

论著 · 临床研究

儿童再生障碍性贫血免疫抑制剂治疗 疗效及相关因素分析

赵芬英 徐晓军 宋华 杨世隆 汤永民

(浙江大学医学院附属儿童医院血液肿瘤科,浙江 杭州 310003)

[摘要] 目的 探讨免疫抑制疗法(IST)对儿童再生障碍性贫血(AA)的疗效及其影响疗效的相关因素。方法 对2003年2月至2009年11月住院接受IST治疗的、可进行疗效评估的110例AA患儿的临床资料进行回顾性分析。110例患儿中,重型AA(SAA)83例,非重型AA(非SAA)27例。前者采用抗胸腺细胞球蛋白(ATG)联合环孢素(CSA)及泼尼松、雄激素四联治疗,后者采用CSA联合泼尼松、雄激素三联治疗。结果 SAA与非SAA组的总有效率分别为69.9%和70.4%。单因素分析显示病程、骨髓CD34⁺细胞比例、CD4⁺CD25⁺调节性T细胞比例与疾病严重程度相关,但与预后无关。治疗有效组患儿年龄、病程、骨髓CD3⁺、CD8⁺细胞比例显著低于治疗无效组($P<0.05$)。多因素分析显示年龄 >10 岁、骨髓CD8⁺细胞比例 $>25\%$ 的患儿治疗失败的风险分别是对应组的3.36倍和3.59倍。结论 IST治疗儿童AA疗效确切。年龄、病程、CD3⁺、CD8⁺T细胞水平与IST的疗效相关。 [中国当代儿科杂志,2012,14(8):567-570]

[关键词] 再生障碍性贫血;免疫抑制治疗;抗胸腺细胞球蛋白;儿童
[中图分类号] R725.5 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2012)08-0567-04

Effectiveness of immunosuppressive therapy for childhood aplastic anemia and its predictive factors

ZHAO Fen-Ying, XU Xiao-Jun, SONG Hua, YANG Shi-Long, TANG Yong-Min. Division of Hematology-oncology, Children's Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China (Tang Y-M, Email: Y_M_TANG@zju.edu.cn)

Abstract: Objective To evaluate the effectiveness of immunosuppressive therapy (IST) for childhood aplastic anemia (AA) and its predictive factors. **Methods** The medical data of 110 children with AA who received IST between February 2003 and November 2009 were retrospectively studied. Of these patients, 83 were diagnosed as severe AA (SAA) and 27 were non-SAA. The former group was treated with antithymocyte globulin (ATG) + ciclosporin (CSA) + prednisone + androgens and the latter with CSA + prednisone + androgens. **Results** Total response rates in the SAA and non-SAA groups were 69.9% and 70.4%, respectively. Univariate analysis showed that disease duration, CD34⁺ cell level in bone marrow (BM) and the expression of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in BM were related to the severity of disease but not correlated with treatment response. Age, disease duration and proportions of CD3⁺ and CD8⁺ T cells in BM were predictive factors for response to IST. Multivariate analysis revealed that patients aged more than 10 years and patients with a CD8⁺ cell proportion in BM of over 25% had hazard ratios of 3.36 and 3.59 for treatment failure respectively. **Conclusions** IST is effective in the treatment of childhood AA. Age, disease duration and the proportion of CD8⁺ T cell in BM are predictive factors for response to IST. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(8):567-570]

Key words: Aplastic anemia; Immunosuppressive therapy; Antithymocyte globulin; Child

再生障碍性贫血(aplastic anemia,AA)是以骨髓造血功能衰竭和全血细胞减少为主要特征的血液系统疾病,是儿童期严重的血液病之一。临床上应用免疫抑制疗法(immunosuppressive therapy,IST)治疗AA,尤其是抗胸腺细胞球蛋白(ATG)联合环孢素(CSA),取得较好的疗效^[1-3]。但目前国际上AA的IST疗效预测尚无被广泛接受的指标,儿童AA方面的相关报道则更少^[4]。本研究对我院近9年来接受IST治疗的AA患儿的临床资料作一回顾性分析。

[收稿日期]2012-03-14;[修回日期]2012-04-16
[基金项目]国家自然科学基金(编号:30971283,31100638,81170502);浙江省自然科学基金(编号:Y2110020)。
[作者简介]赵芬英,女,学士,主治医师。
[通信作者]汤永民,教授。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2003 年 2 月至 2009 年 11 月在我院接受 IST 治疗、并进行规范随访、可进行疗效评估的 110 例 AA 患儿。所有病例均符合 2001 年中华医学会儿科学会修订的 AA 诊断及分型标准^[5],并排除阵发性睡眠性血红蛋白尿和骨髓增生异常综合征等其他血液系统疾病。

110 例患儿中,男 49 例,女 61 例;中位年龄 7.7 岁(1~15.9 岁);病程 1 d 至 3 年,中位病程 30 d。重型 AA(SAA) 83 例,非重型 AA(非 SAA) 27 例。

1.2 方法

1.2.1 IST 治疗方案 明确诊断后,若患儿无合并严重感染、出血等情况则尽早开始治疗。SAA 组采用 ATG 四联治疗,具体为 ATG 针(即复宁,美国 Genzyme 公司)每日 2.5~3.75 mg/kg,24 h 缓慢静脉滴注,连用 5 d;ATG 治疗结束后加用 CSA 口服,每日 5~8 mg/kg,每 12 h 一次,定期检测血药浓度,使血清谷浓度维持于 200~400 μg/L;同时加用泼尼松、雄激素口服等支持治疗。非 SAA 组采用 CSA 三联治疗,即 CSA 联合泼尼松、雄激素治疗,具体用法同前。

1.2.2 实验室指标 患儿入院后即抽取末梢血送检血常规和网织红细胞计数,行髂后上棘骨髓活检送检骨髓病理,同时行骨髓穿刺术留取骨髓标本,送检骨髓常规,用流式细胞术测定骨髓 CD34⁺造血干细胞、骨髓 T 细胞、B 细胞、NK 细胞及活化 T 细胞亚群。

1.2.3 疗效标准 疗效判断参照《小儿再生障碍性贫血的诊疗建议》^[5],具体如下:(1)基本治愈:贫血和出血消失。血红蛋白:<6 岁者达 110 g/L,≥6 岁者达 120 g/L;白细胞达 4.0×10⁹/L;血小板达 80×10⁹/L。随访 1 年以上无复发。(2)缓解:贫血和出血消失。血红蛋白:<6 岁者达 110 g/L,≥6 岁者

达 120 g/L;白细胞达 3.5×10⁹/L;血小板有一定程度增加。随访 3 个月以上病情稳定或继续进步。(3)进步:贫血和出血明显好转,不需输血;血红蛋白较治疗前增加 30 g/L 以上,并能维持 3 个月以上。(4)无效:经正规治疗无明显进步。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析,连续性变量采用中位数(最小值,最大值)表示。组间比较采用卡方检验或 Mann-Whitney U 检验。在单因素分析中具有统计学意义的指标进入二项 logistic 回归分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IST 治疗的疗效评价

110 例患儿中,基本治愈 53 例,缓解+进步为 24 例,IST 治疗的总有效率为 70.0%。其中非 SAA 组的有效率为 70.4%,包括基本治愈 9 例,缓解+进步 10 例;SAA 组的有效率为 69.9%,包括基本治愈 44 例,缓解+进步 14 例。

2.2 各预测指标与再障严重程度的相关性分析

为了解 AA 临床及实验室指标与其严重程度的相关性,本研究观察了性别、年龄、病程、骨髓 T 细胞水平及其活化状态、骨髓 CD34⁺造血干/祖细胞水平与 AA 严重程度的相关性(表 1)。结果显示,患儿的性别分布及年龄在非 SAA 组和 SAA 组差异无统计学意义,但非 SAA 组的病程长于 SAA 组(*P*<0.05);骨髓 CD34⁺造血干/祖细胞测定示 SAA 组较非 SAA 组明显降低(*P*<0.01),提示再障患者存在造血干细胞数量的减少,且与严重程度相关。同时 SAA 组的骨髓 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞下降亦较非 SAA 组明显(*P*<0.05),提示在骨髓 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的下降与疾病严重程度相关。骨髓 CD3⁺细胞、CD4⁺细胞、CD8⁺细胞比例和 CD4/CD8 比值在两组中差异无统计学意义。

表 1 各临床及实验室指标与再障严重程度的相关性分析

指标	非 SAA 组	SAA 组	<i>P</i> 值(χ ² 值或 <i>Z</i> 值)
性别(男:女;例)	12:15	37:46	0.990(0.001)
年龄(岁)	7.0(2.6~15.9)	7.8(1.0~13.9)	0.776(0.285)
病程	33 d(2 d~6 年)	20 d(1 d~1.5 年)	0.017(2.383)
骨髓 CD3 ⁺ 细胞(%)	57.9(24.4~79.4)	59.9(17.9~91.3)	0.707(0.375)
骨髓 CD4 ⁺ 细胞(%)	23.1(10.9~46.3)	25.4(4.5~45.4)	0.812(0.237)
骨髓 CD8 ⁺ 细胞(%)	23.9(9.6~39.4)	27.8(1.0~74.6)	0.242(1.170)
骨髓 CD4/CD8	0.93(0.16~1.95)	0.95(0.09~12.27)	0.872(0.161)
骨髓 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 细胞(%)	13.3(2.23~27.5)	11.33(1.21~28.6)	0.048(1.977)
骨髓 CD34 ⁺ 细胞(%)	0.23(0.02~1.92)	0.11(0.00~1.90)	0.004(2.849)

2.3 各预测指标与 IST 治疗疗效的相关性分析

为明确患儿各临床及实验室指标与 IST 治疗疗效的相关性,本研究将 110 例患儿分为显效组(77 例)和非显效组(33 例),比较两组在上述各指标方面差异是否有统计学意义。单因素分析显示,患儿性别、外周血各项指标、骨髓造血面积比例、CD34⁺造血干/祖

细胞水平、临床分型(是否重型 AA)、IST 治疗方案等在两组间差异均无统计学意义;患儿的发病年龄和病程则与疗效有关,年龄越大,病程越长,则治疗效果越差;免疫指标方面,骨髓 CD3⁺ 细胞比例和 CD8⁺ 细胞比例与疗效有一定的相关性,无效组中两类细胞的中位水平较显效组明显升高,见表 2。

表 2 各临床及实验室指标与 IST 治疗疗效的单因素分析

指标	显效组	无效组	P 值(χ ² 值或 Z 值)
性别(男:女;例)	35:42	14:19	0.769(0.086)
年龄(岁)	7.0(1.0~15.9)	9.0(2.4~13.9)	0.012(2.399)
病程	20 d(1 d~6 年)	60 d(1 d~3.5 年)	0.016(2.502)
RBC(×10 ¹² /L)	2.35(0.87~3.88)	2.40(1.06~3.18)	0.871(0.162)
Ret%	0.8(0.1~6.0)	0.8(0.2~2.4)	0.424(0.799)
Ret 绝对值(×10 ¹² /L)	19.4(0.04~153.0)	16.3(3.8~72.0)	0.279(1.044)
HB(g/L)	74.5(30.0~109.0)	78.0(33.0~97.0)	0.880(0.151)
MCV	93.1(73.3~111.0)	95.5(80.0~111.7)	0.864(0.171)
WBC(×10 ⁹ /L)	2.6(0.8~8.4)	2.5(0.4~6.6)	0.178(1.346)
ANC(×10 ⁹ /L)	0.5(0~2.9)	0.4(0~2.2)	0.269(0.542)
PLT(×10 ¹² /L)	17.5(2.0~449.0)	17.0(1.0~45.0)	0.426(0.796)
骨髓造血面积(%)	15(1~50)	10(1~65)	0.334(0.965)
骨髓 CD3 ⁺ 细胞(%)	57.7(17.9~78.2)	66.4(38.1~91.3)	0.006(2.740)
骨髓 CD4 ⁺ 细胞(%)	23.6(4.5~46.3)	26.4(8.5~45.4)	0.179(1.344)
骨髓 CD8 ⁺ 细胞(%)	23.9(1.0~49.0)	29.2(18.0~74.6)	0.006(2.731)
骨髓 CD4/CD8 比值	0.95(0.09~12.27)	0.92(0.11~2.15)	0.291(1.055)
骨髓 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 细胞(%)	12.06(1.21~27.50)	11.03(1.30~28.60)	0.721(0.358)
骨髓 CD34 ⁺ 细胞(%)	0.12(0~1.92)	0.10(0~0.61)	0.224(1.166)
分型(非 SAA:SAA;例)	19:58	8:25	0.961(0.002)
IST 方案(三联:四联;例)	19:58	10:23	0.539(0.377)

将上述单因素分析显示对疗效有影响的 4 项因素进行多因素回归分析显示,年龄和骨髓 CD8⁺ 细胞比例是 IST 疗效的独立影响因素,年龄 > 10 岁、骨髓 CD8⁺ 细胞比例 > 25% 的患儿治疗失败的风险分别是年龄 < 10 岁和骨髓 CD8⁺ 细胞比例 < 25% 的 3.36 倍和 3.59 倍(表 3)。而对 SAA 组的 IST 疗效分析表明,年龄($Z = 2.159, P = 0.031$)、病程($Z = 2.062, P = 0.039$)、WBC 数($Z = 1.994, P = 0.046$)、CD8⁺ 细胞比例($Z = 197, P = 0.049$)与治疗的反应率有关。年龄小、病程短、WBC 下降不明显、CD8⁺ 比例升高不明显者治疗反应较好。

表 3 IST 治疗疗效预测指标的多因素分析

指标	相对危险度	95% 可信区间	P 值
年龄(>10 岁)	3.36	1.15~10.74	0.041
病程(>1 个月)	2.17	0.74~6.37	0.157
CD3 ⁺ 细胞比例(>60%)	1.57	0.46~5.29	0.465
CD8 ⁺ 细胞比例(>25%)	3.59	1.01~12.85	0.049

3 讨论

AA 是由免疫介导的以骨髓增生低下和全血细胞减少为主要特点的骨髓衰竭综合征。其主要的发病机制是 Th1 细胞和 CD8⁺ T 细胞过度增殖活化分泌细胞因子损伤造血干/祖细胞和间充质干细胞(MSC),同时 MSC、调节性 T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞及早期造血生长因子水平的下降是机体免疫调节和支持造血的能力下降所致^[6-7]。因此,AA 的主要治疗策略是造血干细胞移植免疫重建和/或免疫抑制。IST 是不宜行造血干/祖细胞移植患者的一线治疗方案^[1]。在我国,由于经济原因及大部分患儿难以找到 HLA 相合的同胞供者,IST 就成了儿童 AA 的主要治疗方案。根据欧洲骨髓移植协作组 2000~2009 年的数据,HLA 相合的干细胞移植 AA 患者的 5 年生存率为 80% 左右,而 ATG 联合 CSA 的 IST 治疗方案为 75% 左右,两者疗效并无显著差别^[1]。而国内报道的 ATG 联合 CSA 治疗儿童 SAA 的有效率在 75%~80% 左右^[3],本研究组总有效率为 70.0%。

因此 IST 治疗 AA 的疗效是肯定的。

尽管近数十年来 AA 的治疗效果取得了很大进展,但目前仍有相当一部分患儿对 IST 反应不佳。因此,通过部分指标来预测治疗反应及疗效对于 AA 的分层及个体化治疗具有重要意义。比如,对于预测 IST 可能效果不佳的患者可采用其他方案(如非亲缘全相合造血干细胞移植)^[8],对于 IST 治疗 3 个月 后仍无明显效果且预测 IST 治疗预后欠佳的可尽 早更换治疗方案^[9]。目前国际上已有 AA 的 IST 疗 效预测指标的报道,但以成人居多,且尚未被广泛认 同,可能与年龄、地区差异有关。本研究表明 IST 疗 效主要与患儿年龄、病程及 T 细胞(主要为 CD8⁺ T 细胞)水平有关。欧洲骨髓移植协作组的研究表明, 随着年龄的增大,AA 的治疗效果逐步降低^[1],而国 外 Deyell 等^[10]也发现 10 岁以上及 5~10 岁儿童 IST 的部分缓解率均低于 5 岁以下儿童,本研究结果与 之一致。而关于年龄影响 AA 治疗效果的具体机制 尚不明确,可能与生物学背景有关。病程与 IST 疗 效的相关性与国内外的研究相仿^[4-5],病程较长者可能免疫机制所引起的后果越严重,免疫紊乱的状态 也越难纠正。因此,在确诊后应尽早开始治疗,缩短 发病与治疗之间的时间窗,争取更好的疗效。而 CD8⁺ T 细胞可以通过影响靶细胞的穿孔素-颗粒酶 途径、细胞因子(TGF-β)途径和 Fas/FasL 途径造成 骨髓造血细胞的损伤,介导 AA 的发病^[11],故 CD8⁺ T 细胞水平与儿童 AA 的治疗转归有关,与国内邱奕 宁等^[12]的研究结果相似。

本研究中,诸多指标虽与 AA 的严重程度有关, 但与治疗转归并无直接关联。这可能与 SAA 与非 SAA 组之间的治疗方案不同有关,SAA 组的治疗强 度(包含 ATG)明显大于非 SAA。要去除混杂因素, 可能需要积累更多病例,对 SAA 群体单独进行分析。

总而言之,本研究表明 IST 治疗儿童 AA 疗效确 切,而治疗前的临床和实验室指标,如年龄、病程、 CD8⁺ T 细胞水平与 IST 的疗效相关,有助于判断预 后及选择个体化的治疗方案。

[参 考 文 献]

[1] Passweg JR, Marsh JC. Aplastic anemia: first-line treatment by immunosuppression and sibling marrow transplantation[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2010: 36-42.

[2] Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Long-term outcome of pediatric patients with severe aplastic anemia treated with anti-thymocyte globulin and cyclosporine[J]. J Pediatr, 2008, 153 (6): 814-819.

[3] 王颖超,殷楚云,冯磊,王春美,马丽娜,魏永纬,等.免疫抑制疗法治疗儿童再生障碍性贫血疗效分析[J].中国当代儿科杂志,2012,14(1):33-37.

[4] Yoshida N, Yagasaki H, Hama A, Takahashi Y, Kosaka Y, Kobayashi R, et al. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia[J]. Haematologica, 2011, 96(5): 771-774.

[5] 中华医学会儿科学分会血液学组,中华儿科杂志编辑委员会.小儿再生障碍性贫血的诊疗建议[J].中华儿科杂志,2001,39(7):422-423.

[6] Li JP, Zheng CL, Han ZC. Abnormal immunity and stem/progenitor cells in acquired aplastic anemia[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2010, 75(2): 79-93.

[7] 王西阁,曹伟明,王晓格. CD4⁺ CD25int/highCD127low 调节性 T 细胞在再生障碍性贫血患儿中的检测及意义[J].中国当代儿科杂志,2011,13(4):292-295.

[8] Chang MH, Kim KH, Kim HS, Jun HJ, Kim DH, Jang JH, et al. Predictors of response to immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and cyclosporine and prognostic factors for survival in patients with severe aplastic anemia[J]. Eur J Haematol, 2010, 84(2): 154-159.

[9] Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia[J]. Br J Haematol, 2009, 144(2): 206-216.

[10] Deyell RJ, Shereck EB, Milner RA, Schultz KR. Immunosuppressive therapy without hematopoietic growth factor exposure in pediatric acquired aplastic anemia[J]. Pediatr Hematol Oncol, 2011, 28(6): 469-478.

[11] 冯乐,付蓉,王化泉,王珏,刘春燕,李丽娟,等.重型再生障碍性贫血患者 CD8⁺ 效应 T 细胞损伤骨髓造血途径的研究[J].中华血液学杂志,2011,32(9):597-601.

[12] 邱奕宁,白燕,余慧,周东风,张志泉,肖燕,等.大剂量丙种球蛋白与环孢素 A 治疗儿童再生障碍性贫血的疗效分析[J].中国当代儿科杂志,2009,11(1):33-36.

(本文编辑:邓芳明)