

## · 临床研究 ·

## 52 例急性白血病患者长期存活分析\*

朱丽丹,孔佩艳<sup>△</sup>,刘红,李杰平,赵艳

(第三军医大学新桥医院血液科,重庆 400037)

**摘要:**目的 探讨儿童急性白血病长期存活的相关因素及临床意义。方法 回顾性分析 52 例长期存活 5 年以上的急性白血病患者临床资料,总结分析可能影响长期存活的相关因素。结果 52 例急性白血病患者 5 年以上长期存活者中,29 例为急性淋巴细胞白血病(ALL)患儿,其中 27 例第一疗程诱导化疗即达完全缓解(CR),4 例行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),1 例行自体造血干细胞移植(auto-HSCT);2 例为急性混合细胞白血病(MAL),1 例第一疗程 CR,1 例第二疗程 CR;21 例急性髓细胞白血病(AML),18 例第一疗程 CR,3 例第二疗程 CR,其中 6 例行 allo-HSCT,1 例行 auto-HSCT。23 例急性白血病患者发生中枢神经系统白血病(CNSL),应用阿糖胞苷、甲氨蝶呤(MTX)及地塞米松三联鞘内注射治疗后缓解。结论 儿童白血病类型、发病年龄、发病时白细胞总数、第一疗程 CR 等是影响急性白血病患者长期生存的重要因素;对难治性白血病患者行造血干细胞移植(HSCT)可明显提高疗效。

**关键词:**白血病;存活率分析;回顾性研究;儿童

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.36.028

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)36-3703-02

## Analysis of long-term survival of 52 children with acute leukemia\*

Zhu Lidan, Kong Peiyan<sup>△</sup>, Liu Hong, Li Jieping, Zhao Yan

(Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract: Objective** To explore the factors associated with long-term survival of children with acute leukemia and their significance. **Methods** Clinical data of 52 children with acute leukemia survived for more than 5 years were retrospectively analyzed. The possible factors associated with long-term survival were summarized and analyzed. **Results** Among 52 children with acute leukemia survived for more than 5 years, there were 29 children with acute lymphoblastic leukemia(ALL)[27 cases of complete remission (CR) during the first induction chemotherapy, 4 cases of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation(allo-HSCT) and one case of autologous hematopoietic stem cell transplantation(auto-HSCT)], 2 children with mixed acute leukemia(MAL) (achieved CR during the first and the second course respectively) and 21 children with acute myeloid leukemia(AML)[18 cases of CR during the first course and 3 cases of CR during the second course which including 6 cases of allo-HSCT and a case of auto-HSCT]. 23 of 52 children with acute leukemia developed central nervous system leukemia(CNSL) and were remission after triple intrathecal chemotherapy comprising cytarabine, methotrexate(MTX) and dexamethason. **Conclusion** Childhood leukemia type, age of onset, total white blood cell count at onset, CR during the first course of chemotherapy are important factors which influence long-term survival of children with acute leukemia, and hematopoietic stem cell transplantation(HSCT) performed in children with refractory leukemia can significantly increase the therapeutic effect.

**Key words:** leukemia; survival Analysis; retrospective studies; child

儿童白血病是严重影响儿童健康及威胁生命的疾病,占儿童恶性肿瘤的首位,近年来发病率有升高趋势。国外报道白血病的发病率为 4.4/10 万,每年上升约 0.6%,其中儿童白血病的发病率为 2.26/10 万,每年上升 1.9%<sup>[1]</sup>。随着治疗手段的不断进步,儿童白血病的治疗效果、长期生存率有所提高,但仍有一部分患儿无法治愈。急性白血病自确诊之日起,存活时间(包括无病或带病生存)达 5 年或 5 年以上者视为长期存活<sup>[2]</sup>。为了进一步总结影响长期生存的因素和提高儿童白血病的治疗水平,本研究对 2002 年 1 月至 2010 年 12 月在本院住院治疗并随访长期无病存活达 5 年以上的 52 例患儿进行总结,并对其影响疗效的因素进行回顾性分析。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2002 年 1 月至 2010 年 12 月在本院住院治疗并随访长期无病存活 5 年以上的 52 例急性白血病患者,其中急性淋巴细胞白血病(ALL) 29 例,男 19 例,女 10 例;

年龄 2~14 岁,2~10 岁 18 例,>10~14 岁 11 例。急性髓细胞白血病(AML) 21 例,男 9 例,女 12 例;年龄 2~14 岁,2~10 岁 10 例,>10~14 岁 11 例。急性混合细胞白血病(MAL) 2 例,男 1 例,女 1 例;年龄分别为 12、14 岁。患儿在停止治疗后仍处于持续完全缓解(CCR),最长已生存 7 年。

## 1.2 方法

**1.2.1 白血病细胞类型和危险度分型** 按照 FAB 协作组形态学分型:29 例 ALL 中 L<sub>1</sub> 型 10 例, L<sub>2</sub> 型 14 例, L<sub>3</sub> 型 5 例;按照 2004 年全国小儿急性白血病临床分型标准分为低危组 3 例,中危组 10 例,高危组 16 例;免疫学分型:B 细胞型 21 例,T 细胞型 4 例,T/B 细胞型 4 例。21 例 AML 中, M<sub>0</sub>、M<sub>1</sub> 型各 1 例, M<sub>2</sub> 型 7 例, M<sub>3</sub> 型 4 例, M<sub>5</sub> 型 6 例, M<sub>7</sub> 型 2 例。细胞遗传学:本组长期存活患儿中无 BCR/ABL 阳性者; M<sub>3</sub> 型 4 例均为 PML/RAR $\alpha$  阳性;未见其他细胞遗传学异常。

## 1.2.2 治疗方法

\* 基金项目:重庆市重点学科建设项目(2006C026);新桥医院 1520 人才基金资助项目(2008)。<sup>△</sup>通讯作者, Tel: (023)68774209; E-mail: peiyankong@yahoo.com.cn.

**1.2.2.1 诱导缓解治疗** ALL 采用 4~5 种化疗药物联合应用,即 VTLP(长春新碱、吡柔比星、左旋门冬酰胺酶、地塞米松)、CVTLP(环磷酰胺、长春新碱、吡柔比星、左旋门冬酰胺酶、泼尼松)、VTLPA(长春新碱、吡柔比星、左旋门冬酰胺酶、地塞米松、阿糖胞苷)、VMLP(长春新碱、米托蒽醌、左旋门冬酰胺酶、地塞米松)等。AML 除  $M_3$  外采用 TAE(吡柔比星、阿糖胞苷、依托泊苷)、MAE(米托蒽醌、阿糖胞苷、依托泊苷)等方案诱导治疗, $M_3$  采用全反式维 A 酸、三氧化二砷双诱导治疗,白细胞增高达  $20 \times 10^9/L$  时,停用维 A 酸,加用吡柔比星  $40 \text{ mg}/\text{m}^2$ 。MAL 采用 VTLPA、CVTLP 等方案诱导化疗。

**1.2.2.2 缓解后巩固治疗** ALL 中 26 例选用 CAM(环磷酰胺、阿糖胞苷、6-MP)方案巩固治疗,3 例采用 EA(VP-16、阿糖胞苷)方案巩固治疗。AML 根据骨髓增生情况沿用诱导治疗方案或者加大阿糖胞苷剂量, $M_3$  选用 TA(吡柔比星、阿糖胞苷)、HA(三尖杉酯、阿糖胞苷)、MA(米托蒽醌、阿糖胞苷)等方案治疗。MAL 采用 CAM 方案巩固治疗。

**1.2.2.3 髓外白血病防治** ALL 采用三联鞘内注射[甲氨蝶呤(MTX)、阿糖胞苷、地塞米松]治疗(高危组 22 次,中危组 20 次,低危组 18 次),AML 诱导缓解后行常规鞘内注射(其中  $M_4/M_5$  整个疗程鞘内注射 8 次,其余类型均为 2~3 次),MAL 同 ALL。发生神经系统浸润患者均每隔 2~3 天三联鞘内注射 1 次,连续 3 次脑脊液阴性为止,未行放疗。

**1.2.2.4 维持治疗及治疗时间** ALL 采用 MTX 联合 6-MP、VTLP、COAD(环磷酰胺、长春新碱、阿糖胞苷、地塞米松)等方案维持及定期强化治疗,AML 中除  $M_3$  应用维 A 酸、三氧化二砷、MTX 肌注循环维持治疗外,其余间断给予含大剂量或普通剂量的阿糖胞苷等方案维持治疗。ALL 患儿按其危险度不同进行维持治疗,中、高危组患儿,女孩 2.5 年,男孩 3 年;低危组女孩 2 年,男孩 2.5 年;MAL 治疗时间参照高危组 ALL;AML 疗程 1.5 年。

**1.2.2.5 造血干细胞移植(HSCT)** 52 例患儿中 13 例行 HSCT,均为难治或复发病例。ALL 患儿中 1 例行自体造血干细胞移植(auto-HSCT),3 例为母供女/子 HLA 半相合异基因造血干细胞移植(allo-HSCT),1 例为非血缘关系 HLA 全相合 allo-HSCT;AML 患儿中 1 例行 auto-HSCT,1 例为非血缘关系 HLA 不全相和 allo-HSCT,1 例为同胞间全相合 allo-HSCT,1 例为父供子单倍型 allo-HSCT,1 例为同胞间单倍型 allo-HSCT,1 例为非血缘关系 HLA 全相合脐血 allo-HSCT,1 例为母供女 4/6 位点相合外周血加骨髓联合 5/6 位点脐血 HSCT;MAL 患儿中 1 例行父供女 HLA 半相合 allo-HSCT。2 例患儿行 auto-HSCT 后维持普通化疗至结束。

## 2 结 果

29 例 ALL 患儿中 27 例在第一疗程即达完全缓解(CR),2 例在 5 周内 CR,即 4 周内 CR 占 93.1%(27/29),4~5 周占 6.9%(2/29)。AML 患儿中 18 例 CR<4 周(85.7%),3 例 4 周内未完全缓解(14.3%)。MAL 患儿中 1 例 19 d 内 CR,1 例 CR 时间大于 8 周。52 例患儿中经诱导治疗后小于 4 周 CR 46 例(88.5%),全部长期存活。CR 时间大于 4 周的 6 例患者坚持正规治疗均长期存活。29 例 ALL 患儿采用三联鞘内注射后,其中 19 例在治疗过程中先后发生中枢神经系统白血病(CNSL),AML 及 MAL 患儿中发生 CNSL 各 2 例。52 例患儿中 23 例脑脊液中发现异常细胞(44.2%),给予连续鞘内注射后异常细胞均消失,并获得长期存活。所有男性患儿均未出现睾丸浸润。29 例 ALL 患儿中 2 例在治疗过程中髓内复发,重新诱导治疗后缓解,至今存活;21 例 AML 患儿中 3 例在治疗

过程中复发,其中 2 例髓内复发,1 例双侧乳房出现包块。髓内复发者给予 MAE、髓外复发者给予 MAC(米托蒽醌、阿糖胞苷、环磷酰胺)治疗后均再次 CR。13 例行 HSCT 患儿均长期存活。

## 3 讨 论

近年来随着化疗方案的改进及治疗水平的不断提高,使儿童白血病,尤其是 ALL 达到 CR 并不困难,在发达国家儿童 ALL 治愈率高达 80%<sup>[3-4]</sup>,国内也接近 75%<sup>[5]</sup>,但提高长期无病生存率才是当下的治疗目标。急性白血病预后有多种影响因素,如发病年龄、初始白细胞总数(WBC)、细胞类型、缓解时间与长期无病生存有着密切的联系<sup>[5]</sup>。初发时外周血 WBC 对急性白血病预后和长期生存有重要意义<sup>[6]</sup>,多数治疗表明治疗前 WBC 低者是影响长期生存的一个重要因素。CR 是获得长期生存的先决条件,获 CR 时间越短,生存时间越长,初治者获 CR 时间是缓解后无病生存的独立预后因素。本组 52 例患儿中,46 例首次 CR 后持续缓解,此类患儿白血病细胞对化疗药物敏感,诱导期已最大限度地杀灭白血病细胞群,对长期生存影响很大。急性白血病达到 CR 是长期生存的第一步,维持、强化治疗对于患儿长期生存是非常必要的。因为获得 CR 后,体内仍有微小残留病灶,只有维持、强化治疗,才能进一步杀死白血病细胞,直到彻底清除,达到长期存活的目的。本组 ALL 中高危组患儿治疗时间女孩 2.5 年,男孩 3 年,低危组女孩 2 年,男孩 2.5 年;MAL 治疗时间参照高危组 ALL;AML 疗程 1.5 年。所有患儿均经正规疗程治疗后达到长期存活。

对于儿童 ALL 的预后不良因素,大量研究证明与发病时年龄、初始 WBC、早期治疗反应、预后不良细胞遗传学(BCR/ABL 及 MLL 断裂融合基因)以及规范化治疗有密切关系。本组 29 例儿童 ALL 中,高危组 16 例(55.2%)。初发儿童白血病放弃治疗者较成人多,因本科室不是儿童血液病治疗中心,从儿童医院或儿科慕名拟行 HSCT 转入患儿较多,转入时多因发病时 WBC 高、早期治疗不敏感、治疗过程中出现 CNSL 或治疗缓解后复发等多为高危组。16 例高危组 ALL 患儿中 3 例发病时 WBC> $100 \times 10^9/L$ 。早期诱导治疗中 14 例患儿 CR,2 例患儿经巩固治疗后达到 CR,早期治疗不佳及诱导治疗第 19 天骨髓幼稚淋巴细胞大于 5%为预后不良因素之一。ALL 预后不良细胞遗传学包括 BCR/ABL 及 MLL 断裂融合基因,目前国内外报道 BCR/ABL 及 MLL 断裂融合基因阳性 ALL 患者 CR 率低,易复发,生存期短,预后差。本组患儿中均未出现上述融合基因阳性。

要获得长期生存,应重视严重的骨髓抑制期所出现的感染<sup>[7]</sup>、出血等治疗相关并发症。对环境的消毒、隔离措施,皮肤黏膜的护理,及时有效的抗生素治疗以及适当的输血也是急性白血病患儿长期生存不可忽视的因素。

CNSL 的防治与长期生存关系很大,白血病的复发可能与大多化疗药物不能进入血脑屏障,残存在中枢神经系统的白血病细胞再次入血有关。定期鞘内注射化疗药物避免复发、延长缓解期对提高长期生存有重要意义。本组 52 例患儿中 23 例脑脊液中发现异常细胞(44.2%),给予连续鞘内注射后异常细胞均消失,并获得长期存活。在 ALL 患儿治疗过程中骨髓达到 CR,但出现 CNSL,此患儿入为高危组,16 例高危组 ALL 患儿均发生 CNSL,给予正规鞘内注射后异常细胞消失。有资料显示,50%的儿童接受 24 Gy 照射后,MRI 检查有不同程度脑萎缩、脑白质病、脑钙化、脑灰质异常等<sup>[8]</sup>。因此,目前的治疗中已尽量减少颅脑放疗或不用放疗。本组患儿均未行脑和(或)脊髓的放疗。

(下转第 3707 页)

一般在 30 min 以上,氧流量 0.2~0.5 L/min。液体均使用超纯水,水质将会对细胞的存活数量有影响,同时有利于维持复钙后细胞的钙耐受性<sup>[12]</sup>。此外,系统的清洁也非常重要,可使用双蒸水加 75%乙醇清洗 2~3 次,清除残留酶液和杂质。

灌流后酶解法分离出单个细胞后遇到的最关键问题是复钙时遇到的“钙反常”现象(calcium paradox)<sup>[11]</sup>,大多数学者认为心肌细胞发生钙反常的机制是由于大量钙离子短暂快速进入细胞内,钠离子外流,导致细胞内钙超载有关。文献多报道采用梯度复钙法,细胞损伤会比较小,存活率较高。但本研究发现采用一步复钙法,虽然得到细胞产量可能稍低(约 30%~40%),但存活细胞状态更好,更利于膜片钳检测。

本研究通过对以往实验环节的改进,结合自身的经验,可以稳定地分离出犬的心房肌细胞,分离得到的心肌细胞结构完整、活性好、耐受性佳,能用于膜片钳研究,并成功的对钙电流进行检测,为电生理研究奠定了良好的实验基础。

#### 参考文献:

- [1] Kono T. Roles of collagenases and other proteolytic enzymes in the dispersal of animal tissues[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1969, 178(2): 397-400.
- [2] Li D, Melnyk P, Feng J, et al. Effects of experimental heart failure on atrial cellular and ionic electrophysiology [J]. *Circulation*, 2000, 101(22): 2631-2638.
- [3] 黄焰,侯月梅. 酶解法分离犬肺静脉肌袖和心房肌细胞 [J]. *新疆医科大学学报*, 2008, 11(3): 1513-1515.
- [4] Mitra R, Morad M. A uniform enzymatic method for dissociation of myocytes from hearts and stomachs of verte-

brates[J]. *Am J Physiol*, 1985, 249(5 Pt 2): 1056-1060.

- [5] 商立军,臧益民,王四望,等. 耐钙心肌细胞的分离及基本电生理特性[J]. *第四军医大学学报*, 2000, 21(6): 247-249.
- [6] Zhou YY, Wang SQ, Zhu WZ, et al. Culture and adenoviral infection of adult mouse cardiac myocytes; methods for cellular genetic physiology[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 279(1): 429-436.
- [7] Glick MR, Burns AH, Reddy WJ. Dispersion and isolation of beating cells from adult rat heart[J]. *Anal Biochem*, 1974, 61(1): 32-42.
- [8] 朱肖星,牛小麟,朱萧玲,等. 同活性的胶原酶对大鼠心肌细胞分离的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2008, 33(9): 1089-1091.
- [9] Egorova MV, Afanas'ev SA, Popov SV. A simple method for isolation of cardiomyocytes from adult rat heart[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 140(3): 370-373.
- [10] Li S, Blaschke M, Heubach JF, et al. Effects of azelastine on contractility, action potentials and L-type Ca<sup>(2+)</sup> current in guinea pig cardiac preparations[J]. *Eur J Pharmacol*, 2001, 418(1/2): 7-14.
- [11] Tytgat J. How to isolate cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 1994, 28(2): 280-283.
- [12] 廖华,糜涛. 成年大鼠心肌细胞分离方法的改良[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 33(13): 6535-6539.

(收稿日期:2011-03-09 修回日期:2011-08-12)

(上接第 3704 页)

HSCT 是当前将白血病完全治愈最有希望的措施。HSCT 前的超大剂量化疗及移植后的免疫活性细胞都能起到清除残留白血病细胞的作用,可有效预防白血病复发,并长期存活。目前对于某些难治复发性白血病患者,特别是第一疗程未缓解者,仅通过化疗随时可能复发,如伴有 BCR/ABL 或 MLL 断裂基因阳性以及高危组的 ALL,仅化疗难以获得长期存活已成为共识<sup>[9]</sup>。本组中 13 例患儿行 HSCT,均为难治或复发病例。其中 ALL 5 例(均为高危组患儿),AML 7 例, MAL 1 例,均植入成功并长期存活。因此对于常规化疗难以达到完全缓解和长期生存的难治、复发性白血病患者,选用 HSCT 是一种提高长期存活率的重要手段。

#### 参考文献:

- [1] Coebergh JW, Reedijk AM, de Vries E, et al. Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project[J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(13): 2019-2036.
- [2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2008: 132.
- [3] Mörcke A, Zimmermann M, Reiter A, et al. Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86,

90, and 95[J]. *Klin Padiatr*, 2005, 217(6): 310-320.

- [4] Pul CH. Childhood leukemia [M]. 2nd. Cambridge: Cambridge University Press, 2006: 3.
- [5] Ribera JM, Ortega JJ, Oriol A, et al. Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 trial[J]. *Haematologica*, 2002, 87(2): 154-166.
- [6] 叶任高,陆再英. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 610.
- [7] 高雁群,吴军,王晓红,等. 存活 5 年以上急性白血病 14 例临床分析[J]. *中原医刊*, 2004, 31(16): 19-20.
- [8] Hertzberg H, Huk WJ, Ueberall MA, et al. CNS late effects after ALL therapy in childhood. Part I: Neuro-radiological findings in long-term survivors of childhood ALL--an evaluation of the interferences between morphology and neuropsychological performance. The German Late Effects Working Group[J]. *Med Pediatr Oncol*, 1997, 28(6): 387-400.
- [9] Sanders JE, Im HJ, Hoffmeister PA, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for infants with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2005, 105(9): 3749-3756.

(收稿日期:2011-06-17 修回日期:2011-09-25)