

Advance of Biomarkers for Predicting Acute Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Yanjun Xu¹, Tiantian Yi², Xuedong Wu²

¹Department of Pediatrics, Foshan Women and Children Hospital Affiliated to Southern Medical University, Foshan Guangdong

²Department of Pediatrics, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou Guangdong
Email: 453351315@qq.com

Received: May 29th, 2019; accepted: June 13th, 2019; published: June 20th, 2019

Abstract

Acute graft-versus-host disease (aGVHD) is the primary source of morbidity and mortality after HSCT. Diagnosis of aGVHD is typically based on clinical symptoms and confirmed by biopsy. In this review, we aim to summarize some of the recent developments of biomarkers in the field of allo-HSCT, including miRNAs, Cellular biomarkers, Proteomic biomarkers and biomarker panels. At present, the research of biomarkers has become a hotspot. However, predictive biomarkers still require a coordinated multicenter approach with coordinated times of sampling and centralized analysis of biomarker levels.

Keywords

Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Acute Graft-versus-Host Disease, Biomarkers

预测性生物标记物在急性移植物抗宿主病中的研究进展

徐艳军¹, 易甜甜², 吴学东²

¹南方医科大学附属佛山妇幼保健院儿科, 广东 佛山

²南方医科大学南方医院儿科, 广东 广州

Email: 453351315@qq.com

摘要

急性移植物抗宿主病是异基因造血干细胞移植后不可避免遇到的棘手问题，临床上主要依靠临床表现及病理活检进行诊断。预测性生物标记物成为近年来研究热点，多中心共同研究成为必然趋势，本文对近年来国内外预测性生物标记物的研究进行总结归纳，主要包括对基因、蛋白质及细胞水平的研究。

关键词

异基因造血干细胞移植，急性移植物抗宿主病，生物标记物

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)是目前治疗血液系统恶性肿瘤最有效的方法之一。然而移植物抗宿主病成为移植后患者死亡的主要原因之一[1] [2]。移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)根据发病时间、病程及临床表现分为急性移植物抗宿主病(aGVHD)和慢性移植物抗宿主病(cGVHD)两种，aGVHD 主要引起皮肤、肝脏、肠道等损伤，其诊断主要依靠靶器官受损的临床表现及病理活检，一旦发生严重 GVHD，往往造成难以恢复的器官损害，病死率高[3] [4]。因此，寻找合适的 aGVHD 的生物标记物，预测 aGVHD 的发生并在严重临床症状发生前预防性治疗至关重要。

理想的生物标志物除了判定是否发生 aGVHD 以及鉴别 cGVHD，还应该具有以下特点：1) 具体和敏感地反映疾病状态；2) 无创；3) 快速，简单，准确，便宜，标准化。因此，aGVHD 生物标记物有助于疾病诊断、监测 aGVHD 的发生、发展以及判断预后及早期治疗。本文将从基因水平、蛋白质水平及细胞水平对目前发现的各种生物标记物逐一介绍。

2. 基因水平生物标记物

miRNAs 是一类长度约 22 个核苷酸的非编码 RNA，它能够通过对靶基因 mRNA 的降解而减少或者阻止相应蛋白表达。目前血浆 miRNA 的分泌机制还不清楚，Xiao 等[5]的假说是 miRNA 在供者 T 细胞攻击宿主过程有潜在的作用或在应对破坏靶细胞有重要作用。许多学者对动物和人类 miRNA 在 aGVHD 发病中的作用进行了研究，并筛选出有前景的生物标记物和治疗靶点[6] [7] [8]。国内胡彬、付伟等[9]经过临床试验发现本：miR-423, miR199a-3p, miR-93, 在 aGVHD 中表达增高，而 miR-377 表达无明显差异，与 xiao 等人的结果基本一致。但这些研究 miRNAs 缺乏特异性，导致需要同时使用多种 miRNAs 来增加这些生物标志物的特异性和诊断性能。

3. 蛋白质水平生物标记物(见表 1)

- 1) 系统性生物标记物

Table 1. Prediction of aGVHD protein level biomarkers**表 1.** 预测 aGVHD 蛋白质水平生物标记物

分类	种类
系统性生物标记物	内皮损伤标记物: 血浆血管性血友病因子(vWF)、血清可溶性粘附分子、血清 VACM-1 及 CD62E 水平、血管生成素 2 (Ang-2)、趋化因子 IL8 (CXCL8)、内皮微粒(EPM)、循环内皮细胞(CECs)
器官特异性生物标记物	细胞因子及其受体: IL-2R、ST2、TNFR1、IL-7、sBAFF 下消化道生物标记物: REG3a, CK-18、S100、Tim-3 肝脏特异性生物标记物: 肝细胞生长因子(HGF) 皮肤特异性生物标记物: 弹力素(Elafin)
生物标记物组	1) TIM3, IL-6, sTNFR1, ST2 2) IL-2Ra, TNFR1, HGF, IL-8, elafin, REG3a 3) TNFR1, ST2, REG3a 4) CD4 + Tcell, CD8 + Tcell, CD19 - CD21 + precursor B cells, CD4/CD8 Tcell ratio, IL-2R

a) 内皮损伤标记物

移植前预处理是内皮早期损伤的重要因素, Filipovich AH 等[10]实验发现移植前预处理, 无论是化疗或是照射, 均对内皮细胞有不同程度损伤, 且损伤程度与预处理强度相关。由于检测方法等限制, 到目前为止, 尚无有效的、非侵袭性的生物学标记应用于 GVHD 的诊疗中。

b) 血清可溶性 IL-2 受体(IL-2R)

炎症因子在 T 细胞激活的过程中发挥重要作用, 活化的 T 细胞表达 IL-2 受体。研究表明血清可溶性 IL-2R 水平是 aGVHD 中非常有用的生物标志物, 连续检测 Allo-HSCT 后 IL-2L 水平, 发现它自移植后开始升高, 2~4 周后达峰, 而且 aGVHD 患者血清其峰值显著高于无 aGVHD 患者, 并与 aGVHD 严重程度相关[11] [12], 结果显示 sIL-2R 指数 ≥ 4.5 [风险比(HR) 3.5, $P < 0.01$], 是 II~IV 级急性 GVHD 的重要危险因素。虽然回顾性研究表明 IL-2 水平能够预测 aGVHD 的发生, 但仍需要更多的前瞻性研究来证明。

c) ST2

ST2 是 Toll 样/IL-1 受体(IL-R)超家族成员之一, 可溶性 ST2 可以作为 IL-33 的诱骗性受体, 使 Th2 细胞向 Th1 细胞漂移, 可能在 aGVHD 的病理生理学过程中发挥重要作用。Nelson 等对非骨髓性异基因造血干细胞移植患者的研究显示, 移植后 7+、+14、+21 血清浆 ST2 水平与 aGVHD 的发生风险呈正相关[13]。唐伦、颜红菊等人经临床研究发现 allo-HSCT 后+7、+56 d 发生 aGVHD 患者的血清 ST2 含量较未发生 aGVHD 患者明显升高($P < 0.05$) [14]。不同强度预处理下, ST2 浓度变化较大, 每种预处理下需要各自的阈值来确定。此外, 这些研究中 ST2 的测量时间是不统一的, 需要前瞻性地连续检测 ST2, 提高生物标志物的预测价值。

2) 器官特异性生物标记物

a) 下消化道生物标记物

下消化道 GVHD (LGI GVHD)在移植后发病率高达 60%。LGI aGVHD 的临床症状通常很严重, 包括通过大量的分泌性腹泻, 腹部痉挛性疼痛、腹胀、麻痹性肠梗阻、肠道出血等。因此, 利用生物标志物来预测或评估 LGI GVHD 程度非常重要。目前研究最广泛生物标志物包括: REG3a, CK-18, S100 和 Tim-3。

b) 肝脏特异性生物标记物

肝细胞生长因子(Hepatocyte growth factor, HGF)的靶细胞为上皮细胞及内皮细胞, 包括肝细胞。据报道, 血清 HGF 在肝病、慢性肾衰竭、全身炎症反应综合征以及白血病、乳腺癌、胃癌等恶性疾病中有升高。Okamoto 等[15]检测了 38 例接受 allo-HSCT 患者的 HGF 水平变化, 发现 aGVHD 患者血清 HGF 水

平明显高于 aGVHD 患者, 且与 aGVHD 的严重程度成正相关, 提示 HGF 对 aGVHD 的诊断及预后判断具有重要意义。现已证明包括肝细胞生长因子在内的生物标记物组能够预测移植后 1 年 NRM 和长期生存情况, 不论 GVHD 的严重程度。并且 HGF 是生物标记物组中最主要的预测因素[16]。

c) 皮肤特异性生物标记物

弹力素(Elafin)是一种主要表达于上皮细胞的弹性特异性蛋白酶抑制剂。体内研究表明 aGVHD 患者体内的炎性细胞因子能够刺激上皮细胞表达 Elafin [17]。Elafin 作为皮肤 aGVHD 的生物标记物相较其他 aGVHD 生物标记物而言, Elafin 是鉴别皮肤 GVHD 与其他出疹性疾病(药物疹, 植入综合征、皮肤白血病、病毒或真菌疹最佳的单标记物。elafin 与各级 GVHD 的发生及 1 年非复发死亡率(Non-relapse mortality, NRM)相关, 具有良好的预测价值[18]。

3) 生物标记物组

单一的生物标记物在预测 aGVHD 发生方面往往缺乏特异性, 目前已有许多学者对生物标记物组进行研究。生物标记物组提供了 aGVHD 预后及预测信息, 包括最大严重程度, 对治疗的反应和死亡率。如 TIM3, IL-6, sTNFR1, ST2 的血浆水平在预测更严重的 GVHD 和 NRM 方面具有重要意义[19]。Levine 及 Ferrara 等人最近完成了依赖于三种生物标志物(Reg3 alpha, ST2 和 sTNFR1)的 aGVHD 安娜堡评分(Ann Arbor Score)这一目标。如果 GvHD 发病时评分很高, 则可预测移植后 28 天的治疗反应和 6 个月的 NRM。这是第一个可用于指导风险调整治疗的生物标记物评分[20]。Holger Budde 等[21]人测试了 28 例移植后患者血液中生物标记物的含量, 研究发现, 当使用五项参数的生物标记物组(CD4 + Tcell, CD8 + Tcell, CD19~CD21 + 前 Bcell, CD4/CD8 Tcell 比率, IL-2R)预测 aGVHD 发生时能得到最大曲线下面积。与此同时, 他们还发现移植后 CD8 + T 细胞占全部单核细胞 2.3% 以上能够预测至少 12 月的无复发生存率(Relapse-free Survival, RFS), 从而成为预测 RFS 的一项生物标记物。

4. 细胞水平生物标记物

造血干细胞移植后患者造血功能一般在移植后 15 天左右恢复, 而免疫功能重建则需要较长时间。临床上对移植后患者免疫功能的监测主要为 T 细胞亚群及 Treg 的监测。常规 T 细胞亚群监测主要根据 CD4+/CD8+ 来评估免疫状态, SchwingerW 等人发现, 常规 T 细胞亚群监测对 Allo-HSCT 术后免疫状态评估无益[22]。由于 CD4 + T 的生成和成熟主要依赖胸腺, 而 CD8 + T 则不完全依赖胸腺, 故 CD4+/CD8+ 可持续倒置超过 1 年, 因此常规 T 细胞亚群监测只能反映 T 细胞构成比的变化, 而不能准确反映术后免疫状态。

CD4 + CD25 + Treg 细胞是一类具有免疫无能及免疫抑制功能的 T 细胞。FoxP3 特异性表达于 CD4 + CD25 + Treg 细胞的胞质中, 为 Treg 的分化、发育其重要作用, 并维持其免疫抑制功能。Magenau 等人已证实 CD4 + CD25 + FOXP3 + Treg 可作为预测 aGVHD 的发生及判断预后的生物标记物[21]。Xingli Zou 等人研究发现脐带血 CD4 + ATs 中的 FoxP3 + Treg 细胞可能有助于减轻 CBT 后观察到的 aGVHD 的严重程度[23]。换言之, Treg 细胞水平的监测对移植后免疫状态具有重要价值, 通过监测 Treg 水平亦可及时发现过度免疫抑制状态, 调整免疫抑制剂的使用, 减少术后不良反应。

5. 总结

总之, 目前临床上 aGVHD 的预测性生物标记物缺乏, 预测 aGVHD 并指导预防性治疗是众多移植患者的福音。目前对于 aGVHD 的生物标记物研究大多局限于动物实验及小样本临床研究, 由于患者异质性、测量时间及手段差异、预处理强度不同、GVHD 的预防策略不同等因素, 不同临床研究中心之间还存在不一致的结果。以及联合生物标记物组、生物标记物评分、临床特征及危险因素(移植前 CRP, IL-31

和移植早期液体保留是异基因移植后移植相关死亡率(Transplant related mortality, TRM)及生存率的独立危险因素[24])是否提高整体预测能力, 还需要更多大型多中心前瞻性研究继续验证。

基金项目

广东省科技计划项目 2014A020212186, 广州市科技计划项目 201607010241。

参考文献

- [1] Nassereddine, S., Rafei, H., Elbahesh, E. and Tabbara, I. (2017) Acute Graft versus Host Disease: A Comprehensive Review. *Anticancer Research*, **37**, 1547-1555. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11483>
- [2] Flinn, A.M. and Gennerya, R. (2017) Treatment of Pediatric Acute Graft-versus-Host Disease-Lessons from Primary Immunodeficiency. *Frontiers in Immunology*, **8**, 328. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00328>
- [3] Yang, J.-Z., Zhang, J.-Q. and Sun, L.-X. (2016) Mechanisms for T Cell Tolerance Induced with Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Molecular Immunology*, **70**, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.12.006>
- [4] 王越. 调节性 B 细胞的免疫调控机制及其在移植抗宿主病中的作用[J]. 海南医学, 2019, 30(6): 787-791.
- [5] Xiao, B., Wang, Y., Li, W., et al. (2013) Plasma microRNA Signature as a Noninvasive Biomarker for Acute Graft-versus-Host Disease. *Blood*, **122**, 3365-3375. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-06-510586>
- [6] Xie, L.N., Zhou, F., Liu, X.M., Fang, Y., Yu, Z., et al. (2014) Serum microRNA155 Is Increased in Patients with Acute Graft-versus-Host Disease. *Clinical Transplantation*, **28**, 314-323. <https://doi.org/10.1111/ctr.12314>
- [7] Ranganathan, P., Heaphy, C.E., Costinean, S., Stauffer, N., Na, C., et al. (2012) Regulation of Acute Graft-versus-Host Disease by microRNA-155. *Blood*, **119**, 4786-4797. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-387522>
- [8] Wang, Y., Zhao, X., Ye, X., Luo, H.X., Zhao, T.F., et al. (2015) Plasma microRNA-586 Is a New Biomarker for Acute Graft-versus-Host Disease. *Annals of Hematology*, **94**, 1505-1514. <https://doi.org/10.1007/s00277-015-2414-z>
- [9] 胡彬, 付伟, 等. 异基因造血干细胞移植后血浆 microRNA 的表达与急性移植抗宿主病的相关性研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(3): 827-832.
- [10] Zeng, L., Yan, Z., Ding, S., Xu, K. and Wang, L. (2008) Endothelial Injury, an Intriguing Effect of Methotrexate and Cyclophosphamide during Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Mice. *Transplantation Proceedings*, **40**, 2670-2673. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.06.038>
- [11] Almici, C., Skert, C., Verardi, R., et al. (2014) Changes in Circulating Endothelial Cells Count Could Become a Valuable Tool in the Diagnostic Definition of Acute Graft-versus-Host Disease. *Transplantation*, **98**, 706-712. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000000385>
- [12] Nakamura, Y., Tanaka, Y., Sugiyama, A., Yamamoto, K., et al. (2016) Soluble Interleukin-2 Receptor Index Predicts the Development of Acute Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation from Unrelated Donors. *International Journal of Hematology*, **103**, 436-443. <https://doi.org/10.1007/s12185-016-1936-z>
- [13] Nelson, R.P., Khawaja, M.R., Perkins, S.M., Elmore, L., et al. (2014) Prognostic Biomarkers for Acute Graft-versus-Host Disease Risk after Cyclophosphamide-Fludarabine Nonmyeloablative Allotransplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **20**, 1861-1864. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.06.039>
- [14] 唐伦, 颜红菊, 等. 异基因造血干细胞移植患者血清生物标志物水平变化与 aGVHD 的关系[J]. 中国输血杂志, 2016, 29(6): 598-601.
- [15] Okamoto, T., Takatsuka, H., Fujimori, Y., Wada, H., Iwasaki, T. and Kakishita, E. (2001) Increased Hepatocyte Growth Factor in Serum in Acute Graft-versus-Host Disease. *Bone Marrow Transplant*, **28**, 197-200. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1703095>
- [16] Paczesny, S., Krijanovski, O.I., Braun, T.M., et al. (2009) A Biomarker Panel for Acute Graft-versus-Host Disease. *Blood*, **113**, 273-278.
- [17] Pfundt, R., Wingens, M., Bergers, M., Zweers, M., Frenken, M. and Schalkwijk, J. (2000) TNF-alpha and Serum Induce SKALP/elafin Gene Expression in Human Keratinocytes by a p38 MAP Kinase-Dependent Pathway. *Archives of Dermatological Research*, **292**, 180-187. <https://doi.org/10.1007/s004030050475>
- [18] Paczesny, S., Braun, T.M., Levine, J.E., et al. (2010) Elafin Is a Biomarker of Graft-versus-Host Disease of the Skin. *Science Translational Medicine*, **2**, 13ra2. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000406>
- [19] McDonald, G.B., Tabellini, L., Storer, B.E., Lawler, R.L., Martin, P.J. and Hansen, J.A. (2015) Plasma Biomarkers of Acute GVHD and Nonrelapse Mortality: Predictive Value of Measurements before GVHD Onset and Treatment.

Blood, **126**, 113-120. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-03-636753>

- [20] Levine, J.E., Braun, T.M., Harris, A.C., *et al.* (2015) A Prognostic Score for Acute Graft-versus-Host Disease Based on Biomarkers: A Multicenter Study. *The Lancet Haematology*, **2**, e21-e29. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(14\)00035-0](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(14)00035-0)
- [21] Budde, H., Papert, S., Maas, J.-H., Reichardt, H.M., Wulf, G., *et al.* (2017) Prediction of Graft-versus-Host Disease: A Biomarker Panel Based on Lymphocytes and Cytokines. *Annals of Hematology*, **96**, 1127-1133.
- [22] Schwinger, W., Weber-Mzell, D., Zois, B., *et al.* (2006) Immune Reconstitution after Purified Autologous and Allogeneic Blood Stem Cell Transplantation Compared with Unmanipulated Bone Marrow Transplantation in Children. *British Journal of Haematology*, **135**, 76-84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2006.06244.x>
- [23] Zou, X., Lin, X., *et al.* (2016) Donor-Derived Regulatory T Cells Attenuate the Severity of Acute Graft-versus-Host Disease after Cord Blood Transplantation. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **239**, 193-202.
- [24] Tvedt, T.H., Lie, S.A., *et al.* (2016) Pre-Transplant Levels of CRP and Interleukin-6 Family Cytokines; Effects on Outcome after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**, 1823. <https://doi.org/10.3390/ijms17111823>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-540X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: md@hanspub.org