

小剂量利妥昔单抗联合短期口服泼尼松 治疗自身免疫性溶血性贫血的疗效

陆欣¹ 王海军¹ 赵丽云¹ 李玉伟² 王助衡²

【摘要】 目的:评价小剂量利妥昔单抗联合短期口服泼尼松治疗自身免疫性溶血性贫血(AIHA)的临床疗效。**方法:**32例确诊的AIHA患者接受小剂量利妥昔单抗(静脉滴注100 mg,每周1次,连用4周)联合短期口服泼尼松治疗。分别于治疗后第6、12、24和36个月进行随访,并收集患者临床转归、血常规和溶血性指标等资料。**结果:**治疗后第6、12、24和36个月,患者的血液学指标均较治疗前明显改善,总缓解率分别为90%、100%、100%和89%,无复发生存率分别为87%、79%、68%和68%。其中温抗体自身免疫性溶血性贫血(WAIHA)患者的总缓解率稍高于冷凝集患者,冷凝集患者的复发风险较WAIHA患者高(HR 2.1, 95%CI 0.6~7.9)。治疗后各时间点红细胞抗体(抗球蛋白试验)均有下降。**结论:**使用小剂量利妥昔单抗联合短期口服泼尼松治疗AIHA有效,可以使患者缓解,并能够减少自身抗体的产生。

【关键词】 贫血,溶血性,自身免疫性;利妥昔单抗;冷凝集素病;温抗体;抗体治疗

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2015.03.014

[中图分类号] R556.6 [文献标志码] A

Efficacy of low-dose rituximab combined with short-term oral prednisone in the treatment of idiopathic autoimmune hemolytic anemia

LU Xin¹ WANG Haijun¹ ZHAO Liyun¹ LI Yuwei² WANG Zhuheng²

(¹Department of Hematology, Xingtai People's Hospital Affiliated Hebei Medical University, Xingtai, 054031, China; ²Intensive Care Unit, People's Hospital of Beijing Daxing District)

Corresponding author: WANG Zhuheng, E-mail: 1147070617@qq.com

Abstract Objective: To evaluate the sustained response to low-dose rituximab combined with short-term oral prednisone in the treatment of autoimmune hemolytic anemia (AIHA). **Method:** A total of 32 patients diagnosed AIHA were treated with low-dose rituximab (100 mg fixed dose and 4 weekly infusions) along with a short course of oral prednisone. The clinical examination, blood counts and hemolytic markers were collected at 6, 12, 24 and 36 months. **Result:** A satisfactory response was achieved at all time points compared to enrollment. The overall response was 90%, 100%, 100% and 89%, and the relapse-free survival rate was 87%, 79%, 68% and 68% at 6, 12, 24, and 36 months, respectively. Response rate was slightly higher in warm-antibody reactive autoimmune haemolytic anaemia (WAIHA) than that in hemagglutinin disease (CHD), and relapse risk was higher in CHD than that in WAIHA (HR 2.1, 95%CI 0.6 to 7.9). Anti-RBC antibody production by mitogen-stimulated direct antiglobulin test significantly decreased at all time points. **Conclusion:** Low-dose rituximab combined with short-term oral prednisone treatment is effective and induces sustained responses in AIHA, and it can down-regulate the autoantibody production.

Key words autoimmune hemolytic anemia; rituximab; cold hemagglutinin disease; warm-antibody; antibody therapeutics

自身免疫性溶血性贫血(AIHA)是一种获得性溶血性疾病,由于免疫功能紊乱产生抗自身红细胞抗体,与红细胞表面抗原结合,或激活补体使红细胞加速破坏而致溶血性贫血。这种自身抗体主要是IgG型,其次为非凝集性IgM,偶有IgA型^[1]。

目前,有研究报道利妥昔单抗用于治疗AIHA^[2]。本研究对接受小剂量利妥昔单抗联合短期口服泼尼松治疗的AIHA患者缓解状况进行长达3年的随访观察,并在观察期间对患者自身和非自身红细胞抗体分别进行监测比较。

1 资料与方法

1.1 资料

2010-03-10—2011-03-01 在我院就诊且被诊断为AIHA的32例成人AIHA患者,均接受小剂量

¹ 河北医科大学附属邢台市人民医院血液科(河北邢台, 054031)

² 北京市大兴区人民医院重症医学科

通信作者:王助衡, E-mail: 1147070617@qq.com

利妥昔单抗(静脉滴注 100 mg,每周 1 次,连用 4 周)联合短期口服泼尼松治疗。其中男 21 例,女 11 例;年龄 19~79 岁,平均 61 岁;温抗体自身免疫性溶血性贫血(WAIHA)18 例,冷凝集素病(CHD)患者 14 例;初次发现并诊断者 8 例,激素治疗后复发者 24 例。14 例 CHD 患者中 1 例为初发,其余 13 例为复发,该 14 例患者均接受骨髓活检排除了淋巴瘤细胞增生性疾病。32 例患者均按计划接受治疗并进行随访,随访时间 6~54 个月,平均 25 个月。

治疗方案:分别于第 0、7、14 和 21 天给予患者静脉滴注利妥昔单抗 100 mg。虽然泼尼松对 CHD 患者的疗效可能有限^[3],但由于目前它仍被广泛使用,故我们对所有患者均给予口服泼尼松治疗($1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,连用 1 个月;每周减量 10 mg,至 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;每周减量 5 mg,至停药)。

1.2 数据收集

随访 3 年,在治疗后第 6、12、24 和 36 个月时收集患者临床转归、血常规和溶血性指标的结果。疗效判定标准^[1]:①完全缓解(CR):血红蛋白(Hb)正常,网织红细胞(RET)相对值小于 5%;②部分缓解(PR):Hb 在 80~110 g/L(女),80~120 g/L(男);③无缓解;④复发:达 CR 或 PR 后,在随访期间再次出现溶血。总缓解(OR)包括 CR 和 PR。对所有患者在治疗开始前进行直接抗球蛋白试验(DAT),试剂采用抗-IgG 和抗-IgC 的血清抗体。对所有患者在治疗后第 6、12、24 个月时进行有丝分裂原刺激的 DAT(MS-DAT)。记录随访过程中的不良事件。

1.3 红细胞抗体检测方法

采用 MS-DAT 来检测抗红细胞的 IgG 抗体。首先我们采用 RPMI 1640 溶剂(Gibco Laboratories, Grand Island, NY, USA)把加肝素抗凝患者的血液标本,按照 1:6 的比例进行稀释。向稀释后的标本中依次加入浓度为 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 的植物凝集素(Sigma, St. Louis, MO, USA)、 20 ng/ml 的佛波醇-12-豆蔻酸盐-13-乙酯(Sigma, St. Louis, MO, USA)、1%美洲商陆(Sigma, St. Louis, MO, USA)静置 48 h。用 $50\text{ }\mu\text{l}$ 的人 IgG(Sclavo, Siena, Italy)注入 96-聚氯乙烯测定板在 4°C 冰箱中静置 12 h

后,用 $200\text{ }\mu\text{l}$ 的 2%牛血清 PBS 洗涤固定 3 次。将上述的细胞培养液加入含有过氧化酶的兔抗人 IgG(Dako, Glostrup, Denmark)放在 37°C 的温浴箱中温浴 30 min。使用邻苯二胺二氢的氯化物(Sigma, St. Louis, MO, USA)进行比色反应,并按照重对数坐标图曲线计算抗红细胞抗体的值。当得出抗红细胞抗体的值超过正常值 3 倍的标准差时,MS-DAT 为阳性。采用 MS-DAT 的方法进一步检测不同浓度(25、50、100、200 和 $400\text{ }\mu\text{g/ml}$)的利妥昔单抗对抗红细胞抗体的影响。

1.4 统计学处理

使用 Stata15.0 进行统计分析。计数资料以例数和百分比表示,数据比较采用 χ^2 检验。对于计量资料,首先进行正态分布检验,符合正态分布的资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验;非正态分布资料以中位数和四分位间距表示,采用秩和检验。采用 Kaplan-Meier 方法计算无复发生存率(RFS),采用 Cox 回归模型计算复发风险比(HR)和 95%可信区间(95%CI)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者总体转归

治疗后第 6、12、24 和 36 个月,患者的血液学指标均较治疗前明显改善(表 1),OR 率分别为 90%、100%、100% 和 89%;RFS 率分别为 87%、79%、68% 和 68%。初发患者的 OR 率高于复发患者($P=0.041$)。乳酸脱氢酶(LDH)和间接胆红素(IBILI)的水平从第 6 个月开始好转,逐渐恢复至正常范围。尽管 RET 还是高于正常水平,但也呈现明显的下降趋势。治疗后第 6、12、24 和 36 个月患者的复发风险如图 1 所示。由于 89%的复发发生在 13 个月以内,故 24 和 36 个月的复发风险没有变化。治疗和随访过程中,未发现感染及其他并发症的发生。

2.2 分组转归情况

WAIHA 患者和 CHD 患者的转归情况见表 2。WAIHA 患者接受小剂量利妥昔单抗治疗后,Hb 显著增加,并保持在正常范围;LDH 和 IBILI 的水平从第 6 个月开始好转,逐渐恢复至正常范围。CHD 患者 Hb 显著增加较少,未达到正常范

表 1 治疗后患者血液学指标和临床转归结果

组别	Hb	RET	LDH	IBILI	OR/%	CR/%	RFS
	$/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$/(\times 10^9\cdot\text{L}^{-1})$	$/(\text{U}\cdot\text{L}^{-1})$	$/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			$\bar{x}\pm s$ /%
治疗前	9.0 ± 1.9	223 ± 98	756 ± 189	2.3 ± 1.2	—	—	—
治疗后 6 个月	$12.8\pm 2.1^{1)}$	$112\pm 54^{1)}$	$457\pm 114^{1)}$	$1.1\pm 0.7^{1)}$	90(28/31)	61(19/31)	87
治疗后 12 个月	$13.3\pm 1.7^{1)}$	$90\pm 21^{1)}$	$398\pm 76^{1)}$	$0.7\pm 0.1^{1)}$	100(21/21)	71(15/21)	79
治疗后 24 个月	$13.5\pm 1.8^{1)}$	$93\pm 26^{1)}$	$369\pm 68^{1)}$	$0.5\pm 0.3^{1)}$	100(17/17)	88(15/17)	68
治疗后 36 个月	$13.4\pm 2.0^{1)}$	$117\pm 41^{1)}$	$332\pm 81^{1)}$	$0.5\pm 0.3^{1)}$	89(8/9)	67(6/9)	68

与治疗前比较,¹⁾ $P<0.05$ 。

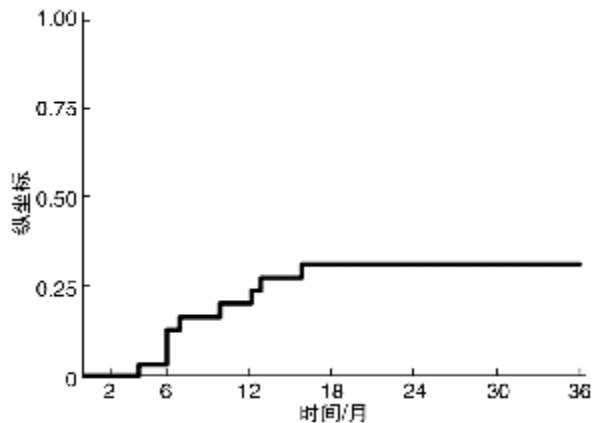


图1 患者的复发风险

围;溶血性指标改善不一。

从Hb达到正常范围的百分比来看,WAIHA患者在治疗后第6、12、24、36个月时,分别是67%、86%、92%和100%,而CHD患者约是其一半。WAIHA患者的OR率略高于CHD患者,CHD患者的RFS率高于WAIHA患者(HR 2.1,95%CI 0.6~7.9)。

2.3 抗红细胞抗体的检测结果

32例患者在接受治疗前DAT检测结果均为阳性。对体内产生的抗红细胞抗体在治疗后第6、12、24个月的结果,见表3。采用MS-DAT方法检测不同浓度(25、50、100、200、400 $\mu\text{g/ml}$)利妥昔单抗对抗红细胞抗体的影响,见表4。

3 讨论

通常认为传统的甾体类激素治疗对WAIHA患者是有效的,但有超过1/3的患者会出现复发而被迫接受脾切除或细胞毒性药物治疗^[4]。对AIHA患者来说,脾切除可能疗效较好,大约70%

的患者可以缓解,但远期结果并不理想,AIHA患者5年的持续缓解率只有20%~60%^[5]。除此之外,超过60%的患者获得了3年的无复发生存,同时发现几乎所有的复发都发生在13个月以内,这说明如果患者的缓解期持续超过1年,则很有可能获得长期缓解。由于缺乏标准剂量的利妥昔单抗治疗AIHA长期随访的研究结果,所以本研究的结果无法与之进行比较。在研究的过程中我们还发现,对于复发患者,小剂量的利妥昔单抗治疗仍然是有效的,可以使部分患者保持超过2年的缓解期。

本研究结果还显示,CHD较WAIHA患者表现出较为严重的血液学参数特征。根据以往的经验和研究结果,普遍认为甾体类激素对WAIHA的有效率较CHD高(约70%:15%)。但本研究结果显示,WAIHA患者的RFS较CHD患者差异无统计学意义。

MS-DAT可以有效地检测和提示潜在的自身免疫产物(抗体)。本研究中MS-DAT检测结果显示,在治疗后第6个月和12个月时,所有患者血清中的抗红细胞抗体显著减少;在24个月时,AIHA患者血清中的抗红细胞抗体又再次增多,但其检测值仍低于治疗前水平,其中CHD患者血清中的抗红细胞抗体始终保持较低水平。以上MS-DAT结果与标准剂量利妥昔单抗治疗结果相似^[6],提示小剂量的利妥昔单抗治疗有效减少了患者抗红细胞抗体的产生。体外MS-DAT结果显示,浓度超过50 $\mu\text{g/ml}$ 利妥昔单抗均可以有效减少抗红细胞抗体的产生,而标准剂量利妥昔单抗治疗时血清中的浓度约为300 $\mu\text{g/ml}$,是50 $\mu\text{g/ml}$ 的6倍。而利妥昔单抗的标准剂量约为小剂量的3倍(375:100 mg/m^2)。

表2 治疗后WAIHA和CHD患者血液学指标和临床转归结果

组别	Hb /($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	RET /($\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)	LDH /($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBIL1 /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	OR/%	CR/%	RFS /%
WAIHA患者							
治疗前	8.9 $\pm$ 1.8	208 $\pm$ 90	741 $\pm$ 152	2.3 $\pm$ 1.1	—	—	—
治疗后6个月	13.5 $\pm$ 2.0 ¹⁾	102 $\pm$ 21	407 $\pm$ 119	1.1 $\pm$ 0.9	94(17/18)	67(12/18)	89
治疗后12个月	13.7 $\pm$ 1.7 ¹⁾	92 $\pm$ 23	391 $\pm$ 79	0.7 $\pm$ 0.1	100(14/14)	71(10/14)	89
治疗后24个月	13.8 $\pm$ 1.9 ¹⁾	80 $\pm$ 21	328 $\pm$ 68 ¹⁾	0.3 $\pm$ 0.1 ¹⁾	100(12/12)	92(11/12)	76
治疗后36个月	13.6 $\pm$ 2.1 ¹⁾	118 $\pm$ 44	340 $\pm$ 81	0.4 $\pm$ 0.3 ¹⁾	100(7/7)	86(6/7)	76
CHD患者							
治疗前	9.3 $\pm$ 1.7	214 $\pm$ 98	761 $\pm$ 185	2.2 $\pm$ 1.2	—	—	—
治疗后6个月	11.6 $\pm$ 2.0	112 $\pm$ 54	474 $\pm$ 119	1.5 $\pm$ 0.7	85(11/13)	61(19/31)	85
治疗后12个月	11.7 $\pm$ 1.5	90 $\pm$ 21	412 $\pm$ 79	1.2 $\pm$ 0.1	100(7/7)	71(15/21)	67
治疗后24个月	12.0 $\pm$ 1.8	91 $\pm$ 29	435 $\pm$ 89	1.3 $\pm$ 0.4	100(5/5)	88(15/17)	57
治疗后36个月	10.9 $\pm$ 2.1	117 $\pm$ 41	365 $\pm$ 102	1.5 $\pm$ 0.4	89(8/9)	50(1/2)	57

与CHD患者同时点比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 MS-DAT 检测体内产生的抗红细胞抗体结果

	$\bar{x} \pm s$	
	抗红细胞抗体 IgG/(ng · ml ⁻¹)	
	有丝分裂原刺激型	无刺激型
WAIHA 患者		
治疗前	621 ± 95	517 ± 87
治疗后 6 个月	226 ± 32 ¹⁾	209 ± 30 ¹⁾
治疗后 12 个月	284 ± 39 ¹⁾	277 ± 24 ¹⁾
治疗后 24 个月	458 ± 56	411 ± 58
CHD 患者		
治疗前	579 ± 102	486 ± 85
治疗后 6 个月	214 ± 25 ¹⁾	209 ± 23 ¹⁾
治疗后 12 个月	206 ± 22 ¹⁾	203 ± 21 ¹⁾
治疗后 24 个月	263 ± 30 ¹⁾	254 ± 27 ¹⁾

与组内治疗前比较, ¹⁾ P < 0.05。

表 4 MS-DAT 检测不同浓度利妥昔单抗对抗红细胞抗体的影响

利妥昔单抗浓度 /(μg · ml ⁻¹)	抗红细胞抗体 IgG /(ng · ml ⁻¹)
0	477 ± 85
25	486 ± 93
50	197 ± 21
100	201 ± 21
200	186 ± 19
400	195 ± 20

本研究采用前瞻性设计的同时存在不足之处,未设置对照组且研究的样本量有限,但这并不影响本实验的结论:使用小剂量利妥昔单抗联合短期口服泼尼松治疗 AIHA 有效,可以使患者缓解,并能够减少自身抗体的产生。

参考文献

- [1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 北京:科学出版社,2008:69—70.
- [2] Swiecicki PL, Hegerova LT, Gertz MA. Cold agglutinin disease[J]. Blood, 2013, 122: 1114—1121.
- [3] Crowther M, Chan YL, Garbett IK, et al. Evidence-based focused review of the treatment of idiopathic warm immune haemolytic anaemia in adults[J]. Blood, 2011, 118: 4036—4040.
- [4] Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults[J]. Blood, 2010, 116: 1831—1838.
- [5] Patel VL, Mahévas M, Lee SY, et al. Outcomes 5 years after response to rituximab therapy in children and adults with immune thrombocytopenia[J]. Blood, 2012, 119: 5989—5995.
- [6] Penalver FJ, Alvarez-Larrán A, Díez-Martin JL, et al. Rituximab is an effective and safe therapeutic alternative in adults with refractory and severe autoimmune hemolytic anemia[J]. Ann Hematol, 2010, 89: 1073—1080.

(收稿日期:2014-05-28)

(上接第 228 页)

病及转归密切相关,高表达者 CR 率低^[7]。其机制可能与多药耐药 P 糖蛋白(P-170)的表达有关,我们在今后的研究中会继续探讨这个问题。

HLA-DR 在 B-ALL 和 T/B-ALL 中的表达率较高,其阳性患者 CR 率明显低于阴性患者。故对于该类患者,临床上可采用相对大剂量的化疗方案以争取提高缓解率。

总之,免疫表型分析能增加诊断的正确率,预测急性白血病的预后,更有利于给予及时适当的治疗,为白血病治疗措施的个体化提供了一定的依据。我们通过对 46 例初治成人 ALL 的免疫表型分析,了解该疾病的表型特点,对此类疾病的诊断、治疗及预后都有重要的意义。

参考文献

- [1] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版,北

京:科学出版社,2007:116—120.

- [2] Winslow ER, Brunt LM, Drebin JA, et al. Portal vein thrombosis after splenectomy[J]. Am J Surg, 2002, 184: 631—636.
- [3] 胡群. 急性淋巴细胞性白血病的 MICM 分型[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23: 1141—1142.
- [4] 王翠翠,周春林,王慧君,等. 成人急性淋巴细胞白血病的分型探讨[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(7): 439—444.
- [5] 庄红丽,孙慧,张秋堂. 急性淋巴细胞白血病免疫分型与疗效分析[J]. 临床荟萃, 2006, 21(18): 1321—1322.
- [6] 宣柳,沈佐君,李筱青. 双表型急性白血病的免疫分型[J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(6): 705—706.
- [7] 丁才智. CD34、CD38 和 HLA-DR 表达及其对急性白血病诊治的意义[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(20): 2502—2504.

(收稿日期:2014-07-30)