

与国际标准一致的 BCR/ABL1 检测

——一种用于慢性粒细胞白血病的“万能型”伴随诊断

Justin Brown 曹冬华

(美国Asuragen公司, 美国奥斯汀 78744)

doi:10.3969/j.issn.1674-0319.2014.02.005

CDx在中国的市场规模

1998年, 美国Genentech公司上市了一种新药赫赛汀 (Herceptin®) 用于治疗乳腺癌, 标志着个体化医疗新时代的开始。这种药物专门为有某些遗传特征的病人设计。时至今日, 尽管个体化医疗的概念已被广泛接受, 但对于大多数人来说, 这更像是一个理想化的术语。医药工业中的高成本和高风险是一个尽人皆知的“秘密”。因此, 准确地说, 什么能使个体化医疗成为可能? 答案是伴随诊断 (companion diagnostics, CDx)。伴随诊断是通过分析病人带有遗传信息的生物学样本用以指导疾病的个体化治疗。从病人的角度分析, 可将其当成是一种预筛查的过程, 即通过先进的分子诊断方法, 从普通病人群体中选择一个小的病人样本群可能对随后的治疗有较好的应答。

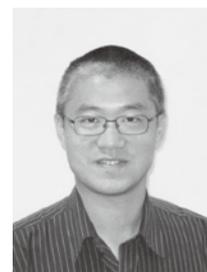
依照这种趋势, 不可避免地在医药工业和诊断工业之间出现了巨大的、前所未有的合作。一个典型的例子是在

2013年9月12日, Roche Diagnostics宣布, 其Ventana Alk IHC检测作为一种伴随诊断获得中国国家食品药品监督管理总局 (CFDA) 的批准。这种CDx将有助于筛查对辉瑞 (Pfizer) 的Xalkori®有较好应答的病人。这个项目包含了一个来自3家医院的1100位病人的回顾性研究。结果证明, Ventana Alk IHC与雅培 (Abbott) 的Vysis Alk Break Apart FISH显示出令人惊奇的高度一致性 (99.23%)。由此可以预见, 在不远的将来, 每一种新药, 特别是抗癌药物的上市, 将伴随一种相应的分子诊断方法的诞生。两者的完美组合将使病人的获益最大化。数据显示, 2010年, 中国整个IVD (体外诊断试剂) 的市场规模为2.07亿美元, 尽管分子诊断试剂的比例不大, 仅占当前市场份额的5%。然而, 其平均年增长率达到20%以上, 是世界水平的两倍 (数据来源: Inspection World Network, 2013-11-27)。分子和伴随诊断市场将强烈刺激中国医药工业的快速发展, 两者的良好互动和共同发展是中国医疗卫生行业发



作者简介

Justin Brown, 博士, 现任美国Asuragen公司资深科学家。在体外诊断试剂产品研发领域具有丰富的经验, 在囊性纤维化疾病基因筛查和BCR/ABL1 试剂盒的研发方面成绩卓著。



作者简介

曹冬华, 现任美国Asuragen亚洲区运营经理, 负责公司在整个亚洲地区的市场与销售。曾先后担任美国礼来制药公司微生物学家和美国印第安纳大学研究分析师等职务。

E-mail: jcao@asuragen.com



展的机遇。

持续准确监测BCR-ABL1的水平 为何对CML如此重要？

慢性粒细胞白血病（CML）是一种白血细胞癌，开始于骨髓中的干细胞，但与常见的实体肿瘤不同，CML细胞在血流中到处循环。虽然，BCR-ABL1融合基因检测尚未被任何监管机构批准作为治疗CML的CDx，但其持续监测的重要性已被广泛证实，并被美国国立综合癌症网络（NCCN）和欧洲白血病网络（ELN）指导原则所接受。

CML的一个典型生物标记物是费城染色体（Ph+）——人体9号染色体和22号染色体之间的一种易位，在超过90%的CML病人身上发现存在这种易位。这种遗传变异会产生出大量的BCR-ABL1融合转录物（或被称为融合基因），这种融合基因随即被翻译成一种融合蛋白，即酪氨酸激酶。正是该蛋白质促使白血病白细胞的放任增殖。如果存在易位，在病人的血液或骨髓中均可以检测到BCR-ABL1融合基因，所以其可作为重要的诊断和预后标记物，以帮助监控该疾病。对于接受酪氨酸激酶抑制剂（TKI）治疗的病人，治疗指导原则推荐应定期检测病人血液中的BCR-ABL1融合基因水平，以监控治疗响应。定量测量血液中的BCR-ABL1融合基因非常

重要，因为25%~30%的病人将转变为耐药，或不能耐受第一次处方的TKI。美国FDA已批准多个TKI，如伊马替尼、达沙替尼、尼洛替尼和伯舒替尼等，用于治疗多种形式的CML。对于靶向治疗后病情持续发展的病人，还出现了其他替代疗法。Asuragen公司的检测旨在监测当病人接受TKI治疗时的响应。

目前中国的CML发病规模

一份源于1986年的旧统计显示，慢性粒细胞白血病在中国的发病率是每100 000成年人中有0.4例。然而，最近的新闻指出，现在中国每年有近10 000个新发病例，这样总的患病人群大约为100 000病人。因为没有官方统计显示正在接受治疗的病人比例，乐观地假定为70%。由此可以推断大约有70 000位病人正在接受治疗，并且积极地通过分子试验监控BCR-ABL1融合基因的水平。在美国，NCCN治疗指导原则推荐病人每3个月接受一次检测。这项数据在中国转换为每年大约共需要280 000个检测。在未来5年，这项检测可以预见的年增长率大约为10%~12%。

Asuragen公司的BCR/ABL1定量 试剂盒的特点

慢性期Ph+ CML的监测是一个与临床相关的问题。染色体易位的分子

特征提供一种独特的工具，可用于白血病人监控和治疗管理。Asuragen公司的BCR/ABL1试剂盒不是传统意义上的CDx，因为其不旨在与某个单个的治疗药物配对。相反，Asuragen公司的试剂盒旨在监测病人在接受任何上述的多种治疗药物治疗时的反应。采用传统的细胞遗传学监控肿瘤负荷通常仅用于评估CML病人对治疗的反应。然而，对于处在慢性期CML病人一线治疗的监测，只能使用更加灵敏的定量PCR方法。残留病灶监测通常采用通过比较在治疗过程中所采取的样本中BCR-ABL1融合基因与内参基因的方法。

BCR-ABL1融合基因水平（显著分子生物学反应或MMR）下降至少3个对数即指示疾病缓解^①。下降4~5个对数（且有时已“检测不到”）在过去被定义为完全分子生物学反应（CMR），而现在按其分子反应对数减少（MR4、MR4.5或MR5）命名。这种分类尚未明确定义，但其重要意义将在以后显示。特别是，持续CMR已被提议作为有可能允许中断TKI的一种临床里程碑。

监测重要BCR-ABL1断裂点已被IRIS试验临床验证，且在12个月内监测的MMR速率已在ENEST试验中确认为主要终点。推荐使用RT-qPCR进行定期BCR-ABL1融合基因检测，以监测CML病人的治疗反应，也已

被正式引进，且被纳入了公认的治疗指导原则。当前用于监测的许多测试的敏感性不够，不能检测位于MMR之下的BCR-ABL1水平，这在不远的将来会变得非常重要，因为在新的、更强效的TKI治疗中可以观察到更显著的治疗反应。

如何应对BCR/ABL1检测的挑战

BCR-ABL1融合基因的定量测定协议最初依赖于实验室间残存临床样本的交换以及实验室特异转换因子(CF)的确立和验证^{②③}。这种方法在大约50%的实验室中已被证明能提高MMR的一致率，然而，其仍受限于实验室内和实验室间的差异，并且缺乏全世界所有实验室可共享的一套标准品。为解决这个矛盾，世界卫生组织(WHO)提供了可以用于RQ-PCR定量BCR-ABL1 mRNA的原始国际遗传标准品给了部分实验室和试剂生产厂商^④。这些原始标准品为已冻干并经专业国际标准(IS)标准化实验室重复测试以确定分配至每个样本的IS百分比的细胞系稀释液。为在全球范围内进一步促进IS的传播，Asuragen公司开发并验证了锚定于WHO原始标准品的4个不同水平参考值的二级标准品。该标准品由可耐核酸酶、稳定并可追踪的合成盔甲RNA Quant (ARQ)分子组成。一项大型的多中心研究证明，ARQ IS二级标准品可重复生产，可交换使用，并能通过实验室特异校正参数(CP)的

导出，使世界各地不同试验室中的RQ-PCR方法与IS取得一致^⑤。

Asuragen公司的ARQ IS二级标准品的优势

二级标准品也可用于实验室间的比较研究，例如，用于评估确切的RQ-PCR方法的线性度、敏感性和准确性。在最近的一项设计为单盲的外部质量评估(EQA)研究中，ARQ IS二级标准品在欧洲的5个国家15个临床实验室中试验。数据显示，尽管实验室间的原始百分比比率差别较大，CF和CP方法都可以作为有效的IS标准化方法。该研究目前已提交供专业杂志发表，其研究结果支持在最初开发原始和二级标准品时设定的目标，即促进IS在全世界的使用。重要的是，ARQ IS二级标准品提高了BCR-ABL1定量测量的准确度和精确度，包括处于残留疾病的较低水平，这将最终进一步促进CML病人的管理。

随着开发基于WHO原始标准品的二级标准品，Asuragen公司已克服了全球推广IS的主要障碍。二级标准品现在已经广泛地销售并应用于各种商用和实验室开发的BCR-ABL1检测方法。我们相信，Asuragen公司的BCR/ABL1试剂盒和二级标准品对中国CML病人的治疗将有重要影响，并满足在治疗过程中对测量血液中的BCR-ABL1融合基因水平临床稳定和可靠测试的需要，促进对随时间变化的白血病负荷的评估。

① 参考文献

Baccarani M, Deininger M W, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*, 2013, 122(6): 872-884.

② 参考文献

Branford S, Fletcher L, Cross N C, et al. Desirable performance characteristics for BCR-ABL measurement on an international reporting scale to allow consistent interpretation of individual patient response and comparison of response rates between clinical trials. *Blood*, 2008, 112(8): 3330-3338.

③ 参考文献

Muller M C, Cross N C, Erben P, et al. Harmonization of molecular monitoring of CML therapy in Europe. *Leukemia*, 2009, 23(11): 1957-1963.

④ 参考文献

White H E, Matejtschuk P, Rigsby P, et al. Establishment of the first World Health Organization International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood*, 2010, 116(22): e111-e117.

⑤ 参考文献

White H E, Hedges J, Bendit I, et al. Establishment and validation of analytical reference panels for the standardization of quantitative BCR-ABL measurements on the international scale. *Clin Chem*, 2013, 59(6): 938-948.