的突变率不高, 采用一代测序无法有效完成。有临床研究发现, 和一代测序相比较, 二代测序能有效提高基因的阳性率; 二代测序具有更高的敏感性, 能对 0.1% 的突变进行检测, 而且二代测序具有更加广泛的覆盖区域, 能对更多的突变位点进行检测。

急性髓系白血病作为血液系统恶性肿瘤, 是一种异质性较高的多基因疾病, 克隆演变为多基因突变、顺序性的积累过程, 就算患者的细胞核型无异常, 但是因为患者的突变基因存在差异, 所以其预后也存在差异。所以在评估急性髓系白血

(下转第 144 页)

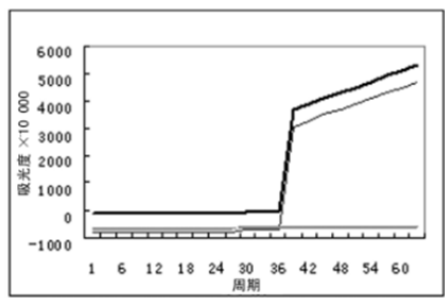


图5 ALP试剂空白正常反应曲线

时缓慢的趋于平缓,曲线呈下降说明在标本中的ALT浓度较高,曲线呈水平说明试剂底物被消耗殆尽,此时检测的吸光度不准确,将标本进行稀释8倍后再进行测定,当经过稀释后检测的反应曲线仍显示异常情况时,需要将稀释倍数加大至20-25倍,直到曲线恢复正常。

3 讨论

贝克曼 AU5800 是美国生产的,通过自主设计,具有自主知识产权,目前我国医院生化仪中,占比最高,使用率最高,其中的反应曲线是其中的亮点,通过将反应数据提供、对反应曲线绘制的方式,提供完成的反应过程,为问题的发现以及解决提供线索,反应曲线的不同,能够将标本、试剂、仪器的状态以及质量准确的反应出来,能够帮助医务人员在标本、质控、定标检测中发现问题,保障检测结果的准确性,

有效地减少医疗纠纷事件的出现率。在对反应曲线分析中,能够发现平时不易被发现的问题,其中定标反应曲线以及试剂空白均需要研究分析,避免因异常情况而导致系统出现的误差,当临床标本以及质控结果均无异常情况时,需要在多个项目反应曲线中进行随机抽取,并对其进行分析,当临床标本检测结果或者质控结果出现失控情况时,需要对其反应曲线进行分析,能够快速寻找到其中的因素以及正确的检测结果^[2]。在诸多问题中,仍然存在反应曲线不能反应的问题,其中包括了试剂加入较少、标本加入较少等情况,此时的反应曲线不会出现明显的异常,需要通过其他检测、验证方式对问题进行发现^[3]。

综上所述,在检验科中质量非常重要,需要将其中检验环节进行掌握,为临床提供准确的信息,临床生化检验中,反应曲线能够及时发现出现异常的原因,以及对检测结果能够进行正确的评价,因此临床生活检验工作人员需要更好的掌握、应用反应曲线。

参考文献

- [1] 赵文芳.反应曲线应用于临床生化检验中的价值评价[J].临床医药文献电子杂志,2016,3(23):4669.
- [2] 贾良勇,李慧,杜伟平,等.溶血反应对临床生化检验结果的影响分析[J].现代生物医学进展,2016,16(33):6564-6566.
- [3] 唐敬强,姚思薇,刘丽梅.全自动生化检验微量反应检测技术研究与应用[J].实用临床医学,2016,17(3):8-9.

(上接第141页)

病患者的预后时,还应分析多基因突变结果,二代测序因为具有高敏感性和高通量特点,所以能更加准确的进行预后分层,而且能对基因突变类型进行更加准确地了解。在急性髓系白血病的发生、发展过程中,虽然所参与的基因较多,但是不同疾病的各基因突变率却存在差异。本研究中,全部60例急性髓系白血病患者中,有50例患者检测到至少1个突变基因。阳性率最高的基因为TET2,其次则分别为CEBPA、NRAS、FLT3-ITD、C-KIT、DNMT3A、ASXL1、CBL、TP53、SRSF2的阳性率较低,NPM1、IDH2、IDH1基因均存在1例突变阳性,其他基因没有出现阳性患者。

现阶段临床在对急性髓系白血病患者的临床治疗效果进行评估时,诱导化疗后骨髓相中幼稚细胞百分率是非常重要的一项指标,然而从形态学上无法对原始细胞增加数进行准确统计,骨髓细胞还可能发生生理性增加。所以在对疾病负荷进行检测时,荧光定量PCR和流式细胞术的应用越来越广泛,但是对于急性髓系白血病患者来讲,荧光定量PCR检测主要依靠RNA水平定量,同时局限于存在特定基因重排的急性髓系白血病患者。采用二代测序能定量检测基因突变,

在对肿瘤负荷进行监测时,二代测序具有较高的灵敏度和特异性。所以对于无特定融合基因的急性髓系白血病患者来讲,可以选择基因突变率来监测微小残留病。本研究中,7例急性髓系白血病患者进行复检,结果发现和初发时比较,缓解时CEBPA、C-KIT和FLT3基因突变均转阴;结果显示这些基因与急性髓系白血病的进展密切相关,可以将其突变率当成微小残留白血病的指标,进而来对临床疗效和患者预后进行评估。另外伴随的TET2基因突变率则无显著变化,结果选择TET2可用于评估患者预后,不合适将其当成监测微小残留白血病的指标。

总之,选择二代测序监测急性髓系白血病患者的异常基因突变,不但能为临床诊断提供科学依据,同时还能对危险度进行分层,进而来对预后进行评估。急性髓系白血病中的基因突变率还能对治疗效果进行评估,进而来对治疗方案进行调整。

参考文献

- [1] 黄赛,冯聪,李艳等.t(8;21)白血病的发病机制及二代测序技术在白血病中的应用进展[J].解放军医学杂志,2017,42(05):472-476.
- [2] 马亮,姜永玮,王少婷,等.高通量测序在FLT3-ITD阳性急性髓系细胞白血病患者中的应用[J].中国实验血液学杂志,2016,24(02):381-387.

(上接第142页)

CD13的高表达显著高于I期-II期($P < 0.05$);但其具体的分子作用和机制仍需深入研究、探索。

参考文献

- [1] 许遵营,吕海,史本超,等.TAp73和Beclin1在人骨肉瘤中表达及

其临床意义[J].中国临床解剖学杂志,2016,(1):68-72.

- [2] 陈翔,黄路,张中卒,等.miR-140在骨肉瘤组织中表达降低及其过表达可促进骨肉瘤U2细胞的凋亡[J].基础医学与临床,2016,36(4):439-444.