

异基因造血干细胞移植后EB病毒脑炎七例临床分析

柯鹏 马骁 鲍协炳 刘跃均 吴小津 薛胜利 胡晓慧 何雪峰 吴德沛

【摘要】 目的 总结异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后合并EBV脑炎患者的发病特点、临床特征、治疗及转归。方法 分析2012年1月至2015年12月在苏州大学附属第一医院行allo-HSCT后合并EBV脑炎的7例患者的临床资料。结果 EBV脑炎总发生率为0.70%(998例中7例),中位发生时间为移植后第63(10~136)天,主要表现为发热伴神经精神症状,4例头颅磁共振成像(MRI)阳性。无关全相合移植2例,亲缘单倍体移植5例。预处理中7例均联合抗胸腺细胞球蛋白(ATG)预防移植植物抗宿主病(GVHD),6例发生Ⅱ~Ⅳ度急性GVHD。经抗病毒联合利妥昔单抗治疗,所有患者EBV-DNA均转阴。至随访截止时间,共3例死亡,2例死于基础疾病复发,1例死于EBV脑炎进展。结论 对于allo-HSCT后疑似EBV脑炎,尽早行脑脊液EBV-DNA及头颅MRI检查,以提高早期诊断率;联合利妥昔单抗治疗有效且耐受性良好。

【关键词】 EBV脑炎; 造血干细胞移植; 利妥昔单抗

基金项目:国家高科技研究发展计划(863计划)(2012AA02A505);江苏省科教兴卫工程-临床医学中心(ZX201102);江苏高校优势学科建设工程(PAPD)

Clinical analysis of 7 patients with Epstein-Barr virus encephalitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation Ke Peng, Ma Xiao, Bao Xiebing, Liu Yuejun, Wu Xiaojin, Xue Shengli, Hu Xiaohui, He Xuefeng, Wu Depei. First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis under Ministry of Health, Collaborative Innovation Center of Hematology, Institute of Blood and Marrow Transplantation, Soochow University, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Ma Xiao, Email:pony73sz@hotmail.com

【Abstract】 Objective To summarize the clinical features, treatment and prognosis of patients with Epstein Barr virus (EBV) encephalitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** The clinical data of 7 patients with EBV encephalitis who had undergone allo-HSCT in the First Affiliated Hospital of Soochow University from January 2012 to December 2015 were reviewed. **Results** The incidence of EBV encephalitis was 0.70% (7/998), and the median time was 63 (10–136) d after allo-HSCT. Seven patients had fever and mental disorder, of whom 4 cases of brain MRI were positive. Two patients received HLA-matched unrelated transplantation, while other 5 ones received haploidentical allo-HSCT. In conditioning regimen process, 7 patients were combined with anti-thymocyte globulin (ATG) to prevent graft versus host disease (GVHD), of whom 6 patients had grade Ⅱ–Ⅳ acute GVHD. All patients of EBV-DNA were negative in CSF after taking anti-virus agent Rituximab. Until the last follow-up, a total of 3 patients died, 2 died of leukemia recurrence, 1 EBV encephalitis progression. **Conclusion** Once suspected EBV encephalitis after allo-HSCT, brain MRI and EBV-DNA in CSF should be detected, which could improve early diagnosis of EBV encephalitis. The usage of Rituximab was effective and well tolerated.

【Key words】 EBV encephalitis; Hematopoietic stem cell transplantation; Rituximab

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.08.007

作者单位:215006 苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所;卫生部血栓与止血重点实验室;血液学协同创新中心;苏州大学造血干细胞移植研究所

通信作者:马骁,Email:pony73sz@hotmail.com

Fund program: National High-tech R&D Program of China (863 Program) (2012AA02A505); Jiangsu Province's Key Medical Center (ZX201102); Project Funded by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

EB病毒(EBV)脑炎为异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后常见的中枢神经系统(CNS)并发症之一,约占移植后病毒性脑炎的17%,病死率高达33%^[1-2]。随着allo-HSCT技术的进步和广泛应用,EBV脑炎受到越来越多的关注。然而,目前EBV脑炎缺乏特异性的临床表现及相关检查手段,早期诊断困难。本研究中,我们回顾性分析了该院2012年1月至2015年12月行allo-HSCT后7例确诊合并EBV脑炎患者的临床资料,旨在提高EBV脑炎的诊治水平,改善患者预后。

病例与方法

1. 病例:以该院2012年1月至2015年12月行清髓性预处理allo-HSCT后合并EBV脑炎的7例患者为研究对象。EBV脑炎诊断参照文献[1-2]标准:①出现中枢神经系统症状,如发热、头痛、精神状态异常、失忆或癫痫发作;②PCR检测脑脊液EBV-DNA阳性;③影像学上的炎症性改变及异常信号。同时符合标准①②和(或)③,并排除患者神经系统其他疾病。

2. 预处理方案及移植物抗宿主病(GVHD)的预防:预处理方案参照文献[3]方法,7例患者均接受改良白消安/环磷酰胺(BU/CY)+兔抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)(法国赛诺菲公司产品)的预处理方案。

采用环孢素A(CsA)+短程甲氨蝶呤(MTX)+霉酚酸酯(MMF)+ATG预防GVHD。急性GVHD(aGVHD)诊断及处理方法参照文献[4]方法。

3. 病毒感染预防:-9~-2 d更昔洛韦(GCV)5 mg/kg,每12 h 1次,静脉滴注;-1 d至移植后1年采用阿昔洛韦(ACV)预防疱疹病毒感染。

4. 移植后病毒监测与处理:所有患者从预处理开始采用定量PCR每周1次监测外周血CMV-DNA及EBV-DNA至+90 d,从+90 d开始每2周监测1次至+180 d;+180 d后若出现可疑病毒感染的症状同时复查CMV-DNA及EBV-DNA;期间若出现阳性,监测频率变为每周2次,直至连续2次病毒转阴。患者确诊EBV脑炎后开始监测脑脊液EBV-DNA,每周1次,转阴标准同外周血。血/脑脊液EBV-DNA阳性定义为定量PCR结果EBV病毒载量 $>1 \times$

10^2 拷贝数/ml。EBV血症的治疗包括免疫抑制剂减量、静脉磷甲酸钠(PFA)抗病毒和(或)利妥昔单抗($375 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ 或每次100 mg,每周1次)抢先治疗。EBV脑炎采用免疫抑制剂减量、常规静脉抗病毒(GCV+PFA)以及利妥昔单抗,部分患者联合鞘内应用利妥昔单抗(每次10~30 mg,每周1次)。所有患者使用利妥昔单抗过程中均给予人丙种球蛋白(400 mg/kg ,每周1次)支持治疗。

5. 随访及相关定义:采用电话、信件、医院登记系统等方式对患者进行随访,随访终点为2016年3月31日,中位随访时间为16.8(5.8~39.6)个月。中性粒细胞植入定义为连续3 d中性粒细胞绝对计数(ANC) $>0.5 \times 10^9/\text{L}$;血小板植入是指在脱离血小板输注的情况下连续7 d $\text{PLT} > 20 \times 10^9/\text{L}$ 。

结 果

1. 移植后EBV脑炎发病情况:2012年1月至2015年12月该院共998例血液病患者行allo-HSCT,移植后7例发生EBV脑炎,总发生率为0.70%。男5例,女2例,中位年龄28岁(19个月~42岁)。疾病类型:急性髓系白血病(AML)5例,急性淋巴细胞白血病(ALL)2例;移植方式:无关全相合移植2例,亲缘单倍体移植5例。患者一般情况见表1。

2. EBV脑炎的临床特征:①发生时间:中位发生时间为移植后第63(10~136)天,其中1例发生于植入之前,另6例发生于植入之后,发病前后短串联重复序列检测供者嵌合度(STR)均大于96%,流式细胞术检测微小残留病(MRD)小于 1×10^{-3} ,基础疾病处于完全缓解(CR)状态。②临床表现:7例均有不同程度发热($37.8 \sim 40.2 \text{ }^\circ\text{C}$),经验性抗感染治疗后6例发热反复;6例有不同程度头痛,以持续性胀痛为主;4例合并精神行为异常,表现为精神萎靡、意识障碍及嗜睡,1例表现为突然意识丧失、肌肉强直收缩、四肢抽搐、双目直视等癫痫发作表现;1例出现浅表淋巴结进行性肿大,以颈部及腋窝为主。③肝肾功能检测:7例患者LDH及谷氨酰转氨酶(GGT)均升高;4例肝功能异常,1例肾功能异常。④血常规:7例发病后均出现不同程度血细胞下降,1例表现为三系进行性下降。⑤外周血EBV-DNA、

CMV-DNA 定量监测:3例发病前检测到外周血 EBV-DNA 阳性(1例同时检测到 EBV-DNA 及 CMV-DNA 阳性);1例外周血 EBV-DNA 阳性发生于 EBV 脑炎确诊后;另3例外周血 EBV-DNA 持续阴性。⑥脑脊液检查:7例脑脊液白细胞中位含量为 $89(5\sim633)\times 10^6/L$ (参考值范围: $0\sim 8\times 10^6/L$),其中6例脑脊液白细胞水平升高;脑脊液蛋白中位含量为 $0.816(0.155\sim 2.105)g/L$ (参考值范围: $0.150\sim 0.450g/L$),其中5例脑脊液蛋白升高;糖及氯化物含量未见明显异常;7例患者脑脊液均检测到 EBV-DNA,中位拷贝数 $23.90(2.61\sim 567.00)\times 10^4$ 拷贝数/ml,其他常见病毒检测及细菌真菌培养均阴性。

3. 影像学检查:7例患者头颅 CT 检查均未见明显异常,其中6例接受头颅核磁共振(MRI)检查,4例异常(图1),MRI表现见表1。

4. 治疗及随访情况:6例患者合并 II~IV 度

aGVHD,仅例1未合并 aGVHD 采用逐步减停免疫抑制剂;7例均采用了常规抗病毒药物(GCV+PFA)联合利妥昔单抗治疗;其中,例1、4、5、7利妥昔单抗采用静脉给药($375mg\cdot m^{-2}\cdot d^{-1}$ 或每次100mg);余3例利妥昔单抗采用静脉+鞘内注射联合给药(静脉给药同上,每次鞘注10~30mg)。7例患者仅1例发生重症感染。具体治疗及转归见表2。截止2016年3月31日共3例死亡,例3、例7死于基础病复发,例2死于EBV脑炎进展。

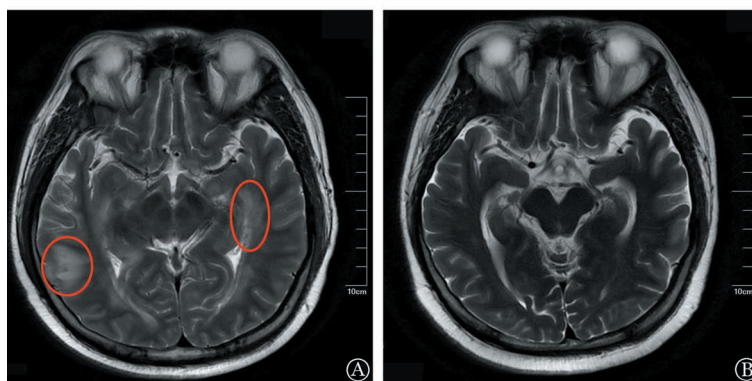
讨 论

allo-HSCT 后 EBV 脑炎的发病机制尚不明确,主要考虑与免疫功能低下导致 EBV 再激活或新发 EBV 感染侵入 CNS 有关。本研究中 EBV 脑炎发生率为 0.70%,低于文献[2]报道的 1.42%(4/281),可能与部分患者采用利妥昔单抗抢先治疗有关。移

表1 7例异基因造血干细胞移植后EBV脑炎患者一般情况

例号	年龄	性别	诊断	移植方式	预处理方案	粒细胞植入时间	血小板植入时间	aGVHD	EBV脑炎发生时间	临床表现	脑脊液 EBV-DNA 载量 (拷贝数/ml)	头颅磁共振成像
1	19月龄	男	AML	单倍体	改良 BU/CY+ATG	+62 d	+70 d	肠道IV级	+10 d	发热、嗜睡	5.37×10^4	脱髓鞘改变
2	28岁	男	AML	单倍体	改良 BU/CY+ATG	+13 d	+15 d	肠道III级、 皮肤II级	+58 d	发热、头痛、 精神萎靡	4.11×10^5	右半卵圆中心小 斑点状长T2信号
3	42岁	男	AML	无关全相合	改良 BU/CY+ATG	+11 d	+13 d	皮肤III级	+63 d	发热、头痛	1.18×10^5	无异常
4	19岁	女	ALL	无关全相合	改良 BU/CY+ATG	+12 d	+14 d	肠道IV级、 皮肤II级	+72 d	发热、嗜睡、意 识障碍、狂躁	2.61×10^4	额、颞叶长 T2 信号
5	32岁	男	ALL	单倍体	改良 BU/CY+ATG	+11 d	+17 d	未发生	+46 d	发热、头痛、精 神行为异常	2.39×10^5	双侧额、颞、枕叶、 脑干长T2信号
6	23岁	男	AML	单倍体	改良 BU/CY+ATG	+10 d	+13 d	肠道II级	+70 d	发热、头痛	5.67×10^6	无异常
7	25岁	女	AML	单倍体	改良 BU/CY+ATG	+12 d	+12 d	肝脏II级	+136 d	发热、癫痫	8.85×10^5	无异常

注:aGVHD:急性移植物抗宿主病;AML:急性髓系白血病;ALL:急性淋巴细胞白血病;BU:白消安;CY:环磷酰胺;ATG:抗胸腺细胞球蛋白



A:治疗前示双侧额叶、颞顶叶、右侧枕叶、双侧半卵圆中心及放射冠区、脑干可见多发类圆形长T2信号;B:治疗后未见明显异常

图1 异基因造血干细胞移植后EBV脑炎头颅磁共振成像表现

表2 7例异基因造血干细胞移植后EBV脑炎患者治疗及转归情况

例号	EBV-DNA首次阳性时间		EBV-DNA转阴时间		EBV-DNA载量(拷贝数/ml)		利妥昔单抗累积剂量(mg)		随访时间(月)	转归
	外周血	脑脊液	外周血	脑脊液	外周血	脑脊液	静脉	鞘注		
1	+27 d	+16 d	+49 d	+32 d	5.2×10 ⁴	5.4×10 ⁴	200	-	7.6	存活
2	+42 d	+64 d	+58 d	+80 d	2.0×10 ⁵	4.1×10 ⁵	450	50	5.8	死亡
3	阴性	+70 d	NA	+101 d	NA	1.2×10 ⁵	910	100	16.8	死亡
4	阴性	+80 d	NA	+103 d	NA	2.6×10 ⁴	400	-	39.6	存活
5	+35 d	+50 d	+63 d	+66 d	5.4×10 ⁵	2.4×10 ⁵	100	-	33.7	存活
6	+72 d	+75 d	+86 d	+90 d	1.2×10 ⁷	5.7×10 ⁶	500	80	6.8	存活
7	阴性	+141 d	NA	+171 d	NA	8.8×10 ⁵	500	-	24.1	死亡

注:NA:不适用;-:未给药

植后EB病毒相关的淋巴细胞增殖性疾病(PTLD)发生的危险因素主要包括去除T淋巴细胞、GVHD、ATG及人白细胞抗原(HLA)错配等^[5];7例患者预处理中均使用ATG,6例合并aGVHD,与文献^[6]报道相符。

EBV脑炎多发生于移植后1年内,一项多中心回顾性分析报道移植后EBV脑炎的中位发生时间为移植后第93(37~437)天^[1]。本组7例患者中位发生时间为移植后第63(10~136)天,发生时间略早于文献报道,提示EBV脑炎发生时间窗较大,且可能与监测密切程度有关。本研究中,7例患者脑脊液均检测到EBV-DNA,在CNS感染EBV之前,已有3例患者外周血EBV-DNA阳性;仅1例(例1)EBV脑炎发生早于外周血EBV血症;另3例外周血EBV-DNA持续阴性,与文献^[7]报道一致。且Barberi等^[8]报道部分EBV脑炎脑脊液未检出EBV-DNA。因此,当临床高度怀疑EBV脑炎时,即使外周血及脑脊液EBV-DNA检测阴性,仍无法完全排除合并EBV脑炎。EBV脑炎的影像学检查,本组7例患者起病时头颅CT均未见明显异常,而MRI发现4例异常,提示MRI比CT更能发现异常,与文献^[9]报道相符。4例MRI检查发现额颞叶、丘脑、脑干及卵圆中心均可受累,与以累及额颞叶为特征的单纯疱疹病毒脑炎相比,EBV脑炎累积部位更具多样性。

移植后EBV脑炎的治疗方法主要包括:减停免疫抑制剂、常规抗病毒、利妥昔单抗、过继性EBV特异性T淋巴细胞等。目前研究认为常规抗病毒药治疗EBV感染无效^[10],Zallio等^[11]报道EBV载量>1.0×10⁴拷贝数/ml为发生EBV相关PTLD的高危因素,故推荐使用利妥昔单抗抢先治疗。EBV脑炎与CNS-PTLD,特别是EBV-PTLD临床表现相似,明确诊断较难。传统观点认为,病理活检是主要鉴别诊

断手段之一;但最新研究发现,通过脑脊液细胞免疫表型测定及克隆分析也可早期明确诊断^[2]。本研究7例合并EBV脑炎患者初次脑脊液或外周血EBV病毒载量均显著高于1.0×10⁴拷贝数/ml,与文献报道相符。利妥昔单抗较难透过血脑屏障,常规静脉注射利妥昔单抗对CNS-EBV病,特别是EBV-PTLD的疗效有限^[12-13]。Bonney等^[14]报道2例静脉利妥昔单抗治疗无效的CNS EBV-PTLD患者,接受鞘注利妥昔单抗治疗均获得CR。同时鞘注利妥昔单抗有效性也被另一项前瞻性研究证实,有效率高达88.9%^[15]。此外,目前过继性EBV特异性T淋巴细胞多用于PTLD治疗,用于治疗EBV脑炎报道较少。本组7例患者中,1例患者减停免疫抑制剂联合抗病毒治疗后EBV脑炎获得CR,另6例经抗病毒联合利妥昔单抗治疗后,无论是静脉还是联合鞘注给药利妥昔单抗,6例脑脊液EBV-DNA均转阴;但仍有1例死于EBV脑炎进展,2例死于基础疾病复发。结果表明,发生EBV脑炎时,无论是静脉或联合鞘注利妥昔单抗均能取得较好疗效,可能与炎症导致血脑屏障开放,致对利妥昔单抗的通透性增加有关,与文献^[16-17]报道相符。本组7例患者仅1例发生重症感染,但未死于感染,考虑与使用利妥昔单抗期间每周予人静脉丙种球蛋白支持有关,与文献^[18]报道相符。

allo-HSCT后EBV脑炎是移植后CNS严重并发症之一,临床表现多样,脑脊液常规检查呈病毒性脑炎改变,缺乏特异性,若存在广谱抗感染治疗无效的反复发热伴精神神经症状,需考虑合并EBV脑炎可能。常规实验室检查,如血常规、生化、颅脑CT等常用于排他性诊断;一旦怀疑合并EBV脑炎时,建议尽早行脑脊液EBV-DNA检测及头颅MRI检查,必要时病理活检以提高诊断准确率,并使用

利妥昔单抗治疗,以期改善患者预后。

参考文献

- [1] Schmidt-Hieber M, Schwender J, Heinz WJ, et al. Viral encephalitis after allogeneic stem cell transplantation: a rare complication with distinct characteristics of different causative agents[J]. *Haematologica*, 2011, 96 (1):142- 149. DOI: 10.3324/haematol.2010.029876.
- [2] Wu M, Huang F, Jiang X, et al. Herpesvirus-associated central nervous system diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (10): e77805. DOI: 10.1371/journal.pone.0077805.
- [3] Wang Y, Chen F, Han Y, et al. Partially matched related hematopoietic stem cell transplantation without ex vivo T cell depletion compared with matched unrelated transplantation in adult patients with hematologic malignancies [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, 15 (10): 1258- 1264. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.05.020.
- [4] Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading[J]. *Bone Marrow Transplant*, 1995, 15(6): 825-828.
- [5] Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. *Blood*, 2009, 113: 4992-5001.
- [6] 鲍协炳, 朱倩, 仇惠英, 等. 异基因造血干细胞移植后 EBV 感染临床危险因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(2): 138-143. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.02.011.
- [7] Shimizu H, Saitoh T, Koya H, et al. Discrepancy in EBV-DNA load between peripheral blood and cerebrospinal fluid in a patient with isolated CNS post-transplant lymphoproliferative disorder [J]. *Int J Hematol*, 2011, 94 (5): 495- 498. DOI: 10.1007/s12185-011-0951-3.
- [8] Barberi W, Perrone S, Iori AP, et al. Proven Epstein-Barr encephalitis with negative EBV-DNA load in cerebrospinal fluid after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in a child with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Pediatr Transplant*, 2015, 19(1):19-24. DOI: 10.1111/ptr.12386.
- [9] Abul-Kasim K, Palm L, Maly P, et al. The neuroanatomic localization of Epstein-Barr virus encephalitis may be a predictive factor for its clinical outcome: a case report and review of 100 cases in 28 reports [J]. *J Child Neurol*, 2009, 24 (6):720- 726. DOI: 10.1177/0883073808327842.
- [10] Heslop HE. How I treat EBV lymphoproliferation [J]. *Blood*, 2009, 114 (19): 4002- 4008. DOI: 10.1182/blood- 2009- 07-143545.
- [11] Zallio F, Primon V, Tamiazzo S, et al. Epstein-Barr virus reactivation in allogeneic stem cell transplantation is highly related to cytomegalovirus reactivation [J]. *Clin Transplant*, 2013, 27 (4): E491-E497. DOI: 10.1111/ctr.12172.
- [12] Valavoor SH, Ashraf Z, Narwal R, et al. Conservative management of post-transplant central nervous system lymphoma [J]. *Int Urol Nephrol*, 2013, 45 (4): 1219- 1222. DOI: 10.1007/s11255-012-0146-8.
- [13] Czyzewski K, Styczynski J, Krenska A, et al. Intrathecal therapy with rituximab in central nervous system involvement of post-transplant lymphoproliferative disorder [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(3): 503-506. DOI: 10.3109/10428194.2012.718342.
- [14] Bonney DK, Htwe EE, Turner A, et al. Sustained response to intrathecal rituximab in EBV associated Post-transplant lymphoproliferative disease confined to the central nervous system following haematopoietic stem cell transplant [J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2012, 58 (3): 459- 461. DOI: 10.1002/pbc.23134.
- [15] Wu M, Sun J, Zhang Y, et al. Intrathecal rituximab for EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disorder with central nervous system involvement unresponsive to intravenous rituximab-based treatments: a prospective study [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51 (3): 456-458. DOI: 10.1038/bmt.2015.281.
- [16] Crocchiolo R, Ciccolini J, El-Cheikh J, et al. Successful treatment of post-transplant Epstein-Barr virus-related meningoencephalitis by intravenous rituximab monotherapy [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53 (10): 2063- 2065. DOI: 10.3109/10428194.2012.670232.
- [17] Martelius T, Lappalainen M, Palomäki M, et al. Clinical characteristics of patients with Epstein Barr virus in cerebrospinal fluid [J]. *BMC Infect Dis*, 2011, 11: 281. DOI: 10.1186/1471-2334-11-281.
- [18] Worth A, Conyers R, Cohen J, et al. Pre-emptive rituximab based on viraemia and T cell reconstitution: a highly lymphoproliferative disease following stem cell transplantation [J]. *Br J Haematol*, 2011, 155 (3):377- 385. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08855.x.

(收稿日期:2016-12-25)

(本文编辑:刘爽)