

·综述·

儿童急性 T 淋巴细胞白血病微小残留病研究现状及展望

牛凤凤 高超

国家儿童医学中心、首都医科大学附属北京儿童医院检验中心, 儿童血液病与肿瘤分子分型北京市重点实验室, 儿科重大疾病研究教育部重点实验室, 北京 100045

通信作者: 高超, Email: gaochao@bch.com.cn

基金项目: 国家自然科学基金(82170150); 北京市自然科学基金(7192066)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121090-20240701-00239

【摘要】 儿童急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)因其高侵袭性和治疗复杂性而备受关注。近年来, 随着医疗技术的进步和研究的深入, 儿童 T-ALL 的治疗效果已得到显著提升。然而, 微小残留病(MRD)的存在仍然是影响儿童 T-ALL 预后的重要因素。随着检测方法的不断发展, 目前定量 PCR、多参数流式细胞术和高通量测序技术的临床应用, 已经能够对 MRD 进行精确地检测, 从而实现患者个体化的精准治疗。本文旨在综述当前儿童 T-ALL MRD 的检测方法、多药联合化疗与造血干细胞移植中 MRD 监测与评估的临床意义, 以及应用 MRD 衡量近期 T-ALL 中新疗法的反应性与有效性, 并展望未来研究方向和潜在的治疗策略。

Current situation and prospect of minimal residual disease in pediatric T cell acute lymphoblastic leukemia

Niu Fengfeng, Gao Chao

Department of Clinical Laboratory Center, Beijing Key Laboratory of Pediatric Hematology Oncology, Key Laboratory of Major Diseases in Children Ministry of Education, Beijing Children's Hospital Capital Medical University, National Center for Children's Health, Beijing 100045, China

Corresponding author: Gao Chao, Email: gaochao@bch.com.cn

【Abstract】 Pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) has been attracted much attention due to its high aggressiveness and complexity of treatment. Recently, with the development of technology and clinical research, the curative effect of T-ALL in children has been significantly improved. However, the presence of minimal residual disease (MRD) is still a key factor affecting the outcomes of children with T-ALL. With the continuous development of detection methods, the clinical applications of real-time quantitative PCR, multi-parameter flow cytometry, and high-throughput sequencing technology, MRD can be detected accurately to achieve personalized and precise treatment for each patient. The purpose of this article is to review the current detection methods of MRD in T-ALL, the clinical significance of MRD monitoring and evaluation in multi-agent combined chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation, and applying MRD to measure the responsiveness and effectiveness of new therapies in recent T-ALLs. Research directions and potential treatment strategies in the near future were also proposed.

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童期最常见的恶性肿瘤, 由 B 或 T 淋巴前体细胞分化阻滞并异常增生所引起。其中, T 细胞 ALL (T-ALL) 占新诊断儿童 ALL 的 10% ~ 15%^[1], 通常与男性、年龄较大、高白细胞计数、纵隔肿块等临床特征相关^[2]。研究显示, T-ALL 与 B-ALL 生物学上存在很大差异, 疾病反应动力学模式不同。微小残留病(MRD)是儿童 T-ALL 预后最重要的决定因素, 当纳入 MRD 后, 患者其他临床生物学因素以及白血病细胞的遗传学变异都不具独立预后意义^[3]。MRD 是患儿获得形态学缓解后体内仍残留的少量白血病细胞。MRD 监测应用于初发和复发 ALL, 是对患者进行个体化精准治疗的基础, 可指导临床危险度分层治疗的开展、异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)前后治

疗方案的调整。近年进行的分子靶向新疗法亦将 MRD 作为证明其有效性的评价标准。本文将聚焦目前各种儿童 T-ALL MRD 检测方法的优势和局限性, 及其在化疗、HSCT 和靶向治疗中的应用价值, 以期临床评估和治疗提供思考, 改善患儿预后。

一、T-ALL MRD 的检测标志和方法

MRD 检测的目标是采用敏感性、特异性更好的技术方法, 尽早地识别传统光镜形态学方法无法发现的白血病细胞。适宜的 MRD 标志需要是稳定的、ALL 细胞特异性变异。此外, 由于 ALL 细胞间存在克隆异质性, 且其发生是多步骤过程, 已发现儿童 ALL 在宫内即可存在染色体易位, 而一个前白血病亚克隆细胞群获得第二事件是发展为 ALL 所需,

因此需要将第二事件作为 MRD 监测的标志。第二事件是发生于 ALL 发育晚期的变异,可特异性存在于全部 ALL 细胞,或者引起复发的亚克隆细胞群中。

儿童 T-ALL 中常用的 MRD 检测技术包括多参数流式细胞术(MFC)、荧光定量聚合酶链反应(RQ-PCR)、微滴式数字 PCR(ddPCR)和高通量测序技术(NGS)。T-ALL MRD 检测方法的优势与局限对比详见表 1。

MFC 通过识别诊断时白血病相关抗原,以及系别和(或)发育阶段的差异表达抗原,与正常淋巴细胞进行区分,并进行后续 MRD 评估。由于正常的 T 细胞前体在胸腺中并不进入循环,因此应用 T-ALL 前体细胞的特征足够来鉴定骨髓或者外周血中的 T-ALL 细胞。T-ALL 典型的 MFC 组合中包含白血病细胞不同步表达的成熟过程相关抗原 CD2、CD3、CD5、CD7、CD8、CD34 和 CD45,同时也可检测 T-ALL 中异位表达的胸腺抗原。美国儿童肿瘤协作组(COG)检测 T-ALL 的免疫 MRD 组合见表 2,并且通过应用核酸结合染料直接计数有核细胞作为分母管对结果进行归一化^[4,6]。意大利儿童血液肿瘤协作组-柏林-法兰克福-明斯特(AIEOP-BFM)ALL 流式研究组报道儿童 T-ALL 中,CD48 和 CD99 是监测 MRD 非常有益的标志^[6]。近年来,基于 6~8 色流式细胞术的 MRD 检测敏感度得到大幅提升,敏感度可达 10^{-4} ~ 10^{-5} ,覆盖 99% 以上的患者^[7]。但该方法对检测者的技术和

经验要求较高,且易受检测仪器性能的影响,因此需要建立严格的质量控制体系。

克隆性免疫球蛋白/T 细胞受体(Ig/TR)基因重排是 T-ALL 常见的 MRD 检测分子标志物,T-ALL 中可有 20% 的患者存在跨系表达的 Ig 基因重排^[8]。Ig/TR 基因重排可见于约 95% 的患者,且为患者特异性标志,但该标志不直接与白血病的发生相关,且在疾病过程中可经 V(D)J 重组酶介导出现继发性重排或演化,因此在 MRD 检测中最好检测 2 个以上单克隆标志以避免假阴性结果。在 T-ALL 中,Ig/TR 重排相对稳定,约 90% 在复发时仍然保留^[9]。EuroMRD 工作组建立了 RQ-PCR 方法检测 Ig/TR 重排的标准化方案^[10],该方法需要合成等位基因特异性引物,优化每一个反应,并需要在后续 MRD 检测中应用初诊 DNA 构建标准品。近年来,EuroClonality-NGS 联盟建立了以 Ig/TR 重排为标志的 NGS-MRD 检测方法^[11],能够提供更加全面的定量信息,评

表 2 美国儿童肿瘤协作组急性 T 淋巴细胞白血病微小残留病检测免疫分型组合

	PB	FITC	PE	PE-TR	PC5	PC7	A594	APC	APC7
管 1	CD16	cCD3	CD7	—	CD56	CD5	CD38	sCD3	CD45
管 2	CD8	CD48	CD5	CD34	CD56+16	CD3	CD4	CD7	CD45

注 该组合需 4 激光流式细胞仪,包括 407、488、594 和 635 nm

表 1 急性 T 淋巴细胞白血病(T-ALL)微小残留病(MRD)检测方法的优势与局限性

	MFC	Ig/TR RQ-PCR	融合基因 RQ-PCR	Ig/TR ddPCR	Ig/TR NGS
覆盖患者比例	>95%	90%~95%	15%~35%	90%~95%	95%
灵敏度	10^{-4} ~ 10^{-5}	10^{-4} ~ 10^{-5}	10^{-4} ~ 10^{-6}	10^{-4} ~ 10^{-6}	10^{-6} ~ 10^{-7}
优势	1. 快速且相对便宜,应用广泛 2. 可绝对定量 MRD 3. 提供细胞组成信息 4. 分析中排除死细胞	1. 灵敏度、特异性高 2. 可以在不同样本之间进行比较 3. 患者的重排位点是特异的,不存在 PCR 后的操作过程,交叉污染低风险 4. 技术成熟,欧洲 MRD 联盟已建立细致的标准,广泛应用	1. 监测标志在疾病和治疗过程中稳定 2. 不需构建患者特异性流程,操作简便 3. 应用广泛,欧洲 MRD 联盟已建立部分标志的标准化流程	1. 灵敏度高,且能提供靶 DNA 样品的绝对定量 2. 数据分析相对简单 3. 不需消耗初诊 DNA 样本	1. 灵敏度、特异性及适用性更高 2. 欧洲克隆性 NGS 联盟已建立标准化流程 3. 全部患者都使用通用引物组合 4. 可识别和监测克隆演化标志 5. 不需消耗初诊 DNA 样本
局限性	1. 对样本质量和操作人员技术要求高 2. 标准化程度较低 3. 每个患者最好应用 2 个以上异常表达免疫表型标志,避免免疫表型漂移可能导致假阴性结果 4. 药物诱导可能影响抗原表达水平,导致假阴性结果	1. 可能存在引物设计问题、DNA 质量问题、PCR 条件设置问题,影响检测结果的准确性 2. Ig/TR 基因重排可能发生克隆演化,将造成假阴性结果 3. 存在生理背景的非特异扩增;低水平 MRD 时不易区分 4. 低活力或者死亡细胞的 DNA 也可被扩增 5. 患者特异性引物设计及其反应条件优化耗时较多 6. 后续追踪过程,需消耗初诊 DNA 建立标准曲线	1. 未检出融合基因的 T-ALL 无法适用 2. 非患者特异性,可能会有患者间污染 3. RNA 不稳定,易降解 4. 低活力或者死亡细胞的 DNA 也可被扩增	1. 费用相对较高,未标准化 2. 依赖于等位基因特异性引物 3. 未建立数据分析指南 4. 仅部分实验室应用范围有限,需进一步探索和验证	1. 检测成本高,时间长 2. 生物信息学分析仍具有挑战性 3. 实验室间未标准化 4. 如需达到高敏感度定量目标值,需要大骨髓样本 5. 低活力或者死亡细胞的 DNA 也可被扩增

注 MFC:多参数流式细胞术;Ig/TR:免疫球蛋白/T 细胞受体;RQ-PCR:荧光定量聚合酶链反应;ddPCR:微滴式数字 PCR;NGS:高通量测序技术

估克隆大小,特别适用于寡克隆和双克隆重排。如果 DNA 样本量足够,该方法敏感度可以达 10^{-7} 。该方法在精确定量 MRD 的同时,还能提供正常免疫组库的信息。在诱导后或 HSCT 后监测 MRD,NGS 对预测复发比 RQ-PCR 方法更加特异,并且更易发现克隆演化^[12-13]。需要注意的是,目前 NGS-MRD 检测方法仍需标准化,尚未在临床广泛应用。

白血病特异性融合转录本也可作为 T-ALL MRD 检测的标志,但该标志非患者特异性,因此容易出现实验室污染和假阳性结果,且并非每例患者都可检测出。欧洲抗击癌症计划(Europe Against Cancer Program)已建立了 RQ-PCR 检测 T-ALL SIL-TAL1 融合转录本的标准化定量方案^[14],但由于不同患者融合转录本表达水平差异极大,且 RNA 降解速率不同,因此需对检测结果进行归一化处理^[15]。既往研究利用 PCR 方法,针对 DNA 水平的 SIL-TAL1 融合进行 MRD 检测,敏感度可达 10^{-5} ^[16]。

ddPCR 是较新的 MRD 监测技术。该方法将反应体系分割为大约 20 000 个小液滴,每一个 DNA 片段在其中分别扩增,因此该方法作为绝对定量不需建立标准曲线。ddPCR 方法的敏感度、准确性和可重复性优于 RQ-PCR 方法,更加适用于低浓度靶标,但是目前该方法尚未标准化,仍有待临床进一步验证。

T-ALL 中独特的早期前体 T 细胞(Early T-cell Precursor, ETP)表现为不成熟的 T 系免疫表型,具有髓系抗原表达,而大多数 ETP-ALL 细胞未进行 Ig/TR 重排或者表现为寡克隆性,因此影响了这一 MRD 监测标志的应用。而髓系的 FLT3-ITD 标志,在 ETP-ALL 中存在率较高,可作为 MRD 追踪标志^[17]。

临床上,通常应用骨髓样本进行 MRD 评估。鉴于外周血样本更易获得,且操作侵入性低于骨髓穿刺,近年来一些研究尝试利用外周血替代骨髓进行 MRD 检测。儿童和成人 T-ALL 的临床研究均表明,外周血与骨髓 MRD 检测水平有很强的相关性,二者 MRD 水平类似^[18],提示我们可应用侵入性更低的外周血样本替代骨髓来完成 T-ALL 治疗过程中频繁的 MRD 评估。此外,一项通过流式细胞术进行 MRD 评估的成人 ALL 研究显示,仅有的 2 例外周血 MRD 阳性而骨髓 MRD 阴性患者均为 T-ALL^[19],提示对于胸腺起源的 T-ALL,在外周循环中检测到白血病细胞的倾向性高于骨髓,外周血 MRD 检测是骨髓 MRD 检测的有益补充,利于髓外复发监测和尽早进行治疗干预。

二、T-ALL 一线治疗中 MRD 监测的临床意义

1. 治疗早期 MRD 评估在患者预后判断中的意义:MRD 综合反映了患者体内白血病细胞、宿主和治疗方法等的药物抵抗,是独立预后因子,不同基因和生物学亚型患者治疗早期 MRD 不同,此外 MRD 对于相同亚型的 ALL 患者也具有预后价值。初诊儿童 T-ALL 中,MRD 的预后意义高于患者其他的临床和生物学因素,当纳入 MRD 进行预后分析,MRD 是唯一的独立预后因素,而其他变量都不具独立预后意义,T-ALL 的 MRD 可以预测全身和髓外复发^[20]。T-ALL

患者早期清除 MRD 的速度与预后相关。美国 St. Jude Ⅲ 研究通过 RQ-PCR 监测 MRD,第 19 天 MRD $<10^{-4}$ 者,5 年累计复发率(CIR)较低,而其 XV 研究显示,第 19 天 MRD $\geq 1\%$ 者预后较差,即使诱导治疗结束时(End of induction, EOI)MRD 阴性,预后也差于其他亚型^[21]。全球首个大样本多中心 MRD 指导的随机临床研究 AIEOP-BFM-ALL 2000 中,第 15 天 MFC 和(或)Ig/TCR MRD $<0.1\%$ 者,CIR 仅为 3.3%,而 $\geq 10\%$ 者高达 55.6%^[22];EOI-MRD $<0.01\%$ 者,5 年无事件生存(EFS)率较高^[23];但同时 EOI-MRD 低水平($0.001\% \sim 0.01\%$)阳性的患者复发风险增高^[24]。该研究也表明,儿童 T-ALL MRD 清除较慢,约 84% 儿童 T-ALL 患者 EOI-MRD 为阳性,巩固治疗结束时(End of consolidation, EOC)MRD 阴性者,经传统化疗 7 年 EFS 率尚可;而 EOC-MRD $\geq 10^{-3}$ 的患者复发率较高,预后不良^[23]。中国儿童白血病协作组(CCLG)ALL-2008 多中心临床研究中通过 MFC 检测的 96 例儿童 T-ALL MRD 也证实,EOC-MRD 最具预后价值, $\geq 10^{-2}$ 者 5 年 EFS 率仅 12.5%^[25]。而美国 COG AALL0434 临床研究采用 MFC 评估 MRD,对儿童和青少年 T-ALL 分析显示,EOI-MRD $\geq 1\%$ 和 EOC-MRD $\geq 0.1\%$ 均被证实是不良预后因素;而在近,ETP-ALL 和非 ETP-ALL 患者中 EOI-MRD $>0.1\%$ 者预后差^[5]。

2. MRD 指导的危险度分层和治疗策略的调整:T-ALL 的预后决定因素是 EOI 和 EOC 的 MRD 水平,在危险度分层中与 B-ALL 不同,并未纳入白血病细胞生物学特征。MRD 高低依赖于患者的治疗方案以及样本采集时间,此外一个方案的 MRD 分层标准,不能简单外推到其他方案,而需要先在相同治疗情况下回顾性分析 MRD 的临床影响。由于 MRD 监测技术方法、治疗方案设计不同,因此不同白血病临床研究组应用单一或多个 MRD 评估时间点,以及不同的 MRD 分界值来进行危险度划分。AIEOP-BFM ALL 2000 EOI 和 EOC-MRD 均 $<10^{-4}$ 者为标危,EOC-MRD $\geq 10^{-3}$ (后期改为 $\geq 5 \times 10^{-4}$) 为高危,其余为中危^[26]。COG 根据 MRD 水平将 T-ALL 分为三个危险度,第 29 天 MRD $<0.01\%$ 的患者进入标危组,第 29 天 MRD $\geq 0.01\%$ EOC MRD $<0.1\%$ 为中危组,EOC-MRD $\geq 0.1\%$ 为高危组。我国 CCLG-ALL 2018 中根据 MRD 水平区分 T-ALL 患儿的危险度,高危患者的 MRD 标准是第 15 天 $\geq 10^{-1}$ 或 EOI $\geq 10^{-2}$ 或巩固治疗前 $\geq 10^{-4}$ 。

T-ALL 不常规在第 1 次完全缓解(CR)后进行 HSCT,除非后期 MRD 持续阳性。我国 CCLG-ALL 2018 方案推荐 T-ALL 在早期强化 CAML1 方案结束后骨髓评估 MRD $\geq 10^{-2}$ 以及高危患儿在 HR-1' 方案治疗后至 HR-2' 治疗前 MRD $\geq 10^{-4}$ 者进行 HSCT 治疗。AIEOP-BFM ALL 2000 临床研究,对第 78 天 MRD $\geq 10^{-3}$ 者升级至高危组,并在后续每一个再巩固单元结束时进行 MRD 评估,以调整治疗强度为进行 HSCT 做准备^[23]。COG HSCT 的指征包括第 29 天 MRD $>0.1\%$ 但巩固后形态学为 M2 或 M3 者,以及第 43 天 MRD $>1\%$ 的 CR 患者^[27]。美国 St. Jude 儿童医院 XV 临床研究是首个诱导缓解后连续定期进行 T-ALL 外周血 MRD 监测并指导

治疗的前瞻性临床研究中,诱导后MRD持续阳性或者出现水平升高者是进行HSCT的指征^[28]。我国一项纳入136例儿童T-ALL的研究发现,在以MRD分层为指导进行HSCT后可以改善患儿预后^[2]。

MRD监测常规应用于治疗过程中和治疗结束后,NCCN指南建议每3~6个月进行MRD检测至少5年。规律监测MRD,不仅可以早期发现具有复发风险的患者,及时进行治疗干预,MRD持续阴性的患者亦可避免进行HSCT及其相关死亡。此外,MRD评估亦作为新药应用的指标。COG针对初发高危T-ALL患者,将奈拉滨纳入诱导后MRD>1%患者的治疗中,其预后与MRD早期反应迅速者相当^[29],避免了应用HSCT。目前,欧洲将奈拉滨用于治疗早期MRD≥5%的初诊T-ALL患者和复发患者。日本ALL-T11全国多中心临床研究,应用奈拉滨治疗EOC-MRD高危和极高危患者^[30]。

白血病治疗中面临的一个最具挑战性的目标是在治愈患者的同时,降低强化疗引起的不良反应。然而,减低强度要求MRD检测敏感度高,避免假阴性结果。在UKALL2003方案中,T-ALL患者EOI-MRD<10⁻⁴者,将接受标准BFM巩固方案,以及应用门冬酰胺酶替代剂量递增甲氨蝶呤,患者5年EFS率可达93%^[31]。UKALL2003和FRALLE2000T通过Ig/TR监测MRD,将MRD<10⁻⁴与基因突变相结合,可以发现预后良好的低风险儿童T-ALL患者进行降级治疗^[32]。

三、HSCT前后MRD评估的临床意义

MRD评估不仅可以识别需要进行HSCT的患者,对HSCT治疗的患者同样具有预后意义。HSCT前MRD水平影响患者移植后的预后,MRD阳性与移植后复发和不良预后相关。捷克儿童血液治疗组研究显示,5例HSCT前MRD阴性T-ALL均未复发,而1例阳性者出现复发^[33]。纳入102例成人T-ALL的研究发现移植时MRD阳性患者的进展率明显高于MRD阴性患者(76%对34%)。更多的临床研究虽未单独对T-ALL进行阐述,但均提示HSCT前MRD对移植后的预后具有显著影响^[34-36]。此外,在一项应用ALLR3和ALL-REZ BFM 2002进行再诱导治疗的复发儿童ALL研究中,T-ALL患者EOI-MRD反应良好与不良者的DFS、OS及CIR差异均具有统计学意义,但移植前MRD≥10⁻³不是DFS和OS独立的不良预后因素,提示低MRD水平的T-ALL患者可能还存在髓外白血病,而骨髓MRD检测未能发现^[37]。

法国的一项儿童ALL临床研究也显示,HSCT前后MRD都与患者预后相关,且HSCT+90 d MRD还指导治疗干预^[38-39]。移植后监测MRD是复发强有力的预测因子^[39],其敏感度和特异性均优于嵌合度分析^[40]。HSCT后的儿童ALL通过连续监测MRD进行治疗方案的调整预防复发。以上两项研究中均包含儿童T-ALL患者,虽未单独说明T-ALL患者的情况,但患者与整体保持一致。此外,有成人ALL的研究表明,HSCT后MRD预测复发比HSCT前MRD更准确,其监测与临床的相关性更强^[41]。因此,亟须在HSCT前后应用新疗法获得或维持MRD阴性。

由于HSCT后免疫重建,正常再生细胞和ALL幼稚细胞可以具有相似的免疫表型,降低了MRD评估的准确性和特异性。此外,HSCT后MRD对白血病细胞清除动力学的预测性减低,使临床解读变得复杂。由于免疫抑制剂的撤退及进行供者淋巴细胞回输(DLI)可能会引起严重的急慢性移植物抗宿主病(GVHD),所以只有当MRD≥10⁻⁴时才调整治疗。

四、MRD评估新疗法的反应性及其作为替代指标评估新疗法有效性

近年来,随着新的方法和手段应用于ALL的治疗,越来越多的研究将MRD用于评估患者对新疗法的反应性,以及新药批准适应证。我国研究团队采用NSCD7 CAR-T细胞治疗复发/难治性儿童和成人T-ALL/LBL,在输注后第28天进行MRD检测,19例患者均获得MRD阴性,除1例患者在后续HSCT治疗中死于GVHD,其余18例患者均维持CR状态;而1例第28天MRD未获得CR患者,于第43天复发,第83天死亡^[42]。而应用米托蒽醌与伊达比星治疗儿童复发ALL的一项研究显示,MRD并不能预测治疗效果,说明MRD错误地评估了药物效果,不能将反应性等同为疗效^[43]。尽管MRD作为ALL EFS强有力的预测因子已常规应用于治疗反应评估和分层治疗方案,但能否将早期MRD反应作为评估治疗干预EFS有效性的替代指标,以及在早期治疗阶段对新药应用的反应性评估来代替传统的终点事件仍需谨慎。后续治疗的复杂性及强度,可能会影响MRD的替代性能。因此在多药治疗背景下,评估随机治疗干预对长期EFS的影响中,需要谨慎应用早期MRD作为代替指标。MRD作为早期治疗反应的指标,能够转化为长期疗效的替代指标,依赖于后续治疗能否将良好反应长期转化。

五、总结与展望

MRD评估是儿童T-ALL预后判断和指导治疗决策的重要工具。临床常用的MRD检测技术包括MFC、RQ-PCR、NGS。近年来MFC、RQ-PCR技术的敏感度有所提升,可达10⁻⁴~10⁻⁵,NGS技术对白血病克隆的检测敏感度更高,未来有望替代RQ-PCR技术,但仍需标准化。随着科技的飞速发展和医学研究的不断深入,MRD检测技术也将迎来更新的突破。整合应用基因组学、转录组学、表观遗传组学、蛋白质组学和代谢组学等的多组学技术,以及血液病学、肿瘤学、分子生物学、遗传学、生物信息学等多学科合作模式,也必将应用到ALL-MRD监测领域中。尽管既往采用骨髓样本进行MRD检测,但在T-ALL中外周血和骨髓样本检测结果的一致性很好,提示T-ALL中应用更易获得的外周血样本,特别是开展液体活检技术,监测cfDNA和ctDNA进行MRD评估的可能性和广阔前景。

实验室间对MRD的判定差异和不同临床试验采用不同的MRD评估技术,给临床试验结果间的比较造成困难。尽管如此,既往研究普遍证实了治疗早期MRD在T-ALL患者预后判断、危险度划分、治疗方案调整等方面的重要作用。近年来,随着T-ALL基因组学研究进展,不仅能够提升精细

化分层分型治疗和靶向治疗的开展,未来MRD评估也将迎来患者个体化监测方案;基础研究对T-ALL,特别是耐药的MRD白血病细胞生物学特性的揭示,有助于新治疗策略及治疗靶点的开发。同时,MRD能否作为新药评估终点的替代指标,以及基于MRD的分子复发能否替代现有复发定义也将更加明确。MRD指导的前瞻性临床研究,也将使患者进一步获益,预防复发、改善预后。

参考文献

- [1] Teachey DT, O'Connor D. How I treat newly diagnosed T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma in children [J]. *Blood*, 2020, 135 (3): 159-166. DOI: 10.1182/blood.2019001557.
- [2] Xue YJ, Wang Y, Lu AD, et al. Clinical Analysis of Pediatric T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia Using the MRD-Oriented Strategy System [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2023, 23 (7): 477-483. DOI: 10.1016/j.clml.2023.03.013.
- [3] Michaela K, Antonia V, Britta K, et al. Comparison of minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood in adult acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2020, 34(4): 1154-1157. DOI: 10.1038/s41375-019-0599-1.
- [4] Wood BL. Flow cytometric monitoring of residual disease in acute leukemia [J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 999:123-136. DOI: 10.1007/978-1-62703-357-2_8.
- [5] Brent LW, Meenakshi D, Ryan JS, et al. Prognostic significance of ETP phenotype and minimal residual disease in T-ALL: a Children's Oncology Group study [J]. *Bood*, 2023, 142 (24): 2069-2078. DOI: 10.1182/blood.2023020678.
- [6] Kowarsch F, Maurer-Granofszky M, Weijler L, et al. FCM marker importance for MRD assessment in T-cell acute lymphoblastic leukemia: An AIEOP-BFM-ALL-FLOW study group report [J]. *Cytometry A*, 2024, 105(1):24-35. DOI: 10.1002/cyto.a.24805.
- [7] Giovanni R, Vincenzo N, Anna Maria O, et al. Multiparametric Flow Cytometry for MRD Monitoring in Hematologic Malignancies: Clinical Applications and New Challenges [J]. *Cancers*, 2021, 13(18) DOI: 10.3390/cancers13184582.
- [8] Brüggemann M, Schrauder A, Raff T, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008 [J]. *Leukemia*, 2010, 24 (3): 521-535. DOI: 10.1038/leu.2009.268.
- [9] Szczepański T, van der Velden VHJ, Raff T, et al. Comparative analysis of T-cell receptor gene rearrangements at diagnosis and relapse of T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) shows high stability of clonal markers for monitoring of minimal residual disease and reveals the occurrence of second T-ALL [J]. *Leukemia*, 2003, 17 (11): 2149-2156. DOI: 10.1038/sj.leu.2403081.
- [10] van der Velden VHJ, Cazzaniga G, Schrauder A, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data [J]. *Leukemia*, 2007, 21 (4): 604-611. DOI: 10.1038/sj.leu.2404586.
- [11] Brüggemann M, Kotrová M, Knecht H, et al. Standardized next-generation sequencing of immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations for MRD marker identification in acute lymphoblastic leukaemia; a EuroClonality-NGS validation study [J]. *Leukemia*, 2019, 33(9): 2241-2253. DOI: 10.1038/s41375-019-0496-7.
- [12] Kotrova M, van der Velden VHJ, van Dongen JJM, et al. Next-generation sequencing indicates false-positive MRD results and better predicts prognosis after SCT in patients with childhood ALL [J]. *Bone Marrow Transplantation*, 2017, 52(7): 962-968. DOI: 10.1038/bmt.2017.16.
- [13] Kotrova M, Muzikova K, Mejstrikova E, et al. The predictive strength of next-generation sequencing MRD detection for relapse compared with current methods in childhood ALL [J]. *Blood*, 2015, 126(8): 1045-1047. DOI: 10.1182/blood-2015-07-655159.
- [14] Gabert J, Beillard E, van der Velden VHJ, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program [J]. *Leukemia*, 2003, 17 (12): 2318-2357. DOI:10.1038/sj.leu.2403135.
- [15] Beillard E, Pallisgaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program [J]. *Leukemia: Official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, 2003,17(12):2474-2486.
- [16] Hosler GA, Bash RO, Bai X, et al. Development and validation of a quantitative polymerase chain reaction assay to evaluate minimal residual disease for T-cell acute lymphoblastic leukemia and follicular lymphoma [J]. *The American Journal of Pathology*, 1999, 154(4): 1023-1035. *Am J Pathol*, 1999, 154(4): 1023-1035. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)6355-2.
- [17] Nigro LL, Andriano N, Buldini B, et al. FLT3-ITD in Children with Early T-cell Precursor (ETP) Acute Lymphoblastic Leukemia: Incidence and Potential Target for Monitoring Minimal Residual Disease (MRD) [J]. *Cancers*, 2022,14(10):2475. DOI: 10.3390/cancers14102475.
- [18] van der Velden VHJ, Jacobs DCH, Wijkhuijs AJM, et al. Minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood are comparable in children with T cell acute lymphoblastic leukemia (ALL), but not in precursor-B-ALL [J]. *Leukemia*, 2002, 16(8):1432-1436. DOI: 10.1038/sj.leu.2402636.
- [19] Keegan A, Charest K, Schmidt R, et al. Flow cytometric minimal residual disease assessment of peripheral blood in acute lymphoblastic leukaemia patients has potential for early detection of relapsed extramedullary disease [J]. *J Clin Pathol*, 2018, 71(7): 653-658. DOI: 10.1136/jclinpath-2017-204828.
- [20] Teachey DT, Hunger SP. Predicting relapse risk in childhood acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2013, 162 (5):606-620. DOI: 10.1111/bjh.12442.
- [21] Pui CH, Pei D, Raimondi SC, et al. Clinical impact of minimal residual disease in children with different subtypes of acute lymphoblastic leukemia treated with Response-Adapted therapy [J]. *Leukemia*, 2017, 31(2): 333-339. DOI:10.1038/leu.2016.234.
- [22] Basso G, Veltroni M, Valsecchi MG, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(31):5168-5174. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.8934.

- [23] Schrappe M, Valsecchi MG, Bartram CR, et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study[J]. *Blood*, 2011, 118(8):2077-2084. DOI: 10.1182/blood-2011-03-338707.
- [24] Stow P, Key L, Chen XH, et al. Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2010, 115 (23): 4657-4663. DOI: 10.1182/blood-2009-11-253435.
- [25] Liu XM, Zou Y, Chen XJ, et al. Minimal residual disease surveillance at day 90 predicts long-term survival in pediatric patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 2020, 61 (14): 3460-3467. DOI: 10.1080/10428194.2020.1805739.
- [26] Flohr T, Schrauder A, Cazzaniga G, et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2008, 22(4):771-782. DOI: 10.1038/leu.2008.5.
- [27] Pulsipher MA, Bader P, Klingebiel T, et al. Allogeneic transplantation for pediatric acute lymphoblastic leukemia: the emerging role of peritransplantation minimal residual disease/chimerism monitoring and novel chemotherapeutic, molecular, and immune approaches aimed at preventing relapse[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, 15 (1 Suppl): 62-71. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.11.009.
- [28] Pui CH, Pei D, Coustan-Smith E, et al. Clinical utility of sequential minimal residual disease measurements in the context of risk-based therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prospective study [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16 (4): 465-474. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70082-3.
- [29] Dunsmore KP, Devidas M, Linda SB, et al. Pilot study of nelarabine in combination with intensive chemotherapy in high-risk T-cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30 (22): 2753-2759. DOI: 10.1200/JCO.2011.40.8724.
- [30] Sato A, Hatta Y, Imai C, et al. Nelarabine, intensive L-asparaginase, and protracted intrathecal therapy for newly diagnosed T-cell acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults (ALL-T11): a nationwide, multicenter, phase 2 trial including randomisation in the very high-risk group [J]. *Lancet Haematol*, 2023, 10(6):e419-e432. DOI: 10.1016/S2352-3026(23)00072-8.
- [31] Vora A, Goulden N, Mitchell C, et al. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15 (8): 809-818. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70243-8.
- [32] Taj MM, Moorman AV, Hamadeh L, et al. Prognostic value of Oncogenetic mutations in pediatric T Acute Lymphoblastic Leukemia: a comparison of UKALL2003 and FRALLE2000T protocols[J]. *Leukemia*, 2022, 36(1):263-266. DOI: 10.1038/s41375-021-01334-x.
- [33] Sramkova L, Muzikova K, Fronkova E, et al. Detectable minimal residual disease before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predicts extremely poor prognosis in children with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, 48(1):93-100. DOI: 10.1002/pbc.20794.
- [34] Knechtli CJ, Goulden NJ, Hancock JP, et al. Minimal residual disease status as a predictor of relapse after allogeneic bone marrow transplantation for children with acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 1998, 102 (3): 860-871. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1998.00873.x.
- [35] Bader P, Kreyenberg H, Henze GHR, et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(3):377-384. DOI: 10.1200/JCO.2008.17.6065.
- [36] Bachanova V, Burke MJ, Yohe S, et al. Unrelated cord blood transplantation in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia: effect of minimal residual disease on relapse and survival [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012, 18(6):963-968. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.02.012.
- [37] Eckert C, Parker C, Moorman AV, et al. Risk factors and outcomes in children with high-risk B-cell precursor and T-cell relapsed acute lymphoblastic leukaemia: combined analysis of ALLR3 and ALL-REZ BFM 2002 clinical trials [J]. *Eur J Cancer*, 2021, 151:175-189. DOI: 10.1016/j.ejca.2021.03.034.
- [38] Gandemer V, Pochon C, Oger E, et al. Clinical value of pre-transplant minimal residual disease in childhood lymphoblastic leukaemia: the results of the French minimal residual disease-guided protocol [J]. *Br J Haematol*, 2014, 165 (3): 392-401. DOI: 10.1111/bjh.12749.
- [39] Bader P, Kreyenberg H, von Stackelberg A, et al. Monitoring of Minimal Residual Disease After Allogeneic Stem-Cell Transplantation in Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Allows for the Identification of Impending Relapse: Results of the ALL-BFM-SCT 2003 Trial [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33 (11): 1275-1284. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.4631.
- [40] Terwey TH, Hemmati PG, Nagy M, et al. Comparison of Chimerism and Minimal Residual Disease Monitoring for Relapse Prediction after Allogeneic Stem Cell Transplantation for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20 (10): 1522-1529. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.05.026.
- [41] Zhou Y, Slack S, Jorgensen JL, et al. The Effect of Peritransplant Minimal Residual Disease in Adults With Acute Lymphoblastic Leukemia Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2014, 14 (4):319-326. DOI: 10.1016/j.clml.2014.01.002.
- [42] Lu PH, Liu Y, Yang JF, et al. Naturally selected CD7 CAR-T therapy without genetic manipulations for T-ALL/LBL: first-human phase 1 clinical trial[J]. *Blood*, 2022, 140(4): 321-334. DOI:10.1182/blood.2021014498.
- [43] Parker C, Waters R, Leighton C, et al. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of acute lymphoblastic leukaemia (ALL R3): an open-label randomised trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9757):2009-2017. DOI 10.1016/S0140-6736(10)62002-8.

(收稿日期:2024-07-01)

(本文编辑:王叶青)