

异基因造血干细胞移植治疗原发性噬血细胞综合征合并中枢神经系统病变病例报告*

首都医科大学附属北京友谊医院 付丽 魏娜 王晶石 吴林 张嘉 高卓 刘锦丽 王昭*,
北京 100050

摘要 目的: 探讨原发性噬血细胞综合征(HLH)合并中枢神经系统病变诊断要点以及异基因造血干细胞移植(Allo-HSCT)治疗情况。方法: 对1例原发性HLH合并中枢神经系统病变患者的临床特点进行分析,完善基因测序、免疫学指标检测和家系调查,进行Allo-HSCT。结果: 11岁男性病例,表现为反复发热、全血细胞减少,脾大、骨髓中可见噬血现象,自然杀伤(NK)细胞活性下降(10.39%)。基因检测和家系调查显示患者携带分别来自父系和母系的PRF1基因的复杂杂合改变,两位胞姐各自携带不同突变位点;全家成员穿孔素蛋白表达量均有不同程度下降。病程中出现癫痫,头颅核磁共振提示多发病变。确诊原发性HLH合并中枢神经系统病变。给予HLH-2004方案治疗后,接受胞姐HLA 5/10相合Allo-HSCT。目前移植后14个月,一般情况良好。结论: 对于合并中枢神经系统病变的原发性HLH,尽早进行Allo-HSCT是获得长期生存及治愈的唯一方法。

关键词 原发性噬血细胞综合征; 中枢神经系统病变; 穿孔素; 异基因造血干细胞移植

中图分类号 R742 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20160303

A case report of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in primary hemophagocytic lymphohistiocytosis with central nervous system involvement FU Li, WEI Na, WANG Jing-shi, WU Lin, ZHANG Jia, GAO Zhuo, LIU Jin-li, WANG Zhao*. Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100050, China

Abstract Objective: To investigate the essentials of diagnosis and the treatment of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) in primary hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) with central nervous system (CNS) involvement. Methods: One case with PRF1 gene mutations were conducted pedigree investigation, including family genetic screening and detection of immunological parameters to diagnose primary HLH with CNS involvement according to HLH-2004 and accepted allo-HSCT. Results: A 11-year-old man presented recurrent fever, pancytopenia and splenomegaly. His laboratory test revealed bone marrow hemophagocytosis and reduced level of NK cell activity (10.39%). The DNA mutations of patient includes missense mutation c. T172C (p. S58P) from father and non-frameshift deletions c. 1083_1094del (p. 361_365del) from mother in PRF1 gene. Two sisters respectively carried one mutation. The perforin protein expression levels of all the family members were decreased in different degrees. The patient developed seizure during the episode and brain MRI showed multifocal lesions. Based on the HLH-2004 diagnostic criteria, the patient was diagnosed as primary HLH with CNS involvement. Following with HLH-2004 treatment protocol, the patient accepted HLA haplo-identical allo-HSCT. Conclusion: Allo-HSCT is an effective treatment for primary HLH with CNS involvement to achieve cure and long-term survival.

Keywords Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis; Central nervous system involvement; Perforin; Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

噬血细胞淋巴组织细胞增生症(hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH), 又称噬血细胞综合征(hemophagocytic syndrome, HPS)是一种由遗传性或获得性免疫调节异常导致的过度炎症反应综合征^[1]。

根据发病原因的不同, HLH可分为原发性HLH和继发性HLH两大类^[2]。原发性HLH是一种常染色体隐性遗传病, 发病率为1/50 000, 70%~80%于1岁以内发病, 90%以上在2岁以内发病, 8岁以后发病罕有报道^[3]。大多有阳性家族史。HLH属于全身多系统疾病, 是自然杀伤(natural killer, NK)细胞和细胞毒T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的功能受损伴T淋巴细胞和巨噬细胞在淋巴结、脾脏、肝脏和其它器官诸如中枢神经系统的浸润。HLH合并中枢神经系统病变(HLH with central nervous system involvement, CNS-HLH)病理特征为

* 基金项目: 北京市自然科学基金(No: 7132087); 国家自然科学基金青年科学基金项目(No: 81401627); 首都医学发展基金(首发2014-4-2025); 北京市科委首都特色项目(No: Z151100004015172); 北京市科委首都市民健康项目培育(No: Z131100006813041); 北京市优秀人才资助项目(No: 2013D003034000017)

* 通信作者: 王昭, E-mail: wangzhao1968@outlook.com

脑膜和血管周围间隙淋巴组织细胞浸润^[4]。临床既可表现为首发症状也可出现在后期病程,既可作为独立症状也可作为伴随症状。本文报道1例异基因造血干细胞移植治疗原发性 HLH 合并中枢神经系统病变,并进行相关文献复习。

病例资料

患者男,11岁。于2014年3月无明显诱因发热,体温最高达40℃。给予阿奇霉素、头孢唑肟、美罗培南等抗生素疗效不佳。随后出现全血细胞减少“WBC $1.0 \times 10^9/L$, N 40%, Hb 86 g/L, PLT $61 \times 10^9/L$ ”,脾肋下4 cm,骨髓细胞学可见噬血现象。2014年6月于当地医院诊断“噬血细胞综合征”。给予 HLH-2004 方案治疗^[5] 2周后体温恢复正常,脾脏缩小至正常范围,全血细胞计数趋于正常范围。2014年7月突发头痛,伴有全身抽搐,癫痫持续状态,行气管插管并呼吸机辅助通气。行腰椎穿刺脑脊液检查压力250 mmH₂O,脑脊液常规、生化、涂片均无异常,细菌、病毒及真菌检查均无异常。头颅MRI: 两侧额、颞及枕叶、背侧丘脑异常信号。考虑 CNS-HLH。给予抗癫痫、降颅压对症治疗,并予 VM-26 联合地塞米松治疗。

2014年9月入住我院。完善疱疹病毒 DNA 筛查、风湿免疫抗体检查、全身 PET-CT、骨髓病理、骨髓免疫分型检查,排除疱疹病毒感染、风湿免疫疾病及肿瘤。通过流式细胞术联合病毒转染的荧光细胞检测 NK 细胞活性: 10.39%; sCD25: 5556.6 pg/mL。HLH 基因测序,提示穿孔素1(perforin1, PRF1) 基因存在复杂杂合突变,分别为错义突变 p. S58P 和非框架移码突变 c. 1083_1094del。流式细胞术检测穿孔素蛋白表达量,CTL 细胞 6.66%, NK 细胞 6.93% 均提示明显下降。CD107a 激发实验无异常。结合家族史,患者四位胞姐,其中2位分别于出生后3个月及7个月时死于重症感染,生前均有肝脾肿大及黄疸表现;另有2位身体健康,父母身体健康。进行基因家系筛查、NK 细胞活性和穿孔素蛋白表达检测,见图1。根据 HLH-2004 诊断标准,确诊原发性 HLH 合并中枢神经系统病变。继续给予环孢素、地塞米松维持治疗;鞘内注射甲氨蝶呤(MTX) 12 mg + 地塞米松 5 mg/周,共8周,期间监测脑脊液常规、生化均无异常。

患者于中华骨髓库未查询到适合供者;与大姐 HLA 配型 5/10 相合。2015年1月行亲缘不全相合外周血干细胞移植,给予 TBI/VP-16/Cy 清髓预处理

理,短程 MTX + 环孢素 + 霉酚酸酯预防急性移植物抗宿主排斥反应(GVHD)。回输外周血干细胞 MNC 计数 $12.2 \times 10^8/kg$, CD34 + 计数 $4.91 \times 10^6/kg$ 。+11 d 白细胞植活, +12 d 血小板植活; +30 d 复查嵌合率(FISH X/Y): 供者成份 99.8%。复查 HLH 基因测序,由错义突变 p. S58P 和非框架移码突变 c. 1083_1094del 组成的复杂杂合突变转变为非框架移码突变 c. 1083_1094del 的单基因改变。

+4 d 癫痫大发作,意识丧失约 5 min,给予地西洋、鲁米那镇静,甘露醇降颅压治疗后症状缓解;同时监测外周血环孢素谷浓度 178 ng/mL。+37、+56、+80 d 分别再次出现抽搐,一过性意识丧失约 30 s ~ 3 min,未予处理,自行缓解。+119 d,再次癫痫大发作,意识丧失约 7 min。地西洋镇静后症状缓解。复查脑脊液压力 180 mmH₂O; 脑脊液常规白细胞 $30 \times 10^6/L$, 其中淋巴细胞占 95%, 中性粒细胞占 5%; 脑脊液生化: 总蛋白 106 mg/dL; 脑脊液免疫分型: 淋巴细胞占有核细胞 73.17%, T 细胞占 91%, CD4/CD8 = 0.91; 单核细胞占 1.76%, 均为成熟阶段,未见明显 B、NK 细胞。头颅 MRI: 脑内多发异常信号,与移植前比较范围稍缩小。脑电图: 双侧颞叶、顶叶异常放电。考虑移植后原发噬血细胞综合征中枢神经系统病变复发。给予鞘内注射 MTX + 地塞米松,每周 × 2 次,每 2 周 × 1 次,每月 × 4 次,每 2 月 × 1 次;同时口服托吡酯抗癫痫治疗。治疗期间自移植后第一次鞘内注射(+119 d) 后未再出现癫痫发作,期间监测脑脊液压力逐渐恢复正常范围,脑脊液白细胞计数、总蛋白水平变化,见图2。头颅 MRI 多发病变范围逐渐缩小,见图3。目前移植后 14 个月,停止鞘内注射 5 个月,一般情况良好。

讨论

原发性 HLH 相关基因目前正在不断扩展当中,现已知的相关基因至少有 12 种,包括 PRF1、UNC13D、STX11、STXP2、LYST、RAB27A、ADTB3A、SH2D1A、BIRC4、ITK、CD27 和 MAGT1^[6]。对于疑似 HLH 的患者可通过基因测序完善目前已知的 HLH 缺陷基因筛查,从而进行鉴别。常见的突变类型包括错义突变、无义突变、框架移码和剪接点序列变异;另一方面,流式细胞术检测穿孔素、颗粒酶 B、SAP(X-连锁淋巴增殖综合征[XLP-1]) 和 XI-AP(XLP-2) 等,被用来作为鉴定基因遗传性 HLH 的筛选方法,从而反映基因突变对蛋白表达量的影响^[7]。此外,NK 细胞活性降低或缺如是 HLH-2004

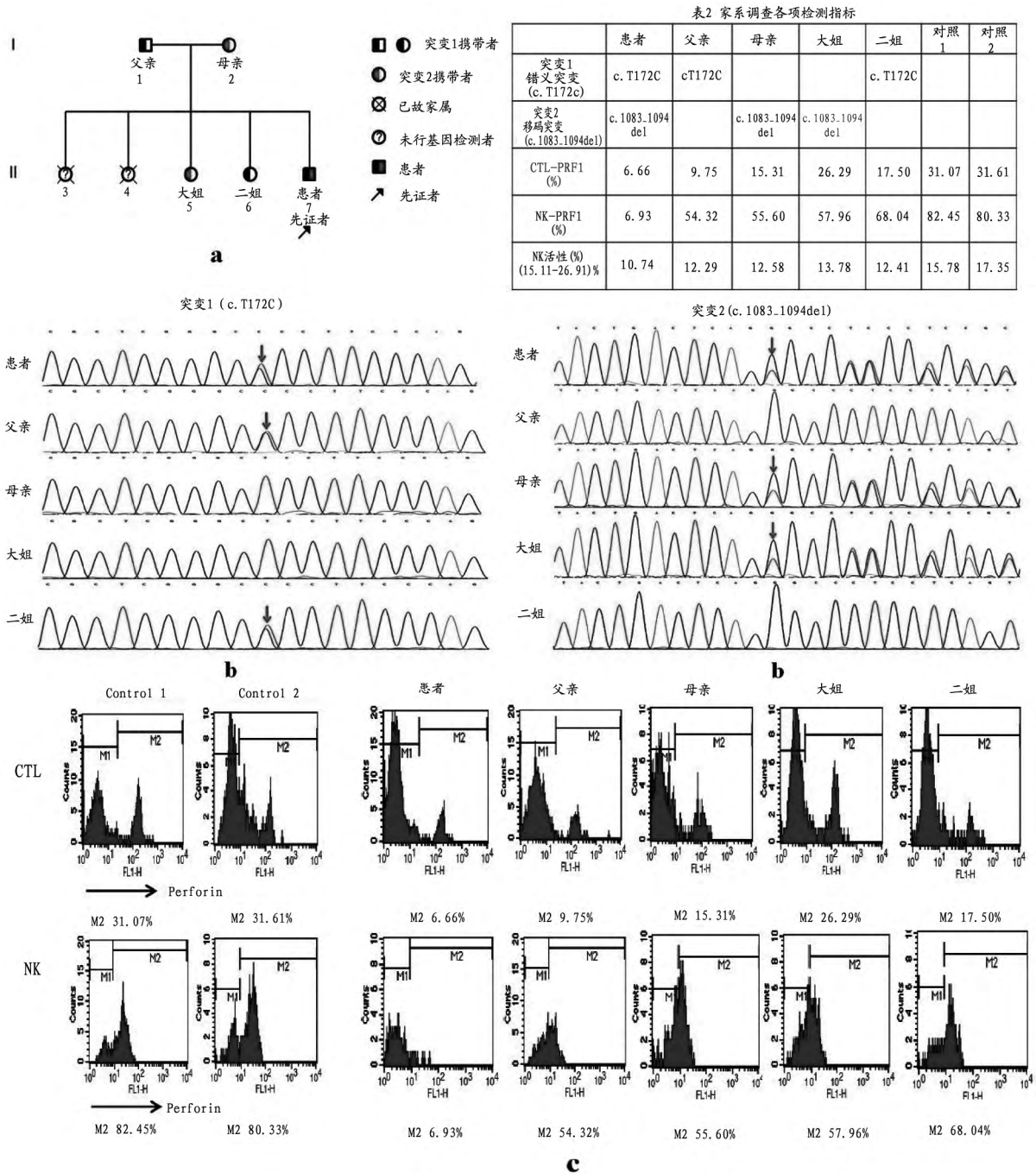


图1 患者家系调查: (a) 家系图谱; (b) Sanger 测序验证基因突变1和突变2; (c) 穿孔素蛋白表达测定

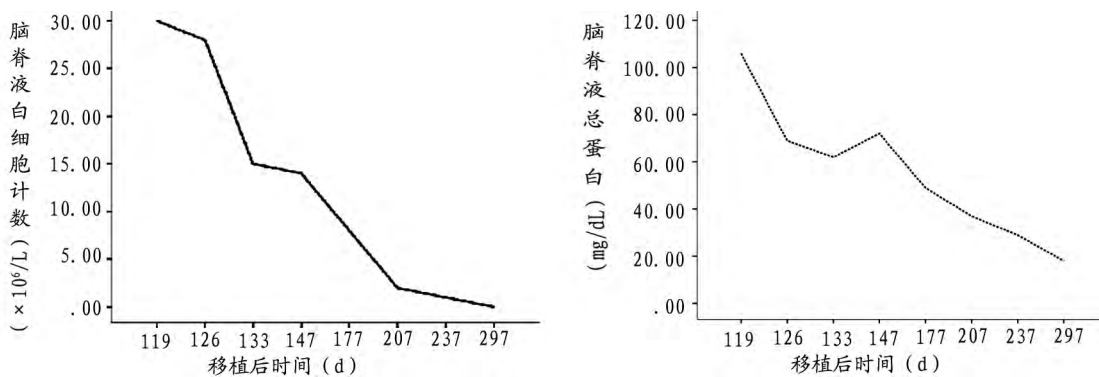


图2 患者移植后给予 CNS-HLH 治疗 治疗后脑脊液变化

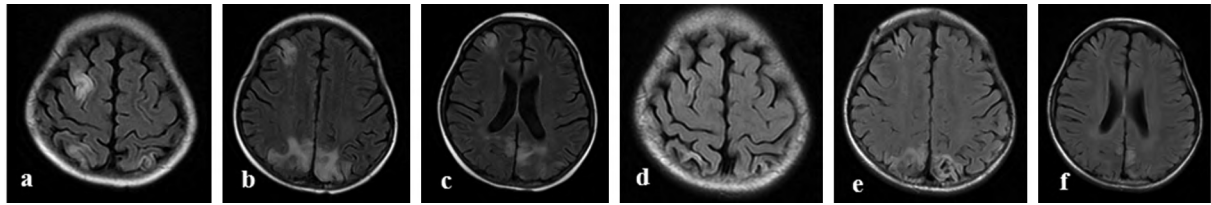


图3 头颅MRI T2 Flare像:(a)~(c)移植前;(d)~(f)移植后8个月

诊断标准中一项重要的检测指标,反应了机体的免疫缺陷状态^[5]。Janka等^[3]发现原发性HLH患者在疾病早期NK细胞活性降低检测率几乎可达100%,因此,及时检测NK细胞活性对早期诊断极为重要。但免疫学检测不能完全替代基因检测,一旦上述免疫学指标提示HLH患者存在遗传基础,分子鉴定需进一步完善,包括父母及同胞。本研究中,患者两位胞姐出生时均有不明原因发热、黄疸和脾肿大病史并相继夭折;存在NK细胞活性降低;经过基因筛查和家系调查结果显示患者携带涉及PRF1基因的复杂杂合改变:一个来自父系的杂合错义点突变 p. S58P,一个来自母系的非框架移码突变 c. 1083_1094del 2位胞姐各自携带不同突变位点;并且全家成员PRF1基因突变家系编码穿孔素蛋白表达量均有不同程度下降。患者临床表现不明原因发热,全血细胞减少,高甘油三酯血症,脾大,骨髓中有噬血现象。根据HLH-2004诊断标准,确诊原发性HLH。HLH可累及全身多个系统,CNS-HLH可作为伴随症状或独立症状出现且临床表现多样化。一项多中心大宗病例回顾性分析结果显示,CNS-HLH最常见症状是烦躁易怒(34%)、癫痫(33%)和脑膜刺激征(24%);其它症状还包括意识紊乱、发育迟缓、颅神经麻痹、共济失调、痉挛和偏瘫^[8]。CNS-HLH还可表现为脑脊液(cerebrospinal fluid,CSF)异常,即CSF中淋巴细胞增多和总蛋白水平增加,常与中枢神经系统症状发生并不一致^[8]。Janka等^[9]报道了家族性HLH,确诊病例中伴有神经系统症状的不足10%,而一半以上病例伴有CSF异常。北京儿童医院单中心报道获得性EBV-HLH初诊时前者占12%,后者占16%^[10]。另有研究证实,CNS-HLH确诊时即有CSF异常更容易发生神经后遗症;并且CSF异常提示预后差、病死率高^[8,11]。CNS-HLH最常见的影像学改变是广泛的脑萎缩、脑白质病变和脱髓鞘改变。其它表现包括非特异性炎症,脑出血和脑水肿。由于影像检查往往在激素治疗之后,因此,需要谨慎考虑脑萎缩发生的原因^[12-14]。影像检查以MRI更为精确,中枢病灶通常为多形性、多发性、双侧损害;多发生在脑室周围,而丘脑或基底节

较少累及^[13,15]。MRI特点是T2加权相高信号强度的病灶。头颅MRI在诊断CNS-HLH并不具有特异性;经过积极治疗,CNS-HLH中神经系统症状和CSF异常通常会在短期内明显改善,但是影像改变则恢复缓慢^[10]。结合本病例,诊断CNS-HLH之初仅有癫痫症状,头颅MRI提示多发病变,CSF无异常。移植后出现CNS-HLH复发,临床表现为癫痫反复发作、CSF淋巴数量增多和总蛋白水平增加。经过间断鞘注MTX+地塞米松和对症治疗,癫痫症状未再发作,CSF改变在5个月内恢复正常,头颅MRI提示病灶缓慢缩小至目前尚未正常,与文献报道一致。

由于先天性严重细胞毒功能缺陷,原发性HLH即使通过化疗和/或免疫治疗获得暂时缓解仍难以避免复发的厄运。因此,异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT)通过免疫重建和造血重建成为可能治愈原发HLH并获得长期生存的唯一治疗选择。CNS-HLH预后差,病死率高,通过Allo-HSCT,其预后可获得明显改善^[8]。2011年,Jordan等^[16]确定了移植适应证,推荐人群包括中枢神经系统受累、难治/复发性疾病、持续NK细胞功能障碍以及已证实为家族性/遗传性疾病的患者。具有移植适应证的HLH经过诱导治疗缓解后是接受移植的最佳时机^[17,18]。由于HLH进展迅速且病情反复,致使获得缓解的窗口期短暂,因此对于有适应证的HLH患者一旦确诊即应开始寻找移植供者。有研究认为,如果缺乏亲缘或无关全相合供者,亲缘半相合或脐血移植也可以作为选择^[19-21]。但是HLH移植后原发或继发植入失败发生率可达4%~22%,尤其在减毒预处理造血干细胞移植供患混合嵌合发生率明显增高^[22-24]。由于细胞数量有限而不能支持后续供者淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion, DLI)使得无关供者和脐血来源的造血干细胞使用受到限制。对于原发HLH,亲缘全相合供者存在携带相同致病基因以及延迟发病的可能。因此,确定供者前需要进行基因测序、CD107a、NK细胞活性以及相关基因编码蛋白表达量检测。本研究病例无亲缘全相合供

者,在中华骨髓库也未找到合适供者。鉴于移植后可能需要 DLI,因此,选择了携带非框架移码突变 c.1083_1094del 且穿孔素蛋白表达量比较接近正常的大姐作为亲缘半相合供者。

对接受移植并获得生存的 CNS-HLH 患者进行长期随访发现,大部分患者的神经系统症状和认知功能均得到改善,生活质量基本恢复正常^[16]。另有文献报道,Allo-HSCT 可逐渐减少中枢损害,并通过 MRI 监测到颅脑代谢逐渐趋于正常^[25]。上述结果充分说明 Allo-HSCT 治疗原发 HLH 合并中枢脑病具有显著疗效。本研究病例在移植前通过化疗和反复鞘内注射 MTX + 地塞米松使中枢神经系统症状获得缓解。CNS-HLH 在移植治疗早期即出现复发,并经过鞘内注射症状再次获得缓解,CSF 检查逐渐恢复正常,MRI 监测结果显示头颅多发病变逐渐缩小。目前移植后 14 个月,停止癫痫发作持续 9 个月,停止鞘内注射 5 个月,一般情况稳定仍在持续随访中。移植后 HLH 复发的治疗尚无大宗病例报道亦无指南可循。本例 CNS-HLH 是通过反复鞘注获得了暂时性缓解,还是伴随移植后免疫重建取得了治愈性缓解,仍需要进一步随访。

合并中枢神经系统病变的原发性 HLH 病情凶险反复,病死率高,对有条件的患者尽早进行 Allo-HSCT 是获得长期生存及治愈的唯一手段。基因测序结合免疫学指标检测以及家系调查,可完整地评估患者及家族成员的疾病状况,并为寻找合适的亲缘不全相合供者提供依据。原发性 HLH 接受 Allo-HSCT 治疗后出现 CNS-HLH 复发,经过积极治疗仍可再次获得病情缓解。

参考文献

- 1 曾祥宗,王旖旎,王昭.成人噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增生症[J].内科急危重症杂志 2015 21(2):81-85.
- 2 罗丹,黄丽芳,曾雯,等.继发性噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增生症 65 例临床特点分析[J].内科急危重症杂志 2015 21(2):96-97.
- 3 Janka GE. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Eur J Pediatr 2007 166(2):95-109.
- 4 Haddad E, Sulis ML, Jabado N, et al. Frequency and severity of central nervous system lesions in hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Blood 1997 89(3):794-800.
- 5 Henter JI, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Blood Cancer 2007 48(2):124-131.
- 6 Chandrakasan S, Filipovich AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis and treatment [J]. J Pediatr 2013 163(5):1253-1259.
- 7 Lehmborg K, Ehl S. Diagnostic evaluation of patients with suspected

- haemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Br J Haematol 2013 160(3):275-287.
- 8 Horne A, Trottestam H, Arico M, et al. Frequency and spectrum of central nervous system involvement in 193 children with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Br J Haematol 2008 140(3):327-335.
- 9 Janka GE. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Eur J Pediatr 1983 140(3):221-230.
- 10 Yang S, Zhang L, Jia C, et al. Frequency and development of CNS involvement in Chinese children with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Blood Cancer 2010 54(3):408-415.
- 11 Kollias SS, Ball WS Jr, Tzika AA, et al. Familial erythrophagocytic lymphohistiocytosis: neuroradiologic evaluation with pathologic correlation [J]. Radiology 1994 192(3):743-754.
- 12 Fitzgerald NE, MacClain KL. Imaging characteristics of hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Pediatr Radiol 2003 33(6):392-401.
- 13 Rego I, Severino M, Micalizzi C, et al. Neuroradiologic findings and follow-up with magnetic resonance imaging of the genetic forms of hemophagocytic lymphohistiocytosis with CNS involvement [J]. Pediatr Blood Cancer 2012 58(5):810-814.
- 14 Akiyoshi K, Hamada Y, Yamada H, et al. Acute necrotizing encephalopathy associated with hemophagocytic syndrome [J]. Pediatr Neurol 2006 34(4):315-318.
- 15 Deiva K, Mahlaoui N, Beaudonnet F, et al. CNS involvement at the onset of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Neurology 2012 78(15):1150-1156.
- 16 Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Blood 2011 118(15):4041-4052.
- 17 Ouachée-Chardin M, Elie C, de Saint Basile G, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis: a single-center report of 48 patients [J]. Pediatrics 2006 117(4):e743-e750.
- 18 Baker KS, DeLaat CA, Steinbuch M, et al. Successful correction of hemophagocytic lymphohistiocytosis with related or unrelated bone marrow transplantation [J]. Blood 1997 89(10):3857-3863.
- 19 Sawada A, Ohga S, Ishii E, et al. Feasibility of reduced-intensity conditioning followed by unrelated cord blood transplantation for primary hemophagocytic lymphohistiocytosis: a nationwide retrospective analysis in Japan [J]. Int J Hematol 2013 98(2):223-230.
- 20 Cooper N, Rao K, Goulden N, et al. The use of reduced-intensity stem cell transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis and Langerhans cell histiocytosis [J]. Bone Marrow Transplant 2008 42(Suppl 2):S47-S50.
- 21 Amayiri N, Al-Zaben A, Ghatasheh L, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for children with primary immunodeficiency diseases: single center experience in Jordan [J]. Pediatr Transplant 2013 17(4):394-402.
- 22 Horne A, Janka G, Maarten Egeler R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Br J Haematol 2005 129(5):622-630.
- 23 Baker KS, Filipovich AH, Gross TG, et al. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Bone Marrow Transplant 2008 42(3):175-180.
- 24 Marsh RA, Jordan MB, Filipovich AH. Reduced-intensity conditioning hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis: an important step forward [J]. Br J Haematol 2011 154(5):556-563.
- 25 Imashuku S, Hyakuna N, Funabiki T, et al. Low natural killer activity and central nervous system disease as a high-risk prognostic indicator in young patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis [J]. Cancer 2002 94(11):3023-3031.

(2016-03-15 收稿 2016-05-15 修回)