УДК 616.155.392-036.11

Г.А. Цаур [1, 2, 3], Ж.В. Пермикин [1, 3], А.М. Попов [4], Т.Ю. Вержбицкая [1, 2], Т.О. Ригер [1, 2], А.С. Демина [1, 2], Е.С. Нохрина [1], О.Р. Аракаев [1, 2], Л.И. Савельев [1, 2, 3], Л.Г. Фечина [1, 2]

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ТРАНСЛОКАЦИИ t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ИЗ В-ЛИНЕЙНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

[1] ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[2] ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[3] ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург, Российская Федерация;
[4] ФГБУ «Национальный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева», г. Москва, Российская Федерация

Резюме. ***Цель***. Поиск иммунофенотипических маркеров для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13;q22). ***Результаты***. Транслокация t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* была обнаружена у 72 из 341 (21,1%) обследованных пациентов с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников. Опухолевые бласты пациентов с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* достоверно чаще имели высокую экспрессию CD10, коэкспрессию миелоидных маркеров CD13, CD33 и CD117, а также гетерогенную экспрессию CD34. Для них также было типично отсутствие экспрессии CD20. Однако показатели диагностической ценности каждого из показателей по отдельности не могли достоверно предсказывать наличие транслокации t(12;21)(p13;q22). На втором этапе мы использовали комбинацию различных показателей. Наиболее высокие показатели диагностической ценности теста были получены при комбинацииэкспрессии CD117 и CD34. Оценка показателей диагностической ценности теста показала высокие значения специфичности 0,996 (95% ДИ 0,989-1,000), предсказательной ценности положительного результата 0,947 (95% ДИ 0,847-1,000), отношение правдоподобия положительного результата 67,250 (95% ДИ 9,130-495,348), в то время как отношение правдоподобия отрицательного результата было 0,752 (95% ДИ 0,659-0,860). ***Выводы***. Комбинация гетерогенной экспрессии CD34 и экспрессии CD117 является высокоспецифичной для транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*, однако, вследствие того, что эта комбинация выявляется только у 25,0% пациентов, она имеет ограниченное применение для предсказания наличия данной транслокации.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, проточная цитометрия, транслокация t(12;21)(p13;q22), химерный транскрипт *ETV6-RUNX1*

Конфликт интересов отсутствует.
Контактная информация автора, ответственного за переписку:
Цаур Григорий Анатольевич
tsaur@mail.ru
Дата поступления 26.11.2020 г.
Образец цитирования:
Цаур Г.А., Пермикин Ж.В., Попов А.М, Вержбицкая Т.Ю., Ригер Т.О., Демина А.С., Нохрина Е.С., Аракаев О.Р., Савельев Л.И., Фечина Л.Г. Использование иммунофенотипирования для прогнозирования выявления транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников [Электронный ресурс] http://vestnikural.ru/article/1140. Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №3, с. 210–220, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-210-220

Введение

У детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и повторяющимися генетическими аберрациями наиболее часто встречаемой транслокацией является t(12;21)(p13;q22), ведущая к образованию химерного гена *ETV6-RUNX1* (TEL-AML1) [1-3]. Данная хромосомная аберрация является криптической, т.е. ее невозможно выявить при стандартном цитогенетическом анализе [4]. Поэтому для ее определения необходимо использовать такие высокотехнологичные методы клинической лабораторной диагностики, как флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) и обратно-транскриптазная полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР) [4-6]. Важность выявления транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* связана с тем, что она ассоциирована с благоприятным прогнозом ОЛЛ у детей [7-11], в том числе при существенном снижении продолжительности терапии [12].

К сожалению, методы FISH и ОТ-ПЦР используются только в ограниченном числе лабораторий в нашей стране. В то же время, ранее неоднократно предпринимались попытки найти иммунофенотипические маркеры, ассоциированные с наличием данной транслокации. Наиболее убедительные данные получены для иммунофенотипа, соответствующего ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) с экспрессией CD27 и отсутствием/слабой экспрессией CD44, а также отсутствием экспрессии CD20, CD9, CD66c [13-19]. Однако вышеперечисленные маркеры, кроме CD20, редко используется на этапе первичного иммунофенотипирования при установлении диагноза ОЛ. Поэтому нами был предпринят поиск иммунофенотипическихмаркеров, применяемых в общепринятой диагностической панели [20] для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13;q22).

Цель исследования: оценить возможности иммунофенотипирования для прогнозирования выявления транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* у детей с ВП-ОЛЛ.

Материалы и методы

Исследование проводилось в Лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии Отдела детской онкологии и гематологии ОДКБ № 1 г. Екатеринбурга с марта 2008 г. по декабрь 2016 г. В исследуемую группу был включен 341 пациент с диагнозом ВП-ОЛЛ. Медиана возраста составила 3,4 года (диапазон 3 месяца — 17 лет). Диагноз ОЛЛ устанавливался на основании стандартных цитологических критериев [21], дополненных результатами иммунофенотипирования согласно рекомендациям группы EGIL [22, 23]. Выявление транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* проводилось методом двухстадийной («гнездной») ОТ-ПЦР по ранее описанной методике [24].

Для оценки ассоциации между экспрессией отдельных иммунофенотипических маркеров и их комбинаций с выявлением t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* проводился расчет диагностической чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного результата, предсказательной ценности отрицательного результата, диагностической эффективности теста, отношения правдоподобия (ОП) положительного результата теста, ОП отрицательного результата теста. Расчет вышеуказанных диагностических критериев проводили с определением 95% доверительного интервала (ДИ) в программе Microsoft Excel.

Результаты

Транслокация t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* была обнаружена у 72 из 341 обследованных пациентов (21,1%). Опухолевые бласты пациентов с транслокацией t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* достоверно чаще имели высокую экспрессию CD10, гетерогенную экспрессию CD34, а также имели коэкспрессию миелоидных маркеров CD13, CD33,CD117. Для них также было типично отсутствиеэкспрессии CD20 (табл.1)

Исходя из этого, для дальнейших расчетов мы разделили пациентов на 4 группы: истинно-позитивными мы считали пациентов с наличием t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* и экспрессией одного из приведенных в таблице 1 антигенов, для которых были получены достоверные различия между группами пациентов с наличием и отсутствием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*; истинно-негативными — пациентов с отсутствием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* и исследуемых маркеров; ложно-позитивными — пациентов с отсутствием t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* и наличием экспрессии оцениваемых маркеров; ложно-негативными — пациентов с наличием t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*, но без экспрессии исследуемых маркеров. Расчет показателей диагностической ценности отдельных маркеров приведен в таблице 2. Наиболее высокая чувствительность (0,750) была выявлена для гетерогенной экспрессии CD34, наибольшая специфичность (0,981) — для экспрессии CD117. Также CD117 обладал наилучшим показателем диагностической эффективности теста (0,833). Обращает на себя внимание, что для всех индивидуальных маркеров значения предсказательной ценности отрицательных результатов теста были заметно выше, чем положительных. В то же время, наиболее важные показатели диагностической ценности — ОП положительного и отрицательного тестов — были относительно невысокими. Таким образом, нами не было выявлено отдельных показателей, указывающих на наличие транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*.

На втором этапе диагностического поиска нами было высказано предположение, что иммунофенотип опухо-

левых бластов, характеризующийся гетерогенной экспрессией CD34 и экспрессией CD117, может прогнозировать наличие транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*. Данная комбинация была выявлена у 18 (25,00%) пациентов с наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* и только у 1 (0,37%) — без нее (p<0,0001). Оценка показателей диагностической ценности теста показала высокие значения специфичности 0,996 (95% ДИ 0,989-1,0), предсказательной ценности положительного результата 0,947 (95% ДИ 0,847-1,0), ОП положительного результата 67,250 (95% ДИ 9,130- 495,348) и ОП отрицательного результата 0,752 (95% ДИ 0,659-0,860). То есть, присутствие этой комбинации практически со 100% точностью предсказывало наличие транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*. Однако данная комбинация обладает низкой чувствительностью 0,25 (95% ДИ 0,15-0,35), в связи с чем использование данной комбинации ограничено. Дополнительное включение в диагностическую модель других иммунофенотипических показателей приводило к снижению показателей диагностической ценности теста.

Обсуждение

Иммунофенотипирование бластных клеток костного мозга является одним из широко распространенных методов диагностики ОЛЛ. Ранее было показано, что при ВП-ОЛЛ у детей существуют наиболее типичные иммунофенотипические маркеры, характеризующие группу пациентов с наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1. К их числу чаще всего относят отсутствие экспрессии CD9, CD20, CD66c [13-17]. несколько реже — высокую экспрессию CD10 [26], CD40 [27], CD135 [26] и HLA-DR [26, 27], а также низкую экспрессию CD20 [13] и CD86 [27], коэкспрессию миелоидных антигенов CD13, CD33, CDw65 [5]. Наиболее убедительно выглядят результаты другого исследования, указывающие на то, что экспрессия CD27 и отсутствие/слабая экспрессия CD44 специфичны для транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*. [18,19].

В то же время полученные нами результаты не позволили найти как отдельный иммунофенотипический маркер, так и их комбинацию, которые с высокой достоверностью могли бы предсказывать наличие транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*. Ранее для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* у пациентов с ВП-ОЛЛ чаще всего сравнивали наличие/отсутствие экспрессии отдельных маркеров (чаще) или их комбинаций (реже) между группами с транслокацией t(12;21) и без нее. Оценка показателей диагностической ценности применялась гораздо реже, но даже и в этих случаях чаще всего оценивались только специфичность и чувствительность [13, 14, 26].

Важно подчеркнуть, что отсутствие экспрессии CD66c, которую описывают как один из наиболее специфических изолированных маркеров t(12;21)-позитивного ОЛЛ, также типична для ОЛЛ с перестройками 11q23/MLL и ОЛЛ с наличием транслокации t(1;19)/TCF3-PBX1 [15]. Вполне возможно, что роль отсутствия экспрессии CD66c при t(12;21)-позитивном ОЛЛ связана с тем, что суммарно доля t(1;19)-позитивного и MLL-позитивного ОЛЛ не превышает 3-5%. Также интересно отметить, что экспрессии CD117, которая выявляется у пациентов с Т-ОЛЛ, является высокочувствительным, но низкоспецифичным маркером наличия мутаций в гене FLT3 [28,29].

Заключение

Таким образом, пациенты с наличием транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* достоверно чаще имели высокую экспрессию CD10, коэкспрессию CD13, CD33и CD117, а также гетерогенную экспрессию CD34 и отсутствие CD20на поверхности опухолевых бластов. Комбинация гетерогенной экспрессии CD34 и экспрессии CD117 является высокоспецифичной для транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*, однако, вследствие того, что эта комбинация выявляется только у 25,0% пациентов, она имеет ограниченное применение для предсказания наличия данной транслокации.

Таблица 1

Количество и доля пациентов, бластные клетки которых экспрессируют различные антигены в зависимости от наличия транслокации t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*

Показатель	Пациенты с t(12;21) n=72	Пациенты без t(12;21) n=269	P
Высокая экспрессия CD10	31 (43,05%)	67 (22,63%)	0,0033
Экспрессия CD13	44 (61,11%)	73 (27,13%)	<0,0001
Экспрессия CD33	23 (31,94%)	33 (12,26%)	0,0002
Экспрессия CD117	20 (27,78%)	5 (1,85%)	<0,0001
Гетерогенная экспрессия CD34	54 (75,00%)	82 (30,48%)	<0,0001
Отсутствие экспрессии CD20	53(73,61%)	140 (52,04%)	0,0012
Отсутствие экспрессии CD45	15 (20,84%)	70 (26,02%)	0,4437

on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru

Таблица 2

Диагностическая ценность иммунофенотипических маркеров для прогнозирования наличия транслокации t(12;21)(p13.2;q22.1)/*ETV6-RUNX1*

Показатель / Маркер	Чувствительность (95% ДИ)	Специфичность (95% ДИ)	Предсказательная ценность положительного результата (95% ДИ)	Предсказательная ценность отрицательного результата (95% ДИ)	Диагностическая эффективность (95% ДИ)	Отношение правдоподобия положительного результата теста (95% ДИ)	Отношение правдоподобия отрицательного результата теста (95% ДИ)
Высокая экспрессия CD10	0,4306 (0,3162-0,5449)	0,7509 (0,6992-0,8026)	0,3163 (0,2243-0,4084)	0,8313 (0,7842-0,8784)	0,6833 (0,6339-0,7327)	1,7286 (1,2340-2,4216)	0,7583 (0,6133-0,9377)
Экспрессия CD13	0,6111 (0,4985-0,7237)	0,7286 (0,6755-0,7818)	0,3761 (0,2883-0,4638)	0,8750 (0,8317-0,9183)	0,7038 (0,6554-0,7523)	2,2519 (1,7210-2,946)	0,5337 (0,3960-0,7195)
Экспрессия CD33	0,3194 (0,2117-0,4271)	0,8773 (0,8381-0,9165)	0,4107 (0,2819-0,5396)	0,8281 (0,7843-0,8719)	0,7595 (0,7142-0,8049)	2,6040 (1,6364-4,1436)	0,7757 (0,6581-0,9144)
Экспрессия CD117	0,2778 (0,1743-0,3812)	0,9814 (0,9653-0,9976)	0,8000 (0,6432-0,9568)	0,8354 (0,7946-0,8763)	0,8328 (0,7932-0,8724)	14,9444 (5,8094-38,5866)	0,7359 (0,6371-0,8500)
Гетерогенная экспрессия CD34	0,7500 (0,6500-0,8500)	0,6870 (0,6309-0,7432)	0,3971 (0,3148-0,4793)	0,9091 (0,8690-0,9491)	0,7006 (0,6515-0,7497)	2,3963 (1,9163-2,9966)	0,3639 (0,2419-0,5474)
Отсутствие экспрессии CD20	0,7361 (0,6343-0,8379)	0,4796 (0,4199-0,5393)	0,2746 (0,2116-0,3376)	0,8716 (0,8177-0,9255)	0,5337 (0,4808-0,5867)	1,4144 (1,1818-1,6928)	0,5503 (0,3669-0,8253)

ЛИТЕРАТУРА

1. Romana SP., Le Coniat M., Berger R.: t(12;21): A new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. Genes Chromosomes Cancer. 1994; 9: 186-191
2. Golub T., Barker G., Bohlander S., Hiebert S., Ward D., Bray-Ward P. et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. Proc Natl AcadSci USA. 1995; 92: 4917–4921.
3. Romana SP., Mauchauffe M., Le Coniat M., Chumakov I., Le Paslier D., Berger R., Bernard O.A. The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. Blood. 1995; 85(12): 3662-3670.
4. Shurtleff S., Buijs A., Behm F., Rubnitz J., Raimondi S., Hancock M. et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. Leukemia. 1995; 9(12): 1985-1989.
5. Borkhardt A., Cazzaniga G., Viehmann S., Valsecchi M. G., Ludwig W.D., Burci L. et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. Blood.1997; 90 (2): 571-577.
6. Kobayashi H., Rowley J. Identification of cytogenetically undetected 12p13 translocations and associated deletions with fluorescence in situ hybridization. Genes Chromosomes Cancer. 1995; 12(1): 66-69.
7. Moricke A., Zimmermann M., Reiter A., Henze G., Schrauder A., Gadner H. et al Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. Leukemia. 2010; 24: 265–284.
8. Moorman A., Ensor H., Richards S., Chilton L., Schwab C., Kinsey S. et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial Lancet Oncol. 2010; 11: 429–438
9. Loh M., Goldwasser M., Silverman L., Poon W.-M., Vattikuti S., Cardoso A. et al. et al. Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01. Blood. 2006; 107(11): 4508-4513.
10. Forestier E., Heyman M., Andersen M-K., Autio K., Blennow E., Borgström G. et al. Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival. Br J Haematol. 2008; 140(6): 665-72.
11. Bhojwani D., Pei D., Sandlund J., Jeha S., Ribeiro R., Rubnitz J. et al. ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. Leukemia. 2012; 26(2): 265-70.
12. Kato M., Ishimaru S., Seki M., Yoshida K., Shiraishi Y., Chiba K. et al. Long-term outcome of 6-month maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia in children. Leukemia. 2017; 31: 580-584
13. Borowitz M., Rubnitz K., Nash M., Pullen D., Camitta B. Surface antigen phenotype can predict TEL-AML1 rearrangement in childhood B-precursor ALL: a Pediatric Oncology Group study Leukemia. 1998; 12: 1764–1770.

14. Gandemer V., Aubry M., Roussel M., Rio A.-G., de Tayrac M., Vallee A et al. CD9 expression can be used to predict childhood TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia: Proposal for an accelerated diagnostic flowchart. Leukemia Research 2010; 34: 430–437

15. Kiyokawa N., Iijima K., Tomita O., Miharu M., Hasegawa D. Kobayashi K. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia Leukemia Research 2014; 38: 42– 48

16. van Dongen J, Lhermitte L., Boettcher S., Almeida J., van der Velden V., Flores-Montero J. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes Leukemia. 2012; 26: 1908–1975

17. Kalina T., Vaskova M., Mejstrikova E., Madzo J., Trka J., Stary J. et al. Myeloid antigens in childhood lymphoblastic leukemia: clinical data point to regulation of CD66c distinct from other myeloid antigens. BMC Cancer. 2005 12;5:38.

18. Zaliova M., Kotrova M., Bresolin S., Stuchly J., Stary J., Hrusak O., et al. ETV6/RUNX1-like acute lymphoblastic leukemia: A novel B-cell precursor leukemia subtype associated with the CD27/CD44 immunophenotype. Genes Chromosomes Cancer. 2017 56(8): 608-616.

19. Vaskova M, Mejstrikova E, Kalina T, Martinkova P, Omelka M, Trka J., et al. Transfer of genomics information to flow cytometry: expression of CD27 and CD44 discriminates subtypes of acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2005 19(5):876-8.

20. Dworzak MN., Buldini B., Gaipa G., Ratei R., Hrusak O., Luria D. et al. AIEOP-BFM consensus guidelines 2016 for flow cytometric immunophenotyping of Pediatric acute lymphoblastic leukemia.Cytometry. Part B, Clinical Cytometry.2017 10.

21. Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flandrin G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. Br. J. Haematol. 1976; 33(4): 451—458.

22. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia. 1995; 9(10): 1783—1786.

23. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. Leukemia. 2011; 25(4): 567—574.

24. Harbott J., Viehmann S., Borkhardt A., Henze G., Lampert F. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse. Blood. 1997; 90 (12): 4933-4937.

25. Hrusák O., Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. Leukemia. 2002 Jul; 16(7):1233-1258.

26. De Zen L., Orfao A., Cazzaniga G., Masiero L., Cocito M.-G., Spinelli M. et al Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. Leukemia. 2000; 14: 1225–1231

27. Alessandri A., Reid G. Bader S., Massing B., Sorensen P., Schultz K. ETV6 (TEL)-AML1 pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells are associated with a distinct antigen-presenting phenotype. British Journal of Haematology. 2002; 116: 266-272

28. Noronha E.P., Andrade F.G., Zampier C., de Andrade C.F., Terra-Granado E., Pombo-de-Oliveira M.S., et al. Immunophenotyping with CD135 and CD117 predicts the FLT3, IL-7R and TLX3 gene mutations in childhood T-cell acute leukemia. Blood cells, molecules & diseases.2016 57:74-80.

29. Hoehn D., Medeiros L.J., Chen S.S., Tian T., Jorgensen J.L., Ahmed Y. et al. CD117 expression is a sensitive but nonspecific predictor of FLT3 mutation in T acute lymphoblastic leukemia and T/myeloid acute leukemia. American journal of clinical pathology. 2012 137(2): 213-219.

Авторы

Цаур Григорий Анатольевич

ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»

Доктор медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии

Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Ведущий научный сотрудник Лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний

Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии

Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

TsaurGA@mis66.ru

Пермикин Жан Викторович
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Врач-стажер лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России
Клинический ординатор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
permikin.z@yandex.com

Попов Александр Михайлович
ФГБУ «Национальный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России
Кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией клеточной иммунологии и иммуногенеза
Российская Федерация, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, 1
uralcytometry@gmail.com

Вержбицкая Татьяна Юрьевна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Ведущий научный сотрудник Лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
VerzhbitskayaTY@mis66.ru

Ригер Татьяна Олеговна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Младший научный сотрудник Лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
RigerTO@mis66.ru

Демина Анна Сергеевна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Биолог лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Биолог Лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
DeminaAS@mis66.ru

Нохрина Екатерина Сергеевна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Кандидат биологических наук, биолог лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
NokhrinaES@mis66.ru

Аракаев Олег Раисович
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Заведующий отделением детской онкологии № 2

Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Старший научный сотрудник Лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
ArakaevOR@mis66.ru

Савельев Леонид Иосифович
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики лаборатории молекулярной биологии, иммунофенотипирования и патоморфологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Заведующий лабораторией клеточной терапии онкогематологических заболеваний, ведущий научный сотрудник
Российская Федерация, 620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России
Доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии
Российская Федерация, 620030, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
Sav7000@yandex.ru

Фечина Лариса Геннадьевна
ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
Кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по онкологии и гематологии
Российская Федерация, 620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»
Ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной терапии онкогематологических заболеваний
Российская Федерация,620026, г. Екатеринбург, ул. Карла Маркса, 22а
TokarevaAN@mis66.ru

G.A. Tsaur [1, 2, 3], Zh.V. Permikin [1], 3, A.M. Popov[4], T.Yu. Verzhbitskaya [1, 2], T.O. Riger [1, 2], Anna S. Demina [1, 2], E.S. Nokhrina[1], O.R. Arakaev [1, 2], L.I. Saveliev [1, 2], L.G. Fechina [1, 2]

APPLICATION OF FLOW CYTOMETRY FOR PREDICTION OF TRANSLOCATION t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1* DETECTION IN CHILHOOD B-CELL PRECURSOR ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

[1] Regional Children's Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation;
[2] Research Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;
[3] Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;
[4] Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

Abstract. ***Aim***. The objective of the study was searching for surface antigen expression that could predict presence of translocation t(12;21)(p13;q22)/ *ETV6-RUNX1* in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) patients. ***Results***. *ETV6-RUNX1* fusion gene transcript was revealed in 72 (21.1%) out of 341 children with BCP-ALL. Leukemic blast cells in *ETV6-RUNX1* - positive patients more frequently had high CD10 expression, myeloid markers co-expression, including CD13, CD33, CD117, and absence of CD20 than in *ETV6-RUNX1* - negative ones. Nevertheless diagnostic test performance characteristics of each single parameter was not strong enough for predicting the presence of translocation t(12;21)(p13;q22)/*ETV6-RUNX1*. On the second step of analysis we used various combinations of the above mentioned markers. The highest diagnostic test performance parameters were obtained in case of combination of high CD117 and heterogeneous CD34 expressions. Specificity of this combination was 0.996 (95% CI 0.989-1.000), positive predictive value 0.947 (95% CI 0.847- 1.000), positive likelihood ratio 67.250 (95% CI 9.130-495.348), while

negative likelihood ratio was 0.752 (95% CI 0.659-0.860). ***Conclusion***. Thus, combination of CD34 heterogeneous expression and CD117 expression is highly specific for translocation t(12;21)(p13;q22)/ *ETV6-RUNX1*. However this combination had limited applicability, because it revealed in 25.0% percent of patients only.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia, children, flow cytometry, translocation t(12;21)(p13;q22), fusion gene *ETV6-RUNX1*

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:
Grigory A. Tsaur
tsaur@mail.ru

Received 26.11.2020
For citation:
Tsaur G.A., Permikin Zh.V., Popov A.M., Verzhbitskaya T.Yu., Riger T.O., Demina A.S., Nokhrina E.S., Arakaev O.R., Saveliev L.I., Fechina L.G. Application of flow cytometry for prediction of translocation t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 detection in chilhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Url: http://vestnikural.ru/article/1140. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 3, pp. 210–220. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-3-210-220 (In Russ)

REFERENCES

1. Romana SP., Le Coniat M., Berger R.: t(12;21): A new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia. Genes Chromosomes Cancer. 1994; 9: 186-191
2. Golub T., Barker G., Bohlander S., Hiebert S., Ward D., Bray-Ward P. et al. Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. Proc Natl AcadSci USA. 1995; 92: 4917–4921.
3. Romana SP., Mauchauffe M., Le Coniat M., Chumakov I., Le Paslier D., Berger R., Bernard O.A. The t(12;21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. Blood. 1995; 85(12): 3662-3670.
4. Shurtleff S., Buijs A., Behm F., Rubnitz J., Raimondi S., Hancock M. et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. Leukemia. 1995; 9(12): 1985-1989.
5. Borkhardt A., Cazzaniga G., Viehmann S., Valsecchi M. G., Ludwig W.D., Burci L. et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. Blood.1997; 90 (2): 571-577.
6. Kobayashi H., Rowley J. Identification of cytogenetically undetected 12p13 translocations and associated deletions with fluorescence in situ hybridization. Genes Chromosomes Cancer. 1995; 12(1): 66-69.
7. Moricke A., Zimmermann M., Reiter A., Henze G., Schrauder A., Gadner H. et al Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. Leukemia. 2010; 24: 265–284.
8. Moorman A., Ensor H., Richards S., Chilton L., Schwab C., Kinsey S. et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial Lancet Oncol. 2010; 11: 429–438
9. Loh M., Goldwasser M., Silverman L., Poon W.-M., Vattikuti S., Cardoso A. et al. et al. Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01. Blood. 2006; 107(11): 4508-4513.
10. Forestier E., Heyman M., Andersen M-K., Autio K., Blennow E., Borgström G. et al. Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival. Br J Haematol. 2008; 140(6): 665-72.
11. Bhojwani D., Pei D., Sandlund J., Jeha S., Ribeiro R., Rubnitz J. et al. ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy. Leukemia. 2012; 26(2): 265-70.
12. Kato M., Ishimaru S., Seki M., Yoshida K., Shiraishi Y., Chiba K. et al. Long-term outcome of 6-month maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukemia in children. Leukemia. 2017; 31: 580-584
13. Borowitz M., Rubnitz K., Nash M., Pullen D., Camitta B. Surface antigen phenotype can predict TEL-AML1 rearrangement in childhood B-precursor ALL: a Pediatric Oncology Group study Leukemia. 1998; 12: 1764–1770.
14. Gandemer V., Aubry M., Roussel M., Rio A.-G., de Tayrac M., Vallee A et al. CD9 expression can be used to predict childhood TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia: Proposal for an accelerated diagnostic flowchart. Leukemia Research 2010; 34: 430–437
15. Kiyokawa N., Iijima K., Tomita O., Miharu M., Hasegawa D. Kobayashi K. Significance of CD66c expression

in childhood acute lymphoblastic leukemia Leukemia Research 2014; 38: 42– 48

16. van Dongen J, Lhermitte L., Boettcher S., Almeida J., van der Velden V., Flores-Montero J. et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes Leukemia. 2012; 26: 1908–1975

17. Kalina T., Vaskova M., Mejstrikova E., Madzo J., Trka J., Stary J. et al. Myeloid antigens in childhood lymphoblastic leukemia: clinical data point to regulation of CD66c distinct from other myeloid antigens. BMC Cancer. 2005 12;5:38.

18. Zaliova M., Kotrova M., Bresolin S., Stuchly J., Stary J., Hrusak O., et al. ETV6/RUNX1-like acute lymphoblastic leukemia: A novel B-cell precursor leukemia subtype associated with the CD27/CD44 immunophenotype. Genes Chromosomes Cancer. 2017 56(8): 608-616.

19. Vaskova M, Mejstrikova E, Kalina T, Martinkova P, Omelka M, Trka J., et al. Transfer of genomics information to flow cytometry: expression of CD27 and CD44 discriminates subtypes of acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2005 19(5):876-8.

20. Dworzak MN., Buldini B., Gaipa G., Ratei R., Hrusak O., Luria D. et al. AIEOP-BFM consensus guidelines 2016 for flow cytometric immunophenotyping of Pediatric acute lymphoblastic leukemia.Cytometry. Part B, Clinical Cytometry.2017 10.

21. Bennett J., Catovsky D., Daniel M., Flandrin G., Galton D., Gralnick H., et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. Br. J. Haematol. 1976; 33(4): 451—458.

22. Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia. 1995; 9(10): 1783—1786.

23. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P., Buldini B., Bumbea H., Kern W., et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. Leukemia. 2011; 25(4): 567—574.

24. Harbott J., Viehmann S., Borkhardt A., Henze G., Lampert F. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse. Blood. 1997; 90 (12): 4933-4937.

25. Hrusák O., Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. Leukemia. 2002 Jul; 16(7):1233-1258.

26. De Zen L., Orfao A., Cazzaniga G., Masiero L., Cocito M.-G., Spinelli M. et al Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. Leukemia. 2000; 14: 1225–1231

27. Alessandri A., Reid G. Bader S., Massing B., Sorensen P., Schultz K. ETV6 (TEL)-AML1 pre-B acute lymphoblastic leukaemia cells are associated with a distinct antigen-presenting phenotype. British Journal of Haematology. 2002; 116: 266-272

28. Noronha E.P., Andrade F.G., Zampier C., de Andrade C.F., Terra-Granado E., Pombo-de-Oliveira M.S., et al. Immunophenotyping with CD135 and CD117 predicts the FLT3, IL-7R and TLX3 gene mutations in childhood T-cell acute leukemia. Blood cells, molecules & diseases.2016 57:74-80.

29. Hoehn D., Medeiros L.J., Chen S.S., Tian T., Jorgensen J.L., Ahmed Y. et al. CD117 expression is a sensitive but nonspecific predictor of FLT3 mutation in T acute lymphoblastic leukemia and T/myeloid acute leukemia. American journal of clinical pathology. 2012 137(2): 213-219.

Authors
Grigory A. Tsaur
Regional Children's Hospital
Doctor of Medical Science, Director of Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Leading Researcher at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
Ural State Medical University
Associate Professor at the Department of Laboratory Diagnostics and Bacteriology
3, Repina St., Yekaterinburg 620030, Russian Federation
TsaurGA@mis66.ru

Zhan V. Permikin
Regional Children's Hospital
Trainee doctor at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory

32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation

Ural State Medical University
Resident at the Department of Laboratory Diagnostics and Bacteriology
3, Repina St., Yekaterinburg 620030, Russian Federation
permikin.z@yandex.com

Alexander M. Popov
Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology
PhD, Director of Cellular Immunololgy and Immunogenesis Laboratory
1, Samory Mashela St., Moscow 117997, Russian Federation
uralcytometry@gmail.com

Tatyana Yu. Verzhbitskaya
Regional Children's Hospital
PhD, Doctor of Laboratory Medicine at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Leading Researcher at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
VerzhbitskayaTY@mis66.ru

Tatyana O. Riger
Regional Children's Hospital
Doctor of Laboratory Medicine at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Junior Researcher at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
RigerTO@mis66.ru

Anna S. Demina
Regional Children's Hospital
Biologist at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Ytkaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Biologist at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
DeminaAS@mis66.ru

Ekaterina S. Nokhrina
PhD
Regional Children's Hospital
Biologist at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
NokhrinaES@mis66.ru

Oleg R. Arakaev
Regional Children's Hospital
Head of Pediatric Oncology Ward #2
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Senior Researcher at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
ArakaevOR@mis66.ru

Leonid I. Saveliev

Regional Children's Hospital
PhD, Doctor of Laboratory Medicine at the Molecular Biology, Immunophenotyping and Pathology Laboratory
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Director of the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders, Leading Researcher
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
Ural State Medical University
Associate Professor at the Department of Laboratory Diagnostics and Bacteriology
3, Repina St., Yekaterinburg 620030, Russian Federation
Sav7000@yandex.ru

Larisa G. Fechina
Regional Children's Hospital
PhD, Deputy of Head Physician for Oncology and Hematology
32, Serafimy Deryabinoy Street., Yekaterinburg 620149, Russian Federation
Research Institute of Medical Cell Technologies
Leading Researcher at the Laboratory of Cellular Therapy of Oncohematological Disorders
22a, Karla Marksa St., Yekaterinburg 620026, Russian Federation
TokarevaAN@mis66.ru

on-line ISSN 2500-0918
vestnikural.ru