

· 临床研究 ·

急性早幼粒细胞白血病患者诱导治疗中出现分化综合征的多因素分析

马媛媛, 沈建良*

(海军总医院血液科, 北京 100037)

【摘要】目的 分析初诊的急性早幼粒细胞白血病(APL)患者在接受全反式维A酸(ATRA)诱导治疗期间出现分化综合征(DS)影响因素。**方法** 收集2005至2014年间海军总医院血液科初诊APL并接受ATRA联合三氧化二砷(ATO)酸或蒽环类药物诱导治疗的84例患者。根据Frankel描述诊断其中35例出现DS。按照潜在危险因素收集数据,对影响DS发生、发展的危险因素进行单因素分析及logistic多因素回归分析。**结果** logistic多因素回归分析显示,患者初诊时白细胞计数及早幼粒细胞白血病-维A酸受体 α (PML-RARa)基因分型是影响DS发生的独立危险因素($P < 0.05$)。进一步对不同组间外周血白细胞计数及PML-RARa基因分型行 χ^2 检验分析,以排除多因素间相互影响因素,结果显示患者初诊时外周血白细胞及PML-RARa基因分型,两组间差异分析存在统计学意义($P < 0.05$)。并对PML-RARa基因分型的长(L)亚型及短(S)亚型行 χ^2 检验分析,结果显示L亚型早幼粒细胞白血病- α 纸A酸变体(PML-RARa)基因对DS的发生有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 初诊时外周血白细胞计数较高的患者及PML-RARa基因为L亚型的患者在初期接受维A酸联合诱导化疗时更易出现DS。

【关键词】 分化综合征; 急性早幼粒细胞白血病; PML-RARa融合基因; 危险因素

【中图分类号】 R733.71

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.000174

Multivariate analysis for differentiation syndrome in acute promyelocytic leukemia patients during induction therapy

MA Yuan-Yuan, SHEN Jian-Liang*

(Department of Hematology, Chinese PLA Navy General Hospital, Beijing 100037, China)

【Abstract】Objective To analyze the comprehensive influencing factors for occurrence of differentiation syndrome (DS) in the patients with acute promyelocytic leukemia (APL) undergoing induction therapy with all-trans retinoic acid (ATRA). **Methods** A total of 84 patients with freshly diagnosed APL and receiving induction treatment with ATRA in combination with arsenic trioxide (ATO) or anthracycline anticancer drugs in our department from 2005 to 2014 were enrolled in this study. According to the description of DS by Frankel, the subjects were divided into DS group ($n = 35$) and non-DS (normal) group ($n = 51$). Data were collected based on the potential risk factors. Univariate analysis and logistic regression analysis were used to study the risk factors for the occurrence and development of DS. **Results** The results of logistic regression analysis showed that white blood cell (WBC) count on initial diagnosis and genotype of promyelocyte leukemia-retinoic acid receptor α (PML-RARa) were independent risk factors for DS in APL patients ($P < 0.05$). Then chi-square analysis was carried out on these 2 items to exclude the mutual influence among multiple factors. The results indicated that there were significant differences in the WBC count on initial diagnosis and genotype of PML-RARa between the 2 groups ($P < 0.05$). Further chi-square analysis showed that type long (L) isoforms of PML-RARa was more significant than type short (S) isoforms of PML-RARa in the occurrence and development of DS. **Conclusion** WBC $\geq 10 \times 10^9/L$ on initial diagnosis and carrying type L isoforms of PML-RARa are risk factors for DS in APL patients undergoing induction therapy with ATRA.

【Key words】 differentiation syndrome; acute promyelocytic leukemia; PML-RARa fusion gene; risk factors

Corresponding author: SHEN Jian-Liang, Email: shenjianliang@csc.org.cn

急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocyte leukemia, APL) 是急性髓系白血病中比较特殊的一种亚型, 有其特殊的分子遗传学及生物学特点,

在早期是一类非常凶险的疾病。患者往往因为该病伴有的凝血、出血异常而早期死亡。随着我国学者首创全反式维A酸(维甲酸)(all-trans retinoic

acid, ATRA) 和砷剂治疗APL, 该病的缓解率有了明显的提高。有报道ATRA为主并与蒽环类合用的完全缓解率可达到90%~95%。5年无病生存率为74%。但部分患者在早期诱导治疗过程中需要经历严重并发症, 即诱导治疗相关分化综合征(differentiation syndrome, DS), 并且该类综合征有明显个体异质性。不同患者虽给予同样干预, 但转归不同, 严重者可出现死亡。既往研究多集中在患者初诊临床特点对DS发生的影响。对患者影响因素研究不够全面, 缺乏对患者疾病本身生物学特点的相关研究。我们自2005年收治初诊92例APL患者, 84例接受ATRA联合蒽环类或砷剂(三氧化二砷, ATO)诱导治疗, 且在初诊时患者均接受骨髓细胞形态学(Morphology)、免疫学(Immunology)、细胞遗传学(Cytogenetics)和分子生物学(Molecular Biology), 即MICM分型检查。该研究首次分析了患者疾病MICM中基因、染色体等相关因素对DS发生的影响, 有助于临床上对DS的早期发现及治疗。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集2005年4月至2014年4月间在海军总医院血液科初诊为APL患者且资料全面者共92例。所有患者均行MICM分型检查。所有诊断患者均为融合基因早幼粒细胞白血病-维A酸受体 α (PML-RAR α)阳性, 且均有典型t(15, 17)异位染色体。所有患者早期采用维A酸联合砷剂或蒽环类药物诱导化疗。根据Frankel描述^[1,2]诊断其中34例出现DS。

DS诊断标准参照文献[2], 症状体征包括不明原因发热、呼吸困难、体质量增加、低血压、肾功能不全、胸部影像学检查提示间充质性肺浸润、胸腔或心包积液, 符合以上7项中3项, 并排除肺部感染、肺出血、充血性心力衰竭、败血症等可能诊断为并发DS, 符合4项或者出现呼吸衰竭需要机械辅助通气, 肾功能衰竭需血液净化治疗者诊断为重症DS。轻度DS给予停止ART治疗, 根据白细胞(white blood cell, WBC)计数增加化疗。重度DS治疗采用甲泼尼龙40mg静脉推注, 1~2次/d, 至少连续3d。排除标准:(1)入院时即伴有严重肺部感染;(2)既往有明确脑出血, 大范围脑血栓病史患者;(3)合并严重肝功能不全(丙氨酸氨基转移酶升高大于正常参考值3倍以上)或者肾功能不全(血肌酐>265 μ mol/L);(4)合并严重心功能不全。

1.2 数据收集

数据收集终点为患者诱导治疗达到骨髓缓解^[4], 所有患者早期诊断时均行血常规、生化及骨髓MICM检查。每周2次化验血常规。每天1次检查体质量、体温、指血氧饱和度。每周至少1次化验肝肾功能。诱导治疗4周复查骨髓形态。

1.3 收集内容

(1)患者的性别、年龄。(2)既往病史:是否患自身免疫性疾病, 高血压, 肺结核等疾病。(3)入院检查:初诊时外周血WBC计数, 诱导治疗时出现DS的治疗时间。(4)骨髓相关MICM检查:患者发病时骨髓原始幼稚细胞比例, 融合基因PML-RAR α 基因类型, 是否有典型t(15, 17)染色体及附加染色体。所有患者的数据被回顾性收集并统一输入数据库。

1.4 分组

根据患者诱导化疗期间是否发生DS分为DS组和非DS(正常)组。

1.5 患者诱导治疗过程中DS发生、发展多因素分析赋值方法

(1)年龄: <60岁=0, $\geq$ 60岁=1;(2)性别:男性=0, 女性=1;(3)外周血WBC计数: $\geq 10 \times 10^9/L = 1$, $< 10 \times 10^9/L = 0$;(4)融合基因PML-RAR α 基因长亚型(L)=1, 短亚型(S)=0;(5)除典型t(15, 17)染色体外, 有附加染色体异常=1, 无附加染色体异常=0;(6)DS: 有=1, 无=0。

1.6 统计学处理

所有数据分析均使用SPSS17.0进行。以 $\bar{x} \pm s$ 的形式记录计量资料, 使用独立样本t检验记录两组计量样本资料的统计学差异。使用 χ^2 检验比较计数资料组间差异。使用逐步logistic回归方法构建方程, 鉴别出APL诱导化疗期间出现DS的危险因素和保护因素。所有在单因素分析中 $P < 0.1$ 的变量被引入logistic多因素回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

本研究共收集样本92例, 其中5例患者在接受治疗前死亡, 3例患者为复发患者未接受维A酸诱导治疗。84例接受维A酸联合砷剂或蒽环类药物诱导化疗。其中发生DS者34例, 发病率为40.5%。APL患者诱导化疗期间出现DS的单因素分析结果:经单因素分析可见初诊时WBC计数、融合基因

PML-RARa分型有统计学意义 ($P < 0.05$; 表1), 可进入多因素分析。另外, DS组与正常组早幼粒细胞比率分别为 (63.38 ± 3.22) %和 (53.13 ± 2.79) %, 两组比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.498$)。在多因素回归分析中可见WBC计数和融合基因PML-RARa分型可作为判断DS发生的相对独立因素 (表2)。并且L亚型PML-RARa融合基因是DS发生的危险因素 (表3)。

表1 APL患者诱导分化治疗期间出现DS的单变量分析

Table 1 Univariate analysis of risk factors of DS for APL patients [n(%)]

Factor	n	DS group	Normal group	P value
Age				
≥60 years	10	6 (60.00)	4 (40.00)	0.181
< 60 years	74	29 (39.19)	45 (60.91)	
Gender				
Male	53	20 (37.74)	33 (62.26)	0.234
Female	31	15 (48.39)	16 (51.61)	
Initial WBC count				
≥ $1 \times 10^9/L$	23	16 (69.57)	7 (30.43)	0.002
< $1 \times 10^9/L$	61	19 (31.15)	42 (68.85)	
PML-RARa				
S-isoform	46	16 (34.78)	30 (65.22)	0.029
L-isoform	38	22 (57.89)	16 (42.11)	
Additional chromosome				
N	72	29 (40.28)	43 (59.72)	0.372
Y	12	6 (50.00)	6 (50.00)	

APL: acute promyelocyte leukemia; DS: differentiation syndrome; WBC: white blood cell; PML-RARa: promyelocyte leukemia-retinoic acid receptor alpha; S: short; L: long

表2 DS影响因素多变量分析

Table 2 Multivariate analysis of risk factors of DS

Factor	B	S. E.	Wald	Sig.	Exp(B)
WBC count	2.173	0.891	5.940	0.015	8.782
PML-RARa form	1.287	0.544	5.596	0.018	3.623

DS: differentiation syndrome; WBC: white blood cell; PML-RARa: promyelocyte leukemia-retinoic acid receptor alpha

表3 融合基因PML-RARa的分型对DS发生的影响

Table 3 Influences on the DS by PML-RARa fusion gene's isoforms

Factor	B	S. E.	Wald	Sig.	Exp(B)
L-isoform	2.264	0.992	5.212	0.022	9.625
S-isoform	1.482	0.903	2.690	0.101	4.400

PML-RARa: promyelocyte leukemia-retinoic acid receptor alpha; DS: differentiation syndrome; L: long; S: short

3 讨论

APL是一类具有特殊生物遗传学特点的急性髓系白血病, 以t(15, 17)为特征, 17号染色体上的RARα基因易位到第15号染色体的APL基因PML上, 形成PML-RARa融合基因, PML-RARa融合基因使原始髓细胞分化阻滞在早幼粒细胞阶段^[3,6]。ATRA

及亚砷酸可以通过靶向作用于融合基因中不同部位使白血病细胞走向分化, 继而凋亡^[7,8,16]。从而使APL成为急性白血病中唯一可以用药物达到治愈的一种类型。但是部分患者在早期诱导治疗中都会经历上述靶向治疗相关并发症, 主要并发症为DS, 早期称为维A酸综合征。故文献报道的DS发生率不确定, 为5%~30%^[5,12], 病死率为5%~35%。而本文中DS发病率为40.5%, 高于国外资料报道。在维A酸对APL诱导治疗中出现DS的机制尚不明确, 多数研究表明在维A酸诱导APL细胞分化成熟时, 伴随有炎症因子CD11b等的高表达及肺组织中趋化因子的高表达, 促进APL细胞与内皮细胞的黏附及在肺组织中的浸润^[9,10,13,14]。目前, 多数研究都显示DS发生与患者在初诊时WBC计数相关^[11,15]。WBC $> 10 \times 10^9/L$ 时DS发生风险较大。这与本文的结果是一致的。APL有其独特的分子生物学特点, 即RARa基因的重排, 有5种类型, 但98%的重排为PML-RARa融合基因, 为15、17号染色体易位形成。PML-RARa融合基因根据PML的断裂点不同, 又分为bcr1, bcr2, bcr3三种。前两种为L亚型, bcr3为S亚型。目前研究显示S亚型患者预后较差。但尚没有研究显示PML-RARa融合基因及染色体对患者DS发生的相关性。本文首次回顾性地研究了84例初诊患者, 均为PML-RARa融合基因阳性。通过单因素分析及多因素分析结果提升PML-RARa融合基因对DS发生有统计学意义, 且L亚型PML-RARa融合基因阳性患者在维A酸联合诱导治疗中更容易出现DS。因为患者初诊及治疗时外周WBC计数会因患者接受诊治的时间而出现变化, 相比之下融合基因的分型则更客观。故该文为临床医师对患者DS发病提供了相对稳定的预测指标。有利于临床医师在APL患者诱导治疗中是否出现DS给予早期预测, 提早预防。

【参考文献】

- [1] Montesinos P, Bergua JM, Vellenga E, et al. Differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline chemotherapy: characteristics, outcome and prognostic factors[J]. Blood, 2009, 113(4): 775-783.
- [2] Frankel SR, Eardley A, Lauwers G, et al. The "retinoic acid syndrome" in acute promyelocytic leukemia[J]. Ann Intern Med, 1992, 117(4): 292-296.
- [3] Wang ZY, Chen Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable[J]. Blood, 2008, 111(5): 2505-2515.

- [4] Hematological Society of Chinese Medical Association. Chinese Guidelines for dDiagnosis and Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia[J]. Chin J Hematol, 2011, 32(12): 885-886. [中华医学会血液学分会. 急性早幼粒细胞白血病中国诊疗指南(2011年版)[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(12): 885-886.]
- [5] Luesink M, Jansen JH. Advances in understanding the pulmonary infiltration in acute promyelocytic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2010, 151(3): 209-220.
- [6] Liu SX, Hu LH. Prevention and treatment progress in acute promyelocytic leukemia combined with differentiation syndrome[J]. Med Recapitulate, 2012, 18(20): 3450-3453. [刘双霞, 胡龙虎. 急性早幼粒细胞白血病合并分化综合征的防治进展[J]. 医学综述, 2012, 18(20): 3450-3453.]
- [7] Hu J, Liu YF, Wu CF, *et al.* Long-term efficacy and safety of all-trans retinoic acid/arsenic trioxide-based therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(9): 3342-3347.
- [8] Zhang XW, Yan XJ, Zhou ZR, *et al.* Arsenic trioxide controls the fate of the PML-RARalpha oncoprotein by directly binding PML[J]. Science, 2010, 328(5975): 240-243.
- [9] Tsai WH, Hsu HC, Lin CC, *et al.* Role of interleukin-8 and growth-regulated oncogene- α in the chemotactic migration of all-trans retinoic acid-treated promyelocytic leukemic cells toward alveolar epithelial cells[J]. Crit Care Med, 2007, 35(3): 879-885.
- [10] Tsai WH, Shih CH, Lin CC, *et al.* Monocyte chemotactic protein-1 in the migration of differentiated leukaemic cells toward alveolar epithelial cells[J]. Eur Respir J, 2008, 31(5): 957-962.
- [11] De Botton S, Chevret S, Coiteux V, *et al.* Early onset of chemotherapy can reduce the incidence of ATRA syndrome in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) with low white blood cell counts: results from APL 93 trial[J]. Leukemia, 2003, 17(2): 339-342.
- [12] De la Serna J, Montesinos P, Vellenga E, *et al.* Causes and prognostic factors of remission induction failure in patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and idarubicin[J]. Blood, 2008, 111(7): 3395-3402.
- [13] Wiley JS, Firkin FC. Reduction of pulmonary toxicity by prednisolone prophylaxis during all-trans retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia: Australian Leukaemia Study Group[J]. Leukemia, 1995, 9(5): 774-778.
- [14] Larson RS, Tallman MS. Retinoic acid syndrome: manifestations, pathogenesis, and treatment[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2003, 16(3): 453-461.
- [15] Luesink M, Jansen JH. Advances in understanding the pulmonary infiltration in acute promyelocytic leukaemia[J]. Br J Haematol, 2010, 151(3): 209-220.
- [16] Cunha De Santis G, Tamarozzi MB, Sousa RB, *et al.* Adhesion molecules and differentiation syndrome: phenotypic and functional analysis of the effect of ATRA, As₂O₃, phenylbutyrate, and G-CSF in acute promyelocytic leukaemia[J]. Haematologica, 2007, 92(12): 1615-1622.

(编辑: 周宇红)