

新进展

血液科

新进展

NEW PROGRESS

主编 沈志祥



人民卫生出版社

血液科新进展

主 编：沈志祥

副主编：陈 钰 曾晓颖

编 者（以姓氏笔画为序）

卫 菊	王学锋	王 焰	王颖慧
李军民	闫 骅	沈志祥	沈 杨
陈 钰	陈 晓	吴 方	胡钧培
胡 炯	唐 玮	钱 樱	曾晓颖

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

血液科新进展/沈志祥主编. — 北京:
人民卫生出版社, 2000
ISBN 7-117-04047-5

I. 血… II. 沈… III. 血液病—治疗—进展
IV. R552

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 75379 号

2087/01

血液科新进展

主 编: 沈 志 祥

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)

E-mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

印 刷: 三河市富华印刷包装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 880×1230 1/32 印张: 14.25

字 数: 328 千字

版 次: 2000 年 11 月第 1 版 2000 年 11 月第 1 版第 1 次印刷

印 数: 00 001—3 000

标准书号: ISBN 7-117-04047-5/R·4048

定 价: 28.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前言

近年来,由于单克隆抗体、重组 DNA 技术、细胞遗传学和分子生物学等的理论和技术的飞速发展,血液病的发病机制等基础研究有了突飞猛进的发展,血液病的治疗也从既往的化学治疗、放射治疗、造血干/祖细胞移植治疗和诱导分化治疗进展到促凋亡治疗、生物治疗、免疫治疗、靶基因治疗。

参与本书的作者为上海第二医科大学附属瑞金医院从事血液病临床和基础研究的中青年医师、专家、教授。他们具有较丰富的实践经验,熟悉国内外的动态,并以自身的专长经验,结合国内外最新进展,撰写成本书。

本书主要介绍了恶性血液病的治疗和研究现状,尤其对霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤的最新分型、治疗进展和自体造血干细胞移植治疗进行了重点介绍;在出血性疾病方面,讲述了血栓性血小板减少性紫癜发病机制、易栓症及弥散性血管内凝血研究进展。本书还介绍了恶性血液病新颖治疗方法及肿瘤耐药机制研究进展等。为从事血液病、肿瘤研究及治疗的临床和研究人员提供了重要的参考资料。

本书适合从事血液专业、肿瘤专业及其他相关专业的各级临床医师、相关研究人员和医科大学师生。

由于血液病领域研究发展迅猛,我们掌握的知识有限,本书

的内容中一定会遗漏某些最新的研究成果,有的尚可能存在不足之处,祈望广大读者和专家予以批评和指正。

编者

2000年7月

目
录

第一章	急性淋巴细胞白血病研究进展	沈杨、沈志祥(1)
第二章	急性髓系白血病的研究进展	李军民(33)
第三章	老年白血病	王焰、陈钰(74)
第四章	霍奇金淋巴瘤:分型、诊断和分期	卫菊、沈志祥(96)
第五章	霍奇金淋巴瘤治疗进展	王颖慧、沈志祥(120)
第六章	非霍奇金淋巴瘤分类的研究进展	沈志祥(149)
第七章	惰性淋巴瘤患者的治疗策略	钱樱、沈志祥(155)
第八章	自体造血干细胞移植治疗淋巴瘤 的新进展	胡炯、沈志祥(177)
第九章	粘膜相关淋巴样组织淋巴瘤	沈杨、沈志祥(209)
第十章	多发性骨髓瘤发病机制和治疗进展	陈钰(235)
第十一章	原发性血小板增多症研究进展	唐玮、陈钰(276)
第十二章	基因治疗在血液疾病中的应用	闫骅、沈志祥(293)
第十三章	肿瘤耐药机制研究进展	曾晓颖、杜心培、沈志祥(314)

血液科新进展

- 第十四章 再生障碍性贫血发病机制的研究 吴方、沈志祥(333)
- 第十五章 血栓性血小板减少性紫癜发病
机制与临床治疗进展..... 陈钰(352)
- 第十六章 易栓症..... 王学锋(368)
- 第十七章 伴有自发获得性凝血抑制物患
者的诊断和治疗 陈晓、沈志祥(398)
- 第十八章 弥散性血管内凝血的研究进展..... 胡钧培(419)

第 一 章

急性淋巴细胞白血病 研究进展

【概述】

急性淋巴细胞白血病(ALL)是一种较为常见的白血病类型,在儿童中发病率尤高。近二十余年来,随着细胞遗传学、免疫学、分子生物学的发展,对于 ALL 的发病机制、治疗、预后等方面有了全新的认识和较大的进展。这些进展包括:①发病机制方面:多种与 ALL 有关的染色体变化及其相应分子学机制、原癌基因和肿瘤抑制基因的突变、凋亡机制、免疫表型、分子免疫学机制在 ALL 发病的作用渐被了解,它们与预后的关系也日益明了。②分类方面:在传统的形态学分型基础上,逐渐建立起一套完善的、包括临床特征、细胞遗传学、分子生物学、免疫表型、预后等的分类系统(MIC 分型)。虽然该分型系统较为复杂,但其意义、与预后的关系已经被广泛接受,而且在指导治疗、临床评估、学术交流等方面发挥越来越重要的作用。③治疗方面:随着支持治疗的改善,许多大剂量化疗方案已经广泛应用到 ALL 的治疗中(特别是预后较差的患者,如 Ph 染色体阳性等);一些新的化疗药物的使用和评估;根据预后和风险因素调整 ALL 的治疗;生物治疗如细胞因子、单克隆抗体、反义寡核苷酸等的应用;自体 and 异基因干细胞移植,以上各方面的努力,使得

儿童 ALL 基本得到控制,而成人 ALL 的预后也得到较大改观。

④预后方面:许多与预后直接有关的临床、细胞遗传学、分子生物学、免疫学因素逐渐被发现,并直接应用于指导临床治疗。如此完善的预后分析体系,在其他类型血液系统恶性肿瘤中是少见的。

本篇将对以上各方面的进展,在下文进行专门的描述。

【发病机制】

ALL 是一种具有异质性的疾病,多种发病机制共同参与其发病,导致临床特征、预后各有不同。这些发病因素包括染色体数量的改变、染色体易位、原癌基因的突变、肿瘤抑制基因的失活、凋亡等,导致细胞分化受阻,恶性细胞增生。复合核型异常能从某种程度上反映基因组的不稳定性,而 ALL 出现这种变化的机率较小,这种现象反映了 ALL 的基因变化可能是一种逐步积累的过程,要比原本想象的复杂得多。同时,除了 Down 综合征外,ALL 的前致病状态较少,提示 ALL 是淋巴造血前体细胞后天逐步发生体细胞突变而导致的。

有文献报道,ALL 中遗传学改变发生的频率可达 80% ~ 90%,遗传学变异较大,但较大部分是特异性改变,与特定的形态学和免疫学表型有关。

一、染色体数量的改变

染色体数量的改变占 ALL 染色体变化的较大比例,可以分为高二倍体、低二倍体和假二倍体。①高二倍体:约占所有核型变化的 30% ~ 40% 左右,常见的增加的染色体包括 4、6、8、10、14、17、18、21 和 X 染色体。上述这些核型变化大多为非特异性。除了 8 号染色体三体,往往与治疗效果差,预后不佳有关外,其他大多表现 WBC 总数不高,CALLA 阳性,对化疗反应较

好。②低二倍体:染色体缺失占 ALL 核型变化的 6%~10% 左右,常见的包括7、20 染色体缺失,这种变化往往与预后较差有关。

二、常见的染色体易位及相应分子生物学机制

t(9;22)及相应的 BCR /ABL

t(9;22)(Ph 染色体)导致 22 号染色体上的 BCR 基因与 9 号染色体上的 ABL 酪氨酸激酶基因并列。这种变化与 CML 和 ALL 发病有关。约 50% 的成人 B 细胞急淋患者(占成人急淋的 25%~30%)和 3%~6% 的儿童伴有 bcr-abl 融合基因。9 号染色体上的断裂点大多相对恒定,位于 2 号外显子上游,即外显子 I a 和 I b 之间的 175kb 的结构中。22 号染色体上的断裂点在 Ph 阳性 CML 和 ALL 中则有所不同,前者 bcr 断裂点大多位于主要 bcr(M-bcr),其重排产生的 mRNA 为 8.5kb,编码的蛋白相对分子量 210,000。而 90% Ph 阳性的儿童 ALL,断裂点位于 M-bcr 上游第 1 内含子内的 200Kb 区域内(次要 bcr, m-bcr),由此产生的基因编码为 7kb 的 mRNA 和相对分子量为 185,000~190,000 的融合蛋白。在少数 Ph 阳性的儿童急淋中,用覆盖全部的 bcr 区域的探针未能发现其断裂点,它们是否有 bcr 区域外的断裂点尚不清楚。在成人急淋, m-bcr 和 M-bcr 断裂发生的概率相同。现已证实 BCR/ABL 对于疾病转化有重要作用, Heisterkamp 等在转基因小鼠中发现 P190 能诱发白血病,病变可以累及淋系和髓系。Castellanos 等报道了使用同源 ES 细胞重组产生的 bcr-abl^{P190}融合基因的小鼠,并表现为 B 细胞急淋的特征。Ph 阳性的急淋往往呈现高危症状;患者年龄大于 10 岁,高白细胞计数, FAB ALL-L2 型,疾病的早期耐药和缓解持续时间的明显缩短。现已将 Ph 阳性作为 ALL 预后较差的典

型标志。在这类患者中建议大剂量诱导化疗和早期异基因移植。

t(1;19)及相应的 E2A /PBX1

t(1;19)(q23;p13.3)约占儿童 ALL 的 5%~6%左右(儿童前 B 细胞 ALL 的 25%),在成人 ALL 中较为少见。1984 年,Caroll 等首先报道这种染色体异常。19 号染色体上编码免疫球蛋白增强子 HLH 结合蛋白的 E2A 基因与 1 号染色体上的同源盒基因 PBX1 并列,产生 E2A-PBX1 融合基因。E2A 基因长 40kb,包含 17 个外显子,断裂点集中于 13 内含子的 2kb 内,PBX-1 基因断裂点大于 50kb。其融合基因的蛋白产物包括 P85 和 P77,它们是一种反式作用因子,含 E2A 的转录激活区域和 PBX-1 的 DNA 同源结合区域,具有转化能力。t(17;19)引起相似的 E2A/HLF 融合基因,HLF 近来发现与细胞的程序化死亡有关。具有该种核型变化的患者在形态学上表现为 FAB-L1 型,免疫表型为前 B 细胞型,CALLA 阳性。这些病人常于标准化疗后早期复发。[有趣的是,其他不具有 t(1;19)的前 B-ALL 预后较好]。

11q23 易位及相应的 MLL 变化

11q23 染色体易位导致 MLL 与其他基因并列。目前文献报道,这些与 MLL 并列的对应基因约有 30 多种,而且功能各异。大多数婴儿 ALL 和继发性白血病(85%)可发现 MLL 易位,后者常与拓扑异构酶 II 抑制剂的长期使用有关。常见染色体变化包括 t(4;11)、t(9;11)等。这些易位占 B 细胞急淋总数的 10%。t(4;11)易位通常与原始细胞较高有关。对 11q23 易位的病例研究显示,这些患者中位生存时间较短,已经成为预后最差的 ALL 的标志。

t(12;21)及相应的 TEL /AML1

TEL 基因位于 12p13,它是 ETS 基因家族的成员。它与其他基因共同组成融合基因导致白血病的发生,包括 t(5;12) (TEL/PDGFR β), t(9;12) (TEL/c-ABL), t(12;22) (MN1/TEL)等。在儿童急淋中,约有 1/4 的患者可以发现一致性的 t(12;21),这种易位产生 TEL/AML1 融合基因。在 B 细胞, TEL/AML1 融合基因的阳性率明显增高。M Ce Coniet 等报道了两例 T 细胞急淋,染色体变化为 t(12;14)(p13;q11),t(7;12)(q35;p13),断裂点位于 TEL/ETV6 的顶端。A. Bacllchat 同样分析了 12p12.3,在 50%左右的前 B 细胞急淋患者,可在远端的 D_{12S89}和近端的 D_{12S38}发现杂合性丢失 (LOH, Loss of heterozygosity),并认为它与肿瘤抑制基因的失活有关。野生型 AML1 基因编码 AML1a,AML1b,AML1c 和 AML Δ N 四种蛋白,其中 AML1b 和 AML1c 能与 PEBP2 位点结合,有诱导髓系终末分化的作用。AML1a 通过与 AML1b 竞争 PEBP2 位点,对 AML1b 发挥显性负效应,从而阻断髓系分化成熟。TEL/AML1 融合基因编码的蛋白包括 TEL 基因 N 末端的 336 个氨基酸和几乎全长的 AML1c 蛋白。

由于这是一种亚显微镜的核型变化,常规核型分析阳性率低,但通过 RT-PCR、FISH、Southern 印迹法可大大提高其检出率。伴有 TEL/AML1 融合基因的急淋患者往往预后较佳。但在成人急淋中,TEL/AML1 融合基因的出现率较低。McLean 报道,在 89 例成人急淋中,仅发现 3 例阳性。Shih 等在 81 例成人 B 细胞急淋中未发现 TEL/AML1 阳性患者。

Koyu 等用 RT-PCR 及 Southern 印迹法检测了 42 例成人 B 细胞急淋及 13 例成人慢粒急淋变患者。他们认为成人急淋表

达 TEL/AML1 融合基因较少,与不良的预后有关。有些学者推测,TEL/AML1 融合基因的产物阻碍了 TEL/AML1 阳性的急淋细胞的生长,形成终末细胞。他们的研究表明,淋巴细胞性白血病中其阳性率约为 5%。

与 TCR 重排异常有关的核型及基因变化

在成人 ALL 中,T 细胞急淋约占 30%,而 B 细胞急淋约占 60%左右。T 细胞 ALL 的核型变化常与 TCR 区 V-(D)-J 重排及原癌基因的激活有关。 $t(10;14)(q24;q11)$ 影响 $TCR\alpha$,并激活 $tcl-3$,这种变化约占到 TCR 重排的染色体变化的 25%。 $t(11;14)(p13;q11)$ 发生率与其相似,它还有一个变异型 $t(7;11)(q34;p13)$,这种变化影响 11p13 上的 $T-ALL^{br}$ 位点。在 $T-ALL^{br}$ 区域端粒侧存在一个与 TTG-1 有高度同源性的 TTG-2 基因,而易位产生的断裂点都位于该基因的上游,并没有改变它的编码顺序。TTG-2 编码的蛋白存有 LIM 区域,而后者可能是一个锌指结构,与上游的控制区域结合,将其置于 $TCR\alpha/\delta$ 控制下。这些核型的改变,均为成人急淋中较好预后的指标。

1P34 易位累及在它上面的一个 Lck 基因,其蛋白产物是一种酪氨酸蛋白激酶 $P56^{Lck}$,它属于 src 癌基因家族,正常情况下传递 T 细胞的激活和识别信号。易位后它的断裂点位于 Lck 基因的 5'非翻译区,LAK 位点与 $TCR\beta$ 顺序及其转录增强子片段相联结,导致疾病的发生。这种易位导致的急淋往往有较好的预后。

$t(7;9)(q34;q32)$ 导致 TAL-2 基因与 $TCR\beta$ 基因的转录调节片段并列,使 TAL-2 表达异常,导致 T-ALL 的发生。 $t(7;19)(q34;p13)$ 则使得 19p13 上的 LYL-1 基因激活高表达,导致 ALL 的发生。

与免疫球蛋白重排异常有关的核型及基因变化

约 75% 的成熟 B 细胞急淋患者形态上表现为 FAB ALL-L3, 细胞遗传学上往往有典型的 $t(8;14)(q24;q32)$, 14q32 位的 IgH 重组及 8q24 位的 c-myc 癌基因的激活与 ALL 发病有关, 预示不良的预后。其他相似的染色体变化如 $t(2;8)(p11;q24)$, $t(8;22)(q24;q11)$ 与 2p11 位的 Ig κ 基因, 22p11 位的 Ig λ 及 8q24 位的 c-myc 癌基因有关。c-myc 基因的蛋白产物是一种反式作用因子, 氨基端是转录活化区, 羧基端为 HLH 或亮氨酸拉链结构的 DNA 结合域。当发生上述易位时, 调节靶基因转录表达的 Myc/Max, Max/Max, Max/Mad, Max/Mix-1 平衡网络遭到破坏, 导致肿瘤的发生。而这些变化, 共同表现为髓外病变发生率增高, 对化疗药物的耐药和疾病的迅速发展, 预后极差。此外尚有 $t(8;22)(q24;q11)$ 也较为常见, 该易位与 $t(8;14)$ 相似, 累及 22q11 上的免疫球蛋白轻链, 导致发病。

$t(5;14)(q31;q32)$ 易位与伴有外周血嗜酸粒细胞增多的 B 细胞系列 ALL 有着密切的关系。5 号染色体上的白介素-3(IL-3) 基因和 14 号染色体上的免疫球蛋白基因并列, 导致 IL-3 受 IgH 调控序列控制, 使正常 IL-3 基因产物过度表达。

三、肿瘤抑制基因突变

MTS 基因

Hebert J 等于 94 年报道了 MTS(MTS1-MTS2) 位点的表达缺陷与 T 细胞急淋的关系。研究表明, 该位点表达缺陷直接导致 MTS1 的产物 P16^{INK4a} 肿瘤抑制蛋白的缺失。其他两种细胞周期抑制物 P19^{ARF} (MTS1) 和 P15^{INK4b} (MTS2) 有相似的变化。Betty Gardie 等分析了 3 例伴有 P16^{INK4a} 表达异常的患者,

结果发现他们均有相似的 36Kb 的基因表达的缺失,导致 MTS2 和 P19^{ARF} 的缺陷,而 P16^{INK4a} (MTS1) 的编码区并没有发生变化。进一步的研究显示,在大多数 T 细胞急淋中,P16^{ARF} 的失活是 MTS 位点变化的最重要的产物。Yoshihiro Hatta 等报道了另一种肿瘤抑制蛋白 P18^{INK4c} 的表达缺陷。他们使用 RT-PCR 技术,发现 5 例 ATL 中的 3 例和全部 NHL 患者均有 P18^{INK4c} 的异常。

Ursula R. Kees 等研究了 48 例儿童,他们用 Southern 印迹法检测这些患者的 P16^{INK4a} 后,发现疾病的预后与 P16^{INK4a} 的出现或缺失有关。9 例 P16^{INK4a} 基因完全缺失的急淋患者中,8 例具有 ALL 的高危因素:年龄较大、高白细胞血症。他们还发现 T 细胞急淋发生 MTS 基因突变的概率明显高于 B 细胞:在 T 细胞中为 62.5%,而在 B 细胞 10%。Yasuaki 进行了统计,他报道了 P15 和/或 P16 基因缺失与成人 T 细胞白血病预后的关系。114 例患者中 28 例(24.6%)发现 P15 和/或 P16 基因缺失,这些 P15 及 P16 基因缺失的患者,生存时间较未缺失者明显缩短,统计学上有显著性差异。

P53 基因和 RB 基因

野生型 P53 是一种抑癌基因,它主要起到“分子监督”作用,使发生 DNA 损伤的细胞分裂停止在 G1/S 期,使细胞修复损伤,恢复正常;若不能恢复,则诱导细胞凋亡。在所有的抑癌基因中,P53 是迄今发现的与人类肿瘤相关性最高的基因,从而得到广泛的关注和研究。它依靠激活野生型 P53 激活片段,产生细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂 P21,控制细胞周期。P53 突变为显性突变,突变型 P53 蛋白能抑制野生型 P53 基因活性。

P53 基因突变在淋巴组织的恶性肿瘤中占 12.5%,但在

ALL 中其发生频率并不是很高(尤其在儿童患者中),ATL 和 Burkitt 淋巴瘤显示了更高的 P53 突变率。有人证实 P53 突变与 ALL 预后较差有关:有该突变的患者往往呈现耐药;在预后相对较差的患者中,P53 突变率明显上升。这可能与 P53 诱导凋亡作用的缺失相关。

RB 基因是最早发现的肿瘤抑制基因,但其与 ALL 发病的关系不明确,发生率较低。

ALL 非随机的染色体变化及其相应的受累基因,参见表 1-1。

表 1-1 ALL 非随机的染色体变化及其相应的受累基因

染色体易位	受累基因	功能	频率
B 系			
t(9;22)(q34;q11)	BCR	不明确	成人:20%
	ABL	酪氨酸激酶	儿童:4%
t(1;19)(q23;p13)	E2A	bHLH 转录因子	成人:2%
	PBX1	homeotic	儿童:5%
t(11;v)(q23;v)	MLL		3%
	不定	不定	(75% 的婴儿 ALL)
t(12;21)(p13;q22)	TEL	Ets 样转录因子	成人:3%
	AML1	Runt 样转录因子	儿童:25%
t(17;19)(q22;p13)	E2A	bHLH 转录因子	<1%
	HLF	bZip 转录因子	
t(5;14)(q31;q32)	IL-3	细胞因子	<1%
	IgH	Ig 增强子	
t(8;14)(q24;q32)	MYC	bHLH 转录因子	2%~5%
	IgH	Ig 增强子	
t(8;22)(q24;q11)	MYC	bHLH 转录因子	<1%
	IgL	Ig 增强子	

续表

染色体易位	受累基因	功能	频率
T系			
t(1;14)(p32;q11)	TAL1/SCL	bHLH 转录因子	<1%
	TCR β	T 细胞受体增强子	
t(8;14)(q24;q11)	MYC	bHLH 转录因子	<1%
	TCR α	T 细胞受体增强子	
t(11;14)(p15;q11)	TTG2	LIM 蛋白	1%
	TCR δ	T 细胞受体增强子	
t(7;10)(q34;q24)	HOX11		<1%
	TCR β	T 细胞受体增强子	
t(7;9)(q34;q34)	TAN1	切迹样作用	<1%
	TCR β	T 细胞受体增强子	

【ALL 分类的研究进展】

一、ALL 的免疫学分型和形态学、免疫学、细胞遗传学分型(MIC 分型)

法国、英国、美国(FAB)协作组于 1976 年提出 ALL 的形态学分类方法,将 ALL 分成 L1、L2、L3 三种类型。这种分类简单易操作,但是有些方面较为含糊、主观因素影响较大,同时所含信息量较小,不能对预后作出直观的判断。因此虽然在临床应用较广,但已经不能适应治疗、评估和预后分析的需要。随着免疫学、细胞遗传学、分子生物学的发展,特别是单克隆抗体应用于诊断,使 ALL 的分类得到了很大的改进。根据这些分类方法,可精确了解肿瘤细胞所处的发育阶段,从而有助于鉴别诊断、判断预后、指导治疗和微小残余病灶(MRD)的检测。

目前发现的单克隆抗体已有 100 余种,根据这些单抗可对