

重组人血小板生成素对重型再生障碍性贫血免疫抑制治疗近期疗效的影响

张莉 杨文睿 叶蕾 周康 井丽萍 李洋 李园
李建平 彭广新 宋琳 赵馨 武志洁 张凤奎

【摘要】 目的 评价重组人血小板生成素(rhTPO)对重型再生障碍性贫血(SAA)免疫抑制治疗(IST)近期疗效的影响。方法 回顾性分析IST联合rhTPO治疗40例成人SAA患者,以同期单用标准IST方案的患者为对照组,比较两组患者血液学反应及血小板恢复情况,并分析影响近期疗效的相关因素。结果 IST后3个月,rhTPO组患者血液学反应率及良好血液学反应率均明显高于对照组(75.0%对50.0%, $P=0.022$;17.5%对2.5%, $P=0.025$)。IST后6个月,rhTPO组与对照组患者血液学反应率分别为77.5%和57.5%,差异无统计学意义($P=0.058$),但rhTPO组良好血液学反应率高于对照组(45.0%对22.5%, $P=0.033$)。rhTPO组患者脱离血小板输注时间较对照组短[33(0~90)d对53(0~75)d, $P=0.019$],血小板输注中位量也明显低于对照组。IST后3个月rhTPO组患者PLT中位数为 $29(4-95)\times 10^9/L$,明显高于对照组的 $15(5-94)\times 10^9/L$ ($P=0.006$)。两组患者预期3年生存率比较差异无统计学意义(100.0%对91.0%, $P=0.276$)。结论 rhTPO可提高SAA的IST血液学反应率,加快血小板恢复。

【关键词】 贫血,再生障碍性; 血小板生成素; 免疫抑制法; 治疗结果

Impact of recombinant human thrombopoietin (rhTPO) on short-term response of immunosuppressive therapy in patients with newly diagnosed acquired severe aplastic anemia

Zhang Li, Yang Wenrui, Ye Lei, Zhou Kang, Jing Liping, Li Yang, Li Yuan, Li Jianping, Peng Guangxin, Song Lin, Zhao Xin, Wu Zhijie, Zhang Fengkui. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Zhang Fengkui, Email: zhfk@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the impact of recombinant human thrombopoietin (rhTPO) on short-term response of immunosuppressive therapy (IST) in patients with newly diagnosed acquired severe aplastic anemia (SAA). **Methods** The clinical data of forty adult acquired SAA patients, who treated with IST combined with rhTPO, were retrospective analyzed and the hematologic recovery were compared with patients by the IST alone during the same period. The factors affecting the short-term response were also analyzed. **Results** At 3 months after IST, both the total response rate and CR+GPR rate in rhTPO group were much higher than those in control group (75.0% vs 50.0%, $P=0.022$; and 17.5% vs 2.5%, $P=0.025$). At 6 months after IST, there was no difference of total hematologic response rate in rhTPO group and control group (77.5% vs 57.5%, $P=0.058$), while the CR+GPR rate was still higher in rhTPO group (45.0% vs 22.5%, $P=0.033$). The median time of platelet transfusion independence was much shorter in rhTPO group [33 (0-90) vs 53 (0-75) d, $P=0.019$]. Patients in rhTPO group needed less platelets transfusion support. The median platelet count in rhTPO group was $29(4-95)\times 10^9/L$ at 3 months after IST, which was much higher than that in control group [$15(5-94)\times 10^9/L$, $P=0.006$]. There was no significant difference regarding overall survival between the two groups (100.0% vs 91.0%, $P=0.276$). **Conclusion** rhTPO is effective in promoting platelet recovery and improving the hematopoietic response for SAA patients with IST.

【Key words】 Anemia, aplastic; Thrombopoietin; Immunosuppression; Treatment outcome

抗胸腺/淋巴细胞球蛋白(ATG/ALG)联合环孢

素(CsA)的免疫抑制治疗(IST)是不适于异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)的重型再生障碍性贫血(SAA)患者的首选治疗方案,可使60%~80%的患者完全或部分恢复自身造血^[1-3]。除诊断正确外,AA患者恢复自身造血还与残存造血的多寡和IST方案

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.03.002

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

有关。在标准ATG联合CsA的基础上,更强的IST方案并不能进一步提高SAA疗效^[4-5]。恢复自身造血之前,SAA患者多血小板严重减少,出血风险颇高,加之多次输注血小板易致无效输注,增加输血相关感染风险等,因此尽快恢复自身骨髓造血,提升血小板计数非常重要。

血小板生成素(TPO)是肝脏分泌的特异性调节血小板生成的造血生长因子,通过与TPO受体(MPL)结合,诱导造血干细胞向巨核细胞分化,刺激巨核细胞增殖分化,促进血小板生成和释放^[6]。Olmes等^[7]采用TPO受体激动剂eltrombopag治疗难治性SAA取得良好疗效,可改善三系造血。我们回顾性分析IST联合重组人TPO(rhTPO)治疗40例SAA患者,并与同期单用IST患者进行比较,旨在评估rhTPO能否提高SAA患者IST近期疗效并促进血小板计数的恢复。

病例和方法

一、病例

初治SAA患者80例,均为2011年1月至2012年11月间我中心住院治疗患者,其中40例接受标准IST方案和rhTPO治疗(rhTPO组),另40例仅接受ATG/ALG联合CsA的标准IST方案(对照组)。AA诊断参照1987年国际粒细胞减少和AA诊断标准,外周血检查至少符合以下3项中2项:①HGB < 100 g/L;②PLT < 50×10⁹/L;③中性粒细胞绝对计数(ANC) < 1.5×10⁹/L。AA严重程度按照Camitta标准^[8]进行分型,包括SAA及极重型AA(VSAA)。40岁以下患者常规进行彗星试验和丝裂霉素试验以排除范可尼贫血。所有患者均行染色体检查,外周血细胞流式细胞术CD55、CD59检查排除低增生性骨髓增生异常综合征(MDS)及阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)。所有患者无HLA相合同胞供者或不适于一线接受allo-HSCT治疗,且均无重要脏器严重功能异常。

二、治疗方法

1. IST方案:兔抗人ATG(rATG,法国赛诺菲公司产品)3.00~3.75 mg·kg⁻¹·d⁻¹,或猪抗人ALG(pALG,武汉生物制品所产品)20 mg·kg⁻¹·d⁻¹,静脉输注,连用5 d;同时给予泼尼松1 mg·kg⁻¹·d⁻¹预防即刻不良反应和血清病反应,2周后泼尼松开始减量,3周停药。出现血清病反应者临时给予氢化可的松100 mg/d静脉滴注。患者在ATG/ALG结束后

第1天开始口服CsA,以3 mg·kg⁻¹·d⁻¹分两次口服起始,1周后检测血药浓度,调整CsA全血谷浓度在200~400 μg/L。口服CsA至少6个月,当达到最佳血液学反应并血液学参数稳定至少3个月后开始缓慢减量,每3个月约减量1 mg·kg⁻¹·d⁻¹。CsA总疗程为2~3年。

2. 支持治疗:在外周血ANC < 0.5×10⁹/L时,采用G-CSF 300 μg/d皮下注射,直至ANC介于(0.5~1.0)×10⁹/L。HGB < 60 g/L、PLT < 10×10⁹/L时给予红细胞、血小板输注支持治疗。

3. rhTPO应用:结束全部ATG/ALG输注后14 d开始予rhTPO(沈阳三生制药公司产品)15 000 U,皮下注射,隔日1次,总计注射14次共28 d停药。观察记录不良反应。

三、疗效观察

自ATG/ALG治疗开始至PLT≥20×10⁹/L为脱离血小板输注时间。疗效判定参照Camitta标准^[8]略加修改。完全治疗反应(CR):脱离输血和血小板输注,HGB≥100 g/L、ANC≥1.5×10⁹/L且PLT≥100×10⁹/L;良好部分反应(GPR):脱离输血和血小板输注,未达CR但①HGB≥80 g/L、②ANC > 1.0×10⁹/L、③PLT > 50×10⁹/L至少符合两条;部分治疗反应(PR):脱离输血和血小板输注,ANC > 0.5×10⁹/L,实验室检查不再符合SAA标准而未达GPR标准;无治疗反应(NR):未达PR标准。我们定义CR+GPR+PR为血液学反应,CR+GPR为良好血液学反应。

四、随访

采用入院复查及电话进行随访,IST后定期复查外周血和骨髓细胞形态学及组织活检,观察患者的血常规、是否依赖血制品输注及生存状况,评估血液学反应。随访截止日期为2014年9月30日,中位随访时间rhTPO组为665(124~974)d,对照组为635(127~1 385)d。总生存(OS)时间定义为从治疗开始到随访截止日期或死亡的时间。

五、统计学处理

使用SPSS 19.0软件进行统计学分析,各组患者临床特征比较采用非参数秩和检验,近期疗效比较采用卡方检验,多因素分析用Logistic回归分析,OS分析应用Kaplan-Meier分析。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者基本特征:患者基本临床特征见表1。

rhTPO组患者40例,男22例,女18例,中位年龄34(18~60)岁,SAA 31例(77.5%),VSAA 9例(22.5%)。AA诊断至开始IST中位间隔时间为100(21~8156)d。对照组患者40例,男26例,女14例,中位年龄27(18~68)岁,SAA 24例(60.0%),VSAA 16例(40.0%)。两组患者各临床特征比较差异均无统计学意义。

2. 近期疗效:80例患者无一例早期死亡,均能评价近期疗效。IST治疗后3个月,rhTPO组患者CR 1例、GPR 6例、PR 23例、NR 10例,血液学反应率为75.0%(40例中30例),其中良好血液学反应率为17.5%;对照组CR 0例,GPR 1例,PR 19例,NR 20例,血液学反应率为50.0%(40例中20例),其中良好血液学反应率为2.5%。rhTPO组血液学反应率和良好血液学反应率均明显高于对照组(P 值分别为0.022、0.025)。

IST治疗后6个月,rhTPO组CR 7例、GPR 11例、PR 13例、NR 9例,血液学反应率为77.5%(40例中31例),其中良好血液学反应率为45.0%;对照组CR 5例、GPR 4例、PR 14例、NR 17例,血液学总反应率为57.5%(40例中23例),其中良好血液学反应

率为22.5%。rhTPO组患者血液学反应率与对照组比较差异无统计学意义($P=0.058$),但良好血液学反应率明显高于对照组($P=0.033$)。

多因素分析显示性别、年龄、治疗前时间、使用ATG种类及治疗前血常规均不影响疗效,而应用rhTPO为影响3个月疗效的独立预后因素($P=0.040$);治疗前Ret为影响6个月疗效的独立预后因素($P=0.043$)(表2)。

3. 血小板造血恢复情况:rhTPO组患者脱离血小板输注中位时间为33(0~90)d,对照组为53(0~75)d,差异有统计学意义($P=0.019$)。IST后3个月内rhTPO组脱离血小板输注患者占80.0%(40例中32例),明显高于对照组的50%(40例中20例);血小板输注中位数为5(0~27)治疗量,明显低于对照组的9(0~24)治疗量,差异均有统计学意义(P 值分别为0.005、0.001)。IST后3个月rhTPO组患者PLT中位数为29(4~95) $\times 10^9/L$,明显高于对照组的15(5~94) $\times 10^9/L$,差异有统计学意义($P=0.006$)。

4. 生存分析:两组患者预期3年OS率分别为100.0%和91.0%,差异无统计学意义($P=0.276$)(图1)。

表1 80例初治重型/极重型再生障碍性贫血(SAA/VSAA)患者临床特征

| 临床特征 | rhTPO组(40例) | 对照组(40例) | P 值 |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-------|
| 年龄(岁) | 34(18~60) | 27(18~68) | 0.104 |
| 性别(例,男/女) | 22/18 | 26/14 | 0.361 |
| 严重程度分型(例,SAA/VSAA) | 31/9 | 24/16 | 0.091 |
| 免疫抑制剂(例,ATG/ALG) | 13/27 | 18/22 | 0.251 |
| 诊断至IST间隔时间[d, M (范围)] | 100(21~8156) | 33(22~2580) | 0.220 |
| HGB[g/L, M (范围)] | 68(28~99) | 67(29~105) | 0.424 |
| PLT[$\times 10^9/L$, M (范围)] | 13(4~26) | 12(3~20) | 0.401 |
| Ret[$\times 10^9/L$, M (范围)] | 11.3(3.4~50.6) | 9.4(2.2~42.9) | 0.342 |
| ANC[$\times 10^9/L$, M (范围)] | 0.47(0.03~2.79) | 0.30(0.01~3.77) | 0.057 |

注:rhTPO:重组人血小板生成素;ATG/ALG:抗胸腺/淋巴细胞球蛋白;IST:免疫抑制治疗;Ret:网织红细胞绝对计数;ANC:中性粒细胞绝对计数

表2 多因素分析重型再生障碍性贫血患者免疫抑制治疗近期疗效预后因素

| 影响因素 | 3个月疗效 | | | | 6个月疗效 | | | |
|-----------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| | B 值 | 标准误 | Wald值 | P 值 | B 值 | 标准误 | Wald值 | P 值 |
| 性别 | 0.119 | 0.591 | 0.041 | 0.840 | -0.254 | 0.621 | 0.167 | 0.683 |
| 年龄(岁) | -0.001 | 0.021 | 0.002 | 0.968 | -0.017 | 0.023 | 0.538 | 0.463 |
| ATG/ALG | -0.448 | 0.519 | 0.745 | 0.388 | -0.045 | 0.550 | 0.007 | 0.934 |
| HGB | 0.014 | 0.019 | 0.516 | 0.473 | 0.013 | 0.020 | 0.419 | 0.517 |
| PLT | -0.032 | 0.052 | 0.375 | 0.540 | -0.061 | 0.056 | 1.191 | 0.275 |
| ANC | -0.229 | 0.512 | 0.200 | 0.655 | 0.272 | 0.533 | 0.261 | 0.609 |
| Ret | -0.036 | 0.028 | 1.697 | 0.193 | -0.070 | 0.035 | 4.090 | 0.043 |
| 是否应用rhTPO | 1.036 | 0.505 | 4.207 | 0.040 | 0.901 | 0.530 | 2.897 | 0.089 |

注:ATG/ALG:抗胸腺/淋巴细胞球蛋白;ANC:中性粒细胞绝对计数;Ret:网织红细胞绝对计数;rhTPO:重组人血小板生成素

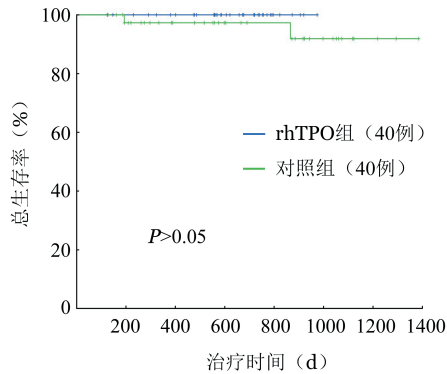


图1 标准免疫抑制治疗联合重组人血小板生成素治疗组(rhTPO组)与对照组患者生存分析

5. 不良反应:rhTPO组患者耐受良好,除注射局部轻微疼痛外无其他明显不良反应。rhTPO组和对照组均有少数患者发生肝功能异常、发热、骨关节痛等,临床评价这些不良反应与应用rhTPO无关,而与AA疾病本身及ATG、CsA的应用更为相关。rhTPO组患者无一例发生血栓和栓塞,IST后3个月和6个月骨髓组织活检均未发现网状纤维和胶原纤维增生。

讨 论

rhTPO是血小板生成最重要的调节因子。rhTPO和糖基化基因重组人巨核细胞生长分化因子(PEG-rhMGDF)在肉瘤、肺癌和其他实体瘤中均显示能够提高化疗后骨髓造血抑制患者血小板最低值、缩短血小板减少的持续时间并减少血小板输注量^[9-12]。体外研究表明,rhTPO单独或联合其他造血因子作用于AA骨髓造血细胞可明显增加巨核细胞数目^[13]。而rhTPO用于AA患者,特别是SAA患者的临床研究鲜有报告。本研究结果显示rhTPO能够提高SAA患者IST后近期疗效、缩短血小板输注依赖时间、减少血小板输注量,与上述化疗诱导的骨髓造血抑制患者结果相似。

rhTPO与MPL结合激活JAK与STAT信号传导途径,在细胞增殖、分化和凋亡过程中起着重要作用。MPL广泛存在于各种造血组织细胞,包括造血干细胞、巨核细胞集落形成细胞(Meg-CFC)、髓系和红系祖细胞、各成熟阶段巨核细胞以及成熟血小板。理论上rhTPO治疗AA患者应不仅限于提高血小板反应率,还应能够提高红细胞和粒细胞反应率。Letian等^[14]报告1例46岁SAA患者,经ATG+CsA治疗1年后仍未显现治疗反应,再以rhTPO皮

下注射治疗,每日1次,共14次,6周后患者开始出现血液学反应,1年后三系明显升高,HGB>100g/L,提示rhTPO治疗SAA可能有效。美国国立卫生研究院(NIH)应用二代TPO受体激动剂eltrombopag治疗难治性AA患者取得明显疗效,25例患者中11例获得血液学反应,9例患者脱离血小板输注依赖,PLT平均增加 $40 \times 10^9/L$,6例红细胞造血明显改善,9例中性粒细胞显著升高^[7]。在新近延伸临床试验结果报告中,43例难治性AA患者中17例获得血液学反应,中位随访12个月,7例患者获得三系血液学反应^[15]。我们在IST基础上加用rhTPO治疗40例初治SAA/VSAA患者,治疗后3个月血液学反应率和良好血液学反应率均高于单纯IST的对照组。表明rhTPO用于初治SAA/VSAA患者与在难治性AA患者使用eltrombopag疗效一致,可获得更多、更快的三系血液学反应。

正常生理状态下,肝脏以相对恒定的速率生成和向循环血液释放TPO,并随即很快由血小板和巨核细胞将其清除,使其在血液循环中维持基础水平^[16]。迄今未发现任何细胞因子或临床状况可促进TPO mRNA或TPO蛋白表达^[17]。SAA/VSAA患者骨髓残存造血极度减低,外周血三系血细胞明显减少,TPO清除缓慢,故内源性TPO水平明显升高^[18]。我们之前的研究结果显示造血衰竭越严重内源性血清TPO水平越高^[19]。但是在已经明显增高的内源性TPO水平基础上加用超生理剂量外源性TPO激动剂缘何能改善AA患者三系骨髓造血,尚须进一步研究加以明确。

我们的结果表明,rhTPO用于AA患者即刻不良反应和近期不良反应轻微,与NIH应用eltrombopag治疗难治性AA结果一致,随访期间未发现骨髓造血组织纤维增生。尽管研究期间无一例患者发生克隆性血液学异常演变,但鉴于本研究为回顾性分析,且随访时间较短,样本量相对较小,应进一步开展随机对照临床试验以验证IST联合rhTPO治疗SAA/VSAA的疗效和安全性。

参 考 文 献

- [1] Rosenfeld S, Follmann D, Nunez O, et al. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: association between hematologic response and long-term outcome[J]. JAMA, 2003, 289(9): 1130-1135.
- [2] Socie G, Mary JY, Schrezenmeier H, et al. Granulocyte-stimulating factor and severe aplastic anemia: a survey by the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) [J].

- Blood, 2007, 109(7):2794-2796.
- [3] Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)[J]. Haematologica, 2007, 92(1): 11-18.
- [4] Scheinberg P, Nunez O, Wu C, et al. Treatment of severe aplastic anaemia with combined immunosuppression: anti-thymocyte globulin, ciclosporin and mycophenolate mofetil [J]. Br J Haematol, 2006, 133(6):606-611.
- [5] Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, et al. Treatment of severe aplastic anemia with a combination of horse antithymocyte globulin and cyclosporine, with or without sirolimus: a prospective randomized study[J]. Haematologica, 2009, 94(3): 348-354.
- [6] Kuter DJ, Beeler DL, Rosenberg RD. The purification of megapoietin: a physiological regulator of megakaryocyte growth and platelet production[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91(23):11104-11108.
- [7] Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia [J]. N Engl J Med, 2012, 367(1):11-19.
- [8] Camitta BM, Rapoport JM, Parkman R, et al. Selection of patients for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia[J]. Blood, 1975, 45(3):355-363.
- [9] Vadhan-Raj S, Murray LJ, Bueso-Ramos C, et al. Stimulation of megakaryocyte and platelet production by a single dose of recombinant human thrombopoietin in patients with cancer [J]. Ann Intern Med, 1997, 126(9):673-681.
- [10] Fanucchi M, Glaspy J, Crawford J, et al. Effects of polyethylene glycol-conjugated recombinant human megakaryocyte growth and development factor on platelet counts after chemotherapy for lung cancer[J]. N Engl J Med, 1997, 336(6):404-409.
- [11] Vadhan-Raj S. Clinical experience with recombinant human thrombopoietin in chemotherapy-induced thrombocytopenia [J]. Semin Hematol, 2000, 37(2 Suppl 4):28-34.
- [12] Levy B, Arnason JE, Bussel JB. The use of second-generation thrombopoietic agents for chemotherapy-induced thrombocytopenia[J]. Curr Opin Oncol, 2008, 20(6):690-696.
- [13] Brereton ML, Adams JA, Briggs M, et al. The in vitro effect of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEGrHuMGDF) on megakaryopoiesis in patients with aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 1999, 104(1): 119-126.
- [14] Matsuda A, Misumi M, Ishikawa M, et al. Long-term improvement of anaemia in a patient with aplastic anaemia by short-term administration of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor [J]. Br J Haematol, 2004, 125(6):818-819.
- [15] Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, et al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug [J]. Blood, 2014, 123(12):1818-1825.
- [16] Yang C, Li YC, Kuter DJ. The physiological response of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to thrombocytopenia in the rat[J]. Br J Haematol, 1999, 105(2):478-485.
- [17] Stoffel R, Wiestner A, Skoda RC. Thrombopoietin in thrombocytopenic mice: evidence against regulation at the mRNA level and for a direct regulatory role of platelets[J]. Blood, 1996, 87(2):567-573.
- [18] Emmons RV, Reid DM, Cohen RL, et al. Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction [J]. Blood, 1996, 87(10):4068-4071.
- [19] 杨文睿, 武志洁, 赵馨, 等. 骨髓残存造血评估指标: 重型再生障碍性贫血免疫抑制治疗疗效的重要预后因素[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(12):1095-1099.

(收稿日期:2014-10-16)

(本文编辑:刘爽)

本刊入围“百种中国杰出学术期刊”

根据中国科学技术信息研究所2013年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)统计及中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价结果,本刊荣获2013年“百种中国杰出学术期刊”和“第3届中国精品科技期刊和国际化精品科技期刊”,即“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”。

据《中国科技期刊引证报告》(2014年版)显示,本刊综合评价总分位居本学科第一位,核心总被引频次为1 510,核心影响因子0.837,较2012年度明显增长。

中国科学技术信息研究所每年公布中国科技论文与引文数据库收录的中国科技论文统计源期刊的20余个科学计量指标,在此基础上,评选百种中国杰出学术期刊。评审过程公开、透明,评审结果公正、客观,入围期刊代表中国科技期刊的最高水平。

本刊编辑部