

儿童单倍型造血干细胞移植后巨细胞病毒感染临床分析

史红鱼¹ 程翼飞² 黄晓军² 王昱² 锁盼² 许兰平² 刘开彦² 张晓辉² 闫晨华²
王峰蓉² 孙于谦² 张伸² 孔军² 高雁群² 谢云霞³

¹山西省儿童医院血液科,太原 030013;²北京大学人民医院血液科 100044;³山西大
医院血液科,太原 030032

通信作者:程翼飞,Email:chengyifei182@sina.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.05.015

Clinical analysis of cytomegalovirus infection after haplotype hematopoietic stem cell transplantation in children

Shi Hongyu¹, Cheng Yifei², Huang Xiaojun², Wang Yu², Suo Pan², Xu Lanping², Liu Kaiyan², Zhang Xiaohui², Yan Chenhua², Wang Fengrong², Sun Yuqian², Zhang Shen², Kong Jun², Gao Yanqun², Xie Yunxia³

¹Department of Hematology, Shanxi Children's Hospital, Taiyuan 030013, China; ²Peking University Institute of Hematology and Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China; ³Department of Hematology, Shanxi Dayi Hospital, Taiyuan 030032, China

Corresponding author: Cheng Yifei, Email: chengyifei182@sina.com

巨细胞病毒(CMV)感染是异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后常见的病毒感染及死亡原因^[1]。近年来,单倍型造血干细胞移植(haplo-HSCT)在儿童血液系统疾病的治疗中已得到广泛应用^[2]。本研究对北京大学人民医院血液科近年来行haplo-HSCT的儿童血液病患者的临床资料进行回顾性分析,探讨儿童血液病患者haplo-HSCT后CMV感染的临床特征。

病例与方法

1. 病例:本研究纳入自2015年6月3日至2016年11月29日期间在北京大学人民医院血液科接受haplo-HSCT的儿童血液病患者61例,移植前所有患者外周血CMV-DNA均为阴性($<1 \times 10^3$ 拷贝/L)。

2. 预处理方案:60例采用改良BuCy+ATG方案:阿糖胞苷 4 g/m^2 , -10 d、-9 d;白消安 $3.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 静脉滴注, -8 d~-6 d;环磷酰胺 $1.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, -5 d、-4 d;司莫斯汀 250 mg/m^2 , -3 d;兔抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)总量 10 mg/kg (-5 d~-2 d静脉滴注)。1例采用TBI+Cy预处理方案(全身照射 770 cGy , -6 d;环磷酰胺 $1.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, -5 d、-4 d)。

3. 移植抗宿主病(GVHD)预防:采用环孢素A+霉酚酸酯+短程甲氨蝶呤(MTX)方案^[3]预防GVHD。

4. 支持治疗:预处理开始至粒细胞植活期间,患者入住层流室内,并施以反向隔离措施。口服复方磺胺甲氧唑预防肺孢子菌病;口服阿昔洛韦预防单纯疱疹及水痘-带状疱疹感染;伏立康唑片/伊曲康唑胶囊预防真菌感染;既往有真菌感染病史者进行二级预防(伏立康唑/伊曲康唑注射

液);静脉更昔洛韦预防CMV感染(-9 d~-2 d),每周定量检测巨细胞病DNA。输注辐照血制品,维持HGB $\geq 80 \text{ g/L}$ 、PLT $\geq 20 \times 10^9/L$ 。

5. CMV检测:①全部病例移植前均以ELISA法检测血清CMV抗体(IgG、IgM)。②全部病例在移植后10 d开始每周1~2次采用荧光定量PCR法检测CMV-DNA含量。

6. CMV防治方案:①预处理期间使用更昔洛韦预防CMV($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 静脉滴注, -9 d~-2 d)。②监测外周血CMV-DNA,前3个月每周1~2次,以后每月1次持续至少6个月(免疫抑制治疗时恢复监测)。③CMV-DNA检测1次阳性者,应用更昔洛韦(5 mg/kg 每12 h 1次)或膦甲酸钠($90 \sim 120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)或静脉丙种球蛋白治疗(造血重建差者首选膦甲酸钠)。④一线治疗10~14 d后CMV-DNA拷贝数不下降或任意时间较初始CMV-DNA拷贝数上升2个对数级,则考虑联合抗病毒治疗。若治疗两周CMV-DNA不转阴,可输注CMV特异性细胞毒性T细胞(CMV-CTL)。CMV-DNA连续2次阴性改为口服阿昔洛韦预防。

7. 随访:采用门诊和电话方式随访。全部61例患者中位随访时间180(19~538) d。37例合并CMV感染患儿中,1例自动出院失访,其余36例中位随访时间为14(3~80) d。

8. 统计学处理:数据分析采用SPSS 16.0软件包。组间CMV-DNA阳性率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般资料:全部61例患儿中,男37例、女24例,中位年龄7(1~14)岁。急性髓系白血病(AML)28例(M_0 型1例,

M₁型1例, M₂型8例, M₄型5例, M₅型7例, M₆型3例, M₇型2例, 未定1例), 急性淋巴细胞白血病(ALL)(高危/复发)25例(B-ALL 22例, T-ALL 3例), 急性混合细胞型白血病(AHL)2例, 骨髓增生异常综合征(MDS)6例。移植前疾病状态: 第1次完全缓解(CR₁)38例, CR₂ 16例, CR₃ 2例, 未缓解1例, 其余4例为难治性贫血伴原始细胞增多(MDS-RAEB)。

2. 造血重建: 61例患者移植物均为骨髓+外周血干细胞。61例均获造血重建。粒细胞植入中位时间为13(10~24)d; 血小板植入中位时间为17(10~108)d; 3例植入不良(CMV阳性2例, CMV阴性1例)。

3. 移植后CMV感染情况: 61例接受haplo-HSCT患者中, 37例(60.66%)移植后100d内发生CMV感染(外周血CMV-DNA阳性), 初次检测阳性中位时间为移植后28(14~49)d。37例患者中9例(14.75%)伴发肺感染。单因素分析显示, CMV阳性率与年龄、性别、疾病类型、供受者性别、供受者血型、急性GVHD及巴利昔单抗应用无相关性(表1)。

4. CMV感染治疗结果: 37例CMV感染患者中, 1例患儿抗病毒治疗4d自动出院失访(CMV-DNA未转阴), 其余36例经治疗均获得CMV-DNA转阴(更昔洛韦16例, 更昔洛韦联合膦甲酸钠17例, 膦甲酸钠2例, 阿昔洛韦1例)。全部37例患者中位抗病毒疗程为14(4~80)d, 疗程<14d 17例(45.95%), 疗程14d~21d 7例(18.92%), 疗程>21d 12例(32.43%)。2例患儿行CMV-CTL输注。未发生CMV感染相关死亡。

5. CMV治疗相关不良反应: 未观察到显著的CMV治疗药物相关不良反应。

讨 论

CMV的细胞嗜性广泛, 上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞是主要靶细胞, 故在免疫抑制个体, 常造成全身性感染。CMV感染人体后, 病毒核酸在体液中会早于血清特异性抗体及临床症状出现, 可作为感染的早期诊断指标。目前, 实时荧光定量PCR法可精确定量病毒DNA, 高载量或动态监测中出现载量明显升高提示活动性感染可能^[4]。本组61例患儿接受haplo-HSCT, 移植后100d内CMV感染发生率为60.66%(37/61), 与成人非血缘及同胞全相合移植后3个月内CMV感染发生率(50%~60%)^[5]接近, 低于黄金菊等^[6]报告的本中心2~67岁haplo-HSCT患者CMV感染率[(81.0±2.7)%]。我国一般人群CMV抗体阳性率为86%~96%, 儿童为10%~40%^[7], 随着儿童年龄的增长其CMV感染率也相应增加^[8]。由于儿童haplo-HSCT供者几乎均为患儿父母, 而成人haplo-HSCT的供者基本是成人, 两组供者的CMV感染率相似, 故考虑儿童haplo-HSCT后CMV血症的发生率比成人haplo-HSCT组低可能与此有关。其次, 从数据也可以看出haplo-HSCT后患儿CMV血症的发生率与非血缘及同胞全相合移植相近, 至少不明显高于同胞全合及非血缘移植。

表1 影响儿童血液病患者单倍型造血干细胞移植后巨细胞病毒(CMV)感染的单因素分析

因素	例数	CMV-DNA阳性 [例(%)]	χ^2 值	P值
年龄			1.637	0.201
<7岁	22	11(50.00)		
≥7岁	39	26(66.67)		
性别			0.322	0.570
男	38	22(57.89)		
女	23	15(65.21)		
疾病类型			2.537	0.469
AML	28	17(60.71)		
ALL	25	17(68.00)		
AHL	2	1(50.00)		
MDS	6	2(33.33)		
急性GVHD			0.089	0.765
有	37	23(62.16)		
无	24	14(58.33)		
供受者性别			2.719	0.099
相同	38	20(52.63)		
不同	23	17(73.91)		
供受者血型			0.547	0.459
相合	29	19(65.52)		
不合	32	18(56.25)		
巴利昔单抗应用			0.330	0.565
是	21	15(71.43)		
否	16	10(62.50)		

注: AML: 急性髓系白血病; ALL: 急性淋巴细胞白血病; AHL: 急性混合细胞型白血病; MDS: 骨髓增生异常综合征

以往研究显示allo-HSCT后CMV感染与GVHD的存在一定相关性, 发生急性GVHD及针对GVHD的治疗可使患者发生CMV感染的风险增高, 且II/III度急性GVHD患者发生CMV感染的风险高于0/I度急性GVHD患者^[9-10]。本研究中, 移植后发生急性GVHD组CMV感染发生率为62.16%(23/37), 未发生急性GVHD组CMV感染发生率为58.33%(14/24), 但急性GVHD的发生、巴利昔单抗(CD25单抗)的使用与发生CMV感染无相关性, 可能与本组病例较少有关。

本研究还提示CMV-DNA阳性率与受者性别、年龄(<7岁/≥7岁)、疾病种类、移植供者和受者性别、血型相同与否均无相关性, 与何君等^[11]报道的结果一致。

以往研究结果显示, 患儿机体的免疫状态可能是CMV激活的关键因素^[12-14]。健康人感染CMV后常无明显症状, 造血干细胞移植患者等免疫力低下人群可出现CMV原发感染或再激活。CMV感染可造成造血功能重建延迟, 抑制造血细胞增殖和分化, 造成植入失败^[15]。国内文献报道造血干细胞移植后CMV感染相关间质性肺炎发生率达30%, 病死率达80%^[16]。在骨髓移植患者中, 并发CMV活动性感染所致间质性肺炎患者的死亡率高达87%^[17-18]。因此, 早期发现CMV感染并及时给予适当干预对于提高移植成功率意义

重大。本研究61例患儿接受haplo-HSCT,移植后100 d内37例发生CMV感染,其中9例(14.75%)伴发肺感染,未发生CMV感染相关死亡。故移植前更昔洛韦预防、监测CMV-DNA、早期治疗对清除移植术后CMV感染、减少CMV感染并发症至关重要。

更昔洛韦为首选的抗CMV药物,能有效抑制CMV复制。更昔洛韦不良反应主要包括骨髓抑制、肝肾损害,若肝功能明显恶化、PLT $\leq 25 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞绝对计数 $< 0.5 \times 10^9/L$ 或较用药前降低50%时建议停药。膦甲酸钠是一种CMV-DNA聚合酶抑制剂,在国外应用较广泛^[19]。本组病例中,膦甲酸钠主要用于对更昔洛韦不耐受或治疗无效的患者。本研究37例CMV感染患儿中36例(97.3%)抗病毒治疗后CMV-DNA转阴,与郭智等^[20]报道的结果一致。

总之,CMV感染是儿童haplo-HSCT后的主要并发症之一。移植前早期预防、移植后密切监测、早期抗CMV治疗,对清除移植术后CMV感染、减少相关并发症和提高移植成功率至关重要。本研究仅对allo-HSCT后早期CMV-DNA阳性情况进行分析,移植后长期生存患者CMV感染情况有待今后进一步观察。

参考文献

- [1] Tan PL, Lim LM, Khanlian C, et al. A single-center experience of cytomegalovirus infections in Asian pediatric patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplant for leukemia in Singapore[J]. *Transpl Infect Dis*, 2014, 16(4): 556-560. DOI: 10.1111/tid.12238.
- [2] 陈静. 儿童恶性血液病异基因造血干细胞移植指征[J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2014, 10(3): 13-17. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1673-5250.2014.03.004.
- [3] Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion for the treatment of hematological malignancies [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 38(4): 291-297. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705445.
- [4] 叶贝. 儿童巨细胞病毒感染的研究进展[J]. *中国保健营养*, 2016, 26(3):119-120.
- [5] George B, Pati N, Gilroy N, et al. Pre-transplant cytomegalovirus (CMV) serostatus remains the most important determinant of CMV re activation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the era of surveillance and preemptive therapy [J]. *Transpl Infect Dis*, 2010, 12(4): 322-329. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2010.00504.x.
- [6] 黄金菊, 陆晓茜, 闫晨华, 等. 亲属单倍型与同胞全相合HSCT后巨细胞病毒感染临床特点的比较[J]. *中华器官移植杂志*, 2013, 34(2): 87-91. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2013.02.006.
- [7] 司英健, 秦茂权, 张传仓, 等. 儿童异基因造血干细胞移植后合并巨细胞病毒感染的临床分析[J]. *中国医师进修杂志*, 2013, 36(22): 58-60. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2013.22.023.
- [8] Enders G, Daiminger A, Lindemann L, et al. Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in pregnant women, bone marrow donors and adolescents in Germany, 1996-2010 [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2012, 201(3): 303-309. DOI: 10.1007/s00430-012-0232-7.
- [9] Kekik C, Besisik SK, Seyhun Y, et al. Relationship between HLA tissue type, CMV infection, and acute graft-vs-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: single-center experience [J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(9):3859-3862. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.04.017.
- [10] 贾晋松, 刘东平, 黄晓军, 等. 异基因造血干细胞移植后人类巨细胞病毒pp65的监测及疗效、危险因素分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(4): 749-754. DOI: 10.3969/j.issn.1009-2137.2006.04.026.
- [11] 何君, 陈宝安, 倪明, 等. 异基因造血干细胞移植术后巨细胞病毒感染的临床研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2014, 22(5): 1371-1376. DOI: 10.7534/j.issn.1009-2137.2014.05.036.
- [12] 李呈媚, 谷丽. 婴幼儿巨细胞病毒感染所致多脏器损害21例临床分析[J]. *中国医师进修杂志*, 2011, 34(z2): 48-49. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2011.z2.022.
- [13] Scheinberg P, Melenhorst JJ, Brenchley JM, et al. The transfer of adaptive immunity to CMV during hematopoietic stem cell transplantation is dependent on the specificity and phenotype of CMV-specific T cells in the donor [J]. *Blood*, 2009, 114(24): 5071-5080. DOI: 10.1182/blood-2009-04-214684.
- [14] Moins-Teisserenc H, Busson M, Scieux C, et al. Patterns of cytomegalovirus reactivation are associated with distinct evolutive profiles of immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *J Infect Dis*, 2008, 198(6): 818-826. DOI: 10.1086/591185.
- [15] Ichihara H, Nakamae H, Hirose A, et al. Immunoglobulin prophylaxis against cytomegalovirus infection in patients at high risk of infection following allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Transplant Proc*, 2011, 43(10): 3927-3932. DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.08.104.
- [16] 王霞, 张蓓, 罗长缨, 等. 儿童异基因造血干细胞移植术后感染的实验观察[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2006, 11(3):107-108. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5323.2006.03.004.
- [17] Kantrow SP, Hackman RC, Boeckh M, et al. Idiopathic pneumonia syndrome: changing spectrum of lung injury after marrow transplantation [J]. *Transplantation*, 1997, 63(8): 1079-1086.
- [18] Wagner JE, Eapen M, MacMillan ML, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation for the treatment of Fanconi anemia [J]. *Blood*, 2007, 109(5): 2256-2262. DOI: 10.1182/blood-2006-07-036657.
- [19] Ohta H, Matsuda Y, Tokimasa S, et al. Foscarnet therapy for ganciclovir-resistant cytomegalovirus retinitis after stem cell transplantation: effective monitoring of CMV infection by quantitative analysis of CMV mRNA [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2001, 27(11): 1141-1145. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703055.
- [20] 郭智, 陈惠仁, 杨凯, 等. 单倍型异基因造血干细胞移植后发生巨细胞病毒感染的临床分析[J]. *国际病毒学杂志*, 2016, 23(3): 164-167. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2016.03.006.

(收稿日期:2018-07-27)

(本文编辑:徐茂强)