

· 临床研究 ·

儿童 B 系急性淋巴细胞性白血病微小残留病的相关因素及预后分析

陈静, 潘慈, 叶辉, 董璐, 蒋黎敏, 汤静燕, 薛惠良, 顾龙君, 王耀平

(上海第二医科大学附属新华医院上海儿童医学中心 血液/肿瘤科, 上海 200127)

[摘要] 目的 了解检测儿童 B 系急性淋巴细胞性白血病(ALL)微小残留病(MRD)在临床上的意义,探讨其相关因素及预后的关系。方法 用一种胞浆与胞膜、特异与敏感的标志相结合,CD45/SSC 双参数图设门的三色流式细胞术(FCM)对 67 例儿童 B 系 ALL 在诱导治疗结束时(诱导第 28~37 d)进行 MRD 监测。结果 67 例随访病人低危组为 18 例,中危组为 35 例,高危组为 14 例,MRD 在 3 组之间差异有显著性($P < 0.005$),高危组的 MRD(+)率明显较低、中危组高($P < 0.005$)。MRD 与起病时的性别、年龄、白细胞数之间无相关性($P > 0.05$)。MRD 在早期治疗反应上也无明显的统计学差异($P > 0.05$)。而 MRD 与复发及中位无事件生存期密切相关,MRD(+)组复发率明显较 MRD(-)组高($P < 0.05$),MRD(+)组中位无事件生存期也短于 MRD(-)组($P < 0.005$)。结论 检测 MRD 有助于了解疗效以及初步判断其预后以便调整治疗策略,是目前随访儿童 ALL 的有效方法。

[中国当代儿科杂志, 2005, 7(3): 222 - 224]

[关键词] B 系急性淋巴细胞性白血病;微小残留病;儿童

[中图分类号] R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008 - 8830(2005)03 - 0222 - 03

Related factors and clinical significance of minimal residual disease in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia

Jing CHEN, Ci PAN, Hui YE, Lu DONG, Li-Min JIANG, Jing-Yan TANG, et al. Department of Hematology/Oncology, Shanghai Children's Medical Center, Xinhua Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200127, China (Email: jiangum8@yahoo.com)

Abstract: Objective To evaluate the clinical significance of minimal residual disease (MRD) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia (B-ALL). **Methods** MRD was detected using triple-color flow cytometry (FCM) with a combination of specific and sensitive marker of cell plasma and membrane with CD45/SSC in 67 children with B-ALL at the end of the remission induction therapy. **Results** Of the 67 patients, 18 were low risk; 35, medium risk and 14 high risk. The MRD positive rate was significantly different among these patients with different degrees of risk. The high risk patients had the highest MRD positive rate, followed by the medium risk patients ($P < 0.05$). MRD was not significantly correlated with the gender, age and the initial leukocyte counts, as well as with the response to early therapy. A significant association between MRD and the incidence of relapse as well as the event-free survival (EFS) period was observed. The relapse rate in patients with MRD positive was remarkably higher than that in those with MRD negative. The patients with MRD positive had a shorter EFS period compared with MRD negative patients. **Conclusions** The detection of MRD can be used to evaluate the therapeutic effect and the prognosis of childhood ALL.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(3): 222 - 224]

Key words: B-lineage acute lymphoblastic leukemia; Minimal residual disease; Child

随着对儿童急性淋巴细胞性白血病(ALL)化疗个体化的实施,近几年儿童 ALL 的治愈率有明显的提高,部分发达国家已上升至 80%^[1],但复发至今仍是该疾病死亡的主要原因。微小残留病(minimal residual disease, MRD)是复发的根源,微小残留病的检测尤为重要,目前已将 MRD 作为评估残留白血病细胞负荷、治疗疗效和疾病预后的一个新的指标。

我们总结了 67 个病人的 MRD,探讨了相关因素与预后的关系,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2001 年 9 月 1 日~2003 年 12 月 31 日我院血

[收稿日期]2004 - 07 - 16;[修回日期]2004 - 11 - 04

[作者简介]陈静(1967 -),女,大学,副主任医师。主攻方向:儿童白血病及实体瘤的诊治。

液/肿瘤科收治并可纳入统计的儿童 B 系 ALL 77 例,男 45 例,女 22 例,年龄 1~14 岁。按照我院 ALL-XH-99 方案将所有 B 系 ALL 分为低危组(low risk LR)、中危组(medium risk MR)、高危组(high risk HR)。所有病人都接受 ALL-XH-99 方案,随访至 2004 年 4 月 30 日,随访时间为 4~32 个月,中位时间为 15.9 月。失访病人为 10 例。

1.2 疗效判断

泼尼松试验:泼尼松治疗第 8 天外周血幼稚淋巴细胞 $<1\ 000/\mu\text{L}$,为泼尼松反应好(prednisone good response, PGR);诱导治疗第 19 天:骨髓细胞形态学幼稚淋巴细胞 $<5\%$,为 M1 状态;诱导缓解:骨髓细胞形态学增生活跃,幼稚淋巴细胞 $\leq 5\%$ 为完全缓解(CR);MRD 监测:诱导治疗结束获 CR 时 MRD $<0.01\%$ 为 MRD(-);MRD $\geq 0.01\%$ 为 MRD(+);复发:骨髓细胞形态学幼稚淋巴细胞 $\geq 25\%$ 为复发。

1.3 MRD 监测

采用流式细胞仪筛选的一组单克隆抗体组合群 CD19/CD34/CD10/TdT⁺;CD19/CD34/CD10/CD22⁺;CD19/CD34/CD10/CD38⁺;CD19/CD34/CD10/CD45⁺;CD19/CD34/CD10/CD21⁺;CD19/CD34/CD10/CD56⁺ 等为标记^[2],进行 MRD 监测(单抗试剂由美国 Coulter 公司提供)

1.4 统计学处理

所有统计学处理均采用统计软件 SAS 6.12, χ^2 检验完成。

2 结果

2.1 MRD 的相关因素分析

2.1.1 疾病危险度与 MRD 67 例病人中,LR 占 18 例(26.87%),MR 占 35 例(52.24%),HR 占 14 例(20.89%),CR 时 LR 中 2 例 MRD(+)(11.11%),MR 中 5 例 MRD(+)(14.29%),HR 中 8 例 MRD(+)(57.14%),显示疾病危险度与 MRD 之间差异有显著性($P=0.0037$)。见表 1。

表 1 疾病危险度与 MRD 关系 例(%)

	MRD(+)	MRD(-)
LR	2/18(11.11)	16/18(88.89)
MR	5/35(14.29)	30/35(85.71)
HR	8/14(57.14)	6/14(42.86)

2.1.2 起病时其他各因素与 MRD 45 例男孩中有 12 例 MRD(+),22 例女孩中有 3 例 MRD(+),性别与 MRD 在统计学上无相关性($P>0.05$)。MRD(+)患儿年龄为 1~14 岁,中位 6.7 岁,MRD

(-)患儿年龄为 2~12 岁,中位 5.4 岁,经统计年龄与 MRD 之间不存在相关性($P>0.05$)。MRD(+)患儿起病时 WBC 为 $2.8 \times 10^9/\text{L} \sim 141.7 \times 10^9/\text{L}$,中位 $28.21 \times 10^9/\text{L}$,MRD(-)患儿起病时 WBC 为 $1.4 \times 10^9/\text{L} \sim 198.0 \times 10^9/\text{L}$,中位 $27.39 \times 10^9/\text{L}$,两组相比差异无显著性($P>0.05$)。见表 2。

表 2 MRD 与起病时性别、年龄、WBC 之间的关系

	性别(男/女) 例	中位年龄 (岁)	中位 WBC 计数 ($\times 10^9/\text{L}$)
MRD(+)	12/3	6.67	28.21
MRD(-)	33/19	5.35	27.39

2.1.3 疗效与 MRD PGR:15 例 MRD(+)患儿中,13 例早期治疗反应好,52 例 MRD(-)患儿中,50 例早期治疗反应好,两组结果相似,统计学处理差异无显著性($P>0.05$)。诱导治疗第 19 天骨髓(d19 BM)情况:MRD(+)患儿中 13 例(13/15)呈骨髓反应良好 M1 状态;MRD(-)患儿中 51 例(51/52)骨髓呈 M1 状态,两组疗效差异无显著性($P>0.05$)。CR 所需天数:MRD(+)组达 CR 时间为 30~47 d,平均 35.9 d,MRD(-)组达 CR 时间为 28~45 d,平均 33.5 d,两组差异无显著性($P>0.05$)。CR 率:经 ALL-XH-99 方案治疗,所有病人都达到缓解,两组 CR 率为 100%。见表 3。

表 3 疗效与 MRD 的关系

	PGR 例(%)	M1(d19BM) 例(%)	CR 平均天数 (d)	CR 率 例(%)
MRD(+)	13/15(86.67)	13/15(86.67)	35.87	15/15(100)
MRD(-)	50/52(96.15)	51/52(98.08)	33.50	52/52(100)

2.2 MRD 与预后分析

MRD(+)组 15 例患儿中有 5 例复发(5/15),而 MRD(-)组 52 例患儿中仅 3 例复发(3/52),两组比较差异有显著性。MRD(+)组无事件生存时间为 6~17 个月,中位 10.1 个月,MRD(-)组无事件生存时间为 4~31 个月,中位 20.5 个月,两组之间差异有显著性意义。见表 4。

表 4 复发与 MRD 的关系

	复发 例(%)	中位无事件生存时间(月)
MRD(+)	5/15(33.33)	10.13
MRD(-)	3/52(5.77)	20.46

67 例患儿中,有 7 例 PH 染色体呈(+),其中 5 例 MRD(+),6 例复发。

3 讨论

研究 MRD 的意义在于了解生物学上的缓解和复发,以便及时调整治疗方案改善病人的治愈率。目前检测白血病 MRD 最有效且敏感的方法有:PCR 法检测融合基因及免疫球蛋白(IgH)或 T-细胞受体(TCR)基因的重组;用流式细胞仪(FCM)法检测异常的免疫表型。由于 FCM 是基于肿瘤细胞上联合表达免疫表型而正常细胞上没有表达,敏感性为 10^{-4} 个肿瘤细胞,本文是采用 FCM 检测病人是否达到免疫学上的缓解或复发,调查结果为 87% 患儿可随访 MRD。美国 COG^[3] 资料显示 95% 的儿童 ALL 可监测 MRD, St. Jude 儿童研究医院 2000 年资料^[2] 总结 90% 病人可随访 MRD。本文结果显示在诱导末期 22.4% (15/67) 病人 MRD 呈 (+), 并总结了 LR, MR, HR 3 组 CR 时结果, MRD (+) 人群在高危组明显较 LR, MR 组高(约 5 倍),提示 MRD 与危险度存在一定的相关性,对高危组应改良其相应的化疗方案,降低 MRD 的阳性率,减少今后的复发。而 Jacquy^[4] 等总结 51 例儿童 B 系 ALL, 认为诱导末期分子水平的 MRD 与危险度的分类无明显的相关性,是一个独立的预后因素,可能与各自的样本量有关。本文资料显示 MRD 与起病时的临床特征(如性别、年龄、WBC 计数)不存在相关性, Jacquy 等^[4] 报道的结果亦显示 MRD 水平与这些因素无关。Nyvold 等^[5] 2002 年统计也得出同样的结果。在早期治疗反应中, MRD (+) 组与 MRD (-) 组结果相似。两组骨髓细胞形态学均 100% 达到 CR, 达 CR 所需时间也相仿。而 MRD (+) 组的复发率明显高于 MRD (-) 组(约为 6 倍), 其中位无事件生存时间明显缩短,说明在诱导末期 MRD 水平是预示复发的一个独立的因素,具有很高的临床价值。St. Jude 儿童研究医院 1998 年总结的资料显示^[6]: MRD 水平高低与一些临床特征无关,所有调查的患儿中,骨髓细胞形态 100% 达 CR, 其中 27% 的患儿 MRD (+), 随访中复发率为 57%, 而 MRD (-) 患儿无 1 例复发。德国 BFM 协作组资料显示, MRD (+) 组复发率较 MRD (-) 组高出 5 ~ 10 倍(3 年: 39% ~ 86% vs 3% ~ 15%), 而 MRD (+) 组病人持续缓解率(CCR) < 1%。欧洲的协作组(EORTC)及日本的协作组均显示 EFS 在 MRD (+) 与 MRD (-) 之间有明显不同^[7]。目前已有更多的资料显示 MRD 与复发有密切的相关性, MRD 可作为一个新的指标来评估临床的治疗反应及疾病控制的程度。病人是否达到免疫学/分子学水平的缓解,比单独用形态学标准确定缓

解有更敏感的临床意义,所以在诱导治疗末期评价 MRD 对重新确定骨髓 CR 很有必要,是儿童 ALL 缓解的一个新的定义,同时又是预测早期复发、重新确定疾病危险度、调整相应治疗策略的基础。对我院病例研究发现, 67 例患儿中, 有 7 例 PH(+), 其中 5 例 MRD(+), 6 例复发, 而美国 COG 报道^[2], 几乎所有的 PH(+) 患儿 MRD 均呈(+), 说明 PH(+) 的分子学特征, 除了在临床上具有特殊意义外, 与 MRD 也具有密切联系。监测 MRD 虽然已被广泛应用于儿童 ALL 中, 但目前尚需研究: ①MRD 在各阶段治疗的标准水平, 近来认为若 $MRD > 10^{-3}$, 则需改变治疗策略, 否则其无复发生存为 0^[8]; ②评价 MRD 的时间点, 诸多资料显示, 治疗后第 15 天、第 19 天、14 周监测 MRD 对评估预后具有积极意义。第 19 天 MRD(-) 患儿长期随访无复发, 第 29 或 14 周 MRD 呈(+), 则复发率明显增加。若持续阳性至 32 周, 则复发率为 100%^[3]。德国 BFM 协作组经 Cox 模型分析后总结, 治疗的最初 3 个月内监测 MRD 对真正有复发风险的病人进行强化疗具有积极作用。

[参 考 文 献]

- [1] Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z. Clinical significance of minimal residual disease in leukemia[J]. *Int J Oncol*, 2000, 17(6):1277-1287.
- [2] Constan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, Boyett JM, Behm FG, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2000, 96(8):2691-2696.
- [3] Borowitz MJ, Pullen DJ, Shuster JJ, Visswanatha D, Montgomery K, Willman CL, et al. Minimal residual disease detection in childhood precursor-B-cell acute lymphoblastic leukemia: relation to other risk factors. A Children's Oncology Group study[J]. *Leukemia*, 2003, 17(8):1566-1572.
- [4] Jacquy C, Delepaut B, Van Daele S, Vaerman JL, Zenebergh A, Brichard B, et al. A prospective study of minimal residual disease detection in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia: MRD level at the end of induction is a strong predictive factor of relapse[J]. *Br J Haematol*, 1997, 98(1):140-146.
- [5] Nyvold C, Madsen HO, Ryder LP, Svyfarth J, Srejsgaard A, Clansen N, et al. Precise quantification of minimal residual disease at day 29 allows identification of children with acute lymphoblastic leukemia and an excellent outcome[J]. *Blood*, 2002, 99(4):1253-1258.
- [6] Gruhn B, Hongeng S, Yi H, Hancock ML, Rubnitz JE, Neale GA, et al. Minimal residual disease after intensive induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia predicts outcome[J]. *Leukemia*, 1998, 12(5):675-681.
- [7] Okamoto T, Yokota S, Katano N, Seriu T, Nakao M, Taniwaki M, et al. Minimal residual disease in early phase of chemotherapy reflects poor outcome in children with acute lymphoblastic leukemia - a retrospective study by the Children's Cancer and Leukemia Study Group in Japan[J]. *Leuk Lymphoma*, 2002, 43(5):1001-1006.
- [8] Szczepanski T, Sonta-Jakimczyk D, Van Dongen JJ. Minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia: diagnosis of the 21 century[J]. *Przegl Lek*, 2003, 60(Suppl 5):1-4.

(本文编辑:吉耕中)