

## 急性白血病完全缓解微小残留病检测的意义

路萍

(玉溪市人民医院血液科, 云南 玉溪 653100)

**[摘要]** **目的** 探讨急性白血病(AL)患者骨髓微小残留病(MRD)的监测对疾病预后和疗效评价的临床意义。**方法** 对2009年1月至2012年12月在玉溪市人民医院血液科正规治疗的43例急性白血病患者采用骨髓液,利用流式细胞术(FCM)进行MRD检测,从首次诱导缓解治疗结束后第14天开始,每1~3月检测1次,并动态监测,分为阴性(MRD $<10^{-4}$ )、阳性(MRD $>10^{-4}$ ),2组进行比较分析。**结果** 阴性、阳性2组3a的复发率分别为0、80%,2组复发率的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。而在形态学完全缓解时,MRD阳性组复发率明显高于阴性组( $P<0.05$ )。**结论** 采用FCM检测AL患者的MRD,MRD $>10^{-4}$ 患者复发率高于MRD $<10^{-4}$ 患者,MRD阳性比传统骨髓形态学复发出现在早,连续对完全缓解AL患者进行MRD监测对指导治疗及早期预测复发具有重要的临床意义。

**[关键词]** 白血病;微小残留病;意义

**[中图分类号]** R557.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2013)11-0108-03

## The Significance of Minimal Residual Disease Detection in Acute Leukemia

LU Ping

(Dept. of Hematology, People's Hospital of Yuxi City, Yuxi Yunnan 653100, China)

**[Abstract]** **Objective** Investigate the clinical significance of bone marrow minimal residual disease (MRD) detection to prognosis and therapeutic evaluation in acute leukemia (AL) after complete remission (CR). **Methods** Forty-three cases of bone marrow specimens in patients with acute leukemia were collected from 2009-2012. The MRD was detected using multiparameter flow cytometry (FCM). The detection was performed from the beginning of induction chemotherapy by CR, and detected at 1, 3, 6 and 12 months. According to the CR detection for the first time, the induced MRD levels were obtained after treatment, 43 patients with AL were divided into negative (MRD  $< 10^{-4}$ ) and positive (MRD $>10^{-4}$ ) two groups. **Results** The recurrence rate after three years of the two groups was 0 and 80%, respectively. There was a significant difference in the recurrence rate ( $P < 0.05$ ). The recurrence rate of positive group was significant higher than that of negative group ( $P < 0.05$ ) when the morphologic of MRD was complete remission. **Conclusion** Using FCM to detect AL MRD, MRD  $> 10^{-4}$  AL-CR have the high recurrence rate, and the recurrence of positive group have appeared early than traditional MRD bone marrow morphology. The continuous MRD detection of AL-CR has important clinical significance in the prognosis and early prediction for recurrence.

**[Key words]** Leukemia; Minimal residual disease; Significance

随着支持治疗的加强、多药联合方案的应用、大剂量化疗和 HSCT 推广,成人急性白血病(acute leukemia,AL)完全缓解(complete remission,CR)率可达40%~50%<sup>[1]</sup>。CR后复发是目前白血病面临的难题之一,近年来研究发现,微小残留病与

白血病复发密切相关。微小残留病(minimal residual disease,MRD)是指白血病诱导缓解获CR后,此时,AL体内的白血病细胞数量大约由发病的 $10^{10} \sim 10^{12}$ 降至 $10^8 \sim 10^9$ ,体内仍有残留的白血病细胞,为疾病复发的根源。为争取患者长期无

**[作者简介]** 路萍(1968~),女,云南昆明市人,医学学士,副主任医师,主要从事血液病临床工作。

病生存 (disease-free survival time, DFS) 和痊愈, 必须对 MRD 进行动态监测, 实时评估疗效, 指导治疗及评价预后. 本研究通过对 43 例缓解后急性白血病患者进行微小残留病动态监测及分析, 评价微小残留病在指导治疗及早期预测复发的意义.

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

43 例均为玉溪市人民医院 2009 年 1 月至 2012 年 12 月根据 WHO MICM 分型法确诊的 AL 患者, 其中急性髓性细胞白血病 (AML) 30 例 (除外急性早幼粒细胞白血病), 急性淋巴细胞性白血病 13 例, 年龄 23~65 岁, 平均年龄为 44 岁, 男 25 例, 女 18 例. 43 例中经初次诱导化疗后未缓解 (NR) 或部分缓解 (PR) 15 例, CR 28 例, NR 或 PR 15 例再次诱导后达 CR 5 例.

### 1.2 治疗方案

AML 诱导缓解采用标准 DA (柔红霉素 + 阿糖胞苷)、HA (高三尖杉酯碱 + 阿糖胞苷)、IA (去甲氧柔红霉素 + 阿糖胞苷) 方案, ALL 诱导缓解采用 CVDP 方案. 巩固化疗 AML 采用 DA、MA、HA、HD-Ara-c 等, ALL 用 CVDP、MA、HD-MTX 等方案. 缓解期定期常规三联鞘注预防中枢神经系统白血病 (CNSL). 临床 CR 标准参见全国白血病化疗讨论会 (1987 年苏州) 标准.

### 1.3 研究方法

**1.3.1 标本及仪器** 取诱导治疗后、强化治疗期间患者 EDTA 抗凝骨髓液 3 mL 进行 MRD 检测, 同时行骨髓涂片进行细胞形态学分析, 仪器采用美国 BD 公司 FACS Calibur 流式细胞仪, 数据获取和分析软件为 CellQuest 3.2.

**1.3.2 主要试剂** 单克隆抗体购自美国 BD 公司, 利用三色荧光 (PE、FITC、PerCP) 抗体直接标记法标记. T 系单抗: CD2、CD5、CD7、cyCD3; B 系单抗: CD20、CD10、CD19、cy79a; 髓系单抗: CD13、CD33、CD34、CD14、CD15、cyMPO; 干祖细胞系单抗: HLA-DR、CD34 等.

**1.3.3 MRD 检测** 所有患者初诊时均进行骨髓免疫分型检测, 从首次诱导缓解治疗结束后第 14 天开始, 每 1~3 月检测一次 MRD, 并动态监测, 同时进行骨髓形态学检查. 采用直接荧光标记法, 用 CD45-SSC 设门, 以 CD34 或 CD117 (髓系)、CD10 或 CD19 (B 系)、CD2 或 CD7 (T 系) 筛选白血病细胞, 收集 50 000 个细胞, 如果在筛选时白血病细胞区域有细胞存在, 则将这些细胞占骨

髓总细胞数的比例作为 MRD 值<sup>[2]</sup>. 参考值以 MRD  $>10^{-4}$  为阳性, MRD  $<10^{-4}$  为阴性.

### 1.4 统计学方法

所有数据均使用 SPSS 统计软件进行处理分析, 数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 计量资料采用 *t* 检验, 计数资料采用秩和检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 诱导缓解治疗后 MRD 水平与预后之间的关系

随诊 3 a 后, 结果显示诱导缓解治疗后检测 MRD  $>10^{-4}$  组中 12 例复发, 3 例处于缓解, 10 例为未达缓解患者, 其中处于缓解期 3 例患者中 2 例为再次诱导缓解治疗后达缓解; MRD  $<10^{-4}$  组 17 例 MRD 持续表现为阴性, 处于缓解状态, 2 例转为阳性随之复发, 2 例患者中 1 例为再次诱导缓解治疗后达缓解. MRD  $>10^{-4}$  组复发率 78.57%, MRD  $<10^{-4}$  组复发率 10.53%, MRD  $>10^{-4}$  组与 MRD  $<10^{-4}$  组的复发率差异具有明显统计学差异 ( $P < 0.01$ ), 见表 1.

### 2.2 MRD 早期预测复发的准确性

本研究对 33 例治疗后达 CR 的 AL 患者 (包括首次诱导失败, 再次诱导后 CR 患者) 动态监测 MRD 3 a, 同时进行骨髓形态学检查, 33 例强化治疗期间监测 MRD 24 例达阴性, 其中 3 例治疗期间出现持续阳性, 3~6 月后形态学复发, 2 例持续阴性患者治疗过程中形态学复发, 复发率 20.83%; 9 例持续阳性患者中 8 例缓解 3~8 月后形态学复发, 复发率 88.89%; MRD 持续阳性患者复发率明显高于 MRD 阴性组 ( $P < 0.01$ ), 且复发患者出现 MRD 阳性明显早于形态学复发. 形态学为缓解状态时, MRD 阴性组复发率 9.52%, MRD 阳性组复发率 91.67%, MRD 阴性组复发率显著低于 MRD 阳性组 ( $P < 0.01$ ), 提示在形态学上呈现缓解状态时, MRD 监测指标呈现持续阴性时, 预后效果很好, 当出现持续阳性时, 可以判定为高风险复发的可能性, 见表 2、表 3.

## 3 讨论

目前 AL 复发最主要根源是体内残留白血病细胞<sup>[3]</sup>, MRD 作为一种白血病化疗或骨髓移植后的体内残留状态, 可以为医师提供较好的用药判断以及作为白血病的复发的提前预警指标之一<sup>[4]</sup>. 由于

表 1 43 例 AL 患者缓解治疗后 MRD 水平与复发率之间的关系 (n)

Tab. 1 The relationship of MRD level and recurrence rate after complete remission in 43 cases (n)

MRD 水平	未缓解例数	缓解	复发	持续缓解	复发率 (%)
MRD>10 <sup>-4</sup>	10	14	11	3	78.57
MRD<10 <sup>-4</sup>	0	19	2	17	10.53**

与 MRD>10<sup>-4</sup> 组比较, \*\*P<0.01.

表 2 MRD 水平与治疗效果 (n)

Tab. 2 The MRD level and therapeutic effect (n)

MRD 水平	n	复发	持续缓解	复发率 (%)
MRD>10 <sup>-4</sup>	9	8	1	88.9
MRD<10 <sup>-4</sup>	24	5	19	20.8**

与 MRD>10<sup>-4</sup> 组比较, \*\*P<0.01.

表 3 形态学完全缓解时 MRD 阳性患者与 MRD 阴性患者复发率 (n)

Tab. 3 The recurrence rates of MRD positive and negative patients after complete remission (n)

MRD 水平	n	复发	持续缓解	复发率 (%)
MRD>10 <sup>-4</sup>	12	11	1	91.7
MRD<10 <sup>-4</sup>	21	2	19	9.5**

与 MRD>10<sup>-4</sup> 组比较, \*\*P<0.01.

MRD 的阳性出现早于比形态学表现, 故连续监测 MRD 对预后判断及临床治疗具有重要的指导意义. 本研究中 43 例患者获得 CR 的 33 例, 复发 13 例, MRD 动态监测显示, MRD >10<sup>-4</sup> 组复发风险高明显高于 MRD<10<sup>-4</sup> 组, 可能需采用化疗强度大的治疗方案干预, 故 MRD 持续 <10<sup>-4</sup> 可视为预后良好的指标之一<sup>[5]</sup>. 但是, 一次检测 MRD 阳性, 并不能够有效的提示复发, 应连续动态监测其水平的变化情况进行比较, 持续阳性, 且 MRD 白血病细胞区域细胞比值逐渐增多, 才能够有效观察白血病的复发趋势, 提示高复发风险. 形态学上达 CR 时 MRD 检测为阴性的复发率明显低于 MRD 阳性组, 说明缓解状态时 MRD 越低预后越好, 而本组研究的复发病例中, MRD 阳性出现明显早于形态学改变, 时间 3~6 月不等, 提示所以用 MRD 预测白血病复发是早于形态学检查的. 本研究采用动态检测方法, 当出现 MRD<10<sup>-4</sup> 的持续阴性状态时, 可以选择强度较弱的化疗方案, 相反, 持续的阳性高指标状态, 则提示需要提高化疗强度, 可以做到有的放矢, 开展相应的个体化治疗. 综上所述, 利用流式细胞计数动态监测 AL 患者 MRD 水

平, 对于提前判断复发率, 改善治疗方案, 以及有效的提高患者的预后有着十分积极的作用和临床应用价值, 值得临床推广.

#### [参考文献]

- [1] 张之南, 杨大楹, 郝玉书. 血液病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 971-972.
- [2] 利军, 顾龙君, 陈静, 等. 急性淋巴细胞白血病治疗中微量残留病动态监测及其意义[J]. 中华血液学杂志, 2008, 27(2): 120.
- [3] COUSTAN-SMITH E, SANCHO J, BEHM F G, et al. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 2002, 100(1): 52-58.
- [4] 玛茹. 白血病 MRD 检测的临床研究进展 [J]. 广东医学, 2007, 28(5): 837-839.
- [5] 刘小华, 孙爱宁, 吴德沛, 等. 流式细胞术对急性白血病微小残留病的检测意义 [J]. 江苏医药, 2007, 33(5): 455.

(2013-10-12 收稿)