

- capacity in diabetic and non-diabetic adults[J]. Eur Respir J, 2002,20:1406-1412.
- [12] KAPOOR D, KUMAR P, RANJAN A, et al. Assessment of pulmonary function in patients with type 2 diabetes mellitus: a case-control study[J]. Int J Res Med Sci, 2015,61(3):155-158.
- [13] SHRAVYA K G, SHARAN B, SINGH M, et al. Deterioration of pulmonary functions in type 2 diabetes mellitus [J]. J Pharm Bio Sci, 2012,1(1):39-43.
- [14] BENSON L, BRITTA EML, PUGH M E, et al. Impact of diabetes on survival and right ventricular compensation in pulmonary arterial hypertension[J]. Pulm Circ, 2014,4(2):311-318.
- [15] LING Y, JOHNSON M K, KIELY D G, et al. Changing demographics, epidemiology, and survival of incident pulmonary arterial hypertension: results from the pulmonary hypertension registry of the United Kingdom and Ireland [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012,186(8):790-796.
- [16] WILLIAMS S B, GOLDFINE A B, TIMIMI F K, et al. Acute hyperglycemia attenuates endothelium-dependent vasodilation in humans in vivo[J]. Circulation, 1998,97(17):1695-1701.
- [17] KIZUB I V, KLYMENKO K I, SOLOVIEV A I. Protein kinase C in enhanced vascular tone in diabetes mellitus [J]. Int J Cardiol, 2014,174(2):230-242.
- (收稿日期:2020-07-18 修回日期:2020-11-13)
- 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.06.021

MFC 监测 MRD 在 AML 形态学缓解患者中的应用价值

王楠,冯砚平,陈康,傅强,王伟佳[△]

广东省中山市人民医院检验医学中心,广东中山 528400

摘要:目的 探讨多参数流式细胞术(MFC)监测微小残留病灶(MRD)在急性髓系白血病(AML)形态学完全缓解(mCR)患者中的应用价值。方法 选取 2015 年 5 月至 2019 年 5 月该院收治的经过 1~2 个疗程诱导化疗后达到 mCR 的 138 例 AML 患者(排除 M3)为研究对象,于每次化疗后 3 周左右或下次化疗前抽取骨髓,使用 MFC 检测 MRD,比较 MRD 阳性和阴性患者的复发及生存情况,分析 MFC 监测 MRD 在 AML mCR 患者预后评估中的价值。结果 138 例患者中,MRD 阳性 31 例,占 22.5%。在化疗第 1 疗程达到 mCR 的患者中,MRD 阴性有 89 例(83.2%),MRD 阳性有 16 例(51.6%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。MRD 阳性患者累计复发率为 61.3%,高于 MRD 阴性患者的 48.6%($\chi^2 = 4.407, P = 0.036$);MRD 阳性患者总生存率为 54.8%,低于 MRD 阴性患者的 70.1%($\chi^2 = 4.332, P = 0.037$);MRD 阳性患者的无复发生存率为 38.7%,低于 MRD 阴性患者的 49.5%($\chi^2 = 4.408, P = 0.035$)。MRD 阳性患者中,巩固化疗患者总生存率为 47.4%,低于异基因造血干细胞移植患者的 66.7%($\chi^2 = 4.190, P = 0.041$)。结论 mCR 后的 MRD 阳性患者复发率高,采用 MFC 监测 MRD 对 AML 患者预后具有重要意义,可以早期发现易复发患者,为个性化地制订缓解后治疗方案提供依据。

关键词:多参数流式细胞术; 微小残留病灶; 急性髓系白血病; 形态学完全缓解

中图分类号:R733.71

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)06-0799-04

急性髓系白血病(AML)是一种恶性、异质性、克隆性疾病,具有高度基因复杂性。通过联合化疗诱导缓解后,80%的 AML 患者可以达到形态学完全缓解(mCR),但是超过 50%的成年患者会复发,这与化疗后微小残留病灶(MRD)的增殖有关。所以,寻找采用传统形态学方法无法观察到的 MRD,对于指导临床治疗策略,改善疾病预后,延长患者生存期具有重要意义。多参数流式细胞术(MFC)通过使用荧光染料标记的单克隆抗体组来评估造血细胞的抗原表达,识别白血病相关免疫表型(LAIP),可广泛应用于 90%的 AML 患者,且检测速度快,灵敏度高^[1]。本研究对 138 例经诱导化疗后达到 mCR 的 AML 患者进行了相关分析,应用 MFC 监测患者骨髓标本的 MRD,分

析其在 AML 复发与预后评估中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 5 月至 2019 年 5 月本院收治的经过 1~2 个疗程诱导化疗后达到 mCR 的 AML 患者(排除 M3 型)138 例。所有患者均进行骨髓形态学、细胞遗传学、免疫表型、分子生物学检查,按照世界卫生组织(WHO)和 FAB 标准进行确诊和分型,参照 2019 年美国国立综合癌症网络(NCCN)AML 相关标准进行危险分层^[2]。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案及疗效判断 白细胞水平过高的患者首先使用羟基脲或联合白细胞单采清除术降低白细胞水平。根据患者的年龄及各方面情况,采用 IA、

[△] 通信作者, E-mail: wwj0760@163.com。

本文引用格式:王楠,冯砚平,陈康,等. MFC 监测 MRD 在 AML 形态学缓解患者中的应用价值[J]. 检验医学与临床, 2021,18(6):799-802.

HAA、MA、TA、CAG 及 DCAG 等方案进行诱导化疗。根据治疗效果及遗传学危险分层,预后良好的患者巩固化疗 6~8 个疗程,预后不良的患者在完全缓解后进行异基因造血干细胞移植,若无移植条件,则采用联合化疗。参照《血液病诊断及疗效标准》进行疗效判断,分为完全缓解、部分缓解、无效。

1.2.2 MFC 检测 MRD 根据初诊时每个患者的免疫分型结果确定相应的 LAIP,以此作为 MRD 检测的标志。于每次化疗后 3 周左右或下次化疗前抽取患者骨髓,采用 MFC 进行 MRD 检测(流式细胞仪由美国 Becton-Dickinson 公司生产)。以 CD45/SCC 设门,获取 10 000~20 000 个细胞,所使用的单克隆抗体包括 cMPO、CD13、CD33、CD117、CD34、CD38、CD14、CD15、CD11b、HLA-DR、CD19、CD20、cCD22、cCD79a、CD2、CD3、CD4、CD8、CD7、CD10 等,设定具有 LAIP 的细胞>0.1%为 MRD 阳性^[3]。

1.3 随访 采用查阅患者门诊、住院病历及电话联系等方式进行随访,随访日期截止 2020 年 3 月 31 日。总生存期定义为患者从确诊至死亡或随访截止的时间,无复发生存期定义为患者从 mCR 至复发或随访截止的时间。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;不符合正态分布的计量资料以

$M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;计数资料以例数或百分率表示,两组间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法进行生存曲线分析,并进行 Log-Rank 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

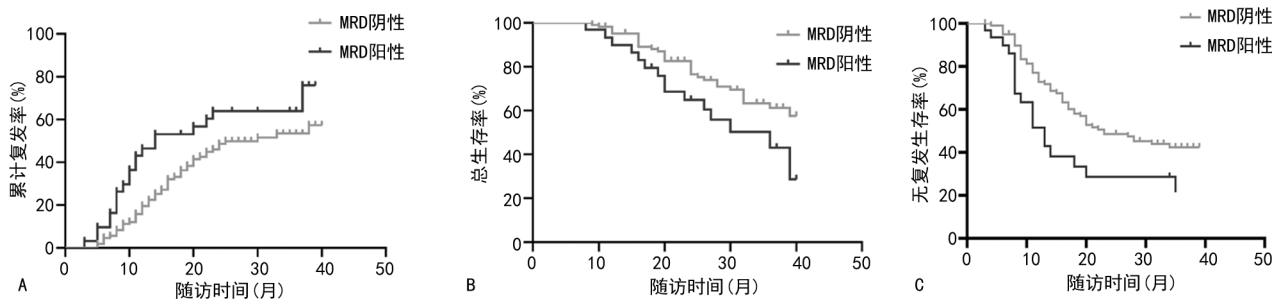
2.1 患者临床特征 138 例患者中,MRD 阳性 31 例,占 22.5%。MRD 阳性与 MRD 阴性患者性别、年龄、初诊时白细胞计数(WBC)、初诊时血红蛋白(HB)、初诊时血小板计数(PLT)、初诊时乳酸脱氢酶(LDH)水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在化疗第 1 疗程达到 mCR 的患者中,MRD 阴性有 89 例(83.2%),MRD 阳性有 16 例(51.6%),差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 MRD 阳性与阴性患者的疗效及生存分析 经过 2~3 个疗程化疗后,所有患者均达到 mCR。中位随访时间为 26 个月,MRD 阳性患者累计复发率为 61.3%,高于 MRD 阴性患者的 48.6%($\chi^2 = 4.407, P = 0.036$);MRD 阳性患者总生存率为 54.8%,低于 MRD 阴性患者的 70.1%($\chi^2 = 4.332, P = 0.037$);MRD 阳性患者的无复发生存率为 38.7%,低于 MRD 阴性患者的 49.5%($\chi^2 = 4.408, P = 0.035$)。Kaplan-Meier 生存曲线见图 1。

表 1 MRD 阳性与 MRD 阴性患者的临床特征比较

组别	<i>n</i>	男/女(<i>n</i> / <i>n</i>)	年龄[<i>n</i> (%)]		初诊时 WBC[<i>n</i> (%)]		初诊时 HB($\bar{x} \pm s$, g/L)
			<60 岁	≥60 岁	≥50×10 ⁹ /L	<50×10 ⁹ /L	
MRD 阳性	31	18/13	21(67.7)	10(32.3)	9(29.0)	22(71.0)	72.4±21.1
MRD 阴性	107	54/53	72(67.3)	35(32.7)	29(27.1)	78(72.9)	78.3±25.5
<i>t</i> / χ^2 / <i>Z</i>		0.556	0.002		0.045		1.214
<i>P</i>		0.456	0.962		0.832		0.227

组别	<i>n</i>	初诊时 PLT[$M(P_{25}, P_{75}), \times 10^9/L$]	初诊时 LDH[$M(P_{25}, P_{75}), U/L$]	是否在化疗第 1 疗程达到 mCR[<i>n</i> (%)]	
				是	否
MRD 阳性	31	35(10,62)	444(275,589)	16(51.6)	15(48.4)
MRD 阴性	107	43(23,69)	392(285,659)	89(83.2)	18(16.8)
<i>t</i> / χ^2 / <i>Z</i>		1.422	0.602	13.162	
<i>P</i>		0.155	0.547	<0.001	



注:A 为累计复发率;B 为总生存率;C 为无复发生存率。

图 1 MRD 阳性与阴性患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.3 MRD 阳性患者接受不同治疗方案后的生存情况 31 例 MRD 阳性患者在诱导缓解后有 19 例继续采用巩固化疗,12 例接受异基因造血干细胞移植。巩固化疗患者总生存率为 47.4%,低于异基因造血干细胞移植患者的 66.7%($\chi^2=4.190,P=0.041$)。Kaplan-Meier 生存曲线见图 2。

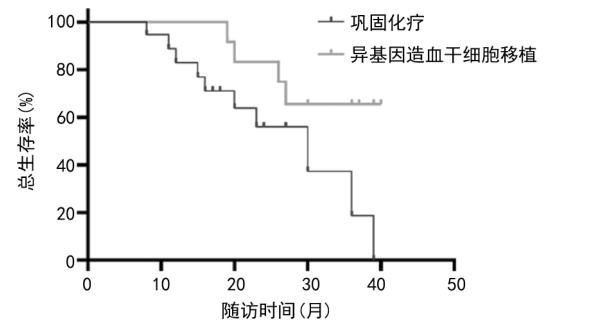


图 2 巩固化疗患者与异基因造血干细胞移植患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨 论

AML 是一种具有高度异质性、进展快的血液系统恶性肿瘤。目前,随着医疗水平的快速提高及大量新药的研发应用,AML 患者的完全缓解率明显提高,生存期延长。但仍有半数以上的患者会在缓解后一段时间内复发,导致生存期缩短,最终死亡,其主要原因是在达到 mCR 后骨髓中的 MRD 持续存在且出现增殖,导致 AML 复发。所以,MRD 监测在指导个性化治疗、更早发现药物耐药性、预测复发,以及评价治疗效果等方面均具有重要意义^[4]。目前,临床常用的定量检测 MRD 的方法包括 MFC 检测 LAIP 和实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测特异性融合基因。RT-qPCR 的优点是灵敏度和特异度高,但是通常用于检测特定遗传学及分子学异常的患者所存在的融合基因及基因突变^[5],如 PML-RARA、RUNX1-RUNX1T1、CBFB-MYH1 等融合基因及 NPM1、FLT3 等基因突变等,而存在这些遗传学及分子学异常的患者仅占有 AML 患者的 60%~70%^[6],因此该方法存在一定的局限性。MFC 可以识别每个患者独特的 LAIP,并将其作为该患者的 MRD 在后续样本检测中进行追踪,可广泛应用于 90% 的 AML 患者,且采用 MFC 检测 MRD 的灵敏度较高。

国内外多项研究肯定了 MRD 在 AML mCR 患者中的预后意义^[7-10]。FREEMAN 等^[7]使用 MFC 评估 2 450 例成年 AML 患者 MRD 的研究指出,首次诱导化疗后 MRD 阳性患者与化疗后部分缓解患者的生存结局类似,特别是在中风险及高风险患者中;对于 NPM1 野生型中风险患者,两个疗程化疗诱导后,MRD 阳性与不良预后显著相关。张莹等^[8]对 131 例 AML 患者的研究显示,在获得 mCR 后接受巩固化疗的患者中,MRD 阳性患者的 5 年总生存率和无复发生存率明显低于 MRD 阴性患者。本研究结果显示,MRD 阳性患者累计复发率高于 MRD 阴性患者,总

生存率和无复发生存率低于 MRD 阴性患者,与上述报道相似。

目前,对 AML 患者治疗前进行风险分层主要根据年龄、遗传学及分子学等,MRD 对预后的重要意义提示可将其作为治疗后危险分层的参考依据,可根据 AML 治疗后 MRD 的状态来进行危险分层,并指导临床个性化治疗。以 MRD 为依据的危险分层相关研究大多数是针对急性淋巴细胞白血病(ALL)的,ZUGMAIER 等^[11]的研究发现,在 3 次强化治疗后完全缓解但 MRD 阳性的前体 B-ALL 患者中,经过靶向 CD19⁺ 的博纳吐单抗治疗后,与 MRD 转阴的患者相比,MRD 未转阴患者的总生存率、无复发生存率更低,缓解期更短。目前,在 AML 中以 MRD 为基础指导危险分层治疗的研究较少,1 项国外的前瞻性临床试验将 AML 患者细胞遗传学和 MFC 联合用于评估巩固化疗后 MRD 的情况,用来指导患者的缓解后治疗,结果显示,在巩固化疗后 MRD 阳性的中风险患者中,异基因造血干细胞移植可以延长总生存期及无复发生存期,使其与 MRD 阴性患者的生存结局接近^[12]。本研究也发现,MRD 阳性患者中,巩固化疗患者总生存率低于异基因造血干细胞移植患者,说明异基因造血干细胞移植可以改善 MRD 阳性患者的预后,延长其生存时间。

综上所述,mCR 后 MRD 阳性患者复发率高,采用 MFC 监测 AML 患者 mCR 后的 MRD 对患者预后具有重要意义,可以早期发现易复发患者,为个性化地制订缓解后治疗方案提供依据。但目前以 MRD 为依据指导临床干预措施这一观点仍需要大量的前瞻性研究来证明。

参考文献

[1] WOOD B L. Principles of minimal residual disease detection for hematopoietic neoplasms by flow cytometry[J]. Cytometry B Clin Cytom,2016,90(1):47-53.

[2] TALLMAN M S, WANG E S, ALTMAN J K, et al. Acute myeloid leukemia, Version 3. 2019, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw,2019,17(6):721-749.

[3] SCHUURHUIS G J, HEUSER M, FREEMAN S, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party[J]. Blood,2018,131(12):1275-1291.

[4] SCHWIND S, JENTZSCH M, BACH E, et al. Use of minimal residual disease in acute myeloid leukemia therapy[J]. Curr Treat Options Oncol,2020,21(1):8-16.

[5] GABERT J, BEILLARD E, VAN DER VELDEN V H, et al. Standardization and quality control studies of real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia-a Europe Against Cancer program[J]. Leukemia,2003,17(12):2318-2357.

[6] GROSSMANN V, SCHNITTGER S, KOHLMANN A,

- et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations [J]. *Blood*, 2012, 120 (15):2963-2972.
- [7] FREEMAN S D, HILLS R K, VIRGO P, et al. Measurable residual disease at induction redefines partial response in acute myeloid leukemia and stratifies outcomes in patients at standard risk without NPM1 mutations [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(15):1486-1497.
- [8] 张莹, 张益敏, 陈琪, 等. 巩固治疗前微小残留病灶检测在预后中等初诊年轻成人急性髓系白血病患者中的预后价值[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(2):147-151.
- [9] CHEN X, XIE H, WOOD B L, et al. Relation of clinical response and minimal residual disease and their prognostic impact on outcome in acute myeloid leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(11):1258-1264.
- [10] TERWIJN M, VAN PUTTEN W L, KELDER A, et al. High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(31):3889-3897.
- [11] ZUGMAIER G, GKBUGET N, KLINGER M, et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment [J]. *Blood*, 2015, 126(24):2578-2584.
- [12] VENDITTI A, PICIOCCHI A, CANDONI A, et al. GIMEMA AML1310 trial of risk-adapted, MRD-directed therapy for young adults with newly diagnosed acute myeloid leukemia [J]. *Blood*, 2019, 134(12):935-945.

(收稿日期:2020-07-20 修回日期:2020-11-29)

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.06.022

胸椎旁神经阻滞对肝脏肿瘤射频消融术患者疼痛和应激反应的影响

李水英, 张 亚, 赵卫兵[△]

重庆市公共卫生医疗救治中心麻醉科, 重庆 400030

摘要:目的 探讨胸椎旁神经阻滞(TPVB)对肝脏肿瘤射频消融术患者疼痛及应激反应的影响。方法 选择在该院接受肝脏肿瘤射频消融术的患者 40 例, 采用随机数字表法分为两组, 每组各 20 例, 研究组采用 TPVB 联合静脉麻醉, 对照组采用单纯静脉麻醉。记录两组术前和术后 4、8、12、24、36 h 的视觉模拟评分法(VAS)评分。观察两组术后恢复情况和不良反应发生率。检测两组术前、切皮时及术后 4、24、48 h 的血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C 反应蛋白(CRP)和皮质醇(Cor)水平。结果 两组术后 4、8、12、24、36 h VAS 评分均呈先上升后下降的趋势, 且各时间点研究组 VAS 评分均低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组术后首次排气时间、首次下床活动时间、住院时间和舒芬太尼用量均短于或少于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组切皮时与术后 4、24、48 h 的血清 CRP 水平均低于对照组, 术后 4、24、48 h 的血清 TNF- α 和 Cor 水平均低于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比, 研究组恶心呕吐和呼吸抑制的发生率降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 TPVB 应用于肝脏肿瘤射频消融术中可缓解患者术后疼痛, 降低患者应激反应水平及不良反应发生率, 促进患者康复, 具有一定的临床推广价值。

关键词: 胸椎旁神经阻滞; 肝脏肿瘤; 射频消融术; 应激反应; 疼痛

中图分类号: R614

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)06-0802-04

射频消融术是一种微创手术, 通常用于治疗肝脏的原发性或转移性肿瘤, 手术常采用的麻醉方法包括全身麻醉、局部麻醉或硬膜外麻醉^[1-2]。研究指出, 大多数接受肝脏肿瘤射频消融术的患者在术中和术后早期疼痛控制不理想, 可引起一系列应激反应, 影响术后康复^[3]。胸椎旁神经阻滞(TPVB)是将局部麻醉药物注射到胸段椎旁间隙, 产生注射部位同侧邻近多个节段的躯体运动、感觉和交感神经阻滞^[4], 不会引起较大的血流动力学改变, 可减轻术后疼痛和应激反应^[5]。TPVB 广泛应用于胸部和上腹部手术, 但关于其在肝脏肿瘤射频消融术中的研究较少。本研究通过观察 TPVB 联合静脉麻醉对肝脏肿瘤射频消融术患者术后疼痛和应激反应水平的影响, 以期临床肝

胆外科手术麻醉方式的选择提供相关经验。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取该院 2018 年 6 月至 2019 年 12 月收治的行肝脏肿瘤射频消融术的患者 40 例为研究对象。纳入标准: 均经影像学检查确诊为肝脏肿瘤; 肿瘤最大径均 ≤ 5 cm; 无心、脑、肾等重要脏器功能不全。排除标准: 年龄 ≤ 30 岁或 ≥ 70 岁; 合并其他类型肿瘤; 存在肿瘤转移。采用随机数字表法将纳入的 40 例患者随机分为两组, 每组各 20 例, 其中研究组采用 TPVB 联合静脉麻醉, 对照组采用单纯静脉麻醉。两组患者性别、年龄、体质量、肿瘤最大径、手术治疗时间、ASA 分级比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性, 见表 1。本研究经本院医学伦理委员会

[△] 通信作者, E-mail: zwb1020@163.com。