

· 临床研究 ·

PML-RARa 融合基因 BCR3 亚型急性早幼粒细胞白血病的临床研究

王欣, 刘林[△], 陈建斌, 王建渝, 肖青
(重庆医科大学附属第一医院血液科 400016)

摘要:目的 研究全反式维甲酸(ATRA)联合亚砷酸(ATO)治疗初诊急性早幼粒细胞白血病(APL)的疗效。方法 回顾性分析 ATRA 联合 ATO 诱导治疗+序贯巩固化疗+ ATO/ATRA 维持治疗,对初诊急性早幼粒细胞白血病患者的疗效。并比较在高危组与中低危组间,及不同 PML-RARa 融合基因亚型组间的疗效差异。结果 高危组和中低危组的完全缓解率分别为 70.0%和 96.9%,差异无统计学意义($P=0.04$),3 年总生存率(OS)分别为(70.0±14.5)%, (96.9±3.1)%,差异有统计学意义($P=0.01$);3 年无病生存率(DFS)分别为(66.7%±19.2)%, (93.8±6.1)%,差异无统计学意义($P=0.08$);PML-RARa 融合基因 BCR1 亚型组与 BCR3 亚型组的完全缓解率分别为 78.6%和 95.6%,差异无统计学意义($P=0.14$),3 年 OS 率分别为(95.7±4.3)%, (78.6±11.0)%,差异无统计学意义($P=0.18$);DFS 率分别为(92.9±6.9)%, (87.5±11.7)%,差异无统计学意义($P=0.24$)。结论 ATRA 联合亚砷酸作为一线用药治疗初诊急性早幼粒细胞白血病,尤其对于 BCR3 亚型患者取得了非常好的疗效。

关键词:白血病,早幼粒细胞,急性;维甲酸;亚砷酸;PML-RARa 融合基因

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.28.019

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)28-3382-03

Clinical study of acute promyelocytic leukemia with expression of BCR3 isoform of PML-RARa fusion gene

Wang Xin, Liu Lin[△], Chen Jianbin, Wang Jianyu, Xiao Qin

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To assess the efficacy of combination therapy with all-trans-retinoic acid(ATRA) and arsenic trioxide(ATO) in treating patients with acute promyelocytic leukemia(APL). **Methods** A retrospective study was conducted to evaluate the efficacy of combining ATO with ATRA based induction therapy, followed by 3 courses of consolidation chemotherapy and 2-year sequential ATO/ATRA maintenance therapy in newly diagnosed APL, and the efficacy between high risk group and low/intermediate risk group, also between different PML-RARa isoform sub-group were compared. **Results** In high risk group and low/intermediate risk group, the complete remission(CR) rates were 70.0% and 96.9% ($P=0.04$), respectively; the 3 years overall survival rates(OS) and disease free survival rates(DFS) were(70.0±14.5)%, (96.9±3.1)%, $P=0.01$ and(66.7%±19.2)%, (93.8±6.1)%, $P=0.08$, respectively. In BCR1 group and BCR3 group, the CR were 78.6% and 95.6% ($P=0.14$), respectively; the rates of 3 years OS and DFS were(95.7±4.3)%, (78.6±11.0)%, $P=0.18$, and(92.9±6.9)%, (87.5±11.7)%, $P=0.24$, respectively. **Conclusion** The results indicate that ATO based first-line protocol is highly effective for treatment of newly diagnosed APL, especially for the PML-RARa BCR3 isoform APL.

Key words: leukemia, promyelocytic, acute; all-trans-retinoic acid; arsenic trioxide; PML-RARa fusion gene

急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)是急性髓系白血病的一个特殊亚型,其发病的分子基础是因特异性染色体 t(15;17)易位形成的 PML-RARa 融合基因。因 15 号染色体上 PML 基因的断裂点不同,从而产生 3 种 PML-RARa 融合基因异构体,据此分为 3 个亚型,分别是 BCR1 型,BCR3 型及 BCR2 型^[1]。初诊 APL 的一线治疗方案主要是以全反式维甲酸(all-trans-retinoic acid, ATRA)联合蒽环类抗生素为主,并取得了不错的疗效^[2],但 BCR3 型的患者往往复发率更高、生存期更短^[3]。而本研究近年来在一线方案加入亚砷酸(ATO)治疗初诊 APL 患者,取得较前更好疗效,特别是在 BCR3 型患者,现报道如下。

1 资料及方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2012 年 6 月于本院收治的 42 例初发 PML-RARa 融合基因阳性的 APL 患者,其中,男 23 例,女 19 例;年龄 13~66 岁,中位年龄 38 岁。诊断标准参照《血液学诊断及疗效标准》^[4],所有患者均根据临床表现、骨髓细胞形态学检查、流式细胞学检查、染色体核型分析及 PML-

RARa 融合基因检测(MICM)明确诊断。按初诊时患者外周血白细胞计数分为两组:WBC≥10.0×10⁹/L 的患者为高危组(10 例),WBC<10.0×10⁹/L 的为中低危组(32 例)。按不同 PML-RARa 融合基因亚型分为 3 组:BCR1 型,BCR2 型,BCR3 型。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

1.2.1.1 诱导治疗 ATRA 联合 ATO, ATRA: 25 mg·m⁻²·d⁻¹, 28~40 d; ATO: 10 mg/d, 28~35 d。可根据治疗过程中白细胞数量变化适量加用柔红霉素(DNR)、羟基脲等细胞毒药物。

1.2.1.2 缓解后巩固治疗 序贯行 3 疗程化疗,分别为 DA, MA, TA 方案:(1)DA 方案: DNR 40~45 mg·m⁻²·d⁻¹, 1~3 d, 阿糖胞苷(Ara-C) 100~200 mg·m⁻²·d⁻¹, 1~7 d;(2) MA 方案: 米托蒽醌(MTZ) 6~10 mg·m⁻²·d⁻¹, 1~3 d, Ara-C 100~200 mg·m⁻²·d⁻¹, 1~7 d;(3)TA 方案: 吡柔比星(THP) 10~15 mg·m⁻², 1~3 d, Ara-C 100~200 mg·

作者简介:王欣(1980~),硕士,主治医师,主要从事白血病的发病机制及临床治疗的研究。 △ 通讯作者, Tel: 13608357776; E-mail: li-
ul7776@yahoo.com.cn.

$m^{-2} \cdot d^{-1}$, 1~7 d。如为高危患者, 可将 DA 或 MA 方案中的 Ara-C 换为 $2 g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$, 1~3 d。

1.2.1.3 中枢神经白血病(CNSL)的防治 腰穿及鞘内注射至少 4 次。鞘注方案如下: 甲氨喋呤(MTX) 10 mg, Ara-C 50 mg, 地塞米松(DXM) 5 mg。

1.2.1.4 缓解后维持治疗 序贯应用 ATO、ATRA、6-巯基嘌呤(6-MP)+甲氨喋呤(MTX) 3 种方案, 每方案 1 个月, 3 个月为 1 周期, 共 5 周期。(1) ATO $10 mg \cdot d^{-1}$, 21~28 d。(2) ATRA $25 \sim 45 mg \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$, 1~28 d。(3) 6-MP+MTX: 6-MP 100 mg, 1~7 d, 15~21 d; MTX 20 mg, d9, 12, 23, 26。

1.2.2 PML-RAR α 融合基因的检测 治疗前送骨髓检查 PML-RAR α 融合基因并确定亚型, 缓解后巩固、维持治疗及结束治疗后随访期间每 3 个月做一次融合基因亚型的定量检测。完全缓解期间 PML-RAR α 融合基因由阴性转为阳性时, 考虑为分子学复发。PML-RAR α 融合基因(BCR1、BCR2、BCR3)的检测方法采用欧洲抗癌协会推荐的实时荧光定量 PCR 技术(RQ-PCR)^[5]。

1.2.3 疗效评判及随访 早期死亡定义为诱导缓解治疗中未达到缓解(CR)前死亡的患者。血液学完全缓解(HCR), 分子学完全缓解(MCR)参照 IWG 标准^[6]。生存时间(OS)定义为从疾病确诊到患者死亡的时间, 无病生存时间(DFS)定义为从患者达到血液学 CR 至第一次复发的时间。随访终点时间为 2012 年 12 月 31 日。

1.3 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料采用率表示, 组间采用 χ^2 检验; 采用 Kaplan-Meier 生存分析, 统计移植后患者 3 年总 OS 率及 3 年无病 DFS 率, 组间比较应用 Log-rank 检验。检验水准 $\alpha=0.05, P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者缓解情况 共 4 例患者死于诱导缓解期, 早期病死率为 9.5%。3 例死于颅内出血(均为高危组, BCR3 型), 1 例死于败血症合并感染性休克(中低危组, BCR1 型)。其余 38 例完成诱导缓解治疗的患者全部达到 HCR, 获得 CR 所需时间为 25~52 d, CR 率为 90.5%。其中高危组及中低危组的 CR 率分别为 70.0% vs. 96.9%, 两组间比较差异有统计学意义($P=0.04$), 见表 1。BCR1 型及 BCR3 型 CR 率分别为 95.6% vs. 78.6%(因 BCR2 型例数太少, 未纳入统计分析), 两组间比较差异无统计学意义($P=0.14$), 见表 2。在巩固治疗期间, 1 例(中低危组, BCR1 型)达 CR 后出院拒绝继续治疗, 1 例(中低危组, BCR2 型)在巩固化疗期间, 于粒细胞缺乏期并发肺部真菌感染放弃治疗自动出院, 完成巩固治疗的 36 例患者复查 PML-RAR α 融合基因均为阴性, 全部达到 MCR。

表 1 初诊高白细胞与近期预后的关系[n(%)]

组别	n	早期病死率	HCR
高危组	10	3(30.0)	7(70.0)
中低危组	32	1(3.1)	31(96.9)
P	—	0.04	0.04

—: 表示无数据。

2.2 不同危险组及 PML-RAR α 融合基因亚型与中远期预后关系 完成巩固治疗的 36 例患者中位随访时间为 28 个月(7~48 个月), 仅有 3 例患者复发(3/36, 8%)。不同危险组的复发率、3 年 OS 率及 DFS 率见表 3; 不同 PML-RAR α 融合基

因亚型组的复发率、3 年 OS 率及 DFS 率见表 4, 两组间各指标比较差异均无统计学意义。不同危险组及 PML-RAR α 融合基因亚型组的 OS 曲线和 DFS 曲线见图 1~4。复发的 3 例患者再次按原方案诱导治疗, 均再次达到 CR, 至随访结束仍保持 CR2。CR1 持续时间为 15~20 个月。

表 2 PML-RAR α 融合基因亚型与近期预后的关系[n(%)]

融合基因亚型	n	高白细胞	早期死亡	HCR
BCR1 型	23	2(8.7)	1(4.4)	22(95.6)
BCR3 型	14	7(50.0)	3(21.4)	11(78.6)
P	—	0.01	0.14	0.14

—: 表示无数据。

表 3 初诊高白细胞与中远期预后的关系

组别	复发率 (%, n/n)	3 年 OS 率 (%, $\bar{x} \pm s$)	3 年 DFS 率 (%, $\bar{x} \pm s$)
高危组	28.6(2/7)	70.0 \pm 14.5	66.7 \pm 19.2
中低危组	3.4(1/29)	96.9 \pm 3.1	93.8 \pm 6.1
P	0.09	0.01	0.08

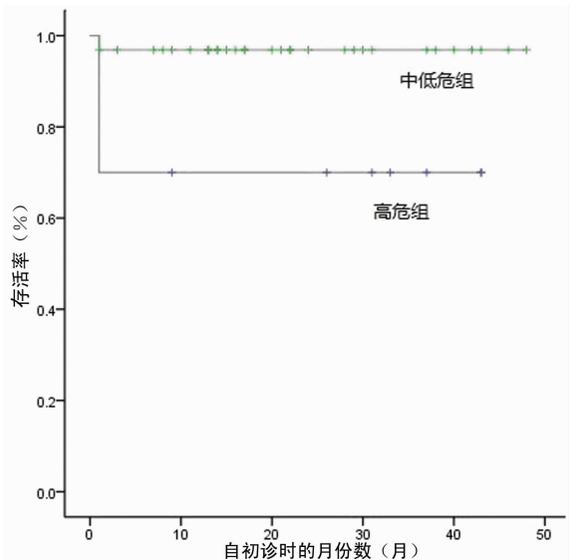


图 1 不同危险组的 OS 曲线

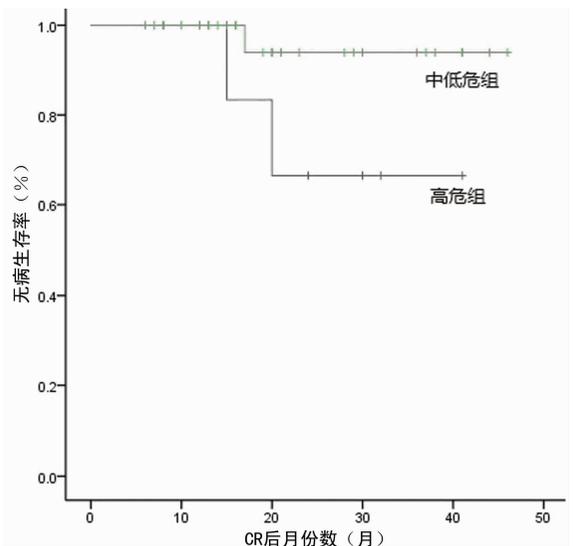
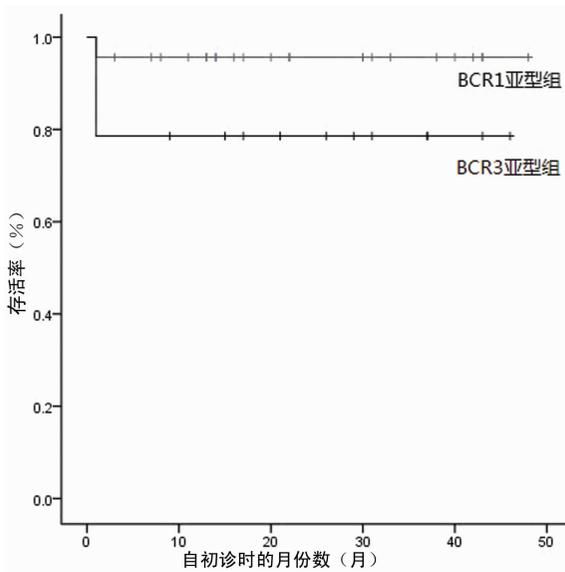
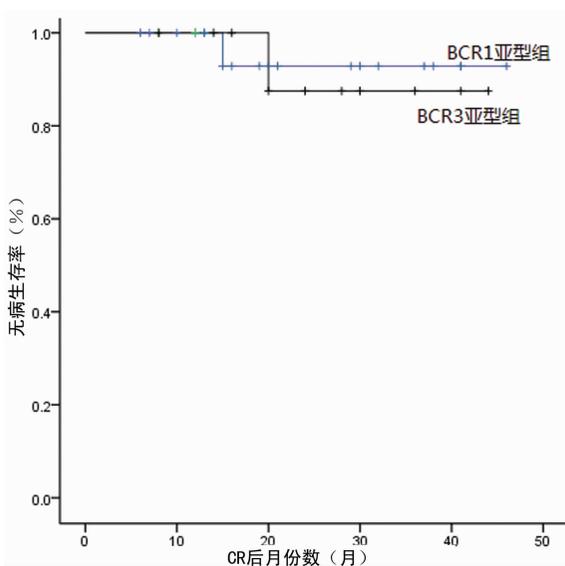


图 2 不同危险组的 DFS 曲线

表 4 PML-RAR α 融合基因亚型与中远期预后的关系

融合基因亚型	复发率 (%, n/n)	3 年 OS 率 (%, $\bar{x} \pm s$)	3 年 DFS 率 (%, $\bar{x} \pm s$)
BCR1 型	4.8(1/21)	95.7 \pm 4.3	92.9 \pm 6.9
BCR3 型	9.1(1/11)	78.6 \pm 11.0	87.5 \pm 11.7
P	0.58	0.18	0.24

图 3 不同 PML-RAR α 融合基因亚型组的 OS 曲线图 4 不同 PML-RAR α 融合基因亚型组的 DFS 曲线

3 讨论

本研究总的 CR 率为 90.5%，与国内外报道相近。中低危组 CR 率显著高于高危组 (96.9% vs. 70.0%, $P=0.04$)；BCR1 型 CR 率也高于 BCR3 型 (95.6% vs. 78.6%, $P=0.14$)，但差异无统计学意义。分析原因发现全部 42 例患者除早期死亡的 4 例，其余 38 例全部达到 CR，故 CR 率的差异主要归因于早期病死率的差异。且完成巩固治疗的 36 例患者到随访结束时均还存活，说明 APL 患者主要风险还是在达到 CR 前的诱导 CR 治疗阶段。

中低危组的复发率、3 年 OS 率及 DFS 率均明显优于高危组；而 PML-RAR α 融合基因不同亚型组间上述各项指标差异

无统计学意义。既往以 ATRA 联合常规化疗为主要治疗方案的国内外研究显示 BCR3 型患者的疗效往往不如 BCR1 型^[3]，分析原因可能是 BCR3 亚型与 FLT3 突变存在高度关联性，而 FLT3 突变往往与初诊高白细胞状态并存，是 APL 重要的不良预后标志之一^[7-8]。另有研究显示在白血病细胞的体外实验中，在缺乏 GM-CSF 的环境中，BCR3 型细胞有抗凋亡特性，而 BCR1 型可促进细胞死亡；并且 ATRA 的抑制细胞生长作用对 BCR1 型细胞比 BCR3 型更强^[9]，故提示 BCR3 型 APL 患者对 ATRA 具有更强的耐药性。既往 ATO 一般作为二线用药用于复发、难治的 APL 患者，近来越来越多的单位把 ATO 加入到一线治疗用药中^[10-12]，本研究收集病例均为初诊患者，在诱导缓解治疗及后期序贯维持治疗中均采用了 ATRA 联合 ATO 的方案，所得结果显示 BCR3 型患者的 OS 率及 DFS 率明显优于既往不含 ATO 的研究^[3]，另有国内单位也取得了与本研究相似的疗效^[13]。故可得出结论 ATRA 联合 ATO 作为一线用药治疗初诊 APL 取得了非常好的疗效，并且对于 BCR3 亚型患者的中长期疗效优于既往一线用药不含 ATO 的研究。BCR3 型 OS 率低于 DFS 率，原因为 OS 率计算包括早期死亡例数，而 DFS 率计算是从达到 CR 的例数开始。BCR3 型患者早期病死率较高 (21.4%)，而达 CR 后本研究中复发率仅为 9.1%，在今后的工作中还要寻找更好的方法防止该类患者的早期死亡，如积极防治弥散性血管内凝血，减少颅内出血的发生率，从而进一步提高 BCR3 型患者的总生存率。

参考文献：

- [1] Chen SJ, Chen Z, Chen A, et al. Occurrence of distinct PML-RAR-alpha fusion gene isoforms in patients with acute promyelocytic leukemia detected by reverse transcriptase/polymerase chain reaction[J]. *Oncogene*, 1992, 7(6):1223-1232.
- [2] Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable[J]. *Blood*, 2008, 111(5): 2505-2515.
- [3] Jurcic JG, Nimer SD, Scheinberg DA, et al. Prognostic significance of minimal residual disease detection and PML/RAR-alpha isoform type: long-term follow-up in acute promyelocytic leukemia [J]. *Blood*, 2001, 98(9): 2651-2656.
- [4] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007:106-113.
- [5] Beillard E, Pallisaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR)-a Europe against Cancer program [J]. *Leukemia*, 2003, 17(12): 2474-2486.
- [6] Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(24): 4642-4649.
- [7] Barragán E, Montesinos P, Camos M, et al. Prognostic value of FLT3 mutations in patients (下转第 3387 页)

童由于年龄相关的解剖生理差异及迅速而隐匿的病情恶化^[3,7],同时危重患儿多有血容量不足或心功能不全等情况,因此并发症风险更高。(4)本研究中困难气管插管占 21.4%,高于既往的研究结果(1%~18%)^[1-2,7],但由于条件所限,未采用可视喉镜、纤维支气管镜等先进设备引导插管,这也可能是并发症发生率高的原因之一。

3.2 危险因素 既往有关紧急气管插管的研究并未就插管途径与并发症之间的关系进行研究。全身麻醉下成人经鼻和经口气管插管的比较发现,经鼻插管可以引起更明显的心血管系统反应^[11]。但亦有报道经鼻和经口气管插管在全身麻醉儿童可引起相同的心血管反应^[12],但也有成人的研究显示经鼻气管插管具有并发症少,可避免或减少气管切开等优点^[13]。既往已有多个研究显示反复插管可导致患者低氧血症、心血管系统紊乱甚至心搏骤停等并发症发生率明显增高^[14],这与本研究的结果相同。

3.3 非工作时间与工作时间并发症 本研究显示紧急插管更多发生在非工作时间,非工作时间紧急插管并发症风险更高,这与 Carroll 等^[3]研究结果相同。但是,后者只是从有无并发症的层面说明非工作时间与紧急插管并发症有关,而本研究从各种并发症层面更直观、具体的说明了非工作时间与紧急插管并发症风险有关。

本研究显示紧急气管插管发生在非工作时间的可能性是工作时间的 1.7 倍,非工作时间、经鼻插管、插管 2 次以上与紧急插管并发症有关。本研究是有局限性的。首先,本研究是在单一的机构实施的,由于各地医疗条件、技术水平等差异可能会影响研究结果的推广。其次,尚需进一步的流行病学调查明确非工作时间与紧急气管插管并发症有关的原因,以便从源头降低非工作时间紧急气管插管风险。

参考文献:

- [1] 尹万红,王波,康焰,等.重症加强治疗病房内气管插管分析[J].中国呼吸与危重监护杂志,2010,9(4):413-415.
- [2] Mort TC. Complications of emergency tracheal intubation; hemodynamic alterations-part I [J]. Intensive Care Med, 2007, 22(3): 157-165.
- [3] Carroll CL, Spinella PC, Corsi JM, et al. Emergent endo-

tracheal intubations in children; be careful if it's late when you intubate [J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2010, 11(3): 343-348.

- [4] Benedetto WJ, Hess DR, Gettings E, et al. Urgent tracheal intubation in general hospital units; an observational study [J]. *J Clin Anesth*, 2007, 19(1): 20-24.
- [5] Griesdale DE, Bosma TL, Kurth T, et al. Complications of endotracheal intubation in the critically ill [J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(10): 1835-1842.
- [6] Ehrlich PF, Seidman PS, Atallah O, et al. Endotracheal intubations in rural pediatric trauma patients [J]. *J Pediatr Surg*, 2004, 39(9): 1376-1380.
- [7] 刘芬,赵文辉,李声华.插管次数对手术室外紧急气管插管并发症的影响[J].中国急救医学,2006,26(9):651-654.
- [8] Fuhrman BP, Zimmerman JJ. *Pediatric Critical Care* [M]. 3rd ed. St. Louis: Mosby Inc, 2005.
- [9] 宋国维.小儿危重病例评分[J].中华急诊医学杂志,2003,12(5):359-360.
- [10] Berg MD, Schexnayder SM, Chameides L, et al. Part 13: pediatric basic Life support: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care [J]. *Circulation*, 2010, 122(18 Suppl 3): S862-875.
- [11] Smith JE, Grewal MS. Cardiovascular effects of nasotracheal intubation [J]. *Anaesthesia*, 1991, 46(8): 683-686.
- [12] 刘毅,薛富善,刘鲲鹏,等.直接喉镜经口和经鼻气管插管对小儿血流动力学的影响[J].实用儿科临床杂志,2007,22(23):1796-1797,1823.
- [13] 钟淑卿,黎毅敏,陈世明,等.经鼻与经口气管插管机械通气抢救呼吸衰竭的比较[J].中国危重病急救医学,1997,9(1):21-23,63.
- [14] 袁振宁,黄英华.紧急气管插管 248 例临床体会[J].临床急诊杂志,2007,8(5):302-303.

(收稿日期:2013-05-20 修回日期:2013-07-02)

(上接第 3384 页)

- with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy [J]. *Haematologica*, 2011, 96(10): 1470-1477.
- [8] Mathews V, Thomas M, Srivastava VM, et al. Impact of FLT3 mutations and secondary cytogenetic changes on the outcome of patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with a single agent arsenic trioxide regimen [J]. *Haematologica*, 2007, 92(7): 994-995.
 - [9] Slack JL, Yu M. Constitutive expression of the promyelocytic leukemia-associated oncogene PML-RARalpha in TF1 cells: isoform-specific and retinoic acid-dependent effects on growth, bcl-2 expression, and apoptosis [J]. *Blood*, 1998, 91(9): 3347-3356.

- [10] 吕在明,张曦,陈幸华,等.亚砷酸治疗急性早幼粒细胞白血病的临床观察[J].重庆医学,2004,33(9):1399-1400.
- [11] Hu J. Arsenic in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia; current status and future research direction [J]. *Front Med*, 2011, 5(1): 45-52.
- [12] Lengfelder E, Hofmann WK, Nowak D. Impact of Arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 433-442.
- [13] Lou Y, Qian W, Meng H, et al. High efficacy of Arsenic trioxide plus all-trans retinoic acid based induction and maintenance therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia [J]. *Leuk Res*, 2013, 37(1): 37-42.

(收稿日期:2013-05-26 修回日期:2013-06-27)