

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.08.1053

• 病例报告 •

## Rh 血型不合异基因造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血 1 例报告

杨丹<sup>1</sup>, 王丽炳<sup>1</sup>, 王健民<sup>1</sup>, 钱宝华<sup>2</sup>, 罗艳蓉<sup>1</sup>, 章卫平<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院血液科, 全军血液病研究所, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院输血科, 上海 200433

[关键词] Rh 血型不合; 重型再生障碍性贫血; 异基因造血干细胞移植

[中图分类号] R 556.5

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2016)08-1053-03

### Treatment of severe aplastic anemia with Rh-incompatible allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a case report

YANG Dan<sup>1</sup>, WANG Li-bing<sup>1</sup>, WANG Jian-min<sup>1</sup>, QIAN Bao-hua<sup>2</sup>, LUO Yan-rong<sup>1</sup>, ZHANG Wei-ping<sup>1\*</sup>

1. Department of Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases of PLA, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Blood Transfusion, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Key words] Rh incompatibility; severe aplastic anemia; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(8): 1053-1055]

**1 病例资料** 患者,女,46岁,2013年4月始出现月经量增多,开始未予重视。2013年7月因“头晕、乏力反复”至当地医院就诊,血常规示:WBC  $(1.40\sim 3.08)\times 10^9/L$ 、Hb 74~86 g/L、PLT  $(25\sim 60)\times 10^9/L$ 。进一步行骨髓检查,骨髓细胞形态学提示“骨髓增生减低,粒红比例减低,巨核细胞全片 0~1 个”,骨髓活检病理示“骨髓造血组织增生减低,脂肪细胞明显增多”,染色体“46,XX”,诊断为“再生障碍性贫血”。2013年9月初开始予环孢素A(cyclosporin A,CsA)200 mg/d口服治疗,期间曾反复多次给予血制品输注及细胞因子支持,但疗效不佳。2014年1月患者与同胞哥哥人类白细胞抗原(HLA)配型相合,拟行异基因造血干细胞移植,遂于2014年2月7日以“重型再生障碍性贫血(severe aplastic anemia,SAA)”收治入我院。患者既往有2型糖尿病史1年余,无规律服药,血糖控制情况不详。无高血压、冠心病及慢性阻塞性肺疾病病史。入院查体:中度贫血貌,皮肤黏膜未及明显黄染、出血点,全身浅表淋巴结未及肿大,肝脾肋下未及,双下肢无水肿。入院后检查,血常规示 WBC  $1.59\times 10^9/L$ 、Hb 44 g/L、PLT  $16\times 10^9/L$ 、网织红细胞 0.07%,尿常规中可见大量红细胞,肝肾功能电解质基本正常,糖化

血红蛋白 8.3%。B超:肝胆胰脾肾无异常。复查骨髓提示:造血细胞增殖明显减低,全片仅见巨核细胞 1 个,符合 SAA 诊断。

患者血型为 Rh 阴性 A 型。供者为患者同胞哥哥,47岁,HLA 配型高分辨 10/10 相合,血型为 Rh 阳性 A 型。患者于2014年2月15日开始接受氟达拉滨(fludarabine,FLU)+环磷酰胺(cyclophosphamide,CTX)+兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白(anti-thymocyte globulin,ATG-F)预处理治疗。FLU 50 mg/d,-7 d~-4 d;CTX 50 mg/kg,-6 d~-3 d;ATG-F 5 mg/kg,-5 d~-2 d。采用 CsA+短疗程甲氨蝶呤(methotrexate,MTX)预防移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD)。CsA(每日 2 mg/kg,静脉滴注)持续给药,移植前 5 d 开始使用,检测血药浓度维持在 200~400 ng/mL。MTX 在移植后 1、3、6 d 时使用,静脉注入,剂量分别为 15、10、10 mg。患者采用异基因外周血干细胞移植方式,供体给予重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF;500  $\mu\text{g}/\text{d}\times 5$  d,皮下注射)动员外周血干细胞。外周血干细胞采集过程顺利,共采集 2 d,按照患者 76 kg 体质量计算,造血干细胞单个核细胞(MNC)采集量为  $9.03\times 10^8/\text{kg}$ ,其中 CD34<sup>+</sup>干

[收稿日期] 2016-02-18 [接受日期] 2016-03-23

[作者简介] 杨丹,博士,主治医师。E-mail: yangdanxuexi@163.com

\*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161298, E-mail: zhangweiping@medmail.com.cn

细胞为  $4.31 \times 10^6/\text{kg}$ , 达到并显著超出移植所需常规细胞数。2014年2月22日患者行外周血干细胞输注, 实际输注 MNC:  $7.11 \times 10^8/\text{kg}$ ,  $\text{CD}34^+$ :  $3.30 \times 10^6/\text{kg}$ , 余造血干细胞液氮冻存。输注过程顺利, 患者无特殊不适。移植后6d血常规为最低谷, 提示 WBC  $0.01 \times 10^9/\text{L}$ , 出现发热, 体温最高达  $39.2^\circ\text{C}$ , 血培养检查提示肺炎克雷伯菌血流感染, 给予美罗培南+阿米卡星抗感染治疗3d后体温好转。移植后17d复查骨髓提示: 粒系增殖尚活跃, 红系、巨核系偏低生骨髓象。外周血 WBC 及 PLT 逐渐上升, 但 Hb 仍波动于  $40 \sim 50 \text{ g/L}$ ; 至移植后31d, 网织红细胞逐渐增高至  $4.2\%$ , 考虑不排除存在隐性溶血可能, 除继续给予促红细胞生成素(EPO)治疗外, 试用泼尼松( $30 \text{ mg/d}$ , 口服)治疗, 用药2d后 Hb 即由  $40 \text{ g/L}$  升至  $54 \text{ g/L}$ , 用药5d后 Hb 为  $60 \text{ g/L}$ 。移植后31d复查骨髓提示: 粒系、红系、巨核系大致正常骨髓象。染色体:  $46, \text{XY}$ ; 嵌合率:  $98.3\%$ , 提示植入成功。移植后第38天出院, 出院当日血常规示: WBC  $8.87 \times 10^9/\text{L}$ 、Hb  $73 \text{ g/L}$ 、PLT  $109 \times 10^9/\text{L}$ 、网织红细胞  $3.83\%$ 。术后90d, 患者血常规三系基本正常。此后定期复查血常规, 均显示在正常范围内。移植后90、180、360d定期复查骨髓, 均显示增生性骨髓象, 聚合酶链反应-单核苷酸多态性(PCR-SNP)均提示完全嵌合状态。随访24个月, 在此过程中均未显示明显溶血表现。

患者入院后因 Hb 及 PLT 偏低, 遂给予输注血制品支持治疗, 至移植前输注 Rh 阴性少浆血共7单位, 输注单采 PLT 共4单位。患者移植术后至血常规恢复、脱离输血期间, 输注 Rh 阴性少浆血共9单位, 单采 PLT 共3单位。血制品均采用过滤去白后输注给患者, 输血过程均顺利, 无输血反应。

**2 讨论** Rh 阴性血型, 即 RhD(-), 在我国较为少见, 在汉族人群中只占  $2\% \sim 5\%$ <sup>[1]</sup>。所以当 Rh 阴性的患者一旦需要血制品输注时, 可供选择的血制品相对较少, 如果给予 Rh 阳性的血制品输注, 有很大概率会导致输血后严重的溶血表现。再生障碍性贫血是一类以贫血为主要表现, 伴骨髓造血功能减低或衰竭的血液系统疾病, 在疾病治疗初期的支持治疗中, 血制品输注起着十分重要的作用。对于 SAA, 目前主要的治疗方案包括异基因造血干细胞移植和免疫抑制治疗, 这两者都不可避免会出现血制品输注问题和(或)干细胞移植供体血型的选择。

按照 Camitta 诊断及分型标准<sup>[2]</sup>, 本例患者 SAA 诊断明确。目前研究认为, 年龄  $< 40$  岁, 无特殊禁忌,

有 HLA 相合同胞供体的患者, 应首先考虑异基因造血干细胞移植治疗; 对于无 HLA 相合同胞供体或年龄  $\geq 40$  岁的患者, 则首先考虑免疫抑制治疗, 同时启动 HLA 相合无关供体筛选<sup>[3]</sup>。本例患者 CsA 免疫抑制治疗4个多月, 血三系减少无改善, 且依赖输血, 提示免疫抑制治疗疗效不佳。考虑患者一般情况良好且与同胞兄弟 HLA 配型相合、患者及家属积极要求移植意愿等因素, 遂决定行同胞相合造血干细胞移植治疗, 以期达到较好疗效。2013年美国血液学年会(ASH)会议提出: 对于获得性再生障碍性贫血患者, 给予同胞 HLA 相合骨髓来源干细胞移植, 联合 CTX+ATG 预处理方案是治疗的金标准, 植入率可达  $95\%$ , 总生存率接近  $90\%$ <sup>[3]</sup>。本例患者年龄虽超过40岁, 但一般情况良好, 且找到相合 HLA 同胞供体, 具有行造血干细胞移植治疗的适应证。但美中不足的是供受体 Rh 血型不合, 供体为 Rh 阳性, 患者为 Rh 阴性, 对于移植后是否会产生抗 Rh 抗体及溶血表现无法预测。

Rh 血型最早发现于1973年, 该系统包括45种不同抗原, 其中 D 抗原的抗原性最强且最重要, 根据红细胞上是否存在 D 抗原, 将红细胞分为 Rh 阳性及 Rh 阴性<sup>[4]</sup>。在我国  $99\%$  以上的人均为 Rh 阳性, Rh 阴性血液的稀少增加了临床治疗的需求量, 许多 Rh 阴性患者在临床诊治中面临血型不合所引起的溶血性输血反应、相关免疫性溶血性贫血等。Rh 阴性的受血者接受 Rh 阳性血液时可产生抗 Rh(D) 的抗体, 所以如果再次输入 Rh 阳性血液后便容易出现抗原-抗体反应, 即输血性溶血反应, 患者表现为血红蛋白尿、血红蛋白显著下降等<sup>[5]</sup>。

SAA 是一种长期输血依赖的血液系统疾病, 本例患者移植前所进行的输血支持均为 Rh 阴性血液输注, 但此时需行 Rh 血型不合造血干细胞移植治疗, 移植后是否会引起患者体内产生抗 Rh 抗体, 进而影响造血恢复或产生溶血等表现国内外暂无共识。Rh 血型不合干细胞移植的早期研究发现, Rh 阳性供体给 Rh 阴性患者的移植中, 产生抗 Rh 抗体的概率较小, 而在 Rh 阴性供体给 Rh 阳性患者的移植中产生抗 Rh 抗体的概率较大, 因为仅有的可以产生抗体的淋巴细胞功能在移植预处理治疗中被损坏<sup>[6-9]</sup>。Cid 等<sup>[10]</sup>分析了30例 Rh 血型不合的造血干细胞移植病例, 中位随访32周, 无一例出现抗 Rh 抗体。近期 Cid 等<sup>[11]</sup>再次发表论文, 对 Rh 血型不合血小板输注相关免疫反应及抗体生成进行大样本、长时间的随访研究, 发现仅极少部分患者可出现抗 Rh 抗体。本例亦为 Rh 阴性患者接受 Rh 阳性供体干细胞移植治疗, 根据文献报道移植后产生

抗 Rh 抗体的概率较小,且随访长达 24 个月,定期检测抗体变化,均未发现 Rh 抗体生成。患者仅在移植后造血恢复期红系增长缓慢,但网织红细胞偏高,检查未见抗 Rh 抗体,不可排除隐性溶血可能,给予激素及 EPO 治疗后红系恢复迅速,移植后 60 d Hb 即达到 110 g/L,此后长期维持在正常范围内。Rh 抗体检测阴性并不能代表一定无溶血发生,Gandini 等<sup>[12]</sup>报道了 1 例 Rh 血型不合骨髓移植病例,移植后因有 GVHD 表现,给予激素及免疫抑制剂治疗长达 2 年,2 年治疗结束后即检测到抗 Rh 抗体的出现,考虑该抗体的延迟出现与免疫抑制治疗密切相关。本例患者目前随访 24 个月无溶血及抗 Rh 抗体生成,血常规维持正常水平,但仍需长期监测血常规及抗体水平。

根据 2013 年 ASH 报道,对于 SAA 患者移植预处理的标准方案为 ATG 联合 CTX,我们在此基础上增加了 FLU,FLU 为较强的免疫抑制剂,与 CTX 联合可起到协同作用,并显著改善移植后 GVHD 的发生率<sup>[13]</sup>。有报道对 Rh 血型不合的白血病患者行造血干细胞移植治疗,预处理即为以 FLU 为主的非清髓方案,移植后仅 1 例患者出现抗 Rh 抗体,且为移植前输注了 Rh 不合血制品所致<sup>[14]</sup>。对于 Rh 血型不合的 SAA 行 FLU 联合 ATG、CTX 造血干细胞移植治疗的文献报道极少,本例患者移植至今无急、慢性 GVHD 表现,现 CsA 逐步减量治疗中,血常规正常,骨髓增生活跃,生活质量明显提高。

Rh 血型不合的 SAA 造血干细胞移植治疗的报道较少,通过对本病例的分析研究,认为对 Rh 血型不合的 SAA 患者也是可以考虑行造血干细胞移植治疗,治疗疗效明确,并不影响移植预后,不增加植入失败的风险。移植预处理方案可在国际公认的 CTX+ATG 基础上增加 FLU 的使用,对于 Rh 阴性患者移植前后最好选择 Rh 阴性血制品输注以避免抗 Rh 抗体的生成。

#### [参考文献]

- [1] 刘丽辉,陈虎,施兵,叶丽萍,金建刚,张玉珠. Rh 血型不合的造血干细胞移植 1 例并文献复习[J]. 临床血液学杂志,2008,21:590-592.
- [2] CAMITTA B M, RAPPEPORT J M, PARKMAN R, NATHAN D G. Selection of patients for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia[J]. Blood, 1975, 45: 355-363.
- [3] SCHEINBERG P, YOUNG N S. How I treat acquired aplastic anemia[J]. Blood, 2012, 120: 1185-1196.
- [4] MOHAMED S, MUNA I. Characterisation of Rh and other blood group systems amongst the maldivian blood

- donors[J]. Med J Malaysia, 2013, 68: 393-396.
- [5] MOLNAR R, JOHNSON R, SWEAT L T, GEIGER T L. Absence of D alloimmunization in D-pediatric oncology patients receiving D-incompatible single-donor platelets[J]. Transfusion, 2002, 42: 177-182.
- [6] MCCULLOUGH J. Transfusion therapy in specific clinical situations [M]// Transfusion Medicine. 3rd Edition. UK: Wiley-Blackwell, 2011: 305-361.
- [7] ABOU-ELELLA A A, CAMARILLO T A, ALLEN M B, BARCLAY S, PIERCE J A, HOLLAND H K, et al. Low incidence of red cell and HLA antibody formation by bone marrow transplant patients [J]. Transfusion, 1995, 35: 931-935.
- [8] FRIEDBERG R C. Transfusion therapy in the patient undergoing hematopoietic stem cell transplantation[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 1994, 8: 1105-1116.
- [9] HEDDLE N M, SOUTAR R L, O' HOSKI P L, SINGER J, MCBRIDE J A, ALI M A, et al. A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion[J]. Br J Haematol, 1995, 91: 1000-1005.
- [10] CID J, LOZANO M, FERNÁNDEZ-AVILÉS F, CARRERAS E, PEREIRA A, MAZZARA R, et al. Anti-D alloimmunization after D-mismatched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with hematologic diseases[J]. Transfusion, 2006, 46: 169-173.
- [11] CID J, LOZANO M, ZIMAN A, WEST K A, O' BRIEN K L, MURPHY M F, et al. Low frequency of anti-D alloimmunization following D + platelet transfusion; the Anti-D Alloimmunization after D-incompatible Platelet Transfusions (ADAPT) study [J]. Br J Haematol, 2014, 168: 598-603.
- [12] GANDINI G, FRANCHINI M, DE GIRONCOLI M, VASSANELLI A, BENEDETTI F, TURRINI A, et al. Detection of an anti-RhD antibody 2 years after sensitization in a patient who had undergone an allogeneic BMT[J]. Bone Marrow Transplant, 2000, 25: 457-459.
- [13] KANDA J, HORWITZ M E, LONG G D, GASPARETTO C, SULLIVAN K M, CHUTE J P, et al. Outcomes of a 1-day nonmyeloablative salvage regimen for patients with primary graft failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2012, 47: 700-705.
- [14] MIJOVIC A. Alloimmunization to RhD antigen in RhD-incompatible haemopoietic cell transplants with non-myeloablative conditioning[J]. Vox Sang, 2002, 83: 358-362.