

综述

重组人促红细胞生成素引起 纯红细胞再生障碍性贫血的研究综述

王杉, 杨普荣

(沈阳三生制药有限责任公司, 辽宁 沈阳 110027)

中图分类号: R973.3;R994.11 文献标识码: A 文章编号: 1672- 8629(2008)05- 0304- 04

摘要: 随着重组人促红细胞生成素在临床的广泛应用, 由其引起的不良反应—纯红细胞再生障碍性贫血也越来越受到人们重视。本文重点阐述重组人促红细胞生成素引起的纯红细胞再生障碍性贫血的发病情况, 影响重组人促红细胞生成素免疫原性的可能原因及危险因子, 以及诊断治疗措施。

关键词: 重组人促红细胞生成素; 纯红细胞再生障碍性贫血; 药品不良反应

Review of the Studies on Recombinant Human Erythropoietin Associated Pure Red Cell Aplasia

WANG Shan, YANG Pu- rong

Shenyang Sunshine Pharmaceutical Company Limited (Shenyang 110027, China)

Abstract: Pure red cell aplasia (PRCA) induced by recombinant human erythropoietin (rHuEPO) has been paid much attention to with the widespread use of rHuEPO. This review was mainly described the incidences of PRCA, diagnosis and treatment of PRCA, and the reasons of effecting the immunogenicity and risks of rHuEPO.

Key words: recombinant human erythropoietin; pure red cell aplasia; adverse drug reaction

促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 为哺乳动物调节红细胞生成的主要因子, 产生于肾脏 (占 90%) 及肝脏, 其基本生理功能是刺激骨髓红细胞的生成和释放, 并且对于红细胞生成有着决定性的作用。1948年, Bonsdor 与 Jalsvisto 首次发现了促红细胞生成素。1985年, Jacobs^[1]等利用基因重组技术表达了重组人促红细胞生成素 recombinant human erythropoietin, rHuEPO)。rHuEPO 在临床上主要用于治疗肾性贫血以及肿瘤等各种慢性疾患所伴发的贫血, 常见的不良反应

有高血压, 有的患者可有头痛、四肢痛、眩晕、恶心、胸痛、高粘滞血症和动静脉内瘵堵塞等。

随着 rHuEPO 在临床的广泛应用, 由其引起的严重不良反应—纯红细胞再生障碍性贫血 (pure red cell aplasia, PRCA) 的病例在全球范围内也逐渐增多, 因此备受人们重视。PRCA 是一种相对少见的严重贫血, 其临床表现为进行性贫血, 呈正常红细胞性或轻度大红细胞性贫血, 特点为外周血中网织红细胞及骨髓中红系前体细胞缺乏, 而其他细胞系正常。获得性

作者简介: 王杉 (1978-), 女, 硕士, 药物警戒。

304

综述
Review

PRCA 的病因不清楚,部分继发于胸腺瘤、淋巴瘤、白血病、骨髓增生异常综合征、自身免疫疾病、病毒感染或与某些药物有关。自 1998 年来,许多研究报道了部分患者使用 rHuEPO 后诱导机体产生抗 EPO 抗体,导致 PRCA 的发生,其发病原因不明。

1 重组人促红细胞生成素引起的纯红细胞再生障碍性贫血的发病情况

1.1 国外相关文献报道情况

早在 1993 年, Bergrem 等^[1]报道了 1 例抗 EPO 抗体导致 PRCA 的病例,该病例患者为慢性肾功能衰竭的透析患者。1998 年之前报道的发病例数仅为 4 例。2002 年,法国学者 Casadevall 等^[2]报道了 13 例透析患者与 rHuEPO 相关的 PRCA,其中 12 例接受了 rHuEPO-

治疗,仅 1 例接受了 rHuEPO- 治疗。随后美国食品药品监督管理局 (FDA) 报道了 1997~2001 年期间出现的 82 例新病例,其中大部分使用了 Eprex (rHuEPO-, Ortho-Biotech 公司)^[3]。从 1998 年 1 月至 2003 年 7 月^[4], Ortho-Biotech 公司认定了抗 EPO 抗体介导 PRCA 患者有 184 例(给药方式均为皮下注射),其中 169 例患者仅使用 Eprex, 15 例患者同时使用 Eprex 和其他药品,另外尚有 62 例患者当时正在接受调查,有待确诊^[4]。同期, Roche 公司也报道有 8 例慢性肾脏病患者使用 rHuEPO- 后发生 PRCA。同期 Amgen 公司也报道了 5 例使用 Procri (rHuEPO-) 而导致的 PRCA 的病例。

上述病例报道大多数来自欧洲,但地域分布有一定差异,其中多见于法国和英国。例如,从 1998 年起,法国报道慢性肾病患者使用 rHuEPO 后发生 PRCA 的为 34 例,德国有 8 例。1998 年至 2002 年,法国相关 PRCA 的发生率为每 1 万人中有 1.7 例,而德国的发生率为每 1 万人中有 0.25 例,其差别的主要原因不详。这些国家使用的 rHuEPO 为相同厂家生产,其 PRCA 发生率的差别可能由于其储存过程和用药方式的不同^[5]。2002 年,欧洲、澳大利亚、新加坡和加拿大当局要求 Eprex 生产厂家将预充型 Eprex 的橡皮塞改为氟涂层,并且只允许静脉注射,此后, Eprex 相关的 PRCA 病例才有所减少。截至 2003 年,欧洲、加

拿大、澳大利亚和亚洲仍有 180 例 Eprex 相关的 PRCA 病例报道^[6]。

到目前为止,尚未见癌症患者在使用 rHuEPO 过程中导致 PRCA 的报道。尽管癌性贫血的患者也常使用 rHuEPO,其原因可能与治疗时间较短以及使用非特异性的化疗药有关。

1.2 国内相关文献报道情况

检索 1989~2008 年的文献,国内关于 rHuEPO 导致 PRCA 的文献报道例数为 21 例^[7-12]。PRCA 均为肾性贫血患者使用 rHuEPO- 后引起的,且给药途径均为皮下注射。因为淋巴细胞定位在皮下环境中,所以皮下注射比静脉给药更易触发免疫原性的产生,介导机体发生免疫反应^[9]。由于条件所限,多数患者未进行抗 EPO 抗体的检测,其 PRCA 的确诊是根据临床表现及骨髓象检查而确定的。临床表现多为持续使用 rHuEPO 的治疗过程中,血红蛋白浓度突然明显下降,外周血象为正细胞正色素性贫血,网织红细胞计数减少,转铁蛋白饱和度上升。骨髓象检查显示原幼红细胞几乎消失,而其他两系正常,并且原幼红细胞的成熟在早期即被阻断。患者经确诊后立即停止了 rHuEPO 的使用,11 例进行了免疫抑制治疗,其中 1 例^[7]在治疗前曾将 rHuEPO- 改为 rHuEPO-,但治疗无效;1 例^[7]治疗缓解后再次使用 rHuEPO 又出现血红蛋白浓度急剧下降,予以停用 rHuEPO 并再次进行免疫抑制治疗后缓解;其余患者症状均有所缓解。1 例^[7]行血浆置换治疗 5 次,静脉注射免疫球蛋白后,4 个月内缓解。1 例患者^[8]每 2 周输血 800mL,1 年后症状缓解。2 例^[7,12]患者进行了肾移植治疗,而后进行常规排异治疗,PRCA 迅速缓解。

2 重组人促红细胞生成素的分子结构及影响其免疫原性的可能原因与危险因素

2.1 rHuEPO 分子结构与其免疫原性

rHuEPO 分子由 165 个氨基酸残基的多肽和多糖组成。不同类型的 rHuEPO 的氨基酸多肽相同,由二硫键连接形成 4 个稳定的螺旋结构,这种空间构象对维持 rHuEPO 的生物活性是必需的;多糖部分对维持 rHuEPO 的生物活性也是必需的。根据多糖部

分的差异, rHuEPO分为 型和 型; 外源性和内源性的区别在于多糖部分的唾液酸不同, 前者较后者有较多的唾液酸^[13]。重组外源性 EPO 在组成上与内源性 EPO 有高度的一致性, 但外源性 EPO 属于生物合成剂, 对机体有一定的抗原性, 可刺激机体的免疫反应, 产生相应的抗体。抗 EPO 抗体有直接针对 EPO 蛋白分子构象的抗原决定簇, 当 EPO 分组经蛋白变性处理后, 与抗 EPO 抗体的结合能力丧失^[2]。在某些特定情况下, 先前隐藏的抗原决定簇就会暴露或产生具有免疫原性的结构, 使抗 EPO 抗体不但与外源性 EPO 发生反应, 而且对内源性 EPO 也具有交叉反应, 导致比外源性 EPO 治疗前更严重的贫血^[4]。

2.2 外源性 EPO 与抗 EPO 抗体

目前临床上使用的外源性 EPO 有多种, 例如 rHuEPO-、rHuEPO- 等。它们不仅与内源性 EPO 在糖基侧链和涎酸侧链上不同, 它们之间也存在较大差异; 而且不同生产厂家所使用的稳定剂配方、硅酸含量及包装均不尽相同。目前报道的抗 EPO 抗体介导的 PRCA 可见于 rHuEPO- 和 rHuEPO- 的各种类型, 但主要发生于 rHuEPO-。作为一种生物性药品, rHuEPO 可能具有免疫原性, 使用后产生抗 EPO 抗体的原因复杂。多种因素可增加 EPO 或其他红细胞生成刺激因子的免疫原性, 在药物方面, 包括蛋白质的序列变化、蛋白质糖基化的程度和性质、产品制造程序、产品处理和储存过程以及产品本身的成分和性质等。rHuEPO- 与其他红细胞生成刺激因子相比更容易产生抗体, 其中包括如下因素: 给药途径。皮下注射 rHuEPO 可能是导致 PRCA 的一个重要的危险因素, 因为静脉给予蛋白质可以使其免疫原性最小。药品储存和处理。rHuEPO- 易受保存及运输过程中温度过高的影响, 其结构中冷链变性可能是诱发抗体产生的关键。蛋白稳定剂, 如多山梨醇酯 80。Schellekens^[14]等提出多山梨醇酯 80 在 rHuEPO- 中含量较高, 导致了胶态离子形成, 一些 rHuEPO 分子聚集到这些胶态离子的表面, 进入机体后可激发机体免疫系统, 最终导致抗体产生。注射器活塞的橡

胶有机物或作为润滑剂的硅胶等都可能作为免疫辅助剂引起免疫反应^[15]。但是患者体内出现抗 EPO 抗体不一定会发生 PRCA, 而抗 EPO 抗体所致 PRCA 不等于患者一定使用过外源性 EPO。Casadevall^[16]等报道过 1 例从未接受过 rHuEPO 治疗的 PRCA 患者体内具有抗 EPO 抗体, 说明内源性 EPO 也有产生抗体的可能。

3 重组人促红细胞生成素引起纯红细胞再生障碍性贫血的诊断、实验室检查及治疗

3.1 PRCA 临床表现与诊断

PRCA 一般发生在 rHuEPO 治疗 4 周以后, 平均发生在治疗 7~11 个月时, 多见于皮下注射。多表现为在 rHuEPO 剂量不变或剂量增加时出现血红蛋白突然快速下降, 或每周需要输入 1~2 个单位的红细胞才能维持血红蛋白水平。由其引起的 PRCA 的诊断表现为: 在应用 rHuEPO 过程中出现严重的进行性贫血, 并且加大 rHuEPO 剂量也无法纠正; 骨髓检测表现为 PRCA; 实验室测定血清抗 EPO 抗体阳性^[17]。

3.2 PRCA 实验性检查

抗 EPO 抗体的检测有多种方法: 放射免疫沉淀测定法 (Radioimmunoprecipitation assay, RIPA) 是目前最精确的检测抗 EPO 抗体的方法, 同时其特异性也较高。但因抗体的亲和力低而使检测率较低, 且其检测方法较为复杂。酶联免疫吸附法 (Enzyme linked immunosorbent assays, ELISA) 尽管应用广泛, 但其敏感性和特异性均低于 RIPA。随着新改良的 ELISA 的出现^[18], 一定程度上克服了原有缺点。生物传感器免疫分析 (Biosensor immunoassay) 是一种较为复杂的分析抗 EPO 抗体的方法, 其灵敏性较 RIPA 稍差, 但能检测低亲和力抗体。该方法价格昂贵, 仅在少数实验室能进行检测。体外分析法是最直接的检测抗 EPO 抗体的方法, 但不能分析抗体滴度及亚型。

3.3 PRCA 的治疗

抗 EPO 抗体介导的 PRCA 一经诊断, 应立即停

止所有种类的 rHuEPO 治疗,并对严重贫血患者进行输血治疗。同时给予糖皮质激素或免疫抑制剂治疗,该治疗方案可使体内抗 EPO 抗体转为阴性,但复发率较高^[16]。为减少抗体产生,可根据患者具体情况适时采用静脉注射 rHuEPO。美国国家肾脏基金会慢性肾功能衰竭贫血治疗指南建议:皮下注射 rHuEPO 仍是一种安全、简单和经济的用药途径^[19]。

4 结语

由于 rHuEPO 导致的 PRCA 逐年增多,并有上升趋势,探讨其发病机制及诊断治疗具有重要意义。抗 EPO 抗体相关的 PRCA 的诊断主要依靠骨髓涂片和血清抗体的检查。但抗 EPO 抗体的检测缺乏一定的规范性,不同的检测方法的阳性率有较大差异,对假阳性及假阴性的鉴别需要进一步研究。对于抗 EPO 抗体介导的 PRCA 的治疗,哪种治疗方法及治疗多长时间最合适,尚无定论。随着国内临床病例的增加,未来仍需要开展大量研究以制定更统一的诊断标准、确定理想的治疗方案等。

参考文献:

[1] Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin[J]. Nature, 1985, 313(6005):806-810.

[2] Casadevall N, Nataf J, Viron B, et al. Pure red-cell aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin [J]. N Engl J Med, 2002, 346(7): 469-475.

[3] Sokol L, Prchal J T. Pure red-cell aplasia and recombinant erythropoietin [J]. N Engl J Med, 2002, 346(20): 1584-1586.

[4] Rossert J, Casadevall N, Eckardt K U. Anti-erythropoietin antibodies and pure red cell aplasia [J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15(2): 398-406.

[5] Casadevall N, Eckardt K U, Rossert J. Epoetin-induced autoimmune pure red cell aplasia[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16 Suppl 1: S67-69.

[6] Mckoy J M, Stonecash R E, Cournoyer D, et al. Epoetin-associated pure red cell aplasia: past, present, and future considerations[J]. Transfusion, 2008, 48(8): 1754-1762.

[7] 刘晓斌,刘斌,孙铸兴,等. 8例重组人促红细胞生成素相关纯

红再障的临床分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2007, 28(18): 2207-2208.

[8] 宋莹,刘梅. 抗促红细胞生成素抗体介导的纯红细胞再生障碍性贫血 2例报告[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2007, 8(11): 670.

[9] 孟荷,贾真,于兰君. 应用重组人红细胞生成素致纯红再障 7例临床分析[J]. 中原医刊, 2005, 32(8): 31.

[10] 于明忠,刘建军,赵会文. 促红细胞生成素引起纯红细胞再生障碍性贫血 1例[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2007, 10(10): 1246.

[11] 廖爱能,钟鸿斌,金哲,等. 促红细胞生成素致纯红细胞再生障碍性贫血 1例报告及文献复习[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(7): 1373-1375.

[12] 梁萌,许树根,关天俊. - 红细胞生成素致纯红细胞再生障碍性贫血二例报告及文献复习[J]. 中华肾脏病杂志, 2003, 19(4): 258-259.

[13] Sasaki H, M Bothner B, Dell A, et al. Carbohydrate structure of erythropoietin expressed in Chinese hamster ovary cells by a human erythropoietin cDNA [J]. J Biol Chem, 1987, 265(25): 12059-12076.

[14] Hermeling S, Schellekens H, Crommelin D J, et al. Micelle-associated protein in epoetin formulations: A risk factor for immunogenicity[J]. Pharm Res, 2003, 20(12): 1903-1907.

[15] Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects[J]. Clin Ther, 2002, 24: 1719-1740.

[16] Casadevall N, Dupuy E, Molho-Sabatier P, et al. Autoantibodies against erythropoietin in a patient with pure red-cell aplasia[J]. N Engl J Med, 1996, 334(10): 630-663.

[17] 陈香美,冯全洲. 促红细胞生成素引起纯红细胞再生障碍性贫血[J]. 药物不良反应杂志, 2004, 2: 95-96.

[18] Hoessel W, Gross J, Moller R, et al. Development and evaluation of a new ELISA for the detection and quantification of antierythropoietin antibodies in human sera[J]. J Immunol Methods, 2004, 294(1-2): 101-110.

[19] National Kidney Foundation- K/DOQI. Clinical practice guidelines for the management of anemia of chronic renal failure[J]. Am J Kid Dis, 2001(Suppl 5) : S182.

(收稿日期: 2008-06-05 责任编辑: 邹箴蕾)