

靶向二代测序在骨髓增生异常综合征患者中的诊断及预后意义

张丽娟^{1,2}, 陈智^{1,2}, 张欣^{1,2}, 张权斌^{1,2}, 朱家斌^{1,2}, 陈侃侃^{1,2}, 何正梅^{1,2}, 王春玲^{1,2}, 于亮^{1,2*}

(1. 南京医科大学附属淮安第一医院血液科, 江苏 淮安 223300;

2. 南京医科大学血液研究重点实验室, 江苏 南京 210029)

摘要:目的 探讨靶向二代测序(next-generation sequencing, NGS)在骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)患者中的诊断及预后意义。**方法** 回顾性分析淮安市第一人民医院血液科2018年1月—2021年9月收治的205例疑诊MDS的血细胞减少患者的靶向NGS数据资料,观察患者的诊断分布、髓系克隆性疾病患者的基因突变特点;采用ROC曲线分析基因突变数目及等位基因变异频率(variant allele fraction, VAF)预测MDS和MDS/MPN的诊断潜能;并采用Kaplan-Meier生存分析法研究突变数目和VAF在初诊MDS患者中的预后意义。**结果** 205例患者包括40例意义未明的特发性血细胞减少症(idiopathic cytopenia of undetermined significance, ICUS)、47例再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)、23例意义未明的克隆性血细胞减少症(clonal cytopenias of undetermined significance, CCUS)、79例MDS、13例骨髓增生异常-骨髓增殖性肿瘤(myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, MDS/MPN)和3例MPN患者。其中,以髓系克隆造血为表现的MDS/MPN、MDS和CCUS 3组患者的VAF的平均值分别为45.12%(7.90%~93.60%)、44.79%(8.70%~99.70%)和34.83%(4.40%~94.60%)($P=0.1778$);3组突变数目的平均值分别为2.462(0~7)、1.886(0~7)和1.826(1~4)($P=0.4593$)。诊断方面:VAF预测MDS及MDS/MPN的敏感度为78.9%,特异度为80.0%,最佳截断值=6.6%;基因突变数目的敏感度为78.9%,特异度为78.2%,最佳截断值=1;然而2个指标联合并不能提高MDS及MDS/MPN的诊断效能。MDS预后方面:VAF $\geq 57.93\%$ 组($n=13$)患者较VAF $< 57.93\%$ 组($n=66$)的患者预后更差;中位OS显著缩短(9.0个月 vs 未达到, $P=0.0005$);中位PFS也显著缩短(11.0个月 vs 未达到, $P=0.0079$)。基因突变数目 ≥ 2 ($n=42$)的患者较突变数目 < 2 ($n=37$)的患者预后差;中位OS显著缩短(33.0个月 vs 未达到, $P=0.0265$);而中位PFS差异无统计学意义($P=0.6067$)。**结论** 本研究的靶向NGS谱简洁实用,基因突变数目和VAF对MDS患者的诊断预测和预后判断具有重要的临床意义。

关键词: 靶向二代测序;骨髓增生异常综合征;诊断潜能;预后

中图分类号:R557 文献标志码:A 文章编号:2096-3882(2023)11-0811-05

DOI:10.3969/j.issn.2096-3882.2023.11.006

The diagnostic and prognostic value of targeted next-generation sequencing in myelodysplastic syndrome

ZHANG Lijuan^{1,2}, CHEN Zhi^{1,2}, ZHANG Xin^{1,2}, ZHANG Quan'e^{1,2}, ZHU Jiabin^{1,2},
CHEN Kankan^{1,2}, HE Zhengmei^{1,2}, WANG Chunling^{1,2}, YU Liang^{1,2*}

(1. Department of Hematology, the Affiliated Huai'an No. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an, Jiangsu 223300, China; 2. Key Laboratory of Hematology of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210029)

Abstract: Objective To explore the diagnostic and prognostic values of targeted next-generation sequencing (NGS) for patients with myelodysplastic syndrome (MDS). **Methods** A total of 205 cytopenias patients with suspected MDS who were admitted to Department of Hematology, the Affiliated Huai'an No. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University from January 2018 to September 2021 were selected and their targeted NGS data were retrospectively analyzed. Their diagnostic distribution and the gene mutation characteristics of patients with myeloid clonal hematopoiesis were observed. A ROC curve was plotted to analyze the diagnostic potential of number of gene mutations and variant allele fraction (VAF) for MDS and MDS/MPN patients. In addition, Kaplan-Meier survival analysis was used to evaluate the prognostic value of VAF and the number of mutations in newly diagnosed MDS patients. **Results** The 205 patients

基金项目:淮安市科技局支撑项目(HAB202020)

* 通信作者, E-mail: yuliangha@163.com

included 40 patients with idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS), 47 patients with aplastic anemia (AA), 23 patients with clonal cytopenias of undetermined significance (CCUS), 79 patients with MDS, 13 patients with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN) and 3 patients with myeloproliferative neoplasms (MPN). For patients in the MDS/MPN, MDS and CCUS groups who were characterized by myeloid clonal hematopoiesis, their mean VAF value was 45.12% (7.90%–93.60%), 44.79% (8.70%–99.70%) and 34.83% (4.40%–94.60%), respectively ($P=0.1778$), while their mean number of mutations was 2.462 (0–7), 1.886 (0–7), and 1.826 (1–4), respectively ($P=0.4593$). Furthermore, VAF had a sensitivity of 78.9% and a specificity of 80.0%, with a cut-off value of 6.60%, when predicting the diagnosis of MDS and MDS/MPN. The number of gene mutations had a sensitivity of 78.9% and a specificity of 78.2%, with a cut-off value of 1, when predicting the diagnosis of MDS and MDS/MPN. However, the combination of the two indicators did not improve the diagnostic efficiency of MDS and MDS/MPN. Moreover, patients with $VAF \geq 57.93\%$ ($n=13$) showed poorer prognosis than those with $VAF < 57.93\%$ ($n=66$), with shorter median overall survival (OS) (9.0 months vs not reached, $P=0.0005$) and shorter median progression-free survival (PFS) (11.0 months vs not reached, $P=0.0079$). In contrast, patients with ≥ 2 gene mutations ($n=42$) presented poorer prognosis than those with < 2 gene mutations ($n=37$), with remarkable shorter median OS (33.0 months vs not reached, $P=0.0265$), without statistical difference in median PFS ($P=0.6067$).

Conclusions The targeted NGS in this study is simple and practical. The number of gene mutations and VAF can be applied to predict the diagnosis and evaluate the prognosis of MDS, with important clinical significance.

Key words: targeted next-generation sequencing; myelodysplastic syndrome; diagnostic potential; prognosis

骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS) 是一组异质性髓系克隆性疾病, 其发病机制主要涉及 DNA 甲基化、转录因子、RNA 剪接和信号传导等相关的基因突变。随着二代测序 (next-generation sequencing, NGS) 的开展, MDS 相关的体细胞基因突变已成为研究热点, 主要用于 MDS 的诊断、预后及指导治疗等^[1]。此外, NGS 可以协助前 MDS 状态 (Pre-MDS) 的诊断及鉴别诊断。Pre-MDS 虽然达不到 MDS 最低诊断标准, 但仍然有转化为 MDS 的潜在风险, 也可能血象保持稳定, 长期无进展, 其中意义未明的特发性血细胞减少症 (idiopathic cytopenia of undetermined significance, ICUS) 最为常见。通过 NGS 筛查发现大约 40% 的 ICUS 患者伴有克隆性造血, 也就是意义未明的克隆性血细胞减少症 (clonal cytopenias of undetermined significance, CCUS)^[2]。CCUS 以难治性血细胞减少症和克隆性造血为特征, 诊断 CCUS 的等位基因变异频率 (variant allele fraction, VAF) $\geq 2\%$ ^[3]。大约 85% 的 CCUS 患者 5 年之内进展为 MDS, 建议此类患者每 3~6 个月复查骨髓形态, 每年进行 1 次 NGS 筛查, 以了解其突变负荷和突变克隆演变情况^[4]。

自 2018 年 1 月起, 本中心对于疑诊 MDS 的血细胞减少症患者常规予以 20 个 MDS 相关基因的靶向 NGS 检查, 协助 MDS 的诊断及预后评价。现通过回顾性分析 205 例疑诊 MDS 的血细胞减少患者的靶向 NGS 数据资料, 以探讨基于 NGS 的基因突变数目和突变负荷 VAF 在 MDS 患者中的诊断及预

后意义。

1 资料和方法

1.1 病例来源 2018 年 1 月—2021 年 9 月淮安市第一人民医院血液科收治的血细胞减少患者常规进行血细胞计数、网织红细胞计数、外周血细胞形态、血沉、生化、抗核抗体+ENA 抗体谱、普癌 4 项、甲功 4 项、贫血 3 项 (血清叶酸、维生素 B12、铁蛋白水平)、红细胞生成素水平测定、Coombs 试验、肝胆胰脾彩超、骨髓细胞形态学、骨髓病理和常规染色体核型分析。对于疑诊 MDS 的 205 例患者, 进一步完善荧光原位杂交及靶向 NGS 检查。本研究收集 205 例患者的 NGS 结果进行回顾性分析。根据淮安市第一人民医院伦理委员会相关规定, 该研究为回顾性非干预性研究, 可豁免患者的知情同意。

1.2 基因检测方法 通过提取骨髓中的 gDNA, 利用 nextseq550 测序平台 (美国 illumina 公司) 对 MDS 相关的 20 个基因区域进行靶向扩增子法深度测序, NGS 扩增子测序法引物由 illumina 公司设计、合成; 采用 Ampliseq Library Plus for illumina 试剂盒制备文库, PCR 初始模板量为 20 ng; 采用 KAPA Illumina Library Quantification Kit Universal qPCR Mix 对文库进行实时定量 PCR 检测; 最后使用 Next Seq 500/550 Mid Output Kit v2.5 (300 Cycles) 测序试剂盒 (美国 illumina 公司) 上机测序。平均测序深度 1000× 以上。

1.3 测序基因谱 ASXL1、BCOR、EZH2、TET2、

KRAS、NRAS、DNMT3A、ETV6、IDH1、IDH2、RUNX1、CBL、JAK2V617F、SRSF2、SF3B1、U2AF1、ZRSR2、STAG2、TP53 和 SETBP1。

1.4 诊断标准 MDS 及骨髓增生异常-骨髓增殖性肿瘤(myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, MDS/MPN)的诊断标准及分型参照 WHO 2016^[5]。CCUS 的诊断标准需满足以下 4 个条件:①一系或多系血细胞减少:血红蛋白<110 g/L,血小板计数<100×10⁹/L,中性粒细胞计数<1.5×10⁹/L,并且持续时间 6 个月以上;②骨髓/外周血标本髓系肿瘤相关基因突变阳性[VAF≥2.0%]或染色体核型异常(髓系肿瘤非重现性异常);③不满足下列任何一项 MDS 最低诊断标准:骨髓原始细胞比例≥5.0%,骨髓粒系、红系、巨核系病态造血比例均不超过 10%,MDS 特征性染色体核型异常;④不符合其他引起血细胞减少的血液系统疾病诊断标准。ICUS 的诊断标准也需满足 4 个条件:①一系或多系血细胞持续减少(≥4 个月);②血细胞减少标准,血红蛋白<110 g/L,血小板计数<100×10⁹/L,中性粒细胞计数<1.5×10⁹/L;③不符合 MDS 的最低诊断标准;④除其他血液系统和非血液系统疾病导致的血细胞减少。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 26.0 及 Grafpad 8.0 统计软件进行分析,多组数据资料,各亚组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。通过绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 NGS 数据中的基因突变数目和 VAF 对 MDS 和 MDS/MPN 的诊断效能。此外,采用 Kaplan-Meier 法绘制患者的生存曲线,Log Rank 的检验方法进行生存分析,研究 VAF 和基因突变数目对初诊 MDS 患者的预后意义。随访时间截至 2022 年 2 月 17 日,均为电话随访,中位随访时间为 11.0 个月(1.0~46.0 个月)。计算危险比(HR)和 95%可信区间(CI)。无进展生存期(progression-free survival, PFS)定义为从确诊之日到疾病进展、任何原因死亡或临床随访结束的时间。总生存期(overall survival, OS)定义为从确诊之日到任何原因的死亡或随访结束的时间。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 诊断分布及基因突变特点 205 例疑诊 MDS 的血细胞减少患者包括 79 例 MDS,13 例 MDS/MPN,3 例 MPN,23 例 CCUS,47 例再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)和 40 例 ICUS。在 AA 及

ICUS 患者中,仅 1 例 AA 患者 BCOR 突变阳性。MDS 患者组中常见的基因突变分别为 TP53 (24.1%)、ASXL1 (20.0%)、U2AF1 (20.0%) 和 TET2 (16.5%),CCUS 患者组常见的突变分别为 TET2 (39.1%)、U2AF1 (30.4%)、BCOR (26.1%) 和 ASXL1 (21.7%),而 MDS/MPN 患者组常见的突变分别为 TET2 (38.5%)、ASXL1 (30.8%)、RUNX1 (30.8%) 和 SRSF2 (30.8%)。本研究中,MDS/MPN、MDS 和 CCUS 组 VAF 的平均值分别为 45.12% (7.90%~93.60%)、44.79% (8.70%~99.70%) 和 34.83% (4.40%~94.60%) ($P=0.1778$)。此外,3 组突变数目的平均值分别为 2.462 (0~7)、1.886 (0~7) 和 1.826 (1~4) ($P=0.4593$)。结果显示 MPS/MPN 组的突变数目及 VAF 值相对较高,其次为 MDS 组、CCUS 组,但 3 组患者之间差异无统计学意义。

2.2 NGS 基因指标在疑诊 MDS 患者的诊断效能 本研究采用 ROC 曲线分析评价基因突变数目和 VAF 对 MDS 及 MDS/MPN 患者的诊断效能,并通过 ROC 曲线寻找这 2 个指标在诊断 MDS 及 MDS/MPN 时的临界值(cut-off 值),选择曲线上靠近左上方约登指数最大的切点为最合适的 cut-off。

2.2.1 基因突变 VAF 预测 MDS 及 MDS/MPN 的诊断效能 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)=0.809±0.032 (95% CI:0.747-0.871), $P<0.001$,cut-off=6.60%,敏感度为 78.9%,特异度为 80.0%,阳性预测值(positive predictive value, PPV)为 79.8%,阴性预测值(negative predictive value, NPV)为 79.1% (图 1)。

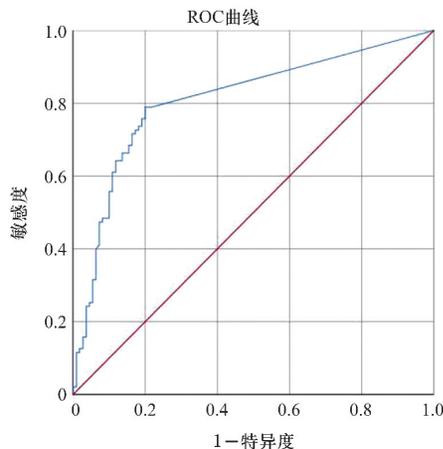


图 1 基因突变 VAF 预测 MDS 及 MDS/MPN 的 ROC 曲线

2.2.2 基因突变数目预测 MDS 及 MDS/MPN 的诊断效能 ROC-AUC=0.811±0.031 (95% CI:0.750-

0.872), $P < 0.001$, cut-off = 1, 敏感度为 78.9%, 特异度为 78.2%, PPV 为 78.4%, NPV 为 78.8% (图 2)。

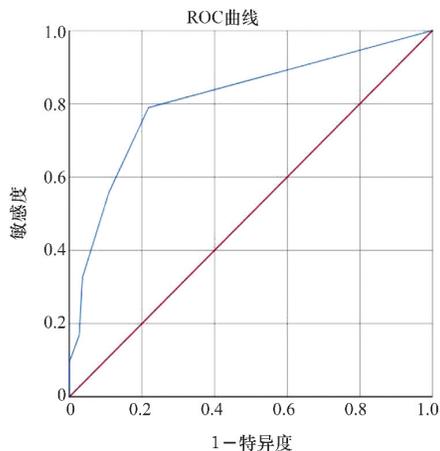


图 2 基因突变数目预测 MDS 及 MDS/MPN 的 ROC 曲线

2.2.3 基因突变数目联合 VAF 预测 MDS 及 MDS/MPN 的诊断效能 基因突变数目联合 VAF 进行二元 logistic 回归分析, 建立统计学诊断模型, 计算预测概率 (Pre), 然后进行 ROC 曲线分析。结果示 ROC-AUC = 0.816 ± 0.031 (95% CI: 0.755-0.877), Pre = 0.3775602, 敏感度为 78.9%, 特异度为 80.0%, PPV 为 79.8%, NPV 为 79.1%。3 组 ROC 曲线之间差异无统计学意义, 因而 2 个指标联合不能提高 MDS 及 MDS/MPN 的诊断效能 (图 3)。

2.3 NGS 基因指标在 MDS 患者中的预后意义 79 例初诊 MDS 患者基线资料: 性别, 男 53 例、女 25 例; 年龄, ≥60 岁 58 例、<60 岁 21 例; 分型, MDS-SLD 1 例、MDS-MLD 15 例、MDS-RS 3 例、MDS-RS-SLD 1 例、MDS-RS-MLD 1 例、MDS-EB-1 24 例、MDS-EB-2 27 例、MDS-U 7 例; IPSS-R 危险分层,

低危 10 例、中危 15 例、高危 41 例、极高危 13 例; 治疗方案, 去甲基化 ± 化疗 38 例、异基因造血干细胞移植 4 例、支持治疗 37 例。随访至 2022 年 2 月, 中位随访时间为 11.0 个月 (1.0~46.0 个月), 12 例进展为急性髓系白血病, 23 例死亡。依据连续变量 VAF 在 MDS 患者生存分析时的 ROC 曲线, 约登指数最大时 VAF 的 cut-off 为 57.93%, 故分为 VAF^{high} (VAF ≥ 57.93%) 和 VAF^{low} (VAF < 57.93%) 2 组; 根据患者的基因突变数目, 分为突变数目 ≥ 2 和突变数目 < 2 组, 以研究 NGS 在 MDS 患者中的预后意义。采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析, 结果如下: VAF^{high} 组 ($n = 13$) 患者的中位 OS 较 VAF^{low} 组 ($n = 66$) 患者显著缩短 (9.0 月 vs 未达到, HR = 9.793, 95% CI: 2.706-35.44, $P = 0.0005$), 中位 PFS 也显著缩短 (11.0 月 vs 未达到, HR = 12.83, 95% CI: 1.955-84.23, $P = 0.0079$)。突变数目 ≥ 2 组 ($n = 42$) 患者的中位 OS 较突变数目 < 2 组 ($n = 37$) 患者显著缩短 (33.0 月 vs 未达到, HR = 2.544, 95% CI: 1.115-5.805, $P = 0.0265$), 而 2 组之间的中位 PFS 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

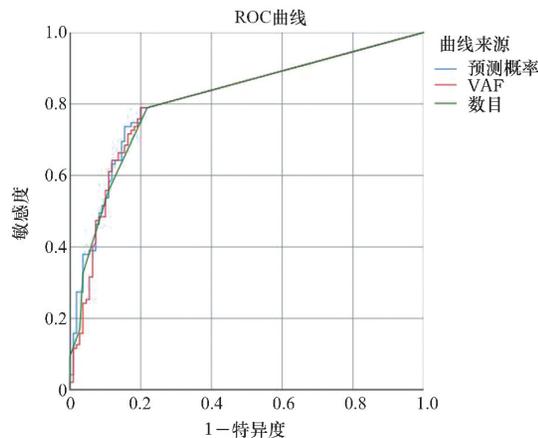


图 3 基因突变 VAF 联合数目预测 MDS 及 MDS/MPN 的 ROC 曲线

表 1 VAF 和突变数目对 MDS 患者 OS 和 PFS 的影响

指标	OS			PFS		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
VAF (≥57.93% vs <57.93%)	9.793	2.706~35.44	0.0005	12.83	1.955~84.23	0.0079
基因突变数目 (≥2 vs <2)	2.544	0.363~0.919	0.0265	1.347	0.4344~4.178	0.6067

3 讨论

近年来, NGS 作为一种新兴的检查手段在不明

原因的血细胞减少症患者的诊断及鉴别诊断过程中发挥着重要的作用, 它可以识别恶性克隆相关的低频体细胞突变, 提高微小克隆的检测敏感性^[6-7]。据

报道,在已知的致病性变异体中发现 40~50 个具有明确意义的 MDS 热点突变^[8]。在国外,常采用 ≥ 20 个 MDS 相关基因用于诊断不明原因的血细胞减少,此过程中检测出的一些基因突变,早于骨髓细胞形态及骨髓病理改变^[9-10]。本研究中的靶向 NGS 谱主要为 20 个 MDS 热点突变,用于 205 例疑诊 MDS 的不明原因的血细胞减少症。结合患者的骨髓形态、细胞遗传学及靶向 NGS 结果,共诊断 47 例 AA,40 例 ICUS,23 例 CCUS,79 例 MDS、13 例 MDS/MPN 和 3 例 MPN。

本研究重点探讨了 NGS 中的基因突变数目及 VAF 对 MDS 及 MDS/MPN 的诊断效能,结果发现 VAF 预测 MDS 及 MDS/MPN 的敏感度 78.9%,特异度 80.0%,PPV 79.8%,NPV 79.1%,cut-off = 6.60%;基因突变数目的敏感度 78.9%,特异度 78.2%,PPV 78.4%,NPV 78.8%,cut-off=1;而 VAF 联合基因突变数目并不能提高预测的敏感度及特异度。Kawata 等^[11]报道的 69 个髓系热点突变的靶向 NGS 应用于 134 例疑诊 MDS 的患者,预测髓系克隆性疾病的敏感度 77%,特异度 90.2%,PPV 92.8%,NPV 70.8%。Zheng 等^[12]报道的 41 个髓系基因组合预测 MDS 的敏感度 95.7%,当 VAF $\geq 20\%$,或突变数目 ≥ 2 联合 VAF $\geq 10\%$ 时,特异度可达 100%。与文献报道相比,本研究中 20 个 MDS 相关基因的靶向 NGS 预测 MDS 及 MDS/MPN 的敏感度及特异度稍低,但临床更为实用。

Jiang 等^[13]报道了 TET2、TP53 和 SF3B1 基因突变的 VAF 数值对 MDS 患者的预后具有重要意义。张小寒等^[14]报道了 250 例 MDS 患者,结果显示基因突变数目 ≥ 2 在 HR-MDS 患者中具有较差的 OS。本研究基于 NGS 结果,探讨了基因突变数目及 VAF 数值对初诊 MDS 患者具有重要的预后意义。经 Kaplan-Meier 生存分析,结果显示 VAF $\geq 57.93\%$ 组患者较 VAF $< 57.93\%$ 组的患者预后更差;中位 OS 显著缩短(9.0 个月 vs 未达到, $P=0.0005$);中位 PFS 也显著缩短(11.0 个月 vs 未达到, $P=0.0079$)。基因双突变或多突变($n\geq 2$) 组的患者预后也差;中位 OS 显著缩短(33.0 个月 vs 未达到, $P=0.0265$);而中位 PFS 无显著统计学差异。研究结果表明,基因突变数目 ≥ 2 和 VAF $\geq 57.93\%$ 提示 MDS 患者预后不良。随着 MDS 病例数的积累,本研究后续将针对具体基因突变的 VAF 及不同预后危险分层的基因突变数目对 MDS 患者的预后意义进行探讨。

总之,研究发现靶向 NGS 的基因突变数目和

VAF 值对 MDS 患者的诊断及预后具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Ogawa S. Genetics of MDS [J]. *Blood*, 2019, 133(10): 1049-1059.
- [2] Tanaka TN, Bejar R. MDS overlap disorders and diagnostic boundaries [J]. *Blood*, 2019, 133(10): 1086-1095.
- [3] 张薇,付蓉. 前骨髓增生异常综合征状态研究进展 [J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(7): 603-607.
- [4] Palomo L, Ibáñez M, Abúgar M, et al. Spanish Guidelines for the use of targeted deep sequencing in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2020, 188(5): 605-622.
- [5] 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 [J]. *Blood*, 2016, 128(3): 462-463.
- [6] Steensma DP. The clinical challenge of idiopathic cytopenias of undetermined significance (ICUS) and clonal cytopenias of undetermined significance (CCUS) [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2019, 14(6): 536-542.
- [7] Gnanaraj J, Parnes A, Francis CW, et al. Approach to pancytopenia; diagnostic algorithm for clinical hematologists [J]. *Blood Rev*, 2018, 32(5): 361-367.
- [8] Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia*, 2014, 28(2): 241-247.
- [9] Steensma DP. New challenges in evaluating anemia in older persons in the era of molecular testing [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2016, 2016(1): 67-73.
- [10] Fernandez-Pol S, Ma LS, Ohgami RS, et al. Significance of myelodysplastic syndrome-associated somatic variants in the evaluation of patients with pancytopenia and idiopathic cytopenias of undetermined significance [J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(9): 996-1003.
- [11] Kawata E, Lazo-Langner A, Xenocostas A, et al. Clinical value of next-generation sequencing compared to cytogenetics in patients with suspected myelodysplastic syndrome [J]. *Br J Haematol*, 2021, 192(4): 729-736.
- [12] Zheng G, Chen P, Pallavajjala A, et al. The diagnostic utility of targeted gene panel sequencing in discriminating etiologies of cytopenia [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(10): 1141-1148.
- [13] Jiang LX, Wang L, Shen CY, et al. Impact of mutational variant allele frequency on prognosis in myelodysplastic syndromes [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(12): 4476-4487.
- [14] 张小寒, 尼罗帕尔·吐尔逊, 秦玉婷, 等. 骨髓增生异常综合征患者基因突变与预后的关系 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2022, 36(4): 325-329.

收稿日期: 2023-03-29 修回日期: 2023-10-02

本文编辑: 程春开