

• 流式细胞术临床应用专题 •

来特莫韦预防异基因造血干细胞移植后巨细胞病毒 感染及其免疫重建特征分析*

岳冠岚¹, 赵 玮², 李 壹³, 王 卉⁴, 陈 曼^{4△}

1. 河北燕达陆道培医院移植科, 河北廊坊 065201; 2. 北京陆道培医院移植科, 北京 100176; 3. 四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041; 4. 北京陆道培医院病理与医学检验科, 北京 100176

摘要:目的 探讨来特莫韦(LTV)预防异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后巨细胞病毒(CMV)感染及其免疫重建特征。**方法** 回顾性研究 2021 年 4 月至 2024 年 12 月北京陆道培医院收治的 148 例 allo-HSCT 血液系统恶性肿瘤患者的临床资料, 根据是否应用 LTV 预防治疗分为非 LTV 组 67 例和 LTV 组 81 例。采用流式细胞术检测患者移植前、移植后每月时间点外周血淋巴细胞亚群。**结果** LTV 组患者移植后 180 d 内临床显著的 CMV 感染(CS-CMV_i)发生率明显降低, CMV 激活时间更晚, 感染持续时间更短, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 两组病毒中位载量及 CMV 疾病发生率差异无统计学意义($P > 0.05$)。临床显著的 EB 病毒感染(CS-EBV_i)发生率偏高(14.9% vs. 27.2%, $P = 0.083$), 但感染持续时间偏短(26 d vs. 18 d, $P = 0.179$), 中位载量更低(1 850 拷贝 vs. 1 600 拷贝, $P = 0.984$), EBV 相关移植后淋巴增殖性疾病(EBV-PTLD)发生率无明显增高(2.99% vs. 2.47%, $P = 0.847$)。患者移植后 180 d 内降低 CS-CMV_i 的独立因素为应用 LTV 预防($HR = 0.16, 95\%CI 0.08 \sim 0.35, P < 0.001$), 增加 CS-EBV_i 的独立危险因素为采用免抗人胸腺细胞免疫球蛋白(rATG)预防移植植物抗宿主病(GVHD)($HR = 2.50, 95\%CI 1.04 \sim 6.06, P = 0.042$)及 LTV 的应用($HR = 2.63, 95\%CI 1.02 \sim 6.77, P = 0.046$)。两组患者移植前外周血总淋巴细胞、T 淋巴细胞(CD3⁺T)、辅助性 T 细胞(CD4⁺T)、细胞毒性 T 细胞(CD8⁺T)、B 淋巴细胞、自然杀伤(NK)T 细胞计数, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。LTV 组 NK T 细胞计数偏低(38 vs. 25, $P = 0.004$), CD4⁺Treg 细胞计数偏高(8 vs. 17, $P = 0.018$)。移植后 6 个月内 LTV 组外周血总淋巴细胞、CD3⁺T、CD8⁺T、NK T 细胞计数及比例, CD4⁺T 细胞绝对计数、NK T 细胞比例明显低于非 LTV 组, B 淋巴细胞比例多时间点高于非 LTV 组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 6 个月停用 LTV 后, 以上各亚群结果差异均无统计学意义($P > 0.05$)。LTV 组调节性 T 细胞占 CD4⁺T 细胞比例、CD4/CD8 比值高($P < 0.05$), CD4 及 CD8 阳性初始 T 细胞、中央记忆 T 细胞、CD8⁺终末分化记忆 T 细胞比例显著升高($P < 0.05$), CD4 及 CD8 阳性效应记忆 T 细胞比例显著减低($P < 0.05$)。**结论** 应用 LTV 预防 HSCT 后巨细胞病毒感染, 其免疫重建虽在早期 T 细胞数量略低, 但 T 细胞功能与储备得到保护, 更利于后期免疫重建的恢复。

关键词: 来特莫韦; 异基因造血干细胞移植; 淋巴细胞亚群; 流式细胞术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2026.05.003 中图法分类号: R446; R457.7

文章编号: 1673-4130(2026)05-0532-08 文献标志码: A

Analysis of letermovir in preventing cytomegalovirus infection and its immunological reconstruction characteristics following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*

YUE Guanlan¹, ZHAO Wei², LI Yi³, WANG Hui⁴, CHEN Man^{4△}

1. Department of Transplantation, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang, Hebei 065201, China; 2. Department of Transplantation, Beijing Lu Daopei Hospital, Beijing 100176, China; 3. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 4. Department of Pathology and Medical Laboratory, Beijing Lu Daopei Hospital, Beijing 100176, China

Abstract: Objective To investigate the efficacy of letermovir (LTV) in preventing cytomegalovirus (CMV) infection and its immune reconstitution characteristics following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** The clinical data of 148 patients with hematological malignancies who underwent allo-HSCT at Beijing Lu Daopei Hospital from April 2021 to December 2024 were retrospectively analyzed. The patients were divided into the LTV group (67 cases) and the non-LTV group (81 cases) based on whether LTV prophylaxis treatment was applied. Flow cytometry was used to detect the peripheral blood

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82472346); 河北省医学科学研究课题(20232042)。

作者简介: 岳冠岚, 女, 主治医师, 主要从事造血干细胞移植研究。△ 通信作者, E-mail: cmym20140716@163.com。

lymphocyte subsets before and after transplantation at each monthly time point. **Results** The incidence of clinical significant CMV infection (CS-CMVi) within 180 days after transplantation was significantly lower in the LTV group, and the activation time of CMV was later, with shorter infection duration. The differences were statistically significant ($P < 0.01$). There were no statistically significant differences in the median viral load and the incidence of CMV disease between the two groups ($P > 0.05$). The incidence of clinical significant EB virus infection (CS-EBVi) was higher (14.9% vs. 27.2%, $P = 0.083$), but the infection duration was shorter (26 d vs. 18 d, $P = 0.179$), and the median viral load was lower (1 850 copies vs. 1 600 copies, $P = 0.984$). The incidence of EBV-PTLD did not increase significantly (2.99% vs. 2.47%, $P = 0.847$). The independent factors for reducing CS-CMVi within 180 days after transplantation in the LTV group were the application of LTV prophylaxis ($HR = 0.16, 95\%CI 0.08 - 0.35, P < 0.001$), the independent risk factor for increasing CS-EBVi was the use of rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin (rATG) for GVHD prevention ($HR = 2.50, 95\%CI 1.04 - 6.06, P = 0.042$), and the application of LTV prophylaxis ($HR = 2.63, 95\%CI 1.02 - 6.77, P = 0.046$). There were no statistically significant differences in the absolute counts of total lymphocytes, T lymphocytes ($CD3^+T$), helper T cells ($CD4^+T$), cytotoxic T cells ($CD8^+T$), B lymphocytes, and NK T cells in the peripheral blood before transplantation between the two groups ($P > 0.05$). The count of NK T cells in the LTV group was lower (38 vs. 25, $P = 0.004$), and the count of $CD4^+$ Treg cells was higher (8 vs. 17, $P = 0.018$). Within 6 months after transplantation, the counts and proportions of total lymphocytes, $CD3^+T$, $CD8^+T$, NK T cells, and the proportion of $CD4^+T$ in the LTV group were significantly lower than those in the non-LTV group, while the proportion of B cells was higher at multiple time points in the LTV group compared to the non-LTV group. The differences were statistically significant ($P < 0.05$); after discontinuing LTV for 6 months, the results of each subgroup showed no statistically significant differences ($P > 0.05$). The percentage of regulatory T cells in $CD4^+T$ cells and the CD4/CD8 ratio in the LTV group were higher ($P < 0.05$), the proportions of $CD4^+$ and $CD8^+$ naive T cells, central memory T cells, and $CD8^+$ terminally differentiated memory T cells were significantly increased ($P < 0.05$), and the proportions of $CD4^+$ and $CD8^+$ effector memory T cells were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** The application of letermovir for the prevention of cytomegalovirus infection after HSCT shows that although the number of T cells is slightly lower in the early stage of immune reconstitution, the function and reserve of T cells are protected, which is more conducive to the recovery of immune reconstitution in the later stage.

Key words: letermovir; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; lymphocyte subsets; flow cytometry

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是治疗血液系统恶性肿瘤的最有效方法之一,尽管近些年造血干细胞移植(HSCT)技术取得巨大进步,但巨细胞病毒(CMV)感染依旧是 allo-HSCT 后的难题之一^[1]。临床显著的 CMV 感染(CS-CMVi)不仅可直接引发间质性肺炎、胃肠炎、视网膜膜炎等并发症,还与移植后较高全因死亡率相关^[1]。因此,有效防控 CMV 感染是改善 allo-HSCT 结局的关键环节。第十届欧洲白血病感染会议(ECIL-10)指南推荐来特莫韦(LTV)可作为 CMV 初级预防的选择策略,并强调尽早启动使用,以及高危患者延长预防治疗周期^[2]。本研究旨在探索 HSCT 患者应用 LTV 预防 CMV 感染时外周免疫细胞亚群特征,为指导临床防治提供实验室依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2021 年 4 月至 2024 年 12 月在北京陆道培医院首次接受 allo-HSCT 的 148 例血液系统恶性肿瘤患者的临床资料,根据 HSCT 后是否应用 LTV 预防 CMV 感染分为非 LTV 组(67 例,死亡 12 例)及 LTV 组(81 例,死亡 11 例)。LTV

剂量为 240 mg/d(因与环孢菌素联用),预防性治疗开始的时间为提前 1 d。148 例患者男 85 例,女 63 例;年龄为 14(1,69)岁;急性髓系白血病(AML)82 例,急性淋巴细胞白血病(ALL)35 例,骨髓增生异常综合 31 例;移植前病史 700(67,3 824)d;随访时间 844(194,1 472)d;LTV 预防时间 186(101,246)d,即绝大多数患者应用 LTV 预防巨细胞病毒感染至造血干细胞移植后 6 个月,个别高危患者适当延长至 200 d 以上;移植前肿瘤完全缓解(CR)95 例;进展期(PR)或无反应(NR)53 例;非血缘、单倍体移植类型分别为 82 例、66 例;预处理方案全身照射(TBI)/CY 方案 50 例,白消安(BU)/CY 方案 98 例;ATG 类型分别为兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白(rATG)95 例,抗人 T 细胞兔免疫球蛋白(ATLG)53 例;回输移植植物单个核细胞(MNC) 9.97×10^8 ($3.19 \times 10^8, 16.92 \times 10^8$)/kg, $CD34 5.76 \times 10^6$ ($1.85 \times 10^6, 15.03 \times 10^6$)/kg;髓系移植活 17(10,26)d,巨核系移植活 35(6,140)d;急性移植抗宿主病(aGVHD)Ⅱ~Ⅳ度 39 例,Ⅲ~Ⅳ度 21 例,慢性移植抗宿主病(cGVHD)中重度 23 例。采

用电话随访或查阅门诊/住院病历方式获得患者生存信息,随访截至 2025 年 6 月 30 日。入组患者均签署知情同意书,本研究已通过北京陆道培医院医疗伦理委员会批准(DPEC-M-202108)。

1.2 纳排标准及相关疾病诊断标准 (1)急性髓系白血病(AML)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、骨髓增生异常综合征(MDS)依照 EGIL 1995 诊断积分系统^[3]结合 WHO 2016 诊断分型标准定义^[4]。(2)病毒感染相关定义:CS-CMV_i 为发生 CMV 感染或根据预先设定的 CMV DNA 血症阈值开始抗 CMV 抢先治疗^[2];CS-EBV_i 类似;CMV 和 EBV 阳性结果的阈值为每毫升 $>5 \times 10^2$ 拷贝;EBV 相关移植后淋巴增殖性疾病(EBV-PTLD)的病理诊断参考 WHO 2016 淋巴瘤分类^[4]。(3)移植物抗宿主病(GVHD):根据 2020 年版美国国立综合癌症网络(NCCN)临床实践指南,造血细胞移植-移植前受者评估及移植物抗宿主病的管理方法定义^[5],分为 aGVHD 和 cGVHD。(4)CMV 感染高危人群:供者 CMV 血清阴性,受者 CMV 血清阳性;供受者人类白细胞抗原(HLA)不匹配;采用大剂量 ATG 预防 GVHD;急性或慢性 GVHD 或应用大剂量糖皮质激素 [≥ 1 mg/(kg·d)];移植后免疫功能重建不良或延迟^[2]。(5)排除在 100 d 内早期死亡,以及在 LTV 给药前或 LTV 给药后 7 d 内 CMV 或 EBV 再活化的患者。

1.3 方法

1.3.1 仪器、试剂与软件 3 激光 10 色 BD canto plus 流式细胞仪(美国碧迪公司),Diva 8.0.2 软件(美国碧迪公司),抗体试剂、溶血素(10 倍浓缩)、绝对计数管(美国碧迪公司)。

1.3.2 流式细胞术淋巴细胞精细亚群检测方案 第 1 管:绝对计数管,CD3 异硫氰酸荧光素(FITC)、CD16+CD56 藻红蛋白(PE)、CD45 多甲藻叶绿素蛋白(PerCP)、CD4 藻红蛋白偶联七甲川花菁染料标记氨基(PE-Cy7)、CD19 别藻青蛋白(APC)、CD8 别藻青蛋白偶联七甲川花菁染料标记氨基(APC-Cy7)抗体。第 2 管:普通流式管,CD45RA FITC、CD127 PE、CD4 PerCP、CD25 APC、CD197 PE Cy7、CD279 亮紫 421(BV421)、CD8 APC Cy7、CD3 亮紫 510(Brilliant Violet 510,BV510)抗体。第 3 管:普通流式管,CD8 FITC、CD38 PE、CD3 PerCP Cy5.5、CD4 PE Cy7、CD28 APC、CD45 紫 500(Violet 500, V500)。

1.3.3 标本处理 制备单细胞悬液:按照说明书推荐方法进行多荧光素染色标记。绝对计数管:各试管加入 100 μ L 细胞,依照说明书加入荧光抗体,充分混匀后常温避光孵育 15 min,加入 500 μ L 稀释后的 $1 \times$ 溶血素,混匀后室温避光孵育 10 min,上机检测。普通流式管:各试管加入 1×10^6 个细胞,再加入 3~20 μ L 不同荧光素标记的抗体,充分混匀后常温避光孵育 15 min,加入 3 mL 稀释后的 $1 \times$ 溶血素,混匀后室温避光孵育 10 min,300 \times g 离心 5 min 去上清,加入

3 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)混匀,离心洗涤,加入 0.5 mL PBS 重悬上机检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS25.0 和 R 4.5.0 软件进行统计分析,GraphPad Prism 用于绘图分析。计量资料经 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验后均不符合正态分布,以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示;两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。多因素分析采用竞争风险模型,以死亡事件作为竞争风险。总体生存期(OS)采用 Log-rank 检验比较;移植后感染、非复发死亡(NRM)等累积发生率采用 Gray 检验进行分析。双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非 LTV 组与 LTV 组患者临床特征比较 两组患者在性别、年龄、疾病类别、移植前疾病状态、移植类型及预处理方案等基线特征方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。非 LTV 组与 LTV 组 ATG 类型、CD34⁺、环孢霉素应用时间比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者移植前病史时间(1 073 d vs. 1 097 d)、2 年总体生存(OS)率[83.6% (95%CI 74.4%~92.5%) vs. 82.4% (95%CI 73.2~91.6)],2 年非复发死亡率(NRM)[10.5% (95%CI 5.2%~21.1%) vs. 10.1% (95%CI 4.9%~20.6%)],LTV 组 III~IV 度 aGVHD 及中重度 cGVHD 发生率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 非 LTV 组与 LTV 组患者临床特征比较 [n/n 或 n 或 n(%)或 $M(Q_1, Q_3)$]

项目	非 LTV 组 (n=67)	LTV 组 (n=81)	P
性别			0.612
男/女	40/27	45/36	
年龄(>14 岁)	54(80.6)	71 (87.7)	0.238
疾病			0.334
AML	42	43	
ALL	15	17	
MDS	10	21	
移植前疾病状态			0.732
CR	44(65.7)	51(63.0)	
PR/NR	23(34.3)	30(37.0)	
移植类型			0.198
非血缘全合	26(38.8)	40(49.4)	
单倍体	41(61.2)	41(50.6)	
预处理方案			0.568
BU/CY	46(68.7)	52(64.2)	
TBI/CY	21(31.3)	29(35.8)	
ATG 类型			0.016
rATG	50(74.6)	45(55.6)	
ATLG	17(25.4)	36(44.4)	
回输移植物计数			
MNC($\times 10^8$ /kg)	8.7(3.3,16.9)	8.0(3.3,16.9)	0.373
CD34 ⁺ ($\times 10^6$ /kg)	5.0(1.9,12.0)	8.0(3.3,15.0)	<0.001

续表 1 非 LTV 组与 LTV 组患者临床特征比较
[*n/n* 或 *n* 或 *n*(%) 或 *M(Q₁, Q₃)*]

项目	非 LTV 组 (<i>n</i> =67)	LTV 组 (<i>n</i> =81)	<i>P</i>
aGVHD 分度			
II~IV 度	17(25.4)	22(27.1)	0.806
III~IV 度	12(17.9)	9(11.1)	0.238
cGVHD 分级			
中重度	13(19.4)	10(12.3)	0.239
环孢素(ng/mL)	82(49,124)	84(18,123)	0.704
环孢素应用时间(d)	129(6,1 298)	222(32,728)	<0.001
CD25 单抗	7(10.4)	10(12.3)	0.719
芦可替尼	16(23.9)	24(29.6)	0.433
糖皮质激素[mg/(kg·d)]			0.674
1.0	18(26.8)	18(22.2)	
2.0	13(19.4)	20(24.7)	

2.2 非 LTV 组与 LTV 组 CMV 及 EBV 感染比较 对比非 LTV 组, LTV 组患者移植后 180 d 内 CS-CMV_i 发生率明显降低, CMV 激活时间更晚, CMV 感染持续时间更短, 差异均有统计学意义(*P* < 0.05), 但两组 CMV 病毒载量高峰及 CMV 感染发生率差异无统计学意义(*P* > 0.05)。LTV 组在移植后 180 d 内 EBV 激活比例虽然偏高(14.9% vs. 27.2%, *P* = 0.083)。两组病毒感染持续时间及病毒载量比较, 虽差异无统计学意义, 但可见 LTV 组病毒中位

持续时间偏短(26 d vs. 18 d, *P* = 0.179), 中位病毒载量更低(1 850 拷贝 vs. 1 600 拷贝, *P* = 0.984), 且 EBV-PTLD 发生率亦未见明显增高(2.99% vs. 2.47%, *P* = 0.847)。见表 2。

2.3 移植后 CMV 及 EBV 感染多因素分析 患者移植后 180 d 内降低 CS-CMV_i 的独立因素为应用 LTV 预防(*HR* = 0.16, 95% *CI* 0.08~0.35, *P* < 0.001), 而增加 CS-EBV_i 的独立危险因素为采用 rATG 预防 GVHD(*HR* = 2.50, 95% *CI* 1.04~6.06, *P* = 0.042) 及 LTV 的应用(*HR* = 2.63, 95% *CI* 1.02~6.77, *P* = 0.046)。两种病毒感染风险与移植 CD34⁺ 细胞回输计数, 移植后环孢素应用周期及其质量浓度, GVHD 状态及相关免疫抑制剂如 CD25 单抗、大剂量糖皮质激素、芦可替尼应用无明显相关性, 见表 3。

2.4 非 LTV 组与 LTV 组移植前及移植后每月外周血免疫细胞亚群差异

2.4.1 两组患者的移植前免疫指标比较 两组患者的移植前外周血总淋巴细胞、T 淋巴细胞(CD3⁺ T)、辅助性 T 细胞(CD4⁺ T)、细胞毒性 T 细胞(CD8⁺ T)、B 淋巴细胞、NK T 细胞绝对计数, 差异均无统计学意义(*P* > 0.05), 但 LTV 组 NK T 细胞计数偏低(38 vs. 25), CD4⁺ Treg 细胞计数偏高(8 vs. 17), 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 2 非 LTV 组与 LTV 组 CMV 及 EBV 感染比较[95% *CI* 或 *M(Q₁, Q₃)*]

项目	非 LTV 组(<i>n</i> =67)	LTV 组(<i>n</i> =81)	<i>P</i>
CS-CMV _i (<180 d, %)	61.2(95% <i>CI</i> 50.6~74.1)	12.4(95% <i>CI</i> 6.9~22.1)	<0.001
激活时间(d)	25(13,52)	122(18,199)	<0.001
持续时间(d)	34(13,236)	19(13,59)	0.017
每毫升病毒载量(拷贝)	1 200(520,15 000)	1 450(550,100 000)	0.240
CMV 感染发生率(<180 d, %)	2.0(95% <i>CI</i> 0.3~14.1)	1.2(95% <i>CI</i> 0.2~8.7)	0.341
CS-EBV _i (<180 d, %)	14.9(95% <i>CI</i> 8.4~26.4)	27.2(95% <i>CI</i> 19.1~38.8)	0.083
激活时间(d)	53(30,83)	58(30,79)	0.439
持续时间(d)	26(6,62)	18(2,115)	0.179
每毫升病毒载量(拷贝)	1 850(530,9 700)	1 600(540,12 000)	0.984
PTLD(<180 d, %)	2.99(95% <i>CI</i> 0.76~11.70)	2.47(95% <i>CI</i> 0.63~9.70)	0.847

表 3 移植后 CMV 及 EBV 感染多因素分析

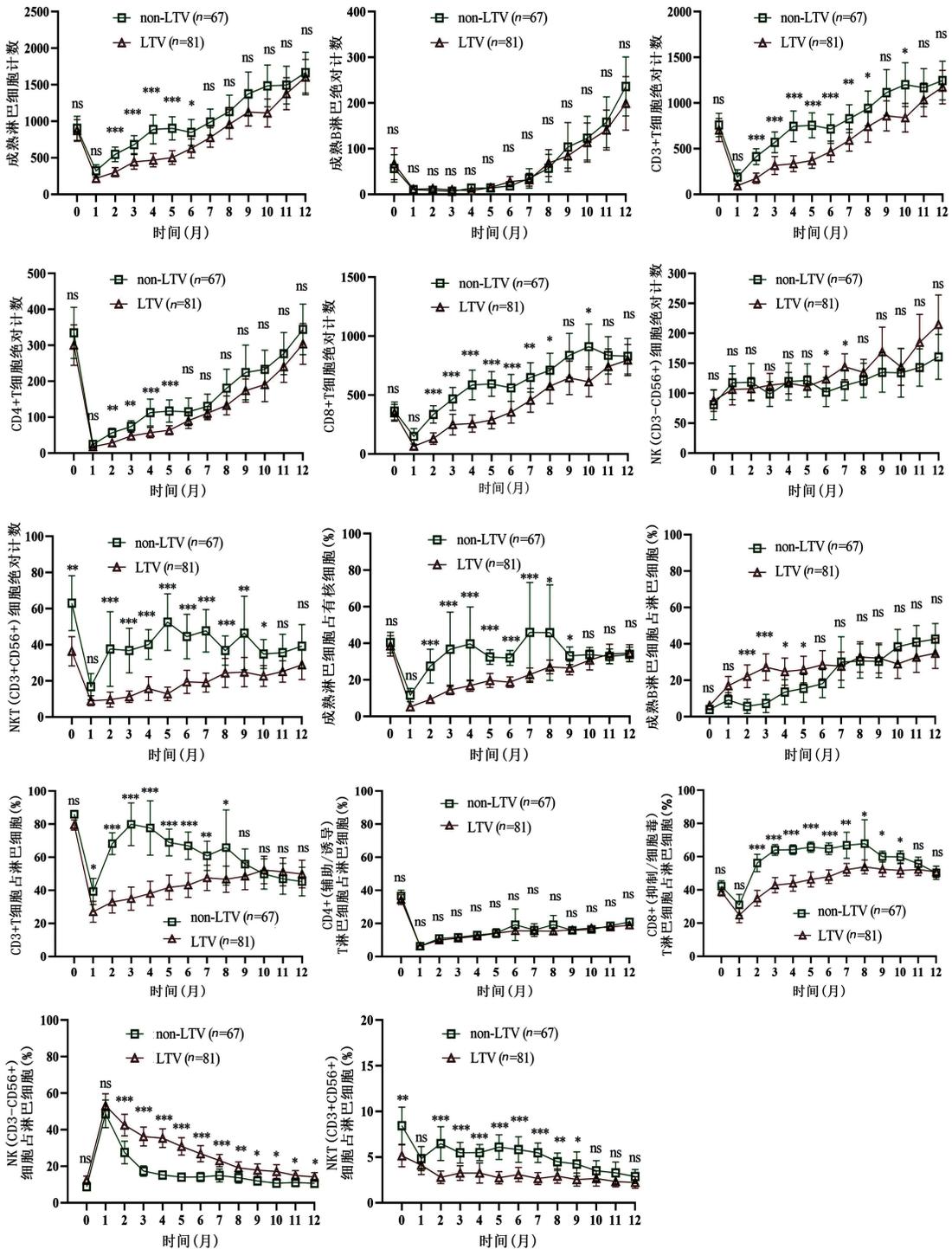
项目	赋值	CS-CMV _i		CS-EBV _i	
		<i>HR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i>	<i>HR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i>
LTV 预防	无=0; 有=1	0.16(0.08~0.35)	<0.001	2.63(1.02~6.77)	0.046
ATG 剂型	ATLG=0; rATG=1	1.73(0.88~3.40)	0.110	2.50(1.04~6.06)	0.042
CD34 ⁺ 细胞回输计数	≤6=0; >6=1	0.61(0.32~1.17)	0.130	1.07(0.47~2.43)	0.880
GVHD 状态	无=0; 有=1	1.15(0.76~1.74)	0.510	1.50(0.87~2.57)	0.140
环孢素	≤80 ng/mL=0; >80 ng/mL=1	0.68(0.37~1.23)	0.200	1.73(0.85~3.53)	0.130
环孢素应用时间	≤180 d=0; >180 d=1	1.09(0.56~2.15)	0.800	1.30(0.52~3.23)	0.570
CD25 单抗	无=0; 有=1	2.01(0.68~5.92)	0.210	0.64(0.16~2.48)	0.510
芦可替尼	无=0; 有=1	0.81(0.38~1.73)	0.590	0.67(0.24~1.87)	0.440
糖皮质激素[mg/(kg·d)]					
1.0 vs. 0.5		1.35(0.65~2.84)	0.420	0.80(0.25~2.54)	0.700
2.0 vs. 0.5		0.79(0.32~1.94)	0.610	1.71(0.57~5.13)	0.340

2.4.2 两组在移植后 1 年内免疫重建比较

2.4.2.1 淋巴细胞亚群 在 LTV 使用期间(即移植

后 2、6 个月),LTV 组外周血总淋巴细胞、CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK T 细胞计数及比例、CD4⁺T 细胞绝对计数明显低于非 LTV 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。虽然两组 NK 细胞计数差异无统计学意义($P > 0.05$),但非 LTV 组 NK T 细胞比

例显著高于 LTV 组($P < 0.05$)。虽然在整个时间点 B 细胞绝对计数差异无统计学意义($P > 0.05$),但 LTV 组 B 细胞比例均在多时间点高于非 LTV 组($P < 0.05$)。治疗 6 个月后以上各亚群结果差异均无统计学意义($P > 0.05$),见图 1。



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns 表示差异无统计学意义。

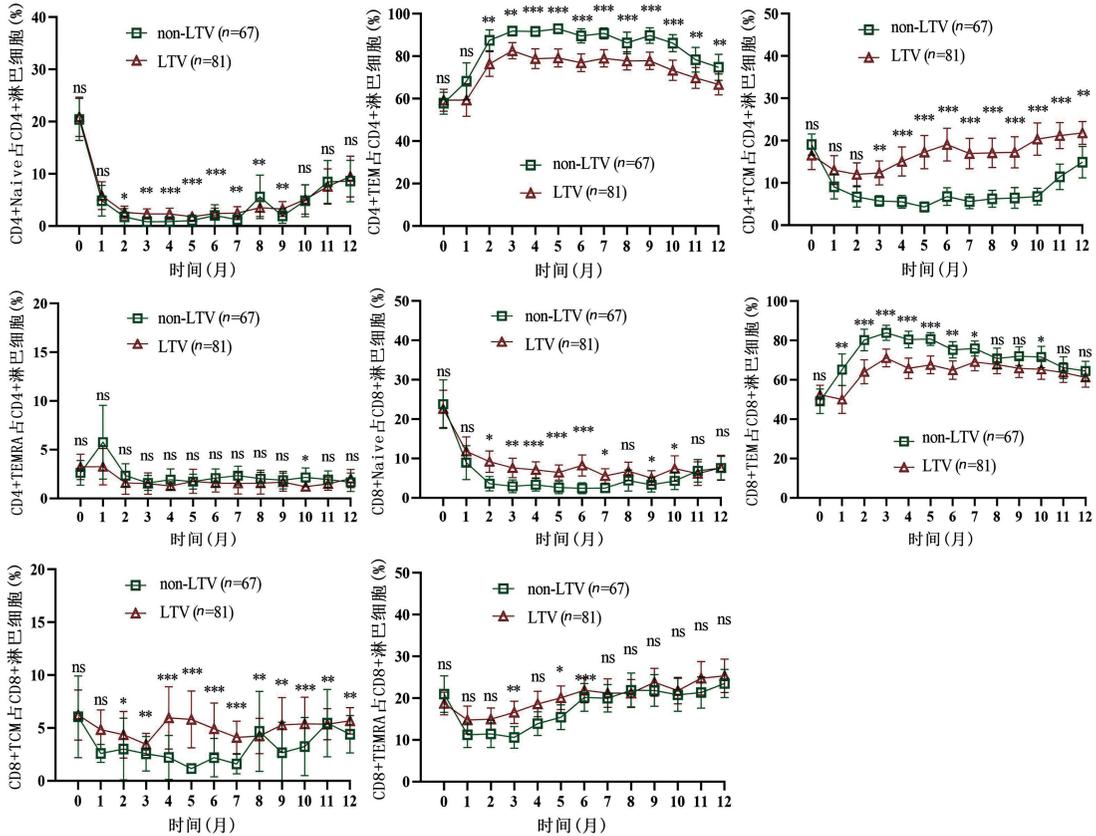
图 1 移植前后两组患者总淋巴细胞及免疫细胞亚群比例、绝对计数变化趋势

2.4.2.2 T 细胞分化亚群检测 CD4 及 CD8 阳性初始(Naive) T 细胞比例、中央记忆(TCM) T 细胞比例显著升高,代表免疫耗竭的 CD4 及 CD8 阳性效应记忆(TEM) T 细胞比例显著减低,且在多数时间点

结果差异有统计学意义($P < 0.05$);而与抗病毒感染及肿瘤相关免疫亚群 CD8⁺ 终末分化记忆(TEMRA) T 细胞比例在使用 LTV 期间,LTV 组高于非 LTV 组,且在 3、5、6 个月时差异有统计学意义($P < 0.05$),

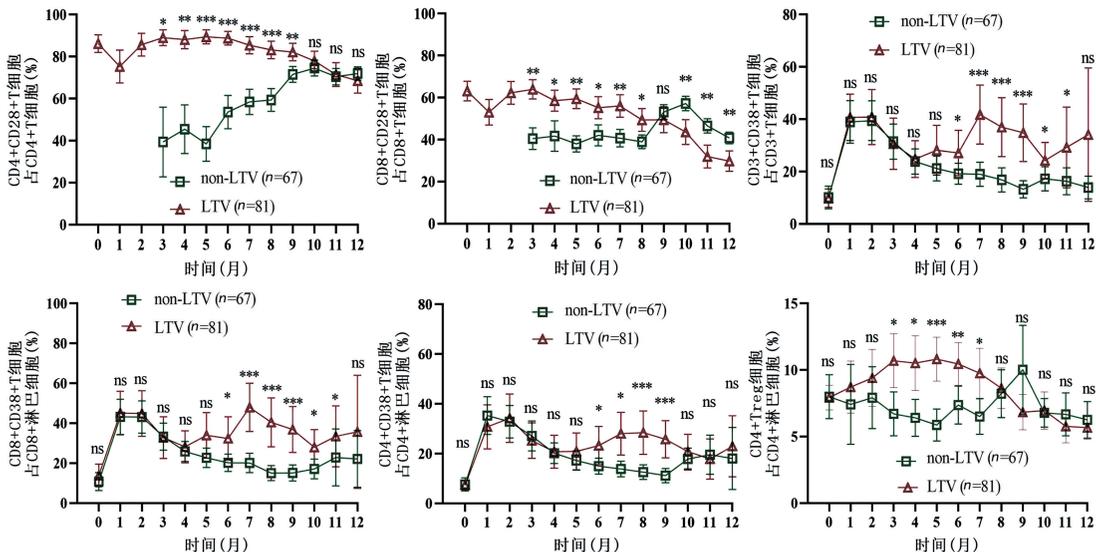
见图 2。(3) T 细胞功能与活化亚群检测: CD4⁺CD28⁺T 细胞占 CD4⁺T 细胞比例及 CD8⁺CD28⁺T 细胞占 CD8⁺T 细胞比例在移植后 1 年内多个时间点 LTV 组持续高于非 LTV 组 ($P < 0.05$), 移植后 10、11、12 个月 CD8⁺CD28⁺T 细胞占 CD8⁺T 细胞比例呈逐月下降趋势, LTV 组低于非 LTV 组 ($P < 0.05$), 见图 3。在 LTV 使用期两组活化相关 T 细胞 CD3⁺CD38⁺T 细胞、CD4⁺CD38⁺T 细胞、CD4⁺CD38⁺T

细胞比例差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 6 个月后可见 LTV 组 CD3⁺CD38⁺T 细胞、CD4⁺CD38⁺T 细胞、CD4⁺CD38⁺T 细胞比例较非 LTV 组较高 ($P < 0.05$)。在 LTV 使用期间, LTV 组诱导免疫耐受作用的 Treg 细胞占 CD4⁺T 细胞比例及 CD4/CD8 均显著高于非 LTV 组 ($P < 0.05$), 但在停用 LTV 后, 各时间点两组患者差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3。



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns 表示差异无统计学意义。

图 2 移植前后两组患者 T 细胞分化亚群变化趋势



注: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns 表示差异无统计学意义。

图 3 移植前后两组患者 T 细胞功能与活化亚群变化趋势

3 讨 论

CMV 感染是异基因 HSCT 后的常见并发症,严重影响患者预后和生存质量^[4]。在我国以抗胸腺细胞球蛋白(ATG)方案为主的单倍型及非血缘移植,CMV 感染的发生率为 60%~83%,且约 1/3 进展为难治性 CMV 感染^[6],全因死亡率高达 30%^[1]。中国一项 III 期、开放标签、单臂临床试验显示,LTV 可显著降低 CMV 血清阳性成人受者移植后 100 d 内 CS-CMV_i 发生率(32.7% vs. 7.1%)^[7],这与全球 III 期结果相当^[8]。最新研究表明,延长 LTV 预防治疗时间至 HSCT 后 200 d,对于降低高危患者晚期临床显著巨细胞病毒感染发生率是安全有效的^[9]。

既往研究发现,对比非 CMV 感染患者,CMV 感染患者有较差的免疫重建状态,其体现在较低 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞及 CD8⁺ T 细胞占淋巴细胞比例,较低 Treg 占 CD4⁺ T 细胞比例及绝对计数,较高 CD38 阳性活化 T 细胞比例^[10-11]。意大利学者发现,在 LTV 预防 100 d 内患者外周血 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞计数明显低于非 LTV 组,从第 180 天开始 LTV 组免疫重建进行性恢复^[12],率先提出 LTV 对 CMV 的有效抑制有可能改变了移植后的免疫格局。LTV 通过抑制 CMV 复制,间接削弱了 CMV 驱动的 T 细胞(尤其是 CD8⁺ T 细胞)免疫重建与扩增。这种“免疫真空”状态可能为其他疱疹病毒,如 EBV 提供了重新激活的机会。这或许能解释中国学者广泛关注的 LTV“主动预防”时代背景下 EBV 激活增加^[13-15]。本研究结果显示在 LTV 预防期,LTV 组有较高的 B 细胞占比,可能与 LTV 组 EBV 高激活率相关。CS-EBV_i 患者中 γ 干扰素(IFN- γ)释放更早达到峰值,EBV-PTLD 患者淋巴细胞重建模式与非 CS-EBV_i 不同,特别是 CD8⁺ T 细胞延迟性恢复^[15]。这些研究结果均与本研究相一致,即 LTV 预防性应用在显著降低 CS-CMV_i 发生率、延迟 CMV 激活时间及缩短病毒持续时间方面表现出明确优势,且不增加 CMV 疾病风险,但却是增加 CS-EBV_i 的独立危险因素之一。由于其病毒持续时间、高峰载量及 EBV-PTLD 发生率并未同步显著升高,因此这种 EBV 激活在多数情况下可能是可控的、一过性的。但这一发现仍警示临床,在接受 LTV 预防的患者中,需加强对 EBV DNA 的监测。

为深入理解上述病毒学差异背后的免疫学机制,笔者对两组患者的免疫重建动态进行了详细分析。结果显示在移植后早期(移植后 2~6 个月),LTV 组的外周血总淋巴细胞、CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞及 NK T 细胞的绝对计数均显著低于 PET 组。虽然两组间 NK T 细胞计数无明显差异,但 NK T 细胞比例非 LTV 组显著高于 LTV 组,在一定程度上也可能与非 LTV 组高 CMV 激活率相关。本研究结果与国内外认为的“CMV 驱动的免疫重建”的

结论一致,即活跃的 CMV 复制是移植后早期强烈刺激 T 细胞(尤其是效应记忆 T 细胞)增殖和分化的一个重要驱动因素^[16]。在本研究中,LTV 组,CMV 再燃的发生率显著低于非 LTV 组,提示 CMV 复制被有效遏制,故并未刺激以 CD8⁺ T 淋巴细胞及 NK 细胞为主的淋巴细胞的增多,导致了早期 T 细胞数量的相对减少,这在表观上体现 T 池的扩增相对迟缓。

尽管 LTV 组早期 T 细胞数量较低,但本研究进一步证明了 LTV 组 T 细胞亚群的功能性构成却显示出潜在优势,从而肯定了 LTV 应用对患者的保护作用。本研究结果显示,在移植后 6 个月内,LTV 组患者较非 LTV 组有更好的免疫储备的能力,较低的免疫耗竭程度,具体体现在 CD4 及 CD8⁺ 的 Naive T、TCM 细胞比例较高,而 CD4 及 CD8⁺ TEM 比例较低。初始 T 细胞和 TCM 是维持长期免疫记忆和免疫应答可塑性的关键群体,其比例增高可能预示着更优的长期免疫重建潜力^[17]。相反,TEM 细胞比例过高通常与持续的抗原刺激(如慢性病毒感染)和免疫衰老相关。CD8⁺ TEMRA 即 CD8⁺ CD45RA⁺ CD197⁻ T 细胞亚群,近年来被认为终末效应细胞重新获得 CD45RA 表达,能够识别应对产生记忆的病原体(如潜伏的 CMV、EBV 等),进行较强免疫效应功能,如立即释放穿孔素、颗粒酶等细胞毒性物质,以及产生效应细胞因子(如 IFN- γ),从而直接杀伤受感染的细胞或肿瘤细胞。

此外,本研究发现 LTV 组在 LTV 预防期有较高比例的,进一步说明 LTV 组较非 LTV 组或有更强的抗病毒能力^[18]。LTV 组 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞上 CD28 共刺激分子的表达比例持续更高。CD28 是 T 细胞活化、增殖和存活的关键信号,其表达的维持对于有效的适应性免疫应答至关重要^[19]。本研究结果也显示,在 LTV 预防性的保护下,Treg 细胞的早期重建也优于非 LTV 组,诱导免疫耐受有助于移植后的免疫稳态。这些发现共同提示,LTV 预防虽然暂时减缓了 T 细胞数量的恢复,但在一定程度上保护了 TCR 的多样性,维持免疫细胞功能及免疫环境稳态。随着 LTV 的停用,两组患者免疫重建进行性恢复,至移植后 1 年时两组差异无统计学意义,与既往研究相似^[12]。这可能有助于解释,高危人群延长 LTV 预防疗程可显著降低 CMV 再激活、全因病死率和非复发病死率,带来生存获益^[20]。

本研究也存在一定的局限性。首先,单中心回顾性研究可能存在选择偏倚;其次,两组在基线特征上虽无明显差异,但 LTV 组 CD34⁺ 细胞回输计数更高、ATG 类型分布不同,这些因素可能对免疫重建和结局产生混杂影响。尽管如此,通过多因素分析仍能识别出独立的风险和保护因素。

综上所述,在 allo-HSCT 后应用 LTV 进行 CMV 预防,能有效且安全地降低 CS-CMV_i 风险。然而,这

种策略可能导致 EBV 再激活风险增加,并显著改变移植后的免疫重建轨迹,其特征为早期 T 细胞数量恢复延迟,但 T 细胞功能亚群分布可能更为有利。这些发现提示,在推行 LTV 普遍预防策略时,临床医生应保持对 EBV 的警惕性监测。未来需要前瞻性研究来进一步阐明 LTV 介导的免疫格局变化对长期移植结局(如复发、晚期感染和免疫重建)的影响,并探索优化 CMV 和 EBV 综合管理的最佳策略。

参考文献

- [1] The 50th annual meeting of the European society for blood and marrow transplantation: statistical symposium-poster session (P803-P807) [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2024, 59(S1):S768-S771.
- [2] LJUNGMAN P, ALAIN S, CHEMALY R F, et al. Recommendations from the 10th European Conference on Infections in Leukaemia for the management of cytomegalovirus in patients after allogeneic haematopoietic cell transplantation and other T-cell-engaging therapies[J]. *Lancet Infect Dis*, 2025, 25(8):e451-e462.
- [3] BENE M C, CASTOLDI G, KNAPP W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) [J]. *Leukemia*, 1995, 9(10):1783-1786.
- [4] ARBER DA, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127(20):2391-2405.
- [5] CUTLER C, PAVLETIC S Z. NCCN guidelines: pretransplant recipient evaluation and management of graft-versus-host disease[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2020, 18(5):645-647.
- [6] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组. 异基因造血干细胞移植患者巨细胞病毒感染管理中国专家共识(2022年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2022, 43(8):617-623.
- [7] HE Y, XU L, DONG Y, et al. Letermovir for prevention of cytomegalovirus infection in Chinese adult allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients: a phase 3, open-label, single-arm trial [J]. *Blood*, 2024, 144 (Suppl 1):S7302.
- [8] MARTY F M, LJUNGMAN P, CHEMALY R F, et al. Letermovir prophylaxis for cytomegalovirus in hematopoietic-cell transplantation [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(25):2433-2444.
- [9] RUSSO D, SCHMITT M, PILORGE S, et al. Efficacy and safety of extended duration letermovir prophylaxis in recipients of haematopoietic stem-cell transplantation at risk of cytomegalovirus infection: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet Haematol*, 2024, 11(2):e127-e135.
- [10] 陈曼, 赵玮, 王榕, 等. 异基因造血干细胞移植后巨细胞病毒感染患者临床及免疫特征分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2024, 47(12):1442-1449.
- [11] ZHOU J R, SHI D Y, WEI R, et al. Co-reactivation of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus was associated with poor prognosis after allogeneic stem cell transplantation [J]. *Front Immunol*, 2021, 11:620891.
- [12] SPEROTTO A, CANDONI A, GOTTARDI M, et al. Cytomegalovirus prophylaxis versus pre-emptive strategy: different CD4⁺ and CD8⁺ T cell reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Transplant Cell Ther*, 2021, 27(6):518. e1-518. e4.
- [13] PEI X Y, HUANG Q, LUO L J, et al. Letermovir prophylaxis for cytomegalovirus is associated with risk of post-transplant lymphoproliferative disorders after haploidentical stem cell transplantation [J]. *Haematologica*, 2025, 110(4):1005-1009.
- [14] KONG X, XU Z, WU Y, et al. Increased Epstein-Barr virus reactivation following prophylaxis for cytomegalovirus infection after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation [J]. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1):94.
- [15] HUANG J, ZHOU J, ZHANG S, et al. Epstein-Barr virus infection following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the era of letermovir for cytomegalovirus prophylaxis [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2025, 14(1):72.
- [16] HUANG Y, JIANG C, ZHU J, et al. Expansion of effector memory V δ 2(neg) $\gamma\delta$ T cells associates with cytomegalovirus reactivation in allogeneic stem cell transplant recipients [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1397483.
- [17] GONZALEZ N M, ZOU D, GU A, et al. Schrödinger's T cells: molecular insights into stemness and exhaustion [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:725618.
- [18] MCGUIRE D J, AKONDY R S, YANG S, et al. Regulation of CD45 isoforms during human effector and memory CD8 T cell differentiation: implications for T cell nomenclature [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122(32):e2322982122.
- [19] MA R, FENG J H, LI W Y, et al. Epstein-Barr virus infection and CD4⁺CD28⁺ T cells immune construction status were associated with the incidence of cytomegalovirus encephalitis in patients after hematopoietic stem cell transplantation [J]. *J Med Virol*, 2025, 97(7):e70489.
- [20] SU Y, STERN A, KARANTONI E, et al. Impact of letermovir primary cytomegalovirus prophylaxis on 1-year mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a retrospective cohort study [J]. *Clin Infect Dis*, 2022, 75(5):795-804.