

61 例 EBV 相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症患者的疗效及预后分析

曾祥宗 魏娜 王旖旎 王晶石 张嘉 吴林
黄文秋 高卓 裴瑞君 陈建行 金志丽 王昭

【摘要】 目的 通过对 EBV 相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(EBV-HLH)患者的疗效及生存状况的分析,探讨影响 EBV-HLH 患者预后的危险因素。**方法** 对 2008 年 1 月至 2014 年 7 月诊治的 61 例 EBV-HLH 患者的临床资料进行回顾性分析,建立 COX 模型对可能影响患者预后的相关危险因素进行单因素和多因素分析。**结果** 同期诊治的 HLH 患者共 246 例,伴 EBV 感染者 102 例,其中 EBV-HLH 61 例,淋巴瘤相关 HLH 36 例,原发性 HLH 5 例。61 例 EBV-HLH 患者中,男 40 例,女 21 例,男、女比例为 1.9:1,中位发病年龄 28(12~78)岁,中位随访时间 3(0.5~28)个月,患者 1、3、6、12 个月的总体生存(OS)率分别为 65.6%、47.5%、32.4%、25.0%。确诊 HLH 4 周内未使用依托泊苷治疗者 12 例,HLH-94 方案治疗者 33 例,HLH-2004 方案治疗者 16 例,三组患者的治疗有效率分别为 33.3%、51.5%、43.8%,差异无统计学意义($P=0.401$);未使用依托泊苷治疗组和 HLH-94/HLH-2004 方案治疗组患者的 OS 率差异有统计学意义($P=0.033$)。血清白蛋白水平($P=0.033$)及 EBV 是否转阴($P=0.010$)是影响患者预后的独立危险因素。**结论** EBV-HLH 患者病情凶险,预后差,及早应用以依托泊苷为基础的免疫化疗可以改善患者的生存情况。血清白蛋白水平、EBV 是否转阴是影响 EBV-HLH 患者预后的独立危险因素。

【关键词】 疱疹病毒 4 型,人; 淋巴组织细胞增多症,嗜血细胞性; 治疗结果; 预后

Treatment outcomes and prognostic analysis of 61 Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis Zeng Xiangzong, Wei Na, Wang Yi'ni, Wang Jingshi, Zhang Jia, Wu Lin, Huang Wenqiu, Gao Zhuo, Pei Ruijun, Chen Jianhang, Jin Zhili, Wang Zhao. Department of Hematology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China
Corresponding author: Wang Zhao, Email: bjyxyxnk@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the outcomes, survival status, and the prognostic factors of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (EBV-HLH) patients. **Methods** A retrospective study was carried out to analyze the clinical data of 61 EBV-HLH cases, from January 2008 to July 2014. Prognostic factors were analyzed through COX model (single factor and multiple factors). **Results** A total of 246 patients with HLH were diagnosed, among which 102 cases were with EBV infection (including 61 EBV-HLH, 36 lymphoma associated HLH, 5 primary HLH). Among the 61 cases, 40 were male and 21 were female, with a ration of 1.9:1. The median age was 28 years (range, 12-78). 1, 3, 6 and 12-month overall survival rates of 61 EBV-HLH were 65.6%, 47.5%, 32.4%, and 25.0%, respectively. The median follow-up time was 3 (0.5-28) months. 12 patients didn't use etoposide within 4 weeks after diagnosis, while HLH-94 protocol was used in 33 patients and HLH-2004 protocol was used in 16 patients. Response rates of these three groups were 33.3%, 51.5%, and 43.8%, respectively ($P=0.401$). There was statistically difference between the group without etoposide and the HLH-94/HLH-2004 group in the overall survival rate ($P=0.033$). Serum albumin level ($P=0.033$) and whether EBV could become negative ($P=0.010$) were independent predictors for EBV-HLH. **Conclusions** EBV-HLH patients have severe clinical feature and poor prognosis. Early application of immune chemotherapy based on etoposide

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.06.013

基金项目:国家自然科学基金(81270653);国家自然科学基金青年科学基金(81401627);北京自然科学基金(7132087);北京市科技计划首都市民健康项目培育(Z131100006813041);北京市优秀人才资助项目

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院血液科

通信作者:王昭,Email:bjyxyxnk@163.com

can improve survival. Serum albumin level and whether EBV can become negative are independent prognostic factors for survival.

【Key words】 Herpesvirus 4, human; Lymphohistiocytosis, hemophagocytic; Treatment outcome; Prognosis

噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH)是一组以发热、肝脾肿大、全血细胞减少以及骨髓、肝、脾、淋巴结组织发现噬血现象为主要临床特征的综合征。HLH分为原发性和获得性两大类:原发性HLH是一种常染色体隐性遗传病,对患者进行基因筛查可发现HLH相关基因的突变;获得性HLH常继发于感染、恶性淋巴瘤及自身免疫性疾病等,在感染相关HLH中,EBV感染相关HLH(EBV-HLH)占首位^[1]。EBV-HLH患者病情凶险,有文献报道EBV-HLH患者的总体生存(OS)率甚至与恶性淋巴瘤相关HLH相似^[2]。我们对61例EBV-HLH患者的临床资料进行总结,分析其临床特征、治疗及预后情况,旨在提高对EBV-HLH的诊治水平。

病例和方法

1. 病例:2008年1月至2014年7月我院收治HLH患者246例,伴EBV感染者102例,其中EBV-HLH者61例,淋巴瘤相关HLH 36例,原发性HLH 5例。61例EBV-HLH患者均符合HLH-2004诊断标准^[3],并除外基因检测提示原发HLH相关基因突变及合并恶性肿瘤或自身免疫性疾病的病例,EBV感染诊断标准参考Imashuku提出的诊断标准^[4]:通过外周血或组织中EBV-DNA拷贝数明显增高或在组织或外周血中检测出含EBV编码小RNA(EBER)的细胞来确定。本研究将有活检病理学检查证实为淋巴瘤者排除,而反复活检病理学检查均未见淋巴瘤证据者归为EBV-HLH,这种分类有可能会将少数淋巴瘤患者归为EBV-HLH,从而造成统计结果的偏差。

2. 疗效评价标准:参照美国HLH协作组制订的疗效评价标准,将以下6项指标作为临床疗效评价的参考依据:①可溶性CD25(sCD25)水平;②血清铁蛋白水平;③血细胞计数;④三酰甘油水平;⑤噬血现象;⑥意识状况(有中枢神经系统症状的HLH患者)。上述所有指标均恢复正常定义为完全缓解(CR);≥2项症状/实验室指标改善至少25%以上者定义为部分缓解(PR),其中各单项指标还需符合以

下特定标准:①sCD25下降1.5倍以上;②铁蛋白和三酰甘油下降水平>25%;③不输血情况下:中性粒细胞计数 $<0.5 \times 10^9/L$ 者,需增加1倍并 $>0.5 \times 10^9/L$;中性粒细胞计数 $(0.5 \sim 2.0) \times 10^9/L$ 者,需增加1倍并恢复正常;④ALT $>400 U/L$ 者,需下降>50%。

3. 随访:患者确诊HLH后,部分在我院血液科门诊或病房接受随访,部分患者通过电话接受随访,患者死亡,则随访结束,如存活,则随访时间截止至2015年1月,中位随访时间3(0.5~28)个月,共有6例患者失访,失访率为9.84%。

4. 统计学处理:应用SPSS19.0软件进行统计学分析,计数资料采用卡方检验;Kaplan-Meier法估计OS率,对数秩检验(Log-rank检验)比较不同组间生存曲线是否有差异,对可能影响EBV-HLH患者预后相关危险因素建立COX模型进行单因素和多因素分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般临床资料:61例EBV-HLH患者中,男40例,女21例,男、女比例为1.9:1,中位发病年龄28(12~78)岁,中位随访时间3(0.5~28)个月,患者1、3、6、12个月的总体生存(OS)率分别为65.6%、47.5%、32.4%、25.0%。

2. 实验室检查资料:EBV-DNA检测结果显示61例患者中位病毒载量为 9.45×10^5 ($5.80 \times 10^3 \sim 6.42 \times 10^8$)拷贝/ml。61例患者中46例有骨髓病理活检结果,荧光原位杂交法检测结果示其中14例EBER阳性。患者初诊时实验室检查结果:WBC $<4.0 \times 10^9/L$ 者占91.8%(56/61),HGB $<90 g/L$ 者占67.2%(41/61),PLT $<100 \times 10^9/L$ 者占85.2%(52/61),ALT $>40 U/L$ 者占83.6%(51/61),AST $>40 U/L$ 者占85.2%(52/61), γ -谷氨酰基转移酶(GGT) $>55 U/L$ 者占74.6%(44/59),ALP $>150 U/L$ 者占59.3%(35/59),LDH $>190 U/L$ 者占91.8%(56/61),总胆红素(TBIL) $>17.1 \mu mol/L$ 者占70.5%(43/61),白蛋白(ALB) $<35 g/L$ 者占83.6%(51/61),三酰甘油 $>3 mmol/L$ 者占53.4%(31/58),PT延长 $>3 s$ 者占32.8%(19/58),APTT延长 $>10 s$ 者占63.8%(37/58),纤维

蛋白原(Fbg) <1.5 g/L者占53.3%(32/60),铁蛋白 >500 μ g/L者占94.9%(56/59),NK细胞活性下降者占91.3%(42/46),sCD25升高者占94.7%(36/38),有噬血现象者占83.6%(51/61)。

3. 疗效及预后分析:患者确诊HLH 4周内的主要治疗方案及确诊4周时(如患者4周内死亡则以最后1次检查指标进行评估)疗效评估如下:①未使用依托泊苷治疗者12例(9例接受抗病毒治疗),CR 1例,PR 3例,无反应8例。②接受HLH-94方案治疗者33例(15例接受抗病毒治疗),CR 5例,PR 12例,无反应16例。③接受HLH-2004方案治疗者16例(12例患者接受抗病毒治疗),CR 1例,PR 6例,无反应9例。上述抗病毒治疗定义为使用阿昔洛韦0.25 g每8 h 1次、更昔洛韦0.25 g每12 h 1次、膦甲酸钠3 g每12 h 1次中至少一种且疗程 ≥ 1 周。三组患者的治疗有效(CR+PR)率分别为33.3%、51.5%、43.8%,差异无统计学意义($\chi^2=1.212$, $P=0.401$)。确诊4周内未使用依托泊苷治疗组和HLH-94/HLH-2004方案治疗组的OS率差异有统计学意义($P=0.033$)。HLH-94和HLH-2004方案治疗组患者的OS率差异无统计学意义($P=0.261$)。

4. 影响EBV-HLH患者预后的危险因素分析:对本组EBV-HLH患者进行随访,以死亡为结局事件,将患者的预后分为完全数据和截尾数据,构建COX模型对影响EBV-HLH预后的危险因素进行单因素及多因素分析。用向前逐步(条件LR)法进行单因素COX分析,将性别、初诊时年龄、WBC、HBG、PLT、TG、ALT、AST、TBIL、LDH、ALB、Fbg、NK细胞活性、sCD25、PT是否延长 >3 s、APTT是否延长 >10 s、EBV-DNA拷贝数、EBV是否转阴(连续3次EBV-DNA拷贝数均低于检测下限定义为EBV转阴)及确诊4周时对治疗是否有反应等变量纳入分析中,结果显示血清白蛋白水平、对治疗的反应及EBV是否转阴是影响预后的危险因素。进一步将以上变量引入COX模型进行多因素分析,结果显示白蛋白水平及EBV是否转阴是影响患者预后的独立危险因素(表1)。

Kaplan-Meier法比较结果显示EBV持续阳性组(51例)及EBV转阴组(10例)患者的OS率差异有统计学意义($P<0.001$)(图1)。

讨 论

HLH的本质是由不受控制的免疫反应导致的炎症因子风暴,是一种罕见但危及患者生命的疾

表1 EBV相关噬血细胞性淋巴组织细胞增多症患者预后危险因素的COX单因素和多因素分析

影响因素	B	SE	Wald	P值	Exp (95%可信区间)
单因素分析					
白蛋白水平	-0.089	0.029	9.421	0.002	0.915(0.865~0.968)
对治疗的反应	-1.164	0.344	11.475	0.001	0.312(0.159~0.612)
EBV是否转阴	-2.251	0.734	9.390	0.002	0.105(0.025~0.444)
多因素分析					
白蛋白水平	-0.064	0.030	4.560	0.033	0.938(0.884~0.995)
EBV是否转阴	-1.983	0.765	6.715	0.010	0.138(0.031~0.617)

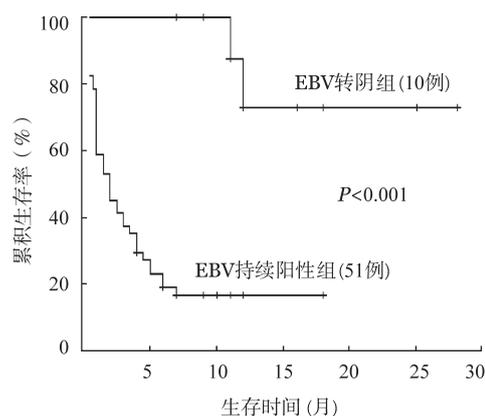


图1 EBV持续阳性组及EBV转阴组患者总体生存比较

病。国外一项多中心回顾性分析资料显示成人HLH的总体病死率为42%(中位随访时间为4.3个月),1个月内的早期病死率高达20.45%^[5]。HLH患者的原发病不同其预后也有着很大的差异,但是EBV-HLH患者的预后明显较原发性HLH及自身免疫性疾病相关HLH者差^[2],本组资料显示患者的1年OS率也仅为25.0%。

HLH患者存在细胞毒性淋巴细胞和抗原提呈细胞之间负反馈机制上的缺陷,导致T细胞的持续病理性活化,而依托泊苷可以选择性清除病理活化的T细胞,但不影响非活化的淋巴细胞,是HLH治疗的首选和关键性治疗药物^[6]。我们的资料显示,尽管是否采用标准的HLH治疗方案(HLH-94或HLH-04方案)进行治疗对患者确诊4周时的疗效差异不大,但是采用标准治疗方案的患者OS率明显高于未使用依托泊苷者,因此我们认为以依托泊苷为基础的免疫化疗可以改善患者的生存情况。Imashuku等^[7]的研究也显示诊断4周内接受含依托泊苷的方案治疗能够提高患者的长期生存率,而是否加入环孢素进行诱导治疗对患者4周时的疗效及OS率的影响差异均无统计学意义,因此对于这类患

者,HLH-2004方案并未显示出优于HLH-94方案的疗效。

Henter等^[8]的研究结果提示有>30%的患者对HLH-94方案无治疗反应。对于对标准治疗方案无反应的难治性HLH患者,目前尚无统一的二线治疗方案。本组患者进行了包括大剂量甲泼尼龙冲击治疗、CHOP(阿霉素、环磷酰胺、长春新碱、泼尼松)样方案、脾切除、DEP(脂质体阿霉素、依托泊苷和大剂量甲泼尼龙)方案、骨髓移植等挽救治疗。但遗憾的是除了2例疾病缓解期行移植以及EBV转阴的患者外,OS并未得到明显改善。尽管单纯DEP方案未能明显延长EBV-HLH患者生存期,但有研究表明对于接受HLH-94方案治疗后疾病未缓解的HLH患者,采用DEP方案可以使78.1%的患者获得PR及其以上的疗效,其可能成为诱导治疗向病因治疗过渡的桥梁^[9]。

有文献报道在成人HLH患者中,EBV-DNA拷贝数<1 000拷贝/ml时,1年OS率为(73.3±11.4)%,但当EBV-DNA拷贝数>1 000拷贝/ml,1年OS率仅为(16.9±10.9)%^[10]。而我们在本研究中则发现EBV是否转阴是影响患者预后的独立危险因素,EBV转阴组患者的OS率明显优于EBV持续阳性者。患者EBV转阴的确切机制目前尚不十分清楚,但我们观察到在EBV转阴组患者中,有2例患者为进行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后转阴的,而且患者目前仍然存活(距确诊HLH的时间分别为28和16个月),提示通过骨髓移植进行免疫重建可以使患者重新获得清除EBV的能力,从而延长生存期甚至达到治愈HLH的目的。日本的一项研究也发现造血干细胞移植可以使EBV-HLH患者的10年OS率达到85.7%^[11]。本研究中共有5例患者进行allo-HSCT,其中在4周病情评估为无反应而行移植的2例患者均在确诊3个月左右死亡,1例患者出现疾病复发,病情未达CR而行移植,于确诊7个月时死亡,另有2例患者在病情平稳期进行移植,至今仍存活。因此,我们认为移植时HLH未能获得缓解或持续活动会显著降低移植后的OS率。近来已有研究发现使用DEP方案治疗成人难治性HLH可使患者获得较高的缓解率,因此DEP方案有望成为难治性EBV-HLH患者获得病情缓解进而行骨髓移植的有效挽救治疗方案。

EBV感染不仅是获得性HLH的潜在病因,还与多种类型淋巴瘤密切相关,并且可以作为原发性

HLH的触发因素。因此,对于临床怀疑EBV相关HLH而治疗效果欠佳、EBV-DNA持续阳性的患者应进一步排查淋巴瘤及原发性HLH的可能。但是由于EBV-HLH患者病死率很高,而病情平稳时行allo-HSCT可以使患者达到长期生存的目的,因此,不管患者是否有淋巴瘤及原发性HLH相关基因缺陷的证据,对于难治复发、EBV-DNA持续阳性的患者本身即具有移植指征。

参考文献

- [1] Maakaroun NR, Moanna A, Jacob JT, et al. Viral infections associated with haemophagocytic syndrome [J]. Rev Med Virol, 2010, 20(2): 93-105.
- [2] 李硕,王晶石,王旖旎,等. 147例噬血细胞综合征病因及预后分析[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(7): 559-563.
- [3] Henter JI, Home A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Blood Cancer, 2007, 48(2): 124-131.
- [4] Imashuku S. Clinical features and treatment strategies of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002, 44(3): 259-272.
- [5] Rivière S, Galicier L, Coppo P, et al. Reactive hemophagocytic syndrome in adults: a retrospective analysis of 162 patients [J]. Am J Med, 2014, 127(11): 1118-1125.
- [6] Johnson TS, Terrell CE, Millen SH, et al. Etoposide selectively ablates activated T cells to control the immunoregulatory disorder hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. J Immunol, 2014, 192(1): 84-91.
- [7] Imashuku S, Kuriyama K, Sakai R, et al. Treatment of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (EBV-HLH) in young adults: a report from the HLH study center [J]. Med Pediatr Oncol, 2003, 41(2): 103-109.
- [8] Henter JI, Samuelsson-Home A, Aricó M, et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation [J]. Blood, 2002, 100(7): 2367-2373.
- [9] 王旖旎,黄文秋,魏娜,等. DEP方案挽救治疗成人难治性噬血细胞综合征的临床研究[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(10): 901-904.
- [10] Ahn JS, Rew SY, Shin MG, et al. Clinical significance of clonality and Epstein-Barr virus infection in adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Am J Hematol, 2010, 85(9): 719-722.
- [11] Ohga S, Kudo K, Ishii E, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan [J]. Pediatr Blood Cancer, 2010, 54(2): 299-306.

(收稿日期:2015-01-26)

(本文编辑:刘志红)