

自身免疫性溶血性贫血研究进展

高清妍 张凤奎

Recent progresses of autoimmune hemolytic anemia Gao Qingyan, Zhang Fengkui
Corresponding author: Zhang Fengkui, Institute of Hematology and Blood Disease Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China. Email: zhfk@hotmail.com

自身免疫性溶血性贫血(autoimmune hemolytic anemia, AIHA)是临床最常见的获得性溶血性疾病之一。不同类型AIHA之间在发病率、病因、发病机制、溶血机制、治疗及预后等方面都存在异质性。近年,关于冷抗体型AIHA、直接Coombs试验阴性AIHA以及AIHA溶血机制的认识逐渐清晰,利妥昔单抗越来越多用于AIHA治疗,其疗效及安全性获得肯定,补体抑制剂等新药也被尝试用于治疗AIHA。本文我们主要聚焦于AIHA发病特点、发病机制、诊断及治疗进展,旨在提高临床对AIHA的认识,为诊疗工作提供帮助。

一、发病特点及分类

AIHA系体内免疫系统调节紊乱,产生自身抗红细胞抗体和(或)补体,并与红细胞膜抗原结合,致使红细胞破坏加速而引起的一组溶血性贫血。儿童(平均诊断年龄约在3.8岁)及成人(平均诊断年龄约在50岁)均可发病。预计年发病率为1~3/10⁵,患病率为17/10⁵[1-4]。AIHA临床表现异质性强,部分患者仅表现代偿性溶血病或轻度贫血,而部分患者则可发生严重贫血危及生命。其临床异质性主要在于溶血类型的不同(血管内和/或血管外),这与自身抗体种类、激活补体的温度阈值及效率、骨髓红系造血代偿能力相关[1]。

根据其特征性自身抗体与红细胞最适反应温度不同,AIHA可分为温抗体型(wAIHA,占60%~80%)、冷抗体型[包括冷凝集素病(CAD)及阵发性寒冷性血红蛋白尿症(PCH),占20%~30%]和温冷抗体混合型(m-AIHA,约占5%)。

根据引起溶血自身抗体亚型不同,wAIHA可分为IgG型、IgG+C3型、IgA型及IgM型。IgG型wAIHA又可具体划分为IgG1~4型,其中IgG1型最为常见,其次为IgG3型。通常IgG1及IgG3型溶血程度较IgG2、IgG4型更为严重,尤其IgG3型红细胞破坏作用最强,而IgG4型几乎无致病性。IgA型占wAIHA患者的15%~20%,其可与IgG/IgM共同存在并致病,罕见情况下可单独致病。约50%的wAIHA患者可检

测到补体参与,多为C3d^[5-7]。

根据是否同时存在明确的致AIHA的疾病和诱因,AIHA可进一步分为原发性AIHA和继发性AIHA^[3,8-9]。文献报道约50%的wAIHA为继发性,可继发于造血及淋巴细胞增殖性疾病[约占20%,如急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、Castleman病、骨髓增生异常综合征、骨髓纤维化等]、实体瘤、免疫及炎症性疾病(约占20%)、感染、药物、原发免疫缺陷病、妊娠以及异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后等。文献报道5%~7%的CLL患者病程中可继发AIHA,而霍奇金及非霍奇金淋巴瘤患者AIHA总体年发生率可高达2%~3%^[3,8-10]。导致AIHA发生的基础疾病通常明显影响AIHA的治疗与转归,故详细的病史询问、查体及相关的实验室检查是必需的。有学者建议至少应包括抗核抗体、抗DNA抗体(若ANA阳性)、抗心磷脂抗体、狼疮抗凝物、免疫球蛋白、血清蛋白电泳、免疫固定电泳、外周血淋巴细胞免疫表型、胸腹盆腔CT平扫和骨髓活检等^[8,11]。

二、CAD与淋巴细胞增殖性疾病

以往对于CAD和冷凝集素综合征(Cold agglutinin syndrome, CAS)诊断术语的使用太过混乱,现认为CAD是一定义明确的临床病理类型,应称之为“病”(Disease),而继发于感染、肿瘤等疾患的冷凝集素介导的临床和实验室异常方为冷凝集素综合征(CAS)。二者应明确区分。

90%以上CAD患者通过血清蛋白免疫电泳可检测出存在单克隆性抗体。其单克隆抗体多为特异性抗红细胞I类抗原,由单克隆性IGHV4-34重排基因编码。此类单克隆抗体90%以上为IgMκ轻链限制性,单克隆性IgG、IgA或IgMλ轻链限制性少见。极少数(2.5%)可同时存在IgM及IgG两种单克隆性抗体^[12]。

虽很早就认识到在CAD患者可检出单克隆抗体,但CAD作为一种克隆性淋巴细胞增殖性疾病一直未能得到明确阐述。Berentsen等^[12]通过流式细胞术及免疫组化等方法,在大部分患者骨髓穿刺液中检测出CD20⁺B细胞单克隆扩增,并认为这些克隆性淋巴细胞增殖性疾病构成存在异质性,最为常见的是淋巴浆细胞性淋巴瘤(LPL,约占50%),其次为边缘区淋巴瘤(MZL,约占8%),其他如正常或反应性淋巴组织增生亦有报道。直至最近一项回顾性研究,使CAD作为一种独立的克隆性淋巴组织增殖性疾病的认识逐渐清晰。Randen等^[13]将54例CAD患者的骨髓标本经由淋巴瘤病理学家系统审查,并借助形态、免疫组化、流式细胞术及分子遗传学等方法系统检测,发现CAD相关淋巴细胞增殖性疾病不同于LPL、MZL或其他原已明确定义任何一种淋

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.11.019

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

通信作者:张凤奎,Email:zhfk@hotmail.com

巴瘤,应为一独立疾病种类。在诊断为原发性慢性CAD的54例患者中,40例骨髓活检显示实质内局限性由单一形态特征的克隆性小B细胞组成的结节,结节以外散在分布有少量IgM⁺/IgD⁺单克隆成熟浆细胞。组成淋巴结节的小B淋巴细胞CD20⁺、IgMs⁺、IgDs⁺、CD27⁺、CD5⁺、CD11c⁻、CD23⁻、CD38⁻,形态学与浆细胞样淋巴细胞明显不同,也不表达与浆细胞分化相关的转录因子MUM1、XBP1及BLIMP1。除1例患者外,其他所有患者均未检出BCL-6内含子1基因突变,提示这些淋巴瘤细胞在生发中心中尚未成熟。尤其,在所有17例进行检测的CAD患者中,均未能检出被认为是LPL特征性的MYD88 L265P突变。故认为冷凝集素相关淋巴细胞增殖性疾病CAD是一类明显不同于LPL的、有其独特组织形态及免疫表型特征的独立疾病。

而CAS常继发于恶性疾病、感染等,以肺炎支原体感染最为常见^[12]。Dacie^[14]报道295例AIHA患者,其中7例是继发于恶性疾病的CAS,占2.4%。研究发现295例AIHA患者中23例为支原体或原发性非典型肺炎继发CAS,占8%,其他不常见感染病因有EBV、CMV、肺炎军团菌、衣原体及大肠杆菌感染等。感染导致的继发性CAS中的自身红细胞抗体是多克隆性的,可针对I、i、Pr等不同抗原,临床多呈一过性急性疾病病程^[12]。

三、发病机制与溶血机制

与其他自身免疫性疾病一样,AIHA免疫紊乱发生“自我耐受破坏”的确切发病机制尚未完全阐明。除B淋巴细胞免疫调节紊乱外,近年发现红细胞表面抗原改变、特定亚群T细胞以及细胞因子等在AIHA的发病中也起着重要作用。

红细胞自身抗原改变引发AIHA主要通过潜在自身抗原暴露、外来抗原与自身抗原交叉反应或分子模拟激发免疫反应所致^[15-16],AIHA自身抗体最常见的靶点是红细胞Rh多肽抗原,其他靶点还包括血型糖蛋白、带3(Band 3)蛋白、红细胞阴离子通道蛋白等^[15]。调节性T细胞(Treg)数量减少、功能缺陷在AIHA发病中起重要作用。Ahmad等^[17]结果显示与正常健康对照比较,活动性AIHA患者自然Treg(nTreg)比例明显减少(4.63%对9.76%)。Treg包括胸腺来源的CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺nTreg以及抗原诱导产生的CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺诱导性Treg(iTreg)^[18]。体外实验表明,Treg可能通过接触依赖性作用而非过去认为的细胞因子依赖性作用直接杀伤CD4⁺和CD8⁺活化T细胞,并且可通过其表面CTLA-4分子下调树突细胞及活化T细胞等抗原提呈细胞表面CD80、CD86的表达,而CD80、CD86分子是诱导T细胞增殖及细胞因子产生的主要协同因子^[19-20]。通过上述机制,Treg能够抑制反应性T细胞活化及细胞因子产生,从而在防止自身免疫性疾病中发挥关键作用。体外应用RhD自身抗原刺激wAIHA患者外周血Treg,IL-10分泌明显增多,抑制Th1细胞效应^[21]。在未经治疗的活动性AIHA患者Th2细胞增多,血清IL-4、IL-10水平升高,而IL-12和IFN- γ 水平减低,存在明显的Th1/Th2细胞比例失衡,倾向于呈“Th2谱(Th2 Profile)”,从而促进自身反应性B细胞克隆感应和增殖^[15,22]。亦有研究

显示,部分自身免疫性疾病患者淋巴细胞Fas/FasL凋亡系统存在遗传缺陷,编码淋巴细胞表面蛋白Fas的TNFRSF6基因杂合突变,导致由Fas/FasL介导的淋巴细胞凋亡障碍,自身反应性T细胞及依赖T细胞的B细胞凋亡异常,引发自身免疫性疾病^[23]。allo-HSCT后包括wAIHA在内的自身免疫性疾病的发生,可能为供者T细胞介导的受者B细胞活化所致^[15]。

AIHA抗体依赖的细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖细胞毒性(CDC)溶血机制已有清楚认识。近年关于补体系统在AIHA溶血中的作用得以进一步阐明,并且成为AIHA新药研发靶点。在wAIHA中,由于自身抗体主要为IgG,并不总能固定补体,因而补体系统仅介导部分患者血管外尤其发生在肝脏的血管外溶血加重和红细胞血管内溶血;而在CAD和CAS中红细胞的破坏则主要由补体介导,即结合IgM自身抗体的红细胞通过激活补体经典途径,导致红细胞在肝脏发生严重血管外溶血,同时部分红细胞直接受膜攻击复合物(C5b-C9)的细胞毒作用溶解发生血管内溶血。在PCH中,自身抗体激活补体经典途径,经CDC作用介导红细胞发生血管内溶血^[5]。

四、对直接Coombs试验(DAT)阴性AIHA的认识

Coombs试验即抗人球蛋白试验,是诊断AIHA重要依据。现多用DAT代替间接Coombs试验。DAT可鉴别出自身抗体或补体类型,通常在wAIHA中抗IgG和抗补体C3型最常见,单独抗IgG型次之,抗IgM型、抗IgA型以及单独抗C3型少见。在CAD中通常为抗C3d阳性,抗IgG阴性^[18]。

由于检测手段及敏感性不同,文献报道3%~11%wAIHA的DAT呈假阴性^[24]。关于DAT阴性AIHA原因可分为四种:①红细胞表面自身抗体数量低于检测阈值。②红细胞表面自身抗体亲和力低,在预处理过程中被洗脱。③由IgA或IgM单独致敏红细胞介导溶血,而无补体参与,因常规DAT试剂中缺乏抗IgA及抗IgM抗体,故使此部分患者DAT检测阴性^[24]。因国内试剂现可常规包括抗IgA及抗IgM抗体,故不存在此问题。④真阴性AIHA:即由“武装”巨噬细胞引起的AIHA,研究发现在某些情况下,巨噬细胞可通过其Fc γ RI受体结合自身IgG抗体,从而使巨噬细胞致敏(即“武装”巨噬细胞),此类“武装”巨噬细胞可识别并结合表达相应抗原的非致敏红细胞,导致自身红细胞破坏^[25]。

应用微柱凝胶法、流式细胞术、丝裂原刺激法、红细胞表面免疫球蛋白定量分析(补体结合-抗体消耗、免疫放射方法、酶联免疫法)等方法可显著提高DAT的敏感性^[26]。采用高敏感检测方法大大减少了DAT假阴性AIHA诊断,而DAT真阴性AIHA非常罕见。因而,若患者临床表现与实验室检查明确提示溶血性贫血,而高敏感DAT呈阴性结果,DAT阴性AIHA诊断应格外谨慎,须警惕其他溶血疾病可能性。

与DAT阳性AIHA相比,DAT阴性AIHA患者贫血程度更轻,但对激素的反应、诊断后1年存活率二者大致相当^[27]。

五、治疗及预后

1. 利妥昔单抗:鉴于利妥昔单抗的疗效和安全性,难治/复发wAIHA二线治疗脾切除方法受到挑战。研究显示,标

准剂量利妥昔单抗(每周375 mg/m²×4周)用于34例初治失败的原发或继发wAIHA患者,9例(26.5%)获得完全缓解(CR),总体有效率(ORR)高达70%以上,再复发患者接受二次相同剂量利妥昔单抗治疗均再获治疗反应,且不良事件少见^[28]。作为wAIHA二线治疗方法,目前倾向于利妥昔单抗或可替代脾切除作为首选^[29],对老年人、有手术禁忌或评估手术风险过高、意愿非手术治疗以及激素治疗依赖性wAIHA患者更是如此。

绝大多数wAIHA一线治疗的首选药物仍是糖皮质激素。Birgens等^[30]报告一项Ⅲ期随机临床试验结果显示,采用利妥昔单抗+激素方案一线治疗的wAIHA患者,治疗反应率及反应持续时间均明显优于激素单药治疗组。利妥昔单抗治疗wAIHA安全、有效,虽部分患者治疗后2年内复发,但再治疗仍有效。因而,采用利妥昔单抗间歇或维持治疗策略有可能更长时间获益^[28]。

小剂量利妥昔单抗治疗wAIHA可获得与标准剂量利妥昔单抗相当的疗效^[31]。我国学者对不适于糖皮质激素治疗的初治老年wAIHA采用小剂量利妥昔单抗(每周100 mg×4周)治疗也获得良好疗效,小剂量利妥昔单抗治疗组ORR(91.7%对80.0%)和CR率(66.7%对20.0%)均明显高于糖皮质激素治疗组^[32]。表明小剂量利妥昔单抗治疗初治老年AIHA安全、有效,可替代泼尼松一线应用。

冷抗体型AIHA接受糖皮质激素治疗有效性低下,利妥昔单抗可作为其一线治疗方案选择^[29]。采用标准剂量利妥昔单抗一线治疗27例CAD患者的前瞻性临床试验结果表明,14例(50%)第1个疗程即获血液学缓解,其中1例获得CR;患者复发后联合或不联合干扰素再治疗,60%仍有效^[33]。鉴于应用利妥昔单抗单药治疗CAD的CR率低,且40%~50%患者无效,有学者尝试以利妥昔单抗为基础的联合治疗以期提高疗效。Berentsen等^[34]报告应用利妥昔单抗联合氟达拉滨治疗慢性CAD获得良好治疗反应,前瞻性多中心临床试验结果显示ORR达76%(22/27),CR率为21%(6/27),部分缓解(PR)率为55%(16/27);10例曾用利妥昔单抗单药治疗无效患者,1例CR,6例PR。预期中位疗效持续时间超过66个月。需要注意的是,联合用药疗效提高的同时不良反应也随之增加,须根据疾病和患者整体状况权衡风险及收益^[34]。

近期一项包含21项研究共409例患者的Meta分析结果,利妥昔单抗治疗AIHA的ORR为73%,CR率为37%。治疗wAIHA的效果较治疗CAD更好;治疗原发性和继发性AIHA疗效相近;疗效反应在用药后2~4个月达最大值;不良反应包括发热、畏寒等;年轻、病程短、脾切除后以及wAIHA患者对利妥昔单抗反应更佳^[29]。

2. 补体抑制剂:补体抑制剂Eculizumab为靶向针对补体蛋白C5的单克隆抗体,通过结合C5补体蛋白,阻止其裂解为活化的C5a和C5b片段,从而抑制膜攻击复合物形成发挥作用^[35]。Eculizumab可用于急性严重CAD患者利妥昔单抗起效前的过渡治疗,在严重补体依赖的血管外溶血时,患者

应用红细胞输注及治疗性血浆滤过均不能阻止血流动力学恶化时,试用Eculizumab可使血红蛋白保持稳定及溶血指标下降^[36]。在糖皮质激素、利妥昔单抗无效的CAD患者,连续4周每周应用1次Eculizumab 600 mg,之后每2周1次900 mg维持治疗,患者病情得到良好控制^[35]。CAD主要溶血机制并非由C5/膜攻击复合物导致,Eculizumab可能通过阻止慢性CAD血管内溶血急性加重而发挥作用^[5]。

鼠源性靶向特异性丝氨酸蛋白酶C1s的单克隆抗体TNT003通过抑制C1s活性,作用于冷凝集素引起的补体经典途径激活,从而阻止补体调理的红细胞吞噬,有望成为补体抑制剂治疗CAD新靶向药物^[37]。Compstatin Cp40是补体C3抑制剂,可阻断C3裂解,体外研究显示可阻断PNH溶血^[38]。因其可完全阻断补体激活途径,可能会减弱机体的微生物刺激的反应,现不认为是治疗研究新方向^[39]。C1-INH-血浆来源C1抑制剂亦被报道用于治疗1例侵袭性非霍奇金淋巴瘤继发wAIHA患者有效^[40]。对于wAIHA患者如果其DAT显示抗补体阳性,则其可能为补体抑制剂适用者。

六、其他新药治疗前景

1. 硼替佐米:近年,不断有应用硼替佐米成功治疗难治性(激素及利妥昔单抗治疗无效)CAD、allo-HSCT后继发AIHA的病例报道^[41-44]。硼替佐米为可逆性26S蛋白酶体抑制剂,通过抑制该蛋白酶体功能,引起细胞内多聚泛素化蛋白的积累,激活末端未折叠蛋白反应,从而诱导浆细胞凋亡^[39]。硼替佐米已被FDA批准用于治疗多发性骨髓瘤及套细胞淋巴瘤。有学者推测,相较于利妥昔单抗靶向作用于CD20⁺淋巴细胞治疗CAD,硼替佐米可作用于CD20⁻浆细胞,从而对可能是异常浆细胞主要介导单克隆抗体分泌引致CAD溶血的患者发挥治疗作用^[40]。对于硼替佐米治疗AIHA作用机制(特别是对allo-HSCT后继发AIHA的作用机制)及其疗效仍需进一步研究与探讨。

2. 阿仑单抗:阿仑单抗(alemtuzumab)为人源化IgG型单克隆抗体,靶向作用于表达于淋巴细胞表面CD52分子,已应用于治疗淋巴细胞增殖性疾病及自身免疫性疾病。研究显示阿仑单抗可使13/16 AIHA患者获得CR^[45];有学者报道应用低剂量利妥昔单抗联合阿仑单抗治疗激素难治性免疫性血细胞减少获得良好疗效(ORR 100%,CR 58%)^[46]。但因阿仑单抗高毒性,其被视为难治性特发性重型AIHA最后的治疗选择。对于CLL相关AIHA,阿仑单抗显示对91.6%(11/12)患者有效(患者均为激素、脾切除、利妥昔单抗治疗无效的难治性患者),对于有进展性CLL背景的w-AIHA其被推荐先于利妥昔单抗应用^[45]。

七、小结

目前,对于AIHA潜在病因、病理特点的探索不断深入,使得冷抗体型AIHA类下CAD是一种淋巴细胞增殖性疾病的认识逐渐清晰,未来CAD可能成为一类独立淋巴细胞增殖性疾病种类。对疾病病理特点及发病机制认识的深入,使应用利妥昔单抗等靶向作用药物治疗AIHA有了良好的理论基础,并在临床观察中收获很好疗效,挑战传统治疗方法

地位,也使得硼替佐米等新药成果不断尝试用于治疗。近年,关于补体系统在AIHA溶血机制中作用认识逐渐清晰,使新一代补体抑制剂成为潜在治疗靶点,并可能获得重大进展。目前国内外尚未对AIHA疗效评价达成统一标准,故不同治疗策略之间疗效评价尚存在研究者主观性。统一不同类型AIHA疗效评价标准应能够更客观评价治疗方法的优劣,合理指导临床治疗选择。相信未来关于AIHA治疗方法探索将显著提高AIHA患者疗效,明显改善AIHA患者预后及生存质量。

参考文献

- [1] Petz LD, Garratty G. Immune Hemolytic Anemias[M]. 2nd Ed. PA: Churchill Livingstone, 2004:33-60.
- [2] Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T, et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a French national observational study of 265 children[J]. *Haematologica*, 2011, 96 (5):655-663. doi: 10.3324/haematol.2010.036053.
- [3] Bass GF, Tuscano ET, Tuscano JM. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13 (4-5):560-564. doi: 10.1016/j.autrev.2013.11.010.
- [4] Eaton WW, Rose NR, Kalaydjian A, et al. Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark[J]. *J Autoimmun*, 2007, 29 (1):1-9. doi: 10.1016/j.jaut.2007.05.002.
- [5] Berentsen S, Sundic T. Red blood cell destruction in autoimmune hemolytic anemia: role of complement and potential new targets for therapy[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:363278. doi: 10.1155/2015/363278.
- [6] Takahashi H, Tanaka F, Sakuma H, et al. Fatal warm autoimmune hemolytic anemia in a child due to IgM-type autoantibodies [J]. *Pediatr Int*, 2016, 58 (8):744- 746. doi: 10.1111/ped.12931.
- [7] Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R, et al. IgA red cell autoantibodies and autoimmune hemolysis[J]. *Transfusion*, 1997, 37 (2): 175-181.
- [8] Michel M. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update [J]. *Expert Rev Hematol*, 2011, 4(6):607-618. doi: 10.1586/ehm.11.60.
- [9] Barcellini W, Fattizzo B, Zaninoni A, et al. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients[J]. *Blood*, 2014, 124 (19):2930-2936. doi: 10.1182/blood-2014-06-583021.
- [10] Laurenti L, Autore F, Innocenti I, et al. Autoimmune hemolytic anemia during bendamustine plus rituximab treatment in CLL patients: multicenter experience[J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, 57 (10):2429-2431. doi: 10.3109/10428194.2015.1137293.
- [11] Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults [J]. *Blood*, 2010, 116 (11):1831- 1838. doi: 10.1182/blood-2010-03-259325.
- [12] Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients[J]. *Haematologica*, 2006, 91(4):460-466.
- [13] Randen U, Trøen G, Tierens A, et al. Primary cold agglutinin-associated lymphoproliferative disease: a B-cell lymphoma of the bone marrow distinct from lymphoplasmacytic lymphoma [J]. *Haematologica*, 2014, 99 (3):497- 504. doi: 10.3324/haematol.2013.091702.
- [14] Dacie JV. The Haemolytic Anaemias: The auto- immune haemolytic anaemias[M]. London: Churchill Livingstone, 1992: 1-5.
- [15] Michel M. Warm autoimmune hemolytic anemia: advances in pathophysiology and treatment [J]. *Presse Med*, 2014, 43 (4 Pt 2):e97-97e104. doi: 10.1016/j.lpm.2014.02.009.
- [16] Barker RN, Hall AM, Standen GR, et al. Identification of T-cell epitopes on the Rhesus polypeptides in autoimmune hemolytic anemia[J]. *Blood*, 1997, 90(7):2701-2715.
- [17] Ahmad E, Elgohary T, Ibrahim H. Naturally occurring regulatory T cells and interleukins 10 and 12 in the pathogenesis of idiopathic warm autoimmune hemolytic anemia[J]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2011, 21(4):297-304.
- [18] 张之南, 郝玉书, 赵永强, 等. 血液病学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 133-134, 426.
- [19] Dejaco C, Duftner C, Grubeck-Loebenstien B, et al. Imbalance of regulatory T cells in human autoimmune diseases [J]. *Immunology*, 2006, 117 (3):289- 300. doi: 10.1111/j.1365-2567.2005.02317.x.
- [20] Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F, et al. Human CD4(+)CD25(+) cells: a naturally occurring population of regulatory T cells[J]. *Blood*, 2001, 98(9):2736-2744.
- [21] Hall AM, Ward FJ, Vickers MA, et al. Interleukin-10-mediated regulatory T-cell responses to epitopes on a human red blood cell autoantigen [J]. *Blood*, 2002, 100 (13):4529- 4536. doi: 10.1182/blood-2002-05-1383.
- [22] Fagiolo E. Immunological tolerance loss vs. erythrocyte self antigens and cytokine network dysregulation in autoimmune hemolytic anaemia[J]. *Autoimmun Rev*, 2004, 3(2):53-59. doi: 10.1016/S1568-9972(03)00085-5.
- [23] Straus SE, Sneller M, Lenardo MJ, et al. An inherited disorder of lymphocyte apoptosis: the autoimmune lymphoproliferative syndrome[J]. *Ann Intern Med*, 1999, 130(7):591-601.
- [24] Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin ("Coombs") test-negative autoimmune hemolytic anemia: a review [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 52 (4):152- 160. doi: 10.1016/j.bcmd.2013.12.003.
- [25] Griffiths HL, Kumpel BM, Elson CJ, et al. The functional activity of human monocytes passively sensitized with monoclonal anti-D suggests a novel role for Fc gamma RI in the immune destruction of blood cells[J]. *Immunology*, 1994, 83 (3):370-377.
- [26] 李建平. Coombs 试验呈阴性自身免疫性溶血性贫血[J]. 国际输血及血液学杂志, 2014, 37(3):289-292, 封3. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2014.03.024.
- [27] Kamesaki T, Toyotsuji T, Kajii E. Characterization of direct antiglobulin test- negative autoimmune hemolytic anemia: a

- study of 154 cases[J]. *Am J Hematol*, 2013, 88(2):93-96. doi: 10.1002/ajh.23356.
- [28] Maung SW, Leahy M, O'Leary HM, et al. A multi-centre retrospective study of rituximab use in the treatment of relapsed or resistant warm autoimmune haemolytic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2013, 163(1):118-122. doi: 10.1111/bjh.12486.
- [29] Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies [J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(4):304-313. doi: 10.1016/j.autrev.2014.11.014.
- [30] Birgens H, Frederiksen H, Hasselbalch HC, et al. A phase III randomized trial comparing glucocorticoid monotherapy versus glucocorticoid and rituximab in patients with autoimmune haemolytic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2013, 163(3):393-399. doi: 10.1111/bjh.12541.
- [31] Barcellini W, Zaja F, Zaninoni A, et al. Low-dose rituximab in adult patients with idiopathic autoimmune hemolytic anemia: clinical efficacy and biologic studies [J]. *Blood*, 2012, 119(16):3691-3697. doi: 10.1182/blood-2011-06-363556.
- [32] 张小坤, 孙杰. 小剂量利妥昔单抗治疗老年自身免疫性溶血性贫血的临床研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(3):236-238. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.03.012.
- [33] Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, et al. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients [J]. *Blood*, 2004, 103(8):2925-2928. doi: 10.1182/blood-2003-10-3597.
- [34] Berentsen S, Randen U, Vågan AM, et al. High response rate and durable remissions following fludarabine and rituximab combination therapy for chronic cold agglutinin disease [J]. *Blood*, 2010, 116(17):3180-3184. doi: 10.1182/blood-2010-06-288647.
- [35] Röth A, Hüttmann A, Rother RP, et al. Long-term efficacy of the complement inhibitor eculizumab in cold agglutinin disease [J]. *Blood*, 2009, 113(16):3885-3886. doi: 10.1182/blood-2009-01-196329.
- [36] Shapiro R, Chin-Yee I, Lam S. Eculizumab as a bridge to immunosuppressive therapy in severe cold agglutinin disease of anti-Pr specificity [J]. *Clin Case Rep*, 2015, 3(11):942-944. doi: 10.1002/ccr3.399.
- [37] Shi J, Rose EL, Singh A, et al. TNT003, an inhibitor of the serine protease C1s, prevents complement activation induced by cold agglutinins [J]. *Blood*, 2014, 123(26):4015-4022. doi: 10.1182/blood-2014-02-556027.
- [38] Risitano AM, Ricklin D, Huang Y, et al. Peptide inhibitors of C3 activation as a novel strategy of complement inhibition for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *Blood*, 2014, 123(13):2094-2101. doi: 10.1182/blood-2013-11-536573.
- [39] Berentsen S. Complement, cold agglutinins, and therapy [J]. *Blood*, 2014, 123(26):4010-4012. doi: 10.1182/blood-2014-04-568733.
- [40] Wouters D, Stephan F, Strengers P, et al. C1-esterase inhibitor concentrate rescues erythrocytes from complement-mediated destruction in autoimmune hemolytic anemia [J]. *Blood*, 2013, 121(7):1242-1244. doi: 10.1182/blood-2012-11-467209.
- [41] Hosoba S, Jaye DL, Cohen C, et al. Successful treatment of severe immune hemolytic anemia after allogeneic stem cell transplantation with bortezomib: report of a case and review of literature [J]. *Transfusion*, 2015, 55(2):259-264. doi: 10.1111/trf.12815.
- [42] Carson KR, Beckwith LG, Mehta J. Successful treatment of IgM-mediated autoimmune hemolytic anemia with bortezomib [J]. *Blood*, 2010, 115(4):915. doi: 10.1182/blood-2009-09-242917.
- [43] Mehta B, Mahadeo K, Zaw R, et al. Bortezomib for effective treatment of a child with refractory autoimmune hemolytic anemia post allogeneic hematopoietic stem cell transplant [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61(12):2324-2325. doi: 10.1002/pbc.25172.
- [44] Danchaivijitr P, Yared J, Rapoport AP. Successful treatment of IgG and complement-mediated autoimmune hemolytic anemia with bortezomib and low-dose cyclophosphamide [J]. *Am J Hematol*, 2011, 86(3):331-332. doi: 10.1002/ajh.21950.
- [45] Barcellini W. Current treatment strategies in autoimmune hemolytic disorders [J]. *Expert Rev Hematol*, 2015, 8(5):681-691. doi: 10.1586/17474086.2015.1073105.
- [46] Gómez-Almaguer D, Solano-Genesta M, Tarin-Arzaga L, et al. Low-dose rituximab and alemtuzumab combination therapy for patients with steroid-refractory autoimmune cytopenias [J]. *Blood*, 2010, 116(23):4783-4785. doi: 10.1182/blood-2010-06-291831.

(收稿日期:2016-05-07)

(本文编辑:刘爽)