

儿童特发性再生障碍性贫血的诊断与治疗

黄绍良¹, 黄永兰²

(1. 中山大学附属第二医院儿科, 广东 广州 510120; 2. 广州市妇女儿童医疗中心儿科, 广东 广州 510180)

[中图分类号] R556.5 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)02-0081-07

儿童特发性再生障碍性贫血(idiopathic aplastic anemia, IAA)是指一种获得性骨髓造血功能减低和外周血全血细胞减少的综合征,是以造血系统为靶器官的自身免疫性疾病^[1~3]。目前人们对儿童 IAA 的发病机制及发病特点认识欠深入,对其诊断与治疗未能规范化。近十年来对 IAA 免疫发病机制的研究不断深入,临床以免疫抑制治疗(immunosuppressive therapy, IST)和异基因造血干细胞移植(allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, AHSCT)治疗取得了令人满意的效果,使 IAA 成为可治愈之症。为此,根据近年国内外文献及作者的相关研究资料,撰写本文,以供同道参考。

1 病史采集

儿童再生障碍性贫血(AA)包括先天性遗传性 AA(如 Fanconi 贫血,Blackfan-Diamond 综合征等)与获得性 AA,后者又分为 IAA 和继发性 AA。IAA 病因不明,继发性 AA 与某些暴露因素或诱因有关,包括:①物理因素:主要是各类电离辐射(X-射线、各种放射性核素等);②化学因素:苯及其衍生物(汽油、农药等),有机磷,有机氯;药物如氯霉素、细胞毒性药物、解热镇痛药、青霉胺、别嘌醇及氯喹等;③感染:尤以病毒感染为主,如肝炎病毒、HIV 病毒、EB 病毒及巨细胞病毒(CMV)等;④自身免疫性疾病等。采集病史时应注意收集涉及上述可能病因的相关病史资料。

2 实验室及相关检查

疑似 AA 患儿的实验室及辅助检查项目见表 1。这些检查的目的在于:①明确诊断;②排除其他导致

骨髓增生低下伴全血细胞减少的原因;③排除先天性 AA;④搜寻获得性 AA 的病因;⑤证实或排除并存的细胞遗传异常或阵发性睡眠性血红蛋白尿(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria,PNH)。

表 1 疑似 AA 患儿的实验室及辅助检查项目

1) 血常规 + 网织红细胞(Ret)计数
2) 血涂片检查
3) HbF 含量
4) 骨髓涂片和活检(细胞形态学检查)
5) 细胞遗传学检查:外周血淋巴细胞染色体断裂(丝裂霉素 C 诱导)分析,以排除 Fanconi 贫血,荧光原位杂交(FISH)检查异常染色体(特别是 5 号、7 号染色体),HLA-DRB1 基因型
6) 酸溶血试验和 PNH 细胞(CD55 ⁻ 、CD59 ⁻)检测
7) 尿含铁血黄素试验(若酸溶血试验阳性或 PNH 细胞阳性)
8) 外周血淋巴细胞亚群、CD20、TH1/TH2、Tc1/Tc2 检测;CD4 ⁺ IFN- γ ⁺ (TH1)、CD4 ⁺ IL-4 ⁺ (TH2)、CD8 ⁺ IFN- γ ⁺ (Tc1)、CD8 ⁺ IL-4 ⁺ (Tc2)
9) 肝功能检查
10) 病毒学检查:肝炎病毒(甲、乙、丙等),EBV,CMV、HPV、B19
11) 抗核抗体和抗双链 DNA 抗体,Coombs 试验等(疑自身免疫性疾病)
12) 胸部 X 线检查
13) 腹部 B 超检查

2.1 血常规、Ret 计数、血涂片和 HbF 定量

血常规示全血细胞减少,淋巴细胞比例升高或不减少,大多数情况下,血红蛋白(Hb)、中性粒细胞(ANC)和血小板(PLT)均降低,但疾病早期可呈一系细胞减少,尤其是 PLT 减少,贫血往往伴 Ret 减少,也常见大红细胞。仔细检查血涂片对于发现异型 ANC、异常 PLT、幼稚细胞和其他异常细胞极为重要。单核细胞计数也可降低。常见红细胞大小不均,ANC 中可存在中毒颗粒,PLT 分布稀疏,体积变小。HbF 应该在输血前检测,是儿童骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)的一个重要预后因素,对儿童全血细胞减少症的鉴别诊断具有重要价值。

[收稿日期]2008-05-06;[修回日期]2008-07-17
[作者简介]黄绍良,男,教授。主攻方向:小儿血液病及造血干细胞移植。

2.2 骨髓检查

应进行骨髓涂片和骨髓活检。骨髓涂片易见以非造血细胞为主的骨髓小粒,否则,可能并非AA,片尾见增生低下,脂肪组织显著增多,残留数量不一的造血细胞。红系造血显著降低甚至缺如,常见明显红系病态造血,因此,不能仅凭红系病态造血诊断MDS。巨核细胞和粒细胞均减少或缺如,但无该两系的病态造血。淋巴细胞、巨噬细胞、浆细胞和肥大细胞显著增多。疾病早期尚可见明显噬血现象。骨髓涂片背景染色呈嗜伊红性,提示骨髓间质水肿。骨髓活检对判断骨髓增生状况、了解残余造血细胞形态和排除骨髓异常浸润极为重要,但并非“金指标”。活检部位的局限性以及同一部位先取骨髓涂片后取活检都可影响活检组织对全身造血状态的“代表性”。目前认为判断全身造血功能降低或衰竭与否,一要多部位(特别包括胸骨)骨髓穿刺以保证抽样“代表性”,AA骨髓呈“向心性”萎缩,髂骨先于胸骨脂肪化,与外周血常规改变较一致;二要骨髓涂片(主要反映骨髓细胞成分,判断造血功能盛衰)与活检(主要反映骨髓结构及特殊性成分如纤维化、石骨等,判断骨髓是否纤维化)相结合。在所谓“不典型AA”的骨髓增生活跃或低下时,以下骨髓细胞改变具有特征性:①非造血细胞增多,如网状细胞、脂肪细胞、浆细胞、淋巴细胞和组织嗜碱细胞;②易见以非造血细胞为主的骨髓小粒;③晚幼红细胞“碳核”增多;④淋巴细胞比例升高等有利AA诊断^[4]。取材良好的骨髓活检取材至少2 mm。绝大部分病例骨髓活检示广泛性增生低下,但有时可见灶性增生。骨髓灶性增生可解释为什么有时骨髓涂片结果正常。正常情况下皮层下骨髓增生低下,因此应避免沿切线方向取活检。可见红系细胞或粒系细胞在其成熟的某一阶段出现灶性增生,尤其在急性期或伴有自身免疫系统疾病(如类风湿性关节炎或系统性红斑狼疮)时,可出现淋巴细胞聚集现象。发现幼稚细胞,提示增生低下性MDS或可能发展为白血病。

2.3 肝功能检查和病毒检查

应常规检查肝功能,明确有无肝炎。肝炎后AA一般在急性肝炎后2~3个月发病,尤其多见于青年男性。因此,应进行肝炎病毒(甲、乙、丙)抗体及EB病毒血清学筛查。如作骨髓移植,还需进行CMV和其他病毒的血清学检查。微小病毒B19可致纯红再障,但不会引起AA。

2.4 免疫功能检测

IAA多数表现为外周血T淋巴细胞增高,以

CD8⁺T细胞增高为主,Th1、Tc1细胞增高^[5,6],而自身免疫性疾病相关AA,如系统性红斑狼疮、桥本氏甲状腺炎等多为Th2和CD20⁺细胞升高。自身免疫性疾病出现全血细胞减少的原因可能包括:①存在针对骨髓细胞的自身免疫损伤;②伴有骨髓纤维化;③极少病例可能在于骨髓本身增生低下。因此,所有AA患者都应检测抗核抗体、抗DNA抗体及Coombs试验。

2.5 PNH细胞检测

可通过酸溶血试验和/或流式细胞术检测磷脂酰肌醇聚糖锚定蛋白(如CD55、CD59)排除PNH。约50%~70%的AA儿童存在不同程度(3%~30%)的PNH细胞,以红细胞CD55⁻细胞增高多见,而无典型PNH临床和实验室证据,是良性骨髓衰竭的表现,常预示对IST具有较好的治疗反应。PNH患者近期有输血史,酸溶血试验可能阴性,但流式细胞术可检出大量的PNH细胞,常具有溶血的临床和实验室证据。

2.6 细胞遗传学检查

对外周血淋巴细胞进行细胞遗传学检查。Fanconi贫血具有特征性自发性或双环氧丁烷(或丝裂霉素-C)诱导的染色体断裂增加。骨髓增生极为低下者不易得到足够数量的分裂中期细胞,难以进行细胞遗传学检查,可考虑FISH检查,尤其注意观察5号和7号染色体的细胞遗传学异常。既往认为,存在细胞遗传学异常提示为MDS而非AA,但目前发现AA患者确诊时存在细胞遗传学异常的比例高达11%。儿童患者如诊断时出现细胞遗传学异常,尤其是7号染色体单体,提示诊断很可能为MDS。细胞遗传学异常也可见于疾病发展过程中。目前认为HLA-DRB1*15是儿童AA的易感基因之一,约50%IAA患儿表达该基因,对环孢菌素(CsA)治疗反应佳,其中HLA-DRB1*1501者可能易产生CsA依赖^[7]。

2.7 其他检查

就诊时所摄胸片对排除感染以及用于以后胸片的比较较为有用。腹部超声或CT发现脾大和/或淋巴结肿大,提示全血细胞减少的原因可能是血液系恶性疾病。年幼患者肾脏畸形或位置异常是Fanconi贫血的重要临床特征。

3 AA诊断与临床分型标准

AA诊断依据1987年第四届全国再生障碍性贫血学术会议修订意见,诊断标准:①外周血全血细胞

减少,Ret 绝对值减少,如两系减少,其中必有 PLT 减少 ($Hb \leq 100\text{ g/L}$, $ANC \leq 1.5 \times 10^9/L$, $PLT \leq 50 \times 10^9/L$);②骨髓至少一个部位增生减低或重度减低(若增生活跃,需巨核细胞明显减少),非造血细胞及淋巴细胞增多,易见以非造血细胞为主的骨髓小粒(有条件者作骨髓活检,显示造血组织减少,脂肪组织增多);③一般无肝脾肿大;④除外可引起全血细胞减少的其他疾病,如 PNH,MDS-RA,急性造血功能停滞,急性白血病,恶性组织细胞增生症。

临床分型对选择治疗方案和判断预后十分重要,临床分型主要参考 Camitta 标准^[8](表 2)。

表 2 AA 临床分型标准

重型 AA	骨髓有核细胞比例 < 25% , 或 25% ~ 30% , 但其中残留造血细胞比例 < 30% , 并至少存在下述 3 条标准中的两条: 1. $ANC < 0.5 \times 10^9/L$ 2. $PLT < 20 \times 10^9/L$ 3. $Ret < 20 \times 10^9/L$
非重型 AA	未达上述重型 AA 标准
极重型 AA (Bacigalupo 等,1988 年)	标准同重型 AA,但 $ANC < 0.2 \times 10^9/L$

IAA 诊断要求:①符合上述 AA 诊断标准;②细胞免疫功能异常;③排除先天性遗传性 AA,如 Fanconi 贫血;④找寻可能病因,除外继发性 AA。

4 鉴别诊断

4.1 急性造血功能停滞

有明确原发病或诱因,多见于感染过程中呈现血常规二系或三系减少,Ret 计数明显减少 (<0.5%)或缺如,骨髓不同程度增生抑制,非造血细胞无异常,骨髓小粒细胞成分正常,病程自限。

4.2 低增生性 MDS/急性髓细胞白血病

粒系和巨核系病态造血,血液或骨髓中出现幼稚细胞,骨髓活检发现残余造血灶网硬蛋白增加提示增生低下性 MDS 而非 AA。AA 造血恢复期也可见少量未成熟粒细胞聚集现象。

4.3 低增生性急性淋巴细胞白血病(ALL)

占儿童 ALL 的 1%~2%,骨髓衰竭一般在 3~9 个月内进展为 ALL。低增生性 ALL 患儿 ANC 减少程度较 PLT 减少程度更重,有时伴骨髓网硬蛋白水平增高。

4.4 PNH

PNH 与 AA 间密切关联或重叠,约 50% PNH 病程中呈现 AA 或少数以 AA 为首发症状,称为 AA-

PNH 综合征。一般糖水试验或酸溶血试验阳性,有直接或间接溶血证据及 CD59⁻、CD55⁻ 细胞百分比增高(尤其是骨髓单个核细胞中 CD59⁻ 细胞具特异性)。

4.5 其他

全血细胞减少和骨髓增生低下也可见于淋巴瘤(霍奇金病或非霍奇金淋巴瘤)和骨髓纤维化。骨髓活检仔细搜寻可能呈灶性分布的淋巴瘤细胞或纤维化病灶。骨髓纤维化常伴脾大。如骨髓纤维化不伴脾大,应警惕有无继发肿瘤。

5 治疗

5.1 支持治疗

5.1.1 输血 红细胞和血小板输注对维持患者血常规处于安全水平极为重要。 $PLT < 10 \times 10^9/L$, 或 $< 20 \times 10^9/L$ 但伴发热,建议预防性输注血小板。通过红细胞和血小板输注,保持患者 $Hb \geq 70\text{ g/L}$ 和 $PLT \geq 20 \times 10^9/L$ 的安全水平,不能因为担心致敏而不输血。要预见某一特定患者是否出血很困难,致死性出血(通常为颅内出血)一般见于 $PLT < 10 \times 10^9/L$ 的患者,易发生视网膜广泛出血、颊黏膜出血或发展迅速的紫癜,但也可以颅内出血为首发出血。

AA 患者反复输血常见产生 HLA 或非 HLA 抗体介导的抗血小板的同种异体免疫反应,可降低血小板输注疗效,增加骨髓移植排斥反应风险。血小板输注无效者应筛查 HLA 抗体,并排除感染和药物等其他降低疗效的原因。如患者因血小板致敏导致血小板输注无效,应使用 HLA 相合的血小板制剂,如患者已产生了多种 HLA 抗体并急需血小板输注,此时家庭成员(特别是同胞或父母)的血小板可能最为匹配。但输注家庭成员的血制品,受血者可能被骨髓移植供者的次要组织相容性抗原致敏,增加移植排斥反应的风险。计划骨髓移植的患者应尽可能减少输血,常规加用过滤器。动物实验结果表明,骨髓移植前输注照射处理的红细胞和血小板制剂,可进一步降低次要组织相容性抗原的致敏,降低移植排斥反应的风险。

CMV 感染状况未明确前推荐输注 CMV 阴性的血制品,当患者和骨髓供者均为 CMV 阴性时,患者应始终输注 CMV 阴性的血制品。

除血小板输注外,6-氨基乙酸 100 mg/kg 静滴,每 6 h 1 次(除血尿外)或止血敏可减少黏膜出血,其他预防出血的重要措施包括保持牙齿良好卫生、口服氨甲环酸。快诺酮可控制月经过多。

5.1.2 造血生长因子 目前尚无安全有效的造血生长因子维持患者红细胞和 PLT 水平,绝大多数患者血清促红细胞生成素(EPO)水平显著增高,重组人 EPO 对 AA 患者无效,EPO 使用中值得关注的一个问题在于抗 EPO 抗体可导致红细胞再生障碍,加重贫血。此外,EPO 联用其他 AA 治疗常规药物(如 CsA),增加毒副作用(如高血压)。

5.1.3 感染的预防 感染危险性取决于患者中性粒细胞和单核细胞的数量。但由于某些患者反复感染而其他患者则很少感染甚至不感染,因此应具体分析某一特定患者的感染危险性。AA 患者容易发生细菌和真菌感染。重型 AA 患者由于持续性严重中性粒细胞减少(和单核系细胞减少),曲霉菌感染的死亡率很高。高感染风险患者在医院应隔离治疗,预防使用抗生素和抗真菌药,常规口腔护理,使用杀菌性漱口水(洗必泰等),注意食物卫生。空气层流净化装置并非必需,但如有条件可使用。

预防性应用抗生素,包括口服两种非吸收性抗生素(如庆大霉素及百炎净)或喹诺酮类抗生素,有助于预防革兰阴性菌感染。但是,要注意喹诺酮耐药菌株的出现和革兰阳性菌感染风险增加,儿童患者并非常规预防性使用抗生素,一般不用喹诺酮类药物,口服非吸收性抗生素胃肠反应很大。口服非吸收性抗真菌药两性霉素或伊曲康唑、氟康唑对曲菌及部分念珠菌无效,尤其当患者有曲霉菌感染既往史时应服伊曲康唑。

未治的 AA 患者无需用复方新诺明预防卡氏肺囊虫肺炎,骨髓移植后必需预防卡氏肺囊虫肺炎,但使用抗胸腺细胞免疫球蛋白(ATG)者除外。所有移植后患者和接受 ATG 治疗的患者应使用阿昔洛韦预防感染。重度中性粒细胞减少的患者($ANC < 0.2 \times 10^9/L$)应预防性使用抗生素和抗真菌药,避免食用可能被细菌或真菌污染的食物。对中等感染风险的患者($ANC 0.2 \sim 0.5 \times 10^9/L$),是否长期预防性使用抗生素和抗真菌药尚无一致意见,最好根据患者既往感染发生的频率和严重性进行判断。

5.1.4 感染的治疗 所有中性粒细胞减少的患者,一旦发热均需住院治疗,并在细菌学检查结果明确前。通常最初选择两种具有协同作用的抗生素经验性治疗,如氨基糖甙类和 β -内酰胺类抗生素,或广谱抗生素如舒普深、泰能(或美平),而抗生素的准确选择取决于细菌的敏感性/耐药性。中性粒细胞减少持续时间,既往感染史和近期抗生素使用情况(包括早期使用两性霉素 B),都会影响抗生素的选择。

如发热持续不退,建议在治疗方案中早期静脉使用两性霉素或伏立康唑(或伊曲康唑)。AA 患者中性粒细胞减少可能持续很长时间,一旦感染曲霉菌,治疗极为困难。如有真菌感染既往史、确诊真菌感染或怀疑真菌感染时,应联合使用两性霉素 B 或伊曲康唑和一线抗生素。需长期治疗的患者,可早期使用或开始即使用两性霉素脂化制剂,或新型抗真菌药(如伊曲康唑、卡泊芬净),以避免出现严重的肾毒性。重型 AA 患者出现肺部浸润和感染形成窦道,高度提示真菌感染。发热或持续发热者应常规进行胸片检查。如胸片难以得出明确结果,应行高分辨率 CT 扫描。

粒细胞集落刺激因子(G-CSF)可用于 AA 残存骨髓中性粒细胞造血能力测试,G-CSF 有反应者中性粒细胞可升高,用药 1 周如仍无疗效,应停药。免疫抑制治疗后对 G-CSF 有反应是治疗成功的良好预示,也可减少感染发生。

5.1.5 预防接种 预防接种可导致骨髓衰竭或 AA 复发,因此,除非绝对必要,应于骨髓移植后 1 年或 IST 停药 6 个月后预防接种。

5.1.6 心理支持治疗 对患者及其家庭成员的心理支持极为重要。需向患者及家属详细解释其疾病本质,应早期对患者强调 IST 见效慢的特点。治疗 4 个月甚至更长时间,病情仍无起色,患者(及家属和朋友)和医务人员情绪都会相当低落。这时要抵制放弃治疗或采用不恰当并具有风险的治疗方法和药物的想法,因为治疗 1 年或更长时间后才开始恢复的患者并非少见。

5.2 特殊治疗

特殊治疗措施包括 AHSCT 和 ATG/CsA 联合的强化 IST。由于移植前预处理方案的改进,替代供体(除 HLA 相合同胞骨髓外)AHSCT 的效果有所提高,可用于 ATG/CsA 疗效不佳的重型 AA 患者^[1,9,10]。

特殊治疗前,患者的临床状况必须稳定,出血和感染已被控制。在感染或出血未控制前开始 IST 很危险。AHSCT 后出现感染为不良预后因素。但真菌感染时进行骨髓移植,如果移植成功,ANC 恢复,有利于感染控制,而延迟移植则可能会增加真菌感染扩散的危险。AA 很少早期自发缓解,一旦明确诊断、患者临床稳定、评估了疾病严重程度、完成了 HLA 配型和制定了治疗方案,就应开始特殊治疗。糖皮质激素治疗 AA 无效,而且增加细菌和真菌感染机会,当 PLT 显著减少时尚可诱发严重胃肠道出血。

5.2.1 HLA 相合同胞骨髓移植 重型或极重型 AA,应首选 HLA 相合同胞骨髓移植^[11],其长期治

愈率可达85%~93%,移植排斥发生率为5%~10%左右,Ⅱ-Ⅳ级急性移植植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)发病率为 $(18 \pm 3)\%$,慢性GVHD发病率为 $(26 \pm 5)\%$ ^[10]。输注的骨髓有核细胞数量 $\geq 3 \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞的最少量为 $3 \times 10^6/\text{kg}$,否则移植排斥发生率显著升高。采用非骨髓清扫加强烈免疫抑制作用的预处理方案可预防移植排斥和GVHD。常用预处理方案有^[1,9,11]:

方案一:环磷酰胺(Cy)50 mg/kg·d×4(-5 d~-2 d),静滴 ≥ 1 h;马抗胸腺球蛋白(ATG)30 mg/kg·d(或兔ATG 2.5~3.0 mg/kg·d)×3(-4 d~-2 d),首剂静滴 ≥ 8 h,第2、3天静滴持续>4 h,与甲基泼尼松龙(2 mg/kg·d×3)联用。

方案二: Cy 60 mg/kg·d×2(-5 d~-4 d);氟达拉滨(Fludarabine)150~180 mg/m²(-5 d~-2 d);ATG(同上)或以Campath-I代替ATG。

方案三:全身照射(TBI)(200~300 cGy)+Cy(200 mg/kg)+ATG(4 d)。

常用的GVHD预防方案有^[11]:

方案一:CsA+短程MTX,CsA 3 mg/kg·d,静滴,于-1 d开始至可口服时改口服,维持有效血药浓度,+9个月起逐渐减量,至+12月停药,以防迟发性移植排斥。MTX 15 mg/m²,+1 d;10 mg/m²·d于+3、+6、+11 d。

方案二:CsA+MTX+MMF,CsA和MTX的用法同方案一,MMF(骁悉)30 mg/kg·d,分次(q 8 h)口服(+1 d~+28 d)。

移植后的处理:同种异基因骨髓移植后迟发性移植失败发生率较高,常见于移植后CsA停用太早或血药浓度低者。CsA应至少连续使用9个月,然后3个月内逐渐减量停药。CsA血药浓度为150~200 μg/L可降低其毒性。应密切监测供受者嵌合现象,尤其在CsA减量期间。如通过PCR检测短串联重复序列等方法证实存在显著嵌合现象(受者细胞比例>20%),或者受者细胞比例明显增高,提示迟发性排斥发生的可能很大,这时CsA不能减量或停药。如未接受放射治疗,AA患者骨髓移植后其生育能力一般保持或接近正常(TBI时需屏闭卵巢或睾丸区)。应告诉患者由于未进行放射治疗,第二肿瘤的发病率不会明显升高。

5.2.2 替代供体AHSCT 约70%的AA患儿无HLA全相合同胞供体,需要考虑IST或替代供体AHSCT。替代供体包括非血缘相关HLA全相合或不全相合供体,血缘相关HLA不全相合供体(或单倍体相合)等。以往移植失败率及GVHD发生率

高,长期存活率低,近年通过:①增加HLA抗原位点(A、B、C、DRB1及DQB1)高分辨率配型;②改良的非清髓性预处理方案(Cy+低剂量TBI或加Fludarabine,ATG改用Campath-I)等,明显改善了移植效果,与HLA相合同胞骨髓移植相当^[1,9,12,13]。儿童患者如无HLA相合同胞骨髓供者,或者无HLA相合的非亲缘成人供者,也可考虑脐血造血干细胞移植^[11]。

如达到下述所有标准,可考虑采用替代供体移植:①高分辨HLA位点(A、B、C、DRB1、DQB1)全相合或1个位点不合替代供体;②患者至少一个疗程强化免疫抑制治疗后无效;③重型AA患者;④骨髓移植时无活动性感染和急性出血征象;⑤患者家属应充分知情AA的自然病程和其他可能的治疗选择,以及替代供体AHSCT的风险。

预处理方案可采用以下两方案之一^[11~13]: ①Fludarabine(150 mg/m²)+Cy 60 mg×2或50 mg/kg·d×4+ATG 2.5 g/kg·d×3;②TBI(300 cGy)+Cy+ATG。GVHD预防方案同前。

5.2.3 强化IST ATG联合CsA的IST的有效率介于60%~85%之间。无论是重型AA还是非重型AA,单用ATG疗效明显低于两者联合使用,目前强化IST的8年实际存活率>85%,成为不适于AHSCT儿童AA的选择。IST后AA可能会复发,既往报道复发率约30%,但如CsA的使用时间更长(>6个月),缓慢减量,则复发率可降至10%左右。国外报道患者存在发生克隆性疾病的风险(作者认为该情况少见),MDS和AML的发生率5%~10%,PNH发生率10%~15%^[1,9,11,14]。

IST的适应证:①需红细胞和/或血小板输注的非重型AA患者;②无HLA相合同胞供者或有HLA相合同胞供者但无经济承受力的重型或极重型AA患者。ATG是一种强烈免疫抑制剂,严重中性粒细胞减少的患者使用此药需严密监测,预防和治疗发热和感染,应给予充分的血小板输注支持。

目前推荐标准强化IST方案^[14]:马ATG 10~15 mg/kg·d(或兔ATG 2.5~3.5 mg/kg·d)×5,经PICC插管于12~18 h内静滴,应先作皮肤过敏试验(取原液0.05 mL)或以少剂量作过敏试验(ATG 1 mg+100 mL生理盐水,于1 h内静注)。如发生严重全身反应或过敏反应,则不能再次给予同类ATG制剂。过敏反应是早期的副作用,常见发热、皮疹、高血压、低血压和体液潴留。甲基泼尼松龙10 mg/kg·d×2,与ATG同步静滴(ATG静滴前0.5 h开始),以后按5 mg/kg·d×2静滴,

1 mg/kg · d × 2, 0.5 mg/kg · d × 9 口服, 3 d 内减量停药, 预防过敏反应及血清病。血清病一般发生于 ATG 使用后 7 ~ 14 d 内, 常见症状包括关节痛、肌痛、皮疹、发热、轻度蛋白尿和血小板减少。需加强血小板输注支持治疗, 维持血小板数量在安全水平 ($>30 \times 10^9/L$), 但不能与 ATG 同时应用, 因为 ATG 具有抗血小板的作用。患者应保护性隔离护理, 一旦发热, 即使考虑 ATG 所致, 也应使用广谱抗生素。

使用甲基泼尼松龙的最后一天 (第 14 天) 应开始口服 CsA (剂量 8 ~ 10 mg/kg · d, 分 2 次), 保证 CsA 血清药浓度 100 ~ 150 $\mu\text{g/L}$ (全血浓度 200 ~ 400 $\mu\text{g/L}$), 并定期监测血压和肝肾功能。血药浓度的监测开始 2 周为每周一次, 以后每 2 周一次, 若血肌酐水平大于正常基准 30% 时, CsA 应每周减少 2 mg/kg · d, 直至肌酐水平正常。CsA 浓度 $<100 \mu\text{g/L}$ 为吸收不良, $\geq 500 \mu\text{g/L}$ 为过量, 应停用, 每天或隔天复查至 $\leq 200 \mu\text{g/L}$ 时, 重新开始 CsA (剂量减少 20%)。CsA 主要副作用为肝肾功能损害、高血压、多毛、震颤、牙龈增生。

CsA 与其他药物配伍禁忌: ① 通过药物动力学相互作用, 降低 CsA 半衰期和血药水平的药物有利福平、苯巴比妥、苯妥英钠、酰胺咪嗪; 增加 CsA 全血水平的药物有红霉素、硝苯地平, 氟康唑, 酮康唑; ② 通过药物相互作用, 两性霉素 B、复方新诺明 (IV) 和 Melphalan 等增加肾毒性。

IST 后患儿血液学指标恢复慢, 治疗后 3, 6, 12 个月的完全反应率和总反应率分别为 13%, 39%, 55% 和 61%, 74%, 80%, 少数病例迟至 18 个月。因此判定 IST 无效的时间以 4 个月为准, 维持治疗则需 1 ~ 2 年, 少数需 5 ~ 6 年。IST 无反应者占 10% ~ 30%, 其机制不十分明了, 可能与下述因素有关: ① 免疫抑制剂 (特别是 ATG) 剂量不足, ATG 剂量不足, 难于达到清除介导异常免疫的活化的细胞毒性 T 细胞及免疫调节作用; ② AA 患者骨髓造血干细胞耗竭, 当造血干细胞凋亡达某一阈值时, 即使去除了异常免疫, 残存的造血干细胞也难于重建自身造血功能; ③ 非免疫因素导致的骨髓耗竭, 如放/化疗, 某些有毒化合物诱发或先天遗传性骨髓衰竭综合征 (Fanconi 贫血, 先天性角化不良症等)^[11]。疗效判定参考 1998 年 Santa Margherita Ligure 国际会议制定的标准^[15] (表 3)。

ATG 治疗第 1 个疗程后如果无效或复发, 可考虑第 2 个疗程的 ATG 治疗, 但仍有争议。第 2 个疗程的治疗应该在第 1 个疗程完成 3 个月后开始, 有效率约为 60%。可选择兔或马 ATG, 但再次使用同

表 3 免疫抑制治疗 AA 的疗效评价标准

	重型 AA	非重型 (轻型) AA
无效	仍达重型 AA 诊断标准	加重或未达到下述标准
部分有效	不依赖输血, 未达重型 AA 诊断标准	不依赖输血 (如果曾经依赖) 或至少一系细胞计数正常或成倍增加或 Hb 上升 30 g/L (如开始 $<60 \text{ g/L}$); ANC 上升 $0.5 \times 10^9/L$ (如果开始 $<0.5 \times 10^9/L$); PLT 上升 $20 \times 10^9/L$ (如果开始 $<20 \times 10^9/L$)
完全有效	Hb 恢复正常 ANC $>1.5 \times 10^9/L$ PLT $>150 \times 10^9/L$ 骨髓细胞形态学正常	同重型 AA 疗效标准

一 ATG 制剂, 过敏反应的发病率更高, 血清病出现更早。开始 ATG 第 2 疗程时也应先给予试验剂量, 如无严重反应方可给予全量 ATG^[1,9]。

IST 疗效预测可为选择 IST 及 IST 后进一步治疗方案制定提供更多信息, 减少治疗的盲目性和被动性, 实现个体化治疗。

早期预测参考指标: ① 病程长短对 IST 有一定影响, 病程 <12 个月者明显好于 >12 个月, IST 后 6 个月反应率分别为 88% 和 33%; ② G-CSF 早期治疗反应, 有助评估 AA 患者残存的造血功能, 无反应者 IST 疗效也差; ③ 免疫活化指标, $\text{CD}_8^+ \text{IFN-}\gamma^+$ 增高者有效率 96%, 反之, 仅 32%; ④ T 淋巴细胞寡克隆表达阳性者 IST 疗效好; ⑤ HLA-DRB1 * 15 阳性表达, CsA 反应率达 92%, 可能易产生 CsA 依赖; ⑥ PNH 细胞阳性 AA 患儿对 IST 反应率优于阴性者 (86% ~ 91% vs 25% ~ 48%); ⑦ 细胞遗传学异常, 13q-, 8-三体者对 IST 反应较好^[3,4,6,7,11]。

IST 反应对远期预后的预测: ① ATG 治疗后对 G-CSF 有早期反应是整个治疗获得成功的良好预示; ② 治疗 3 个月血常规反应 (PLT $\geq 50 \times 10^9/L$ 或 Ret $\geq 50 \times 10^9/L$) 可预示远期疗效良好^[1]。

应定期随访, 监测全血细胞计数, 了解有无疾病复发和继发克隆性疾病 (如 PNH, MDS 和 AML)。ATG 治疗 3 ~ 4 个月后, 应筛查 PNH 和骨髓细胞遗传学检查。如治疗有效, 血细胞计数能维持至少 6 个月, 可考虑 CsA 逐渐减量 (根据血细胞计数及骨髓象结果), 一般需要数月甚至更长时间 (维持 1 ~ 2 年), 这时最好再次筛查 PNH 和骨髓细胞学检查。如存在疾病复发的证据或血细胞计数及血涂片检查异常, 需要更详尽的骨髓细胞遗传学检查, 对了解有无 MDS 十分重要。建议每年筛查一次 PNH。

5.2.4 具有细胞遗传学异常的 AA 的处理

11% AA 患者诊断时可检出细胞遗传学异常, 常见

细胞遗传学异常:8-三体、6-三体、5q-以及7和13号染色体异常。异常细胞克隆比例一般很小,仅占分裂中期细胞的小部分,可自发消失或IST获得血液学缓解后消失。伴或不伴细胞遗传学异常AA患者对IST的有效率差异无显著性。最近研究表明,具有获得性8号染色体三体的患者较之7号染色体单体的患者对IST的疗效好,后者更易转化为白血病。若为7号染色单体,按MDS治疗。

对具有细胞遗传学异常的患者应给予IST(ATG/CsA),但不应化疗,否则无一例外会加重全血细胞减少,并可引起不可逆转的骨髓衰竭。如患者满足同胞骨髓移植条件,则应骨髓移植,7号染色单体患者应给予骨髓清扫,伴有其他染色体异常者,病程和转归同一般AA,无需骨髓清扫。

细胞遗传学异常AA患者应每6个月进行一次骨髓及细胞遗传学检查。如发现骨髓增生异常或发现幼稚细胞,应及早骨髓移植。

5.2.5 儿童IAA的治疗选择 目前未有统一公认的临床和实验室指标可将IAA分为IST敏感型及非敏感型以选择IST还是骨髓移植。结合我国情况,提出以下选择原则供参考:①有HLA完全相合同胞供体并有经济条件者,一经确诊应尽快作骨髓移植;②经济承受力佳,又有高分辨HLA10个抗原位点(A、B、C、DR、DQ)相合的替代供体可优先考虑骨髓移植;③无经济承受力者,可选择IST;④无适合HLA全相合同胞或替代移植供体者给予IST;⑤IST治疗3~4个月有反应者继续治疗1~2年以上,酌情逐渐减量至停药观察;⑥若第1疗程IST无反应或复发者可考虑第2疗程IST;⑦IST难治或复发者的解救治疗可考虑替代供体骨髓移植。

[参 考 文 献]

[1] Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia[J]. Blood, 2006, 108(8):2509-2519.
[2] 黄永兰,黄绍良,魏菁 吴燕峰,方建培,陈纯,等.再生障碍性贫

血患儿骨髓造血干细胞缺陷与细胞免疫功能异常的关系[J]. 中华血液学杂志,2006,27(2):129-131.
[3] 黄永兰,黄绍良,包蓉,张绪超,吴燕峰. 再生障碍性贫血儿童TCRVβ亚家族T细胞克隆性增殖及其与HLA-DRB1*15的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版),2006,27(2):165-168.
[4] 黄绍良,黄永兰,方建培,陈纯,黄科,周敦华. 儿童再生障碍性贫血临床特点及临床分型探讨[J]. 中国实用儿科杂志,2007,2(10):764-766.
[5] 黄永兰,黄绍良,梁蔚文,魏菁. 再生障碍性贫血患儿CD4⁺CD25⁺T细胞及TGF-β1 Flt-3L水平变化的意义[J]. 中国实用儿科杂志,2007,22(2):130-133.
[6] 黄永兰,黄绍良,方建培,魏菁. 儿童再生障碍性贫血外周血Th1/Th2、Tc1/Tc2异常的临床意义[J]. 中华儿科杂志,2006,44(10):794-795.
[7] 黄永兰,黄绍良,黄科,包蓉. 再生障碍性贫血患儿HLA-DRB1*15表达及其与免疫抑制治疗疗效的关系[J]. 中国实验血液学杂志,2007,15(6):1212-1215.
[8] Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG, Santos G, Gordon-Smith EC, Gale RP, 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.
[9] Kurre P, Johnson FL, Deeg HJ. Diagnosis and treatment of children with aplastic anemia [J]. Pediatr Blood Cancer, 2005, 45(6):770-780.
[10] Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Brede-son CN, Bullorsky E, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia[J]. Blood, 2007, 110(4):1397-1400.
[11] Davies JK, Guinan EC. An update on the management of severe idiopathic aplastic anemia in children [J]. Br J Haematol, 2007, 136(4):549-564.
[12] Maury S, Balere-Appert ML, Chir Z, Boiron JM, Galambrun C, Yakouben K, et al. Unrelated stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia: improved outcome in the era of high-resolution HLA matching between donor and recipient[J]. Haematologica, 2007, 92(5):589-596.
[13] Kennedy-Nasser AA, Leung KS, Mahajan A, Weiss HL, Arce JA, Gottschalk S, et al. Comparable outcomes of matched-related and alternative donor stem cell transplantation for pediatric severe aplastic anemia [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(12):1277-1284.
[14] 陈纯,方建培,黄绍良,钟风仪. 免疫抑制治疗儿童重型再生障碍性贫血54例疗效分析[J]. 中华儿科杂志,2006,44(11):841-844.
[15] Camitta BM. What is the definition of cure for aplastic anemia? [J]. Acta Haematol, 2000, 103(1):16-18.

(本文编辑:邓芳明)