

异基因造血干细胞移植后 CMV 重激活与闭塞性细支气管炎相关性探讨

徐静 陈广华 宋铁梅 朱子玲 冯宇锋 常惠荣 陈峰 马骁 吴德沛

【摘要】 目的 探讨异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)术后 CMV 重激活与闭塞性细支气管炎(BO)的相互关系。方法 2011 年 1 月至 2013 年 12 月行 allo-HSCT 的 769 例患者,通过荧光定量 PCR 方法检测 CMV-DNA 水平,免疫荧光染色白细胞 PP65 抗原血症两种检测方法诊断 CMV 感染,将 CMV 感染患者出现 BO 与未发生 CMV 感染患者出现 BO 进行比较,分析 CMV 感染与 BO 相关性,并将符合 CMV 感染患者中出现 BO 与未出现 BO 者进行对照分析。结果 诊断 CMV 感染 259 例患者中出现 BO 32 例(12.35%),而未感染 CMV 的 510 例患者发生 BO 8 例(1.56%),二者差异有统计学意义($P < 0.001$)。将诊断 CMV 感染 259 例患者,发生 BO 32 例与未发生 BO 227 例的二组临床资料进行 CMV 相关临床分析比较。CMV 病毒载量在 10^5 拷贝数/ml 较低病毒载量 10^2 拷贝数/ml 出现 BO 差异有统计学意义。结论 在 allo-HSCT 后导致 BO 的风险因素中,CMV 感染是值得注意的相关因素之一,其中高病毒载量和 CMV 重激活和 CMV 肺炎是可能危险因素。

【关键词】 造血干细胞移植; 巨细胞病毒; 重激活; 细支气管炎,闭塞性

Study on the correlation between CMV reactivation and bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation Xu Jing, Chen Guanghua, Song Tiemei, Zhu Ziling, Feng Yufeng, Chang Huirong, Chen Feng, Ma Xiao, Wu Depei. Jiangsu Institute of Hematology, Key Laboratory of Thrombosis and Hemostasis, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China
Corresponding author: Wu Depei, Email:wudepei@medmail.com.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation between CMV reactivation and obliterative bronchiolitis (BO) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** From January 2011 to December 2013, 769 patients underwent allo-HSCT. The CMV infection was diagnosed by fluorescence quantitative PCR method for detecting the level of CMV-DNA and immunofluorescence staining of PP65 antigen in white blood cell. The frequency of BO in patients with and without CMV infection was compared, and the correlation between CMV infection and BO was analyzed. The clinical data of CMV infection patients with and without BO were analyzed and compared. **Results** Of 259 diagnosed CMV infection patients, BO occurred in 32 cases, the incidence rate was 12.35%, while in 510 cases without CMV infection, BO occurred in 8 cases, the incidence was 1.56%. The incidence rate of BO is significantly higher in patients with CMV infection than that in patients without CMV infection ($P < 0.001$). The CMV related clinical data between the 32 cases with BO and 227 cases without BO were analyzed among the 259 cases of diagnosed CMV infection patients. BO incidence is higher in patients with more than 10^5 copies/ml CMV-DNA than that in patients with less than 10^2 copies/ml CMV-DNA. **Conclusion** Among the risk factors related to BO post allo-HSCT, CMV infection is one of them to be worthy of attention. CMV reactivation with high virus titer, multiple CMV reactivations and CMV pneumonia are the risk factors.

【Key words】 Hematopoietic stem cell transplantation; Cytomegalovirus; Virus reactivation; Bronchiolitis obliterans

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.05.007

基金项目:国家自然科学基金(81300444);江苏省自然科学基金(BK20130273)

作者单位:215006 苏州大学附属第一医院娄葑分院血液科(徐静);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(陈广华、宋铁梅、朱子玲、冯宇锋、常惠荣、陈峰、马骁、吴德沛)

通信作者:吴德沛,Email:wudepei@medmail.com.cn

闭塞性细支气管炎(BO)是异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后严重的肺部并发症,属于累及小气道的阻塞性肺部疾病。BO的主要症状包括持续性干咳、呼吸困难或伴有喘鸣。肺部体征无特异性,可有散在的湿性音或喘鸣音,或伴有肺部过度充气的体征^[1],部分患者可发生肺泡破裂,导致纵膈气肿、气胸、皮下积气^[2]。为探讨CMV与BO的相互关系,我们将2011年1月至2013年12月在苏州大学附属第一医院allo-HSCT临床资料进行回顾性总结分析。

对象和方法

1. 研究对象:2011年1月至2013年12月苏州大学附属第一医院血液科行allo-HSCT的769例患者,男441例,女328例,中位年龄36(3~69)岁。慢性髓性白血病慢性期(CML-CP)64例,CML急变期(CML-BP)11例,慢性粒-单核细胞白血病(CMML)2例,骨髓增生异常综合征(MDS)66例,急性髓系白血病(AML)342例,原发于中枢神经系统AML1例、MDS转化的AML4例,急性淋巴细胞白血病(ALL)178例,Ph⁺ALL13例、原发于中枢神经系统ALL1例,急性混合细胞白血病(HAL)12例,其中Ph⁺HAL2例,再生障碍性贫血(AA)52例,非霍奇金淋巴瘤(NHL)16例,淋巴瘤细胞白血病(LCL)6例,再生障碍性贫血-阵发性睡眠性血红蛋白尿症(AA-PNH)7例,难治性多发性骨髓瘤(MM)2例,骨髓衰竭综合征(BMF)3例。

2. 移植方式:非亲缘间-HSCT(URD-HSCT)217例,亲缘间-HSCT(sib-HSCT)329例,单倍型-HSCT(Hi-HSCT)198例,脐血移植(CBT)25例。

3. 预处理方案:髓系恶性血液病患者多数采用改良Bu/Cy为主的方案[阿糖胞苷 $2\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 12\text{ h}^{-1}$,移植前第9天(-9 d)~-8 d静脉输注;白消安 $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 口服或 $3.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 静脉输注,-7~-5 d;环磷酰胺 $1.8\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, -4~-3 d静脉输注。伴随外疾病的其他髓系及淋系恶性血液病采用含全身照射(TBI)方案(阿糖胞苷 $2\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 12\text{ h}^{-1}$, -6~-5 d静脉输注;环磷酰胺 $1.8\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, -4~-3 d静脉输注;TBI 7.5~8.5 Gy, -1 d)。

4. 移植物抗宿主病(GVHD)预防方案:HLA全相合亲缘供者采用环孢素(CsA)+短程甲氨蝶呤(MTX)预防GVHD,非亲缘相关移植和HLA不全相合亲缘相关移植用CsA+MTX+抗胸腺细胞球蛋

白(ATG)或霉酚酸酯(MMF)预防GVHD。

5. CMV感染诊断:通过荧光定量PCR方法检测CMV-DNA水平,免疫荧光染色白细胞PP65抗原血症两种检测方法诊断CMV感染。

6. BO诊断标准参考文献[2]:①+100 d以上新发阻塞性肺疾病,临床表现为反复或持续活动后气促、喘息或咳嗽、喘鸣,伴发慢性GVHD(cGVHD)表现;②肺功能检查示阻塞性通气功能障碍,即FEV₁/FVC>0.7且FEV₁<75%预计值;③高分辨率CT显示:气体滞留征,支气管壁增厚,支气管扩张,残气量超过120%预计值,或病理证实;④排除其他原因所致的阻塞性肺疾病,如感染、哮喘、慢性阻塞性肺病(COPD)、囊性纤维化等。

7. 统计学处理:采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。组间比较采用卡方检验,理论频数低于5者采用校正卡方检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CMV重激活和BO相关性:769例患者中确诊CMV感染259例,其中出现BO 32例,而未发生CMV感染的510例患者中发生BO 8例,二者对比CMV感染者发生BO率明显高于未发生CMV感染者($P<0.01$)。CMV感染可能是BO发生危险因素之一(表1)。

2. CMV-DNA载量与BO相关性:将有完整CMV-DNA数据检测资料的197例患者进行CMV-DNA载量分层,CMV-DNA载量在 10^5 拷贝数/ml水平对比病毒载量在 10^2 拷贝数/ml发生BO风险增加($P<0.01$)。而CMV-DNA载量在 $10^2\sim 10^4$ 拷贝数/ml水平差异无统计学意义($P>0.05$)。用检测CMV-DNA的方法发生BO的节点为 10^5 拷贝数/ml。出现CMV肺炎者较未出现者发生BO风险增加($P<0.01$)(表1)。

3. CMV阳性持续时间与BO相关性:依据CMV阳性持续时间的不同进行分层比较,BO发生差异无统计学意义($P>0.05$)。CMV感染持续时间并不是BO发生的致病因素(表1)。

4. CMV感染发生时间与BO相关性:以+100 d为横截面分析,+100 d前CMV感染者发生BO明显低于+100 d以后($P<0.01$)。OR值为11.636,发生于+100 d后CMV感染发生BO风险增加。CMV感染2次及以上者较初次感染者发生BO风险增加

($P < 0.01$)。反复多次的 CMV 感染可能是 BO 发生的危险因素之一(表 1)。

表 1 CMV 与闭塞性细支气管炎(BO)相关单因素分析

相关因素	例数	BO [例数(%)]	OR 值	95%CI	P 值
CMV 感染			8.846	4.013~19.500	<0.01
有	259	32(12.35)			
无	510	8(1.56)			
CMV-DNA(拷贝数/ml)					
10^2	43	2(4.65)			
10^3	51	4(7.84)	1.745	0.304~10.023	0.423
10^4	46	3(6.51)	1.023	0.141~4.289	0.617
10^5	57	10(17.54)	3.097	1.186~8.090	0.020
CMV 持续阳性时间(d)					
≤ 14	93	11(11.83)			
15~21	65	8(12.31)	1.046	0.396~2.764	0.558
22~28	54	7(12.96)	10.90	0.431~2.755	0.511
> 28	47	6(12.76)	1.047	0.405~2.707	0.544
CMV 感染发生时间			11.636	4.922~27.510	<0.01
$< +100$ d	228	17(7.46)			
$> +100$ d	31	15(48.39)			
CMV 感染次数			21.581	9.024~51.613	<0.01
1	216	10(4.63)			
> 1	43	22(51.16)			
CMV 肺炎			8.129	3.673~17.000	<0.01
有	31	18(58.06)			
无	228	14(6.14)			

讨 论

我中心 allo-HSCT 后 BO 发生率为 5.2%，国内高凌云及曹照龙^[3]报道为 7%，唐瑞梅等^[4]报道为 8.2%。Chien 等^[5]报道为 6%~26%，基本一致。BO 早期可无明显症状，单纯表现为肺功能异常。部分患者为偶发的胸闷、呼吸困难，可伴有咳嗽、喘息、肺部啰音及哮鸣音等。BO 的进展阶段，因严重的气道阻塞，患者表现为渐进的呼吸困难，活动明显受限，因临床表现不具有典型特征，通常到进展期被发现，病死率高达 21%~100%。2005 年 NIH 更新了 cGVHD 诊断标准^[6]，将移植后出现的 BO 列入肺部 cGVHD。

allo-HSCT 后发生 BO 与多种因素有关，危险因素有 aGVHD、cGVHD、高龄供者、外周血干细胞移植、原发病为 CML、女供男组合、CMV 感染、清髓性预处理、预处理含白消安、HLA 配型不合及低免疫球蛋白 A、+100 d 内发生呼吸道病毒感染等^[7-10]。在

组织器官移植(尤其是肺移植)中，CMV 肺炎是 BO 发生的一项独立危险因素已获得共识。在 allo-HSCT 后，CMV 首次感染发生的中位时间为 45(20~360)d。allo-HSCT 后发生 BO 的中位时间为 15.3(3~60)个月，二者发生时间的不同隐匿了 CMV 与 BO 的相关性。

我们单中心 769 例研究显示 allo-HSCT 术后 CMV 感染与 BO 可能相关，其中 CMV 肺炎与 BO 相关性较强，CMV 病毒高载量可能是致病因素，病毒载量超过 10^5 拷贝数/ml 者 BO 发生风险增加。低负荷病毒载量和 CMV 感染持续时间不是其致病因素，以 +100 d 为观察节点，发现 +100 d 后的 CMV 感染者发生 BO 风险增加。移植后 BO 的确切发病机制，目前支持的有“损伤应答”假说^[11-12]，假说认为 BO 为 T 淋巴细胞介导免疫反应造成的细胞损伤，在修复损伤细胞过程中发生炎症反应和纤维化，后形成 BO 的病理表现。allo-HSCT 后 CMV 感染高发于移植 1~2 个月，+100 d 后可能存在 CMV 再次感染重激活，我们研究同时发现 CMV 感染 2 次以上者较初次感染者发生 BO 风险增加($P < 0.01$)。这与“损伤应答”假说中机体受损伤再促进机体免疫识别，从而加重免疫反应造成新的损伤，而新的损伤将引起下一步损伤应答过程的应答模式相吻合。而 BO 的病理组织学特征为小气道上皮细胞和上皮下结构反复的损伤和炎症，伴随不健全的修复导致过度纤维增生和无效的上皮再生，引起异常组织修复和小气道闭塞。更加验证了 CMV 的再感染重激活增加了 BO 发生风险。有报道移植后预防性应用更昔洛韦联合 CMV 免疫球蛋白可推迟 BO 的发展^[13]。同时研究显示，慢性气流阻塞是同种异体骨髓移植后最常见的晚期并发症，一般发生在移植 3 个月以后造成慢性气流阻塞的主要原因是 BO。本研究 +100 d 后的 CMV 感染者发生 BO 明显高于 +100 d 前感染者($P < 0.01$)，进一步提示 CMV 感染可能与 BO 相关。

CMV 肺炎是 BO 的危险因子^[14-15]。Bonatti 等^[14]认为 CMV 作为一种免疫调节病毒，可持续刺激 T 淋巴细胞，引发多种因子的释放，通过细胞因子的分泌以及促进 HLA 分子的表达从而加速免疫反应及 GVHD 的发生，进而促使 BO 的发生。CMV 在 BO 发生的作用机制可能为 CMV 感染后，通过产生细胞因子和增加 HLA 分子表达促进移植排斥，作为致病靶位的呼吸道黏膜上皮细胞在免疫炎症因子的参与下发生了严重的炎症反应；上皮细胞在修复过

程中继续发生炎症反应及纤维化,从而引起细支气管的结构和功能损害,细支气管的闭塞,发生阻塞性通气功能障碍,喘息反复发作。炎症会影响终末细支气管、呼气性细支气管和肺泡导管的黏膜上皮细胞以及血管内皮细胞,细胞中的HLA分子表达增强,免疫活性细胞被激活,各种细胞因子释放,造成黏膜的非特异性损伤。

参考文献

- [1] Williams KM, Chien JW, Gladwin MT, et al. Bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. JAMA, 2009, 302(3):306-314.
- [2] Soubani AO, Uberti JP. Bronchiolitis obliterans following haematopoietic stem cell transplantation[J]. Eur Respir J, 2007, 29(5): 1007-1019.
- [3] 高凌云, 曹照龙. 异基因干细胞移植后阻塞性细支气管炎综合征肺功能分析[J]. 中国医刊, 2001,46(9):54-55.
- [4] 唐瑞梅, 肖毅, 张东华, 等. 异基因造血干细胞移植后并发阻塞性细支气管炎综合征五例[J]. 中华器官移植杂志, 2010, 31(8):501-502.
- [5] Chien JW, Martin PJ, Gooley TA, et al. Airflow obstruction after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 168(2): 208-214.
- [6] Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(12): 945-956.
- [7] Duncan CN, Buonanno MR, Barry EV, et al. Bronchiolitis obliterans following pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41(11): 971-975.
- [8] Paz HL, Crilley P, Patchefsky A, et al. Bronchiolitis obliterans after autologous bone marrow transplantation [J]. Chest, 1992, 101(3): 775-778.
- [9] Dudek AZ, Mahaseth H, DeFor TE, et al. Bronchiolitis obliterans in chronic graft-versus-host disease: analysis of risk factors and treatment outcomes [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2003, 9(10): 657-666.
- [10] Heng D, Sharples LD, McNeil K, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome: incidence, natural history, prognosis, and risk factors [J]. J Heart Lung Transplant, 1998, 17(12):1255-1263.
- [11] Boehler A, Estenne M. Post-transplant bronchiolitis obliterans [J]. Eur Respir J, 2003, 22(6): 1007-1018.
- [12] Estenne M, Hertz MI. Bronchiolitis obliterans after human lung transplantation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2002, 166(4): 440-444.
- [13] Ruttman E, Geltner C, Bucher B, et al. Combined CMV prophylaxis improves outcome and reduces the risk for bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) after lung transplantation[J]. Transplantation, 2006, 81(10): 1415-1420.
- [14] Bonatti H, Tabarelli W, Ruttman E, et al. Impact of cytomegalovirus match on survival after cardiac and lung transplantation[J]. Am Surg, 2004, 70(8): 710-714.
- [15] Westall GP, Michaelides A, Williams TJ, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and early human cytomegalovirus DNAemia dynamics after lung transplantation [J]. Transplantation, 2003, 75(12): 2064-2068.

(收稿日期:2014-11-05)

(本文编辑:董文革)

·读者·作者·编者·

作者投稿须知

1. 按本刊要求写作:投稿请登录《中华血液学杂志》网站(<http://www.hematoline.com>),打开首页作者服务中心栏中的“投稿须知”及“写作指导”,对论文写作有明确要求。

2. 作者注册:请打开本刊网站首页在线办公中的“在线投稿”即进入中华医学会网站(<http://www.cma.org.cn>)。在网站首页注册并申请为杂志作者(用户名和密码为您在中华医学会统一的登录信息,请牢记!忘记密码可通过电子信箱索取)。

3. 投稿:注册成功后进入“业务中心”。点击【远程稿件管理系统】,相应的功能即显示在下方。点击“作者投稿”,按要求填写内容,摘要在字数允许范围内尽可能详细,并上传原稿(点击“暂存”稿件进入【我的草稿】模块)。选择《中华血液学杂志》,并点击“投稿”。

4. 邮寄纸稿及介绍信:请在投稿平台上下载论文投递介绍信及授权书,签字盖章后连同原稿打印件(注明稿件编号)一并寄至本刊编辑部。

本刊编辑部