

获得性再生障碍性贫血克隆性进展为骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病：19例临床分析及文献复习

马力 李星鑫 张静 邵英起 聂能 黄振东 葛美丽 郑以州 曲东霞 施均

【摘要】 目的 观察获得性再生障碍性贫血(AA)患者克隆性演变为骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病(MDS/AML)的临床特征及转归。**方法** 回顾性分析1994年12月至2011年12月进展为MDS/AML的19例AA患者临床特征及转归,包括治疗方案、治疗前后染色体核型变化、治疗反应及生存情况。**结果** 中位随访49(15~97)个月,进展为MDS/AML 19例AA患者中极重型AA 10例、重型AA 8例、非重型AA 1例。G-CSF治疗中位时间为270(29~510)d,进展后其染色体异常核型以-7为主(19例中11例),AA进展为MDS/AML中位时间为33(11~88)个月。AA治疗后有效组进展为MDS/AML中位时间(54.2个月)显著长于无效者(25.7个月),差异有统计学意义($t=3.677, P<0.01$)。**结论** AA患者进展为MDS/AML常伴有染色体核型异常,预后较差。

【关键词】 贫血,再生障碍性; 克隆进化; 骨髓增生异常综合征; 白血病,髓样,急性; 临床特征

Acquired aplastic anemia developing myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia: clinical analysis of nineteen patients and literatures review Ma Li*, Li Xingxin, Zhang Jing, Shao Yingqi, Nie Neng, Huang Zhendong, Ge Meili, Zheng Yizhou, Qu Dongxia, Shi Jun*. *Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China*

Corresponding author: Shi Jun, Email: shijun1973@hotmail.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical features of clonal evolution of acquired aplastic anemia (AA) into myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia (AML) and review of literatures. **Methods** AA developing MDS/AML patients between December 1994 and December 2011 enrolled into this study to analyze their clinical characteristics. **Results** During the median follow-up of 49(15-97) months, 19 patients evolved to MDS/AML, of whom 10, 8 and 1 were from VSAA, SAA and NSAA subgroups, respectively. The median G-CSF therapy was 270(29-510) days. There were monosomy 7 in 11 (57.9%) of 19 patients with AA evolved to MDS/AML. The median AA evolved to MDS/AML was 33 (11-88) months. The median MDS/AML transformation in responders (54.2 months) was significantly longer than of non-responders (25.7 months, $P<0.01$). **Conclusion** AA patients could evolved into MDS/AML concomitant with abnormal karyotype and worse prognosis.

【Key words】 Anemia, aplastic; Clonal evolution; Myelodysplastic syndrome; Leukemia, myeloid, acute; Clinical characteristics

获得性再生障碍性贫血(AA)是免疫介导的骨髓衰竭性疾病,免疫抑制治疗(IST)有效率可达

58%~77%, 11年长生存率可达58%^[1]。但有15%~20%的AA患者5年内克隆性进展为骨髓增生异常综合征(MDS)或急性髓系白血病(AML)。我们总结19例恶性克隆性病变为MDS/AML的AA患者临床资料,分析其临床特征及转归,并文献复习AA患者克隆性演变的病理机制。

病例和方法

一、病例

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.03.009

作者单位:300020 天津,中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院[马力(现在大连市友谊医院血液科,116001)、李星鑫、张静、邵英起、聂能、黄振东、葛美丽、郑以州、施均];大连市友谊医院血液科(曲东霞)

通信作者:施均,Email:shijun1973@hotmail.com

1994年12月至2011年12月间共计1 100例AA患者就诊于大连市友谊医院与中国医学科学院血液病医院,19例患者恶性克隆病变为MDS/AML,入选标准:①初诊AA及克隆病变时明确诊断;②有完整随访资料。AA诊断及分型参照文献[2]标准,其中极重型AA(VSAA)10例,重型AA(SAA)8例,非重型AA(NSAA)1例。

二、治疗方案

1. IST方案:①环孢素(CsA)单用:CsA 3~5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,口服,根据患者血常规、CsA血药浓度、血清肌酐及胆红素水平调整剂量。②抗淋巴细胞球蛋白/抗胸腺细胞球蛋白(ALG/ATG)联合CsA:马ALG(法国Pasteur Merieux血清与疫苗公司产品)10~15 mg·kg⁻¹·d⁻¹或兔ATG(德国Fresenius公司或法国Sangstat公司产品)3.5~5.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹,第1~5天,缓慢静脉输注。泼尼松1 mg·kg⁻¹·d⁻¹,第1~15天(第1~5天静脉输注地塞米松及氢化可的松,根据上述泼尼松剂量换算),如患者无严重血清病反应,16 d后开始逐渐减量,至第30天停用。CsA用法同上,于ALG/ATG应用后第16天开始应用^[3]。

2. G-CSF治疗方案:G-CSF治疗参照文献[3-4]:①1994年12月至2004年10月,于ALG/ATG应用后第31天开始应用G-CSF,每次300 μg,每周3次,应用1个月;减至每周2次,应用1个月;再减至每周1次,应用1个月;②2004年11月至2011年12月,于ALG/ATG治疗前即开始应用G-CSF 5 μg·kg⁻¹·d⁻¹,维持患者外周血WBC约4×10⁹/L,直至患者造血功能恢复。此外,少数患者发生感染时短期应用G-CSF治疗。

3. 雄激素:司坦唑醇0.1~0.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹或十一酸睾酮2.0~4.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹口服。

4. 维持治疗:所有患者均在获得最佳血液学治疗反应后,继续应用CsA及雄激素,1年后开始减量。维持治疗期间每3~6个月按原剂量25%减量1次,并定期检测外周血计数及骨髓造血祖细胞水平,恢复正常后完全停药。因个人原因或缺乏HLA相合的造血干细胞供者,本研究中所有无效者均未行造血干细胞移植挽救治疗。

三、随访观察

随访截至患者死亡或2014年4月30日,中位随访49(15~97)个月。每3~6个月对患者骨髓进行1次评估。观察项目包括血常规、骨髓象、骨髓病理特征、染色体核型(采用R显带技术)、骨髓细胞白血病免疫分型(流式细胞术),以期评价疗效及监测恶

性克隆性疾病的发生。并观察患者疗效及相关死亡情况。患者在AA诊断及治疗过程中定期行Rous试验、Ham试验、蛇毒因子溶血试验、微量补体溶血敏感试验、血细胞CD55及CD59表达水平检测,以除外阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)克隆的发生。总生存(OS)定义为患者确诊至死亡或2014年4月30日。

四、疗效评价标准

参照文献[2]标准判定疗效:分为①基本治愈;②缓解;③明显进步;④无效。①、②、③均为有效。恶性克隆性演变指随访期间AA进展为MDS/AML,后者由至少两位经验丰富的血液病专家结合骨髓细胞形态学、细胞遗传学、细胞免疫学及骨髓病理学诊断,并参照2008年WHO标准进行分型诊断。

五、统计学处理

应用SPSS 13.0软件进行统计学分析。OS率采用Kaplan-Meier法估算,符合正态分布及方差齐性的组间数据比较用*t*检验。*P*≤0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者临床特征:19例进展为MDS/AML的AA患者中,男12例,女7例,中位年龄17(5~44)岁,初诊AA及进展为MDS/AML时均除外PNH克隆。16例患者予ALG/ATG联合CsA治疗,3例予CsA单用,所有患者均接受G-CSF及雄激素治疗,G-CSF治疗中位时间为270(29~510)d。进展为MDS/AML距AA确诊的中位时间为33(11~88)个月。进展为MDS/AML具体类型:MDS-难治性血细胞减少伴有多系发育异常(RCMD)8例、MDS-难治性贫血(RA)3例、MDS-难治性贫血伴有环状铁粒幼红细胞(RAEB)3例、AML 5例。19例患者确诊AA时,13例染色体核型正常;1例核型异常,为46,XY,csb(5q23)[7];5例因无细胞分裂象未能行核型分析。其中15例患者进展为MDS/AML时出现异常染色体核型:-7 11例、复杂核型2例、+8 1例、核型未检出1例(表1)。

2. AA疗效与恶性克隆发生时间的关系:AA治疗6个月时评估疗效:基本治愈1例、缓解1例、明显进步4例、无效13例。AA治疗后有效组(6例)进展为MDS/AML时间(54.2个月)显著长于AA治疗后无效组(25.7个月),差异有统计学意义(*t*=3.677, *P*<0.01)。

表1 19例进展为骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病(MDS/AML)的再生障碍性贫血(AA)患者临床资料及转归

例号	年龄(岁)	性别	AA分型	初诊AA时染色体核型	治疗方案	G-CSF治疗时间(d)	治疗效果	进展为MDS/AML类型	进展为MDS/AML的染色体核型	进展为MDS/AML时间(月)	转归	生存时间(月)
1	9	男	SAA	46,XY[2]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	90	无效	MDS-RCMD	45,XY,-7[5]/46,XY[2]	11	死亡	30
2	11	男	VSAA	46,XY[8]/46,XY,csb(5q23)[7]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	100	基本治愈	MDS-RAEB	46,XY,[9]可见较多多倍体	53	死亡	59
3	12	男	VSAA	46,XY[8]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	360	无效	MDS-RCMD	45,XY,-7[12]/46,XY[3]	21	死亡	49
4	8	男	VSAA	46,XY[10]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	270	无效	MDS-RA	46,XY[8]	39	带病生存	79
5	17	男	SAA	46,XY[15]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	450	缓解	MDS-RCMD	46,XY[15]	30	死亡	60
6	24	女	VSAA	-	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	139	无效	MDS-RCMD	45,XX,-7[14]	22	死亡	51
7	14	女	SAA	46,XX[5]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	510	明显进步	MDS-RA	45,XX,-7[4]/46,XX[6]	34	带病生存	97
8	42	女	VSAA	46,XX[1]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	150	明显进步	MDS-RCMD	45,XX,-7[3]	36	带病生存	82
9	10	女	SAA	46,XX[15]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	270	无效	MDS-RCMD	45,XX,-7[3]/46,XX[2]	11	死亡	41
10	28	男	VSAA	-	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	500	无效	AML-M ₂	45,XY,-7[5]	39	死亡	42
11	5	男	VSAA	46,XY[8]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	450	无效	MDS-RA	45,XY,-7[5]	33	带病生存	64
12	28	男	VSAA	46,XY[8]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	210	无效	AML	46,XY,+8[10]	14	死亡	15
13	10	女	VSAA	-	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	450	无效	MDS-RCMD	45,XX,-7[5]	33	带病生存	40
14	34	女	SAA	-	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	29	明显进步	AML-M ₄	45,XX[12]	84	死亡	87
15	44	男	SAA	-	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	30	明显进步	AML-M ₂	-	88	死亡	90
16	22	女	SAA	46,XX[1]	ATG+CsA+G-CSF+雄激素	186	无效	AML-M ₅	48,XX,+19,i21,+i21[10]/46,XX,[10]	38	带病生存	39
17	28	男	VSAA	46,XY[15]	CsA+G-CSF+雄激素	350	无效	MDS-RAEB	46,XY[13]	23	死亡	32
18	23	男	VSAA	46,XY[8]	CsA+G-CSF+雄激素	92	无效	MDS-RAEB	45,XY,-7[3]/46,XY[10]	19	带病生存	26
19	12	男	NSAA	46,XY[9]	CsA+G-CSF+雄激素	320	无效	MDS-RCMD	45,XY,-7[20]	18	带病生存	48

注:SAA:重型AA;VSAA:极重型AA;NSAA:非重型AA;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;CsA:环孢素;RCMD:难治性血细胞减少伴多系发育异常;RA:难治性贫血;RAEB:难治性贫血伴有环状铁粒幼红细胞;-:无细胞分裂象未能进行核型分析

3. 生存情况:截至2014年4月30日,19例患者中11例死亡,8例带病生存。进展为MDS/AML后中位OS期为19(1~63)个月。Kaplan-Merer法分析

进展为MDS/AML后患者的1年OS率为65.9%,2年OS率为59.2%,3年OS率为33.2%。5例转化为AML患者中4例死亡,1例带病生存;14例转化为

MDS患者中7例死亡,7例带病生存。

讨 论

获得性AA残存的造血均为多克隆性,15%~20%的AA患者经IST后进展为克隆性疾病MDS/AML。文献报道AA经IST后发展为MDS/AML的中位时间为31~37个月^[5-7],本组患者进展为MDS/AML的中位时间与文献报道类似。综合多个研究^[8-10]分析,AA进展为MDS/AML的危险因素可能包括重复疗程ATG治疗、老年人、持续G-CSF治疗及缩短的端粒长度。

但是G-CSF的应用是否促进AA患者转化为MDS/AML目前尚无定论。2011年一项前瞻性随机对照试验^[11]评估了加用G-CSF是否促进AA克隆性演变,接受IST的192例SAA患者持续应用G-CSF 240 d,结果显示应用G-CSF组与未应用G-CSF组间OS、无病生存、有效、病死、复发及远期克隆性疾病发生率差异均无统计学意义,提示G-CSF不增加AA克隆性演变的发生风险。Gurion等^[12]进行的一项Meta分析发现,408例AA患者IST后克隆性演变与应用G-CSF无明确相关性。而Socie等^[7]与李星鑫等^[3]分别对840例以及1 003例AA患者进行分析发现,应用G-CSF是AA克隆性疾病发生的危险因素;但是Socie等^[7]认为年龄大于45岁与G-CSF治疗时间大于180 d是IST后AA发生克隆性演变的危险因素,而李星鑫等^[3]认为G-CSF治疗大于300 d是克隆性演变发生的危险因素。本研究我们亦发现19例转化为MDS/AML的AA患者中,G-CSF治疗时间大于180 d有12例,其中大于300 d有8例,而这12例患者中10例治疗无效,即因为疗效欠佳而致长期应用G-CSF。今后可能需要更大样本的前瞻性随机对照研究来明确应用G-CSF是否促进AA患者克隆性演变。

目前研究认为长期应用G-CSF与-7克隆发生有关。-7克隆是MDS最常见的异常克隆,Sloand等^[13]体外短期培养AA或MDS患者骨髓单个核细胞,并加入药理剂量的G-CSF,发现G-CSF仅扩增预先存在的-7克隆,并不刺激新的-7克隆发生。而李英梅等^[14]用FISH技术检测81例核型正常的初诊AA,其中11例-7克隆阳性,这11例患者IST有效率为63.6%,治疗后-7克隆比例均下降至正常;其中5例应用G-CSF时间大于300 d,6例应用G-CSF时间小于300 d或未用G-CSF,随访此11例患者,均未发现转化为MDS/AML。本研究因初诊

时未进行FISH检测,不能明确核型正常的患者初诊时是否存在-7克隆。本组19例患者诊断MDS/AML时,-7克隆占57.9%(19例中11例),其中11例患者应用G-CSF中位时间320(90~510)d,同时此11例患者治疗有效率仅为18.1%。本研究结果提示AA患者疗效差者预示-7克隆及MDS/AML的发生,此需要大样本临床试验予以证实。

白细胞端粒长度缩短与AA发生克隆性疾病亦有关。端粒长度短于5 kb的患者较大可能发生克隆性细胞遗传学改变,而端粒较长者不发生上述病情变化^[15-16]。雄激素作用于端粒酶逆转录酶增加了端粒酶活性,促进造血祖细胞增殖及外周血细胞再生,同时有助于阻止AA转化为克隆性疾病^[17]。因此AA进展为克隆性疾病之前,应检测其端粒长度,调整治疗策略以增加其端粒酶活性,此举措可能有助于减少AA克隆性疾病发生率。

AA患者发生克隆性演变是否因为存在MDS/AML相关基因突变?有研究报道了发生克隆性演变MDS的13例AA患者,检测是否存在已报道的125种MDS/AML相关基因突变,结果仅有2例发生了突变,提示AA患者克隆性演变趋势与MDS/AML基因突变无关^[18]。

AA的本质是自身反应性细胞毒性T淋巴细胞异常活化抑制或破坏原始CD34⁺多能造血干细胞;同时AA亦呈现慢性炎症反应的特点,炎症反应可因染色体不稳定、微卫星不稳定、基因过甲基化、P53基因缺失等一系列因素导致恶性肿瘤发生^[19]。AA出现克隆性染色体异常可能为炎症反应下基因组损害的结果。炎症环境中存在非整倍体细胞如-7,+8,可能取决于抗凋亡基因的上调。炎症反应可以通过DNA损害、端粒磨损导致长度缩短及选择性细胞对凋亡的抵抗而促进AA患者克隆性异常的产生。因此有研究认为AA出现克隆性疾病的关键可能是疗效差,炎症反应未完全控制。而本研究结果亦提示转化MDS/AML的AA患者疗效与转化MDS/AML时间呈负相关。

AA患者IST或骨髓移植(BMT)后长期随访比较性研究也证实上述观点。BMT后AA患者发生MDS/AML的比例为0(0/52),而IST后发生MDS/AML的比例为13.5%(21/155, $P=0.009$)^[20]。而对2 479例患者分析发现,IST后克隆性演变发生率1.2%,而BMT后发生率为0.1%,增加了10倍^[21]。这些结果提示IST增强了恶性克隆的演变,抑或其

并不阻止AA向克隆性疾病演变的内在趋势,但为患者表现出该演变趋势提供了更长的时间。后一种解释更为合理,因为单独接受雄激素治疗的AA患者也发生克隆性疾病。BMT可能通过重建活跃的淋巴造血,完全控制异常炎性反应而减少克隆性演变的发生^[22]。

AA的骨髓环境可能支持恶性克隆的最终演化,尤其当IST疗效欠佳时。而BMT则能去除上述危险因素,以及活跃对克隆演变不利的造血系统,从而减少克隆演化的发生。对于AA患者,有条件选择BMT或争取IST治疗达到基本治愈,减少G-CSF治疗时间,长期密切随访,可能延长克隆性演化发生的时间或减少克隆演化的发生率。

参考文献

- [1] Afable MG 2nd, Tiu RV, Maciejewski JP. Clonal evolution in aplastic anemia [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 2011:90-95.
- [2] 张之南,沈悛. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3版. 北京:科学出版社, 2007:19-23.
- [3] 李星鑫,葛美丽,施均,等. 获得性再生障碍性贫血恶性克隆性演变的长期随访研究[J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(7): 463-467.
- [4] 李英梅,李星鑫,葛美丽,等. 强化免疫抑制疗法联合不同方案G-CSF治疗重型再生障碍性贫血患者的长期随访研究[J]. *中华血液学杂志*, 2010, 31(7): 470-474.
- [5] 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.
- [6] Saracco P, Quarello P, Iori AP, et al. Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anaemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up[J]. *Br J Haematol*, 2008, 140(2):197-205.
- [7] Socie G, Mary JY, Schrezenmeier H, et al. Granulocyte-stimulating factor and severe aplastic anemia: a survey by the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) [J]. *Blood*, 2007, 109(7):2794-2796.
- [8] Young NS, Bacigalupo A, Marsh JCW. Aplastic anemia: pathophysiology and treatment [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, 16: 119-125.
- [9] 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.
- [10] Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia[J]. *JAMA*, 2010, 304(12):1358-1364.
- [11] Tichelli A, Schrezenmeier H, Socié G, et al. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation [J]. *Blood*, 2011, 117(17): 4434-4441.
- [12] 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.
- [13] Sloand EM, Yong AS, Ramkissoon S, et al. Granulocyte colony-stimulating factor preferentially stimulates proliferation of monosomy 7 cells bearing the isoform IV receptor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(39):14483-14488.
- [14] 李英梅,刘旭平,李承文,等. 应用间期荧光原位杂交研究再生障碍性贫血单核7克隆性演变[J]. *中华血液学杂志*, 2010, 31(10):688-692.
- [15] Young NS, Scheinberg P, Calado RT. Aplastic anemia [J]. *Curr Opin Hematol*, 2008, 15(3):162-167.
- [16] Scheinberg P. Prognostic value of telomere attrition in patients with aplastic anemia [J]. *Int J Hematol*, 2013, 97(5): 553-557.
- [17] Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL, et al. Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells [J]. *Blood*, 2009, 114(11):2236-2243.
- [18] Dumitriu B, Feng X, Ueda Y, et al. Clonal evolution in aplastic anemia is driven by chromosomal instability rather than mutations in myeloid malignancy candidate gene [J]. *Blood*, 2013, 122(21): 802-806.
- [19] Sloand EM, Loeliger K, Pfannes L, et al. Does a chronic inflammatory process underlie clonal progression in aplastic anemia?-in vitro and in vivo evidence that inflammation produces aneuploidy for chromosomes 7 and 8 in replicating cells [J]. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 2010, 116:Abstract 641.
- [20] Viollier R, Passweg J, Gregor M, et al. Quality-adjusted survival analysis shows differences in outcome after immunosuppression or bone marrow transplantation in aplastic anemia [J]. *Ann Hematol*, 2005, 84(1): 47-55.
- [21] Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) [J]. *Haematologica*, 2007, 92(1):11-18.
- [22] Najean Y, Haguenaer O. Long-term (5 to 20 years) evolution of nongrafted aplastic anemias. The Cooperative Group for Study of Aplastic and Refractory Anemias [J]. *Blood*, 1990, 76(11):2222-2228.

(收稿日期:2014-09-29)

(本文编辑:刘爽)