

Acute myeloid leukemias with t(7;21)(p22;q22) translocation, 5q- deletion, CD56 expression, and hemophagocytosis: case report and literature review

N.N. Mamayev¹, T.L. Gindina¹, E.G. Boychenko²,
A.V. Gorbunova¹, V.M. Kravtsova¹, N.V. Stancheva¹,
P.V. Kozhokar¹, O.V. Paina¹, L.S. Zubarovskaya¹,
and B.V. Afanasyev¹

ABSTRACT

We present the clinical and laboratory data on a 13-year old patient with the recently described variant of CD56-positive acute myeloid leukemia with criptic t(7;21)(p22;q22) translocation involving rearrangements of *RUNX1* and *USP42* genes, 5q deletion, and hemophagocytosis. According to the literature, this rare recently described AML subvariant mostly occurs in males, is resistant to chemotherapy, and can be successfully treated using allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Keywords: acute myeloid leukemia, t(7;21)(p22;q22), 5q-, CD56+, resistance to chemotherapy, erythrophagocytosis, alloHSCT.

Accepted: March 31, 2014

¹ R.M. Gorbacheva Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, I.P. Pavlov Saint Petersburg State Medical University
197022, ul. L'va Tolstogo, d. 6/8, St. Peterburg, Russian Federation

² Children's City Hospital № 1

198205, ul. Avangardnaya, 14 A, St. Petersburg, Russian Federation

N.N. Mamayev, DSci, Professor of the subdepartment of hematology, transfusionology, and transplantation

T.L. Gindina, PhD, Head of laboratory for cytogenetics and diagnosing hereditary diseases

E.G. Boychenko, DSci, Head of department of hematology

A.V. Gorbunova, PhD, Biologist of laboratory of molecular transplantation

V.M. Kravtsova, Head of clinical laboratory

N.V. Stancheva, PhD, Head of department of pediatric transplantation

P.V. Kozhokar, Doctor of department of pediatric transplantation

O.V. Paina, Doctor of department of pediatric transplantation

L.S. Zubarovskaya, DSci, Professor, Deputy director

B.V. Afanasyev, DSci, Professor, Chief Executive Officer

Address correspondence to:

N.N. Mamayev

197022, ul. L'va Tolstogo, d. 6/8, St. Peterburg, Russian Federation

Tel.: +7 (812) 2331243, e-mail: nikmamaev524@gmail.com

Острые миелоидные лейкозы с транслокацией t(7;21)(p22;q22), делецией 5q, экспрессией CD56 и гемофагоцитарным синдромом: собственное клиническое наблюдение и обзор литературы

Н.Н. Мамаев¹, Т.Л. Гиндина¹, Э.Г. Бойченко², А.В. Горбунова¹,
В.М. Кравцова¹, Н.В. Станчева¹, П.В. Кожокар¹,
О.В. Паина¹, Л.С. Зубаровская¹, Б.В. Афанасьев¹

РЕФЕРАТ

Представлены клинические и лабораторные данные больного 13 лет с описанным в 2006 г. CD56-позитивным острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) со скрытой транслокацией t(7;21)(p12;q22) и образованием химерного гена *RUNX1/USP42*, а также с делецией длинного плеча хромосомы 5 и гемофагоцитозом. По литературным данным, этот вариант ОМЛ чаще наблюдается у лиц мужского пола, характеризуется резистентностью к проводимой терапии и неплохим ответом на аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток.

Ключевые слова:

острый миелоидный лейкоз, t(7;21)(p22;q22), 5q-, экспрессия CD56, резистентность к терапии, эритрофагоцитоз, аллоТГСК.

Принято в печать: 31 марта 2014 г.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на интенсивные цитогенетические и молекулярно-биологические исследования лейкозов, в этой области онкогематологии все еще остается много нерешенных проблем. В 2006 г. выделен редкий вариант CD56-позитивного острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) с транслокацией t(7;21)(p22;q22), приводящей к образованию химерного гена *RUNX1/USP42*. Характерна также делеция длинного плеча хромосомы 5 с гемофагоцитозом и резистентностью к химиотерапии. В то же время получены удовлетворительные результаты после выполнения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) (табл. 1).

Впервые подобные генетические нарушения при ОМЛ были обнаружены у 7-летнего ребенка [1]. Первоначально результаты цитогенетического исследования трактовали как сложные хромосомные нарушения с делецией части длинного плеча хромосомы 5. Что касается обсуждаемой транслокации, ее удалось выявить только с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) со специфическими пробами к целой хромосоме 7 и гену *RUNX1*. Как оказалось, последний был перенесен в область поломки короткого плеча хромосомы 7. При этом параллельно проведенное молекулярное исследование обнаружило вовлечение в перестройки также локализованного здесь гена убиквитин-специфической пептидазы 42 (*USP42*), который

¹ НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
197022, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

198205, ул. Авангардная, д. 14, лит. А, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Таблица 1. Основные клинические и лабораторные показатели у 7 больных острыми миелоидными лейкозами с транслокацией t(7;21)(p22;q22) и слиянием генов *RUNX1* и *USP42* (данные литературы)

Показатель	Источник						
	K. Paulsson et al., 2006	T. Gindina et al., 2012	A. Giguere et al., 2011	E. Jeandidier et al., 2012			J. Panagopoulos et al., 2013
Пол	М	М	М	М	М	М	Ж
Возраст, лет	7	13	32	33	39	54	52
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	35	2,5	12,1	5,4	1,3	18	34
Гемоглобин, г/л	102	113	93	43	31	76	58
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$?	278	45	81	34	67	116
Гемофагоцитоз	?	+	?	+	+	+	?
ФАБ-вариант	M0	M4	M1	M5a	M4	M4/M5	M0
Экспрессия аберрантных антигенов							
HLA-DR	+	+	+	+	+	+	+
CD56	+	+	+	+	+	+	+
CD7	+	+	+	+	?	+	+
5q-	+(рецидив)	+	+	+	+	+	+
Химиорезистентность	?	+	?	+	+	+	?
Вид ТГСК	Алло (родственная)	Гапло (родственная)	0	Алло (родственная)	0	Алло 2	Алло (родственная)
Продолжительность жизни, мес.	?	27+	?	36+	6	26	?

* Обнаружена в 1 из 20 метафазных пластинок.

«?» — нет данных.

имеет отношение к регуляции и функции другого важного для онкогенеза гена *P53* [2].

К настоящему времени транслокация t(7;21) со слиянием генов *RUNX1* и *USP42* описана у 7 больных ОМЛ [3–6], включая нашего пациента [7] (см. табл. 1). Как следует из этих данных, подавляющее большинство больных (6 из 7) были мужского пола. Количество лейкоцитов в крови увеличивалось у 4 пациентов, снижалось — у 2, а у одного было в пределах нормальных значений. У всех имело место снижение гемоглобина (от умеренного до значительного). Из других лабораторных показателей следует отметить наличие на поверхности бластных клеток у всех больных антигена клеточной дифференцировки CD56.

Французские исследователи при молекулярном исследовании у 200 больных ОМЛ обнаружили транслокацию t(7;21)(p22;q22) со слиянием генов *RUNX1* и *USP42*, с делецией 5q лишь у 3 пациентов (см. табл. 1). Бластные элементы у всех этих больных экспрессировали на своей поверхности антиген клеточной дифференцировки CD56, кроме того, у них обнаружен феномен гемофагоцитоза. В итоге исследователи заявили об открытии нового, редкого, прогностически неблагоприятного подварианта CD56-позитивного ОМЛ [5].

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Несомненный интерес представляют клинические и лабораторные данные недавно обследованного нами больного 13 лет, у которого транслокация t(7;21)(p22;q22) была также доказана с помощью FISH [7]. Данные об этом пациенте были впервые опубликованы [7], когда еще рано было судить о терапевтическом эффекте трансплантации костного мозга. В настоящей статье мы приводим результаты дальнейшего наблюдения за этим больным, у которого гаплоТГСК от матери привела к полной гематологической и цитогенетической ремиссии, продолжающейся уже более 27 мес.

Начало заболевания относится к концу 2011 г., когда отмечено повышение температуры тела до фебрильных

цифр. В анализе крови имели место умеренная анемия (гемоглобин 113 г/л) и лейкопения ($2,5 \times 10^9/\text{л}$) с 3 % гранулоцитов и большим количеством моноцитоподобных элементов в формуле. Число тромбоцитов сохранялось в пределах нормальных значений ($278 \times 10^9/\text{л}$). Аспират костного мозга отличался сниженной клеточностью ($39 \times 10^9/\text{л}$ миелокариоцитов), а большинство костномозговых элементов (до 59 %) составляли бластные клетки. Последние имели морфологические характеристики миеломоноцитоподобных клеток, в ряде случаев — с явлениями фагоцитоза как эритроцитов и их обломков, так и тромбоцитов (рис. 1). Бластные элементы были представлены макро- и мезогенерациями, некоторые имели неправильную форму. Ядра неправильные, бобовидные, складчатые с нежно-петлистой структурой хроматина и светлым, довольно крупным ядрышком. Цитоплазма серо-голубого цвета, в части клеток определялась азурофильная зернистость. Особенностью клеток миелоидного ряда было наличие в них черт дисплазии: гигантский размер, скудность азурофильной зернистости в цитоплазме и отчетливой диссоциации в созревании ядра и цитоплазмы. Мегакариоцитарный росток был сужен, представлен микрогенерациями мегакариоцитов с гипоплоидными ядрами и скудной цитоплазмой.

При иммунофенотипировании установлена миелоидная природа бластных клеток. Они были положительными на CD34, CD33, CD13, CD117, HLA-DR, CD38; 75–80 % бластных клеток имели на своей поверхности (коэкспрессировали) антигены CD56, CD7 и CD71.

Цитохимические реакции на пероксидазу, липиды и нафтилэстеразу, в т. ч. с погашением флюоридом, были положительными в 21, 25, 51 и 9 % клеток соответственно.

При стандартном цитогенетическом исследовании нарушения кариотипа ограничивались только укорочением длинного плеча одной из хромосом 21-й пары. В то же время в 1 (5 %) из 20 проанализированных метафаз наряду с этим нарушением имела место интерстициальная делеция 5q [del(5)(q13q31)]. Что касается обсуждаемой в работе труднораспознаваемой транслокации t(7;21)

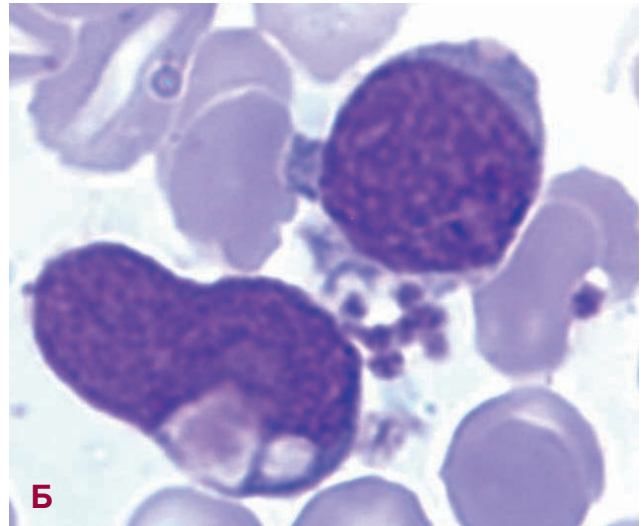
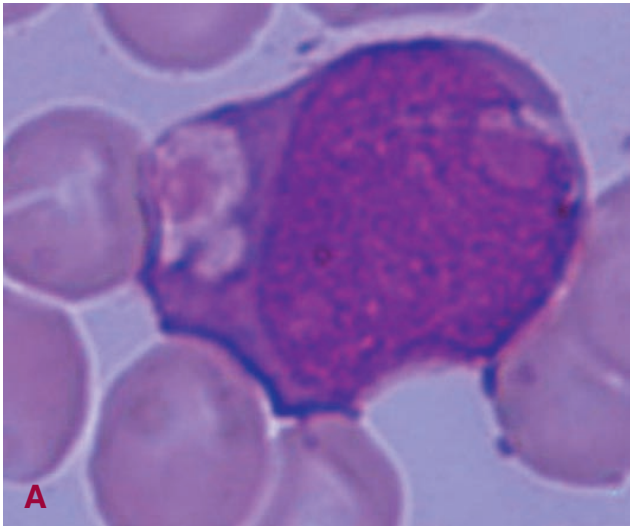


Рис. 1. Бластные клетки в костном мозге больного острым миелоидным лейкозом с транслокацией t(7;21)(p22;q22). Фагоцитоз эритроцитов (А, Б) и тромбоцитов (Б)

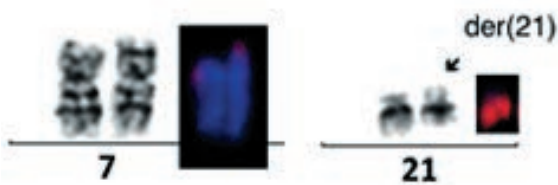


Рис. 2. Селективная кариограмма хромосом 7 и 21, окрашенных на GTG-сегменты и методом многоцветной FISH (справа). Перенос части красного сигнала с хромосомы 21 на короткое плечо хромосомы 7

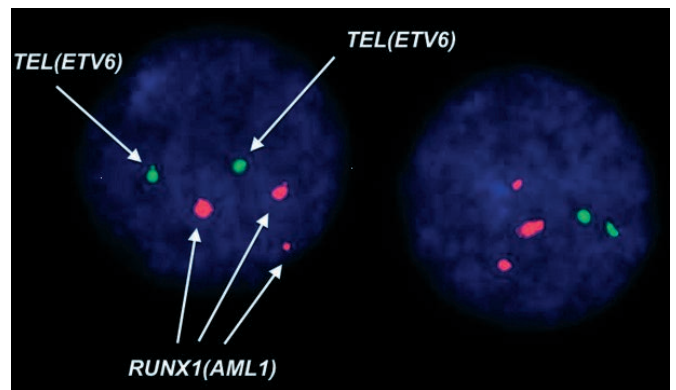


Рис. 3. Результаты интерфазной FISH с использованием двухцветного ДНК-зонда *RUNX1-ETV6*, которые указывают (3R2G) на вовлечение в перестройку (транслокацию) гена *RUNX1*

(p22;q22), она, как и в оригинальной работе К. Paulsson и соавт. [1], была обнаружена только с помощью FISH со специфическими пробами к целой хромосоме 7 и гену *RUNX1* (рис. 2 и 3) [7].

Анализ молекулярных механизмов повреждения генов *RUNX1* и *USP42* в этом конкретном случае находится в работе. Что касается данных литературы, они немногочисленны. Подробный молекулярный анализ этой хромосомной аномалии проводили N. Foster и соавт. [3]. Детальный анализ ДНК у 2 взрослых больных с миелодиспластическим синдромом (МДС) и ОМЛ с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени и секвенирования, во-первых, подтвердил наличие слияния гена *RUNX1* с геном *USP42*. При этом были отмечены как различные точки разрывов в гене *RUNX1*, так и неодинаковые варианты сплайсинга гена *RUNX1/USP42* (рис. 4). Во-вторых, по данным исследования однонуклеотидных полиморфизмов никаких дополнительных субмикроскопических изменений хромосом, которые бы предрасполагали или ассоциировались с t(7;21), в этой ДНК не было. Немаловажно и то, что по данным интерфазной

FISH измененный ген *RUNX1* был представлен также в мегакариocyтах, что еще раз указывало на важное значение транслокации t(7;21) в лейкогенезе при этом подварианте ОМЛ. Наконец, проведенный исследователями дополнительный молекулярный анализ ДНК у 100 больных МДС и ОМЛ никаких новых случаев этой достаточно редкой и интересной патологии не выявил, что еще раз убедило в ее уникальности.

У нашего пациента также имела место внутренняя тандемная дупликация гена *FLT3*, которая ассоциируется с плохим прогнозом. По совокупности морфоцитохимических, иммунофенотипических и цитогенетических данных был диагностирован острый миеломонобластный лейкоз (М4-вариант ФАБ) с мультилинейной дисплазией, который был отнесен к группе высокого риска.

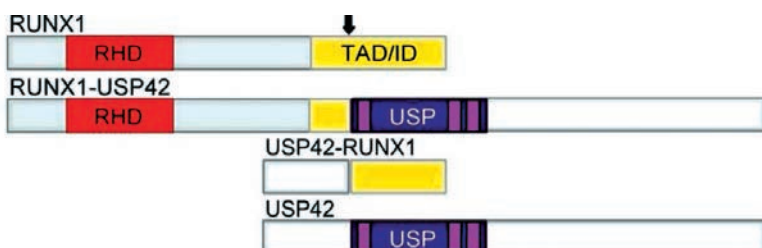


Рис. 4. Схематическое представление дикого типа генов *RUNX1* и *USP42* (верхняя и нижняя строчки) и молекулярный механизм их слияния с образованием белков *RUNX1-USP42* и *USP42-RUNX1*. Стрелкой показано место разрыва гена *RUNX1* в кодоне TAD/ID и слияния с USP-доменом гена *USP42* [4] RHD (runt homology domain) — домен транскрипционной регуляции.

Таблица 2. Результаты HLA-типирования донора и реципиента

HLA-типирование	A	B	C	DRB1	DRB3
Пациент	02 02	27 58	02 07	11 11	3
Донор	02 32	27 51	02 01	11 13	3

Химиотерапия по протоколу НИИ ДОГ ОМЛ 2007 была начата 30.12.2011 г. Она включала цитарабин, идарубин, этопозид, вальпроевую кислоту (Депакин) и третиноин (Весаноид). На фоне терапии имели место гипоплазия кроветворения, мукозит I–II степени и стойкое снижение аппетита. Ремиссия не достигнута. Число бластных клеток в аспиратах костного мозга при $20 \times 10^9/\text{л}$ миелокариоцитов составляло 24 %, а мегакариоциты отсутствовали. Это дало основание диагностировать первичную резистентность лейкоза к проводимой химиотерапии и перейти на высокодозное лечение по схеме НАМ (14.01–19.01.2012 г.). Введение всех препаратов пациент перенес удовлетворительно. Костный мозг был гипоклеточным ($2 \times 10^9/\text{л}$ миелокариоцитов), мегакариоциты отсутствовали, число бластных клеток — 6 %. В контрольной миелограмме от 15.03.2012 г. при нормоклеточном костном мозге ($67 \times 10^9/\text{л}$) обнаружено достаточное количество мегакариоцитов ($14 \times 10^9/\text{мкл}$), а число бластных клеток стало минимальным (1 %). В то же время при цитогенетическом исследовании аспирата костного мозга выявлена транслокация $t(7;21)(p22;q22)$ в 30 % анализированных метафазных пластинках, что указывало на отсутствие ремиссии.

Как подготовительный этап перед аллоТГСК в период с 16.03 по 22.03.2012 г. больному была проведена высокодозная химиотерапия по программе FLAG. Поскольку сиблинги в семье отсутствовали, а число HLA-идентичных неродственных доноров в международных регистрах было недостаточным, больному проведена гаплогенетическая ТГСК от 40-летней матери, которую пациент перенес вполне удовлетворительно.

Иммуногематологический анализ крови реципиента: A(II) Rh(–) dссееК–.

Иммуногематологический анализ крови донора: A(II) Rh(–) dссееК–.

Данные HLA-типирования и вирусологический статус донора и реципиента приведены в табл. 2 и 3.

Миелограмма к моменту трансплантации (27.07.2012 г.)

Миелокариоциты — $22 \times 10^9/\text{л}$.

Недифференцированные бласты — 0,6 %.

Гранулоцитарный росток:

Промиелоциты — 2,6 %.

Миелоциты — 12 %.

Метамиелоциты — 4,8 %.

Палочкоядерные нейтрофилы — 7 %.

Сегментоядерные нейтрофилы — 5 %.

Эозинофилы — 2,4 %.

Базофилы — 0,2 %.

Моноцитарный росток:

Моноциты — 11 %.

Лимфоидный росток:

Лимфоциты — 3,2 %.

Эритроидный росток:

Эритробласты — 1,4 %.

Нормобласты базофильные — 6,4 %.

Нормобласты полихроматофильные — 29,8 %.

Таблица 3. Вирусологический статус донора и реципиента

Метод ИФА	CMV IgM	CMV IgG	EBV IgM	EBV IgG	Toxo IgM	Toxo IgG
Пациент	–	+	–	–	–	–
Донор	–	+	–	–	–	–

CMV — цитомегаловирус; EBV — вирус Эпштейна—Барр; Toxo — токсоплазмоз; ИФА — иммуноферментный анализ.

Нормобласты оксифильные — 13,6 %.

Мегакариоциты: достаточное количество с разными стадиями полиплоидизации ядра.

Заключение морфолога: костный мозг со сниженной клеточностью, число бластных клеток в пределах нормы. Миелоидный росток сужен и обнаруживает относительную задержку созревания на стадии миелоцитов. Эритроидный росток нормобластический, относительно гиперплазирован (до 50 %), преимущественно за счет зрелых форм нормобластов. Отмечены также выраженные признаки дизэритропоэза в виде цитоплазматических мостиков, «bubble»-форм и единичных двуядерных клеток.

Для кондиционирования был выбран режим со сниженной интенсивностью доз, который включал мелфалан $140 \text{ мг}/\text{м}^2$, флударабин $150 \text{ мг}/\text{м}^2$ и циклофосфамид $50 \text{ мг}/\text{кг}$ в +3-й и +4-й дни. Профилактику острой реакции «трансплантат против хозяина» осуществляли такролимусом, микофенолата мофетилем (СеллСепт) и сиролимусом. Введение гемопоэтических стволовых клеток костного мозга выполнено 06.08.2012 г. В итоге введено: ядерные клетки/кг массы тела пациента — $5,4 \times 10^8$, CD34+/кг — $2,6 \times 10^6$ и CD3+/кг — $4,4 \times 10^7$. Приживление трансплантата зарегистрировано на +24-й день. Осложнения: мукозит полости рта и ЖКТ II степени, рецидивирующая лихорадка. Аспират костного мозга от 05.09.2012 г. с нормальной клеточностью ($107 \times 10^9/\text{л}$). Число бластных клеток в аспирате — 1,4 %. Мегакариоцитопоз представлен мегакариоцитами различной степени созревания и активности. Цитогенетическое исследование костного мозга (05.09.2012 г.) выявило женский кариотип 46,XX[20] во всех изученных клетках. Серийное молекулярно-биологическое исследование повторно обнаружило донорский химеризм более 95 %. Показатели гемограммы: гемоглобин — 96 г/л, тромбоциты — $247 \times 10^9/\text{л}$ и лейкоциты — $2,8 \times 10^9/\text{л}$ с 34 % нейтрофилов, 11 % эозинофилов, 38 % лимфоцитов и 16 % моноцитов.

Таким образом, больной в течение 27 мес. находится в полной клинико-гематологической и цитогенетической ремиссии и постоянно наблюдается врачами-гематологами поликлинического отделения НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашим данным, это седьмое из описанных клинических наблюдений ОМЛ и МДС с транслокацией $t(7;21)(p22;q22)$, но только второе — среди детей. Подавляющее большинство больных — лица мужского пола. Скрытая транслокация $t(7;21)(p22;q22)$ сочетается у этих пациентов с наличием в лейкозных клетках делеции 5q. Поскольку в данном наблюдении при стандартном хромосомном анализе 5q — присутствовала только в одной из 20 клеток, мы предположили, что свойственный больным ОМЛ с $t(7;21)$ гемофагоцитоз с этим повреждением хромосом непо-

средственно не связан. Что касается самого феномена гемофагоцитоза, он не столь редок, а по последним данным, иногда может иметь место даже при лимфоидных вариантах лейкозов, в частности при остром лимфобластном лейкозе с транслокацией t(12;21)(p13;q22), вовлекающей в перестройки гены *TEL* и *AML1 (RUNX1)* [8].

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Paulsson K., Bekassy A.N., Olofsson T. et al. A novel and cytogenetically cryptic t(7;21)(p22;q22) in acute myeloid leukemia results in fusion of RUNX1 with the ubiquitin-specific protease gene USP42. *Leukemia* 2006; 20(2): 224–9.

2. Hock A.K., Vigneron A.M., Carter S., Ludwig R.L., Vousden K.H. Regulation of p53 stability and function by the deubiquitinating enzyme USP42. *EMBO J.* 2011; 30(24): 4921–30.

3. Foster N., Paulsson K., Sales M. et al. Molecular characterization of a recurrent, semi-cryptic RUBX1 translocation t(7;21) in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Br. J. Haematol.* 2010; 148(6): 938–43.

4. Giguere A., Hebert J. Microhomologies and topoisomerase II consensus sequences identified near the breakpoint junctions of the recurrent t(7;21)(p22;q22) translocation in acute myeloid leukemia. *Gen. Chrom. Cancer* 2011; 50(4): 228–38.

5. Jeandidier E., Gervais C., Radford-Weiss I. et al. A cytogenetic study of 397 consecutive acute myeloid leukemia cases identified three with a t(7;21) associated with 5q abnormalities and exhibiting similar clinical and biological features, suggesting a new, rare acute myeloid leukemia entity. *Cancer Genet.* 2012; 205(7–8): 365–72.

6. Panagopoulos J., Gorunova L., Brandel P. et al. Myeloid leukemia with t(7;21)(p22;q22) and 5q deletion. *Oncol. Rep.* 2013; 30(4): 1549–52.

7. Gindina T., Barkhatov I., Boichenko E. et al. A new case of acute myeloid leukemia with semi-cryptic t(7;21)(p22;q22). *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 2012; 16(9): 689–91.

8. Park J.E., Park I.J., Lim Y.A. et al. Hemophagocytosis by leukemic blasts in B lymphoblastic leukemia with t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1): a case report. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2013; 43(2): 186–9.

Н.Н. Мамаев — доктор медицинских наук, профессор кафедры гематологии, трансфузиологии трансплантации

Т.Л. Гиндина — кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией цитогенетики и диагностики наследственных заболеваний

Э.Г. Бойченко — доктор медицинских наук, заведующий отделением гематологии

А.В. Горбунова — кандидат биологических наук, биолог лаборатории молекулярной трансплантологии

В.М. Кравцова — заведующая клинической лабораторией

Н.В. Станчева — кандидат медицинских наук, заведующая отделением трансплантации детского возраста

П.В. Кожокарь — врач отделения трансплантации детского возраста

О.В. Паина — врач отделения трансплантации детского возраста

Л.С. Зубаровская — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора

Б.В. Афанасьев — доктор медицинских наук, профессор, директор

Адрес для переписки: Н.Н. Мамаев, 197022, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Российская Федерация, тел.: +7 (812) 2331243, e-mail: nikmamaev524@gmail.com

