

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^[1],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^[2],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 $250mg/m^2$, -9、-8d阿糖胞苷(Ara-C) $4g/m^2$, -7~-5d Bu $4mg/kg$ 每6h 1次, -4、-3d Cy $1.8mg/m^2$;加用抗胸腺细胞球蛋白(ATG)者, -5~-2d ATG $2.5mg/kg$ 。TBI/Cy预处理方

案: -8d 司莫司汀 $250mg/m^2$, -7d 肺部屏蔽下行单次 $8.0\sim 8.5Gy$ 或-7、-6d分次予总量 $12Gy$ TBI; -6、-5d Ara-C $4g/m^2$, -4、-3d Cy $1.8mg/m^2$;加有ATG者, -5~-2d ATG $2.5mg/kg$ 。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) $10\mu g\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ 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 $>5\times 10^8/kg$ 、 $CD34^+$ 细胞数 $>2\times 10^6/kg$ 。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 $3mg/kg$,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 $150\sim 250\mu g/L$,若未发生GVHD,则至移植后半年左右减停。+1d MTX $15mg/m^2$, +3、+6、+11d MTX $10mg/m^2$ 。-9d开始口服MMF $15mg/kg$,每12h 1次,至+30d开始减量,未发生GVHD则至+90d停用。-5~-2d予以ATG $2.5mg/kg$ 。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 $>38^\circ C$ 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 $\leq 70g/L$ 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⁺-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 χ^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⁺ 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%^[3-4],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^[5]。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^[6]。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⁺)和 11q23 异常即 MLL 基因重排。Ph⁺ 是 AL 的一个独立的高危因素。Killick 等^[7]首次提出 Ph⁺ MPAL 预后较 Ph⁻ 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⁺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($P<0.05$)^[8]。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^[9]。

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^[10],此后相继有相关研究支持此观点^[8,10-11]。Yan等^[4]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^[12-13]。而Yan等^[4]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^[10]。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^[14],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^[14]的结果一致。Muntean^[9]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^[14]。

对于Ph⁺-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⁺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⁺的MPAL患者初次诱导缓解后立即行allo-HSCT^[8]。

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)