

伴PNH克隆的骨髓增生异常综合征患者 临床和实验室特征分析

李艳 秦铁军 徐泽锋 张悦 王静雅 李冰 方力维 潘丽娟
胡耐博 张宏丽 曲士强 刘晋琴 王慧君 肖志坚

【摘要】 目的 分析伴阵发性睡眠性血红蛋白尿症克隆的骨髓增生异常综合征(MDS-PNH)患者的临床特征及PIG-A基因突变等实验室特征。方法 回顾性分析2013年8月至2015年8月诊治的218例MDS患者,其中经流式细胞术检出MDS-PNH 13例,选取同期17例再生障碍性贫血(AA)-PNH综合征患者及14例PNH患者,采用直接测序法分析PIG-A基因突变情况,比较各组患者的临床及实验室特征。结果 MDS-PNH患者在MDS患者中的比例为5.96%(218例中13例),其中9例MDS-PNH患者使用环孢素A(CsA)治疗,8例获得血液学改善(HI)。MDS-PNH患者粒、红细胞PNH克隆大小及LDH水平[分别为19.2%(1.0%~97.7%)、4.3%(0~67.2%)、246(89~2 014)U/L]与PNH患者[分别为60.2%(3.1%~98.0%)、27.9%(2.5%~83.6%)、1 137(195~2 239)U/L]比较差异均有统计学意义(P 值分别为0.026、0.007、0.049),与AA-PNH综合征患者[分别为23.2%(1.5%~96.0%)、14.4%(1.1%~62.8%)、406(192~1 148)U/L]比较差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)。7例MDS-PNH患者检测到PIG-A基因突变,错义突变6例,移码突变1例,4例患者有相同的突变,为c.356G>A(R119Q);9例AA-PNH综合征和11例PNH患者PIG-A基因突变,均存在c.356G>A(R119Q)。3组患者的PIG-A基因突变均为小克隆突变,以错义突变为主,59%(19/32)的突变发生在2号外显子。结论 MDS-PNH患者CsA治疗效果好,PNH克隆较小,基因突变主要集中在2号外显子,可能存在突变热点。

【关键词】 骨髓增生异常综合征; 血红蛋白尿,阵发性; 基因,PIG-A

基金项目:国家自然科学基金(81070403、81530008、81470297);高等学校博士学科点专项科研基金(20121106130005)

Clinical and laboratory characteristics in patients of myelodysplastic syndrome with PNH clones Li Yan, Qin Tiejun, Xu Zefeng, Zhang Yue, Wang Jingya, Li Bing, Fang Liwei, Pan Lijuan, Hu Naibo, Zhang Hongli, Qu Shiqiang, Liu Jinqin, Wang Huijun, Xiao Zhijian. State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Xiao Zhijian, Email: zjxiao@hotmail.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical, laboratory characteristics and PIG-A gene mutations in patients of myelodysplastic syndromes (MDS) with PNH clones. **Methods** 218 MDS patients diagnosed from August 2013 to August 2015 were analyzed. The PIG-A gene mutations were tested in 13 cases of MDS with PNH clones, 17 cases of AA-PNH and 14 cases of PNH selected contemporaneously by PCR and direct sequencing. **Results** 13(5.96%) MDS patients were detected with PNH clones (13/218 cases). 9 patients were treated with cyclosporin A (CsA). Patients showed hematological improvement (HI). There were significant differences between MDS-PNH and PNH patients in terms of granulocyte clone size, red cell clone size and LDH levels [19.2% (1.0%~97.7%) vs 60.2% (3.1%~98.0%), $P=0.007$; 4.3% (0~67.2%) vs 27.9% (2.5%~83.6%), $P=0.026$; 246(89~2 014) U/L vs 1 137(195~2 239) U/L, $P=0.049$], while the differences were not statistically significant in patients between MDS-PNH and AA-PNH patients [19.2% (1.0%~97.7%) vs 23.2% (1.5%~96.0%), $P=0.843$; 4.3% (0~67.2%) vs 14.4% (1.1%~62.8%), $P=0.079$; 246(89~2 014) U/L vs 406(192~1 148) U/L, $P=0.107$]. PIG-A gene mutations were detected in 7 MDS-PNH patients, of them, six were missense mutations, one

were frameshift mutation and four cases with the same mutation of c.356G>A (R119Q). The PIG-A gene mutations were also detected in 9/11 AA-PNH patients and 11/14 PNH patients, both of them had the mutation of c.356G>A (R119Q). The PIG-A gene mutations of MDS-PNH, AA-PNH, PNH patients were all small mutations, the majority of those (59%) were missense mutation and mainly located in exon 2. **Conclusion** MDS patients with PNH clones had better response to CsA, smaller PNH clone size. The PIG-A gene mutations of MDS-PNH patients mainly located in exon 2, which could be a mutational hotspot of these patients.

【Key words】 Myelodysplastic syndrome; Hemoglobinuria, paroxysmal; Gene, PIG-A

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81070403, 81530008, 81470297); Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (20121106130005)

骨髓增生异常综合征(MDS)、再生障碍性贫血(AA)和阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)同属骨髓衰竭性疾病^[1-4]。文献报道高达70%的AA患者可检测到PNH克隆,且在疾病演进过程中部分患者可演进为AA-PNH综合征,乃至进展为典型的PNH^[5-6]。10%~20%的MDS患者也可以检测到PNH克隆(MDS-PNH),但无一例进展为PNH^[7-8]。为了进一步明确MDS-PNH的临床和实验室特征,特别是PIG-A基因突变情况,我们回顾性分析了13例MDS-PNH患者临床和实验室特征,并与同期收治的17例AA-PNH综合征患者和14例PNH患者进行比较,现报道如下。

病例与方法

1. 病例:2013年8月至2015年8月我院MDS诊疗中心共收治MDS患者218例,其中伴PNH克隆患者13例。选取同期收治的17例AA-PNH综合征患者和14例PNH患者进行对照研究。诊断标准参考文献[9]。收集患者血常规、骨髓象和外周血涂片分类计数、骨髓活检切片形态学分析、染色体核型和生化等实验室资料。

2. 流式细胞术检测PNH克隆:取外周血10 μl,用PBS稀释至1 ml,加入CD235a-FITC(美国

Beckman Coulter公司产品)、CD59-PE(美国Invitrogen公司产品)抗体各10 μl混匀,室温避光孵育30 min, PBS洗涤2次,上FACS Calibur流式细胞仪(美国BD公司产品)检测,CD59阴性红细胞百分率即为红细胞PNH克隆大小。取外周血100 μl,加入嗜水气单胞菌溶素变形体(Flaer) Alexa 488-FITC(加拿大Pinewood Scientific Services公司产品)、CD24-PE(美国Beckman Coulter公司产品)、CD15-APC(美国BD公司产品)、CD45-PerCP(美国BD公司产品)抗体振荡混匀,室温避光孵育15 min,加入2 ml FACS溶血素(美国BD公司产品)混匀,避光孵育10 min, PBS洗涤2次,上机检测,CD24、Flaer双阴性粒细胞百分率即为粒细胞PNH克隆大小。采用CellQuest软件采集和分析所有患者PNH克隆水平。我院CD59阴性红细胞百分率及CD24、Flaer双阴性粒细胞百分率检测阈值为1%, ≥1%确认为PNH克隆阳性。

3. PIG-A基因突变分析:用血液基因组DNA提取试剂盒(杭州爱思进生物技术有限公司产品)提取骨髓细胞基因组DNA。PCR引物序列参照文献[10](表1)。PCR体系包括DNA 50~100 ng, 2×Taq PCR MasterMix[天根生化科技(北京)有限公司产品]15 μl, 正反向引物各0.5 μl, 加去离子水补足

表1 PIG-A基因引物序列、引物扩增位置、扩增条件、产物长度

引物名称	引物序列(5'→3')	位置	退火温度(°C)	扩增片段长度(bp)
PIG-A-2-1	上游引物:GTTTCTGAGCTGAGATCCTG	内含子1	58.8	513
	下游引物:GAGCATCATGGGCCATAGCA	外显子2	68.7	
PIG-A-2-2	上游引物:GTCATGTACAACCACTGCTAC	外显子2	50.6	490
	下游引物:GCCAAACAATCATTATATACAAG	内含子2	59.7	
PIG-A-3	上游引物:TGGATTCTCAGTCGTTCTGGTGA	内含子2	69.2	308
	下游引物:ATGCAGGAGAAGCAACACAC	内含子3	62.7	
PIG-A-4	上游引物:TCACTCCTTCTTCCCCTCTC	内含子3	64.7	202
	下游引物:AATCCCAACCATGAATGCCCTC	内含子4	72.0	
PIG-A-5	上游引物:TCTTCCTGAGGTATGATTATGGTG	内含子4	57.0	298
	下游引物:AAGAGTTCAGACACAATCTTTTCTC	内含子5	63.6	
PIG-A-6	上游引物:GGTCATTGTTATCATGGGACAG	内含子5	64.1	361
	下游引物:TCTTACAATCTAGGCTTCCTTC	外显子6	60.5	

体系至30 μl 。反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,59 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共35个循环,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。PCR产物经回收纯化后用ABI 3700测序仪(美国Agencourt Bioscience公司产品)以末端标记双脱氧法进行双向测序,采用Mutation Surveyor软件分析测序结果。根据分析结果确定患者的突变类型。

4. 环孢素A(CsA)治疗:9例伴PNH克隆的难治性血细胞减少伴多系发育异常(RCMD)患者使用CsA治疗。CsA的起始剂量为 $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,2周后检测CsA血药浓度,并根据血药浓度调整CsA剂量,维持谷浓度为100~200 $\mu\text{g/L}$,最终CsA的用量为 $3\sim 5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。治疗12周后未达血液学改善(HI)则改用其他方案,HI患者如无III级以上药物不良反应,持续服用至HI后进展或复发。按国际工作组(IWG)2006疗效评定标准^[11]判断疗效。

5. 所有病例随访至2015年12月1日,中位随访16(1~28)个月。总生存(OS)时间从确诊之日起至末次随访日止,死亡患者则计算至死亡日。随访资料来源于病历记录及对患者或家属的电话确认。

6. 统计学处理:应用SPSS 19.0软件进行统计学分析,连续变量组间比较采用Wilcoxon秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MDS-PNH患者临床特征:218例MDS患者中共检出MDS-PNH患者13例(5.96%),其中男8例,女5例,中位年龄37(15~64)岁。RCMD 12例,难治性贫血(RA)伴原始细胞增多II型(RAEB-II) 1例。9例患者有全血细胞减少,中位中性粒细胞绝对计数(ANC) $1.25(0.52\sim 6.30)\times 10^9/\text{L}$ 、中位HGB 79(47~125)g/L、中位PLT $55(2\sim 245)\times 10^9/\text{L}$ 。骨髓活检示增生活跃4例,增生大致正常7例,增生低下2例。13例MDS-PNH患者中3例有克隆性染色体异常。

2. PNH克隆大小:MDS-PNH、AA-PNH综合征、PNH患者的粒细胞PNH克隆中位数分别为19.2%(1.0%~97.7%)、23.2%(1.5%~96.0%)、60.2%(3.1%~98.0%),红细胞PNH克隆中位数分别为4.3%(0~67.2%)、14.4%(1.1%~62.8%)、27.9%(2.5%~83.6%),LDH中位数分别为246(89~2 014)U/L、406(192~1 148)U/L、1 137(195~2 239)U/L。MDS-PNH患者的粒细胞PNH克隆大小、红细胞PNH克隆大小及LDH水平与AA-PNH综合征患者

比较,差异均无统计学意义(P 值分别为0.834、0.079、0.107);与PNH患者比较,差异均有统计学意义(P 值分别为0.026、0.007、0.049)。

3. PIG-A基因突变分析:13例MDS-PNH患者中7例PIG-A基因突变,17例AA-PNH综合征患者中9例PIG-A基因突变,14例PNH患者中11例PIG-A基因突变(表2)。7例MDS-PNH患者包含6例碱基替换所致的错义突变,1例碱基缺失所致的移码突变,其中4例(例2、4、5、6)均为c.356G>A(R119Q)突变(图1表示例2的点突变测序,其他相同突变患者不再附图)。9例AA-PNH患者中7例为碱基替换所致的错义突变,2例为碱基复制所致的移码突变;2例(例8、14)为c.356G>A(R119Q)突变,2例(例10、12)同时存在两种突变。11例PNH患者中8例为碱基替换所致的错义突变,1例为无义突变,2例为碱基缺失所致的移码突变;1例(例21)为c.356G>A(R119Q)突变,3例(例21、24、26)同时存在2种突变。3组患者PIG-A基因突变均为单碱基突变,59%(19/32)基因突变发生在2号外显子。

4. 转归:9例RCMD患者使用CsA治疗,8例获HI,1例无效。9例患者治疗前HGB均 $<110\text{ g/L}$,治疗后5例获红系反应(HI-E);4例患者治疗前ANC $<1.0\times 10^9/\text{L}$,治疗后3例获中性粒细胞反应(HI-N);9例患者治疗前PLT均 $<100\times 10^9/\text{L}$,治疗后8例获得血小板反应(HI-P)。3例接受达那唑、EPO等治疗的RCMD患者均获HI。1例RAEB-II患者随访20个月后转为急性髓系白血病。13例MDS-PNH患者中位随访16(1~28)个月,2例死亡,11例存活。

讨 论

PNH是一种后天获得性造血干细胞基因突变引起的溶血病,PIG-A基因突变致使糖基磷脂酰肌醇锚蛋白(GPI-AP)缺失(CD55、CD59),血细胞表面补体敏感性增高,进而发生血细胞溶血等多种临床表现^[4]。已有多个中心报道在MDS、AA中可检测PNH克隆^[5-8]。

本研究中MDS-PNH患者比例为5.96%(218例中13例),高于Raza等^[12]报道的1.1%,但低于Wang等^[13]报道的12.8%,这可能与研究人群不同、流式细胞术检测灵敏度不同有关。文献[5,13-14]报道伴PNH的MDS患者诊断以RA居多,主要有以下特点:骨髓增生低下、细胞遗传学多正常、中到重度血小板减少、免疫抑制治疗疗效较好。MDS-PNH最常见的临床表现为血细胞减少而非白血病特征^[15]。

表2 27例MDS-PNH、AA-PNH、PNH患者PIG-A基因突变情况

例号	诊断	外显子	密码子	突变位置及类型	突变结果
1	MDS-PNH	2	176	c.527delG	移码突变
2	MDS-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
3	MDS-PNH	2	122	c.365T>A	缬氨酸→天冬氨酸
4	MDS-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
5	MDS-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
6	MDS-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
7	MDS-PNH	6	461	c.1382G>A	精氨酸→谷氨酸
8	AA-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
9	AA-PNH	5	378	c.1132C>A	组氨酸→天冬酰胺
10	AA-PNH	2,2	79,112	c.235G>A,334T>A	甘氨酸→丝氨酸、亮氨酸→甲硫氨酸
11	AA-PNH	2	239	c.715G>C	甘氨酸→谷氨酸
12	AA-PNH	2,6	183,471	c.548G>T,1413T>A	半胱氨酸→苯丙氨酸、丝氨酸→精氨酸
13	AA-PNH	2	47	c.141dupA	移码突变
14	AA-PNH	2	119	c.356G>A	精氨酸→谷氨酰胺
15	AA-PNH	4	316	c.947T>A	甲硫氨酸→赖氨酸
16	AA-PNH	2	35	c.103dupA	移码突变
17	PNH	2	188	c.564T>G	丝氨酸→精氨酸
18	PNH	3	277	c.831delA	移码突变
19	PNH	4	306	c.918delG	移码突变
20	PNH	2	239	c.716G>A	甘氨酸→谷氨酰胺
21	PNH	2,6	119,439	c.356G>A,1316T>C	精氨酸→谷氨酰胺、亮氨酸→脯氨酸
22	PNH	3	244	c.732T>A	丝氨酸→精氨酸
23	PNH	5	387	c.1160G>A	无义突变
24	PNH	6,6	409,413	c.1226T>A,1238T>A	甲硫氨酸→赖氨酸、亮氨酸→谷氨酰胺
25	PNH	5	397	c.1189G>A	缬氨酸→异亮氨酸
26	PNH	2,4	233,316	c.698G>T,947T>A	精氨酸→异亮氨酸、甲硫氨酸→赖氨酸
27	PNH	2	188	c.564T>G	丝氨酸→精氨酸

注:PNH:阵发性睡眠性血红蛋白尿症;MDS-PNH:伴PNH克隆的骨髓增生异常综合征;AA-PNH:再生障碍性贫血-PNH综合征

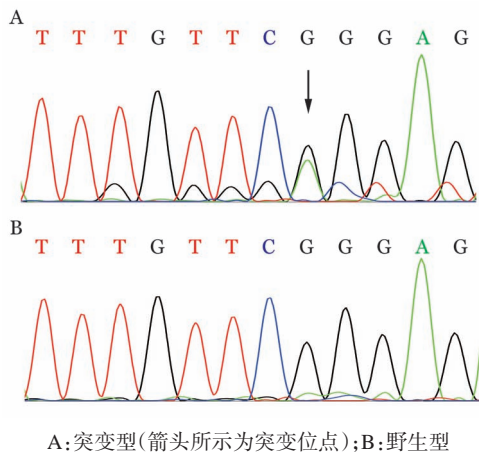


图1 例2 PIG-A基因c.356G>A(R119Q)突变直接测序图

本组13例患者中,9例表现为全血细胞减少,3例染色体核型异常,与上述文献报道一致;但本组13例患者中,12例为RCMD,1例为RAEB-II,未见RA患者,与上述文献报道不一致。存在PNH克隆对MDS患者生存的影响目前尚无定论,在日本人群中MDS-PNH患者预后好,12例患者CsA治疗后9例获得HI^[13];然而在美国人群中MDS-PNH患者并无生存优势^[16]。本研究结果亦显示CsA疗效好,9例

患者CsA治疗后8例获得HI。

本组研究中,MDS-PNH患者的粒细胞克隆大小、红细胞克隆大小及LDH水平与AA-PNH综合征患者差异无统计学意义,但均小于PNH患者,说明PNH克隆大小与溶血程度密切相关,与文献^[17-18]报道一致。

PIG-A基因位于体细胞X染色体(Xp22.1),由6个外显子组成,全长17 kb,cDNA编码区共1455 bp,编码484个氨基酸,起始密码子位于2号外显子5'端,终止密码子位于6号外显子3'端,参与GPI生物合成的第一步^[19]。截至1997年,Luzzatto等^[20]汇总多中心的研究结果,报道在PNH患者中已经检出100多种PIG-A基因突变,突变类型包括移码突变、错义突变、无义突变、剪接体突变等,以小片段插入缺失导致的移码突变为主,有少部分基因复制及大片段的缺失,突变位点随机分布,无突变热点存在,错义突变集中分布在2号外显子,同一PNH患者可检测到2种及2种以上PIG-A基因突变。MDS-PNH、AA-PNH综合征患者存在与PNH患者相似的PIG-A突变类型,移码突变最为常见,2种及2种以上基因突变并存并不罕见^[13,21]。而Wang等^[13]研究

发现,伴PNH克隆的RA患者的PIG-A基因突变主要集中在4、5号外显子。本研究中,MDS-PNH与AA-PNH综合征、PNH患者基因突变均为小突变,错义突变集中分布在2号外显子,3例AA-PNH综合征、2例PNH患者同时检出2种基因突变,与上述文献报道一致。MDS-PNH患者未见2种及2种以上基因突变并存,可能与病例数较少有关。本组MDS-PNH、AA-PNH综合征及PNH患者均以错义突变为主,与上述文献报道不一致。Mortazavi等^[21]报道40例AA患者中15例均有2号外显子662~666 nt处5 bp(GTACT)缺失,证实AA-PNH综合征患者存在突变热点。目前在MDS-PNH及PNH患者中,尚无此类报道^[13,20]。而我们的研究中,7例MDS-PNH患者中4例检出c.356G>A(R119Q)突变,另有2例AA-PNH综合征、1例PNH患者也检出c.356G>A(R119Q)突变,此基因突变可能为突变热点,需要增加样本量,用多种基因测序方法进一步验证。本研究中,部分MDS-PNH患者未检测到基因突变且基因突变主要为错义突变而非移码突变,其原因可能为我们的标本均为冻存骨髓而非新鲜外周血,在对DNA进行抽提前未能对GPI-AP缺陷单个核细胞进行分选,大部分患者的骨髓单个核细胞为正常细胞,缺陷单个核细胞只占很少比例,在进行PCR的过程中,PIG-A基因插入缺失突变的DNA模板很有可能因为含量较少受到正常模板的竞争抑制,其扩增效率明显低于正常模板。

参考文献

- [1] Stone RM. How I treat patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2009, 113(25):6296-6303. doi: 10.1182/blood-2008-09-038935.
- [2] Brodsky RA, Jones RJ. Aplastic anaemia [J]. *Lancet*, 2005, 365(9471):1647-1656. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66515-4.
- [3] Brodsky RA. Narrative review: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia [J]. *Ann Intern Med*, 2008, 148(8):587-595.
- [4] Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *Blood*, 2014, 124(18):2804-2811. doi: 10.1182/blood-2014-02-522128.
- [5] Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: stem cells and clonality [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2008:111-115. doi: 10.1182/asheducation-2008.1.111.
- [6] Pu JJ, Mukhina G, Wang H, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients presenting as aplastic anemia [J]. *Eur J Haematol*, 2011, 87(1): 37-45. doi:10.1111/j.1600-0609.2011.01615.x.
- [7] Scheinberg P, Marte M, Nunez O, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in severe aplastic anemia patients treated with horse anti-thymocyte globulin plus cyclosporine [J]. *Haematologica*, 2010, 95(7):1075-1080. doi: 10.3324/haematol.2009.017889.
- [8] de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories [J]. *Blood*, 2008, 112(8):3099-3106. doi: 10.1182/blood-2008-01-133918.
- [9] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征诊断与治疗专家共识 [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(4):347-352. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.04.028.
- [10] Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, et al. PIG-A mutations in normal hematopoiesis [J]. *Blood*, 2005, 105(10):3848-3854. doi: 10.1182/blood-2004-04-1472.
- [11] Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia [J]. *Blood*, 2006, 108(2):419-425. doi: 10.1182/blood-2005-10-4149.
- [12] Raza A, Ravandi F, Rastogi A, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2014, 86(3):175-182. doi: 10.1002/cyto.b.21139.
- [13] Wang H, Chuhjo T, Yasue S, et al. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome [J]. *Blood*, 2002, 100(12):3897-3902. doi: 10.1182/blood-2002-03-0799.
- [14] Wang SA, Pozdnyakova O, Jorgensen JL, et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases, with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats [J]. *Haematologica*, 2009, 94(1):29-37. doi: 10.3324/haematol.13601.
- [15] Young NS. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelodysplastic syndromes: clonal expansion of PIG-A-mutant hematopoietic cells in bone marrow failure [J]. *Haematologica*, 2009, 94(1): 1-7. doi:10.3324/haematol.2008.001297.
- [16] Sloand EM, Wu CO, Greenberg P, et al. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(15):2505-2511. doi: 10.1200/JCO.2007.11.9214.
- [17] 邹农, 韩冰, 蔡昊, 等. 76例阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者临床特点分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(6):471-474. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.06.01.
- [18] Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays [J]. *Br J Haematol*, 2004, 126(1):133-138. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.04992.x.
- [19] Miyata T, Takeda J, Iida Y, et al. The cloning of PIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis [J]. *Science*, 1993, 259(5099):1318-1320.
- [20] Luzzatto L, Bessler M, Rotoli B. Somatic mutations in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a blessing in disguise? [J]. *Cell*, 1997, 88(1):1-4.
- [21] Mortazavi Y, Merk B, Mcintosh J, et al. The spectrum of PIG-A gene mutations in aplastic anemia/paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (AA/PNH): a high incidence of multiple mutations and evidence of a mutational hot spot [J]. *Blood*, 2003, 101(7): 2833-2841.

(收稿日期:2015-12-17)

(本文编辑:刘爽)