

· 论 著 ·

父供女单倍型相合造血干细胞联合子母单倍型相合脐血移植 治疗妊娠急性白血病 1 例并文献复习

曾韞璟, 张 曦, 陈幸华[△], 高 力, 高 蕾, 张 诚, 王庆余
(第三军医大学新桥医院血液科, 重庆 400037)

摘要:目的 研究单倍型相合造血干细胞联合单倍型相合脐血移植治疗急性白血病的效果。方法 患者女性, 26 岁, 因停经 37⁺⁵ 周, 产前检查发现血小板减少于 2008 年 8 月 18 日入院。骨髓细胞学检查诊断为急性髓系白血病 M6 型。2008 年 8 月 19 日行剖宫产术, 同时采集并冻存脐带血 35 mL。2009 年 1 月 7、8、9 日行父供女单倍型相合造血干细胞联合子母单倍型相合脐血移植。结果 移植后 13 d 造血功能重建, 过程中未发生严重不良反应。移植后 14 个月, 患者无明显慢性 GVHD 表现, 骨髓 FISH 检查性染色体为 XY, 血型转为其父亲血型, 骨髓细胞学检查正常。结论 亲缘间单倍型相合造血干细胞联合单倍型相合脐血移植可解决供者来源困难, 促进造血功能重建, 减轻 GVHD, 是治疗妊娠急性白血病的有效手段。

关键词:急性白血病; 妊娠; 造血干细胞移植

中图分类号: R733.71; R392.4

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)14-1848-02

Treatment of acute leukemia during pregnancy by haploidentical father hematopoietic stem cell combined haploidentical umbilical cord blood transplantation and review of the literature

ZENG Yun-jing, ZHANG Xi, CHEN Xing-hua[△], et al.

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

Abstract: Objective To study the outcome of acute leukemia patients treated by haploidentical hematopoietic stem cell combined haploidentical umbilical cord blood transplantation. **Methods** Female patient, 26 years old, prenatal examinations showed thrombocytopenia by 37⁺⁵ weeks menopause on August 18, 2008. Bone marrow cytology and diagnosed as acute erythroleukemia. Cesarean section was practiced on August 19, 2008, 35mL cord blood was also cryopreserved. Haploidentical father hematopoietic stem cell combined haploidentical umbilical cord blood transplantation was practiced during January 7-9, 2009. **Results** Hematopoietic reconstruction existed by 13 days after transplantation, with out serious toxic reaction and complication. Chronic GVHD had not been observed by 14 months after transplantation. Immune fluorescence in situ hybridization showed that the patient's Bone marrow cell sex chromosome turned to XY, blood type was the same as the father. Bone marrow and peripheral blood examination got normal and complete remission. **Conclusion** Relatives haploidentical hematopoietic stem cell combined umbilical cord blood is a feasible resource of stem cells. Combined transplantation can promote hematopoietic reconstitution and reduce GVHD, was an effective treatment of leukemia during pregnancy.

Key words: acute leukemia; pregnancy; gestation; hematopoietic stem cell transplantation

造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)是治疗急性白血病的有效手段。人类组织相容性抗原(human leucocyte antigen, HLA)单倍型相合造血干细胞移植可以立即找到合适供者, 但存在植入失败率高、移植物抗宿主病(GVHD)等不利因素。本科前期研究发现人脐血基质细胞具有支持造血重建、调控免疫、减轻 GVHD 的作用。故本科采取亲缘间 HLA 单倍型相合造血干细胞联合脐血移植治疗妊娠急性白血病 1 例, 取得良好效果, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 患者, 女, 26 岁, 因“停经 37⁺⁵ 周, 发现血小板减少 5 d”于 2008 年 8 月 18 日入院。患者于妊娠 37⁺⁵ 周行产前检查时发现血小板减少为 $5 \times 10^9/L$, 外院骨髓穿刺检查拟诊为“白血病”, 转入本院。2008 年 8 月 19 日在本院妇产科行剖宫产术, 娩出一健康活男婴, 同时采集并冻存脐带血 35 mL; 2008 年 8 月 23 日转入血液科。妊娠前 3 个月家中曾装修房屋, 余既往史、个人史无特殊。入院时血常规: WBC $21.65 \times 10^9/L$, HGB 72 g/L, PLT $8 \times 10^9/L$ 。骨髓象: 骨髓增生明显活跃, 其

中粒系占 25%, 红系占 47%, 粒红比 0.53。原始粒细胞增多占 5.5%。单核系统异常增生占 20%, 以原幼单核细胞为主。红系增生明显活跃, 可见芽孢、花瓣等核畸变。根据 FBA 标准诊断为急性髓系白血病 M6 型。8 月 26 日起给予 TA 方案 [吡柔比星 20 mg d1~3, 阿糖胞苷(Ara-C)150 mg d1~7] 化疗。化疗后复查骨髓: 提示部分缓解。9 月 23 日起给予中剂量 MA 方案(米托蒽醌 8 mg d1~2, 6 mg d3; 阿糖胞苷 1 g d1~3)化疗。2008 年 10 月 22 日骨髓细胞学检查示完全缓解。后依次予 MA、HAE 方案巩固化疗。共行腰穿鞘内化疗 4 次(甲氨蝶呤 10 mg+阿糖胞苷 50 mg+地塞米松 5 mg)除第 1 次脑脊液检查见少量涂抹细胞外, 后 3 次均正常。

1.2 方法

1.2.1 移植前检查 患者血型: AB, Rh(D); 血常规: WBC $9.54 \times 10^9/L$, HGB 48 g/L, PLT $84 \times 10^9/L$; 肝肾功能、凝血功能、甲状腺功能、血糖正常; 抗人球蛋白试验直接、间接均阴性; TORCH: 弓形体、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒抗体 IgG 阳性, IgM 均阴性; EB 病毒抗体 IgG、IgM 均阴性; 乙肝三对: 抗-HBs 阳性, 余阴

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

性。腹部 B 超、心电图、胸部 CT 未见明显异常。妇科、口腔科、耳鼻喉科、普外科专科检查未见明显异常。

供者(患者父亲)血型: B, Rh(D); 血常规、肝肾功能、凝血功能、甲状腺功能、血糖正常; 抗人球蛋白试验直接、间接均阴性; TORCH: 弓形体、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒抗体 IgG 阳性, IgM 均阴性; EB 病毒抗体 IgG、IgM 均阴性; 乙肝三对: 全阴性。胸片、心电图未见明显异常。组织相容性抗原检测及血型结果见表 1。

表 1 组织相容性抗原检测及血型

项目	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	血型
患者	02,11	07,58	01,03	AB, Rh(D)
供者(患者父亲)	11,11	07,27	—	B, Rh(D)
脐带血	11,11	07,40	01,14	A, Rh(D)

1.2.2 预处理 自 2008 年 12 月 30 日开始移植前预处理, 具体方案如下: 移植前 8 d 洛莫司汀(CCNU) 0.2 g/m²; 移植前 6~7 d Ara-C 4 g/(m²·d); 移植前 3~5 d 白消胺(BU) 0.8 mg/kg×6 h; 移植前 2~3 d 环磷酰胺(CTX) 1.8 g/(m²·d); 移植前 2~5 d 抗胸腺细胞球蛋白(ATG)5 mg/(kg·d)。

1.2.3 移植物抗宿主病(GVHD)的预防 采用联合环孢菌素 A(cyclosporine A, CsA)、霉酚酸酯(mycophenolate mofetil, MMF)及短程甲氨蝶呤(MTX)方案预防 GVHD。CsA 1.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 移植前 5 d 开始持续 24 h 静脉滴注, 移植前 1 d 增量至 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 造血重建后改口服剂量加倍。使用 CsA 期间每周监测 CsA 浓度。根据 CsA 浓度调整药量, 使 CsA 浓度维持在 200~400 ng/mL。于移植后 150 d 逐渐减量。MTX 于移植后第 1 天给予 15 mg/m² 静脉滴注, 第 3、6 和 11 天给予 10 mg/d 静脉滴注。MMF 于移植前 1 d 至移植后 100 d 给药, 0.5 g×2 次/日。

1.2.4 造血干细胞和脐带血的输注 移植前 1、2、3 d 依次回输予供母脐带血(有核细胞数 1.696×10⁷/kg)、父供女外周血干细胞(有核细胞数 9.5×10⁸/kg, CD34⁺ 细胞数 4.08×10⁶/kg)、父供女骨髓干细胞(有核细胞数 3.509×10⁸/kg, CD34⁺ 细胞数 4.56×10⁶/kg)。

2 结 果

移植后 9~13 d 出现上呼吸道感染, 发热, 最高体温 38.5℃, 经亚胺培南、替考拉宁抗感染治疗后热退, 呼吸道症状消失。移植后 13~26 d 腹泻, 每日腹泻量在 100~500 mL, 大便培养未见致病菌生长, 予蒙脱石、复方谷氨酰胺等止泻对症治疗后好转。移植后 20~57 d 出现反复脐周绞痛, 考虑为 GVHD, 予甲基强的松龙 1.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 治疗后疼痛缓解, 至移植后 4 个月患者仍偶有脐周隐痛, 不需用药可自行缓解, 对生活影响不大; 4 个月后消化道症状完全消失。

移植后 13 d 造血重建。移植后 120 d 出现四肢肌肉酸痛, 未经特殊处理自行缓解。移植后 6 个月复查骨髓提示红系比例增高, 原始红细胞 2%, 早幼红细胞 4%, 中幼红细胞 20%; 考虑有复发可能, 环孢素加快减量至 75 mg/12 h; 移植后 8 个月复查骨髓正常。现为移植后 14 个月, 环孢素已减停, 无明显慢性 GVHD 表现及其他移植相关并发症, 骨髓细胞 FISH 检查性染色体为 XY, 血型已完全转为 B 型, 外周血及骨髓细胞学检查正常。

3 讨 论

妊娠合并白血病较罕见, 国外报道发病率约为同期孕妇的

1/75 000~100 000^[1]。但由于其血细胞异常及凝血功能障碍, 对母儿危害较大, 可造成流产、早产、胎儿宫内发育异常、死胎等; 产后出血及感染等并发症发生率增加, 可使病情加重, 甚至造成孕产妇死亡。一般认为妊娠中晚期化疗对宫内胎儿影响较小。如果接近分娩时行化疗治疗, 可能造成新生儿全血细胞减少^[2]。本例患者确诊时已接近足月妊娠, 除血小板减少外无出血、感染等危险因素, 故经全院讨论决定先行剖宫产终止妊娠后行联合化疗, 以减少对胎儿的影响。

人类主要组织相容性抗原(human leucocyte antigen, HLA)相合的亲缘相关或无关供者是异基因造血干细胞移植最合适的供者。然而, 仅有 25%~30% 的患者能找到 HLA 全相合的亲缘供者; 在无关人群中找到相合供者的概率是 1/5 万~1/10 万, 甚至更低。与 HLA 全相合造血干细胞移植比较, 单倍型相合移植植入失败率高, 造血功能重建缓慢, GVHD 重, 免疫功能重建时间迟、致死性感染发生率高、移植相关死亡率高等诸多障碍。但 HLA 单倍型相合移植也有以下优点: (1) 需要移植的患者可以立即找到合适的供者; (2) 可以根据年龄、疾病状态以及供、受者之间不同的杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer-cell immunoglobulin-like receptor, KIR) 等多方面因素选择最佳的供者; (3) 可以有效控制细胞采集和移植组成成分; (4) 如果移植后需要, 可以立即获得供者来源的细胞治疗^[3]。本例患者经 2 个疗程联合化疗后获得完全缓解, 第 3 个疗程化疗后复查骨髓提示原始细胞比例 5.5%, 有复发可能, 应尽快行异基因造血干细胞移植。在移植供者选取上, 因患者为独生子女, 无同胞供者, 寻找无血缘关系供者周期长, 可能导致白血病复发错失移植时机。故决定选择其父亲为移植供者。

实验研究表明, 人脐血中存在基质细胞的前体细胞, 能通过特定的细胞因子组合使人脐血源基质细胞(human umbilical cord blood stromal cells, hUCBDSCs)得以有效扩增; 扩增后的 hUCBDSCs 在细胞成分上与人骨髓基质细胞相似^[4], 能够分泌表达粒巨噬细胞生长因子(GM-CSF)、促血小板生成素(TPO)、干细胞因子(stem cell factor, SCF) 等多种细胞因子。具备重建造血微环境、支持造血重建、调控免疫、减轻 GVHD 的作用^[5-8]。

该例患者选择其父亲为第一供者, 联合其子脐带血移植, 以期达到促进造血功能重建、减轻 GVHD 的作用。患者移植后 13 d 造血重建成功, 至移植后 14 个月未发生严重 GVHD 及其他移植相关并发症, 骨髓细胞学检查正常。亲缘间半相合造血干细胞联合脐血移植可解决供者来源困难, 促进造血功能重建, 减轻 GVHD, 是治疗妊娠急性白血病的有效手段。

参考文献:

[1] Marshall A, Lichtman, Ernest B, et al. Williams hematology(ed7)[M]. New York: McGraw-Hill, 2007: 1047.
 [2] Firas AS, Demeckova E, Mistrik M. Leukemia in pregnancy[J]. Bratisl Lek Listy, 2008, 109(8): 364.
 [3] 李新, 邱录贵. HLA 半相合造血干细胞移植的研究进展[J]. 中华血液学杂志, 2005, 26(4): 382.
 [4] Gao L, Chen X, Zhang X, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cell, a new resource of feeder layer to expand human umbilical cord blood CD34⁺ cells in vitro[J]. Blood Cells Mol Dis, 2006, 36(2): 322.
 [5] 张曦, 陈幸华, 司英健, 等. 人脐血源基质(下转第 1851 页)

悉预防移植物抗宿主病,两者均为免疫抑制剂。2008 年 5 月患者因带状疱疹、腹部包块入院,肠镜提示为结肠肝区巨大溃疡,活检示 B 细胞淋巴瘤,考虑为移植后淋巴细胞增殖性疾病(PTLD),患者移植后 10 个月继发第 2 肿瘤。此后予美罗华+CHOP 方案治疗 2 个疗程,随访至今患者仍无病生存。

病例 3: 张某女, 57 岁, 2006 年 9 月确诊为急性淋巴细胞白血病-L2 型(ALL-L2), 予 3 次联合化疗后达到完全缓解。于 2007 年 11 月予 CTOD+MTX(2 g)方案动员自体外周血造血干细胞, 于 2008 年 12 月予大剂量 CEAC(CTX+依托泊苷+Ara-C+洛莫司汀)方案预处理, 移植过程顺利, 移植后 12 d 造血功能重建, 移植后复查骨穿提示完全缓解, 评定造血干细胞移植疗效可。2009 年 5 月入院复查骨髓细胞学示: 急性髓细胞白血病-M2 型(AML-M2)。予 TA(吡柔比星+Ara-C)方案化疗后未缓解, 患者院外死亡。

2 讨论

近年, 恶性血液病发病率较前明显上升, 临床上造血干细胞移植是治疗血液疾病的有效方法, 但是移植后继发第 2 肿瘤是造血干细胞移植的严重远期并发症, 影响患者治疗效果和生存率。本文 3 例患者中 2 例自体造血干细胞移植后继发急性白血病, 1 例继发 PTLD, 且其中 2 例继发急性白血病的治疗疗效差, 6 个月内死亡。

移植后继发第 2 肿瘤的可能原因主要是大剂量、长时间使用化疗药物, 病毒感染, 以及联合化疗所引起机体的免疫状态发生改变。3 例患者中在移植前均有长时间+多个疗程化疗的病史, 移植预处理方案中均使用大剂量化疗药物, 且烷化剂的使用剂量大。有资料表明大剂量使用烷化剂有继发第 2 肿瘤的可能, 可能原因: (1) 基因畸变。畸变的基因在一定的条件可以形成异常的克隆, 从而产生癌细胞, 导致移植后继发第 2 肿瘤; 其中烷化剂是公认的导致诱变剂, 还有生物碱类及其他。(2) 免疫监视功能改变。各种化疗与移植前预处理方案中使用抗肿瘤物质多数有细胞毒作用, 使机体的免疫功能遭受严重破坏, 然而人类每天都有各种细胞的突变, 当抑制的免疫系统不能识别细胞突变后, 降低对肿瘤的免疫耐受性, 就有可能继发第 2 种肿瘤^[1]。异基因移植后使用免疫抑制剂是为了抑制机体的免疫功能, 从而降低机体产生强烈的排斥反应, 但在一定程度上, 也降低了对肿瘤的耐受, 也使继发第 2 肿瘤的危险性相应增高, 本文病例 2 就是移植前及移植后均使用免疫抑制剂, 且移植后口服免疫抑制剂的时间长。移植后发生第 2 肿瘤的机制还有可能是有巨细胞病毒(EBV)的感染。Wanger 等^[2]通过定量 PCR 监测 85 例造血干细胞移植(HSCT)患者的 1300 份标本的 EBV-DNA 水平, 发现 EBV-DNA 处于较低水平

的患者均未发生 PTLD, 25 例患者 EBV 水平增高, 其中 8 例发展为 PTLD, 提示 PTLD 的发生与 EBV 关系密切。由于 B 淋巴细胞表面存有 EBV 特异性受体, B 淋巴细胞作为 EBV 的靶细胞, 可经 EBV 感染而转化, 被转化的细胞多处于潜伏状态, 当机体免疫状态发生改变时, EBV 可被激活、复制, 甚至转化机体的细胞呈无限繁殖状态, 最终导致 PTLD 的发生^[3]。

本院 3 例造血干细胞移植后继发第 2 肿瘤的病例中, 其中病例 2 继发 PTLD 后治疗疗效可, 但病例 1 及病例 3 继发第 2 肿瘤后治疗的疗效差。考虑可能的原因为: (1) 移植前大剂量及多个疗程的化疗使患者对化疗已经产生了耐受, 从而使造血干细胞移植后继发第 2 肿瘤的治疗疗效差; (2) 造血干细胞移植后的患者机体免疫功能仍未完全恢复, 不能对疾病产生足够的免疫应答反应; (3) 多数患者造血干细胞移植后因自身原因不能做到定期的随访, 使疾病未能及早发现并诊治。

为尽可能减少移植后继发第 2 肿瘤的发生, 临床治疗应注意以下问题: (1) 选择造血干细胞移植的时机。多数患者因自身原因未能在最好的时机进行造血干细胞移植, 耽搁了移植的最好时机, 使其在造血干细胞移植前联合化疗的剂量及疗程增多, 增加了继发第 2 肿瘤的危险性。(2) 尽可能少地使用烷化剂及表鬼白毒类可能引起继发第 2 肿瘤的药物。尽可能做到使化疗药物的剂量能达到最好的杀死肿瘤细胞的作用, 也尽可能避免因剂量过大而导致继发第 2 肿瘤的可能性增加。(3) 造血干细胞移植后应做好定期随访工作。多数造血干细胞移植后的患者未能定期进行随访, 延误了疾病的诊治, 使造血干细胞移植后继发第 2 肿瘤的治疗难度增大。

总之, 针对患者病情采用个体化的治疗, 在不降低疗效的前提下, 尽可能避免或减少可能导致第 2 肿瘤发生药物的选择是减少移植后第 2 肿瘤发生的根本途径。

参考文献:

- [1] 肖毅, 刘文励. 异基因造血干细胞移植后继发第二肿瘤的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(9): 686.
- [2] Wanger HJ, Cheng YC, Huls MH, et al. Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease[J]. Blood, 2004, 103(10): 3979.
- [3] Young LS, Murray PG. Epstein Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours[J]. Oncogene, 2003, 22(33): 108.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-05-26)

(上接第 1849 页)

- 细胞移植促进裸鼠造血损伤修复的实验研究[J]. 重庆医学, 2007, 36(7): 1704.
- [6] 高蕾, 陈幸华, 张曦, 等. 人脐血源基质细胞促进巨核细胞增殖的实验研究[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(7): 1423.
- [7] 张诚, 陈幸华, 张曦, 等. 人脐血源基质细胞对小鼠淋巴细胞

增殖作用的研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(21): 2427.

- [8] Hao L, Zhang C, Chen XH, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells suppress xenogeneic immune cell response in vitro[J]. Croat Med J, 2009, 50(4): 351.

(收稿日期: 2010-03-25 修回日期: 2010-05-26)