

·论著·

巨细胞病毒肠炎对重度肠道移植植物抗宿主病患者预后的影响

刘扬 莫晓冬 韩婷婷 许兰平 张晓辉 王昱 刘开彦 黄晓军

【摘要】目的 探讨重度肠道移植植物抗宿主病(GVHD)合并巨细胞病毒(CMV)肠炎的危险因素、临床特点及预后。**方法** 回顾性分析2005年1月1日至2015年9月1日期间确诊的80例Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD患者的临床资料,依据有无CMV肠炎(病理诊断)分为CMV肠炎组(18例)和对照组(62例),比较两组患者的基线特征、临床特点及非复发死亡率。**结果** CMV肠炎组18例患者中,CMV抗原阳性14例,肠黏膜匀浆CMV核酸阳性3例,CMV包涵体阳性2例(其中1例为CMV抗原阳性+包涵体阳性)。确诊CMV肠炎的中位时间为移植后65(27~278)d。两组基线水平(年龄、性别、原发病、疾病状态等)差异无统计学意义。中位随访15.0(0.5~110.5)个月,CMV肠炎组移植后非复发死亡率高于对照组(61.1%对33.9%, $P=0.044$)。**结论** 合并CMV肠炎是Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD患者移植后非复发死亡的危险因素。

【关键词】 造血干细胞移植; 移植物抗宿主病; 巨细胞病毒; 危险因素

基金项目:国家自然科学基金(81230013,81400145)

Impact of cytomegalovirus intestinal disease on the prognosis in patients with severe intestinal graft-versus-host disease Liu Yang, Mo Xiaodong, Han Tingting, Xu Lanping, Zhang Xiaohui, Wang Yu, Liu Kaiyan, Huang Xiaojun. Peking University People's Hospital, Peking University Institute of Hematology, Beijing Key Lab of HSCT, Beijing 100044, China

Corresponding author: Huang Xiaojun, Email: xjhrm@medmail.com.cn

[Abstract] **Objective** To explore risk factors, clinical characteristics and prognosis of CMV enteritis combined with severe intestinal graft-versus-host disease (GVHD). **Methods** The data of 80 intestinal grade Ⅲ/Ⅳ GVHD patients from January 2005 to September 2015 in hematology of PKUPH were retrospectively analyzed. All patients received colonoscopy and all GVHD diagnoses were based on clinical manifestation, colonoscopy and biopsies. All patients were divided into biopsy-proven CMV enteritis and control groups. Various characteristics, clinical manifestation and transplantation related mortality were compared. **Results** A total of 18 patients were diagnosed with biopsy-proven CMV enteritis, including 14 antigens positive, 2 inclusion bodies positive (1 positive for both antigen and inclusion body) and 3 intestinal mucosa CMV PCR positive. The median diagnosis time for CMV enteritis was 65 days (range, 27 to 278 days) after transplantation. There was no statistically difference for baseline (age, gender, underlying disease, status of disease, et al) between two groups. The NRM between CMV enteritis and control groups was significantly different (61.1% vs. 33.9%, $P=0.044$). **Conclusion** CMV enteritis was a risk factor of NRM for grade Ⅲ/Ⅳ intestinal GVHD.

[Key words] Hematopoietic stem cell transplantation; Graft vs host disease; Cytomegalovirus; Risk factors

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81230013, 81400145)

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)技术的发展使很多血液系统肿瘤患者获得长期缓解甚至根

治,但移植后非复发死亡率(NRM)仍达23.7%^[1],移植后肠道移植植物抗宿主病(GVHD)是allo-HSCT的常见合并症和患者死亡的重要原因。移植后急性GVHD(aGVHD)、Ⅲ/Ⅳ度aGVHD的发生率分别为64%、18%^[2]。除GVHD外,感染同样是移植后非复发死亡的重要原因,其中巨细胞病毒(CMV)感染发生率高达60%~70%^[3]。肠道不仅仅作为GVHD、也

是CMV病的常见靶器官。allo-HSCT后腹泻患者如何鉴别CMV肠炎和肠道GVHD是重要的临床挑战。另一方面,肠道GVHD患者容易合并CMV感染和CMV肠炎^[4],两者同时出现使临床决策复杂化。合并CMV肠炎对肠道GVHD患者预后的影响仅有少数报道^[5-7]。我们回顾分析北京大学人民医院2005年1月1日至2015年9月1日期间造血干细胞移植后Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD(含CMV肠炎)患者的临床特征、治疗及疗效反应,以期对临床诊治提供指导。

病例与方法

1. 病例:北京大学人民医院2005年1月1日至2015年9月1日期间80例allo-HSCT后发生Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD患者,根据有无CMV肠炎(病理诊断)分为CMV肠炎组和对照组。排除标准:①病理明确为其他肠道病原体感染;②肠道血栓性微血管病(TMA);③因各种原因未完成GVHD及病毒性肠炎的后续治疗者;④资料不完整。

2. allo-HSCT方案:全部患者均为亲缘骨髓联合外周血造血干细胞移植。预处理方案:①HLA配型相合同胞供者:改良BU/CY方案(18例):阿糖胞苷(Ara-C)2 g/m², -10、-9 d, 白消安(BU)4 mg/kg, -8~6 d, 环磷酰胺(CY)1.8 g/m², -5、-4 d, 甲基环己亚硝脲(Me-CCNU)250 mg/m², -3 d;含全身照射(TBI)及氟达拉滨(Flud)的预处理方案(1例)。②HLA单倍型相合:改良BU/CY+ATG方案(59例):Ara-C 4 g/m², -10、-9 d, BU 4 mg/kg, -8~6 d, CY 1.8 g/m², -5、-4 d, Me-CCNU 250 mg/m², -3 d, ATG 2.5 mg/kg, -5~1 d; TBI/CY+ATG方案、减量CY+Flud方案、含TBI及Flud的预处理方案各1例。

3. 肠道GVHD的诊断、预防及治疗:GVHD的诊断参考国际通用标准^[8],Ⅲ级以上肠道GVHD定义为严重肠道GVHD。aGVHD预防方案为环孢素A(CsA)+短程甲氨蝶呤(MTX)+霉酚酸酯(MMF)。aGVHD的一线治疗方案:调整CsA至有效浓度并予以甲泼尼龙1~2 mg·kg⁻¹·d⁻¹。一线治疗失败(治疗3 d时任一器官出现疾病进展或5 d时疾病无改善)的患者采用二线治疗:将CsA更换为他克莫司或加用CD25单抗、MMF、ATG、间充质干细胞(MSC)输注。

4. CMV的预防、监测、诊断及治疗:移植前供受

者均接受CMV IgG、IgM抗体检测。所有患者预处理期间均接受静脉更昔洛韦(5 mg/kg每12 h 1次,-9 d~2 d)+口服阿昔洛韦(0.4 g每12 h 1次,+1 d~+30 d)的CMV预防方案。+180 d内每周检测1~2次CMV DNA PCR。当CMV DNA PCR检测出现1次>1 000拷贝数/ml或2次>600拷贝数/ml时开始应用经验性治疗:静脉更昔洛韦(5 mg/kg,每12 h 1次)或静脉膦甲酸钠(90 mg/kg,每12 h 1次)。难治性CMV血症(标准剂量抗病毒治疗2周CMV未转阴)的患者,接受CMV特异性细胞毒性T细胞(CMV-CTL)治疗。CMV-CTL制备流程参照文献[9]。

CMV肠炎的病理诊断标准参照文献[10]:①肠黏膜出现嗜碱性包涵体的大细胞;②免疫组化CMV早期/晚期抗原阳性;③肠黏膜匀浆CMV核酸PCR阳性。

5. GVHD及CMV肠炎的疗效判定:完全缓解(CR):腹泻完全消失且无因GVHD所致的皮疹和胆红素升高;部分缓解(PR):腹泻未完全消失,但日腹泻量减少500 ml以上;无效(NR):腹泻无改善或进展。在获得CR和PR的患者中症状持续好转的第1天判定为有效的开始。

6. 随访:采取门诊和(或)电话随访方式。观察指标为疾病缓解状态及生存情况。总体中位随访时间为15.0(0.5~110.5)个月,CMV肠炎组、对照组中位随访时间分别为17.0(0.5~110.0)、14.0(0.5~70.0)个月。

7. 统计学处理:患者基本信息(性别、年龄)、原发病、疾病缓解状态、肠道GVHD发生时间、HLA位点匹配程度、GVHD缓解情况、治疗情况以及死亡原因等信息均纳入分析。应用SPSS 22.0软件进行统计学分析。非参数校验根据期望频数选择卡方检验或连续校正卡方或Fisher检验,计量资料采用独立样本t检验,生存分析采用Kaplan-Meier法。单因素分析采用Log-rank检验,多因素分析采用Cox生存分析。以P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者基本信息:2005年1月至2015年9月,在北京大学人民医院行allo-HSCT后出现腹泻并经临床、肠镜及病理检查确诊为Ⅲ或Ⅳ级肠道GVHD、病例资料完整且长期随访的患者80例。CMV肠炎组18例,对照组62例。男55例,女25例,中位发病

年龄为30(9~56)岁。急性髓系白血病(AML)30例(37.5%)，急性淋巴细胞白血病(ALL)22例(27.5%)，骨髓增生异常综合征(MDS)11例(13.8%)，慢性髓性白血病(CML)12例(15.0%)，其他5例(Fanconi贫血1例、骨髓增殖性肿瘤1例、急性混合细胞白血病1例、慢性粒单核细胞白血病2例)。HLA单倍型移植61例(76.3%)。54例患者(CMV肠炎组16例、对照组38例)有完整的供、受者CMV IgG血清学资料，其中52例(96.3%)供、受者CMV IgG均阳性。CMV肠炎组18例患者中，CMV抗原阳性14例，CMV包涵体阳性2例(其中1例为CMV抗原阳性+包涵体阳性)，肠黏膜匀浆CMV核酸检测阳性3例。确诊CMV肠炎的中位时间为移植后65(27~278)d。对照组单纯肠道GVHD发生的中位时间为移植后76(11~480)d，15例患者的肠道GVHD发生于allo-HSCT 100 d后，3例发生于供者淋巴细胞输注(DLI)后。两组患者的基本情况见表1。

2. 肠道GVHD合并CMV肠炎的临床特点：CMV肠炎组、对照组患者最大日腹泻量分别为2 906 ml(95%CI 2 348~3 541 ml)、3 001 ml(95%CI 2 657~3 380 ml)，差异无统计学意义($P=0.333$)。CMV肠炎组、对照组分别有17例(94.4%)、53例(85.5%)患者发生腹痛($P=0.544$)。对照组中12例(19.4%)患者腹泻时血CMV核酸检测阴性。CMV肠炎组中17例(94.4%)患者腹泻时血CMV核酸检测阳性，血CMV核酸检测阳性的中位时间为腹泻发生后28 d(腹泻发生前21 d~腹泻发生后258 d)。9例患者于确诊CMV肠炎后检出血CMV核酸检测阳性(确诊后15 d内7例)，2例在确诊同时检出阳性，6例确诊前检出阳性。

3. 治疗及转归：CMV肠炎组、对照组肠道GVHD的缓解(CR+PR)率差异无统计学意义[72.2%(13/18)对81.5%(52/62)， $P=0.265$]。CMV肠炎组、对照组二线治疗的患者比例分别为83.3%(15/18)、93.5%(58/62)，差异无统计学意义($P>0.05$)。CMV肠炎组、对照组难治性CMV血症患者分别为8例(44.4%)、21例(33.9%)，差异无统计学意义($P=0.587$)。总体中位随访时间15.0(0.5~110.5)个月，CMV肠炎组NRM高于对照组(61.1%对33.9%， $P=0.044$) (图1)。两组患者治疗及转归情况见表2。

4. III/IV级肠道GVHD患者移植后非复发死亡的影响因素分析：单因素分析显示合并CMV肠炎

是非复发死亡的危险因素($OR=1.7$, 95%CI 0.928~3.117, $P=0.044$)。多因素分析显示，供受者年龄、性别、基础疾病、HLA位点是否匹配等与两组患者NRM的结局均无显著相关性。

表1 80例异基因造血干细胞移植后III/IV级肠道移植物抗宿主病(GVHD)患者的临床资料

因素	CMV肠炎组 (18例)	对照组 (62例)	P值
性别(例)			0.829
男	12	43	
女	6	19	
中位年龄(岁)	32(19~56)	30(9~53)	0.506
病种分布[例(%)]			
AML	6(33.3)	24(38.7)	0.678
ALL	4(22.2)	18(29.0)	0.787
CML	5(27.8)	7(11.3)	0.177
MDS	2(11.1)	9(14.5)	0.712
其他	1(5.6)	4(6.5)	0.891
供、受者HLA配型			0.863
同胞全合	4(22.2)	15(24.2)	
单倍型	14(77.8)	47(75.8)	
血清CMV IgG(供者/受者,例) ^a			0.598
++	16	36	
+-	0	2	
-+	0	0	
--	0	0	
CMV血症[例(%)]	17(94.4)	50(80.6)	0.301
GVHD起病时间[例(%)]			0.386
<100 d	16(88.9)	47(75.8)	
≥100 d	2(11.1)	15(24.2)	

注：CMV：巨细胞病毒；AML：急性髓系白血病；ALL：急性淋巴细胞白血病；CML：慢性髓性白血病；MDS：骨髓增生异常综合征。

^a：54例患者(CMV肠炎组16例、对照组38例)具有完整的供受者CMV IgG血清学资料

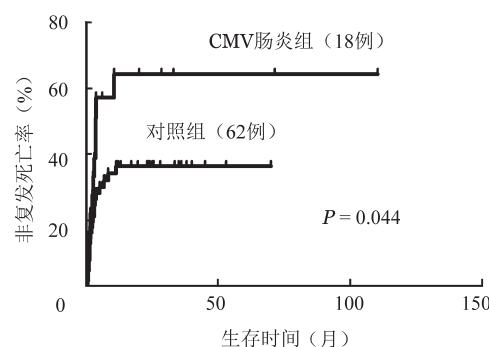


图1 巨细胞病毒(CMV)肠炎对III/IV级肠道移植物抗宿主病患者非复发死亡率的影响

表2 80例Ⅲ/Ⅳ级肠道移植植物抗宿主病(GVHD)患者的治疗及转归

指标	CMV肠炎组 (18例)	对照组 (62例)	P值
疗效[例(%)]			0.265
CR+PR	13(72.2)	52(83.9)	
NR	5(27.8)	10(16.1)	
CR/PR患者中位腹泻持续时间(d)	28(8~48)	33(7~218)	0.600
二线治疗[例(%)]			
CD25单抗	14(77.8)	51(82.3)	0.932
ATG	1(5.6)	5(8)	0.713
MSC	0	2(3.2)	0.999
难治性CMV血症[例(%)]	8(44.4)	21(33.9)	0.587
CMV-CTL治疗[例(%)]	2(11.1)	0	0.048
中位随访时间(月)	17(0.5~110)	14(0.5~70)	0.494
非复发死亡[例(%)]	11(61.1)	21(33.9)	0.044
死亡原因[例(%)]			
GVHD	5(27.8)	8(12.9)	0.132
感染	7(38.9)	16(25.8)	0.280
其他	1(5.6)	2(3.2)	0.540

注:CR:完全缓解;PR:部分缓解;NR:未缓解。CMV:巨细胞病毒;MSC:间充质干细胞;CMV-CTL:CMV特异性细胞毒性T细胞

讨 论

本研究中,Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD患者中CMV肠炎的发生率较高,未发现明确危险因素,Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD合并CMV肠炎是NRM的危险因素。与文献[4,6,11-14]相比,我们的研究是在Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD基础上分析CMV肠炎的危险因素、临床特点及预后,且本研究中HLA单倍型移植病例占76.25%(61例),是含有亲缘单倍型移植最多的CMV肠炎报道。

本组病例中,Ⅲ/Ⅳ级肠道GVHD患者CMV肠炎的发生率达22.5%(18/80),与文献[4]的结果类似。移植后总体CMV肠炎的发生率为2%^[15],在重度肠道GVHD患者中发生率明显升高,可能与重度肠道GVHD伴随肠黏膜屏障破坏、重度GVHD影响免疫重建造成机体进一步免疫抑制而容易诱发肠道及其他各种器官感染有关。在van Burik等^[15]的早期研究中,CMV肠炎发生的中位时间为移植后91(17~527)d,本研究中CMV肠炎的发生中位时间为移植后65(27~278)d,可能与本组患者CMV再激活率更高有关。

本组病例资料并未明确CMV肠炎发生的危险因素。而Bhutani等^[4]的研究显示人种差异(白种人/

非白种人)、供受者CMV IgG状态是肠道GVHD患者发生CMV肠炎的危险因素。分析原因,在中国人群中CMV IgG阳性率高达95%,与文献[16-17]报道的欧美人群60%~80%显著不同,故供受者CMV既往感染状态因CMV IgG阴性病例过少而未显示出统计学差异。因而国人CMV IgG阴性供者的选择受限。在临床表现方面,CMV肠炎与对照组在腹泻量及腹痛方面差异均无统计学意义。两组CMV血症的检出率均较高,并且CMV血症的发生时间与CMV肠炎无相关性,其发生时间跨度较大(腹泻发生前21d~腹泻发生后258d),提示血CMV核酸阳性结果可能无助于CMV肠炎的临床诊断。

本组病例中,CMV肠炎组患者NRM率高于对照组(61.1%对33.9%,P=0.044),与文献[4]报道一致。本研究未能发现治疗过程具体某项指标的差异,所以不能给出确切的机制。推测可能包括CMV肠炎组肠黏膜破坏可能更重、难治性CMV比例呈增高趋势、GVHD未控制比例有增高趋势、感染原本身可以作为抗原诱导机体产生GVHD或使之加重。最为重要的是肠道GVHD与CMV肠炎并存时治疗策略上存在很大的矛盾,前者需要加强免疫抑制治疗,而后者则需要减低免疫抑制剂用量、增强抗病毒治疗。

本组病例资料显示,合并CMV肠炎是移植后重度肠道GVHD患者非复发死亡的危险因素。但本研究存在以下不足:①CMV肠炎组病例数较少;②本研究为回顾性研究,两组患者部分临床表现(如便血程度)难以精确统计;③CMV肠炎的诊断金标准为肠镜病理诊断或肠黏膜组织的高滴度病毒学检测^[10],与操作取材、病理检测方法及结果判读均密切相关,结果可能存在一定的假阴性率。因此,本研究结论尚需多中心前瞻性研究进一步验证。

参 考 文 献

- [1] Malard F, Chevallier P, Guillaume T, et al. Continuous reduced nonrelapse mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-institution's three decade experience [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(8):1217-1223. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.04.021.
- [2] Gratwohl A, Hermans J, Apperley J, et al. Acute graft-versus-host disease: grade and outcome in patients with chronic myelogenous leukemia. Working Party Chronic Leukemia of the European Group for Blood and Marrow Transplantation [J]. Blood, 1995, 86(2):813-818.

- [3] Einsele H, Hebart H, Kauffmann-Schneider C, et al. Risk factors for treatment failures in patients receiving PCR-based preemptive therapy for CMV infection [J]. Bone Marrow Transplant, 2000, 25(7):757-763.
- [4] Bhutani D, Dyson G, Manasa R, et al. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus viremia and gastroenteritis in patients with gastrointestinal graft-versus-host disease [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(1):159-164. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.10.004.
- [5] Arai S, Arora M, Wang T, et al. Increasing incidence of chronic graft-versus-host disease in allogeneic transplantation: a report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(2):266-274. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.10.021.
- [6] Cho BS, Yahng SA, Kim JH, et al. Impact of cytomegalovirus gastrointestinal disease on the clinical outcomes in patients with gastrointestinal graft-versus-host disease in the era of preemptive therapy [J]. Ann Hematol, 2013, 92 (4):497-504. doi: 10.1007/s00277-012-1632-x.
- [7] Okubo H, Nagata N, Uemura N. Fulminant gastrointestinal graft-versus-host disease concomitant with cytomegalovirus infection: case report and literature review [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(4):597-603. doi: 10.3748/wjg.v19.i4.597.
- [8] Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading [J]. Bone Marrow Transplant, 1995, 15(6):825-828.
- [9] Feuchtinger T, Opherk K, Bethge WA, et al. Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation [J]. Blood, 2010, 116 (20):4360-4367. doi: 10.1182/blood-2010-01-262089.
- [10] Kalkan IH, Dağlı U. What is the most accurate method for the diagnosis of cytomegalovirus (CMV) enteritis or colitis? [J]. Turk J Gastroenterol, 2010, 21 (1):83-86. doi: 10.4318/tjg.2010.0061.
- [11] Page MJ, Dreese JC, Poritz LS, et al. Cytomegalovirus enteritis: a highly lethal condition requiring early detection and intervention [J]. Dis Colon Rectum, 1998, 41(5): 619-623.
- [12] Kozuka T, Takenaka K, Shinagawa K, et al. Cytomegalovirus enteritis after autologous peripheral blood stem cell transplantation [J]. Ann Hematol, 2001, 80(10):617-619.
- [13] 许兰平, 郭乃榄, 任汉云, 等. 异基因造血干细胞移植后巨细胞病毒肠炎的临床分析 [J]. 中华内科杂志, 2001, 40(8): 546-549. doi: 10.3760/j.issn:0578-1426.2001.08.013.
- [14] 殷宇明, 吴彤, 纪树荃, 等. 异基因造血干细胞移植后的巨细胞病毒肠炎24例分析 [J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(8): 516-520. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.08.005.
- [15] van Burik JA, Lawatsch EJ, DeFor TE, et al. Cytomegalovirus enteritis among hematopoietic stem cell transplant recipients [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2001, 7 (12): 674-679. doi: 10.1053/bbmt.2001.v7.pm11787530.
- [16] George B, Pati N, Gilroy N, et al. Pre-transplant cytomegalovirus (CMV) serostatus remains the most important determinant of CMV reactivation 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.
- [17] Sharma SK, Kumar S, Agrawal N, et al. Cytomegalovirus reactivation following hematopoietic stem cell transplantation [J]. J Infect Dev Ctries, 2013, 7 (12):1003-1007. doi: 10.3855/jidc.2947.

(收稿日期:2015-12-20)

(本文编辑:徐茂强)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部