

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.01.003

论著 · 临床研究

儿童重型 / 超重型再生障碍性贫血免疫抑制治疗后 克隆演变的临床特征分析

章婧嫻 刘天峰 常丽贤 陈霞 任媛媛 孙聪聪 刘超 安文彬 万扬
陈晓娟 杨文钰 王书春 郭晔 邹尧 陈玉梅 竺晓凡*

(中国医学科学院北京协和医学院血液病医院 / 血液学研究所 / 儿童血液病诊疗中心, 天津 300020)

【摘要】 目的 探讨儿童重型 / 超重型再生障碍性贫血 (SAA/VSAA) 免疫抑制治疗 (IST) 后发生克隆演变患儿的临床特征及克隆演变发生的危险因素。**方法** 回顾性分析 231 例初诊并接受 IST 的 SAA/VSAA 患儿临床资料, 统计 IST 后克隆演变的发生率, 并分析克隆演变的危险因素。**结果** 231 例患儿的 5 年总体生存率为 82.7%, 其中 18 例早期死亡, 213 例进行疗效评价。231 例患儿初诊时 14 例 (7.4%) 检测到至少 2 个中期分裂象的染色体异常, 95 例患者外周血粒细胞或红细胞可检测到 PNH 克隆。213 例进行疗效评价的患者中 15 例发生 IST 后克隆演变, 其中包括 MDS/AML 和 7 号染色体缺失在内的不良克隆演变 10 例, 以及 PNH 及 +8 染色体异常的良性克隆演变 5 例; IST 后良性克隆演变与不良克隆演变的 5 年累积发生率为 $(2.2 \pm 2.2)\%$ 与 $(4.8 \pm 3.3)\%$; 至末次随访, 良性与不良克隆演变患儿分别 100% (5/5) 与 50% (5/10) 存活。初诊 WBC $>3.5 \times 10^9/L$ 、CD3⁺T 细胞 / 淋巴细胞比值 $>80\%$ 、抗胸腺细胞球蛋白每日剂量 $>3.0 \text{ mg/kg}$ 及 IST 后 6 个月的治疗反应与不良克隆演变发生相关, 其中 CD3⁺T 细胞 / 淋巴细胞 $>80\%$ 和 IST 后 6 个月的治疗无反应为独立影响因素。**结论** SAA/VSAA 患儿初诊淋巴细胞亚群 CD3⁺T 细胞 / 淋巴细胞比值显著增高或 IST 早期反应不良与 IST 远期发生不良克隆演变相关, 尽早识别发生不良克隆演变的高危患儿对于制定合理的诊疗决策至关重要。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(1): 27-33]

【关键词】 重型 / 超重型再生障碍性贫血; 免疫抑制治疗; 克隆演变; CD3⁺T 细胞; 儿童

Clinical characteristics of clonal evolution after immunosuppressive therapy in children with severe/very severe aplastic anemia

ZHANG Jing-Liao, LIU Tian-Feng, CHANG Li-Xian, CHEN Xia, REN Yuan-Yuan, SUN Cong-Cong, LIU Chao, AN Wen-Bin, WAN Yang, CHEN Xiao-Juan, YANG Wen-Yu, WANG Shu-Chun, GUO Ye, ZOU Yao, CHEN Yu-Mei, ZHU Xiao-Fan. Department of Pediatric Blood Diseases, Institute of Hematology & Blood Disease Hospital, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China (Zhu X-F, Email: xzfzhu@ihcams.ac.cn)

Abstract: Objective To evaluate the clinical characteristics and risk factors of clonal evolution after immunosuppressive therapy (IST) in children with severe/very severe aplastic anemia (SAA/VSAA). **Methods** The clinical data of 231 children with newly-diagnosed SAA/VSAA who received IST were retrospectively studied. The incidence and risk factors of clonal evolution after IST were analyzed. **Results** The 5-year overall survival rate of the 231 patients was 82.7%. Except for 18 cases of early deaths, 213 patients were evaluated for IST efficacy. Among the 231 patients, cytogenetic abnormalities for at least two chromosome metaphase were detectable in 14 (7.4%) patients, and PNH clones were detectable in either peripheral red blood cells or neutrophils for 95 patients. Among the 213 patients evaluated for IST efficacy, 15 patients experienced clonal evolution after IST. Five patients had PNH and trisomy 8 which were defined as favorable progressions, and ten patients experienced monosomy 7 and MDS/AML as unfavorable progressions. The 5-year accumulative

[收稿日期] 2016-11-01; [接受日期] 2016-12-05

[基金项目] 国家自然科学基金 (81170470)。

[作者简介] 章婧嫻, 女, 博士研究生。

[通信作者] 竺晓凡, 女, 主任医师, 教授。

incidence of favorable and unfavorable progression were (2.2±2.2)% and (4.8±3.3)%, respectively. Until the last follow-up, 100% (5/5) of patients with favorable progressions and 50% (5/10) of patients with unfavorable progressions survived. WBC>3.5×10⁹/L, CD3⁺T cell percentage>80%, dosage of antithymocyte globulin >3.0 mg/(kg·d) and no response to IST were related to unfavorable progressions by univariate analysis. Cox multivariate analysis revealed that an increased CD3⁺T cell percentage (>80%) and no response to IST were independent risk factors for unfavorable progressions. **Conclusions** The children with SAA/VSAA who have an increased CD3⁺T cell percentage at diagnosis or have no response to IST are in high risks of unfavorable progressions.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(1): 27-33]

Key words: Severe/very severe aplastic anemia; Immunosuppressive therapy; Clonal evolution; CD3⁺T cell; Child

抗胸腺细胞球蛋白 (antithymocyte globulin, ATG) 联合环孢素 A (CsA) 为主的免疫抑制治疗 (immunosuppressive therapy, IST) 为目前儿童无同胞白细胞抗原 (HLA) 相合供者来源的重型 / 超重型再生障碍性贫血 (severe/very severe aplastic anemia, SAA/VSAA) 患者的一线治疗方案^[1]。随着 IST 疗效的不断提高, 包括阵发性睡眠性血红蛋白尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)、骨髓增生异常综合征 / 急性髓系白血病 (myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia, MDS/AML) 以及细胞遗传学改变在内的克隆演变等远期并发症逐渐被重视^[2-3]。研究表明, SAA/VSAA 患儿接受 IST 后恶性克隆演变的发生率远高于接受异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 治疗者^[4]。发生包括 MDS/AML 及克隆性细胞遗传学异常等恶性克隆演变的 AA 患儿预后不良^[5-7]。初诊时疾病的严重程度、接受重组人粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 等治疗以及 ATG 被认为是导致 SAA/VSAA 患者远期克隆演变的危险因素^[4, 8]。现对我中心 231 例接受 IST 治疗的 SAA/VSAA 患儿的临床特征及治疗转归进行回顾性分析, 进一步探索 SAA/VSAA 患儿 IST 远期克隆演变的发生率以及相关危险因素。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究纳入 2000 年 2 月至 2014 年 5 月中国医学科学院血液病医院儿童血液病诊疗中心接受 IST 治疗 (ATG+CsA 方案) 的 231 例、初诊年龄小于 18 岁的 SAA/VSAA 患者, 其中男性 109 例, 女性 122 例, 中位年龄 6 岁 (9 个月至 18 岁), 所有患儿均因无同胞 HLA 全相合供者而未能接受

一线 allo-HSCT。

AA 诊断参考国际再生障碍性贫血协作组诊疗意见^[9]; 疾病的严重程度参考 Camitta 标准^[10]。结合疾病病程及血液病诊断及疗效标准^[11], 我中心定义缓慢进展为 SAA/VSAA (病程至少 6 个月) 的患儿为 SAA-II 型, 其余诊断为 SAA-I 型。所有患者常规行彗星及丝裂霉素实验以排除先天性骨髓衰竭, 骨髓细胞形态学检查及细胞遗传学检查排除 MDS, 流式细胞术检测 CD55/CD59 表达及酸溶血试验以进行 PNH 鉴别。

1.2 治疗方案

IST 方案: (1) 所有患者均接受兔源抗胸腺细胞球蛋白 (rATG, Genzyme) 静脉滴注, 每日 2.5~5.4 mg/kg, 第 1~5 天。同时进行血清病反应预防: 泼尼松每日 1 mg/kg 口服, 第 1~15 天 (第 1~5 天静脉输注等效剂量的地塞米松或氢化可的松), 如无严重血清病反应, 第 16 天开始逐渐减量, 至第 30 天停用。(2) CsA 每日 3~5 mg/kg 口服, 并根据血药浓度、血清肌酐及胆红素水平调整剂量, 至少 6 个月; 对于获得治疗反应的患者根据血象每 3 个月进行 CsA 逐渐减量。(3) 自第 8 天起皮下注射 G-CSF, 每次 5 μg/kg, 每周 3 次, 至中性粒细胞绝对计数 (absolute neutrophil count, ANC) 维持在 0.5×10⁹/L 以上, 至少 3 个月。(4) 149 例患者接受雄激素口服治疗, 其中 6 例患者口服达那唑, 每日 10 mg/kg; 118 例患者口服司坦唑醇, 每日 0.2 mg/kg; 25 例口服十一酸睾酮, 每日 4.0 mg/kg。根据血象调整用药。(5) 支持治疗: 输注红细胞及血小板以维持 Hb ≥ 60 g/L 及 PLT ≥ 10×10⁹/L。对于 ANC ≤ 0.5×10⁹/L 的患者予磺胺甲恶唑口服, 对于有感染证据的粒细胞缺乏患儿根据病原学证据给予针对性抗感染治疗。所有患儿在粒细胞缺乏期间均于千级层流病房内接受治疗。

1.3 疗效标准

参考文献标准^[11-12]评价疗效,定义完全缓解(CR)和部分缓解(PR)为获得治疗反应,未缓解(NR)为未获得治疗反应。IST后6个月内死亡的患者被定义为早期死亡。各时间点总体治疗反应率为每个随访时间点获得治疗反应的病例数占总体随访到可参与疗效评患儿例数的百分比。

1.4 随访

231例初诊SAA/VSAA患者,随访截至2016年4月1日或患者死亡,中位随访时间为69(1~192)个月,14例患者(6.1%)失访。217例患者有完整的随访资料,包括血常规、骨髓细胞形态学及相关检查、肝肾功能、溶血相关检查、流式细胞术糖基化磷脂酰肌醇锚连接蛋白(GPI-AP)缺失比例测定、感染及血制品输注情况。总体生存期(overall survival, OS)定义为初诊至随访截止日期;无治疗失败生存期(failure-free survival, FFS)定义为初诊至发生以下任意一件被认为治疗失败事件的时间:克隆演变,失去已获得的治疗反应,以及其他原因导致的死亡。

克隆演变的判断参考2008年WHO诊断分型标准^[13],包括治疗、随访过程中发生的染色体异常(至少2个中期分裂象)、PNH(流式GPI-AP缺失比例20%以上,伴血管内溶血的临床或实验室证据)以及MDS/AML转化。克隆演变的累积发生率曲线为与非进展相关死亡率竞争性分析的结果。

1.5 统计学分析

采用SPSS 23.0软件及R软件3.2.1进行统计学处理。非正态分布的计量资料采用中位数(范围)表示,计数资料采用百分率表示。率的组间比较采用卡方检验,生存分析采用Kaplan-Meier法及Log-rank检验,并将单因素分析结果中 $P < 0.1$ 的变量纳入多因素分析,多因素分析采用Cox回归模型。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床特征

231例患儿的中位ANC为0.26(0.00~0.78) $\times 10^9/L$,中位网织红细胞绝对计数(absolute reticulocyte count, ARC)9.40(0.0~70.1) $\times 10^9/L$,中位PLT9(0~56) $\times 10^9/L$;231例中SAA 135

例、VSAA 96例,其中19例为SAA-II型。初诊时14例(7.4%)患者检测到至少2个中期分裂象的染色体异常,95例患者外周血粒细胞或红细胞可检测到PNH克隆,外周血淋巴细胞亚群检测提示49例(24.6%)患儿CD3⁺T细胞/淋巴细胞比值 $>80\%$ 。除SAA-II型患者以外,其他患儿在接受IST前均未接受过治疗;所有患者发病至开始IST的中位时间为47(10~375)d,接受rATG的中位剂量为每日3.4(2.4~5.4)mg/kg。

2.2 血液学缓解与总体生存情况

231例初诊年龄小于18岁的SAA/VSAA患者,截至末次随访,死亡42例(其中18例为早期死亡)。早期死亡患儿不参与治疗6个月后的疗效评定,治疗后3、6、9、12个月总体治疗反应率分别为18.6%(43/231)、34.3%(79/231)、51.6%(110/213)、60.6%(129/213)。Kaplan-Meier分析提示患儿5年OS率为82.7%(95%CI:77.6%~87.8%),5年FFS率为59.5%(95%CI:53.0%~66.0%)。在213例可评价疗效的患儿中,155例(72.8%)患儿获得IST治疗反应,153例至末次随访存活;58例(27.2%)患儿未获得治疗反应。58例IST无效患儿中27例(27/58)接受了allo-HSCT,其中25例(25/27,92.6%)成功植活并长期生存;余31例(31/58)未获得治疗反应的患儿接受包括口服CsA、雄激素及血制品输注等姑息性治疗,仅11例(11/31,35.5%)患儿至末次随访存活。

2.3 IST后克隆演变

至末次随访,155例IST有效患儿中8例(5.2%)发生克隆演变,58例IST无效患儿中7例(12.1%)发生克隆演变,总体克隆演变累积发生率为6.5%(15/231),发生克隆演变的中位时间为IST后33(6~74)个月。

15例发生克隆演变的患儿中AML克隆演变5例,其中1例接受allo-HSCT治疗,至末次随访无病生存;2例接受化疗,未缓解;2例放弃治疗后死亡。发生MDS克隆演变的3例,其中1例诊断为难治性血细胞减少(MDS-RCC),未予任何治疗,末次随访时中度贫血伴血小板少;另2例进展为难治性血细胞减少伴原始细胞增多(MDS-RAEB),均接受allo-HSCT,至末次随访无病生存。2例发生7号染色体缺失,其中1例进展为AML,化疗无缓解、死亡;另1例无症状存活。1例发生+8

染色体核型异常，至末次随访无症状存活。4 例发生 PNH 克隆演变的患儿中，2 例在初诊时可检测到少量 PNH 克隆 (3.72% 和 4.65%)；截至末次随访，3 例存活，但依赖输注红细胞及口服 CsA、糖皮质激素等治疗；1 例患儿表现为中度贫血，未予特殊处理，存活。

2.4 影响克隆演变的危险因素分析

根据以往研究报道^[5]，将 PNH 及 8 号染色体三体核型异常 (+8) 定义为良性克隆演变，将 MDS/AML 及 7 号染色体异常缺失细胞遗传学改变 (-7/7q-) 定义为不良克隆演变。IST 后良性克隆演变与不良克隆演变的 5 年累积发生率为 (2.2 ± 2.2)% 与 (4.8 ± 3.3)%，见图 1。

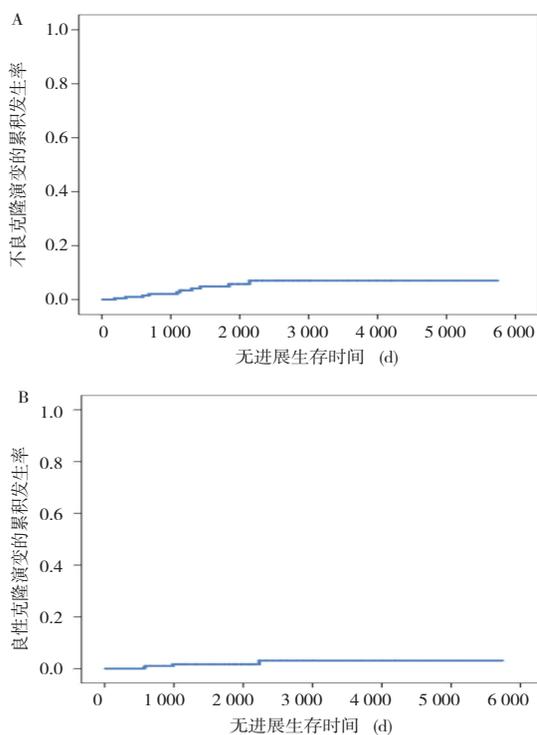


图 1 231 例患儿 IST 后克隆演变的累积发生率

为进一步探索儿童 SAA/VSAA IST 后不良克隆演变的危险因素，对患儿初诊临床资料及 rATG 剂量、6 个月治疗反应与不良克隆演变发生率进行相关性分析。将初诊 WBC > 3.5 × 10⁹/L、每日 rATG 剂量 > 3.0 mg/kg、初诊 CD3⁺T 细胞比例 > 80% 以及与 IST 后 6 个月的治疗反应 4 个因素 (表 1) 纳入 Cox 多因素回归分析，提示初诊 CD3⁺T 细胞比例 > 80%、IST 后 6 个月治疗无反应为 IST 后不良克隆演变的不利因素 (表 2)。初诊 CD3⁺T 细胞比例 > 80% 的患儿不良克隆演变的累积发生率高于 CD3⁺T 细胞比例

≤ 80% 者，差异无统计学意义 (P=0.069)，两者 OS 率的差异无统计学意义 (P=0.794)，见图 2A、2B。IST 6 个月无效组的不良克隆演变累积发生率高于治疗有效组，但差异无统计学意义 (P=0.095)；其 5 年 OS 率 [(82.9 ± 7.1)%] 低于治疗有效组 [(100 ± 0)%] (P<0.01)，见图 2C、2D。

表 1 IST 后 SAA/VSAA 患儿发生不良克隆演变危险因素的单因素分析 [例 (%)]

因素	例数	不良克隆演变	P 值
性别			
男	109	5 (4.6)	1.000
女	122	5 (4.1)	
疾病严重程度			
SAA	135	3 (2.2)	0.100
VSAA	96	7 (7.3)	
疾病病程			
SAA-I	212	9 (4.2)	0.584
SAA-II	19	1 (5.3)	
初诊细胞遗传学异常			
有	17	1 (5.9)	0.542
无	214	9 (4.2)	
初诊 WBC (× 10 ⁹ /L)			
> 3.5	71	5 (7.0)	0.097
≤ 3.5	160	5 (3.1)	
初诊 ARC (× 10 ⁹ /L)			
> 1.5	65	1 (1.5)	0.282
≤ 1.5	148	9 (6.0)	
CD3 ⁺ T 细胞 / 淋巴细胞			
> 80.0%	49	5 (10.2)	0.069
≤ 80.0%	150	5 (3.3)	
rATG 每日剂量 (mg/kg)			
> 3.0	143	9 (6.3)	0.094
≤ 3.0	88	1 (1.1)	
雄激素			
使用	149	8 (5.4)	0.501
未使用	82	2 (2.4)	
6 个月治疗反应			
有效	79	1 (1.3)	0.095
无效	134	9 (6.7)	

表 2 IST 后 SAA/VSAA 患儿发生不良克隆演变危险因素 Cox 多因素分析

因素	HR (95% CI)	P 值
初诊 WBC > 3.5 × 10 ⁹ /L	3.315 (0.899~12.200)	0.072
CD3 ⁺ T 细胞 / 淋巴细胞 > 80.0%	5.820 (1.396~4.252)	0.016
rATG 每日剂量 > 3.0 mg/kg	7.459 (0.916~60.727)	0.060
6 个月治疗无效	8.934 (1.112~71.783)	0.039

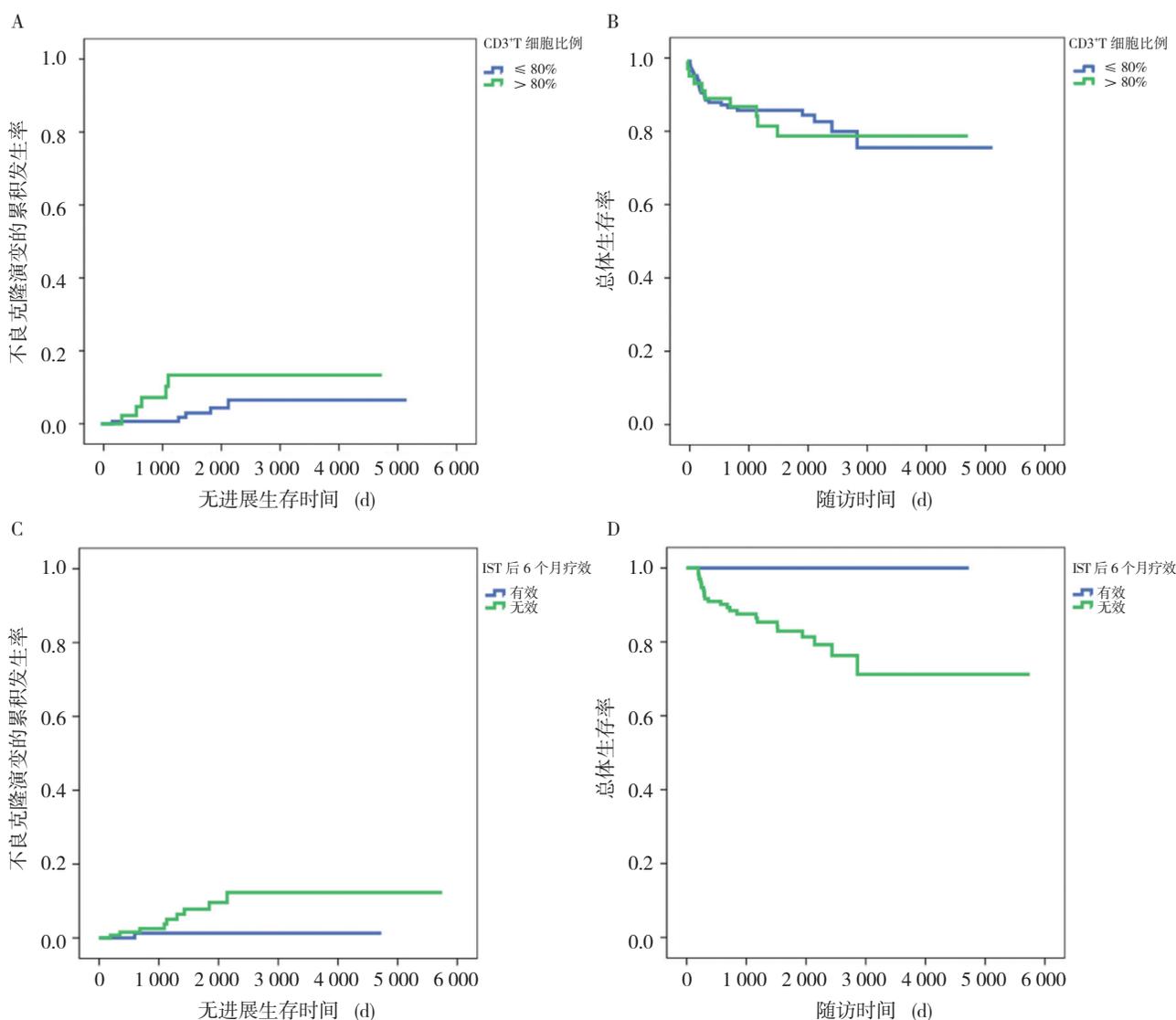


图 2 CD3⁺T 细胞比例与 IST 后 6 个月治疗反应对不良克隆演变及总体生存的影响

3 讨论

AA 是一类自身免疫介导的以骨髓造血功能衰竭、全血细胞减少为主要特征的获得性骨髓衰竭性疾病^[14]。IST 的疗效不断进步使越来越多 SAA/VSA 患儿获得较长生存时间。但 IST 后 AA 患者的克隆演变成为临床医生逐渐认识并关注的重要并发症之一^[2]。本研究 6.5% 的患儿发生 IST 后克隆演变，较既往研究发生率更低^[15-17]。有研究认为 GPI-AP 缺失的细胞在体内并无生长优势，PNH 克隆动态变化与 AA 患者的治疗反应及长期生存无关，也没有发现是否发生 +8 染色体核型异常的 AA 患者长期生存间的差异^[5]。因此，我们将 IST 后 PNH 克隆演变及染色体 +8 定义为良性克隆演变。

随着近年来二代测序技术的不断发展，AA 克隆性造血的研究不断深入，认为存在某些与髓系肿瘤相关体细胞基因突变的 AA 患者 IST 疗效较低^[18-19]，IST 后治疗反应不佳的 SAA/VSA 患者远期总体生存率也显著降低^[20]。本研究显示，IST 无反应的患者不良克隆演变发生率较高、OS 率较低，IST 后 6 个月无效为不良克隆演变的影响因素，与文献相符。由于本研究为回顾性研究，无法确认早期存在的克隆性体细胞突变是否与不良克隆演变相关，而克隆性造血的存在与 IST 后发生克隆演变的相关性仍不清楚，需要大规模临床实验进一步验证。

AA 的发病机制主要与 T 淋巴细胞功能亢进介导的骨髓造血干/祖细胞的免疫损伤有关，因此导

致造血细胞过度凋亡^[21-22]；而去除免疫抑制仍不能恢复骨髓造血集落的形成能力^[23]，提示免疫损伤后造血恢复功能可能受损。关于 AA 具体的免疫机制仍不十分清楚。有研究认为 AA 患者 CD8⁺ 杀伤 T 细胞 (CTL) 水平在一定程度上反映了 Fas 抗原在 AA 中的表达情况及造血细胞凋亡情况^[24]，而 CD4⁺Th1/Th2 淋巴细胞比例的改变以及 CTL 异常激活可造成 AA 患者骨髓细胞过度凋亡^[25]。本研究纳入的 SAA/VSAA 患儿中，初诊 CD3⁺T 细胞超过 80% 的患儿发生包括 -7 染色体异常、MDS/AML 不良克隆演变的比例较高，提示异常的 T 淋巴细胞激活可能与抗原刺激后的基因突变及克隆性造血相关，然而造血干/祖细胞经历免疫损伤后是否发生克隆演变以及具体的病理生理机制仍然有待于进一步的实验室研究。

关于 AA 患者的 G-CSF 使用与 IST 后克隆演变发生的相关性还存在争议。Li 等^[8]报道 AA 患者的 G-CSF 使用与恶性克隆演变相关；日本的研究也认为 IST 后发生 MDS/AML 克隆演变与 G-CSF 的使用有关^[3]；另有报道称 G-CSF 的使用与儿童 AA 远期发生染色体 -7 相关^[7]。而 Gurion 等^[26]通过对 6 项前瞻性研究进行 Meta 分析，证实 G-CSF 的使用与远期发生克隆演变无关。本研究仅 2 例患者发生 IST 后染色体 -7 的克隆演变，其中 1 例接受了 G-CSF 治疗。本研究结果还显示，G-CSF 使用与否与 AA 的 IST 后克隆演变并无显著关联。但儿童克隆性造血的发生率低于成人患者^[27-28]，且本研究中患儿接受 G-CSF 的使用时间明显短于既往报道，故无法得出儿童 AA 患者 G-CSF 使用与远期克隆演变关系的结论。

一项来自欧洲骨髓移植协作组的回顾性研究报道，儿童 SAA 患者接受免疫抑制治疗后恶性克隆的发生率要显著高于接受亲缘供者来源的异基因造血干细胞移植 SAA 患儿^[4]。表明长时间接受免疫抑制治疗本身可能是促使造血干细胞发生克隆性改变的原因。本研究虽然只纳入了接受了 IST 的患者，无法进行 AA 的两种一线治疗方案发生克隆演变的对照研究，但提示 ATG 每日剂量 >3.0 mg/kg 的患儿不良克隆演变的比例较高，尽管多因素分析无统计学意义，因而需要更大规模的前瞻性临床研究予以证实。

SAA/VSAA 患儿 IST 后发生克隆演变作为被广

泛认识到的远期并发症预后较差，尽早识别出发生克隆演变的高危患儿对于临床医生制定合理的诊疗决策至关重要。本研究中患儿初诊高比例的 CD3⁺T 细胞水平及免疫抑制治疗早期无效与 IST 治疗后远期发生恶性克隆演变显著相关，警惕以上危险因素并尽早选择二线治疗方案，有助于节约治疗花费并提高患儿的远期生存。

[参 考 文 献]

- [1] Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia[J]. *Blood*, 2012, 120(6): 1185-1196.
- [2] Tichelli A, Gratwohl A, Würsch A, et al. Late haematological complications in severe aplastic anaemia[J]. *Br J Haematol*, 1988, 69(3): 413-418.
- [3] Kojima S, Ohara A, Tsuchida M, et al. Risk factors for evolution of acquired aplastic anemia into myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after immunosuppressive therapy in children[J]. *Blood*, 2002, 100(3): 786-790.
- [4] Dufour C, Pillon M, Socié G, et al. Outcome of aplastic anaemia in children. A study by the severe aplastic anaemia and paediatric disease working parties of the European group blood and bone marrow transplant[J]. *Br J Haematol*, 2015, 169(4): 565-573.
- [5] Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, et al. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia[J]. *Blood*, 2002, 99(9): 3129-3135.
- [6] Kaito K, Kobayashi M, Katayama T, et al. Long-term administration of G-CSF for aplastic anaemia is closely related to the early evolution of monosomy 7 MDS in adults[J]. *Br J Haematol*, 1998, 103(2): 297-303.
- [7] Ohara A, Kojima S, Hamajima N, et al. Myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia as a late clonal complication in children with acquired aplastic anemia[J]. *Blood*, 1997, 90(3): 1009-1013.
- [8] Li Y, Li X, Ge M, et al. Long-term follow-up of clonal evolutions in 802 aplastic anemia patients: a single-center experience[J]. *Ann Hematol*, 2011, 90(5): 529-537.
- [9] Incidence of aplastic anemia: the relevance of diagnostic criteria. By the International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study[J]. *Blood*, 1987, 70(6): 1718-1721.
- [10] Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG, et al. A prospective study of androgens and bone marrow transplantation for treatment of severe aplastic anemia[J]. *Blood*, 1979, 53(3): 504-514.
- [11] 杨崇礼, 邵宗鸿. 再生障碍性贫血 [M]// 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 20-23.
- [12] Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG, et al. Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality[J]. *Blood*, 1976, 48(1): 63-70.
- [13] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of

- myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. *Blood*, 2009, 114(5): 937-951.
- [14] Young NS. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2013, 2013(1): 76-81.
- [15] Bacigalupo A, Bruno B, Saracco P, et al. Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor for severe aplastic anemia: an update of the GITMO/EBMT study on 100 patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) working party on severe aplastic anemia and the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo Osseo (GITMO)[J]. *Blood*, 2000, 95(6): 1931-1934.
- [16] Teramura M, Kimura A, Iwase S, et al. Treatment of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter randomized study in Japan[J]. *Blood*, 2007, 110(6): 1756-1761.
- [17] Fuhrer M, Burdach S, Ebell W, et al. Relapse and clonal disease in children with aplastic anemia (AA) after immunosuppressive therapy (IST): the SAA 94 experience. German/Austrian Pediatric Aplastic Anemia Working Group[J]. *KlinPadiatr*, 1998, 210(4): 173-179.
- [18] Yoshizato T, Dumitriu B, Hosokawa K, et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in aplastic anemia[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1): 35-47.
- [19] Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia[J]. *Blood*, 2016, 128(3): 334-347.
- [20] Jalaiekhoo H, Khajeh-Mehrizi A. Immunosuppressive therapy in patients with aplastic anemia: a single-center retrospective study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126925.
- [21] Maciejewski JP, Risitano A. Hematopoietic stem cells in aplastic anemia[J]. *Arch Med Res*, 2003, 34(6): 520-527.
- [22] Chen Y, Zou Z, Wu Z, et al. TNF- α -induced programmed cell death in the pathogenesis of acquired aplastic anemia[J]. *Expert Rev Hematol*, 2015, 8(4): 515-526.
- [23] Bacigalupo A, Podestà M, Mingari MC, et al. Immune suppression of hematopoiesis in aplastic anemia: activity of T-gamma lymphocytes[J]. *J Immunol*, 1980, 125(4): 1449-1453.
- [24] 刘春燕, 郑萌颖, 付蓉, 等. 重型再生障碍性贫血细胞毒性 T 细胞免疫攻击靶点的体外实验 [J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(22): 1728-1732.
- [25] Sheng W, Liu C, Fu R, et al. Abnormalities of quantities and functions of linker for activations of T cells in severe aplastic anemia[J]. *Eur J Haematol*, 2014, 93(3): 214-223.
- [26] Gurion R, Gafter-Gvili A, Paul M, et al. Hematopoietic growth factors in aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy-systematic review and meta-analysis[J]. *Haematologica*, 2009, 94(5): 712-719.
- [27] Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(26): 2477-2487.
- [28] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(26): 2488-2498.

(本文编辑: 俞燕)