

论著·临床研究

儿童急性髓系白血病中血清生长分化因子 15 的表达水平与预后关系的研究^{*}

单新洁¹, 祁晓婷²

(1. 新疆维吾尔自治区儿童医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830001; 2. 新疆维吾尔自治区人民医院临检中心, 新疆乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 探究儿童急性髓系白血病(AML)中血清生长分化因子 15(GDF15)的表达水平与预后的关系。方法 对 2012 年 1 月至 2014 年 8 月在新疆维吾尔自治区人民医院治疗的 94 例 AML 患儿进行前瞻性分析和随访,并选择体检健康儿童 100 例作为对照组,比较 AML 患儿治疗前后血清 GDF15 的表达水平,分析死亡与生存患儿临床资料间的差异,应用多因素 Cox 回归模型探究影响 AML 患儿预后的独立危险因素,并应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评估对预后的预测价值。结果 AML 患儿治疗前后血清 GDF15 水平均显著高于对照组($P<0.05$),治疗后 AML 患儿血清 GDF15 水平较治疗前显著下降($P<0.05$)。随访中发生全因死亡 33 例,死亡组治疗后血清 GDF15 水平、中枢神经系统白血病(CNSL)发生率明显高于生存组($P<0.05$),首疗程完全缓解(CR)率显著低于生存组($P<0.05$)。治疗后血清 GDF15、发生 CNSL 是 AML 患儿预后的独立危险因素($HR=28.959, 12.284, P=0.000, 0.005$),首疗程 CR 是 AML 患儿预后的独立保护因素($HR=0.174, P=0.006$)。治疗后血清 GDF15 预测 AML 患儿预后的 ROC 曲线下面积(AUC)显著高于发生 CNSL 及首疗程 CR($Z=2.179, 2.031, P=0.029, 0.042$),其最佳临界值为 ≥ 406.351 ng/mL,灵敏度和特异度分别为 97.88%和 69.23%。结论 AML 患儿治疗后血清 GDF15 是影响其预后的独立危险因素,并对患儿预后具有较高的预测价值。

关键词:急性髓系白血病; 血清生长分化因子 15; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.21.018

中图法分类号:R725.5

文章编号:1673-4130(2019)21-2633-04

文献标识码:A

Study on the relationship between the expression of serum growth differentiation factor 15 and prognosis in children with acute myeloid leukemia^{*}

SHAN Xinjie¹, QI Xiaoting²

(1. Department of Clinical Laboratory, the Xinjiang Uygur Autonomous Region Children's Hospital, Urumqi, Xinjiang 830001, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi, Xinjiang 830001, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of serum growth differentiation factor 15(GDF15) in children with acute myeloid leukemia (AML) and its relationship with prognosis. **Methods** A prospective analysis and follow-up of 94 AML children treated in People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region from January 2012 to August 2014 were carried out. A total of 100 healthy children were selected as control group. The expression levels of serum GDF15 in AML children before and after treatment were compared. The differences between clinical data of death and survival children were analyzed. The uniqueness of prognosis of AML children was explored by using multivariate Cox regression model. Risk factors were established and the predictive value of prognosis were evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC curve). **Results** The serum GDF15 level of AML children before and after treatment was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$), and the serum GDF15 level of AML children after treatment was significantly lower than that before treatment ($P<0.05$). There were 33 all-cause deaths during follow-up. The serum levels of GDF15 and the incidence of central nervous system leukemia(CNSL) in the death group were significantly higher than those in the survival group ($P<0.05$), and the complete remission (CR) rate in the first course of

^{*} 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2015D01C129)。

作者简介:单新洁,女,主管技师,主要从事免疫学检验方面的研究。

本文引用格式:单新洁,祁晓婷.儿童急性髓系白血病中血清生长分化因子 15 的表达水平与预后关系的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(21): 2633-2636.

treatment was significantly lower than that in the survival group ($P < 0.05$). Serum GDF15 and CNSL after treatment were independent risk factors for the prognosis of AML children ($HR = 28.959, 12.284, P = 0.000, 0.005$). CR during the first course of treatment was an independent protective factor for the prognosis of AML children ($HR = 0.174, P = 0.006$). After treatment, the area under ROC curve (AUC) of serum GDF15 in predicting the prognosis of AML was significantly higher than that of CNSL and CR in the first course ($Z = 2.179, 2.031, P = 0.029, 0.042$). The optimal threshold value was ≥ 406.351 ng/mL, with sensitivity and specificity of 97.88% and 69.23%, respectively. **Conclusion** Serum GDF15 is an independent risk factor affecting the prognosis of AML children after treatment, and has a high predictive value for the prognosis of AML children.

Key words: acute myeloid leukemia; serum growth differentiation factor 15; prognosis

急性髓系白血病(AML)在儿童恶性疾病中较为常见,约占所有儿童白血病的 30%^[1],其本质是髓系造血干细胞/祖细胞的恶性增殖,临床检查以骨髓及外周血中原始和幼稚细胞异常增生为主^[2]。目前,儿童 AML 的治疗主要手段包括化疗及造血干细胞移植^[3],其中针对化疗耐药性的研究已成为近年来 AML 研究热点^[4]。血清生长分化因子 15(GDF15)是人体内一种重要的信号转导分子,其在炎症反应、风湿类疾病中具有较高表达,近来有报道发现^[5],GDF15 参与了 AML 患者骨髓微环境的改变,且在不同化疗反应的患者中具有不同表达水平,这可能与 AML 细胞的化疗抵抗性有关,但其对于 AML 患儿的远期预后价值尚不十分明确。为此,对新疆维吾尔自治区人民医院 94 例 AML 患儿进行了一项前瞻性研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为 2012 年 1 月至 2014 年 8 月在新疆维吾尔自治区人民医院诊断及治疗的 AML 患儿。纳入标准:(1)符合《NCCN 临床实践指南:急性髓系白血病》^[6]中的诊断标准;(2)于新疆维吾尔自治区人民医院完成全部诊断及治疗过程;(3)确诊时为新发患儿,且年龄 <14 周岁;(4)未接受造血干细胞移植。排除标准:(1)无法耐受相关治疗而终止治疗者;(2)治疗依从性差,随访不配合者;(3)既往存在血液及骨髓其他疾病者。共纳入 94 例 AML 患儿,归为 AML 组,AML 组男 48 例,女性 46 例,平均年龄(7.21 ± 3.31)岁;另取同时段、同年龄段的体检健康者 100 例作为对照组,对照男 52 例,女 48 例,平均年龄(7.75 ± 2.81)岁。2 组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准,2 组的儿童及其家属对研究知情并签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 低速离心机(购自中国北京时代北利,型号 LD5-2A),低温医用冰箱(购自日本三洋,型号 MDF-C8V),全自动酶标仪(购自美国 Bio-Rad,型号 450),人 GDF15 酶联免疫吸附测定试剂盒(购自美国 R&D 公司,批号 EH150)等。

1.3 方法

1.3.1 治疗方案 对于诱导缓解治疗依据 AML-XH-99 危险度分类进行分层治疗^[7]:中低危患儿使用

DAE(柔红霉素、阿糖胞苷、足叶乙甙)、HAD(高三尖杉酯碱、阿糖胞苷、柔红霉素)、HAE(高三尖杉酯碱、阿糖胞苷、足叶乙甙)中任一方案,急性早幼粒细胞性白血病(M3)患儿使用 ATRA(全反式维甲酸)联合 DA(柔红霉素、阿糖胞苷)方案,高危患儿使用 IA(去甲氧柔红霉素、阿糖胞苷)方案。

1.3.2 观察指标 (1)血清 GDF15 的表达水平:AML 组于诱导缓解治疗前后,对照组于正常体检抽取清晨空腹静脉血 3 mL,2 500 r/min 离心分离血清,置于 -70 °C 保存,使用人 GDF15 酶联免疫吸附法试剂盒检测 GDF15 水平。比较 AML 组治疗前后及对照组血清 GDF15 水平。(2)AML 患儿预后情况及临床资料:根据病案信息每 2 个月对患儿进行 1 次随访,终点事件为全因死亡。随访时间为 48 个月,随访截止于 2018 年 8 月 31 日,统计 AML 患儿的生存和死亡情况。统计生存和死亡组患儿治疗前后的血清 GDF15 水平,治疗首次疗程达到完全缓解(CR)和发生中枢神经白血病(CNSL)的例数,及以骨髓细胞形态按 FAB 分类的 $M_0 \sim M_7$ 亚型例数,并分析不同预后患儿临床资料间的差异。(3)AML 患儿预后的影响因素:应用多因素 Cox 回归模型分析影响 AML 患儿预后的独立危险因素,并应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评估不同指标对预后的预测价值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 进行数据处理,计数资料以 $n(\%)$ 表示,使用 χ^2 检验进行比较。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,2 组比较使用独立样本 t 检验,同组比较采用配对 t 检验。多因素 Cox 回归分析探究影响预后的危险因素,ROC 曲线评价相关指标对预后的预测效能,Log rank 检验计算风险比。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组及 AML 组治疗前后血清 GDF15 的表达水平 AML 患儿治疗前后血清 GDF15 水平均显著高于对照组($P < 0.05$),治疗后 AML 患儿血清 GDF15 水平明显低于治疗前($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同预后情况 AML 患儿临床资料间的对比 在为期 48 个月的随访中,共发生全因死亡 33 例,死亡组治疗后血清 GDF15 水平、CNSL 发生率明显高于生存组(均 $P < 0.05$),首疗程 CR 率显著低于生存组($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 2 组治疗前后血清 GDF15 的表达水平($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	时间	GDF15 (pg/mL)
对照组	100	体检时	256.81±53.18
AML 组	94	治疗前	557.84±87.19
		治疗后	398.93±74.65
F			170.057
P			0.000

表 2 不同预后情况 AML 患儿临床资料间的对比				
临床指标	死亡组 (n=33)	生存组 (n=61)	t/χ ²	P
血清 GDF15 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)				
治疗前	558.54±79.93	556.63±83.49	0.746	0.458
治疗后	457.83±80.76	367.03±71.54	3.661	0.001
发生 CNSL[n(%)]	23(69.69)	27(44.26)	5.564	0.018
首疗程 CR[n(%)]	13(39.39)	40(65.57)	5.968	0.015
FAB 分型[n(%)]				
M ₀	5(15.15)	2(3.28)	1.793	0.970
M ₁	4(12.12)	7(11.48)		
M ₂	9(27.27)	12(19.67)		
M ₃	1(3.03)	14(22.95)		
M ₄	4(12.12)	7(3.85)		
M ₅	3(9.09)	6(11.48)		
M ₆	3(9.09)	8(13.11)		
M ₇	4(12.12)	5(8.20)		

2.3 影响 AML 患儿预后的 Cox 回归分析 治疗后血清 GDF15、发生 CNSL 是 AML 患儿预后的独立危险因素,首疗程 CR 是 AML 患儿预后的独立保护因素。见表 3。

表 3 影响 AML 患儿预后的多因素 Cox 回归分析						
因素	B	标准误	Wald	P	HR	95%CI
治疗后血清 GDF15	3.366	0.536	39.412	0.000	28.959	10.126~82.824
发生 CNSL	1.726	0.464	28.532	0.005	12.284	4.919~53.774
首疗程 CR	-1.751	0.642	7.440	0.006	0.174	0.049~0.611

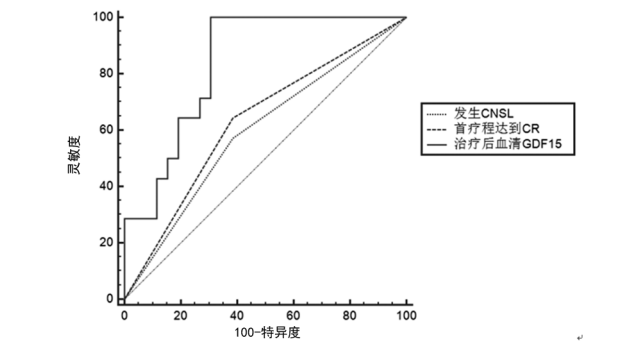


图 1 不同指标预测 AML 患儿预后的 ROC 曲线

2.4 不同指标预测 AML 患儿预后的 ROC 曲线

治疗后血清 GDF15 预测儿童 AML 预后的 ROC 曲线下面积(AUC)显著高于发生 CNSL 及首疗程 CR ($Z=2.179、2.031, P=0.029、0.042$),其最佳截点为 ≥ 406.351 ng/mL,灵敏度和特异度分别为 97.88%和 69.23%。见图 1。

3 讨 论

儿童 AML 的发病机制尚不完全明确,目前较为认同的观点为包括遗传易感性及外界环境暴露在内的二次打击是 AML 发生的关键^[8]。目前,针对儿童 AML 的治疗已有了显著进步,这主要得益于治疗前危险度分级、针对性的治疗方案、疾病活动监测、适时的造血干细胞移植等^[9],但 AML 患儿的诱导缓解阶段的治疗效果仍不够理想,这严重影响了患儿预后,目前针对白血病对化疗药物的耐受已成为研究热点并取得了一些成功,且有可能成为新的治疗 AML 的靶点。

GDF15 为转化生长因子 β 中的一员,属于外分泌型蛋白,其功能包括胚胎发育、伤口愈合、细胞趋化等多方面,主要通过细胞表面的受体信号转导途径发挥作用^[10]。GDF15 在实体瘤中高表达较为常见,可促进肿瘤的发生和发展。血清 GDF15 水平在肿瘤中也显示了潜在的临床应用价值,相关研究表明血清 GDF15 水平与结肠癌和子宫内膜癌的进展和预后有关^[11-12],有望成为独立预测指标。但目前关于儿童 AML 血清 GDF15 的研究较少,鉴于此,本研究分析了 AML 儿童诱导缓解治疗前后血清 GDF15 表达水平及其与临床预后的关系。

本研究通过对 94 例 AML 患儿及 100 例健康同龄儿童血清 GDF15 进行分析,结果显示,AML 患儿治疗前后的血清 GDF15 均显著高于对照组,表明 AML 患儿白血病细胞会分泌大量 GDF15。有研究显示,AML 患儿骨髓中存在癌相关成纤维细胞,其分泌的成纤维细胞特异蛋白、平滑肌肌动蛋白使得 AML 患儿骨髓发生过度网状纤维化^[13],这种改变与治疗中较高的复发率及病死率有关,同时体外试管实验表明上述网状纤维化能够从化疗中保护白血病细胞(THP-1/K56 系),且上述效应可以被 GDF15 抗体或 GDF15 基因敲除所抑制^[14],证明白血病细胞确实能够分泌 GDF15,且与白血病骨髓过度纤维化及化疗的抗药性有关。本研究还显示,AML 患儿的血清 GDF15 在治疗后有显著下降,但仍高于对照组,可见通过化疗能够显著降低患儿 GDF15 的表达,但有患儿治疗后仍存在一定程度的高表达,这可能是远期转移及预后不良的重要因素。

通过对 94 例儿童 AML 患儿进行为期 48 个月的随访,共发生死亡事件 33 例,对比死亡患儿与生存患儿的临床资料结果显示,死亡组具有更高的治疗后血清 GDF15 水平及更高的 CNSL 发生率,同时在首次疗程达到 CR 的人数更少。多因素 Cox 回归分析显示,治疗后血清 GDF15 及发生 CNSL 是 AML 患儿

预后不佳的独立危险因素,首次疗程达到 CR 是其独立保护因素。LERNER 等^[15]的研究表明,白血病细胞不止表达高水平的 GDF15 相关 RNA,同时也分泌大量 GDF15 因子。通过化疗能一定程度抑制白血病细胞生成 GDF15,减缓骨髓中正常脂肪细胞的转化,LU 等^[16]研究也证明了体外培养中的白血病细胞在与添加了 GDF15 的小骨髓脂肪细胞共同培养时的增殖及扩散的速度更快,这可能是诱导缓解治疗后血清 GDF15 水平较高及患儿预后较差的原因。通过 ROC 曲线对比不同指标预测 AML 患儿预后的差异,结果显示,治疗后血清 GDF15 预测 AML 患儿预后的 AUC 明显高于发生 CNSL 及首次疗程达到 CR 的 AUC,以最佳临界值(406.351 ng/mL)预测患儿 4 年生存的灵敏度为 97.88%,具有较好的预测价值。CHEN 等^[17]研究表明 AML 患儿对化疗药物的反应性与其预后存在直接相关性。治疗后较高的血清 GDF15 可以通过激活相关信号转导通路加快骨髓组织的过度网状纤维化,同时促进恶性细胞的增殖、扩散及转移,这与 LI 等^[18]的体外研究结果显示 GDF15 能促进宫颈癌细胞增殖的结果相似。

4 结 论

综上所述,AML 患儿具有较高的血清 GDF15 水平,治疗后血清 GDF15 是影响其预后的独立危险因素,并对患儿预后判断具有较高的价值。

参考文献

- [1] ZWAAN C M, KOLB E A, REINHARDT D A, et al. Collaborative efforts driving progress in pediatric acute myeloid leukemia[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(27):2949-2962.
- [2] BUNACIU R P, MACDONALD R J, GAO F, et al. Potential for subsets of wt-NPM1 primary AML blasts to respond to retinoic acid treatment[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(3):4134-4149.
- [3] DÖHNER H, ESTEY E, GRIMWADE D, et al. Diagnosis and management of AML in adults; 2017 ELN recommendations from an international expert panel[J]. *Blood*, 2017, 129(4):424-447.
- [4] XIA B, TIAN C, GUO S Q, et al. C-Myc plays part in drug resistance mediated by bone marrow stromal cells in acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Res*, 2015, 39(1):92-99.
- [5] UCHIYAMA T, KAWABATA H, MIURA Y, et al. The role of growth differentiation factor 15 in the pathogenesis of primary myelofibrosis[J]. *Cancer Med*, 2015, 4(10):1558-1572.
- [6] O'DONNELL M R, TALLMAN M S, ABOUD C N, et al. Acute myeloid leukemia, version 3. 2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(7):926-957.
- [7] VORA A, GOULDEN N, MITCHELL C, et al. Augmented post-remission therapy for a minimal residual disease-defined high-risk subgroup of children and young people with clinical standard-risk and intermediate-risk acute lymphoblastic leukaemia (UKALL 2003): a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(8):809-818.
- [8] 黄赛, 冯聪, 李艳, 等. t(8;21)白血病的发病机制及二代测序技术在白血病中的应用进展[J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(5):472-476.
- [9] 沈树红. 儿童急性髓细胞白血病诊断治疗进展[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2016, 31(3):165-171.
- [10] ALTENA R, FEHRMANN R S, BOER H, et al. Growth differentiation factor 15 (GDF-15) plasma levels increase during bleomycin- and Cisplatin-Based treatment of testicular cancer patients and Relate to endothelial damage[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1):1-15.
- [11] WANG J Y, LI W F, WANG Y Q, et al. The H6D genetic variation of GDF15 is associated with Genesis, progress and prognosis in colorectal cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2015, 211(11):845-850.
- [12] STAFF A C, TROVIK J, ERIKSSON A G, et al. Elevated plasma growth differentiation factor-15 correlates with lymph node metastases and poor survival in endometrial cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14):4825-4833.
- [13] SALCI K R, LEE J H, LARONDE S, et al. Cellular reprogramming allows generation of autologous hematopoietic progenitors from AML patients that are devoid of patient-specific genomic aberrations[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(6):1839-1849.
- [14] ZHAI Y M, ZHANG J, WANG H, et al. Growth differentiation factor 15 contributes to cancer-associated fibroblasts-mediated chemo-protection of AML cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1):147-159.
- [15] LERNER L, TAO J L, LIU Q, et al. MAP3K11/GDF15 axis is a critical driver of cancer cachexia[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2016, 7(4):467-482.
- [16] LU W, WAN Y, LI Z Q, et al. Growth differentiation factor 15 contributes to marrow adipocyte remodeling in response to the growth of leukemic cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):66-76.
- [17] CHEN B, LEE J B, KANG H, et al. Targeting chemotherapy-resistant leukemia by combining DNT cellular therapy with conventional chemotherapy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):88-99.
- [18] LI S, MA Y M, ZHENG P S, et al. GDF15 promotes the proliferation of cervical cancer cells by phosphorylating AKT1 and Erk1/2 through the receptor ErbB2[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):80-94.

(收稿日期:2019-03-02 修回日期:2019-05-14)