

TP53 基因突变对 Ph 阴性急性 B 淋巴细胞白血病异基因造血干细胞移植疗效的影响

曹星玉¹ 张阳² 刘德琰¹ 张建平¹ 魏志杰¹ 熊敏¹ 孙瑞娟¹ 卢岳¹ 周葭蕤¹
赵艳丽¹ 马薇¹ 张薇¹

¹河北燕达陆道培医院造血干细胞移植科,河北省廊坊市 065201;²河北燕达陆道培医院分子医学室,河北省廊坊市 065201

通信作者:曹星玉, Email:caoxingyu2020@sina.com

【摘要】 目的 探讨 TP53 基因突变对 Ph 阴性急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)疗效的影响。方法 回顾性研究 2012 年 5 月至 2017 年 5 月在河北燕达陆道培医院行 allo-HSCT 的 300 例 Ph 阴性 B-ALL 患者的临床特点和 TP53 基因突变发生情况,分析 TP53 基因突变对移植后无白血病生存(LFS)、总生存(OS)、非复发相关死亡(NRM)、累积复发率(RI)和移植物抗宿主病(GVHD)发生的影响。结果 共 23 例患者检出 TP53 基因突变,突变位点均位于 DNA 结合区。TP53 基因突变组和非突变组 5 年 LFS 率分别为 34.8% 和 62.3% ($P=0.001$), 5 年 OS 率分别为 41.9% 和 65.1% ($P=0.020$), 5 年 RI 分别为 47.8% 和 14.8% ($P=0.000$), 而两组间在 GVHD 和 NRM 上差异无统计学意义 ($P>0.05$)。多因素分析显示,TP53 基因突变仍然是影响移植后 OS、LFS 和 RI 的不良因素。结论 allo-HSCT 可以使部分具有 TP53 基因突变的 Ph 阴性 B-ALL 患者获得长期生存。TP53 基因突变是影响 Ph 阴性 B-ALL 患者 allo-HSCT 预后的独立危险因素。

【关键词】 TP53 基因; 白血病, B 淋巴细胞, 急性; 异基因造血干细胞移植

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.005

The effect of TP53 mutations on the clinical outcomes of Ph-negative B-acute lymphoblastic leukemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Cao Xingyu¹, Zhang Yang², Liu Deyan¹, Zhang Jianping¹, Wei Zhijie¹, Xiong Min¹, Sun Ruijuan¹, Lu Yue¹, Zhou Jiarui¹, Zhao Yanli¹, Ma Wei¹, Zhang Wei¹

¹Department of Bone Marrow Transplantation, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang 065201, China;

²Molecular Medicine Laboratory, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang 065201, China

Corresponding author: Cao Xingyu, Email: caoxingyu2020@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the association of TP53 mutations with the clinical outcomes of Ph-negative B-ALL following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** Total 300 patients with Ph-negative B-ALL who underwent allo-HSCT at the Hebei Yanda Ludaopei Hospital from May 2012 to May 2017 were retrospectively analyzed; their clinical characteristics, TP53 gene mutation type, and association between TP53 mutations and transplantation outcomes, including leukemia-free survival (LFS), overall survival (OS), non-relapse mortality (NRM), relapse, and GVHD, were evaluated. **Results** Total 23 patients had TP53 mutations; all the TP53 mutations affected P53' DNA-binding domain. The 5-year-LFS, OS, and RI were 34.8% and 62.3% ($P=0.001$), 41.9% and 65.1% ($P=0.020$), and 47.8% and 14.8% ($P=0.000$), respectively, for TP53 mutations and wild-type TP53 patients. However, there were no significant differences in NRM and GVHD. Multivariate analysis showed that TP53 mutations remained adverse prognostic factors for LFS, OS, and RI after allo-HSCT. **Conclusion** Some patients with TP53 mutations can achieve long-term survival with allo-HSCT. TP53 mutations are adverse prognostic factors for Ph-negative B-ALL patients who undergo allo-HSCT.

【Key words】 TP53 gene; Leukemia, B lymphoblastic, acute; Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.005

TP53基因定位于17p13.1,编码P53蛋白。P53蛋白是一种转录蛋白,是最重要的肿瘤抑制因子,具有调节细胞周期停滞、DNA修复、凋亡、抗衰老、自噬、抗氧化等作用。50%以上的肿瘤具有TP53基因突变,不同肿瘤的TP53基因突变发生率不相同^[1]。在急性淋巴细胞白血病(ALL)中TP53基因突变多见于复发和低亚倍体ALL(染色体数目32~39条),新诊断的儿童ALL患者中TP53基因突变发生率仅为2%^[2];在成人ALL患者中为8%^[3];复发B-ALL中TP53基因突变发生率为29%^[4];低亚倍体ALL中TP53基因突变发生率为91.2%^[5]。在急性髓系白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、慢性淋巴细胞白血病和ALL中,TP53基因突变均与化疗不敏感、早期复发及生存率低相关^[3,6]。尽管儿童ALL化疗长期生存率可以达到80%以上,但是仍有约20%患者复发,异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是这部分患者获得长生存的重要手段^[7]。Ph阴性B-ALL具有和Ph阳性B-ALL、T-ALL不同的分子生物学特点,本研究旨在探讨TP53基因突变对Ph阴性B-ALL患者allo-HSCT疗效的影响。

对象与方法

1. 研究对象:2012年5月1日至2017年5月31日于河北燕达陆道培医院行allo-HSCT的Ph阴性B-ALL患者。患者的诊断均符合文献[8]标准。排除标准:①二次移植的患者;②缺乏基因突变检测结果的患者。

2. 基因突变测定方法:对患者初次诊断时的骨髓或者骨髓涂片标本进行基因突变分析。2012年5月至2015年10月采用Sanger测序的方法检测基因突变,对TP53基因的检测范围为p.43_306和p.26_331,灵敏度为15%~20%。2015年10月以后采用高通量测序的方法检测基因突变,TP53基因检测范围为p.1_394,检测灵敏度为5%。其他突变基因检测参照本院实验室已有分析流程^[9]。

3. 造血干细胞移植预处理方案:HLA配型采用高分辨配型10个基因位点。预处理方案采用以全身照射(TBI)或以白消安(BU)为基础的方案。标准TBI方案为:阿糖胞苷(Ara-C)3 g·m⁻²·d⁻¹静脉滴注,-10、-9 d;TBI 2 Gy每日两次,-8、-7、-6 d;环磷酰胺(Cy)1.8 g·m⁻²·d⁻¹静脉滴注,-5、-4 d;司莫司汀250 mg/m²口服,-3 d。标准BU方案为:Ara-C 3 g·m⁻²·d⁻¹静脉滴注,-11、-10 d;BU 0.8 mg/kg,每6 h 1次,静脉滴注,-9、-8、-7、-6 d;Cy 1.8 g·m⁻²·d⁻¹

静脉滴注,-5、-4 d;司莫司汀250 mg/m²口服,-3 d。加强方案为在标准预处理方案基础上加用塞替派或依托泊苷或FLAG联合化疗。塞替派剂量为5 mg/kg×2 d;依托泊苷剂量为15 mg/kg×2 d或30 mg/kg×1 d;FLAG具体剂量为氟达拉滨(FLU)30 mg/m²×5 d,Ara-C 2 g/m²×5 d,G-CSF 5 μg·kg⁻¹·d⁻¹×5 d。脏器功能不全的患者,以FLU替代Cy。患者接受G-CSF动员的供者骨髓、外周血干细胞或静态骨髓。

4. 移植物抗宿主病(GVHD)的预防方案:全部非血缘、亲缘单倍型移植和部分同胞全相合移植预处理方案中给予ATG[分别为兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白(商品名即复宁),同胞全相合移植中总剂量2.5 mg/kg,非血缘和亲缘单倍型移植中总剂量分别为5、6、7.5、8或10 mg/kg;兔抗人T细胞免疫球蛋白(商品名费森尤斯),在同胞全相合移植中总剂量5、10或20 mg/kg;在非血缘和亲缘单倍型移植中总剂量为20 mg/kg;抗人T细胞猪免疫球蛋白在非血缘和亲缘单倍型移植中均采用总剂量为80 mg/kg],ATG的总剂量分4 d分别在-2、-3、-4和-5 d静脉滴注。采用环孢素A(CsA)/他克莫司(FK506)、吗替麦考酚酯(MMF)及短程甲氨蝶呤(MTX)方案预防GVHD。从预处理-9天开始给予CsA或FK506,初始剂量分别为1.25 mg/kg 每12 h 1次静脉滴注和0.015 mg/kg 24 h 静脉维持,根据药物浓度调节剂量。小剂量MTX具体为15 mg/m²+1 d,10 mg/m²+3、+6和+11 d,静脉滴注。

5. 相关诊断标准和定义:中性粒细胞绝对计数连续3 d>0.5×10⁹/L的第1天定义为粒细胞植活时间。脱离血小板输注PLT持续1周>20×10⁹/L的第1天定义为血小板植活。急性GVHD(aGVHD)按照Glucksberg分度。慢性GVHD(cGVHD)按照传统分为局限性(50%以下的皮肤面积受累或仅有肝脏受累)和广泛性cGVHD(累积任何其他器官,50%以上皮肤受累,或肝硬化)。无白血病生存(LFS)时间定义为造血干细胞回输结束至复发或死亡的时间;总生存(OS)时间定义为造血干细胞回输结束至末次随访或死亡的时间;复发定义为缓解后再次出现骨髓中白血病细胞>5%或者有髓外白血病存在;非复发相关死亡(NRM)定义为因非复发或非疾病进展原因造成的死亡。

6. 随访:随访截止日期为2020年3月31日。随访资料来自门诊、住院病历及电话随访。

7. 统计学处理:采用NCSS12和R3.4.4统计学

软件进行统计学分析。TP53基因突变(TP53^{mut})组和非突变(TP53^{wt})组的组间比较分类数据采用Fisher精确检验,定量数据采用 t 检验或者Mann-Whitney U 检验。OS和LFS采用Kaplan-Meier分析方法,组间比较采用Log-rank检验。累积复发率(RI)和NRM进行累积发生率的竞争风险分析,采用Gray's检验。OS、LFS、RI和NRM单因素分析中 $P < 0.15$ 的因素进入多因素分析。OS和LFS的多因素分析采用Cox回归分析,RI和NRM的多因素分析采用有竞争风险的回归模型进行分析。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用https://www.cbioportal.org/mutation_mapper网站工具做TP53基因突变位点图。

结 果

1. 患者基本资料:共300例行allo-HSCT的Ph阴性B-ALL患者纳入分析。患者中位年龄12(2~51)岁,男性178例,占59.3%,同胞全相合移植患者中16例给予ATG预防GVHD。输注的单个核细胞(MNC)为 $(8.9 \pm 3.0) \times 10^8/\text{kg}$, CD34⁺细胞为 $(5.3 \pm 2.7) \times 10^6/\text{kg}$, CD3⁺细胞为 $(1.9 \pm 1.0) \times 10^8/\text{kg}$ 。因早期死亡,有2例无法评价植活时间,其余患者粒细胞均顺利植活,血小板6例未植活。粒细胞植活中位时间为14(10~25)d,血小板植活中位时间为12(4~139)d。72例患者在移植前接受了CAR-T细胞治疗,为针对CD19或CD22的CAR-T细胞。检出TP53基因突变的患者共23例,发生率为7.7%。TP53^{mut}和TP53^{wt}组患者一般临床特征见表1。两组间在年龄、移植前病程、性别构成比、初诊时WBC、达到第1次完全缓解(CR₁)所需要的化疗疗程、B-ALL的亚型构成比、移植前接受CAR-T细胞治疗的比例、移植前微小残留病(MRD)水平、缓解状态、预处理方案、采用的ATG类型、移植类型、干细胞来源、输注的MNC、CD34阳性细胞数、CD3阳性细胞数和移植后为预防复发的预防性供者淋巴细胞输注(DLI)/供者外周血干细胞输注(DSI)病例数的差异均无统计学意义。在CR₁的患者中,TP53基因突变患者占6.8%,在 \geq CR₂/未缓解(NR)患者中,TP53基因突变患者占8.2%($P = 0.825$)。

2. TP53^{mut}和TP53^{wt}组患者LFS、OS、RI、NRM、aGVHD和cGVHD的比较:TP53^{mut}和TP53^{wt}组患者的粒细胞植活中位时间分别为14(11~20)d和14(10~25)d($P = 0.770$);血小板植活的中位时间分别为12.5(5~34)d和12(4~139)d($P = 0.934$)。

TP53^{mut}和TP53^{wt}组患者的LFS、OS、NRM、aGVHD和cGVHD的结果见表2。TP53^{mut}组和TP53^{wt}组比较,5年LFS和OS率均降低,且差异有统计学意义(P 值均 < 0.05)。两组间在NRM、aGVHD和cGVHD的发生上差异无统计学意义,而在RI上,TP53^{mut}组明显高于TP53^{wt}组($P = 0.000$)。共有109例患者死亡,TP53^{wt}组96例患者死亡,TP53^{mut}组13例患者死亡。TP53^{mut}组患者的死亡原因分别为复发(69.2%)、GVHD(15.4%)、血栓性微血管病(7.7%)和移植功能不良(7.7%);TP53^{wt}组患者前三位的死亡原因为复发(32.3%)、GVHD(22.9%)和感染(17.7%)。

3. TP53基因突变对预后的影响:将性别、年龄分组、IKZF1基因突变、移植前是否达到CR₁、达到CR₁所需要的化疗疗程数、移植前的MRD水平、预处理种类(TBI或BU方案)、ATG种类、移植类型(同胞全相合/非血缘移植/亲缘单倍型)、移植前是否接受CAR-T细胞治疗作为影响因素,对LFS、OS和RI进行单因素分析(表3),单因素分析中 $P < 0.15$ 的参数进入多因素分析。多因素分析结果显示TP53基因突变仍然是影响患者LFS、OS和复发率的不良预后因素(表4)。除此之外,多因素分析显示影响患者LFS的不良预后因素还包括非CR₁状态移植和移植前MRD阳性。5年LFS率在CR₁和 \geq CR₂/NR组分别为71.2%和53.0%($P = 0.000$);移植前MRD阴性和MRD阳性组分别为68.5%和48.0%($P = 0.000$)。亲缘单倍型移植和同胞全相合移植相比LFS率升高[$HR = 0.568(0.344 \sim 0.940)$ $P = 0.028$]。5年LFS率在同胞全相合、非血缘和亲缘单倍型移植组分别为42.9%、71.7%和60.3%($P = 0.038$)。影响OS的不良预后因素除TP53基因突变外还有非CR₁状态移植和移植前MRD阳性。影响RI的不良预后因素除TP53基因突变,还有患者年龄 > 40 岁、移植前MRD阳性、采用BU为基础的预处理方案和采用同胞全相合供者。5年RI在患者年龄 ≤ 40 岁和 > 40 岁组分别为16.3%和45.5%($P = 0.010$);CR₁和 \geq CR₂/NR组分别为11.0%和21.4%($P = 0.015$);移植前MRD阴性和MRD阳性组分别为8.4%和30.6%($P = 0.000$);在BU为基础的预处理方案和TBI为基础的预处理方案组分别为36.1%和14.8%($P = 0.002$);在同胞全相合移植、非血缘移植和亲缘单倍型移植组分别为35.9%、15.0%和14.4%($P = 0.005$)。

4. TP53基因突变类型:TP53基因突变发生率

表1 TP53基因突变(TP53^{mut})组和非突变(TP53^{wt})组患者一般临床特征比较

临床特征	TP53 ^{mut} (23例)	TP53 ^{wt} (277例)	P值
年龄[岁, M(范围)]	13(2~46)	12(2~51)	0.842
移植前病程[d, M(范围)]	267(127~3875)	440.5(61~4726)	0.676
性别(例,男/女)	15/8	163/114	0.661
初诊时WBC[×10 ⁹ /L, M(范围)]	16.2(2.3~707.2)	14(0.4~569.9)	0.867
达CR ₁ 所需化疗疗程数[例(%)]			
1个	18(78.3)	234(84.5)	0.387
≥2个	5(21.7)	43(15.5)	
B-ALL类型[例(%)]			0.600
非特指型(NOS)	12(52.2)	144(52.0)	
高二倍体(51~67)	1(4.4)	21(7.6)	
t(v;11q23.3);KMT2A-重排	4(17.4)	17(6.2)	
t(12;21)(p13.2;q22.1);ETV6-RUNX1	0(0)	23(8.3)	
t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1	2(8.7)	20(7.2)	
BCR-ABL1样B-ALL	2(8.7)	17(6.2)	
iAMP21	0(0)	3(1.1)	
复杂染色体(5条或以上染色体异常)	2(8.7)	25(9.0)	
t(v;14q32)/IgH重排	0(0)	6(2.2)	
TCF3-HLF融合基因阳性	0(0)	1(0.4)	
移植前是否接受过CAR-T细胞治疗[例(%)]			0.451
否	16(69.6)	212(76.5)	
是	7(30.4)	65(23.5)	
移植前MRD水平[例(%)]			0.662
阴性	15(65.2)	164(59.2)	
阳性	8(34.8)	113(40.8)	
移植前缓解状态[例(%)]			0.403
CR ₁	8(34.8)	110(39.7)	
≥CR ₂	11(47.8)	142(51.3)	
NR	4(17.4)	25(9.1)	
预处理方案[例(%)]			0.499
以TBI为基础	19(82.6)	245(88.5)	
以BU为基础	4(17.4)	32(11.6)	
GVHD预防方案[例(%)]			0.942
无ATG	2(8.7)	21(7.6)	
猪ATG	0(0)	3(1.1)	
兔ATG(费森尤斯)	15(65.2)	189(68.2)	
兔ATG(即复宁)	6(26.1)	64(23.1)	
移植类型[例(%)]			0.717
同胞全相合移植	2(8.7)	37(13.4)	
非血缘移植	6(26.1)	54(19.5)	
亲缘单倍型移植	15(65.2)	186(67.2)	
干细胞来源[例(%)]			0.479
骨髓+外周血	16(69.6)	215(77.6)	
外周血	7(30.4)	61(22.0)	
骨髓	0(0)	1(0.4)	
输注MNC(×10 ⁸ /kg)	9.9±4.2	8.9±2.8	0.253
输注CD34 ⁺ 细胞(×10 ⁶ /kg)	6.2±3.1	5.2±2.7	0.104
输注CD3 ⁺ 细胞(×10 ⁸ /kg)	2.1±1.1	1.9±1.0	0.360
移植后预防性的DLI/DSI[例(%)]	3(13.0)	17(6.1)	0.190

注:CR₁:第1次完全缓解;NR:未缓解;B-ALL:急性B淋巴细胞白血病;MRD:微小残留病;TBI:全身照射;BU:白消安;GVHD:移植物抗宿主病;MNC:单个核细胞;DLI:供者淋巴细胞输注;DSI:供者外周血干细胞输注

表2 TP53基因突变(TP53^{mut})组和非突变(TP53^{wt})组患者生存及RI、NRM、GVHD比较(%)

组别	例数	5年LFS率	5年OS率	5年RI	5年NRM率	100 d aGVHD	100 d 3~4度aGVHD	1年cGVHD
TP53 ^{mut}	23	34.8(16.6~53.7)	41.9(21.7~61.0)	47.8(31.2~73.3)	17.39(7.14~42.4)	47.8(31.2~73.3)	8.7(2.3~3.3)	56.5(39.5~80.9)
TP53 ^{wt}	277	62.3(56.3~67.8)	65.1(59.1~70.4)	14.8(11.2~19.7)	22.9(18.4~28.4)	51.3(45.7~57.5)	17.3(13.4~22.4)	51.4(45.8~57.6)
统计量		10.299	5.408	17.790	0.323	0.022	1.000	0.023
P值		0.001	0.020	0.000	0.570	0.884	1.000	0.881

注:LFS:无白血病生存;OS:总生存;RI:累积复发率;NRM:非复发相关死亡;aGVHD:急性移植物抗宿主病;cGVHD:慢性移植物抗宿主病。括号内为95%CI

表3 影响Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者无白血病生存(LFS)、总生存(OS)和累积复发率(RI)的单因素分析(P值)

影响因素	LFS	OS	RI
性别(男/女)	0.922	0.846	0.894
年龄(≤40岁/>40岁)	0.061	0.037	0.010
IKZF1基因突变(无/有)	0.517	0.642	0.867
移植前是否达CR ₁ (是/否)	0.000	0.002	0.015
达到CR ₁ 的化疗疗程数(1个/>1个或NR)	0.116	0.104	0.594
MRD水平(阴性/阳性)	0.000	0.004	0.000
预处理种类(TBI/BU)	0.294	0.713	0.002
ATG种类(无ATG/猪ATG/费森尤斯/即复宁)	0.181	0.259	0.017
移植类型(同胞全相合/非血缘移植/亲缘单倍型)	0.038	0.063	0.005
移植前是否接受CAR-T细胞治疗(否/是)	0.642	0.424	0.986

注:CR₁:第1次完全缓解;NR:未缓解;MRD:微小残留病;TBI:全身照射;BU:白消安

表4 影响Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者无白血病生存(LFS)、总生存(OS)和累积复发率(RI)的多因素分析

影响因素	LFS		OS		RI	
	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值	HR(95%CI)	P值
TP53基因突变(是/否)	2.664(1.537~4.618)	0.000	2.049(1.138~3.689)	0.017	5.851(2.709~12.633)	0.000
年龄(>40岁/≤40岁)	1.554(0.683~3.533)	0.293	1.683(0.743~3.815)	0.212	1.033(1.004~1.064)	0.027
移植前是否CR ₁ (否/是)	1.953(1.270~3.002)	0.002	1.870(1.198~2.918)	0.006	1.920(1.058~3.482)	0.032
达到CR ₁ 的化疗疗程数(>1个或NR/1个)	1.592(0.995~2.546)	0.053	1.564(0.966~2.533)	0.069		
MRD水平(阳性/阴性)	1.663(1.138~2.430)	0.009	1.499(1.007~2.233)	0.046	5.837(3.061~11.133)	0.000
移植类型(非血缘/同胞全相合移植)	0.533(0.274~1.035)	0.063	0.578(0.291~1.149)	0.118		
移植类型(亲缘单倍型/同胞全相合移植)	0.568(0.344~0.940)	0.028	0.635(0.378~1.067)	0.087		
移植类型(亲缘单倍型/非血缘/同胞全相合移植)					0.506(0.311~0.823)	0.006
预处理种类(BU/TBI)					4.523(2.136~9.575)	0.000
ATG种类(即复宁/费森尤斯/猪ATG/无ATG)					1.261(0.908~1.750)	0.170

注:CR₁:第1次完全缓解;NR:未缓解;MRD:微小残留病;TBI:全身照射;BU:白消安

为7.6%。23例基因突变均位于TP53基因的DNA结合区(DBD),突变频率中位数为50.0%(4.5%~90.0%)。错义突变为15例(65.2%)。基因突变位点图见图1。

讨论

胚系的TP53基因突变可以导致Li-Fraumeni综合征,是一种常染色体显性遗传病,家族具有癌症倾向,最常见的5种肿瘤分别为乳腺癌、软组织肉

瘤、脑瘤、肾上腺皮质癌和骨肉瘤;其他的肿瘤包括肺癌、肠癌、造血系统肿瘤、皮肤癌、胃癌和卵巢癌,绝大多数的突变发生在DNA结合区^[10]。复发ALL和低亚倍体ALL(染色体数目32~39条)中TP53基因突变发生率高。复发B-ALL中TP53基因突变发生率为29%,其中70%的TP53基因突变都是复发后获得性的^[4]。低亚二倍体ALL中TP53基因突变发生率为91.2%^[11],43%的儿童低亚倍体ALL患者非肿瘤细胞中也存在TP53基因突变,因此低亚倍体

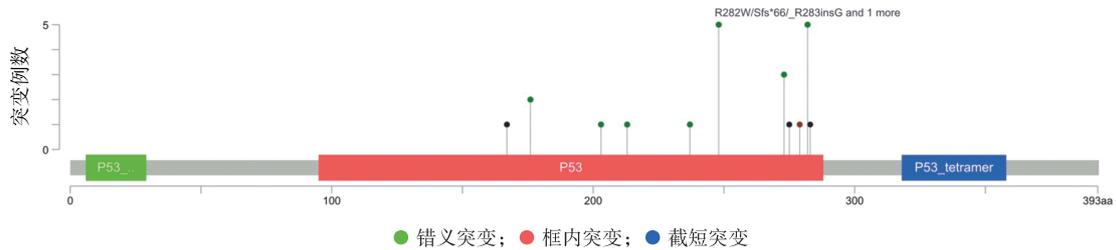


图1 23例Ph阴性急性B淋巴细胞白血病患者TP53基因突变位点图

ALL 被认为是 Li-Fraumeni 综合征的一种表现^[5]。本研究中 TP53 突变发生率为 7.6%，TP53 突变患者中男性多于女性。在发病年龄和发病时 WBC 突变组和非突变组差异无统计学意义。MD Anderson 肿瘤中心的研究显示 B-ALL 中 TP53^{mut}和 TP53^{wt}患者相比年龄大、WBC 低^[12]，本研究为接受 allo-HSCT 的患者，有选择的偏倚，未发现此规律。达到 CR₁ 所需的化疗疗程数两组间也无差异，与文献中报道的伴有 TP53 基因突变患者缓解率无明显降低^[3]相符。在本研究中非特指型、高二倍体、KMT2A 重排、TCF3-PBX1、复杂染色体的 B-ALL 中均可见到 TP53 基因突变，因没有亚二倍体的病例，因此未看到文献中报道的 TP53 基因突变在亚二倍体的优势分布。本研究中 CR₁ 的患者中，TP53 基因突变患者占 6.8%；≥CR₂/NR 患者中，TP53 基因突变患者占 8.2% ($P=0.825$)，似乎与文献中报道的复发 ALL 中 TP53 基因突变发生率增高不符，可能与缓解的 ALL 绝大部分病例未接受 allo-HSCT 有关。

Yu 等^[4]研究发现复发儿童 ALL 的 TP53^{mut}组和 TP53^{wt}组相比，allo-HSCT 后生存率下降，但该研究 T-ALL 和 B-ALL 未分开分析，另外 TP53^{mut}组和 TP53^{wt}组 5 年 EFS 率分别为 0 和不足 20%，5 年 OS 率分别为 0 和 20% 左右，生存率过低。来自于西班牙 22 个中心的纳入 340 例 B-ALL 患者的研究，TP53 基因突变患者 OS 率降低 (5 年 OS 率：50% 对 86%， $P=0.002$)，EFS 率降低 (5 年 EFS 率：50% 对 78.3%， $P=0.009$)，复发率升高 (5 年复发率：33.3% 对 18.6% $P=0.037$)，分析的患者中 68.6% 接受了造血干细胞移植 (HSCT)，但是未对移植结果进行单独分析^[13]。本研究中 TP53 基因突变与 Ph 阴性 B-ALL 的 HSCT 后 LFS 和 OS 率降低、复发率升高相关，显示 TP53 基因突变对于 Ph 阴性 B-ALL 是一个独立的预后不良因素，提示 allo-HSCT 不足以完全克服 TP53 基因突变的高复发风险。一些研究显示 TP53 基因突变可以引起免疫逃逸，P53 蛋白可以通过影响 MHC 分子表达、抑制 T 细胞功能和抑制 NK

细胞功能等对免疫系统产生影响。例如 P53 蛋白可以诱导 MHC-I 类抗原的表达，因此 TP53 基因突变可下调 MHC-I 类分子的表达；TP53 可以诱导 miR-34a 的转录，而 miR-34a 是 PD-L1 表达的抑制因子，因此 TP53 活性降低或丧失可以增加 PD-L1 的表达从而抑制 T 细胞功能^[14]。以上能部分解释 allo-HSCT 后 TP53 基因突变的患者仍高复发的原因。MD Anderson 肿瘤中心的研究显示接受以 hyper-CVAD 为基础的化疗+免疫治疗，TP53^{mut}和 TP53^{wt}组在 OS、EFS 和缓解时间上的差异无统计学意义，提示单克隆抗体有可能克服 TP53 基因突变的不良影响^[12]。移植后也可以采用诱导 MHC-I 类抗原表达、使用 PD-L1 或 PD-1 抗体等治疗策略来克服移植后 TP53 突变病例的高复发率。

大部分肿瘤相关的 TP53 基因突变位于 DBD 区，在 DBD 区有几个热点突变，包括 R175H、Y220C、G245S、R248Q/W、R249S、R273C/H 和 R282W^[1]。DNA 结合区的突变也与白血病生成有关^[2]。TP53 突变导致预后不良的机制包括功能缺失、显性负效应和功能获得。P53R248 和 R282 突变可诱导 CYP3A4 蛋白高表达，从而加速化疗药物清除导致耐药^[15-16]。本研究中所有 TP53 基因突变位点均位于 DBD 区。

研究显示 allo-HSCT 采用非清髓预处理方案，总量 8 mg/kg 比 6 mg/kg 的 ATG (即复宁) 增加复发率^[17]，但是在采用清髓性预处理方案时，同胞全相合移植预处理方案中应用 ATG 降低 aGVHD 和 cGVHD 发生率的同时不增加复发率^[18]，中国体系的亲缘单倍型移植中，ATG (即复宁) 总量 10 mg/kg 与 7.5 mg/kg 相比，不增加复发率^[19]。来自于欧洲的资料同样显示，在清髓性同胞相合移植中使用 ATG (费森尤斯) 不增加复发率^[20]。本研究采用的均为清髓性预处理方案，且多因素分析显示预处理不使用 ATG 和使用不同种类 ATG 对复发率的影响无统计学意义。因此，尽管本研究为回顾性研究，对 ATG 的剂量没有统一方案，不认为 TP53^{mut}和 TP53^{wt}

两组复发率的差异由ATG剂量不同所致。

总之,本研究结果提示allo-HSCT可以使部分具有TP53基因突变的Ph阴性B-ALL患者获得长期生存。因Ph阴性B-ALL伴TP53基因突变患者较野生型患者复发率增高,生存期缩短,因此需要采取新的干预措施来提高这部分患者的移植后生存。

参考文献

- [1] Joerger AC, Fersht AR. The p53 Pathway: Origins, Inactivation in Cancer, and Emerging Therapeutic Approaches [J]. *Annu Rev Biochem*, 2016, 85: 375-404. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014710.
- [2] Qian M, Cao X, Devidas M, et al. TP53 Germline Variations Influence the Predisposition and Prognosis of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Children [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36 (6):591-599. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.5215.
- [3] Salmoiraghi S, Montalvo ML, Ubiali G, et al. Mutations of TP53 gene in adult acute lymphoblastic leukemia at diagnosis do not affect the achievement of hematologic response but correlate with early relapse and very poor survival [J]. *Haematologica*, 2016, 101 (6): e245- e248. DOI: 10.3324/haematol.2015.137059.
- [4] Yu CH, Chang WT, Jou ST, et al. TP53 alterations in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(1):229-238. DOI: 10.1111/cas.14238.
- [5] Comeaux EQ, Mullighan CG. TP53 Mutations in Hypodiploid Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7(3): a026286. DOI: 10.1101/cshperspect.a026286.
- [6] Stengel A, Kern W, Haferlach T, et al. The impact of TP53 mutations and TP53 deletions on survival varies between AML, ALL, MDS and CLL: an analysis of 3307 cases [J]. *Leukemia*, 2017, 31(3):705-711. DOI: 10.1038/leu.2016.263.
- [7] Xu L, Chen H, Chen J, et al. The consensus on indications, conditioning regimen, and donor selection of allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematological diseases in China- recommendations from the Chinese Society of Hematology [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11 (1): 33. DOI: 10.1186/s13045-018-0564-x.
- [8] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会、中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2016年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(10): 837-845. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.10.002
- [9] Zhang Y, Wang F, Chen X, et al. CSF3R Mutations are frequently associated with abnormalities of RUNX1, CBFβ, CEBPA, and NPM1 genes in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer*, 2018, 124(16):3329-3338. DOI: 10.1002/cncr.31586.
- [10] Guha T, Malkin D. Inherited TP53 Mutations and the Li-Fraumeni Syndrome [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7(4): a026187. DOI: 10.1101/cshperspect.a026187.
- [11] Stengel A, Schnittger S, Weissmann S, et al. TP53 mutations occur in 15.7% of ALL and are associated with MYC-rearrangement, low hypodiploidy, and a poor prognosis [J]. *Blood*, 2014, 124 (2):251-258. DOI: 10.1182/blood-2014-02-558833.
- [12] Kanagal-Shamanna R, Jain P, Takahashi K, et al. TP53 mutation does not confer a poor outcome in adult patients with acute lymphoblastic leukemia who are treated with frontline hyper-CVAD-based regimens [J]. *Cancer*, 2017, 123 (19):3717-3724. DOI: 10.1002/cncr.30810.
- [13] Forero-Castro M, Robledo C, Benito R, et al. Mutations in TP53 and JAK2 are independent prognostic biomarkers in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(2):256-265. DOI: 10.1038/bjc.2017.152.
- [14] Blagih J, Buck MD, Vousden KH. p53, cancer and the immune response [J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(5): jcs237453. DOI: 10.1242/jcs.237453.
- [15] Chiaretti S, Brugnoletti F, Tavorolo S, et al. TP53 mutations are frequent in adult acute lymphoblastic leukemia cases negative for recurrent fusion genes and correlate with poor response to induction therapy [J]. *Haematologica*, 2013, 98 (5):e59- e61. DOI: 10.3324/haematol.2012.076786.
- [16] Xu J, Wang J, Hu Y, et al. Unequal prognostic potentials of p53 gain-of-function mutations in human cancers associate with drug-metabolizing activity [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5:e1108. DOI: 10.1038/cddis.2014.75.
- [17] Remberger M, Ringdén O, Hägglund H, et al. A high antithymocyte globulin dose increases the risk of relapse after reduced intensity conditioning HSCT with unrelated donors [J]. *Clin Transplant*, 2013, 27(4):e368-e374. DOI: 10.1111/ctr.12131.
- [18] Chang YJ, Wu DP, Lai YR, et al. Antithymocyte Globulin for Matched Sibling Donor Transplantation in Patients With Hematologic Malignancies: A Multicenter, Open-Label, Randomized Controlled Study [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38 (29):3367-3376. DOI: 10.1200/JCO.20.00150.
- [19] Lin R, Wang Y, Huang F, et al. Two dose levels of rabbit antithymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis in haploidentical stem cell transplantation: a multicenter randomized study [J]. *BMC Med*, 2019, 17(1):156. DOI: 10.1186/s12916-019-1393-7.
- [20] Bonifazi F, Solano C, Wolschke C, et al. GVHD prophylaxis plus ATLG after myeloablative allogeneic haemopoietic peripheral blood stem-cell transplantation from HLA-identical siblings in patients with acute leukaemia in remission: final results of quality of life and long-term outcome analysis of a phase 3 randomised study [J]. *Lancet Haematol*, 2019, 6(2):e89-e99.

(收稿日期:2020-04-28)

(本文编辑:王叶青)