

CD10阴性的前B急性淋巴细胞白血病的临床特征以及预后分析

弓晓媛 王迎 刘兵城 魏辉 周春林 林冬 刘凯奇 魏述宁 宫本法
张广吉 刘云涛 赵邢力 李艳 顾闰夏 邱少伟 秘营昌 王建祥

【摘要】 目的 分析CD10阴性的前B急性淋巴细胞白血病(CD10⁻pre B-ALL)患者的临床特征和预后。方法 对6例成人CD10⁻pre B-ALL患者的临床和实验室资料进行回顾性分析,结合文献复习明确该类型患者的临床特征及预后。结果 CD10⁻pre B-ALL占ALL的1.5%(6/409),占B-ALL的1.8%(6/343),占pre B-ALL的11.5%(6/52)。6例患者均为男性,中位年龄为33.5岁,起病时中位WBC为101.78×10⁹/L,所有患者均伴有MLL-AF4融合基因表达。5例患者经1个疗程诱导化疗即获得完全缓解(CR),1例患者经3个疗程化疗后才获得CR。2例患者在CR₁期行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),1例患者CR后短期内即复发,在CR₂期行allo-HSCT。1例患者正在等待移植。2例未移植患者1例复发死亡,1例尚处于缓解状态。**结论** CD10⁻pre B-ALL是一类具有独特临床特征的成人ALL亚型,发生率较低,常见于男性,起病时白细胞水平较高,MLL-AF4融合基因表达率高,常规化疗具有较高的缓解率,但易复发,allo-HSCT有可能改善其预后。

【关键词】 白血病,淋巴样; 脑啡肽酶; 基因重排,MLL; 预后

基金项目:国家科技支撑计划(2014BAI09B12);天津市应用基础及前沿技术研究计划(15JCZD-JC36400)

Clinical features and prognosis in CD10⁻ pre-B acute lymphoblastic leukemia Gong Xiaoyuan, Wang Ying, Liu Bingcheng, Wei Hui, Zhou Chunlin, Lin Dong, Liu Kaiqi, Wei Shuning, Gong Benfa, Zhang Guangji, Liu Yuntao, Zhao Xingli, Li Yan, Gu Runxia, Qiu Shaowei, Mi Yingchang, Wang Jianxiang. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Mi Yingchang, Email: miyingch@126.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical features and prognosis of acute lymphoblastic leukemia patients with immunophenotype of CD10⁻pre-B (CD10⁻pre B-ALL). **Methods** 6 adult cases with CD10⁻pre B-ALL immunophenotypes were analyzed retrospectively, related literatures were reviewed to clarify these kind of patients' clinical features and prognosis. **Results** CD10⁻pre B-ALL occurred in 1.5% of ALL, 1.8% of B-ALL and 11.5% of pre B-ALL respectively. All the 6 patients were male with the median age as 33.5 years old, the median white blood cells was 101.78×10⁹/L, MLL-AF4 fusion transcripts were evident in all cases. Complete remission (CR) was achieved in 5 patients after first induction chemotherapy, 1 patient failed to respond to induction therapy, and got CR after 3 courses of chemotherapy. 2 patients underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) in CR₁, 1 patient relapsed in the short term and underwent allo-HSCT in CR₂. 1 patient was still waiting for allo-HSCT. Of the 2 patients who didn't receive transplantation, 1 died following a relapse, the other remained to be in CR. **Conclusions** CD10⁻pre B-ALL was a rare but distinct subtype in adult ALL characterized by male dominance, high onset white blood cells and MLL rearrangement rate. Conventional chemotherapy produced a high response rate but more likely relapse, allo-HSCT may have the potential to improve the prognosis of these patients.

【Key words】 Leukemia, lymphoid; Neprilysin; Gene rearrangement, MLL; Prognosis

Fund program: National Science & Technology Pillar Program (2014BAI09B12); Tianjin Major Research Program of Application Foundation and Advanced Technology (15JCZDJC36400)

急性淋巴细胞白血病(ALL)按照免疫表型主要分为B细胞型(B-ALL)和T细胞型(T-ALL)两大类。其中,前体B-ALL根据细胞发育程度又分为以下三个阶段:①早期前B-ALL(pro B-ALL;CD10⁻);②普通型B-ALL(common B-ALL;CD10⁺);③前B-ALL(pre B-ALL;胞质IgM阳性)^[1-2]。大多数pre B-ALL患者CD10表达阳性,但少部分患者CD10表达阴性^[2]。国外曾有文献报道,CD10阴性胞质IgM阳性的pre B-ALL(CD10⁻pre B-ALL)为一类特殊的ALL亚型,具有MLL基因重排发生率高、预后差的临床特征^[3]。但目前尚未见国内文献对此类型的ALL进行报道。我们就我中心2009年1月至2016年3月收治的6例成人CD10⁻pre B-ALL患者进行了回顾性分析,现将其临床和实验室特征报道如下。

病例与方法

1. 病例:2009年1月至2016年3月我中心共收治初诊成人ALL患者409例。所有患者均按照WHO 2008标准^[2]确诊,同时参照欧洲白血病免疫学分型协作组(EGIL)诊断标准^[4]除外急性混合表型白血病。根据免疫表型进一步划分,符合CD10⁻pre B-ALL患者共6例。本研究获得本单位伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

2. 免疫表型分析:取患者骨髓(肝素抗凝)5 ml,溶解红细胞,常规进行相关抗体标记,PBS洗涤后上机(FACS Callibur 多色流式细胞仪为美国BD公司产品)检测。所用抗体均为美国BD Pharmingen公司产品,包括B系CD19、CD20、cyCD22或CD22、CD10、CD79a、cyIgM、sIgM、FMC7, T系CD1a、CD2、cyCD3或CD3、CD4、CD5、CD7和CD8,髓系CD33、CD13、CD15、CD117、MPO、CD11b或CD11c、CD14和CD64, NK细胞相关CD16、CD56和前体细胞相关CD34、HLA-DR、CD38和TdT等。以淋系抗原阳性细胞≥30%、髓系和其他抗原阳性细胞≥20%、非系别特异性抗原阳性细胞≥20%为阳性表达标准。

3. 细胞遗传学分析:取患者骨髓(肝素抗凝)5 ml,常规24 h的短期培养后,进行R显带分析染色体核型。异常核型依据《人类细胞遗传学国际命名体制(ISCN2013)》进行描述。

4. 染色体FISH检测MLL基因重排:取患者骨髓(肝素抗凝)2 ml,直接法收获间期细胞,选择Vysis公司双色分离MLL探针,按试剂盒说明书对

患者标本进行检测。

5. 定性或定量PCR法检测MLL-AF4融合基因:由于检测年代和技术的原因,MLL-AF4融合基因的检测2例患者采用定性PCR法,4例患者采用定量PCR法。定量检测方法以ABL基因为内参,靶基因表达水平=靶基因拷贝数/ABL拷贝数×100%。

6. 治疗:所有患者诱导治疗均采用VDCLP(长春新碱、柔红霉素、环磷酰胺、左旋门冬酰胺酶、泼尼松)方案。完全缓解(CR)后巩固强化治疗序贯给予CAMLV(环磷酰胺、阿糖胞苷、巯嘌呤、左旋门冬酰胺酶、长春新碱)、HD-MTX(大剂量甲氨蝶呤)、VDLD(长春新碱、柔红霉素、左旋门冬酰胺酶、地塞米松)等方案交替治疗。1例患者先后经VDCLP、CAMLV方案诱导化疗均未缓解,第3个疗程给予FA(氟达拉滨、阿糖胞苷)方案化疗后达CR。有移植条件患者在第1次CR(CR₁)期行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),无移植条件者化疗结束以后给予VMMP(长春新碱、甲氨蝶呤、巯嘌呤、泼尼松)方案维持治疗。采用三联药物(阿糖胞苷+甲氨蝶呤+地塞米松)鞘内注射预防中枢神经系统白血病。

7. 随访:随访截止时间为2016年4月30日,通过电话或病案查询方式进行随访。

结 果

1. CD10⁻pre B-ALL以及MLL-AF4发生率:409例ALL患者中B-ALL 343例(83.9%),T-ALL 66例(16.1%)。将前体B-ALL按照免疫表型进一步划分,其中pro B-ALL 33例,占B-ALL的9.6%,common B-ALL 258例,占B-ALL的75.2%,pre B-ALL 52例,占B-ALL的15.2%。52例pre B-ALL患者中,46例患者CD10⁺,6例患者CD10⁻。CD10⁻pre B-ALL占ALL的1.5%,占B-ALL的1.8%,占pre B-ALL的11.5%。伴有MLL-AF4融合基因表达的患者17例(占B-ALL的5.0%,占ALL的4.2%),其中11例为pro B-ALL(占pro B-ALL的33.3%),余6例为CD10⁻pre B-ALL。

2. 临床特征:6例CD10⁻pre B-ALL患者均为男性,中位年龄为33.5(15~51)岁。3例患者以乏力起病,2例患者以出血起病,1例患者以骨痛起病。起病时中位WBC为101.78(37.11~210.77)×10⁹/L,中位HGB为101(55~131)g/L,中位PLT为20(11~43)×10⁹/L,中位乳酸脱氢酶为612.5(335~800)U/L。6例患者骨髓原始+幼稚淋巴细胞均>0.750

(表1)。

3. 免疫表型:17例 MLL-AF4 融合基因阳性患者免疫表型均为 CD10⁻, 其中6例 CD10⁻pre B-ALL 患者的免疫表型情况详见表2。该类患者 CD10 阴性胞质 IgM 阳性, CD19、CD22、CD79a 等 B 细胞标志常为阳性, 但 CD20 阳性少见, 多伴有 CD34、HLA-DR、CD38、CD123 等干/祖细胞的标志。CD13、CD33 等髓系抗原在此类患者中较少表达。

4. 细胞遗传学特征:6例患者均进行了染色体核型检查, 其中5例患者染色体核型发现 t(4;11)(q21;q23), 1例患者为正常核型。同时使用 MLL 探针定期对间期细胞进行检测, 发现所有患者均伴有 MLL 基因重排, 阳性细胞率为 44.8%~97.2%。

5. 分子生物学特征:PCR 检测结果显示所有患者 MLL-AF4 融合基因阳性, 有2例患者只进行了定性检测, 余下4例患者进行了定量检测, MLL-AF4 融合基因水平为 22.06%~107.12%。

6. 疗效:5例患者经1个疗程诱导化疗即获得

CR, 1例患者经3个疗程化疗后才获得 CR。已有3例患者进行了 allo-HSCT, 其中2例患者的移植在 CR₁ 期进行, 1例患者缓解后短期内即复发, 在 CR₂ 期进行了 allo-HSCT。2例未移植患者1例复发死亡, 1例尚处于缓解状态。新近诊断的1例患者目前处于巩固化疗阶段, 正在等待移植。

7. 生存期:截止到末次随访日, 6例患者中有1例死亡, 生存期为10个月, 5例存活患者的生存期为1~28个月。

讨 论

CD10 是一种相对分子质量为 100×10^3 的细胞表面中性肽链内切酶, 属于锌依赖性金属蛋白酶范畴。由于最早发现于 ALL 患者骨髓细胞, 又称为普通型急性淋巴母细胞性白血病抗原 (CALLA)^[5]。生理情况下, CD10 广泛表达于人类多种细胞, 并对 B 淋巴细胞的生长和增殖具有重要的调控作用^[6]。而在 B-ALL 的诊断中, CD10 是划分细胞发育阶段

表1 6例 CD10 阴性的前 B 急性淋巴细胞白血病患者的临床资料

例号	性别	年龄 (岁)	WBC ($\times 10^9/L$)	HGB (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	LDH (U/L)	骨髓原始+ 幼稚淋巴细胞
1	男	30	37.11	131	16	800	0.870
2	男	15	40.61	122	43	455	0.945
3	男	34	56.43	80	29	502	0.925
4	男	51	147.13	55	17	773	0.965
5	男	33	210.77	71	23	335	0.750
6	男	44	174.31	122	11	723	0.920

表2 6例 CD10 阴性的前 B 急性淋巴细胞白血病患者的实验室检查、治疗以及转归

例号	免疫表型	核型	FISH 检测 MLL 基因(阳性细胞率, %)	MLL-AF4 水平(%)	达 CR 疗程数	allo-HSCT	移植时机	转归	生存期(月)
1	CD19/CD22/cIgM/TdT/CD34/HLA-DR/CD38	46,XY,t(4;11)(q21;q23)[7]	97.2	+	1	否	-	死亡	10
2	CD19/CD22/CD79a/cIgM/TdT/HLA-DR/CD123/CD38	46,XY[12]	92.8	+	3	是	CR ₂	生存	28
3	CD19/CD22/CD79a/cIgM/TdT/CD34/CD123/CD15	47,XY,+?X,t(4;11)(q21;q23)[5]/46,XX[15]	79.6	107.12	1	是	CR ₁	生存	17
4	CD19/CD22/CD79a/cIgM/TdT/CD34/CD123/CD38/CD33/CD56	46,XY,t(4;11)(q21;q23)[10]	96.0	22.06	1	否	-	生存	16
5	CD19/CD22/CD79a/cIgM/HLA-DR/CD123/CD38	46,XY,t(4;11)(q21;q23)[3]/46,XY[17]	44.8	98.83	1	是	CR ₁	生存	7
6	CD19/CD22/CD79a/cIgM/HLA-DR/CD123/CD38	46,XY,t(4;11)(q21;q23)[14]/46,XY[6]	65.0	54.13	1	等待	-	生存	1

注:CR:完全缓解;allo-HSCT:异基因造血干细胞移植;+此2例患者只进行了 MLL-AF4 融合基因的定性检测, 未行定量

的重要抗原。根据WHO2008分型标准,前体B-ALL按照细胞发育程度及细胞表面抗原表达情况划分为pro、common、pre三个阶段。Pro B-ALL患者CD10均不表达,common B-ALL患者均表达CD10,而胞质IgM阳性的pre B-ALL患者中大多数CD10表达阳性,少部分患者CD10表达阴性^[2]。Gleissner等^[3]最早于2005年提出,CD10阴性胞质IgM阳性的pre B(CD10⁻/cyIgM⁺pre-B ALL)为一类特殊的ALL亚型,占成人ALL的2.2%。我们的结果显示,409例成人ALL患者中CD10⁻pre B-ALL患者6例,占ALL的1.5%,均伴有MLL基因重排,与国外文献报道类似。

混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)基因位于11q23,是血液系统恶性疾病中较常累及的基因之一。文献报道MLL基因重排所涉及的伙伴基因发生率由高到低分别为AF4、AF9、ENL、AF10、AF6、ELL、AF1P^[7]。其中,MLL-AF4主要见于B-ALL,以pro-B免疫表型为主,占成人ALL的3%~6%^[3]。该类型白血病的免疫表型一般具有以下特点:CD10⁻/CD24⁻,多伴有髓系抗原CD65w以及CD15的表达^[8]。CD10⁻通常被认为是早期淋巴细胞的标志,而同时合并CD65w⁺以及CD15⁺又提示此类型白血病细胞有可能起源于淋巴粒单核祖细胞(lymphomyelomonocytic progenitor cell)^[9]。由于这种抗原表达的独特性,曾有文献报道使用白血病细胞表面抗原表达情况预测MLL基因重排的发生。该研究发现,CD10⁻、CD13⁻、CD33⁻以及CD65w⁺预测B-ALL发生MLL基因重排的敏感性均为1.00,而特异性分别为0.78、0.11、0.11以及0.89^[9]。我们的研究结果显示,MLL-AF4⁺的B-ALL占成人ALL的4.2%,免疫表型均为CD10⁻,CD13、CD33等髓系抗原表达少见,与文献报道一致。6例患者中只有1例患者伴有CD15表达,这点与国外文献报道不符。由于CD24以及CD65w没有作为常规抗原进行检测,故上述2种抗原的表达情况不得而知。

成人ALL预后分组将pro B-ALL免疫表型划分为高危组^[1],其中部分原因是由于该免疫表型的B-ALL发生MLL基因重排的概率较高,而合并MLL基因重排的B-ALL容易复发,预后不良。国外文献报道,CD10⁻pre B-ALL在成人和儿童ALL中的发生率分别为2.2%和1.8%,并且MLL基因重排的发生率分别高达82%和64%。与儿童pro B-ALL类似,儿童CD10⁻pre B-ALL也多见于年龄<1岁的

婴儿白血病患者。因此,pro B-ALL和CD10⁻pre B-ALL虽然具有不同的免疫表型,而生物学特征却非常类似,容易合并MLL基因重排,可作为同一类ALL亚型对待^[3,9]。Ikawa等^[10]在MLL-AF4⁺婴儿白血病患者研究中发现,CD10基因启动子调控区域的高度甲基化导致CD10基因的沉默,从而使该类型患者的免疫表型表现为CD10阴性。然而CD10的表达与MLL基因重排之间的具体作用机制目前尚无定论。

我们在研究中也发现,6例CD10⁻pre B-ALL患者均合并MLL-AF4融合基因,起病时白细胞水平较高,与pro B-ALL的特征非常类似,这与文献报道一致。但国外文献无论是关于MLL-AF4⁺的B-ALL(大部分为pro B)还是CD10⁻pre B-ALL的研究中均发现患者以女性为主^[3,11],而在本研究中我们却发现6例患者均为男性。这种性别差异是否与种族有关,还需要大规模的队列随访研究得以证实。

本研究中有3例患者进行了allo-HSCT,目前均存活。对于MLL-AF4⁺患者,allo-HSCT可以明显改善预后,减少复发^[11]。由于CD10⁻pre B-ALL患者的MLL基因重排发生率高,此类型患者应在CR₁期尽量考虑行allo-HSCT。

综上所述,CD10⁻pre B-ALL是一类具有独特临床特征的成人ALL亚型,发生率较低,常见于男性,起病时白细胞水平较高,MLL-AF4融合基因表达率高,常规化疗具有较高的缓解率,但易复发,allo-HSCT有可能改善其预后。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues [M]. Lyon: IARC Press, 2008:149-155.
- [3] Gleissner B, Goekbuget N, Rieder H, et al. CD10⁻pre-B acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a distinct high-risk subgroup of adult ALL associated with a high frequency of MLL aberrations: results of the German Multicenter Trials for Adult ALL (GMALL)[J]. Blood, 2005,106(13):4054-4056. DOI: 10.1182/blood-2005-05-1866.
- [4] Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) [J]. Leukemia, 1995, 9(10):1783-1786.
- [5] Kalled SL, Siva N, Stein H, et al. The distribution of CD10

(NEP 24.11, CALLA) in humans and mice is similar in non-lymphoid organs but differs within the hematopoietic system: absence on murine T and B lymphoid progenitors [J]. Eur J Immunol, 1995, 25(3):677-687. DOI: 10.1002/eji.1830250308.

[6] Cutrona G, Tasso P, Dono M, et al. CD10 is a marker for cycling cells with propensity to apoptosis in childhood ALL [J]. Br J Cancer, 2002, 86(11):1776-1785. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600329.

[7] Meyer C, Kowarz E, Hofmann J, et al. New insights to the MLL recombinome of acute leukemias [J]. Leukemia, 2009, 23(8): 1490-1499. DOI: 10.1038/leu.2009.33.

[8] Schwartz S, Rieder H, Schläger B, et al. Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangement and a CD10(-)/CD24(-)/CD65s(+)/CD15(+) B-cell phenotype [J]. Leukemia, 2003, 17(8):1589-1595. DOI: 10.1038/sj.leu.2402989.

[9] Attarbaschi A, Mann G, König M, et al. Mixed lineage leukemia-rearranged childhood pro-B and CD10-negative pre-B acute lymphoblastic leukemia constitute a distinct clinical entity [J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(10):2988-2994. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-2861.

[10] Ikawa Y, Sugimoto N, Koizumi S, et al. Dense methylation of types 1 and 2 regulatory regions of the CD10 gene promoter in infant acute lymphoblastic leukemia with MLL/AF4 fusion gene [J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2010, 32(1):4-10. DOI: 10.1097/MPH.0b013e3181c29c3c.

[11] Marks DI, Moorman AV, Chilton L, et al. The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1 prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial [J]. Haematologica, 2013, 98(6):945-952. DOI: 10.3324/haematol.2012.081877.

(收稿日期:2016-05-20)

(本文编辑:王叶青)

《中华血液学杂志》第九届编辑委员会委员名单

顾问 曹雪涛 陈赛娟 阮长耿

名誉总编辑 王建祥

总编辑 黄晓军

副总编辑 胡豫 马军 邵宗鸿 沈志祥 吴德沛 肖志坚 张凤奎

编辑委员(按汉语拼音排序) 艾辉胜 秘营昌 常英军 陈虎 陈方平 陈芳源 陈国安 陈国强
 陈洁平 陈苏宁 陈协群 陈元仲 程涛 董文革 方美云 冯建明 付蓉 高春记
 高子芬 韩明哲 侯健 侯明 胡豫 胡灯明 胡建达 黄河 黄慧强 黄晓军
 纪春岩 江明 江倩 金洁 克晓燕 赖永榕 李娟 李薇 李晓 李艳
 李建勇 李军民 李扬秋 李玉明 梁爱斌 刘红 刘林 刘霆 刘代红 刘开彦
 刘启发 刘卓刚 罗建民 马军 牛挺 裴雪涛 彭军 邱录贵 任汉云 邵宗鸿
 沈志祥 石远凯 宋永平 孙自敏 王椿 王敏 王欣 王季石 王健民 王景文
 王学锋 魏旭东 吴德沛 肖志坚 徐卫 徐开林 杨林花 杨仁池 于力 张梅
 张曦 张凤奎 张广森 张连生 张晓辉 赵洪国 赵维莅 赵永强 郑以州 周晋
 周道斌 周剑峰 朱军 竺晓凡

通讯编委(按汉语拼音排序) 白海 常春康 崔久崑 杜欣 冯四洲 韩冰 韩艳秋 胡炯
 贾永前 姜尔烈 李剑 刘兵 刘澎 钱文斌 邱林 汝昆 施均 宋玉琴
 孙春艳 唐晓文 佟红艳 王迎 王昱 王宏伟 魏辉 吴彤 肖扬 许兰平
 俞文娟 张磊 张翼鹭 郑国光 庄俊玲