

# 比较不同重组人TPO方案联合免疫抑制治疗对重型再生障碍性贫血近期疗效的影响

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

**【摘要】** 目的 比较不同重组人TPO(rhTPO)方案联合免疫抑制剂治疗重型再生障碍性贫血(SAA)的近期疗效。方法 回顾性分析接受一线免疫抑制治疗(IST)的61例成人SAA初诊患者资料,对比分析18例IST联合rhTPO每日1次(连续组)与43例IST联合rhTPO隔日1次(间日组)患者的疗效差异。结果 两组患者在IST前基础临床特征差异无统计学意义。IST后3个月和6个月进行疗效评估,连续组与间日组患者总体血液学反应率比较差异无统计学意义(3个月:50.0%对51.2%, $P=0.934$ ;6个月:77.8%对69.8%, $P=0.525$ )。连续组IST后3个月良好血液学反应率明显高于间日组(38.9%对9.3%, $P=0.011$ )。rhTPO应用后4周和8周两组脱离红细胞输注率差异无统计学意义(4周:22.2%对18.6%, $P=0.736$ ;8周:55.6%对46.5%, $P=0.519$ ),而治疗后8周脱离血小板输注率连续组明显高于间日组(88.9%对48.8%, $P=0.003$ )。每日连续应用rhTPO治疗并不增加不良反应事件的发生。结论 每日1次较隔日1次应用rhTPO促进SAA造血恢复和减少血小板输注依赖更为有效。

**【关键词】** 贫血,再生障碍性; 血小板生成素; 免疫抑制法

基金项目:国家自然科学基金(81500098)

**Comparison of efficacy and safety of two different dose of recombinant human thrombopoietin regimens in severe aplastic anemia patients with immunosuppressive therapy** Zhou Kang, Li Yang, Li Jianping, Fan Huihui, Zhang Li, Jing Liping, Peng Guangxin, Ye Lei, Li Yuan, Song Lin, Zhao Xin, Yang Wenrui, Wu Zhijie, Chen Fang, Zhang Fengkui. Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

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

**【Abstract】** **Objective** To compare the short-term therapeutic effect of different regimens combining recombinant human thrombopoietin (rhTPO) with immunosuppressive therapy (IST) applied in severe aplastic anemia (SAA). **Methods** The clinical data of newly diagnosed adult SAA patients treated with first-line IST, including 18 patients with rhTPO daily and 43 patients with rhTPO every other day, was analyzed retrospectively. **Results** There was no significant difference between the basic clinical characteristics of the patients classified in different groups. The therapeutic effect was assessed 3 months and 6 months after IST. The statistical data revealed that the overall responses (OR) were not significantly different in daily group and every other day group (3 months: 50.0% vs 51.2%,  $P=0.934$ ; 6 months: 77.8% vs 69.8%,  $P=0.525$ ), while the good hematological response (CR+GPR) in SAA treated with rhTPO daily was significantly higher than that of patients treated with rhTPO every other day at 3 month after IST (38.9% vs 9.3%,  $P=0.011$ ). RBC transfusion independence were not significantly different between the two groups after 4 weeks as well as 8 weeks treatment (4 weeks: 22.2% vs 18.6%,  $P=0.736$ ; 8 weeks: 55.6% vs 46.5%,  $P=0.519$ ), while platelet transfusion independence in rhTPO daily treated group was significantly higher than that in every other day group (88.9% vs 48.8%,  $P=0.003$ ). In addition, there were no more adverse events observed in rhTPO daily group. **Conclusions** It's more effective to promote hematopoietic recovery and reduce platelet transfusion dependence when rhTPO was daily used other than used every other day.

**【Key words】** Anemia, aplastic; Thrombopoietin; Immunosuppression

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81500098)

再生障碍性贫血(AA)患者骨髓造血衰竭由自身免疫介导的造血干/祖细胞过多凋亡所致,造血干细胞移植(HSCT)和免疫抑制治疗(IST)是重型AA(SAA)最主要的治疗方法<sup>[1]</sup>。较之HSCT,IST后SAA患者恢复自身骨髓造血所需时间长,完全血液学反应(CR)率低,复发和晚期克隆性血液学异常相对多见,且在抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)联合环孢素A(CsA)基础上增加免疫抑制强度并不能进一步提高疗效<sup>[2-3]</sup>。TPO受体(c-MPL)广泛分布于包括造血干/祖细胞在内的多阶段多系列造血细胞<sup>[4]</sup>。我们曾报道IST联合重组人TPO(rhTPO)隔日1次共28 d治疗SAA,较标准IST方案总体血液学反应率和良好血液学反应率更高,血小板恢复时间缩短,血小板输注量明显减少<sup>[5]</sup>。但该IST联合rhTPO方案中rhTPO的剂量和用法未经优化,是否每日应用较间日应用CR率和反应质量更高,我们对此进行了初步研究。

### 病例与方法

1. 病例:回顾性分析2014年1月至7月我中心收治的一线接受IST联合rhTPO方案的61例SAA患者,其中18例接受IST联合rhTPO每日1次(连续组),43例为IST联合rhTPO隔日1次(间日组)治疗。AA诊断依据1987年国际粒细胞减少和AA诊断标准<sup>[6]</sup>,外周血检查至少符合以下3项中2项:①HGB<100 g/L;②PLT<50×10<sup>9</sup>/L;③中性粒细胞绝对计数(ANC)<1.5×10<sup>9</sup>/L。AA严重程度分型按照Camitta标准<sup>[7]</sup>,符合SAA标准,且ANC<0.2×10<sup>9</sup>/L者,诊断为极重型AA(VSAA)。所有患者常规进行影像学检查、彗星试验和丝裂霉素C(MMC)试验以排除范可尼贫血,行染色体核型分析及外周血流式细胞术CD55、CD59检查排除低增生骨髓增生异常综合征及阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)。入组标准:①初治SAA/VSAA;②应用rhTPO之前总胆红素<1.5倍正常上限(ULN),ALT/AST<2.5倍ULN,血肌酐<ULN;③既往无血栓、栓塞病史;④无严重的高血压、贫血性心脏病病史。接受IST的患者均无HLA相合同胞供者或不适于HSCT治疗,且无重要脏器严重功能异常。患者IST前基本情况见表1。

2. 治疗方案:IST方案包括兔抗人胸腺细胞球蛋白(r-ATG)/猪抗人淋巴细胞球蛋白(p-ALG)及CsA,具体用法参照文献<sup>[5]</sup>。rhTPO为沈阳三生制药公司产品,具体用法:rhTPO皮下注射,IST后第

14天首次给药,连续组为每日1次,总计注射28次,共4周;间日组为隔日1次,总计注射14次,共4周。具体用量:体重≥50 kg者,采用标准剂量每次15 000 U;体重<50 kg者,剂量减至每次7 500 U。治疗期间每日观察记录患者不良反应,如患者出现rhTPO治疗相关的血栓栓塞并发症或Ⅲ度及以上非血液系统不良反应,则终止rhTPO治疗。在外周血ANC<0.5×10<sup>9</sup>/L时,采用G-CSF 300 μg/d皮下注射,直至ANC介于(0.5~1.0)×10<sup>9</sup>/L。HGB<60 g/L、PLT<10×10<sup>9</sup>/L时给予红细胞、血小板输注支持治疗。

3. 疗效观察:至少4周无血制品输注情况下,HGB持续≥70 g/L、PLT持续≥20×10<sup>9</sup>/L定义为脱离红细胞和血小板输注,脱离血制品输注的初始时间记为脱离输注时间。IST后3个月和6个月行外周血和骨髓细胞形态学检测、组织活检、染色体核型分析及流式细胞术免疫表型检测,评估血液学反应和有无克隆性转化。疗效判定标准参照文献<sup>[8]</sup>。获得CR与良好部分血液学反应(GPR)定义为良好血液学反应。IST后3个月内死亡和失访计为无效。

4. 住院时间和住院费用:住院时间计算为患者入院第1天至出院当天总天数,住院费用为此期间的所有医疗花费支出。

5. 随访:IST后定期复查外周血,3个月和6个月时完成骨髓细胞形态学、组织活检、染色体核型和流式细胞免疫表型等检查,以评估有无血液系统克隆性异常。随访截止日期为2015年3月1日,中位随访时间为311(240~421)d。主要对血液病反应进行评价,并了解是否依赖血制品输注及生存状况。随访方式均为入院随访。

6. 统计学处理:所有数据使用SPSS 18.0软件分析。两组患者的年龄、病程、治疗前血常规、住院费用和住院时间比较应用两独立样本比较的秩和检验;性别、VSAA/SAA、ATG/ALG、两组反应率和脱离输血率比较应用Pearson卡方检验;IST后12周时HGB和PLT较基线增高水平比较应用配对样本秩和检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 患者基本特征:rhTPO连续组纳入患者18例,男11例,女7例,中位年龄23(7~63)岁,SAA 14例(77.8%),VSAA 4例(22.2%)。rhTPO间日组共纳入患者43例,其中男23例(53.5%),女20例(46.5%),中位年龄25(7~47)岁,SAA 27例

(62.8%), VSAA 16例(37.2%)。患者治疗前临床及血液学特征见表1,两组各临床特征之间比较差异均无统计学意义。

2. 早期疗效:IST后3个月和6个月疗效评价见表2。连续组患者IST后3个月获得血液学反应与间日组差异无统计学意义,但良好血液学反应(GPR+CR)率更高(38.9%对9.3%, $P=0.011$ ),6个月时连续组CR率和良好反应率与间日组比较差异均无统计学意义(CR:33.3%对14.0%, $P=0.154$ ;CR+GPR:50.0%对34.9%, $P=0.270$ )。

3. 自身造血恢复情况:以IST治疗前患者HGB及PLT为基线值,IST后连续12周进行血常规检查,至IST后第12周,连续组HGB和PLT升高值分别为15.5(3~33)g/L和48.5(20~66) $\times 10^9$ /L,间日组分别为6(1~37)g/L和14(7~105) $\times 10^9$ /L,连续组较间日组患者恢复自身造血能力更强(HGB: $P=0.701$ ;PLT: $P=0.002$ )(图1)。

4. 血制品输注:以rhTPO应用前4周输血量为基础值,rhTPO治疗后每2周记录RBC和PLT输注量,每4周统计脱离输注RBC或PLT的患者例数,至第8周止。结果显示连续组与间日组脱离红细胞输注率差异无统计学意义,但在rhTPO治疗后第8周连续组有更多的患者脱离血小板输注(表3)。连续组血小板输注支持治疗需要量较间日组显著为少,这种差异在rhTPO后第6周就有所体现。第6周时连续组和间日组血小板输注量分别为0.06(0~1.00)治疗量和1.07(0~4.00)治疗量( $P=0.017$ )。第8周时连续组和间日组血小板输注量分别为0.06(0~1.00)治疗量和0.74(0~3.00)治疗量( $P=0.047$ )(表4、表5)。

5. 住院时间和费用:连续组与间日组比较,住院治疗总费用[270 837(161 070~567 946)元对229 861(96 346~533 102)元, $P=0.355$ ]、日均费用[2 865(1 606~7 675)元对2 426(1 302~5 278)元, $P=0.152$ ],血制品输注支持费用[18 520(11 821~

表1 61例重型再生障碍性贫血(SAA)患者基本临床特征

临床特征	所有患者	rhTPO连续组(18例)	rhTPO间日组(43例)	P值
年龄[岁,M(范围)]	24(7~63)	23(7~63)	25(7~47)	0.770
性别(男/女)	34/27	11/7	23/20	0.111
严重程度分型[例数(%)]				0.255
SAA	41(67.2)	14(77.8)	27(62.8)	
VSAA	20(32.8)	4(22.2)	16(37.2)	
免疫抑制剂类型[例数(%)]				0.210
r-ATG	20(32.8)	8(44.4)	12(27.9)	
p-ALG	41(67.2)	10(55.6)	31(72.1)	
病程[d,M(范围)]	60(5~5 475)	38(7~3 650)	60(5~5 475)	0.071
治疗前外周血常规				
HGB[g/L,M(范围)]	60(18~80)	58(36~80)	61(18~74)	0.057
PLT[ $\times 10^9$ /L,M(范围)]	9(2~26)	11(4~21)	7(2~26)	0.076
Ret[ $\times 10^9$ /L,M(范围)]	7(1~54)	10(1~32)	7(1~54)	0.354
ANC[ $\times 10^9$ /L,M(范围)]	0.33(0.01~1.00)	0.43(0.01~0.83)	0.30(0.01~1.00)	0.054
粒细胞PNH克隆[例数(%)]				1.000
阳性	14(23.0)	4(22.2)	10(23.3)	
阴性	47(77.0)	14(77.8)	33(76.7)	
红细胞PNH克隆[例数(%)]				1.000
阳性	2(3.3)	0	2(4.7)	
阴性	59(96.7)	18(100.0)	41(95.3)	

注:rhTPO:重组人血小板生成素;VSAA:极重型AA;r-ATG:兔抗人胸腺细胞球蛋白;p-ALG:猪抗人淋巴细胞球蛋白;Ret:网织红细胞绝对值;ANC:中性粒细胞绝对计数;PNH:阵发性睡眠性血红蛋白尿症

表2 不同重组人血小板生成素(rhTPO)治疗方案组患者早期疗效比较[例数(%)]

早期疗效	例数	3个月疗效					6个月疗效				
		CR	GPR	CR+GPR	PR	无效	CR	GPR	CR+GPR	PR	无效
连续组	18	1(5.6)	6(33.3)	7(38.9)	2(11.1)	9(50.0)	6(33.3)	3(16.7)	9(50.0)	5(27.8)	4(22.2)
间日组	43	3(7.0)	1(2.3)	4(9.3)	18(41.9)	21(48.8)	6(14.0)	9(20.9)	15(34.9)	15(34.9)	13(30.2)
P值		1.000	0.002	0.011	0.020	0.934	0.154	1.000	0.270	0.590	0.525

注:CR:完全血液学反应;GPR:良好部分血液学反应;PR:部分血液学反应

33 126)元对 24 538(7 112~63 354)元,  $P=0.086$ ]及住院时间[94(59~159)d对 98(52~157)d,  $P=0.086$ ]差异均无统计学意义。

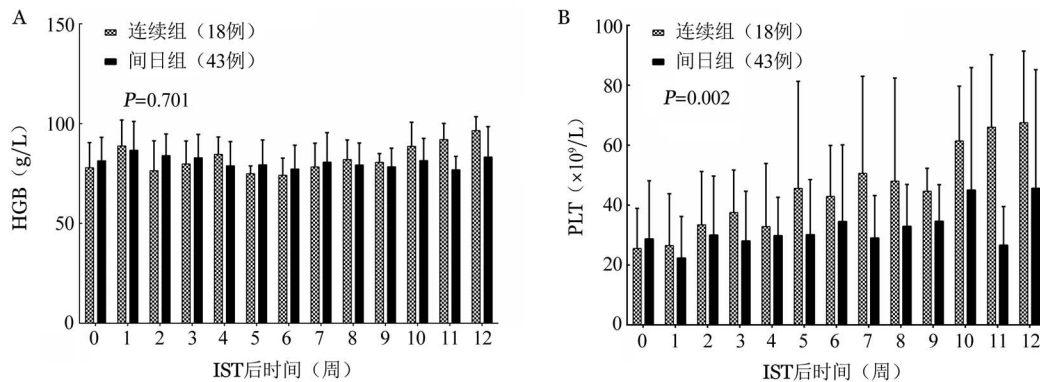
6. 不良反应:全部61例患者对rhTPO皮下注射耐受良好,除注射局部轻微疼痛外无其他明显不良反应。间日组和连续组患者均无因不良反应而终止治疗者,全部患者完成4周rhTPO治疗。随访期间所有患者均无血栓事件发生,IST后3个月和6个月骨髓组织活检两组患者均未发现网状纤维和胶原纤维增生。

### 讨 论

尽管支持治疗已经明显改善,IST后SAA患者

仍然面临等待起效时间过长和不完全治疗反应等情况,在获得血液学反应之前患者发生感染和出血并发症风险仍很高,并且约10%的患者最终死于出血事件<sup>[9]</sup>。现有证据表明IST联合EPO、G-CSF、IL-11等细胞因子无助于解决上述难题<sup>[10]</sup>。和上述作用于下游定向分化阶段造血细胞的细胞因子不同,TPO不但特异性刺激巨核系成熟分化,还能作用于更早期的CD34<sup>+</sup>细胞,从而促进红系和髓系干/祖细胞增殖<sup>[11]</sup>。

美国国立卫生研究院首先将二代TPO受体激动剂eltrombopag用于治疗对IST无效的难治性AA<sup>[12-13]</sup>,提示在IST基础上联合TPO受体激动剂可能利于增加造血干/祖细胞的绝对数量,帮助造血重



0为IST前基线水平,  $P$ 值为连续组与间日组IST后第12周较基线增高水平比较

图1 获得血液学反应的再生障碍性贫血患者免疫抑制治疗(IST)后不同时间HGB(A)和PLT(B)水平变化

表3 不同重组人血小板生成素(rhTPO)方案组患者rhTPO治疗后脱离血制品输注情况比较[例数(%)]

组别	例数	治疗后4周		治疗后8周	
		脱离红细胞输注	脱离血小板输注	脱离红细胞输注	脱离血小板输注
连续组	18	4(22.2)	3(16.7)	10(55.6)	16(88.9)
间日组	43	8(18.6)	5(11.6)	20(46.5)	21(48.8)
$P$ 值		0.736	0.683	0.519	0.003

表4 不同重组人血小板生成素(rhTPO)方案组患者治疗不同时间红细胞输注量变化[U,均数(范围)]

组别	例数	治疗前	治疗后			
			2周	4周	6周	8周
连续组	18	2.79(0~6.75)	2.42(0~7.00)	1.00(0~8.00)	0.71(0~4.00)	0.24(0~2.00)
间日组	43	3.59(0~8.00)	2.95(0~9.00)	2.60(0~10.00)	1.98(0~8.00)	1.51(0~7.00)
$P$ 值		0.422	0.855	0.352	0.339	0.049

表5 不同重组人血小板生成素(rhTPO)方案组患者治疗不同时间血小板输注量变化[治疗量,均数(范围)]

组别	例数	治疗前	治疗后			
			2周	4周	6周	8周
连续组	18	3.14(1.00~7.00)	1.67(0~3.00)	0.61(0~2.00)	0.06(0~1.00)	0.06(0~1.00)
间日组	43	3.80(1.50~7.50)	2.12(0~5.00)	1.58(0~5.00)	1.07(0~4.00)	0.74(0~3.00)
$P$ 值		0.819	0.848	0.590	0.017	0.047



建。我们在之前研究中发现IST联合隔日1次rhTPO治疗后3个月和6个月的总体血液学反应率和良好血液学反应率均高于标准IST方案组<sup>[5]</sup>。本研究中我们发现每日连续应用rhTPO较间日应用能够进一步加快SAA患者IST后自身造血恢复,提高血液学反应质量,表现为IST后3个月时获得CR和GPR的患者比例更高。Emmons等<sup>[14]</sup>研究显示AA患者体内TPO水平远高于正常,我们推测在干祖细胞池萎缩造血压力明显加大基础上,针对残存造血细胞而言,增高的内源性TPO仍可能相对不足,因此超生理量的TPO受体激动剂可能在SAA发挥治疗作用。这与本研究rhTPO治疗SAA存在量效关系相一致。

连续应用rhTPO对AA的短期影响还体现在输血量上的改善,尤其是rhTPO应用后第8周,连续组患者的血小板输注量需求减少更明显( $P=0.017$ ),从而较间日组获得更高的血小板输注脱离率(88.9%对48.8%)。血小板水平的更早提高不但降低致命性出血事件的概率,还可缓解用血紧张,减少输血相关疾病的发生。

rhTPO用于健康受试人群和原发免疫性血小板减少症(ITP)患者时有发生血栓、栓塞并发症的可能,此外文献报道慢性ITP患者应用艾曲波帕过程中出现骨髓纤维化<sup>[15]</sup>,但AA患者中尚未发现<sup>[16]</sup>。我们在治疗期间的观察显示除注射局部有轻微疼痛外患者无其他不适主诉,说明耐受性较好。在3个月和6个月随访时骨髓检查也未发现造血组织纤维增生的证据。

rhTPO价格昂贵,本研究显示连续rhTPO应用患者住院费用增加和住院时间缩短不明显。我们认为,连续rhTPO应用可以较间日应用更快且更好地获得治疗反应,虽rhTPO治疗费用增加,但在一定程度上减少了支持费用。

TPO受体激动剂治疗SAA的成功案例提供给我们新的选择,但与标准IST联合以期提高疗效和减少血制品输注的可行性和可靠性需要进一步的临床试验证实。本研究随访时间较短,患者样本数相对较小,尤其作为回顾性研究证据可信性有限,我们认为对本文结果需慎重解释,并应进一步密切随访长期疗效。

#### 参考文献

[1] Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2009, 147(1):43-70. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07842.x.

- [2] 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.
- [3] 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. doi: 10.3324/haematol.13829.
- [4] Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, et al. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche [J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(6):685-697. doi: 10.1016/j.stem.2007.10.020.
- [5] 张莉, 杨文睿, 叶蕾, 等. 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[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(3):181-185. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.03.002
- [6] [No authors listed]. Incidence of aplastic anemia: the relevance of diagnostic criteria. By the International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study [J]. Blood, 1987, 70(6):1718-1721.
- [7] 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.
- [8] Camitta BM. What is the definition of cure for aplastic anemia? [J]. Acta Haematol, 2000, 103(1):16-18.
- [9] Viollier R, Passweg J, Gregor M, et al. Quality-adjusted survival analysis shows differences in outcome after immunosuppression or bone marrow transplantation in aplastic anemia [J]. Ann Hematol, 2005, 84(1):47-55.
- [10] Marsh JC, Ganser A, Stadler M. Hematopoietic growth factors in the treatment of acquired bone marrow failure states [J]. Semin Hematol, 2007, 44:138-147.
- [11] Zeigler FC, de Sauvage F, Widmer HR, et al. In vitro megakaryocytopoietic and thrombopoietic activity of c-mpl ligand (TPO) on purified murine hematopoietic stem cells [J]. Blood, 1994, 84(12):4045-1052.
- [12] 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. doi: 10.1056/NEJMoa1200931.
- [13] 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. doi: 10.1182/blood-2013-10-534743.
- [14] 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.
- [15] Kuter DJ, Mufti GJ, Bain BJ, et al. Evaluation of bone marrow reticulin formation in chronic immune thrombocytopenia patients treated with romiplostim [J]. Blood, 2009, 114(18):3748-3756. doi: 10.1182/blood-2009-05-224766.
- [16] Townsley DM, Desmond R, Dunbar CE, et al. Pathophysiology and management of thrombocytopenia in bone marrow failure: possible clinical applications of TPO receptor agonists in aplastic anemia and myelodysplastic syndromes [J]. Int J Hematol, 2013, 98(1):48-55. doi: 10.1007/s12185-013-1352-6.

(收稿日期:2015-08-07)

(本文编辑:刘爽)