

17例原发性冷凝集素病患者的临床特征与转归

吴颜廷 曹欣欣 蔡昊 张路 周道斌 李剑

【摘要】 目的 探讨17例原发性冷凝集素病(CAD)患者的临床特征、治疗及转归。方法 回顾性分析2007年4月至2016年10月北京协和医院确诊的17例原发性CAD患者的临床资料、治疗和转归,并检测了其中4例患者MYD88^{L265P}突变情况。结果 17例患者中,男女比为1.1:1,中位年龄67(51~86)岁。7例伴有惰性淋巴瘤,包括3例华氏巨球蛋白血症/淋巴浆细胞淋巴瘤(WM/LPL),2例小淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病(SLL/CLL)和2例脾边缘区淋巴瘤(SMZL)。患者中位HGB为67(35~127)g/L,15例存在贫血。11例患者的冷凝集素(CA)滴度 $\geq 1:64$,中位CA滴度为1:1 024。4例行MYD88^{L265P}突变检测的患者中1例MYD88^{L265P}阳性。12例患者接受了药物治疗;7例使用糖皮质激素为基础的化疗,1例有效;5例使用利妥昔单抗为基础的免疫化疗的治疗,3例有效。1例患者失访,其余16例患者中位随访14(0.5~96)个月,中位总体生存时间尚未达到。结论 CAD的临床表现多样,CA检测是诊断CAD的关键。CAD糖皮质激素治疗效果不佳,推荐利妥昔单抗治疗。

【关键词】 贫血,溶血性,自身免疫性; 冷凝集素; 利妥昔单抗

Clinical features and prognosis of 17 patients with primary cold agglutinin disease Wu Yanyan, Cao Xinxin, Cai Hao, Zhang Lu, Zhou Daobin, Li Jian. Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730, China
Corresponding author: Li Jian, Email:lijian@pumch.cn

【Abstract】 **Objective** To explore the clinical characteristics, treatment and prognosis in 17 patients with primary cold agglutinin disease (CAD). **Methods** Clinical data, treatment and survival status of 17 patients diagnosed with primary cold agglutinin disease in Peking Union Medical College Hospital during April 2007 to October 2016 were retrospectively analyzed. The MYD88^{L265P} mutation was tested in 4 patients. **Results** The median age of 17 patients was 67 years (range, 51–86 years), and male-to female ratio was 1.1:1. Seven patients were diagnosed with indolent lymphoma, including 3 Waldenstrom macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphoma (WM/LPL), 2 small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia (SLL/CLL), and 2 splenic marginal zone lymphoma (SMZL). 15 patients experienced anemia. The median HGB level was 67 (35–127) g/L. 11 patients had cold agglutinin (CA) titers $\geq 1:64$, with median CA of 1:1 024. MYD88^{L265P} mutation was detected in 1 patient. 12 patients received drug therapy: 7 were treated with glucocorticoid-based therapy and 1 patient responded to treatment; 5 received rituximab-based therapy and 3 patients responded to treatment. With a median follow-up of 14 (0.5–96) months, the median overall survival was not reached. **Conclusion** Clinical manifestations of CAD are various, and diagnosis is dependent on CA testing. The efficacy of glucocorticoid-based therapy is limited, and rituximab is recommended for CAD treatment.

【Key words】 Anemia, hemolytic, autoimmune; Cold agglutinin; Rituximab

冷凝集素病(CAD)是一种少见的自身免疫性

溶血性贫血(AIHA),占AIHA的10%~20%^[1]。冷凝集素(CA)多为IgM型单克隆免疫球蛋白,在低于阈值温度下,CA与红细胞膜抗原结合,激活补体途径,而当红细胞循环到高于阈值温度的中央部位时,红细胞与CA解离,结合了C3b的红细胞被网状内皮系统吞噬并发生血管外溶血^[2]。CAD发病率低,国内外研究较少,目前尚缺乏标准治疗方法。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.09.011

作者单位:100730 中国医学科学院、北京协和医学院北京协和医院血液内科

通信作者:李剑,Email:lijian@pumch.cn

本研究我们回顾性分析了本院17例原发性CAD的临床表现、治疗和转归,以提高对此类疾病的认识。

病例与方法

1. 病例:回顾性分析2007年4月至2016年10月本院确诊的17例原发性CAD患者的临床资料,所有患者均符合以下原发性CAD诊断标准^[3]:①有溶血性贫血表现;②CA滴度 $\geq 1:64$ 或Coombs试验(+)且C3d(+);③排除惰性B细胞非霍奇金淋巴瘤[华氏巨球蛋白血症/淋巴浆细胞样淋巴瘤(WM/LPL)、小淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病(SLL/CLL)、脾边缘区淋巴瘤(SMZL)]以外的恶性肿瘤或感染。

2. 临床资料收集:收集患者治疗前的临床资料:包括起病症状、临床表现、血常规、网织红细胞比值(Ret)、肝肾功能、血清免疫固定电泳(IFE)、直接Coombs试验、CA滴度。行骨髓涂片、骨髓活检及骨髓免疫分型确定是否存在其他血液系统恶性疾病。

根据HGB将贫血分为4级:(1)轻度贫血:90 g/L < HGB < 正常低限(成年男性120 g/L,成年女性110 g/L);(2)中度贫血:60 g/L < HGB \leq 90 g/L;(3)重度贫血:30 g/L < HGB \leq 60 g/L;(4)极重度贫血:HGB \leq 30 g/L。

3. MYD88^{L265P}突变检测:收集患者骨髓、外周血标本或石蜡包埋(FFPE)淋巴结组织。新鲜骨髓、外周血标本经CD19单抗磁珠分选。从分选后的CD19⁺细胞或FFPE组织切片中提取DNA,采用实时荧光定量等位基因特异性聚合酶链反应(Real-time AS PCR)检测MYD88^{L265P}突变,参考文献[4]。

4. 治疗:药物治疗包括:以泼尼松为基础的治疗:泼尼松单药治疗,泼尼松/甲泼尼龙联合苯丁酸氮芥,泼尼松/甲泼尼龙联合环磷酰胺;以利妥昔单抗(R)为基础的治疗:R联合泼尼松、苯丁酸氮芥,R联合地塞米松、环磷酰胺,R-CHOP(R+环磷酰胺+阿霉素类药物+长春新碱+泼尼松),R-CVP(R+环磷酰胺+长春新碱+泼尼松)。

5. 疗效标准:根据Berensten等^[3]的文献将疗效定义为:①完全缓解(CR):无贫血、无溶血证据;无CAD的其他临床表现,血清单克隆免疫球蛋白阴性,骨髓病理、免疫组化及流式细胞术判定无淋巴细胞增殖性疾病。②部分缓解(PR):HGB回升至少超过20 g/L或恢复至正常,血清IgM水平较治疗

前下降50%以上或恢复至正常,临床症状缓解,不需要输血。③无效(NR):任何指标不满足CR或PR疗效标准。将达到CR和PR判定为治疗有效。治疗开始后3个月进行疗效评估。若疗效未达到PR考虑更改治疗方案。

6. 随访:随访时间截止到2016年10月31日,中位随访14(0.5~96)个月。1例患者失访。总生存(OS)时间定义为确诊至患者死亡或末次随访时间。

结 果

1. 一般临床资料:17例原发性CAD患者中,男9例,女8例,中位年龄为67(51~86)岁。其中7例伴有惰性淋巴瘤,包括3例WM/LPL、2例SLL/CLL和2例SMZL。

2. 临床症状和实验室检查:14例患者有遇冷后的四肢末端、耳垂和嘴唇青紫发绀等表现;10例有胸闷、憋气、乏力等贫血症状;4例有黄疸和酱油色尿等溶血表现。1例患者无明显症状。

中位HGB为67(35~127)g/L,中位Ret为5.93%(1.20%~12.00%)。15例患者存在贫血,其中轻度贫血1例,中度贫血8例,重度贫血6例;8例患者需接受输血治疗。中位血清LDH为411(162~1 013)U/L,中位间接胆红素(IBIL)为37.4(5.8~70.0) μ mol/L。17例患者直接Coombs试验(+),其中16例C3d(+),1例为单纯IgG(+).11例患者的CA滴度 $\geq 1:64$,中位CA滴度为1:1 024,1例患者CA滴度为1:16。15例患者的血清免疫固定电泳阳性,其中14例为IgM κ ,1例为IgG λ 。4例患者进行了MYD88^{L265P}基因突变检测,其中3例阴性,1例存在MYD88^{L265P}突变,为SMZL患者(表1)。

3. 疗效与转归:12例患者接受了药物治疗:7例接受糖皮质激素为基础的化疗,1例有效,达CR。5例接受利妥昔单抗为基础的免疫化疗的治疗,3例有效,均为PR。未接受治疗的5例患者中,2例患者保暖有效,1例SLL/CLL患者诊断后早期死亡未治疗,2例患者放弃治疗。

16例有随访资料的患者截至随访终点,6例死亡,其中1例死于原发病进展、3例死于感染、1例死于其他肿瘤、1例死亡原因不明。中位OS时间未达到(图1)。

讨 论

CAD是一种少见的冷抗体型AIHA。可将

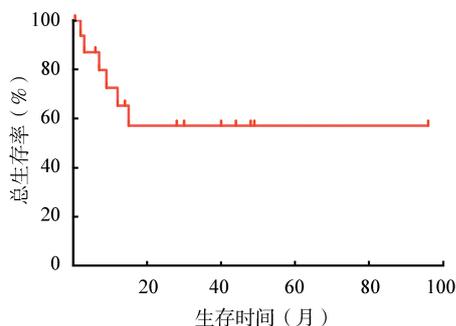


图1 17例原发性冷凝集素病患者生存曲线

CAD分为两类^[5]:①原发性CAD:定义为原因不明的或者继发于惰性B细胞淋巴瘤(例如LPL、MZL或SLL)的CAD;②继发性CAD:继发于其他非惰性B细胞淋巴瘤或者感染性疾病的CAD,其中常见的是肺炎支原体感染继发的CAD,但是这类病例远较

原发性CAD少见。本研究我们依据该分类纳入了17例原发性CAD患者进行临床分析。

CAD的临床表现多样,文献报道90%患者有遇冷后肢体末端、耳垂、嘴唇等部位青紫^[6],部分病例有网状青斑,极少数出现肢端坏死^[7-8]。此外,患者可出现贫血相关症状如乏力、气短,黄疸不常见,肉眼血尿发生频率远低于阵发性睡眠性血红蛋白尿症或温抗体型AIHA^[9]。国内关于CAD的研究较少,在本系列中,遇冷后肢端青紫为CAD最常见临床表现,而黄疸、肉眼血尿较为少见,这与CAD患者以血管外溶血为主,仅发生少部分C3d介导血管内溶血有关^[2],与国外研究结果基本相符。

实验室检查方面,17例患者中位HGB 67(35~127)g/L,其中15例出现贫血,以中度贫血和重度贫血为主。而既往研究报道的CAD患者多为轻中度

表1 17例原发性冷凝集素病患者的临床特征、治疗及转归

例号	年龄(岁)	骨髓病理	HGB (g/L)	Ret (%)	LDH (U/L)	IBIL (μmol/L)	免疫固定电泳	IgM定量 (g/L)	直接Coombs试验	冷凝集素滴度	MYD88	治疗方案	疗效	转归
1	51	阴性	93	5.11	318	35.1	IgMκ	2.30	C3d+	-	-	泼尼松+环磷酰胺	完全缓解	存活
2	71	阴性	90	7.90	538	43.4	IgMκ	4.10	C3d+,IgG+	阴性	-	甲泼尼龙+苯丁酸氮芥	无效	存活
3	65	阴性	87	6.33	590	41.0	阴性	1.52	C3d+	1:256	-	甲泼尼龙+环磷酰胺	无效	存活
4	58	阴性	82	3.14	1 013	7.7	IgMκ	0.98	C3d+	-	-	泼尼松+苯丁酸氮芥	无效	死于肺部感染
5	65	阴性	71	12.00	509	24.4	IgMκ	10.00	C3d+	-	-	泼尼松+环磷酰胺	无效	死于肺部感染
6	67	SLL/CLL	51	3.56	246	7.9	IgMκ	8.27	IgG+	1:2 048	阴性	泼尼松	无效	死于胰腺癌
7	62	WM/LPL	66	5.82	515	70.0	IgMκ	9.98	C3d+	1:1 024	-	甲泼尼龙+苯丁酸氮芥	无效	死亡原因未明
8	59	SMZL	35	5.93	517	49.7	IgMκ	13.00	C3d+	1:4 096	MYD88 ^{L265P}	R-CHOP,R-CVP	部分缓解	存活
9	76	SMZL	67	7.12	482	37.4	IgMκ	9.95	C3d+	1:2 048	-	R+地塞米松+环磷酰胺	部分缓解	存活
10	71	WM/LPL	39	9.06	358	41.5	IgMκ	5.30	C3d+,IgG+	1:2 048	-	R+地塞米松+环磷酰胺	部分缓解	存活
11	74	WM/LPL	91	2.13	237	20.1	IgMκ	2.70	C3d+,IgG+	1:512	-	R+地塞米松+环磷酰胺	无效	存活
12	86	阴性	69	11.45	384	18.7	IgMκ	9.90	C3d+	1:1 024	-	R+泼尼松+苯丁酸氮芥	无效	死于原发病进展
13	66	阴性	127	2.36	162	5.8	IgMκ	1.50	C3d+	1:1 024	阴性	保暖	部分缓解	存活
14	80	阴性	121	1.20	167	11.8	阴性	3.71	C3d+,IgG+	1:16	-	保暖	部分缓解	存活
15	58	阴性	35	6.87	468	19.9	IgGλ	NA	C3d+	1:256	-	未治疗	NA	存活
16	67	SLL/CLL	97	7.80	411	56.8	IgMκ	10.08	C3d+	-	-	未治疗	NA	死于肺部感染
17	83	阴性	43	4.60	347	60.0	IgMκ	9.44	C3d+,IgG+	1:16 384	-	未治疗	NA	失访

注:Ret:网织红细胞比值;IBIL:间接胆红素;SLL/CLL:小淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病;WM/LPL:华氏巨球蛋白血症/淋巴浆细胞样淋巴瘤;SMZL:脾边缘区淋巴瘤;R:利妥昔单抗;CHOP:环磷酰胺+阿霉素类药物+长春新碱+泼尼松;CVP:环磷酰胺+长春新碱+泼尼松;-:未检测;NA:不适用

贫血, Berentsen 等^[6]报道的中位 HGB 为 92 (45 ~ 156) g/L。本组 CAD 患者贫血程度更重, 可能与患者就诊我院时临床症状较重有关。通常认为 CAD 患者的直接 Coombs 试验为 C3d 阳性且 IgG 阴性, 但近年研究多次报道了直接 Coombs 试验为 IgG 阳性的 CAD 病例 (20% ~ 25%), 其中包括仅 IgG 阳性和同时 IgG、C3d 阳性病例^[6,11], 本研究也有 1 例患者为单纯 IgG 阳性。血液中单克隆 CA 是 CAD 导致 AIHA 的病理基础, CA 的高效价及温幅决定了其在一定温度下凝集红细胞的能力, 本研究中, 有 1 例患者的 CA 滴度虽然仅为 1:16, 但其有遇冷后双手青紫和尿色加深临床表现, 且 Coombs 试验 C3d 阳性, 考虑其可能为低温幅 CA。另外, 我们的研究中, 17 例患者中 14 例存在 IgM κ 型 M 蛋白, 这也与文献报道基本相符。

MYD88 为 TOLL 样受体信号通路中一种重要转导蛋白, 其在 LPL 中的突变率高达 90%, 而国外文献报道非合并 WM/LPL 的原发性 CAD 中 MYD88^{L265P} 突变率极低 (0/17)^[12], 本研究中检测结果与文献报道一致, 可能侧面说明原发性 CAD 是一种不同于 LPL 的淋巴细胞增殖性疾病。本研究中 1 例 SMZL 患者 MYD88^{L265P} 突变阳性, 其骨髓形态学无浆细胞分化表现, 骨髓活检经 2 名病理科医师独立诊断符合边缘区淋巴瘤, 骨髓免疫分型: CD5、CD10、CD25 阴性, sIgM 阴性, CD19、CD20、CD79b 阳性, 同时临床表现为巨脾。SMZL 患者中也报道了少量 (6%) MYD88^{L265P} 突变阳性病例, 而 MYD88^{L265P} 突变阳性患者较阴性患者存在单克隆 IgM 免疫球蛋白血症的比例更高^[13]。

目前, CAD 的治疗仍缺乏统一的标准, 据国外文献报道 CAD 治疗方案基本可分为糖皮质激素和利妥昔单抗两大类^[5]: 尽管糖皮质激素在 AIHA 的治疗上使用广泛, 但单一糖皮质激素治疗的有效性未得到研究支持, 多个研究中仅个别患者对单一糖皮质激素治疗有效, 反应率不足 15%^[6], 或仅有的糖皮质激素治疗有效患者也需要高剂量维持^[14]。苯丁酸氮芥和环磷酰胺单药治疗的有效率与糖皮质激素类似^[5]。本研究中 7 例糖皮质激素治疗患者仅 1 例有效, 其中 4 例死亡, 同样提示糖皮质激素在 CAD 上疗效不佳。利妥昔单抗治疗 CAD 的疗效早有报道, 两项分别纳入 20 例^[15]、27 例^[3] 患者的回顾性研究中利妥昔单抗治疗反应率均在 50% 以上。2015 年一项纳入 21 项研究的 Meta 分析总结了 109 例利妥昔单抗治疗的 CAD 患者, 其总体反应率为

57%^[16]。本研究中 5 例使用利妥昔单抗治疗患者, 3 例有效。因此, 我们认为, 利妥昔单抗在 CAD 治疗上优于糖皮质激素。另外, 利妥昔单抗联合氟达拉滨或干扰素治疗可进一步将治疗有效率提高至 70%^[6,17], 尤其是 WM 或低级别非霍奇金淋巴瘤相关的 CAD^[18]。除药物治疗外, 本研究中 2 例患者未经过药物治疗, 通过保暖措施可达到临床症状缓解、HGB 回升, 多项既往研究中提到, 避免肢体末端、耳垂暴露于寒冷环境中, 搬至温暖环境居住等也是原发性 CAD 患者治疗中重要环节, 防止溶血性贫血加重^[5,18]。

综上所述, CAD 的临床表现多样, CA 检测是诊断 CAD 的关键。CAD 轻型可保暖为主, 糖皮质激素治疗效果不佳, 重型 CAD 推荐利妥昔单抗治疗。

参考文献

- [1] Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults [J]. *Blood*, 2010, 116(11): 1831-1838. DOI: 10.1182/blood-2010-03-259325.
- [2] Zilow G, Kirschfink M, Roelcke D. Red cell destruction in cold agglutinin disease [J]. *Infusionsther Transfusionsmed*, 1994, 21(6): 410-415.
- [3] Berentsen S, Ulvestad E, Gjertsen BT, et al. Rituximab for primary chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 37 courses of therapy in 27 patients [J]. *Blood*, 2004, 103(8): 2925-2928. DOI: 10.1182/blood-2003-10-3597.
- [4] Xu L, Hunter ZR, Yang G, et al. MYD88 L265P in Waldenström macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction [J]. *Blood*, 2013, 121(11): 2051-2058. DOI: 10.1182/blood-2012-09-454355.
- [5] Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia [J]. *Blood Rev*, 2012, 26(3): 107-115. DOI: 10.1016/j.blre.2012.01.002.
- [6] Berentsen S, Ulvestad E, Langholm R, et al. Primary chronic cold agglutinin disease: a population based clinical study of 86 patients [J]. *Haematologica*, 2006, 91(4): 460-466.
- [7] Mitchell AB, Pergrum GD, Gill AM. Cold agglutinin disease with Raynaud's phenomenon [J]. *Proc R Soc Med*, 1974, 67(2): 113-115.
- [8] Läuchli S, Widmer L, Lautenschlager S. Cold agglutinin disease-- the importance of cutaneous signs [J]. *Dermatology*, 2001, 202(4): 356-358. DOI: 10.1159/000051682.
- [9] Petz LD. Cold antibody autoimmune hemolytic anemias [J]. *Blood Rev*, 2008, 22(1): 1-15. DOI: 10.1016/j.blre.2007.08.002.
- [10] Gertz MA. Cold agglutinin disease and cryoglobulinemia [J]. *Clin Lymphoma*, 2005, 5(4): 290-293.
- [11] Chandesris MO, Schleinitz N, Ferrera V, et al. [Cold agglutinins,

- clinical presentation and significance; retrospective analysis of 58 patients][J]. *Rev Med Interne*, 2004, 25(12):856-865. DOI: 10.1016/j.revmed.2004.08.001.
- [12] Randen U, Trøen G, Tierens A, et al. Primary cold agglutinin-associated lymphoproliferative disease: a B-cell lymphoma of the bone marrow distinct from lymphoplasmacytic lymphoma [J]. *Haematologica*, 2014, 99 (3): 497- 504. DOI: 10.3324/haematol.2013.091702.
- [13] Varettoni M, Arcaini L, Zibellini S, et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms [J]. *Blood*, 2013, 121 (13): 2522- 2528. DOI: 10.1182/blood-2012-09-457101.
- [14] Schreiber AD, Herskovitz BS, Goldwein M. Low-titer cold-hemagglutinin disease. Mechanism of hemolysis and response to corticosteroids [J]. *N Engl J Med*, 1977, 296(26): 1490-1494. DOI: 10.1056/NEJM197706302962602.
- [15] Schöllkopf C, Kjeldsen L, Bjerrum OW, et al. Rituximab in chronic cold agglutinin disease: a prospective study of 20 patients [J]. *Leuk Lymphoma*, 2006, 47 (2): 253- 260. DOI: 10.1080/10428190500286481.
- [16] Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies [J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14 (4): 304-313. DOI: 10.1016/j.autrev.2014.11.014.
- [17] Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease [J]. *Blood*, 2013, 122 (7): 1114- 1121. DOI: 10.1182/blood-2013-02-474437.
- [18] Treon SP, Branagan AR, Ioakimidis L, et al. Long-term outcomes to fludarabine and rituximab in Waldenström macroglobulinemia [J]. *Blood*, 2009, 113 (16): 3673- 3678. DOI: 10.1182/blood-2008-09-177329.

(收稿日期:2017-01-03)

(本文编辑:刘爽)