

• 综述 •

儿童急性淋巴细胞白血病复发的研究进展

阮永胜 吴学东

【摘要】 儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)的治愈率不断提升,而复发成为ALL诊疗的瓶颈。本文从发病机理、危险分层、治疗进展三方面回顾分析了近十年关于儿童急性淋巴细胞白血病复发的文献。发现部分基因组异常和耐药性相关,成为ALL复发的主要原因之一。早期复发较晚期复发预后要差,且检测微小残留白血病对复发有独立预测作用。治疗手段从化疗和造血干细胞移植发展到分子靶向治疗、细胞治疗和免疫治疗新的层次。所以,正确认识ALL复发的发病机理、依据危险程度分层次进行综合治疗是ALL复发目前诊疗的趋势。

【关键词】 急性淋巴细胞白血病; 复发; 儿童

Research progress in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia Ruan Yongsheng, Wu Xuedong. Department of Pediatrics, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Wu Xuedong, Email: xuedongwu@163.com

【Abstract】 Although most children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) are cured, certain subsets have a high risk of relapse. Treating relapsed ALL has become increasingly challenging. This paper retrospectively analyzed recent ten years studies about biological mechanisms, risk stratification and treatment with relapsed childhood ALL. There is a positive correlation between the abnormal genome and drug resistance. The prognosis of early relapsed is worse than lately relapsed. Meanwhile, minimum residual disease measurement is an independent prognostic factor for relapsed ALL. Other than traditional chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation, molecularly targeted therapies, cell therapies and immunotherapies have a rapid development nowadays. Thus it is a new trend that improved biological understanding of mechanisms of relapse and risk-adjusted comprehensive therapy.

【Key words】 Acute lymphoblastic leukemia; Relapse; Child

近十年来,随着依据危险度分层次化疗和支持治疗的不断改善,发达国家对儿童急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)的总体治愈率接近85%^[1-2]。而最常见的治疗失败就是复发,在欧洲ALL复发的发生率约15%~20%,发病率约为每年0.7/100 000,与儿童急性粒细胞白血病发病率相近,成为第四大常见儿童恶性肿瘤^[3]。但对于ALL复发的治疗进展仍旧缓慢,通过高强度联合化疗以及异基因造血干细胞移植治疗,约85%的患者能获得二次缓解,但大多数患者会出现再次复发,仅30%~50% ALL复发的患者可以被治愈^[4-5]。本文将从ALL复发的发病机理、预后及治疗进展三方面综述近年的研究进展。

一、发病机制

1. 基因组缺陷可能是发生耐药的基础: ALL复发的机制可主要归因于出现耐药现象^[6]。在Bhojwani等^[7]的一项研究中表明,在对诊断时和复发时两组标本的全基因组分析中发现,早期复发标本中出现了许多缺陷基因,这些基因控制着细胞分化周期、DNA修复、抗细胞凋亡,从而提升了病态细胞增殖能力和延长了病态细胞存活时间。其中与预后差相关的BCR-ABL1样ALL亚型中常出现IKZF1和EBF1基因缺失^[8]。

2. 与复发相关的异常基因组结构与耐药性相关: 约50%的TP53抑癌基因变异的患者出现ALL复发,其中基因突变和错配是主要的机制,有TP53基因变异的ALL不仅提示有高度复发风险且提示预后差^[9]。下调MSH6基因表达与抵抗巯嘌呤和强的松相关^[10]。NR3C1基因是编码糖皮质激素受体的基因,NR3C1基因的缺失与糖皮质激素耐药相关^[11]。

CREBBP 基因编码 CREB 结合蛋白, CREB 结合蛋白是一种介导糖皮质激素应答的转录共激活因子, 有研究指出 CREBBP 突变常见于高超二倍体 ALL, 预示着对糖皮质激素不敏感^[12]。

3. 表观细胞遗传学漂移也是 ALL 复发的常见原因: Mullighan 等^[13]通过回顾性研究 ALL 复发患者特定损伤的 DNA 片段, 总结出大多数患者与复发相关的基因均存在于首次诊断时基因组内, 只是该克隆在诊断时表达数量少, 而后续治疗过程中不断扩增, 最终导致复发, 仅 6% 的患者复发与首次诊断存在不同的基因组, 提示继发白血病可能。许多后续研究支持该观点。例如, 有研究表明, 在 ETV6-RUNX1 阳性 ALL 患者中, 无论何时出现复发, 该复发基因或多或少起源于首次诊断时原始白血病基因片段中, 换言之, EVT6-RUNX1 基因可存在于原始白血病基因中不同的休眠阶段^[11,14]。然而, 对于晚期复发 T 细胞 ALL, 首次诊断时与复发时的基因组是不同的, 提示大多数 T 细胞 ALL 复发为继发白血病可能^[15]。

4. 髓外复发的机制: 中枢神经系统白血病浸润的情况, 可能是白血病细胞经桥静脉到蛛网膜下腔, 或经脉络丛到脑脊液, 或经大脑毛细血管浸润脑实质, 或经缺失的颅骨浸润软脑膜等。白血病细胞颅内侵犯可归因于中枢神经系统出血或者首次诊断性腰椎穿刺术时损伤。由于血脑屏障的存在, 睾丸中甲氨蝶呤难以达到有效的血药浓度, 此为复发的主要原因^[16]。

二、危险因素及预后

除了首次诊断时骨髓形态学、流式细胞学、基因学、染色体的检查外, 评估 ALL 复发危险分层及预后最重要的因素是出现复发的时间, 此外还有复发部位及复发后免疫分型结果。国际上不同协作组对复发时间有不同的定义。Children's Oncology Group (COG) 协作组对早期复发的定义是复发出现在首次诊断 36 个月之内。Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) 协作组对早期复发的定义是复发出现在完成首次治疗的 6 个月之内, 非常早期复发指的是复发发生在首次诊断 18 个月之内。对于早期复发的患者, 仅少于 1/3 能存活。然而, 对于晚期复发的患者, 有将近 50% 可以存活^[17]。一项 COG 的调查发现, 单纯骨髓复发、骨髓联合髓外复发以及单纯髓外复发三种情况的 5 年无事件生存率 (event free survival, EFS) 分别是 24%、39%、59%^[4]。

EVT6-RUNX1 阳性的患者通常有良好预后, 但有 20% 可能出现复发, 而大多数以晚期复发为主^[14]。T 细胞 ALL 常出现早期复发, 而且仅有 7%~23% 的患者能存活 3~5 年^[4]。有证据显示大约 1/3 的 T 细胞 ALL 复发的患者并非初次起病时白血病细胞的克隆, 而出现新的克隆^[15]。目前并没有充分证据显示对于 T 细胞 ALL 患者晚期复发预后比早期复发好。

在许多关于残留白血病 (minimal residual disease, MRD) 的研究中显示诱导缓解时的 MRD 水平是预测复发的独立因素^[18-19]。对诱导缓解时 (第 36 天) MRD $\geq 0.01\%$ 的患者, 2 年二次复发累积发病率是 70%, 相反, MRD $< 0.01\%$ 的患者 2 年二次复发累积发病率为 28%^[18]。因此, 最近对高 MRD 水平的患者治疗策略均建议缓解后化疗联合造血干细胞移植治疗^[20-21]。然而, MRD 水平并不能预测预后^[21]。

目前有研究发现对于费城染色体阳性伴有 BCR-ABL1 和 BCR-ABL1 样表达的两组高危 B 细胞 ALL 患者均可发现有 IKZF1 基因改变^[8]。BFM 一项研究发现, 有或没有 IKZF1 基因突变 5 年 EFS 分别是 30%、51%^[20]。其中对高危组 (S3、S4) 患者, 即使行异基因造血干细胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) 治疗, 有该基因的预后仍极差。

再诱导失败也是一项预测预后差的指标。BFM 一项回顾性研究中, 分析首次复发的患者, 入组 51 例对再诱导化疗无反应的患者, 均给予后续联合化疗, 其中 21 例联用 HSCT。其中 16 例患者获得二次缓解, 仅 2 例获得持续缓解^[22]。

三、治疗

1. 化疗: 目前大多数治疗方案均建议高危复发的患者接受多药联合化疗后进行 HSCT, 对于低危患者可以仅接受 2 年的化疗。再诱导治疗可由 3~9 个短疗程高强度化疗组成^[5,19,21]。POG 一项研究显示^[23], 对于高危患者诱导缓解来说, 每周 1 次共 4 剂培门冬酰胺酶的应用, 比每 2 周 1 次共 2 剂有效, 但对生存率未知。COG 一项研究表明^[19], 通过标准 4 药联合再诱导治疗 (强的松、阿霉素、硫酸长春新碱、培门冬酰胺酶), 可以使入组的 124 例患儿达到 81% 形态学缓解, 而仅 48% 达到 MRD 水平 $< 0.01\%$ 。UKALLR3 临床研究中显示^[21], 在诱导缓解期, 患者被随机分配到两组不同的蒽环类药物

(米托蒽醌或伊达比星), 结果该项随机试验提前结束了, 因为米托蒽醌组比伊达比星组有显著好的结果, 3 年无病存活率分别是 65%、36%。ALL-REZ-BFM-90 随机研究中发现, 对于大剂量 MTX 5 g/m² 的效果并不比中剂量 1 g/m² 好, 同时研究结果显示联用大剂量阿糖胞苷、足叶乙甙的方案并未达到预期效果^[5,24]。尽管目前仍在尝试各种不同新的化疗方案组合, 但近二十年对 ALL 复发化疗来说, 并没有获得实质性进展。

2. HSCT: 目前对于高危(如早期骨髓复发、T 细胞 ALL)的患者采用 HSCT 可使患者获益, 但对低危患者(如晚期骨髓复发或单纯髓外复发), HSCT 的效果并不比化疗好^[25]。因此对初次挽救化疗反应差或再诱导高 MRD 水平的患者在缓解后必须尽早 HSCT。有研究指出, 即使强调降低移植前肿瘤负荷、MRD 水平, 并不能提升存活率^[26]。而另一项研究指出, 对于没有达到 MRD 阴性, HSCT 仍可使低 MRD (0.01%~5%) 亚组获益^[27]。

基于不断改进的支持治疗和以高分辨配型模式进行寻找供者的方法, 近期各种配型 HSCT 的预后得到持续改善。随着脐血移植技术的提升, 脐血库也可以提供大量的供者。移植相关死亡低下和尽可能减少的错配位点以及高细胞输注有关^[28]。由于降低预处理强度、不用全身放疗、采用减少清髓方案、更好的感染控制, 半相合移植技术的不断改进, 使得几乎所有患者都有移植的希望, 有研究表明半相合移植后无白血病存活甚至比全相合供者还好^[29]。

3. 单纯髓外复发的治疗: 随着目前一线化疗药物渗透性改善, 单纯髓外复发越来越少, 自 1990 年起中枢神经系统白血病累计发生率为 0.6%~5%。然而髓外复发很少真正单独存在, 在许多看似单纯髓外复发的患者骨髓中, 通过敏感分子检验技术仍可检测到白血病细胞^[30-31]。对于单纯中枢神经系统白血病复发, 治疗策略往往依据复发时间采用多药组合、高强度再诱导化疗、地塞米松、甲氨蝶呤、阿糖胞苷三联鞘注以及维持治疗 1~2 年, 全脑照射往往被推至 1 年后, 让早期强烈的全身性化疗可以顺利进行。尽管全脑照射仍是治疗中枢神经系统白血病复发的标准方法, 但基于考虑到远期严重的并发症, 应尽量减少照射剂量以减少放疗相关死亡率^[30]。

睾丸是白血病第二常见的髓外复发部位^[4]。早期睾丸复发和累及两侧是不良危险因素。与中枢神

经系统白血病复发一样, 睾丸白血病复发应当被当做全身性疾病来治疗^[31]。除了全身性化疗, 局部治疗包括睾丸切除术或双侧睾丸放疗是常用的治疗方法, 尽管最优的剂量目前未形成统一意见。为保留生育能力和睾丸间质细胞功能, 通过大剂量化疗达到降低或避免睾丸放疗的研究仍在继续^[5]。

4. 新药研发进展^[16]: 首先介绍以氯法拉滨和奈拉滨新为代表的核苷类似物。氯法拉滨 (Clofarabine) 是第二代嘌呤类似物, 能抑制 DNA 合成或修复以及诱导细胞凋亡。在 1 期和 2 期临床研究中, 对难治或复发 ALL, 氯法拉滨均展示了显著的有效性。氯法拉滨目前已被欧洲、美国批准治疗经常规化疗无效的儿童复发或难治性 ALL。奈拉滨 (Nelarabine) 是嘌呤核苷磷酸化酶抑制物。2005 年 10 月 FDA 批准奈拉滨作为三线药物治疗 T 细胞 ALL 或淋巴瘤。

其次, 新的单克隆抗体仍是研发热点之一, 比如针对 CD22 抗原的人造单克隆抗体依帕珠单抗 (Epratuzumab) 以及双特异性 T 细胞参与 (bispecific T-cell engaging, BiTE) 抗体 Blinatumomab, 后者是通过直接指导 T 细胞作用于表达 CD19 的靶细胞发挥作用。硼替佐米 (Bortezomib) 是蛋白酶体抑制剂, 使白血病细胞对化疗凋亡机制更敏感。

伊马替尼 (Imatinib) 是经典的分子靶向治疗药物, 由于多数 ALL 复发患者 BCR-ABL1 基因并未突变, 所以伊马替尼对 ALL 复发患者同样有效。目前还有许多新的分子靶向药物正在研究开发中, 例如新一代的酪氨酸激酶抑制剂、FLT3 抑制剂、JAK 抑制剂、mTOR 抑制剂等。

5. 细胞治疗: 细胞治疗是通过 T 细胞或者自然杀伤细胞的细胞毒作用来达到治疗 ALL 的方法。异基因或自体 T 细胞表面可以被基因工程嵌合抗原受体, 靶向作用于特定肿瘤细胞^[32]。自然杀伤细胞可以通过不同的综合杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (killer immunoglobulin-like receptor, KIR) 及其配体相互作用产生抗肿瘤效应, 有研究指出选择合适受体-配体错配的供者能提升自然杀伤细胞的细胞毒作用^[33]。

总之, 通过继续深入研究复发的生物学基础, 积极研发新靶向药物, 促使免疫疗法趋向成熟以及不断改进 HSCT 技术, 今后肯定可以改善儿童 ALL 复发的治愈率。最终目标是在首次诊断 ALL 后一线治疗中消除白血病耐药和原始白血病基因, 从而

达到预防复发的发生。

参 考 文 献

- [1] Moricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al. Long term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000[J]. *Leukemia*, 2010, 24(2): 265-284.
- [2] Pui CH, Mullighan CG, Evans WE, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there?[J]. *Blood*, 2012, 120(6): 1165-1174.
- [3] Gaynon PS. Childhood acute lymphoblastic leukaemia and relapse[J]. *Br J Haematol*, 2005, 131(5): 579-587.
- [4] Nguyen K, Devidas M, Cheng SC, et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study[J]. *Leukemia*, 2008, 22(12): 2142-2150.
- [5] Tallen G, Ratei R, Mann G, et al. Long-term outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia after time-point and site-of-relapse stratification and intensified short-course multidrug chemotherapy: results of trial ALL-REZ BFM 90[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(14): 2339-2347.
- [6] Klumper E, Pieters R, Veerman AJ, et al. In vitro cellular drug resistance in children with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 1995, 86(10): 3861-3868.
- [7] Bhojwani D, Kang H, Moskowitz NP, et al. Biologic pathways associated with relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study[J]. *Blood*, 2006, 108(2): 711-717.
- [8] Mullighan CG, Su X, Zhang J, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(5): 470-480.
- [9] Hof J, Krentz S, van Schewick C, et al. Mutations and deletions of the TP53 gene predict nonresponse to treatment and poor outcome in first relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(23): 3185-3193.
- [10] Yang JJ, Bhojwani D, Yang W, et al. Genome-wide copy number profiling reveals molecular evolution from diagnosis to relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2008, 112(10): 4178-4183.
- [11] Kuster L, Grausenburger R, Fuka G, et al. ETV6/RUNX1-positive relapses evolve from an ancestral clone and frequently acquire deletions of genes implicated in glucocorticoid signaling[J]. *Blood*, 2011, 117(9): 2658-2667.
- [12] Inthal A, Zeithofer P, Zeginigg M, et al. CREBBP HAT domain mutations prevail in relapse cases of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2012, 26(8): 1797-1803.
- [13] Mullighan CG, Phillips LA, Su X, et al. Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia[J]. *Science*, 2008, 322(5906): 1377-1380.
- [14] Gandemer V, Chevret S, Petit A, et al. Excellent prognosis of late relapses of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: lessons from the FRALLE 93 protocol[J]. *Haematologica*, 2012, 97(11): 1743-1750.
- [15] Szczepanski T, van der Velden VH, Waanders E, et al. Late recurrence of childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia frequently represents a second leukemia rather than a relapse: first evidence for genetic predisposition[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(12): 1643-1649.
- [16] Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, et al. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2012, 120(14): 2807-2816.
- [17] Bailey LC, Lange BJ, Rheingold SR, et al. Bone-marrow relapse in paediatric ALL[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(9): 873-883.
- [18] Coustan-Smith E, Gajjar A, Hijiya N, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia after first relapse[J]. *Leukemia*, 2004, 18(3): 499-504.
- [19] Raetz EA, Borowitz MJ, Devidas M, et al. Reinduction platform for children with first marrow relapse of acute lymphoblastic leukemia: A Children's Oncology Group Study[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(24): 3971-3978.
- [20] Krentz S, Hof J, Mendioroz A, et al. Prognostic value of genetic alterations in children with first bone marrow relapse of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2013, 27(2): 295-304.
- [21] Parker C, Waters R, Leighton C, et al. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of ALL (ALL R3): an open-label randomised trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9757): 2009-2017.
- [22] von Stackelberg A, Volzke E, Kuhl JS, et al. Outcome of children and adolescents with relapsed ALL and non-response to salvage protocol therapy: a retrospective analysis of the ALL-REZ BFM Study Group[J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(1): 90-97.
- [23] Abshire TC, Pollock BH, Billett AL, et al. Weekly polyethylene glycol conjugated L-asparaginase compared with biweekly dosing produces superior induction remission rates in childhood relapsed acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study[J]. *Blood*, 2000, 96(5): 1709-1715.
- [24] von Stackelberg A, Hartmann R, Buhner C, et al. High-dose compared with intermediate-dose methotrexate in children with a first relapse of acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2008, 111(5): 2573-2580.
- [25] Eapen M, Raetz E, Zhang MJ, et al. Outcomes after HLA-matched sibling transplantation or chemotherapy in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a collaborative study of the Children's Oncology Group and the Center for International Blood and Marrow Transplant Research[J]. *Blood*, 2006, 107(12): 4961-4967.
- [26] Leung W, Pui CH, Coustan-Smith E, et al. Detectable minimal residual disease before hematopoietic cell transplantation is prognostic but does not preclude cure for children with very-high-risk leukemia[J]. *Blood*, 2012, 120(2): 468-472.
- [27] Duval M, Klein JP, He W, et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(23): 3730-3738.
- [28] Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study[J]. *Lancet*, 2007, 369(9577): 1947-1954.
- [29] Leung W, Campana D, Yang J, et al. High success rate of hematopoietic cell transplantation regardless of donor source in children with very high-risk leukemia[J]. *Blood*, 2011, 118(2): 223-230.
- [30] Pui CH, Howard SC. Current management and challenges of malignant disease in the CNS in paediatric leukaemia[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(3): 257-268.
- [31] Hagedorn N, Acquaviva C, Fronkova E, et al. Submicroscopic bone

marrow involvement in isolated extramedullary relapses in childhood acute lymphoblastic leukemia: a more precise definition of "isolated" and its possible clinical implications, a collaborative study of the Resistant Disease Committee of the International BFM study group[J]. Blood, 2007, 110(12): 4022-4029.

[32] Lee DW, Barrett DM, Mackall C, et al. The future is now: chimeric

antigen receptors as new targeted therapies for childhood cancer[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(10): 2780-2790.

[33] Leung W. Use of NK cell activity in cure by transplant[J]. Br J Haematol, 2011, 155(1): 14-29.

(收稿日期: 2014-07-03)

(本文编辑: 梁雷)

阮永胜, 吴学东. 儿童急性淋巴细胞白血病复发的研究进展 [J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2014, 8 (18): 3359-3363.