

# 异基因造血干细胞移植后侵袭性真菌病危险因素分析\*

周游, 刘林<sup>△</sup>, 廖明燕, 唐晓琼, 王利, 张红宾, 肖青

(重庆医科大学附属第一医院血液科 400016)

**[摘要]** **目的** 了解血液系统恶性疾病患者异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)术后侵袭性真菌病(IFD)的发病率、危险因素。**方法** 选择 2007 年 1 月至 2013 年 11 月于重庆医科大学附属第一医院 HSCT 中心接受 allo-HSCT 的患者 82 例,按照我国 IFD 诊断标准进行回顾性分析。**结果** 82 例 allo-HSCT 术后患者,共诊断 22 例 IFD,发生率为 26.83%,其中确诊 IFD 者 5 例(22.73%),临床诊断者 7 例(31.82%),拟诊者 10 例(45.45%)。3、6、12 个月的累积发病率分别为 11.10%、15.30%、22.60%。多因素分析中,移植前真菌感染史、HLA 配型不合是 IFD 早期的危险因素;广谱抗菌药物使用、大剂量激素使用为 IFD 晚期的危险因素。**结论** IFD 是 allo-HSCT 术后严重并发症,其发生率和病死率均较高。HLA 配型不合、移植前真菌感染史、持续中性粒细胞缺乏、大剂量激素使用、广谱抗菌药物使用、慢性移植物抗宿主病(GVHD)是 IFD 的危险因素。

**[关键词]** 异基因造血干细胞移植;侵袭性真菌病;危险因素

**[中图分类号]** R551.3

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)21-2904-03

## Risk factors of invasive fungal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation\*

Zhou You, Liu Lin<sup>△</sup>, Liao Mingyan, Tang Xiaoqiong, Wang Li, Zhang Hongbin, Xiao Qing

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To examine the risk factors and incidence of invasive fungal disease(IFD)in recipients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation(allo-HSCT). **Methods** We performed a study of eighty-two patients undergoing allo-HSCT from January 2007 to November 2013. We defined IFD using standard criteria and selected proven, probable and possible cases for retrospective review. **Results** For 82 cases, 22 cases of IFD(26.83%)were identified, including 5 proven IFD(22.73%), 7 Probable IFD(31.82%)and 10 possible IFD(45.45%)cases respectively. The cumulative incidence rate of IFD for 3 months, 6 months and 12 months was 11.10%, 15.30%, 22.60% respectively. Univariate analysis showed that neutrophil  $<0.5 \times 10^9/L$  more than 14 days, previous history of IFD as risk factors of early IFD after allo-HSCT, and previous history of IFD, glucocorticosteroid use, antibiotics use, chronic GVHD as risk factors of late IFD. In multivariate analysis, the early risk factors were HLA unmatched, previous history of IFD, while glucocorticosteroid use, antibiotics use were risk factors of late IFD. **Conclusion** IFD was one of the severe complications after allo-HSCT with high incidence and mortality. Its risk factors were HLA unmatched, previous history of IFD, neutrophil  $<0.5 \times 10^9/L$  more than 14 days, glucocorticosteroid use, antibiotics use, chronic GVHD.

**[Key words]** allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; invasive fungal disease; risk factors

侵袭性真菌病(invasive fungal disease, IFD)是血液系统恶性疾病患者异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)术后严重并发症之一,也是引起患者死亡的重要原因。不同文献报道的 allo-HSCT 术后 IFD 的发病率不同,国外较早的一篇文献报道, HSCT 后 IFD 的发生率为 10%~26%<sup>[1]</sup>。Martino 等<sup>[2]</sup>的研究显示,在 395 例 HLA 全相合 allo-HSCT 患者中, IFD 的发生率为 14%。早期 IFD 的诊断困难,且 IFD 进展迅速,病死率高。国外一项多中心研究报道, allo-HSCT 术后侵袭性念珠菌病患者诊断后 12 周内病死率高达 49%<sup>[3]</sup>。侵袭性曲霉菌患者也伴随着不良预后,病死率 35%~67%<sup>[3-4]</sup>。IFD 的较高发生率及较高病死率使其成为影响 allo-HSCT 患者术后无病生存期及总生存期的重要因素。根据相关文献报道, allo-HSCT 术后 IFD 的危险因素包括患者年龄、急慢性移植物抗宿主病(GVHD)、HLA 配型、供者来源、持续中性粒细胞缺乏、大剂量激素使用等<sup>[5-7]</sup>。为了进一步了解我国 allo-HSCT 后患者 IFD 的发病情况及相关危险因素,现对本院 82 例患者进行回顾性分析。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2007 年 1 月至 2013 年 11 月于本院 HSCT 中心接受 allo-HSCT 的患者 82 例,其中男 49 例,女 33 例,年龄 8~61 岁,中位年龄 38 岁,随访至 2014 年 11 月 31 日,随访 148~1 517 d,中位随访时间 663 d,移植前原发病分别为:急性髓性白血病(AML)26 例,骨髓增生异常综合征(MDS)8 例,慢性粒细胞性白血病(CML)24 例,重型再生障碍性贫血(SAA)9 例,急性淋巴细胞性白血病(ALL)12 例,非霍奇金淋巴瘤(NHL)3 例。供者资料:共 82 例供者,其中 75 例为亲缘供者,7 例为非亲缘供者,HLA 全相合者有 49 例,1 个位点及其以上不合者有 33 例。

**1.2 纳入标准** 造血干细胞植活标准:粒细胞植活标准为中性粒细胞(ANC) $>0.5 \times 10^9/L$ ,并持续 3 d;血小板植活标准为不依赖输血,血小板持续 3 d $>20 \times 10^9/L$ 。广谱抗菌药物应用界定为碳青霉烯类+糖肽类持续应用 1 周以上。大剂量糖皮质激素应用界定为(相当于泼尼松的剂量),累积剂量应用超过  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 7 \text{ d}$  或  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 14 \text{ d}$ 。

IFD 分组:移植后 100 d 内发生的 IFD 称为早期 IFD,移植后 100 d 以后发生的 IFD 称为晚期 IFD。

**1.3 预处理方案** 82 例患者中 9 例 SAA 患者采用 FC+ATG(氟达拉滨+环磷酰胺+抗胸腺细胞球蛋白)方案,其余血液系统恶性疾病患者,有 68 例采用以白消安+环磷酰胺为基础的的方案,有 5 例采用以全身照射+环磷酰胺为基础的的方案。

**1.4 IFD 的诊断标准** 根据中国侵袭性真菌感染工作组制定的《血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第四次修订版)》<sup>[7]</sup>。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS19.0 统计软件。非正态分布的连续性变量用中位数(四分位距,IQR)表示,分类变量用频数和率表示。分类变量组间比较应用  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确检验。单因素分析采用 Kaplan-Meier 法,组间比较采用 Log-rank 检验。单因素分析  $P < 0.15$  进入多因素分析,多因素分析采用 Cox 风险比例回归模型分析。以  $P < 0.05$  认为有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 IFD 的发生情况** 82 例患者,粒细胞中位植活时间 11(IQR 10~14.5)d,血小板中位植活时间 12(IQR 10~20)d,82 例 allo-HSCT 术后患者,共诊断 22 例 IFD,发生率为 26.83%,其中确诊 IFD 者 5 例(22.73%),临床诊断者 7 例(31.82%),拟诊者 10 例(45.45%)。其中 18 例发生于肺部,2 例发生于中枢神经系统,2 例念珠菌血症。发生在早期的有 9 例,晚期的有 13 例(59.09%),发生中位时间为移植后 162 d。3、6、12 个月的累积发病率分别为 11.10%、15.30%、22.60%。IFD 的相关病死率为 40.91%(9/22)。

**2.2 发生 IFD 患者与排除 IFD 患者临床特征** 比较 22 例发生 IFD 的患者和 60 例排除 IFD 的患者,移植前真菌感染史( $P=0.017$ )、慢性 GVHD( $P=0.017$ )、持续中性粒细胞缺乏( $P=0.009$ )、广谱抗菌药物使用( $P=0.013$ )、大剂量激素使用( $P=0.009$ ) 在两组患者差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而年龄、性别、原发病、急性 GVHD、中性粒细胞植活天数、血小板植活天数、供者来源、HLA 配型两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 Allo-HSCT 术后 IFD 危险因素分析** 根据相关文献报道及临床经验,本研究对可能导致 IFD 发生的危险因素进行分析,包括年龄、性别、原发病、移植前真菌感染史、急性 GVHD、持续中性粒细胞缺乏、慢性 GVHD、广谱抗菌药物使用、供者来源、HLA 配型、大剂量激素使用、中性粒细胞植活天数及血小板植活天数。单因素分析中,早期 IFD 的危险因素有移植前真菌感染史、持续中性粒细胞缺乏;晚期 IFD 危险因素为移植前真菌感染史、大剂量激素使用、广谱抗菌药物使用、慢性 GVHD。多因素分析,早期 IFD 的危险因素有 HLA 配型不合( $P=0.048, HR=8.494, 95\%CI: 1.021\sim 70.662$ )、移植前真菌感染史( $P=0.004, HR=35.366, 95\%CI: 3.184\sim 392.873$ );晚期 IFD 危险因素为广谱抗菌药物使用( $P=0.035, HR=9.150, 95\%CI: 1.166\sim 71.826$ )、大剂量激素使用( $P=0.027, HR=10.179, 95\%CI: 1.298\sim 79.812$ )。见表 1、2。急性 GVHD 发生于移植后 100 d 之内,因此只是早期危险因素;慢性 GVHD 发生于移植后 100 d 植活之后,因此只是晚期危险因素;中性粒细胞缺乏天数、中性粒细胞植活、血小板植活均发生于移植后早期造血系统尚未重建时,因此只是早期危险因素。

表 1 IFD 危险因素的单因素分析

影响因素	早期 IFD	P	晚期 IFD	P
年龄(岁)				
<38	6		5	
≥38	3	0.225	8	0.855
性别				
男	4		7	
女	5	0.290	6	0.392
原发病	9	0.290	13	0.392
供者来源				
相关供者	9		12	
无关供者	0	0.334	1	0.687
HLA 配型				
全相合	3		9	
不全相合	6	0.105	4	0.809
真菌感染史				
有	7		11	
无	2	0.001	2	0.001
急性 GVHD				
0~I 度	8		—	
II~IV 度	1	0.706	—	—
慢性 GVHD				
无	—		3	
局限型	—		2	
广泛型	—	—	8	0.012
中性粒细胞缺乏天数(d)				
≤14	2		—	
>14	7	0.007	—	—
广谱抗菌药物(d)				
≤7	2		1	
>14	7	0.214	12	0.01
大剂量激素				
无	5		1	
有	4	0.810	12	0.01
中性粒细胞植活天数(d)				
≤14.5	6		—	
>14.5	2	0.563	—	—
血小板植活天数(d)				
≤20	7		—	
>20	0	0.200	—	—

—:此项无数据。

表 2 IFD 危险因素的多因素分析

影响因素	早期 IFD		晚期 IFD	
	P	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)
HLA 配型	0.048	8.494(1.021~70.662)	—	—
真菌感染史	0.004	35.366(3.184~392.873)	NS	—
慢性 GVHD	—	—	NS	—
中性粒细胞缺乏天数	NS	—	—	—
广谱抗菌药物	—	—	0.035	9.150(1.166~71.826)
大剂量激素	—	—	0.027	10.179(1.298~79.812)

HR:风险比;NS:无显著性;—:未计算 P 和 HR。

**3 讨 论**

在本次分析中,包括确诊、临床诊断、拟诊 IFD 的发生率为 26.83%,1 年的累积发病率为 22.60%,与其他文献报道相当。因为本研究运用针吸活检、尸检等确诊手段较少,确诊病

例所占比例小(22.73%)。IFD 预后不良,本研究中,IFD 的相关病死率为 40.91%(9 例),这与 Mitsutoshi 等<sup>[8]</sup>的研究结果基本相当。较高的发病率和较高的病死率说明了 IFD 的确是 allo-HSCT 术后严重影响患者长期生存的并发症。20 世纪 90 年代后期随着移植方式的改变使 IFD 的发生时间由早期开始向晚期偏移<sup>[9]</sup>。本研究中,发生在 100 d 以后的占 59.09%。也说明了 IFD 的发病高峰有向晚期偏移的倾向。

在本研究分析中,移植前真菌感染史是显著的危险因素。Maziarz 等<sup>[10]</sup>也报道了相似的分析结果,且指出移植前真菌感染史严重影响了移植患者的无病生存率(DFS)和总生存率(OS)。有学者提出是否应把移植前真菌感染史作为 allo-HSCT 的禁忌证这个问题。然而也有研究指出移植前真菌感染史并未影响到患者预后<sup>[11]</sup>。目前,本院仍将移植前真菌感染史作为 IFD 的高危因素,而非 allo-HSCT 的禁忌证,并有待更多研究结果,更有说服力的数据来探讨该问题。

已有研究示,单倍体移植显著增加 HSCT 后机会感染的发生率<sup>[12]</sup>,但关于 HLA 配型不全合移植患者发生 IFD 的研究仍然有限。本研究认为,HLA 配型不全合移植患者因预处理方案中包含 ATG;与 HLA 全相合患者相比,免疫抑制剂使用时间更长,GVHD 发生率更高,故其免疫抑制更重,免疫恢复时间更长。以上都会增加 IFD 的发生风险。

中性粒细胞的吞噬作用可吞噬杀伤吸入鼻腔或肺的真菌孢子。中性粒细胞胞外诱补网能有效追捕和吞噬真菌,通过钙粒蛋白螯合真菌生长所需的锌离子从而抑制真菌<sup>[13]</sup>。因此长期中性粒细胞缺乏是 allo-HSCT 术后 IFD 的危险因素。激素的使用可减少巨噬细胞、淋巴细胞和单核细胞数量并影响它们的功能,使吞噬能力减弱、酶释放受阻、抗体形成减少和阻止细胞因子产生等,以削弱机体对真菌的抵抗力<sup>[14]</sup>,从而使 IFD 发生的风险增加。对于广泛型 GVHD 的患者,由于采用激素及加大剂量的免疫抑制剂的治疗,加重了机体免疫抑制,因此使其成为了晚期 IFD 的重要危险因素。长期使用广谱抗菌药物会造成人体内的正常菌群失调,导致细菌对真菌生长的抑制作用减弱,而增加了真菌感染的风险。

## 参考文献

- [1] Kawazu M, Kanda Y, Nannya Y, et al. Prospective comparison of the diagnostic potential of real-time PCR, double-sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for galactomannan, and a (1,3)-beta-D-glucan test in weekly screening for invasive aspergillosis in patients with hematological disorders [J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(6): 2733-2741.
- [2] Martino R, Subira M, Rovira M, et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: Incidence and risk factors in 395 patients [J]. *Br J Haematol*, 2002, 116(2): 475-482.
- [3] Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: Analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry [J]. *Clin Infect Dis*, 2009, 48(3): 265-273.
- [4] Brunstein CG, Weisdorf DJ, DeFor T, et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation [J]. *Blood*, 2006, 108(8): 2874-2880.
- [5] Girmenia C, Raiola AM, Piciocchi A, et al. Incidence and outcome of invasive fungal disease after allogeneic stem cell transplantation: a prospective study of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO) [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(6): 872-880.
- [6] Omer AK, Ziakas PD, Anagnostou T, et al. Risk factors for invasive fungal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single center experience [J]. *Boil Blood Marrow Transplant*, 2013, 19(8): 1190-1196.
- [7] 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤侵袭性真菌病诊治指南: 第 4 次修订版 [J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(8): 704-709.
- [8] Kurosawa M, Yonezumi M, Hashino S, et al. Epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies [J]. *Int J Hematol*, 2012, 96(6): 748-757.
- [9] Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(7): 1898-1906.
- [10] Maziarz RT, McLeod A, Chen M, et al. Outcomes of allogeneic HSCT for patients with hematologic malignancies (AML, ALL, MDS, CML) with and without pre-existing fungal infections: A CIBMTR study [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19(7): S124-125.
- [11] El-Cheikh J, Castagna L, Wang L, et al. Impact of prior invasive aspergillosis on outcome in patients receiving reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplant [J]. *Leuk Lymphoma*, 2010, 51(9): 1705-1710.
- [12] Lu DP, Dong L, Wu T, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation [J]. *Blood*, 2006, 107(8): 3065-3073.
- [13] Bianchi M, Niemiec MJ, Siler U, et al. Restoration of anti-Aspergillus defense by neutrophil extracellular traps in human chronic granulomatous disease after gene therapy is calprotectin independent [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(5): 1243-1252.
- [14] 郝飞, 王莉, 周村建. 糖皮质激素与侵袭性真菌感染 [J]. *中国真菌学杂志*, 2012, 7(6): 367-371.