

# CCLG-ALL-2008 方案治疗 ETV6-RUNX1 融合基因阳性儿童急性淋巴细胞白血病：单中心长期随访结果

刘芳 陈晓娟 郭晔 杨文钰 陈霞 张小燕 张然然 任媛媛 竺晓凡

中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)、实验血液学国家重点实验室、国家血液系统疾病临床医学研究中心

通信作者:竺晓凡,Email:xfzhu@ihcams.ac.cn

**【摘要】** 目的 分析CCLG-ALL-2008方案治疗ETV6-RUNX1融合基因阳性儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)的长期疗效及预后相关因素。方法 对2008年4月至2015年4月期间于中国医学科学院血液病医院儿童血液病诊疗中心接受CCLG-ALL-2008方案治疗的178例初诊ETV6-RUNX1阳性ALL患儿进行回顾性分析。结果 全部178例患儿中男100例,女78例,中位年龄4(1~13)岁,初诊中位WBC为 $9.46(1.25 \sim 239.83) \times 10^9/L$ 。中位随访时间为73.5(1~124)个月,3例在诱导化疗阶段死亡,1例于诱导化疗后失访,1个疗程诱导化疗完全缓解率为97.8%(174/178)。178例患儿中24例复发,累积复发率为15.9%,中位复发时间为35.5(1~62)个月,单纯骨髓复发占83.3%(20/24),晚期复发占79.2%(19/24),早期复发5例中1例存活,晚期复发19例中7例存活。ETV6-RUNX1阳性患儿的5年总生存(OS)率、无事件生存(EFS)率分别为(89.4±2.4)%、(82.1±6.9)%,预期10年OS率、EFS率分别为(88.6±2.5)%、(77.3±4.0)%。分析预后相关因素,单因素分析结果显示初诊中枢神经系统(CNS)2状态、泼尼松预处理反应不佳、高危组、诱导化疗第15天骨髓流式微小残留病(MRD)≥5%、第33天ETV6-RUNX1融合基因未转阴、第12周骨髓流式MRD≥ $1 \times 10^{-4}$ 以及第12周ETV6-RUNX1融合基因未转阴为生存相关预后不良因素。Cox模型多因素分析显示,诱导化疗第15天骨髓流式MRD≥5%( $P=0.033$ )、第12周ETV6-RUNX1融合基因未转阴( $P=0.045$ )为影响OS的独立预后不良因素;而初诊CNS2状态( $P=0.033$ )及第12周骨髓流式MRD≥ $1 \times 10^{-4}$ ( $P=0.010$ )则为影响EFS的独立预后不良因素。结论 CCLG-ALL-2008方案治疗ETV6-RUNX1阳性ALL患儿总体预后良好,初诊CNS2状态、诱导化疗第15天骨髓流式MRD≥5%、第12周ETV6-RUNX1未转阴及MRD≥ $1 \times 10^{-4}$ 者需要尽早强烈干预治疗。

**【关键词】** 白血病,淋巴细胞,急性; 儿童; ETV6-RUNX1融合基因; CCLG-ALL-2008方案; 预后

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81421002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.003

## Efficacy and prognostic factors of the chemotherapy regimen of CCLG-ALL-2008 on pediatric acute lymphoblastic leukemia with ETV6-RUNX1 rearrangement

Liu Fang, Chen Xiaojuan, Guo Ye, Yang Wenyu, Chen Xia, Zhang Xiaoyan, Zhang Ranran, Ren Yuanyuan, Zhu Xiaofan

State Key Laboratory of Experimental Hematology; National Clinical Research Center for Blood Diseases; Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Zhu Xiaofan, Email:xfzhu@ihcams.ac.cn

**【Abstract】 Objective** To evaluate the predictive role of ETV6-RUNX1 fusion gene in protocol CCLG-ALL-2008 as well as identify the prognostic factors that influence the outcome of ALL with ETV6-RUNX1 fusion gene. **Methods** One hundred and seventy-eight patients newly diagnosed with pediatric acute lymphoblastic leukemia with ETV6-RUNX1 rearrangement from April 2008 to April 2015 were enrolled in CCLG-ALL-2008. The follow up period ended in July 2018; we performed retrospective

analyses of their data to determine the efficacy of the regimen and the prognostic factors. **Results** The median age of the study population (178 pediatric patients), including 100 boys and 78 girls was 4 (1 - 13) y, and the median white blood cell count at diagnosis was  $9.46 (1.25 - 239.83) \times 10^9/L$ . Three patients died, and 1 was lost to follow up by the end of the first induction chemotherapy, resulting in an induced remission rate of 97.8% (174/178). The cumulative incidence of relapse was 15.9% with a median follow up of 73.5 mon. Total 83.3% of the relapse cases were those of isolated bone marrow relapse, while 79.2% of the cases were those of late relapse. The median interval time between relapse and first complete remission was 35.5 mon (range, 1 - 62 months). One of the 5 patients with early recurrence and 7 of the 19 with late recurrence cases survived. The 5-year-OS and 5-year-EFS of ETV6-RUNX1 positive children was  $(89.4 \pm 2.4)\%$  and  $(82.1 \pm 6.9)\%$ , respectively. The estimated 10-year-OS and 10-year-EFS of ETV6-RUNX1 positive children was  $(88.6 \pm 2.5)\%$  and  $(77.3 \pm 4.0)\%$ , respectively. The Kaplan-Meier method and Log-rank test were used to estimate and compare the survival. Univariate statistical analysis showed that poor prognostic factors that influenced survival included central nervous system state 2 at diagnosis, poor prednisone response, high risk, gene positivity after induction chemotherapy, as well as MRD positivity and gene positivity at the 12<sup>th</sup> week. In the multivariate analysis, only the central nervous system state 2 at diagnosis and MRD positivity at the 12<sup>th</sup> week were associated with the outcome. **Conclusion** ETV6-RUNX1-positive ALL is a subgroup with a favorable prognosis as per the CCLG-ALL-2008 protocol. Patients with ETV6-RUNX1 should be given more intensive therapy, including hematopoietic stem cell transplantation when they are CNS2 at diagnosis or have high level of MRD at the 12<sup>th</sup> week after treatment.

**【Key words】** Leukemia, lymphoblastic, acute; Pediatric; ETV6-RUNX1 rearrangement; CCLG-ALL-2008 protocol; Prognosis

**Fund program:** National Natural Science Fund of China(81421002)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.003

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童白血病中最常见的类型,其中ETV6-RUNX1融合基因伴随的t(12;21)(p13;q22)染色体异常被认为是儿童ALL中最常见的细胞遗传学异常,在不同国家或地区的儿童ALL中阳性率为20%~30%<sup>[1-3]</sup>,在我国不同地区总体儿童ALL中的阳性率为15%~25%<sup>[4-5]</sup>。ETV6-RUNX1融合基因通常被认为是预后良好的独立因素,美国Dana Farber癌症研究中心、St Jude's儿童医院、北欧NOPHO协作组、日本JACLS协作组的报告中,此亚型患儿的5年无事件生存(EFS)率分别为89%、92%、80%、94%<sup>[6-9]</sup>。尽管如此,仍有部分患儿出现疾病复发<sup>[10]</sup>,影响了整体预后,发现并优化此亚型患儿的危险度评估指标,从而及早干预,或可能进一步提高ETV6-RUNX1阳性患儿的生存率。本研究对本中心接受中国儿童白血病协作组(Chinese Children's Leukemia Group, CCLG)-ALL-2008方案<sup>[11]</sup>治疗的ETV6-RUNX1阳性儿童ALL患者进行回顾性分析。

## 病例与方法

### 一、病例

连续收集我中心2008年4月至2015年4月符合CCLG-ALL-2008方案入组标准并接受规范治疗的ETV6-RUNX1融合基因阳性的ALL患儿资料,

回顾性分析所有患儿初诊时的WBC、中枢神经系统(CNS)状态、白血病细胞免疫分型等临床特征,同时监测泼尼松预处理反应、诱导化疗第15天(D15)、诱导化疗第33天(D33)、巩固治疗开始前(第12周)骨髓微小残留病(MRD)及ETV6-RUNX1融合基因转阴情况,并进行随访及生存分析。

### 二、白血病相关检测及初诊时CNS状态的判定

白血病细胞免疫分型及MRD采用流式细胞术(FCM)检测,骨髓ETV6-RUNX1融合基因表达情况采用RT-PCR方法进行定性检测。

除脑脊液常规、脑脊液生化及常规细胞学检测法,本研究联合采用脑脊液FCM法检测并判定CNS状态。取新鲜脑脊液2 ml离心沉淀后,将沉淀的细胞分装到2支小试管内,然后根据患儿初诊时的免疫分型结果选择单克隆抗体,各取0.2 ml同时加入到试管中,室温避光反应15 min,加PBS至1 ml,上流式细胞仪检测。FCM阳性:①腰椎穿刺(腰穿)无损伤,脑脊液可检测出白血病细胞免疫表型;②腰穿有损伤、脑脊液混血,脑脊液中白血病细胞比例高于外周血幼稚细胞比例。FCM阴性:腰穿无损伤,脑脊液未检测出白血病细胞免疫表型或腰穿有损伤、脑脊液混血,脑脊液中白血病细胞比例低于外周血幼稚细胞比例。

### 三、治疗

所有患儿均参照CCLG-ALL-2008方案诊断标准,据诊断时年龄、WBC、免疫分型、细胞遗传学特征、早期治疗反应及MRD水平等指标进行危险度分组(低危组、中危组、高危组),依次进行诱导缓解、早期强化、巩固、延迟强化及维持治疗(表1),同时辅以腰穿鞘内注射<sup>[4,11]</sup>。

表1 CCLG-ALL-2008方案

方案	药品
诱导缓解	
VLDL方案	长春新碱、柔红霉素、门冬酰胺酶、地塞米松
早期强化	
CAM方案	环磷酰胺、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤
巩固治疗	
Mm方案	大剂量甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤
HR-1'	长春新碱、地塞米松、甲氨蝶呤、环磷酰胺、阿糖胞苷、门冬酰胺酶
HR-2'	长春新碱、地塞米松、甲氨蝶呤、异环磷酰胺、柔红霉素、门冬酰胺酶
HR-3'	地塞米松、阿糖胞苷、依托泊苷、门冬酰胺酶
延迟强化	
VLDL2方案	长春新碱、阿霉素、门冬酰胺酶、地塞米松
CAM方案	环磷酰胺、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤
维持治疗	甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、长春新碱、地塞米松、环磷酰胺(高危组)、阿糖胞苷(高危组)

#### 四、相关定义

1. 泼尼松预处理反应:①泼尼松反应良好:给予7d泼尼松治疗( $60\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ )后,外周血幼稚细胞 $<1\times 10^9/\text{L}$ 。②泼尼松反应不佳:给予7d泼尼松治疗后,外周血幼稚细胞 $\geq 1\times 10^9/\text{L}$ 。

2. CNS状态<sup>[4,11-12]</sup>:(1)CNS1:同时符合脑脊液中无白血病细胞且脑脊液FCM阴性、无CNS异常的临床表现、无CNS异常的影像学依据。(2)CNS2:符合以下任何1条:①腰穿无损伤时脑脊液常规检测WBC $\leq 5/\mu\text{l}$ 并见到明确的白血病细胞或脑脊液FCM阳性;②腰穿有损伤、脑脊液混血(红细胞:白细胞 $>100:1$ )时,脑脊液中见到明确的白血病细胞或FCM阳性;③腰穿有损伤并为血性脑脊液,如初诊WBC $\geq 50\times 10^9/\text{L}$ ,则归为CNS2。(3)CNS3(中枢神经系统白血病):符合以下任何1条可诊断:①脑脊液WBC $> 5/\mu\text{l}$ ,并以白血病细胞为主,同时红细胞:白细胞 $\leq 100:1$ ;或脑脊液WBC $> 5/\mu\text{l}$ ,其中白血病细胞比例高于外周血幼稚细胞百分比;或脑脊液WBC $> 5/\mu\text{l}$ ,且FCM阳性。②颅神经麻痹。③CT/MRI显示脑或脑膜病变。

3. 完全缓解(CR):HGB $\geq 90\text{ g/L}$ ,中性粒细胞绝对计数(ANC) $\geq 1.5\times 10^9/\text{L}$ ,PLT $\geq 100\times 10^9/\text{L}$ ;外周血无幼稚细胞;骨髓中原始及幼稚细胞比例 $<5\%$ 。

4. 血液学复发:CR后骨髓白血病细胞 $\geq 5\%$ 或出现髓外浸润(CNS、睾丸)。早期复发:疾病复发距离诊断时间 $<18$ 个月。晚期复发:疾病复发距离诊断时间 $\geq 18$ 个月。

#### 五、随访

采用查阅门诊/住院病历及电话联系方法进行随访。随访时间截至2018年7月31日,失访者截至失访时间。中位随访时间为73.5(1~124)个月。研究终点设为死亡、失访或随访截止。总生存(OS)时间指自疾病诊断到各种原因死亡或随访截止的时间。EFS时间指自诊断到第1次事件(包括持续不缓解、复发、第二肿瘤、CR期间因其他原因死亡)的时间。

#### 六、统计学处理

数据采用SPSS 17.0软件进行分析。临床特征分析及比较采用描述性分析及卡方检验。生存分析采用Kaplan-Meier生存曲线及Log-rank检验。对预后的影响因素分析采用Cox回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

#### 一、临床基线特征

2008年4月至2015年4月期间本院共收治178例初诊ETV6-RUNX1阳性ALL患儿,其中男100例,女78例,男女比例为1.28:1,中位年龄4(1~13)岁,初诊中位WBC $9.46(1.25\sim 239.83)\times 10^9/\text{L}$ 。免疫表型均为前体B细胞来源(BCP-ALL),其中common B-ALL 143例,pre-B-ALL 35例。全部178例患者中177例完成初诊CNS评估,其中CNS1 167例(93.8%),CNS2 10例(6.2%)。175例完成泼尼松预处理评估,其中反应良好160例(91.4%),反应不佳15例。危险度分组:低危组89例(50.0%),中危组64例(36.0%),高危组25例(14.0%)。

#### 二、复发

178例患儿中,3例在诱导化疗阶段死亡,死因分别为严重出血、胰腺炎及肺感染,1例于诱导化疗后失访,1个疗程诱导CR率为97.8%(174/178)。至随访截止,其余174例患儿中6例失访,24例复发,其中单纯骨髓复发20例(早期复发5例,晚期复发15例),CNS+骨髓复发1例(晚期复发),CNS复发1例(晚期复发),睾丸复发2例(晚期复发)。



6 年累积复发率为  $(15.9 \pm 2.6)\%$ , 5 例早期复发患儿中 1 例放弃治疗失访, 其余 4 例均死亡; 15 例晚期单纯骨髓复发患儿中仅 7 例存活(其中 2 例接受造血干细胞移植, 1 例接受 CD19 CAR-T 细胞治疗, 4 例再次序贯化疗); 2 例单纯睾丸复发者中 1 例接受放疗联合化疗, 1 例接受 CD19 CAR-T 细胞治疗, 均存活; 1 例单纯 CNS 复发者接受鞘内注射联合化疗, 仍存活; 1 例 CNS 联合骨髓复发者, 接受造血干细胞移植, 存活; 髓外复发者皆存活。

### 三、生存率及预后因素分析

中位随访时间 73.5(1~124)个月, 研究中所有 ETV6-RUNX1 阳性患儿的 5 年累积 OS 率、EFS 率分别为  $(88.6 \pm 2.5)\%$ 、 $(81.4 \pm 3.0)\%$ , 预期 10 年 OS 率、EFS 率分别为  $(88.6 \pm 2.5)\%$ 、 $(77.3 \pm 4.0)\%$ (图 1)。单因素分析结果显示, 初诊 CNS2 状态、泼尼松预处理反应不佳、高危组、D15 骨髓 FCM MRD  $\geq 5\%$ 、D33 ETV6-RUNX1 融合基因未转阴、第 12 周骨髓 FCM MRD  $\geq 1 \times 10^{-4}$  以及第 12 周 ETV6-RUNX1 融合基因未转阴为生存相关预后不良因素(表 2)。将以上单因素分析  $P < 0.05$  的因素纳入多因素分析, Cox 模型多因素回归分析显示, 影响 OS 的独立预后不良因素包括: D15 骨髓 FCM MRD  $\geq 5\%$  [ $RR = 5.559$  (95% CI 1.147~26.952),  $P = 0.033$ ]、第 12 周 ETV6-RUNX1 融合基因未转阴 [ $RR = 4.991$  (95% CI 1.037~24.026),  $P = 0.045$ ]; 初诊 CNS2 状态 [ $RR = 4.037$  (95% CI 1.123~14.515),  $P = 0.033$ ] 及第 12 周骨髓 FCM MRD  $\geq 1 \times 10^{-4}$  [ $RR = 4.156$  (95% CI 1.412~12.239),  $P = 0.010$ ] 则为影响 EFS 的独立预后不良因素。

### 讨 论

ALL 是儿童肿瘤中最常见的恶性疾病, 伴随着多个影响预后的细胞遗传学异常的发现以及逐渐改良的化疗方案, 儿童 ALL 的缓解率和长期生存率大幅度提高, 已成为少数可治愈的恶性肿瘤之一<sup>[13-17]</sup>。20 世纪 80 年代,  $t(12;21)$  染色体异常由于极低的检出率 ( $< 0.05\%$ ), 曾被认为无判断预后价值<sup>[18]</sup>。直至 20 世纪 90 年代中期, 通过染色体荧光原位杂交技术发现  $t(12;21)$  染色体异常的发生率被大大地低估了<sup>[19]</sup>。此后发现位于 12 号染色体 12p13 的 ETV6 基因与位于 21 号染色体 21q22 的 RUNX1 基因易位融合形成 ETV6-RUNX1<sup>[1]</sup>, 并可以由 RT-PCR 技术检出。

伴有 ETV6-RUNX1 融合基因的  $t(12;21)(p13;$

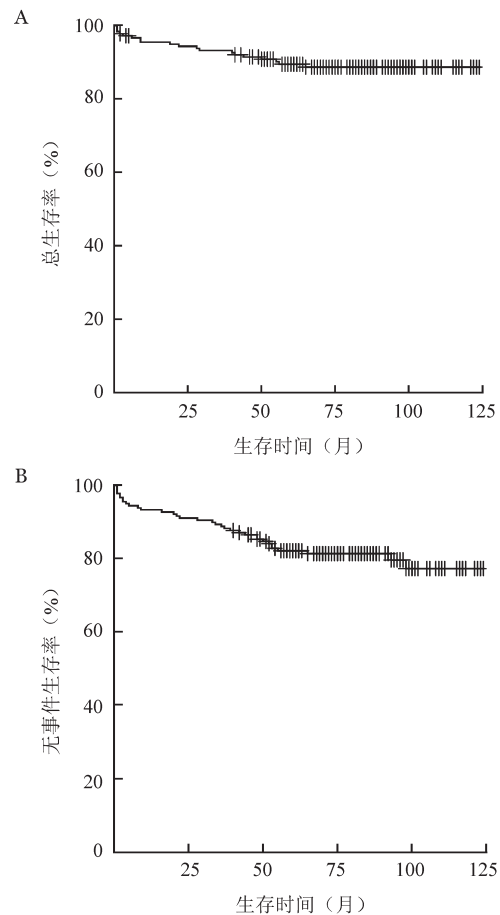


图 1 178 例 ETV6-RUNX1 融合基因阳性急性淋巴细胞白血病患儿的总生存(A)和无事件生存(B)曲线

$q22$  染色体异常是儿童 ALL 中最常见的染色体核型异常, 占前体 B 细胞 ALL 的 20%~30%<sup>[1-3,20]</sup>。ETV6-RUNX1 阳性 ALL 患儿的临床特征包括: 发病年龄多分布在 1~12 岁, 以 2~5 岁年龄段为峰值, 无婴儿白血病; 初诊时以低 WBC 为主,  $< 20 \times 10^9/L$  者约占 64%; 免疫表型皆为 BCP-ALL, 以 common B-ALL 和 pre-B-ALL 为主, 少见 pro-B-ALL, 无 T-ALL 或成熟 B-ALL; 初诊时 CNS 状态以 CNS1 为主, 危险度评分多为低危组<sup>[20]</sup>。我们的研究同样显示阳性患儿发病年龄多分布于 1~9 岁(93.8%), 中位年龄为 4 岁; 初诊 WBC 中位值为  $9.46 \times 10^9/L$ ,  $< 50 \times 10^9/L$  者占 87.1%; CNS1 者占 93.8%, 而免疫表型均为 common B-ALL 和 pre-B-ALL。

ETV6-RUNX1 融合基因目前普遍被认为是预后良好的影响因素, Borkhardt 等<sup>[20]</sup>在研究中发现, ETV6-RUNX1 阳性、阴性患儿的 5 年 EFS 率分别为 90.1%、79.2% ( $P = 0.026$ )。国际上其他研究组报道此亚型患儿的 5 年 EFS 率为 80%~94%<sup>[6-9]</sup>。中国儿童白血病协作组制订的 CCLG-2008 方案, 已有国

表2 CCLG-ALL-2008方案治疗ETV6-RUNX1阳性儿童急性淋巴细胞白血病预后的单因素分析(% , $\bar{x}\pm s$ )

指标	例数	OS			EFS		
		6年OS率	$\chi^2$ 值	P值	6年EFS率	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.449	0.503		0.001	0.977
男	100	87.2±3.5			81.4±4.0		
女	78	90.4±3.5			81.3±4.5		
年龄			1.424	0.233		2.657	0.103
1~9岁	167	87.8±2.6			80.1±3.2		
≥10岁	11	100±0			100±0		
初诊WBC			3.455	0.063		0.155	0.693
<50×10 <sup>9</sup> /L	155	90.3±2.5			81.9±3.2		
≥50×10 <sup>9</sup> /L	23	78.0±8.7			78.0±8.7		
初诊CNS状态			4.538	0.033		6.753	0.009
CNS1	167	89.9±2.4			83.8±2.9		
CNS2	10	64.8±16.5			50.0±15.8		
NA	1						
泼尼松反应			11.944	0.001		11.329	0.001
良好	160	92.0±2.2			85.6±2.9		
不佳	15	63.5±13.1			52.5±13.1		
NA	3						
危险组			23.190	0.000		20.989	0.000
低危	89	93.7±2.8			89.0±3.5		
中危	64	91.9±3.5			81.1±4.9		
高危	25	60.6±10.4			54.0±10.4		
D15 FCM MRD			17.252	0.000		17.483	0.000
<0.1%	40	100±0			89.6±4.9		
0.1%~5%	77	93.2±2.9			89.3±3.6		
≥5%	35	72.7±7.8			61.4±8.5		
NA	26						
D15 ETV6-RUNX1融合基因			0.151	0.698		0.340	0.560
阴性	28	91.3±5.9			80.5±7.9		
阳性	129	89.4±2.8			83.2±3.4		
NA	21						
D33 FCM MRD			1.329	0.249		0.322	0.571
<0.01%	122	92.6±2.6			84.2±3.4		
≥0.01%	40	87.3±5.3			75.9±8.3		
NA	16						
D33 ETV6-RUNX1融合基因			7.481	0.006		9.108	0.003
阴性	128	94.2±2.1			88.7±2.9		
阳性	42	79.1±6.7			62.0±9.9		
NA	8						
第12周FCM MRD			5.375	0.020		6.738	0.009
<0.01%	136	95.8±1.9			89.8±2.7		
≥0.01%	20	83.6±8.8			60.6±14.1		
NA	22						
第12周ETV6-RUNX1融合基因			15.268	0.000		17.822	0.000
阴性	150	94.9±1.9			90.1±2.5		
阳性	14	69.8±12.8			55.1±13.9		
NA	14						

注:OS:总生存;EFS:无事件生存;NA:未能评判;CNS:中枢神经系统;D15:诱导化疗第15天;D33:诱导化疗第33天(诱导化疗结束);第12周:巩固治疗开始前;FCM:流式细胞术;MRD:微小残留病

内多个中心总结了其治疗儿童ALL的疗效,总体5年EFS率为68.1%~79.9%<sup>[4,21-22]</sup>,而本组CCLG-2008方案治疗的ETV6-RUNX1阳性ALL患儿,5年EFS率为81.4%。尽管如此,仍然有患儿复发,Harbott等<sup>[23]</sup>发现伴ETV6-RUNX1复发患儿与不伴ETV6-

RUNX1的复发患儿比较,缓解持续时间显著延长(1年以上),复发多为晚期复发(诊断后2年以上),复发部位80%为骨髓复发,单纯髓外复发或联合骨髓复发比例较后者显著减低。本研究178例患儿中共有24例复发,5年累积复发率为15.9%,中位复发

时间为 35.5 个月,同样以单纯骨髓复发(83.3%)、晚期复发(79.2%)为主,单纯髓外复发或联合复发均较少见。法国 FRALLE 协作组 93 方案中,191 例 ETV6-RUNX1 阳性 ALL 患儿,43 例复发,70.9% 为晚期复发,5 年累积复发率为 19.4%。复发患儿中 16 例接受了异基因造血干细胞移植,8 例接受了自体造血干细胞移植,复发患儿的 5 年 OS 率为 62.1%,多因素预后分析提示首次缓解持续时间为唯一的生存影响因素,而接受异基因造血干细胞移植的患儿与接受化疗联合自体造血干细胞移植的患儿相比,尽管二次复发率显著降低,但 OS 率差异并无统计学意义<sup>[24]</sup>。我们的研究中早期复发的患儿均未能获得存活,晚期单纯骨髓复发 15 例中仅 7 例存活,其中 2 例接受异基因造血干细胞移植,1 例接受 CD19 CAR-T 细胞治疗,4 例遵复发方案再次序贯化疗,而单纯髓外复发者均存活。单纯骨髓复发患儿整体生存率不高,与国外报道存在一定差距,除了部分患儿放弃继续治疗的因素,或与接受造血干细胞移植或 CAR-T 细胞等积极治疗的比例不高相关,同时需要继续探索及优化复发后化疗方案。

为了早期识别出 ETV6-RUNX1 阳性患儿中的预后不良者, Madzö 等<sup>[25]</sup>通过 RQ-PCR 方法研究了治疗过程中融合基因拷贝数下降水平(即 MRD 水平)与预后的关系,他们发现在诱导化疗结束后(即 D33),约 75% 的患儿融合基因转阴,13% 的患儿融合基因仍为阳性但 MRD 水平  $< 10^{-4}$ ,另有 13% 的患儿 MRD 水平为  $10^{-4} \sim 10^{-2}$ 。最终 57 例患者中有 4 例复发,4 例皆为 D33 融合基因未转阴者(3 例 MRD  $10^{-4} \sim 10^{-2}$ ,1 例 MRD  $< 10^{-4}$ ),D33 融合基因转阴者 DFS 率显著增高( $P = 0.0016$ )。Usami 等<sup>[26]</sup>研究发现,门冬酰胺酶中断治疗及泼尼松预处理反应不佳为 ETV6-RUNX1 阳性患儿的预后不良因素。美国 St. Jude 儿童医院的研究则提示,对于 ETV6-RUNX1 阳性的 ALL 患儿,包含强化门冬酰胺酶及高剂量甲氨蝶呤的改良治疗方案可以获得更高的生存率<sup>[27]</sup>。本研究中,初诊时 CNS2 状态、泼尼松反应不佳、D15 FCM MRD  $\geq 5\%$ 、D33 融合基因未转阴、第 12 周 FCM MRD  $\geq 10^{-4}$ 、第 12 周融合基因未转阴者预后不良。多因素分析则提示,初诊时 CNS2 状态及第 12 周 FCM MRD  $\geq 10^{-4}$  是影响 EFS 的独立危险因素。有趣的是,根据我们的研究结论,对于 ETV6-RUNX1 阳性的 ALL 患儿,除了第 12 周的骨髓 FCM MRD,初诊时 CNS 状态同样是影响生存的独立预后因素,可能与本研究中对 CNS 状态的判定

方法纳入了 FCM 脑脊液检测,提高了判定敏感性相关。近年来,已有研究组发现初诊时脑脊液 FCM 阳性为儿童 ALL 复发的高危因素<sup>[28]</sup>,因此,对于此类患儿,是否应早期调整后续化疗方案如增加门冬酰胺酶、甲氨蝶呤的剂量,或调整治疗策略如积极做造血干细胞移植准备等值得进一步研究。

本组 ETV6-RUNX1 阳性患儿的预期 10 年 OS 率已经接近 90%,但仍有少部分难治或复发患儿预后差,如何提高这部分患儿的长期生存率、探索优化新的治疗方案应该是今后关注的重点。曾有学者发现 STAT3 通路对 ETV6-RUNX1 白血病的发生起重要作用,ETV6-RUNX1 通过 RAC1 的表达增加,活化了 STAT3 通路,进而诱导了 MYC 的表达,体外实验已证明人类白血病细胞对 STAT3 特异的抑制剂作用敏感<sup>[29]</sup>。近期又有意大利学者发现,对于 ETV6-RUNX1 阳性的复发 ALL 患儿,其初诊亦或是复发时,一种脾酪氨酸激酶(SYK)的水平均显著上调,将 SYK 抑制剂 entospletinib 联合传统化疗药物作用于复发患儿的细胞,发现 SYK 抑制剂可以显著提高白血病细胞对于传统化疗药物的敏感性<sup>[30]</sup>。STAT3 抑制剂、SYK 抑制剂能否为 ETV6-RUNX1 阳性白血病患儿带来治疗的新契机,尚需要更缜密、大规模的临床试验来验证,但的确为此类复发患儿提供了一种新的治疗思路和模式。

综上所述,本研究以单中心较大样本量、较长随访时间,详细回顾分析了我国 ETV6-RUNX1 阳性 ALL 患儿的治疗生存现状及预后影响因素,此亚型患儿总体预后良好,与大部分国际协作组的生存数据接近,进一步改进治疗方案应是我们今后努力的方向。本研究发现初诊 CNS2 状态、第 12 周 FCM MRD  $\geq 10^{-4}$  是影响 EFS 的独立预后因素,提示我们,对于伴以上高危因素的患儿应尽早干预,更换化疗方案或进行造血干细胞移植,以期改善其长期生存。

#### 参考文献

- [1] Romana SP, Poirel H, Leconiat M, et al. High frequency of t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1995, 86(11):4263-4269.
- [2] McLean TW, Ringold S, Neuberg D, et al. TEL/AML-1 dimerizes and is associated with a favorable outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1996, 88(11):4252-4258.
- [3] Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, et al. TEL/AML1 fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis [J]. Leukemia, 1995, 9(12):1985-1989.
- [4] Cui L, Li ZG, Chai YH, et al. Outcome of children with newly

- diagnosed acute lymphoblastic leukemia treated with CCLG-ALL 2008: The first nation-wide prospective multicenter study in China [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (7):913- 920. DOI: 10.1002/ajh.25124.
- [5] 曾慧敏, 郭晔, 衣晓丽, 等. 1236例儿童急性白血病住院病例分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(3): 692-695.
- [6] Loh ML, Goldwasser MA, Silverman LB, et al. Prospective analysis of TEL/AML1-positive patients treated on Dana-Farber Cancer Institute Consortium Protocol 95-01 [J]. *Blood*, 2006, 107(11):4508-4513. DOI: 10.1182/blood-2005-08-3451.
- [7] Bhojwani D, Pei D, Sandlund JT, et al. ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy [J]. *Leukemia*, 2012, 26 (2):265-270. DOI: 10.1038/leu.2011.227.
- [8] Schmiegelow K, Forestier E, Hellebostad M, et al. Long-term results of NOPHO ALL-92 and ALL-2000 studies of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2010, 24 (2):345-354. DOI: 10.1038/leu.2009.251.
- [9] Usami I, Imamura T, Takahashi Y, et al. Discontinuation of L-asparaginase and poor response to prednisolone are associated with poor outcome of ETV6-RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Int J Hematol*, 2019, 109(4):477-482. DOI: 10.1007/s12185-019-02599-w.
- [10] Forestier E, Heyman M, Andersen MK, et al. Outcome of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukaemia in the NOPHO-ALL-1992 protocol: frequent late relapses but good overall survival [J]. *Br J Haematol*, 2008, 140 (6):665- 672. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.06980.x.
- [11] 中华医学会儿科学分会血液学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第四次修订)[J]. *中华儿科杂志*, 2014, 52 (9): 641-644. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2014.09.001.
- [12] 杨文钰, 王慧君, 陈玉梅, 等. 脑脊液流式细胞学检测技术在急性淋巴细胞白血病儿童并发中枢神经系统白血病中的诊断价值[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(1): 38-42.
- [13] Conter V, Aricò M, Basso G, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) Studies 82, 87, 88, 91 and 95 for childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2010, 24 (2):255-264. DOI: 10.1038/leu.2009.250.
- [14] Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000 [J]. *Leukemia*, 2010, 24 (2): 265-284. DOI: 10.1038/leu.2009.257.
- [15] Gaynon PS, Angiolillo AL, Carroll WL, et al. Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983- 2002: a Children's Oncology Group Report [J]. *Leukemia*, 2010, 24 (2):285- 297. DOI: 10.1038/leu.2009.262.
- [16] Pui CH, Campana D, Pei D, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360 (26): 2730- 2741. DOI: 10.1056/NEJMoa0900386.
- [17] Mitchell C, Richards S, Harrison CJ, et al. Long-term follow-up of the United Kingdom medical research council protocols for childhood acute lymphoblastic leukaemia, 1980-2001[J]. *Leukemia*, 2010, 24(2):406-418. DOI: 10.1038/leu.2009.256.
- [18] Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 1993, 81 (9): 2237-2251.
- [19] Kobayashi H, Rowley JD. Identification of cytogenetically undetected 12p13 translocations and associated deletions with fluorescence in situ hybridization[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 1995, 12(1):66-69. DOI: 10.1002/gcc.2870120112.
- [20] Borkhardt A, Cazzaniga G, Viehmann S, et al. Incidence and clinical relevance of TEL/AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian multicenter therapy trials. Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica and the Berlin-Frankfurt-Münster Study Group [J]. *Blood*, 1997, 90(2):571-577.
- [21] 郭霞, 朱易萍, 李强, 等. CCLG-2008方案治疗424例儿童急性淋巴细胞白血病的疗效分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38 (12): 1058- 1061. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253- 2727.2017.12.011.
- [22] 高静, 胡绍燕, 卢俊, 等. TEL/AML1基因阳性急性淋巴细胞白血病患儿的CCLG-ALL-2008方案疗效分析[J]. *临床儿科杂志*, 2017, 35 (5): 325- 330. DOI: 10.3969/j.issn.1000- 3606.2017.05.002
- [23] Harbott J, Viehmann S, Borkhardt A, et al. Incidence of TEL/AML1 fusion gene analyzed consecutively in children with acute lymphoblastic leukemia in relapse [J]. *Blood*, 1997, 90 (12):4933-4937.
- [24] Gandemer V, Chevret S, Petit A, et al. Excellent prognosis of late relapses of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: lessons from the FRALLE 93 protocol [J]. *Haematologica*, 2012, 97(11):1743-1750. DOI: 10.3324/haematol.2011.059584.
- [25] Madzò J, Zuna J, Muziková K, et al. Slower molecular response to treatment predicts poor outcome in patients with TEL/AML1 positive acute lymphoblastic leukemia: prospective real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction study [J]. *Cancer*, 2003, 97 (1): 105- 113. DOI: 10.1002/cncr.11043.
- [26] Usami I, Imamura T, Takahashi Y, et al. Discontinuation of L-asparaginase and poor response to prednisolone are associated with poor outcome of ETV6-RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Int J Hematol*, 2019, 109(4):477-482. DOI: 10.1007/s12185-019-02599-w.
- [27] Bhojwani D, Pei D, Sandlund JT, et al. ETV6-RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: improved outcome with contemporary therapy [J]. *Leukemia*, 2012, 26 (2):265-270. DOI: 10.1038/leu.2011.227.
- [28] Thastrup M, Marquart HV, Levinsen M, et al. Flow cytometric detection of leukemic blasts in cerebrospinal fluid predicts risk of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology study [J]. *Leukemia*, 2020, 34(2):336-346. DOI: 10.1038/s41375-019-0570-1.
- [29] Mangolini M, de Boer J, Walf-Vorderwülbecke V, et al. STAT3 mediates oncogenic addiction to TEL-AML1 in t(12;21) acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2013, 122 (4):542- 549. DOI: 10.1182/blood-2012-11-465252.
- [30] Serafin V, Porcù E, Cortese G, et al. SYK Targeting Represents a Potential Therapeutic Option for Relapsed Resistant Pediatric ETV6-RUNX1 B-Acute Lymphoblastic Leukemia Patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6175. DOI: 10.3390/ijms20246175.

(收稿日期:2020-07-22)

(本文编辑:王叶青)