

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2406014

论著·临床研究

高通量药敏检测技术在儿童复发难治性急性白血病中的应用

祁文静 徐学聚 李白 王叨 盛光耀 朱平 王春美

(郑州大学第一附属医院儿童血液与肿瘤科, 河南郑州 450052)

[摘要] **目的** 探究高通量药敏 (high-throughput drug sensitivity, HDS) 检测技术在儿童复发难治性急性白血病 (relapsed and refractory acute leukemia, RR-AL) 的应用现状及分析挽救治疗方案的可行性。**方法** 回顾性收集2021年11月—2023年10月郑州大学第一附属医院儿童血液与肿瘤科行HDS检测的RR-AL患儿的临床资料, 并对药敏结果及治疗结局进行分析。**结果** 17例RR-AL患儿接受HDS检测, 复发难治性急性髓系白血病7例(41%), 复发难治性急性淋巴细胞白血病10例(59%)。高度敏感化疗药物/方案的检出率为53% (9/17), 中度敏感化疗药物/方案的检出率为100% (17/17)。17例RR-AL患儿高度敏感度和中度敏感度化疗药物及方案中, MOACD方案(米托蒽醌+长春新碱+阿糖胞苷+环磷酰胺+地塞米松)占比100%, 单药米托蒽醌抑制率最高(94%, 16/17), 靶向药抑制率最高为硼替佐米(94%, 16/17)。9例患儿根据HDS结果调整化疗, 行造血干细胞移植4例; 无病生存4例, 死亡5例。8例经验化疗, 行造血干细胞移植2例; 无病生存4例, 死亡4例。**结论** HDS检测技术可为儿童RR-AL筛选出高度敏感药物/方案, 提高再次缓解率, 为后续进行造血干细胞移植创造条件。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26 (10): 1093-1100]

[关键词] 复发难治性急性白血病; 高通量; 药物敏感; 儿童

Application of high-throughput drug sensitivity testing in children with relapsed and refractory acute leukemia

QI Wen-Jing, XU Xue-Ju, LI Bai, WANG Tao, SHENG Guang-Yao, ZHU Ping, WANG Chun-Mei. Department of Children's Hematology and Oncology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Wang C-M, Email: meichun123@126.com)

Abstract: Objective To explore the current application of high-throughput drug sensitivity (HDS) testing in children with relapsed and refractory acute leukemia (RR-AL) and analyze the feasibility of salvage treatment plans. **Methods** A retrospective collection of clinical data from children with RR-AL who underwent HDS testing at the Department of Children's Hematology and Oncology of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University from November 2021 to October 2023 was conducted, followed by an analysis of drug sensitivity results and treatment outcomes. **Results** A total of 17 children with RR-AL underwent HDS testing, including 7 cases of relapsed refractory acute myeloid leukemia and 10 cases of relapsed refractory acute lymphoblastic leukemia. The detection rate of highly sensitive chemotherapy drugs/regimens was 53% (9/17), while the detection rate of moderately sensitive chemotherapy drugs/regimens was 100% (17/17). Among the 17 RR-AL patients with highly and moderately sensitive chemotherapy drugs and regimens, the MOACD regimen (mitoxantrone + vincristine + cytarabine + cyclophosphamide + dexamethasone) accounted for 100%, with the highest inhibition rate for single-agent mitoxantrone (94%, 16/17), and the highest inhibition rate for targeted therapy being bortezomib (94%, 16/17). Nine patients adjusted their chemotherapy based on HDS testing results, with 4 undergoing hematopoietic stem cell transplantation. Four patients achieved disease-free survival, while 5 died. Eight patients received empirical chemotherapy, with 2 undergoing hematopoietic stem cell transplantation; 4 achieved disease-free survival, while 4 died. **Conclusions** HDS testing can identify highly sensitive

[收稿日期] 2024-06-04; [接受日期] 2024-09-09

[作者简介] 祁文静, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 王春美, 女, 主任医师。Email: meichun123@126.com。

drugs/regimens for children with RR-AL, improving the rate of re-remission and creating conditions for subsequent hematopoietic stem cell transplantation. [Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(10): 1093-1100]

Key words: Relapsed and refractory acute leukemia; High-throughput; Drug sensitivity; Child

复发难治性急性白血病 (relapsed and refractory acute leukemia, RR-AL) 是严重危及儿童生命的血液系统恶性肿瘤, 长期生存率仅30%左右, 已成为儿童急性白血病死亡的主要原因之一。指南多推荐加入临床试验或采用新型的组合方案进行挽救性化疗, 然而盲目试药效果往往欠佳, 最终导致不良预后。如何制定RR-AL个性化用药方案来提高治疗缓解率是临床热点探讨并亟待解决的难题。高通量药敏 (high-throughput drug sensitivity, HDS) 检测技术是一种新兴的可再生原代癌细胞药敏检测技术, 一次可检测上百种药物, 实现高通量检测化疗药、靶向药、化疗联合方案的药敏, 为精准治疗提供了一个有力的工具。HDS检测技术已被报道成功应用于卵巢癌、骨髓增生异常综合征、晚期肺癌、成人RR-AL患者的治疗中^[1-2], 儿童患者相关研究报道少见^[3]。本研究回顾性分析我中心17例进行HDS检测的儿童RR-AL的临床资料, 探讨HDS在儿童RR-AL中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性收集2021年11月—2023年10月于郑州大学第一附属医院儿童血液与肿瘤科行HDS检测的17例RR-AL患儿的临床资料、HDS结果及治疗结局。RR-AL定义为^[4-5]: (1) 用标准诱导缓解方案治疗2个疗程未达部分缓解者; (2) 首次缓解后6个月内复发者 (又称“早期复发”); (3) 首次缓解6个月后复发, 但用原诱导缓解方案再次治疗失败者; (4) 多次复发者。复发定义为^[4-5]: 骨髓中白血病细胞超过5% (又称“髓内复发”); 或出现骨髓以外部分的白血病病变 (又称“髓外复发”)。该研究已通过郑州大学第一附属医院伦理委员会批准并免除知情同意 (2024-KY-0313-002)。

1.2 HDS检测方法

收集患儿骨髓液4 mL或外周血8 mL, 保证无溶血、凝血、污染, 48 h内送检, 肿瘤细胞比例>70%。样本送中科普瑞昇医学检验实验室有限公

司进行HDS检测。分离单核细胞, 加完全培养液培养24 h。待测药物包括急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 和急性淋巴细胞白血病 (acute lymphocyte leukemia, ALL) 的一线及二线化疗用药、部分实体瘤化疗药物、靶向用药的单药及组合方案, 共有4种方案 (88、119、120、121种药物/方案)。将待测药物溶于二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 中, 按照临床剂量对应的100%血浆峰浓度配置药物, 储存于384孔透明药板, 采用同等体积的DMSO溶剂作为对照。在96孔板中按每孔10万个细胞/mL浓度接种细胞50 μ L, 培养72 h后, 每孔中加入20 μ L的CellCounting-Lite2.0工作液, 诱导细胞裂解, 静置10 min, 多功能酶标仪 (Perkin Elmer-EnVision 2015) 读数, 得出对应的每孔相对荧光值 (relative light unit, RLU)。待测化合物的RLU_{药物}与DMSO对照组RLU_{DMSO}进行预处理, 计算待测药物对癌细胞的生长抑制率, 抑制率 (%) = (1-药物筛选组肿瘤细胞存活数目/空白对照组肿瘤细胞存活数目) \times 100%。

1.3 HDS检测结果的应用

筛选方案的实施过程: (1) 参考HDS检测报告及相关文献^[6], 药物高度、中度、低度敏感及不敏感分别定义为抑制率 \geq 80%、 \geq 50%且 $<$ 80%、 \geq 20%且 $<$ 50%、 $<$ 20%; (2) 参考NCCN指南、《临床肿瘤内科手册》、国内专家共识^[4-5]确定药物使用剂量、方法、顺序和频次; (3) 临床医生综合考虑患儿用药禁忌、身体耐受能力、用药史、经济承受能力等, 监测不良反应, 并及时对症处理; (4) 应用筛选方案, 最多不超过3个疗程。获得一定疗效后, 若有合适的供者, 及时行造血干细胞移 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)。

1.4 疗效评价

粒细胞缺乏期结束后评估疗效, 骨髓涂片原始和幼稚细胞比例小于5%, 判定为骨髓形态学缓解; 流式细胞仪检测白血病细胞比值, 低于0.01%, 判定为微小残留病 (minimal residual disease, MRD) 转阴^[4-5]。末次随访时间为2023年12月31日。

2 结果

2.1 一般资料

17 例 RR-AL 患儿接受 HDS 检测，男 10 例 (59%)，女 7 例 (41%)，中位年龄 8 岁 (范围：3~13 岁)。复发难治性急性髓系白血病 (relapsed and refractory acute myeloid leukemia, RR-AML) 7 例 (41%)，其中难治性 AML 1 例 (M2)，复发 AML 6 例 (M1 1 例，M2 4 例，M5 1 例)。复发难治性急性淋巴细胞白血病 (relapsed and refractory acute

lymphoblastic leukemia, RR-ALL) 10 例 (59%)，其中难治性 ALL 4 例 (T 系 3 例，B 系 1 例)，复发 ALL 6 例 (T 系 2 例，B 系 4 例)。AML 患儿的中位复发时间为 1 年 4.5 个月 (范围：8 个月至 2 年 5 个月)，ALL 患儿的中位复发时间为 6.5 个月 (范围：3 个月至 5 年)。17 例患儿的形态学-免疫学-细胞遗传学-分子生物学 (morphology-immunology-cytogenetics-molecular biology, MICM) 分型、治疗及预后见表 1。

表 1 17 例 RR-AL 患儿的临床资料及预后

序号	性别	年龄 (岁)	初诊 MICM 分型及髓外情况	诊断	危险度评级	HDS 检测前治疗	疗效 (复发距初次治疗的时间)	HDS 检测项目	检测样本	是否应用药敏方案	是否移植	结局
1	女	8	AML-M2; 染色体核型无异常; 存在 <i>dupMLL</i> 基因阳性; 无髓外病灶	复发 AML-M2	高危	CCLG-AML 2015 方案	髓内复发 (2 年 5 个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	否	否	CR
2	女	4	AML-M1; 染色体核型异常: 46, XX, t(9, 11)(p21; q23) [2]/47, idem, +der(9)t(9,11)[18]; 存在 <i>MLL/AF9</i> 、 <i>EVII</i> 基因阳性; 无髓外病灶	复发 AML-M1	高危	CCLG-AML 2019 方案	髓内复发 (11 个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	否	否	死亡
3	女	3	AML-M2; 染色体核型异常: 45, X,-X, t(8; 21)(q22; q22[7]); 存在 <i>AML/ETO</i> 基因阳性; 无髓外病灶	复发 AML-M2	高危	CCLG-AML 2019 方案	髓内复发 (8 个月)	119 种药物/方案	外周血 8 mL	是	是	HSCT 后 1 年 9 个月, 无病生存
4	男	8	AML-M5; 染色体核型无异常; 存在 <i>WT1</i> 基因阳性; 髓外病灶: 睾丸	复发 AML-M5	高危	HSCT	髓内复发 (1 年 8 个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	是 (复发前)	死亡
5	男	9	AML-M2; 染色体核型异常: 47, XY, +8[3]/46, XY [7]; 存在 <i>WT1</i> 基因阳性; 髓外病灶: 睾丸	复发 AML-M2	高危	CCLG-AML 2019 方案	髓内复发 (2 年 5 个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	否	死亡
6	男	3	AML-M2; 染色体核型异常: 47, XY, +8; 存在 <i>FLT3-ITD</i> 基因突变; 无髓外病灶	难治性 AML-M2	高危	CCLG-AML 2019 方案	-	120 种药物/方案	外周血 8 mL	否	是	HSCT 后 1 年 8 个月, 无病生存

表 1 (续)

序号	性别	年龄 (岁)	初诊 MICM 分型及髓外情况	诊断	危险度评级	HDS 检测前治疗	疗效 (复发距初次治疗的时间)	HDS 检测项目	检测样本	是否应用药敏方案	是否移植	结局
7	男	7	B-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>IKZF1</i> 基因外显子 2~7 杂合缺失; 髓外病灶: 右肋骨	复发 B-ALL	中危	CCLG-ALL 2015 方案	髓外复发 (5年)	119 种药物/方案	外周血 8 mL	否	否	CR
8	女	5	B-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>PAX5-JAK2</i> 融合基因阳性; 无髓外病灶	复发 B-ALL	高危	CCLG-ALL 2015 方案	髓内复发 (7个月)	119 种药物/方案	外周血 8 mL	否	是	HSCT 后 6 个月, 无病生存
9	男	12	B-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>ZNF384/ep300</i> 融合基因阳性; 无髓外病灶: 骨	复发 B-ALL	高危	CCLG-ALL 2018 方案	髓内复发 (2年5个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	否	死亡
10	男	12	B-ALL; 染色体核型异常: 47XY,+1, i dic(1)(p11),t(8:14)(q24: q32) [14]/46XY[6]; 分子学无异常; 髓外病灶: 肺、骨	复发 B-ALL	高危	CCLG-ALL 2018 方案	髓内复发 (3个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	否	死亡
11	女	6	B-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>EBF1</i> 基因杂合缺失、 <i>EBF1-FDCFRB</i> 基因突变; 髓外病灶: 骨	难治性 B-ALL	高危	VDPD、Hyper-CVAD (A)	-	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	是	HSCT 后 1 年, 无病生存
12	男	9	T-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>NOTCH1</i> 、 <i>PTEN</i> 基因突变; 无髓外病灶	复发 T-ALL	高危	CCLG-ALL 2018 方案	髓内复发 (6个月)	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	否	否	死亡
13	男	8	T-ALL; 染色体核型无异常; 存在 <i>KMT2A-MLLT4</i> 基因阳性; 无髓外病灶	难治性 T-ALL	高危	VDPD	-	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	是	死亡 (HSCT 后 3 个月)
14	男	13	T-ALL; 染色体核型异常: 46, XY, t(7; 7)(p22: q32); 存在 <i>WT1</i> 基因阳性, <i>NOTCH1</i> 、 <i>JAK1</i> 、 <i>EZH2</i> 基因突变; 无髓外病灶	难治性 T-ALL	高危	CCCG-ALL 2020 方案	-	119 种药物/方案	骨髓 4 mL	是	否	CR

表 1 (续)

序号	性别	年龄 (岁)	初诊 MICM 分型及髓外情况	诊断	危险度评级	HDS 检测前治疗	疗效 (复发距初次治疗的时间)	HDS 检测项目	检测样本	是否应用药敏方案	是否移植	结局
15	女	13	T-ALL; 染色体核型异常: 46-47, XX; 存在 CD-KN2A 和 CDKN2B 基因缺失, IKZF1、PAX5 和 ETV6 基因均杂合缺失; 无髓外病灶	难治性 T-ALL	高危	CCLG-ALL 2018 方案	-	119 种药物/方案	外周血 8 mL	否	否	死亡
16	男	6	T-ALL; 染色体核型无异常; 存在 FBXW7、NOTCH1 基因突变; 无髓外病灶	复发 T-ALL	中危	CCLG-ALL 2018 方案	髓内复发 (6 个月)	121 种药物/方案	外周血 8 mL	是	是	HSCT 后 5 个月, 无病生存
17	女	8	AML-M2; 染色体核型异常: 47, XY, T(6; 9) (p23; q34), +15[5]/46, XX [5]; 存在 WT1 基因阳性, DEK-CAN 基因阳性, FLT3-ITD 基因一代突变; 无髓外病灶	复发 AML-M2	高危	CCLG-AML 2019 方案	髓内复发 (1 年 1 个月)	88 种药物/方案	外周血 8 mL	否	否	死亡

注: [MICM] 形态学-免疫学-细胞遗传学-分子生物学; [HDS] 高通量药敏检测技术; [HSCT] 造血干细胞移植; [CR] 完全缓解; [AML-M1] 急性极微分化型原始粒细胞白血病; [AML-M2] 急性部分分化型原始粒细胞白血病; [AML-M5] 急性单核细胞白血病; [B-ALL] 急性 B 淋巴细胞白血病; [T-ALL] 急性 T 淋巴细胞白血病; [CCLG-AML] 中国儿童白血病协作组急性髓系白血病方案; [CCLG-ALL] 中国儿童白血病协作组急性淋巴细胞白血病方案; [CCCG-ALL] 中国儿童肿瘤协作组急性淋巴细胞白血病方案 (2020 年); [VDPD] 长春新碱+柔红霉素+培门冬酶+地塞米松; [Hyper-CVAD(A)] 环磷酰胺+长春新碱+多柔比星+地塞米松。-示无相关数据。

2.2 HDS 检测结果

17 例患儿, 10 例 (59%) 以骨髓液 4 mL 为样本, 7 例 (41%) 以外周血 8 mL 为样本。1 例进行 88 种药物/方案有效性评估, 14 例进行 119 种药物/方案有效性评估, 1 例进行 120 种药物/方案有效性评估, 1 例进行 121 种药物/方案有效性评估。平均检测时间为 7 d。

9 例 (53%) 患儿筛选出高度敏感化疗药物/方案, 2 例 RR-AML, 7 例 RR-ALL。2 例 RR-AML 患儿对 ICE (异环磷酰胺+卡铂+依托泊苷) 方案高度敏感。7 例 RR-ALL 患儿中, 对 MINE (米托蒽醌+异环磷酰胺+美司钠+依托泊苷) 方案、MOACD (米托蒽醌+长春新碱+阿糖胞苷+环磷酰胺+地塞米松) 方案、FLAG (氟达拉滨+阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子) 方案、Hyper-CVAD(B) (大剂量甲氨蝶呤+阿糖胞苷) 方案高度敏感例数分别为 4、3、3、3 例。17 例 (100%) 患儿均筛选出中度敏感方案。7 例 RR-AML 患儿高度敏感和中度敏感药物/方

案中, MOACD 方案达到了 100% (7/7), HOAP (高三尖杉酯碱+长春新碱+阿糖胞苷+泼尼松) 方案、GDP (吉西他滨+地塞米松+顺铂) 方案、ME (米托蒽醌+依托泊苷) 方案、MA (米托蒽醌+阿糖胞苷) 方案、HAA (高三尖杉酯碱+阿糖胞苷+阿克拉霉素) 方案、FLAG 方案、HA (高三尖杉酯碱+阿糖胞苷) 方案、MINE 方案、单药米托蒽醌、靶向药硼替佐米达到 86% (6/7); 长春地辛、替尼泊苷、托泊替康、克拉屈滨、去甲氧柔红霉素、白消安、泼尼松、氢化可的松及靶向药泊马度胺等药物敏感性结果均为不敏感。10 例 RR-ALL 患儿高度敏感和中度敏感药物及方案中, MOACD 方案、FLAG 方案、HAA 方案、HD-DA (大剂量柔红霉素+阿糖胞苷) 方案、CLAG (克拉屈滨+阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子) 方案、HA 方案、DOLP (柔红霉素+长春新碱+左旋门冬酰胺酶+泼尼松) 方案、ESHAP (依托泊苷+顺铂+大剂量阿糖胞苷+甲泼尼松) 方案、DHAP (地塞米松+大剂量阿糖

胞苷+顺铂)方案、GDP方案、HAD(高三尖杉酯碱+阿糖胞苷+柔红霉素)方案、MINE方案、VTD(硼替佐米+沙利度胺+地塞米松)方案、ME方案、Hyper-CVAD(B)方案、塞利尼索联合地塞米松方案、单药米托蒽醌、单药柔红霉素、靶向药卡非佐米、靶向药硼替佐米达到100%(10/10);羟基脲、长春瑞滨等药物敏感性结果均为不敏感。

17例RR-AL患儿高度敏感度和中度敏感度化疗药物及方案中,MOACD方案占比100%(17/17),单药米托蒽醌抑制率最高,占比94%(16/17),靶向药硼替佐米抑制率最高,占比94%(16/17)。17例RR-AL患儿MOACD方案抑制率均值72%,其中7例RR-AML患儿MOACD方案抑制率均值68%,10例RR-ALL患儿MOACD方案抑制率均值75%。17例RR-AL患儿单药米托蒽醌抑制率均值60%,其中7例RR-AML患儿单药米托蒽醌抑制率均值53%,10例RR-ALL患儿单药米托蒽醌

抑制率均值66%。17例RR-AL患儿靶向药硼替佐米抑制率均值65%,其中7例RR-AML患儿靶向药硼替佐米抑制率均值51%,10例RR-ALL患儿靶向药硼替佐米抑制率均值71%。

2.3 HDS临床应用及预后

9例患儿根据HDS结果调整化疗,RR-AML 3例,RR-ALL 6例;5例检测出高度敏感化疗方案,4例检测出高于原化疗方案的中度敏感化疗方案。化疗后7例骨髓幼稚细胞比值下降,其中6例达到骨髓形态学缓解;2例疾病继续进展,见表2。9例患儿,化疗后完全缓解1例;骨髓缓解后行HSCT 4例,3例无病生存,1例死于移植物抗宿主病;2例死于重症感染;余2例化疗无效,因疾病进展死亡。未根据HDS结果化疗的患儿共8例,RR-AML 4例,RR-ALL 4例,2例经验化疗后达到完全缓解,2例HSCT后无病生存,4例因疾病进展死亡。

表2 9例调整化疗方案的RR-AL患儿的药敏方案及结局

序号	既往化疗方案	HDS筛选方案	灵敏度1/ 灵敏度2	幼稚细胞比例1/ 幼稚细胞比例2(%)	MRD1/MRD2 (%)	结局
3	AZA+ADM+Ara-c	CLAG+Mit	中度/高度	50.4/0.6	无/无	HSCT后1年9个月,无病生存
4	DCAG	MINE、VTD、HOAP	中度/中度	90.6/94.0	90.753/96.097	死亡
5	C+HAG	大剂量Ara-C+IDA	中度/中度	53.5/2.0	45.566/1.915	死亡
9	COAD	ICE、Hyper-CVAD(B)	中度/高度	83.6/58.8	82.885/68.504	死亡
10	CCCG复发急性淋巴细胞白血病2017方案	MA	高度/高度	63.5/93.2	72.786/92.147	死亡
11	Hyper-CVAD(A)	DAE、Hyper-CVAD(B)、MA	低度/中度	21.4/0.4	9.660/0.001	HSCT后1年,无病生存
13	VDPD	FLAG	中度/高度	3.0/0.4	2.74/0	死亡(HSCT后3个月)
14	CAR-T	MTX+Ara-c+PEG-Asp	无/高度	29.3/0.7	0/0	CR
16	DEAL	CCCG复发急性淋巴细胞白血病复发方案的巩固治疗5~8周方案化疗	中度/中度	4.0/0.4	1.917/0	HSCT后5个月,无病生存

注:“灵敏度1”指既往化疗方案的灵敏度;“灵敏度2”指根据HDS结果调整后化疗方案的灵敏度;“幼稚细胞比例1”和“MRD1”指调整后化疗方案前的检测值;“幼稚细胞比例2”和“MRD2”指调整化疗方案后的检测值。[CR]完全缓解;[HSCT]造血干细胞移植;[CAR-T]嵌合抗原受体T细胞免疫疗法;[AZA+ADM+Ara-c]硫唑嘌呤+阿霉素+阿糖胞苷;[CLAG+Mit]克拉屈滨+阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子+米托蒽醌;[DCAG]地西他滨+阿糖胞苷+阿克拉霉素+粒细胞集落刺激因子;[MINE]米托蒽醌+异环磷酰胺+美司钠+依托泊苷;[VTD]硼替佐米+沙利度胺+地塞米松;[HOAP]高三尖杉酯碱+长春新碱+阿糖胞苷+泼尼松;[C+HAG]克拉屈滨+高三尖杉酯碱+阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子;[Ara-C+IDA]阿糖胞苷+去甲氧柔红霉素;[COAD]环磷酰胺+长春新碱+阿糖胞苷+地塞米松;[ICE]异环磷酰胺+卡铂+依托泊苷;[Hyper-CVAD(B)]甲氨蝶呤+阿糖胞苷;[Hyper-CVAD(A)]环磷酰胺+长春新碱+多柔比星+地塞米松;[MA]米托蒽醌+阿糖胞苷;[DAE]柔红霉素+阿糖胞苷+依托泊苷;[FLAG]氟达拉滨+阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子;[DEAL]地塞米松+依托泊苷+阿糖胞苷+培门冬酶;[MTX+Ara-c+PEG-Asp]甲氨蝶呤+阿糖胞苷+培门冬酶。

3 讨论

近年来儿童急性白血病的长期生存率显著提高，ALL患儿5年无事件生存率接近90%^[7]，AML患儿3年无事件生存率达到70%^[8]，但一旦出现复发或难治，长期存活机会极少，预后不良。HDS检测技术实现高通量药物筛选和个体化敏感度检测，克服传统药敏细胞培养困难和剂量换算的难题，具有成本低、周期短、操作成功率高等优点，为RR-AL的治疗带来新的曙光。

Tyner等^[9]对562例AML患者进行122种药物的原代细胞体外药敏检测，证明药敏检测可用于指导AML临床用药。吴海兵等^[10]对19例RR-AML进行15种单药和17种化疗联合方案的体外药物敏感性检测，发现DAE（柔红霉素+阿糖胞苷+依托泊苷）、DAC（克拉屈滨+柔红霉素+阿糖胞苷）、HAD、HD-DA方案在高度敏感和中度敏感方案中占比均在68%以上，根据药敏结果制定化疗方案，总体缓解率为78.94%。Li等^[11]对247例成人RR-AML患者进行8种药物和15种化疗方案的体外药敏检测，发现单药抑制率最高为高三尖杉酯碱，联合方案抑制率最高为阿扎胞苷+DAG，经HDS筛选的治疗方案显著提高RR-AML缓解率。Lin等^[12]报道1例SET-CAN/NUP214融合的复发T-ALL患者，根据HDS检测结果进行DAE方案化疗，获得完全缓解并接受HSCT。Lin等^[13]报道了1例复发B-ALL患者根据HDS结果选择HAD方案巩固治疗，获得分子学完全缓解。

关于儿童白血病的HDS检测研究较少。林丹娜等^[3]报道了5例儿童RR-AL通过HDS结果筛选治疗方案，RR-ALL 4例，RR-AML 1例，5例均筛选出中度或高度敏感的化疗方案，4例完全缓解并经HSCT无病生存，1例治疗后疾病进展。本研究17例RR-AL患儿中度敏感和高度敏感化疗方案的检出率为100%，与既往研究^[3]相符。RR-AML患儿高度敏感和中度敏感化疗方案中，MOACD方案占比达到100%，HOAP、GDP、ME、MA等方案检出率较高，与成人RR-AML患者DAE、DAC等方案检出率较高^[10]不同。考虑儿童AML诱导化疗多以经典的柔红霉素和阿糖胞苷组成的DA方案为基础，加上其他的化疗药物，易对DAE、DAC方案耐药。RR-ALL患儿高度敏感和中度敏感化疗方案中，MOACD、FLAG、HAA等化疗方案占比达到100%，HDS检测结果推荐了含高三尖杉酯碱、阿

糖胞苷等类似RR-AML化疗方案的药物，与既往研究^[3, 10]相似。RR-AML和RR-ALL患儿均为MOACD方案出现频次最高，抑制率均值为72.2%。MOACD化疗方案是一种结合多种药物的化疗策略，提高治疗效果的同时减少耐药性的产生，在多种实体瘤及血液系统肿瘤中均有应用，或可为儿童RR-AL的治疗提供一些经验。

本研究RR-AML和RR-ALL患儿单药抑制率最高均为米托蒽醌，17例RR-AL患儿米托蒽醌抑制率均值60%，其中7例RR-AML患儿抑制率均值53%，高于RR-AML成人患者的米托蒽醌抑制率（均值46%）^[11]。10例RR-ALL患儿米托蒽醌抑制率均值为66%，高于RR-AML患儿及成人RR-AML。靶向药物中硼替佐米的单药抑制率最高。硼替佐米是全球首个获批用于治疗骨髓瘤的蛋白酶体抑制剂，多项国际临床研究表明，含有硼替佐米的方案疗效明显优于传统化疗方案，已成为治疗骨髓瘤的首选用药^[14-15]。研究发现，硼替佐米联合地塞米松、多柔比星、长春新碱及培门冬酰胺酶治疗RR-ALL疗效好，72.9%患儿获得CR，52%患儿MRD转阴，2年生存率为31.3%^[16]。儿童肿瘤组织报道，硼替佐米诱导化疗治疗首次复发的高危ALL，完全缓解率达68%，MRD阴性者的3年无进展生存率和总生存率分别为75%和67%（ $P < 0.01$ ）^[17]。

本研究中9例根据HDS结果进行化疗的患儿，骨髓完全缓解6例，无病生存4例，低于成人报道^[10]。考虑与样本量大小、HDS结果体内外一致率、未知的化疗不良反应等因素相关。本团队在临床上也观察存在高敏感化疗方案化疗无效的情况。体内化疗效果受患儿代谢、免疫等多种因素影响，更为复杂，提高体内外药物敏感度的一致率是HDS技术未来要攻克的难题。与经验化疗相比，采用HDS患儿有更高概率接受HSCT，为RR-AL患儿的治疗提供了一种新的选择。

综上所述，HDS可为儿童RR-AL筛选出高度敏感药物/方案，提高再次缓解率，为后续HSCT创造条件。

作者贡献声明：祁文静负责收集病例资料、撰写论文、统计学分析；王春美负责提出研究思路、研究设计、指导文章撰写并进行批评性审阅；徐学聚、李白、盛光耀负责质控入组病例、指导研究设计；朱平、王叨负责收集病例资料、整理

数据。

利益冲突声明：所有作者均声明不存在利益冲突关系。

[参 考 文 献]

- [1] Chen C, Cheng CD, Wu H, et al. Osimertinib successfully combats EGFR-negative glioblastoma cells by inhibiting the MAPK pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 108-114. PMID: 32398685. PMCID: PMC7921414. DOI: 10.1038/s41401-020-0418-2.
- [2] Lohse I, Azzam DJ, Al-Ali H, et al. Ovarian cancer treatment stratification using *ex vivo* drug sensitivity testing[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(8): 4023-4030. PMID: 31366484. PMCID: PMC7323502. DOI: 10.21873/anticancer.13558.
- [3] 林丹娜, 张观梅, 刘改英, 等. 高通量药物敏感性检测在儿童复发难治性急性白血病的应用[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2023, 28(1): 16-20. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5323.2023.01.004.
- [4] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 复发难治性急性髓系白血病中国诊疗指南 (2017 年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(3): 183-184. PMID: 28395439. PMCID: PMC7348378. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.03.002.
- [5] Brown P, Inaba H, Annesley C, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia, version 2.2020, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2020, 18(1): 81-112. PMID: 31910389. DOI: 10.6004/jncn.2020.0001.
- [6] Lv W, Chen T, Wang S, et al. Feasibility of high-throughput drug sensitivity screening (HDS)-guided treatment for children with refractory or relapsed acute myeloid leukemia[J]. *Front Pediatr*, 2023, 11: 1117988. PMID: 36873635. PMCID: PMC9982438. DOI: 10.3389/fped.2023.1117988.
- [7] Salvaris R, Fedele PL. Targeted therapy in acute lymphoblastic leukaemia[J]. *J Pers Med*, 2021, 11(8): 715. PMID: 34442359. PMCID: PMC8398498. DOI: 10.3390/jpm11080715.
- [8] Quessada J, Cuccuini W, Saultier P, et al. Cytogenetics of pediatric acute myeloid leukemia: a review of the current knowledge[J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(6): 924. PMID: 34204358. PMCID: PMC8233729. DOI: 10.3390/genes12060924.
- [9] Tyner JW, Tognon CE, Bottomly D, et al. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia[J]. *Nature*, 2018, 562(7728): 526-531. PMID: 30333627. PMCID: PMC6280667. DOI: 10.1038/s41586-018-0623-z.
- [10] 吴海兵, 赵晓燕, 沈明芳, 等. 新型高通量体外药敏检测技术在复发难治性急性髓系白血病患者个体化用药中的应用[J]. *肿瘤防治研究*, 2020, 47(6): 462-465. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2020.19.1364.
- [11] Li L, Wang W, Liang L, et al. Application of high-efficiency cell expansion and high-throughput drug sensitivity screening for leukemia treatment[J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 4052591. PMID: 35845130. PMCID: PMC9277151. DOI: 10.1155/2022/4052591.
- [12] Lin N, Liu Z, Li Y, et al. Determining the appropriate treatment for T-cell acute lymphoblastic leukemia with *SET-CAN/NUP214* fusion: perspectives from a case report and literature review[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 651494. PMID: 33869055. PMCID: PMC8044795. DOI: 10.3389/fonc.2021.651494.
- [13] Lin N, Yan X, Cai D, et al. Leukemia with *TCF3-ZNF384* rearrangement as a distinct subtype of disease with distinct treatments: perspectives from a case report and literature review[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 709036. PMID: 34395283. PMCID: PMC8357369. DOI: 10.3389/fonc.2021.709036.
- [14] Gandolfi S, Laubach JP, Hideshima T, et al. The proteasome and proteasome inhibitors in multiple myeloma[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2017, 36(4): 561-584. PMID: 29196868. DOI: 10.1007/s10555-017-9707-8.
- [15] Okazuka K, Ishida T. Proteasome inhibitors for multiple myeloma[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2018, 48(9): 785-793. PMID: 30102324. DOI: 10.1093/jcco/hyy108.
- [16] Bertaina A, Vinti L, Strocchio L, et al. The combination of bortezomib with chemotherapy to treat relapsed/refractory acute lymphoblastic leukaemia of childhood[J]. *Br J Haematol*, 2017, 176(4): 629-636. PMID: 28116786. DOI: 10.1111/bjh.14505.
- [17] Horton TM, Whitlock JA, Lu X, et al. Bortezomib reinduction chemotherapy in high-risk ALL in first relapse: a report from the Children's Oncology Group[J]. *Br J Haematol*, 2019, 186(2): 274-285. PMID: 30957229. PMCID: PMC6606340. DOI: 10.1111/bjh.15919.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2024中国当代儿科杂志)