

急性早幼粒细胞白血病完全缓解后分子生物学 复发 1 例并文献复习

陈俊如 王艺霖 王玲珍 姜健 孙妍 卢愿

(青岛大学附属医院儿童血液肿瘤科, 山东 青岛 266003)

[摘要] 目的 探讨复发性急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的分子生物学改变, 为复发性 APL 的临床诊断和治疗提供指导。方法 回顾性分析 1 例停药 8 个月后分子生物学复发的 APL 患儿的临床资料, 并复习相关文献资料。结果 患儿, 男, 1 岁, 以发热、皮肤出现出血点起病, 查体示贫血貌, 全身皮肤、黏膜散布出血点、瘀斑, 左侧颈部可扪及数个肿大淋巴结, 有融合, 肝肋下 2 cm, 血常规示血红蛋白及血小板计数低, 骨髓涂片示早幼粒细胞比例占 75%, POX(+), 骨髓 *PML/RAR α* 融合基因聚合酶链式反应及荧光原位杂交检测均阳性, *NRAS* 基因突变, 初始符合 APL 的诊断标准。经规范治疗后, 患儿骨髓涂片及微小残留完全缓解, *PML/RAR α* 融合基因转阴。停药 8 个月后复查患儿 *PML/RAR α* L 型 4.51%, 考虑分子生物学复发, 给予复发方案化疗, 患儿 *PML/RAR α* 转阴, 继续规律化疗, 同时行自体干细胞采集, 定期复查。结论 对于复发 APL, 一旦明确分子生物学复发后应尽快选择复发方案治疗, 同时应注意定期检测 *PML/RAR α* 融合基因, 无法达到第二次分子生物学缓解时应考虑造血干细胞移植治疗。

[关键词] 白血病, 早幼粒细胞, 急性; 癌基因蛋白质类, 融合; 复发; 基因融合; 分子生物学

[中图分类号] R733.71

[文献标志码] A

MOLECULAR RELAPSE OF ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA AFTER COMPLETE REMISSION: A CASE REPORT AND

LITERATURE REVIEW CHEN Junru, WANG Yilin, WANG Lingzhen, JIANG Jian, SUN Yan, LU Yuan (Department

of Pediatric Hematological Oncology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the molecular biological changes of relapsed acute promyelocytic leukemia (APL), and to provide guidance for the clinical diagnosis and treatment of relapsed APL. **Methods** A retrospective analysis was performed on the clinical data of a pediatric patient with relapsed APL who was molecular relapse 8 months after drug withdrawal, and related literature was reviewed. **Results** The patient was a 1-year-old boy who initially presented with fever and hemorrhagic spots on the skin, and physical examination showed the appearance of anemia. The skin and mucosa of his whole body were covered with hemorrhagic spots and ecchymosis. Several enlarged lymph nodes that had fused together could be palpated on the left side of the neck, and the liver was palpable at 2 cm below the costal margin. The routine blood test showed low hemoglobin and platelet counts. The bone marrow smear showed that the proportion of promyelocytes was 75%, and POX was positive. The polymerase chain reaction and fluorescence *in situ* hybridization assay showed positive results for the *PML/RAR α* fusion gene in the bone marrow smear. *NRAS* gene mutation was detected, and the initial diagnosis was APL. Following standard therapy, the patient's bone marrow smear and minimal residual disease showed complete remission, and the *PML/RAR α* fusion gene was no longer detectable. However, 8 months after drug withdrawal, the reexamination revealed that the L-type *PML/RAR α* in the bone marrow of the child accounted for 4.51%. Therefore, the child was diagnosed with molecular relapse of APL and was given a chemotherapy regimen against relapsed APL. As a result, the *PML/RAR α* of the child turned negative. Afterwards, the regular chemotherapy was continued. Meanwhile, autologous stem cell collection and regular reexamination were performed. **Conclusion** For relapsed APL, once molecular relapse is confirmed, treatment should be started as soon as possible, and regular detection of the *PML/RAR α* fusion gene should be performed. Moreover, hematopoietic stem cell transplantation should be considered if second molecular remission cannot be achieved.

[KEY WORDS] Leukemia, promyelocytic, acute; Oncogene proteins, fusion; Recurrence; Gene fusion; Molecular biology

急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)是一种独特的髓系白血病, 该病特征是染色体 t(15; 17)(q22; q21) 易位形成 *PML/RAR α* 。经全反式维甲酸(ATRA)及三氧化二砷

(ATO)治疗, APL 患者存活率可超过 90%, 但仍存在一定复发风险。本文报道 1 例 APL 患儿停药 8 个月后分子生物学复发的诊治经过, 旨在为复发性 APL 患儿的诊断和治疗提供指导。

[收稿日期] 2022-09-20; **[修订日期]** 2022-11-07

[基金项目] 山东省青岛市医疗卫生优秀人才培养项目资助

(J14LL06)

[通讯作者] 卢愿, Email: luyuan@qdu.edu.cn

1 临床资料

患儿, 男, 1 岁, 2020 年 6 月因“发热 2 d, 皮肤出

现出血点 1 d”入院。查体显示贫血貌,全身皮肤、黏膜有出血点、瘀斑,左侧颈部有数个肿大淋巴结,有融合,肝肋下 2 cm。血常规显示 WBC 计数 $4.48 \times 10^9/L$,RBC 计数 $2.2 \times 10^{12}/L$,血小板(PLT)计数 $13 \times 10^9/L$,血红蛋白(HB)70 g/L。骨髓常规检查示骨髓增生明显活跃,粒系比例约 80.0%,其中粗颗粒增多的早幼粒细胞比例 75.0%,该类细胞 POX(+),红系比例 9.5%,淋巴细胞比例 10.5%,全片未见巨核细胞。外周血涂片示早幼粒细胞比例 10%,诊断为 APL。细胞遗传学及分子生物学检查显示 *PML/RAR α* 基因呈阳性,*NRAS* 突变率为 7.2%。染色体核型检测示 47,XY,der(15),+mar[12]/46,XY[3]。纳入 APL 低危组,按照儿童 APL 诊疗规范 2018 年版方案(CCLG-APL2018)予以 ATRA+ATO 规律化疗。化疗第 28 天后骨髓细胞学完全缓解,*PML/RAR α* 融合基因定量检测为 12.22%;第 35 天后患儿骨髓细胞学及 *PML/RAR α* 基因检查显示完全缓解;随后按上述方案继续规范化治疗,多次复查骨髓细胞学以及 *PML/RAR α* 融合基因均正常,故而于 2021 年 4 月停药。停药 8 个月后复查骨髓细胞学示完全缓解,而 *PML/RAR α* 融合基因阳性,2 周以后 *PML/RAR α* 融合基因定量检测为 4.51%,但 *NRAS* 基因突变阴性,微小残留(MRD)阴性。考虑患儿分子生物学早期复发,立即启动儿童复发性 APL 治疗方案(2018 北京方案),行阿糖胞苷+伊达比星+ATRA(ID+HD-ARa-C)化疗,化疗第 35 天后患儿 *PML/RAR α* 融合基因转阴,按方案继续规律化疗,于 2022 年 11 月停药,目前患儿仍旧定期复查 MRD 及 *PML/RAR α* 融合基因。

2 讨 论

APL 是一种罕见的髓系白血病,往往起病凶险,易并发弥散性血管内凝血(DIC),早期病死率高,自 ATO 应用于临床后,APL 已成为可治愈的白血病之一。目前我国指南推荐的 APL 治疗方案是 ATRA、ATO 和(或)联合化疗,大部分患者可长期生存,但 10%~25%的患者存在完全缓解后复发。APL 的特征是 t(15;17)(q22;q21)易位,形成 *PML/RAR α* 融合基因。*PML/RAR α* 融合基因是 APL 特征性的分子生物学标记物,其能够干扰造血干细胞正常的自我更新以及骨髓分化^[1]。在经典的 APL 发病模型中,*PML* 和 *RAR α* 蛋白融合阻碍了视黄酸反应元件的转录,产生显性负突变,阻断早幼粒细胞分化,同时还可使异常的白细胞不断增殖^[2]。

PML/RAR α 融合蛋白还会破坏核体的形成。在缺乏视黄酸时,*PML/RAR α* 融合蛋白会招募共阻遏物沉默与分化相关的基因转录,并且防止白细胞凋亡^[3]。APL 除了具有特征性 *PML/RAR α* 融合基因外,还可以检测到其他的突变基因,例如 *FLT3*、*WT1*、*NRAS* 以及 *KRAS* 基因等^[4]。

复发性 APL 可分为血液学复发、分子生物学复发和髓外复发。目前关于 APL 复发原因尚未明确。按照 2022 中国儿童 APL 诊疗指南,将 APL 患者按治疗前的 WBC 计数分为非高危组、高危组^[5]。经过治疗以后的高危组 APL 患者复发概率为 10%~15%,明显高于非高危组患者^[6]。对于非高危组的 APL 患者,经过 ATO+ATRA 诱导治疗以后,当 *PML/RAR α* 转录水平 $\geq 6.5\%$ 时,提示有复发的风险^[7]。研究显示 APL 预后不良的因素有 CD56 过度表达、存在 *PML/RAR α* BCR3 亚型以及 *FLT3-ITD* 基因突变等^[4]。然而近期研究仍然存在争议,研究结果显示,*FLT3-ITD* 突变可提示 APL 预后不良^[8]。同时也有研究表明,接受 ATRA+ATO+蒽环类药物化疗后 *FLT3-ITD* 突变患者与 *FLT3-ITD* 阴性患者的预后无显著差异^[9]。实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)是目前进行 APL 分子检测的标准方法,相较于逆转录 PCR,qRT-PCR 更敏感,能更好识别“假阴性”样本。有研究表明,相比较于血液标本,在骨髓当中可以更早地监测到分子复发^[10]。这表明骨髓定期检测是 APL 检测的首选方案。我国最新指南指出,巩固治疗后必须行骨髓 MRD 检测,结果提示阴性后,后续检测可用骨髓或外周血,每 3~6 个月检测一次,至少至维持治疗结束后 24 个月^[5]。

本患儿在停药 8 个月(距离初诊<18 个月)后复查骨髓 *PML/RAR α* 基因阳性,并送检 2 家不同第三方实验室行 qRT-PCR 检查均提示阳性,骨髓 MRD 阴性,确诊为 APL 分子生物学早期复发。目前,针对复发性 APL 的治疗,欧洲指南^[4]指出,一旦怀疑为 APL,应立即开始 ATRA 化疗,以避免血液学复发;无论是分子生物学复发还是血液学复发,在选择治疗方案时,均应优先考虑先前使用的一线化疗方案;在 ATRA 化疗后复发的患者应该采用基于 ATRA+ATO 联合的治疗方案;而在 ATRA+ATO 治疗后复发的患者,则应选择 ATRA 联合蒽环类药物进行化疗;对于采用 ATRA 联合常规化疗方案的巩固治疗阶段,应给予 2~3 个疗程的蒽环类药物化疗,直至 MRD 转阴。ABLA 等^[11]也指出,

对于既往未应用过 ATO 治疗的复发性 APL 患者、早期复发的 APL 患儿,推荐应用自体干细胞移植(Auto-HSCT)进行巩固治疗;晚期复发、极晚期复发的患儿,应当首选 ATRA 或 ATO 联合化疗进行再诱导,然后采用 ATO 进行巩固治疗。本例患儿在初始治疗时采用 ATRA+ATO 化疗方案,此次早期复发后立即采用 ID+HD-ARa-C 方案治疗。

无论采用哪种化疗方案,最终目的皆是达到分子生物学阴性与 MRD 阴性,为下一步 HSCT 做准备。对于可以达到第二次完全缓解(CR2)的患者,建议行 Auto-HSCT 治疗,而对于无法达到 CR2 的患者,则推荐行异基因移植(Allo-HSCT)治疗,对于无法进行 HSCT 的患者,则建议可以多次循环进行 ATO 和(或)ATRA 和(或)化疗药物治疗。研究表明,诊断为复发/难治性 APL 的患儿,Auto-HSCT 与 Allo-HSCT 治疗在 5 年无事件生存率(EFS)、总生存率(OS)方面比较无显著差异,但目前临床上,复发 APL 患儿 CR2 后的首选治疗方案仍是 Auto-HSCT^[12]。本例患儿复发后对化疗方案较敏感,在 *PML/RAR α* 转阴、MRD 完全缓解后曾行自体干细胞采集,但患儿家属在考虑患儿病情及家庭经济情况后,决定暂不行 Auto-HSCT 治疗,继续 ID+HD-ARa-C 方案化疗并动态监测 *PML/RAR α* 融合基因,目前患儿已停药,后续每 3~6 个月定期复查。对于复发性 APL 的患者,在分子生物学复发即开始 ATRA 和(或)ATO 治疗,其预后要明显好于血液学复发后再开始的治疗^[4],血液学复发的患者发生出血性死亡和 APL 分化综合征的风险更高^[11]。有研究表明,复发性 APL 患者预后与复发时间有一定关联,与晚期复发和极晚期复发患者相比,早期复发患者 EFS 和 OS 更高^[13]。

对于复发 APL,定期行 *PML/RAR α* 基因监测十分必要,一旦早期发现分子生物复发后应尽快选择复发方案治疗,避免血液学复发。目前公认的复发治疗药物依然是 ATRA 和(或)ATO,对于一线治疗已使用过 ATRA+ATO 联合治疗后再次复发的患者,应选择 ATRA+蒽环类化疗药物,无法达到 CR2 时应考虑 HSCT,以改善患者预后。

作者声明:陈俊如、王艺霖、卢愿参与了研究设计;陈俊如、王玲珍、姜健、孙妍参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文。所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] VITALIANO-PRUNIER A, HALFTERMEYER J, ABLAIN

J, et al. Clearance of *PML/RAR*-bound promoters suffice to initiate APL differentiation[J]. *Blood*, 2014,124(25):3772-3780.

[2] GRIGNANI F, FERRUCCI P F, TESTA U, et al. The acute promyelocytic leukemia-specific *PML-RAR* alpha fusion protein inhibits differentiation and promotes survival of myeloid precursor cells[J]. *Cell*, 1993,74(3):423-431.

[3] JIMENEZ J J, CHALE R S, ABAD A C, et al. Acute promyelocytic leukemia (APL): A review of the literature[J]. *Oncotarget*, 2020,11(11):992-1003.

[4] SANZ M A, FENAUX P, TALLMAN M S, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: Updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet[J]. *Blood*, 2019,133(15):1630-1643.

[5] 中国抗癌协会小儿肿瘤专业委员会. 中国儿童急性早幼粒细胞白血病诊疗指南[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2022,37(2):81-88.

[6] TALLMAN M S, ANDERSEN J W, SCHIFFER C A, et al. All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia: Long-term outcome and prognostic factor analysis from the North American Intergroup protocol[J]. *Blood*, 2002,100(13):4298-4302.

[7] TANG F F, LU S Y, ZHAO X S, et al. *PML-RAR* transcript levels at the end of induction therapy are associated with prognosis in non-high-risk acute promyelocytic leukaemia with all-trans retinoic acid plus arsenic in front-line therapy: Long-term follow-up of a single-centre cohort study[J]. *Br J Haematol*, 2021,195(5):722-730.

[8] FAN Y C, CAO Y N, BAI X S, et al. The clinical significance of *FLT3* ITD mutation on the prognosis of adult acute promyelocytic leukemia[J]. *Hematology*, 2018, 23(7):379-384.

[9] XU L W, SU Y Z, TAO H F. All-trans retinoic acid, arsenic trioxide, and anthracycline-based chemotherapy improves outcome in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia regardless of *FLT3*-ITD mutation status[J]. *Curr Med Sci*, 2021,41(3):491-497.

[10] GRIMWADE D, JOVANOVIĆ J V, HILLS R K, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(22):3650-3658.

[11] ABLA O, KUTNY M A, TESTI A M, et al. Management of relapsed and refractory childhood acute promyelocytic leukaemia: Recommendations from an international expert panel[J]. *Br J Haematol*, 2016,175(4):588-601.

[12] HASHMI H, NISHIHORI T. Role of hematopoietic cell transplantation in relapsed acute promyelocytic leukemia[J]. *Clin Transplant*, 2020,34(9):e14009.

[13] TESTI A M, MOHAMED S, DIVERIO D, et al. Outcome of relapsed/refractory acute promyelocytic leukaemia in children, adolescents and young adult patients—A 25-year Italian experience[J]. *Br J Haematol*, 2021,195(2):278-283.