

· 论 著 ·

无血缘关系供者异基因外周血干细胞移植治疗急、慢性白血病 49 例^{*}张 曦, 陈幸华[△], 高 蕾, 孔佩艳, 刘 红, 彭贤贵, 张 诚, 高 力, 王 武, 孙爱华, 王庆余

(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

摘要:目的 观察无血缘关系供者外周血干细胞移植治疗急、慢性白血病的疗效。方法 自 2005 年 1 月至 2009 年 10 月本科行无血缘关系供者造血干细胞移植治疗急、慢性白血病患者 49 例, 供、受者之间人类白细胞抗原(HLA)配型全相合 43 例, HLA 1 个位点不合 6 例(其中, A 位点不合 2 例, B 位点不合 1 例, CW 位点不合 2 例, DQ 位点不合 1 例)。预处理方案环磷酰胺(CY)+全身放疗(TBI)方案 28 例、BU/CY 方案 21 例。采用环孢菌素 A(CSA)+骁悉+甲氨喋呤(MTX)+抗胸腺细胞球蛋白(ATG)预防性控制移植物抗宿主病。结果 移植后 10~23 d(中位时间 14.8 d)中性粒细胞大于 $0.5 \times 10^9/L$; 移植后 13~27 d(中位时间 18.6 d), 血小板大于 $20 \times 10^9/L$ 。14 例(HLA 1 个位点不合者 2 例)发生 II 度急性移植物抗宿主病(aGVHD), 予甲强龙治疗后控制, 28 例发生慢性移植物抗宿主病(cGVHD), 局限型 14 例, 广泛型 14 例; 无 1 例发生肝静脉闭塞病(VOD)及巨细胞病毒感染; 移植相关毒副作用方面 CY+TBI 方案与 BU/CY 方案差异无统计学意义; 随访 5~63 个月, 41 例患者无病生存, 8 例死于本病复发和移植并发症; 21 例慢性粒细胞白血病 bcr/abl 融合基因检测转阴。结论 无血缘关系供者外周血干细胞移植是一种有效的血液肿瘤治疗方法。

关键词: 外周血干细胞移植; 无血缘关系供者; 白血病; 移植物抗宿主病

中图分类号: R73.35

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)14-1834-02

Unrelated-donor peripheral blood stem cell transplantation for patients
with acute/chronic leukemia: an analysis of 49 cases^{*}

ZHANG Xi, CHEN Xing-hua[△], GAO Lei, et al.

(Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To observe the therapeutic effect of unrelated-donor peripheral blood stem cell transplantation (URD-PB-SCT) for acute/chronic leukemia. **Methods** 49 patients with acute/chronic leukemia received HLA completely matched/mismatched URD-PB-SCT following conditioning regimens with cyclophosphamide(Cy)/TBI in 28 cases or busulfan(Bu)/Cy in 21 cases and prophylactic preventing graft-versus-host disease(GVHD) with cyclosporine A(CsA)/methotrexate (MTX)/Mycophenolate mofetil (MMF)/ATG (Thymoglobuline) in 49 cases from January 2005 to October 2009. **Results** The median days for reaching of neutrophil $> 0.5 \times 10^9/L$ and platelet $> 20 \times 10^9/L$ were $+14.8$ (range $+10 \sim +23$) and $+18.6$ (range $+13 \sim +27$) respectively after transplantation. Grade II acute GVHD had happened in 14 patients and was controlled by prednisolone. Limited and extensive chronic GVHD had happened each in 28 cases. None developed VOD and CMV infection. Transplantation-related side effect was not different between two conditioning regimens. Follow-up period after transplantation was 5~63 months, 41 patients were disease free survival, 8 patients died of relapse. The fusion gene bcr/abl changed into negative in 21 cases of chronic granulocytic leukemia. **Conclusion** URD-PB-SCT is an effective approach for the treatment of hematological malignancies.

Key words: peripheral blood stem cell transplantation; unrelated-donor; leukemia; GVHD

异基因造血干细胞移植(allo-hematopoietic stem cell transplantaion, allo-HSCT)是目前治愈白血病的主要方法。由于中国单子女家庭比例逐渐增高, 非血缘关系供者异基因造血干细胞移植(unrelated hematopoietic stem cell transplantaion, URD-HSCT)已成为根治白血病的重要选择^[1]。本科自 2005 年 1 月至 2009 年 10 月开展非血缘异基因外周血干细胞移植(unrelated peripheral blood stem cell transplantaion, URD-PB-SCT)治疗急、慢性白血病 49 例, 现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 白血病患者 49 例, 男 29 例, 女 20 例, 年龄 17~52 岁, 中位年龄 30.5 岁。其中, 急性淋巴细胞白血病(ALL)19 例, 急性非淋巴细胞白血病 15 例, 急性混合细胞白血病 3 例, 慢性髓细胞白血病(CML)12 例。供、受者之间人类

白细胞抗原(HLA)配型全相合 43 例, HLA 1 个位点不合 6 例(其中, A 位点不合 2 例, B 位点不合 1 例, CW 位点不合 2 例, DQ 位点不合 1 例)。

1.2 移植前治疗 除 CML 患者外, 其他患者均在本病达到完全缓解后给予 3 个疗程的大剂量甲氨喋呤(MTX)或者 Ara-C 化疗。所有病例均经过总疗程 4~6 个疗程以上的化疗, 从获得完全缓解(CR)到移植的中位时间为 5.5 个月(3~9 个月)。

1.3 非血缘异基因干细胞供者的选择、动员和健康检查 由中华骨髓库安排进行。

1.4 外周血干细胞的动员与采集 所有供者均采用粒细胞集落刺激因子(G-CSF) $5 \mu g \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$, 皮下注射, 进行动员, 第 5 天采集供者外周血干细胞。采集标准, 获得有核细胞

^{*} 基金项目: 重庆市医学重点学科建设基金资助项目(2006C028)。

[△] 通讯作者, 电话: (023)68755609; E-mail: xhchen888@yahoo.com.

(MNC)数大于 $5 \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞多于 $2 \times 10^6/\text{kg}$ 。

1.5 预处理方案 ALL 和急性混合细胞白血病采用 CY/TBI 方案。环磷酰胺(CY)均为 $60 \text{ mg/kg} \times 2 \text{ d}$, 全身放疗(total body irradiation, TBI)照射剂量为 $9.0 \sim 9.5 \text{ Gy}$, 分 2 次。AML 和 CML 患者采用马法兰(BU)/CY 方案, BU $0.8 \text{ mg/kg q6 h} \times 4 \text{ d}$; CY 均为 $60 \text{ mg/kg} \times 2 \text{ d}$ 。

1.6 移植后造血功能重建的观察 移植后每 2 天 1 次定期复查血象, 择期行骨髓象、血型检测、性染色体检查、短串联重复序列(STR)检测作为造血功能重建指标。

1.7 移植后主要并发症的防治

1.7.1 移植植物抗宿主病(GVHD)

1.7.1.1 急性 GVHD(aGVHD) 诊断见文献[2]。采用环孢菌素 A(CsA) + 骁悉(MMF) + MTX + 抗胸腺细胞球蛋白(ATG)方案预防。(1)CsA: $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 移植后 1 d 起静脉滴注(检测 CsA 血药浓度 2 次/周, 胃肠道能适应时改为口服 CsA $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 维持 CsA 血药浓度在 $200 \sim 300 \text{ ng/mL}$); (2)MMF: 1 g/d , 口服(移植当天开始, 根据血象调整剂量, 可减为 0.5 g/d 维持至移植后 90 d); (3)MTX: 移植后 1 d MTX 15 mg/m^2 , 静脉滴注; 移植后 3、6 d MTX 10 mg/m^2 , 静脉滴注; (4)ATG $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 移植前 1~3 d 用。出现 aGVHD, 给予甲强龙 2 mg/kg 冲击, 然后逐渐减量, 换为同等剂量的泼尼松口服, 逐渐减停。

1.7.1.2 慢性 GVHD(cGVHD) 诊断见文献[2], 采用环孢菌素 + 泼尼松联合治疗。对难治复发性 cGVHD 采用 MMF + 环孢菌素 + 泼尼松联合治疗。

1.7.2 肝静脉闭塞病(VOD) 低分子肝素钙 $0.3 \sim 0.4 \text{ mL}$ 皮下注射, 12 h 1 次; 脂质微球(PGE₁) $40 \mu\text{g/d}$, 静脉滴注, 至移植后 45 d, 血小板未明显降低前输注低分子右旋糖苷和复方丹参注射液。

1.7.3 感染 pp65 抗原、巨细胞病毒(CMV)-DNA 检测每周 1 次。预防 CMV 感染措施: 更昔洛韦 + 丙种球蛋白。(1)丙种球蛋白: 400 mg/kg , 静脉滴注, 每周 1 次(移植前 7 d 至移植后 100 d)。(2)更昔洛韦 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 静脉滴注, 至移植后 100 d, 根据血象调整用量; 患者体温超过 38.5°C 经验性使用广谱抗生素, 同时积极寻找病原菌。

1.7.4 其他移植并发症的处理 患者移植期间均常规使用还原谷胱甘肽、维生素 K₁、肌苷等药物行保肝治疗; 并应用格拉司琼注射液镇吐, 高舒达注射液制酸, 苯妥英钠预防白舒非所致的癫痫不良反应; 血小板小于 $20 \times 10^9/\text{L}$ 时输注新鲜血小板 200 mL ; 血红蛋白小于 70 g/L 输注浓缩红细胞 400 mL 。

2 结 果

2.1 供者干细胞采集 单个核细胞数(MNC)为 $6.2(4.6 \sim 11.2) \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞为 $4.8(2.1 \sim 26.5) \times 10^6/\text{kg}$ 。

2.2 血象、骨髓象 移植后 10~23 d(中位时间移植后 14.8 d)中性粒细胞大于 $0.5 \times 10^9/\text{L}$; 移植后 13~27 d(中位时间移植后 18.6 d), 血小板大于 $20 \times 10^9/\text{L}$ 。出仓时间移植后 27~56 d(中位时间移植后 36.8 d), 移植后 30 d 复查骨髓象均提示增生活跃—明显活跃, 移植后 60 d CML 患者骨髓 bcr/abl 融合基因检测均为阴性。

2.3 血型 25 例患者供、受者间血型不同, 其中 7 例主侧不合, 13 例次侧不合, 5 例主、次侧均不合移植。血型均完全转变, 时间为移植后 35~150 d(中位时间移植后 76 d)。无 1 例出现延迟性溶血反应及纯红细胞再障。

2.4 移植后并发症的观察及处理

2.4.1 GVHD 14(28.6%)例患者于移植后发生 II 度 aGVHD 给予甲强龙冲击治疗后控制; 28 例(57.1%)发生 cGVHD, 其中局限型 18 例, 广泛型 10 例; 2 例患者于移植后 190 d 出现咳嗽、逐渐加重的呼吸困难, 先后经过抗细菌、真菌、CMV 病毒、结核、卡氏肺囊虫治疗无效, 呼吸困难加重伴右侧气胸(压缩 90%), 靠呼吸机维持, 用甲强龙冲击 + MMF 治疗, 病情有效控制, 呼吸困难完全缓解出院, 诊断为 cGVHD 肺损伤(阻塞性肺炎)。

2.4.2 感染 移植早期发生细菌感染 31 例(63.3%), 经抗生素治疗控制, 口腔念珠菌感染 7 例(14.3%), 无 1 例巨细胞病毒感染; 移植中晚期发生急性阑尾炎 1 例, 肺部侵袭性真菌感染 5 例(10.2%), 口腔念珠菌 5 例(10.2%), 带状疱疹 11 例(22.4%), 4 例(8.2%)巨细胞病毒感染。

2.4.3 VOD 无 1 例发生 VOD。

2.4.4 其他并发症 肝功能轻-中度损伤 10 例(20.4%), 其中 3 例为 GVHD 表现, 经过保肝、抗 GVHD 治疗后缓解; 2 例患者(4.1%)输注 ATG 时出现低血压, 经降低用量和减慢滴速缓解, 12 例出现寒颤、高热(24.5%); 移植相关毒副作用方面 CY + TBI 方案与 BU/CY 方案差异无统计学意义。

2.5 随访 随访时间为 5~63 个月, 41 例(83.7%)患者无病存活, 骨髓完全缓解, 8 例死于本病复发和移植并发症; 21 例慢性粒细胞白血病 bcr/abl 融合基因检测转阴。

3 讨 论

allo-HSCT 是目前治愈白血病的可靠手段。在白血病患者中, 亲缘间 HLA 配型全相合概率(25%)远远高于非亲缘间供者(约 1/10 万)。但是由于中国单子女家庭比例增高, 亲缘间 HLA 配型全相合供者相对较少^[1]。因此, URD-HSCT 已成为根治白血病供体来源的重要选择。国际骨髓移植登记处(IBMTR)最新统计资料显示, 由于获得无关供者机会的增加和治疗效果的改善(逐步接近亲缘供者), URD-HSCT 在 allo-HSCT 比例逐年提高, 在 20 岁以下患者, 已占全部 allo-HSCT 的约 50%^[3]。近年来, 中国造血干细胞捐献者资料库日益壮大, 登记人数已达到 80 万人, 使得寻找配型相合供者成为可能。由于缺乏血缘关系, URD-HSCT 技术的难度和风险均较大, 该技术的开展与否已成为衡量医院综合水平的重要标志。

IBMTR 将 100 d 内的死亡率作为评价移植相关毒性的标准, 其主要原因为 GVHD、感染和多器官衰竭。并发症的预防直接关系到移植成败。GVHD 是 allo-HSCT 的主要并发症和造成死亡的最重要原因。100 d 以内发生的为 aGVHD, 100 d 以后发生的为 cGVHD。aGVHD 主要临床表现为皮肤、肠道和肝脏损害, 目前仍采用 Thomas 等提出分度法, 分为 I~IV 度。cGVHD 临床上可表现为两类: 局限性[只累及皮肤和(或)肝脏]; 另一种为广泛性(多器官受累)。在非亲缘 HSCT 中, II~IV 度 aGVHD 发生率为 32%~78%, 其中 III~IV 度(重度)aGVHD 的发生率为 28%~50%^[4], 后者死亡率在 50%以上。本研究设计采用了在预处理方案中加 ATG 及联合使用 CsA + MTX + MMF 的预防方案, 患者 aGVHD 的发生率仅为 28.6%, 且均为 II 度以下, 甲强龙冲击后能有效控制, 显示此预防方案的有效性; 感染 CMV 是 allo-HSCT 后, 特别是造血植入后最常见的病毒感染, 也是移植患者死亡的主要原因之一。临床上可表现为 CMV 肺炎和 CMV 肠炎。因 CMV 感染导致的间质性肺炎死亡率高达 80%以(下转第 1838 页)

用。对上调 GJIC 功能逆转白血病骨髓对白血病细胞的保护效应的相关机制目前还不清楚,作者推测恢复白血病 BMSCs 之间 GJIC 功能,促进了 BMSCs 之间的物质交换和电信号传递,使参与调控 BMSCs 新陈代谢、内环境稳定、增殖和分化等生理过程的小分子信使(如 cAMP、ATP、Ca²⁺ 等)传递增加,并同时增加了白血病 BMSCs 于白血病细胞之间的信号传递。该信号可能作为一种启动因素,通过作用与白血病细胞相关耐药基因如 p53、bcl-2 和 bax 等的上游调控蛋白,增强或抑制上述耐药基因的表达,从而进一步影响白血病细胞的化疗敏感性。

总之,本研究结果说明 GJIC 是白血病 BMSCs 对定植于其中的白血病细胞药物敏感性发挥调节作用的影响因素之一,重建白血病骨髓基质 GJIC 功能逆转了白血病骨髓对白血病细胞的屏蔽作用,增强化疗药物的杀伤效应,从而更有利于白血病的临床药物治疗。

参考文献:

- [1] Mark B, Meads LA, Hazlehurst WS, et al. The bone marrow microenvironment as a tumor sanctuary and contributor to drug resistance[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9): 2519.
- [2] Dobrowolski R, Willecke K. Connexin-caused genetic diseases and corresponding mouse models[J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(2): 283.
- [3] Hampson L, He XT, Oliver AW, et al. Analogues of Y27632 increase gap junction communication and suppress the formation of transformed HIH3T3 colonies[J]. Br J Cancer, 2009,

101(5):829.

- [4] 刘耀,张曦,司英健,等. 急性白血病骨髓基质细胞 Connexin43 的表达及细胞间通讯功能研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(4): 679.
- [5] 司英健,张曦,陈幸华,等. Cx43 和 GFP 双基因共表达重组腺病毒载体的构建和鉴定[J]. 重庆医学, 2007, 36(10): 927.
- [6] Liu Y, Zhang X, Li ZJ, et al. Up-regulation of Cx43 expression and GJIC function in acute leukemia bone marrow stromal cells post-chemotherapy[J]. Leuk Res, 2010, 34: 631.
- [7] Paraguassu-Braga FH, Borojevic R, Bouzas LF, et al. Bone marrow stroma inhibits proliferation and apoptosis in leukemic cells through gap junction-mediated cell communication[J]. Cell Death and Differentiation, 2003, 10: 1101.
- [8] Spengeman JD, Green TD, McCubrey JA, et al. Activated EGFR promotes the survival of B-lineage acute leukemia in the absence of stromal cells[J]. Cell Cycle, 2005, 4(3): 322.
- [9] 李忠俊,滕本秀,陈幸华,等. 白血病骨髓基质细胞对白血病细胞屏蔽效应的体外实验研究[J]. 癌症, 2005, 24(6): 672.
- [10] Sato H, Iwata H, Takano Y, et al. Enhanced effect of connexin 43 on cisplatin-induced cytotoxicity in mesothelioma cells[J]. J Pharmacol Sci, 2009, 110(4): 466.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-06-12)

(上接第 1835 页)

上^[5]。因此,早期监测 CMV 感染和采取积极有效的预防措施非常重要。包括更昔洛韦+丙种球蛋白输注,并定期(每周 1 次)进行 TORCH、CMVpp65、CMV-DNA 等病原学检查,4 例患者出现 CMV 感染;有研究报道 VOD 的发生率为 4%~43%^[6],是导致移植早期死亡的主要并发症之一。低分子肝素钙 0.3~0.4 mL 皮下注射,12 h 1 次;PGE₁: 40 μg/d,静脉滴注,至移植后 45 d 进行预防收到良好效果,保障了移植过程的安全性。

就移植远期疗效而言,目前患者正在进一步随访中,41 例(83.7%)患者无病存活,8 例死于本病复发和移植并发症;孟凡义^[7]报道慢性粒细胞白血病患者远期疗效较理想,5 年生存率可达 60%~80%。本文 21 例患者的融合基因检测持续阴性,最长时间已 60 个月,预计预后良好。由此可见,URD-HSCT 是急、慢性白血病治疗的有效手段,对于目前 HLA 同胞间全相合供者日益减少的情况是有益的补充。由于开展非亲缘间异基因造血干细胞时间较短,对于白血病的治疗尚需进一步积累病例数,延长临床观察时间,总结经验,使更多的患者受益。

参考文献:

- [1] 陈幸华,刘林,孔配艳,等. 非血缘异基因外周血干细胞移

植治疗慢性粒细胞白血病的临床研究[J]. 重庆医学, 2005, 34(9): 1283.

- [2] 陈幸华,孔配艳. 血液肿瘤的生物治疗[M]. 汕头: 汕头大学出版社, 2005: 218.
- [3] Dini G, Cancedda R, Locatelli F, et al. Unrelated donor marrow transplantation: an update of the experience of the Italian Bone Marrow Group (GITMO)[J]. Haematologica, 2001, 86(5): 451.
- [4] Carreras E, Tomas JF, Sanz G, et al. Unrelated donor bone marrow transplantation as treatment for chronic myeloid leukemia: the Spanish experience [J]. Haematologica, 2000, 85(5): 530.
- [5] 黄晓军,许兰平,任汉云,等. 异基因造血干细胞移植后巨细胞病毒感染及其危险因素分析[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(9): 766.
- [6] 海涛,黄河,林茂芳,等. 低剂量肝素联合前列腺素 E₁ 脂质微球预防和治疗非亲缘异基因骨髓移植后肝静脉阻塞病[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(8): 444.
- [7] 孟凡义. 异基因造血干细胞移植治疗慢性粒细胞白血病的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2003, 28(11): 1052.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-06-12)