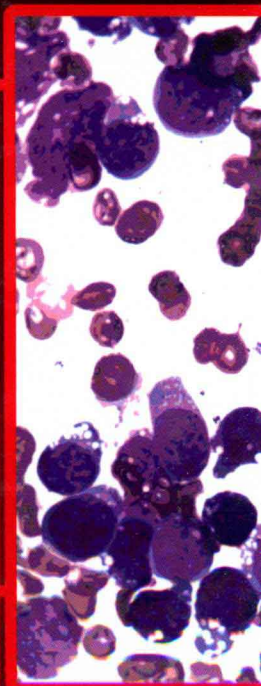
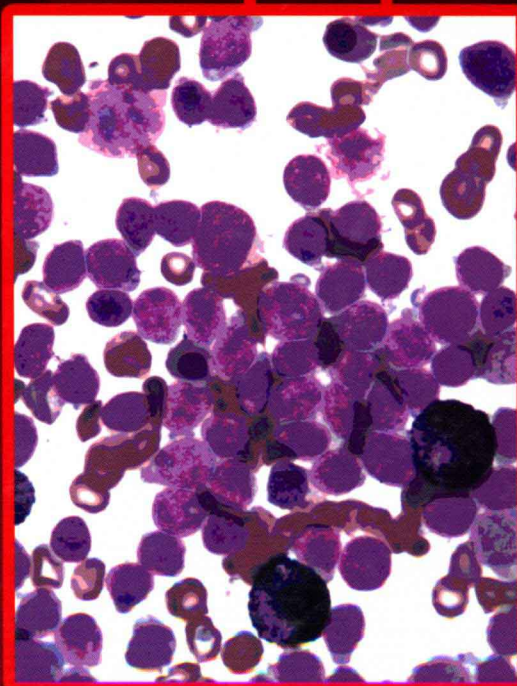
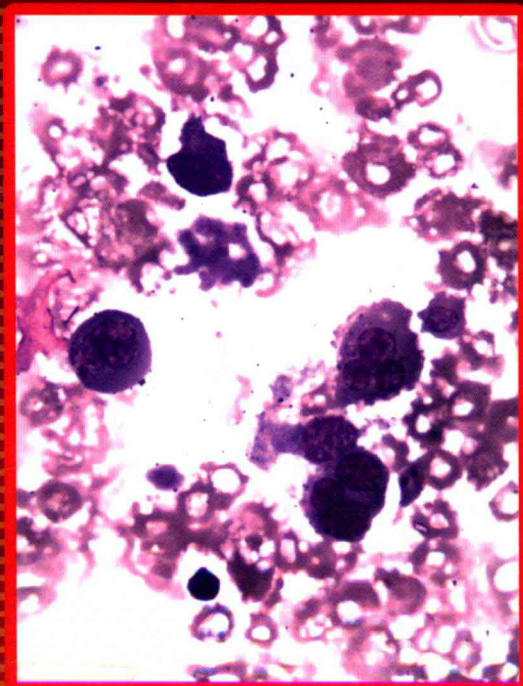


标准白血病诊疗学

主编◎吕 跃



科学出版社

标准白血病诊疗方案

2022年 第 版



中国抗癌协会 中国临床肿瘤学会

标准白血病诊疗学

主 编 吕 跃

编 者 (按姓氏笔画排序)

王 华 王 亮 王维达 吕 跃

刘盼盼 张 靖 耿其荣

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书参考了大量近年来国外权威期刊和图书文献,以及国内外相关诊疗指南,并结合作者多年的临床实践,打破传统的编写模式,本着“旨在实用、意在知新”的原则,将专业著作和诊疗手册融为一体,从基础研究到临床应用,对白血病的治疗基础,骨髓增生异常综合征、急慢性白血病、毛细胞白血病、成熟 T 淋巴细胞白血病、费城染色体阴性骨髓增殖性肿瘤诊疗的基本原则、基本诊疗方案,以及白血病的急诊处理、白血病感染等并发症的治疗、输血支持治疗和造血生成因子的应用,白血病临床试验的最新进展和发展趋势等内容做了清晰、详细的介绍。

本书是血液内科学和肿瘤学专科医师、在基层工作的全科医生学习研究理想的工具书和参考书,也适合于高年级医学生的学习和参考。

图书在版编目(CIP)数据

标准白血病诊疗学 / 吕跃主编. —北京:科学出版社,2013. 3

ISBN 978-7-03-037082-2

I. 标… II. 吕… III. 白血病-诊疗 IV. R733.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 047639 号

责任编辑:戚东桂 熊 昕 / 责任校对:宋玲玲

责任印制:肖 兴 / 封面设计:范璧合

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2013 年 3 月第一次印刷 印张:19

字数:450 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

白血病是一种严重威胁人类健康的恶性疾病。近年来白血病诊疗技术进展迅速、日新月异。如何使广大的专业医务人员和基层的全科医生在准确掌握白血病标准的诊疗原则和方法的同时,又能够知晓目前国内外最新的白血病诊疗进展和趋势,是一个具有重要意义挑战。

在白血病的诊疗方面,我国的王振义院士等众多医学家做出了大量具有创新性的贡献,特别是 M3 型白血病的诊治,从基础到临床,取得了划时代意义的成果,开辟了靶向治疗的新时代,奠定了我国在白血病诊疗领域的领先地位。慢性粒细胞白血病诊治的成功,将分子诊断和靶向治疗推向了新的高峰。尽管在众多的白血病类型中仍有许多类型的诊治还没有取得理想的方法,还有许多难题亟待我们去解决,但总体上还是取得了长足的进步,有许多新的知识需要学习和应用。

在浩瀚的国内外文献和书籍之中,如何把握白血病诊疗的最新进展,同时又准确、规范地进行诊断和治疗,是每一位医师在诊疗白血病时都面临的重要问题。为解决这一问题,我们反复翻阅了美国、欧洲、日本等国外最新版的有关白血病的专著和手册,查阅了大量的有关白血病的国际权威期刊及相关指南,并结合我们的临床经验写成此书,希望能够给从事相关医疗活动的医生提供一本既介绍了白血病最新进展和发展趋势、又具有准确指导医疗规范诊治功能的新颖书籍。这是一种新的尝试,在未来的日子里,我们还会根据白血病的进展在再版时进行增补、修订,使之紧随国际白血病进展的步伐,成为相关医务工作者的高参和益友。

吕 跃

2013年2月20日

目 录

第一章 白血病治疗基础	(1)
第一节 造血和白血病干细胞生物学特性	(1)
第二节 白血病的传统诊断方法	(8)
第三节 白血病的新诊断及分类运用	(15)
第四节 急性白血病非遗传学标志及其对预后的影响	(22)
第二章 骨髓增生异常综合征	(43)
第一节 骨髓增生异常综合征病理生理	(43)
第二节 骨髓增生异常综合征:基于遗传学和分子异常的分类和风险评估	(47)
第三节 骨髓增生异常综合征	(52)
第三章 急性髓细胞白血病	(72)
第一节 新型分子标记在急性髓细胞白血病预后和治疗中的作用	(72)
第二节 急性髓细胞白血病的诊断与诱导治疗	(77)
第三节 急性髓细胞白血病的挽救治疗	(88)
第四节 急性早幼粒细胞白血病的发病机制	(94)
第五节 急性早幼粒细胞白血病的表现及治疗	(97)
第四章 急性淋巴细胞白血病	(117)
第一节 急性淋巴细胞白血病临床表现、诊断、分类及危险度分组	(117)
第二节 急性淋巴细胞白血病的治疗	(121)
第三节 成人急性淋巴细胞白血病的挽救治疗	(139)
第四节 费城染色体阳性的急性淋巴细胞白血病:当前的治疗状况及展望	(146)
第五章 慢性粒细胞白血病	(156)
第一节 慢性粒细胞白血病的病理生理学	(156)
第二节 初治慢性期慢性粒细胞白血病的治疗	(159)
第三节 进展期及耐药性慢性粒细胞白血病的治疗	(166)
第四节 TKIs 治疗的 CML 患者中 BCR-ABL 激酶结构域突变分析	(176)
第六章 慢性淋巴细胞白血病	(191)
第一节 病理生理学、诊断、临床表现、预后指标	(191)
第二节 慢性淋巴细胞白血病的治疗:一线治疗及挽救治疗	(197)
第三节 干细胞移植在慢性淋巴细胞白血病中的价值	(205)
第四节 老年慢性淋巴细胞白血病的处理	(212)
第七章 其他类型白血病和骨髓增殖性肿瘤	(226)
第一节 毛细胞白血病	(226)

第二节 成熟 T 淋巴细胞白血病的治疗方法	(229)
第三节 费城染色体阴性骨髓增殖性肿瘤	(236)
第八章 白血病的急诊处理和感染并发症的治疗	(251)
第一节 白血病的急诊处理	(251)
第二节 白血病患者感染并发症的治疗	(262)
第九章 输血支持治疗和造血生成因子	(282)
第一节 输血总论	(282)
第二节 白血病患者输血治疗	(285)
第三节 中国的输血治疗	(286)
第四节 白血病患者中造血生长因子的临床应用	(287)
第五节 结语	(288)
第十章 临床试验的新思路:以急性髓细胞白血病为例	(290)

第一章 白血病治疗基础

第一节 造血和白血病干细胞生物学特性

一、引言

造血是产生数以亿计的白细胞、红细胞、血小板维持体内稳态的血细胞再生过程。造血干细胞是一小群永久生存、静止休眠、未分化的多能细胞,除了能增殖和向多个不同系别的造血祖细胞分化外,还可以自我复制。过去 20 年,我们清楚地认识到白血病干细胞在白血病发病过程中的核心作用。白血病干细胞具有和造血干细胞一样的基本特征,包括静止休眠、自我复制、极强的增殖能力和定向分化能力。

一些研究认为白血病是一种由正常造血干细胞经历突变后产生的少量白血病干细胞衍生的全新异常造血组织。许多学者认为白血病干细胞对大多数传统的化疗药都耐药是白血病诱导缓解后复发的根源。因此,设计针对白血病干细胞的有效治疗才能减少复发率,甚至治愈。正如下面将讨论的,开发针对白血病干细胞的特效药物将面临重大挑战,因为它们的特点和正常造血干细胞十分相似。进一步研究白血病干细胞和正常造血干细胞的细小差别,以便研制出对前者毒性大而对后者杀伤小的药物显得十分重要。在这节,我们将简单回顾造血干细胞和白血病干细胞的生物学特性。我们也将讨论目前正在进行的一些研究,如何利用已知知识发现针对白血病干细胞的靶向治疗方法,以减少白血病的复发。

二、正常造血干细胞的生物学特性

造血干细胞是最早被发现的人体干细胞。实验也支持造血干细胞的存在,它分化成自我复制能力减弱、增殖能力增强的定向细胞。实验研究证实淋巴祖细胞和髓祖细胞是淋巴细胞和髓细胞系最早的分叉点。小鼠的研究对造血干细胞生物学特性的认识做出了重要贡献。首先经致死性放射线照射后,输注骨髓细胞后造血得到重建。输注 10 天后在小鼠的脾内发现多系细胞克隆形成,每个克隆都是一个造血干细胞衍生而来。这些克隆又将进一步分化成新的次级克隆。Jones 等研究发现在小鼠造血重建失败的实验中,是由于持续输注造血细胞时间过短导致实验失败的。造血干细胞产生下游造血细胞、完成造血重建需要一定的时间,当输注的造血细胞如祖细胞产生克隆形成单元后逐渐凋亡,具有自我更新能力的造血干细胞因数量较少尚未来得及产生下游细胞,造血就无法重建。因此, Morrison 等认为小鼠的骨髓重建是必然的,并非偶然。由于人造血干细胞研究的数量限制,目前我们所知道的人造血干细胞的知识多来自体外和人体。虽然人与小鼠的造血干细胞存在显著差异,但是证据表明二者具有共同的基本特征,如自我更新的能力、增殖能力、定向分化的能力。在体外试验中能评价部分造血干细胞的重要特性,如增殖能力,但难以精确地检测多向分化、不

断自我更新完成造血的能力。患严重联合免疫缺陷(severe combined immune-deficient, SCID)的小鼠缺乏适应性免疫能力,非肥胖性糖尿病 SCID 小鼠(NOD/SCID)同时缺乏固有和适应免疫能力,能比体外检测更加精确地反映人造血干细胞的特性。体内检测的精确性可通过输注对照细胞进一步提高。

三、造血干细胞的免疫表型特征

与定向的造血细胞和成熟血细胞比较,造血干细胞形态上有所不同。另外,造血干细胞能够通过多参数流式检测与造血祖细胞区分开来。最常用的富集造血干细胞的免疫标志是 CD34。Terstappen 等研究证实 CD34⁺细胞中大约 1% 不表达 CD38 抗原。CD34⁺/CD38⁻细胞缺乏定向祖细胞特异性标志(Lin⁻),基本等同于我们期望纯化获得的多能造血干细胞。相比之下,CD34⁺/CD38⁺细胞异质性较强,包括髓系、红系和淋系祖细胞。这说明 CD38⁺表达上调是造血干细胞向下分化的标志。在人胎绵羊模型中,CD34⁺/CD38⁻能产生多系的造血细胞维持造血持续进行,而 CD34⁺/CD38⁺细胞只能短期地造血,说明它只是代表多能造血祖细胞,而不是造血干细胞。这个研究说明 CD34⁺/CD38⁻细胞具有很强的长期分化,并产生多系造血细胞的能力,意味着人体骨髓细胞中存在干细胞群。另外,还发现造血干细胞可表达高水平的干细胞抗原(stem cell antigen-1, SCA-1)和弥漫性糖蛋白(permeability glycoprotein, P-gp),一种位于细胞膜的多药转运蛋白,由多药耐药基因 1(multidrug resistance 1 gene, MDR1)表达。另一方面,造血干细胞缺乏或低表达 Thy-1.1、CD33、CD71、CD10、CD45RA 和 HLA-DR,而更加成熟的血细胞却常常表达这些抗原中的一种或多种。最后,Gunji 等研究表明 CD34⁺且 c-Kit 低表达的造血细胞中包含 CD34⁺/CD38⁻细胞,而 CD34⁺且 c-Kit 高表达细胞群常包含许多粒-单系祖细胞。造血干细胞表达 CD34 这一规律近年来被不断挑战,许多研究发现 CD34⁻细胞同样可以完成造血重建。这些细胞多位于长期培养启动细胞(long-term culture-initiating, LTC-ICs)内。总而言之,我们在精确鉴定和筛选造血干细胞方面仍面临许多挑战,未来研究的主要目标是确定造血干细胞特异性的标志物或标志物的组合,以便能从众多细胞中筛选出造血干细胞。

四、造血干细胞与造血微环境

骨和血液的形成机制,传统观点认为是互不相干的,但是强有力证据表明二者联系密切。造血干细胞位于骨髓中,靠近骨小梁表面,称之为“壁龛”。越来越多的证据表明位于“壁龛”中的间质细胞,尤其是成骨细胞,在调节造血干细胞自我更新、增殖、成熟方面发挥着重要作用。虽然成骨细胞是主要的骨髓间质细胞,但研究者对其参与骨髓微环境调节造血的具体生物机制知之甚少。几个细胞表面受体在控制造血干细胞在骨髓中“壁龛”定位方面发挥重要作用。例如,钙感受受体(calcium-sensing receptor, CaR)研究表明来自鼠胎肝的缺乏钙受体的造血干细胞无法植入到骨髓中。另外,这些细胞输注到终致死性射线照射后的小鼠体内,无法迁移至骨“壁龛”中。由此可见,钙离子受体在造血干细胞归巢中起至关重要的作用。另外,几个与造血干细胞归巢有关的细胞受体是化学趋化因子 4(chemokine receptor 4, CXCR-4)和配体,以及间质细胞因子(stromal-cell derived factor, SDF-1)。

五、白血病干细胞

2个有趣的观察说明了白血病干细胞(leukemia stem cells, LSCs)的存在。首先,尽管髓细胞白血病具有高度恶性,其大部分白血病原始细胞只能在体内增殖,而仅有少量原始细胞可在体外形成克隆。其次,任何个体的白血病细胞尽管形态上十分相似,但其生物学特性存在很大差别。过去20年,越来越多的证据表明白白血病克隆是由一小群干细胞即白血病干细胞,也被称为白血病启动细胞产生的。一些研究者认为白血病是一类新的异常造血干细胞即白血病干细胞产生的,这种异常的干细胞只能产生原始细胞,停止于细胞发育的某个阶段,不能往下分化。1994年, Dick 实验室从急性髓细胞白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者中分离出的 CD34⁺/CD38⁻细胞移植到免疫缺陷小鼠体内成功诱导出 AML,第一次证明了白血病干细胞的存在。这个实验室后来又发现更少量的 CD34⁺/CD38⁻细胞在 NOD/SCID 小鼠即可诱导出 AML。因此,作者认为白血病干细胞和造血干细胞一样具有增殖和分化、自我复制的能力,只不过分化产生的是白血病原始细胞。随后,白血病干细胞被证明同样存在于慢性髓细胞和急性淋巴细胞白血病。白血病干细胞仅是众多肿瘤细胞中的一小部分,通常以将其移植到免疫缺陷小鼠内能产生白血病的能力来对它进行定义。白血病干细胞具有造血干细胞的许多特征,如表 1-1 中所示。大部分化学药物都是周期特异性的,杀伤已分化的细胞,而通常不能清除白血病干细胞。另外,白血病干细胞的生物学特性不同于其分化产生的白血病细胞,它有着自己独特的细胞和分子机制。所以,普通化疗药对白血病干细胞无效,这是治疗失败或缓解后复发的主要原因。另外,白血病干细胞和造血干细胞一样具有“药物泵”P-gp,可将化疗药物从细胞内转移到细胞外,从而逃避杀伤。

表 1-1 造血干细胞和白血病干细胞的共同特征

处于静止期	生长于“壁龛”之中
自我复制能力	抗凋亡
较强的增殖能力	表达 CD34 ⁺ /CD38 ⁺ /CD71 ⁻ /HLA-DR ⁻
多向分化的潜能	表达 Bmi-1

1. 白血病干细胞的起源 来自 Dick 实验室的数据表明白白血病干细胞有着共同的 CD34⁺/CD38⁻表型,能分化、增殖和自我复制,由正常造血干细胞发生白血病转化产生,而不是起源于造血祖细胞阶段。后来白血病干细胞必须来源于造血干细胞这一假说遭到挑战。定向造血祖细胞发生基因突变或选择性表达部分基因后可以增强其原本有限的自我复制能力,从而演变成白血病干细胞。事实上,多个研究报道通过向定向造血祖细胞转染特定的癌基因后可将其诱导成白血病干细胞。Cozzio 等报道向白血病干细胞或粒-巨噬细胞方向分化的髓系祖细胞转染白血病融合基因 MLL-ENL 然后移植到小鼠体内可产生 AML。这些发现说明短暂性自我复制能力的祖细胞经过 MLL 基因转化后可具备产生白血病的能力。这使得一些学者认为白血病干细胞因其来源细胞发生突变的阶段不一样,临床上不同白血病患者细胞的免疫表型、病理特点存在差异。另外, Huntly 等发现将癌基因 MOZ-TIF2 转入至造血祖细胞可诱发 AML,但转入 BCR-ABL 融合基因却无法得到相同结果。这些数据表明仅部分而不是所有的白血病基因能使无永久复制能力的祖细胞转化成白血病干细胞。后

来, Stubbs 等发现 MLL-AF9 和 FLT3-ITD 联合转染产生的 AML 恶性程度要高于单独转染 MLL-AF9 产生的 AML。这些结果支持白血病发生中的“二次打击”学说。第一次打击导致融合基因的表达(MLL-AF9), 随后二次突变引起特定信号通路改变(FLT3-ITD)。但应注意到所有关于白血病干细胞起源于祖细胞的数据都是来自动物模型。

2. BCR-ABL 融合基因阳性的白血病干细胞 在慢性髓细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML)中,成熟的白血病细胞及祖细胞与正常细胞在形态上没有很大区别,不同的是费城染色体(Philadelphia chromosome, Ph)或 BCR-ABL 转录本存在于这些肿瘤细胞中。Ph 是慢性髓细胞白血病的标志性遗传学异常,是由 9 号和 22 号染色体长臂异位形成的。这种染色体异位形成的癌性激酶蛋白 BCR-ABL 是 CML 发病的主要原因。Ph 存在于几乎所有造血细胞系中,说明 CML 起源细胞具有多向分化的潜能。研究者将从 CML 患者体内分离出的 CD34⁺ 恶性原始细胞注入 SCID 或 NOD/SCID 小鼠体内可产生成熟的 Ph⁺ 细胞并完整重现供者疾病的各个时期,是一个很好的 CML 体内模型。Holyoake 等首先证实了 CML 中 BCR-ABL⁺/CD34⁺ 细胞亚群在体内和体外都具有干细胞特性。同一研究小组随后证实那些干细胞免疫表型为 CD34⁺/CD38⁻/CD45RA⁻/CD71⁻, 可离开 G₀ 期以非细胞因子依赖的方式产生 BCR-ABL⁺ 子代细胞。伊马替尼的出现使 CML 的治疗有了质的飞跃,目前已成为该种疾病慢性期一线治疗的标准用药。但是仍有少部分慢性期及大多数加速期患者对伊马替尼无效或者很快失效。越来越多的证据显示伊马替尼并没有清除体内的 CML 干细胞。完全细胞遗传学缓解的患者体内仍可检测出 Ph⁺CD34⁺ 细胞。这意味着多数 CML 患者并没有被伊马替尼根治,这关系到未来复发的问題。据此,成功清除体内的 CML 干细胞才是治愈该疾病的根本途径。最常见的伊马替尼耐药机制是 ABL 基因突变。最近研制出的达沙替尼和尼罗替尼是对付这种耐药的好武器,为第二代酪氨酸激酶抑制剂(TKI)对 CML 治疗比伊马替尼更有效。但仍没有一个临床试验证实这些药物对 CML 干细胞起作用。除基因突变外,有几个机制被认为是与 CML 干细胞对 TKI 耐药有关,如 IL-3 受体、G-SCF 受体、MDR1 表达增加,伊马替尼吸收相关蛋白表达受抑制。BMS-214662 是一种法尼基蛋白转移酶抑制剂,被显示在体外单药或联合伊马替尼、达沙替尼选择性诱导 CML 干细胞凋亡。具体作用机制涉及含半胱氨酸的无冬氨酸蛋白水解酶(caspase)3 及 8 的激活和 MAPK 信号通路的抑制等。这一制剂为慢性期 CML 干细胞的清除提供可能,具有良好的临床试验前景。此外针对慢性髓细胞白血病干细胞正在进行临床研究的药物还有 Src 激酶、PKC β 、PI3K、AKT 等靶点的抑制剂。

3. 急性髓细胞白血病干细胞 能在 NOD/SCID 小鼠体内复制白血病的各种原始 AML 细胞亚群有着共同的独特免疫表型,尽管细胞来自不同的 AML 亚型患者,除急性早幼粒细胞白血病外,因为该种亚型目前还没发现确切的白血病干细胞表型。尽管个体之间存在异质性,多数 AML 干细胞具有与正常造血干细胞 CD34⁺/CD38⁻/CD71⁻/HLA-DR⁻ 相同的表型。但二者也有不同之处,AML 干细胞缺乏 CD90、CD117 表达,而 CD47、CD32、CD25、TIM-3、IL-3 受体 CD123 和 CLL-1 表达。另外,多数 AML 干细胞表达 CD33、CD184,与正常造血干细胞比较 CD44 在 AML 和 CML 干细胞过表达。Hwang 等研究报道用流式细胞仪分析 63 例 AML 患者初诊时的 CD34⁺CD38⁻ 白血病干细胞比例,结果为 1.3% (0.0% ~ 33.1%),其中 74.6% 患者存在 CD123⁺ LSCs, 所有患者均存在 CD44⁺ LSCs, 85.7% 存在 CD184⁺ LSCs。2012 年 Cerber 等学者报道 ALDH 活性在 AML 干细胞与正常造血干细胞存在不同的特点。该研究小组发现 ALDH 活性在正常造血干细胞最高,AML 干细胞居中,而无论正常造血祖

细胞还是白血病干细胞的子代细胞,由于发生分化而产生的活性均明显减弱。因此根据不同的 ALDH 活性特点,可从 AML 患者 CD34⁺CD38⁻ 细胞群中进一步细分出白血病干细胞。当 AML 患者经诱导化疗达到形态学缓解后,检测 ALDH 中等活性的 CD34⁺CD38⁻ 细胞群数量可用于监测微小残留病灶,预测疾病复发或指导治疗。总之,AML 干细胞与造血干细胞具有共同特征外,也有所不同,这恰好可成为针对白血病干细胞治疗的靶点或监测微小残留病灶的标志。

4. 急性淋巴细胞白血病干细胞 急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)干细胞的存在是个有争议的话题。和 AML 一样,ALL 是一种高度异质性疾病,具有不同的临床和基因亚型。T 细胞受体或免疫球蛋白重排支持 T 和 B 细胞 ALL 起源于 T 或 B 细胞定向祖细胞。ALL 起源于淋系定向祖细胞由 Castor 等提出,他们证实了 ETV6-RUNX1 融合基因使定向 B 祖细胞发生白血病转化。Kong 等将从儿童 B-ALL 中分离出的 CD34⁺/CD38⁺/CD19⁺、CD34⁺/CD38⁻/CD19⁺ 和 CD34⁺/CD38⁻/CD19⁻ 三群细胞注入到 NOD/SCID 小鼠体内,发现前两群细胞可诱发 B-ALL 的发生,而第三种细胞群产生的是正常造血。白血病细胞在肝、脾和肾等脏器浸润程度,在前两种细胞亚群诱发的白血病中没有差别。另外,CD34⁺/CD38⁺/CD19⁺ 细胞亚群进行第二次移植仍可诱发白血病,因此作者认为这群细胞具有自我复制能力,是 ALL 干细胞。近年来,一些研究揭示部分 ALL 亚型,其白血病细胞来源于表型原始的造血干细胞,而不是淋系定向祖细胞。例如,在儿童前 B-ALL 中,细胞遗传学异常存在于 CD34⁺/CD38⁻/CD33⁻/CD19⁻ 细胞亚群,说明 ALL 原始细胞来源于造血干细胞阶段。Cox 等证实前 B-ALL 中的 CD34⁺/CD10⁻/CD19⁻、T-ALL 中的 CD34⁺/CD4⁻ 和 CD34⁺/CD7⁻ 细胞亚群可长期增殖。这说明在这些例子中,更原始表型细胞是白血病转化的目标。Viseur 等发现在儿童 ALL 中,不同免疫表型阶段的细胞都可有干细胞特性。研究者将这些不同免疫表型成熟度的细胞移植到 NOD/SCID 小鼠体内可完全重建白血病表型。总之,ALL 与 AML 干细胞特点不完全相同。

5. 白血病干细胞靶向治疗 许多基因突变、分子异常和信号通路紊乱是导致 AML 产生的原因。但关于这些异常是如何具体影响白血病干细胞知道得并不多。白血病干细胞发挥着维持疾病存在的作用,因此应该将研究重点放在增殖、自我复制和生存的通路上。确切地说,就是需要开发出靶向白血病干细胞生存通路,但对正常造血干细胞损伤甚小的药物(表 1-2)。白血病完全缓解后复发的主要原因是微小残留病灶(minimal residual disease, MRD)的存在。例如, Van Rhenen 等近年来发现特定免疫表型的 AML 干细胞在完全缓解后可在体内检测到,并且诊断时白血病干细胞数量与化疗后 MRD 数呈正相关,与患者生存呈负相关。此研究说明 MRD 可在白血病干细胞水平检测。

表 1-2 白血病干细胞的靶向治疗药物

靶点	药物	靶点	药物
NF-κB	MG-132	PI3K	西罗莫司
	硼替佐米		ET-18-OCH
	DMAPI		法尼基蛋白转移酶
	TDZD-8		壁龛
			AMD3100
			Anti-CD44

(1) 靶向白血病干细胞生存通路:白血病干细胞生存信号过强与异常的凋亡机制有关,调节这些异常信号通路可能成为清除白血病干细胞的有效方法。在众多异常信号通路中,最重要的2条是NF- κ B通路和PI3K/AKT通路。未受刺激的造血干细胞不表达NF- κ B,而AML干细胞持续表达NF- κ B。NF- κ B是一种抗凋亡因子,使肿瘤细胞获得生存优势。Guzman等研究发现蛋白酶体抑制剂MG-123,通过稳定细胞I- κ B对NF- κ B信号抑制,进而诱导CD34⁺CD38⁺ AML细胞凋亡,对正常干细胞损伤甚小。TD-ZD8是糖原合酶3b抑制剂,原用于治疗神经系统疾病,如Alzheimer病,后被发现能抑制NF- κ B活性。它是一种非ATP的糖原合酶3b竞争性抑制剂,能抑制Cdk1/cyclin B、casein kinase-II、PKA、PKC活性,从而介导细胞死亡。Guzman等发现TD-ZD8对原发性髓细胞白血病细胞、淋巴细胞白血病细胞等多种肿瘤细胞具有较强的杀灭作用。在NOD/SCID小鼠体内重建白血病克隆的实验表明,TD-ZD8可以使其不再具有长期重建白血病的作用,而对正常造血克隆在NOD/SCID小鼠体内重建却没有影响。B细胞淋巴瘤6(BCL-6)是与弥漫大B细胞淋巴瘤密切相关的转录抑制因子。近年来,发现其与BCR-ABL融合基因阳性白血病对酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药有关。信号通路研究发现BCL-6作为BCR-ABL融合蛋白的下游激活产物可抑制p53而使CML和Ph⁺ALL干细胞发生抗凋亡。RI-BPI小分子肽可有效抑制BCL-6活性,从而延缓Ph⁺ALL的疾病进展。伊马替尼联合RI-BPI治疗可有效防止TKI耐药和增强其疗效。

PI3K/AKT/mTOR信号通路在人类白血病细胞中持续激活,使用PI3K或mTOR抑制剂联合阿糖胞苷和依托泊苷可诱导白血病细胞凋亡和减少LSCs的数量。磷酸酶张力蛋白同系物(PTEN)是一种负性调节PI3K的脂质磷酸酶。在小鼠模型中,当它在造血干细胞缺失时,可引起以造血干细胞迅速增殖却失去自我更新能力为特征的骨髓增殖性疾病样综合征,并在6周内进展为AML或ALL。用西罗莫司预处理后小鼠被敲除PTEN基因后不再发展为白血病,对于建立白血病的小鼠,西罗莫司可以延长其生存期,抑制白血病细胞的增殖,并影响其在NOD/SCID小鼠体内重建白血病克隆的效率。以上研究证实,西罗莫司作为mTOR抑制剂可以根除PTEN缺失的LSCs。西罗莫司及其他mTOR抑制剂用于白血病治疗的临床试验正在进行。

(2) 靶向白血病干细胞表面抗原和微环境:运用抗体特异性作用于表达于细胞表面的分子是LSCs靶向治疗的一个重要策略。CD33是一种表达于正常髓系单核细胞和AML原始细胞的黏附蛋白,近年被发现也表达于部分AML-LSCs。吉妥单抗,作为一种CD33的人重组人源化单克隆抗体同时与细胞毒素连接,可诱导复发的CD33⁺ AML再次缓解,在急性早幼粒细胞白血病中可以清除微小残留病灶。吉妥单抗治疗作用中有部分是特异性杀伤CD33⁺的AML-LSCs。CD123,即IL-3受体,是又一个表达AML-LSCs的分子标志。Jin L等报道针对CD123的抗体7C3在体外试验中选择性杀伤CD34⁺CD38⁻白血病细胞,降低AML在NOD/SCID小鼠体内重建的效率,提示其对LSCs有杀伤作用。CLL-1(C-typelectin-like molecule-1)是表达于许多LSCs表面功能不明的黏附分子。在正常骨髓中,它只表达于CD38⁺的髓系祖细胞,在CD34⁺CD38⁻的干细胞不表达,使之成为颇具吸引力的治疗靶点。

虽然联合常规化疗和新的靶向治疗能完全清除外周血的恶性肿瘤细胞,但骨髓中残留的微小残留病灶常成为日后复发的根源。由此可见骨髓中的基质细胞必然对造血细胞的生存起保护作用。现在有学者认为将休眠期的白血病干细胞动员起来,可使它脱离骨髓微环境的保护。Löwenberg首先提出这一理论可作为白血病的治疗策略,并在临床研究中将G-

CSF 与诱导化疗同时用于白血病的诱导治疗。但该研究结果目前仍存在争议。目前有新的实验数据支持这一理论,并在动物模型上取得令人鼓舞的结果。因此已经启动新的临床试验研究,探讨 G-CSF 能否激活休眠期白血病干细胞,增加诱导化疗的效果。SDF-1 与它的受体 CXCR4 之间相互作用在引导 LSCs 在骨髓中迁移起重要作用。Tavor S 等研究发现 SDF-1/CXCR4 有维持 LSCs 生物学特性、保护其生存的作用。用抗体先后阻断 SDF-1 和 CXCR4 的活性可缩短 AML 细胞的生存时间,并削弱了 AML 原始细胞在 NOD-SCID 小鼠体内重建白血病细胞克隆的能力。因此,SDF-1/CXCR4 信号通路是一个很有前景的 LSCs 治疗靶点。VLA-4 是表达于人 AML 细胞表面的一种蛋白,在骨髓微环境中介导白血病细胞与纤连蛋白、血管内皮细胞黏附分子-1 的结合起重要作用。Matsunaga 等研究发现在体外 VLA4⁺AML 细胞与纤连蛋白接触后激发 PI3K-AKT 细胞通路,从而使细胞避免化学药物的诱导凋亡;给白血病克隆重建的小鼠体内注入 VLA-4 抗体和阿糖胞苷可清除其微小残留病灶。CD44 作为在 LSCs 过表达的黏附分子最近因为颇具希望的治疗靶点而成为大家关注的热点。CD44 是一种广泛存在的跨膜糖蛋白,能够连接透明质烷、骨桥蛋白,在器官发育、细胞归巢、细胞移动方面起作用。Jin 等最近研究发现将 H90(抗 CD44 单抗)注射到获得人 AML 的 NOD-SCID 小鼠体内后,白血病负荷明显减小,且无法在其他 NOD-SCID 小鼠体内重建白血病克隆。但正常造血干细胞或脐带血在 NOD-SCID 小鼠的移植却不受 H90 的影响。抗 CD44 抗体抗白血病的作用机制之一是扰乱 LSC 与造血微环境之间的作用。

(3) 靶向白血病干细胞自我更新信号通路:造血干细胞和白血病干细胞自我更新能力的调节机制目前知之甚少,仅有的知识是通过动物模型研究得来的。自我更新的抑制可能导致白血病干细胞休眠,同时有可能影响到正常造血干细胞。另一方面,阻断自我更新使分化压力增加,从而有利于清除白血病干细胞成分。基因 Bim-1 是在多种组织调节细胞生存的蛋白,其作用机制包括自我更新/增殖、移动/静止、细胞死亡的调节。在人和小鼠,Bim-1 都被证实只在非常原始骨髓细胞中表达。Bim-1 的表达对正常造血干细胞自我更新能力的维持至关重要。另外,Bim-1 在所有髓细胞白血病都有表达,包括 CD34⁺的白血病干细胞群。Bim-1 缺乏的白血病干细胞和祖细胞增殖潜能受影响,并不能在小鼠体内诱导出白血病,同时研究发现仅 Bim-1 基因可完全纠正细胞增殖潜能的缺陷。这说明 Bim-1 基因直接调控着白血病干细胞的自我复制和增殖的能力。因此,靶向白血病干细胞的 Bim-1 基因治疗可能产生奇特的疗效。了解自我复制能力的分子调节机制关系到白血病和造血干细胞的生存问题是未来白血病干细胞靶向治疗的关键。Wnt 信号通路也在造血干细胞自我复制和增殖方面起到重要的作用,它及其下游效应通路被异常激活常见于白血病中。这些研究发现提示 Wnt 信号通路是白血病转化中的一个重要环节,为白血病干细胞的靶向治疗提供帮助。

六、结 论

白血病干细胞是肿瘤干细胞的典型代表,并且作为一模型让我们认识了肿瘤干细胞的一般生物学特性。白血病干细胞在白血病发生中的核心作用已被确立。它与正常造血干细胞有着共同的特征,但也有自己独特的一面。二者之间的差异为靶向白血病干细胞治疗而将正常造血干细胞的损伤降至最小提供了可能。

第二节 白血病的传统诊断方法

一、急性白血病

急性白血病是一种以造血原始细胞恶性克隆性增殖,但向功能性粒、单、淋巴和红细胞分化受阻,以致大量非成熟或原始细胞大量蓄积为特征的恶性血液肿瘤。依据原始细胞的来源,将其分为前 B 或 T 急性淋巴细胞白血病和急性髓细胞白血病,每一种都代表了一组高度异质性疾病。原始细胞同时表达两种以上或更多系列抗原的白血病不常见,此时将其定义为急性混合细胞性白血病。急性白血病患者的治疗决策依据为其精确的分类。形态学检测对疾病的分类十分重要,另外其他的检验,如流式细胞仪检测免疫表型、细胞遗传学、分子基因检测也很常用。目前 WHO 关于急性髓细胞白血病和前体淋巴细胞肿瘤分类分别如表 1-3 和表 1-4 所示。

表 1-3 世界卫生组织的急性髓细胞白血病分类

具有特定细胞遗传学异常的 AML

伴随 t(8;21)(q22;q22);RUNX1-RUNX1T1 的 AML

伴随 inv(16)(p13.1q22)或 t(16;16)(p13.1;q22);CBF-MYH11 的 AML

伴随 t(15;17)(q22;q12);PML-RARA 的 AML

伴随 t(9;11)(p22;q23);MLLT3-MLL 的 AML

伴随 t(6;9)(p23;q34);DEK-NUP214 的 AML

伴随 inv(3)(q21q26.2)或 t(3;3)(q21;q26.2);RPN1-EVI1 的 AML

伴随 t(1;22)(p13;q13)的 AML

伴随 NPM1 突变的 AML

伴随 CEBPA 突变的 AML

骨髓增生异常综合征相关的 AML

治疗相关性的 AML

AML,非特指类

微分化型的 AML

伴成熟型的 AML

无成熟型的 AML

急性单核细胞白血病

急性粒单核细胞白血病

急性红白血病

急性巨核细胞白血病

急性嗜碱粒细胞白血病

急性全髓增生症伴骨髓纤维化

粒细胞肉瘤

Down 综合征相关的髓细胞增殖性疾病

暂时性的异常髓细胞增生

Down 综合征相关性髓细胞白血病

母细胞性浆细胞样突状细胞肿瘤

注:AML,急性髓细胞白血病。

表 1-4 前体淋巴细胞肿瘤的 WHO 分类

B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤,非特指型

具有特定细胞遗传学异常的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

伴随 t(9;22)(q34;q11.2)的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

伴随 t(v;11q23) MLL 重排的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

伴随 t(12;21)(p13;q22) TEL-AML1 (ETV6-RUNX1) 的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

超二倍体的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

亚二倍体的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

伴随 t(5;14)(q31;q32) IL-3-IGH 的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

伴随 t(1;19)(q23;p13.3) E2A-PBX1 (TCF3-PBX1) 的 B 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

T 淋巴母细胞白血病/淋巴瘤

(一) 急性髓细胞白血病

目前 WHO 分类标准中,AML 包括四大类:具有基因异常的 AML;骨髓增生异常转化性、治疗相关性髓系肿瘤;非特指性 AML。非特指性 AML 诊断十分强调形态学、细胞分化和成熟程度,如既往的 FAB 分型一样。分子和遗传基因研究使依据 WHO 标准对急性白血病精确分类成为可能。按照 WHO 诊断标准,AML 诊断要求外周血或骨髓中原始细胞数量超过 20%。如果特定的基因异常被确定存在,不管原始细胞比例多少都可以做出诊断。如果骨髓中红系祖细胞比例超过 50%,原始细胞比例计算仅在非红细胞中进行,这对诊断急性红白血病十分重要。在 AML 中,原始细胞包括髓、单、红系三大类。

1. 骨髓活检和穿刺涂片 AML 患者骨髓活检显示增生活跃的原始细胞不同程度代替正常造血组织。原始细胞在骨髓呈均匀分布或片状分布,细胞大小相对一致,呈圆形或椭圆形,凹陷切迹或瘤突状,胞质量不均一。骨髓穿刺涂片呈现的髓白血病细胞大小、核形、胞质量有所差异。原始细胞常有多个核仁,AML 白血病细胞的一大特征是伴有 Auer 小体,表现为天蓝色颗粒,较多见于伴有 t(15;17)(q22;q12)、t(8;21)(q22;q22)染色体异常的 AML;单

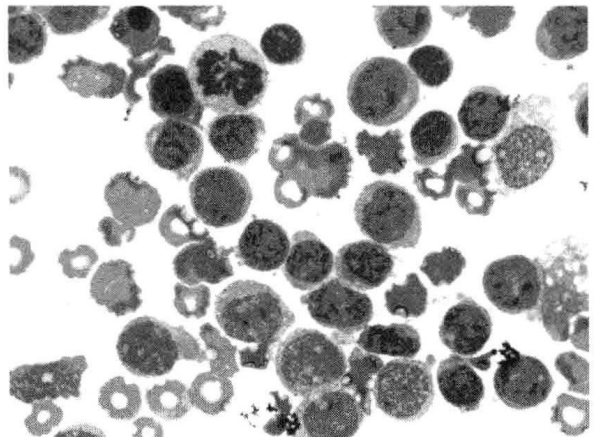


图 1-1 急性髓细胞白血病骨髓象(参见彩图)

核原始细胞常较大,呈圆形或椭圆形,染色质松散、核仁明显,胞质嗜碱性,量中等或丰富(图 1-1);原红细胞呈嗜碱性,核圆,染色质浓缩、核仁差异大;原巨核细胞大小不等,胞质丰富,可伸出伪足。巨核细胞白血病活检可发现明显网状纤维,骨髓穿刺时常出现干抽;免疫组化对疾病的诊断有重要价值。

2. 细胞化学反应 细胞化学染色可补充形态学的不足,在急性白血病的类型鉴别上起着重要作用。常用的细胞化学染色方法包括髓过氧化物酶染色、苏丹黑 B 染色、氯醋酸 AS-D 萘酚酯酶染色、 α -丁酸萘酚酯酶染色、 α -醋酸萘酚酯酶染色、碘酸-雪夫染色(糖原染色)、酸性磷酸酶染色、碱性磷酸酶染色溶菌酶等方法。大于 3% 原始细胞呈现过氧化物酶阳性反应,说明是髓系白血病。醋酸酯酶有助于分析单核系来源细胞,如果原始细胞过氧化物酶阴性,非特异性酯酶阳性,可做出急性单核细胞白血病诊断。急性微分化白血病过氧化物酶阴性,但表达髓系抗原。

3. 流式细胞仪检测 流式细胞仪检测白血病细胞免疫表型,是急性白血病实验室诊断的重要组成部分,常较免疫组化和细胞化学检测更快得到结果。超过 90% 的急性白血病患者细胞来源及具体的分化方向都可通过流式细胞仪分析出来。如嗜酸粒细胞 CD45 高表达,SSC 高表达,FSC 低表达,CD11b、CD11c、CD13、CD15 和 CD33 阳性,而 CD10、CD14、CD16、CD56、CD64 和 HLA-DR 阴性;成熟单核细胞 CD11b、CD11c、CD13、CD14、CD33 和 CD64 阳性,有可能表达 CD2 和 CD4;AML 中的原始细胞 SSC 低表达,CD45 中等表达,CD34、CD117、CD13、HLA-DR 和 CD33 阳性,TdT、CD4 和 CD11c 可能阳性。但这并不能代替基于形态学的原始细胞比例计算,因为流式细胞仪检测的少量细胞并不能完全反应骨髓中的白血病细胞分布情况。白血病免疫特征欧洲研究组提出了抗原系列积分系统,近年 WHO 对它做出了修改,如表 1-5 所示。按记分系统不仅可区分 ALL 与 AML,且可进一步将 ALL 分成若干亚型,可精确了解被测白血病细胞的分化发育阶段,从而有助于临床分型、鉴别诊断、判断预后、指导治疗等。

表 1-5 B、T 淋巴细胞系及髓系抗原积分系统

积分	B 淋巴细胞系	T 淋巴细胞系	髓细胞系
1.5	cCD22, sCD22, cIg, sIg, CD19	cCD3, sCD3, TCR	MPO
1.0	CD20, CD24	CD8	CD13, CD14, CD33, CD65
0.5	CD10, CD21, CD37	CD1, CD2, CD4, CD6, CD7	CD16, CD15, CD35, CD36

(二) 急性淋巴细胞白血病

依据最近修订的 WHO 关于造血和淋巴系统肿瘤分类标准,急性淋巴细胞白血病是一类高度恶性的疾病,外周血或骨髓中超过 20% 的原始淋巴细胞浸润。共分为三大类: B 淋巴细胞白血病/淋巴瘤,非特指;伴有遗传学异常的 B 淋巴细胞白血病/淋巴瘤; T 淋巴细胞白血病/淋巴瘤。

1. 骨髓活检和穿刺涂片 急性淋巴细胞白血病骨髓中,正常造血细胞减少代以大量单个核的白血病性原始或幼稚淋巴细胞。低增生性急性淋巴细胞白血病骨髓象少见。FAB 急性淋巴细胞白血病的分型标准中,按细胞大小将 ALL 分为 L1、L2、L3 亚型。吉姆萨染色的骨髓细胞图片中,ALL 原始淋巴细胞体积变化大,染色质细致,可见 1~2 个核仁,细胞核常有分叶和裂隙,胞质可有嗜天青颗粒,但无 Auer 小体。L1 为形态学上较成熟的原始淋巴细