

初诊弥漫大 B 细胞淋巴瘤的治疗进展*

顾建友¹ 沈建平¹

[关键词] 弥漫大 B 细胞淋巴瘤;分子分型;一线治疗

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2018.11.016

[中图分类号] R733.4 [文献标志码] A

Progress in the therapy for newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma

Summary There have been great insights into the biology of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) over recent years, while progress in the therapeutic approach has been disappointing over the same time. In 2018, R-CHOP (rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone) remains the "gold standard". Clinical trials are now in progress according to the molecular phenotype of the individual's tumor. Many phase 1/2 studies have looked at adding targeted agents to conventional R-CHOP with some promise. The phase 3 data are now starting to emerge. This article sums up the molecular subgroups of DLBCL, interventional strategies, and the outcomes of these interventions to date.

Key words diffuse large B-cell lymphoma; molecular subgroup; first-line therapy

2016 版的世界卫生组织淋巴肿瘤分类将弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 根据细胞起源 (COO) 分成两类: 生发中心 B 细胞型 (GCB) 和活化 B 细胞型 (ABC)^[1]。借助下一代测序技术, DLBCL 亚型中的高频体细胞突变基因被鉴定, 其中的一些突变基因具有临床预后价值^[2]。近 15 年以来, 以蒽环类为基础的 R-CHOP 方案 (利妥昔单抗、环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和泼尼松龙) 是 DLBCL 治疗中最为重要的进展, 现今仍然是 DLBCL 治疗的金标准^[3]。本综述剖析了生物学因子如何影响 DLBCL 的治疗方法, 总结了最新的一线临床试验进展, 探讨了利用新的生物学工具和各种新药来进行 DLBCL 一线个体化治疗的可能性。

1 DLBCL 生物学

ABC/GCB DLBCL 细胞起源的认识源于人们对其转录组的分析, 发现每个亚型各有一组不同的癌基因异常和基因表达模式, 提示了它们不同的细胞起源, 且与临床上 ABC 亚型比 GCB 亚型预后更差具有相关性^[4]。ABC DLBCL 的特征是慢性活动性的 B 细胞受体 (BCR) 信号和组成性激活的 NF- κ B 信号, 它们依赖于 CARD11/MALT1/BCL10 信号复合物来激活 NF- κ B 通路中的关键激酶 I κ B。超过 50% 的 ABC DLBCL 携带有多个基因的体细胞突变, 如负调控的 A20 和正调控的 CARD11、TRAF2、TRAF5、MAP3K7 及 TN-

FRSF11A, 它们都参与 NF- κ B 信号的调节^[2]。A20 编码泛素修饰酶, 参与 NK- κ B 应答的终止, 1/3 的患者表现出双等位基因灭活突变或缺失。29% 的 ABC DLBCL 存在 MYD88 的激活突变, 介导了 Toll 和 IL-1R 信号的传导。GCB DLBCL 的异质性更强, 存在体细胞高频突变、CD10 的表达和表观调节基因 EZH2 的反复突变^[2]。EZH2 正成为治疗性干预的靶标, 它编码 H3K27 甲基转移酶, 在 22% GCB DLBCL 中存在突变, 可能驱动了 GCB DLBCL 的增殖, 阻止了浆细胞分化。GCB DLBCL 中经常存在 BCL2 易位、REL 扩增、PTEN 丢失的现象, 导致了 PI3K/AKT/mTOR 通路的激活^[5]。

应用免疫组织化学 (IHC) 的方法来进行 DLBCL 分子分型, 技术操作简便, 存在的主要问题是不同实验室和病理学家之间的结果重复性差, 即使采用了半定量技术也难以获得一致的结果。基于 CD10、IRF4 和 BCL6 指标的 Hans 分类法是目前最常用的 IHC, 其结果分为 GCB 和 non-GCB, 但仍有 10%~15% 的 DLBCL 无法分型, 归属到“不可分类”。随着下一代测序技术的兴起, 现在可以对石蜡包埋福尔马林固定的 DLBCL 组织切片进行 COO 鉴定, 这些技术平台有 Lymph2Cx 分析和 HTG EdgeSeq DLBCL COO 分析^[6-7], 在临床试验中发挥了巨大的作用, 只是临床上还很难快速普及这项技术。

2 改良 R-CHOP 方案的临床应用

前利妥昔单抗时代, 强化的二代和三代 CHOP

* 基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (No: LY16H290002)

¹ 浙江中医药大学附属第一医院 (杭州, 310006)

通信作者: 顾建友, E-mail: jianyoulh@hotmail.com

样化疗方法在 2 期临床试验中很有希望,但在 3 期试验中发现其比 CHOP 方案没有任何优势^[8]。3 期试验显示,14 d 的增强剂量的 R-CHOP 方案没有比常用的 21 d 的 R-CHOP 方案更有效,但可以缩短治疗的疗程^[9]。许多研究和荟萃分析显示,高剂量的化疗和外周血干细胞挽救治疗方案在 DLBCL 的第一个缓解期并没有起到明确的巩固作用。西南肿瘤协作组的研究显示,一半的 DLBCL 患者采取 R-CHOP 诱导的方案,其高剂量的化疗巩固方案对中高危和高危国际预后指数(IPI)的患者,具有更好的无进展生存期(PFS),但总生存期(OS)并没有改善,故对临床实践并没有多大的推动作用^[10]。法国研究小组使用 R-ACVBP(利妥昔单抗、阿霉素、环磷酰胺、长春地辛、博来霉素和泼尼松龙)治疗年龄小于 59 岁的 DLBCL 患者,其年龄调整的 IPI(aaIPI)为 1。该方法比 R-CHOP 有优势,其 3 年 OS 为 92%,而 R-CHOP 的 OS 为 84%^[11]。但该治疗方案增强了血液学毒性,延长了住院治疗的时间,限制了其临床应用。回顾性分析发现,接受 R-CHOP 治疗的患者与接受 R-ACVBP 治疗的患者比较,其非 GCB 患者预测有更差的 PFS 和 OS,而 GCB 患者在 2 种治疗方案之间没有显著性的生存差异,提示了 OS 获益的 R-ACVBP 方案是由于改善了非 GCB 患者的疗效所致。

DA-EPOCH-R(依托泊苷、泼尼松龙、长春新碱、环磷酰胺、阿霉素、利妥昔单抗)化疗方案在 2 期临床试验中取得了较好的结果,但 3 期试验的最终结果令人沮丧。CALGB 团队近期完成了比较 DA-EPOCH-R 和 R-CHOP 疗效的 3 期试验,每个方案 6 个周期。5 年随访期内,2 组方案的 OS 和完全缓解没有区别,主要的终点无事件生存(EFS)也没有区别。R-CHOP 和 DA-EPOCH-R 的 3 年 EFS 分别为 81%和 79%,OS 均为 85%。根据年龄或 IPI 分类的各临床亚组,均不能从 DA-EPOCH-R 治疗中获益,而其血液学毒性更强^[12]。因此,目前的观点认为,DA-EPOCH-R 在 DLBCL 治疗中没有比 R-CHOP 方案更使人获益。

Ofatumumab(奥法木单抗)是人源化、IgG1 κ 型的抗 CD20 单克隆抗体,其分子表位不同于利妥昔单抗。ORCHARRD 研究显示,针对复发/难治的 DLBCL(rrDLBCL),奥法木单抗或者利妥昔单抗,联合二线化疗药抢救可移植处理的患者,两者之间的应答率、PFS、OS 都没有差异,间接表明了奥法木单抗在一线 DLBCL 治疗中也不会有更好的作用^[13]。Obinutuzumab(GA101, G)是第二代抗 CD20 单抗,通过糖基化技术增强了抗体与 Fc γ R III a 的亲合力,进而增强抗体依赖细胞介导的细胞毒作用,削弱了补体依赖性细胞毒作用。GATHER 2 期试验结果显示,针对 G-CHOP 一线

治疗 DLBCL 的客观缓解率(ORR)和完全缓解率分别为 83%和 55%,主要的不良反应为 1~2 级的输液相关反应^[14]。GOYA 的 3 期试验显示,一线治疗 DLBCL 时 G-CHOP 没有比 R-CHOP 更有效^[15]。1 418 例 DLBCL 患者入组,接受 8 个周期,每个周期为 21 d 的 G 或者 R,加上 6~8 个周期的 CHOP,以 PFS 为主要结束终点。在中位 29 个月的随访期,针对 G-CHOP 和 R-CHOP 的 PFS 分别为 70%和 67%,两者之间没有显著性差异。根据 COO 模型将这批患者分为 3 个分子亚型:GCB、ABC 和无法分类的类型,其 PFS 分别为 75%、59%和 63%,但没有一个分子亚型能够显示出 G-CHOP 比 R-CHOP 更有效。接受 G-CHOP 的患者不良反应更强,主要表现为中性粒细胞减少症、输液相关的反应和便秘^[15]。这个试验结果支持了 R-CHOP 仍然是 DLBCL 的标准治疗方案。

CD30 在 DLBCL 中的表达水平为 14%~25%,CD30-导向抗体药物结合物色瑞替尼单药治疗 rrDLBCL 的 ORR 为 44%^[16]。色瑞替尼联合 R-CHOP 的 2 期临床试验结果显示,针对 51 例中高危/高危的 DLBCL,CD30 阳性和阴性患者 18 个月的 OS 分别为 92%和 71%,结果令人鼓舞^[17]。

3 ABC DLBCL 靶向治疗

3.1 NF- κ B 通路靶向治疗

ABC DLBCL 存在组成性激活的 NF- κ B 通路,蛋白酶体抑制剂硼替佐米能防止 I κ B 激酶的降解,维持 NF- κ B 的失活状态。一项 2 期的一线治疗研究显示,硼替佐米可以安全地与 R-CHOP 联用,可能有益于非 GCB 亚型的 DLBCL 患者^[18]。但在随后的 2 期前瞻性随机研究中,非 GCB 患者随机给予 R-CHOP 或者 R-CHOP 联合硼替佐米,没有发现硼替佐米的额外叠加优势,部分原因可能在于 COO 鉴定需要患者等待一段时间才能开始治疗,而大部分患者要求马上开始治疗,从而导致了入组患者的数量不多。为了解决 COO 鉴定等待期问题,3 期 REMoDL-B 研究采取安排 DLBCL 患者先进行第 1 个周期的常规 R-CHOP 治疗,与此同时,将患者的标本进行 GEP 分析,10 天左右能获得患者的 COO 结果。在第 2 个周期开始前,根据患者 COO 结果进行分组,同一亚型的患者随机进行 5 个周期的 R-CHOP 或者 R-CHOP 联合硼替佐米的治疗。1 076 例 DLBCL 患者入组,其中 918 例获得完整的 GEP 信息,以 PFS 为主要结束终点。在中位 30 个月的随访期,针对 DLBCL 患者,R-CHOP 或者 R-CHOP 联合硼替佐米的治疗,两者之间的疗效无显著性差异,PFS 分别为 70.1%和 74.3%;在各个分子亚型中,2 种给药方案也都没有显著性差异;针对低危 IPI 的 ABC 型患者,硼替佐米的加入能够使患者受益,但没有达到显著性差异的程

度^[19]。针对 NF- κ B 的其他更强活性的药物仍在开发之中, NF- κ B 靶向治疗 DLBCL 至少目前在临床上还是不行的。

免疫调节剂来那度胺具有多种抗肿瘤作用,最主要的作用靶点是 E3 泛素连接酶 Cereblon。来那度胺结合并激活 Cereblon,活化的 Cereblon 结合 B 细胞、T 细胞转录调节蛋白 Ikaros 和 Aiolos,使其泛素化而被降解。在 ABC 亚型中,来那度胺下调了 IRF4 和随之的 BCR 依赖的 NF- κ B 活性。在一项回顾性分析中,针对 40 例 rrDLBCL,来那度胺在非 GCB 亚型中的效应率为 53%,在 GCB 亚型中的效应率只有 9%。在最近的前瞻性 2/3 期试验中,102 例 rrDLBCL 患者入组,根据 GEP 结果将患者分组,结果显示来那度胺的疗效远远优于调查者的选择(IC,吉西他滨、利妥昔单抗、依托泊苷、奥沙利铂的单药治疗);在非 GCB 亚型中,来那度胺的 PFS 为 15.1 周,而 IC 的 PFS 为 7.1 周;在 GCB 亚型中,来那度胺的 PFS 为 10.1 周,而 IC 的 PFS 为 9.0 周^[20]。很显然,来那度胺在 ABC DLBCL 治疗中有更好的获益效果。Nowakowski 等^[21]公布了 R-CHOP 联合来那度胺(R2-CHOP)疗效与 R-CHOP 治疗历史对照的比较结果,R-CHOP 治疗非 GCB 和 GCB 亚型 24 个月的 PFS 分别为 28%和 64%($P < 0.01$),OS 分别为 46%和 78%($P < 0.01$);R2-CHOP 则对 DLBCL 各分子亚型的治疗效果(PFS 和 OS)差异无统计学意义,非 GCB 和 GCB 亚型 24 个月的 PFS 分别为 60%和 59%($P > 0.05$),OS 分别为 83%和 75%($P > 0.05$);来那度胺在 R-CHOP 中的加入,弥补了非 GCB 亚型的不良治疗效果。目前,针对 GEP 分型鉴定的 ABC DLBCL 患者的 2 项试验正在国际上开展(NCT02285062 和 NCT01856192),其目的都是随机、前瞻性比较 R2-CHOP 和 R-CHOP 的疗效差异。

3.2 BCR 信号靶向治疗

ABC DLBCL 的另一个特征就是 BCR 信号的组成性激活。依鲁替尼,第一代口服小分子 BTK 抑制剂,共价结合 BTK 的 ATP 结合口袋内的第 481 位半胱氨酸残基,从而抑制 BTK 的活性,但依鲁替尼也能结合其他激酶同样位置的半胱氨酸残基,所以体内应用时导致了一些相应的毒性反应。一项在 rrDLBCL 患者中进行的小规模试验结果显示,依鲁替尼针对 ABC DLBCL 患者有明确的疗效,但对 GCB 亚型的作用不大^[22]。依鲁替尼在 37% ABC DLBCL 中起作用,却只能在 5% GCB DLBCL 中起作用。依鲁替尼针对 BCR 突变的 ABC DLBCL 具有 55.5% 的反应率,尤其是 MYD88 的突变者,达到了 80% 的反应率;但对没有 BCR 突变的 ABC DLBCL,只有 31% 的反应率。

最近,1b 期试验结果显示,依鲁替尼可以与 R-CHOP 联合用药。3 期的 PHOENIX 试验,针对非 GCB 型 DLBCL 患者,比较 R-CHOP 和 R-CHOP 联合依鲁替尼的疗效差异,目前已经完成了患者入组工作,以 EFS 作为主要终点。目前,临床上在 R-CHOP 基础上加入依鲁替尼,在 ABC 亚型中并没有观察到叠加的疗效。第二代的 BTK 抑制剂 acalabrutinib,具有更强的 BTK 选择性和更弱的脱靶活性,目前正处在与 R-CHOP 联用的早期试验阶段。BCR 信号的其他靶向分子也正在开发中, SYK 抑制剂 fostamatinib 单药治疗 rrDLBCL,活性低,客观缓解率只有 3%,在 ABC 亚型患者中没有效应。其他的 SYK 抑制剂目前还在试验当中。

4 GCB DLBCL 靶向治疗

GCB 亚型靶向治疗受关注的程度低,一方面是因为其现有临床治疗效果较好,另一方面是因为其生物异质性更强。22% GCB 亚型中存在表观调节因子 EZH2 的突变,而在 ABC 亚型中则不存在此突变。口服活性的 EZH2 抑制剂 tazemetostat 正在进行临床试验,在 rrDLBCL 治疗中显示了积极的早期结果^[23]。针对 aaIPI \geq 2 的初发 DLBCL 患者,LYSA 小组正在进行 tazemetostat 联合 R-CHOP 的 1b/2 期试验。PTEN 基因缺失发生在 55% GCB DLBCL 中,涉及的机制有许多,包括 10% 是由于杂合子 PTEN 基因座缺失。在 ABC 亚型中,只有 14% 的患者发生 PTEN 基因缺失。PTEN 基因缺失导致了 PI3K/AKT/mTOR 通路的激活和肿瘤性的通路偏好性。PI3K 抑制剂的临床活性低,最近的泛 I 类 PI3K 抑制剂 copanlisib 应用到 rrDLBCL 的 2 期试验结果显示,根据患者的 COO 进行分组,针对 GCB 的 ORR 为 13.6%,ABC 的 ORR 则为 37.5%^[24]。mTOR 抑制剂依维莫司联合 R-CHOP 完成了 1 期的可行性分析,结果显示在 24 例可评估的初发 DLBCL 患者中,96% 显示了功能性的完全缓解,在第 12 个月时都是无事件进展的^[25]。

5 双表达 DLBCL 的靶向治疗

双表达 DLBCL 具有 MYC 和 BCL2 蛋白表达,但不存在 MYC 和 BCL2 基因易位的 DLBCL,主要是 ABC 亚型,其增加的 MYC 和 BCL2 蛋白表达很大原因是由于持续的 NF- κ B 激活。双表达也可能发生在 GCB 亚型中,这是由于其他基因组的损伤(如扩增)造成的。25% 的 DLBCL 存在双表达现象,其 R-CHOP 治疗的效果差。目前,还没有针对该群 DLBCL 的治疗试验结果。BCL2 靶向治疗双表达 DLBCL 是可行的,BH3 模拟物 venetoclax 代表了潜在的干预方法,单药治疗 rrDLBCL 的 ORR 为 18%,活性一般,其与 BCL2 阳性的关系未知^[26]。Venetoclax 联合 R-CHOP 或者 G-CHOP

的 1b/2 期临床试验正在进行中,在中位 11 个月的随访期,8 例双表达患者中 6 例取得了 PET 完全缓解^[27]。BCL2 不仅在 GCB 亚型中丰富表达,60% ABC 亚型也高表达 BCL2,这是典型的由于 NF- κ B 信号扩增或异常导致的,DLBCL 对 BCL2 抑制剂的效应可能独立于 COO 类型。

6 维持治疗方案优化

在一线 R-CHOP 方案完成之后,如何进行维持治疗一直没有好的试验结果。PKC β 选择性抑制剂 enzastaurin 作为维持治疗方案,口服给药 3 年,DLBCL 患者没有任何获益^[28]。mTOR 抑制剂依维莫司进行维持治疗 1 年,DLBCL 患者没有任何获益^[29]。利妥昔单抗进行维持治疗,也是没有任何获益^[30]。最近,REMARC 的 3 期研究报告显示来那度胺作为维持治疗,可以使 DLBCL 患者获益^[31]。650 例 II~IV 期的 60~80 岁的 DLBCL 患者,其 aaIPI \geq 1,在前期的 R-CHOP 治疗中获得了完全或部分的效应,随机分组,一组给予 24 个月的来那度胺维持治疗,25 mg/d,连续给药 21 d,接下来 7 d 不给药,以 28 d 为一个周期;另一组则平行给予安慰剂。在中位 39 个月的随访中,来那度胺组的中位 PFS 没有到达,而安慰剂组则为 58.9 个月,两者的 HR 为 0.708(95% CI 0.537~0.922, $P < 0.05$);安慰剂组 2 年的 PFS 为 75%,来那度胺组则为 80%。这个治疗获益在所有亚组中都非常明确,尤其是 PET 阳性的患者。中位随访 52 个月,发现两者的 OS 差异无统计学意义。许多患者不能耐受治疗,36% 患者由于治疗毒性而不能持续进行维持治疗,72% 患者要求降低药物的维持剂量。来那度胺一线治疗时是作为 ABC 亚型的靶向药物,但作为维持治疗用药时,在 GCB 亚型中的效果反而更加显著,中位 PFS 为 61 个月,而安慰剂组只有 53 个月,两者之间差异显著;在非 GCB 亚型中,两组之间的差异不显著。目前,来那度胺的 PFS 优势没有转化成 OS 优势的原因尚不清楚,可能是由于这些患者的效应比较差,或者不能耐受接下来的治疗。有报道建议来那度胺维持治疗最适合 R-CHOP 诱导治疗结束后 PET 阳性的老人和那些不能耐受强化治疗的人。

7 免疫检查点抑制剂的临床应用

细胞毒 T 细胞程序性死亡受体 1(PD-1)是下调 T 细胞功能的关键抑制信号,为肿瘤免疫逃逸的机制之一。PD-L1 作为 PD-1 的配体,在 DLBCL 细胞表面表达,也在浸润性的非恶性细胞(主要是巨噬细胞)表面表达。全基因组测序分析显示,PD-L1/PD-L2 基因座位被鉴定为 DLBCL 中 IGH 基因易位的伙伴,PIM1 和 TP63 则被鉴定为 PD-L1/PD-L2 基因易位的新的伙伴^[32]。DLBCL 患者中,大约有 12% 发生了 PD-L1/PD-L2 基因功能增强突

变,3% 出现了扩增,4% 发生了易位。影响 PD-L1/PD-L2 基因座的细胞遗传学改变事件在非 GCB 亚型中更为常见。大量的 PD-1⁺ 的肿瘤浸润淋巴细胞存在,有利于提高 DLBCL 患者的 OS;血浆中存在高水平的循环 PD-L1 意味着 DLBCL 患者的不良 OS^[33]。R-CHOP 处理的 DLBCL 患者中,PD-L1⁺ 患者与高危 IPI、B 症状和非 GCB 亚型相关联,PD-L1⁺ DLBCL 的 OS 一般比 PD-L1⁻ 患者差^[34]。PD-1/PD-L1 轴促进了 DLBCL 的生存,对该轴的调控是重要的治疗靶标。PD-1 的人源化 IgG4 单抗 nivolumab 在 1 期试验中显示,针对 11 例 rrDLBCL,ORR 为 36%,其中 2 例获得完全缓解^[35]。PD-1 的另一个人源化 IgG4 单抗 pembrolizumab 联合 R-CHOP 目前正在早期临床试验中。

8 结语与展望

随着对疾病机制理解的深入,现已能够将 DLBCL 划分为不同的亚组,各个亚组具有不同的生物学和临床特征。目前,多个治疗靶标已经鉴定,针对不同致癌通路的新药正在临床试验中,其中的一些已经展现出了很大的希望。但是,在 DLBCL 治疗中,早期观察到的新药疗效往往不能转化成 3 期试验的临床获益。国际上非常关注新药联合 R-CHOP 的 3 期试验结果,但至今为止的结果都是令人失望的,原因很多,包括了患者选择问题和新药功效不足问题。由于进行分子分型需要花费一段时间,那些侵袭性强的患者并没有在随机试验阶段招募进来,而这些患者本来是最应该受益于新药治疗的群体。未来,应当不断完善生物标记物的鉴定方法,发展标准化的标本 COO 鉴定平台。R-CHOP 正在进化中,DLBCL 治疗的未来希望很大,但其治疗的金标准至今还是没有改变。

参考文献

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms[J]. *Blood*, 2016, 127: 2375-2390.
- [2] 黄耀慧, 赵维莅. 二代测序在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的应用[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(9): 694-698.
- [3] Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26: v116-v125.
- [4] Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling[J]. *Nature*, 2000, 403: 503-511.
- [5] Pfeifer M, Grau M, Lenze D, et al. PTEN loss defines a PI3K/AKT pathway-dependent germinal center subtype of diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 12420-12425.

- [6] Scott DW, Wright GW, Williams PM, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue [J]. *Blood*, 2014, 123: 1214 – 1217.
- [7] Reinholz MM, Thompson D, Botros I, et al. Next generation sequencing for DLBCL classification [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 11559.
- [8] Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 1993, 328: 1002 – 1006.
- [9] Cunningham D, Hawkes EA, Jack A, et al. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles [J]. *Lancet*, 2013, 381: 1817 – 1826.
- [10] Stiff PJ, Unger JM, Cook JR, et al. Autologous transplantation as consolidation for aggressive non-Hodgkin's lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369: 1681 – 1690.
- [11] Récher C, Coiffier B, Haioun C, et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2011, 378: 1858 – 1867.
- [12] Wilson WH, sin-Ho J, Pitcher BN, et al. Phase III randomized study of R-CHOP versus DA-EPOCH-R and molecular analysis of untreated diffuse large B-cell lymphoma: CALGB/Alliance 50303 [J]. *Blood*, 2016, 128: 496.
- [13] van Imhoff GW, McMillan A, Matasar MJ, et al. Ofatumumab versus rituximab salvage chemoimmunotherapy in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma; the ORCHARRD study [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 35: 544 – 551.
- [14] Zelenetz AD, Mobasher M, Costa LJ, et al. Safety and efficacy of obinutuzumab (GA101) plus CHOP chemotherapy in first-line advanced diffuse large B-cell lymphoma: results from the phase 2 gather study (GAO4915g) [J]. *Blood*, 2013, 122: 1820.
- [15] Vitolo U, Trněny M, Belada D, et al. Obinutuzumab or Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 3529 – 3537.
- [16] Jacobsen ED, Sharman JP, Oki Y, et al. Brentuximab vedotin demonstrates objective responses in a phase 2 study of relapsed/refractory DLBCL with variable CD30 expression [J]. *Blood*, 2015, 125: 1394 – 1402.
- [17] Budde LH, Halwani A, Yasenchak CA, et al. Results of an ongoing phase 2 study of brentuximab vedotin with Rchp as frontline therapy in patients with high-intermediate/high-risk diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) [J]. *Blood*, 2016, 128: 104.
- [18] Ruan J, Martin P, Furman RR, et al. Bortezomib plus CHOP-rituximab for previously untreated diffuse large B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 690 – 697.
- [19] Davies AJ, Barrans S, Masihman T, et al. Differential efficacy of bortezomib in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma (DLBL): a prospective randomised study stratified by transcriptome profiling; REMoDL-B [J]. *Hematol Oncol*, 2017, 35: 130 – 131.
- [20] Czuczman MS, Trněny M, Davies A, et al. Phase 2/3 multicenter, randomized, open-label study to compare the efficacy and safety of Lenalidomide versus Investigator's choice in patients with relapsed or refractory diffuse large B-Cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 4127 – 4137.
- [21] Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR, et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma: a phase II study [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 251 – 257.
- [22] Wilson WH, Young RM, Schmitz R, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma [J]. *Nat Med*, 2015, 21: 922 – 926.
- [23] Morschhauser F, Salles G, McKay P, et al. Interim report from a phase 2 multicentre study of tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphomas [J]. *Hematol Oncol*, 2017, 35: 24 – 25.
- [24] Lenz G, Hawkes E, Verhoef G, et al. Phase II study of single-agent copanlisib in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 7536.
- [25] Johnston PB, LaPlant B, McPhail E, et al. Everolimus combined with R-CHOP-21 for new, untreated, diffuse large B-cell lymphoma (NCCTG 1085 [Alliance]): safety and efficacy results of a phase 1 and feasibility trial [J]. *Lancet Haematol*, 2016, 3: e309 – e316.
- [26] Davids MS, Roberts AW, Seymour JF, et al. Phase I first-in-human study of venetoclax in patients with relapsed or refractory non-Hodgkin lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 826 – 833.
- [27] Zelenetz AD, Salles G, Mason KD, et al. Results of a phase Ib study of venetoclax plus R- or G-CHOP in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. *Blood*, 2016, 128: 3032.
- [28] Crump M, Leppä S, Fayad L, et al. Randomized, double-blind, phase III trial of enzastaurin versus placebo in patients achieving remission after first-line therapy for high-risk diffuse large B-cell lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34: 2484 – 2492.

- [29] Witzig TE, Tobinai K, Rigacci L, et al. PILLAR-2: A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of adjuvant everolimus (EVE) in patients (pts) with poor-risk diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34:7506.
- [30] Jaeger U, Trneny M, Melzer H, et al. Rituximab maintenance for patients with aggressive B-cell lymphoma in first remission; results of the randomized NHL13 trial[J]. *Haematologica*, 2015, 100:955-963.
- [31] Thieblemont C, Tilly H, Gomes da Silva M, et al. Lenalidomide maintenance compared with placebo in responding elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with first-line rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35:2473-2481.
- [32] Georgiou K, Chen L, Berglund M, et al. Genetic basis of PD-L1 overexpression in diffuse large B-cell lymphomas[J]. *Blood*, 2016, 127:3026-3034.
- [33] 金静霞, 郑翠苹, 陈丽雅, 等. PD-1、PD-L1 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤组织中的差异性表达及其临床意义[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(1):34-37.
- [34] Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2015, 126:2193-2201.
- [35] Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, et al. Nivolumab in patients with relapsed or refractory hematologic malignancy: preliminary results of a phase Ib study [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34:2698-2704.

(收稿日期:2018-01-22)

流式细胞术对急性髓系白血病微小残留病的检测及研究进展

霍莹莹¹ 李艳¹

[关键词] 流式细胞术;急性髓系白血病;微小残留病灶;风险评估

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2018.11.017

[中图分类号] R733.71 [文献标志码] A

Detection and the progress of the minimal/measurable residual disease in acute myeloid leukemia with the method of flow cytometry

Summary Acute myeloid leukemia (AML) is a series of highly heterogeneous neoplasm, with the development of detections, whose current therapeutic goal is to realize molecular remission to prolong overall survival. Approximately 40% to 65% AML patients will subsequently relapse because of the residual leukemia cells termed minimal/measurable residual disease (MRD) appearing in bone marrow and peripheral blood. The techniques include flow cytometry (FCM), fluorescence in situ hybridization (FISH), quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR), next-generation sequencing technology (NGS) and so on. However, FISH and qPCR can sensitively identify PML-RAR α fusion gene in the diagnosis of 90% acute promyelocytic leukemia (APL) and has been applied to detect MRD widely. While in AML (not including APL), the methods of MRD are in no agreement. This paper reviews the progress of FCM, the most prevailing detection, in MRD assessment among AML (not including APL) patients.

Key words flow cytometry; acute myeloid leukemia; minimal/measurable residual disease; risk assessment

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一类以造血干细胞分化减弱、克隆增殖、原始细胞大量聚集为特点的血液系统恶性肿瘤, 与其他血液系统恶性肿瘤相比, AML 近几十年仍无关键性药物被批准使用并从中获益, 治疗上始终是以蒽环类药物为主的经典“7+3”诱导治疗方案^[1]。

微小残留病灶 (minimal/measurable residual disease, MRD) 这一概念于 20 世纪 90 年提出, 解答了完全缓解的患者再次复发的根本原因, 并根据这一概念建立了 MRD 预后评估。流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 是一项高敏感性及特异性的检测技术, 在淋巴瘤、骨髓瘤中的诊断意义较为明确^[2-3], 在 AML 中却无统一标准, 但多个研究中心均已证实了 MRD 与 AML 预后的相关性^[4-5]。本文拟对 FCM 检测 AML 患者 MRD 的技术方法、时间点、

¹ 中国医科大学附属第一医院血液科 (沈阳, 110000)
通信作者: 李艳, E-mail: liyan2@medmail.com.cn