

单倍体相合造血干细胞移植治疗慢性活动性 EB 病毒感染 1 例并文献复习^{*}

刘丹波^{1△} 王志东¹ 董磊¹ 郑晓丽¹ 丁丽¹ 阎洪敏¹ 王恒湘¹

[摘要] 目的:探讨单倍体相合造血干细胞移植治疗慢性活动性 EB 病毒感染(CAEBV)的可行性。方法:采用马利兰+氟达拉滨+环磷酰胺+抗人 T 淋巴细胞球蛋白移植预处理方案,对 1 例 8 岁 CAEBV 患儿行 HLA3/6 母供女单倍体相合造血干细胞移植。结果:移植后第 13 天粒细胞植入,第 16 天血小板植入,第 25 天 DNA 指纹鉴定结果提示供者型完全植入。移植后第 42 天患者出现皮肤 I 度移植物抗宿主病,治疗后皮疹完全消退。移植后 CAEBV 临床症状及体征消失,随访至移植后 1 年,多次复查 EBV-DNA 持续阴性。结论:单倍体相合造血干细胞移植可作为治疗 CAEBV 的有效手段。

[关键词] 慢性活动性 EB 病毒感染;单倍体相合造血干细胞移植

[中图分类号] R725.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2013)07-0471-03

A case of haploidentical stem cell transplantation for chronic active EB virus infection and literature review

LIU Danbo WANG Zhidong DONG Lei ZHENG Xiaoli
DING Li YAN Hongmin WANG Hengxiang

(Department of Hematology, Air Force General Hospital, PLA, Beijing, 100142, China)

Corresponding author: WANG Hengxiang, E-mail: wanghengxiang123@yahoo. com. cn

Abstract Objective: To explore the feasibility of haploidentical stem cell transplantation (haplo-HSCT) for chronic active EB virus (CAEBV) infection, **Method:** An 8-year-old girl with CAEBV infection underwent haplo-HSCT from her mother with a preparative regimen consisted of busulphan, fludarabine, cyclophosphamide and anti-human T-lymphocyte globulin. **Result:** The neutrophils and platelets engrafted on the 13th days 16th days, respectively. DNA fingerprint showed full donor-chimeric on the 25th days. Grade I acute skin graft-versus-host disease occurred on the 42nd days and was controlled after cured. The clinical symptoms and signs of CAEBV disappeared with undetectable EBV-DNA copies after haplo-HSCT. **Conclusion:** The haplo-HSCT is an effective regimen for treating CAEBV infection.

Key words chronic active EB virus infection; haploidentical stem cell transplantation

慢性活动性 EB 病毒感染(CAEBV)是一种少见的致命性疾病,由 EB 病毒感染引起,可发生于任何年龄,但主要发生于儿童及青少年。当个体的免疫功能与病毒感染之间的平衡破坏后,常出现慢性或复发性传染性单核细胞增多症(IM)样症状,伴随 EB 病毒抗体异常改变和病毒载量增高等表现。由于发病率低,临床医生对其认识不足,延误诊治,病死率较高。2010 年我院收治 1 例儿童 CAEBV 并成功行单倍体相合造血干细胞移植,现报告如下,以提高对该病诊治的认识。

1 病例资料

患儿,女,8 岁,于 2003 年无诱因出现发热,头

面部皮肤破溃,于当地医院间断抗感染治疗。但仍然反复出现发热伴皮损,2007 年转诊于某儿童医院,查血 EB 病毒阳性,EBV-DNA 为 2.2×10^7 拷贝/ml,腹部彩超提示肝脾肿大,血清免疫球蛋白正常,T、B、NK 细胞亚群比例正常,诊断为 CAEBV。给予抗病毒及抗感染治疗(具体不详)后体温正常,破溃皮肤结痂后愈合,但复查 EBV-DNA 仍持续阳性,且发热及头面部皮肤破溃感染反复出现。为进一步治疗于 2010 年 9 月就诊于我院。入院体检:体温 39.2℃,贫血貌,头面及颈部散在黑色结痂,最大约 12 cm×15 cm,局部有黄白色脓性渗出物,浅表淋巴结无肿大,肝肋下 7 cm,脾脏:甲乙线 12 cm,甲丙线 15 cm,丁戊线 3 cm。血常规:白细胞 4.8×10^9 /L,血红蛋白 71 g/L,血小板 133×10^9 /L。外周血 EBV-DNA 为 2.0×10^7 拷贝/ml。EB 病毒抗体滴度检测:VCA-IgG 阳性(1:800),VCA-IgM 阴性(<1:100),EA-IgM 阴性(<1:100),EB-NA-IgG 弱阳性(1:100)。T、B、NK 淋

^{*} 基金项目:军队临床高新技术重大项目(No: 2010gxjs049);国家自然科学基金资助项目(No: 81170522)

¹ 空军总医院血液科(北京,100142)

[△] 现为大连医科大学在读硕士研究生(大连,116044)

通信作者:王恒湘, E-mail: wanghengxiang123@yahoo. com. cn

巴细胞亚群分析:CD3⁺CD8⁺/CD45⁺为45%,偏高;CD3⁺CD4⁺/CD45⁺为30%,CD16⁺56⁺/CD45⁺为0,CD3⁺CD4⁺CD8⁺/CD45⁺为30%,偏低;其余比例正常。2010年10月15日肝脏穿刺病理示:肝细胞疏松化伴灶状脂肪变性,汇管区慢性炎细胞浸润。免疫组织化学:EBV(-),CD56(-),CD3(+),CD34(-),gram-B(-)。入院诊断:CAEBV;皮肤感染。

先后给予阿昔洛韦、更昔洛韦抗病毒,哌拉西林及替考拉宁抗感染治疗后,患儿体温恢复正常,头面部及颈部皮肤破溃处部分结痂,复查EBV-DNA为 2.0×10^7 拷贝/ml。患儿症状缓解,但EBV拷贝数仍高,提示抗病毒治疗无效。亲属间及骨髓库未找到HLA相合供者,患者母亲与其HLA3/6相合,遂采用单倍体相合造血干细胞移植。预处理方案:马利兰($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 2 \text{ d}$) + 氟达拉滨($30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \times 4 \text{ d}$) + 环磷酰胺($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 4 \text{ d}$) + 抗人T淋巴细胞球蛋白(ATG)($2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 4 \text{ d}$)。移植植物抗宿主病(GVHD)预防:环孢素 + 甲氨蝶呤 + 吗替麦考酚酯 + 抗CD25单抗。输注骨髓及外周血干细胞总有核细胞数为 $16.8 \times 10^8/\text{kg}$,其中CD34⁺细胞数为 $5.73 \times 10^8/\text{kg}$,CD3⁺T细胞数为 $11.4 \times 10^8/\text{kg}$ 。为促进植入并减轻GVHD,同时输注无关脐带间充质干细胞(MSC),细胞数为 7×10^7 。移植后第13天粒细胞植入,第16天血小板植入,第25天DNA植入鉴定结果提示造血干细胞移植成功。患儿移植后给予环孢素A及吗替麦考酚酯口服预防GVHD,移植后第42天患儿四肢出现皮疹,考虑为皮肤I度GVHD。给予泼尼松及甲氨蝶呤治疗,同时将环孢素A加至治疗浓度,2周后皮疹完全消退。移植后1、2、3及6个月复查EBV-DNA均为阴性,体检均未见皮损和肝脾大。随访至移植后1年,复查EBV-DNA持续阴性。

2 讨论及文献复习

CAEBV临床表现与EB病毒感染相关,根据EB病毒感染细胞类型可分为T细胞型和NK细胞型。绝大多数以发热、肝脾肿大为突出表现,半数患者可有淋巴结病、血小板减少、贫血等表现。现在多采用美国国立健康研究所的诊断标准,下述情况持续6个月以上:①从EB病毒原发感染开始症状持续;②EB病毒抗体滴度异常(包括抗VCA-IgG $\geq 1:5120$,抗EA抗体 $\geq 1:640$ 或EBNA抗体 $< 1:2$);③组织学可见主要脏器受损(如淋巴结炎、噬血现象、脑膜脑炎、持续性肝炎、脾肿大、间质性肺炎、骨髓增生不良、视网膜炎等);④受损组织或外周血中EB病毒数量增多;⑤排除任何已知的免疫功能低下包括HIV感染^[1]。本例患儿外周血EB病毒持续阳性长达6年,EB病毒抗体滴度检

测:VCA-IgG阳性(1:800),EB-NA-IgG弱阳性(1:100),外周血EBV-DNA水平高,肝脾肿大,肝组织活检病理诊断为肝细胞疏松化伴灶状脂肪变性,汇管区慢性炎细胞浸润,但不能明确EB病毒感染T淋巴细胞或NK细胞。根据临床表现及实验室检查符合CAEBV诊断标准。

CAEBV总体预后较差,尤其是出现严重并发症者,一半以上从首发症状出现后5年内因严重并发症死亡。主要死因为肝功能衰竭、心脏衰竭、各种类型的淋巴异常增殖性疾病、机会性感染及噬血细胞综合征。Kimura等(2003)研究表明,伴有血小板减少症或感染T细胞的患者预后较差。

目前尚缺乏对CAEBV有效的治疗方案,临床报道治疗有效的病例较局限,且只能暂时缓解病情进展,很少有彻底根治的病例。抗病毒治疗及免疫调节剂基本无效,糖皮质激素及一些免疫抑制剂可减轻临床症状,但随着疾病进展出现免疫缺陷时,患者经常死于机会性感染及淋巴组织增生性疾病^[2]。CAEBV治疗的根本应为重建机体对EB病毒的有效免疫,使受者产生细胞毒性T细胞,彻底消除被EB病毒感染或克隆增殖的淋巴细胞。近年来,有报道可以通过输注自身或供者EB病毒特异性T细胞的方法有效治疗CAEBV。体外研究表明,输注供者活化T细胞后产生抗宿主的特异性mHA CD8⁺T细胞,这些细胞通过引起移植植物抗宿主效应从而发挥清除被病毒感染的T细胞的作用,但由于在无关供者移植中应用困难而使其临床受到限制。临床已有造血干细胞移植根治CAEBV的成功报道。Ishimura等^[3]首次报道了采用脐带血移植治疗CAEBV的成功案例,该研究认为,在重度骨髓抑制后行脐血移植产生的同种异体反应及非特异性细胞毒性促进了被EB病毒感染的T/NK细胞的清除,急性GVHD的出现与有利于淋巴细胞的重建可表明这一观点。由于CAEBV患者伴随预处理相关毒性,常有多脏器功能损害,干细胞移植后发生并发症的风险较大。因此,在病患者病情尚未恶化和未发生骨髓恶性肿瘤等严重并发症时,应尽早行造血干细胞移植。该例患儿病程虽长达7年,但尚未出现重要脏器功能损害,既往其他治疗手段无效,所以选择行造血干细胞移植以根治CAEBV。

由于该患儿为独生子女,在骨髓库未找到全相合供者及脐带血来源,我们采用单倍体相合异基因造血干细胞移植。采用氟达拉滨、ATG等免疫抑制剂组成的非清髓预处理方案,不仅可以减少预处理相关毒性,而且免疫重建较快,可产生EB病毒特异性细胞毒性T细胞清除被EB病毒感染的细胞。与全相合相比,单倍体相合造血干细胞移植更易发生GVHD等移植相关并发症。为减轻GVHD,我

们在常规预防 GVHD 方案基础上加用了抗 CD25 单抗和 MSC 输注。抗 CD25 单抗在体外试验中证实并不影响造血集落形成,反而可选择性地消灭或减少同种异体反应 T 细胞的数量从而减少 GVHD 的发生。Chen 等(2003)研究的 13 例单倍体相合骨髓移植患者在加用抗 CD25 单抗预防 GVHD 后,均植入成功。MSC 是造血微环境的重要成分,体外研究证明其具有强大的扩增能力、造血支持、免疫调节、促进植入和减少 GVHD 发生的作用。MSC 通过接触-依赖机制及可溶性因子来抑制 T 细胞的反应活性,从而对抗受者的 GVHD 反应^[4]。Dander 等^[5]从细胞及分子水平研究,通过监测患者输注 MSC 后体内的白细胞介素-2R α 及肿瘤坏死因子 R 水平来反映患者体内产生的生物效应,证实 MSC 对 GVHD 有一定的治疗作用。MSC 输注剂量一般为(2~8) $\times 10^6$ /kg,其安全性与 MSC 输注剂量的高低无显著区别^[6]。在整个治疗过程中该患者并没有出现严重 GVHD。

综上所述,单倍体相合造血干细胞移植为治疗 CAEBV 提供了一种有效途径,在单倍体相合造血干细胞移植中应用抗 CD25 单抗和 MSC 输注可作为 GVHD 防治的一种手段。但是由于我们的病例数少,有待于进一步临床研究。

参考文献

[1] OKANO M,KAWA K,KIMURA H,et al. Proposed

guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection[J]. *Am J Hematol*,2005,80:64-69.

[2] COHEN J I,JAFFE E S,DALE J K,et,al. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus infection: a 28-year experience in the United States[J]. *Blood*,2011,117:5835-5849.

[3] ISHIMURA M,OHGA S,NOMURA A,et al. Successful umbilical cord blood transplantation for severe chronic active Epstein-Barr virus infection after the double failure of hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Am J Hematol*,2005,80:207-212.

[4] HORWITZ E M,MAZIARZ R T,KEBRIAEI P. MSCs in hematopoietic cell transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*,2011,17(1 Suppl):S21-S29.

[5] DANDER E,LUCCHINI G,VINCI P,et al. Mesenchymal stromal cells for the treatment of graft-versus-host disease: understanding the in vivo biological effect through patient immune monitoring [J]. *Leukemia*,2012,26:1681-1684.

[6] KEBRIAEI P,ISOLA L,BAHCECI E,et al. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteriod therapy for the treatment of acute graft-versus-host-disease[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*,2009,15: 804-811.

(收稿日期:2013-03-07)

(上接第 470 页)

可控的超滤为静脉营养提供了有利条件。置换液可以根据病情补充各种电解质及碳酸氢钠,纠正酸碱失衡。CRRT 使用的血滤膜孔径大于普通血滤器,有利于清除肿瘤细胞溶解释放的各种有害代谢产物和毒素。③CRRT 机器操作简单,可床旁实施特别适用于不宜搬动的危重患者。本例 NK/T 细胞淋巴瘤患者在化疗后出现 ATLS 并发 ARF、急性左心衰竭、高钾血症及严重的代谢性酸中毒,在给予对症支持等内科治疗基础上及早使用 CRRT,从而使心力衰竭症状很快得到缓解,尿量增多,高钾、代谢性酸中毒及时得到纠正,肾功能也很快得到改善,疗效显著。表明 CRRT 能有效清除血液中氮质代谢产物、小分子溶质和多余的水分。通过纠正酸碱紊乱,调整电解质平衡,改善机体内环境,是救治 ATLS 并发 ARF 的有效方法。

ATLS 是(血液)恶性肿瘤患者的危急重症,病死率高,需要在临床工作中高度重视。除了常规的水化、碱化尿液等早期预防措施外,充分评估患者发生 ATLS 的风险对于早期识别 ATLS 有重要意义。与传统的血液透析相比,CRRT 具有血流动力

学干扰小、易操作等特点,值得在重症 ATLS 的救治中推广应用。

参考文献

[1] DEL TORO G,MORRIS E,CAIRO M S. Tumor lysis syndrome: pathophysiology, definition, and alternative treatment approaches[J]. *Cline Adv Hematol Oncol*,2005,3:54-61.

[2] LOCATELLI F,ROSSI F. Incidence and pathogenesis of tumor lysis syndrome[J]. *Contrib Nephrol*,2005,147:61-68.

[3] SAINI N,PYO LEE K,JHA S,et al. Hyperuricemic renal failure in nonhematologic solid tumors:a case report and review of the literature[J]. *Case Rep Med*,2012,2012:314056-314060.

[4] CAIRO M S,BISHOP M. Tumor lysis syndrome:new therapeutic strategies and classification [J]. *Br J Haematol*,2004,127:3-11.

[5] ZUCKERMAN T,GANZEL C,TALLMAN M S,et al. How I treat hematologic emergencies in adults with acute leukemia[J]. *Blood*,2012,120:1993-2002.

(收稿日期:2013-03-11)