

• 造血干细胞移植专题 •

造血干细胞移植治疗 Ph 样急性淋巴细胞白血病五例报道并文献复习

戴海萍 李正 尹佳 刘明红 朱霞明 吴德沛 唐晓文

苏州大学附属第一医院血液科 江苏省血液研究所 卫生部血栓与止血重点实验室

血液学协同创新中心, 苏州 215006

通信作者: 唐晓文, Email: xwtang1020@163.com

【摘要】 目的 分析造血干细胞移植治疗五例费城染色体(Ph)样急性淋巴细胞白血病(ALL)的疗效。**方法** 采用荧光原位杂交(FISH)检测 Ph 样 ALL 常见基因重排。予化疗联合芦可替尼诱导治疗,未缓解的患者接受嵌合抗原受体 T(CAR-T)细胞治疗,在获得完全缓解(CR)后行造血干细胞移植(HSCT)。其中 4 例受者接受异基因 HSCT,1 例受者接受自体 HSCT。**结果** 化疗联合芦可替尼治疗后,3 例获得完全缓解,2 例未缓解的受者接受 CAR-T 治疗,并获得完全缓解。4 例受者移植后处于持续完全缓解,1 例受者移植后早期复发。**结论** 联合传统化疗、芦可替尼和 CAR-T 等综合治疗手段使患者尽快达 CR,并序贯 HSCT,有望改善此类患者的预后。

【关键词】 造血干细胞移植,淋巴细胞白血病,急性**基金项目:**国家自然科学基金(81873443),江苏省科技厅重点研发计划(社会发展)-临床前沿技术(BE2017655)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.03.005

Hematopoietic stem cell transplantation for Ph-like acute lymphoblastic leukemia and literature review

Dai Haiping, Li Zheng, Yin Jia, Liu Minghong, Zhu Xiaming, Wu Depei, Tang Xiaowen

Department of Hematology, First Affiliated Hospital, Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis & Hemostasis, Ministry of Health, Collaborative Innovation Center of Hematology, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Tang Xiaowen, Email: xwtang1020@163.com

【Abstract】 Objective To explore the efficacy of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) for 5 patients with Ph-like acute lymphoblastic leukemia (ALL). **Methods** Fluorescent in situ hybridization (FISH) was performed for detecting the rearrangement of susceptibility genes. Combined therapy of chemotherapy and ruxolitinib were applied, followed by HSCT. Those failing to achieve complete remission (CR) received an infusion of chimeric antigen T-cells (CAR-T), followed by HSCT once CR was achieved. Four patients accept allogeneic HSCT while another auto HSCT. **Results** Three of them achieved CR after chemotherapy and ruxolitinib. The remaining 2 patients got CR after CAR-T. Four patients remained in CR after HSCT. Early relapse occurred in 1 patient after HSCT. **Conclusions** Combined therapy of chemotherapy, ruxolitinib and CAR-T are necessary for Ph-like ALL patients. HSCT after an initial CR improve patient prognosis.

【Key words】 Hematopoietic stem cell transplantation; Lymphoblastic leukemia; Acute**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81873443); Frontier Clinical Research & Development Project of Jiangsu Provincial Department of Science & Technology (BE2017655)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.03.005

Ph 样急性淋巴细胞白血病(ALL)是急性前体 B 淋巴细胞白血病的一个独立亚型(B-ALL),不表达 BCR/ABL1 融合基因,但与 BCR/ABL1 阳性 ALL 有相似的基因表达谱^[1]。Ph 样 ALL 总体发生率为 10%~25%,在青少年和青年成人 B-ALL 的发生率分别高达 21%和 27%^[2]。Ph 样 ALL 患者传统化疗缓解率低,复发率高,预后差^[2]。Jain 等^[3]报道的 Ph 样 ALL 的 5 年无事件存活率(EFS)

和总存活率(OS)分别为 23.2%和 26.5%,均显著低于其他类型 B-ALL。目前 Ph 样 ALL 的治疗尚无指南推荐,亟需切实有效的治疗方案以改善此类患者的预后。

约 50% Ph 样 ALL 患者可检测到 CRLF2、EPOR 或 JAK2 基因重排,导致 JAK-STAT 信号通路异常激活。文献报道加用 JAK 抑制剂能提高上述 Ph 样 ALL 的诱导缓解率^[2]。尽管如此,Herold

等^[4]的数据显示:Ph 样 ALL 的分子学缓解率仅为 33 %, CR1 期行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)有望改善其预后。目前已有多个 JAK 抑制剂治疗 Ph 样 ALL 的临床试验^[2],但缺乏 HSCT 在 Ph 样 ALL 中的数据。本中心采用 HSCT 成功治疗 5 例 Ph 样 ALL 受者,我们在此报道其临床资料,并对其临床特征和治疗效果进行分析。

对象与方法

一、病例资料

2017 年 10 月至 2019 年 2 月在我院血液科治疗的 5 例初诊 Ph 样 ALL 患者,男 3 例,女 2 例,平均年龄 21.2 岁(18~24 岁)。所有患者均进行血常规以及骨髓形态学、免疫表型、染色体核型分析、荧光原位杂交(FISH)、多重聚合酶链式反应(PCR)、二代测序检查,均符合 Ph 样 ALL 诊断标准^[5]。(表 1)

二、荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测采用 Vysis 公司的 FISH 探针试剂盒,取患者初诊时骨髓标本,按照常规流程制备染色体悬液,探针杂交及信号分析按照我单位常规检测方法进行^[6]。

三、治疗方案

诱导化疗方案均选用 IVP 方案:去甲氧柔红霉素 10 mg,静脉滴注,每周一次,用 3 次;长春地辛 4 mg,静脉滴注,每周一次,用 3 次;地塞米松 15 mg,每天一次,静脉滴注(2 周后缓慢减停)。第 14 天复查骨穿,原始细胞比例高于 20 %者加用培门冬酶 3750 U,肌肉注射。5 例受者在 IVP 方案化疗同时加用磷酸芦可替尼(Novartis,瑞士)治疗,其起始剂量为 5 mg,口服,早晚各一次,后逐渐加量至 20 mg,口服,早晚各一次。例 1、2、4 受者经过化疗联合芦可替尼治疗后获得完全缓解(CR),再予高剂量阿糖胞苷联合培门冬酶方案巩固化疗一个疗程。例 3 和例 5 受者第一疗程化疗未达

CR,行自体 CD19/CD22 一箭双星嵌合抗原受体 T (CAR-T)细胞治疗(CAR-T 细胞由上海优卡迪生物医药科技有限公司制备),2 例受者在 CAR-T 治疗后均获得 CR。例 1 受者在 CR1 期行自体造血干细胞移植(auto-HSCT),其余受者均在 CR1 期行 allo-HSCT。

四、疗效评价

参照文献^[7]标准进行疗效评价,分为 CR、CR 伴血细胞不完全恢复、难治性疾病等。

五、随访

采用电话联系方式进行随访。随访截至时间为 2019 年 2 月 25 日。

结 果

一、临床特征

5 例受者初诊时平均年龄 21.2 岁,均为青年人。其中 3 例为男性,2 例为女性。仅例 5 初诊时白细胞大于 $30 \times 10^9/L$ 。5 例受者初诊时免疫分型均提示为 B-ALL。

二、遗传学特征

5 例受者中,4 例为正常核型,1 例为染色体复杂异常。进一步通过 FISH 技术在例 1、例 2、例 3 均检测到累及 CRLF2 的重排。其中例 1 和例 2 为累及 CRLF2 的缺失重排(图 1A、1B),例 3 为累及 CRLF2 的染色体易位(图 1C)。例 4 检测到 EPOR 基因重排(图 1D)。例 5 检测到 JAK2 基因重排(图 1E)。例 2 和例 3 受者合并 JAK2 突变。例 1 和例 5 受者合并 NOTCH1 突变。例 2 和例 4 受者合并 CBL 突变(表 1)。

三、诱导治疗疗效

例 1、2 和 4 受者经化疗联合芦可替尼治疗后获得 CR, FISH 检测 CRLF2 重排或 EPOR 重排均为阴性,提示均达到分子学缓解。例 3 和例 5 经 IVLP 方案化疗联合芦可替尼治疗后本病均未达 CR,为

表 1 5 例 Ph 样 ALL 受者初诊时的临床特征及骨髓 MICMM 检查结果

病例	性别	年龄 (岁)	白细胞计 数($10^9/L$)	形态	染色体	FISH	免疫分型	多重 PCR	基因突变
1	男	19	29.4	原幼细 胞 80 %	正常	CRLF2 重排 (15 %) BCR/ABL1 阴性	67.3 %幼稚群体, B 淋系 表达, CRLF2 97.1 %	阴性	SETD2(K2506delinsSQ), NOTCH1(A1740V), NRAS(G120)
2	男	18	1.3	原幼细 胞 88 %	复杂 核型*	CRLF2 缺失 (96.2 %) BCR/ABL1 阴性	96.2 %幼稚群体, B 淋系 表达, CRLF2 98 %	阴性	JAK2(R68G), CBL(Q385R)
3	女	24	23.1	原幼细 胞 70 %	正常	CRLF2 重排 (85 %) BCR/ABL1 阴性	88.8 %幼稚群体, B 淋系 表达, CRLF2 98.7 %	阴性	JAK2 (V878M)
4	男	24	4.95	原幼细 胞 46.5 %	正常	EPOR 重排 (8 %) BCR/ABL1 阴性	59.6 %幼稚群体, B 淋系 表达	阴性	CBL(L370_Y371del)
5	女	21	55.38	原幼细 胞 88 %	正常	JAK2 重排 (20 %) BCR/ABL1 阴性	61.5 %幼稚群体, B 淋系 表达	阴性	NOTCH1(G881S), BCOR (R1589H)

注: * 该例患者染色体核型为 46,XY,add(1)(q12),7q-,16q+, -21, +22

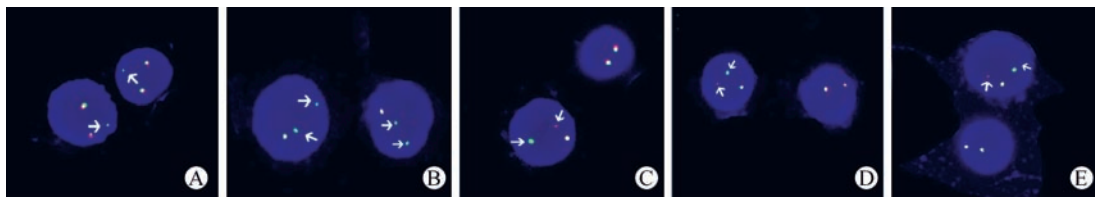


图 1 5 例受者 FISH 检测结果。A-C 为例 1、2、3 受者初诊骨髓标本采用 CRLF2 断裂点分开的探针检测结果。结果显示: A. 检测到两个黄色信号和一个绿色信号,提示存在 CRLF2 基因扩增,箭头所指绿色信号显示 CRLF2 基因断裂后发生部分丢失; B. 检测到一个黄色信号和 2 个绿色信号,箭头所指绿色信号显示 CRLF2 基因断裂后发生部分丢失; C. 检测到一个黄色信号,一个红色信号和一个绿色信号;箭头所指为 CRLF2 发生断裂; D. 例 4 受者初诊骨髓标本采用 EPOR 断裂点分开探针的 FISH 结果。检测到一个黄色信号,一个红色信号和一个绿色信号。箭头所指为 EPOR 基因发生断裂; E. 例 5 受者初诊骨髓标本采用 JAK2 断裂点分开探针的 FISH 结果。检测到一个黄色信号,一个红色信号和一个绿色信号。箭头所指为 JAK2 基因发生断裂。

难治性 B-ALL, 后行 CAR-T 细胞治疗, 并均在 CAR-T 治疗后获得 CR, 进而接受 allo-HSCT。(表 2、3)

四、移植疗效及转归

例 1、2、3 和 4 受者在移植后本病均处于持续 CR 状态。例 2、3、4 受者均在移植后 3 个月停用免疫抑制剂, 并加用干扰素治疗。例 3 和例 4 受者在加用干扰素后出现 I 度皮肤移植植物抗宿主病 (GVHD)^[8]。例 2 受者加用干扰素治疗, 目前仍无 GVHD 表现。例 5 受者在 allo-HSCT 后 1 个月即出现形态学复发, 经撤减免疫抑制剂和干扰素治疗后本病再次获得 CR, 但受者合并皮肤、肠道、肝脏 GVHD, 并最终死于肝脏 GVHD。

讨 论

Ph 样 ALL 遗传学异质性大, 常见的遗传学异常为累及 CRLF2^[4]、EPOR^[9]、PDGFRB^[10]、ABL1^[9] 和

JAK2^[11] 等基因的易位或缺失, 极其隐匿, 很难被染色体核型分析识别, 易漏诊^[12]。本中心对初诊 Ph 阴性的 B-ALL 患者常规进行 Ph 样 ALL 的 FISH 筛查 (探针包括 ABL1、ABL2、CSF1R、CRLF2 和 EPOR), 在一定程度上提高了 Ph 样 ALL 的早期识别率, 为整体治疗方案的制定提供了重要的指导。本研究的 5 例受者均在诱导化疗开始前确诊为 Ph 样 ALL, 我们根据 FISH 结果选用 JAK 抑制剂芦可替尼联合化疗进行诱导治疗, 3 例 (60 %) 受者一疗程化疗后获得 CR。因 Ph 样 ALL 对单纯化疗不敏感, 另 2 例未获得 CR 的受者选用 CAR-T 细胞治疗, 2 例受者在治疗后均获得形态学缓解, 提示 CAR-T 治疗可作为 Ph 样 ALL 可靠的挽救性治疗手段。5 例受者在获得 CR 后迅速启动移植, 仅 1 例受者 (20 %) 出现复发, 复发率远低于文献^[3]报道, 提示 CR1 期行 HSCT 有望改善 Ph 样 ALL 的预后。

表 2 5 例接受造血干细胞移植的 Ph 样 ALL 受者的治疗方案及骨髓穿刺评估情况

病例	分子学异常	诱导方案	移植前 CART 治疗	移植	移植类型	移植前骨髓评估			移植后复发	生存状况
						形态	MRD (流式)	MRD (FISH)		
例 1	CRLF2 重排	芦可替尼 + IVP	否	是	自体	原幼细胞 0 %	2.6×10^{-3}	CRLF2 重排阴性	否	存活 (14m+)
例 2	CRLF2 重排	芦可替尼 + IVP + 培门冬酶	否	是	无关全相合	原幼细胞 0 %	6.9×10^{-4}	CRLF2 重排阴性	否	存活 (12m+)
例 3	CRLF2 重排	芦可替尼 + IVP + 培门冬酶	是	是	无关全相合	原幼细胞 1.5 %	0.91 %	CRLF2 重排阴性	否	存活 (10m+)
例 4	EPOR 重排	芦可替尼 + IVP	否	是	父供子单倍型	原幼细胞 0 %	7×10^{-4}	EPOR 重排阴性	否	存活 (15m+)
例 5	JAK2 重排	芦可替尼 + IVP + 培门冬酶	是	是	父供女单倍型	原幼细胞 0 %	13.7 %	JAK2 重排阴性	是	死亡 (存活 11m)

表 3 2 例移植前接受 CAR-T 治疗的 Ph 样 ALL 受者的临床资料

病例	分子学异常	CAR-T 治疗前骨髓评估			CAR-T 治疗后骨髓评估			CRS	CRS 临床表现	CRS 处理
		形态	MRD (流式)	MRD (FISH)	形态	MRD (流式)	MRD (FISH)			
例 3	CRLF2 重排	原幼细胞 8 %	7.2 %	未	原幼 0.5 %	0×10^{-4}	CRLF2 重排阴性	1 级	发热	对症处理
例 5	JAK2 重排	原幼细胞 40.5 %	89.9 %	JAK2 重排 (9 %)	原幼 0.0 %	5.9 %	JAK2 重排阴性	3 级	发热, 血压下降	对症处理激素

Ph 样 ALL 最常见的遗传学改变为 CRLF2 重排,发生率约 50 %,其中一半伴有 JAK2 突变。5 例受者中 3 例检测到 CRLF2 重排,其中 2 例合并 JAK2 突变,均与文献报道相仿^[13]。Konoplev 等^[13]的研究发现:CRLF2 通过与 P2RY8 或 IgH 发生重排后导致 CRLF2 过表达。与此一致,本研究中 3 例伴 CRLF2 重排的受者通过流式细胞仪均检测到 CRLF2 高表达。例 1 和例 2 受者经诱导治疗后获得 CR,例 3 受者经过诱导化疗后虽然未达 CR,但原始细胞比例较初诊时明显下降,提示芦可替尼联合化疗,可较好地抑制白血病细胞增殖。例 1 受者对环孢素 A 注射液等药物过敏,且表现为过敏性休克,家属放弃 allo-HSCT,行 auto-HSCT,目前为移植后 7 个月,本病一直处于缓解状态。例 2 和例 3 受者在获得 CR 后行 allo-HSCT,目前无病存活 7 个月余,提示 allo-HSCT 是维持此类疾病持续缓解的有效治疗手段。因随访时间较短,移植疗效的维持时间有待进一步观察。

红细胞生成素受体 (EPOR) 重排在青年成人 Ph 样 ALL 的发生率约 4.3 %。EPOR 重排导致 EPOR 蛋白受损,失去其远端的调控区,使 EPOR 过表达,进而激活 JAK-STAT 信号通路^[14]。Iacobucci 等^[14]的体外及体内研究发现,芦可替尼能显著抑制伴有 EPOR 重排的白血病细胞系和小鼠白血病细胞的增殖,且与传统化疗药物有明显协同效应。例 4 受者伴有 EPOR 重排,经过一疗程诱导治疗后获得分子学缓解,证实联用芦可替尼有助提高此类疾病的缓解率(表 2)。该受者在 CR1 期行 allo-HSCT,移植后持续 CR 已 15 个月余,提示 allo-HSCT 有望提高该类受者的生存。

例 5 受者伴有 JAK2 重排,加用芦可替尼联合 IVLP 方案治疗 6 周后本病仍未获得缓解,FISH 结果显示其仅能部分抑制 JAK2 重排阳性的克隆,提示该受者对芦可替尼不敏感。尽管通过 CAR-T 治疗降低肿瘤负荷后迅速桥接 allo-HSCT,但在移植后 1 个月即出现复发,提示本病恶性程度极高,allo-HSCT 在该类疾病中的价值有待进一步证实。

综上,本研究的 5 例受者中 4 例在移植前获得完全缓解,且移植后均处于持续分子学缓解状态,提示联合传统化疗、芦可替尼、CAR-T 等综合治疗手段使受者尽快达到 CR,并序贯 HSCT,有望改善此类患者的预后。意外的是,例 1 受者因严重过敏体质改行 auto-HSCT,移植后也持续处于分子学缓解状态,提示此类患者若能通过前期治疗达到深度缓解,亦可以尝试 auto-HSCT。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia[J]. N Engl J Med, 2014, 371 (11): 1005-1015. DOI: 10.1056/NEJMoa1403088.
- [2] Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2015, 12 (6): 344-357. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.38.
- [3] Jain N, Roberts KG, Jabbour E, et al. Ph-like acute lymphoblastic leukemia: a high-risk subtype in adults [J]. Blood, 2017, 129 (5): 572-581. DOI: 10.1182/blood-2016-07-726588.
- [4] Herold T, Schneider S, Metzeler KH. Adults with Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia frequently have IGH-CRLF2 and JAK2 mutations, persistence of minimal residual disease and poor prognosis[J]. Haematologica, 2017, 102(1):130-138. DOI:10.3324/haematol.2015.136366.
- [5] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. Blood, 2016, 127(20):2391-2405. DOI:10.1182/blood-2016-03-643544.
- [6] 戴海萍,薛永权,潘金兰,等.一例伴 t(1;21;8)(p36;q22;q22) 复杂易位的急性髓系白血病的荧光原位杂交研究[J].中华血液学杂志,2008,29(8):557-559. DOI: 10.3321/j.issn:0253-2727.2008.08.014.
- [7] 沈悌,赵永强.血液病诊断及疗效标准[M].4版.北京:科学技术出版社,2018:91-92.
- [8] Schoemans HM, Goris K, Van Durm R, et al. Accuracy and usability of the eGVHD app in assessing the severity of graft-versus-host disease at the 2017 EBMT annual congress[J]. Bone Marrow Transplant, 2018, 53(4):490-494. DOI:10.1038/s41409-017-0017-0.
- [9] Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia[J]. Cancer Cell, 2012, 22 (2): 153-166. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.005.
- [10] Weston BW, Hayden MA, Roberts KG, et al. Tyrosine kinase inhibitor therapy induces remission in a patient with refractory EBF1-PDGFRB-positive acute lymphoblastic leukemia [J]. J Clin Oncol, 2013, 31(25):e413-416. DOI:10.1200/JCO.2012.47.6770.
- [11] Poitras JL, Dal Cin P, Aster JC, et al. Novel SSBP2-JAK2 fusion gene resulting from a t(5;9)(q14.1;p24.1) in pre-B acute lymphocytic leukemia[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2008, 47(10):884-889. DOI:10.1002/gcc.20585.
- [12] Tran TH, Loh ML. Ph-like acute lymphoblastic leukemia[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2016, 2016(1): 561-566. DOI:10.1182/asheducation-2016.1.561.
- [13] Konoplev S, Lu X, Konopleva M, et al. CRLF2-Positive B-cell acute lymphoblastic leukemia in adult patients: a single-institution experience[J]. Am J Clin Pathol, 2017, 147(4):357-363. DOI:10.1093/ajcp/aqx005.
- [14] Iacobucci I, Li Y, Roberts KG, et al. Truncating erythropoietin receptor rearrangements in acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancer Cell, 2016, 29 (2): 186-200. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.12.013.

(收稿日期:2019-02-04)