

阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国专家共识

中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组

为进一步提高我国阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的诊治水平,中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组在广泛征求有关专家意见的基础上,参考国内外有关文献,达成以下我国 PNH 诊断和治疗共识。

一、PNH 定义及发病机制

PNH 是一种由于体细胞 Xp22.1 上 PIG-A 基因突变导致的获得性造血干细胞克隆性疾病。其发病机制包括造血干细胞 PIG-A 基因突变,使部分或完全血细胞膜糖化磷脂酰肌醇(glycophosphatidyl-inositol, GPI)锚合成障碍,造成血细胞表面 GPI 锚连蛋白缺失,细胞灭活补体等能力减弱,从而引起细胞容易被破坏,发生溶血等。临床主要表现为不同程度的发作性血管内溶血、阵发性血红蛋白尿、骨髓造血功能衰竭和静脉血栓形成。

二、PNH 诊断

(一) 筛查 PNH 克隆的指征

1. 以血红蛋白尿、尿含铁血黄素阳性和(或)血清游离血红蛋白增高为主要表现的血管内溶血。
2. 无法解释的溶血伴有铁缺乏、腹痛或食管痉挛、血栓栓塞、血小板减少和(或)白细胞减少。
3. Coombs 试验(-)、无明显肝脾肿大、极少见红细胞碎片、非感染性溶血性贫血。
4. 骨髓衰竭症:①怀疑或确诊的再生障碍性贫血或低增生性贫血;②难治性血细胞减少伴一系发育异常;③不明原因的血细胞减少症。
5. 不同寻常的血栓形成:①非常见部位血栓形成:肝静脉(Budd-Chiari 综合征)、其他腹腔内静脉(门静脉、脾静脉等)、海绵窦、皮肤静脉;②伴有溶血征象的血栓形成;③伴有全血细胞减少的血栓形成。

(二) 需常规随访 PNH 克隆的患者

确诊 PNH 患者,应常规监测 PNH 克隆变化,若病情稳定,可每年监测 1 次;出现任何临床或血液学参数变化时应缩短监测间隔。

出现溶血和血栓,若可靠的实验室检查未证实 PNH 克隆存在,则无需密切监测 PNH 克隆。

(三) 诊断 PNH 的实验室检测项目

1. 常规检测项目:

(1) 血常规及凝血功能:红细胞计数、血红蛋白含量、网织红细胞百分比;白细胞计数、血小板计数;成熟红细胞形态

[有无异形和(或)红细胞碎片]、有无幼稚红细胞。血浆纤维蛋白原、D-二聚体水平等。

(2) 多部位骨髓穿刺:至少包括髂骨,若髂骨骨髓增生不良,应进行胸骨穿刺。骨髓涂片分析:造血组织增生程度;粒、红、淋巴细胞形态和不同阶段百分比;巨核细胞数目和形态;小粒造血细胞面积;是否有异常细胞等。

(3) 骨髓活检:至少取 2 cm 骨髓组织(髂骨)标本用以评估骨髓增生程度、各系细胞比例、造血组织分布情况,以及是否存在骨髓浸润、骨髓纤维化等。

(4) 肝功能:特别是血清胆红素(直接、间接)水平及血清乳酸脱氢酶水平。

(5) 肾功能、甲状腺功能、电解质以及病毒学检查(包括肝炎病毒、EBV、CMV 等)。

(6) 血清叶酸和维生素 B12 水平。

(7) 尿常规检查及尿含铁血黄素试验(实际检测的是脱落的肾小管上皮细胞中的含铁血黄素)。

(8) 风湿免疫性疾病相关抗体。

(9) 血清 EPO 水平。

(10) 细胞遗传学:常规核型分析,必要时进行荧光原位杂交(FISH)以及遗传性疾病筛查(儿童或有家族史者推荐做染色体断裂试验)。

(11) 血浆游离血红蛋白和结合珠蛋白水平。

(12) 特异性补体溶血试验:Ham 试验、糖水试验、蛇毒因子溶血试验、微量补体敏感试验,这些试验敏感度和特异度均不高。

(13) 流式细胞术检测外周血成熟红细胞和成熟粒细胞 CD55 和 CD59 有无缺失:目前已经发现了 20 余种蛋白在 PNH 患者血细胞表面表达缺乏,如衰变加速因子(DAF, CD55)、反应性溶血膜抑制物(MIRL, CD59)、C8 结合蛋白(HRF)、内毒素受体(CD14)、低亲和力 Fc 受体(CD16)及尿酸酶型纤溶酶原激活剂受体(uPAR, CD87)等。应用流式细胞术检测 GPI 锚连蛋白缺失细胞数量是诊断 PNH 最直接、最敏感的方法。PNH 克隆累及造血细胞依次为粒细胞、单核细胞、红细胞、淋巴细胞,骨髓 PNH 克隆出现比外周血早,网织红细胞略早于成熟红细胞。建立 PNH 诊断至少有一系及以上细胞的两种 GPI 锚连蛋白缺失。CD59 敏感度要高于 CD55,CD59⁻粒细胞可最早被检出,有早期诊断价值,且不受输血影响。对 PNH 克隆锚连蛋白的不同缺失程度进行量化,可以对 PNH 进行分型,以便进一步了解并监测病情进展及疗效。例如将 PNH 红细胞根据 CD55、CD59 的缺乏程度可以分为三型:I 型(补体敏感度正常)、II 型(中度敏感)、

Ⅲ型(高度敏感),临床溶血程度主要取决于Ⅲ型红细胞多少。

(14)影像学检查(胸部 X 线或 CT、腹部 B 超等)和心电图。

2. 可选检测项目:

(1)流式细胞术检测骨髓成熟粒细胞、有核红细胞、淋巴细胞、单核细胞 CD55 和 CD59 有无缺失:在行外周血 PNH 克隆分析前,应要求受检者提供近期输血记录,并对红细胞和粒细胞均作筛查。如果患者在检测前有多次输血或重度溶血,那么 PNH 筛查可能受到输血和溶血的影响,导致错误结果;少数(5%)患者严重溶血期后,GPI 缺乏的红细胞可能会减少,甚至可能下降到检测限以下,因此只能检测到粒细胞 PNH 克隆。如果患者有严重的再生障碍性贫血(AA),可能导致粒细胞数量减低,不足以检测分析。鉴于这些情况且由于 PNH 的异常细胞起源于造血干细胞,当外周血尚无 CD59⁻细胞时,骨髓中可能已经有 CD59⁻细胞,因此从疾病早期诊断的角度考虑,骨髓中 CD55⁻、CD59⁻细胞检测比外周血更有意义。且骨髓中的有核红细胞不受输血和溶血的影响,可避免漏诊。故建议贫血性疾病早期诊断应作骨髓有核红细胞、粒细胞和单核细胞的 CD55、CD59 检查,能有效提高 PNH 诊断的特异性和敏感性。

(2)流式细胞术检测气单胞菌溶素前体变异体(Flaer):Flaer 是 Alexa-488 标记的无活性气单胞菌溶素前体的变异体,它同野生型前气单胞菌溶素相似,可特异地结合于 GPI 锚连蛋白,但并不形成细胞通道,不引起细胞溶血,因此不会导致细胞死亡。该标志类似于荧光素,可在一定条件下被激发发出荧光,可以通过流式细胞术进行检测,并区分 GPI⁻和 GPI⁺细胞。Flaer 作用于所有 GPI 蛋白,不会因细胞表达 GPI 蛋白种类和数量的不同造成误差。因此通过流式细胞术检测 Flaer 是诊断 PNH 更敏感、特异的方法。同传统的检测 CD55、CD59 相比,Flaer 对检测微小 PNH 克隆非常敏感,且不受输血和溶血的影响,对一些临床上高度怀疑,而 CD55、CD59 检测不能确诊的病例,可以结合 Flaer 检查,获得明确诊断;应用 Flaer 分析方法诊断并监测 PNH 患者,可精确分出Ⅱ、Ⅲ型细胞,为判断病情轻重提供依据,有助于 PNH 患者疾病进展和疗效的判断;对于长期应用免疫抑制治疗的血细胞减少患者,尤其是 AA、骨髓增生异常综合征(MDS)等疾病,可监测其是否发生克隆性改变以及尽早发现病情变化;应用 Flaer 直接检测 GPI 蛋白,有助于真正的 PNH 和部分免疫性血细胞减少症患者的鉴别,明确真正的 GPI⁻细胞,而非自身抗体覆盖细胞膜锚连蛋白的假性 PNH 克隆,即可用于“真、假”锚连蛋白缺失的鉴别(表 1)。

(3)血清铁代谢指标的检测:血清铁浓度、总铁结合力、血清铁蛋白水平。

(4)HLA 配型:若欲行异基因造血干细胞移植,应行 HLA 配型。

(四)国内 PNH 诊断标准

1. PNH 诊断条件:

表 1 用于检测白细胞 PNH 克隆的抗体组合

检测方式	抗体						
	细胞	1	2	3	4	5	6
3 色	G	FLAERa	CD24a	CD15			
3 色	M	FLAERa	CD14a	CD33			
4 色	G	FLAERa	CD24a	CD15	CD45		
4 色	M	FLAERa	CD14a	CD33	CD45		
4 色	G + M	FLAERa	CD24a	CD14a	CD33		
5 色	G + M	FLAERa	CD24a	CD14a	CD15/33	CD45	
5 色	G + M	FLAERa	CD24a	CD14a	CD15	CD33	
6 色	G + M	FLAERa	CD24a	CD14a	CD15	CD33	CD45

注:G:粒细胞;M:单核细胞;a 分子标志用于检测 GPI 锚链蛋白缺乏的细胞,其余分子标志用于设门。具体荧光选择可以不同,不同试剂荧光颜色也可以不同。4 色、5 色、6 色的检测方式敏感性高,效果良好,如 FLAER/CD24 / CD15/CD45。如对单核及粒细胞进行 5 色分析,则需要准备 2 个试管。如以 CD45/CD15/SSC 标记通常可区分粒细胞与单核细胞,但若更好在分选单核细胞则需要准备另一支试管进行 CD33 设门。PNH:阵发性睡眠性血红蛋白尿症

(1)临床表现符合 PNH。临床表现分级:①贫血分级:极重度:HGB ≤ 30 g/L;重度:HGB 31 ~ 60 g/L;中度:HGB 61 ~ 90 g/L;轻度:HGB > 90 g/L。②血红蛋白尿分级:频发:≤ 2 个月发作 1 次;偶发:> 2 个月发作 1 次;不发:观察 2 年无发作(观察不足 2 年未发为暂不发)。

(2)实验室检查:

1)Ham 试验、糖水试验、蛇毒因子溶血试验、尿潜血(或尿含铁血黄素)等项试验中凡符合下述任何一种情况,即可诊断:①两项以上阳性;②1 项阳性,但须具备下列条件:a. 两次以上阳性,或 1 次阳性,但操作正规、有阴性对照、结果可靠,即时重复仍阳性者。b. 有溶血的其他直接或间接证据,或有肯定的血红蛋白尿出现。c. 能除外其他溶血,特别是遗传性球形红细胞增多症、自身免疫性溶血性贫血、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症所致的溶血和阵发性冷性血红蛋白尿症等。

2)流式细胞术检测发现,外周血中 CD55 或 CD59 阴性中性粒细胞或红细胞 > 10% (5% ~ 10% 为可疑)。临床表现符合,实验室检查具备 1) 项或 2) 项者皆可诊断,1)、2) 两项可以相互佐证。

2. AA-PNH 综合征的诊断:

凡 AA 转化为 PNH,或同时兼有两病特征而以某病为主,可将本综合征再分为四种情况:

(1)AA→PNH:指原有肯定的 AA(或未能诊断的 PNH 早期表现),转化为确定的 PNH,AA 的表现已不明显。

(2)PNH→AA:指原有肯定的 PNH(而非下述的第 4 类),转为明确的 AA,PNH 的表现已不明显。

(3)PNH 伴有 AA 特征:指临床及实验室检查所见均说明病情仍以 PNH 为主,但伴有 1 个或 1 个以上部位骨髓增生低下、有核细胞减少、网织红细胞不增高等 AA 表现者。

(4)AA 伴有 PNH 特征:指临床及实验室检查所见均说

明病情仍以 AA 为主,但具有 PNH 的实验室诊断结果阳性者。

(五) 国际工作组 PNH 临床分类

国际 PNH 工作组(I-PIG)将 PNH 患者分为如下几类:①经典型 PNH:该类患者有典型的溶血和血栓形成;②合并其他骨髓衰竭性疾病:如 AA 或 MDS;③亚临床型 PNH:患者有微量 PNH 克隆,但没有溶血和血栓的实验室和临床证据(表 2)。

三、PNH 治疗建议

1. 常规治疗:

PNH 的传统治疗手段仍然是以“保护”PNH 克隆、减少补体攻击和破坏,减轻溶血为目的,以对症支持治疗为主,如无禁忌证,在急性溶血发作时,可予肾上腺皮质激素(如泼尼松 0.25~1.00 mg·kg⁻¹·d⁻¹,为避免长期应用的不良反应,应酌情短周期使用),辅以细胞膜稳定剂(维生素 E)、叶酸及碱性药物(如碳酸氢钠)治疗,对多数初诊患者能减轻溶血发作、稳定病情。为防止加重溶血,不常规给予铁剂。若为 PNH-AA 综合征可辅助雄激素(如十一酸睾酮、达那唑)、免疫抑制剂(如环孢素)等治疗。PNH 患者是否采取血栓的抗凝预防目前尚无定论。对于发生血栓者应给予抗凝和肝素治疗。其他对症支持治疗包括必要时输注红细胞、血小板以及出现感染时给予抗菌药物。

2. 其他治疗:

(1)重组人源型抗补体蛋白 C5 单克隆抗体(Eculizumab, Soliris):PNH 是由于补体在红细胞外激活形成 C5b-7,然后结合到红细胞膜上再与 C8 及 C9 作用形成 C5b-9(即膜攻击复合物),由于红细胞表面缺乏某些锚蛋白,如 C3 转化酶衰变加速因子(DAF)(可阻止 C3 转化酶的形成),因而大量 C3 转化为 C3b 进而形成 C5b,以致 C5b-9 破坏红细胞膜导致溶血。

Eculizumab 是抑制末端补体成分活化的重组人源型单克隆抗体(单抗),能特异性地结合到人末端补体蛋白 C5,通过抑制人补体 C5 向 C5a 和 C5b 的裂解以阻断炎症因子 C5a 的释放及 C5b-9 的形成。研究表明该抗体对 C5 有高度亲和力,能阻断 C5a 和 C5b-9 的形成,并保护哺乳动物细胞不受 C5b-9 介导的损伤。由于该单抗抑制机体的免疫系统功能,从而增加了患者对某些严重感染的易感性,国外报道用药期间易出现细菌性脑膜炎。临床试验证实 Eculizumab 治疗

PNH 可显著减轻血管内溶血,减少红细胞输注,明显改善 PNH 患者贫血,减少血栓形成,延长生存期。

Eculizumab 于 2007 年 3 月 16 日被美国 FDA 批准用于治疗 PNH,推荐剂量每周静脉滴注 600 mg,用 4 次,第 5 周 900 mg,以后每 2 周 900 mg,持续 12 周。该药目前在国内尚未上市。

(2)联合化疗:对于激素原发耐药、继发耐药或激素依赖的溶血不易控制、反复发作的骨髓增生良好的 PNH 患者为有效地减少 PNH 异常克隆,最大限度地控制溶血,可采用化疗,利用正常克隆较 PNH 克隆耐受补体能力强,对造血生长因子反应好,正常造血恢复快的优势,使正常克隆逐步取代 PNH 克隆而达到治疗目的。可采用减低剂量的 DA(柔红霉素+阿糖胞苷)或 HA(高三尖杉酯碱+阿糖胞苷)方案之后,加造血刺激因子(G-CSF 和 EPO),实践证明化疗能够有效地减少 PNH 克隆负荷,控制溶血,改善贫血,而且大大减少了激素的用量,是一种较有应用前景的治疗手段。但为避免出现化疗后骨髓抑制期的严重并发症(贫血、出血和严重感染),化疗采用的剂量应偏小,疗程亦应缩短;应加强隔离和保护,预防感染;应重用造血因子促进正常克隆恢复。

(3)异基因造血干细胞移植(allo-HSCT):在补体蛋白 C5 单抗应用之前,allo-HSCT 治疗一般限于那些难治性、耐肾上腺皮质激素或有激素禁忌证的 PNH 患者,适应证为:有 HLA 相合同胞供者,且满足以下条件①合并骨髓衰竭;②难治性 PNH,输血依赖性溶血性贫血;③反复出现危及生命的血栓栓塞事件。目前,上述情况均可通过补体蛋白 C5 单抗得以全部或部分控制,故最合适的移植适应证目前仍无定论。

(4)基因治疗:目前 PNH 的基因治疗尚处于初期实验阶段。

3. 妊娠 PNH 患者的处理:

PNH 患者妊娠期间病死率较高,治疗主要以输注红细胞和血小板改善贫血和预防出血为主,目前 Eculizumab 尚未批准应用于妊娠期妇女。必要时给予低分子量肝素预防血栓直至婴儿出生后 6 周。但 PNH 的治疗仍很复杂,需要有经验的血液科医生和产科医生携手处理高风险的妊娠。

四、PNH 的疗效标准

1. 近期临床痊愈:1 年无血红蛋白尿发作,不需输血,血

表 2 国际工作组阵发性睡眠性血红蛋白尿症临床分类各类别特征

分类	血管内溶血的速率	骨髓	流式细胞术
经典型	LDH 显著增高伴阵发性的血红蛋白尿	增生活跃伴红系造血旺盛或出现轻微形态异常	GPI ⁻ 中性粒细胞 > 50%
合并其他骨髓衰竭性疾病	轻度(常伴溶血的生化指标的微量异常)	同时伴有骨髓衰竭证据(AA 或低危 MDS)	GPI ⁻ 中性粒细胞 < 10%
亚临床型	无血管内溶血的证据	同时伴有骨髓衰竭的证据(AA 或低危 MDS)	使用高敏感的流式细胞检测手段可见 < 1% 的 GPI ⁻ 中性粒细胞

注:AA:再生障碍性贫血;MDS:骨髓增生异常综合征;GPI:糖化磷脂酰肌醇

常规(包括网织红细胞)恢复正常。

2. 近期临床缓解:1 年无血红蛋白尿,不需输血,血红蛋白恢复正常。

3. 近期明显进步:按观察前后的病情分级,凡血红蛋白尿发作频度、贫血严重程度、骨髓增生状况中任何一项进步两级者为明显进步。

4. 近期进步:病情分级中任何一项检查有进步者。

5. 无效:病情无变化或有恶化。

如果观察期≥5 年者可去除“近期”两字。判断治疗效果时须排除病情的自然波动。

参加共识讨论的专家(按姓氏笔划为序):王小钦(复旦大学附属华山医院)、仇红霞(江苏省人民医院)、方美云(大连医科大学附属第一医院)、王景文(北京同仁医院)、冯建明(青海省人民医院)、付蓉(天津医科大学总医院)、刘代红(北京大学人民医院)、孙汉英(华中科技大学同济医学院附属同济医院)、刘红(南通大学附属医院)、孙秉中(第四军医大学西京医院)、孙竞(第一军医大学南方医院)、刘竞(中南大学湘雅第三医院)、朱焕玲(四川大学华西医院)、刘新月(华中科技大学同济医学院附属协和医院)、孙慧(郑州大学第一附属医院)、何广胜(苏州大学附属第一医院)、张王刚(西安交

通大学医学院第二附属医院)、张凤奎(中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院)、张伟华(山西医科大学第一医院)、宋强(山东大学齐鲁医院)、张连生(兰州大学第二医院)、陈国安(南昌大学第一附属医院)、邵宗鸿(天津医科大学总医院)、何玲(贵阳医学院附属医院)、陈钰(复旦大学附属瑞金医院)、李津婴(第二军医大学长海医院)、张涛(第四军医大学西京医院)、李晓(上海第六人民医院)、沈悌(中国医学科学院北京协和医院)、张梅(西安交通大学第一附属医院)、李绵洋(解放军总医院)、李蓉生(中国医学科学院北京协和医院)、李薇(吉林大学第一医院)、林凤茹(河北医科大学附属第二医院)、林果为(复旦大学华山医院)、金洁(浙江大学医学院附属第一医院)、周郁鸿(浙江省中医院)、周晋(哈尔滨医科大学第一临床医学院)、钟华(上海交通大学医学院附属仁济医院)、姚红霞(海南省人民医院)、徐从高(山东大学齐鲁医院)、展昭民(哈尔滨血液肿瘤研究所)、韩冰(中国医学科学院北京协和医院)、富玲(新疆维吾尔自治区人民医院)、赖永榕(广西医科大学第一附属医院)

(收稿日期:2012-12-31)

(本文编辑:王叶青)

《中华血液学杂志》第八届编辑委员会委员名单

顾问 达万明 钱林生 沈悌

名誉总编 阮长耿

总编辑 王建祥

副总编辑 黄晓军 邵宗鸿 沈志祥 王健民 张凤奎 赵永强

编辑委员(按汉语拼音排序) 曹雪涛 陈虎 陈方平 陈芳源 陈国安 陈洁平 陈苏宁 陈协群

陈幸华 陈元仲 程涛 达万明 董文革 方美云 冯建明 付蓉 高春记 高子芬

顾健 韩明哲 侯明 侯健 胡豫 胡灯明 胡建达 黄河 黄晓军 纪春岩

金洁 克晓燕 赖永榕 李娟 李晓 李建勇 李玉明 林凤茹 刘红 刘霆

刘开彦 刘启发 刘卓刚 马军 孟凡义 秘营昌 裴雪涛 钱林生 邱录贵 任汉云

阮长耿 邵宗鸿 沈悌 沈志祥 孙自敏 童春容 王椿 王敏 王欣 王冠军

王季石 王健民 王建祥 王晓敏 王学锋 王兆钺 魏旭东 文珠 吴德沛 吴竞生

肖志坚 熊冬生 徐卫 徐开林 许小平 杨林花 杨仁池 姚红霞 于力 张凤奎

张广森 张连生 张王刚 赵洪国 赵维莅 赵永强 郑以州 周晋 周道斌 周剑峰

竺晓凡

外籍委员 刘德龙 王鲁华

通讯编委(按汉语拼音排序) 白海 陈宝安 杜欣 冯四洲 韩冰 韩艳秋 韩颖 贾永前

江明 李军民 李薇 李艳 李扬秋 梁英民 刘兵 刘代红 罗建民 马志贵

牛挺 钱文斌 孙慧 王恒湘 王宏伟 魏辉 吴广胜 张磊 郑国光 周小鸽

邹善华

阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国专家共识

作者: [中华医学会血液学分会红细胞疾病\(贫血\)学组](#)
作者单位:
刊名: [中华血液学杂志](#) ISTIC PKU
英文刊名: [Chinese Journal of Hematology](#)
年, 卷(期): 2013, 34(3)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zhxyx201303024.aspx