

微小残留病在Ph染色体阴性急性B淋巴细胞白血病中的预后意义

刘凯奇 魏辉 林冬 王迎 周春林 刘兵城 赵邢力 李艳 王慧君
李承文 李庆华 宫本法 刘云涛 弓晓媛 秘营昌 王建祥

【摘要】 目的 探讨微小残留病(MRD)水平在Ph染色体阴性的急性B淋巴细胞白血病(Ph⁻B-ALL)中的预后意义。方法 采用多色流式细胞术对2010年9月至2017年11月初诊的193例Ph⁻B-ALL患者在治疗后1、3、6个月进行骨髓MRD监测,并对不同MRD水平患者的预后进行比较。结果 中位随访22(1~92)个月,所有193例患者共行497次MRD检测。1个月时MRD水平<0.1%和≥0.1%患者的3年预期无复发生存(RFS)率分别为74.5%和29.9%,3年预期总生存(OS)率分别为67.5%和30.3%;3个月时MRD水平阴性和阳性患者的3年预期RFS率分别为75.6%和29.7%,3年预期OS率分别为71.6%和27.8%;6个月时MRD水平阴性或阳性患者的3年预期RFS率分别为74.6%和11.6%,3年预期OS率分别为74.0%和15.7%,差异均有统计学意义(*P*值均<0.001)。3个监测点全部达到MRD阴性标准的患者与至少1次未达到MRD阴性标准的患者比较,3年预期RFS、OS率差异均有统计学意义(80.5%对30.5%,77.1%对29.4%,*P*值均<0.001)。多因素分析结果显示,3个月时的MRD水平是Ph⁻B-ALL患者独立的预后因素之一。结论 治疗后MRD监测对Ph⁻B-ALL的预后判断有重要意义。

【关键词】 微小残留病; 流式细胞计数; 白血病,淋巴样; 预后

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划(2014BAI09B12);天津市科技计划项目(天津市医学中心)(15ZXLCYSY00010)

Clinical significance of minimal residual disease in patients with Ph- negative precursor B- acute lymphoblastic leukemia Liu Kaiqi, Wei Hui, Lin Dong, Wang Ying, Zhou Chunlin, Liu Bingcheng, Li Wei, Zhao Xingli, Li Yan, Wang Huijun, Li Chengwen, Li Qinghua, Gong Benfa, Liu Yuntao, Gong Xiaoyuan, Mi Yingchang, Wang Jianxiang. Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Wang Jianxiang, Email: wangjx@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To explore the predictive value of minimal residual disease (MRD) level in Ph- negative precursor B- acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients. **Methods** *De novo* 193 Ph- negative B- ALL patients from Sep 2010 to Nov 2017 were involved in the study. The patients' MRD evaluation which can be performed by multiparametric flow cytometry (MFC) after 1 month, 3-month, 6-month treatment. Relapse free survival (RFS) and overall survival (OS) were compared in patients with different MRD level. **Results** The median follow-up was 22 months. All patients was evaluated at 497 MRD level. Patients who reach the good MRD level at 1 month (< 0.1% or ≥0.1%), 3-month (negative or positive), 6-month (negative or positive) had a significantly higher probability of estimated RFS (74.5% vs 29.9%; 75.6% vs 29.7%; 74.6% vs 11.6%) and of estimated OS (67.5% vs 30.3%; 71.6% vs 27.8%; 74.0% vs 15.7%). Patients who reach the MRD negative at all 3 times had a significantly higher probability of estimated RFS (80.5% vs 30.5%) and better estimated OS (77.1% vs 29.4%) compared to patients with at least MRD failure in one time (*P*<0.001). Multivariable analysis showed MRD level at 3-month was an independent prognostic factor for DFS and OS. **Conclusion** MRD is an important prognosis factor for Ph- negative B- ALL patients.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.09.004

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(血液学研究所)

通信作者:王建祥,Email:wangjx@medmail.com.cn

【Key words】 Minimal residual disease; Flow Cytometry; Leukemia, lymphoblastic; Prognosis

Fund program: National Science & Technology Pillar Program (2014BAI09B12); Science and Technology Project of Tianjin (15ZXLCSY00010)

近年来成人急性淋巴细胞白血病(ALL)患者完全缓解(CR)率达 85% 以上,长期生存率为 40%~50%^[1-3]。但复发仍是 ALL 患者死亡的主要原因。患者体内微小残留病(MRD)是导致疾病复发的根源,因此对 MRD 的监测在患者的治疗过程中尤为重要。研究表明,ALL 患者诱导及巩固治疗后的 MRD 水平成为白血病疗效及预后判断的一个新的指标,并对患者的治疗选择有一定的指导作用^[4-8]。MRD 检测手段主要包括多参数流式细胞术和 PCR。技术的便利性和经济性使流式细胞术成为 MRD 监测的常用手段。目前,国内对于青少年及成人 ALL 患者 MRD 水平与预后的关系鲜有报道,本研究我们对我院 2010 年 9 月至 2017 年 11 月收治入院的 193 例初诊 Ph⁻B-ALL 患者治疗后 MRD 水平对预后的影响进行分析。

病例与方法

1. 病例来源:均为 2010 年 9 月至 2017 年 11 月我院白血病诊疗中心收治的初诊 Ph⁻B-ALL 患者。所有患者均进行形态学、细胞化学、免疫表型、细胞遗传学及分子生物学检查,符合文献[9]诊断标准。纳入本研究的 ALL 患者及其监护人均签署知情同意书。

2. 治疗:患者的整体治疗分为 4 个阶段:诱导治疗、早期巩固强化治疗、晚期巩固强化治疗、维持治疗。患者明确诊断后开始治疗,若初诊时存在 WBC > 50×10⁹/L 或肝、脾、淋巴结明显肿大等肿瘤负荷过高指征,加用 CP 方案(泼尼松 60 mg/d, -3 ~ -1 d,环磷酰胺 200 mg·m⁻²·d⁻¹, -3 ~ -1 d)预处理,以预防肿瘤溶解综合征发生,然后再行诱导治疗。诱导治疗第 14 天行骨髓穿刺,根据骨髓增生情况及幼稚细胞比例决定第 15~16 天是否加用柔红霉素。达到 CR 的患者,根据患者配型情况及条件,考虑是否行异基因造血干细胞移植;无移植条件患者,继续原方案治疗,维持治疗持续至缓解后 3 年。由于 ALL 治疗方案的改进,2014 年 2 月前收治的患者采用传统化疗方案;之后收治的患者采用新的化疗方案,详见表 1。

3. 疗效标准:根据 2013 版 ALL NCCN 指南标准

表 1 传统急性淋巴细胞白血病化疗方案(方案 1)和新化疗方案(方案 2)

阶段	方案 1	方案 2
诱导治疗	VDCLP	VDCLP
早期巩固强化治疗	CAML	CAMVL×2 次
	HD-MTX+L-Asp×3 次	HD-MTX+VL×2 次
晚期巩固强化治疗	COATD	VDLD
	VDLD	CAMVL
	TA	HD-MTX+VL×2 次
		VDLD
		CAMVL
维持治疗	MM+VP	MM+VP
	①VMCLD (每 6 个月强化 1 次);②HD-MTX+L-Asp (每 6 个月强化 1 次,与 VMCLD 间隔 3 个月)	

注:表中化疗方案具体用法参见文献[1],VMCLD 方案中以米托蒽醌替代柔红霉素:米托蒽醌 8 mg·m⁻²·d⁻¹,静脉滴注,第 1 天,余同 VDCLD 方案

判定疗效,CR 定义为:①骨髓原始幼稚淋巴细胞 < 0.050,外周血无原始幼稚淋巴细胞;②血常规:中性粒细胞绝对计数 > 1×10⁹/L,PLT > 100×10⁹/L;③无髓外白血病证据。复发定义为骨髓原始幼稚淋巴细胞 > 0.050,或出现髓外病灶。

4. 多色流式细胞术检测 MRD:采用多色流式细胞术对患者治疗后不同时间点的骨髓标本进行 MRD 检测,评价患者 MRD 水平。时间点分别为诱导治疗结束(治疗后 1 个月)、巩固强化治疗 2 个疗程结束后(治疗后 3 个月)及治疗后 6 个月。

采集患者骨髓标本 4~5 ml(有核细胞总数 > 5×10⁷),肝素抗凝,在 48 h 内采用全血/髓溶血法(红细胞裂解液 Lysing Solution,货号:349202,BD 公司产品)处理标本,采用流式细胞仪(贝克曼库尔特公司 Navios 流式细胞分析系统)分析。所用单克隆抗体主要包括:CD19、CD34、CD38、CD10、CD33、CD20、CD45。以 CD19 设门,分析白血病细胞抗原表达。阳性病例判断标准:参照阴性对照及内对照(质控品:Immuno-Trol Cells,货号:6607077,贝克曼库尔特公司产品)。检测敏感度为 10⁻⁴~10⁻⁵。流式细胞术未检测到肿瘤细胞为 MRD 阴性。

5. 随访:随访方式包括查阅患者住院及门诊病历、电话联系等。随访截止时间为2018年5月8日。无复发生存(RFS)期定义为CR至白血病复发或在CR期间死亡或末次随访日期。总生存(OS)期定义为自诊断到死亡或末次随访日期。

6. 统计学处理:数据采用SPSS16.0软件进行处理。样本率的比较采用 χ^2 检验。生存分析应用Kaplan-Meier生存曲线,Log-rank检验。所有的统计检验均采用双侧检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者一般资料:2010年9月至2017年11月共收治初诊Ph⁻B-ALL患者193例。其中男115例(59.6%)、女78例(40.4%);中位年龄24(13~68)岁;初诊时中位WBC 11.06(0.33~481.20) $\times 10^9/L$ 、HGB 85(38~159)g/L、PLT 61(2~397) $\times 10^9/L$ 。193例患者中MLL⁺ ALL 16例(8.3%),E2A-PBX1⁺ ALL 13例(6.7%),预后不良核型30例(15.5%);早前B-ALL 21例(10.9%),前B-ALL 42例(21.8%),普通型B-ALL 130例(67.3%)。

2. 治疗及生存情况:193例患者中,总CR率为

96.9%(187/193),诱导治疗1个疗程CR率为94.3%(182/193)。行造血干细胞移植66例(34.1%),其中自体造血干细胞移植15例,异基因造血干细胞移植51例。截至2018年5月8日,中位随访时间22(1~92)个月,所有患者3年预期RFS和OS率分别为60.7%和55.3%。

3. 不同时间点MRD水平及其与患者预后的关系:入组患者分别在治疗后1个月(诱导治疗结束)、3个月(巩固强化治疗2个疗程后)、6个月行MRD检测,所有患者共行MRD检测497次(3个时间点分别为193、168、136次)。参照国外标准设定患者治疗后1个月MRD水平以0.1%为界($< 0.1%$ 或 $\geq 0.1%$),治疗后3、6个月MRD水平以能否检测到肿瘤细胞(阳性或阴性)为界,比较不同MRD水平患者的RFS及OS。结果显示:治疗后1个月MRD $< 0.1%$ 和 $\geq 0.1%$ 患者的3年预期RFS率分别为74.5%和29.9%,3年预期OS率分别为67.5%和30.3%(图1);治疗后3个月MRD阴性和阳性患者的3年预期RFS率分别为75.6%和29.7%,3年预期OS率分别为71.6%和27.8%(图2);治疗后6个月MRD阴性和阳性的患者的3年预期RFS率分别为74.6%和11.6%,3年预期OS率分别为74.0%和15.7%(图3);

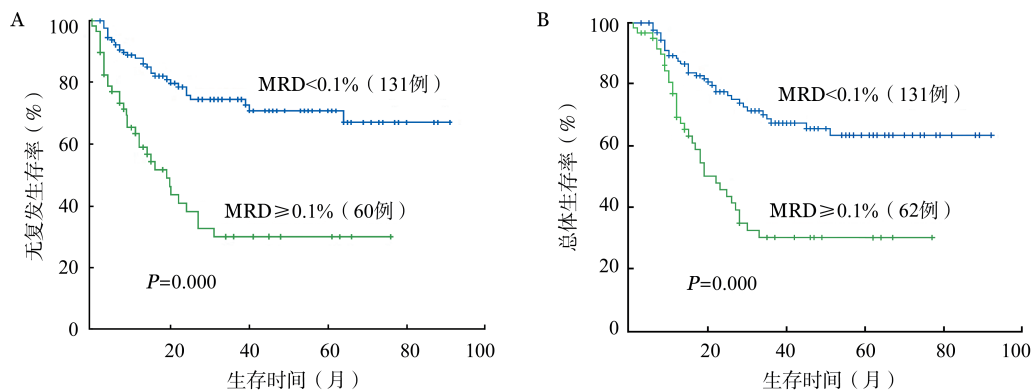


图1 治疗后1个月微小残留病(MRD)水平对患者无复发生存(A)及总生存(B)的影响

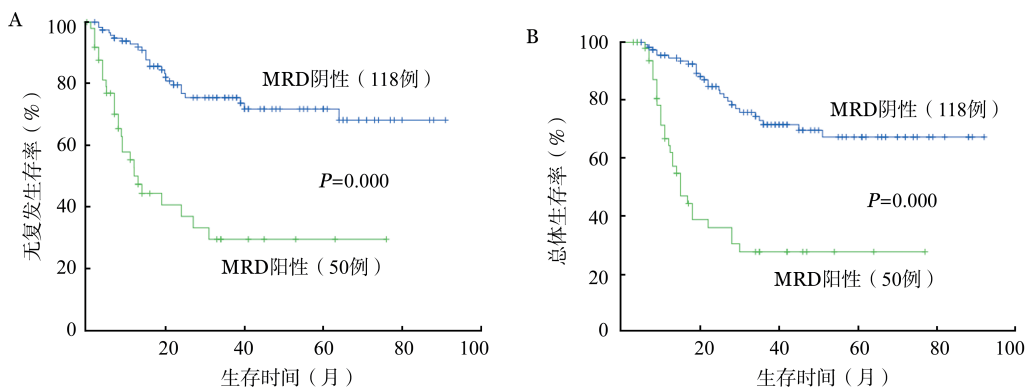


图2 治疗后3个月微小残留病(MRD)水平对患者无复发生存(A)及总生存(B)的影响

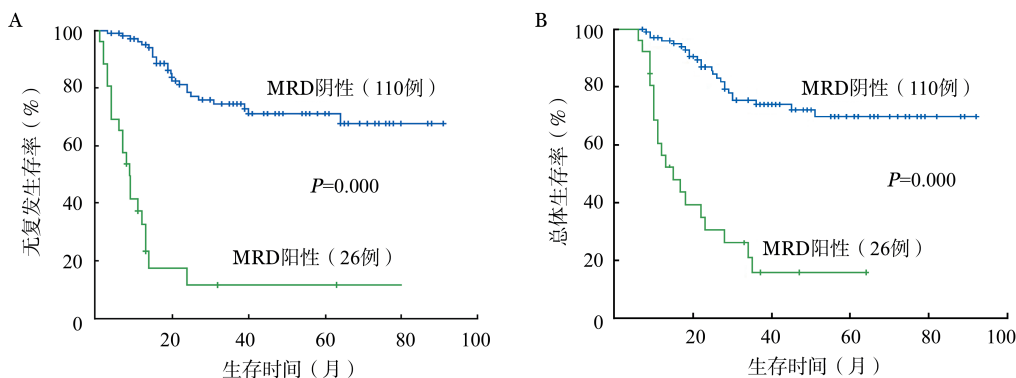


图3 治疗后6个月微小残留病(MRD)水平对患者无复发生存(A)及总生存(B)的影响

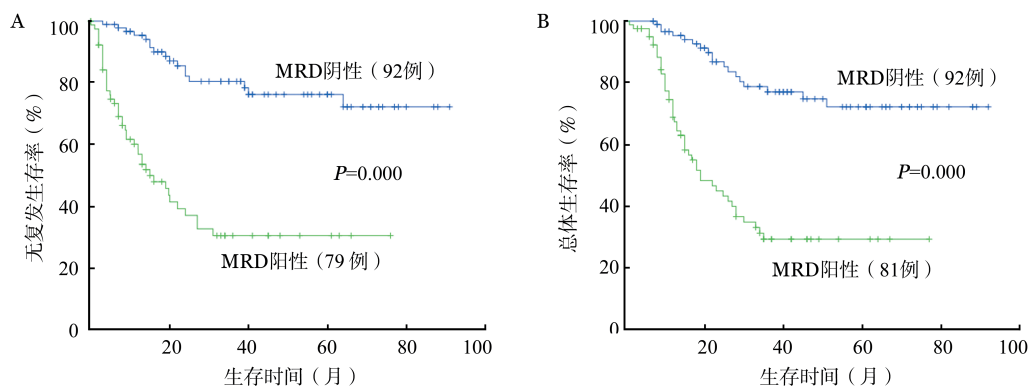


图4 微小残留病(MRD)检测3次均阴性和至少1次MRD阳性患者无复发生存(A)及总生存(B)的比较

3次MRD检测患者均阴性的患者与存在至少1次MRD阳性的患者,3年预期RFS率分别为80.5%和30.5%,3年预期OS率分别为77.1%和29.4%(图4),差异均有统计学意义(P 值均 <0.001)。多因素分析显示(纳入因素包括年龄、初诊时WBC、根据染色体核型及融合基因预后分组、1个月及3个月时MRD水平),治疗后3个月MRD水平为影响患者OS的独立预后因素之一(表2)。

表2 多因素分析对患者总生存预后的影响因素

影响因素	危险度(95% CI)	P 值
年龄(>35岁对 \leq 35岁)	3.178(1.817~5.560)	<0.001
WBC(>30 $\times 10^9/L$ 对 \leq 30 $\times 10^9/L$)	2.512(1.429~4.416)	0.001
3个月MRD(阳性对阴性)	4.569(2.654~7.868)	<0.001

注:MRD:微小残留病

讨论

近些年来,随着化疗方案的改善及移植技术的应用,成人ALL的疗效显著提高,但复发仍是患者死亡的重要原因。而骨髓中残留的白血病细胞仍是患者复发的主要原因。随着MRD检测方案在临床中的开展及应用,对于ALL患者,MRD水平成为

患者重要的预后指标之一,并影响患者进一步的治疗方式的选择。

研究发现,ALL患者治疗后MRD水平是患者重要的预后因素之一^[4,10-13],与传统的治疗前预后因素同等重要。化疗后取得MRD阴性提示大多数患者能够获得长期生存;而MRD的残存则预示患者复发的风险升高^[6]。Ribera等^[4]研究发现,对于高危组成人ALL患者(采用流式细胞术进行MRD检测),MRD阴性患者5年DFS、OS率分别为55%、59%,远高于MRD阳性患者(32%、37%)。本研究结果显示,1个月时MRD水平 $<0.1\%$ 患者的3年预期RFS率、OS率均明显高于 $\geq 0.1\%$ 患者(74.5%对29.9%,67.5%对30.3%),3、6个月时MRD水平阴性患者的3年预期RFS率、OS率均明显高于阳性患者(3个月时:75.6%对29.7%,71.6%对27.8%;6个月时:74.6%对11.6%,74.0%对15.7%)。3个监测点全部达到MRD阴性的患者与至少1次未达到MRD阴性的患者比较,3年预期RFS率分别为80.5%和30.5%,3年预期OS率分别为77.1%和29.4%,差异有统计学意义。多因素分析显示:患者3个月时的MRD水平是独立的预后因素之一。与国际报道大致相当。

MRD水平不仅是ALL患者的预后重要因素,而且进一步影响ALL患者的治疗策略。多项研究表明:对于MRD阴性的ALL患者,除极高危组患者(MLL阳性、Ph-like ALL、IKZF1缺失、TP53突变、低亚二倍体等)外,异基因造血干细胞移植对患者的长期生存并无明显改善;而对于MRD阳性的患者,异基因造血干细胞移植可明显提高患者长期生存率^[4,6,14-16]。本组患者中,由于行异基因造血干细胞移植患者例数较少,未进行比较。

综上,MRD水平是ALL重要的预后因素之一。随着MRD检测方法的改进、MRD检测水平的提高,MRD检测将在ALL患者的预后分析上发挥越来越重要的作用,并进一步影响ALL患者的下一步治疗策略。

参考文献

- [1] Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(5):532-543. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.1382.
- [2] Bassan R, Masciulli A, Spinelli O, et al. Enhanced survival in adult Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia (Ph-ALL) with an updated pediatric-derived minimal residual disease (MRD)/risk-specific treatment strategy: NILG STUDY 10[J]. *Haematologica*, 2014, 99(Suppl):259-260.
- [3] DeAngelo DJ, Stevenson KE, Dahlberg SE, et al. Long-term outcome of a pediatric-inspired regimen used for adults aged 18-50 years with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2015, 29 (3): 526- 534. DOI: 10.1038/leu.2014.229.
- [4] Ribera JM, Oriol A, Morgades M, et al. Treatment of high-risk Philadelphia chromosome- negative acute lymphoblastic leukemia in adolescents and adults according to early cytologic response and minimal residual disease after consolidation assessed by flow cytometry: final results of the PETHEMA ALL-AR-03 trial [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32 (15):1595-1604. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.2425.
- [5] Brüggemann M, Raff T, Kneba M. Has MRD monitoring superseded other prognostic factors in adult ALL? [J]. *Blood*, 2012, 120(23):4470-4481. DOI: 10.1182/blood-2012-06-379040.
- [6] Gökbuget N, Kneba M, Raff T, et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies[J]. *Blood*, 2012, 120(9):1868-1876.
- [7] Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. *Blood*, 2009, 113 (18):4153-4162. DOI: 10.1182/blood-2008-11-185132.
- [8] Gökbuget N, Kneba M, Raff T, et al. Molecular relapse in adult standard- risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: Data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials [J]. *Blood*, 2007, 109:910-915.
- [9] 中华医学会血液学分会, 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会. 中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗专家共识[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33 (9): 789-792. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.09.028.
- [10] Brüggemann M, Raff T, Flohr T, et al. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2006, 107(3):1116-1123. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2708.
- [11] Beldjord K, Chevret S, Asnafi V, et al. Oncogenetics and minimal residual disease are independent outcome predictors in adult patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2014, 123 (24):3739- 3749. DOI: 10.1182/blood- 2014- 01-547695.
- [12] Spinelli O, Tosi M, Peruta B, et al. Prognostic significance and treatment implications of minimal residual disease studies in Philadelphia-negative adult acute lymphoblastic leukemia [J]. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2014, 6 (1):e2014062. DOI: 10.4084/MJHID.2014.062.
- [13] Bergfelt E, Kozłowski P, Ahlberg L, et al. Satisfactory outcome after intensive chemotherapy with pragmatic use of minimal residual disease (MRD) monitoring in older patients with Philadelphia- negative B cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: a Swedish registry-based study [J]. *Med Oncol*, 2015, 32(4):135. DOI: 10.1007/s12032-015-0582-2.
- [14] Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al. Different molecular levels of post-induction minimal residual disease may predict hematopoietic stem cell transplantation outcome in adult Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood Cancer J*, 2014, 4:e225. DOI: 10.1038/bcj.2014.48.
- [15] Dhédin N, Huynh A, Maury S, et al. Role of allogeneic stem cell transplantation in adult patients with Ph- negative acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2015, 125 (16):2486-2496; quiz 2586. DOI: 10.1182/blood-2014-09-599894.
- [16] Bassan R, Intermesoli T, Scattolin A, et al. Minimal residual disease assessment and risk- based therapy in acute lymphoblastic leukemia [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2017, 17S:S2-2S9. DOI: 10.1016/j.clml.2017.02.019.

(收稿日期:2018-03-08)

(本文编辑:王叶青)