

· 论 著 ·

异基因造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血临床研究*

龚奕, 张曦[△], 陈幸华, 高蕾, 曾韞璟, 文钦, 刘学, 李云龙, 刘嘉, 罗晓庆, 孙爱华

(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

摘要:目的 探讨异基因造血干细胞移植成功治疗重型再生障碍性贫血的疗效与治疗经验。方法 对 15 例重型再生障碍性贫血患者进行同胞间组织相容性抗原(HLA)不全相合/HLA 全相合造血干细胞移植, 观察移植疗效及并发症, 结合相关文献讨论分析。结果 移植后 9~24 d(中位时间 13.8 d)中性粒细胞大于 $0.5 \times 10^9/L$; 移植后 14~26 d(中位时间 17.3 d)血小板大于 $20 \times 10^9/L$ 。2 例于移植后 26 d(HLA 3/6 相合)和移植后 48 d(HLA-A、DR 各一个位点不合)发生 II 度急性移植物抗宿主病(GVHD), 予甲强龙治疗后控制; 9 例发生慢性 GVHD, 其中局限型 6 例(1 例为 HLA 全相合, 1 例为 HLA-B 一个位点不合, 4 例 HLA 3/6 相合), 广泛型 3 例[其中 1 例为 HLA-DR 一个位点不合, 1 例为 4/6 相合(HLA-A、B 不合), 1 例 HLA 3/6 相合]; 4 例发生肺部感染, 3 例发生肠道感染, 1 例巨细胞病毒感染; 1 例出现肝功能损害, 无 1 例发生肝静脉闭塞病(VOD); 随访 3~37 个月, 14 例患者无病生存, 1 例死于肺部侵袭性真菌感染。结论 异基因造血干细胞移植是治疗重型再生障碍性贫血的可靠方法, 在充分考虑移植风险和积极准备的基础上可实施 HLA 不全相合造血干细胞移植。

关键词: 异基因造血干细胞移植; 重型再生障碍性贫血; 临床研究

中图分类号: R556.5; R392.4

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)14-1842-02

Allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anaemia*

GONG Yi, ZHANG Xi[△], CHEN Xing-hua, et al.

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

Abstract: Objective To explore the feasibility and effect of allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anaemia. **Methods** Fifteen cases of HLA partially-mismatched or HLA matched allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anaemia was reported. And the treatment experience for this disease was reviewed. **Results** +9~+24 days (median time +13.8 days) after transplantation, all patients had neutrophils count above $0.5 \times 10^9/L$, +14~+26 days (median time +17.3 days) after transplantation, all patients had platelet count above $20 \times 10^9/L$. Grade II acute GVHD developed in two cases and was finally controlled by Methylprednisolone. Chronic GVHD developed in 9 cases (6 cases of focal type and 3 cases of diffused type). And infection of lung(4 cases), infection of intestine(3 cases) occurred and were properly disposed. One case of hepatic damage and one case of CMV infection happened and there was no VOD in all 15 cases. Among 15 patients, 3 patients had HLA-matched donors, 8 patients had HLA half-matched donors and other patients had HLA mismatched donors. All patients had been followed up for 3 to 37 months and 14 patients survived disease free and only 1 patients died of invasive fungus infection in lung. **Conclusion** Take into consideration of the risks and with careful preparation, allogeneic stem cell transplantation is a feasible and effective method for severe aplastic anaemia treatment.

Key words: allogeneic stem cell transplantation; severe aplastic anaemia; clinical research

重型再生障碍性贫血是预后不良的血液系统疾病, 常规临床治疗手段效果不好, 病死率高。异基因造血干细胞移植是治疗重型再生障碍性贫血的最佳方法, 且以人组织相容性抗原(human leucocyte antigen, HLA)配型完全相合的供者的移植物排斥反应小, 成功率高^[1]。由于单子女家庭增多及骨髓库的多样性有限, 寻找与患者 HLA 全相合供体的机会将可能面临困难; HLA 半相合造血干细胞移植有望成为治疗重型再生障碍性贫血患者的有效手段。本文报道异基因造血干细胞移植成功治疗重型再生障碍性贫血 15 例, 并结合相关文献进行讨论分析。

1 临床资料

1.1 一般资料 本组患者中男 7 例, 女 8 例, 年龄 16~41 岁, 平均 32.4 岁。均诊断为重型再生障碍性贫血, 其中重型再生障碍性贫血 I 型 12 例, II 型 3 例。配型供者均为有血缘关系的异基因供者, 其中 HLA 全相合 3 例, HLA 1 个位点不合 2

例(1 例为 HLA-B 一个位点不合, 1 例为 HLA-DR 一个位点不合), 2 个位点不合的 2 例(1 例为 HLA-A、DR 各一个位点不合, 1 例为 HLA-A、B 各一个位点不合), 3 个位点不合的 8 例(均为 HLA-A、B、DR 各一个位点不合); 供、受者血型相同者 10 例, 主侧血型不合 2 例, 次侧血型不合 3 例。供、受者移植前心、肺、肝、肾功能正常, 肝炎十项检测 13 例供者阴性, 2 例供者为 HBV“小三阳”, 14 例患者阴性, 1 例患者为 HBV“小三阳”, HBV-DNA 均小于 500 拷贝/mL。

1.2 预处理 患者入院后相关检查无移植禁忌, 予 Flu+环磷酰胺(CTX)+抗胸腺细胞球蛋白(ATG)(国产 Flu: 50 mg/m² × 5 d, CTX: 50 mg/kg × 2 d, ATG: 5 mg/kg × 4 d)预处理。

1.3 造血干细胞动员、采集及回输 供者外周血干细胞动员采用皮下注射粒细胞集落刺激因子(G-CSF) $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 共 4 d。于动员的第 5 天使用 CS3000 Plus3000 血细胞分离机(Baxter 公司)进行外周血造血干细胞采集, 循环全血量为

* 基金项目: 重庆市医学重点学科建设基金资助项目(2006C026)。△ 通讯作者, 电话: (023)68774330; E-mail: zhangxxi@sina.com。

10 L, 平均采集到有核细胞(MNC) $6.5(4.1 \sim 11.6) \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞 $7.4(5.3 \sim 12.6) \times 10^6/\text{kg}$; 于动员的第 6 天在连续硬膜外麻醉下采集骨髓, 平均采集到 MNC $8.2(5.8 \sim 15.6) \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞 $8.9(6.1 \sim 14.6) \times 10^6/\text{kg}$ 。采集的细胞于当天经锁骨下静脉输注。其中 2 例 HLA 3/6 相合移植患者在供者造血干细胞输注之前 24 h 输注了非亲缘 HLA 全相合脐血, 平均 MNC $2.5(1.4 \sim 3.6) \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞 $4.4(3.9 \sim 4.9) \times 10^6/\text{kg}$ 。

1.4 移植抗宿主病(GVHD)及并发症的预防 环孢菌素 A(CsA)+短程甲氨喋呤(MTX)+骁悉(MMF); CsA 移植前 1 d 开始, $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 24 h 持续静脉滴注, 患者胃肠道能适应时按照静脉剂量加倍改为口服(1/12 h); 移植后 150 d 开始缓慢减量, 每周减 5%, 至移植后 1 年左右停药。MTX: 移植后 1 d $15 \text{ mg}/\text{m}^2$, 移植后 3, 6, 11 d, $10 \text{ mg}/\text{m}^2$, 静脉滴注。MMF: 移植后 1 d 开始, $1.0 \text{ g}/\text{d}$, 至移植后 90 d。选用: 抗 CD25 单抗(舒莱诺华制药, 人鼠嵌合单抗), 每次 20 mg, 回输前 2 h、移植后 4 d。低分子肝素钙+前列腺素 E+低分子右旋糖苷+复方丹参预防肝静脉闭塞病(VOD); 移植前 8 d 开始予磷甲酸钠、丙种球蛋白(每周 $0.4 \text{ g}/\text{kg}$) 预防感染。移植后每周 1 次定期监测 CMV 病原学证据, 一旦出现病原学证据, 予以磷甲酸钠 $100 \sim 160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 直至病原学消失。用 CTX 同时予以美司钠解救, 每次剂量为 CTX 的 20%, 时间为 0.4、8、14 h 预防出血性膀胱炎; 应用复方新诺明片预防卡氏肺囊虫病, 无环鸟苷预防病毒感染, 可以有效减低发生率。

2 结 果

2.1 造血重建 15 例患者平均移植后 9~24 d(中位时间 13.8 d) 中性粒细胞大于 $0.5 \times 10^9/\text{L}$; 移植后 14~26 d(中位时间 17.3 d), 血小板大于 $20 \times 10^9/\text{L}$ 。骨髓细胞学及骨髓活检示: 增生性骨髓象。

2.2 移植后植入监测情况 6 例使用短串重复序列聚合酶链反应(STR-PCR) 行移植后植入鉴定, 均转为供者序列。5 例行患者血型鉴定, 均转为供者血型; 4 例行性染色体检测, 均为供者性染色体表达。15 例患者均植入成功, 移植后中位时间为 56 d(38~76 d)。

2.3 移植后并发症

2.3.1 移植抗宿主病(GVHD) 2 例(13.3%) 于移植后 26 d(HLA 3/6 相合) 和移植后 48 d(HLA-A、DR 各一个位点不合) 发生 II 度急性 GVHD, 予甲强龙治疗后控制, 9 例(60.0%) 发生慢性 GVHD, 其中局限型 6 例(1 例为 HLA 全相合, 1 例为 HLA-B 一个位点不合, 4 例 HLA 3/6 相合), 广泛型 3 例[其中 1 例为 HLA-DR 一个位点不合, 1 例为 4/6 相合(HLA-A、B 不合), 1 例 HLA 3/6 相合]。

2.3.2 感染 4 例(26.7%) 发生肺部感染(其中细菌感染 2 例, 真菌感染 1 例, 结核杆菌感染 1 例), 经抗感染治疗后 3 例体温恢复正常。1 例治疗无效, 于移植后 102 d 死亡, 血液培养及组织活检提示侵袭性真菌感染。3 例(20.0%) 发生肠道感染、腹泻, 经抗感染治疗恢复正常, 1 例(6.7%) 发生视网膜巨细胞病毒感染, 视力下降, 予磷甲酸钠抗感染治疗后恢复。

2.3.3 出血 1 例出现脑出血(左侧基底节), 右侧肢体偏瘫, 予止血、脱水、制酸、维持电解质平衡及对症支持治疗后脑出血吸收, 肢体运动恢复正常。

2.3.4 VOD 无 1 例发生 VOD。

2.3.5 脏器功能损伤 1 例出现肝功能损害, 转氨酶、胆红素增高, 予 FK506 治疗后恢复。

3 讨 论

重型再生障碍性贫血起病急, 进展快, 预后差, 是血液科的急危重症, 短期内需大量输血及血小板维持生命, 未经治疗者多死于感染、出血^[2]。对于重型再生障碍性贫血的治疗手段包括异基因造血干细胞移植和免疫抑制剂治疗等^[3-6]。其中异基因造血干细胞移植为治疗重型再生障碍性贫血的最佳手段。为减少移植排斥反应, 优先选择 HLA 配型全相合的供者的异基因外周血、脐血或骨髓造血干细胞移植。然而, 随着单子女家庭增多, 从骨髓库中找到非血缘关系全相合造血干细胞供者概率仅为 1/100 000, 且耗时长, 对重型再生障碍性贫血患者而言可能在等待中因重症感染、贫血、出血等并发症失去生命^[7]。而半相合干细胞移植技术只要求供、受者一条 HLA 染色体相同, 每一个体几乎都有配型半相合的亲缘供者。因此, 由 HLA 半相合的亲缘供者的异基因造血干细胞移植可基本解决造血干细胞来源问题, 在有效控制 GVHD、感染和多器官衰竭等移植并发症的基础上, 有望成为治疗重型再生障碍性贫血的一种有效移植方式。本组病例中 15 例重型再生障碍性贫血患者均接受有血缘关系的异基因供者, 其中重型再生障碍性贫血 I 型 12 例, 重型再生障碍性贫血 II 型 3 例。HLA 全相合者 3 例, HLA 半相合者 8 例; HLA 1 个位点不合 2 例, 2 个位点不合的 2 例, 其中主侧血型不合 2 例, 次侧血型不合 3 例, 均获得移植成功。

文献报道, 不同的造血干细胞源可影响不同疾病的移植效果^[8-9]。急性重型再生障碍性贫血中可供选择的造血干细胞源主要是骨髓和外周血造血干细胞。骨髓中除含有造血恢复所需要的干细胞, 还具有基质细胞等成分, 后者有助于机体受损造血微环境的恢复, 被认为是理想的造血干细胞源; 而外周血造血干细胞移植后的受者中性粒细胞及血小板数恢复较快, 但外周血造血干细胞由于经过动员后 T 细胞含量达骨髓中的 10 倍以上, 可能存在更高的慢性 GVHD 风险, 生存率较低。本研究在造血干细胞移植治疗急性重型再生障碍性贫血患者时, 联合使用骨髓和外周血造血干细胞进行移植, 正是结合了两种不同来源的移植物的优势。脐血造血细胞来源广泛、采集方便、免疫原性低、移植存活率高并有助于减轻 GVHD 和促进骨髓造血重建等优点^[10], 已成为造血干细胞移植临床应用研究的新领域。本文 2 例重型再生障碍性贫血患者进行了联合骨髓和外周血及脐血造血干细胞移植治疗, 也促进骨髓造血重建成功, 后期疗效尚在进一步随访观察。本组 15 例重型再生障碍性贫血移植治疗成功的经验提示: 在充分考虑移植风险和积极应对移植并发症等风险、支持治疗的基础上可实施 HLA 半相合造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血; 脐血与骨髓、外周血造血干细胞混合移植是一种优化治疗方案, 有待于进一步完善和积累经验。

参考文献:

- [1] Buchholz S, Dammann C, Koenecke CH, et al. Allogeneic stem cell transplantation from related and unrelated donors for aplastic anaemia in adults—a single-centre experience[J]. *Ann Hematol*, 2008, 87: 551.
- [2] 叶任高, 陆再英. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 572.
- [3] Aki SZ, Sucak GT, Ozkurt ZN, et al. Allogeneic stem cell transplantation for severe aplastic anemia; graft rejection remains a problem[J]. *Transfus Apher Sci*, 2009, 40(1): 5.

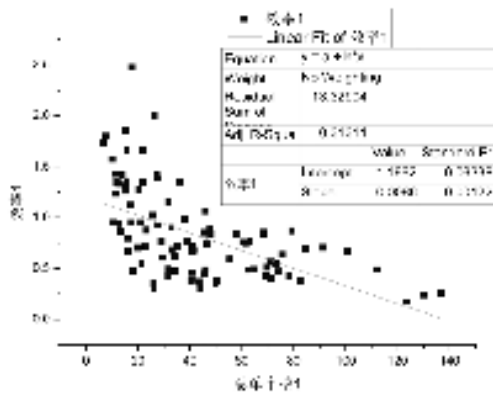


图1 自体外周血造血干细胞 MNC 采集效率与采集前 MNC 总数呈负相关

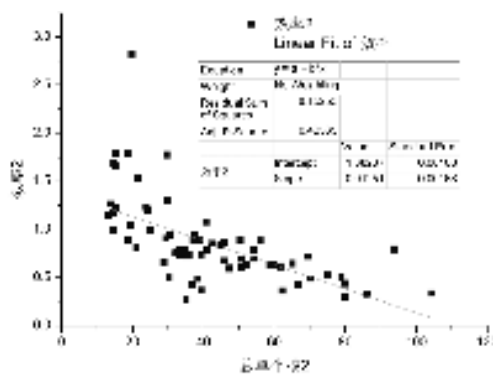


图2 异体外周血造血干细胞 MNC 采集效率与采集前 MNC 总数呈负相关

3 讨 论

近年来,造血干细胞移植技术在许多恶性血液病和实体瘤的治疗中广泛运用,其中,PBSCT 是临床运用最广泛和成熟的技术之一。异基因 PBSCT 后其造血及免疫功能均改为供者型,对治疗恶性肿瘤及某些先天性疾病有特殊意义^[3]。其移植成功的关键是造血干细胞数量必须达到移植所需要的最低阈值(MNC 4~6×10⁸/kg)才能在受者体内增殖与分化并重建造血与免疫功能。

本室对 CS3000plus 血细胞分离机采集 MNC 效率进行分

析,结果表明自体外周血造血干细胞与异基因外周血造血干细胞采集 MNC 效率与采集前体内总 MNC 数呈负相关。

采集效率大于 100% 的现象,可能与采集过程中诱导外周血中干/祖细胞的再补充有关^[4]。此现象在自体外周血造血干细胞采集占 22%,异基因外周血造血干细胞被采集占 19%。

而采集自体 MNC 效率大于异体 MNC 效率采集的原因可能与患者动员病程长、化疗次数多、化疗积分高、白细胞减少的患者动员效果不良有关^[5],患者骨髓受到病变细胞的侵犯动员效果差与采集效率呈负相关。但是采集产品中 MNC 与采前供者 MNC 呈正相关,提示采前外周血中相对高的 MNC,可获得较多 MNC 产品^[6]。

影响 MNC 收集效率因素除了有患者或供者的动员效果外,还有骨髓增生程度、血管通路良好建立、适当的全血、血浆流速和稳定的收集界面等原因。

因此,应用 Fenwal CS3000plus 血细胞分离机采集外周血造血干细胞收集理想产品时应尽可能地提高 MNC 比率并降低其他血液成分混杂。

参考文献:

[1] 闫洪敏,薛梅,王志东,等.骨髓联合外周血单倍体相合造血干细胞移植治疗白血病[J].中国实验血液学杂志,2009,17(5):1330.
 [2] 黄晓军.造血干细胞移植的临床免疫:现状与进展[J].中国免疫学杂志,2009,25(7):582.
 [3] 陆道培.造血干细胞移植——临床医学的重要进展[J].北京大学学报:医学版,2009,41(3):255.
 [4] 杨申森,刘开彦,陆道培.Cobe Spectra 与 Fenwal CS 3000 Plus 血细胞分离器外周血造血干/祖细胞的采集效能比较[J].中国实验血液学杂志,2005,13(2):245.
 [5] 任志宏,李建勇,吴汉新,等.化疗联合 G-CSF 动员恶性血液病患者外周血造血干细胞[J].江苏医药,2004,30(10):763.
 [6] 叶书来,应美爱,陈家萍.CS-3000plus 血细胞分离采集 37 名供者外周血造血干细胞效果的分析[J].中国输血杂志,2008,21(2):124.

(收稿日期:2010-03-25 修回日期:2010-06-12)

(上接第 1843 页)

[4] Armand P, Joseph H, Antin. Allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia[J]. Biology of Blood and Marrow Transplantation,2007,13:505.
 [5] 翟卫华,王玫,周征,等.异基因造血干细胞移植治疗再生障碍性贫血 16 例临床观察[J].中华血液学杂志,2007,28(2):78.
 [6] 王耀平,陈静.同种异基因造血干细胞移植救治极重型急性再生障碍性贫血的经验[J].中国实用儿科杂志,2005,20(11):653.
 [7] 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,2001:34.
 [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.
 [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.
 [10] Kelly SS, Sola CB, de Lima M, et al. Ex vivo expansion of cord blood[J]. Bone Marrow Transplant,2009,44(10):673.

(收稿日期:2010-03-25 修回日期:2010-06-12)