

· 论 著 ·

异基因造血干细胞移植后肠道急性移植物抗宿主病 24 例临床分析*

文 钦, 张 诚[#], 陈幸华, 高 力, 高 蕾, 孔佩艳, 张 曦[△]

(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

摘要:目的 观察异基因造血干细胞移植术后肠道急性移植物抗宿主病(aGVHD)的临床特征、治疗及转归。方法 24 例患者中 7 例接受同胞间白细胞抗原(HLA)全相合造血干细胞移植、17 例接受 HLA 半相合造血干细胞移植, 预处理方案依据具体情况选择 FBA(氟达拉滨、白消安、阿糖胞苷)、Bu/Cy(白消安/环磷酰胺)、CCNU+Bu+CTX(环磷酰胺)+Ara-c(阿糖胞苷)+ATG、IFBA(伊达比星、氟达拉滨、白消安、阿糖胞苷)+ATG 方案, 采用环孢素 A(CsA)联合短疗程甲氨蝶呤(MTX)及吗替麦考芬芬酯(MMF)预防 GVHD。结果 24 例患者发生肠道 aGVHD 的中位时间为移植后 24 d, III 度 aGVHD 2 例, IV 度 aGVHD 22 例; 经治疗, 15 例患者症状缓解, 9 例疗效欠佳。结论 肠道 aGVHD 临床症状重, 预后差, 需早期诊断及治疗。

关键词:造血干细胞移植; 移植物抗宿主病; 肠

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.30.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)30-3034-03

Clinical analysis of 24 patients with intestinal graft-versus-host disease after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation*

Wen Qin, Zhang Cheng[#], Chen Xinghua, Gao Li, Gao Lei, Kong Peiyan, Zhang Xi[△]

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

Abstract: Objective To investigate the feature, treatment and outcome of severe intestinal acute graft-versus-host disease (aGVHD) after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation (Allo-HSCT). **Methods** Seven patients received PBSCT from their HLA matched haploidentical siblings and seventeen patients received PBSCT/BMT from their HLA mismatched unrelated donors or haploidentical siblings or other relative. Twenty-four patients were pre-conditioned by different regimen which was determined on a case-by-case basis. The prevention of acute graft-versus-host disease (aGVHD) included cyclosporin A (CsA), mycophenolate mofetil (MMF), and short course of methotrexate (MTX). **Results** Twenty-four patients developed intestinal aGVHD including two cases with grade III and twenty-two cases with grade IV, and the mean time of aGVHD development was 24 days after Allo-HSCT. The symptoms of fifteen patients were relieved while that of nine patients unrelieved after treatment. **Conclusion** Patients with intestinal aGVHD have serious symptoms and poor prognosis. The early diagnose and treatment are necessary for intestinal aGVHD after transplantation.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation; graft vs host disease; intestines

异基因造血干细胞移植是治疗恶性血液病、再生障碍性贫血及实体肿瘤的有效手段, 急性移植物抗宿主病(aGVHD)是影响其预后的主要并发症之一。aGVHD 主要累及皮肤、肝脏、肠道。其中肠道 aGVHD 发病率高, 临床症状重, 对患者全身状况影响大, 尤其是重度肠道 aGVHD, 治疗难度较大, 常难以逆转, 严重影响移植患者的生存率及生存质量。因此, 肠道 aGVHD 的早期发现及有效治疗直接关系到疾病的预后, 成为临床医生日益关注的重点。作者对 24 例并发肠道 aGVHD 的异基因移植患者进行了总结分析, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 24 例患者中女 9 例, 男 15 例, 中位年龄 30 岁。急性髓细胞白血病 12 例, 移植前均完全缓解, 其中 M2 型 6 例、M4 型 3 例、M5 型 3 例; 急性淋巴细胞白血病 3 例, 移植前均完全缓解; 慢性粒细胞白血病 8 例, 移植前均处于慢性期; 淋巴瘤细胞白血病 1 例, 移植前为部分缓解。同胞间白细胞抗原(HLA)全相合 7 例, HLA 单倍型相合 13 例(同胞间 HLA3/6 相合 2 例, 同胞间 HLA4/6 相合 4 例, 同胞间 HLA5/6 相合 4 例, 父/母供子 HLA3/6 相合 2 例, 叔供侄 HLA5/6 相合 1 例), 非血缘关系 1 个 HLA 位点不合(均为 A 位点不合)4 例。24 例供者女 14 例, 男 10 例, 年龄 13~56 岁, 中位年龄 35 岁。

1.2 预处理方案 HLA 全相合患者中急性髓细胞白血病患者采用 FBA 方案(氟达拉滨 8 mg/kg 用 5 d, 白消安 0.8 mg/

kg 6 h 1 次用 3 d, 阿糖胞苷 1.5 g/m² 用 5 d); 慢性髓细胞白血病患者采用 Bu/Cy 方案(白消安 0.8 mg/kg 6 h 1 次用 4 d; 环磷酰胺 60 mg/kg 用 2 d)。HLA 半相合患者采用 CCNU+Bu+CTX+Ara-c+ATG 方案(CCNU 200 mg/m² 用 1 d; 白消安 0.8 mg/kg 6 h 1 次用 3 d; 阿糖胞苷 2 g/m² 12 h 1 次用 2 d; 环磷酰胺 1.8 g/m² 用 2 d; ATG 5 mg/kg 用 4 d), 其中 2 例患者为同胞间 HLA5/6 相合(A 位点不合), 采用 IFBA+ATG 方案(伊达比星 10 mg/d 用 2 d; 氟达拉滨 8 mg/kg 用 5 d; 白消安 0.8 mg/kg 6 h 1 次用 3 d; 阿糖胞苷 1.5 g/m² 用 5 d; ATG 5 mg/kg 用 4 d)。

1.3 干细胞动员及采集 同胞间 HLA 全相合健康供者及亲缘间 HLA 半相合患者均予以重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)5~10 μg·kg⁻¹·d⁻¹ 用 4~5 d 动员外周血干细胞, 当单个核细胞(MNC)>5×10⁹/L 时开始采集外周血干细胞。血细胞分离机为 Baxter CS3000plus, 循环血量为 2~3 倍体循环量, 采集 1~2 次。亲缘间 HLA 半相合患者于采集外周血干细胞次日在手术室行骨髓采集术, 骨髓采集量依据患者体质量、外周血 MNC 水平及 CD34⁺ 细胞数确定。采集外周血干细胞 MNC 中位数 11.3×10⁸/kg[(4.0~33.4)×10⁸/kg], CD34⁺ 细胞中位数 7.9×10⁶/kg[(1.4~21.0)×10⁶/kg]。采集骨髓干细胞 MNC 中位数 8.4×10⁸/kg[(6.2~20.0)×10⁸/kg], CD34⁺ 细胞中位数 8.9×10⁶/kg[(1.4~23.0)×10⁶/kg]。

* 基金项目: 重庆医学重点学科基金资助(2006C028); 第三军医大学新桥医院 1520 人才基金资助(2006)。 △ 通讯作者, E-mail: zhan-gxxi@sina.com.cn。 # 共同第一作者。

1.4 aGVHD的预防及诊断标准 采用环孢素 A(CsA)联合短疗程甲氨蝶呤(MTX)及吗替表考芬酯(MMF)预防 aGVHD。亲缘间 HLA 全相合患者 CsA 于移植前 1 d 开始使用,剂量为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 持续 24 h,至患者造血重建、胃肠道功能恢复、耐受口服后更换为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 口服药物治疗,若患者至移植后 90 d 未发生 aGVHD,可逐渐将 CsA 减量。HLA 半相合患者 CsA 于移植前 7 d 开始使用,剂量为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 持续 24 h,至移植前 1 d 开始将剂量增至 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,胃肠道功能恢复后换为口服,若患者未发生 aGVHD,于移植后 150 d 开始逐渐减量。CsA 浓度维持在 $200 \sim 400 \text{ ng/mL}$ 。亲缘间 HLA 全相合患者于移植后第 1、3、6 天静脉滴注 MTX,第 1 天剂量为 15 mg/m^2 ,第 3、6 天剂量为 10 mg/m^2 。HLA 半相合及非血缘关系全相合患者于移植后第 1、3、6、11 天静脉滴注 MTX,第 1 天剂量为 15 mg/m^2 ,第 3、6、11 天剂量为 10 mg/m^2 。亲缘间 HLA 全相合患者 MMF 于移植 01 天开始使用,若患者至移植后 30 d 未发生 aGVHD,可逐渐减停。HLA 半相合及非血缘关系全相合患者于移植前 7 d 开始使用 MMF,若患者至移植后 90 d 未发生 aGVHD,可逐渐减停。参照 Fred Hutchinson 标准进行 aGVHD 分级及总分度^[1]。

1.5 感染的预防及支持治疗 患者于入层流病房前 1 周开始口服肠道净化药物(氟康唑、复方磺胺甲噁唑、诺氟沙星,小儿将诺氟沙星换为阿莫西林),予以 $1:2000$ 醋酸洗必泰药浴后入层流病房。巨细胞病毒感染的预防:移植前供、受者均行巨细胞病毒相关检查,若巨细胞病毒 IgM 阳性或巨细胞病毒 DNA 拷贝数增高,予以膦甲酸钠抗病毒治疗至转阴。于干细胞回输前用膦甲酸钠,移植前 1 d 改为阿昔洛韦,同时每周输注丙种球蛋白 0.4 g/kg 预防病毒感染。移植后每周监测巨细胞病毒 DNA,一旦阳性即输注膦甲酸钠、丙种球蛋白,在用药过程中监测人巨细胞病毒 DNA 变化情况。大剂量使用 CTX 后予以美司钠预防出血性膀胱炎。血红蛋白小于 60 g/L 或贫血症状较重时输注红细胞悬液;血小板小于 $20 \times 10^9/L$ 或有活动性出血时输注血小板。

2 结 果

2.1 临床表现 24 例患者发生肠道 aGVHD 的时间中位数为移植后 24 d($18 \sim 60 \text{ d}$);2 例为 III 度 aGVHD,22 例为 IV 度 aGVHD;16 例于皮疹后出现腹泻症状并逐渐加重。24 例患者均有不同程度腹痛、恶心、呕吐症状。4 例患者合并肝脏功能损害。16 例患者于治疗过程中出现巨细胞病毒病原学感染的证据。6 例患者于腹泻发生过程中行大便培养,均检出病原菌(4 例为细菌,2 例为白色念珠菌)。8 例患者于病程中出现消化道出血症状。24 例患者均出现不同程度的血清总蛋白及清蛋白降低,出现不同程度的水肿,严重者出现多浆膜腔大量积液。24 例患者中有 8 例因临床症状较重未能行结肠镜检查,其余 16 例患者结肠镜检查表现为全结肠黏膜弥漫性充血和糜烂,3 例可见浅表溃疡,钳取组织送病理学检查见隐窝上皮细胞坏死脱落,肠道黏膜上皮及固有层淋巴细胞浸润。

2.2 治疗及预后 24 例患者中有 2 例患者系按计划停用吗替表考芬酯后出现 aGVHD,加用吗替表考芬酯、甲基泼尼松龙 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 冲击治疗,其余 22 例患者均予以甲基泼尼松龙 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 冲击治疗。24 例患者均在甲基泼尼松龙冲击治疗的同时口服布地奈德。其中 4 例患者经上述治疗后病情逐渐控制,余 20 例患者症状无明显缓解,将 CsA 换为他克莫司静脉输注,加用短疗程 MTX(10 mg/m^2 ,第 1 天和第 3 天)治疗,同时予以 CD25 单抗输注并将甲基泼尼松龙逐渐减量。20 例患者中 5 例患者症状逐渐控制,余 15 例患者疗效差:4 例患者放弃治疗,自动出院;3 例患者死亡;2 例患者

继续加用 ATG 治疗,经 ATG 治疗过程中均出现发热、重度感染,1 例死亡,1 例症状缓解;6 例患者加用人脐带间充质干细胞(MSCs)($3 \times 10^7/\text{次}$)输注,3 例患者输注 1 次后症状逐渐好转,另 2 例输注 2 次后症状逐渐缓解,1 例患者疗效不佳,加用 ATG 治疗,仍无效死亡,6 例患者在输注 MSCs 后未出现发热、感染。24 例患者在治疗过程中均予以静脉预防性抗真菌治疗,腹泻量大时予以禁食、静脉营养支持、生长抑素抑制消化道腺体分泌、制酸、保护胃肠黏膜、保肝、补充清蛋白、定期输注静脉免疫球蛋白等对症支持治疗。每周监测 1 次他克莫司浓度及巨细胞病毒-DNA,维持他克莫司浓度在 $10 \sim 15 \text{ ng/mL}$,若合并巨细胞病毒感染,予以膦甲酸钠、静脉免疫球蛋白治疗。

3 讨 论

aGVHD 是异基因造血干细胞移植术后最严重的并发症之一,是导致移植失败及死亡的主要原因之一。肠道是继皮肤、肝脏后 aGVHD 最易累及的器官,肠道 aGVHD 多数于皮肤 aGVHD 发病后数周内出现,也可在无皮肤和肝脏受累时单独出现。肠道 aGVHD 临床症状较重,对全身状况影响大,且胃肠道在放大全身 aGVHD 中起着重要作用,故及早诊断及治疗肠道 GVHD 可明显改善 GVHD 的预后,提高患者的生存率及生活质量^[2]。肠道 GVHD 临床表现缺乏特异性,常表现为纳差、腹痛(为痉挛性疼痛)、恶心、呕吐、腹泻,解黄绿色水样便,严重者可出现肠梗阻、消化道大出血。需与预处理所致胃肠道反应及肠道感染相鉴别,故早期诊断除依据临床表现外,还需结合大便常规、大便细菌培养、大便真菌检查及巨细胞病毒 DNA、结肠镜等辅助检查。结肠镜检查及组织病理学检查是诊断肠道 aGVHD 的金标准^[3],肠镜下结肠黏膜表现为弥漫性、连续性的水肿、充血和糜烂,可有浅表溃疡形成;组织学检查可见特征性的隐窝上皮细胞凋亡、缺失和淋巴细胞浸润^[4-5]。故结肠镜检查对于早期诊断肠道 GVHD 有着重要意义。本研究中 16 例患者在行结肠镜及组织活检后明确诊断,但仍有部分病例由于各种原因未能行结肠镜检查,该类病例诊断主要依据其临床表现及其他相关检查确定。对于腹泻合并皮疹或肝功能损害患者需首先考虑肠道 GVHD,对于腹泻抗感染治疗效果不佳患者也应尽早考虑有肠道 GVHD 可能,以便早期治疗。

肠道 GVHD 治疗目前仍以糖皮质激素、CsA、MMF、他克莫司、CD25 单抗等免疫抑制剂为主,部分患者可取得较好疗效。本研究中,24 例患者经上述药物治疗仅 10 例有效(41.7%),但由于大剂量免疫抑制剂的长期使用,增加了患者罹患感染的风险,尤其是真菌及病毒感染。本研究中的 24 例患者中有 16 例(66.7%)患者于治疗过程中出现巨细胞病毒感染,明显超过了未出现 GVHD 或仅出现 I 度 GVHD 患者的巨细胞病毒感染率(42.1%)^[6]。而在予以真菌预防治疗后,24 例中仅有 2 例出现白色念珠菌感染,提示本研究的治疗方案可有效预防真菌感染。本研究中有 3 例患者应用 ATG,其中 2 例出现重症感染,增加了治疗难度及治疗费用。故在治疗 aGVHD 时应首选特异性强、并发感染几率相对较小的药物,在证实其他免疫抑制剂无效后,再选用 ATG。

MSCs 是一种具有自我更新和多向分化能力的干细胞,具有免疫抑制作用^[7-9]。体外培养的 MSCs 通过静脉注射输入人体内,既能促进造血干细胞的植活,又能降低严重的 aGVHD 的发生率^[10-11]。人脐血中也存在大量 MSCs。与骨髓来源 MSCs 相比,脐血来源 MSCs 具有以下优点:(1)来源广泛,取材方便,供者无痛苦;(2)相对洁净,受污染的可能较小;(3)含量丰富,不受年龄影响,增殖、分化能力强,生物性能稳定,能为临床提供充足的细胞来源^[12-13];(4)不表达 MHC II 类分子,低表达 MHC I 类分子,不表达或低表达共刺激因子,免疫原性

更低^[14-15]。脐血来源 MSCs 所具有的生物学特性使其成为治疗 aGVHD 的一种新途径。本研究中有 6 例患者在免疫抑制剂治疗效果不佳情况下加用了脐血来源 MSCs, 有 5 例取得了较好的疗效, 且 6 例患者均未出现重症感染, 提示脐血来源 MSCs 和免疫抑制剂的联合应用可成为治疗重度肠道 aGVHD 的优先选择。但由于缺乏足够数量的病例及随机对照研究, 其总体疗效、安全性以及使用方法均需进一步研究证实及明确。

aGVHD 是移植后常见并发症之一, 病死率高。随着对其机制研究的深入, 各种新型药物及新治疗方法不断问世和成熟, aGVHD 的治疗将会取得越来越好的疗效, 有利于异基因造血干细胞移植患者实现长期生存。

参考文献:

- [1] Ross WA, Couriel D. Colonic graft-versus-host disease [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2005, 21(1): 64-69.
- [2] Thompson B, Salzman D, Steinhauer J, et al. Prospective endoscopic evaluation for gastrointestinal graft-versus-host disease; determination of the best diagnostic approach [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 38(5): 371-376.
- [3] Cruz-Correa M, Poonawala A, Abraham SC, et al. Endoscopic findings predict the histologic diagnosis in gastrointestinal graft-versus-host disease [J]. *Endoscopy*, 2002, 34(10): 808-813.
- [4] Washington K, Bentley RC, Green A, et al. Gastric graft-versus-host disease: a blinded histologic study [J]. *Am J Surg Pathol*, 1997, 21(9): 1037-1046.
- [5] Watanabe N, Okazaki K, Yazumi S, et al. Acute graft-versus-host disease in the small intestine [J]. *Gastrointest Endosc*, 2002, 55(6): 716-722.
- [6] Meyers JD, Flournoy N, Thomas ED. Risk Factors for cytomegalovirus infection after human bone marrow transplantation [J]. *J Infect Dis*, 1986, 153(3): 478-488.
- [7] Rasmusson I. Immune modulation by mesenchymal stem

cells [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(12): 2169-2179.

- [8] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(10): 2566-2573.
- [9] Djouad F, Plence P, Bony C, et al. Immunosuppressive defect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals [J]. *Blood*, 2003, 25(10): 102-110.
- [10] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells [J]. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439-1441.
- [11] Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses [J]. *Exp Hematol*, 2000, 33(28): 875-884.
- [12] Ma L, Feng XY, Cui BL, et al. Human umbilical cord Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cells differentiation into nerve-like cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2005, 118(23): 1987-1993.
- [13] Wang HS, Hung SC, Peng ST, et al. Mesenchymal stem cells in the Wharton's Jelly of the human umbilical cord [J]. *Stem Cells*, 2004, 22(7): 1330-1337.
- [14] Lu LL, Liu YJ, Yang SG, et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis supportive function and other potentials [J]. *Haematologica*, 2006, 91(8): 1017-1026.
- [15] La Rocca G, Anzalone R, Corrao S, et al. Isolation and characterization of Oct-4⁺/HLA-G⁺ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix; differentiation potential and detection of new markers [J]. *Histochem Cell Biol*, 2009, 131(2): 267-282.

(收稿日期: 2011-04-17 修回日期: 2011-05-25)

(上接第 3033 页)

- [8] Liu YC, Chang CS, Liu TC, et al. Comparisons between allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and allogeneic bone marrow transplantation in adult hematologic disease: a single center experience [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2003, 19(11): 541-545.
- [9] Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia [J]. *Blood*, 2007, 110(4): 1397-1400.
- [10] Cutler C, Giri S, Jeyapalan S, et al. Acute and chronic Graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood Stem-cell and bone marrow transplantation: a metaanalysis [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(6): 3685-3687.
- [11] Fang B, Song Y, Lin Q, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells as salvage therapy for treatment of severe refractory acute graft-versus-host disease in two children [J]. *Pediatr Transplant*, 2007, 11(7): 814-816.
- [12] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchy-

mal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(5): 389-392.

- [13] Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells [J]. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439-1441.
- [14] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(5): 389-398.
- [15] Koc ON, Gerson SL, Cooper BM. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 18(2): 307-312.
- [16] 宋希章, 何炜, 韩俊领, 等. 人脐带间充质干细胞的生物学特性及其在血液系统疾病中的应用 [J]. *医学综述*, 2009, 15(2): 166-169.

(收稿日期: 2011-04-17 修回日期: 2011-05-25)