

# 染色体核型分析和荧光原位杂交 技术监测慢性髓性白血病患者 细胞遗传学反应的比较

王峥 李娜 高露 冯麟 秦亚臻 党辉 师岩 何琦 江倩 江浩 赖悦云

**【摘要】** 目的 比较染色体核型分析和荧光原位杂交(FISH)两种方法检测酪氨酸激酶抑制剂(TKI)治疗慢性髓性白血病(CML)细胞遗传学反应的差异,及其与分子学反应的相关性。方法 同期采集367例CML患者504份骨髓样本,以传统显带分析(CBA)法和FISH法进行染色体分析,以实时荧光定量PCR(RQ-PCR)法检测BCR-ABL转录本水平。结果 504份样本中,采用CBA法检测,344份达完全细胞遗传学反应(CCyR);采用FISH法检测,297份达CCyR(BCR-ABL<sup>+</sup>细胞<1%)。同期比较493份标本的CBA、FISH和RQ-PCR结果,在337份CBA-CCyR的样本中,273份(81.0%)达FISH-CCyR,289份(85.8%)分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%;290份FISH-CCyR样本中,261份(90.0%)分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%。CBA-CCyR和FISH-CCyR两组样本BCR-ABL<sup>IS</sup>中位数分别为0.21%和0.13%,差异无统计学意义( $z = -1.875, P = 0.061$ )。将FISH结果按BCR-ABL<sup>+</sup>细胞比例分成0、>0~<1%、1%~5%三组,三组样本获分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%的比例分别为94.1%、57.6%、27.7%,差异有统计学意义( $\chi^2 = 43.499, P < 0.001; \chi^2 = 9.734, P = 0.003$ );三组BCR-ABL<sup>IS</sup>中位数分别为0.10%、0.64%、1.80%,差异有统计学意义( $z = -5.864, P < 0.001; z = -4.787, P < 0.001$ )。结论 CBA和FISH两种方法对于CCyR的监测具有较好的一致性,FISH比CBA法敏感性更高,FISH结果与分子学反应有更好的一致性,但如何定义FISH-CCyR仍需大宗病例随访研究。

**【关键词】** 白血病,髓系,慢性,BCR-ABL阳性; 细胞遗传学分析; 原位杂交,荧光

**Comparative study of cytogenetic response evaluated by conventional banding analysis and fluorescence in situ hybridization in chronic myeloid leukemia patients during tyrosine kinase inhibitor treatment** Wang Zheng, Li Na, Gao Lu, Feng Lin, Qin Yazhen, Dang Hui, Shi Yan, He Qi, Jiang Qian, Jiang Hao, Lai Yueyun. Peking University People's Hospital, Peking University Institute of Hematology, Beijing Key Laboratory of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Beijing 100044, China  
Corresponding author: Lai Yueyun, Email: laiyueyun1008@sina.com

**【Abstract】 Objective** To compare the cytogenetic response detected by conventional banding analysis (CBA) and fluorescence in situ hybridization (FISH) and to explore the correlation between the cytogenetic and molecular response in chronic myeloid leukemia (CML) patients during tyrosine kinase inhibitor (TKI) treatment. **Methods** CBA, FISH and real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) methods were performed to detect the cytogenetic and molecular response simultaneously in 504 bone marrow samples from 367 CML patients who received TKI treatment. **Results** Among 504 samples, 344 were detected to reach complete cytogenetic response (CCyR) by CBA, while 297 samples reached CCyR by FISH which were considered to carry BCR-ABL positive cells <1%. When the results of CBA, FISH and RQ-PCR were compared in 493 samples at the same time, it showed that in 337 samples with CBA-CCyR, 273 (81.0%) reached FISH-CCyR and 289 (85.8%) were BCR-ABL<sup>IS</sup> (International Scale, IS) ≤1% by RQ-PCR, compared to 9.0 (261/290) were BCR-ABL<sup>IS</sup> ≤1% among 290 samples with FISH-CCyR. There was no significant difference in the median value of BCR-ABL<sup>IS</sup> between samples in CBA-CCyR and FISH-CCyR (0.21% vs 0.13%,  $z = -1.875, P = 0.061$ ).

Furthermore, when the samples were divided into three groups according to BCR-ABL positive cells ( $0 < 0 \sim < 1\%$ ,  $1\% \sim 5\%$ ) by FISH, the statistical difference was observed, the proportion of samples with BCR-ABL<sup>IS</sup>  $\leq 1\%$  in the three groups were 94.1%, 57.6% and 27.7% respectively ( $\chi^2 = 43.499$ ,  $P < 0.001$ ;  $\chi^2 = 9.734$ ,  $P = 0.003$ ), while the median value of BCR-ABL<sup>IS</sup> were 0.10%, 0.64% and 1.80% respectively ( $z = -5.864$ ,  $P < 0.001$ ;  $z = -4.787$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** FISH results were in good concordance with CBA in identify samples in CCyR, FISH was more sensitive and had better correlation with RQ-PCR results than CBA, but how to define FISH-CCyR need further study.

**【Key words】** Leukemia, myelogenous, chronic, BCR- ABL positive; Cytogenetic analysis; In situ hybridization, fluorescence

慢性髓性白血病(CML)是一种造血干细胞的恶性克隆性疾病,约95%的CML患者存在经典的t(9;22)(q34;q11)染色体异常,变异型易位不足5%。随着酪氨酸激酶抑制剂(TKI)在CML中的广泛应用,监测细胞遗传学反应对于预测和评估疗效至关重要。基于骨髓传统显带分析(CBA)技术可将细胞遗传学反应分为无细胞遗传学反应(Ph<sup>+</sup>细胞 > 95%)、少量细胞遗传学反应(Ph<sup>+</sup>细胞 36% ~ 95%)、部分细胞遗传学反应(PCyR, Ph<sup>+</sup>细胞 1% ~ 35%)和完全细胞遗传学反应(CCyR, Ph<sup>+</sup>细胞为0)。CCyR是CML无疾病进展生存(PFS)和总生存(OS)最可靠的早期预测标志<sup>[1-2]</sup>。利用CBA定义细胞遗传学反应,必须取骨髓标本,且少数病例可出现培养失败或者中期分裂象数量太少而无法评估的情况。FISH技术作为CBA的有效补充可为细胞遗传学反应的评估提供可靠依据。有研究证实FISH和CBA结果有较好的一致性<sup>[3-4]</sup>。本研究比较CBA和FISH技术在监测TKI治疗过程中CML患者细胞遗传学反应的差异,评价FISH在CML细胞遗传学疗效监测中的意义,并初步探讨利用FISH评判CCyR的临床价值。

## 病例与方法

1. 病例:2006年3月至2015年9月我所收治的367例接受TKI治疗的CML患者,其中男235例,女132例,中位年龄38.5(5~79)岁;CML的诊断标准参照《中国慢性髓性白血病诊断和治疗指南(2013年版)》<sup>[5]</sup>。TKI治疗中定期进行骨髓细胞形态学、细胞遗传学和分子生物学检测。患者人均采集标本1.4(1~6)次,其中采集1次者265例,2次者77例,3次者17例,4次者7例,6次者1例。共计504份骨髓样本。

2. CBA:染色体标本取自患者骨髓细胞,采用24 h短期培养后收获细胞,染色体标本制备和G显带按本单位细胞遗传学实验室常规方法。核型异常命名根据《人类细胞遗传学国际命名法体制

(ISCN)2013》进行描述。每例患者尽可能分析中期分裂细胞20个,计数Ph<sup>+</sup>细胞比例,并识别有无克隆演变。根据骨髓中Ph<sup>+</sup>细胞比例,将细胞遗传学反应分为未达PCyR、PCyR和CCyR。

3. FISH:取染色体G显带分析后剩余的悬液,采用位点特异性GLP BCR-ABL双色双融合探针(购自北京金菩嘉医疗科技有限公司)进行FISH检测,按照本单位细胞遗传学实验室常规FISH检测方法<sup>[6]</sup>进行操作。每份标本分析至少200个间期细胞,计数BCR-ABL阳性细胞比例,并观察融合信号类型。FISH检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞 < 1%定义为达到FISH-CCyR。

4. 实时荧光定量PCR(PQ-PCR)法检测BCR-ABL融合基因:按照本单位分子生物学实验室常规方法<sup>[7]</sup>对P210(b2a2型和b3a2型)BCR-ABL转录本水平进行检测分析。以ABL为内参基因,ABL拷贝数至少大于32 000, RQ-PCR检测的敏感度为MR4.5(BCR-ABL<sup>IS</sup> = 0.0032%)。BCR-ABL水平 = BCR-ABL拷贝数/ABL拷贝数×100%。根据我所分子生物学实验室与澳大利亚阿德莱德国际参比实验室(IMVS)进行标本交换得到的有效转化系数0.65,将本所检测所得的BCR-ABL以IS数值表示(仅限于BCR-ABL<sup>IS</sup> ≤ 10%的结果),即BCR-ABL<sup>IS</sup> = 本所BCR-ABL检测值×0.65。

5. 统计学处理:应用SPSS18.0软件进行统计分析。组间基因表达水平的比较采用非参数Mann-Whitney U检验,率的比较采用交叉表卡方检验。

## 结 果

### 一、CBA检测结果

367例患者的504份骨髓样本,其中9份(1.8%)样本培养失败,495份样本可得到有效检测结果,分析的中期分裂象数目中位数为20(1~20)个,其中分裂象数目 ≥ 20个384份(76.2%), 10~19个73份(14.5%), < 10个38份(7.5%)。7例患者为变异类型易位,包括t(15;22)(q26;q11)、t(17;22)(p13;

q11)、t(21;22)(q22;q11)、t(9;12;22)(q34;q13;q11)、t(9;22;11)(q34;q11;q13)、t(1;9;22)(q21;q34;q11)、t(1;9;22;12)(q23;q34;q11;q13)各1例。在495份样本中,70份未达PCyR,81份达到PCyR,344份达到CCyR。

## 二、FISH检测结果

用20例健康供者的正常骨髓样本进行FISH检测,每例标本计数500个细胞,按BCR-ABL<sup>+</sup>细胞百分率的均值+3倍标准差作为FISH异常阈值。由于不同的BCR-ABL融合信号类型检测阈值差异很大,本研究对各种不同融合信号分别建立相应的检测阈值,以最大程度减少假阴性或假阳性概率,各种融合信号检测阈值如下:1红(R)1绿(G)2黄(F)(1R1G2F)、2R2G1F、2R1G1F、1R2G1F、2R2G2F、3F及3F以上融合信号阈值均为0;1R1G1F融合信号的阈值为18.96%。对504份骨髓样本进行FISH检测,均能得到有效的检测结果。这些样本中分析的间期细胞核为200~500个。信号类型不是经典BCR-ABL融合信号(1R1G2F)的有35例患者的37份样本,其中1R1G1F有11份,2R2G1F有12份,2R1G1F有5份,1R1G3F有4份,1R2G1F有2份,1R1G多F有1份,1G3F有1份,2R2G2F有1份。504份样本中58份FISH检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞比例>35%,48份>5%~35%,101份1%~5%,297份<1%。

## 三、CBA、FISH和RQ-PCR结果比较

由于FISH检测1R1G1F融合信号的异常阈值高,出现1R1G1F融合信号的病例不宜利用FISH监测微小残留病(MRD)。因此504份样本中除去11份BCR-ABL融合信号为1R1G1F的样本,其余493份骨髓样本同时通过CBA、FISH进行染色体分析和RQ-PCR检测BCR-ABL融合基因,比较CBA、FISH检测结果及与分子学反应的差异。

1. CBA和FISH结果比较:结果见表1。利用CBA方法,337份样本达到CCyR,其中273份(81.0%)同时达到FISH-CCyR(BCR-ABL<sup>+</sup>细胞<1%),57份FISH检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞1%~5%,7份>5%。147份未达CBA-CCyR的标本中,11份(7.5%)达到FISH-CCyR。290份FISH-CCyR的样本中有6份CBA培养失败,273份(94.1%)达到CBA-CCyR。FISH-BCR-ABL<sup>+</sup>细胞比例1%~5%和>5%组中各有57份(57.6%)和7份(7.1%)样本达到CBA-CCyR。

2. 获CBA-CCyR和FISH-CCyR患者的分子学

表1 传统显带分析(CBA)和FISH法评估细胞遗传学反应一致性分析(份)

细胞遗传学反应(Ph <sup>+</sup> ) (FISH)	样本数	细胞遗传学反应(CBA)			
		未达PCyR	PCyR	CCyR	失败
>35%	57	51	4	2	0
>5%~35%	45	14	25	5	1
1%~5%	101	0	42	57	2
>0~<1%	33	3	3	26	1
0	257	0	5	247	5
合计	493	68	79	337	9

注:PCyR:部分细胞遗传学反应;CCyR:完全细胞遗传学反应

反应比较:337份CBA-CCyR样本中289份(85.8%)分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%,290份FISH-CCyR样本中261份(90.0%)分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%。显示CBA-CCyR与FISH-CCyR具有很好的一致性。两组样本BCR-ABL的转录水平中位数分别为0.21%和0.13%,差异无统计学意义( $z = -1.875, P = 0.061$ )。比较273份同时达到CBA-CCyR和FISH-CCyR与64份仅达到CBA-CCyR未达到FISH-CCyR的样本,前者BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%的比例显著增加(92.7%对56.2%, $\chi^2 = 56.313, P < 0.001$ ),中位BCR-ABL<sup>IS</sup>转录水平显著降低(0.12%对1.70%, $z = -10.234, P < 0.001$ )(表2)。

3. 不同FISH检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞数样本分子学反应比较:按FISH检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞数的比例将样本分成三组:无BCR-ABL<sup>+</sup>细胞、>0~<1%、1%~5%。三组BCR-ABL<sup>IS</sup>≤1%的样本比例分别为94.1%、57.6%、27.7%,差异有统计学意义( $\chi^2 = 43.499, P < 0.001; \chi^2 = 9.734, P = 0.003$ )。三组的BCR-ABL<sup>IS</sup>转录水平的中位数分别为0.10%、0.64%、1.80%,差异有统计学意义( $z = -5.864, P < 0.001; z = -4.787, P < 0.001$ )(表2)。

## 四、克隆演变

367例患者中CBA分析显示7例(1.9%)患者检出Ph<sup>+</sup>细胞克隆演变,主要附加异常为+8(4例)和+Ph(3例),其中2例分别于服药后半年和2年向急性淋巴细胞白血病转化。10例(2.7%)患者检出Ph<sup>+</sup>细胞克隆演变(表3),其中例4同时伴有Ph<sup>+</sup>细胞克隆演变。FISH检测出5例(1.4%)患者具有+Ph克隆演变。

## 讨 论

TKI治疗CML过程中,是否达到CCyR一直以

来都是最重要的评估早期疗效的指标,在治疗后的各个时间点(3、6、12和18个月)获得CCyR的患者,之后发生不良事件的概率均低于未获得CCyR的患者<sup>[8]</sup>。虽然CBA检测的Ph<sup>+</sup>细胞的比例不能与FISH检测的BCR-ABL<sup>+</sup>细胞的比例直接对应,但两种方法在定义CCyR时能达到较好的一致性<sup>[3-4]</sup>。本研究结果显示,FISH检测的BCR-ABL<sup>+</sup>细胞比例低于1%的样本中94.1%都能达到CBA-CCyR。然而达到CBA-CCyR的样本中有19%FISH技术检测BCR-ABL<sup>+</sup>细胞 $\geq 1\%$ 。有研究者认为CBA-CCyR相当于BCR-ABL<sup>IS</sup> $\leq 1\%$ <sup>[9-10]</sup>。本研究比较达到CBA-CCyR的样本中FISH检测阳性细胞 $< 1\%$ 和 $\geq 1\%$ 两组样本的分子生物学反应显示,两组中BCR-ABL的转录水平中位数分别为0.12%和1.70%,前者转录水平显著低于后者( $P < 0.001$ );前者分子生物学反应BCR-ABL<sup>IS</sup> $\leq 1\%$ 的比例明显高于后者( $P < 0.001$ )。以上数据进一步证实在评估MRD时,FISH

比CBA敏感性更高,FISH结果与分子学反应附合度更好。

由于CBA对于细胞培养和染色体分析技术要求较高,相比之下,FISH检测操作简便,无需细胞培养,敏感性更高,更适于MRD的检测。FISH技术应用于CML细胞遗传学疗效评估关键取决于异常阈值的建立以及经验丰富的检验人员对于非典型BCR-ABL融合信号的判读。本研究通过分析20例正常人样本,根据均值+3倍标准差的公式分别计算各种不同融合信号的异常阈值,1R1G1F融合信号的阈值高达18.96%,而经典融合信号(1R1G2F)和其他少见类型的融合信号阈值均为0。因此对于融合信号类型为1R1G1F的伴有der(9)中间缺失的CML患者建议仍利用CBA监测细胞遗传学反应。我们的研究结果充分提示,在FISH检测中,分别建立不同类型BCR-ABL融合信号的异常阈值是非常重要的,如果建立阈值时不区别对待,极有可能计

表2 根据传统细胞遗传学显带(CBA)技术和FISH检测结果对样本进行细胞遗传学反应分组各组的分子学反应比较

组别	样本数	BCR-ABL <sup>IS</sup> > 1% [份(%)]	BCR-ABL <sup>IS</sup> $\leq 1\%$ [份(%)]	P值	中位BCR-ABL <sup>IS</sup> 转录水平(%)	P值
CBA-CCyR且FISH-BCR-ABL <sup>+</sup> 细胞 < 1%	273	20(7.3)	253(92.7)	< 0.001 <sup>a</sup>	0.12	< 0.001 <sup>a</sup>
CBA-CCyR但FISH-BCR-ABL <sup>+</sup> 细胞 $\geq 1\%$	64	28(43.8)	36(56.2)		1.70	
无FISH-BCR-ABL <sup>+</sup> 细胞	257	15(5.9)	242(94.1)	< 0.001 <sup>b</sup>	0.10	< 0.001 <sup>b</sup>
FISH-BCR-ABL <sup>+</sup> 细胞 > 0 ~ < 1%	33	14(42.4)	19(57.6)		0.64	
FISH-BCR-ABL <sup>+</sup> 细胞 1% ~ 5%	101	73(72.3)	28(27.7)	0.003 <sup>b</sup>	1.80	< 0.001 <sup>b</sup>

注:<sup>a</sup>为与CBA-CCyR但FISH-BCR-ABL<sup>+</sup>细胞 $\geq 1\%$ 组比较;<sup>b</sup>为与BCR-ABL<sup>+</sup>细胞 > 0 ~ < 1%组比较

表3 10例Ph<sup>+</sup>细胞克隆演变患者的临床资料

例号	异常克隆 种类	服药后首次 发生时间(月)	临床转归
1	+8, +6	6	服药1年后达到并持续CCyR,随访74个月,+8和+6异常克隆持续存在,疾病持续稳定
2	+Y, +8, -7	6	随访1年未达CCyR,失访
3	+8, -7	12	服药18个月达到并持续CCyR,24个月-7消失,仅有+8,36个月后染色体正常,随访73个月疾病持续稳定
4	-7	18	服药半年出现Ph <sup>+</sup> 细胞克隆演变,Ph <sup>+</sup> 细胞具有inv(3)(q21q26)附加异常,18个月Ph <sup>+</sup> 细胞出现-7,随后inv(3)和-7持续存在,未达CCyR,46个月出现ABL基因E255K和T315I突变,疾病向急性髓系白血病转化
5	+8	9	服药12个月达到并持续CCyR,42个月+8消失,染色体正常,随访50个月疾病持续稳定
6	+Y, +8	22	服药22个月达到并持续CCyR,+8持续存在,随访54个月疾病持续稳定
7	+8, +Y, +13 +6	12	服药1年达到并持续CCyR,1年Ph <sup>+</sup> 细胞出现+8,随后相继出现+Y,+13,+6,服药30个月染色体正常,随访60个月疾病持续稳定,BCR-ABL融合基因水平为0
8	-7	12	服药1年达到CCyR,24个月疾病加速进展,行造血干细胞移植
9	+8, -Y	18	服药30个月达到CCyR,服药18个月Ph <sup>+</sup> 细胞出现+8,30个月出现-Y和+8并持续存在,随访70个月,疾病持续稳定,但BCR-ABL融合基因水平偏高(1.3%)
10	+8	12	服药1年达到并持续CCyR,+8持续存在,随访88个月疾病持续稳定

注:CCyR:完全细胞遗传学反应;PCyR:部分细胞遗传学反应

算出比实际情况高很多的检验阈值,从而可能提高了FISH检测偏差,导致一定的假阳性率和假阴性率。迄今为止,尚未见将不同融合信号阈值区别对待的报道,文献报道的DF探针的检测阈值几乎都不超过1%<sup>[4,11-12]</sup>,因此多数学者建议将FISH-CCyR定义为BCR-ABL<sup>+</sup>细胞<1%<sup>[4,9]</sup>。本研究通过去除11份阈值较高的融合信号类型为1R1G1F的样本后,对于其他融合信号的患者采用0为异常检验阈值,分析FISH-BCR-ABL<sup>+</sup>细胞为>0~<1%组的样本,该组样本共有33份,其分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>中位数为0.64%(0.16%~1.70%),明显高于BCR-ABL<sup>+</sup>细胞为0组的0.10%( $P<0.001$ ),也明显低于BCR-ABL<sup>+</sup>细胞在1%~5%区间组分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>中位数1.80%( $P<0.001$ )。此33份样本中有14例(42.4%)分子学反应BCR-ABL<sup>IS</sup>>1%,7例(21.2%)未达到CBA-CCyR。如果以1%作为FISH阈值,这些样本都将被判定为达到FISH-CCyR,由此可能造成误判。根据本研究结果,强烈建议在FISH检测中,分别建立不同类型BCR-ABL融合信号的异常阈值,至于如何定义真正意义上的FISH-CCyR,0和1%哪个界限更合理、更客观,仍需大宗病例研究确定。

此外,CML患者在治疗过程中,还会出现Ph<sup>+</sup>或Ph<sup>-</sup>细胞克隆演变。Ph<sup>+</sup>克隆演变是遗传学不稳定或疾病进展的特征,不容忽视。本研究中Ph<sup>+</sup>克隆演变出现最多的附加异常是+8和+Ph,这与文献[13]报道相符。文献报道Ph<sup>+</sup>克隆演变的发生率为3%~11%,尽管Ph<sup>-</sup>克隆演变在预后中的意义尚不明确,却仍然值得重视<sup>[14-16]</sup>。在本研究中Ph<sup>-</sup>克隆演变的检出率为2.7%,主要异常为+8,-7,+Y和+6等。随访24~88个月,4例-7患者1例失访,1例-7为一过性异常,1例向AML转化,1例疾病加速进展,本组资料提示在TKI治疗过程中Ph<sup>-</sup>细胞持续出现-7异常克隆预后不良,应加强疾病监测。由于本组资料出现Ph<sup>-</sup>克隆演变病例数相对较少,需要进一步扩大样本量、延长随访时间才能进一步明确Ph<sup>-</sup>克隆演变的意义。

#### 参考文献

- [1] Branford S, Fletcher L, Cross NC, et al. Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials [J]. *Blood*, 2008, 112 (8):3330-3338. DOI: 10.1182/blood-2008-04-150680.
- [2] Cortes J, Hochhaus A, Hughes T, et al. Front-line and salvage therapies with tyrosine kinase inhibitors and other treatments in chronic myeloid leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29 (5):524-531. DOI: 10.1200/JCO.2010.31.3619.
- [3] Lundán T, Juvonen V, Mueller MC, et al. Comparison of bone marrow high mitotic index metaphase fluorescence in situ hybridization to peripheral blood and bone marrow real time quantitative polymerase chain reaction on the International Scale for detecting residual disease in chronic myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2008, 93 (2):178-185. DOI: 10.3324/haematol.11910.
- [4] Testoni N, Marzocchi G, Luatti S, et al. Chronic myeloid leukemia: a prospective comparison of interphase fluorescence in situ hybridization and chromosome banding analysis for the definition of complete cytogenetic response: a study of the GIMEMA CML WP [J]. *Blood*, 2009, 114 (24):4939-4943. DOI: 10.1182/blood-2009-07-229864.
- [5] 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.
- [6] 赖悦云, 冯麟, 王峥, 等. 应用国产ES探针检测慢性髓系白血病的bcr/abl融合及der(9)中间缺失[J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18 (1):199-203.
- [7] 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.
- [8] Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al. International randomized study of interferon vs STI571 (IRIS) 8-year follow up: sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib [J]. *Blood*, 2009, 114 (22):462.
- [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] 赖悦云, 秦亚涛, 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.
- [11] Dewald GW, Wyatt WA, Juneau AL, et al. Highly sensitive fluorescence in situ hybridization method to detect double BCR/ABL fusion and monitor response to therapy in chronic myeloid leukemia [J]. *Blood*, 1998, 91 (9):3357-3365.
- [12] Chomel JC, Brizard F, Veinstein A, et al. Persistence of BCR-ABL genomic rearrangement in chronic myeloid leukemia patients in complete and sustained cytogenetic remission after interferon- $\alpha$  therapy or allogeneic bone marrow transplantation [J]. *Blood*, 2000, 95 (2):404-408.
- [13] 张艳, 江倩, 邱镜滢, 等. 甲磺酸伊马替尼治疗慢性粒细胞白血病附加异常Ph阳性克隆的预后意义[J]. *中华内科杂志*, 2007, 46 (8):648-650. DOI: 10.3760/j.issn:0578-1426.2007.08.012.
- [14] 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. DOI: 10.3760/j.issn:0253-2727.2005.01.006.

- [15] 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.

- [16] 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.

(收稿日期:2017-04-09)

(本文编辑:王叶青)

## ·病例报告·

# 西达本胺联合方案治疗急性髓系白血病二例

曹利红 俞文娟 范翠华 林亚卿 周脉玉 娄君燕 金洁

**Acute myeloid leukemia treated with chidamide combined regimens: two cases report** Cao Lihong, Yu Wenjuan, Fan Cuihua, Lin Yaqing, Zhou Maiyu, Lou Junyan, Jin Jie

Corresponding author: Jin Jie, Department of Hematology, The First Affiliated Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310000, China. Email: zjuhematology@163.com

例1,男,52岁。2016年4月11日因“发热、乏力4d”就诊于当地医院。入院时血常规:WBC  $77.58 \times 10^9/L$ , HGB 80 g/L, PLT  $59 \times 10^9/L$ ;骨髓象:原始粒细胞占0.250,原始+幼稚单核细胞占0.390,提示急性髓系白血病(AML)- $M_{4b}$ ;骨髓免疫分型:原始细胞占63.40%,HLA-DR阳性率90.90%,CD38阳性率60.20%,CD117阳性率88.00%,CD13阳性率93.60%,CD33阳性率99.00%,CD11b阳性率29.50%,CD7阳性率22.70%;未进行细胞遗传学和分子生物学检测。患者否认前驱血液病史。确诊为AML- $M_{4b}$ 。给予IA方案[去甲氧柔红霉素20 mg第1~2天,10 mg第3天;阿糖胞苷(Ara-C)100 mg,每12 h 1次,第1~7天]诱导化疗。化疗后骨髓抑制期转入我院。骨髓恢复期复查骨髓象:有核细胞量中等,原始粒细胞占0.130,原始+幼稚单核细胞占0.170,提示诱导治疗失败。染色体核型:正常核型。分子生物学检测:FLT3-ITD突变阳性,预后分型高危。药敏试验显示白血病细胞对西达本胺较敏感,对索坦和高三尖杉酯碱(HHT)次之,而对索拉非尼并不敏感。故再诱导化疗方案为西达本胺+索坦+HA(西达本胺30 mg,每周2次,共2周;索坦50 mg,第1~14天;HHT 2 mg,第1~14天;Ara-C 50 mg,每12 h 1次,第1~7天)。化疗期间不良反应:粒细胞缺乏持续17 d,PLT  $< 20 \times 10^9/L$ 持续19 d;偶有恶心,无呕吐;口腔溃

疡,不影响进食;肺部感染,无呼吸困难。骨髓恢复期复查骨髓象:原始粒细胞占0.020,原始+幼稚单核细胞占0.020,提示形态学缓解;FLT3-ITD突变转阴。之后患者先后接受4个疗程巩固化疗:西达本胺+索坦+HAA 1个疗程;西达本胺+HAA(因经济原因,停用索坦)3个疗程。期间复查骨髓象,均提示形态学缓解,FLT3-ITD突变阴性;鞘内化疗4次,脑脊液常规及生化检测均未见异常。2016年12月23日开始行清髓性亲缘半相合造血干细胞移植,期间发生轻度肠道移植物抗宿主病,EB病毒相关性出血性膀胱炎,均治愈。目前患者移植后100余天,血常规:WBC  $4.2 \times 10^9/L$ , HGB 63 g/L, PLT  $253 \times 10^9/L$ ;骨髓象:原始粒细胞占0.005,原始+幼稚单核细胞占0.025,FLT3-ITD阴性;目前生存状态良好。迄今患者总生存时间已达1年余。

例2,女,74岁。主因“发现白细胞减少1个月余”于2016年5月就诊于当地医院。根据骨髓检查结果确诊为AML(具体不详)。患者拒绝治疗。2016年10月患者因肺感染就诊于我院,骨髓象:原始细胞占0.910,提示AML- $M_1$ ;骨髓免疫分型:原始髓系细胞群约占非红系细胞的92.62%,提示AML可能;分子生物学检测:IDH2 R172K突变45%;染色体核型分析:正常核型。确诊为AML- $M_1$ 。15 d后,肺感染好转,血常规进行性下降:WBC  $2.3 \times 10^9/L$ , HGB 68 g/L, PLT  $9 \times 10^9/L$ ,幼稚细胞占0.20。药敏试验结果显示白血病细胞对西达本胺与Ara-C的联合方案比较敏感,阿克拉霉素(Acla)次之,地西他滨不敏感。故诱导化疗方案为西达本胺+CAG(西达本胺30 mg,每周2次,共2周;Acla 10 mg,第1~7天;Ara-C 20 mg,每12 h 1次,第1~10天;G-CSF 300  $\mu g/d$ )。化疗期间不良反应:粒细胞缺乏持续27 d;PLT  $< 20 \times 10^9/L$ 持续20 d;肝功能损害(ALT 135 U/L),经护肝治疗后治愈;肺感染较化疗前明显好转。化疗结束后第45天复查骨髓象:原始细胞占0.080,提示形态学部分缓解,IDH2 R172K突变阴性。之后患者拒绝继续化疗及复查。迄今患者总生存时间已达半年余。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.11.013

作者单位:310004 杭州,树兰(杭州)医院血液科(曹利红、范翠华、林亚卿、周脉玉、娄君燕);浙江大学医学院附属第一医院血液科(俞文娟、金洁)

通信作者:金洁,Email:jiej0503@163.com

(收稿日期:2017-04-28)

(本文编辑:王叶青)