

· 临床研究 ·

改良 BU/CY 预处理方案行同胞相合异基因外周造血干细胞移植 治疗骨髓增生异常综合征*

张 颢¹, 陶艳玲¹, 王志国¹, 陈 波¹, 杨在亮², 邱 林¹, 展昭民¹, 张伯龙¹, 马 军^{1△}

(1. 黑龙江省哈尔滨市第一医院/哈尔滨血液病肿瘤研究所 150010; 2. 第三军医大学大坪
医院野战外科研究所/创伤烧伤复合伤国家重点实验室, 重庆 400042)

摘要:目的 探讨改良 BU/CY 预处理方案行同胞相合异基因外周造血干细胞移植(allo-PBSCT)治疗骨髓增生异常综合征(MDS)的疗效。方法 收集 2009 年 1 月至 2010 年 12 月, 哈尔滨血液病肿瘤研究所 5 例 MDS 进行 allo-PBSCT 患者。预处理方案为改良 BU/CY; 预防移植物抗宿主病(GVHD)采用环孢素 A/甲氨蝶呤/吗替麦考酚酯(CSA/MTX/MMF)。结果 5 例患者均获得移植, 中性粒细胞(ANC)≥0.5×10⁹/L 的中位时间移植后 12.4 d(9~14 d), 血小板(PLT)≥20×10⁹/L 中位时间移植后 13.25 d(10~23 d), 2 例出现Ⅱ度急性移植物抗宿主病(aGVHD), 2 例出现局限型慢性移植物抗宿主病(cGVHD), 3 例发生Ⅱ度口腔溃疡, 发热 4 例, 其中 1 例败血症, 1 例合并肺部感染; 2 例发生巨细胞病毒(CMV)血症, 出血性膀胱炎(HC)2 例, 1 例出现纯红再生性障碍性贫血; 中位随访时间 12.8 个月(8~22 个月), 1 例骨髓增生异常综合征-环形铁粒幼性难治性贫血(MDS-RAS)移植后 7 个月复发后合并肺部感染死亡, 无病存活 4 例。结论 改良 BU/CY 方案用于 MDS 移植预处理疗效较好, 不良反应可以耐受, 安全性好。

关键词:骨髓增生异常综合征; HLA 相合同胞; 异基因外周造血干细胞移植; 改良 UB/CY

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.35.004

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)35-3697-02

Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from HLA identical sibling donor in the treatment of patients with myelodysplastic syndrome with modified BU/CY condition regimen*

Zhang Hao¹, Tao Yanling¹, Wang Zhiguo¹, Chen Bo¹, Yang Zailiang², Qiu Lin¹, Zhan Zhaoming¹, Zhang Bolong¹, Ma Jun^{1△}

(1. Harbin Institute of Hematology and Oncology, First Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang 150010, China;
2. State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Research Institute of field Surgery, Daping Hospital,
Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To assess the clinical efficacy and complications of HLA identical sibling allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome with modified BU/CY condition regimen. **Methods** From January 2009 to December 2010, 5 patients with myelodysplastic syndrome received HLA identical sibling allo PBSCT in our hospital. Conditioning regimen was modified busulphan cyclophosphamide. Mycophenolate mofetil (MMF) in combination with cyclosporine (CSA) and methotrexate was used to prevent Graft versus host disease(GVHD). **Results** Hematopoietic reconstitution was observed in all patients. The time to form transplantation to neutrophil count ≥0.5×10⁹/L and platelet ≥20×10⁹/L were 12.4 d(range:9-14) and 13.25 d(range:10-23) after transplantation respectively. There were 2 cases of aGVHD(Ⅱ), 2 cases of limited cGVHD, 3 cases of oral ulcer, 4 cases of fever including 1 patient with septicemia and 1 pulmonary infection. The other complications included 2 cases of cytomegalovirus(CMV) infections, 2 hemorrhagic cystitis(HC) and 1 pure red aplastic anemia. After a follow up of median 12.8(8-22) months, 4 patients remained survival, and 1 case with MDS RAS resulted in relapse and died of pulmonary infection on 7 months after transplantation. **Conclusion** Modified BU/CY administration can be employed as a preparative regimen for allogeneic HSCT and shows efficacy and transplant adverse effects can be tolerated. HLA identical sibling allo PBSCT in the treatment of patients with myelodysplastic syndrome is safe and efficient.

Key words: myelodysplastic syndromes; HLA identical sibling; allogeneic peripheral blood stem cell transplantation; modified BU/CY

骨髓增生异常综合征(MDS)是一组起源造血干细胞克隆异常疾病, 主要表现为进行性全血细胞减少, 部分向白血病转化, 传统治疗无法治愈。异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是目前惟一可以治愈的方法^[1-2]。本研究对 2009 年 1 月至 2010 年 12 月在哈尔滨血液病肿瘤研究所住院 5 例 MDS 患者进行了人类白细胞抗原(HLA)相合同胞异基因外周造血干细胞移植(allo-PBSCT), 通过回顾性分析, 以评价 HLA 相合同胞 allo-PBSCT 治疗 MDS 的临床疗效及并发症, 现将结果报

道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 5 例 MDS 患者均为 2009 年 1 月至 2010 年 12 月于哈尔滨血液病肿瘤研究所住院病例, 诊断均以张之南主编的《血液病诊断及疗效标准》^[3]。其中难治性贫血(MDS-RA)1 例, 难治性贫血伴有环状铁粒幼细胞(MDS-RAS)2 例, 难治性贫血伴有原始细胞过多-I(MDS-RAEB-I)2 例, 其中男 2 例, 女 3 例, 中位年龄 29(17~41)岁, 乙型肝炎表面抗体阳

* 基金项目: 黑龙江省卫生厅科研课题(2011-518); 哈尔滨市科技创新人才研究专项基金资助项目(2009RFQQS027)。△ 通讯作者, Tel: (0451)84883466; E-mail: mjun@csc.org.cn。

性并丙型肝炎 1 例患者。ABO 血型不合 4 例,主要不合 2 例,次要不合 1 例,主次不合 2 例。预处理前检查无移植禁忌证,均签署造血干细胞移植知情同意书 5 例患者均行 allo-PB-SCT。

1.2 供者外周血造血干细胞的动员、采集及保存 HLA 同胞相合的供者应用重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)每天 5~10 μg/kg,皮下注射,一般应用 4~5 d,于第 4 天下午、第 5 天上午分别应用血细胞分离机(美国 Baxter CS-3000 plus)进行外周血有核细胞采集(通常采集 2 次),每次采集 3.5~4.5 h,循环血量 10 000 mL,采集后检测有核细胞(NC)数及 CD34⁺细胞数。第 1 次采集后,将采集物于 4℃ 冰箱保存;第 2 次采集后,将两次采集物不作处理经中心静脉导管即刻输注给受者。

1.3 预处理方案 5 例患者皆予改良 BU/CY 方案^[3],白消安每次 0.8 mg/kg,共 3 d;环磷酰胺每天 60 mg/kg,共 2 d;阿糖胞苷(Ara-C)每天 2.0/m²。

1.4 移植抗宿主病(GVHD)的预防 移植 7 d 开始应用环孢素 A(CsA)每天 1.5~2.0 mg/kg,持续 24 h 静脉滴注,吗替麦考酚酯(MMF)1.50/d(-2~+28 d),短程甲氨蝶呤(MTX):+1 天 10~15 mg·m⁻²·d⁻¹,+3 d,+6 d 各 10 mg/m²·d 静脉滴注(+表示移植后天数;-表示移植前天数)。

1.5 NC 及 CD34⁺细胞输入数量 本组患者回输 NC 中位数 8.55(6.88~10.8)×10⁸/kg,输入 CD34⁺细胞中位数 8.69(6.8~12.96)×10⁶/kg(kg 均为受者体质量)。

1.6 支持治疗及并发症的预防 全部患者均入住空气层流无菌病房,接受全环境保护及营养支持等治疗。应用更昔洛韦(GCV)每天 5 mg/kg,每天 1 次静脉滴注,从移植-10 d 开始用至-2~-1 d,预防巨细胞病毒(CMV)感染;以复方丹参及右旋糖酐 40 预防肝静脉闭塞病(HVOD),并根据血小板计数调整用量;静脉注射丙种球蛋白预防感染;水化、碱化尿液、强迫利尿及应用美司钠预防环磷酰胺可致的出血性膀胱炎(HC);应用 G-CSF 每天 2.5 μg/kg,皮下注射,以加速粒细胞减少症的恢复,+3 d 开始用至白细胞计数大于 1.0×10⁹/L 后减量,渐停;所有输入的血制品均以钴 60 行 25 Gy 照射及白细胞滤器过滤;移植期间定期监测血常规,肝、肾功能,血糖、水电解质等。

1.7 植入证据的检测 直接证据:ABO 血型的检测、性别染色体的检测、可变量目串联多态性(VNTR)法检测 DNA 指纹图。间接证据:造血重建、GVHD 等。

1.8 随访 随访自造血干细胞回输后开始,出院后每 1~3 个月来院定期复查,随访至 2011 年 11 月 30 日。

2 结 果

2.1 造血重建及植入情况 5 例患者均获得植入,中性粒细胞(ANC)≥0.5×10⁹/L 的中位时间+12.4 d(+9~+14 d),血小板(PLT)≥20×10⁹/L 中位时间 13.25 d(+10~+23 d),移植后均获造血重建,移植后 4~5 周复查骨髓象,均示增生活跃。本组患者均在移植后经性别染色体、ABO 血型、DNA 指纹图等确定供者造血干细胞稳定植入,4 例供受者性别不同,移植后第 28~35 天转为供者型,4 例 ABO 血型不合,在移植后第 45~70 天转为供者型。另外 1 例供受者性别和 ABO 血型均相同者移植后第 27 天转为供者的 DNA 指纹图形。

2.2 GVHD 及其他移植相关并发症 2 例出现Ⅱ度 aGVHD,2 例出现局限性 cGVHD,经甲强地松龙、普乐可复或脐带间充质干细胞治疗后缓解;3 例发生Ⅱ度口腔溃疡,发热 4 例,其中 1 例败血症,1 例合并肺部感染,经治疗后患者缓解,2 例

发生 CMV 血症,经抗病毒治疗后转阴;HC 2 例,经碱化、水化、抗病毒等治疗后缓解,1 例出现纯红再生性障碍性贫血,经已缓解,无 VOD、IP 等并发症。

2.3 预后与随访情况 该 5 例患者在 100 d 内无 1 例死亡。中位随访时间 12.8 个月(8~22 个月),仅 1 例 MDS-RAS 移植后 7 个月疾病复发,其余 4 例无病存活。

3 讨 论

allo-HSCT 是惟一能够根治 MDS 的方法。由于 MDS 患者年龄普遍偏大,移植过程中可能移植相关死亡率高,因此探讨该类疾病的预处理方案及移植方式及并发症等尤为重要^[4-6]。传统的 BU/CY 方案已经成为 allo-HSCT 标准的预处理方案,然而该方案中两种烷化剂联合应用具有较高的不良反应,引起较高的移植相关死亡率及发病率^[7]。为了降低该预处理方案毒性,同时保证移植成功,本研究皆采用改良的 BU/CY 预处理方案,5 例患者皆顺利完成预处理,出现恶心、呕吐等症经治疗后缓解,且 5 例患者全部植入和造血重建顺利,表明改良 BU/CY 骨髓性预处理方案能够异基因外周血造血干细胞植入,初步说明本预处理方案是安全、可行的。

输入足够数量的造血干细胞是移植后造血快速重建的保证,一般认为,allo-HSCT 输入的 TNC 细胞数为(4.0~8.0)×10⁸/kg,CD34⁺细胞数为(2.0~4.0)×10⁶/kg 时能保证造血功能顺利重建^[8]。本组患者输入的 TNC 细胞数和 CD34⁺细胞数均满足上述要求下限,且中性粒细胞植入和血小板植入中位时间提示植入快,迅速造血重建。

GVHD 是 allo-HSCT 的主要并发症,是移植相关死亡最主要的原因之一,因此降低 aGVHD 发生率能够提高移植疗效^[9]。本组患者采用 CsA、MMF 联合短程 MTX 方案预防 aGVHD,仅 2 例发生Ⅱ度 aGVHD,局限性 cGVHD 仅有 2 例,本结果提示发生 aGVHD 严重程度轻,cGVHD 仅为局限性,对治疗反应敏感,可能提高 HLA 结合 allo-PBSCT 治疗 MDS 具有一定的安全性。本组 5 例患者随访至 2011 年 11 月 30 日。仅 1 例死亡,死亡原因为疾病复发及肺感染,其余 4 例皆无病存活,表明 HLA 相合 allo-PBSCT 为目前治疗 MDS 安全有效的方法^[10-11]。

总之,采用改良 BU/CY 预处理方案的 allo-PBSCT 治疗 MDS,植入快,造血功能恢复迅速、稳定,移植相关毒性较低,疗效肯定,安全性高。

参考文献:

[1] Parmar S,de Lima M,Deeg HJ,et al. Hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome: a review[J]. Semin Oncol,2011,38(5):693.
[2] 高雅,平宝红,周淑芸,等. 地西他滨治疗老年骨髓增生异常综合征 1 例并文献复习[J]. 南方医科大学学报,2012,32(2):280.
[3] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:268.
[4] Deeg HJ,Scott BL,Fang M,et al. Five-group cytogenetic risk classification,monosomal karyotype,and outcome after hematopoietic cell transplantation for MDS or acute leukemia evolving from MDS[J]. Blood,2012,116,120(7):1398.
(下转第 3701 页)

耐药^[10]。氨基糖苷类妥布霉素和庆大霉素对 ESBLs 菌株的耐药率达到 22.64% 和 64.15%, 而且由于氨基糖苷类的肝肾毒性, 限制了该类药物在临床的应用, 常常作为联合用药的一部分。本研究结果显示, 产 ESBLs 的 ECO 呈现对青霉素类、头孢菌素类、氟喹诺酮类等多种药物的耐药性。ESBLs 阴性 ECO 菌株对大部分抗菌药物均有较高的敏感率, 除氨苄西林外, 检测的其余抗菌药物的敏感率均大于 50%。ESBLs 为质粒介导的可通过结合、转化、转导等方式在同种病原菌间甚至不同种病原菌间进行耐药性传播, 携带 ESBLs 菌株可引起医院感染暴发流行。因此, 规范抗菌药物的合理应用和监测 ESBLs 耐药菌的传播和流行应当作为医院感染控制的一个常规性工作。

有研究报道生物被膜菌与游离态细菌相比耐药性大幅度提高, 生物被膜是细菌感染难以治愈和反复发作的重要原因^[11]。本研究结果提示, 96.74% 的 ECO 血液分离菌可以形成生物被膜, 而形成被膜的量以中量居多, 与文献报道相似^[2]。ECO 被膜菌耐药性升高与 *rpoS* 基因的表达增加密切相关, 而 *rpoS* 基因又调节一系列与生物被膜形成、黏附、增殖、成熟等各个阶段相关基因的表达, 使得被膜菌对抗菌药物的耐药性增强^[11]。传统的药敏试验测得的 MIC 是针对单个游离的细菌, 据文献报导, 采用被膜菌测得的最小杀菌浓度(BIC)与传统的 MIC 存在很大差异, 两类药敏试验筛选出的敏感抗菌药物也存在很大差异, 因此只以 MIC 指导临床抗菌药物的使用, 对生物被膜菌的感染治疗难以达到满意的结果^[12]。由于绝大多数 ECO 菌株均能形成生物被膜, 在临床治疗相关感染若依据传统药敏结果疗效不佳时, 选择生物被膜敏感的抗菌药物, 以提高抗感染治疗的效果。

ECO 是目前临床血液标本最常见的分离菌株之一, 作为机会致病菌, 对 ECO 特别是 ESBLs 菌的感染重在预防。高龄、低免疫力和长期住院患者是 ESBLs 菌的易感对象, 长期激素、放化疗和介入治疗是 ESBLs 菌感染的高危因素。因此, 合理使用抗菌药物, 减少激素的使用, 加强医务人员无菌观念和严格的消毒隔离措施, 及时更换或拔除各类导管和合理使用呼吸机等, 均有利于预防和减少产 ESBLs 的 ECO 的感染和传播。

参考文献:

[1] 茆海丰, 营丽娟, 赵勇, 等. 新生儿病房分离产 ESBLs 大

肠埃希菌的 TEM、SHV、CTX-M 基因检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(7): 1291-1294.

[2] 刘晓峰, 迟秀文, 黄震, 等. 大肠埃希菌临床菌株生物被膜形成的分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(9): 1732-1734.

[3] 余锡灿, 朱美英, 张筱蓉. ICU 产超广谱 β 内酰胺酶细菌医院感染危险因素及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(8): 1177-1179.

[4] 吕卫东. 260 株大肠埃希菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(3): 568-569.

[5] 孙衡, 沈继录, 熊自忠, 等. 临床血标本中产 ESBLs 大肠埃希菌耐药性检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(13): 2810-2812.

[6] 穆海霞, 陈俊清, 吴容. 产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌的耐药性和产酶因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(19): 4148-4150.

[7] 蒋东香, 陈刚, 王玉春, 等. 产 ESBLs 大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的临床分布与耐药性[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(2): 371-373.

[8] 陈汝昌, 王利健. 2006~2009 年重症监护病房医院感染大肠埃希菌与肺炎克雷伯菌的耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(5): 1013-1015.

[9] CLSI. M100-S22. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement[S]. Wayne, PA: 2012.

[10] 梁海军, 崔艳慧, 杨道坤. 产 ESBLs 大肠埃希菌耐药性分析及 *qnr*、*gyrA*、*parC* 基因变异的检测[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(6): 1068-1071.

[11] Ito A, Taniuchi A, May T, et al. Increased antibiotic resistance of *Escherichia coli* in mature biofilms[J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(12): 4093-4100.

[12] Moskowitz SM, Foster JM, Emerson JC, et al. Use of *Pseudomonas* biofilm susceptibilities to assign simulated antibiotic regimens for cystic fibrosis airway infection[J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 56(9): 879-886.

(收稿日期: 2012-06-13 修回日期: 2012-09-12)

(上接第 3698 页)

[5] 许兰平, 黄晓军, 刘开彦, 等. 异基因造血干细胞移植治疗骨髓增生异常综合征 30 例分析[J]. 中华血液学杂志, 2006, 27(8): 518.

[6] 杜玮, 黄文杰. 异基因造血干细胞移植术后并特发性肺炎综合征 1 例并文献复习[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(4): 818.

[7] O'Donnell MR, Long GD, Parker PM, et al. Busulfan/cyclophosphamide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for myelodysplasia [J]. J Clin Oncol, 1995, 13(12): 2973.

[8] 董陆佳, 叶根耀. 现代造血干细胞移植治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 215-229, 244.

[9] Choi S, Reddy P. Graft-versus-host disease[J]. Panminerva Med, 2010, 52(2): 111.

[10] Xu LP, Huang XJ. Current status and development of hematopoietic stem cell transplantation in China: a report from Chinese Hematopoietic Stem Cell Transplantation Register Group[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(16): 2548.

[11] 薛梅, 王恒湘, 闫洪敏, 等. 异基因造血干细胞移植治疗骨髓增生异常综合征 6 例报告[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(3): 719.

(收稿日期: 2012-06-09 修回日期: 2012-08-22)