

# 伴PNH克隆的获得性再生障碍性贫血 临床特征及PNH克隆演变分析

张静 李星鑫 施均 葛美丽 邵英起 黄金波 黄振东 聂能 郑以州

**【摘要】目的** 分析伴阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆的再生障碍性贫血(AA)患者临床特点,以及PNH克隆大小演变对疗效和生存的影响。**方法** 回顾2011年1月至2014年9月间收治的316例诊断明确的AA患者临床资料,分析其临床特点及PNH克隆大小演变对疗效和生存的影响。**结果** ①316例AA患者中90例(28.5%)PNH克隆阳性,有随访资料的83例患者完全缓解(CR)36例(43.4%),部分缓解(PR)28例(33.7%),有效率为77.1%。3年及5年总生存(OS)率分别为79.4%与76.1%。②24例免疫抑制治疗(IST)后PNH克隆转为阳性,PNH克隆持续阳性者22例,PNH克隆消失者10例,三组间有效率、OS率、网织红细胞(Ret)绝对值、总胆红素、间接胆红素、LDH差异均无统计学意义( $P$ 值均 $>0.05$ );共10例患者进展为AA-PNH综合征,中位进展时间15.6个月,有效率及OS率与其他46例患者比较差异无统计学意义( $P$ 值分别为0.896、0.688)。③单因素分析显示年龄 $\geq 55$ 岁、合并感染、极重型AA(VSAA)、中性粒细胞绝对计数(ANC) $<0.5 \times 10^9/L$ 、Ret绝对值 $<0.012 \times 10^{12}/L$ 为影响患者OS的因素( $P$ 值分别为0.026、0.000、0.001、0.000及0.010);而多因素Cox回归模型分析显示年龄 $\geq 55$ 岁[RR=2.871(95% CI 0.998~8.263), $P=0.050$ ]、合并感染[RR=2.165(95% CI 0.064~0.712), $P=0.012$ ]及ANC $<0.5 \times 10^9/L$ [RR=4.902(95% CI 0.041~1.004), $P=0.050$ ]为影响患者OS的独立预后因素。单因素及多因素分析均未发现PNH克隆大小与疗效及长期生存的相关性。**结论** PNH克隆的大小及其演变对患者疗效及长期生存无明显影响。

**【关键词】** 贫血,再生障碍性; 血红蛋白尿,阵发性; 克隆性演变; 预后

**基金项目:**国家自然科学基金(81470289)

**Clinical characteristics and evolution of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with acquired aplastic anemia** Zhang Jing, Li Xingxin, Shi Jun, Ge Meili, Shao Yingqi, Huang Jinbo, Huang Zhendong, Nie Neng, Zheng Yizhou. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China  
Corresponding author: Zheng Yizhou, Email: zheng\_yizhou@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical characteristics, and the effect of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) clone size and its evolution on response and survival in aplastic anemia (AA) patients. **Methods** The clinical data of 90 AA cases with PNH clones from 316 AA patients between January 2011 and September 2014 were retrospectively reviewed, their clinical characteristics were analyzed, and the influence of PNH clone evolution and size on response and survival were explored. **Results** ①Of 316 patients, 90 cases (28.5%) with PNH clones. Of 83 cases with long-term follow-up data available, the complete (CR) and partial response (PR) rates were 43.4% and 33.7% respectively, with the overall responsive rate of 77.1%. The 3-year and 5-year overall survival (OS) rates were 79.4% and 76.1% respectively. ② After immunosuppressive therapy (IST), the PNH clone changed from negative to positive in 24 cases, persistently positive PNH clones were observed in 22 cases, disappeared in 10 cases. There were no significant differences in terms of overall responsive rates, survival rates, absolute reticulocyte value, TBIL, IBIL and LDH among the three groups ( $P > 0.05$ ). Ten cases became AA-PNH after a median time of 15.6 months, no significant differences were found in overall responsive and survival rates between the 10 cases and the other 46 cases who were monitored for PNH clones ( $P$  values were 0.896, 0.688, respectively). ③ According to univariate analysis, age $\geq 55$ , infection,

VSAA, ANC  $< 0.5 \times 10^9/L$  and absolute reticulocyte value  $< 0.012 \times 10^{12}/L$  had significant influence on survival ( $P$  values were 0.026, 0.000, 0.001, 0.000 and 0.010, respectively). Cox regression model analysis identified that age, infection and ANC were independent prognostic factors affecting survival ( $P$  values were 0.050, 0.012 and 0.050, respectively). The PNH clone size had no significant influence on response and survival based on univariate and Cox analyses. **Conclusion** The PNH clone size and its evolution had no significant influence on response and survival.

**【Key words】** Anemia, aplastic; Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; Clone evolution; Prognosis

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81470289)

再生障碍性贫血(AA)是以造血干细胞损伤、骨髓脂肪化、外周血全血细胞减少为特征,源于功能亢进的T淋巴细胞以造血系统为靶器官的自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>。AA和阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)关系密切<sup>[2]</sup>,有文献报道高达57%~70%的初诊AA患者伴发PNH克隆<sup>[3-4]</sup>,AA患者免疫抑制治疗(IST)后亦常出现PNH克隆<sup>[5]</sup>。关于PNH克隆大小及演变对疗效及生存的影响目前尚无定论,我们回顾性分析90例伴PNH克隆的AA患者临床资料,探讨PNH克隆大小及其演变对IST疗效和生存的影响,现报告如下。

## 病例与方法

1. 病例资料:回顾性分析2011年1月至2014年9月我科收治的316例AA患者,AA诊断及严重程度分型参照文献[6]标准。

2. PNH克隆检测:应用CellQuest软件,采用荧光标记的嗜水气单胞菌溶素变异体(Flaer),应用美国BD公司FACS Calibur流式细胞仪检测外周血红细胞、粒细胞。红细胞抗体包括:IgG1-FITC、IgG1-PE、CD235a-FITC、CD59-PE;粒细胞抗体包括:CD45-PerCP、CD33-APC、CD24-PE、Flaer。分析10 000个有核细胞,CD235a<sup>+</sup>CD59<sup>-</sup>细胞百分率为红细胞PNH克隆大小;分析5 000个有核细胞,Flaer<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>细胞百分率为粒细胞PNH克隆大小。大于1%即为PNH克隆阳性,百分率越大表示PNH克隆越大。如起病时PNH克隆阳性,IST后出现酸溶血(Ham)试验阳性或临床及实验室相关的其他PNH溶血证据则诊断为AA-PNH综合征。

3. 治疗方案:IST方案:兔抗人胸腺细胞球蛋白(r-ATG,法国Sangstat公司产品)3.55 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>×5 d或猪抗人淋巴细胞球蛋白(p-ALG,武汉生物制品研究所产品)23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>×5 d联合环孢素(CsA)3.0 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,根据CsA血药浓度调整用药。基础治疗:达那唑10.0 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>或司坦唑醇

0.2 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;叶酸0.25 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;维生素B<sub>12</sub>每次500 μg,每周1~3次。输注浓缩红细胞及单采血小板以维持患者HGB≥60 g/L及PLT≥10×10<sup>9</sup>/L,存在感染或严重出血时维持PLT≥20×10<sup>9</sup>/L。

4. 疗效标准:参考文献[7-8]标准评价疗效,完全缓解(CR)+部分缓解(PR)定义为有效。

5. 随访:随访终点为患者死亡或2015年3月30日,中位随访30(1~72)个月,随访方式包括电话随访、预约患者就诊等。90例患者中失访7例,余83例患者有完整随访资料。随访指标包括:血常规、骨髓形态学及相关检查(包括免疫分型、染色体核型、组织化学染色等),溶血相关检查:血浆游离血红蛋白(FHb)、结合珠蛋白(Hp)、Ham试验、尿Rous试验、总胆红素(TBIL)、间接胆红素(IBIL)、LDH、PNH克隆等,感染及血制品输注情况。总生存(OS)期定义为确诊至随访终点。3个月内死亡定义为早期死亡。

6. 统计学处理:采用SPSS 16.0软件进行统计学分析,临床特点及疗效采用中位数(范围)表示,组间率或构成比的比较采用 $\chi^2$ 检验,组间计数资料的比较采用非参数检验,生存分析采用Kaplan-Meier法及Log-rank检验,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。

## 结 果

1. 临床特征:316例患者中,伴PNH克隆90例(28.5%),其中66例(73.3%)起病时即伴PNH克隆,24例(26.7%)IST后出现PNH克隆阳性。男47例,女43例,中位年龄28(3~74)岁,年龄≥18岁者65例(72.2%),<18岁者25例(27.8%)。85例行骨髓活检患者中,81例(95.3%)造血细胞面积<20%。非重型AA(NSAA)11例(12.2%),重型AA(SAA)58例(64.5%),极重型AA(VSAA)21例(23.3%)。51例(56.7%)以贫血症状起病,48例(53.3%)以出血症状起病。初诊伴发热及感染症状者21例(27.3%),

其中肺感染11例,口腔感染4例,肛周感染、急性扁桃体炎各2例,皮肤感染、深部脏器感染各1例;合并蛛网膜囊肿、双侧股骨头坏死、脑梗死各1例;起病时伴尿色加深1例;既往合并法洛四联症1例。无一例患者出现血栓形成。

84例(93.3%)患者起病时表现为全血细胞减少,中位WBC 1.89(0.34~5.00)×10<sup>9</sup>/L,中位中性粒细胞绝对计数(ANC)0.45(0~2.79)×10<sup>9</sup>/L,中位HGB 61(33~123)g/L,中位PLT 10(1~101)×10<sup>9</sup>/L,中位红细胞平均体积(MCV)93.6(76.1~120.7)fL,中位网织红细胞(Ret)比例0.68%(0.03%~4.02%),中位Ret绝对值0.016(0.001~0.217)×10<sup>12</sup>/L;80例(88.9%)患者依赖血制品输注。

2. 溶血结果:起病时所有患者FHb < 50 mg/L、Hp > 0.125 g/L,Ham试验均阴性,尿Rous试验亦均阴性。中位TBIL 13.0(5.7~92.0)μmol/L,中位IBIL 8.1(2.2~31.7)μmol/L,中位LDH 154(52~438)U/L。

随访期间,9例(10.0%)FHb > 50 mg/L;6例(6.7%)Hp < 0.125 g/L;5例Ham试验(弱+),5例Ham试验(+);83例患者中位TBIL 9.6(7.7~87.9)μmol/L,中位IBIL 7.2(5.9~74.9)μmol/L,中位LDH 188(112~2 912)U/L;3例尿Rous试验(+)

3. 染色体核型:所有患者起病时均行染色体核型分析,除外2例患者未见分裂象,余可供分析的88例患者中,正常核型81例(92.0%),异常核型7例(8.0%):+X 2例(其中1例为+8+X),-Y 2例,-12、t(2;10)(q14;p15)、dup(1)(q11;q44)各1例。IST后,4例核型正常患者出现染色体核型异常,-7 2例,del(12)(p12)、inv(9)(p11q13)各1例。+8+X患者IST后改变为del(13)(q12;q14)。

4. 疗效:可评价疗效的83例患者中,CR 36例(43.4%),PR 28例(33.7%),无效(NR)19例(22.9%)。有效率为77.1%。5例患者CR后复发,其中3例因感染复发,1例转为AA-PNH综合征,另

1例进展为骨髓增生异常综合征(MDS)。83例患者3年OS率为79.4%,5年OS率为76.1%。16例患者死亡,其中脑出血3例、消化道出血5例、感染8例。早期死亡5例。

5. IST后PNH克隆演变:5例患者早期死亡,7例失访,22例未监测PNH克隆变化,其余56例患者监测PNH克隆变化:①IST后PNH克隆转为阳性者24例(42.9%),其中3例患者转阳后再次转阴,24例患者CR 14例、PR 8例、NR 2例,有效率为91.7%;6例患者于出现PNH克隆后起效。②PNH克隆持续阳性者22例(39.3%),CR 11例、PR 10例、NR 1例,有效率为95.5%;8例PNH克隆变大、4例变小、10例稳定。③IST后PNH克隆转阴者10例(17.9%),CR 8例、NR 2例,有效率为80.0%。三组患者Ret绝对值、TBIL、IBIL、LDH水平,有效率及OS率组间比较差异均无统计学意义(P值均 > 0.05)(表1)。

共有10例(17.9%)患者转变为AA-PNH综合征,中位转变时间为15.6(3~36)个月,其中NSAA 2例,SAA 5例,VSAA 3例。起病时,10例患者Ham试验均阴性,无IBIL及LDH增高,4例PNH克隆阴性,6例PNH克隆阳性,其中2例粒细胞PNH克隆 > 20%,其余4例红细胞、粒细胞PNH克隆均 < 10%;转为AA-PNH综合征后,10例患者Ham试验均阳性或弱阳性,所有患者均无血栓形成,2例患者伴间断酱油色尿,8例患者Ret绝对值 > 0.10×10<sup>12</sup>/L,2例胆红素水平增高,9例LDH增高,其中4例LDH大于1 000 U/L,9例粒细胞或红细胞PNH克隆 > 50%(表2)。10例转变为AA-PNH综合征患者IST有效率、OS率与46例未转变为AA-PNH综合征患者比较差异均无统计学意义(有效率:90.0%对91.3%,χ<sup>2</sup>=0.017,P=0.896;3年OS率:90.0%对94.8%,5年OS率:90.0%对89.2%,P=0.688)。

6. 起病时PNH克隆大小及其与Ret绝对值、TBIL、IBIL、LDH及疗效的关系:起病时PNH克隆

表1 不同阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆演变患者实验室指标及转归

组别	例数	实验室指标				有效率 (%)	生存分析(%)	
		Ret绝对值 [×10 <sup>12</sup> /L, M(范围)]	TBIL [μmol/L, M(范围)]	IBIL [μmol/L, M(范围)]	LDH [U/L, M(范围)]		3年OS率	5年OS率
PNH克隆演变								
转阳性组	24	0.015(0.004~0.072)	14.8(6.6~92.0)	9.2(4.6~17.0)	156(99~385)	91.7	95.8	95.8
持续阳性组	22	0.021(0.003~0.065)	10.2(7.0~42.8)	7.2(4.6~23.6)	156(89~220)	95.5	95.2	95.2
转阴性组	10	0.011(0.002~0.067)	16.1(5.7~25.0)	7.3(2.2~24.2)	130(97~326)	80.0	85.7	64.3
P值		0.524	0.084	0.251	0.924	0.409	0.238	

注: Ret:网织红细胞;TBIL:总胆红素;IBIL:间接胆红素;OS:总生存

阳性的66例患者中59例有完整随访资料,其中42例(71.2%)PNH克隆<10%,6例(10.2%)PNH克隆10%~<20%,6例(10.2%)PNH克隆20%~50%,5例(8.2%)PNH克隆>50%(均为粒细胞)。24例(40.7%)患者粒细胞及红细胞PNH克隆均阳性,其中19例(79.2%)粒细胞PNH克隆>红细胞。59例患者红细胞PNH克隆中位数为1.86%(0.22%~15.49%),粒细胞PNH克隆中位数为3.60%(0.22%~98.79%),组间比较差异有统计学意义( $P=0.009$ )。

PNH克隆大小以20%为界,组间比较性别、年龄、Ret绝对值、TBIL、IBIL、LDH及CD4<sup>+</sup>细胞比例、CD8<sup>+</sup>细胞比例、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>细胞比值、疗效等差异均无统计学意义( $P$ 值均>0.05)(表3)。

7. 预后影响因素分析:分别分析有随访资料的59例患者临床特征、实验室检查指标等16种因素对疗效及生存的影响,结果见表4,年龄≥55岁、合并

感染、VSAA、ANC<0.5×10<sup>9</sup>/L、Ret绝对计数<0.012×10<sup>12</sup>/L、MCV<100 fl、诊断到治疗间隔时间≥6个月是影响疗效的危险因素( $P$ 值均<0.05);年龄≥55岁、合并感染、VSAA、ANC<0.5×10<sup>9</sup>/L、Ret绝对计数<0.012×10<sup>12</sup>/L为影响患者生存的危险因素( $P$ 值均<0.05)。PNH克隆大小并非患者长期生存的影响因素( $P=0.650$ )。进一步行Cox回归多因素分析,结果显示年龄≥55岁[RR=2.871(95% CI 0.998~8.263), $P=0.050$ ]、合并感染[RR=2.165(95% CI 0.064~0.712), $P=0.012$ ]及ANC<0.5×10<sup>9</sup>/L[RR=4.902(95% CI 0.041~1.004), $P=0.050$ ]为影响OS的独立预后因素。

### 讨 论

PNH是一种后天获得性溶血性疾病,其源于造血干细胞X染色体上的PIG-A基因突变诱发一

表2 10例转变为再生障碍性贫血(AA)-阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)患者的临床特征

例号	性 别	年 龄	疾 病	PNH克隆(%)				Ham 试验		LDH(U/L)		Ret比例(%)		Ret绝对值(×10 <sup>12</sup> /L)		间接胆红素(μmol/L)			
				红细胞		粒细胞		起病时	转变后	起病时	转变后	起病时	转变后	起病时	转变后	起病时	转变后	起病时	转变后
				起病时	转变后	起病时	转变后												
1	女	40	NSAA	0	69.3	0	70.3	-	+	139	2 912	3.32	17.00	0.067	0.185	10.2	41.6		
2	男	36	NSAA	14.7	68.3	34.1	91.9	-	+	178	918	3.40	3.49	0.067	0.125	9.3	12.1		
3	女	8	SAA	0	77.8	0	98.0	-	±	112	225	0.68	5.81	0.013	0.134	9.6	13.8		
4	男	41	SAA	1.1	66.2	1.9	0	-	+	202	2 258	1.49	11.30	0.031	0.156	9.6	18.2		
5	男	43	SAA	1.3	62.8	2.5	42.2	-	+	212	817	0.87	3.30	0.017	0.148	7.2	13.7		
6	男	25	SAA	1.4	55.1	7.5	74.0	-	±	117	565	0.15	3.21	0.002	0.125	10.0	7.6		
7	男	27	SAA	9.2	17.8	98.8	97.7	-	±	280	354	1.62	1.87	0.021	0.028	7.2	6.3		
8	女	25	VSAA	0	90.3	0	95.6	-	+	135	1 694	0.53	7.00	0.015	0.531	9.1	22.1		
9	男	19	VSAA	0	49.6	5.3	22.8	-	±	97	505	0.34	4.02	0.008	0.089	7.6	8.7		
10	女	59	VSAA	0	56.3	0	0	-	+	175	1 088	1.20	5.21	0.003	0.184	9.5	13.4		

注:Ret:网织红细胞;NSAA:非重型AA;SAA:重型AA;VSAA:极重型AA;-:阴性;±:弱阳性;+:阳性

表3 不同阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆大小再生障碍性贫血患者临床特征及疗效比较

临床特征	所有患者(59例)	PNH克隆大小		$P$ 值
		<20%(48例)	≥20%(11例)	
性别(例,男/女)	35/24	29/19	6/5	0.721
年龄[岁, $M$ (范围)]	29(3~69)	29(3~69)	29(13~66)	0.540
Ret绝对值[×10 <sup>12</sup> /L, $M$ (范围)]	0.018(0.001~0.217)	0.017(0.002~0.217)	0.017(0.001~0.067)	0.585
TBIL[μmol/L, $M$ (范围)]	11.9(5.7~76.9)	12.6(6.9~65.9)	9.4(5.7~76.9)	0.110
IBIL[μmol/L, $M$ (范围)]	7.8(2.2~31.7)	9.9(2.2~26.3)	7.0(4.3~31.7)	0.302
LDH[U/L, $M$ (范围)]	154(89~438)	154(89~438)	188(98~326)	0.240
CD4 <sup>+</sup> 细胞比例[%, $M$ (范围)]	43.2(23.7~70.8)	42.0(23.7~59.2)	44.0(27.9~70.8)	0.667
CD8 <sup>+</sup> 细胞比例[%, $M$ (范围)]	28.0(13.3~47.1)	27.3(13.3~47.1)	30.9(15.7~42.5)	0.555
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> 细胞比值[ $M$ (范围)]	1.47(0.53~4.51)	1.48(0.53~4.41)	1.44(0.66~4.51)	0.555
有效率(%)	71.2	70.8	72.7	0.900

注:Ret:网织红细胞;TBIL:总胆红素;IBIL:间接胆红素

**表 4** 伴阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)克隆再生障碍性贫血(AA)患者疗效及生存的单因素分析

因素	例数	有效率 (%)	P值	3年OS率 (%)	5年OS率 (%)	P值
年龄			0.000			0.026
<55岁	48	79.2		57.7	57.7	
≥55岁	11	36.4		36.4	36.4	
合并感染			0.000			0.000
是	16	25.0		31.2	20.8	
否	43	88.4		88.3	88.3	
疾病分型						
NSAA	8	100.0	0.007 <sup>a</sup>	100.0	100.0	0.001 <sup>a</sup>
SAA	40	75.0	0.112 <sup>b</sup>	72.6	72.6	0.148 <sup>b</sup>
VSAA	11	36.4		36.4	36.4	
是否含ATG/ALG			0.289			0.356
是	16	81.3		77.8	77.8	
否	43	67.4		67.3	60.6	
中性粒细胞绝对计数			0.004			0.000
<0.5×10 <sup>9</sup> /L	31	54.8		45.2	30.1	
≥0.5×10 <sup>9</sup> /L	28	89.3		92.7	92.7	
HGB			0.062			0.228
<60 g/L	34	61.8		63.1	63.1	
≥60 g/L	25	84.0		79.0	69.2	
PLT			0.388			0.353
<20×10 <sup>9</sup> /L	48	68.8		69.5	62.6	
≥20×10 <sup>9</sup> /L	11	81.8		72.7	72.7	
Ret比例			0.693			0.790
<1.5%	43	69.8		71.8	64.7	
≥1.5%	16	75.0		64.3	64.3	
Ret绝对值			0.006			0.010
<0.012×10 <sup>12</sup> /L	22	50.0		55.7	37.1	
≥0.012×10 <sup>12</sup> /L	37	83.8		78.5	78.5	
红细胞平均体积			0.047			0.146
<100 fl	41	63.4		63.9	58.1	
≥100 fl	18	88.9		88.9	88.9	
血清铁蛋白			0.982			0.937
<1 000 μg/L	45	71.1		72.5	65.9	
≥1 000 μg/L	14	71.4		62.9	62.9	
间接胆红素			0.079			0.096
<10 μmol/L	41	78.0		76.5	65.6	
≥10 μmol/L	18	55.6		52.7	52.7	
LDH			0.298			0.325
<200 U/L	43	67.4		69.4	62.4	
≥200 U/L	16	81.3		72.9	72.9	
PNH克隆大小			0.900			0.650
<20%	48	70.8		72.3	66.8	
≥20%	11	72.7		70.7	70.7	
淋巴细胞绝对值			0.120			0.053
<1×10 <sup>9</sup> /L	19	57.9		63.2	47.4	
≥1×10 <sup>9</sup> /L	40	77.5		73.9	73.9	
诊断到治疗间隔时间			0.024			0.130
<6个月	46	78.3		77.1	68.5	
≥6个月	13	46.2		51.3	51.3	

注:OS:总生存;NSAA:非重型AA;SAA:重型AA;VSAA:极重型AA;ATG/ALG:抗胸腺/淋巴细胞球蛋白;Ret:网织红细胞;与SAA/VSAA组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与NSAA组比较,<sup>b</sup>P<0.05

组糖基磷脂酰肌醇锚连膜蛋白(GPI-AP)缺失,导致细胞功能异常,临床上典型三联征为溶血性贫血、骨髓衰竭与血栓形成。目前发现多种疾患如AA、MDS、骨髓增殖性肿瘤及淋巴细胞增殖性疾病均可伴PNH克隆。PNH克隆可能是由于免疫系统的选择压力所致,但确切机制目前尚未完全明确<sup>[9]</sup>。

我们同期收治的316例AA患者中,90例(28.5%)伴PNH克隆,低于Raza等<sup>[10]</sup>报道的39.5%及Kulagin等<sup>[11]</sup>报道的59.2%。Maciejewski等<sup>[12]</sup>报道PNH克隆阳性的AA患者IST疗效较好,随后系列研究显示PNH克隆阳性的AA患者无论血液学反应率还是无病生存率均明显优于PNH克隆阴性者<sup>[11,13-14]</sup>。然而,日本学者Yoshida等<sup>[15]</sup>回顾性分析103例患儿,PNH克隆阳性与阴性组的血液学反应率分别为68.2%和53.1%,差异无统计学意义(P=0.36),NIH的大系列回顾性分析亦显示PNH克隆阳性组与阴性组疗效相当(P>0.05)<sup>[16]</sup>。Timeus等<sup>[17]</sup>甚至得出相反的观点,PNH克隆阳性组与阴性组总体生存率差异无统计学意义,但PNH克隆阳性组的血液学反应率差于PNH克隆阴性组(P=0.02)。本研究结果显示,PNH克隆大小并不影响AA患者的有效率及OS率。

Timeus等<sup>[18]</sup>总结85例伴PNH克隆阳性的AA患者,未发现LDH与PNH克隆大小的关系。本组66例初诊PNH克隆阳性患者克隆大小与性别、年龄、Ret绝对值、TBIL、IBIL、LDH及CD4<sup>+</sup>细胞、CD8<sup>+</sup>细胞、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>细胞比值、疗效等差异均无统计学意义(P值均>0.05)。Pu等<sup>[19]</sup>总结27例AA伴PNH克隆阳性的患者发现小克隆(PNH克隆≤10%)患者转变为PNH的可能性小,本组研究显示10例演变成AA-PNH前仅有1例患者红细胞PNH克隆大于10%,仅2例粒细胞PNH克隆大于10%,说明初诊患者转变为AA-PNH前PNH多为小克隆。同时我们分析发现起病时PNH克隆阴性的24例患者中,6例于出现PNH克隆后起效,提示PNH克隆的出现可能有助于患者血液学恢复,但尚需进一步扩大病例数明确。明确AA和PNH的关系可能有助于早期识别、诊断、治疗这些隐藏于AA中的PNH患者。目前越来越多的学者倾向于除了AA,其他包括MDS、原因不明的全血细胞减少、Coombs试验阴性的溶血性贫血,以及一些伴有特殊特征的血栓等均应行PNH克隆检查<sup>[20]</sup>。

本组患者PNH克隆演变过程结果与Timeus等<sup>[18]</sup>及我们既往报道<sup>[21]</sup>较为一致,无论治疗过程中

PNH由阴性转为阳性或持续阳性以及PNH克隆消失者,三组间有效率及3年、5年OS率方面差异均无统计学意义,说明PNH克隆的稳定、消失或扩张等动态变化与疗效及生存无关。Chen等<sup>[22]</sup>总结102例AA患者,PNH克隆阳性者占7.8%,单因素及多因素分析均未发现PNH克隆大小对生存有明显影响。我们通过单因素分析有随访资料的59例初诊时PNH克隆阳性患者,发现年龄 $\geq 55$ 岁、合并感染、VSAA、ANC $< 0.5 \times 10^9/L$ 、Ret绝对值 $< 0.012 \times 10^{12}/L$ 为影响患者长期生存的高危因素( $P$ 值分别为0.026、0.000、0.001、0.000及0.010);而多因素Cox回归模型分析发现年龄、感染及ANC为显著影响OS的独立预后因素( $P$ 值分别为0.050、0.012、0.050),亦未发现PNH克隆大小对生存的明显影响,与上述报道结果一致。

总之,AA患者常伴PNH克隆,但PNH克隆大小及演变对IST疗效及OS影响不大。

#### 参考文献

- [1] 孟凡凯,孙汉英,刘文励,等.再生障碍性贫血免疫学发病机制研究新进展[J].中华内科杂志,2005,44(10):789-790. doi:10.3760/j.issn.0578-1426.2005.10.032.
- [2] Brodsky RA. Narrative review: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia [J]. Ann Intern Med, 2008, 148(8):587-595. doi:10.7326/0003-4819-148-8-200804150-00003.
- [3] Nakao S, Sugimori C, Yamazaki H. Clinical significance of a small population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in the management of bone marrow failure[J]. Int J Hematol, 2006, 84(2):118-122.
- [4] Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, et al. Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia [J]. Blood, 2006, 107(4):1308-1314. doi:http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-06-2485.
- [5] Schubert J, Vogt HG, Zielinska-Skowronek M, et al. Development of the glycosylphosphatidylinositol-anchoring defect characteristic for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in patients with aplastic anemia[J]. Blood, 1994, 83(8):2323-2328.
- [6] Marsh JCW, Ball SE, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2009, 147(1):43-70. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07842.x.
- [7] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:19-23.
- [8] 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.
- [9] Brodsky RA. How do PIG-A mutant paroxysmal nocturnal hemoglobinuria stem cells achieve clonal dominance? [J]. Expert Rev Hematol, 2009, 2(4):353-356. doi:10.1586/ehm.09.35.
- [10] Raza A, Ravandi F, Rastogi A, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2014, 86(3):175-182. doi: 10.1002/cyto.b.21139.
- [11] Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, et al. Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study [J]. Br J Haematol, 2014, 164(4):546-554. doi: 10.1111/bjh.12661.
- [12] Maciejewski JP, Rivera C, Kook H, et al. Relationship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycosylphosphatidylinositol-anchored protein-deficient clones [J]. Br J Haematol, 2001, 115(4):1015-1022. doi:10.1046/j.1365-2141.2001.03191.x.
- [13] Afable MG 2nd, Shaik M, Sugimoto Y, et al. Efficacy of rabbit anti-thymocyte globulin in severe aplastic anemia [J]. Haematologica, 2011, 96(9):1269-1275. doi: 10.3324/haematol.2011.042622.
- [14] Yamazaki H, Saito C, Sugimori N, et al. Thymoglobuline is as effective as lymphoglobuline in Japanese patients with aplastic anemia possessing increased glycosylphosphatidylinositol-anchored protein (GPI-AP) deficient cells [J]. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), 2011, 118(21):1339.
- [15] Yoshida N, Yagasaki H, Takahashi Y, et al. Clinical impact of HLA-DR15, a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells, and an aplastic anaemia-associated autoantibody in children with acquired aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2008, 142(3):427-435. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07182.x.
- [16] Scheinberg P, Marte M, Nunez O, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in severe aplastic anemia patients treated with horse anti-thymocyte globulin plus cyclosporine [J]. Haematologica, 2010, 95(7):1075-1080. doi: 10.3324/haematol.2009.017889.
- [17] Timeus F, Crescenzo N, Lorenzati A, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in children with acquired aplastic anaemia: a prospective single centre study [J]. Br J Haematol, 2010, 150(4):480-497. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08219.x.
- [18] Timeus F, Crescenzo N, Longoni D, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in children with acquired aplastic anemia: a multicentre study [J]. PLoS One, 2014, 9(7):e101948. doi:10.1371/journal.pone.0101948.
- [19] Pu JJ, Mukhina G, Wang H, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients presenting as aplastic anemia [J]. Eur J Haematol, 2011, 87(1):37-45. doi: 10.1111/j.1600-0609.2011.01615.x.
- [20] Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2010, 78(4):211-230. doi: 10.1002/cyto.b.20525.
- [21] 李英梅,李星鑫,葛美丽,等.再生障碍性贫血患者阵发性睡眠性血红蛋白尿症克隆演变的临床意义[J].中华血液学杂志,2012,33(2):117-122. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.02.013
- [22] Chen M, Liu C, Zhuang J, et al. Long-term follow-up study of porcine anti-human thymocyte immunoglobulin therapy combined with cyclosporine for severe aplastic anemia [J]. Eur J Haematol, 2015. doi: 10.1111/ejh.12590.

(收稿日期:2015-08-19)

(本文编辑:刘爽)