

• 临床医学 •

文章编号: 1002-0217( 2016) 06-0575-04

# 非血缘脐血辅助亲缘单倍体异基因造血干细胞移植治疗急性髓系白血病的临床分析

韦中玲 戴 艳 黄来全 蒋艺枝 黄东平

( 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 血液科 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 探讨非血缘脐血辅助亲缘单倍体异基因造血干细胞移植治疗急性髓系白血病的安全性和疗效。方法: 回顾性分析 2014 年 5 月~2015 年 11 月在我科行脐血辅助亲缘单倍体异基因造血干细胞移植治疗 4 例急性髓系白血病的临床资料, 并复习相关文献。结果: 4 例患者移植后造血全部重建, 中性粒细胞植入中位时间为 13 d, 血小板植入中位时间为 15 d, 移植后 14 d 外周血 STR-PCR 检测为 100% 供者; 3 例患者发生急性移植物抗宿主反应( aGVHD), 其中 2 例发生 II 度 aGVHD, 1 例发生 IV 度 aGVHD, 随访至 2016 年 4 月, 1 例患者于移植后 106 d 死亡; 3 例患者存活。结论: 非血缘脐血辅助亲缘单倍体异基因造血干细胞移植治疗急性髓系白血病临床安全, 造血重建快, 但 aGVHD 发生率较高, 有待探索更有效的方法控制 aGVHD 的发生。

**【关键词】**单倍体造血干细胞移植; 脐血; aGVHD; 急性髓系白血病

**【中图分类号】**R 733.7 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10.3969/j.issn.1002-0217.2016.06.019

## Clinical analysis on combined allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with unrelated cord blood for acute myeloid leukemia

WEI Zhongling, DAI Yan, HUANG Laiquan, JIANG Yizhi, HUANG Dongping

Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

**【Abstract】Objective:** To investigate the efficacy and safety of combined allogeneic hematopoietic stem cell transplantation( allo-HSCT) with unrelated umbilical cord blood in the treatment of acute myeloid leukemia. **Methods:** The clinical data were retrospectively analyzed in 4 patients with acute myeloid leukemia undergone allo-HSCT with umbilical cord blood in our department between May 2014 and November 2015, and related literatures were reviewed. **Results:** The hematopoietic function was restored in the 4 patients. The median time of neutrophil engraftment was 13 days and platelet engraftment, 15 days. PCR analysis of the short tandem repeat( STR) 14 days after transplantation indicated that peripheral blood chimerism was 100% of donor's. Acute

基金项目: 安徽高校省级自然科学基金项目( KJ2016SD58)

收稿日期: 2016-05-12

作者简介: 韦中玲( 1979-), 女, 主治医师( 电话) 13965181847( 电子信箱) liuwu66@sohu.com.

黄东平, 男, 主任医师, 硕士生导师( 电子信箱) hdp\_9713@163.com 通信作者.

[7] PATRICK PA, VISINTAINER PF, SHI Q *et al.* Vitamin D and retinopathy in adults with diabetes mellitus [J]. Arch Ophthalmol, 2012, 130( 6) : p.756-760.

[8] LU JH, MARNELL LL, MARJON KD *et al.* Structural recognition and functional activation of FcγR by innate pentraxins [J]. Nature, 2008, 456( 7224) : 989-992.

[9] 祝胜郎, 陈结慧, 蒋莹, 等. 活性维生素 D3 对透析前慢性肾脏病患者肾脏保护作用研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12( 7) : 620-624.

[10] 崔立文, 温志谦. 原发性肾病综合征患者骨代谢变化情况及其临床指标研究 [J]. 中国全科医学, 2012, 15( 28) : 3258-3260.

[11] STUBBS JR, DICALLA A, SLUSSER J *et al.* Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD [J]. Am Soc Nephrol, 2010, 21( 2) : 353-361.

[12] FREDERIKSEN BN, KROEHL LM, FINGERLIN TE *et al.* Association between vitamin D metabolism gene polymorphisms and risk of islet autoimmunity and progression to type 1 diabetes: the diabetes autoimmunity study in the young ( DAISY) [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98( 11) : p.E1845-1851.

[13] CORRADO A, NEVE A, MACCHIAROLA A *et al.* RANKL/OPG ratio and DKK-1 expression in primary osteoblastic cultures from osteoarthritic and osteoporotic subjects [J]. The Journal Of rheumatology, 2013, 40( 5) : 684-694.

graft-versus-host diseases( aGVHD) occurred in 3 patients in whom 2 were in degree II aGVHD and 1 in degree IV. Follow-up by April 2016 suggested one death by 106 days after transplantation and survival of three. **Conclusion:** Allo-HSCT with unrelated umbilical cord blood may be an effective for acute myeloid leukemia and lead to early restoration of the hematopoietic function. However, this therapy may be associated with higher incidence of aGVHD of which management of its adverse effect needs further investigation.

**【Key words】**haploidentical hematopoietic stem cell transplantation; umbilical cord blood; aGVHD; acute myeloid leukemia

目前异基因造血干细胞移植已成为多种恶性血液病治愈的唯一方法。供者首选 HLA 全相合供者,但来源不足 30%; 亲缘单倍体相合异基因造血干细胞移植( Haplo-HSCT) 供者来源丰富、能够优化供者以及移植物的选择、可提供移植后细胞治疗,因此受到广泛关注。而植入失败率高、急性移植物抗宿主反应( acute graft versus host disease, aGVHD) 发生重、免疫重建延迟却制约着 Haplo-HSCT 的发展。强化清髓性预处理、在移植物中加入第三方细胞、移植后大剂量环磷酰胺调节 T 细胞等手段用于提升 Haplo-HSCT 疗效,改善预后。我科于 2014 年 5 月~2015 年 11 月利用脐血辅助 Haplo-HSCT 治疗 4 例急性髓系白血病,取得良好疗效,现报道如下。

### 1 资料与方法

1.1 病例资料 2014 年 5 月~2015 年 11 月在我科进行脐血辅助 Haplo-HSCT 共 4 例患者,男性 2 例,女性 2 例,中位年龄 22 岁( 18~28 岁),急性髓系白血病 M2 型 3 例( 2 例高危,1 例复发),急性髓系白血病 M5 型 1 例( 高危组)。原发病诊断符合张之南<sup>[1]</sup>《血液病诊断及疗效标准》,根据 MICM 进行分型诊断。具备单倍体异基因造血干细胞移植适应证。

1.2 移植前检查 所有患者完善 HLA 配型、脐血配型、人类白细胞抗原( HLA) -I、II 类抗体、主要组织相容性 I 类相关基因 A( MICA) 抗体,以及供受者的杀伤细胞免疫球蛋白样受体( KIR) 基因型检查。

1.3 供者干细胞动员与采集 健康供者于移植前 3 天开始采用皮下注射重组人粒细胞集落刺激因子,移植当天给予在硬膜外麻醉下行骨髓采集术,在双侧髂后上棘多点穿刺抽取骨髓液 400 mL。术中输注动员前采集的自体血 400 mL。第 2 天采集外周血造血干细胞。单个核细胞( MNC)  $>2 \times 10^8$  /kg 受者体质量,流式细胞仪检测 CD34+ 细胞  $>2.0 \times 10^6$  /kg 受者体质量,若达不到要求,第 3 天继续采集外周血干细胞。对于供受者血型主要不合骨髓采集后进行去红细胞处理,对于次要不合者,进行去血浆处理。

1.4 预处理方案 预处理化疗采用甲环亚硝脲、阿糖胞苷、白消安、环磷酰胺、抗胸腺细胞球蛋白( 兔

ATG) 方案: Me-CCNU 250 mg/(  $m^2 \cdot d$ ) -10 d; Ara-C 2 g/(  $m^2 \cdot q12 h$ ) -9 d、-8 d; Bu 0.8 mg/(  $kg \cdot q6 h$ ) -7 d、-6 d、-5 d; CY 1.8 g/(  $m^2 \cdot d$ ) -4 d、-3 d; r-ATG 2.5 mg/(  $kg \cdot d$ ) -5d、-4 d、-3 d、-2 d( 以输注干细胞当天为 0 天)。

1.5 aGVHD 预防 采用联合免疫抑制方案, CSA: 3 mg/(  $kg \cdot d$ ) 24 h 持续输注, -10 d 开始,血清 CSA 浓度维持在 200~300  $\mu g/mL$  至 40~50 d, 胃肠道功能恢复后,按照静脉剂量的 2 倍改口服,分两次,维持谷浓度在 150~250  $\mu g/mL$ 。骁悉( MMF): 25 mg/(  $kg \cdot d$ ) ,分 3~4 次口服,第 1~30 天。甲氨蝶呤( MTX): 15 mg/(  $m^2 \cdot d$ ) ,静注,第 1 天; 10 mg/(  $m^2 \cdot d$ ) ,静注,第 3、6、11 天。

1.6 植入监测 干细胞输注后每日行血常规检查,移植后第 7、14、21 天抽取外周血行 STR-PCR 检测,第 30、60、90 天留取骨髓细胞 STR-PCR 检查,对于供受者性别、血型不同者进行染色体检查及血型监测。

1.7 原发病疗效评估 移植前 1 天、移植后每月复查骨髓细胞形态学,并行白血病基因、微小残留病灶、WT1 等检查。

### 2 结果

2.1 供受者以及脐血 HLA 配型、KIR、DSA 结果 所有供者均为父亲,供受者 HLA 配型均为 5/10 相合( 半相合)。脐血相合程度为 4/6 以上。病例 1 受者未行 KIR 检测。4 例患者中,病例 4 移植前检测发现 HLA-I 抗体可疑阳性,HLA-II 抗体阳性,移植前给予血浆置换 1 次及利妥昔单抗输注,所有患者 MICA 抗体阴性( 表 1)。

2.2 供者干细胞与脐血输注 所有患者移植当天输注骨髓干细胞前 4 h 给予输注脐血,第 2 天输注外周血干细胞。所有患者骨髓及外周血干细胞单个核细胞和 CD34+ 细胞达到异基因移植要求。所有患者输注脐血以及骨髓和外周血干细胞未出现输注不良反应( 见表 2)。

2.3 植入情况 所有患者造血全部重建,中性粒细胞植入中位时间为 13 d( 12~14 d),血小板植入中位时间为 15 d( 13~17 d),见表 3。

表 1 供受者及脐血 HLA 配型、KIR、DSA 结果

病例号	供受者关系	供受者 HLA 相合程度	供受者血型	脐血性别/血型	脐血相合程度	供受者 KIR 检测	HLA-抗体	MICA
1	父/女	5/10	A+/AB+	男/AB+	4/6	B/X,-	阴性	阴性
2	父/子	5/10	A+/AB+	男/AB+	4/6	A/A ,A/A	阴性	阴性
3	父/女	5/10	B+/B+	女/B+	5/6	A/B <sub>2</sub> ,A/A	阴性	阴性
4	父/子	5/10	O+/O+	男/O+	4/6	A/B <sub>4</sub> ,A/B <sub>4</sub>	阳性	阴性

表 2 骨髓、外周血、脐血干细胞单个核细胞、CD34+细胞数量

病例号	骨髓干细胞		外周血干细胞		脐血干细胞	
	MNC	CD34+	MNC	CD34+	MNC	CD34+
1	1.85×10 <sup>8</sup> /kg	0.74×10 <sup>6</sup> /kg	18.06×10 <sup>8</sup> /kg	2.53×10 <sup>6</sup> /kg	2.64×10 <sup>7</sup> /kg	1.43×10 <sup>5</sup> /kg
2	1.92×10 <sup>8</sup> /kg	0.44×10 <sup>6</sup> /kg	28.60×10 <sup>8</sup> /kg	2.42×10 <sup>6</sup> /kg	3.24×10 <sup>7</sup> /kg	3.89×10 <sup>5</sup> /kg
3	1.14×10 <sup>8</sup> /kg	0.55×10 <sup>6</sup> /kg	11.36×10 <sup>8</sup> /kg	2.73×10 <sup>6</sup> /kg	2.38×10 <sup>7</sup> /kg	0.76×10 <sup>5</sup> /kg
4	1.29×10 <sup>8</sup> /kg	0.46×10 <sup>6</sup> /kg	8.94×10 <sup>8</sup> /kg	2.68×10 <sup>6</sup> /kg	1.94×10 <sup>7</sup> /kg	1.11×10 <sup>5</sup> /kg

表 3 患者造血重建资料

病例号	中性粒细胞植入时间	血小板植入时间	STR				
			14 d	30 d	60 d	3 个月	4 个月
1	13 d	16 d	100%供者	100%供者	100%供者	100%供者	100%供者
2	13 d	14 d	100%供者	100%供者	100%供者	85.7%供者 14.3%脐血	100%供者
3	14 d	17 d	100%供者	100%供者	100%供者	100%供者	死亡
4	12 d	13 d	100%供者	100%供者	100%供者	未达到	未达到

2.4 移植相关并发症发生情况

2.4.1 aGVHD 4 例患者中有 3 例出现 aGVHD 病例 2 为 II 度 GVHD( I 级肠道 aGVHD) 经过一线甲强龙 0.5~2 mg/kg 及短程使用甲氨蝶呤( MTX)、更换他克莫司、间充质干细胞、巴利昔单抗等二线治疗好转; 病例 4 为 II 度 aGVHD( I 级肠道 aGVHD) 经甲强龙及 CD25 单抗治疗, 好转; 病例 3 出现 IV 度 aGVHD( IV 级肠道 GVHD 合并 II 级皮肤 aGVHD), 疗效不佳, 于 106 d 死亡。

2.4.2 其他并发症 所有患者在移植后出现感染, 部分培养结果阳性。病例 1 中段尿培养提示肺炎克雷伯亚种; 病例 2 多次咽拭子培养发现窄食嗜麦芽杆菌; 病例 3 血培养提示大肠埃希菌。造血干细胞输注后 4 例患者均出现 CMV 血症, 经更昔洛韦、磷甲酸钠联合丙种球蛋白输注治疗, CMV 拷贝数降至正常范围。4 例患者均出现迟发性出血性膀胱炎, 表现为镜下血尿、尿频、尿急、尿痛症状, 肉眼血尿; 2 例患者出现血凝块。3 例患者存在尿 BK、JC 病毒阳性。根据出血性膀胱炎分级标准, I 度 1 例( 病例 1), II 度 1 例( 病例 4), III 度 2 例( 病例 2 和 3) 经过水化、碱化、强迫利尿、高压氧、抗病毒等治疗, 症状改善。无 VOD、间质性肺炎等发生。

2.5 原发病疗效 病例 1 和病例 2 在第 120、150

天复查骨髓仍处于分子生物学缓解期。病例 3 由于 IV 度 GVHD 在第 106 天死亡。病例 4 移植后尚未达到 90 d。

2.6 随访 随访至 2016 年 4 月, 中位随访时间 4.5 个月( 2.5~22 个月) 3 例无病存活, 1 例死亡。

3 讨论

单倍体异基因造血干细胞移植术目前已逐渐成为成人和大体质量患儿异基因造血干细胞移植的主流模式。一项来自 2013 年欧洲 43 个国家、685 个移植中心, 包含 34 809 名患者的移植资料显示<sup>[2]</sup>, 对于没有 HLA 匹配全相合亲缘或无关供者的患者使用同胞和无关供者半相合异基因造血干细胞移植术比例大幅度增加。自 2010~2013 年亲缘半相合移植数量增长 96%( 2010 年 802 例 vs. 2013 年 1571 例)。但由于 HLA 不合程度高, 易发生植入失败, aGVHD 发生率高, 重度 aGVHD 多见, Haplo-HSCT 的发展受到严重限制。国内外许多学者尝试使用多种方法来促进供者造血干细胞植入, 降低 aGVHD 发生率, 减少非复发死亡, 改善 Haplo-HSCT 预后。

研究人员发现供体特异性抗人白细胞抗原抗体( donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies, DSA) 与植入失败密切相关。Chang YJ 等<sup>[3]</sup>在

一项包含 345 名患者的 Haplo-HSCT 研究中发现, 11.3% 的患者存在 DSA 阳性, 其中荧光强度 >10 000 的患者易出现原发性植入失败( GR), 而荧光强度在 2000 以上与原发性植入不良( PGF) 有关; 与荧光强度 <2000 的患者相比, 荧光强度在 2000~10 000 以及 10 000 以上的患者组植入失败( 3.2% vs. 31.6% vs. 60%,  $P < 0.001$ ) 和移植相关死亡发生率( 17.2% vs. 14.7% vs. 33.3%, for groups A, B, and C, respectively  $P = 0.022$ ) 更高, 总生存率降低( 77.3% vs. 85.3% vs. 44.4%,  $P = 0.015$ )。因此, DSA 已成为移植并发症重要相关因素, 对于 DSA 阳性的患者移植前可使用大剂量丙种球蛋白或血浆置换<sup>[4]</sup>减少抗体产生, 减少植入失败。本组患者中例 4 在移植前 DSA 阳性, 给予血浆置换 1 次以及利妥昔单抗治疗, 移植后造血重建时间与其他患者类似, 且 14 d 获得 STR100% 供者。

国内还有学者采用脐血<sup>[5]</sup>、间充质干细胞<sup>[6]</sup>等第三方细胞输注辅助单倍体异基因造血干细胞移植, 从而达到进一步促进植入、降低 aGVHD 的作用。国内杜振兰等<sup>[7]</sup>利用第三方脐血辅助单倍体异基因造血干细胞移植发现, 36 例患者全部植入成功, 中性粒细胞平均植入时间为( 13.9±2.2) d, PLT 平均植入时间为( 14.6±1.8) d, 而且 STR 观察至移植后 100 d, 38.9% 发生 I~II 度 GVHD, 5.6% 患者发生 III~IV 度 GVHD。临床上发现脐血输注辅助 Haplo-HSCT 能够起到促进植入、降低 aGVHD 的作用, 但具体机制尚不明确。研究发现 CD4+CD25+FoxP3Treg 细胞具有抑制 T 细胞活化和增殖的作用<sup>[8]</sup>, 国外 Parmar S 等<sup>[9]</sup>研究同样发现脐血中的 Treg 细胞能够减轻 aGVHD 发生。本组研究采用 HLA 配型 4/6 以上的脐血输注联合 Haplo-HSCT, 植入率达 100%, 中性粒细胞植入中位时间为 13 d, 血小板植入中位时间为 15 d, 与上述文献类似<sup>[7]</sup>。但本组中 aGVHD 发生率较高, 达 75%; 重度 aGVHD 发生 1 例, 并在移植第 106 天后死亡, 较文献报道比

例明显增高<sup>[7,10]</sup>。可能与移植过程中感染发生率高, 诱发 aGVHD 有关。但由于本组报道病例数较少, 有待大样本进行进一步探索。

总之, Haplo-HSCT 来源丰富, 移植潜能极大, 可通过多种方法减少 Haplo-HSCT 并发症发生。脐血辅助 Haplo-HSCT 治疗恶性血液病临床安全, 能够促进造血重建, 但是否能降低 aGVHD 发生值得商榷。

【参考文献】

[1] 张之楠, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 103-134.

[2] PASSWEG JR, BALDOMER H, BADER P, et al. Hematopoietic SCT in Europe 2013: recent trends in the use of alternative donors showing more haploidentical donors but fewer cord blood transplants[J]. Bone Marrow Transplantation, 2015, 50( 4): 476-482.

[3] CHANG YJ, ZHAO XY, XU LP, et al. Donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies were associated with primary graft failure after unmanipulated haploidentical blood and marrow transplantation: a prospective study with randomly assigned training and validation sets[J]. J Hematol Oncol, 2015, 10( 8): 84.

[4] ZHANG X, WANG J, ZHOU Z. The Role of HLA Antibodies in HLA Mismatched Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation[J]. Clin Transpl, 2014: 245-50.

[5] 高力, 刘嘉, 陈幸华, 等. HLA 不全相合造血干细胞联合脐血移植治疗急性白血病的临床观察[J]. 中国输血杂志, 2012, 25( 2): 115-119.

[6] 吴亚妹, 曹永彬, 李晓红. 间充质干细胞联合单倍体异基因造血干细胞移植治疗 27 例重型再生障碍性贫血临床疗效[J]. 解放军医学院学报, 2014, 35( 12): 1191-1195.

[7] 杜振兰, 陈鹏, 罗荣牡, 等. 第三方脐血辅助输注的单倍体造血干细胞移植 36 例疗效分析[J]. 中华临床医师杂志( 电子版), 2014, 8( 6): 1200-1203.

[8] SHEVACH EM, MCHUGH RS, PICCIRILLO CA, et al. Control of T-cell activation by CD4+CD25+ suppressor T cells[J]. Immunol Rev, 2001, 182: 58-57.

[9] PARMAR S, LIU XY, TUNG SS, et al. Third Party Umbilical Cord Blood-Derived Regulatory T cells Prevent Xenogenic Graft-versus-Host Disease[J]. Cytotherapy, 2014, 16( 1): 90-100.

[10] 周平, 王易, 李丹, 等. 混合移植治疗儿童血液病疗效观察[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22( 2): 434-439.