

伴T315I突变的Ph⁺急性淋巴细胞白血病和慢性髓性白血病的特征及疗效比较

王娟 张龔莉 祖璿玲 李珍 李梦娟 宋永平

【摘要】 目的 分析伴T315I突变的Ph染色体阳性急性淋巴细胞白血病(Ph⁺ ALL)和慢性髓性白血病(CML)的特征及疗效。方法 收集2014年3月至2015年6月于郑州大学附属肿瘤医院行ABL激酶区突变检测并对酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药的23例Ph⁺ ALL患者和95例CML患者的临床资料。采用R显带法进行染色体分析,实时定量PCR方法检测BCR-ABL融合基因,TRIzol法提取总RNA,直接测序法检测ABL激酶区突变。结果 ABL激酶区突变发生率在TKI耐药Ph⁺ ALL和CML中分别为60.9%(14/23)、41.1%(39/95),其中T315I突变发生率分别为34.8%(8/23)和5.3%(5/95),差异具有统计学意义($\chi^2=13.586, P<0.01$)。CML慢性期患者ABL激酶区突变发生率为38.8%(19/49),加速期、急变期分别为47.1%(8/17)、41.4%(12/29),差异无统计学意义($\chi^2=0.360, P=0.835$)。Ph⁺ ALL、CML患者自开始TKI治疗至发生T315I突变的中位时间分别为10和19个月,T315I突变发生至死亡或随访终止的中位时间分别为2和3个月,中位血液学缓解持续时间分别为10和16个月,中位总生存时间分别为13和42个月。结论 Ph⁺ ALL较CML更易出现T315I突变,但两者自开始TKI治疗至发生T315I突变的中位时间相近,在现有方案治疗下,两者血液学缓解持续时间、总生存时间相近。

【关键词】 白血病,淋巴样; 白血病,髓系,慢性,BCR-ABL阳性; 费城染色体; T315I突变
基金项目:国家自然科学基金(81470287)

Characteristics and clinical outcome of T315I mutation in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia and chronic myeloid leukemia Wang Juan, Zhang Yanli, Zu Yingling, Li Zhen, Li Mengjuan, Song Yongping. Department of Hematology, Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China

Corresponding author: Song Yongping, Email: songyongping@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate the characteristics and clinical outcome of T315I mutation in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia(Ph⁺ ALL) and chronic myeloid leukemia (CML). **Methods** The clinical data of 118 tyrosine kinase inhibitors (TKIs) resistant Ph⁺ ALL and CML cases who were detected ABL kinase domain mutation in Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University from March 2014 to June 2015 were collected. Karyotypes and BCR - ABL fusion gene were analyzed respectively by R-banding, real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR). Total RNA was extracted by TRIzol reagent and ABL kinase domain mutation was detected by direct sequencing. **Results** In 23 TKIs resistant Ph⁺ ALL and 95 CML cases, the rate of ABL kinase domain mutation was 60.9%(14/23) and 41.1%(39/95), respectively, and the rate of T315I mutation was respectively 34.8% vs 5.3%, the difference was significant ($\chi^2=13.586, P<0.01$). The rate of mutations in chronic phase/accelerate phase/blast crisis CML patients was 38.8%(19/49), 47.1%(8/17) and 41.4%(12/29), respectively, and there was no significant difference ($\chi^2=0.360, P=0.835$). In Ph⁺ ALL and CML patients, the median time from the beginning of TKI therapy to appearance of T315I mutation was 10 months and 19 months, the median time from the appearance of T315I to death/deadline was 2 months and 3 months, the median time of persistent hematologic response was 10 months and 16 months and the median time of overall survival (OS) was 13 months and 42 months. **Conclusion** T315I mutation was more easily occurred in Ph⁺ ALL than CML, but two diseases are similar in the median time from the beginning of TKI therapy to appearance of T315I, the median time of persistent hematologic response and OS.

【Key words】 Leukemia, lymphoblastic; Leukemia, myeloid, chronic, BCR- ABL positive; Philadelphia chromosome; T315I mutation

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81470287)

甲磺酸伊马替尼(Imatinib mesylate, IM)的广泛应用,大大延长了Ph染色体阳性急性淋巴细胞白血病(Ph⁺ ALL)和慢性髓性白血病(CML)患者的总体生存(OS)时间,但仍有部分患者因ABL激酶区突变出现IM耐药,其中T315I突变对一、二代酪氨酸激酶抑制剂(TKI)均耐药^[1],改善T315I突变患者的预后成了临床医师的难题。我们收集118例患者的资料,分析T315I突变在TKI耐药Ph⁺ ALL和CML患者中的发生情况及伴T315I突变患者的疗效,为临床治疗提供帮助。

病例与方法

1. 病例来源:郑州大学附属肿瘤医院2014年3月至2015年6月行ABL激酶区突变检测的118例TKI耐药患者,其中Ph⁺ALL 23例,CML 95例(慢性期、加速期、急变期分别为49、17、29例)。

2. 诊断、TKI耐药前治疗及疗效标准:所有患者初诊时均行血常规、细胞形态学、细胞遗传学、分子生物学等实验室检查明确诊断,每隔3~6个月进行复查。耐药前TKI应用剂量为IM 400 mg,每日1次,达沙替尼100 mg,每日1次。治疗过程中发现TKI耐药时,检测ABL激酶区突变。Ph⁺ALL和CML的诊断、治疗及疗效标准参考文献[2-3]。TKI耐药定义参照文献[3]IM治疗CML慢性期患者治疗反应评估中的“治疗失败”。

3. 染色体分析、BCR-ABL转录本及ABL激酶区突变的检测:染色体标本行R显带分析,核型异常识别和描述参照《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2009)》;应用实时定量PCR检测BCR-ABL转录本,敏感度为10⁻⁴~10⁻⁵;TRIZOL法提取标本中总RNA,经逆转录酶逆转成cDNA,通过扩增、电泳鉴定后,利用一代测序仪对PCR产物进行测序,检测ABL激酶区突变情况。

4. 随访:通过门诊、电话等方式进行随访,随访截止时间为2015年7月31日,随访内容包括疾病缓解状态、白血病是否复发及存活情况等。

5. 统计学处理:采用SPSS17.0软件进行统计学分析。运用 χ^2 检验进行率的比较,T315I突变发生时间、生存分析采用Kaplan-Meier法。 $P<0.05$ 为差异

有统计学意义。

结 果

1. ABL激酶区突变情况及T315I突变发生情况比较:23例TKI耐药的Ph⁺ALL患者中,14例(60.9%)发生ABL激酶区突变,分别为T315I 8例,E255V、F317I各2例,E255K和F317L各1例;95例TKI耐药的CML患者中,39例(41.1%)发生ABL激酶区突变45例次,分别为E255K 6例,T315I、Y253H各5例,M244V 4例,Y253H、F317L、F359V各3例,M351T、Q252H各2例,余G250E、E255V、T345S、F359C、V379L、M388L、H396R、E416S、M437V、S438C、L452L、E459K各1例。CML慢性期患者ABL激酶区突变发生率为38.8%(19/49),加速期、急变期分别为47.1%(8/17)、41.4%(12/29),差异无统计学意义($\chi^2=0.360, P=0.835$)。在TKI耐药的Ph⁺ALL和CML患者中,T315I突变发生率分别为34.8%(8/23)和5.3%(5/95),差异有统计学意义($\chi^2=13.586, P<0.01$);在发生ABL激酶区突变患者中,T315I突变发生率分别为57.1%(8/14)和12.8%(5/39),差异有统计学意义($\chi^2=8.669, P<0.05$)。分析T315I突变发生时间,结果显示Ph⁺ALL和CML患者自开始TKI治疗至发生T315I突变的中位时间分别为10和19个月。

2. 初诊时伴附加染色体异常的Ph⁺ALL和CML患者中T315I突变的比较:14例伴ABL激酶区突变的Ph⁺ALL患者中4例伴附加染色体异常,其中3例(75.0%)发生T315I突变;在10例染色体为单纯t(9;22)患者中,5例(50.0%)发生T315I突变。在39例伴ABL激酶区突变的CML患者中,4例伴附加染色体异常,其中1例(25.0%)发生T315I突变,在35例染色体为单纯t(9;22)患者中,4例(11.4%)发生T315I突变。

3. T315I突变患者临床资料:13例T315I突变患者的主要临床资料见表1。T315I突变的8例Ph⁺ALL患者中,男6例,女2例,中位年龄27(8~59)岁;T315I突变的5例CML患者中,男2例,女3例,中位年龄44(36~51)岁。5例T315I突变CML患者中Sokal评分中危3例,高危2例。加速期2例,急变

期3例(急髓变2例,急淋变1例)。CML患者以BCR-ABL²¹⁰⁺为主,Ph⁺ALL患者以BCR-ABL¹⁹⁰⁺为主,各有1例为BCR-ABL^{190/210}双阳性。

4. T315I突变患者的治疗和转归:5例CML患者均行IM治疗,例1在进展至加速期时检测到T315I及F317L突变,换用尼洛替尼联合亚砷酸及干扰素,获得完全血液学反应(CHR);例2~例4发生急变后换用达沙替尼联合化疗,均获得CHR,复发时行ABL激酶区突变检测,均为T315I阳性,继续采用达沙替尼联合化疗,无明显疗效。例5加速期时检测到T315I突变,换用达沙替尼后获得CHR。至随访截止时,5例CML患者均死亡。Ph⁺ALL患者中例6~12均行IM联合化疗(例6、7复发后换用达沙替尼联合化疗),均获得CHR。再次复发时均检测到T315I突变,之后例6行非血缘异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),预处理方案为改良全身照射/环磷酰胺,至随访结束,仍处于完全分子生物学反应(CMR);例7、9行达沙替尼联合化疗,未见明显疗效;例8、例10~12因经济原因继续采用IM联合化疗,仅例12达CHR。例13在确诊时已检测到T315I突变,行达沙替尼联合化疗,至随访截止时仍为未缓解(表2)。Ph⁺ALL、CML患者突变发生至死亡或随访终止的中位时间分别为2和3个月,中位血液学缓解持续时间分别为10和16个月,中位OS时间分别为13和42个月,由于例数太少,未进行统计学分析。

讨 论

TKI能特异性抑制BCR-ABL表达,阻断细胞信

号转导、抑制BCR-ABL阳性细胞增殖,并诱导细胞凋亡,使Ph⁺白血病的治疗进入了靶向治疗时代^[4-5]。TKI是治疗CML的首选药物,对于Ph⁺ALL患者,TKI联合化疗进行诱导、巩固以及未缓解者的挽救治疗,可使CHR率升至90%~100%^[6-7],但T315I突变的高危白血病患者疗效仍较差。

ABL激酶区突变是Ph⁺ALL和CML耐药、疾病复发、进展的最常见原因,约1/3 Ph⁺ALL患者初诊时已存在ABL激酶区突变的亚克隆,部分突变在TKI治疗的选择压力下出现,因此Ph⁺ALL复发时常伴ABL激酶区突变,尤其是接受过TKI治疗的患者^[8]。本研究中我们收集的TKI耐药Ph⁺ALL和CML患者中,ABL激酶区突变发生率分别为60.9%(14/23)、41.1%(39/95),其中T315I突变发生率为34.8%(8/23)、5.3%(5/95)。在ABL激酶区突变患者中,T315I发生率为57.1%(8/14)、12.8%(5/39),同文献报道^[9-10]类似。CML慢性期ABL激酶区突变发生率为38.8%(19/49),加速期、急变期分别为47.1%(8/17)、41.4%(12/29),差异无统计学意义($\chi^2=0.360, P=0.835$),与高冠论等^[9]的报道一致。8例T315I突变Ph⁺ALL患者中7例为TKI治疗中出现,1例为初诊时已存在。Ph⁺ALL患者自IM治疗至发生T315I突变的中位时间为10个月,短于CML的19个月,间接反映Ph⁺ALL患者在IM治疗过程中存在易耐药的特点。

Johansson等^[11]曾报道CML患者在Ph⁺基础上出现附加染色体异常,提示该基因组不稳定性增加,易出现疾病进展。Pfeifer等^[12]研究发现Ph⁺ALL恶性克隆性细胞的基因组高度不稳定、易发生突

表1 13例T315I突变患者的临床资料

例号	诊断	性别	年龄(岁)	就诊原因	WBC($\times 10^9/L$)	HGB(g/L)	PLT($\times 10^9/L$)	BCR-ABL类型
1	CML	女	51	脾大	125.14	104	124	210
2	CML	女	46	发热	132.68	100	1161	210
3	CML	男	44	发热	84.32	89	699	190/210
4	CML	女	36	脾大	12.43	88	673	210
5	CML	男	42	脾大	163.96	78	183	210
6	Ph ⁺ ALL	男	10	发热	46.57	145	50	190
7	Ph ⁺ ALL	男	59	紫癜	203.28	92	12	190
8	Ph ⁺ ALL	男	29	发热	132.39	81	25	190
9	Ph ⁺ ALL	男	25	乏力、出血	2.16	56	4	190
10	Ph ⁺ ALL	女	50	乏力	1.35	63	89	190
11	Ph ⁺ ALL	女	41	发热	83.72	88	99	190/210
12	Ph ⁺ ALL	男	19	白细胞高	188.31	108	257	210
13	Ph ⁺ ALL	男	8	发热	7.83	71	15	190

注:CML:慢性髓性白血病;Ph⁺ALL:Ph染色体阳性急性淋巴细胞白血病

表2 13例T315I突变患者的治疗和转归

例号	突变时TKI治疗及时间	最佳反应	突变后的治疗	缓解情况	突变至死亡/随访终止(月)	血液学缓解持续时间(月)	OS时间(月)
1	IM 9个月	CHR	尼洛替尼+As ₂ O ₃ +IFN	CHR	13	9	22
2	IM 6个月,达沙替尼12个月	CMR	达沙替尼+CAG+L-Asp+Dex+CAR-T	NR	5	16	42
3	IM 2个月,达沙替尼2个月	CMR	达沙替尼+HA	PHR	1	1	5
4	IM 23个月,达沙替尼11个月	CHR	达沙替尼+IFN	NR	1	62	75
5	IM 29个月	CMR	达沙替尼	CHR	3	53	58
6	IM 7个月,达沙替尼12个月	CMR	达沙替尼+allo-HSCT	CMR	10	8	31
7	IM 1个月,达沙替尼10个月	CMR	达沙替尼+VDLP	NR	2	11	13
8	IM 8个月	CMR	IM+CAG+L-Asp	NR	1	8	10
9	IM 7个月	CMR	达沙替尼+MA	NR	1	7	8
10	IM 10个月	CMR	IM+HA+IFN	NR	2	10	12
11	IM 6个月	CMR	IM+COAD	NR	5	6	11
12	IM 10个月	CHR	IM+Hyper-CVAD+COAD	CHR	3	11	14
13	IM 1个月		达沙替尼+VDLP	NR	1	0	1

注:TKI:酪氨酸激酶抑制剂;IM:甲磺酸伊马替尼;CMR:完全分子生物学反应;CHR:完全血液学反应;NR:未缓解;PHR:部分血液学反应;As₂O₃:三氧化二砷;IFN:干扰素;CAG:阿糖胞苷+阿克拉霉素+G-CSF;L-Asp:左旋门冬酰胺酶;Dex:地塞米松;CAR-T:嵌合抗原受体T细胞免疫疗法;HA:高三尖杉酯碱+阿糖胞苷;allo-HSCT:异基因造血干细胞移植;VDLP:长春新碱+柔红霉素+L-Asp+泼尼松;MA:米托蒽醌+阿糖胞苷;COAD:环磷酰胺+长春地辛+阿糖胞苷+地塞米松;Hyper-CVAD:环磷酰胺+长春新碱+多柔比星+地塞米松;OS:总生存

变。本研究分析了T315I突变发生与初诊时染色体核型的关系,发现在初诊时已存在附加染色体异常的ABL激酶区突变Ph⁺ALL患者中,T315I突变比例为75.0%,略高于单纯t(9;22)患者的50.0%;在CML患者中两者比例分别为25.0%、11.4%,但由于病例数较少,均未进行统计学分析。Soverini等^[13]曾报道部分Ph⁺ALL患者初诊时已存在T315I突变。本研究例13在初诊时已检测出T315I突变并伴有附加染色体异常,行达沙替尼联合化疗,至随访截止时仍未获得血液学反应。

allo-HSCT是目前治疗伴T315I突变白血病的重要方法,尤其是对早期患者(病程小于12个月)^[14],但受供者等多种因素限制,大部分T315I突变患者未行allo-HSCT。近期有研究表明三氧化二砷对T315I突变细胞株KBM5R有诱导凋亡作用^[15],同时有文献报道干扰素联合IM可以克服T315I突变,有助于患者获得长期分子生物学反应^[9],除此之外嵌合抗原受体T细胞免疫疗法对T315I突变患者亦显露出初步疗效。本研究例1行尼洛替尼联合干扰素治疗,突变消失,但1个月后再次进展,例2行嵌合抗原受体T细胞免疫疗法,例4行达沙替尼联合干扰素治疗,例10行IM联合干扰素治疗,但均为未缓解。另外,Cortes等^[16]采用单药高三尖杉酯碱治疗62例TKI治疗失败、合并T315I突变的CML患

者,77%的患者获得CHR,且治疗相对安全,其相关机制可能为高三尖杉酯碱能介导抗凋亡蛋白MCL-1的稳定性,进而促进肿瘤细胞的凋亡,且疗效发挥不受ABL激酶区突变的影响^[17-18]。除此之外,博纳替尼(Ponatinib)作为第三代TKI药物,能有效克服T315I突变介导的耐药^[19],Ⅱ期临床试验结果表明Ponatinib对伴T315I突变的CML、Ph⁺ALL患者显示出抗白血病作用^[20]。

Ph⁺ALL较CML更易出现T315I突变,但两者自开始TKI治疗至发生T315I突变的中位时间无明显差异。目前尚无其他已证实的有效治疗方法,待第三代TKI应用于临床后,伴T315I突变白血病患者的总体疗效可能将有所提高。

参考文献

- [1] Jabbour E, Cortes J, Kantarjian HM, et al. Allogeneic stem cell transplantation for patients with chronic myeloid leukemia and acute lymphocytic leukemia after Bcr-Abl kinase mutation-related imatinib failure[J]. Blood, 2006, 108(4): 1421-1423.
- [2] 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.
- [3] 中华医学会血液学分会.中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2013年版)[J].中华血液学杂志,2013,34(5):464-470.

- doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.05.021.
- [4] Savage DG, Antman KH. Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy[J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(9): 683-693.
- [5] Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344 (14): 1031-1037.
- [6] Ribera JM. Optimal approach to treatment of patients with Philadelphia chromosome- positive acute lymphoblastic leukemia: how to best use all the available tools [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(1): 21-27. doi: 10.3109/10428194.2012.708753.
- [7] Fielding AK. How I treat Philadelphia chromosome- positive acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2010, 116 (18): 3409-3417. doi: 10.1182/blood-2010-01-242750.
- [8] 王建祥. Ph染色体阳性急性淋巴细胞白血病的诊治[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35 (2): 98-99. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.005.
- [9] 高冠论, 许娜, 阴常欣, 等. 慢性髓性白血病患者ABL激酶区点突变及其与临床疗效的关系[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35 (8): 703-707. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.08.007.
- [10] 沈宏杰, 何军, 邱桥成, 等. ABL激酶区突变在中国汉族人群伊马替尼耐药Ph⁺急性淋巴细胞白血病与慢性髓性白血病患者中的分布及特点比较[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34 (1): 21-25. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.01.006.
- [11] Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia [J]. *Acta Haematol*, 2002, 107(2): 76-94.
- [12] Pfeifer H, Lange T, Wystub S, et al. Prevalence and dynamics of bcr- abl kinase domain mutations during imatinib treatment differ in patients with newly diagnosed and recurrent bcr- abl positive acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2012, 26 (7): 1475-1481. doi: 10.1038/leu.2012.5.
- [13] Soverini S, Vitale A, Poerio A, et al. Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia patients already harbor BCR- ABL kinase domain mutations at low levels at the time of diagnosis [J]. *Haematologica*, 2011, 96 (4): 552- 557. doi: 10.3324/haematol.2010.034173.
- [14] Velev N, Cortes J, Champlin R, et al. Stem cell transplantation for patients with chronic myeloid leukemia resistant to tyrosine kinase inhibitors with BCR-ABL kinase domain mutation T315I [J]. *Cancer*, 2010, 116 (15): 3631- 3637. doi: 10.1002/cncr.25092.
- [15] 李小丰, 李景贺, 王春红, 等. 三氧化二砷对T3151突变细胞株KBM5R的诱导凋亡作用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19 (3): 643-647.
- [16] Cortes J, Lipton JH, Rea D, et al. Phase 2 study of subcutaneous omacetaxine mepesuccinate after TKI failure in patients with chronic-phase CML with T315I mutation [J]. *Blood*, 2012, 120 (13): 2573-2580.
- [17] Quintas- Cardama A, Kantarjian H, Cortes J. Homoharringtonine, omacetaxine mepesuccinate, and chronic myeloid leukemia circa 2009 [J]. *Cancer*, 2009, 115 (23): 5382- 5393. doi: 10.1002/cncr.24601.
- [18] Wetzler M, Segal D. Omacetaxine as an anticancer therapeutic: what is old is new again [J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(1): 59-64.
- [19] O'hare T, Shakespeare WC, Zhu X, et al. AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16 (5): 401- 412. doi: 10.1016/j.ccr.2009.09.028.
- [20] Cortes JE, Kim DW, Pinilla- Ibarz J, et al. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369 (19): 1783- 1796. doi: 10.1056/NEJMoa1306494.

(收稿日期:2015-09-02)

(本文编辑:王叶青)

·读者·作者·编者·

关于非法网站冒用《中华血液学杂志》名义进行征稿的特别提醒

近期我们发现一些网站冒用《中华血液学杂志》名义征稿,并承诺“职称论文权威快速代发”。为此,本刊特别提醒各位作者,向《中华血液学杂志》投稿,一定要登录中华医学会官方网站首页(<http://www.cma.org.cn/>),进入“业务中心”,在“杂志社远程稿件管理系统”中投稿,或通过本刊官方网站(<http://www.hematoline.com>)进行投稿,以免造成不必要的损失。本刊编辑部联系电话:022-27304167。

本刊编辑部