·论著·

BCR-ABL突变检测指导下的达沙替尼治疗伊马替尼耐药的慢性髓性白血病疗效分析

江倩 秦亚溱 赖悦云 江浩 石红霞

【摘要】 **目的** 探讨在BCR-ABL突变检测指导下选用达沙替尼治疗伊马替尼耐药慢性髓性白血病(CML)患者的有效性。**方法** 83例伊马替尼耐药和39例伊马替尼与尼洛替尼均耐药的CML患者,持续口服达沙替尼,其中慢性期(CP)55例,加速期(AP)21例,急变期(BP)46例。达沙替尼治疗前,经BCR-ABL突变筛查,除外具有对达沙替尼高度耐药突变类型(T315I/A、F317L/V/C和V299L)的患者。定期监测血液学、细胞遗传学和分子学反应,评估疾病进展和生存情况。当发生达沙替尼治疗失败时检测BCR-ABL突变。**结果** CP患者中,完全血液学反应(CHR)率为92.7%,完全细胞遗传学反应(CCyR)率为53.7%,主要分子学反应(MMR)率为29.6%,MR4.5率为14.8%,4年疾病无进展生存(PFS)率和总生存(OS)率分别为84.4%和89.5%。AP患者中,血液学反应(HR)率和CCyR率分别为81.0%和35.0%,3年PFS率和OS率分别为56.1%和59.3%。BP患者中,HR率和CCyR率分别为63.0%和21.4%,1年PFS率和OS率分别为43.6%和61.8%。达沙替尼作为二线和三线酪氨酸激酶抑制剂时,治疗反应相似。当发生达沙替尼治疗失败时,75例患者中37例(48.7%)检出新突变,T315I最为多见(59.5%)。达沙替尼治疗前存在突变的患者与无突变患者相比,治疗反应、PFS和OS差异均无统计学意义,但当出现达沙替尼耐药时,发生新突变的可能性显著增高(65.7%对34.1%,P=0.006)。**结论** 达沙替尼可以有效治疗伊马替尼耐药或伊马替尼与尼洛替尼均耐药的CML各期患者,CP和AP患者疗效持久。达沙替尼治疗前BCR-ABL突变筛查及治疗中突变监测非常重要。

【关键词】 白血病,髓系,慢性,BCR-ABL阳性; 达沙替尼; 伊马替尼; 尼洛替尼

基金项目:国家自然科学基金(81370637);北京市科技计划项目(Z131100004013026)

Dasatinib treatment based on BCR-ABL mutation detection in imatinib-resistant patients with chronic myeloid leukemia

Jiang Qian, Qin Yazhen, Lai Yueyun, Jiang Hao, Shi Hongxia. 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 evaluate the efficiency of dasatinib as the second- or third-line tyrosine kinase inhibitor (TKI) in imatinib-resistant patients with chronic myeloid leukemia (CML) based on BCR-ABL mutation detection. **Methods** 122 CML patients received dasatinib treatment, including 83 with imatinib-resistance and 39 with both imatinib- and nilotinib-resistance, 55 in the chronic-phase (CP), 21 in the accelerated-phase (AP) and 46 in the blast-phase (BP). Those harboring dasatinib highly-resistant mutations (T315I/A, F317L/V/C and V299L) were excluded based on BCR-ABL kinase domain mutation screening by Sanger sequencing at baseline. Hematologic, cytogenetic and molecular responses were evaluated regularly, and rates of progression-free-survival (PFS) and overall survival (OS) were analyzed. BCR-ABL mutation detection was performed once the patients failed on dasatinib. **Results** In the CP patients, the rates of complete hematological response (CHR), complete cytogenetic response (CCyR), major molecular response (MMR) and molecular response 4.5 (MR4.5) were 92.7%, 53.7%, 29.6% and 14.8%, respectively. 4-year PFS and OS rates were 84.4% and 89.5%, respectively. In the AP patients, HR and CCyR rates were 81.0% and 35.0%; and 3-year PFS and OS rates were 56.1% and 59.3%, respectively. In the BP patients, HR and CCyR rates were 63.0% and 21.4%; and 1-year PFS and OS rates were 43.6% and 61.8%, respectively. Outcomes were similar when dasatinib was used as the second-line TKI or the

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.01.002

作者单位:100044 北京大学人民医院、北京大学血液病研究所

通信作者:江倩,Email:jiangqian@medmail.com.cn

third-line TKI. Of the 75 patients who were resistant to dasatinib, 37 (48.7%) developed new mutation(s), and T315I (59.5%) was the most common mutation type. The patients who already harbored mutation(s) before dasatinib therapy achieved similar responses and outcomes to those with no mutation at baseline. However, they had higher likelihood of developing additional mutations associated with resistance to dasatinib (65.7% *vs* 34.1%, P=0.006). **Conclusions** Dasatinib was proved to be effective in the treatment of imatinib- or/and nilotinib-resistant CML patients, especially in both CP and AP cohorts. The significance of BCR-ABL mutation screening and monitoring should be highlighted before and during dasatinib therapy.

【**Key words**】 Leukemia, myeloid, chronic, BCR-ABL positive; Dasatinib; Imatinib; Nilotinib

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81370637); Beijing Municipal Science and Technology Project (Z131100004013026)

伊马替尼显著改善了Ph染色体阳性(Ph^+)慢性髓性白血病(CML)各期患者的预后,但仍有部分患者对于伊马替尼耐药或不耐受。全球多中心数据显示,二代酪氨酸激酶抑制剂(TKI)达沙替尼或尼洛替尼作为二线治疗,可以挽救伊马替尼治疗失败的各期Ph^+CML患者[1-5],作为三线治疗,能够控制部分对两种TKI耐药的慢性期(CP)患者[6]。当今,BCR-ABL激酶结构域点突变是TKI耐药机制研究中的热点[7]。由于具有某些特殊突变类型的Ph^+或BCR-ABL^+克隆对不同种类TKI的敏感性有很大差异,因此,二代TKI的选择应基于BCR-ABL的突变类型已广为国内外CML专家所公认[8-10]。目前,国内仅有少数有关达沙替尼治疗CML的报道[11],且缺乏BCR-ABL突变检测的相关信息。在本文中我们报道了在BCR-ABL突变检测指导下,选用达沙替尼作为二线或三线TKI治疗伊马替尼耐药的各期CML患者的结果。

病例与方法

一、研究方法

本研究是一项在伊马替尼耐药或伊马替尼和尼洛替尼均耐药的Ph^+CML CP、加速期(AP)和急变期(BP)患者中进行的开放、前瞻性、单臂临床研究,主要评价在BCR-ABL突变检测指导下,达沙替尼(商品名施达赛,美国百时美施贵宝公司产品)作为二线或三线TKI,治疗各期CML患者的疗效。本研究获我院伦理委员会批准。所有患者均签署知情同意书。

二、病例来源

自2008年3月至2015年3月,122例对伊马替尼耐药或对伊马替尼与尼洛替尼均耐药的各期Ph^+CML患者,持续接受达沙替尼治疗。CML分期采用MDACC标准[8]。伊马替尼耐药的定义参见文献[8]。尼洛替尼作为伊马替尼耐药患者的二线治疗时,耐药定义采用欧洲白血病网(ELN)推荐中TKI作为二线治疗反应评估中的"治疗失败"[9]:①对于CP患者,尼洛替尼治疗3个月时未达完全血液学反应(CHR)或Ph^+细胞比例仍高于95%,治疗6个月时Ph^+细胞占66%~95%,治疗12个月时未达主要细胞遗传学反应(Ph^+细胞占1%~35%,MCyR),任何时间失去CHR、MCyR或完全细胞遗传学反应(Ph^+细胞为0,CCyR),出现新的对尼洛替尼不敏感的BCR-ABL激酶区突变,进展至AP或BP;②对于AP和BP患者:尼洛替尼治疗中,未能取得任何血液学反应(HR),失去血液学和细胞遗传学反应,或缓解后疾病再次进展为AP或BP。

所有患者在伊马替尼耐药并改换二代TKI前均接受BCR-ABL激酶区突变检测,以便合理选择用药。接受达沙替尼治疗的患者,除外含有对达沙替尼高度耐药的突变类型,包括T315I/A、F317L/V/C和V299L。患者无严重心、肺、肾脏、肝脏功能损害和不可控的感染,ECOG评分≤2分。

三、达沙替尼治疗

达沙替尼起始剂量:CP患者,100 mg/d,口服;AP和BP患者,140 mg/d,口服,分为1次或两次服用。治疗过程中,根据患者治疗反应、药物不良反应和(或)耐受情况调整达沙替尼剂量。治疗和观察截止时间为2015年5月31日。

四、达沙替尼治疗中的监测

1. 血液学:治疗的前3个月,每1~2周进行1次血细胞计数及血涂片分类检测,3个月后,每1~3个月进行1次检测。

2. 细胞遗传学:采用骨髓标本,G显带法,每3个月进行1次检测,直至达到CCyR,之后每年检测1~2次。

3. 分子学:实时定量PCR法检测BCR-ABL转录本水平,采用外周血或骨髓标本,以ABL为内参基因,ABL拷贝数至少32 000。BCR-ABL转录本

水平=BCR-ABL拷贝数/ABL拷贝数×100%，以国际标准化(IS)数值表达[12]。每3个月监测1次，获得主要分子学反应(MMR)后，每3~6个月监测1次。

五、突变分析

采用直接测序法检测BCR-ABL激酶区点突变[9]。检测时间为达沙替尼治疗前和治疗中出现治疗失败时。达沙替尼治疗失败的定义同ELN推荐中TKI作为二线治疗反应评估标准的“治疗失败”[9]。

六、评估指标

1. 主要终点：评估达沙替尼治疗中的反应，包括CP患者的细胞遗传学反应(MCyR和CCyR)和AP或BP患者的血液学反应(HR和CHR)，评估标准见文献[8-10]。

2. 次要终点：①评估达沙替尼治疗期间CP患者的血液学和分子学反应[MMR和MR4.5(ABL>32 000时，BCR-ABL<0.0032%或检测不到)]，AP或BP患者的细胞遗传学和分子学反应，评估标准见文献[8-10，13]。②评估达沙替尼治疗期间的治疗失败发生率，评估标准见文献[8-9]。③评估达沙替尼治疗期间无疾病进展生存(PFS)期和总生存(OS)期。PFS期定义为获得HR患者从达沙替尼治疗开始至疾病进展至AP或BP、任何原因所致的死亡、接受异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)或末次随访的时间。OS期定义为达沙替尼治疗开始至任何原因死亡或末次随访的时间。④评估出现达沙替尼临床耐药时BCR-ABL激酶区突变的情况。

七、统计学处理

所有统计学分析采用SPSS 22.0软件进行。治疗反应、治疗失败和发生突变的比例采用累积获得率表示。采用Kaplan-Meier曲线计算PFS和OS，以Log-rank分析比较不同组别PFS和OS的差异。$P \leq 0.05$定义为差异具有统计学意义。

结　果

1. 患者基本资料：自2008年3月至2015年5月，共入组122例患者，达沙替尼治疗前患者特征见表1。男74例，女48例，其中CP 55例，AP 21例，BP 46例。83例(68.0%)患者对伊马替尼耐药，39例(32.0%)对伊马替尼与尼洛替尼均耐药。多数患者曾接受过TKI以外的其他治疗，包括羟基脲97例(79.5%)，干扰素38例(33.0%)，阿糖胞苷20例(16.8%)，allo-HSCT 5例(4.1%)。所有患者在达沙替尼治疗前均进行了BCR-ABL突变检测，53例(43.4%)未检出突变，69例(56.6%)检出突变，发生率较高的依次为Y253H 24例(19.6%)、F359V 10例

表1 122例伊马替尼耐药的慢性髓性白血病(CML)患者达沙替尼治疗前特征

特征	慢性期(55例)	加速期(21例)	急变期(46例)
年龄[岁，*M*(范围)]	44(15~70)	43(10~69)	34(12~80)
性别(例，男/女)	32/23	11/10	31/15
伊马替尼治疗前疾病分期[例(%)]			
慢性期	48(87.3)	11(52.4)	20(43.5)
加速期	4(7.3)	8(38.1)	6(13.0)
急变期	3(5.5)	2(9.5)	20(43.5)
确诊CML至开始伊马替尼治疗时间[月，*M*(范围)]	11(0~136)	23(0~159)	4.5(0~220)
伊马替尼治疗时间[月，*M*(范围)]	20(1~83)	22(2~79)	6.5(1~71)
伊马替尼治疗最高剂量[例(%)]			
400 mg	32(58.2)	8(38.1)	18(39.1)
>400 mg	23(41.8)	13(61.9)	28(60.9)
伊马替尼最佳疗效[例(%)]			
完全血液学反应	42(76.4)	17(81.0)	27(58.7)
主要细胞遗传学反应	10(18.2)	6(28.6)	11(23.9)
完全细胞遗传学反应	4(7.3)	3(14.3)	9(19.6)
曾接受尼洛替尼治疗[例(%)]	15(27.3)	14(66.7)	10(21.7)
确诊CML至开始达沙替尼治疗时间[月，*M*(范围)]	47(3~215)	54(4~238)	18(3~240)
达沙替尼治疗前BCR-ABL激酶区突变[例(%)]	29(52.7)	19(90.5)	21(45.7)
Ph阳性细胞克隆演变[例(%)]	15(27.3)	8(38.1)	22(47.8)

(8.2%)和G250E 5例(4.1%)(表2)。

表2　122例伊马替尼耐药的慢性髓性白血病患者达沙替尼治疗前突变情况

突变状态	例数(%)	突变状态	例数(%)
无突变	53(43.4)	V379I	1(0.8)
M244V	5(4.1)	L384M	1(0.8)
L248V	2(1.6)	H396P	1(0.8)
G250E	4(3.3)	H396R	2(1.6)
Y253H	19(15.6)	E450G	1(0.8)
Y253F	2(1.6)	E459K	1(0.8)
E255K	4(3.3)	Y253H+M244V	1(0.8)
E255V	2(1.6)	Y253H+L248V	1(0.8)
L298V	1(0.8)	Y253H+Y253F	2(1.6)
F311L	1(0.8)	Y253H+F359V	1(0.8)
M351T	4(3.3)	F359V+M351T	1(0.8)
E355G	1(0.8)	E255K+E255V	1(0.8)
F359C	1(0.8)	G250E+F359C	1(0.8)
F359V	8(6.6)		

2. 达沙替尼治疗反应:达沙替尼起始剂量:CP患者中49例(89.1%)以100 mg/d为起始剂量,AP和BP患者中,23例(34.3%)因达沙替尼治疗前血细胞计数偏低而以100 mg/d为起始剂量,44例(65.7%)为140 mg/d。CP、AP和BP存活患者中位随访时间分别为26(3~84)、22(4~84)和8(1~70)个月。所有患者均评估了血液学治疗反应,进展期患者,尤其是BP患者,多于获得HR后3个月内接受allo-HSCT或早期死亡,因此仅部分患者进行细胞遗传学与分子学评估。观察期内各期患者累计获得的血液学、细胞遗传学和分子学反应见表3。在各期患者中,达沙替尼作为二线TKI与作为三线TKI相比,治疗反应差异无统计学意义(P值均>0.05)。CP、AP和BP患者分别有3、4和17例于达沙替尼治疗失败后进行allo-HSCT。

3. 治疗失败、疾病进展与生存:观察期内,CP患者中,32例(41.8%)治疗失败,其中7例(13.5%)疾病进展至AP或BP。4例(7.3%)死亡,其中2例为移植后死亡,包括死于移植后复发和移植相关并发症各1例。中位PFS与OS期未达到,4年PFS和OS率分别为84.4%和89.5%。AP患者中,13例(61.9%)治疗失败,其中7例(41.2%)在获得HR后进展至AP或BP。6例(28.6%)死亡,其中2例为移植后死亡,包括死于移植后复发和移植相关并发症各1例。中位PFS期为48个月,中位OS期未达到,3年PFS和OS率分别为56.1%和59.3%。BP患者中,31例(67.4%)患者治疗失败,其中15例(48.4%)疾病缓解后再次急变。19例(41.3%)死亡,其中4例为移植后死亡,除1例患者进行二次移植后死亡外,其余3例患者均死于移植相关并发症。中位PFS和OS期分别为10和23个月,12个月PFS和OS率分别为43.6%和61.8%。各期患者的疾病进展和生存情况见图1。

将患者达沙替尼治疗前所有基线特征(表1中所示项目)与PFS和OS进行单因素分析显示,伊马替尼和达沙替尼治疗前患者的疾病分期(CP、AP、BP)、达沙替尼初始剂量与患者PFS及OS相关(P值均<0.05)。多因素分析显示,达沙替尼治疗前疾病分期是影响PFS(P<0.001,RR=3.659,95%CI 2.091~6.401)和OS(P=0.002,RR=2.959,95%CI 1.5~5.836)的唯一独立预后因素。

表3　122例伊马替尼(IM)耐药的慢性髓性白血病(CML)患者达沙替尼治疗反应[例(%)]

组别	例数	HR	CHR	MCyR	CCyR	MMR	MR4.5
慢性期	55	52(94.5)	51(92.7)	32(59.3)	29(53.7)	16(29.6)	8(14.8)
IM耐药	40	38(95.0)	37(92.5)	26(65.0)	23(57.5)	11(27.5)	6(15.0)
IM+尼洛替尼耐药	15	14(93.3)	14(93.3)	6(42.9)	6(42.9)	5(35.7)	2(13.3)
加速期	21	17(81.0)	15(71.4)	8(40.0)	7(35.0)	4(20.0)	3(15.0)
IM耐药	7	7(100.0)	7(100.0)	3(42.9)	2(28.6)	1(14.3)	1(14.3)
IM+尼洛替尼耐药	14	10(71.4)	8(57.1)	5(38.5)	5(38.5)	3(23.1)	2(15.4)
急变期	46	29(63.0)	22(47.8)	12(29.3)	9(21.4)	4(9.5)	1(2.4)
IM耐药	36	23(63.9)	16(44.4)	8(25.0)	7(21.9)	4(12.5)	1(3.1)
IM+尼洛替尼耐药	10	6(60.0)	6(60.0)	4(40.0)	2(20.0)	0	0

注:所有患者均接受血液学评估;细胞遗传学和分子学评估:慢性期患者54例,加速期患者20例,急变期患者42例。HR:血液学反应;CHR:完全血液学反应;MCyR:主要细胞遗传学反应;CCyR:完全细胞遗传学反应;MMR:主要分子学反应;MR4.5指当ABL > 32 000时,BCR-ABL < 0.0032%或检测不到

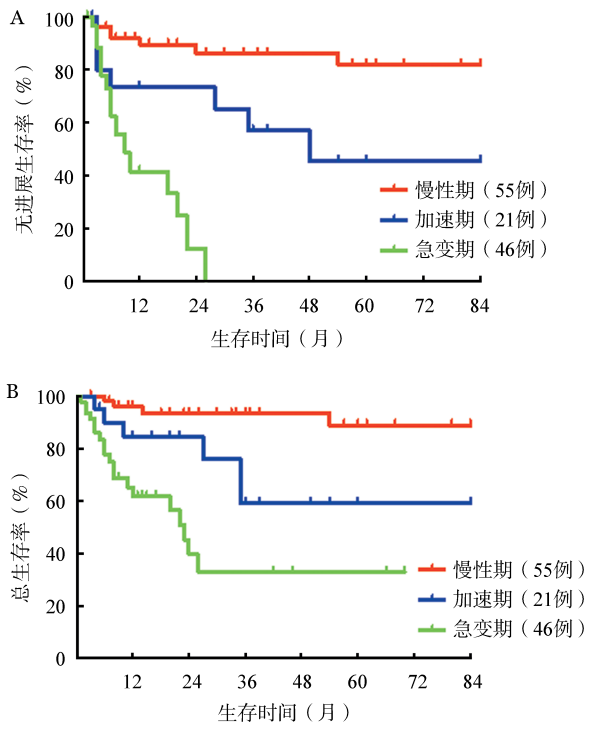

图1 122例伊马替尼耐药的慢性髓性白血病患者达沙替尼治疗中的疾病无进展生存(A)和总生存曲线(B)

4. 达沙替尼治疗前的突变状况与治疗结果和新突变：各期患者中，达沙替尼治疗前是否检出BCR-ABL突变不影响达沙替尼治疗中的血液学、细胞遗传学和分子学反应，也不影响发生治疗失败、PFS与OS（P值均>0.05）。在76例达沙替尼治疗失败的患者中，37例（48.7%）检出新突变，包括达沙替尼治疗前41例无突变患者中的14例（34.1%）和35例有突变患者中的23例（65.7%）。35例达沙替尼治疗前有突变的患者中，17例（48.6%）原有突变消失，代之以新突变，其余18例均在原有突变存在的基础上出现了新突变。新突变的中位检出时间为达沙替尼用药3（1~24）个月时。37例检出新突变的患者中，34例（91.9%）检出了1种突变类型，3例（8.1%）同时或先后检出2种或2种以上新突变。新突变中，T315I最多见，为22例（59.5%），其次为F317L 5例（13.5%）、V299L 4例（10.8%）、E255K 2例（5.4%）、F317I 1例（2.7%）、F359I 1例（2.7%）。

分析76例达沙替尼治疗失败患者发生新突变与达沙替尼治疗前基线特征和治疗中疗效的关系，结果显示新突变的发生仅与达沙替尼治疗前的突变状态相关，即达沙替尼治疗前具有突变的患者当出现达沙替尼治疗失败时，发生新突变的比例显著高于达沙替尼治疗前无突变的患者，分别为65.7%（23/35例）和34.1%（14/41例）（P=0.006）。

讨　论

我们报道了122例伊马替尼耐药或伊马替尼与尼洛替尼均耐药的CML各期患者，以达沙替尼作为二线或三线治疗的结果。CP患者90%以上获得CHR，超过半数者获得CCyR，约30%获得MMR，4年PFS率和OS率分别为84.4%和89.5%；AP患者超过80%获得HR，30%以上者获得CCyR，3年PFS率和OS率接近60%；BP患者超过60%获得HR，20%获得CCyR，1年PFS率和OS率分别为43.6%和61.8%。达沙替尼治疗前疾病分期是影响患者PFS与OS的独立因素。当出现达沙替尼治疗失败时，近半数患者发生新突变，T315I占近60%。达沙替尼治疗前的突变状态不影响达沙替尼的治疗反应和生存情况，但当出现达沙替尼治疗失败时，达沙替尼治疗前具有突变的患者发生新突变的可能性显著增加。

全球多中心临床试验显示达沙替尼用于伊马替尼耐药和不耐受的CML患者，CP患者予以达沙替尼100~140 mg/d，CHR率为86%~92%，CCyR率为41%~45%，6年PFS率和OS率分别为40%~51%和70%~77%[1-2]；进展期患者予以达沙替尼140 mg/d，AP患者HR率为66%~68%，CCyR率为32%~33%，2年PFS与OS率分别为52%~57%和78%~84%[3]，BP患者HR率为28%~42%，2年OS率为24%[4]。值得注意的是，上述既往研究与本研究有以下不同之处：①既往研究中的患者均包括了伊马替尼耐药和不耐受的患者，这些研究也显示伊马替尼不耐受患者对达沙替尼的治疗反应明显优于耐药患者。而本研究仅纳入了伊马替尼耐药的患者，剔除了预后相对较好的“伊马替尼不耐受”人群。②既往研究中的患者仅经历过伊马替尼失败，是以达沙替尼作为二线TKI治疗。而本研究的人群中包括了近1/3对两种TKI耐药的患者，即将达沙替尼作为三线TKI治疗药物。这两点区别提示，本研究的患者治疗前的疾病状况可能差于既往研究，不利于获得良好疗效。③既往研究中，患者在接受达沙替尼治疗前并非均进行了BCR-ABL突变检测，即包含了具有对达沙替尼不敏感BCR-ABL突变的患者，这势必将影响达沙替尼的治疗结果。而本研究除外了含达沙替尼高度耐药突变类型的患者，即选

择达沙替尼是BCR-ABL突变检测结果指导下的规范治疗。本研究的结果与国外报道相近，甚至AP和BP患者获得HR的比例高于文献[3-4]，分析可能与我们进行了BCR-ABL突变筛查以利正确选用达沙替尼抵消了患者疾病状态相对较差所带来的不利有关。我们以往的研究显示，伊马替尼治疗失败时处于进展期的患者发生BCR-ABL突变的比例明显高于CP患者[7]。所以，如果忽略突变检测，存在对达沙替尼高度耐药突变的患者必将降低达沙替尼治疗的有效性。提示更换二代TKI前BCR-ABL突变检测不容忽视。

目前，伊马替尼是唯一在中国获得批准的一线CML适应证的TKI，尽管达沙替尼和尼洛替尼均被批准为二线TKI，但由于受经济能力、患者援助项目和医保政策等因素的限制，不少患者会在伊马替尼耐药后优先选择尼洛替尼，而将达沙替尼作为三线TKI。Ibrahim等[6]的研究结果显示，达沙替尼和尼洛替尼作为三线TKI用于26例曾经对2种TKI失败的CP患者，CCyR和MMR率分别为32.4%和21.1%。这一结果似乎低于二代TKI作为二线TKI用于伊马替尼失败患者的反应[1-2]，但该研究例数较少，而且未区分达沙替尼和尼洛替尼的反应。而本研究结果显示，达沙替尼即使作为三线TKI，也可获得与作为二线TKI相近的治疗反应，而且不论任何疾病分期。尽管这一结果尚需更大病例数和更长时间的追踪确认，但也为中国伊马替尼治疗失败CML患者的TKI选择提供了循证医学证据。

Müller等[14]的研究显示，伊马替尼耐药的CP患者接受二代TKI治疗时，基线是否存在突变不影响治疗反应。然而，Soverini等[15]发现，伊马替尼治疗失败的CML患者采用达沙替尼或尼洛替尼作为二线或三线TKI治疗，当丧失疗效时，基线具有BCR-ABL突变的患者较无突变的患者更易于发生新突变。本研究也得到了同样结果。本研究组另一项研究显示，达沙替尼治疗前含尼洛替尼高度耐药突变类型（如Y253H和F359V）的患者与具有其他类型突变的患者相比，更易在达沙替尼耐药时发生新突变[16]。即在达沙替尼治疗中，并非所有具有基线突变的患者在达沙替尼耐药时均易发生新突变，仅具有某些特殊突变类型的患者存在遗传学的不稳定性。Soverini等[17]的另一项研究很好地展示了TKI序贯治疗中新突变的产生过程：采用高敏感的超深度测序（又称二代测序，敏感度为1%）技术检测某一种TKI治疗失败的患者，可以发现常规DNA直接测序法（Sanger测序，敏感度仅为15%~20%）不能检出的、低估或误检的低水平BCR-ABL突变（1%~15%），并可检出更多的复合突变。而且，某些类型的复合突变克隆较单一突变克隆更具生长优势。当根据Sanger测序结果（常为无突变或一种类型的突变）选择并接受另一种TKI治疗时，敏感的优势克隆被抑制，但低水平、不敏感的突变克隆或复合突变克隆逐渐扩增最终导致临床耐药，此时可被Sanger测序法所识别，从而被筛选出来。此外，新突变可源于基线无突变或有复合突变的克隆。这项研究提示，Sanger测序法检测证实为具有某种类型单一突变的患者，可能具有低水平的、对所选TKI不敏感的多种突变或复合突变克隆，后者在TKI治疗中增殖，逐渐导致新突变的发生。

本研究结果还显示，当发生达沙替尼耐药时，新突变中T315I约占60%。因具有T315I突变的克隆对中国现有的TKI均不敏感，患者预后较差，根据CML治疗指南，宜更换为allo-HSCT、三代TKI或干扰素α治疗[9-10]。提示应重视在达沙替尼治疗前的BCR-ABL突变筛查和治疗中的突变监测，对于基线具有突变的患者，应更多考虑一旦发生达沙替尼耐药时的其他备选措施。近年，二代测序技术是CML突变监测领域探索的热点之一。Machova Polakova等[18]发现，二代测序技术可以在传统的Sanger测序检出突变前2~11个月发现突变，并可在获得MMR甚至深层分子学反应的患者中检测到突变的存在，体现了二代测序技术的高度敏感性，有利于TKI治疗中的突变监测。预计在不久的将来，二代测序技术将为CML的监测带来革命性的变化。

本研究的局限包括：①病例数相对较少，无法在各期患者中分析影响预后的因素；②因为进展期患者多在达沙替尼治疗获得HR后短期内接受了移植，所以针对进展期患者的细胞遗传学和分子学反应以及预后的评估存在缺陷。

本研究证实，达沙替尼作为二线或三线TKI治疗伊马替尼耐药的CML各期患者，可获得确切的治疗反应，CP和AP患者疗效持久。强调达沙替尼治疗前BCR-ABL突变筛查及治疗中突变监测的重要性，期待二代测序技术为未来CML的精准治疗提供更多信息和支持。

参考文献

[1] Shah NP, Kantarjian HM, Kim DW, et al. Intermittent target inhibition with dasatinib 100 mg once daily preserves efficacy

and improves tolerability in imatinib-resistant and-intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia［J］. J Clin Oncol, 2008, 26(19):3204-3212. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9260.

［2］ Shah NP, Guilhot F, Cortes JE, et al. Long-term outcome with dasatinib after imatinib failure in chronic-phase chronic myeloid leukemia: follow-up of a phase 3 study［J］. Blood, 2014, 123(15):2317-2324. doi: 10.1182/blood-2013-10-532341.

［3］ Kantarjian H, Cortes J, Kim DW, et al. Phase 3 study of dasatinib 140 mg once daily versus 70 mg twice daily in patients with chronic myeloid leukemia in accelerated phase resistant or intolerant to imatinib: 15-month median follow-up［J］. Blood, 2009, 113(25):6322-6329. doi: 10.1182/blood-2008-11-186817.

［4］ Saglio G, Hochhaus A, Goh YT, et al. Dasatinib in imatinib-resistant or imatinib-intolerant chronic myeloid leukemia in blast phase after 2 years of follow-up in a phase 3 study: efficacy and tolerability of 140 milligrams once daily and 70 milligrams twice daily［J］. Cancer, 2010, 116(16):3852-3861. doi: 10.1002/cncr.25123.

［5］ Kantarjian HM, Giles FJ, Bhalla KN, et al. Nilotinib is effective in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase after imatinib resistance or intolerance: 24-month follow-up results［J］. Blood, 2011, 117(4):1141-1145. doi: 10.1182/blood-2010-03-277152.

［6］ Ibrahim AR, Paliompeis C, Bua M, et al. Efficacy of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) as third-line therapy in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase who have failed 2 prior lines of TKI therapy［J］. Blood, 2010, 116(25):5497-5500. doi: 10.1182/blood-2010-06-291922.

［7］ Qin Y, Chen S, Jiang B, et al. Characteristics of BCR-ABL kinase domain point mutations in Chinese imatinib-resistant chronic myeloid leukemia patients［J］. Ann Hematol, 2011, 90(1):47-52. doi: 10.1007/s00277-010-1039-5.

［8］ Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet［J］. J Clin Oncol, 2009, 27(35):6041-6051. doi: 10.1200/JCO.2009.25.0779.

［9］ Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013［J］. Blood, 2013, 122(6):872-884. doi: 10.1182/blood-2013-05-501569.

［10］ 中华医学会血液学分会实验诊断学组、中国慢性髓性白血病联盟专家组. 中国慢性髓性白血病诊疗监测规范(2014年版)［J］. 中华血液学杂志, 2014, 35(8):781-782. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.08.030.

［11］ 黄晓军, 胡建达, 李建勇, 等. 达沙替尼对中国慢性髓性白血病伊马替尼耐药或不耐受患者疗效及安全性研究［J］. 中华血液学杂志, 2012, 33(11):889-895. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.11.001.

［12］ Qin YZ, Jiang Q, Jiang H, et al. Which method better evaluates the molecular response in newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia patients with imatinib treatment, BCR-ABL(IS) or log reduction from the baseline level?［J］. Leuk Res, 2013, 37(9): 1035-1040. doi: 10.1016/j.leukres.2013.06.003.

［13］ 江倩. 获得深层分子学反应:慢性髓性白血病治疗的新目标?［J］. 中华血液学杂志, 2014, 35(2):176-179. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.027.

［14］ Müller MC, Cortes JE, Kim DW, et al. Dasatinib treatment of chronic-phase chronic myeloid leukemia: analysis of responses according to preexisting BCR-ABL mutations［J］. Blood, 2009, 114(24):4944-4953. doi: 10.1182/blood-2009-04-214221.

［15］ Soverini S, Gnani A, Colarossi S, et al. Philadelphia-positive patients who already harbor imatinib-resistant Bcr-Abl kinase domain mutations have a higher likelihood of developing additional mutations associated with resistance to second- or third-line tyrosine kinase inhibitors［J］. Blood, 2009,114(10):2168-2171. doi: 10.1182/blood-2009-01-197186.

［16］ Jiang Q, Qin YZ, Lai YY, et al. Patients with Philadelphia-positive leukemia with Y253H or F359V mutation have a high risk of developing new mutations in the setting of dasatinib resistance［J］. Leuk Lymphoma, 2015, 56(7):2075-2081. doi: 10.3109/10428194.2014.982639.

［17］ Soverini S, De Benedittis C, Machova Polakova K, et al. Unraveling the complexity of tyrosine kinase inhibitor-resistant populations by ultra-deep sequencing of the BCR-ABL kinase domain［J］. Blood, 2013,122(9):1634-1648. doi: 10.1182/blood-2013-03-487728.

［18］ Machova Polakova K, Kulvait V, Benesova A, et al. Next-generation deep sequencing improves detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations emerging under tyrosine kinase inhibitor treatment of chronic myeloid leukemia patients in chronic phase［J］. J Cancer Res Clin Oncol, 2015, 141(5):887-899. doi: 10.1007/s00432-014-1845-6.

(收稿日期:2015-10-12)
(本文编辑:王叶青)