

表现为大细胞性贫血的再生障碍性贫血患者长期随访研究

李英梅 李星鑫 孙慧 孙玲 万鼎铭 刘林湘
陈胜梅 陈绍倩 刘少君 郑以州 邹典斌

【摘要】目的 探讨表现为大细胞性贫血的再生障碍性贫血(AA)患者的临床特征。**方法** 回顾性分析 2000 年 1 月至 2011 年 10 月 568 例大细胞性贫血 AA(mAA)患者的临床资料。**结果** ①568 例初诊 AA 患者中 153 例(26.9%)为 mAA,其中非重型 AA(NSAA)114 例(74.5%)、重型 AA(SAA)39 例(25.5%)、超重型 AA(VSAA)0 例;而 376 例正细胞性贫血 AA(nAA)患者中 NSAA、SAA、VSAA 比例分别为 16.2%、45.2%、38.6%($\chi^2 = 181.390; P = 0.000$)。mAA 患者中位年龄明显高于 nAA 组[30(4~70)岁对 19(3~68)岁, $P = 0.001$]。②NSAA、SAA 组 mAA 与 nAA 患者的 HGB、中性粒细胞绝对值、血小板计数、6 个月疗效、总体生存(OS)率差异均无统计学意义。但 SAA 组 mAA 患者的外周血中位网织红细胞计数(Ret)显著高于 nAA 患者[23.90(2.99~61.00) $\times 10^9/L$ 对 13.10(0~70.60) $\times 10^9/L$, $P = 0.000$],骨髓红系比例中位值亦高于 nAA[0.235(0~0.580)对 0.145(0~0.650), $P = 0.043$];而 NSAA 组 mAA 患者外周血 Ret、骨髓红系比例比较差异均无统计学意义。③mAA、nAA 组患者初诊时 PNH 克隆阳性、染色体异常患者的比例比较,差异均无统计学意义。随访 153 例 mAA、376 例 nAA 患者中分别有 7、9 例转化为 PNH($\chi^2 = 1.099, P = 0.294$),3、13 例转化为骨髓增生异常综合征/急性髓系白血病($\chi^2 = 0.399, P = 0.528$),差异均无统计学意义。**结论** 与 nAA 患者比较,mAA 患者发病年龄偏大,NSAA 比例、外周血 Ret 水平及骨髓红系比例较高,但治疗反应、OS 率及克隆性疾病转化率差异无统计学意义。

【关键词】 贫血,再生障碍性; 贫血,大细胞性; 克隆性演变

Aplastic anemia with macrocytic anemia: a study based on long-term follow-up Li Ying-mei*, LI Xing-xin, SUN Hui, SUN Ling, WAN Ding-ming, LIU Lin-xiang, CHEN Sheng-mei, CHEN Shao-qian, LIU Shao-jun, ZHENG Yi-zhou, ZOU Dian-bin. * Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China.

Corresponding author: SUN Hui, Email: sunhui371@medmail.com.cn

【Abstract】Objective To elucidate the clinical features, response rate, prognosis and clonal evolution of aplastic anemia(AA) with macrocytic anemia(mAA). **Methods** The clinical features at initial diagnosis and datas in follow up of mAA hospitalized from January 2000 to October 2011 were analyzed retrospectively. **Results** ① Of 153/568 (26.9%) cases of mAA at initial diagnosis, 114(74.5%) were non-severe AA(NSAA), 39(25.5%) severe AA(SAA) and 0 very severe AA(VSAA), while the proportion was 16.2%, 45.2%, and 38.6% in 376 normocytic anemia AA(nAA), and the difference is statistically significant($\chi^2 = 181.390; P = 0.000$). The median age of mAA was significantly higher than that of nAA[30(4~70)years vs 19(3~68)years, $P = 0.001$]. ② There were no statistical difference in hemoglobin, absolute neutrophil count(ANC), platelet count(PLT), response rate after 6 months treatment and overall survival(OS) between mAA and nAA grouped in SAA and NSAA respectively. In SAA, the reticulocyte count(Ret) of mAA was significantly higher than that of nAA[23.90(2.99~61.00) $\times 10^9/L$ vs 13.1(0~70.60) $\times 10^9/L$, $P = 0.000$] and the proportion of erythroid cells in bone marrow of mAA was also higher[23.5(0~58) vs 14.5(0~65), $P = 0.043$], while they did not differ significantly in NSAA. ③ The proportion of AA with PNH clones or abnormal cytogenetics did not differ significantly in mAA and nAA groups before treatment. The incidences of AA evolved to PNH in mAA and nAA was not statistically significant(7/153 vs

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.02.007

作者单位:450052 郑州大学第一附属医院血液内科(李英梅、孙慧、孙玲、万鼎铭、刘林湘、陈胜梅、陈绍倩、刘少君、邹典斌);中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所血液病医院(李星鑫、郑以州)

通信作者:孙慧,Email:sunhui371@medmail.com.cn

中华血液学杂志

www.hematology.com

9/376, $\chi^2 = 1.099, P = 0.294$) and so was the incidence of evolution to MDS/AML (3/153 vs 13/376, $\chi^2 = 0.399, P = 0.528$). **Conclusion** In presented with macrocytic anemia at initial diagnosis of AA, higher proportion of NSAA, elderly age, higher Ret and proportion of erythroid cells are features, but being no statistical difference in the response rate, OS, and proportion of clonal evolution.

【Key words】 Anemia, aplastic; Anemia, macrocytic; Clonal evolution

再生障碍性贫血(AA)多为正色素性正细胞性贫血。部分AA患者平均红细胞体积(MCV)升高,表现为大细胞性贫血。此类AA患者的临床特征、治疗反应、预后及远期并发症等尚缺乏大样本研究资料。我们分析2000年1月至2011年10月共568例AA患者的临床资料及治疗后随访情况,报告如下。

病例和方法

一、病例

2000年1月至2011年10月在中国医学科学院血液学研究所、血液病医院和郑州大学第一附属医院住院治疗的AA患者568例,诊断标准符合文献[1]。其中非重型AA(NSAA)175例、重型AA(SAA)216例、超重型AA[VSAA,中性粒细胞绝对值(ANC) $< 0.2 \times 10^9/L$]177例。平均红细胞体积(MCV)大于100 fl者为大细胞性贫血(mAA),80~100 fl者为正细胞性贫血性AA(nAA),小于80 fl者为小细胞性贫血性AA。排除标准包括:①初诊时Ham试验阳性;②临床或实验室检查显示溶血证据;③外周血和(或)骨髓CD55⁻/CD59⁻细胞比例大于20%。

二、治疗方案

1. 免疫抑制治疗方案:①环孢素(CsA)联合雄激素:CsA 3~5 mg·kg⁻¹·d⁻¹口服;司坦唑醇 0.1~0.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹或十一酸睾酮 2.0~4.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹口服。根据CsA血药浓度、血清肌酐及肝功能调节药物剂量。②抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)联合CsA:兔ATG(德国Fresenius或法国Sangstat公司产品)3.5~5.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹,第1~5天,缓慢静脉输注;泼尼松 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹,第1~15天(第1~5天静脉输注等效剂量地塞米松或氢化可的松),如无严重血清病反应,16 d后开始逐渐减量,至第30天停用。ATG治疗后第16天始用CsA,用法同上。

2. 基础与支持治疗:叶酸 0.25~0.50 mg·kg⁻¹·d⁻¹;维生素B₁₂ 10 μg·kg⁻¹·d⁻¹,每周1~3次。输注浓缩红细胞与单采血小板以维持患者HGB ≥ 70 g/L,PLT $\geq 10 \times 10^9/L$ 。

3. 维持治疗:所有治疗有效病例继续以CsA及雄激素维持治疗2年或以上,每3~6个月随访1次,药物逐渐减量、停药。

三、疗效判定

参照文献[1]判定疗效:无效(NR)、部分缓解(PR)、完全缓解(CR)和基本治愈;早期死亡者判定为NR。

四、克隆性演变的定义

临床型阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的诊断标准为Ham试验阳性和(或)2系血细胞CD55/CD59阳性率小于80%、伴临床或实验室检查相关的溶血证据。PNH克隆定义为粒细胞和(或)红细胞CD55/CD59阳性率小于95%。AA转化为骨髓增生异常综合征(MDS)或急性髓系白血病(AML)者,按照文献[2-3]标准诊断MDS/AML。

五、随访

每3~6个月对患者的病情进行1次评估,观察项目包括血常规、骨髓象、骨髓病理学检查、染色体核型分析、骨髓细胞白血病免疫分型、治疗反应、肝肾功能、乳酸脱氢酶(LDH)、Ham试验、红细胞和粒细胞CD55/CD59表达水平等。随访终点为死亡或2012年5月,本组患者中位随访时间为44(1~148)个月。

六、统计学处理

所有统计学处理均应用SPSS13.0软件完成。组间率的比较采用 χ^2 检验;总体生存(OS)率用Kaplan-Meier法分析;组间比较用Log-rank检验;危险因素分析用COX回归模型。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、初诊mAA患者的临床特征

1. 一般情况:568例初诊AA患者中153例(26.9%)为mAA,39例(6.9%)为小细胞性贫血,376例(66.2%)为nAA。mAA中100 fl $<$ MCV \leq 110 fl者106例(69.3%)、110 fl $<$ MCV \leq 120.00 fl 43例(28.1%)、120 fl $<$ MCV \leq 129.50 fl 4例(2.6%)。mAA患者中男性占60.8%,与nAA(61.7%)比较差异无统计学意义($P = 0.844$);mAA

中位年龄 30(4~70)岁,显著高于 nAA 组[19(3~68)岁, $P = 0.001$]。病因分析:原发性 mAA 占 89.5%,肝炎后、化学物质及药物、其他(放射线、妊娠等)分别占 1.3%、3.9%、5.2%;而 nAA 组上述病因所占比例分别为 82.7%、8.8%、7.4%、1.1%,两组差异有统计学意义($P = 0.000$)。

2. 血常规特点:153 例 mAA 患者中 NSAA 114 例(74.5%)、SAA 39 例(25.5%),VSAA 0 例;而 376 例 nAA 患者中 NSAA、SAA、VSAA 分别占 16.2%、45.2%、38.6%,两组差异有统计学意义($\chi^2 = 181.390, P = 0.000$)。分别比较 NSAA、SAA 中 mAA 与 nAA 患者 HGB、网织红细胞计数(Ret)、ANC、血小板计数,除 Ret 外差异均无统计学意义(表 1)。SAA 患者中 mAA 组中位 Ret 为 23.90(2.99~61.00) $\times 10^9/L$,显著高于 nAA 组[13.1(0~70.60) $\times 10^9/L, P = 0.000$]。NSAA 患者中 mAA 与 nAA 组中位 Ret 分别为 41.70(2.30~83.00) $\times 10^9/L$ 、35.64(3.49~79.00) $\times 10^9/L$,差异无统计学意义($P = 0.219$)。

3. 骨髓象:SAA 患者中 mAA 组骨髓红系比例高于 nAA 组,而 NSAA 骨髓红系比例 2 组差异无统计学意义(表 1)。分别比较 SAA/NSAA 大细胞贫血组与正细胞贫血组骨髓粒系比例、巨核细胞数、祖细胞培养形成集落数(BFU、CFU-E、CFU-GM、CFU-MIX),差异均无统计学意义。

4. PNH 克隆:153 例 mAA 患者中有 129 例初诊时检测了红细胞/粒细胞 CD55/CD59 的表达,PNH

克隆阳性者 18 例(13.95%),而 nAA 患者中 45 例(13.43%)阳性,两组差异无统计学意义($P = 0.883$)。

5. 染色体核型分析:mAA 及 nAA 患者中分别有 135 例、281 例初诊时成功进行了 15 个中期分裂相的染色体核型分析,各有 4 例核型异常,两组核型异常率差异无统计学意义($\chi^2 = 0.475, P = 0.491$)。nAA 组异常核型为:t(1;5)、-18、inv(2)、t(6;13)各 1 例;而 mAA 组异常核型为:15P+2 例,rob(13;14)、del(1)(q23)、+r 各 1 例。此 8 例患者中位随访时间 72(12~142)个月,均未转化为 MDS/AML。

6. 血生化检查:153 例 mAA 患者中 136 例、376 例 nAA 患者中 344 例行血清叶酸和 VitB₁₂ 检测,血清叶酸降低者分别为 8 例(5.88%)、34 例(9.88%),差异无统计学意义($P = 0.162$);血清 VitB₁₂ 降低者分别为 16 例(11.76%)、40 例(11.63%),差异亦无统计学意义($P = 0.966$)。mAA 组患者间接胆红素偏高及血清铁降低患者的比例与 nAA 组比较差异亦无统计学意义(14.82%对 17.02%, $P = 0.560$; 1.55%对 0.91%, $P = 0.924$)。

二、mAA 的治疗反应、OS 及克隆性演变

1.6 个月治疗反应:SAA 中 mAA 组有效率 69.2%,nAA 组为 60.6%,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.008, P = 0.315$)。NSAA 中 mAA 和 nAA 组有效率分别为 74.6%和 73.8%,差异亦无统计学意义($\chi^2 = 0.013, P = 0.909$)。

表 1 大细胞贫血再生障碍性贫血(mAA)与正细胞贫血再生障碍性贫血(nAA)患者的临床特征分析

组别	例数	诊断[例(%)]			HGB 中位数(g/L)		Ret 中位数($\times 10^9/L$)	
		VSAA	SAA	NSAA	SAA	NSAA	SAA	NSAA
mAA	153	0	39 (25.5)	114 (74.5)	57.0 (22.0~111.0)	73.5 (23.0~150.0)	23.90 (2.99~61.00)	41.70 (2.30~83.00)
nAA	376	145 (38.6)	170 (45.2)	61 (16.2)	61 (27.0~123.0)	72.0 (28.0~135.0)	13.10 (0~70.60)	35.64 (3.49~79.00)
P 值		0.000	0.000	0.000	0.242	0.748	0.000	0.219

组别	例数	ANC($\times 10^9/L$)		PLT 中位数($\times 10^9/L$)		骨髓红系比例	
		SAA	NSAA	SAA	NSAA	SAA	NSAA
mAA	153	0.46 (0.21~2.59)	1.17 (0.36~3.52)	10 (4~38)	19 (2~84)	0.235 (0~0.580)	0.195 (0~0.620)
nAA	376	0.41 (0.14~2.64)	1.11 (0.30~4.10)	10 (1~66)	21 (2~75)	0.145 (0~0.650)	0.215 (0~0.640)
P 值		0.070	0.489	0.713	0.649	0.043	0.602

注:ANC:中性粒细胞绝对值;VSAA:超重型再生障碍性贫血;SAA:重型再生障碍性贫血;NSAA:非重型再生障碍性贫血

2. 生存分析:nAA 与 mAA 组 NSAA 患者 5 年生存率分别为(96.6 ± 2.4)%、(90.3 ± 3.6)%, 差异无统计学意义($P = 0.486$) (图 1)。SAA 患者中 nAA 5 年生存率为(84.2 ± 3.4)%, mAA 组为(93.2 ± 4.7)%, 差异亦无统计学意义($P = 0.237$) (图 2)。COX 回归模型分析死亡的危险因素, 纳入分析的变量包括性别、年龄、初诊时 PNH 克隆是否阳性、是否用 ATG 治疗、大细胞贫血/正细胞贫血、疾病严重程度(VSAA/SAA/NSAA)。分析结果显示生存仅与疾病严重程度相关($P = 0.000$), 大细胞性贫血与预后无关($P = 0.271$)。

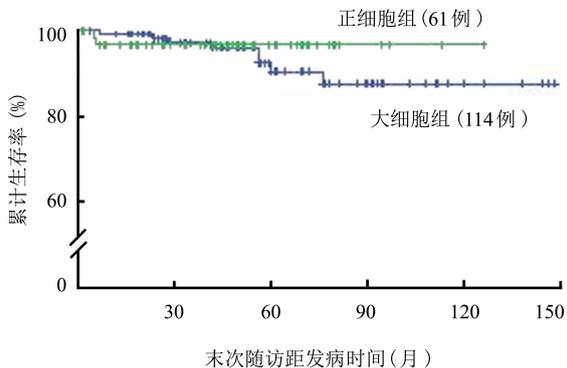


图 1 大细胞贫血与正细胞贫血非重型再生障碍性贫血患者生存分析

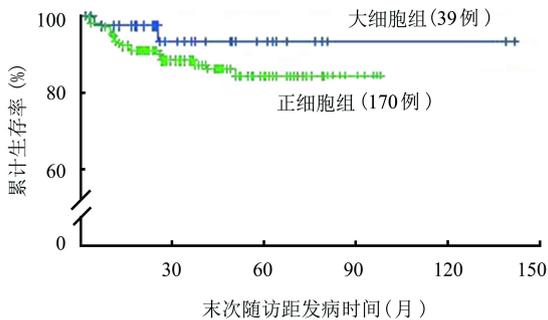


图 2 大细胞贫血与正细胞贫血重型再生障碍性贫血患者生存分析

3. 转化为克隆性疾病:153 例 mAA 患者中有 7 例、376 例 nAA 患者中有 9 例转为 PNH, 差异无统计学意义($\chi^2 = 1.099, P = 0.294$); 而转化为 MDS/AML mAA 与 nAA 分别为 3 例和 13 例, 差异亦无统计学意义($\chi^2 = 0.399, P = 0.528$)。

讨 论 中华血液学杂志

AA 多表现为正细胞正色素性贫血, 而大细胞性贫血多见于巨幼细胞贫血、溶血性贫血及 MDS。

但临床上 mAA 并不少见, 对此类 AA 患者的临床特点、预后及是否存在误诊等情况尚缺乏大样本的文献报道。我们分析了近 10 余年 568 例住院 AA 患者, 发现 26.9% (153 例) 为 mAA, 以 MCV 轻度增高为主 (100 fl < MCV ≤ 110 fl 者占 69.3%), MCV 大于 120 fl 者仅 4 例 (2.6%)。田永军等^[4] 分析了 156 例 AA 患者的特征, 发现 NSAA 患者平均 MCV 为 (106.32 ± 5.76) fl, SAA 患者为 (83.56 ± 4.59) fl。本研究中 175 例 NSAA 患者中位 MCV 为 103.30 (84.00 ~ 129.50) fl, 而 216 例 SAA、177 例 VSAA 分别为 92.68 (62.80 ~ 120.30) fl 和 84.60 (71.60 ~ 98.80) fl。我们的研究中发现小部分 (5.9%、11.9%) mAA 患者叶酸、维生素 B12 缺乏, 与 nAA 患者相似, 骨髓检查及长期随访结果确定不存在误诊情况。

另外, 我们发现 mAA 患者发病年龄较 nAA 偏大, 且以 NSAA 明显 [31 (5 ~ 67) 岁对 18.5 (3 ~ 67) 岁, $P = 0.022$]。尽管 SAA 中 mAA 患者骨髓红系比例、Ret 偏高, 但 PNH 克隆阳性患者的比例、间接胆红素增高的患者比例与 nAA 相比差异无统计学意义, 不存在溶血的确切证据。

AA 呈大细胞性贫血的机制尚不明确。早期研究已证实 AA 患者 EPO、G-CSF 等多种造血刺激因子水平升高^[5]。有学者认为大的红细胞与 AA 患者体内 EPO 水平增高, 刺激残余的幼红细胞快速增殖、成熟, 或者存在异常克隆有关^[6]。

本研究中 nAA 患者染色体核型异常比例为 2.96%, mAA 组为 1.42%, 但差异无统计学意义, 这些患者长期随访并未转化为典型 MDS。Kojima 等^[7] 报道 109 例 AA 患者中 3 例 (2.9%) 初诊时存在细胞遗传学异常, 随访 3.2 年无克隆性疾病发生。另有报道 159 例 AA 患者中 (4.4%) 初诊时存在细胞遗传学异常, 其中 4 例免疫抑制治疗有效, 随访期间未见细胞形态学改变^[8]。此类 AA 的诊断既往存在争议, 部分学者认为发现细胞遗传学异常即应诊断为 MDS。新近中华医学会血液学分会^[2] 及 2008 年 WHO^[3] 均对此问题作出较明确的界定, 并非所有染色体异常均倾向于诊断 MDS, 仅部分重现性染色体异常有助于确诊 MDS, 如 -7、7q-、-5、5q-、-13、13q-、11q-、12p-、t(11;16)、t(3;21)、t(1;3)、t(2;11)、inv(3) 等。

常规核型分析、荧光原位杂交技术或 SNP 微点阵核型分析等均证实 AA 患者初诊时存在克隆造血可能为造血衰竭基础上的寡克隆扩增, 流式细胞术

检测发现的小 PNH 克隆亦应属于此范畴。这些克隆常不稳定,随病程进展可以变小、消失、重现,呈动态改变,但多与进展为克隆性疾病无关^[9-12]。这些克隆造血与 MCV 升高的关系尚不明确。我们的研究中 mAA 与 nAA 组均存在一定比例的伴 PNH 克隆或异常核型患者,故不能确定其相关性。

参考文献

- [1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准. 3 版. 北京:科学出版社,2007:19-23.
- [2] 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. 中华血液学杂志,2012, 33:347-352.
- [3] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood, 2009,114: 937-951.
- [4] 田永军,胡慧萍,刘建梅,等. 156 例再生障碍性贫血临床分. 实用诊断与治疗杂志,2007,21:466-468.
- [5] Kojima S, Matsuyama T, Kodaera Y. Circulating erythropoietin in patients with acquired aplastic anaemia. Acta Haematol, 1995, 94:117-122.
- [6] Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, et al. Williams Hematology.

6th ed. New York:The McGraw-Hill Companies, 2000:328.

- [7] Kojima S, Hibi S, Kosaka Y, et al. Immunosuppressive therapy using antithymocyte globulin, cyclosporine, and danazol with or without human granulocyte colony-stimulating factor in children with acquired aplastic anemia. Blood, 2000, 96:2049-2054.
- [8] Ohga S, Ohara A, Hibi S, et al. Treatment responses of childhood aplastic anaemia with chromosomal aberrations at diagnosis. Br J Haematol, 2002, 118:313-319.
- [9] Afable II MG, Tiu RV, Maciejewski JP. Clonal Evolution in Aplastic Anemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2011:90-95.
- [10] Bagby GC, Meyers G. Bone marrow failure as a risk factor for clonal evolution: prospects for leukemia prevention. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2007: 40-46.
- [11] 李英梅,李星鑫,葛美丽,等. 应用间期荧光原位杂交研究再生障碍性贫血单体 7 克隆性演变. 中华血液学杂志,2010, 31:688-692.
- [12] 李英梅,李星鑫,葛美丽,等. 再生障碍性贫血阵发性睡眠性血红蛋白尿症克隆演变的临床意义. 中华血液学杂志,2012, 33:117-122.

(收稿日期:2012-06-21)

(本文编辑:董文革)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

2013 年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

磷酸盐缓冲液 PBS

胎牛血清 FBS

血红蛋白 HGB

白细胞计数 WBC

血小板计数 PLT

核因子- κ B NF- κ B

聚合酶链反应 PCR

逆转录-聚合酶链反应 RT-PCR

酶联免疫吸附实验 ELISA

动脉血氧分压 PaO_2

动脉血二氧化碳分压 $PaCO_2$

辅助性 T 淋巴细胞 Th

丙氨酸转氨酶 ALT

天冬氨酸转氨酶 AST

谷氨酰转移酶 GGT

碱性磷酸酶 ALP

乳酸脱氢酶 LDH

凝血酶原时间 PT

部分凝血酶原时间 APTT

EB 病毒 EBV

巨细胞病毒 CMV

乙型肝炎病毒 HBV

丙型肝炎病毒 HCV

人类免疫缺陷病毒 HIV

自然杀伤细胞 NK 细胞

白细胞介素 IL

干扰素 IFN

肿瘤坏死因子 TNF

红细胞生成素 EPO

血小板生成素 TPO

干细胞生长因子 SCF

粒细胞集落刺激因子 G-CSF

粒-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF

巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF

链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶 S-P

粒-巨噬细胞集落形成单位 CFU-GM

细胞毒性 T 淋巴细胞 CTL

佛波醇酯 TPA

噻唑蓝实验 MTT 实验

弥漫性血管内凝血 DIC

磁共振成像 MRI

乙二胺四乙酸 EDTA

本刊编辑部

中华血液学杂志
www.hematoline.com