

微小残留病在成人急性髓系白血病 非预后良好型患者中的预后价值

任欣 赵婷 王婧 主鸿鹤 江浩 贾晋松 杨申森 江滨 王德炳 黄晓军 江倩

【摘要】目的 探讨微小残留病(MRD)对初治成人急性髓系白血病(AML)非预后良好型持续化疗患者预后的影响。**方法** 回顾2008年1月至2016年2月收治的按美国西南肿瘤协作组(SWOG)危险度分组为非预后良好型、获得形态学无白血病状态(MLFS)后持续化疗的AML(非急性早幼粒细胞白血病)连续病例,分析诊断时特征、诱导化疗方案、首次获得MLFS时MRD水平(MRD阳性定义为实时荧光定量PCR检测WT1 mRNA \geq 0.6%或流式细胞术发现残留白血病细胞)与预后的关系。**结果** 292例患者中,男150例(51.4%),中位年龄46(18~65)岁。SWOG分组:中危186例(63.7%),高危49例(16.8%),未知57例(19.5%)。单体核型15例(5.1%),FLT3-ITD突变阳性45例(15.4%),完全缓解(CR, MLFS伴ANC \geq 1 \times 10⁹/L和PLT \geq 100 \times 10⁹/L)231例(79.1%),CRp(MLFS伴PLT未恢复)25例(8.6%),CRi(MLFS伴ANC和PLT均未恢复)36例(12.3%)。189例(64.7%)存活者中位随访15(1~94)个月,2年累积复发率(CIR)、无病生存(DFS)和总生存(OS)率分别为51.6%、42.6%和60.0%。多因素分析显示:MLFS时MRD阳性、PLT $<$ 100 \times 10⁹/L是影响患者CIR和DFS的共同不利因素。FLT3-ITD突变阳性和MLFS时血细胞恢复不良是影响患者CIR、DFS和OS的共同不利因素。单体核型是影响患者CIR和OS的不利因素。此外,年龄 \geq 44岁和SWOG危险度分组为高危组是影响DFS的不利因素。**结论** 对于非预后良好型获得MLFS后持续化疗的成人AML患者,MLFS时MRD水平是独立于年龄、诊断时血液学或分子遗传学特征之外影响预后的重要因素。

【关键词】 白血病,髓样,急性; 微小残留病; 预后

Minimal residual disease level predicts outcomes in the non-favorable risk patients with acute myeloid leukemia Ren Xin, Zhao Ting, Wang Jing, Zhu Honghu, Jiang Hao, Jia Jinsong, Yang Shenmiao, Jiang Bin, Wang Debing, Huang Xiaojun, Jiang Qian. Peking University People's Hospital, Peking University Institute of Hematology, Beijing 100044, China

Corresponding author: Jiang Qian, Email: jiangqian@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To explore impact of minimal residual leukemia (MRD) on outcomes in the non-favorable risk adults with de novo acute myeloid leukemia (AML). **Methods** From January 2008 to February 2016, data of consecutive newly-diagnosed non-favorable risk adults with AML (non-APL) according to SWOG criteria who achieved morphologic leukemia-free state (MLFS) and received continuous chemotherapy were assessed retrospectively. **Results** 292 AML patients were enrolled, 150 (51.4%) were male. Median age was 46 years (range, 18-65 years). Using the SWOG cytogenetic classification, 186 (63.7%), 49 (16.8%) and 57 (19.5%) patients belonged to intermediate, unfavorable and unknown categories, respectively. With a median follow-up period of 15 months (range, 1 to 94 months) in survivors, the probabilities of cumulative rates of relapse (CIR), disease free survival (DFS) and overall survival (OS) at 2-years were 51.6%, 42.6% and 60.0%, respectively. Multivariate analyses showed that MRD positive (defined as Q-PCR WT1 mRNA \geq 0.6% or any level of abnormal blast population detected by flow cytometry) after achieving MLFS and PLT $<$ 100 \times 10⁹/L were common adverse factors affecting CIR and DFS. In addition, positive FLT3-ITD mutation and CRp/CRi had negatively impact on CIR, DFS and OS. Monosomal karyotype was adverse factors affecting CIR and OS. Age \geq 44

years and unfavorable-risk of SWOG criteria were associated with shorter DFS. **Conclusions** MRD level after achieving MLFS had prognostic significance on outcomes in non-favorable adults with AML who received continuous chemotherapy after achieving MLFS.

【Key words】 Leukemia, myeloid, acute; Minimal residual disease; Prognosis

识别成人急性髓系白血病(AML)患者长期生存的影响因素一直是值得关注的话题。近来,微小残留病(MRD)在AML中的预后意义越来越受到重视^[1-7],但国内尚缺乏大宗病例报道。定量检测MRD常用的方法有流式细胞术(FCM)检测白血病相关免疫表型(LAIP)和实时荧光定量PCR(RQ-PCR)检测特异性融合基因或泛白血病基因的表达。我所既往研究已经证实伴NPM1基因突变、t(8;21)或inv(16)等预后良好型AML患者MRD与复发和生存的关系^[8-11],并可作为指导后续治疗选择的重要指标。非预后良好型患者缺乏特异性融合基因,可采用FCM检测LAIP或RQ-PCR检测泛白血病基因监测MRD。本研究中我们回顾性分析292例我所按美国西南肿瘤协作组(SWOG)标准诊断为非预后良好型、持续接受化疗的成人AML连续病例的治疗结果,探讨包括MRD在内的影响预后的因素。

病例与方法

一、病例

2008年1月至2016年2月,我所收治的初治成人AML(非急性早幼粒细胞白血病)连续病例748例,460例(61.5%)经SWOG危险度分层纳入非预后良好组,并终获形态学无白血病状态(morphologic leukemia-free state, MLFS)。其中292例(63.5%)非预后良好型且获得MLFS后持续化疗的成人AML连续病例纳入本研究。

二、白血病相关检查方法

所有初诊患者均进行细胞形态学、免疫学、遗传学、分子生物学(MICM)检查^[12]。

1. 细胞遗传学分析:骨髓标本经G显带法分析染色体核型,根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN, 1995)》进行核型分析。单体核型定义为在一个克隆内存在两个常染色体单体或一个常染色体单体伴有其他常染色体结构异常。参考SWOG标准^[13]进行危险度预后分组。低危组包括inv(16)/t(16;16)/del(16q)、伴或不伴其他突变的t(15;17)、不伴del(9q)或复杂核型的t(8;21);中危组包括正常核型、+8、+6、-Y, del(12p);高危组包括复杂核型

(≥3组)、-5/del(5q)、-7/del(7q)、abn3q、9q、11q、20q、21q、17p、t(6;9)、t(9;22);其他核型为未知组。本研究排除了所有低危组的病例。

2. 免疫学分析:采用8色免疫标记法FCM检测分析骨髓细胞免疫表型。结合抗体采用CD34-FITC/CD13-PE/CD117-PerCP/CD33-APC/HLA-DR-APC-CY7/CD45-V500, CD38/CD7/CD56抗体用于初步诊断为AML的患者^[14]。

3. 分子生物学检测:分子生物学检测包括NPM1、FLT3-ITD基因突变、AML1-ETO、CBFβ-MYH11、PML-RARα、混合系白血病(MLL)相关融合基因和WT1 mRNA。WT1 mRNA水平采用RQ-PCR检测,内参照基因选用ABL基因。WT1 mRNA水平由以下公式计算:WT1 mRNA水平(%)=(WT1拷贝数/ABL拷贝数)×100%。参照本所常规方法^[15]。

三、治疗方案

1. 诱导治疗:方案包括IA10[去甲氧柔红霉素(IDA)10 mg/m²第1~3天联合阿糖胞苷(Ara-C)100 mg/m²第1~7天]、IA8(IDA 8 mg/m²第1~3天联合Ara-C100 mg/m²第1~7天)、HAA/HAD[高三尖杉酯碱(HHT)2 mg/m²第1~7天、阿克拉霉素(Acla)20 mg第1~7天、Ara-C 100 mg/m²第1~7天或柔红霉素(DNR)45 mg/m²第1~3天]、DA(DNR 40~45 mg/m²第1~3天联合Ara-C 100 mg/m²第1~7天)、CAG±D(G-CSF 300 μg第1~14天、Ara-C 20 mg 每12 h 1次第1~14天、Acla 20 mg第1~4天±地西他滨20 mg/m²第1~5天)、小剂量MA(米托蒽醌2 mg第1~7天或4 mg第1~5天联合Ara-C)及其他方案[包括地西他滨(50 mg第1~4天或20 mg/m²第1~5天)联合米托蒽醌2 mg第7~11天、阿扎胞苷等]。获得部分缓解(PR)患者采用原方案再诱导,未缓解(NR)者换用其他方案。

2. 获得MLFS后治疗:获得MLFS患者以原方案巩固化疗,给予3~4个疗程高剂量Ara-C(2 g/m², 每12 h 1次,第1~3天),之后接受DA、MA、HAA或AE等方案化疗,巩固治疗至少6个疗程。在第1次获得MLFS期,部分患者根据个人意愿以及供者、经济和身体状况等因素,在巩固化疗2个疗程以上

进行异基因造血干细胞移植,移植方案参见文献[16-17]。

四、MRD检测

在每次化疗后监测MRD。因为本研究排除了低危组的病例,大部分患者不具备特异性融合基因,所以根据患者初诊时免疫表型确定LAIP,分别采用FCM检测LAIP和(或)以RQ-PCR评估WT1 mRNA水平作为MRD的监测指标。FCM检测敏感度为 10^{-4} ,正常对照骨髓标本WT1 mRNA $<0.6\%$ 。

五、随访

主要采用门诊随访及电话随访方式,随访截止日期为2016年3月31日。

六、评估指标

早期死亡:在治疗疗效可以评估前死亡。无法评估:在治疗疗效可以评估前失访。疗效评估标准参见文献[18-19]。MLFS:白血病的症状和体征消失,白细胞分类中无白血病细胞,骨髓中原始粒细胞 <0.050 ,无髓外白血病。根据中性粒细胞绝对计数(ANC)和PLT将MLFS分为:①完全缓解(CR),定义为MLFS伴ANC和PLT均恢复($ANC \geq 1.0 \times 10^9/L$ 且 $PLT \geq 100 \times 10^9/L$);②CRp,定义为MLFS伴 $PLT < 100 \times 10^9/L$;③CRi,定义为MLFS伴 $ANC < 1.0 \times 10^9/L$,并且 $PLT < 100 \times 10^9/L$ 。复发:获得MLFS患者外周血重新出现白血病细胞或骨髓中原始细胞 ≥ 0.050 或髓外出现白血病浸润的患者。无病生存(DFS)时间:获得MLFS患者,从MLFS之日起至复发或MLFS状态下死亡或随访截止的时间。总生存(OS)时间:所有患者从开始治疗至死亡或随访截止的时间。评估累积复发率(CIR)、DFS和OS。

七、统计学处理

连续变量通过受试者工作特性曲线(ROC)方法确定影响复发和生存的界值。影响CIR、DFS和OS的因素采用Kaplan-Meier生存分析法并进行Log-rank检验, $P < 0.2$ 的因素进入Cox回归模型进行多因素分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。CIR采用竞争风险模型R软件分析。其余分析采用SPSS17.0软件进行统计。

结 果

1. 患者发病时的疾病特征:292例在获得MLFS后持续接受化疗的非预后良好型AML连续病例中,男性150例(51.4%),中位年龄46(18~65)岁。初诊时中位WBC $12.4(0.8 \sim 379.2) \times 10^9/L$,HGB 87(1~159)g/L,PLT $49.0(2.9 \sim 838.0) \times 10^9/L$,骨髓原

始细胞0.605(0.065~0.960),外周血原始细胞0.50(0~0.98)。按SWOG分组:中危186例(63.7%),高危49例(16.8%),危险度未知57例(19.5%)。FAB分型M₄或M₅型68例(23.3%),单体核型15例(5.1%),初诊时WT1 mRNA $\geq 0.6\%$ 260例(89.0%),FLT3-ITD突变阳性45例(15.4%)。首次诱导治疗后获得MLFS 212例(72.6%)。

2. 复发和生存:292例患者中,125例(42.8%)复发,103例(35.3%)死亡,其中89例(86.4%)死于复发。189例(64.7%)存活患者中位随访时间15(1~94)个月,2年CIR、DFS和OS率分别为51.6%、42.6%和60.0%。

3. MRD水平:292例患者中,在首次获得MLFS时249例(85.3%)进行了FCM检测,242例(82.9%)进行了WT1 mRNA检测。217例(74.3%)同时进行了FCM和WT1 mRNA检测,其中44例(20.3%)FCM和WT1 mRNA均阳性,102例(47.0%)FCM和WT1 mRNA均阴性,以FCM和WT1 mRNA检测MRD的一致率为67.3%。38例(13.0%)只进行了FCM或WT1 mRNA检测且为阴性,18例(6.2%)FCM和WT1 mRNA均未测。

4. 预后影响因素分析:以复发或死亡为终点,根据ROC曲线确定患者初诊时连续变量界值如下:年龄为44岁,WBC、HGB、PLT分别为 $10 \times 10^9/L$ 、100 g/L、 $100 \times 10^9/L$,外周血和骨髓原始细胞比例分别为0.50、0.600为界,初诊时WT1 mRNA水平为16.0%。单因素分析患者发病时特征[包括上述因素,性别,FAB分型(是否为M₄或M₅型),SWOG危险度分层(中危、高危或未知),是否为单体核型,FLT3-ITD、NPM1突变是否阳性]、首次诱导治疗方案、首次诱导治疗后是否获得MLFS、首次诱导化疗后MLFS时血细胞恢复情况(CR、CRp或CRi)、获得MLFS时MRD水平(FCM或WT1 mRNA)对复发和生存的影响。单因素分析显示获得MLFS时FCM和WT1 mRNA水平均是影响患者预后的因素(表1),但并非所有患者均在获得MLFS时进行了FCM和WT1 mRNA检测,因此我们采用FCM或WT1 mRNA评估患者MRD水平。分析217例同时进行了FCM和WT1 mRNA检测的患者中不同MRD水平对预后的影响,结果发现FCM和WT1 mRNA均为阴性的患者预后最佳,FCM和WT1 mRNA只有一者为阳性与两者均为阳性的患者预后差异无统计学意义(图1)。所以,我们将所有患者根据MRD水平分为四组:FCM和WT1mRNA均阴性,只检测

表1 影响患者累积复发率(CIR)、无病生存(DFS)和总生存(OS)的单因素分析(P 值 <0.2)

因素	例数	CIR		DFS		OS	
		率(%)	P 值	率(%)	P 值	率(%)	P 值
年龄(岁)			0.136		0.077		0.288
≥ 44	162	55.3		39.1		56.5	
< 44	130	50.3		47.2		64.4	
PLT($\times 10^9/L$)			0.061		0.039		0.359
< 100	219	55.3		38.8		57.6	
≥ 100	72	41.4		53.4		65.0	
WT1 mRNA			0.016		0.011		0.008
$\geq 16.0\%$	160	60.7		34.6		54.2	
$< 16.0\%$	128	42.1		50.4		65.7	
SWOG 分组			0.186		0.331		0.140
高危	49	70.8		21.4		47.5	
未知	57	50.1		41.6		57.1	
中危	186	48.8		47.8		63.9	
单体核型			0.037		0.012		0.002
是	15	96.0		2.4		29.7	
否	277	50.3		44.1		61.2	
FLT3-ITD 突变			< 0.001		< 0.001		< 0.001
阳性	45	81.5		17.8		27.8	
阴性	241	46.5		46.7		65.4	
NPM1 突变			0.004		0.001		0.031
阴性(NPM1 $^{-}$ FLT3 $^{+/}$)	219	57.8		36.2		57.4	
阳性(NPM1 $^{+}$ FLT3 $^{-}$)	68	35.9		60.4		67.3	
诱导方案			0.048		0.094		0.404
IA10	152	51.2		42.3		59.2	
IA8	43	54.3		40.0		52.7	
HAA/HAD	25	39.7		60.3		65.0	
DA	7	44.1		47.7		73.2	
CAG	28	61.7		37.7		73.4	
小剂量MA	28	86.5		12.6		32.8	
其他	9	56.6		43.4		57.9	
首次诱导化疗后是否获得MLFS			0.109		0.066		0.805
否	80	59.7		35.8		64.4	
是	212	49.3		44.6		58.2	
首次诱导化疗后MLFS时血细胞恢复情况			0.005		< 0.001		< 0.001
CRi	36	77.9		15.4		33.9	
CRp	25	69.1		22.2		38.5	
CR	231	47.2		48.6		66.3	
获得MLFS时FCM检测			0.012		0.006		0.094
阳性	84	60.9		33.2		57.0	
阴性	165	47.3		45.4		60.8	
获得MLFS时WT1 mRNA			< 0.001		< 0.001		0.003
阳性	94	71.5		23.5		47.9	
阴性	148	40.5		54.1		70.0	
获得MLFS时MRD			< 0.001		< 0.001		0.012
FCM或WT1 mRNA阳性	134	63.8		30.5		52.4	
只检测FCM或WT1且为阴性	38	49.0		44.2		58.6	
未检测	18	63.0		37.0		56.9	
FCM和WT1 mRNA均阴性	102	41.0		54.0		69.9	

注:IA10:去甲氧柔红霉素(IDA)10 mg/m²联合阿糖胞苷(Ara-C);IA8:IDA 8 mg/m²联合Ara-C;HAA/HAD:高三尖杉酯碱+阿克拉霉素(Acla)+Ara-C或柔红霉素;DA方案:柔红霉素联合Ara-C;CAG \pm D:G-CSF+Ara-C+Acla \pm 地西他滨;小剂量MA:米托蒽醌2 mg 第1~7天或4 mg 第1~5天联合Ara-C;其他方案:包括地西他滨联合米托蒽醌、阿扎胞苷等。MRD:微小残留病;MLFS:形态学无白血病状态;FCM:流式细胞术;CR:MLFS伴PLT、ANC均恢复;CRp:MLFS伴PLT $< 100 \times 10^9/L$;CRi:MLFS伴ANC $< 1.0 \times 10^9/L$ 、PLT $< 100 \times 10^9/L$

FCM或WT1mRNA且为阴性,FCM和(或)WT1 mRNA阳性,FCM和WT1 mRNA均未测。四组患

者的CIR、DFS、OS差异均有统计学意义(P 值分别为 < 0.001 、 < 0.001 、0.112)(图2)。因本研究为回顾

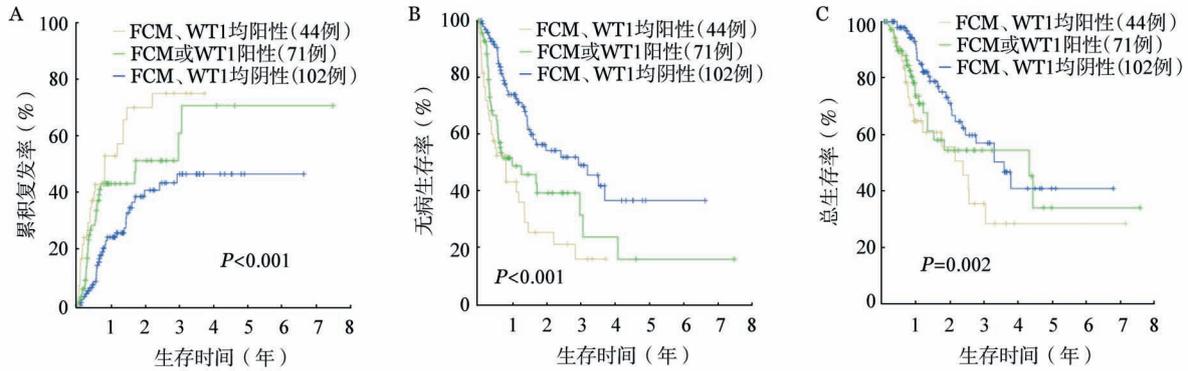


图1 同时进行流式细胞术(FCM)和WT1 mRNA检测的患者根据FCM和WT1 mRNA结果分组的累积复发(A)、无病生存(B)、总生存(C)曲线

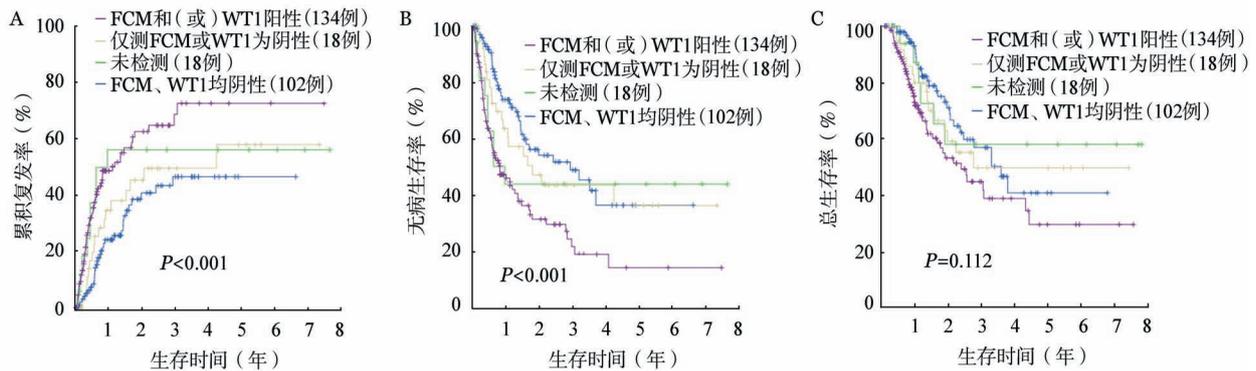


图2 所有患者中不同微小残留病水平组的累积复发(A)、无病生存(B)、总生存(C)曲线

性研究,并非所有患者均检测了分子学标志(如WT1 mRNA、FLT3-ITD和NPM1突变),所以多因素分析仅在281例具有完整基线指标的患者中进行。多因素分析确定:MLFS时MRD阳性[FCM和(或)WT1mRNA阳性]、PLT < 100×10⁹/L是影响患者CIR和DFS的共同不利因素。FLT3-ITD突变阳性和MLFS时血细胞恢复不良是影响患者CIR、DFS和OS的共同不利因素。单体核型是影响患者CIR和OS的不利因素。此外,年龄≥44岁和SWOG为高危组是影响患者DFS的不利因素(表2)。

5. 具有不同危险因素患者的预后:根据影响CIR、DFS或OS中≥2个的共同危险因素(PLT < 100×10⁹/L、FLT3-ITD突变阳性、单体核型、MLFS时血细胞恢复不良和MRD阳性)将281例患者分为4组:无危险因素组(25例,8.9%),1个危险因素组(116例,41.3%),2个危险因素组(89例,31.7%),≥3个危险因素组(51例,18.1%)。4组患者2年CIR、DFS率、OS率差异均有统计学意义(P值均<0.001)。无危险因素组和1个危险因素组CIR、DFS、OS率差异无统计学意义,≤1个危险因素组、2个危险因素组和≥3个危险因素组每两组患者间CIR和DFS比较

差异均有统计学意义,但无危险因素组和2个危险因素的患者间OS率差异无统计学意义(图3)。

因AML伴NPM1⁺FLT3-ITD⁻患者处于SWOG危险度非预后良好型,66例NPM1突变阳性(NPM1⁺FLT3-ITD⁻)患者的分布如下:无危险因素组16例(24.2%)、1个危险因素组32例(48.5%)、2个危险因素组16例(24.2%)、≥3个危险因素组2例(3.0%)(P<0.001)。即72.7%的AML伴NPM1⁺FLT3-ITD⁻患者处于≤1个危险因素组。

讨论

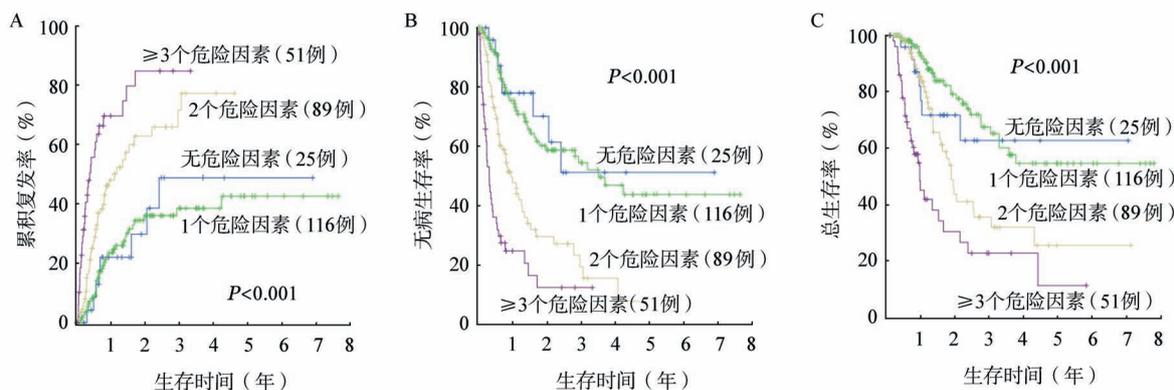
我们的研究结果显示,对于获得MLFS后持续化疗的非预后良好型AML患者,在我们的治疗体系下,MLFS时MRD阳性是影响CIR和DFS的共同不利因素。此外,年龄≥44岁、PLT < 100×10⁹/L、FLT3-ITD突变阳性、单体核型、SWOG为高危组和MLFS时血细胞恢复不良也是影响预后的不利因素。

对于获得CR(即本文中的MLFS)的AML患者,MRD的预后意义越来越被关注。目前定量检测MRD常用的方法有FCM检测LAIP和RQ-PCR检

表2 影响患者累积复发率(CIR)、无病生存(DFS)、总生存(OS)的多因素分析结果

因素	CIR			DFS			OS		
	HR	95%CI	P值	HR	95%CI	P值	HR	95%CI	P值
年龄≥44岁				1.5	1.0~2.1	0.040			
PLT < 100×10 ⁹ /L	1.9	1.2~3.0	0.006	1.9	1.2~2.8	0.004			
FLT3-ITD突变阳性	2.8	1.8~4.4	<0.001	2.5	1.6~3.8	<0.001	3.4	2.1~5.3	<0.001
单体核型	2.3	1.1~4.7	0.021				3.4	1.7~7.0	0.001
SWOG危险度分层						0.031			
高危				1.8	1.2~2.7	0.009			
未知				1.3	0.8~2.0	0.325			
中危(参照组)									
MLFS时血细胞恢复情况			0.003			<0.001			<0.001
CRi	1.9	1.1~3.4	0.021	2.5	1.5~4.1	<0.001	2.6	1.5~4.4	<0.001
CRp	2.3	1.3~4.1	0.007	2.4	1.4~4.2	0.001	2.0	1.1~3.7	0.029
CR(参照组)									
MLFS时MRD			0.043			0.009			
FCM或WT1阳性	2.0	1.2~3.1	0.005	2.0	1.3~3.0	0.002			
仅检测FCM或WT1且为阴性	1.4	0.8~2.5	0.281	1.2	0.7~2.1	0.485			
未检测	1.5	0.7~3.3	0.318	1.1	0.5~2.3	0.897			
FCM和WT1均阴性(参照组)									

注: MLFS:形态学无白血病状态; CR:MLFS伴PLT、ANC均恢复; CRp:MLFS伴PLT<100×10⁹/L; CRi:MLFS伴ANC<1.0×10⁹/L、PLT<100×10⁹/L; MRD:微小残留病; FCM:流式细胞术



危险因素包括PLT < 100×10⁹/L、FLT3-ITD突变阳性、单体核型、形态学无白血病状态时血细胞恢复不良和微小残留病阳性

图3 不同危险组患者累积复发(A)、无病生存(B)、总生存(C)曲线

测特异性融合基因或泛白血病基因的表达,如WT1 mRNA等。我所曾对610例AML患者进行分析,发现86.35%患者具有至少一种LAIP^[20],可将FCM作为MRD的检测手段^[1-7,20]。中高危及AML患者常缺乏特异的分子学标志,WT1基因在70%~90%的AML患者中高表达^[21],RQ-PCR评估WT1 mRNA水平作为MRD的指标也被广泛应用^[21-26]。国内外已有研究同时用FCM和WT1 mRNA水平评估MRD^[27-30]。在本研究中,初诊时所有患者均进行了白血病免疫表型检测,非预后良好型初诊时WT1 mRNA高表达者为89.0%。获得MLFS后FCM和WT1 mRNA均为影响患者预后的独立因素,因本研究为回顾性研

究,并非所有患者在缓解后均定期以FCM或WT1 mRNA检测了MRD,所以我们联合FCM和WT1 mRNA评估MRD。

国内外多项研究证实,CR时MRD是影响预后的因素^[1-5,7,21,25,28,30]。2001年,Sievers等^[31]首次提出AML患者首次获得MLFS时血细胞恢复程度值得关注。已有国内外研究证实,MLFS时血细胞恢复程度不同,预后不同^[7,19,32-33],且MLFS时MRD水平与血细胞恢复程度相关^[19,32]。Chen等^[9]分析了245例最终获得MLFS的成人AML患者(中位年龄54岁),发现MLFS时CRp或CRi和MRD阳性是影响复发、RFS、OS的共同不利因素。2017年,Ravandi

等^[33]回顾性分析了186例中位年龄为51岁的成人AML患者,这些患者最终获得MLFS且使用FCM评估MRD,发现MRD阳性是影响患者RFS和OS的共同不利因素,CRp/CRi只影响RFS,并不影响OS。我们的研究同样证明,对于非预后良好型AML患者,CRp/CRi和MRD阳性均为影响复发和生存的不利因素。将患者根据具备影响CIR、DFS或OS两个以上的共同危险因素进行分类,发现具备 ≤ 1 个危险因素的患者预后最佳。提示,对于接受持续化疗的患者,在细胞遗传学基础上,同时考虑初诊时PLT、分子遗传学和MLFS时血细胞恢复程度和MRD水平,可细化危险度分层,预测治疗结果。值得注意的是,NPM1⁺FLT3-ITD⁻在ELN、NCCN指南均被划为低危组,尽管本研究中多因素分析结果其并非独立影响因素,但单因素分析显示NPM1⁺FLT3-ITD⁻与较好的DFS和OS相关,考虑因为这些患者主要分布于 ≤ 1 个危险因素组。我所既往报道AML伴NPM1⁺患者巩固治疗2个疗程后以RQ-PCR监测NPM1突变转录本水平下降 ≥ 3 个对数级预示良好生存^[11],本研究结果提示,获得MLFS后以FCM监测MRD对预后也有预测意义。

SWOG危险度为高危和FLT3-ITD突变阳性已被证实与不良预后相关^[6,13],本研究得到了相同的结论。单体核型被认为是预后最差的人群,多见于老年AML^[34]。本研究单因素分析中单体核型与CIR、DFS和OS均相关,但多因素分析未被确认为独立影响因素,考虑与本研究患者年龄较轻、单核核型患者例数相对较少有关。年龄偏大、PLT低与不良预后相关^[2,21,35],本研究中,我们也得到了相似的结果。

本研究的缺陷包括:①回顾性研究;②诱导和巩固化疗方案不统一;③并非所有获得CR的患者均规律监测了MRD水平;④患者选择移植或化疗是非随机的,患者常因经济问题、身体状况差、缓解后短时间内复发失去移植机会而选择化疗。

总之,对于非预后良好型获得MLFS后持续化疗的成人AML患者,MLFS时MRD水平是独立于年龄、诊断时血液学或分子遗传学特征之外影响预后的重要因素。

参考文献

- [1] Venditti A, Buccisano F, Del PG, et al. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(12):3948-3952.
- [2] Kern W, Voskova D, Schoch C, et al. Determination of relapse risk based on assessment of minimal residual disease during complete remission by multiparameter flow cytometry in unselected patients with acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2004, 104(10):3078-3085. DOI: 10.1182/blood-2004-03-1036.
- [3] Buccisano F, Maurillo L, Gattei V, et al. The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2006, 20(10):1783-1789. DOI: 10.1038/sj.leu.2404313.
- [4] San MJF, Vidriales MB, López-Berges C, et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification[J]. *Blood*, 2001, 98(6):1746-1751.
- [5] Terwijn M, van Putten WL, Kelder A, et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31):3889-3897. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.9628.
- [6] Buccisano F, Maurillo L, Spagnoli A, et al. Cytogenetic and molecular diagnostic characterization combined to postconsolidation minimal residual disease assessment by flow cytometry improves risk stratification in adult acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2010, 116(13):2295-2303. DOI: 10.1182/blood-2009-12-258178.
- [7] Chen X, Xie H, Wood BL, et al. Relation of clinical response and minimal residual disease and their prognostic impact on outcome in acute myeloid leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(11):1258-1264. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.3518.
- [8] Zhu HH, Zhang XH, Qin YZ, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial[J]. *Blood*, 2013, 121(20):4056-4062. DOI: 10.1182/blood-2012-11-468348.
- [9] Qin YZ, Wang Y, Zhu HH, et al. WT1 transcript levels and CKIT mutations at diagnosis, RUNX1- RUNX1T1 transcript levels after therapy and outcomes of persons with acute myeloid leukemia with t(8;21) receiving chemotherapy or an allotransplant[J]. *Chin J Cancer*, 2016, 35(1):46. DOI: 10.1186/s40880-016-0110-6.
- [10] Qin YZ, Xu LP, Chen H, et al. Allogeneic stem cell transplant may improve the outcome of adult patients with inv(16) acute myeloid leukemia in first complete remission with poor molecular responses to chemotherapy[J]. *Leuk Lymphoma*, 2015, 56(11):3116-3123. DOI: 10.3109/10428194.2015.1032964.
- [11] 赵婷, 主鸿鹤, 王婧, 等. 早期评估NPM1突变阳性急性髓系白血病患者残留白血病水平的预后意义[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 10-16. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.003.
- [12] 张之南, 沈悌. *血液病诊断及疗效标准*[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2007: 131-134.
- [13] Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analy-

- sis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study[J]. *Blood*, 2000, 96(13):4075-4083.
- [14] Zhao XS, Qin YZ, Liu YR, et al. The impact of minimal residual disease prior to unmanipulated haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia in complete remission[J]. *Leuk Lymphoma*, 2017, 58(5):1135-1143. DOI: 10.1080/10428194.2016.1239264.
- [15] Ruan GR, Li JL, Qin YZ, et al. Nucleophosmin mutations in Chinese adults with acute myelogenous leukemia [J]. *Ann Hematol*, 2009, 88(2):159-166. DOI: 10.1007/s00277-008-0591-8.
- [16] Lu DP, Dong L, Wu T, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation [J]. *Blood*, 2006, 107(8):3065-3073. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2146.
- [17] Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion for the treatment of hematological malignancies [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 38(4):291-297. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705445.
- [18] 中华医学会血液学分会. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2011年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(11):804-807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.11.021.
- [19] Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(24):4642-4649.
- [20] 刘艳荣, 王亚哲, 陈珊珊, 等. 610例急性髓系白血病免疫表型和白血病相关免疫表型分析[J]. *中华血液学杂志*, 2007, 28(11):731-736.
- [21] Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(31):5195-5201. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4865.
- [22] Cilloni D, Gottardi E, De Micheli D, et al. Quantitative assessment of WT1 expression by real time quantitative PCR may be a useful tool for monitoring minimal residual disease in acute leukemia patients [J]. *Leukemia*, 2002, 16(10):2115-2121. DOI: 10.1038/sj.leu.2402675.
- [23] Tamaki H, Mishima M, Kawakami M, et al. Monitoring minimal residual disease in leukemia using real-time quantitative polymerase chain reaction for Wilms tumor gene (WT1)[J]. *Int J Hematol*, 2003, 78(4):349-356.
- [24] Østergaard M, Olesen LH, Hasle H, et al. WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukaemia patients - results from a single-centre study [J]. *Br J Haematol*, 2004, 125(5):590-600. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.04952.x.
- [25] Weisser M, Kern W, Rauhut S, et al. Prognostic impact of RT-PCR-based quantification of WT1 gene expression during MRD monitoring of acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2005, 19(8):1416-1423. DOI: 10.1038/sj.leu.2403809.
- [26] 秦亚涛, 阮国瑞, 李金兰, 等. 定量检测 WT1 基因表达水平在急性髓系白血病微量残留病监测中的意义[J]. *中华血液学杂志*, 2005, 26(11):649-652.
- [27] Zhao XS, Yan CH, Liu DH, et al. Combined use of WT1 and flow cytometry monitoring can promote sensitivity of predicting relapse after allogeneic HSCT without affecting specificity [J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(8):1111-1119. DOI: 10.1007/s00277-013-1733-1.
- [28] Marani C, Clavio M, Grasso R, et al. Integrating post induction WT1 quantification and flow-cytometry results improves minimal residual disease stratification in acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(12):1606-1611. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.07.005.
- [29] Malagola M, Skert C, Borlenghi E, et al. Postremission sequential monitoring of minimal residual disease by WT1 Q-PCR and multiparametric flow cytometry assessment predicts relapse and may help to address risk-adapted therapy in acute myeloid leukemia patients [J]. *Cancer Med*, 2016, 5(2):265-274. DOI: 10.1002/cam4.593.
- [30] 徐茂忠, 秦茹娟, 徐昕, 等. 流式细胞术联合实时荧光定量聚合酶链反应动态检测急性髓系白血病微小残留病和 WT1 基因表达水平[J]. *白血病·淋巴瘤*, 2014, 23(8):472-475. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2014.08.007.
- [31] Sievers EL, Larson RA, Stadtmauer EA, et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(13):3244-3254.
- [32] 任欣, 赵婷, 王婧, 等. 首次获得骨髓无白血病状态时血细胞恢复程度在成人急性髓系白血病患者中的预后意义[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(3):185-191. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.003.
- [33] Ravandi F, Jorgensen J, Borthakur G, et al. Persistence of minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry is highly prognostic in younger patients with acute myeloid leukemia[J]. *Cancer*, 2017, 123(3):426-435.
- [34] 冯茹, 刘辉, 常乃柏, 等. 单体核型成人急性髓系白血病临床特征及预后分析[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(5):393-396. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.05.004.
- [35] Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, et al. Age and acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2006, 107(9):3481-3485.

(收稿日期:2016-12-06)

(本文编辑:王叶青)