从北京协和医院百年历史看阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊治发展历程

庄俊玲, 韩冰, 陈苗, 汪玄, 杨辰, 王书杰, 张薇, 段明辉, 朱铁楠, 李剑, 曹欣欣, 张路, 张炎, 冯俊, 王为, 葛昌文, 蒋显勇, 李辉, 蔡昊, 邹农, 许莹, 赵永强, 沈悌, 单渊东, 潘家绮, 武永吉, 李蓉生, 周道斌*

中国医学科学院&北京协和医学院, 北京协和医院血液科, 北京 100730

* 联系人, E-mail: zhoudb@pumch.cn

收稿日期: 2021-06-11; 接受日期: 2021-07-27; 网络版发表日期: 2021-08-19

摘要 阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)是一种罕见后天获得的克隆性造血干细胞(HSC)疾病. 发病机制为磷脂酰肌醇聚糖A(PIGA)基因突变导致细胞膜上锚连蛋白糖基磷脂酰肌醇(GPI)异常, 从而使各种血细胞遭受补体攻击破坏. 发作性溶血和慢性贫血是最常见临床表现, 也可出现多系血细胞减少为表现的骨髓衰竭. 血栓形成是PNH的主要并发症及死亡原因之一. 早期治疗仅为输血支持, 补体C5单克隆抗体成为经典PNH治疗中的突破性药物, 异基因造血干细胞移植是唯一可能治愈PNH的方法. 北京协和医院是国内最早报道PNH病例的单位, 也是国内不断改进PNH检测方法的领先中心. 临床和基础研究团队长期积累, 建立了国内最大PNH队列, 在探索PNH骨髓衰竭和血栓发生机制等方面成为国内引领. 在北京协和医院建院百年之际, 本文回顾历史, 总结协和及国内血液人在PNH上的临床和研究经验, 以期传承老一辈的钻研精神, 进一步提高PNH诊治水平.

关键词 阵发性睡眠性血红蛋白尿症, 北京协和医院, 百年, 血液病学, 传承

北京协和医院成立于1921年, 建院之初大内科尚未分设亚专科, 但已有血液系统疾病的相关报道, 包括1918年国内首次报道的5例白血病^[1], 遗传性血友病A患者在协和接受头皮血肿手术(1924年病历记载)等. 1932年全国第一个血液学实验室在协和成立, 次年毕业留院的邓家栋师从Dr. Forkner开始从事血液学研究工作, 包括血细胞形态、出凝血相关试验、黑热病的血液学改变等^[2]. 1938年, 邓家栋赴美国哈佛医学院深造, 在诺贝尔奖获得者Minot教授的实验室进行溶血相

关研究^[2], 这为今后协和红细胞疾病尤其是阵发性睡眠性血红蛋白尿症这一代表性疾病诊治的发展奠定了基础.

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)是一种后天获得的克隆性造血干细胞(HSC)疾病. 目前认为磷脂酰肌醇聚糖A锚定蛋白(PIGA蛋白)对于合成糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidylinositol, GPI)是必需的, PIGA基因突变引起造血干细胞及其后代所有细胞上GPI锚定蛋白(GPI-

引用格式: 庄俊玲, 韩冰, 陈苗, 等. 从北京协和医院百年历史看阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊治发展历程. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 938-947
Zhuang J L, Han B, Chen M, et al. Centennial development of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria research in Peking Union Medical College Hospital (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 938-947, doi: [10.1360/SSV-2021-0197](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0197)

AP)缺陷,使得补体调节蛋白CD55和CD59无法被锚连到细胞表面,导致补体异常激活攻击红细胞,造成溶血^[3,4].对PNH的认识已有100年之久,随着现代科技不断进步,以补体单克隆抗体为代表的新疗法为控制溶血及相关并发症带来了里程碑式的飞跃.

1 对PNH的早期认识和诊断方法

PNH发病率低,被列为罕见病.目前统计的每年新发病例数约为2~5/百万^[5].根据Wintrobe记载,1882年Strübing^[6]最早报告一例典型PNH患者;一般认为较完整的记录是由Marchiafava和Nazari于1911年首次完成的^[7].

1.1 北京协和医院是国内最早报道PNH的单位

1951年,刘士豪^[8,9]在*Blood*杂志上首次报道了2例PNH患者(病案号分别为74586和62835),分别于1940年11月29日和1938年4月20日在北京协和医院(PUMCH)住院.国内PNH病例最早也是协和张乃峥等人^[10]于1952年发表,邓家栋和张安均参与了撰写.文章详细记录了1947~1949年因反复发作性血红蛋白尿和慢性贫血住院治疗的3例患者资料,其中男性2例、女性1例,年龄分别为28岁、22岁和38岁,病史从2个月到10余年不等,入睡后血浆和尿中游离血红蛋白同步增加,输血仍是主要治疗手段.之后郁知非^[11]、夏仪华^[12]等陆续进行个案报道.

邓家栋于1957年离开北京协和医院创建天津输血和血液病研究所,并任首任所长.该研究所从建所到1963年12月共收治PNH患者94例,是早期国内报道病例数最多的单位^[13].文章^[13]强调PNH需与其他疾病进行鉴别,主要是再生障碍性贫血(AA),这为今后PNH-AA综合征的提出打下伏笔.因反复溶血还可能与肝胆疾病、肾脏疾病等混淆.截至1960年国外共有200余例PNH报道^[14].

1.2 早期PNH的检测方法

早在1918年,Rous^[15]就检测到PNH患者尿含铁血黄素阳性,即一直沿用到现在的Rous试验,这是由慢性溶血、血红蛋白尿导致.

大家熟知的Ham法^[16],即酸溶血试验早在1937年就已建立并沿用至今,盐酸酸化条件下PNH患者的红

细胞更易溶解,之后才明确是酸性条件下激活补体导致,孔宪云等人^[17]在26例PNH病人中检测Ham试验100%阳性.Crosby^[18,19]在20世纪50年代提出PNH患者血浆中存在溶血因子和阻抑因子,加入凝血酶破坏阻抑因子,从而促进溶血发生.另外Hegglin和Maier二氏^[20]在1944年提出了热溶血试验,患者血浆37℃温育6 h发生溶血为阳性.国内中国医学科学院血液病医院的杨天楹团队^[21]对热溶血试验进行了改进,温育延长至24 h仍有很好的敏感性和特异性.而且将正常人红细胞加入PNH血浆不发生溶解,提示患者红细胞存在内在缺陷.热溶血试验耗时较长,因此之后“糖水”试验应用更多^[22],与Crosby试验敏感性相似.

2 深入研究PNH发病机制,改进临床检测方法

北京协和医院在1941年太平洋战争爆发后关闭,直至1948年才得以复院.协和医学院的八年制招生于1953年停止,1959年恢复并改称“中国医科大学”,之后又遭散^[2].医院临床和研究工作受到很大影响.即使如此,1954~1983年主持内科血液组工作的张安大夫仍然带领张之南、侯虞华、李蓉生、黄文熙、武永吉等,实验室李德高、郑天琳和葛昌文等人创建了许多血液系统疾病的诊疗规范,使得北京协和医院在血液疾病诊治方面处于国内领先水平.

1978年,邓家栋大夫被调至中国医学科学院,他积极联络黄家驷校长、董炳琨、章央芬副校长等人,恢复八年制招生,重建协和医学院^[2].协和对中国医学教育和卫生事业的影响及贡献得到肯定,医院日常工作逐步恢复.在这样的历史背景下,以张之南大夫为首的团队从20世纪70年代开始就与协和医学院基础学院密切合作,将PNH检测方法和发病机制研究方面全面推进.

2.1 PNH红细胞膜异常机制研究取得突破

早在1981年,黄文熙等人^[23]应用扫描电子显微镜观察了30例PNH患者红细胞,发现异常形态红细胞比例显著高于正常对照.尽管患者红细胞对补体异常敏感,但红细胞膜上补体C3受体和正常人并无差异^[24],而红细胞膜上肌醇磷脂(PI)类含量显著减少^[25],这些都说明是红细胞膜脂质存在缺陷更易受到补体攻击.

1993年,PNH发病机制在国际上取得突破性进展,

日本学者Takeda等人^[4]发现PIGA蛋白基因突变导致细胞膜上GPI显著下降, 从而不能将补体调节蛋白CD55和CD59连接到红细胞表面。CD55又名衰变加速因子(decay-accelerating factor, DAF), CD59又称反应性溶血膜抑制物(membrane inhibitor of reactive lysis, MIRL), 二者生理功能为灭活补体, 保护细胞。缺乏CD55和CD59导致补体异常激活, 红细胞受到攻击, 发生溶血^[26]。这是PNH发病机制研究近一百年来来的重大突破。

1997年, 许彩民等人^[27]首先在国内建立了PCR-Heteroduplex银染法检测PNH患者PIG-A基因突变。杜涛等人^[28]首次检测中国PNH患者PIG-A基因突变的类型, 结果发现4例患者突变均发生在第2外显子, 突变类型与日本相近, 而与欧美、泰国有差异, 提示PIG-A基因突变可能有区域性差异。但PIG-A基因突变不是PNH发病的唯一机制, 异常克隆获得造血优势的机制当时并不明确。

2.2 改进PNH检测方法, 国内领先

20世纪70年代常用的PNH检测方法是Ham试验和蔗糖水溶血试验, 前者不够敏感, 后者特异性比较低。Kabakçi等人^[29]在1972年首次建立了蛇素因子和血清促进PNH患者溶血的方法。1978年, 张之南等人^[30]从广州地区眼镜蛇(*Naja Naja*)的蛇毒中提纯蛇毒因子(CoF), 在Kabakçi方法基础上加以改进, 在国内首次建立CoF溶血试验, 提高了PNH检验的敏感性和特异性, 并将结果发表在1979年创刊的《中国医学科学院学报》首卷首期上。之后CoF试验在全国范围内得到推广和验证^[31,32]。这一创新研究获得了1993年卫生部科技成果进步奖三等奖。

CoF蛇毒试验虽然特异性强, 但敏感性并不比Ham试验更高。因PNH细胞不能将CD55和CD59锚定在胞膜上, 因此, 检测这两个蛋白的表达成为诊断PNH的新方法。Nicholson-Weller等人^[33]1985年在《新英格兰医学》杂志上发表的工作首先应用流式细胞术检测血细胞表面CD55表达, 发现包括红细胞、中性粒细胞在内的各种血细胞均有不同程度CD55表达减少。之后有报道改进检测抗体, 结果发现新的锚定蛋白抗原CD59比CD55更敏感^[34]。

北京协和医院吕照江等人^[35]首先在国内建立了流式细胞术检测CD59表型对PNH的诊断意义, 并将

CD59阴性比率超过10%作为诊断阈值, 骨髓标本中CD59阴性比率更高。但细胞CD55/CD59的阴性比例会因大量溶血而低估PNH克隆大小。2000年, Brodsky等人^[36]报道了一种新的PNH检测方法, 可进一步提高PNH诊断的敏感性和特异性。Flaer是Alexa-488标记的无活性嗜水气单胞菌溶素前体的变体, 可特异性地与所有膜GPI结合而直接反映其缺失情况, 诊断更敏感、更特异。2004年, 韩冰等人^[37]首先在国内建立了检测Flaer的诊断方法, 目前已成为该病诊断的常规。2021年, 中华医学会血液学分会红细胞学组制定了PNH流式细胞术检测专家共识, 统一规范了检测方法和注意事项^[38]。

3 持续积累病例, 在中国PNH登记组中发挥核心作用

PNH临床症状多样, 患者可出现一系列血细胞减少, 如最常见的溶血和慢性贫血, 也可以表现为多系血细胞减少的骨髓衰竭, 其他包括血栓形成、肾功能不全、平滑肌张力障碍、腹痛、呼吸困难和极度疲劳等与溶血相关的症状。尽管PNH是一种非恶性疾病, 但20世纪一直缺乏有效的治疗手段, 国外Hillmen等人^[39]报道PNH患者生存比同年龄健康人群显著缩短, 中位生存期仅10年。法国同期的统计显示PNH患者10年预计生存率为65%^[40]。血栓和出血是PNH患者的主要致死原因。

从20世纪80年代开始, 北京协和医院持续积累PNH病例, 定期总结患者临床特点和随访转归, 建立了国内最大宗PNH患者队列。从1949年建国以来至1983年4月共有128例^[41]。此后联合天津血液所共同报告658例患者资料^[42], 总结出我国PNH患者具有男性较多(男女比例4.4:1), 国外基本1:1; 发病更年轻, 中位年龄仅27岁; 我国北方病例多见; 无血红蛋白尿发作病例比例24.2%, 略高于国外; 合并血栓比例3%, 与泰国相似, 但低于欧美, 还需更细致询问相关病史。张之南编著的《血液病诊断及疗效标准》^[43]成为PNH临床诊断和疗效判断的国内统一标准。

经过几代人努力, 北京协和医院目前共登记PNH患者512例, 建立了全国最大的单中心队列。在中国PNH登记组中, 这些病例资料在临床经验分享、临床试验储备、临床水平提高等方面发挥了核心作用。

4 探索棘手难题, 不断提高认知

4.1 PNH异常克隆如何获得增殖优势

*PIGA*基因突变虽然能够解释血细胞减少, 但这些异常克隆如何获得增殖优势而使溶血不断发生仍不清楚. 近20年, 北京协和医院武永吉和韩冰团队在这一问题上取得了一些进展.

韩冰等人^[44]发现PNH患者骨髓中异常表型的CD34⁺CD59⁻单个干/祖细胞较正常表型的CD34⁺CD59⁺细胞具有生长优势, 但均比健康对照干细胞生长缓慢. 而PNH患者骨髓基质细胞生长并无异常, 外周血CD34⁺干细胞比例较正常人低, 且以正常表型为主^[45-48], 但是异常克隆相对优势增殖的机制仍不明确. 之后, 韩冰等人^[49]建立了与病人极其相似的*PIGA*基因突变PNH动物模型, 发现*PIGA*突变不是异常细胞增殖优势的原因, 推测有微环境中其他因素参与. 为克服PNH异常克隆的增殖优势, 孙婉玲、肖娟等人^[50,51]进行体外扩增PNH患者表型正常的造血干细胞(CD34⁺CD59⁺), 并成功在联合免疫缺陷(SCID)小鼠体内传代, 为今后自体移植治疗PNH的临床应用打下了基础. 基于这些研究成果, 2014年本团队获得了中华医学科技三等奖.

我国PNH患者*PIGA*外最常见的突变基因有*MAP3K4*和*CSMD1*(12.5%). *RUNX1T1*突变与更大克隆、更严重溶血相关. 携带再障相关不良预后基因(*DNMT3A*, *RUNX1*, *JAK2*, *JAK3*, *CSMD1*)突变的比例随PNH克隆增加而逐步降低. 新发突变可能是导致PNH克隆获得增殖优势的原因^[52].

4.2 PNH患者血栓形成的发生机制

血栓形成是PNH患者常见并发症和致死原因. 国外报道血栓占PNH患者死因的40%~67%, 合并血栓患者死亡率增加5~15.4倍. 29%~44%的患者至少发生过一次血栓事件^[53]. 本中心PNH患者血栓发生率为18%, 较早年报道明显升高^[54], 且以腹腔静脉血栓为主^[55]. 血栓的发生机制尚无定论, PNH克隆大小与血栓发生明确相关^[56], 其他机制包括内皮损害^[57]、大量游离血红蛋白释放和一氧化氮消耗^[58,59]、血小板活化^[60]等, 但不能解释其全貌, 也难以解释只有部分患者发生血栓事件. Hill团队^[61]报道血栓发生并不一定需要明显的溶血表现, 提示白细胞、血小板也与血栓的发生有

密切关系.

我们中心通过二代测序技术建立了预测疾病早期血栓风险的积分模型^[62]. 同时, 发现ABO基因*rs495828*或*rs2519093*等位基因型与PNH患者血栓形成的高风险相关^[63]. *SRRD*突变与腹部血栓显著相关, *EGR4*突变与心梗显著相关^[52].

5 PNH的治疗演变和进展

由于补体单抗在中国尚未上市, 我国PNH患者的治疗仍以支持治疗为主, 近年来尝试异基因造血干细胞移植, 以期达到治愈的目的.

5.1 常规治疗

以“保护”PNH克隆、减少补体攻击, 减轻溶血为目的, 以对症支持治疗为主^[64]. 如无禁忌证, 急性溶血发作时, 可予肾上腺糖皮质激素(如泼尼松0.25~1.00 mg/(kg·d), 为避免长期应用的不良反应, 应酌情短周期使用). 促进造血的药物如雄激素(如十一酸睾酮、达那唑)、免疫抑制剂(如环孢素)等也可应用. 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.

5.2 抗补体C5单克隆抗体

Hillmen等人^[65]在2004年首次报道Eculizumab用于PNH患者, 能够迅速稳定补体, 控制溶血, 患者全部脱离输血. 此后3期临床研究^[66,67]均显示出此药的强大疗效, 溶血相关症状和并发症都得到满意控制, 包括肾功能不全、肺动脉高压和血栓发生, 最终延长患者生存. 但由于PNH克隆有持续增殖优势, 补体单抗的作用为抑制补体下游活性, 控制溶血, 因此使用后PNH克隆比例升高, 一旦停药会加剧溶血. 日本学者报道了C5基因突变导致补体抑制剂耐药, 而本团队检测一百多例中国患者并未发现类似突变^[68]. C5抑制剂使用后, 部分患者会发生C3介导的血管外溶血, 从而导致突破性溶血. 英国学者报道某些C3多态性与C5抑制剂后出现的血管外溶血有相关性. 本团队发表的文献证实, 中国人此种类型的多态性并不高发^[69]. 另外, 荚膜类微生物主要靠补体灭活, 应用C5单抗后脑膜炎发生

率升高, 建议用药前注射相应疫苗^[70].

其他C5补体单克隆抗体Ravulizumab相关临床试验结果显示和Eculizumab相似的疗效. 从每周一次延长到每8周一次给药, 大大提高了治疗的方便性^[71~73].

5.3 异基因造血干细胞移植

PNH尽管是一种克隆性造血干细胞异常疾病, 克隆在骨髓衰竭背景下有相对增殖优势, 但与肿瘤性扩增有本质区别. 因此, 异基因造血干细胞移植对这一疾病的应用也较为慎重. 由于C5单抗能较好地控制溶血及相关血栓并发症等, 在有C5单抗的国家和地区并不主张常规对经典型PNH患者移植, 通常仅对以难治性骨髓衰竭为主要表现或补体抑制剂疗效不佳, 且有合适供者的患者才会考虑使用^[74]. 国内胡亮钉等人^[75]首先报道了一例, 男性26岁, 胞弟全相合骨髓移植, 移植后随访15个月未见PNH复发. 苏州大学血液病研究所^[76,77]近年来尝试异基因造血干细胞移植治疗PNH, 18例患者预计5年生存率为80.5%; 单倍体移植也取得了不错效果, 17例患者3年总生存率为77.8%. 均未见疾病复发.

6 总结与展望

阵发性睡眠性血红蛋白尿症是一种罕见的后天获得性、克隆性造血干细胞异常导致的慢性溶血和骨髓衰竭性疾病. 北京协和医院自20世纪50年代首次报道PNH病例至今, 潜心研究疾病的检验方法、发病机制和可能有效的治疗方案, 一直在国内处于领先地位, 包括目前建成的国内最大的PNH随访队列. 由于补体C5抑制剂尚未在国内上市, PNH的治疗仍以输血和对症为主, 这是我们与国际上PNH治疗的主要差距(PNH大事记见图1). 对补体通路多种抑制剂的开发仍是PNH治疗上的热点, 尤其是口服制剂在慢性疾病治疗中的优势更加凸显. 有研究尝试编辑PIGA基因治疗PNH, 尽管效果不明显, 对这种治疗的研究仍在继续. 国内应用异基因移植治疗PNH在国际上处于领先地位, 如何降低移植相关不良反应是研究者们努力的方向.

北京协和医院血液科(之前称血液组)包括实验室是国内最早建立的内科亚专科, 不管是疑难病鉴别还是常见病队列都在国内领先. 随着科技飞速发展、新技术不断更新, 近20年来血液病的诊治已经进入基因和分子靶向时代. 血液科一直秉承小而全、点带面的科室发展原则, 高效利用人力和空间, 力求常见病规

图1 阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)发展大事记
Figure 1 Historical events of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

范化管理, 罕见病诊疗国内领先. 医院百年之际, 回顾历史, 老一辈协和血液人在学术上的钻研精神值得后

人传承发扬, 在PNH这一罕见病上取得的成绩也必将带动学科全面发展.

参考文献

- 1 Korns J H. Leukemia, a report of 5 cases illustrating 3 types of the diseases. *Chin J Med*, 1918; 32: 420
- 2 Liu D P, Liu X. Biography of Deng Jiadong (in Chinese). 1st ed. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2007 [刘德培, 刘谦, 编. 邓家栋画传. 第一版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2007]
- 3 Brodsky R A. Narrative review: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia. *Ann Int Med*, 2008, 148: 587
- 4 Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell*, 1993, 73: 703–711
- 5 Araten D J, Nafa K, Pakdeesuwon K, et al. Clonal populations of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5209–5214
- 6 Strübing P. Paroxysmale Hamoglobinurie. *Deutschr Medizinische Wochenschr*, 1882, 8: 1–3
- 7 Wintrobe M M. *Clinical Hematology*. 4th ed. 1956
- 8 Liu S H. Chronic hemolytic anemia with erythrocyte fragility to cold and acid. *Blood*, 1951, 6: 101–123
- 9 Liu S H. Chronic hemolytic anemia with erythrocyte fragility to cold and acid. *Blood*, 1951, 6: 124–141
- 10 Zhang N Z, Zhong H L, Deng J D, et al. Observation on three cases of chronic anemia caused by sleep hemochromaturia (paroxysmal nocturnal hemochromaturia) (in Chinese). *Natl Med J China*, 1952, 38: 383–396 [张乃峥, 钟惠澜, 邓家栋, 等. 睡眠性血色蛋白尿所致慢性贫血三例之观察(发作性夜间血色蛋白尿症). 中华医学杂志, 1952, 38: 383–396]
- 11 Yu Z F. Paroxysmal nocturnal hemoalbuminuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1954, 2: 487–491 [郁知非. 发作性夜间血色蛋白尿. 中华内科杂志, 1954, 2: 487–491]
- 12 Xia Y H, Chen Q E, Xu Z E. Paroxysmal nocturnal hemoalbuminuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1956, 4: 555–557 [夏仪华, 陈庆恩, 徐珍儿. 阵发性夜间血红蛋白尿. 中华内科杂志, 1956, 4: 555–557]
- 13 Yang T Y, Yang X Y, Zhu X Q, et al. Clinical observation of 94 cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1965, 13: 866–868 [杨天楹, 杨学庸, 朱学清, 等. 94例阵发性睡眠性血红蛋白尿的临床观. 中华内科杂志, 1965, 13: 866–868]
- 14 Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Am Med Assoc*, 1960, 173: 260–261
- 15 Rous P. Urinary siderosis. *J Exp Med*, 1918, 28: 645–658
- 16 Ham T H. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*, 1937, 217: 915–917
- 17 Kong X Y, Deng J D, Yang X Y. Clinical analysis of 26 cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1959, 7: 883–892 [孔宪云, 邓家栋, 杨学庸. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症26例临床分析. 中华内科杂志, 1959, 7: 883–892]
- 18 Crosby W H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. A specific test for the disease based on the ability of thrombin to activate the hemolytic factor. *Blood*, 1950, 5: 843–846
- 19 Crosby W H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Plasma factors of the hemolytic system. *Blood*, 1953, 8: 444–458
- 20 Hegglin R, Maler C. The “heat resistance” of erythrocytes. *Am J Med Sci*, 1944, 207: 624–626
- 21 Liu Q Y, Song Z X, Yang T Y. Red blood cell hemolysis test (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1963, 11: 379–380 [刘清源, 宋增璇, 杨天楹. 红细胞热溶血试验. 中华内科杂志, 1963, 11: 379–380]
- 22 Hartmann R C, Jenkins Jr. D E. The sugar-water test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*, 1966, 275: 155–157
- 23 Huang W X, Zhang Z N, Ge C W, et al. The morphology of erythrocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: observations in 30 cases with scanning electron microscopy (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1981, 2: 238–240 [黄文熙, 张之南, 葛昌文, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的红细胞形态——30例扫描电镜观察. 中华血液学杂志, 1981, 2: 238–240]
- 24 Pan H Z, Li C H, Zhang Z N, et al. Studies on C3-receptor of the red blood cell membrane in normal and PNH patients (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1981, 2: 114–116 [潘华珍, 李彩华, 张之南, 等. 正常人及PNH患者红细胞膜补体3受体的探讨. 中华血液学杂志, 1981, 2: 114–116]
- 25 Pan H Z, Rui F B, Ji Z F, et al. Preliminary observation on the content and distribution of phosphatidylinositol in paroxymal nocturnal

- hemoglobinuria erythrocytes (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1990, 11: 576–578 [潘华珍, 蔺福宝, 季智芳, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症红细胞膜肌醇磷脂的初步探讨. *中华血液学杂志*, 1990, 11: 576–578]
- 26 Kinoshita T, Medof M E, Silber R, et al. Distribution of decay-accelerating factor in the peripheral blood of normal individuals and patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med*, 1985, 162: 75–92
- 27 Xu C M, Du T, Yang Y, et al. Detection of PIG-A gene mutation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria by PCR heteroduplex silver staining (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1997, 18: 551–552 [许彩民, 杜涛, 杨洋, 等. 应用PCR-Heteroduplex银染法检测阵发性睡眠性血红蛋白尿症PIG-A基因突变. *中华血液学杂志*, 1997, 18: 551–552]
- 28 Du T, Xu C M, Zhang Z N, et al. Somatic mutations of PIG-A gene in Chinese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1997, 18: 509–512 [杜涛, 许彩民, 张之南, 等. 中国人阵发性睡眠性血红蛋白尿症的PIG-A基因突变的观察. *中华血液学杂志*, 1997, 18: 509–512]
- 29 Kabakçi T, Rosse W F, Logue G. L. The lysis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria red cells by serum and cobra factor. *Br J Haematol*, 1972, 23: 693–705
- 30 Zhang Z N, Huang W X, Zhang An, et al. Improvement and clinical application of cobra venom factor hemolysis test (in Chinese). *Acta Acad Med Sin*, 1979, 1: 57–61 [张之南, 黄文熙, 张安, 等. 蛇毒因子溶血试验的改进及其临床应用. *中国医学科学院学报*, 1979, 1: 57–61]
- 31 Zhang Z N, Huang W X, Zhang A, et al. Diagnostic value of cobra venom factor hemolysis test in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1984, 5: 41–42 [张之南, 黄文熙, 张安, 等. 蛇毒因子溶血试验的诊断意义. *中华血液学杂志*, 1984, 5: 41–42]
- 32 Ding B S, Li X, Wu J S, et al. Diagnostic significance of cobra venom factor hemolysis test and acid hemolysis test for PNH (in Chinese). *Anhui Med*, 2001, 22: 58 [丁邦胜, 李霞, 吴竞生, 等. 蛇毒因子溶血试验与酸溶血试验对PNH的诊断意义. *安徽医学*, 2001, 22: 58]
- 33 Nicholson-Weller A, Spicer D B, Austen K F. Deficiency of the complement regulatory protein, decay-accelerating factor, on membranes of granulocytes, monocytes, and platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*, 1985, 312: 1091–1097
- 34 Schubert J, Alvarado M, Uciechowski P, et al. Diagnosis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using immunophenotyping of peripheral blood cells. *Br J Haematol*, 1991, 79: 487–492
- 35 Lv Z J, Du T, Zhang Z N, et al. Significance of detecting CD59 phenotype by flow cytometry in diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1997, 18: 513–516 [吕照江, 杜涛, 张之南, 等. 用流式细胞仪检测CD59表型对诊断阵发性睡眠性血红蛋白尿症的意义. *中华血液学杂志*, 1997, 18: 513–516]
- 36 Brodsky R A, Mukhina G L, Li S, et al. Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Pathol*, 2000, 114: 459–466
- 37 Han B, Wang X, Zhou D B, et al. Flaer detection for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Basic Clin Med*, 2006, 26: 1244–1247 [韩冰, 汪玄, 周道斌, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症的嗜水气单胞菌溶素变异体检测. *基础医学与临床*, 2006, 26: 1244–1247]
- 38 Chinese expert consensus on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria detection via flow cytometry (2021) (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2021, 42: 281–287 [阵发性睡眠性血红蛋白尿症流式细胞术检测中国专家共识(2021年版). *中华血液学杂志*, 2021, 42: 281–287]
- 39 Hillmen P, Lewis S M, Bessler M, et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*, 1995, 333: 1253–1258
- 40 Socié G, Mary J Y, de Gramont A, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet*, 1996, 348: 573–577
- 41 Huang W X, Zhang Z N, Li X N, et al. Clinical analysis of 128 cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Intern Med*, 1984, 23: 359–361 [黄文熙, 张之南, 郇筱能, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症128例临床分析. *中华内科杂志*, 1984, 23: 359–361]
- 42 Le X F, Yang T Y, Wang X M, et al. Clinical characteristics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in china, clinical analysis of 658 cases (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1989, 10: 570–571 [乐晓峰, 杨天楹, 王秀梅, 等. 我国阵发性睡眠性血红蛋白尿症的临床特点(658例临床分析). *中华血液学杂志*, 1989, 10: 570–571]
- 43 Zhang Z N. Criteria for Diagnosis and Efficacy of Hematological Diseases (in Chinese). Beijing: Science Press, 1991 [张之南. 血液病诊断及疗效标准. 北京: 科学出版社, 1991]
- 44 Han B, Wu Y, Lu Z, et al. Proliferative capacity of single isolated CD34⁺ hematopoietic stem/progenitor cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol*, 2001, 74: 42–52
- 45 Li Q, Zhang Z N, Xu C M, et al. The preliminary investigation on proliferative and survival capabilities of normal and abnormal mononuclear cells in bone marrow of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 1997, 18: 517–520 [李强, 张之南, 许彩民, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者骨髓正常及异常造血细胞增殖及生存特性初探. *中华血细胞液学杂志*, 1997, 18: 517–520]

- 46 Han B, Wu Y J, Zhang Z N. Study on the stroma of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Natl Med J China*, 2001, 81: 1430–1433 [韩冰, 武永吉, 张之南. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者基质研究初探. *中华医学杂志*, 2001, 81: 1430–1433]
- 47 Han B, Wu Y J, Zhang Z N. Composition analysis of hematopoietic stem/progenitor cells in peripheral blood and bone marrow from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2002, 23: 73–76 [韩冰, 武永吉, 张之南. PNH患者外周血及骨髓正常和异常造血干/祖组成分析. *中华血液学杂志*, 2002, 23: 73–76]
- 48 Xiao J, Wu Y J, Zhang Z N, et al. Study of biological characteristics of the CD34⁺CD59⁺ and CD34⁺CD59⁻ cells from PNH patients' bone marrow (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2003, 24: 169–173 [肖娟, 武永吉, 张之南, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者骨髓CD34⁺CD59⁺细胞与CD34⁺CD59⁻细胞生物学性能的研究. *中华血液学杂志*, 2003, 24: 169–173]
- 49 Han B, Unsinger J, Liu F, et al. G-CSF induced progenitor mobilization in mice with PIGA-blood cells. *Hematol J*, 2004, 5: 347–352
- 50 Sun W L, Han B, Wang X, et al. Long-term ability for hematopoiesis of CD34⁺CD59⁺ cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: experiment with mice (in Chinese). *Natl Med J China*, 2007, 87: 3012–3015 [孙婉玲, 韩冰, 汪玄, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症CD34⁺CD59⁺细胞长期造血的动物实验. *中华医学杂志*, 2007, 87: 3012–3015]
- 51 Xiao J, Han B, Wu Y J, et al. *Ex vivo* expansion and long-term hematopoietic reconstitution ability of sorted CD34⁺CD59⁺ cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol*, 2010, 92: 58–67
- 52 Chen F, Hu S, Ruan J, et al. Mutational landscape and its clinical significance in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood Cancer J*, 2021, 11: 58
- 53 Hill A, Kelly R J, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, 2013, 121: 4985–4996
- 54 Yu F, Du Y, Han B. A comparative analysis of clinical characteristics of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria between Asia and Europe/America. *Int J Hematol*, 2016, 103: 649–654
- 55 Zou N, Han B, Cai H, et al. Clinical features of 76 Chinese patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2012, 33: 471–474 [邹农, 韩冰, 蔡昊, 等. 76例阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者临床特点分析. *中华血液学杂志*, 2012, 33: 471–474]
- 56 Du Y L, Long Z B, Xie H Y, et al. The preliminary research in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with thrombosis (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2016, 37: 318–323 [杜亚丽, 龙章彪, 谢海雁, 等. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症患者血栓易发因素的初步研究. *中华血液学杂志*, 2016, 37: 318–323]
- 57 Helley D, de Latour R P, Porcher R, et al. Evaluation of hemostasis and endothelial function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria receiving eculizumab. *Haematologica*, 2010, 95: 574–581
- 58 Wagener F A D T G, Eggert A, Boerman O C, et al. Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood*, 2001, 98: 1802–1811
- 59 Rother R P, Bell L, Hillmen P, et al. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin. *JAMA*, 2005, 293: 1653
- 60 Wiedmer T, Hall S E, Ortel T L, et al. Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, 1993, 82: 1192–1196
- 61 Griffin M, Hillmen P, Munir T, et al. Significant hemolysis is not required for thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*, 2019, 104: e94–e96
- 62 Huang Y, Liu X, Chen F, et al. Prediction of thrombosis risk in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Hematol*, 2019, 98: 2283–2291
- 63 Long Z, Du Y, Li H, et al. Polymorphism of the *ABO* gene associate with thrombosis risk in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Oncotarget*, 2017, 8: 92411–92419
- 64 Chinese Medical Association-Chinese society of Hematology, Red Blood Cell (anemia) Group. Chinese expert consensus on diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2013, 34: 276–279 [中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国专家共识. *中华血液学杂志*, 2013, 34: 276–279]
- 65 Hillmen P, Hall C, Marsh J C W, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med*, 2004, 350: 552–559
- 66 Brodsky R A, Young N S, Antonioli E, et al. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*, 2008, 111: 1840–1847
- 67 Hill A, Rother R P, Wang X, et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary

- hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol*, 2010, 149: 414–425
- 68 Du Y, Zhang Q, Han B. Genetic variants of *C5* and polymorphisms of *C3* in Chinese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Lab Hem*, 2016, 38: e84–e85
- 69 Long Z, Du Y, Li H, et al. *CR1* gene polymorphisms in Chinese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Gene*, 2018, 659: 149–154
- 70 McNamara L A, Topaz N, Wang X, et al. High risk for invasive meningococcal disease among patients receiving eculizumab (Soliris) despite receipt of meningococcal vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2017, 66: 734–737
- 71 Lee J W, Sicre de Fontbrune F, Wong Lee Lee L, et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs. eculizumab in adult patients with PNH naive to complement inhibitors: the 301 study. *Blood*, 2019, 133: 530–539
- 72 Kulasekararaj A G, Hill A, Rottinghaus S T, et al. Ravulizumab (ALXN1210) vs. eculizumab in C5-inhibitor-experienced adult patients with PNH: the 302 study. *Blood*, 2019, 133: 540–549
- 73 Brodsky R A, de Latour R P, Rottinghaus S T, et al. Characterization of breakthrough hemolysis events observed in the phase 3 randomized studies of ravulizumab *versus* eculizumab in adults with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*, 2020, 106: 230–237
- 74 Du Y, Han B. Advances in hematopoietic stem cell transplantation for patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Transplant Cell Ther*, 2021, 27: 301–307
- 75 Hu L D, Chen H, Jiang M. A case of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2000, 21: 552 [胡亮钉, 陈虎, 江岷. 异基因外周血造血干细胞移植治疗一例阵发性睡眠性血红蛋白尿症. 中华血液学杂志, 2000, 21: 552]
- 76 Chen F, Wu D P, Tang X W, et al. Outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for 18 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2015, 36: 1005–1010 [陈峰, 吴德沛, 唐晓文, 等. 异基因造血干细胞移植治疗18例阵发性睡眠性血红蛋白尿症疗效分析. 中华血液学杂志, 2015, 36: 1005–1010]
- 77 Xia J, Chen S N, Chen J, et al. Efficacy and safety of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for 17 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (in Chinese). *Chin J Hematol*, 2018, 39: 904–907 [夏晶, 陈苏宁, 陈佳, 等. 单倍型造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症17例疗效和安全性研究. 中华血液学杂志, 2018, 39: 904–907]

Centennial development of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria research in Peking Union Medical College Hospital

ZHUANG JunLing, HAN Bing, CHEN Miao, WANG Xuan, YANG Chen, WANG ShuJie, ZHANG Wei, DUAN MingHui, ZHU TieNan, LI Jian, CAO XinXin, ZHANG Lu, ZHANG Yan, FENG Jun, WANG Wei, GE ChangWen, JIANG XianYong, LI Hui, CAI Hao, ZOU Nong, XU Ying, ZHAO YongQiang, SHEN Ti, SHAN YuanDong, PAN JiaQi, WU YongJi, LI RongSheng & ZHOU DaoBin

Department of Hematology, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare acquired clonal hematopoietic stem cell (HSC) disease. A somatic phosphatidylinositol glycan-A (PIGA) gene mutation in HSCs translates into abnormal biosynthesis of glycosyl phosphatidylinositol (GPI) anchors on the cell surface. The absence of GPI-anchored complements regulators leads to complement-driven blood cell lysis. Hemolysis and chronic anemia are the most common clinical manifestations, while bone marrow failure is a rare but life-threatening complication. Thrombosis is the leading cause of mortality. Transfusion and supportive care have been introduced as symptomatic treatments since the early decades of the last century. Eculizumab, a monoclonal antibody that blocks terminal complement at C5, is a breakthrough medicine that changed the standard treatment methods of PNH. However, in cases where eculizumab is not accessible, allogeneic HSC transplantation could be an alternative strategy for refractory and aplastic patients. The Peking Union Medical College Hospital (PUMCH) is approaching its centennial anniversary in 2021. The first case of PNH in China was reported by physicians at PUMCH in the 1950s. During the past century, generations of hematologists established the largest cohort of PNH patients in China while continuously developing novel laboratory tests for this disease. They collaborated with investigators of basic science on the pathogenetic mechanisms of bone marrow failure and thrombosis. Although great historical changes have impacted academic progress, the spirit of perseverance, commitment, and innovation in older generations is passed on to the next generations. In this paper, we summarize the clinical evolution of PNH treatment along with basic science at PUMCH, which in turn facilitates great progress in PNH in the era of the 21st century in China.

paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Peking Union Medical College Hospital, centennial, hematology, heritage

doi: [10.1360/SSV-2021-0197](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2021-0197)