

糖皮质激素反应性与急性淋巴细胞白血病患者预后的关系^{*}

王雪萍, 姜 悦[△], 姜育森, 万小妍, 滕军旗(中山大学附属第一医院检验医学部, 广州 510080)

【摘要】 目的 评价糖皮质激素反应性与急性淋巴细胞白血病患者持续缓解、复发、死亡等预后的关系。**方法** 收集中山大学附属第一医院 2008 年 6 月至 2011 年 12 月 146 例住院急性淋巴细胞白血病患者, 通过泼尼松诱导试验初步判断激素的反应性, 根据激素反应性不同分组并结合相应的实验室指标: 初始外周血白细胞数, 初始外周血幼稚淋巴细胞数, 外周血幼稚淋巴细胞百分比, 融合基因 MLL 及 BCR/ABL, 化疗后第 8、26 天骨髓象, 从而评价急性淋巴细胞白血病患者糖皮质激素反应性与预后的关系。**结果** 146 例患儿中, 糖皮质激素反应性敏感(PR+) 者为 121 例(82.88%), 其中 107 例(88.43%) 处于持续缓解状态, 复发 11 例, 死亡 2 例, 放弃治疗 1 例。糖皮质激素反应性不敏感(PR-) 者为 25 例(17.12%), 其中持续缓解 13 例, 复发 6 例, 死亡 5 例, 放弃治疗 1 例。PR+ 组复发死亡率明显低于 PR- 组, 其中两组患儿的初始外周血白细胞数、初始外周血幼稚淋巴细胞数、外周血幼稚淋巴细胞百分比、化疗后第 8、26 天骨髓象、危险度的分级差异有统计学意义, 且复发组的初始幼稚淋巴细胞百分比明显高于未复发组。**结论** 通过泼尼松诱导试验结合一系列实验室指标可判断糖皮质激素的反应性, 从而指导疾病的治疗和预测疾病转归。

【关键词】 糖皮质激素; 淋巴细胞白血病; 儿童; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.09.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)09-1057-03

Relationship between glucocorticoid response and the prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia WANG Xue-ping, JIANG Tang[△], JIANG Yu-shen, WAN Xiao-yan, TENG Jun-qi (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

【Abstract】 Objective To assess the value of glucocorticoid response in children with acute lymphoblastic leukemia(ALL). **Methods** From June 2008 to December 2011, children with newly diagnosed ALL were divided into two groups according to prednisone induction test and the corresponding laboratory characteristics such as: initial white blood cell(WBC) count, initial peripheral blast count, the percentage of initial peripheral blast, MLL gene and BCR/ABL gene, bone marrow characteristics at the 8th and 26th day after chemotherapy, to further evaluate the glucocorticoid response. **Results** Of 146 children, 121(82.88%) cases were classified as prednisone good responder (PR+), including 107 cases of continuous complete remission(CCR), 1 case gave up therapy, 11 cases in relapse and 2 cases died. While 25(17.12%) cases were prednisone poor responders(PR-), including 13 cases of CCR, 6 cases in relapse, 5 cases died and 1 case gave up therapy. Initial WBC count, initial peripheral blast count, the percentage of initial peripheral blast, bone marrow examined on the 8th and 26th day after treatment and risk stratification were significantly different between PR+ and PR- group. And the patients in relapse had higher initial blast count than children in CCR. **Conclusion** Response to prednisone, identified by prednisone induction test and other laboratory tests, could be used as a stratification factor in risk-adapted treatment protocols and good prognostic factor in childhood ALL.

【Key words】 glucocorticoid; acute lymphoblastic leukemia; children; prognosis

糖皮质激素(GC)是儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)治疗最常用的药物之一, 患者对激素的反应性严重影响疾病的治疗、危险度确定及预后判断^[1]。泼尼松诱导试验是目前评价机体对激素反应性最常用的试验^[2-3]。目前临床上已出现较多 GC 反应性不良的患者, GC 抵抗的发生是一个复杂的病理生理过程, 其机制尚未十分清楚。GC 通过与细胞内的特异性的糖皮质激素受体(GR)结合, 形成 GC-GR 复合体, 随后转入核内与 GC 反应元件(GRE)结合, 启动相关基因的转录激活和(或)转录抑制, 使一系列与凋亡相关的蛋白发生改变, 从而发挥作用, 若这一过程发生了改变, 例如 GR 基因突变、HSP90 的异常、GC-GR 转位异常、与 GRE 结合异常、凋亡相关蛋白表达异常等均会导致 GC 抵抗, 影响 ALL 患儿的疗效和预后。

本研究的目的在于利用相关实验室指标判断患儿的 GC 反应性, 从而指导临床治疗和预测疾病的转归。

1 资料与方法

1.1 一般资料 来自 2008 年 6 月至 2011 年 12 月中山大学附属第一医院初诊住院患儿 146 例, 诊断符合 FAB 分类标准, 并结合流式细胞仪及免疫化学检查确诊。男 88 例, 女 58 例, 年龄 1~16 岁。形态学分类: L1(37 例), L2(93 例), L3(16 例); 免疫分型: T 系(18 例), B 系(128 例, 其中 B 系还分为 B I~VI)。

1.2 研究方法

1.2.1 收集初次入院患儿的实验室检测指标 初始外周血白细胞数、初始外周血幼稚淋巴细胞数、初始外周血幼稚淋巴细

胞百分比、是否有融合基因 MLL 或 BCR/ABL。

1.2.2 激素反应性测定 对明确诊断的患儿于正规治疗前给予泼尼松 50~60 mg(m²·d),分次口服 7 d,第 8 天行外周血幼稚淋巴细胞计数,根据计数结果将患儿分为两组:入院时外周血幼稚淋巴细胞大于 1×10⁹/L,第 8 天降至小于 1×10⁹/L 为泼尼松敏感组(PR+),≥1×10⁹/L 为泼尼松不敏感组(PR-)。

1.2.3 治疗方法 确诊后给予 ALL 标准化疗方案,诱导化疗:VLDL 方案(VCR 长春新碱、DNR 柔红霉素、L-Asp 左旋门冬酰胺、DEX 地塞米松),CAM 方案(CTX 环磷酰胺、Ara-C 阿糖胞苷、6-MP 6-巯基嘌呤),再进行巩固 HDMTX-6MP (MTX:甲氨蝶呤)治疗,该巩固方案只适合于标危和中危,高危的巩固方案为 Block 1 组、2 组、3 组化疗),最后进行再诱导 VALD-CAM 方案进入维持治疗。

1.2.4 危险度分级 根据 VLDL 化疗第 8 天和第 26 天骨髓象(骨髓中原始淋巴细胞+幼稚淋巴细胞小于 5%为 M1,5%~25%为 M2,>25%为 M3)判断其对化疗的敏感度,并结合激素反应性进行分级。高危:染色体为 t(4;11)或 t(9;22),或初诊中枢神经系统白血病,或泼尼松不敏感,或第 26 天骨髓象仍为 M2/3,或中危第 8 天为 M3 者;中危:发病时年龄小于 1 岁或者大于或等于 6 岁或 T-ALL 或诊断时外周白细胞数大于或等于 20×10⁹/L,或标危第 8 天为 M3 者;标危:不具备上述任何条件者。

1.2.5 预后情况 了解患儿的预后缓解,复发死亡情况。

1.3 统计学方法 所有资料用 SPSS 13.0 进行分析处理。数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 描述。两样本间均数的比较先验证方差齐性,数据呈非正态分布则使用两独立样本的秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$,双侧检验。

2 结 果

2.1 激素反应性分组 通过 7 d 泼尼松诱导试验,患儿分为 PR+组和 PR-组,其中 PR+组 121 例,占患儿总数的 82.88%;PR-组 25 例,占患儿总数的 17.12%。

2.2 实验室指标结果 见表 1。初始外周血白细胞数,PR+

组为 (39.23±5.52)×10⁹/L,PR-组为 (121.05±27.75)×10⁹/L,PR+组的初始白细胞数明显低于 PR-组,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。外周血幼稚淋巴细胞数,PR+组为 (19.17±3.68)×10⁹/L,PR-组为 (73.23±16.70)×10⁹/L,两组差异有统计学意义($P<0.05$),即对激素反应不良的患儿外周血初始白细胞数和幼稚淋巴细胞数较高。另 PR+组有 5 例患儿 MLL 阳性,8 例 BCR/ABL 阳性,PR-组有 3 例患儿 MLL 阳性,4 例 BCR/ABL 阳性,即融合基因阳性率 PR+组为 10.78%,而 PR-组为 28.00%,PR+组明显低于 PR-组,差异有统计学意义($P<0.05$)。在骨髓免疫分型中,PR-组 T 细胞型明显多于 PR+组,差异有统计学意义($P<0.05$)但其形态学差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 VDLD 化疗后骨髓象 见表 2。VDLD 化疗第 8 天的骨髓象,PR+组 M1 型 104 例,M2 型 10 例,M3 型 7 例,PR-组 M1 型 7 例,M2 型 8 例,M3 型 10 例,两组差异有统计学意义($P<0.05$)。化疗第 26 天骨髓象,PR+组 M1 型 119 例,M2 型 1 例,M3 型 1 例,PR-组 M1 型 21 例,M2 型 2 例,M3 型 2 例,两组差异有统计学意义($P<0.05$),由表 2 可见,第 8 天和第 26 天 PR+组的未缓解的患儿明显低于 PR-组,该差异表明 GC 的反应性与化疗缓解有关,且指出进一步化疗时应改变或加强目前的方案。

2.4 危险度分级 见表 2。PR+组标危 33 例,中危 71 例,高危 17 例,其中 13 例有融合基因的患儿应判定为高危;PR-组全是高危病例,其中 9 例为超高危。两组患儿危险度分级差异有统计学意义($P<0.05$),由此可见激素的敏感性危险度密切相关,说明激素反应不良的患儿早期化疗效果较差。

2.5 患儿预后情况 见表 3。PR+组 121 例中,107 例持续缓解,11 例复发,2 例死亡,1 例放弃治疗,复发和死亡率为 10.74%;PR-组 25 例中,14 例持续缓解,6 例复发,5 例死亡,复发和死亡率为 44.00%,两组差异有统计学意义($P<0.05$),说明激素反应不良的患儿预后较差,完全缓解率较低,复发和死亡率较高,见图 1。

表 1 激素敏感性不同患儿临床资料比较

组别	n	发病年龄(岁)	初始白细胞数 (×10 ⁹ /L)	初始幼稚淋巴 细胞百分比(%)	形态学(n)			骨髓免疫分型(n)		MLL (n)	BCR/ABL (n)
					L1	L2	L3	T	B		
PR+组	121	6.99±4.20	39.23±5.52	19.17±3.68	31	75	15	10	111	5	8
PR-组	25	6.36±3.53	121.05±27.75	73.23±16.70	6	18	1	8	17	3	4

表 2 两组激素敏感性比较(n)

组别	n	第 8 天骨髓象			第 26 天骨髓象			危险度		
		M1	M2	M3	M1	M2	M3	标危	中危	高危
PR+组	121	104	10	7	119	1	1	33	71	17
PR-组	25	7	8	10	7	8	10	0	0	25

表 3 患儿预后情况[n(%)]

组别	n	完全缓解	复发	死亡
PR+组	121	107(88.43)	11(9.09)	2(1.65)
PR-组	25	14(56.00)	6(24.00)	5(20.00)

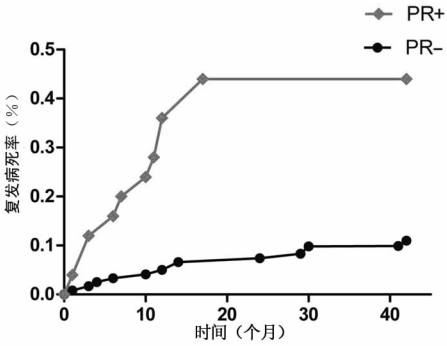


图 1 两组患儿复发病死率结果

3 讨 论

GC 被广泛地应用于儿童急性淋巴细胞白血病的治疗,是

化疗方案的主要药物。通过本研究进一步说明激素反应性与疾病的复发有密切关系,激素反应不良的患儿生存率较低、易复发、预后较差^[4-5]。本文判断激素的反应性仍然是沿用 BFM 83 的标准,即泼尼松试验。146 例患者中激素反应良好的患儿 121 例,其中标危 33 例,中危 71 例,高危 17 例,持续缓解 107 例,复发 11 例,死亡 2 例。而激素反应不良 25 例全部为高危及以上患儿,持续缓解 14 例,复发 6 例,死亡 4 例,两组复发死亡率差异有统计学意义($P < 0.05$),说明激素的反应性是患儿 ALL 治疗及预后的重要因素。此外,实验室指标:初始外周血白细胞数、初始外周血幼稚淋巴细胞数、外周血幼稚淋巴细胞百分比、融合基因 MLL 及 BCR/ABL、化疗后骨髓象都与激素的反应性有密切关系,即激素反应性良好的患儿初始外周血白细胞数较低,初始外周血幼稚淋巴数百分比比较低,融合基因数目较少,化疗后为缓解骨髓象。由于泼尼松试验在患儿外周血白细胞数较高或者较低时判断激素反应性有一定局限性,结合上述实验室指标能更准确地进行判断。且外周血幼稚淋巴细胞百分比与患儿的复发有关,初始幼稚淋巴细胞百分比高的患儿复发和病死率较高。因此可利用泼尼松试验并结合相应的实验室指标判断患儿的激素反应性,从而作为指导化疗、早期评估疗效和判断预后复发的重要指标。

GC 是 ALL 治疗最关键的药物之一,在疾病的治疗中必不可少,GC 作用的发挥依赖与细胞内的特异性 GR 结合^[6]。GR 未与 GC 结合时,在胞浆内与热休克蛋白 90(HSP90)等伴侣蛋白结合形成复合物。当 GC 进入细胞后,与 GC 结合形成 GC-GR 复合物,并从伴侣蛋白复合物上脱离,然后转入核内与糖皮质激素反应元件结合,导致相关基因的转录激活和(或)转录抑制,从而改变一些调节细胞凋亡的蛋白质表达^[7]。在 ALL 中表现为诱导恶性淋巴细胞的凋亡,使外周血的幼稚淋巴细胞减少^[8-9]。若 GR 基因突变导致 GR 亲和力降低^[10]、表达减少、HSP90 的异常表达及亚细胞分布变化^[11]、与 GC 结合后的转位异常以及和 GR 作用相关蛋白的异常表达等都会导致机体对 GC 的不敏感,最终影响临床的治疗效果^[12]。泼尼松试验用于判断激素的反应性是根据正规应用激素 7 d 后外周血幼稚白细胞数是否小于 $1 \times 10^9/L$ 来判断,但其不足之处在于如果其初始白细胞数过高,应用激素后也难以降至 $1 \times 10^9/L$,从而影响对其敏感性的判断。此外,如果在试验前用过 GC 也会对结果产生影响。泼尼松诱导试验只应用于 ALL 患儿,临床上如系统性红斑狼疮、炎症性肠病等自身免疫性疾病,以及免疫性肾炎、慢性阻塞性肺病等慢性炎症性疾病,小细胞肺癌等恶性肿瘤的治疗通常需要应用 GC^[13],该类疾病的患者也存在激素反应性的差异,因而有必要检测激素的反应性,以指导临床的用药和预测疾病的预后及复发等。但临床上目前还没有一个统一的检验方法用于激素反应性的检测,因此,可以根据 GC 作用的机制寻找一种适用范围较广,影响因素较少且更为快速的方法,可以广泛用于各种疾病激素反应性的检测,为临床用药提供更为可靠的依据,同时可以预测疾病的预后和复发。

参考文献

[1] Dördelmann M, Reiter A, Borkhardt A, et al. Prednisone

response is the strongest predictor of treatment outcome in infant acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 1999, 94(4):1209-1217.

[2] Felice MS, Zubizarreta PA, Alfaro EM, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic value of initial peripheral blast count in good responders to prednisone[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2001, 23(7):411-415.

[3] Manabe A, Ohara A, Hasegawa D, et al. Significance of the complete clearance of peripheral blasts after 7 days of prednisolone treatment in children with acute lymphoblastic leukemia: the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15[J]. Haematologica, 2008, 93(8):1155-1160.

[4] Klimza MJ, Sonta-Jakimczyk DJ. Prognostic value of the initial response to corticosteroids for children with acute lymphoblastic leukemia[J]. Wiad Lek, 2005, 58(11-12):622-625.

[5] Lauten M, Stanulla M, Zimmermann M, et al. Clinical outcome of patients with childhood acute lymphoblastic leukaemia and an initial leukaemic blood blast count of less than 1000 per microliter[J]. Klin Padiatr, 2001, 213(4):169-174.

[6] Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia[J]. Lancet, 2008, 371(9617):1030-1043.

[7] Nicolaides NC, Galata Z, Kino T, et al. The human glucocorticoid receptor: molecular basis of biologic function[J]. Steroids, 2010, 75(1):1-12.

[8] 于科一. 糖皮质激素在恶性淋巴细胞增生性疾病中的作用机制[J]. 国外医学:儿科学分册, 2002, 29(5):234-236.

[9] Bhadri VA, Trahair TN, Lock RB. Glucocorticoid resistance in paediatric acute lymphoblastic leukaemia[J]. J Paediatr Child Health, 2012, 48(8):634-640.

[10] Labuda M, Gahier A, Gagné V, et al. Polymorphisms in glucocorticoid receptor gene and the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia(ALL)[J]. Leuk Res, 2010, 34(4):492-497.

[11] Ouyang J, Jiang T, Tan M, et al. Abnormal expression and distribution of heat shock protein 90: potential etiologic immunoendocrine mechanism of glucocorticoid resistance in idiopathic nephrotic syndrome[J]. Clin Vaccine Immunol, 2006, 13(4):496-500.

[12] Tissing WJ, Meijerink JP, den Boer ML, et al. Molecular determinants of glucocorticoid sensitivity and resistance in acute lymphoblastic leukemia[J]. Leukemia, 2003, 17(1):17-25.

[13] Schlossmacher G, Stevens A, White A. Glucocorticoid receptor-mediated apoptosis: mechanisms of resistance in Cancer cells[J]. J Endocrinol, 2011, 211(1):17-25.

(收稿日期:2013-01-13)