

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.29.005

AML 行异基因造血干细胞移植后复发应用 FLAG 方案联合 G-DLI 的疗效研究

曹海洲,段显琳,袁海龙,曲建华,王 蕾,徐建丽,王新有,刘 颖,陈 刚,古力巴旦木·艾则孜,江 明[△]
(新疆医科大学第一附属医院血液病中心/新疆维吾尔自治区血液病研究所,新疆乌鲁木齐 830011)

[摘要] **目的** 观察急性髓系白血病(AML)行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后血液学复发,应用 FLAG 方案联合粒细胞集落刺激因子动员的供者淋巴细胞输注(G-DLI)治疗的临床疗效。**方法** 对于接受异基因外周血造血干细胞移植(allo-PB-SCT)后复发的患者,给予 FLAG 方案化疗后在白细胞降至最低点时给予 G-DLI,观察白血病缓解及生存情况,并通过 PubMed 等检索进行文献复习。**结果** 3 例移植术后复发接受 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗者均再次获得完全缓解(CR)。1 例 G-DLI 后无病存活(DFS)13 个月,后出现中枢复发,但骨髓一直处于缓解状态,23 个月后因多脏器功能衰竭死亡,总生存(OS)为 23 个月。G-DLI 后发生皮肤Ⅱ度急性高移植抗宿主病(GVHD)及肝脏Ⅰ度急性 GVHD,经处理后控制,未发生慢性 GVHD。1 例 G-DLI 后 12 个月再次骨髓复发,放弃治疗于 1 个月后死亡,DFS 及 OS 分别为 12、13 个月。G-DLI 后发生局限性皮肤慢性 GVHD,给予小剂量免疫抑制剂后得到控制。1 例 G-DLI 后无病存活至今,DFS 为 16 个月。G-DLI 后发生局限性皮肤慢性 GVHD,给予小剂量免疫抑制剂后得到控制。**结论** FLAG 方案联合 G-DLI 可能是 AML 行 allo-HSCT 术后复发的有效治疗方式之一。

[关键词] 白血病,髓细胞,急性;FLAG;供者淋巴细胞输注

[中图分类号] R733.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)29-4045-03

Observation curative effect of FLAG combination G-DLI for relapse of AML after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Cao Haizhou, Duan Xianlin, Yuan Hailong, Qu Jianhua, Wang Lei, Xu Jianli, Wang Xinyou, Liu Ying, Chen Gang, Gulibadamu · Aizezi, Jiang Ming[△]

(Hematologic Disease Center, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University/Xinjiang Uygur Autonomous Region Research Institute of Hematology, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

[Abstract] **Objective** To observe clinical curative effect of the FLAG regimen combined donor lymphocyte infusion after granulocyte colony stimulating factor(G-CSF) mobilization(G-DLI), for the acute myeloid leukemia (AML) of allogeneic Peripheral blood hematopoietic stem cell trans-plantation (allo-HSCT) after recurrence of hematology. **Methods** For the patients with recurrence after allo-HSCT, giving the FLAG regimen chemotherapy when the WBC dropped to the lowest point, followed by giving G-DLI that infusion peripheral blood stem cell from the original donors, to observe curative effect and survival situation. And searched the literature review through the PubMed etc. **Results** Through FLAG regimen combined G-DLI, 3 cases of relapse after transplantation again obtained complete remission (CR). Case 1; disease-free survival (DFS) was 13 month and overall survival(OS) was 23 months after G-DLI. The patient has been the central recurrence and remission in bone marrow, he was dead after 23 months due to multipleorgan function failure. He occurred Ⅱ acute GVHD in Skin and Ⅰ acute GVHD in liver after G-DLI and obtained effective control, not chronic GVHD. Case 2; DFS and OS were 12 months and 13 months, as bone marrow relapse again and giving up treatment, so died a month later. Respectively, he has limitations chronic GVHD in skin after G-DLI. Case 3; DFS was 16 months after G-DLI since the disease-free survival, had limitations GVHD in skin that was control for given small dose of immunosuppressive drugs. **Conclusion** Joint FLAG scheme and G-DLI may be one of the effective treatment of postoperative recurrence of allo-HSCT.

[Key words] leukemia, myeloid, acute; FLAG; donor lymphocyte infusion

FLAG 方案用于治疗难治复发性急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)在国内外已取得共识。同时对于接受异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)术后血液学复发者,供者淋巴细胞输注(DLI)为多数移植中心所采用,DLI 是一种过继性细胞免疫治疗,其作用是进一步清除体内残存的白血病细胞,是 allo-HSCT 后移植抗白血病(graft-versus-leukemia, GVL)作用的进一步延伸。但 DLI 在临床应用中最大的风险是其伴随的高移植抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)及骨髓抑制。而输注经 G-CSF 动员的外周血干细胞(peripheral blood stem cell, PBSC)可以有效地防止 GVHD 的发生,GVL 作用又不受影响。Pan 等^[1]所进行的小鼠研究证实了以上的观点,因而提出 G-CSF 动员可以分离 GVL 与 GVHD。同时早期的临

床研究发现机体内的辅助淋巴细胞可分为Ⅰ型和Ⅱ型,其中Ⅰ型细胞分泌 IL-2 和干扰素- γ ,两者介导急性 GVHD 的发生,Ⅱ型细胞分泌 IL-4 和 IL-10,可抑制急性 GVHD。而 G-CSF 可诱导淋巴细胞向Ⅱ型细胞转化,从而减轻 GVHD。故目前 G-DLI 有取代 DLI 的趋势。DLI 疗效与肿瘤负荷、输注细胞剂量及移植后缓解时间长短等有关,对于 allo-HSCT 术后肿瘤负荷高者 DLI 联合化疗以提高疗效已达成共识,但 DLI 前究竟采取何种方案化疗意见不一,如 Choi 等^[2]在 DLI 前给予 EIA 方案化疗,Huang 等^[3]在 DLI 前给予 DA 或 ME 方案化疗,本院对于 AML 行异基因外周血造血干细胞移植(allo-PBSCT)术后血液学复发的患者设计了 FLAG 方案联合 G-DLI 的方法,取得了较好的疗效,且此种方法未见明确报道,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 3 例患者均为 2009 年 8 月至 2013 年 10 月在本院血液病中心接受 allo-PBSCT 术后血液学复发者,其中 AML-M2 2 例、CML 急髓变 1 例,均为女性,3 例均接受 HLA 基因位点为 6/6 位点相合的同胞供者的单体外周血造血干细胞移植。移植前均无 GVHD 发生,分别于移植术后 135 d、126 d、160 d 发生血液学复发。

1.2 治疗方法

1.2.1 FLAG 方案 Flud 30 mg·m⁻²·d⁻¹×5 d,30 min 内静脉滴注完毕;Ara-c(1.0~2.0)g·m⁻²·d⁻¹×5 d,Flud 后 4 h,维持 4 h 以上;G-CSF 300 μg/d,化疗前 24 h 开始直到中性粒恢复至大于 1.0×10⁹/L。

1.2.2 allo-PBSCT 复发后接受 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗情况 3 例患者均接受亲缘间全相合 allo-PBSCT,复发后均给予化疗,化疗后在白细胞降至最低点给予 G-DLI 治疗,所输注的细胞均为经 G-CSF 动员过的原移植供者的 PBSC。病例 1:患者 AML-M2 移植术后 135 d 复发,骨髓原始细胞 45%,复发后首先给予标准的 DA 方案联合 G-DLI 治疗,输注单个核细胞数(MNC)为 2×10⁸/kg,输注前给予小剂量的环孢素预防 GVHD,未发生 GVHD,2 周后复查骨髓未缓解,第 2 次换用 ME 方案联合 G-DLI 治疗,输注 MNC 仍为 2×10⁸/kg,10 d 后再次输注 MNC 2×10⁸/kg,为增强 GVL 效应 G-DLI 过程中均未应用免疫抑制剂,未发生 GVHD,2 周后复查骨髓仍未缓解,骨髓原始细胞 42%,第 3 次于复发后 2 个月换用 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗,此次输注 MNC 为 4×10⁸/kg,同样未应用免疫抑制剂预防 GVHD,4 周后复查骨髓为完全缓解(CR),CR 3 周后出现急性 II 度皮肤及 I 度肝脏 GVHD,经处理后好转,后每月随访至再次 CR 后 13 个月时出现逐渐加重的头痛,头颅 MRI 未见异常,脑脊液可见幼稚的白血病细胞,诊断为中枢神经系统白血病(central nervous system leukemia,CNS-L),复查骨髓为 CR,给予腰穿鞘注并颅脑照射治疗,治疗 2 个月后复查脑脊液正常,骨穿仍为 CR,再次 CR 后 21 个月出现全身疼痛并浅表淋巴结肿大,考虑髓外复发,建议其行淋巴结活检及复查骨穿,家属拒绝放弃出院,再次 CR 后 23 个月因髓外复发致多脏器功能衰竭而死亡。病例 2:患者 CML(CP)移植术后 126 d 急髓变,骨髓原始细胞 36%,鉴于病例 1 治疗经验直接给予 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗,输注 MNC 为 4×10⁸/kg,并给予小剂量环孢素预防 GVHD,11 d 后血象恢复,停用免疫抑制剂,G-DLI 后 2 周复查骨髓为 CR,持续 12 个月后再次骨髓复发,患者放弃于 1 个月后死亡。病例 3:患者 AML-M₂ 移植术后 160 d 复发,骨髓原始细胞 56%,因经费原因暂无法行 G-DLI 治疗,给予 CAG 方案再诱导达到 CR 后 CAG 原方案巩固 2 个疗程,骨髓仍为 CR,筹足经费后行 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗,MNC 输注量为 4×10⁸/kg,并给予小剂量环孢素预防 GVHD,无病存活至今 16 个月。

1.2.3 辅助治疗 化疗过程中均辅以止吐、抑酸、护心、保肝、水化碱化尿液等治疗;当粒细胞下降后给予漱口、肠道除菌及肛周坐浴,合并感染时完善感染指标检测并给予积极的抗感染治疗;当 PLT<20×10⁹/L 或有明显出血倾向时输注 PLT,Hb<70 g/L 时输注红细胞,所有血制品输注前均给予照射;待白细胞恢复正常(G-CSF 停用至少 3 d)复查骨髓象评价疗效。

2 结果

病例 1:复发时骨髓原始细胞 45%,先后行 DA 方案联合 G-DLI 及 ME 方案联合 G-DLI 治疗均无效,复查骨髓原始细胞 42%,于复发后 2 个月换用 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗达

到 CR,无病存活(DFS)为 13 个月,后出现 CNS-L,骨髓仍为 CR,总生存(OS)为 23 个月,后因多脏器功能衰竭而死亡。FLAG+G-DLI 后 35 d 发生皮肤 II 度急性 GVHD 及肝脏 I 度急性 GVHD,经处理后控制,未发生慢性 GVHD。

病例 2:复发时骨髓原始细胞 36%,复发后直接行 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗达到 CR,DFS 为 12 个月后再次骨髓复发,放弃治疗 1 个月后死亡,OS 为 13 个月。FLAG+G-DLI 后 112 d 发生局限性皮肤慢性 GVHD,经给予小剂量免疫抑制剂后得到控制。

病例 3:复发时骨髓原始细胞 56%,首先给予 CAG 方案再诱导达到 CR,后原方案巩固 2 个疗程后复查骨髓仍为 CR,再行 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗,DFS 为 16 个月,存活至今。FLAG+G-DLI 后 124 d 同样发生局限性皮肤慢性 GVHD,经给予小剂量免疫抑制剂目前排异得以控制。

3 讨论

FLAG 方案用于治疗难治复发性 AML 在国内外已取得共识^[4-5]。AML 行 allo-HSCT 后白血病复发治疗难度大,预后极差,DLI 为多数移植中心所采用。同时因氟达拉滨兼具有细胞毒和免疫抑制作用,在移植过程中对 GVL 有促进作用^[6-7],氟达拉滨还被广泛应用于非清髓异基因造血干细胞移植的预处理过程之中。

allo-HSCT 术后复发接受 DLI 治疗者,影响 DLI 疗效的因素较多,其中对于高肿瘤负荷者为减轻肿瘤负荷提高疗效,DLI 前给予适量的化疗已证明能明显提高疗效^[2,8],但化疗采用何种方案意见不一,如 Choi 等^[2]在 DLI 前给予 EIA 方案化疗,Huang 等^[3]在 DLI 前给予 DA 或 ME 方案化疗。本研究的 3 例患者,2 例为 AML 移植术后复发,1 例为 CML 移植术后急髓变,复发后体内肿瘤负荷均较高,作者在 G-DLI 前给予化疗,对于病例 1 复发后作者首先给予既往有效的 DA 方案、ME 方案分别联合 G-DLI 治疗均无效,最后换用既往未曾用过的 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗后达到 CR,后经检测转为完全供者型。鉴于病例 1 治疗有效,在随后的 2 例移植后复发者均给予 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗,经上述治疗后目前 3 例患者死亡 2 例、DFS 1 例,死亡 2 例患者 DFS 分别为 13 个月、12 个月,存活的 1 例 DFS 16 个月且仍为完全供者型造血,DFS 均超过 1 年。

本研究认为 AML 行 allo-HSCT 后血液学复发接受 FLAG 方案联合 G-DLI 有如下特点:首先,FLAG 方案对难治复发性 AML 治疗有较高的疗效^[4-5]。对于接受 allo-HSCT 者由于多次化疗包括移植前预处理,应用过多种化疗药物,复发后易产生耐药,包括既往曾有效的药物。本研究的病例 1 患者复发后首先应用既往曾有效的 DA 方案及 ME 方案化疗联合 G-DLI 均无效,而换用 FLAG 方案联合 G-DLI 后则有效,无病存活 13 个月后再发生 CNS-L,G-DLI 后 23 个月因多脏器功能衰竭而死亡,死亡前多次查骨髓均为 CR,说明在此时 FLAG 方案联合 G-DLI 对骨髓仍然有效。病例 2 复发后直接应用 FLAG 方案联合 G-DLI 一次即达到 CR。病例 3 因经费原因未能直接应用 FLAG 方案联合 G-DLI,而是给予 CAG 方案化疗获得 CR,但之后给予 FLAG 方案联合 G-DLI 治疗后仍为 CR 且经检测为完全供者型。上述 3 例治疗经过说明对于 AML 行 allo-HSCT 术后复发者选择 FLAG 方案化疗是可行的。其次,本研究输注的是 G-DLI 而非 DLI。自 1989 年报道 1 例 ALL 接受 allo-HSCT 后白血病复发者采用 DLI 治疗获得成功以来^[9],许多研究已肯定 DLI 对治疗各种类型白血病行 allo-HSCT 后白血病复发有较好的疗效^[10]。但同时随着 DLI

的应用发现 DLI 伴有较高的 GVHD 发生率及骨髓抑制的风险,使其治疗被部分抵消。在随后的研究^[3]中发现 G-DLI 因 G-CSF 对供者淋巴细胞亚群有修饰作用,使促进 GVHD 发生的 Th1 细胞比例下降,而抑制 GVHD 的 Th2 细胞比例增加,故减低了 GVHD 的发生率,而 GVL 作用并未减弱甚至有所增强,故现在 AML 复发后多采用 G-DLI 治疗。同时经 G-CSF 动员后采集的外周造血干细胞不仅含有 DLI 所需要的能够诱发 GVL 作用的淋巴细胞,同时还富含一定量的 CD34⁺ 细胞,这对于移植术后复发重建供者造血是有益的,这从本文这 3 例患者经 FLAG 方案联合 G-DLI 不仅再次得到缓解而且经检测恢复供者造血等到了证实。然而,从西雅图研究小组的比较研究中未能证明,采用 G-CSF 动员的 DLI 在防止骨髓衰竭促进造血恢复上的优越性^[11]。再次,本研究是在 FLAG 方案化疗后在白细胞降至最低点时给予 G-DLI 的。对于 allo-HSCT 术后复发 DLI 前给予化疗是明确的,但化疗后何时给予 DLI 文献中并没有明确提及,本研究选择在 FLAG 方案化疗后在白细胞降至最低点时给予 G-DLI,一方面是因为 FLAG 方案在难治复发性 AML 有较高的再缓解率,另一方面氟达拉滨在非清髓 allo-HSCT 的预处理过程中被广泛应用说明了氟达拉滨不仅具有细胞毒作用^[6-7],还有诱导免疫耐受促进 GVL 作用,故将 FLAG 方案与 G-DLI 序贯结合治疗,发挥协同作用,使 AML 移植后复发获益最大化。最后,本研究输注的 MNC 较高。DLI 治疗的最佳剂量是既能诱发 GVL 作用,又不引起严重的 GVHD,但目前关于 DLI 的剂量尚无统一的标准^[12]。有研究发现分次序贯性输注方案(EDR)DLI 与 GVHD 的减少相关,提示早期低剂量 T 细胞输注可能引起某种程度的免疫耐受,然而 EDR DLI 通常不足以控制侵袭性较高的恶性疾病如急性白血病^[13]。本研究中的 3 例患者复发后体内肿瘤负荷较高,为提高疗效 G-DLI 前除应用 FLAG 方案化疗外,将 MNC 输注量加至 4×10^8 /kg,1 次即达到 CR,随后 2 例患者输注的 MNC 仍为 4×10^8 /kg,均达到 CR,经检测均转为完全供者型造血,且无严重的 GVHD 发生,说明适当提高 MNC 输注剂量是可行的,这也许与本文所采用的是亲缘间 HLA 非体外去 T 细胞外周造血干细胞移植模式所特有的特点有关^[13]。

综上所述,FLAG 方案联合 G-DLI 用于 AML 行 allo-HSCT 复发后治疗未见明确报道,本文的 3 例患者经上述治疗后取得了一定的疗效,但如何就化疗方案的选择、G-DLI 应用时机、MNC 输注方式及剂量、GVHD 的防控等方面进一步研究以提高疗效,有待扩大病例数进一步研究。

参考文献

- [1] Pan L, Teshima T, Hill GR, et al. Granulocyte colony-stimulating factor-mobilized allogeneic stem cell transplantation maintains graft-versus-leukemia effects through a perforin-dependent pathway while preventing graft-versus-host disease[J]. *Blood*, 1999, 93(12): 4071-4078.
- [2] Choi SJ, Lee JH, Lee JH, et al. Treatment of relapsed acute myeloid leukemia after allogeneic bone marrow transplantation with chemotherapy followed by G-CSF-primed donor leukocyte infusion; a high incidence of isolated extramedullary relapse [J]. *Leukemia*, 2004, 18(11): 1789-1797.
- [3] Huang XJ, Wang Y, Liu DH, et al. Administration of short-term immunosuppressive agents after DLI reduces the incidence of DLI-associated acute GVHD without influencing the GVL effect[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2009, 44(5): 309-316.
- [4] Koistinen P, Rätty R, Itälä M, et al. Long-term outcome of intensive chemotherapy for adults with de novo acute myeloid leukaemia (AML): the nationwide AML-92 study by the Finnish Leukaemia Group[J]. *Eur J Haematol*, 2007, 78(6): 477-486.
- [5] Auberger J, Clausen J, Willenbacher W, et al. Fludarabine/intermediate-dose cytarabine with or without allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in poor-risk leukemia; a single center experience[J]. *Int J Hematol*, 2008, 87(4): 382-386.
- [6] Kornguth DG, Mahajan A, Woo S, et al. Fludarabine allows dose reduction for total body irradiation in pediatric hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007, 68(4): 1140-1144.
- [7] George BV, Viswabandya A. Fludarabine-based reduced intensity conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with aplastic anemia and fungal infections[J]. *Clin Transplant*, 2009, 23(2): 228-232.
- [8] Neudorf S, Nourani A, Kempert P, et al. Chemotherapy and donor leukocyte infusions for relapsed juvenile myelomonocytic leukemia (JMML)[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(10): 1069.
- [9] Komori T, Sugiyama H, Ogawa H, et al. Treatment of a patient in a relapse after bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia with the systemic administration of allogeneic lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2[J]. *Eur J Haematol*, 1989, 43(2): 184-185.
- [10] Porter DL, Collins RH, Hardy C, et al. Treatment of relapsed leukemia after unrelated donor marrow transplantation with unrelated donor leukocyte infusions [J]. *Blood*, 2000, 95(4): 1214-1221.
- [11] Flowers ME, Leisenring W, Beach K, et al. Granulocyte colony-stimulating factor given to donors before apheresis does not prevent aplasia in patients treated with donor leukocyte infusion for recurrent chronic myeloid leukemia after bone marrow transplantation[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2000, 6(3A): 321-326.
- [12] Guglielmi C, Arcese W, Dazzi F, et al. Donor lymphocyte infusion for relapsed chronic myelogenous leukemia: prognostic relevance of the initial cell dose[J]. *Blood*, 2002, 100(2): 397-405.
- [13] 薛文婧, 江明, 田猛, 等. 亲缘 HLA 单倍体相合非体外去 T 细胞外周造血干细胞移植后急性移植抗宿主病的临床特征及危险因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(12): 1100-1106.