**单中心基因检测确诊的23例JMML临床特征和预后分析**

**[摘要]目的**：总结我院幼年粒单核细胞白血病（juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）不同基因突变类型及其临床、预后特征，以期提高早期诊断水平。**方法：**回顾性分析我院2014年6月至2018年5月收治的23例经基因检测确诊的JMML患儿临床特征及实验室检查资料；采用Kaplan-Meier方法分析患儿2年总体生存率（overall survival, OS），并行log-rank检验比较不同基因突变组JMML患儿的生存率。**结果：**1. 本研究共纳入 JMML患儿23例，占同期我院诊断儿童白血病的 3.1%（23/739）。其中，男性14例，女性9例，男女比例1.6:1，中位发病年龄1.8岁（0.1~12.9岁）。2. 常见临床表现依次有：血小板减少（95.7%，22/23），单核细胞增高（95.7%，22/23），脾脏肿大（91.3%，21/23），贫血（91.3%，21/23），外周血白细胞增高（87.0%，20/23），肝脏肿大（82.6%，19/23），发热（60.9%，14/23），皮疹（17.4%，4/23）。3. 随访截至2018年7月31日，中位随访时间4.25月（0.8~43.5月），9例死亡，7例失访（4例放弃治疗后失访，3例激素治疗后失访），4例无病存活，2例带病存活，1例目前化疗中。2年总体生存率为44.3%±14.0%，3年总体生存率为33.3%±14.2%。4. 23例患儿均进行JMML基因检测，其中，*PTPN11*基因突变10例（43.5%，10/23），*NRAS*基因突变5例（21.7%，5/23），*KRAS*基因突变4例（17.4%，4/23），*NF1*基因突变3例（13.0%，3/23），*CBL*基因突变1例（4.3%，1/23）。*PTPN11*组、*KRAS*/*NRAS*组及*NF1*组患儿中位发病年龄分别为3.04岁、1.5岁和0.17岁，呈依次减小趋势（*P*=0.014）；*KRAS*/*NRAS*组、*PTPN11*组和*NF1*组中位Hb水平为80g/L、92g/L和118g/L，呈依次增高趋势（*P*=0.039）；*PTPN11*组、*KRAS*/*NRAS*组及*NF1*组患儿3年OS分别为22.2%±19.4%、44.4%±18.9%和50%±35.4%，*PTPN11*组患儿3年OS明显低于其他两组患儿，但差异无统计学意义（P=0.655）。**结论**：JMML常见于男性婴幼儿，临床表现无特异性，预后差。本组患儿中，以*PTPN11*基因突变最常见，*PTPN11*基因突变组患儿发病年龄明显大于与其它基因突变组患儿，预后最差。

**关键词：**幼年型粒单核细胞白血病；突变基因；临床特征；预后，儿童

幼年性粒单核细胞白血病（juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）是一种临床罕见的儿童克隆性造血干细胞异常性疾病，以粒单核细胞异常性增生和分化及器官浸润为显著特征，同时具有骨髓增生异常综合征和骨髓增殖性肿瘤(myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms，MDS/MPN)的特点，早期诊断困难，总体疗效及预后差。近年来国际上对JMML分子发病机制的研究已取得很大进展，90%的病例涉及RAS信号通路的基因突变，其中*PTPN11*、*RAS*、1型神经纤维瘤病（*NF1*)和*CBL*基因体细胞突变发生率分别达35%、25%、10%和10%[1]。目前关于JMML基因突变类型与其临床特征及预后大样本的临床报道少见，为进一步提高JMML的临床诊断水平，我们对本中心诊断的23例JMML患儿临床资料进行回顾性分析。

**1 资料与方法**

* 1. **研究对象**

收集我院2014年6月至2018年5月期间诊治JMML患儿的临床资料，共计23例，其中，男性患儿14例，女性患儿9例，男女比例1.6:1。

* 1. **诊断标准**

所有患儿均根据国际JMML工作小组修订诊断标准[2]和WHO在2016年制定的JMML诊断标准[3]诊断，进行了*PTPN11*基因、*RAS*基因、*NF1*基因和*CBL*基因突变检测。

* 1. **随访**

末次随访至2018年7月31日，中位随访时间4.25月（0.8~43.5月）。9例死亡，7例失访（4例放弃治疗后失访，3例激素治疗后失访），4例行造血干细胞移植术后无病存活，2例带病存活，1例目前化疗中。生存期为患者确诊至死亡或最后随访的时间。无事件生存率（EFS）的计算周期为确诊之日起至发生事件的时间，包括疾病进展，复发，放弃治疗及任何原因的死亡。

* 1. **统计方法**

采用回顾性分析方法，用SPSS 19.0软件进行统计分析，样本平均数用中位数表示，计量样本比较用秩和检验，两样本率的比较用Fisher确切概率法，采用Kaplan-Meier方法分析JMML患儿2年总体生存率（OS）和预期3年OS，并行log-rank检验比较不同基因突变组JMML的生存率。检验水准为α=0.05。

1. **结 果**

**2.1一般资料**

本组JMML患儿共计23例，中位发病年龄1.8岁（0.1~12.9岁），中位诊断年龄2.25岁（0.17~13.08岁），其中，<1岁者5例（21.7%，5/23），1~<3岁者7例（30.4%，7/23），<5岁者7例（30.4%，7/23），>5岁者4例（17.4%，4/23）。发病至诊断中位时间为2月（0.5~12月）。

23例患儿中，男性患儿14例，女性患儿9例，男女比例1.6:1，其中，男性患儿中位发病年龄 2.1岁（0.33~6.08岁），中位诊断年龄2.6岁（0.42~7.0岁），发病至诊断中位时间为3月（1~12月）；女性患儿中位发病年龄1.4岁（0.08~12.9岁），中位诊断年龄1.5岁（0.17~13.08岁），发病至诊断中位时间为2月（0.5~5月），男女患儿在发病年龄、诊断年龄和诊断时间无明显差异（P值分别为1.000、0.729和0.166）。

* 1. **临床资料**

本组JMML患儿诊断时肝脾肿大明显，分别占82.6%（19/23）和91.3%（21/23），中位数肋下均为4cm；常常伴有发热14例（60.9%，14/23）；此外，临床上还可以表现为：皮疹4例（17.4%，4/23），神经系统损害（抽搐2例，周围性面瘫1例）3例（13.0%，3/23），有3例（13.0%，3/23）患儿表现为反复的扁桃化脓。

外周血白细胞增高20例（87.0%，20/23），白细胞计数中位数为21.9×109/L（2.8~195×109/L）；单核细胞增高22例（95.7%，22/23）；单核细胞绝对计数中位数为2.32×109/L（0.03~48.75×109/L）；贫血（91.3%，21/23），Hb 中位数为85g/L（21~142g/L）；血小板减少22例（95.7%，22/23），血小板计数中位数为 37×109/L（4~160×109/L）。16例（69.6%，16/23）患儿HbF增高，中位数为7.2%（0~46.6%）。4例行染色体检查，3例存在染色体异常，1例为46，XX，+3，der（3;15）(q10;q10)；1例为46，X，del（Y)（q11.2）；1例为46，XY，-7，+11。6例行FISH检查未见异常，其中，1例检测到D7S486和D7Z1位点信号缺失，阳性率90%。22例行骨髓检查，6例异常淋巴细胞占（1.0%~3.0%）；5例原始和/或早幼粒细胞占（6.5%~15.5%）；3例原始和/或幼稚单核细胞占（5%~22.5%），均进展为急性单核细胞白血病；5例查见原早幼粒细胞（3.5%~10%）和原幼单核细胞（3%~6.5%）；1例原幼淋巴细胞占4.5%；1例查见早幼粒细胞6%和原幼淋巴细胞2%。16例进行了BCR-ABL融合基因检测均为阴性。17例行EBV-DNA和CMV-DNA检测均为阴性。

23例患儿均进行JMML基因检测，其中，*PTPN11*基因突变10例（43.5%，10/23），*NRAS*基因突变5例（21.7%，5/23），*KRAS*基因突变4例（17.4%，4/23），*NF1*基因突变3例（13.0%，3/23），*CBL*基因突变1例（4.3%，1/23）。

* 1. **治疗及预后**

23例患儿中，9例死亡，7例失访（4例放弃治疗后失访，3例激素治疗后失访），4例行造血干细胞移植术后无病存活，2例带病存活，1例目前化疗中。其中，4例给予激素（地塞米松或强的松）治疗，3例失访，1例存活；5例给予巯嘌呤及地塞米松治疗，均死亡；1例给予安达芬治疗，死亡；4例已进行了造血干细胞移植，其中，1例在给予地塞米松治疗后行母供女单倍体造血干细胞移植，1例进展为急性单核细胞白血病，给予化疗后行非血缘外周造血干细胞移植，2例经地西他滨及阿糖胞苷化疗后行亲缘单倍体造血干细胞移植，目前均无病存活中；1例进展为急性单核细胞白血病，经定期化疗，病情缓解后很快复发，目前已死亡；1例目前化疗中，拟行造血干细胞移植，带病存活中；6例未接受治疗，死亡2例，失访4例。

本组患儿，2年总体生存率为44.3%±14.0%，3年总体生存率为33.3%±14.2%，见图1。

* 1. **基因突变类型及临床特征**

根据基因突变类型，将本组患儿分为三组（因CBL基因突变仅1例，未纳入比较中）：*PTPN11*基因突变组、*KRAS*/*NRAS*基因突变组和*NF1*基因突变组，对三组患儿临床资料进行比较发现：*PTPN11*组、*KRAS*/*NRAS*组及*NF1*组患儿中位发病年龄及诊断年龄，呈依次减小趋势（*P*值分别为0.014和0.011），其中，*PTPN11*组患儿发病年龄及诊断年龄明显大于*NF1*组；*KRAS*/*NRAS*组、*PTPN11*组和*NF1*组中位Hb水平为80g/L、92g/L和118g/L，呈依次增高趋势，其中，*KRAS*/*NRAS*组Hb水平显著低于*NF1*组（*P*=0.039）；3年OS在 *PTPN11*组、*KRAS*/*NRAS*组及*NF1*组患儿分别为22.2%±19.4%、44.4%±18.9%和50%±35.4%，*PTPN11*组患儿3年OS明显低于其他两组患儿，但差异无统计学意义（*P*=0.655）。

**2.5 死亡危险因素分析**

23例患儿中，9例死亡，7例失访，4例无病存活，3例带病存活。将死亡组患儿和存活组患儿临床资料进行比较：死亡组男性患儿多见，贫血、血小板明显降低，HbF亦高于非死亡组，但因本组病例数有限，差异无统计学意义。

**讨 论**

JMML是儿童早期的一种高度侵袭性的白血病，占儿童白血病的2~3%，发病率约1.2/1,000,000[4,5]。初诊中位年龄2岁，90%以上的患儿发生在5岁前，男性患儿发病率显著高于女性，男、女发病比例为2~3：1[1]。本组患儿中位诊断年龄2.25岁（0.17~13.08岁），<5岁者占82.5%，男女比例1.6:1，与Niemeyer等[6]报道相一致。

JMML患儿早期临床表现多样化且无特异性，起病时常常因发热、外周血白细胞增高，被误诊为感染性疾病。同时，由于肿瘤细胞的浸润，患儿也常因贫血、肝脾肿大而就诊[7]。本组约有60%患儿在病程中存在发热，其中，有4例患儿在确诊前曾多次被诊断为“化脓性扁桃体炎”给予抗感染治疗。诊断时肝脾肿大者分别占82.6%和91.3%，中位数肋下均为4cm。由于JMML起源于多能造血干细胞，可造成红系增生障碍，粒系、单核细胞及巨核细胞异常，但是，由于骨髓幼稚细胞比例<20%，因此，骨髓检查对JMML诊断并无特异性，而血常规检查往往比骨髓检查更为重要。除表现为贫血、白细胞增多、血小板减少外，单核细胞绝对计数增高具有重要的诊断价值[8]，尤其在外周血出现幼稚细胞前，反复多次的单核细胞绝对计数增高可以为临床诊断JMML提供重要线索。值得注意的是，部分JMML患儿亦可以像慢性粒细胞白血病一样发生急变，本组患儿中，约有13.0%（3/23）患儿随病情进展诊断为急性单核细胞白血病，与国外报道约有10~20%的JMML患儿可进展为急性白血病相一致[9,10]。此外，HbF增高亦是JMML的一个重要特征，研究报道约有50%的JMML患儿HbF明显升高[11]。确诊时年龄大于2岁，血小板低于33×109/L，HbF值高于10%是主要的预后不良指标[12]。本组患儿约70%的患儿HbF增高，其中，死亡组患儿HbF中位数为8.6%，高于非死亡组患儿，同时，死亡组男性患儿多见，贫血、血小板明显降低，但因本组病例数有限，差异无统计学意义。

目前研究表明，JMML发病机制主要与多种基因（如*PTPN11*、*KRAS*、 *NRAS*、*NF1*、*CBL*基因等）突变引起RAS/促细胞分裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）即RAS/MAPK通路异常有关。其中，以*PTPN11*基因突变最为常见，与国外报道相似[13,14]，在本组基因确诊的JMML患儿中，*PTPN11*基因突变占43.5%（10/23），突变位点主要位于exon3和exon11，最常见的突变位点为c.226G>A (p.E76K)，约占60%（6/10）。RAS通路相关基因突变历来被认为是互斥事件[1]，但是有研究发现有11%患者有*PTPN11*、*KRAS*、*NRAS*、*CBL*以及*NF1*的共存情况，其中，*PTPN11* 与*NF1*基因突变是最常见的共存突变[15]。此外，通过对全外显子测序发现了一部分JMML患儿可继发*SETBP1*、*JAK3、RAC、RRAS*等基因突变[16,17]。本组患儿中并未发现复杂突变类型的病例，但是，1例*CBL*基因突变的患儿同时存在*RUNX1*基因的杂合突变，该例患儿在确诊后放弃治疗失访。*RUNX1*基因突变常见于慢性单核细胞白血病（chronic myelomonocytic leukaemia, CMML）患者，约占14~37%左右，其中发生于C-末端突变者更容易快速发生急性髓系白血病转化[18,19]。尽管JMML和CMML同属MDS/MPN性疾病，部分诊断标准是相同的，但是在遗传学异常上存在一定差异，如两者均存在*CBL*、*ASXL1*和*RAS*等基因突变，但是在CMML比较特异性的*TET2*、*RUNX1*和*JAK2V617F*基因突变在JMML患者少有报道。[20,21]。

不同突变基因类型临床表现不同，疾病预后亦有所差异。我们将*PTPN11*基因突变组、*KRAS*/*NRAS*基因突变组和*NF1*基因突变组患儿的临床资料进行比较，其结果与日本的研究报道相一致[22]，*PTPN11*组、*KRAS*/*NRAS*组及*NF1*组患儿中位发病年龄呈依次减小趋势（*P*=0.014），其中，*PTPN11*组患儿发病年龄明显大于*NF1*组；同时，*PTPN11*组患儿HbF水平明显高于其它两组患儿，但是差异无统计学意义；而*KRAS*/*NRAS*组、*PTPN11*组和*NF1*组中位Hb水平为80g/L、92g/L和118g/L，呈依次增高趋势，其中，*KRAS*/*NRAS*组Hb水平显著低于*NF1*组（*P*=0.039）；*PTPN11*组3年OS为22.2%±19.4%，明显低于*KRAS*/*NRAS*组和*NF1*组患儿（分别为44.4%±18.9%和50%±35.4%）。此外，近年来发现，JMML患儿存在多种基因（如*BMP4*、*CALCA*、*CDKN2B*、*RARB、AKAP12、RASA4*等）CpG岛的异常甲基化，JMML患者的预后与甲基化水平呈负相关[23-25]。Lipka等[26]发现高DNA甲基化水平的JMML患者具有以下特征：体细胞*PTPN11*基因突变者约占70%，血小板计数降低（<70×109/L）者占78%，HbF增高者和初诊时年龄>2岁者均达100%；其5年总体生存率（58%）明显低于低DNA甲基化水平者，5年累积复发率亦高达48%。目前由于国内尚未开展相关检查，本组患儿均未行DNA甲基化检测。

JMML是一种罕见的儿童克隆性造血干细胞异常增殖性疾病，RAS信号通路异常可能是其主要发病机制。不同突变基因类型临床表现不同，预后也有所差异。治疗难度大，尚无标准的治疗方案，且对常规化疗反应较差，造血干细胞移植（HSCT）是目前唯一可能的治愈方法，但是复发率高，移植后5年的无事件生存率也仅仅50%左右。随着对JMML分子学机制研究的进展，多种新型靶向药物的研究与临床试验将有可能为改善患儿的预后提供新的方向。

**参考文献**

1. Locatelli F, Niemeyer C. How I treat juvenile myelomonocytic leukemia. Blood. 2015; 125(7):1083-1090.
2. Chan RJ, Cooper T, Kratz CP, et al. Juvenile myelomonocytic leukemia: a report from the 2nd International JMML Symposium. Leuk Res. 2009; 33(3): 355-362.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016. 127(20): 2391-2405.
4. Loh ML. Recent advances in the pathogenesis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. Br J Hematol. 2011; 152(6):677-687.
5. Chang TY, Dvorak CC, Loh ML. Bedside to bench in juvenile myelomonocytic leukemia: insights into leukemogenesis from a rare pediatric leukemia. Blood. 2014; 124(16): 2487-2497.
6. Niemeyer CM, Arico M, Basso G, et al. Chronic myelomonocytic leukemia in childhood: A restrospective analysis of 110 cases. Blood. 1997; 89(10): 3534-3543.
7. Locatelli F, Algeri M, Merli P, et al. Novel approach to diagnosis and treatment of Juvenile Myelomonocytic Leukemia. Expert Rev Hematol. 2018; 11(2): 129-143.
8. Loh ML. Childhood. myelodysplastic syndrome: Focus on the approach to diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. [Hematology Am Soc Hematol Educ Program.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Childhood+myelodysplastic+syndrome%3A+Focus+on+the+approach+to+diagnosis+and+treatment+of+juvenile+myelomonocytic+leukemia.) 2010; 357-362.
9. Honda Y, Tsuchida M, Zaike Y, et al. Clinical characteristics of 15 children with juvenile myelomonocytic leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Paediatric Haematology/Oncology. Br J Haematol. 2014; 165: 682-687.
10. Luna-Fineman S, Shannon KM, Atwater SK, et al. Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood: a study of 167 patients. Blood.1999; 93: 459-466.
11. Chan RJ, Cooper T, Kratz CP, et al. Juvenile myelomonocytic leukemia: a report from the 2nd International JMML Symposium. Leuk Res. 2009; 33(3): 355-362.
12. Locatelli F, Crotta A, Ruggeri A, et al. Analysis of risk factors influencing outcomes after cord blood transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia: a EUROCORD, EBMT, EWOG-MDS, CIBMTR study. Blood. 2013; 122(12): 2135-2141.
13. Sakashita K, Matsuda K, Koike K. Diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. Pediatircs International. 2016; 58: 681-690.
14. Park HD, Lee SH, Sung KW, et al. Gene mutations in the Ras pathway and the prognostic implication in Korean patients with juvenile myelomonocytic leukemia. Ann Hematol. 2012; 91(4):511-517.
15. Stieglitz E, Taylor-Weiner AN, Chang TY, et al. The genomic landscape of juvenile myelomonocytic leukemia. Nat Genet，2015. 47(11): 1326-1333.
16. Sakaguchi H，Okuno Y，Muramatsu H，et al. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. Nat Genet, 2013. 45(8): p.937-941.
17. Caye A, Strullu m, Guidez F, et al. Juvenile myelomonocytic leukemia displays mutations in components of the RAS pathway and the PRC2 net work. Nat Genet. 2015; 47(11): 1334-1340.
18. Ernst T, Chase A, Zoi K, et al. Transcription factor mutations in myelodysplastic/ myeloproliferative neoplasms. Haematologica. 2010; 95(9): 1473-1480.
19. Kuo MC, Liang C, Huang CF, et al. RUNX1 mutations are frequent in chronic myelomonocytic leukemia and mutations at the C-terminal region might predict acute myeloid leukemia transformation. Leukemia. 2009; 23(8): 1426-1431.
20. [Pérez B](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=P%C3%A9rez%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20955399)1, [Kosmider O](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kosmider%20O%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20955399), [Cassinat B](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cassinat%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20955399), et al. Genetic typing of CBL, ASXL1, RUNX1, TET2 and JAK2 in juvenile myelomonocytic leukaemia reveals a genetic profile distinct from chronic myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol. 2010; 151(5): 460-468.
21. Masunaga A, Mitsuya T, Kadofuku T, et al. Mutation analysis of AML1 gene in pediatric primary myelodysplastic syndrome and juvenile myelomoncytic leukemia. Leuk Res. 2008; 32(6): 995-997.
22. Yoshida N, Yagasaki H, Xu Y, et al. Correlation of clinical features with the mutational status of GM-CSF signaling pathway-related genes in juvenile myelomonocytic leukemia. Peiatr Res. 2009; 65(3): 334-340.
23. Stieglitz E, Mazor T, Olshen AB, et al. Genome-wide DNA methylation is predictive of outcome in juvenile myelomonocytic leukemia. Nat Commun. 2017; 8(1): 2127.
24. Wihelm T, Lipaka DB, Witte T, et al. Epigenetic silencing of AKAP12 in juvenile myelomonocytic leukemia. Epigenetics. 2016; 11(2): 110-119.
25. Poetsch AR, Lipaka DB, Witte T, et al. RASA4 udergoes DNA hypermethylation in resistant juvenile myelomonocytic leukemia. Epigenetics. 2014; 9(9): 1252-1260.
26. Lipka DB, Witte T, Toth R, et al. RAS-pathway mutation patterns define epigenetic subclasses in juvenile myelomonocytic leukemia. Nat Commun. 2017; 19(8): 2126.