

· 中青年学者论坛 ·



胡晓霞 海军军医大学(第二军医大学)长海医院血液科副主任,副教授、副主任医师,硕士生导师。担任上海市医学会血液学分会委员,上海市医学会血液学分会白血病学组副组长。长期致力于急性白血病的诊治和异基因造血干细胞移植研究。入选上海市卫生计生系统百名跨世纪优秀学科带头人培养计划(简称“百人计划”)和上海市优秀青年医学人才培养计划(简称“优青计划”),入选海军军医大学(第二军医大学)“5511”人才库、优秀青年学者和A级优秀教师。承担国家自然科学基金项目4项,作为第一作者或通信作者发表SCI收录论文20余篇,作为主要完成人获上海市科技进步奖一等奖1项、上海市医学科技奖一等奖1项。

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.05.0465

急性髓系白血病精准治疗:新的焦点

胡晓霞,王健民*

海军军医大学(第二军医大学)长海医院血液科,上海200433

[摘要] 急性白血病是35岁以下青壮年人群中发病率和病死率最高的恶性肿瘤,尽管近年来以细胞和分子遗传学为依据的分层化学治疗方案在一定程度上改善了患者的总生存率,但中危组患者常规化学治疗3年总生存率仅为30%~40%。我们基于白血病干细胞和造血干细胞的竞争,利用流式细胞术联合荧光免疫原位杂交技术检测白血病干细胞,能提前2~3个月发现患者的复发趋势,从而进行早期干预,以提高患者的生存率。此外,在造血干细胞移植中,我们设计了新型预处理方案以平衡移植抗宿主病和移植抗白血病效应,降低了移植相关病死率。这是急性白血病整体治疗中新的关注焦点,也是精准治疗在血液病领域的进一步延伸。

[关键词] 急性髓系白血病;精准治疗;微小残留病;异基因造血干细胞移植

[中图分类号] R 733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)05-0465-04

Precision therapy of acute myeloid leukemia: a new focus

HU Xiao-xia, WANG Jian-min*

Department of Hematology, Changhai Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Acute leukemia is a malignant tumor with the highest morbidity and mortality in patients younger than 35 years old. Three-year overall survival of middle-risk patients receiving conventional chemotherapy is only 30%-50%, although the stratified chemotherapy based on cell and molecular genetics has improved the overall survival in recent years. To further optimize the treatment, we used flow cytometry in combination with fluorescent *in situ* hybridization to detect the competing of leukemia stem cells with hemopoietic stem cell, which could diagnose the relapse of patients 2-3 months ahead of time, thus allowing early intervention and improving the survival rate. In allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, we have designed a novel conditioning regimen, which balanced the graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia effect and reduced transplant-related mortality. This is a new focus on acute leukemia treatment and a further extension of precision therapy in leukemia.

[Key words] acute myeloid leukemia; precision treatment; minimal residual disease; allogeneic stem cell transplantation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(5): 465-468]

急性白血病是儿童及35岁以下青壮年人群中发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一。化学治疗

是急性白血病的主要治疗手段,尽管近年来根据细胞和分子遗传学进行的分层化学治疗在一定程度上改

[收稿日期] 2018-05-02 **[接受日期]** 2018-05-17

[基金项目] 国家自然科学基金(81770160, 81470321, 81270567, 81530047),上海市卫生计生系统百名跨世纪优秀学科带头人培养基金(2017BR012)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81770160, 81470321, 81270567, 81530047), and Fund for “One Hundred Leading Scientists for 21st Century” of Health Department of Shanghai Municipal Government (2017BR012)。

[作者简介] 胡晓霞,博士,副教授、副主任医师,硕士生导师。E-mail: hu_xiaoxia@126.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161300, E-mail: jimwangch@139.com

善了患者的总生存率,但复发仍然是导致白血病化学治疗失败的主要原因之一。除了化学治疗之外,造血干细胞移植是唯一可能治愈恶性血液病的有效方法。移植后急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的3年总生存率为50%~65%,急性淋巴细胞白血病为40%~60%^[1]。异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, alloHSCT)是传统的造血干细胞移植方式,往往伴有严重的移植相关并发症,其中移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)是最常见的严重并发症,如何有效预防、早期预警GVHD并及时干预是保证移植成功的关键^[2]。移植物抗白血病效应(graft-versus-leukemia effect, GVL)是治愈白血病的重要机制,其与GVHD的发生机制重叠,过度抑制GVHD可能降低GVL,如何平衡二者强度并发挥GVL尤为重要。

近年来,“精准治疗”的概念不断衍生和深入。

“精准”不仅指疾病基因分型和相应的“靶向”治疗,而且包含了精确诊断及根据患者对治疗的应答情况判断预后并采用相应的干预措施。美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南和欧洲白血病综合网(European Leukemia Net, ELN)根据白血病细胞遗传学和分子遗传学特征,将AML分为低危、中危和高危,其意义在于对不同复发风险的AML采取不同的治疗措施。但NCCN和ELN的危险度分层仅局限于患者的基线特征,没有考虑患者对治疗的反应^[3-4]。微小残留病变(minimal residual disease, MRD)是指白血病治疗后体内残留少量白血病细胞的状态,常被用于评估疾病状态、判断治疗反应和预测复发。已有研究将白血病患者在治疗过程中的MRD水平整合入危险度分层体系,并对高复发风险的患者采取更强烈的化学治疗和alloHSCT^[5-6]。更多的患者在治疗过程中接受了复发危险度的再评估,并采取了相应的治疗措施,降低了AML复发率^[7]。我们通过在干细胞水平监测MRD提前发现白血病患者的复发趋势,从而早期干预,提高患者的生存率;并通过优化预处理方案平衡GVHD和GVL,降低移植相关病死率。这是急性白血病整体治疗中新的关注焦点,也是精准治疗在血液病领域的进一步延伸。

1 急性白血病化学治疗期的治疗焦点

1.1 白血病干细胞和造血干细胞的竞争决定了患者的临床结局 白血病干细胞是白血病复发的根源,其作用及与正常造血干细胞的相互关系并不清楚^[8]。白血病干细胞的免疫表型和正常造血干细胞相差不

大,体内外不易区分,如何在白血病治疗过程中对白血病干细胞进行精确监测仍然是很大的难题^[9]。我们课题组和中国医学科学院血液学研究所实验血液学国家重点实验室程涛教授经过多年的合作和摸索,从干细胞的角度出发,系统研究了白血病宿主体内正常造血干细胞的增殖动力学改变。研究结果显示,白血病宿主体内正常造血干细胞的数量不变,处于静息状态,而将白血病细胞去除后,这些静息的正常造血干细胞的造血功能增强^[10]。这一机制研究引导了一系列对疾病状态下正常造血干细胞生物学特性的探索研究,发现白血病细胞还能分泌细胞因子抑制正常造血,导致患者发生贫血、出血以及免疫功能的进一步丧失^[11-12]。因此,白血病干细胞和造血干细胞的竞争决定了患者的临床结局。

1.2 MRD动态监测有利于降低化学治疗复发率 目前MRD检测方法多采用流式细胞术、染色体检测[包括荧光免疫原位杂交技术(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)]、融合基因PCR技术以及肿瘤标志物(如WT1)PCR技术。流式细胞术检测的灵敏度约为 10^{-4} ,染色体检测的灵敏度约为 10^{-2} ,PCR的灵敏度约为 10^{-6} ^[13-14]。既往对于没有特定融合基因的AML多采用流式细胞术检测,但该方法的检测结果在实验室内差异大,要求检测技师有较高的熟练度和丰富的血液学知识,检测结果的客观性不够。我们课题组根据白血病干细胞和造血干细胞的竞争原理,在临床中开创性联合应用流式细胞术和FISH(Flow-FISH)对伴有核型异常的白血病患者进行动态监测,结果提示白血病干细胞的存在是白血病复发的根源。在此基础上,我们课题组率先开展了根据第2次巩固治疗前Flow-FISH结果,对核心结合因子(core-binding factor, CBF)相关AML(CBF-AML)患者进行MRD动态监测;同时根据第2次巩固治疗前Flow-FISH结果进行分层治疗,阳性患者进入移植治疗序列,而阴性患者继续进行巩固治疗,避免了相对治疗强度不足和过度治疗,降低了并发症发生率和病死率,和既往研究数据相比,2年总生存率从68.5%提高到82.3%^[15-16]。也有学者将第2次巩固治疗之后MRD阳性(融合基因PCR)的CBF-AML患者直接纳入移植队列,大幅度提高了患者的总生存率,降低了累积复发率^[17]。

2 急性白血病移植期的治疗焦点

2.1 移植方案优化 在白血病的造血干细胞移植治疗中,传统的清髓性预处理方案虽有利于造血干细胞的植入,但易导致预后良好患者的过度损伤和

预后不良患者的治疗不足,且往往伴有严重的移植相关并发症,移植相关病死率可达20%~40%^[2]。20世纪90年代发展起来的部分清髓到非清髓的减低剂量预处理(reduced intensity conditioning, RIC)方案与清髓性预处理方案相比不良反应较小,但移植排斥发生率及术后复发率较高^[18-20]。如何更好地结合二者的优点,同时规避其缺点,一直是移植领域的难题。新型RIC方案FBA/FBAA(氟达拉滨+马利兰+阿糖胞苷,非血缘供体再加抗胸腺细胞球蛋白),既协同增强了抗白血病效果,又能发挥RIC方案低毒性的优势,降低了移植相关病死率,提高了生存率和生命质量。我们课题组在国内最早组织了多中心前瞻性临床研究,随访52例,急性GVHD发生率仅为15.38%(8/52),其中Ⅲ~Ⅳ度为1.92%(1/52);重度慢性GVHD(广泛性)发生率为8.33%(4/48);1年和2年无病生存率分别为78.0%和65.9%。

2.2 改进移植并发症防治策略 难治/复发性白血病一直是alloHSCT的难点,移植相关的病死率为25%~35%,复发率高达34%~58%^[21]。在移植后MRD监测方面,近年来有移植中心在移植后早期即开展对融合基因和肿瘤标志物WT1的监测,这对在移植后早期发现复发趋势并及时干预有积极意义^[22-23]。目前国内外相继开展了早期停用免疫抑制剂和早期预防性剂量递增式供体淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion, DLI)预防复发,高危患者的疗效有了较大的改善,移植后无事件生存率、复发率、移植相关病死率均接近标危组^[24-26]。

GVHD和GVL是alloHSCT中的矛盾统一体,如何预防、减轻GVHD而保留或增强GVL始终是移植的核心问题。我们课题组在国内较早开展了监测移植后供受体嵌合率的研究,从20世纪80年代开始的性染色体检测,90年代发展到可变数目串连重复序列(variable number of tandem repeat, VNTR)/短串联重复序列(short tandem repeat, STR)位点检测,然后结合中国人群VNTR频率特点采用PCR检测D17S30、D1S80、ApoB 3个位点的多态性,以尽早判定移植植物嵌合状态^[27]。在此基础上,我们课题组在国内率先建立了基于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)-实时定量PCR检测移植后供受体嵌合率的新方法,选用18个中国人群高频SNP位点,筛选出供、受体的差异位点进行嵌合率定量分析,并与STR-PCR、性染色体-FISH和融合基因的定量检测进行比较、验证。结果显示这一新方法监测效率的准确性优于传统方法,可重复灵

敏度高(达0.01%),并缩短了检测时间,能早期准确判定移植植物嵌合状态,结合MRD监测和细胞因子表达水平分析可作为移植后早期移植排斥、GVHD和白血病复发的预警指标^[28]。自2000年我们课题组根据监测结果采用早期撤停免疫抑制剂及预防性DLI防治白血病移植后复发,提高了难治/复发性AML患者的远期生存率^[24]。

3 小结

近年来,新一代基因组测序(next generation sequencing, NGS)技术的发展为急性白血病高度个体化治疗策略的选择提供了可能,并在MRD监测中表现出无可比拟的优势^[29],但细胞形态学、细胞遗传学、免疫表型和PCR技术等经典方法仍然是白血病诊断的基石。实际上,从白血病细胞遗传学、分子遗传学和NGS的诊断需求,到根据治疗后MRD水平制定不同的治疗策略,都反映出急性白血病治疗中始终伴随着“精准治疗”的概念。化学治疗阶段的精准治疗主要体现在根据不同的分子遗传学改变和基因突变选择不同的靶向治疗,以及根据MRD水平的动态变化制定不同的巩固治疗方案;而在移植治疗中,则是针对不同人群“定制”不同的预处理方案,最大程度平衡GVHD和GVL,降低移植相关病死率。随着治疗理念的更新和NGS等技术的发展,急性白血病的治疗策略还有很大的进步空间,值得临床医师不断探索。

[参考文献]

- [1] BURNETT A, WETZLER M, LÖWENBERG B. Therapeutic advances in acute myeloid leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 487-494.
- [2] KORETH J, SCHLENK R, KOPECKY K J, HONDA S, SIERRA J, DJULBEGOVIC B J, et al. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials[J]. *JAMA*, 2009, 301: 2349-2361.
- [3] DÖHNER H, ESTEY E, GRIMWADE D, AMADORI S, APPELBAUM F R, BÜCHNER T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel[J]. *Blood*, 2017, 129: 424-447.
- [4] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2017年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38: 177-182.
- [5] 任欣,赵婷,王婧,主鸿鹄,江浩,贾晋松,等. 微小残留病在成人急性髓系白血病非预后良好型患者中的预后价值[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38: 578-585.
- [6] YIN J A, O'BRIEN M A, HILLS R K, DALY S B, WHEATLEY K, BURNETT A K. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor

- AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial[J]. *Blood*, 2012, 120: 2826-2835.
- [7] WANG Y, WU D P, LIU Q F, QIN Y Z, WANG J B, XU L P, et al. In adults with t(8;21)AML, posttransplant RUNX1/RUNX1T1-based MRD monitoring, rather than c-KIT mutations, allows further risk stratification[J]. *Blood*, 2014, 124: 1880-1886.
- [8] SHLUSH L I, MITCHELL A, HEISLER L, ABELSON S, NG S W K, TROTMAN-GRANT A, et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells[J]. *Nature*, 2017, 547: 104-108.
- [9] SHLUSH L I, ZANDI S, MITCHELL A, CHEN W C, BRANDWEIN J M, GUPTA V, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia[J]. *Nature*, 2014, 506: 328-333.
- [10] HU X, SHEN H, TIAN C, YU H, ZHENG G, XUFENG R, et al. Kinetics of normal hematopoietic stem and progenitor cells in a Notch1-induced leukemia model[J]. *Blood*, 2009, 114: 3783-3792.
- [11] RAUCH P J, ELLEGAST J M, WIDMER C C, FRITSCH K, GOEDE J S, VALK P J, et al. MPL expression on AML blasts predicts peripheral blood neutropenia and thrombocytopenia[J]. *Blood*, 2016, 128: 2253-2257.
- [12] WANG Y, GAO A, ZHAO H, LU P, CHENG H, DONG F, et al. Leukemia cell infiltration causes defective erythropoiesis partially through MIP-1 α /CCL3[J]. *Leukemia*, 2016, 30: 1897-1908.
- [13] 景卉,冯茹. 流式细胞术检测急性白血病微小残留病的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22: 847-851.
- [14] 中国免疫学会血液免疫分会临床流式细胞术学组. 多参数流式细胞术检测急性白血病及浆细胞肿瘤微小残留病中国专家共识(2017年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38: 1001-1011.
- [15] WANG L, GAO L, XU S, GONG S, CHEN L, LÜ S, et al. FISH⁺CD34⁺CD38⁻ cells detected in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients can predict the clinical outcome[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 85. doi: 10.1186/1756-8722-6-85.
- [16] WANG L, GAO L, XU S, GONG S, LIU M, QIU H, et al. High prognostic value of minimal residual disease detected by flow-cytometry-enhanced fluorescence *in situ* hybridization in core-binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML)[J]. *Ann Hematol*, 2014, 93: 1685-1694.
- [17] ZHU H H, ZHANG X H, QIN Y Z, LIU D H, JIANG H, CHEN H, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial[J]. *Blood*, 2013, 121: 4056-4062.
- [18] HEGENBART U, NIEDERWIESER D, SANDMAIER B M, MARIS M B, SHIZURU J A, GREINIX H, et al. Treatment for acute myelogenous leukemia by low-dose, total-body, irradiation-based conditioning and hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 444-453.
- [19] McSWEENEY P A, NIEDERWIESER D, SHIZURU J A, SANDMAIER B M, MOLINA A J, MALONEY D G, et al. Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects[J]. *Blood*, 2001, 97: 3390-3400.
- [20] SENGSAYADETH S, SAVANI B N, BLAISE D, MALARD F, NAGLER A, MOHTY M. Reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult acute myeloid leukemia in complete remission—a review from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT[J]. *Haematologica*, 2015, 100: 859-869.
- [21] CORNELISSEN J J, VAN PUTTEN W L, VERDONCK L F, THEOBALD M, JACKY E, DAENEN S M, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom?[J]. *Blood*, 2007, 109: 3658-3666.
- [22] QIN Y Z, WANG Y, ZHU H H, GALE R P, ZHANG M J, JIANG Q, et al. Low WT1 transcript levels at diagnosis predicted poor outcomes of acute myeloid leukemia patients with t(8;21) who received chemotherapy or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J/OL]. *Chin J Cancer*, 2016, 35: 46. doi: 10.1186/s40880-016-0110-6.
- [23] MO X D, LÜ M, HUANG X J. Preventing relapse after haematopoietic stem cell transplantation for acute leukaemia: the role of post-transplantation minimal residual disease (MRD) monitoring and MRD-directed intervention[J]. *Br J Haematol*, 2017, 179: 184-197.
- [24] ZHANG W P, YANG D, SONG X M, NI X, CHEN J, CHEN L, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation is a promising and safe choice for the treatment of refractory/relapsed acute myelogenous leukemia, even with a higher leukemia burden[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19: 653-660.
- [25] SPELLECY R, TARIMA S, DENZEN E, MOORE H, ABHYANKAR S, DAWSON P, et al. Easy-to-read informed consent form for hematopoietic cell transplantation clinical trials: results from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network 1205 Study[J/OL]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, pii: S1083-8791(18)30195-2. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.04.014.
- [26] YAN C H, LIU Q F, WU D P, ZHANG X, XU L P, ZHANG X H, et al. Prophylactic donor lymphocyte infusion (DLI) followed by minimal residual disease and graft-versus-host disease-guided multiple DLIs could improve outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory/relapsed acute leukemia[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23: 1311-1319.
- [27] 王紫薇,王健民. 造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病的预测及诊断标志物研究进展[J]. *中华血液学杂志*, 2015, 36: 172-176.
- [28] 邵宇,王健民,龚胜兰,蔡在龙,章卫平,宋献民,等. 一种基于单核苷酸多态性位点的定量检测异基因造血干细胞移植后嵌合率的新方法[J]. *中华血液学杂志*, 2010, 31: 92-96.
- [29] DUNCAVAGE E J, TANDON B. The utility of next-generation sequencing in diagnosis and monitoring of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes[J]. *Int J Lab Hematol*, 2015, 37 (Suppl 1): 115-121.