

# 血液病融合

刘红星, 陈雪, 王芳, 等. 转录组测序在血液肿瘤中的应用进展[J]. 白血病. 淋巴瘤, 2019, 28(12): 705-708.

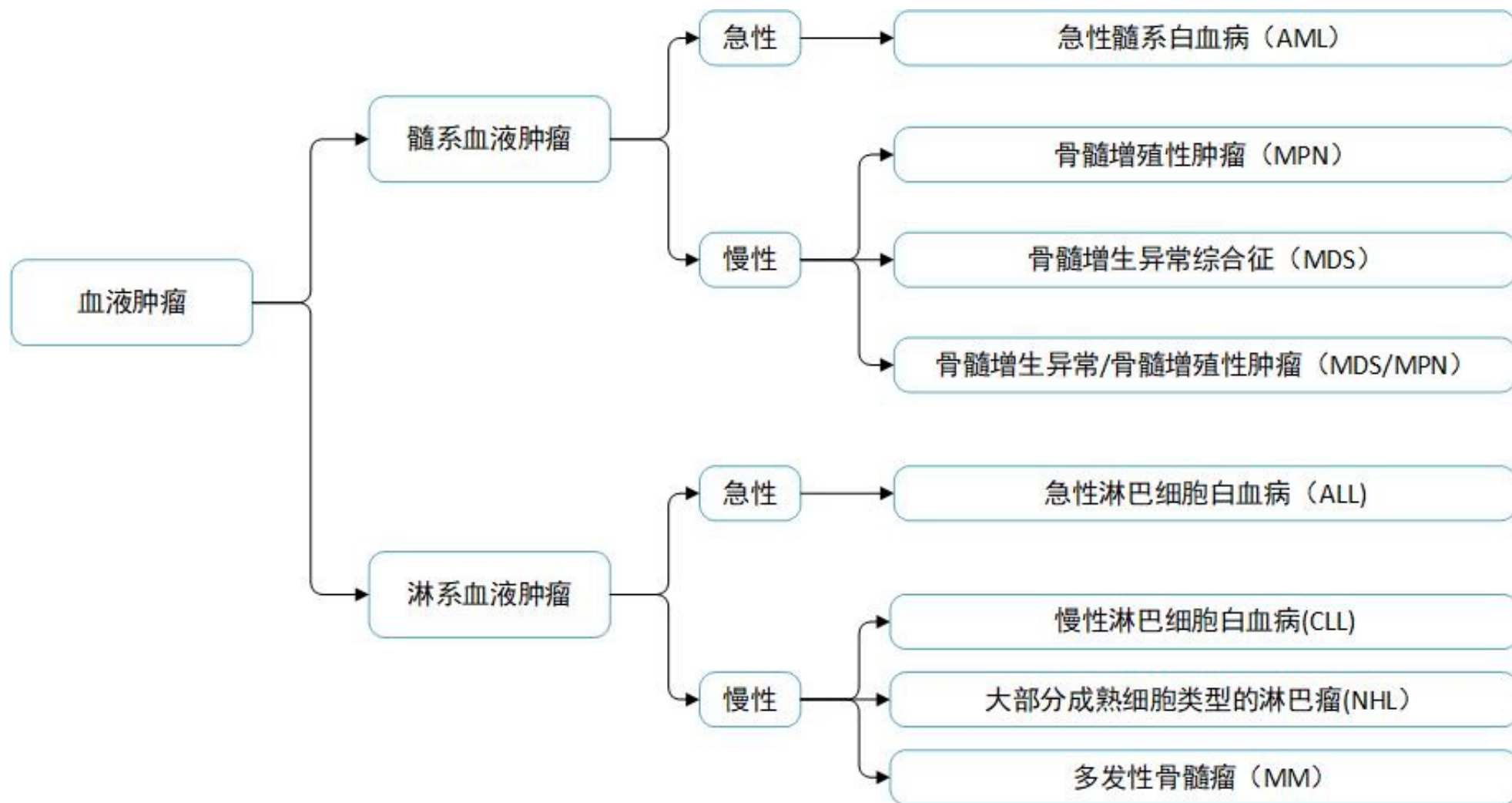
# 命名规则

- 病程和细胞停留阶段：急性 (**Acute**) 和慢性 (**Chronic**)
- 细胞类型：髓系 (**Myeloid**) 和淋系 (**lymph**)
- “病程” + “细胞类型” + 疾病名称
  - AML：急性+髓系+白血病，简称急髓
  - CLL：慢性+淋系+白血病，简称慢淋

# 命名规则

- 特定类型：
- ① **MDS**：骨髓增生异常综合征
- ② **MPN**：骨髓增殖性肿瘤
- ③ **MM**：多发性骨髓瘤

# 血液肿瘤简要分类



# NGS在血液肿瘤诊疗中的应用价值



## 设计理念:

- ◆ 诊疗指南、专家共识中要求检测基因
- ◆ 国际权威文献推荐检测基因
- ◆ 依据临床大样本自建数据库

## 临床指导意义

### 风险预后评估

例: *JAK2*、*MPL*、*CARL* (MPN诊断)

- *KRAS*、*NRAS*、*BRAF* (MM)
- *SF3B1* (MDS)
- *MYD88*、*CXCR4* (LPL)
- *BRAF* (HCL)

### 诊断分型

- 例: *NPM1*、*FLT3*、*CEBPA*、*RUNX1*、*TP53* (AML)
- *IKZF1* (ALL)
- *BIRC3* (CLL)
- *DNMT3A*、*ASXL1* (MDS)
- *U2AF1*、*SRSF2* (PMF)
- *ASXL1* / *SRSF2* / *IDH1/2* (PV)
- 等等

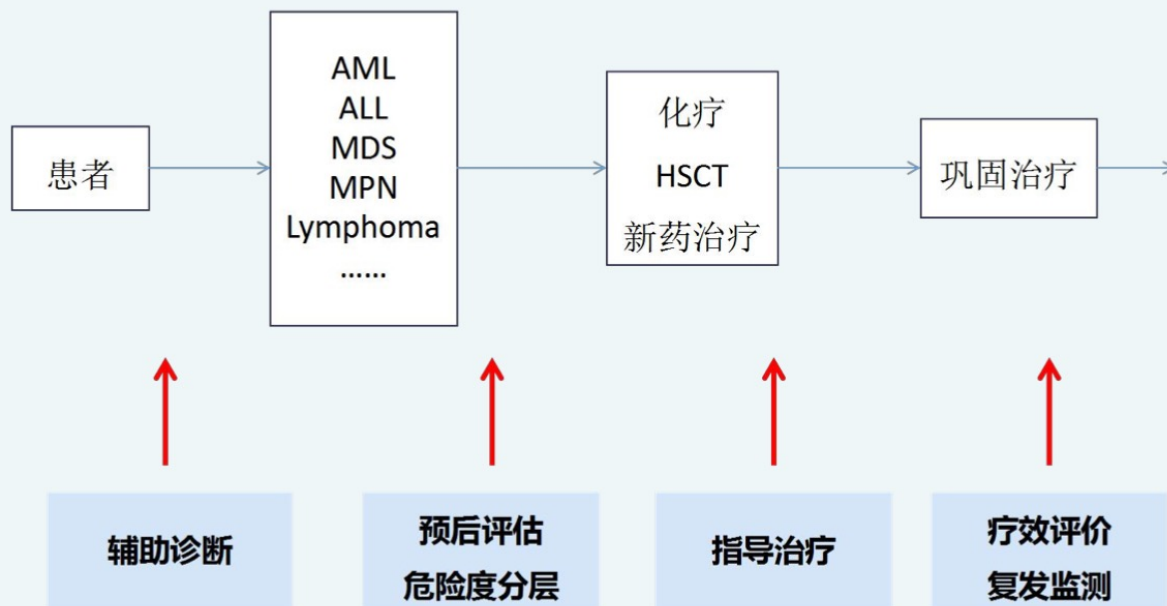
例: *JAK2* (芦可替尼)

- *ABL1* (TKI 类)
- *IDH1/2* (IDH1/2 抑制剂)
- *BCL2* (BCL2 抑制剂)
- *FLT3* (FLT3 抑制剂)
- 淋巴瘤 ABC 亚型 (伊布替尼)

### 用药指导

### 动态监测

- *NOTCH1* (*NOTCH1* 突变的 CLL 患者具有更高的 Richter's 转化倾向)
- *U2AF1* (与 MDS 疾病进展、白血病转化及较差预后相关)
- *JAK2* (与血栓形成、进展为骨髓纤维化或白血病以及死亡相关)



全面了解血液肿瘤基因突变现状及动态

精细诊断分型、评估预后、制定个体化治疗方案

# NGS在血液肿瘤诊疗中的应用价值（一）

## 诊断分型

- M 形态学诊断
  - 细胞学：外周血、骨髓涂片、淋巴结穿刺
  - 组织学：骨髓、淋巴结活检
- I 免疫学检查
  - 免疫组化（IHC）
  - 流式细胞（FCM）
- C 细胞遗传学检查
  - 核型分析
  - 荧光原位杂交（FISH）
- M 分子生物学检查
  - PCR
  - DNA测序

检测项目	检测内容	样本要求
病理学检查 (M)	淋巴结活检	病灶处活检 (手术切除/细针/空心针穿刺)
免疫表型检查 (I)	免疫组化 (IHC) 流式细胞术 (FCM)	免疫组化需用组织样本 (大多数淋巴瘤类型) 流式细胞术需用外周血 (CLL/SLL) 或骨髓样本 (骨髓侵犯)
细胞遗传学 (C)	FISH	既可用组织样本 (大多数淋巴瘤类型) 也可用外周血/骨髓样本 (CLL/SLL) 或骨髓样本 (骨髓侵犯)
分子生物学 (M)	克隆性基因重排 特异性基因突变	既可用组织样本 (大多数淋巴瘤类型) 也可用外周血/骨髓样本 (CLL/SLL) 或骨髓样本 (骨髓侵犯)



# 分辨率

- 二代测序(1bp)>FISH (10Kb)>核型分析(5Mb)
- 形态学能检测到  $10^{-2}$  水平的白血病细胞;
- MFC 可达  $10^{-4}$  检测水平;
- PCR 检测过表达基因(GE-PCR), 如 WT1 可检测到  $10^{-4}$  水平白血病细胞的存在, 检测融合基因 (如核心结合因子) 和特殊突变 (NPM1 突变) 可达到  $10^{-6}$  检验水平
- NGS 可达到  $10^{-6}$  检验水平

# NGS在血液病中的临床应用：（二）

## 预后分层（针对AML）

预后分层	遗传学异常
预后良好	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) 或 t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 NPM1突变不伴或低水平FLT3-ITD CEBPA双突变
预后中等	NPM1 突变伴高水平FLT3-ITD 野生型NPM1 不伴或低水平 FLT3-ITD t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A 无良好或不良的细胞遗传学异常
预后不良	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A 重排 t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) 或 t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2,MECO -5 或del(5q); -7; -17/abn(17p) 复杂核型或单倍体核型 野生型NPM1 伴高水平FLT3-ITD RUNX1突变 ASXL1突变 TP53突变



National  
Comprehensive  
Cancer  
Network®

### NCCN Guidelines Version 3.2020 Acute Myeloid Leukemia (Age ≥18 years)

[NCCN Guidelines Index](#)  
[Table of Contents](#)  
[Discussion](#)

RISK STRATIFICATION BY GENETICS IN NON-APL AML<sup>1,2</sup>

Risk Category*	Genetic Abnormality
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11 Biallelic mutated CEBPA Mutated NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD <sup>low</sup> †
Intermediate	Mutated NPM1 and FLT3-ITD <sup>high</sup> † Wild-type NPM1 without FLT3-ITD or with FLT3-ITD <sup>low</sup> † (without adverse-risk genetic lesions) t(9;11)(p21.3;q23.3); MLLT3-KMT2A‡ Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Poor/Adverse	t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214 t(v;11q23.3); KMT2A rearranged t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2,MECOM(EVI1) -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Complex karyotype,§ monosomal karyotype   Wild-type NPM1 and FLT3-ITD <sup>high</sup> † Mutated RUNX1¶ Mutated ASXL1¶ Mutated TP53#

# NGS在血液肿瘤诊疗中的应用价值

## 指导治疗—靶向用药

疾病名称	药物靶点	靶向药物名称	美国上市时间	中国是否上市
多发性骨髓瘤	proteasome	硼替佐米 Bortezomib (Velcade®)	2003	✓
		卡菲司米托 carfilzomib (Kymprolis®)	2012	✗
		ixazomib citrate (Ninlaro®)	2015	
	pan-HDAC	泛谱他宁 panobinostat (Farydak®)	2015	
	CD38	达雷木单抗 daratumumab (Darzalex™)	2013	
	SLAMF7 (CS1/CD319/CRAC)	埃罗妥珠单抗 elotuzumab (Empliciti™)	2014	
骨巨细胞瘤	RANKL	狄诺塞麦 Denosumab (Xgeva®)	2010	
淋巴瘤	BTK	伊鲁替尼, ibrutinib (Imbruvica®)	2015	✗
	CD20	替伊莫单抗, Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®)	2002	
		利妥西单抗, rituximab (Rituxan®)	1997	✓
		Tositumomab (忒西莫单抗)	2003	✗
		奥滨尤妥珠单抗, obinutuzumab (Gazyva®)	2013	
	CD30	本妥西单抗, brentuximab vedotin (Adcetris®)	2011	
	HDAC	贝利司他, belinostat (Beleodaq®)	2014	
		罗米地辛, romidepsin (Istodax®)	2011	

- TP53 突变的 CLL/SLL 患者对常规化疗反应差；
- MYD88 和 CXCR4 基因突变可影响伊布替尼在LPL/WM 中的治疗效果；
- ABL1 激酶区突变是慢性髓性白血病（CML）和 Ph+ ALL 酪氨酸激酶抑制剂（TKI）耐受的主要机制之一。

# 血液肿瘤相关的靶向药

表3：中美淋巴瘤/白血病上市药物对照，红色为国内未上市药物

适应症	靶点/疗法	中国已上市	美国已上市
CHL	PD-1	Opdivo, Keytruda (均未获批CHL适应症)	Opdivo, Keytruda, Libtayo (L药尚未获得CHL适应症)
B细胞非霍奇金淋巴瘤 (包括多发性骨髓瘤) 及 ALL、CLL	CD20	利妥昔单抗	利妥昔单抗, 替伊莫单抗, 奥法木单抗, 阿托珠单抗等
	BTK	伊鲁替尼	伊鲁替尼, Acalabrutinib
	PI3K	无	Idelalisib, Copanlisib, Duvelisib
	免疫调节剂	沙利度胺, 来那度胺	沙利度胺, 来那度胺, 泊马度胺
	蛋白酶体抑制剂	硼替佐米, 伊沙佐米	硼替佐米, 伊沙佐米, 卡非佐米
	CAR-T疗法	无	KYMRIAHA, YESCARTA
	双抗	无	Blinatumomab
T/NK细胞淋巴瘤	BCL-2	无	Venetoclax
	HDAC	西达苯胺	贝利司他, 罗米地辛
	CD30	无	本妥昔
髓系白血病 (CML, AML)	ABL	伊马替尼, 达沙替尼, 尼洛替尼	伊马替尼, 达沙替尼, 尼洛替尼, 博舒替尼, 泊那替尼
	FLT3	舒尼替尼, 索拉非尼 (但这疗效均不理想)	舒尼替尼, 索拉非尼, 米哚妥林
	IDH1/2	无	Ivosidenib, Enasidenib



依据突变信息，提供临床用药指导

疾病	靶点	靶向药	中国 是否 上市
白血病	KIT	Imatinib (伊马替尼)	√
		PDGFR	
	ABL	Nilotinib (尼洛替尼)	√
		Dasatinib (达沙替尼)	√
	FGFR1-3	Bosutinib (博舒替尼)	×
	FLT3	Ponatinib (普纳替尼)	×
	VEGFR2		
	BTK	Ibrutinib (依鲁替尼)	×
		Obinutuzumab (奥滨尤妥珠单抗)	×
	CD20	Ofatumumab (奥法木单抗)	×
		Rituximab (利妥昔单抗)	√
	CD52	Alemtuzumab (阿仑单抗)	×
	PI3Kδ	Idelalisib	×
	CD19	Blinatumomab	×
	CD3		
	BCL2	Venetoclax	×

DRUGBANK

Browse

Search

Downloads

About

Help

Contact Us

Search

Drugs

Q

DRUGBANK

DrugBank Version 5.0

The DrugBank database is a unique bioinformatics and cheminformatics resource that combines detailed drug (i.e. chemical, pharmacological and pharmaceutical) data with comprehensive drug target (i.e. sequence, structure, and pathway) information. The database contains 9591 drug entries including 2037 FDA-approved small molecule drugs, 241 FDA-approved biotech (protein/peptide) drugs, 96 nutraceuticals and over 6000 experimental drugs. Additionally, 4661 non-redundant protein (i.e. drug target/enzyme/transporter/carrier) sequences are linked to these drug entries. Each DrugCard entry contains more than 200 data fields with half of the information being devoted to drug/chemical data and the other half devoted to drug target or protein data.

Search DrugBank

Drugs

Q Search

DrugBank is offered to the public as a freely available resource. Use and re-distribution of the data, in whole or in part, for commercial purposes (including internal use) requires a license. We ask that users who download significant portions of the database cite the DrugBank paper in any resulting publications.

Citing DrugBank:

Law V, Knox C, Djoumbou Y, Jewison T, Guo AC, Liu Y, Maciejewski A, Arndt D, Wilson M, Neveu V, Tang A, Gabriel G, Ly C, Adamjee S, Dame ZT, Han B, Zhou Y, Wishart DS. *DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism*. Nucleic Acids Res. 2014 Jan 1;42(1):D1091-7. [24203711](#)

Knox C, Law V, Jewison T, Liu P, Ly S, Frolkis A, Pon A, Banco K, Mak C, Neveu V, Djoumbou Y, Eisner R, Guo AC, Wishart DS. *DrugBank 3.0: a comprehensive resource for 'omics' research on drugs*. Nucleic Acids Res. 2011 Jan;39(Database issue):D1035-41. [21059682](#)

Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, Gautam B, Hassanali M. *DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets*. Nucleic Acids Res. 2008

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

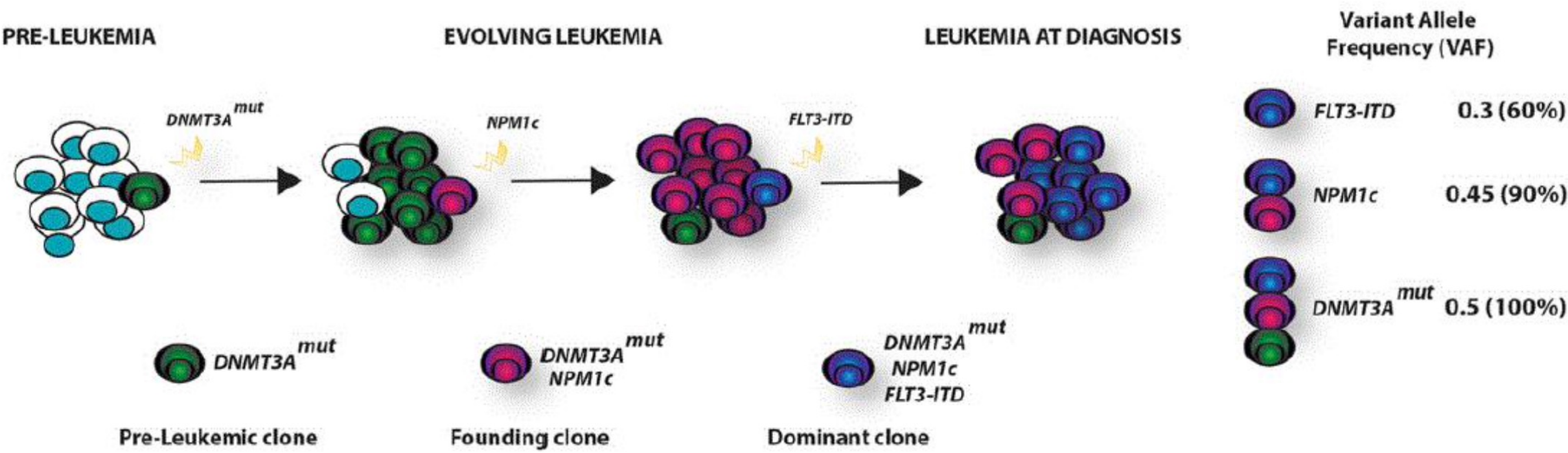
# NGS在血液肿瘤诊疗中的应用价值

## 微小残留病（MRD）监测

- 主流方法：多参数流式细胞术、RQ-PCR
- NGS检测优势：
  - 多基因同时检测；
  - 突变比例定量；
  - 提高测序深度可以提高灵敏度；

# NGS在血液肿瘤诊疗中的应用价值

## 克隆演变



### 多次打击学说-多基因突变累积

- 及时监测基因改变，有助于了解疾病进展并调整治疗方案。

# 二代测序技术在血液肿瘤中的应用中国专家共识

血液肿瘤	必要检测基因			推荐检测基因
	诊断及鉴别诊断	预后判定	指导治疗	
AML	NPM1、CEBPA、RUNX1	KIT、FLT3、NPM1、CEBPA、IDH1/2、TP53、RUNX1、ASXL1、DNMT3A、SF3B1、U2AF1、SRSF2、ZRSR2、EZH2、BCOR、STAG2	FLT3、IDH1/2、NPM1、KIT	NRAS、KRAS、PHF6、WT1、CSF3R、PTPN11、ZBTB7A、KDM6A、DHX15、TET2、ASXL2、DDX41、ANKRD26、ETV6、GATA1、GATA2、SRP72、KMT2A、RAD21、SMC1A、SMC3
ALL		IKZF1、TP53、NOTCH1、FBXW7	ABL1、JAK3、JAK1	NRAS、KRAS、FLT3、IL7R、SH2B3、BRAF、GATA3、ETV6、RUNX1、EP300、PAX5、RB1、JAK2、CDKN2A/B
MPN	JAK2、CALR、MPL、CSF3R、ASXL1、EZH2、TET2、IDH1/2、SRSF2、SF3B1	JAK2、CALR、MPL、ASXL1、EZH2、IDH1/2、SRSF2、TP53、SH2B3、SF3B1、U2AF1、ABL1	JAK2、CSF3R、ABL1	DNMT3A、CBL
MDS	SF3B1、TET2、ASXL1、DNMT3A、SRSF2、RUNX1、TP53、U2AF1、EZH2、ZRSR2、STAG2、CBL、NRAS、JAK2、SETBP1、IDH1/2、ETV6	ASXL1、EZH2、SF3B1、SRSF2、U2AF1、ZRSR2、RUNX1、TP53、STAG2、NRAS、ETV6、SETBP1、BCOR、FLT3、WT1、STAT3	TET2、STAT3、TP53	KRAS、PPM1D、GATA2、DDX41、PHF6
MDS/MPN	TET2、SRSF2、ASXL1、RUNX1、NRAS、CBL、SETBP1、ETNK1、PTPN11、NF1、KRAS、JAK2、JAK3、SF3B1、MPL、CALR	ASXL1、EZH2、SRSF2、SETBP1、BCOR、JAK3	JAK2	U2AF1、ZRSR2、TP53、ETV6
B细胞淋巴瘤	TP53、MYD88、BRAF、MAPK1、CXCR4、TCF3、ID3、BCL6、MAP2K1、NOTCH2、KMT2D、KLF2、SPEN	TP53、SF3B1、ATM、BIRC3、NOTCH1/2、KLF2、BCL6	TP53、BTK、PLCG2、NOTCH1、SF3B1、BIRC3、MYD88、CXCR4、BCL6、BCL2	TNFAIP3、CD79A/B、EZH2、ARID1A、MEF2B、PTEN、GNA13、B2M、CD58、CREBBP、EP300、FOXO1、KMT2C、CCND1、CARD11、PTPRD
T/NK细胞淋巴瘤	STAT3、STAT5B、ATM、JAK1	STAT5B		BRAF、KMT2D、KDM6A、ARID1B、DNMT3A、CREBBP、KMT2A、ARID2、TNFAIP3、APC、CHD8、ZAP70、NF1、TNFRSF14、TRAF3、TP53、FOXO1、BCORL1、TET2、IDH2、RHOA、CD28
胚系基因突伴髓系肿瘤易感	CEBPA、DDX41、ATG2B、GSKIP、ANKRD26、ETV6、GATA2、RUNX1、SAMD9、SAMD9L、SRP72			EPCAM、MLH1、MSH2、MSH6、PMS2、BRCA1、BRCA2、TP53、CBL、KRAS、NF1、PTPN11、BLM



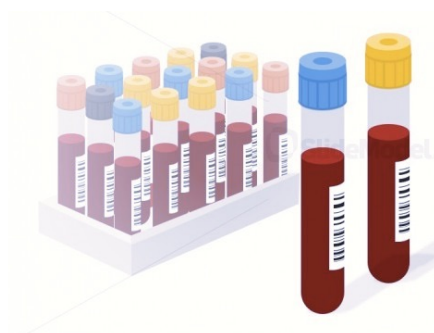
# Comprehensive Genomic Profiling: DNA+RNA

## Identify mutations in hematologic malignancies

样本制备

上机测序

数据分析



**SNV**  
Single Nucleotide Variant



**Indel**  
Insertion or Deletion



**Fusion**



**CNV**  
Copy Number Variant

### 多种变异检测类型

illumina®

# 重点突破血液病检测难点： 结合多种算法提高检测准确度

## *Gene fusion*



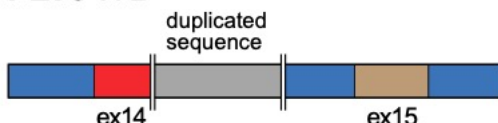
Dragen  
fusioncatcher  
pizzly  
arriba  
STAR-Fusion

## *FLT3-ITD mutations*

*FLT3* DNA



*FLT3* ITD



Dragen  
ScanITD  
FLT3\_ITD\_ext  
Pindel

Haas B J, Dobin A, Li B, et al. Accuracy assessment of fusion transcript detection via read-mapping and de novo fusion transcript assembly-based methods[J]. Genome biology, 2019, 20(1): 213.

Yuan D , He X , Han X , et al. Comprehensive review and evaluation of computational methods for identifying FLT3-internal tandem duplication in acute myeloid leukaemia[J]. Briefings in Bioinformatics, 2021