

## 异基因造血干细胞移植治疗16例混合表型急性白血病患者临床疗效观察

赵林艳 周洁 龚芳 张日 吴德沛

**Clinical efficacy observation of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in 16 patients with mixed phenotype acute leukemia** Zhao Linyan, Zhou Jie, Gong Fang, Zhang Ri, Wu Depei

Corresponding author: Zhang Ri, Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis of Ministry of Health, Suzhou 215006, China. Email: zhang\_r\_i@163.com

混合表型急性白血病(MPAL)是指急性白血病(AL)中同时或先后具有髓、淋或更多系列特征的一组疾病,具有髓外浸润发生率高、易复发、疗效差、生存期短等临床特征<sup>[1]</sup>,如何提高其治疗效果是目前亟待解决的问题。目前国际上认为异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是治疗高危AL的有效方法之一,也是唯一可能治愈的方法。但迄今国内外关于MPAL患者行allo-HSCT的报道甚少,为进一步明确allo-HSCT在MPAL治疗中的作用,我们总结了16例MPAL患者行allo-HSCT治疗后的临床疗效,现报告如下。

### 病例和方法

#### 一、病例

选取2010年4月至2014年9月在苏州大学附属第一医院血液科行allo-HSCT的16例MPAL患者。诊断标准依据2008年WHO提出的MPAL分型标准<sup>[2]</sup>,16例患者中男性10例,女性6例,中位年龄30(12~60)岁。初诊时WBC中位数 $9.08(1.71\sim 169.08)\times 10^9/L$ ,HGB中位数为 $84(47\sim 134)g/L$ ,PLT中位数为 $114.5(7\sim 295)\times 10^9/L$ 。16例患者中行单倍体移植(hi-HSCT)9例,同胞或无关全相合移植7例。患者具体临床资料见表1。

#### 二、移植方法

1. 预处理方案:16例预处理方案均应用改良白消安(Bu)/环磷酰胺(Cy)方案或全身照射(TBI)/Cy方案,改良Bu/Cy方案:移植前10天(-10d)司莫司汀 $250\text{ mg/m}^2$ , -9、-8d阿糖胞苷(Ara-C) $4\text{ g/m}^2$ , -7~-5d Bu  $4\text{ mg/kg}$  每6h 1次, -4、-3d Cy  $1.8\text{ mg/m}^2$ ;加用抗胸腺细胞球蛋白(ATG)者, -5~-2d ATG  $2.5\text{ mg/kg}$ 。TBI/Cy预处理方

案: -8d 司莫司汀  $250\text{ mg/m}^2$ , -7d 肺部屏蔽下行单次 $8.0\sim 8.5\text{ Gy}$ 或-7、-6d分次予总量 $12\text{ Gy}$  TBI; -6、-5d Ara-C  $4\text{ g/m}^2$ , -4、-3d Cy  $1.8\text{ mg/m}^2$ ;加有ATG者, -5~-2d ATG  $2.5\text{ mg/kg}$ 。对于行无关全相合及hi-HSCT的患者,在预处理期间加用ATG预防移植物抗宿主病(GVHD)。具体预处理方案见表1。

2. 干细胞的动员和采集:供者接受粒细胞集落刺激因子(G-CSF)  $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 连续皮下注射4~5d。第4天采集骨髓或外周血干细胞,达到采集物中单个核细胞(MNC)总数 $>5\times 10^8/\text{kg}$ 、 $\text{CD}34^+$ 细胞数 $>2\times 10^6/\text{kg}$ 。若骨髓采集不足,第2天采集外周血干细胞;若外周血不足,第2天继续采集以补足。ABO血型主要不合者,采用羟乙基淀粉分离沉降红细胞后再输注。

3. GVHD的预防:使用环孢素(CsA)+甲氨蝶呤(MTX)+霉酚酸酯(MMF)+ATG等多种免疫抑制剂预防GVHD。-9d静脉滴注CsA  $3\text{ mg/kg}$ ,肠道功能恢复正常后改为口服,每周检测血CsA浓度,使之维持在 $150\sim 250\text{ }\mu\text{g/L}$ ,若未发生GVHD,则至移植后半年左右减停。+1d MTX  $15\text{ mg/m}^2$ , +3、+6、+11d MTX  $10\text{ mg/m}^2$ 。-9d开始口服MMF  $15\text{ mg/kg}$ ,每12h 1次,至+30d开始减量,未发生GVHD则至+90d停用。-5~-2d予以ATG  $2.5\text{ mg/kg}$ 。患者出现II度及以上aGVHD,可加用甲泼尼龙、他克莫司(FK506)、间充质干细胞(MSC)或抗CD25单抗等。

4. 其他并发症的预防:采用低剂量肝素加前列腺素E1静脉滴注预防肝静脉阻塞病(VOD)。预处理过程中予抗CMV治疗,回输后监测CMV-PP65、CMV-DNA及EBV-DNA;粒细胞缺乏期无发热患者予预防性应用抗生素,体温 $>38\text{ }^\circ\text{C}$ 的患者给予经验性应用广谱抗生素,并行血培养、导管培养等查找病原菌,并根据培养结果选用敏感抗生素治疗。此外,预处理期间予常规止吐、护胃及抗癫痫等治疗;PLT $\leq 20\times 10^9/L$ 时予相应血型新鲜血小板输注,血小板输注效果不佳的患者,可根据血小板抗体检查筛选合适血小板;HGB $\leq 70\text{ g/L}$ 时,予输注相应血型洗涤红细胞(由患者及供者血型决定)。

5. 观察指标:中性粒细胞(ANC) $\geq 0.5\times 10^9/L$ 连续3d、不输血小板时PLT $\geq 20\times 10^9/L$ 连续3d的第1天作为粒细胞和血小板植入时间。植入状态:采用PCR技术监测DNA指纹图,供受者性别不同时以荧光原位杂交技术监测性染色体。移植后监测供受者嵌合度(STR)及EBV-DNA、CMV-DNA等相关病原学检查,检测骨髓形态、相应融合基因及微小残留病(MRD)监测疾病复发情况。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.11.017

作者单位:215006 苏州大学附属第一医院血液科、江苏省血液研究所

通信作者:张日, Email: zhang\_r\_i@163.com

6. 随访:所有患者在行 allo-HSCT 后开始随访,随访期为 4~56 个月,至 2014 年 12 月截止,中位随访时间为 19.5 个月,统计患者总体生存(OS)和移植相关死亡(TRM)率。患者随访及转归情况见表 1。

7. 酪氨酸激酶抑制剂(TKI)的应用:对于 Ph<sup>+</sup>-MPAL 的患者,移植前予以化疗联合 TKI 治疗,预处理前停用,移植后 2 个月左右恢复使用。

8. 统计学处理:采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计学分析,生存分析采用 Kaplan-Meier 法。全相合和单倍体移植患者 aGVHD、cGVHD 发生率进行  $\chi^2$  检验。

结 果

1. 造血重建:16 例患者中除 1 例巨核系尚未重建,其余患者粒系和巨核系均重建成功;中性粒细胞  $\geq 0.5 \times 10^9/L$  的中位时间为 12(11~20)d,PLT  $\geq 20 \times 10^9/L$  的中位时间为 14(11~20)d。植入物中 MNC、CD34<sup>+</sup> 细胞中位数分别为  $8.85 \times 10^8/kg$  和  $3.85 \times 10^6/kg$ 。定期检测 STR 和 ABO 血型,结果证实所有患者均为完全嵌合。性别不相合者于移植后每月行 FISH 监测性染色体。

2. GVHD 发生情况:16 例移植患者发生 aGVHD 13 例(81.25%),中位发生时间 23(9~152)d,其中 II 度 2 例,III~IV 度 4 例;发生 cGVHD 2 例(12.5%),分别发生于 +91 d 和 +216 d,均为广泛型,除有皮肤广泛受累外,还有其他器官如眼睛、肝脏损伤。

3. 原发病复发情况:随访期间 16 例患者中有 3 例(18.75%)出现复发。1 例于 +75 d 出现骨髓复发,此后 STR

明显下降;1 例患者于 +134 d 出现骨髓复发; 1 例伴有 Ph 染色体阳性患者于 +210 d 出现骨髓和 BCR-ABL 基因的分子学复发。至随访截止日该 3 例患者均存活。

4. 其他并发症:移植后通过监测 EBV-DNA、CMV-DNA 拷贝数,诊断 CMV 血症 6 例、EBV 血症 4 例。予膦甲酸钠、更昔洛韦等抗病毒治疗后,病情均得到控制。

5. HSCT 疗效:至随访终止,16 例移植患者均未出现移植相关死亡,1 例于移植后 25 个月因感染死亡。预期 3 年 OS 率为 85.7%,无病生存(DFS)率为 69.2%。3 例患者复发,其余 12 例患者骨髓形态学、MRD、STR 均无明显异常。

讨 论

MPAL 是一种少见的 AL,其发病率占成人 AL 的 2%~5%<sup>[3-4]</sup>,依据免疫表型分为 4 种:髓系和 B 系抗原共表达(M/B),髓系和 T 系抗原共表达(M/T),髓系、B 系和 T 系共表达(M/B/T),B 系和 T 系共表达(B/T),其中以 M/B、M/T 最为常见<sup>[5]</sup>。有关 MPAL 的克隆起源目前仍不明确,人们猜测此种白血病细胞来源于一种早期造血干细胞。Bell 和 Bhandoda 在相关动物实验中证实这种多能干细胞的存在<sup>[6]</sup>。大量临床资料显示多数 MPAL 细胞表达 CD34、CD117、TdT 和 HLA-DR 早期造血细胞抗原,进一步证实 MPAL 起源于多能造血干细胞。

国内外许多报道显示 MPAL 有较高的核型异常发生率,最为常见的为 Ph 染色体阳性(Ph<sup>+</sup>)和 11q23 异常即 MLL 基因重排。Ph<sup>+</sup> 是 AL 的一个独立的高危因素。Killick 等<sup>[7]</sup>首次提出 Ph<sup>+</sup> MPAL 预后较 Ph<sup>-</sup> MPAL 差。英国一项研究总结了

表 1 异基因造血干细胞移植治疗 16 例混合表型急性白血病(MPAL)患者临床特征

例号	性别	年龄(岁)	免疫表型	染色体核型	移植前疾病状态	预处理方案	移植类型	移植后复发
1	男	29	M/T 正常		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否
2	男	39	M/B 正常		CR1	改良 Bu/Cy	全相合	否
3	男	25	M/B 46,XY,-7		CR1	ATG+TBI/CY	半相合	否
4	女	54	M/B 46,XX,t(9;22)[2]/46,XX[9]		CR1	TBI/Cy	全相合	否
5	男	60	M/B 正常		CR1	改良 Bu/Cy	全相合	否
6	女	36	M/T 46,XX,t(3;4)(q22;q12)[10]		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否
7	女	39	B/T 正常		PR	TBI/Cy	全相合	否
8	女	28	M/B 46,XX,t(9;22)		R1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	是
9	男	12	M/B 46,XY,t(4;13;11)(q21;q13;q23)[10]		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	全相合	否
10	男	19	M/T 45-46,XY,del(1)(p10),t(1;10)(p36.1;q22),t(9;22)(q34;q11)		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否
11	男	44	M/T 47,XY,+4[6]/46,XY[4]		CR1	改良 Bu/Cy	全相合	否
12	男	13	M/B 正常		R1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	是
13	女	32	M/B 47,XX,+11[9]/46,XX[1]		NR	改良 Bu/Cy	全相合	是
14	男	20	M/T 46,XY,t(6;8)(p25;q13),t(9;22)[7]/46,idem,t(2;21)(q12;q22)[3]		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否
15	男	31	M/B 正常		CR1	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否
16	女	20	M/B 正常		CR2	ATG+改良 Bu/Cy	半相合	否

注:至随访终点,全组患者死亡 1 例(例 5),存活 15 例;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;TBI:全身照射;Bu:白消安;Cy:环磷酰胺;M/T:髓系和 T 淋系抗原共表达;M/B:髓系和 B 淋系抗原共表达;B/T:B 淋系和 T 淋系抗原共表达;CR1:第 1 次完全缓解;CR2:第 2 次完全缓解;R1:第 1 次复发;PR:部分缓解;NR:未缓解

100例MPAL患者,其中伴有Ph<sup>+</sup>患者的中位生存时间仅为8个月,而正常核型患者则为139个月( $P<0.05$ )<sup>[8]</sup>。MLL重排也是一个预后不良的因素,在儿童中发生率较成人高。有关MLL致AL的作用机制及其对预后的影响已研究较透彻,并有望为MLL相关白血病的治疗提供新的靶点<sup>[9]</sup>。

由于MPAL细胞可以同时表达多个表面抗原,治疗上选用哪一种化疗方案尚存在争议。来自安德森肿瘤中心的资料显示,ALL化疗方案较AML、AML/ALL可获得较高的CR率<sup>[10]</sup>,此后相继有相关研究支持此观点<sup>[8,10-11]</sup>。Yan等<sup>[4]</sup>在中国117例MPAL临床资料分析中,指出ALL/AML与CAG方案诱导的CR率间无明显差异( $P=0.802$ )。纵观国内外相关报道,MPAL化疗后2年OS率为39.4%~48%,中位OS从7个月至14.8~18个月。

然而不论何种化疗方案,总体而言,MPAL患者化疗CR率、OS率及DFS率均较低,且复发率高。allo-HSCT作为AL唯一治愈方法,有望改善MPAL患者预后。然而有些研究对该观点持怀疑态度。在儿童MPAL患者中,移植组与化疗组OS率和DFS率间无明显差异<sup>[12-13]</sup>。而Yan等<sup>[4]</sup>在8例成人MPAL患者HSCT和13例患者化疗效果的对比分析中指出前者OS率相对较高( $P=0.004$ )。柏林慈善大学医院在对AUL/BAL进行临床特征分析中指出移植患者5年OS率为70%,化疗患者为19%( $P=0.005$ ),提示移植患者获得较好的预后<sup>[10]</sup>。日本的一项关于MPAL患者移植疗效分析结果显示,18例MPAL移植患者5年OS率为48.1%,与ALL、AML移植患者无明显差别<sup>[14]</sup>,提示MPAL移植患者预后与AML、ALL基本一致。我中心MPAL移植患者的中位OS和中位DFS时间分别为51和42个月,预期3年OS率、DFS率分别为85.7%和69.2%。虽然aGVHD发生率较高,但经过积极的抗GVHD治疗,患者病情均得到控制。

本组16例MPAL移植患者中有3例复发,免疫分型均为M/B型,且3例复发患者移植前均为未缓解状态,提示移植前疾病状态影响移植疗效,与Shimizu等<sup>[14]</sup>的结果一致。Muntean<sup>[9]</sup>认为在CR状态下移植疗效较好。日本的回顾性临床研究提示对于MPAL患者allo-HSCT是一种有效的治疗方案,尤其是在疾病早期阶段<sup>[14]</sup>。

对于Ph<sup>+</sup>-MPAL患者,应用TKI可以使患者CR率提高,并达到分子生物学缓解,为移植提供机会。本研究中Ph<sup>+</sup>患者均服用TKI,患者如有突变,则需要根据突变位点更换敏感药物。有人建议伴Ph<sup>+</sup>的MPAL患者初次诱导缓解后立即行allo-HSCT<sup>[8]</sup>。

本组资料证实了allo-HSCT治疗MPAL患者的安全性及可行性。因国内外关于allo-HSCT治疗MPAL报道较少,且病例数均较少,仍需要大型的多中心临床研究来明确化疗和HSCT在MPAL患者治疗中所起的作用,确定MPAL患者的治疗方案。

## 参考文献

- [1] Weir EG, Ali Ansari-Lari M, Batista DA, et al. Acute bilinear leukemia: a rare disease with poor outcome [J]. *Leukemia*, 2007, 21(11): 2264-2270.
- [2] Borowitz MJ, Bene MC, Harris NL, et al. Acute leukemias of ambiguous lineage. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*[M]. Lyon: IARC Press, 2008: 150-155.
- [3] Deffis-Court M, Alvarado-Ibarra M, Ruiz-Argüelles GJ, et al. Diagnosing and treating mixed phenotype acute leukemia: a multicenter 10-year experience in México [J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(4): 595-601.
- [4] Yan L, Ping N, Zhu M, et al. Clinical, immunophenotypic, cytogenetic, and molecular genetic features in 117 adult patients with mixed-phenotype acute leukemia defined by WHO-2008 classification[J]. *Haematologica*, 2012, 97(11): 1708-1712.
- [5] Bene MC. Biphenotypic, bilinear, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias! [J]. *Haematologica*, 2009, 94(7): 891-893.
- [6] Bell JJ, Bhandoola A. The earliest thymic progenitors for T cells possess myeloid lineage potential[J]. *Nature*, 2008, 452(7188): 764-767.
- [7] Killick S, Matutes E, Powles R, et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia[J]. *Haematologica*, 1999, 84: 699-706.
- [8] Matutes E, Pickl WF, Van't Veer M, et al. Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification [J]. *Blood*, 2011, 117(11): 3163-3171.
- [9] Muntean AG. Mechanisms of mixed-lineage leukemia [J]. *Int J Hematol Oncol*, 2013, 2(3): 207-217.
- [10] Heesch S, Neumann M, Schwartz S, et al. Acute leukemias of ambiguous lineage in adults: molecular and clinical characterization[J]. *Ann Hematol*, 2013, 92(6): 747-758.
- [11] Bachir F, Zerrouk J, Howard SC, et al. Outcomes in Patients With Mixed Phenotype Acute Leukemia in Morocco [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2014, 36(6): e392-297.
- [12] Park JA, Ghim TT, Bae Kw, et al. Stem cell transplant in the treatment of childhood biphenotypic acute leukemia [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2009, 53(3): 444-452.
- [13] Al-Serahy AS, Owaidah TM, Ayas M, et al. Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia [J]. *Haematologica*, 2009, 94(12): 1682-1690.
- [14] Shimizu H, Saitoh T, Machida S, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with mixed phenotype acute leukemia: results of a matched-pair analysis [J]. *Eur J Haematol*, 2015, 95(5):455-460.

(收稿日期:2015-02-12)

(本文编辑:董文革)