

# 慢性髓性白血病患者酪氨酸激酶抑制剂治疗中发生的Ph阴性髓系肿瘤

袁婷 王晓燕 赖悦云 秦亚溱 石红霞 黄晓军 江倩

北京大学人民医院、北京大学血液病研究所 100044

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

**【摘要】** 目的 探讨Ph阳性慢性髓性白血病(Ph<sup>+</sup>CML)患者在酪氨酸激酶抑制剂(TKI)治疗中出现Ph阴性克隆性染色体异常(CCA/Ph<sup>-</sup>)后发生Ph<sup>-</sup>骨髓增生异常综合征或急性髓系白血病(MDS/AML)患者的临床特征。方法 回顾性分析2001年5月至2017年12月收治的出现CCA/Ph<sup>-</sup>的CML患者资料。结果 共收集63例在TKI治疗过程中检出CCA/Ph<sup>-</sup>的Ph<sup>+</sup>CML患者,其中7例发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML,56例疾病稳定。与疾病稳定组相比,首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,Ph<sup>-</sup>MDS/AML组患者血红蛋白( $P=0.007$ )和PLT( $P=0.006$ )水平更低,外周血原始细胞比例( $P<0.001$ )更高;当发生MDS或AML时,Ph<sup>-</sup>MDS/AML组患者的CCA/Ph<sup>-</sup>以“-7”为主(5/7, 71.4%),而Ph<sup>-</sup>疾病稳定组以“+8”为多见(32/56, 57.1%)。Ph<sup>-</sup>MDS/AML组患者总体预后不良,而Ph<sup>-</sup>疾病稳定组多数CCA/Ph<sup>-</sup>持续存在或有变化,大部分患者分子学反应良好,疾病稳定。结论 CML患者接受TKI治疗中,少数会发生CCA/Ph<sup>-</sup>,其中大部分病情稳定,极少数会发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML。当出现不明原因血细胞减少或CCA/Ph<sup>-</sup>为“-7”时,应重视外周血涂片、骨髓细胞遗传学和骨髓细胞形态学检测。

**【关键词】** 白血病,髓系,慢性,BCR-ABL阳性; 费城染色体; 酪氨酸激酶抑制剂

基金项目:国家自然科学基金(81770161)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.07.003

## Philadelphia chromosome-negative myeloid neoplasms in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia during tyrosine kinase inhibitor-therapy

Yuan Ting, Wang Xiaoyan, Lai Yueyun, Qin Yazhen, Shi Hongxia, Huang Xiaojun, Jiang Qian

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 compare the clinical features between the 2 cohorts developing myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukemia in Philadelphia chromosome-negative cells (Ph<sup>-</sup> MDS/AML) and maintaining disease stable in the patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia (Ph<sup>+</sup> CML) who had clonal chromosomal abnormalities in Philadelphia chromosome-negative metaphases (CCA/Ph<sup>-</sup>) during tyrosine kinase inhibitor (TKI)-therapy. **Methods** We retrospectively analyzed Ph<sup>+</sup> CML patients who developed CCA/Ph<sup>-</sup> during TKI-therapy from May 2001 to December 2017. **Results** Data of CCA/Ph<sup>-</sup> 63 patients, including 7 progressing to Ph<sup>-</sup> MDS/AML and 56 remaining disease stable were collected. Compared with those with stable disease, patients with Ph<sup>-</sup> MDS/AML had lower hemoglobin ( $P=0.007$ ) and platelet ( $P=0.006$ ) counts, and higher proportion of peripheral blasts ( $P<0.001$ ) when the first time CCA/Ph<sup>-</sup> was detected, and more monosomy 7 abnormality (5/7, 71.4%) when MDS or AML was diagnosed; meanwhile, trisomy 8 (32/56, 57.1%) was more common in those with stable disease. Outcome of the patients with Ph<sup>-</sup> MDS/AML were poor. However, most of those with CCA/Ph<sup>-</sup> and stable disease had optimal response on TKI-therapy. **Conclusions** A few patients with Ph<sup>+</sup> CML developed CCA/Ph<sup>-</sup> during TKI-therapy, most of them had stable disease, but very few patients developed Ph<sup>-</sup> MDS/AML with more common occurrence of monosomy 7 or unknown cytopenia. Our data suggested the significance of monitoring of peripheral blood smear, bone marrow morphology and cytogenetic analysis once monosomy 7 or unknown cytopenia occurred.

**【Key words】** Leukemia, myeloid, chronic, BCR-ABL positive; Philadelphia chromosome; Tyrosine kinase inhibitor

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81770161)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.07.003

酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的诞生使大部分慢性髓性白血病(CML)患者的Ph染色体转阴,并显著改善了患者的预后<sup>[1-2]</sup>。少部分CML患者在TKI治疗过程中会出现Ph阴性克隆性染色体异常(Clonal chromosomal abnormalities in Philadelphia chromosome-negative metaphases, CCA/Ph<sup>-</sup>),出现CCA/Ph<sup>-</sup>的患者绝大部分病情长期稳定,极少数在TKI治疗过程中发生Ph<sup>-</sup>骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病(MDS/AML)<sup>[3-10]</sup>。国外研究发现,这两类患者在临床表现上有所不同,而国内少有报道。为此,我们回顾性研究17年来就诊于我院的CML患者的病例资料,比较Ph<sup>-</sup>MDS/AML组与Ph<sup>-</sup>疾病稳定患者临床和细胞遗传学特征的差异。

## 病例与方法

### 一、病例

回顾性分析自2001年5月至2017年12月就诊于我院、确诊为CML的2 115例病例。所有患者均经形态学、细胞遗传学、分子学检查确诊为CML,疾病分期详见WHO 2001标准。

### 二、治疗、检查和监测

所有患者均曾接受伊马替尼、尼洛替尼或达沙替尼治疗,药物选择、用量、剂量调整参照ELN2013指南<sup>[11]</sup>。在TKI治疗过程中,定期进行血液学、细胞遗传学和分子学监测,频率、检测时机和反应评估详见文献<sup>[12]</sup>。

1. 细胞遗传学分析:骨髓标本经G显带法分析染色体核型,根据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN, 2013)》进行核型分析。初诊患者初诊时和TKI治疗开始后的每3个月进行1次骨髓检测,直到获得完全细胞遗传学反应(CCyR),随后每2~4年检测1次。

2. 分子学和免疫学检查:2006年后,采用外周血标本经实时定量聚合酶链反应(RQ-PCR)检测BCR-ABL水平,采用Sanger测序检测TKI耐药患者ABL突变,详见文献<sup>[13]</sup>。

当骨髓原始细胞增多(特别是 $\geq 20\%$ )时,采用流式细胞术检测骨髓细胞免疫表型,方法详见文献<sup>[14]</sup>。当确诊为AML时,检测髓系分子学异常标志,包括AML1-ETO、CBF $\beta$ -MYH11、PML-RAR $\alpha$ 、NPM1、FLT3-ITD基因突变、混合系白血病(MLL)相关融合基因,参照本所常规方法。

### 三、定义

1. CCA/Ph<sup>-</sup>:在进行骨髓染色体核型分析时,若在 $\geq 2$ 个Ph阴性细胞中检出同一种异常核型,或两次骨髓染色体核型分析时检出 $\geq 1$ 个Ph阴性细胞中的同一种异常核型,则定义为CCA/Ph<sup>-</sup>。

2. Ph<sup>-</sup>MDS/AML:当检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,在获得CCyR或外周血BCR-ABL/ABL $< 1\%$ 情况下,若骨髓或外周血中原始细胞为5%~19%,则定义为Ph<sup>-</sup>骨髓增生异常综合征伴原始细胞增多(MDS-EB);若骨髓或外周血中髓系原始细胞 $\geq 20\%$ ,则定义为Ph<sup>-</sup>AML。

3. Ph<sup>-</sup>疾病稳定:当检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,若疾病处于CML慢性期并获得完全血液学反应(CHR),无论Ph<sup>-</sup>细胞比例是否达到CCyR,定义为Ph<sup>-</sup>疾病稳定。

### 四、随访

主要采用门诊随访及电话随访方式,随访截止日期为2017年12月。

### 五、统计学处理

采用描述性统计,分析患者人口学和临床特征。样本组间比较,分类变量进行卡方检验,连续变量进行Mann-Whitney非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用SPSS22.0软件进行统计分析。

## 结 果

63例CML患者在TKI治疗过程中出现CCA/Ph<sup>-</sup>,其中7例在检出CCA/Ph<sup>-</sup>同时或之后发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML,56例处于Ph<sup>-</sup>疾病稳定。

### 一、Ph<sup>-</sup>MDS/AML组和Ph<sup>-</sup>疾病稳定组的特征比较

两组患者在性别、诊断年龄、TKI前治疗史、CML诊断距开始TKI治疗时间、首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>时服用TKI种类和白细胞计数方面差异均无统计学意义( $P$ 值均 $> 0.05$ )。但与Ph<sup>-</sup>疾病稳定组相比,Ph<sup>-</sup>MDS/AML组首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>时血红蛋白( $P = 0.007$ )和PLT( $P = 0.006$ )水平更低,外周原始细胞比例( $P = 0.000$ )更高,CCA/Ph<sup>-</sup>染色体核型差异有统计学意义( $P = 0.001$ ):Ph<sup>-</sup>MDS/AML组以“-7”及“+8”为多见;疾病稳定组以“+8”最为多见,其次为“-Y”、“+Y”、“+8”合并“-7”。详见表1。

1. Ph<sup>-</sup>MDS/AML组:7例发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML患者中,男4例,确诊时中位年龄51(22~78)岁,确诊CML时均为慢性期,5例(例1、3、5、6、7)在确诊后

6个月内开始伊马替尼400 mg/d治疗,2例(例2、4)在干扰素和羟基脲治疗11和72个月开始服用伊马替尼400 mg/d。3例(例2、5、6)在伊马替尼治疗27(11~46)个月时获得CCyR,6例在伊马替尼治疗30(8~66)个月时换为尼洛替尼(例3因Ph<sup>+</sup>细胞>95%,例1、4、7因未获CCyR,例5因失去CCyR,例6因未获得深层分子学反应),之后,4例获得(例1、4、7)或再获(例5)CCyR,1例(例3)因服用尼洛替尼17个月反应不佳换为达沙替尼,6个月后获得CCyR。

7例患者在TKI治疗33(8~96)个月时首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>,在48(31~92)个月时均出现血小板计数由正常水平( $\geq 100 \times 10^9/L$ )显著减低,其中4例(例1~3、7)同时伴有白细胞计数和血红蛋白降低。

3例(例1~3)在TKI治疗10(8~33)个月、首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,骨髓、外周血均未见原始细胞。3例患者均在尼洛替尼治疗中检出CCA/Ph<sup>-</sup>,2例出现“+8”,1例出现“t(3;21)”,随后CCA/Ph<sup>-</sup>类型发生变化,分别检出为“add(21)(q22)”、“-7”和“-7”。此时3例患者均未见Ph<sup>+</sup>细胞,BCR-ABL/ABL<1%,但骨髓原始细胞分别增至7%、21%和30%,分别诊断为Ph<sup>-</sup>MDS、Ph<sup>-</sup>AML和Ph<sup>-</sup>AML。

4例(例4~7)患者在TKI治疗检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,骨髓中原始细胞>5%,外周血均出现原始细胞。首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>时,3例服用尼洛替尼,另1例服用达沙替尼治疗;3例为“-7”,另1例为“+8”,其中1例可见Ph<sup>+</sup>细胞。4例患者在骨髓原始细胞显著增多(>20%)时,1例为首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>,另3例为检出CCA/Ph<sup>-</sup>后在持续TKI治疗中出现骨髓原始细胞增多。但此时4例患者均为获得CCyR或BCR-ABL/ABL<1%,其中2例患者原CCA/Ph<sup>-</sup>类型发生变化:1例原“-7”基础上检出“+21”,1例原“+8”基础上检出“-22”,另2例仍为“-7”,诊断为Ph<sup>-</sup>AML。详见表2。

7例患者在诊断Ph<sup>-</sup>MDS/AML时骨髓持续无明显三系病态造血,BCR-ABL突变及髓系分子学检测均为阴性。

2. Ph<sup>-</sup>疾病稳定组:56例疾病稳定患者中,在TKI中位治疗20(2~154)个月检出CCA/Ph<sup>-</sup>,此时中位骨髓原始细胞比例为0.5%(0~5%),33例(58.9%)处于CCyR,外周血中位BCR-ABL/ABL水平为1.16%(0~100%),19例(35.8%)达MMR。16例(28.6%)后续未行骨髓染色体检查,40例(71.4%)复查2(1~9)次:14例(35%)CCA/Ph<sup>-</sup>消

失,15例(37.5%)保持原有CCA/Ph<sup>-</sup>,11例(27.5%)原CCA/Ph<sup>-</sup>发生变化,其中1例原有“+8”合并“-7”,随后“-7”消失,出现“+8”合并“+6”。

## 二、治疗与转归

7例转化为Ph<sup>-</sup>MDS/AML患者中,1例(例2)诊断为Ph<sup>-</sup>MDS-EB患者维持尼洛替尼治疗,末次随访时骨髓原始细胞为4%、单核细胞比例增高至23%,外周血BCR-ABL/ABL为0.0038%;1例(例6)Ph<sup>-</sup>AML未接受化疗即行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),1个月后死于植入失败。5例接受诱导化疗:2例(例1、3)未获完全缓解(CR),均于5个月内死亡,其中例3末次骨髓检查中单核细胞比例增至28%;3例(例4、5、7)获得血细胞计数未完全恢复的完全缓解(CRi),其中1例(例7)接受了allo-HSCT,之后存活12个月,末次随访染色体核型正常,BCR-ABL/ABL为0;1例(例5)接受巩固化疗联合原有TKI(尼洛替尼),9个月后AML复发,之后存活8个月,末次染色体核型分析显示Ph<sup>+</sup>细胞占13.3%(2/15),并检出CCA/Ph<sup>-</sup>为“-7”合并“+21”,末次随访时BCR-ABL/ABL为0.0037%;另1例(例4)在巩固化疗中,已存活9个月,因在外院随诊未能获得更多临床信息。

56例Ph<sup>-</sup>疾病稳定患者,在首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>后中位随访18(1~101)个月,1例进展为CML加速期(外周血嗜碱性粒细胞29%、骨髓原始细胞为12%、Ph<sup>+</sup>细胞占14/15,BCR-ABL/ABL为34.9%),55例仍处于慢性期。末次随访时,49例(87.5%)获得CCyR,34例(60.7%)获得MMR。

## 讨 论

我们报道了63例患者在TKI治疗过程中出现CCA/Ph<sup>-</sup>,其中7例发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML,56例病情稳定。与Ph<sup>-</sup>疾病稳定组相比,首次出现CCA/Ph<sup>-</sup>时,Ph<sup>-</sup>MDS/AML组患者TKI治疗时间更长,血红蛋白和血小板计数更低,外周血可检出原始细胞,CCA/Ph<sup>-</sup>以“-7”及“+8”为主,之后,Ph<sup>-</sup>MDS/AML组“+8”逐渐消失,“-7”新发或持续存在,最终占绝大多数(5/7),总体预后不良。Ph<sup>-</sup>疾病稳定组中,CCA/Ph<sup>-</sup>以“+8”最为多见,多数患者CCA/Ph<sup>-</sup>持续存在或有变化,少数CCA/Ph<sup>-</sup>消失,大部分患者TKI治疗中分子学反应良好,疾病稳定。

文献报道,CCA/Ph<sup>-</sup>以“+8”、“-Y”最为常见,而“-7”是发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML常见的染色体核型。Issa等<sup>[15]</sup>规律监测(TKI治疗后的第1年每3个月进行

表1 Ph<sup>-</sup>MDS/AML组和Ph<sup>-</sup>疾病稳定组患者特征比较

| 指标   | Ph <sup>-</sup> MDS/AML组(7例) | Ph <sup>-</sup> 疾病稳定组(56例) | 统计量 <sup>c</sup> | P值    |
|--|------------------------------|----------------------------|------------------|-------|
| 男性[例(%)]                                   | 4(57.1)                      | 33(58.9)                   | 0.001            | 1.000 |
| 确诊年龄[岁, M(范围)]                             | 51(22~78)                    | 40(26~73)                  | 145.500          | 0.269 |
| TKI前治疗史[例(%)]                              |                              |                            | 5.435            | 0.143 |
| 羟基脲  | 0(0.0)                       | 10(17.9)                   |                  |       |
| 干扰素  | 2(28.6)                      | 5(8.9)                     |                  |       |
| 化疗   | 0(0.0)                       | 6(10.7)                    |                  |       |
| 诊断距TKI开始治疗时间[月, M(范围)]                     | 0.5(0~72)                    | 0.75(0~108)                | 172.000          | 0.584 |
| TKI治疗至首次检出CCA/Ph <sup>-</sup> 时间[月, M(范围)] | 33(8~96)                     | 20(2~154)                  | 120.500          | 0.121 |
| 首次检出CCA/Ph <sup>-</sup> 时的TKI治疗[例(%)]      |                              |                            | 1.056            | 0.304 |
| 一线   | 2(28.6)                      | 32(57.1)                   |                  |       |
| 二线或以上                                      | 5(71.4)                      | 24(42.9)                   |                  |       |
| 首次检出CCA/Ph <sup>-</sup> 时TKI种类             |                              |                            | 4.377            | 0.112 |
| 伊马替尼                                       | 2(28.6)                      | 27(48.2)                   |                  |       |
| 尼洛替尼                                       | 4(57.1)                      | 20(35.7)                   |                  |       |
| 达沙替尼                                       | 1(14.3)                      | 9(16.1)                    |                  |       |
| 首次检出CCA/Ph <sup>-</sup> 时患者特征              |                              |                            |                  |       |
| WBC[×10 <sup>9</sup> /L, M(范围)]            | 4.6(1.58~10.52)              | 4.2(2.19~15.63)            | 143.000          | 0.437 |
| HGB[g/L, M(范围)]                            | 96(52~106)                   | 118(64~151)                | 63.500           | 0.007 |
| PLT[×10 <sup>9</sup> /L, 中位(范围)]           | 21(12~112)                   | 107(7~325)                 | 63.000           | 0.006 |
| 外周血原始细胞[%, M(范围)]                          | 1(0~4)                       | 0(0~0)                     | 72.000           | 0.000 |
| 骨髓原始细胞[%, M(范围)]                           | 6(0~50)                      | 0.5(0~5)                   | 118.500          | 0.149 |
| CCyR[例(%)]                                 | 5(71.4)                      | 33(58.9)                   | 0.052            | 0.820 |
| MMR[例(%)]                                  | 3(42.9)                      | 19(35.8)                   | 0.000            | 1.000 |
| BCR-ABL/ABL[%, M(范围)]                      | 0.11(0~31)                   | 1.16(0~100)                | 167.000          | 0.670 |
| CCA/Ph <sup>-</sup> 核型类型[例(%)]             |                              |                            | 23.477           | 0.001 |
| +8 <sup>a</sup>                            | 3(42.9)                      | 32(57.1)                   |                  |       |
| -7   | 3(42.9)                      | 0(0)                       |                  |       |
| -Y   | 0(0)                         | 10(17.9)                   |                  |       |
| +Y   | 0(0)                         | 4(7.1)                     |                  |       |
| add(21)(q22)                               | 1(14.3)                      | 0(0)                       |                  |       |
| +8合并-7                                     | 0(0)                         | 2(3.6)                     |                  |       |
| 其他 <sup>b</sup>                            | 0(0)                         | 8(14.3)                    |                  |       |

注:MDS/AML:骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病;TKI:酪氨酸激酶抑制剂;CCA/Ph<sup>-</sup>:Ph阴性克隆性染色体异常;CCyR:完全细胞遗传学反应;MMR:主要分子学反应;<sup>a</sup>亦包括合并其他CCA/Ph<sup>-</sup>类型,除外“-7”;<sup>b</sup>包括+9、+18、-2、+15、+3、5q-、tmar、+mark等类型;<sup>c</sup>卡方值或Mann-Whitney U值

1次骨髓检测,随后每6~12个月检测1次)598例初发Ph<sup>+</sup>CML-CP患者,在伊马替尼、尼洛替尼、达沙替尼或普纳替尼治疗过程中,10%的患者出现CCA/Ph<sup>-</sup>,以-Y和“+8”为多见,4例患者检出“-7”,其中2例分别在伊马替尼和普纳替尼治疗中发生了Ph<sup>-</sup>MDS/AML。Deininger等<sup>[16]</sup>报道了515例干扰素治疗失败的CML-慢性期(CP)和加速期患者,在伊马替尼治疗中5.8%检出CCA/Ph<sup>-</sup>,以“-Y”和“+8”为多见,2例“-7”和“inv(1)/del(10)”患者出现Ph<sup>-</sup>MDS。Kovitz等<sup>[17]</sup>报道3例Ph<sup>+</sup>CML患者在服用伊

马替尼中发生CCA/Ph<sup>-</sup>,其中2例“-7”患者在3个月内发生了Ph<sup>-</sup>MDS/AML。截至目前,全球文献报道中CML患者出现CCA/Ph<sup>-</sup>并发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML不超过40例,伊马替尼、尼洛替尼、达沙替尼和普纳替尼治疗下均有发生<sup>[15, 18-21]</sup>。因此ELN2013指南<sup>[11]</sup>提出,当检出CCA/Ph<sup>-</sup>为“-7”时,应视为TKI治疗中的“警告”。本文报道的Ph<sup>-</sup>MDS/AML患者中,在伊马替尼、尼洛替尼、达沙替尼治疗下均有检出CCA/Ph<sup>-</sup>,并发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML。

长期以来,不少专家提出CML患者在获得

表2 Ph<sup>+</sup>MDS/AML患者首次检出CCA/Ph<sup>-</sup>后临床信息

| 例号 | 性别/年龄(岁)          | 用药种类   | 治疗时间(月) | WBC (×10 <sup>9</sup> /L) | HGB (g/L) | PLT (×10 <sup>9</sup> /L) | 原始细胞(%, PB/BM) | 染色体核型  | BCR-ABL/ABL (%) | 转归                  |
|----|-------------------|--|---------|---------------------------|-----------|---------------------------|----------------|--|-----------------|---------------------|
| 1  | 男/22              | 尼洛替尼   | 3       | 3.5                       | 89        | 20                        | 0/0            | 46,XY,t(3;21)(q26.2;q22)[17]/46,XY[3]                      | 0               |                     |
|    |                   |  | 10      | NA                        | NA        | NA                        | 0/3            | 46,XY[20]  | 0               |                     |
|    |                   |  | 18      | 4.65                      | 106       | 39                        | 0/7            | 46,XY,add(21)(q22)[20]                                     | 0.14            | Ph <sup>-</sup> MDS |
|    |                   |  | 19      | 4.37                      | 99        | 21                        | 10/21          | 46,XY,add(21)(q22)[19]                                     | 0.73            | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 之后      |                           |           |                           |                | 0.067  | 化疗无效,死亡         |                     |
| 2  | 男/51 <sup>a</sup> | 尼洛替尼   | 6       | 4.5                       | 102       | 107                       | 0/0            | 47,XY,+8[7]/46,XY[3]                                       | 5               |                     |
|    |                   |  | 40      | 3.73                      | 103       | 58                        | 0/0            | 45,X,der(Y)?Inv(Y)(p11q12),-7[5]/47,XY,+8[3]/46,XY[2]      | 0.0221          |                     |
|    |                   |  | 43      | 4.48                      | 87        | 24                        | 0/7            | 45,Y,der(Y),X,-7[1]/45,XY,-7[1]/46,XY[2]                   | 0.0131          | Ph <sup>-</sup> MDS |
|    |                   |  | 44      | 9.64                      | 98        | 27                        | 0/4            | 45,XY,-7[20]   | 0.0038          | 未治疗,存活              |
| 3  | 女/78 <sup>a</sup> | 伊马替尼   | 8       | 4.6                       | 106       | 112                       | 0/0            | 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[10]/47,XX,+8[8]                     | 31              |                     |
|    |                   |  | 41      | 1.4                       | 99        | 40                        | 0/0            | 46,XX,t(9;22)[2]/45,XX,-7[7]/47,XX,+8[1]/46,XX[2]          | 0.63            |                     |
|    |                   |  | 46      | NA                        | NA        | NA                        | 0/1            | 45,XX,-7[15]/47,XX,+8[3]/46,XX[2]                          | 0.3             |                     |
|    |                   |  | 50      | NA                        | NA        | NA                        | 0/0            | 45,XX,-7[3]/47,XX,+8[3]/46,XX,t(9;22)[3]/46,XX[1]          | 8.0             |                     |
|    |                   |  | 58      | NA                        | NA        | NA                        | 0/3            | 46,XX,t(9;22)[2]/45,XX,t(9;22),-7[1]/45,XX,-7[16]/46,XX[1] | 0.0037          |                     |
|    |                   |  | 72      | NA                        | NA        | NA                        | 0/4            | 46,XX,-7[20]   | 0.047           |                     |
|    |                   |  | 104     | 3.48                      | 71        | 7                         | 46/30          | 45,XX,-7[19]/46,XX[1]                                      | 0               | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 之后      |                           |           |                           |                |  | 化疗无效,死亡         |                     |
| 4  | 女/57              | 达沙替尼   | 1       | 10.52                     | 96        | 12                        | 1/7.5          | 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[16]/45,XX,-7[4]                     | 5.4             |                     |
|    |                   |  | 3       | 1.68                      | 111       | 162                       | 0/0            | 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[20]                                 | 20.6            |                     |
|    |                   |  | 6       | 8.81                      | 83        | 11                        | 1/35           | 45,XX,-7[6]/46,idem,+21[6]                                 | 0.11            | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 之后      |                           |           |                           |                |  |                 |                     |
| 5  | 女/28              | 尼洛替尼<br>化疗+尼洛替尼<br>化疗+尼洛替尼<br>化疗+尼洛替尼<br>化疗+尼洛替尼 | 43      | 6.38                      | 52        | 21                        | 4/50           | 46,XX,-7[20]   | 0.11            | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 5       | 2.79                      | 85        | 117                       | 0/4            | 45,XX,t(9;22)(q34;q11),-22[1]                              | 5.2             | CRi                 |
|    |                   |  | 8       | NA                        | NA        | NA                        | 0/5            | 45,XX,-7[3]/46,idem,+21[4]/45,idem,t(9;22)[1]/46,XX[3]     | 1.2             |                     |
|    |                   |  | 9       | 5.81                      | 46        | 18                        | 0/22           | NA   | 0.29            | 复发                  |
|    |                   |  | 17      | 17.9                      | 53        | 48                        | 12/56          | NA   | 0.003           | 存活                  |
| 6  | 男/49              | 尼洛替尼   | 26      | 7.58                      | 96        | 38                        | 1/6            | 45,XY,-7[20]   | 0.099           | Ph <sup>-</sup> MDS |
|    |                   |  | 29      | 8.03                      | 75        | 25                        | 0/27           | 45,XX,-7[18]/45,idem,t(9;22)[2]                            | 0.048           | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 之后      |                           |           |                           |                |  |                 |                     |
| 7  | 男/55              | 尼洛替尼   | 39      | 1.58                      | 76        | 21                        | 1/8            | 47,XY,+8[4]/46,XY[18]                                      | 0.06            | Ph <sup>-</sup> MDS |
|    |                   |  | 40      | 1.58                      | 52        | 29                        | 1/10           | 47,XY,+8[1]/46,XY[20]                                      | 0.045           | Ph <sup>-</sup> MDS |
|    |                   |  | 45      | 2.13                      | 75        | 31                        | 1/22           | 46,XY,+8,-22[1]/46,XY[19]                                  | 0.0016          | Ph <sup>-</sup> AML |
|    |                   |  | 之后      |                           |           |                           |                |  | 移植后存活           |                     |

注:MDS:骨髓增生异常综合征;AML:急性髓系白血病;NA:无法提供;PB:外周血;BM:骨髓;CR:完全缓解;CRi:血细胞计数未完全恢复的完全缓解;<sup>a</sup>末次骨髓检查中单核细胞比例增高,分别为23%、28%

CCyR后可降低骨髓检查的监测频率,以降低患者痛苦,更强调采用外周血监测BCR-ABL的准确性和方便性。江倩等<sup>[22]</sup>报道100例多为干扰素治疗失败或有长期CML病史服用伊马替尼的Ph<sup>+</sup>CML患者,11例(11%)于伊马替尼治疗3~29个月检出

CCA/Ph<sup>-</sup>,中位追踪18~30个月,患者病情均稳定。赖悦云等<sup>[23]</sup>报道的419例CML患者的1030份同期骨髓和外周血标本中,19份(1.9%)骨髓标本检出CCA/Ph<sup>-</sup>。如果这些患者仅行外周血BCR-ABL/ABL基因监测,根本无法发现CCA/Ph<sup>-</sup>。本研究

7例患者中,6例因伊马替尼治疗效不理想换为二代TKI,故较为频繁地进行骨髓检查,从而在疾病转化之前或当时才发现了CCA/Ph<sup>-</sup>和Ph<sup>-</sup>MDS/AML,而同期外周血BCR-ABL/ABL水平均非常低。若不行骨髓检测,根本无法发现CCA/Ph<sup>-</sup>、骨髓原始细胞增多和发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML的疾病转化,因而我们认为外周血基因监测并不能完全取代骨髓监测。鉴于CCA/Ph<sup>-</sup>发生率低,发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML更为小概率事件,我们并不推荐所有患者在获得CCyR后定期监测骨髓。本研究中的患者均在检出CCA/Ph<sup>-</sup>或疾病转化前或同时出现血细胞减少,尤其是血小板减少,而且,外周血涂片偶见原始细胞。因此,对于TKI治疗中出现不能解释的血细胞减少时,我们建议应重视外周血涂片、骨髓细胞形态和染色体核型分析,以免漏诊。

Ph<sup>+</sup>CML患者中少数人发生CCA/Ph<sup>-</sup>的机制尚未明确。推测CCA/Ph<sup>-</sup>的出现可能存在以下机制:①CCA/Ph<sup>-</sup>在CML诊断时即存在,CCA/Ph<sup>-</sup>为存在于治疗前Ph<sup>+</sup>之外的小克隆。Chen等<sup>[24]</sup>发现1例CML患者在诊断时“+8”即存在于CCA/Ph<sup>-</sup>及CCA/Ph<sup>+</sup>中。②CCA/Ph<sup>-</sup>的出现与TKI药物治疗或烷化剂等药物暴露相关。TKI的治疗涉及多个通路及靶点,干扰正常造血调控网络,抑制Ph<sup>+</sup>细胞的同时也会使得Ph<sup>-</sup>细胞获得基因的不稳定性,在Ph<sup>+</sup>克隆增殖受抑后所提供的空间中逐渐扩增<sup>[25]</sup>。Andersen等<sup>[3]</sup>也发现,应用伊马替尼患者相较应用干扰素患者而言检出CCA/Ph<sup>-</sup>的比例更高。Bumm等<sup>[5]</sup>发现,检出CCA/Ph<sup>-</sup>的患者有更高的烷化剂暴露史。推测CCA/Ph<sup>-</sup>的发生可能与烷化剂等药物致Ph<sup>-</sup>细胞获得基因不稳定相关。有关Ph<sup>+</sup>CML患者发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML的机制也不明确。有研究推测,Ph<sup>-</sup>MDS/AML的发生可能与CML患者起病前存在的癌前克隆相关<sup>[17,26]</sup>,TKI治疗使癌前克隆得以暴露,在多重打击下发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML。Krysiya等<sup>[27]</sup>发现,2例Ph<sup>+</sup>CML患者在TKI治疗获得深层分子学反应后发生Ph<sup>-</sup>AML,通过二代测序比较其CML和Ph<sup>-</sup>AML的发生是否来源于同种分子学变异,结果显示CML和Ph<sup>-</sup>AML克隆的发生相互独立,Ph<sup>+</sup>细胞的消失并不意味着造血功能恢复正常。本研究中7例Ph<sup>-</sup>MDS/AML患者中,6例在二代TKI治疗下出现CCA/Ph<sup>-</sup>并发生Ph<sup>-</sup>MDS/AML。推测可能与二代TKI更为广泛的靶点及更强抑制效应激酶和信号通路导致基因不稳定相关。

本研究存在以下缺陷:①为回顾性研究,多数

患者未进行规律监测,推测我们发现的CCA/Ph<sup>-</sup>可能会低于真实发生率;②部分患者来自外院或后期转至外院治疗,导致临床资料不完整。

总之,少数Ph<sup>+</sup>CML-CP患者在服用TKI中获得良好细胞遗传学或分子学反应后可能会发生CCA/Ph<sup>-</sup>,其中多数患者病情稳定,极少数会出现Ph<sup>-</sup>MDS/AML。当发生不明原因血细胞减少或检出CCA/Ph<sup>-</sup>为“-7”时,除了定期监测外周血BCR-ABL水平,还应重视外周血涂片、骨髓细胞遗传学和骨髓细胞形态学检测。

### 参考文献

- [1] Bower H, Björkholm M, Dickman PW, et al. Life expectancy of patients with chronic myeloid leukemia approaches the life expectancy of the general population[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(24):2851-2857. DOI: 10.1200/JCO.2015.66.2866.
- [2] Hochhaus A, Larson RA, Guilhot F, et al. Long-term outcomes of imatinib treatment for chronic myeloid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(10): 917- 927. DOI: 10.1056/NEJ-Moa1609324.
- [3] Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J, Kjeldsen L, et al. Clonal Ph-negative hematopoiesis in CML after therapy with imatinib mesylate is frequently characterized by trisomy 8 [J]. *Leukemia*, 2002, 16(7): 1390- 1393. DOI: 10.1038/sj.leu.2402634.
- [4] Meeus P, Demuyneck H, Martiat P, et al. Sustained, clonal karyotype abnormalities in the Philadelphia chromosome negative cells of CML patients successfully treated with Imatinib[J]. *Leukemia*, 2003, 17(2): 465-467. DOI: 10.1038/sj.leu.2402791.
- [5] Bumm T, Müller C, Al-Ali HK, et al. Emergence of clonal cytogenetic abnormalities in Ph<sup>-</sup> cells in some CML patients in cytogenetic remission to imatinib but restoration of polyclonal hematopoiesis in the majority [J]. *Blood*, 2003, 101(5):1941-1949. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2053.
- [6] O'Dwyer ME, Gatter KM, Loriaux M, et al. Demonstration of Philadelphia chromosome negative abnormal clones in patients with chronic myelogenous leukemia during major cytogenetic responses induced by imatinib mesylate[J]. *Leukemia*, 2003, 17(3):481-487. DOI: 10.1038/sj.leu.2402848.
- [7] Chee YL, Vickers MA, Stevenson D, et al. Fatal myelodysplastic syndrome developing during therapy with imatinib mesylate and characterised by the emergence of complex Philadelphia negative clones [J]. *Leukemia*, 2003, 17(3):634- 635. DOI: 10.1038/sj.leu.2402842.
- [8] Mozziconacci MJ, Caillères S, Maurice C, et al. Myelodysplastic features developing in Philadelphia-negative cells during imatinib mesylate therapy for CML: report of a new case [J]. *Leukemia*, 2003, 17(9): 1901- 1902. DOI: 10.1038/sj.leu.2403037.

- [9] Bacher U, Hochhaus A, Berger U, et al. Clonal aberrations in Philadelphia chromosome negative hematopoiesis in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib or interferon alpha[J]. *Leukemia*, 2005, 19(3):460-463. DOI: 10.1038/sj.leu.2403607.
- [10] 赵慧芳, 张葵莉, 胡杰英, 等. 酪氨酸激酶抑制剂治疗期间 Ph-细胞出现克隆性染色体异常对慢性髓性白血病患者预后的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(3): 209-214. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.03.009.
- [11] 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.
- [12] 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): 781-784. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.08.030.
- [13] Ruan GR, Li JL, Qin YZ, et al. Nucleophosmin mutations in Chinese adults with acute myelogenous leukemia [J]. *Ann Hematol*, 2009, 88(2): 159-166. DOI: 10.1007/s00277-008-0591-8.
- [14] Zhao XS, Qin YZ, Liu YR, et al. The impact of minimal residual disease prior to unmanipulated haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia in complete remission[J]. *Leuk Lymphoma*, 2017, 58(5): 1135-1143. DOI: 10.1080/10428194.2016.1239264.
- [15] Issa GC, Kantarjian HM, Gonzalez GN, et al. Clonal chromosomal abnormalities appearing in Philadelphia chromosome-negative metaphases during CML treatment [J]. *Blood*, 2017, 130(19):2084-2091. DOI: 10.1182/blood-2017-07-792143.
- [16] Deininger MW, Cortes J, Paquette R, et al. The prognosis for patients with chronic myeloid leukemia who have clonal cytogenetic abnormalities in Philadelphia chromosome-negative cells [J]. *Cancer*, 2007, 110(7):1509-1519. DOI: 10.1002/cncr.22936.
- [17] Kovitz C, Kantarjian H, Garcia-Manero G, et al. Myelodysplastic syndromes and acute leukemia developing after imatinib mesylate therapy for chronic myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2006, 108(8):2811-2813. DOI: 10.1182/blood-2006-04-017400.
- [18] Zeidan A, Kakati S, Anderson B, et al. Monosomy 7 in t(9;22)-negative cells during nilotinib therapy in an imatinib-resistant chronic myeloid leukemia case [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2007, 176(2): 169-171. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2006.12.011.
- [19] de Mello Conchon MR, Bendit I, Ferreira P, et al. Emergence of abnormal clone with monosomy 7 in Philadelphia negative cells of CML patients treated with tyrosine kinase inhibitors[J]. *Int J Hematol*, 2009, 89(1): 123-125. DOI: 10.1007/s12185-008-0224-y.
- [20] Larsson N, Billström R, Lilljebjörn H, et al. Genetic analysis of dasatinib-treated chronic myeloid leukemia rapidly developing into acute myeloid leukemia with monosomy 7 in Philadelphia-negative cells[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 199(2): 89-95. DOI: 10.1016/j.cancergencyto.2010.02.005.
- [21] Jabbour E, Kantarjian HM, Abruzzo LV, et al. Chromosomal abnormalities in Philadelphia chromosome negative metaphases appearing during imatinib mesylate therapy in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase [J]. *Blood*, 2007, 110(8): 2991-2995. DOI: 10.1182/blood-2007-01-070045.
- [22] 江倩, 陈珊珊, 江滨, 等. Ph阳性慢性粒细胞白血病患者伊马替尼治疗后的Ph阴性异常克隆演变[J]. *中华血液学杂志*, 2005, 26(1): 23-26.
- [23] 赖悦云, 秦亚溱, 黄晓军, 等. 慢性髓性白血病患者同期细胞遗传学反应与分子学反应的比较性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(2): 104-108. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.02.009
- [24] Chen X, Zheng J, Liang K, et al. Characterisation of clonal Philadelphia-negative cytogenetic abnormalities in a large cohort of chronic myeloid leukaemia[J]. *Intern Med J*, 2018, 48(4):439-444. DOI: 10.1111/imj.13527.
- [25] 江倩, 陈珊珊, 江滨, 等. 甲磺酸伊马替尼治疗3例Ph阳性慢性髓性白血病达细胞遗传学缓解后的疾病转化[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2005, 37(6):612-615.
- [26] Terre C, Eclache V, Rousselot P, et al. Report of 34 patients with clonal chromosomal abnormalities in Philadelphia-negative cells during imatinib treatment of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2004, 18(8):1340-1346. DOI: 10.1038/sj.leu.2403399.
- [27] Krysiak K, Christopher MJ, Skidmore ZL, et al. A genomic analysis of Philadelphia chromosome-negative AML arising in patients with CML [J]. *Blood Cancer J*, 2016, 6:e413. DOI: 10.1038/bcj.2016.18.

(收稿日期:2018-10-22)

(本文编辑:王叶青)