

父母供者外周血单倍体干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病

万鼎铭, 何海燕, 边志磊, 谢新生, 孙玲, 孙慧, 曹伟杰, 玄中乾, 柳飞(郑州大学第一附属医院血液科干细胞移植中心, 河南省郑州市 450052)

文章亮点:

父母供者外周血单倍体干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病已成为依从性好的供者来源, 能及时行挽救性移植, 而且可实现二次干细胞采集和供者淋巴细胞及供者干细胞输注, 保证移植干细胞数量及预防原发病复发, 明显提高移植成功率及总体生存率, 是一种安全高效可行的方法。

关键词:

干细胞; 移植; 父母供者; 单倍体; 儿童复发急性淋巴细胞白血病; 儿童急性髓系白血病; 儿童复发难治急性白血病; 生存率; 移植物抗宿主病

主题词:

单倍性; 外周血干细胞移植; 白血病; 干细胞移植

摘要

背景: 儿童复发难治急性白血病单纯化学治疗效果极差, 异基因造血干细胞移植是治愈该类疾病的惟一有效方法。研究显示单倍体移植与同胞相合及非亲缘全相合造血干细胞移植的治疗效果接近, 甚至优于后者, 且父母作为供者单倍体造血干细胞移植依从性好, 能够保证移植干细胞数量及预防原发病复发, 明显提高了患者移植成功率及长期无白血病生存率。

目的: 回顾分析父母供者单倍体外周血造血干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病的疗效。

方法: 入选 35 例父母供者外周血单倍体造血干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病。均采用“改良 1, 4-丁二醇二甲磺酸酯/环磷酰胺+胸腺细胞免疫球蛋白”预处理方案和环孢素、吗替麦考酚酯及甲氨蝶呤三联短程预防移植物抗宿主病。

结果与结论: 35 例父母供者外周血单倍体造血干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病均植入成功。① 35 例患儿回输单个核细胞中位数为 $5.82(3.23-8.45) \times 10^9/\text{kg}$, 其中 $\text{CD}34^+$ 细胞中位数为 $4.52(2.37-11.51) \times 10^6/\text{kg}$ 。② 干细胞回输后 100 d 内, 移植相关死亡率为 14.3%。③ I-II 度急性移植物抗宿主病发生率为 34.3%, III-IV 度急性移植物抗宿主病发生率为 37.1%, 慢性移植物抗宿主病总发生率为 42.9%。④ 2 年无白血病生存率为 42.9%, 2 年总生存率为 51.4%, 2 年原发病复发率为 34.3%, 中位生存时间为 24 个月。提示对于无人白细胞抗原相合同胞供者及不能及时寻找到非血缘人类白细胞抗原相合供者的儿童复发难治急性白血病, 父母供者外周血单倍体造血干细胞移植是一种高效可行的治疗方法。

万鼎铭, 何海燕, 边志磊, 谢新生, 孙玲, 孙慧, 曹伟杰, 玄中乾, 柳飞. 父母供者外周血单倍体干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(32):5237-5243.

Parental peripheral blood haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in treatment of children with relapsed and refractory acute leukemia

Wan Ding-ming, He Hai-yan, Bian Zhi-lei, Xie Xin-sheng, Sun Ling, Sun Hui, Cao Wei-jie, Xuan Zhong-qian, Liu Fei (Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Children with relapsed and refractory acute leukemia have a very poor clinical effect by simple chemotherapy, and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only effective approach to cure the disease. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation is becoming gradually mature, and the data show it has gotten better clinical efficacy than identical sibling and unrelated matched hematopoietic stem cell transplantation. In addition, parents have high compliance in order to save the treatment interval, which ensures the stem cell number and prevents leukemia recurrence, significantly improving the transplantation success rate and long-term leukemia-free survival rate.

OBJECTIVE: To retrospectively analyze the clinical efficacy of parental peripheral blood haploidentical stem cell transplantation in treating children with relapsed and refractory acute leukemia.

METHODS: Thirty-five children with relapsed and refractory acute leukemia undergoing parental peripheral blood haploidentical stem cell transplantation were enrolled. "Modified 1,4-butanediol dimethanesulfonate/cyclophosphamide+thymocyte immunoglobulin" conditioning regimen and triple therapy of methotrexate, cyclosporine A and mycophenolate mofetil were applied to prevent graft-versus-host disease.

RESULTS AND CONCLUSION: All the 35 patients achieved full engraftment. (1) The median mononuclear cells

万鼎铭, 男, 1963 年生, 河南省南阳市人, 蒙古族, 1998 年山东医科大学毕业, 博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事血液病和造血干细胞移植的基础和临床研究。

共同第一作者: 何海燕, 女, 1989 年生, 河南省信阳市人, 汉族, 郑州大学在读硕士, 主要从事血液病和造血干细胞移植基础和临床研究。

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.

2014.32.026

[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)32-05237-07

稿件接受: 2014-07-08

Wan Ding-ming, M.D.,
Professor, Chief physician,
Master's supervisor,
Department of Hematology, the
First Affiliated Hospital of
Zhengzhou University,
Zhengzhou 450052, Henan
Province, China

He Hai-yan, Studying for
master's degree, Department of
Hematology, the First Affiliated
Hospital of Zhengzhou
University, Zhengzhou 450052,
Henan Province, China

Wan Ding-ming and He Hai-yan
contributed equally to this work.

Accepted: 2014-07-08

was $5.82(3.23-8.45) \times 10^6/\text{kg}$, the median $\text{CD}34^+$ cells was $4.52(2.37-11.51) \times 10^6/\text{kg}$. (2) Within 100 days after stem cell infusion, the transplant related mortality was 14.3%. (3) Incidence of I-II degrees of acute graft-versus-host disease was 34.3%, III-IV incidence was 37.1%, and the total incidence of chronic graft-versus-host disease was 42.9%. (4) The 2-year leukemia-free survival rate was 42.9%; the 2-year overall survival rate was 51.4%; the leukemia relapse rate was 34.3%; median survival time was 24 months. Results show that if there are no human leukocyte antigen-identical sibling and unrelated human leukocyte antigen-matched donors, parental haploidentical peripheral blood stem cell transplantation is an effective and feasible treatment for children with relapsed and refractory acute leukemia.

Subject headings: haploidy; peripheral blood stem cell transplantation; leukemia; stem cell transplantation

Wan DM, He HY, Bian ZL, Xie XS, Sun L, Sun H, Cao WJ, Xuan ZQ, Liu F. Parental peripheral blood haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in treatment of children with relapsed and refractory acute leukemia. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(32):5237-5243.

0 引言 Introduction

儿童急性淋巴细胞白血病在中国已进入临床诊疗路径, 参照顾龙君等^[1]起草的儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议, 患儿经过分阶段长期规范的诱导缓解治疗、连续适度的巩固治疗、维持治疗及髓外白血病预防, 长期无病生存率可达75%–80%^[2-3]。但对于儿童复发难治急性淋巴细胞白血病及儿童急性髓系白血病, 常规化疗复发率较高, 长期生存率极低。而异基因造血干细胞移植给予该类患儿带来长期生存乃至治愈的机会^[4-6], 但因中国计划生育政策, 独生子女较多, 儿童患者难以找到同胞相合造血干细胞移植供者, 仅10%的患者能找到人类白细胞抗原相合同胞供者^[7]。寻找非血缘全相合供者周期长, 且骨髓库志愿者库容量不足, 流失率及反悔率高^[8], 且不易行二次干细胞采集和后续的供者淋巴细胞输注及供者干细胞输注。由于脐血移植的植入率低, 患者年龄>10岁及人类白细胞抗原不合等因素, 使其不能广泛应用^[9-11]。难治复发急性白血病患者复发周期短, 如不能尽快行异基因造血干细胞移植, 易失去治疗时机。目前单倍体造血干细胞移植体系的建立解决了供者来源困难的局面, 几乎每个患者都能找到一个单倍体供者^[12-15]。陆道培等^[16]近年来的临床研究, 使单倍体相合造血干细胞移植技术趋于成熟, 达到与非血缘全相合造血干细胞移植术同等疗效, 对于儿童难治性白血病单倍体移植疗效相异于同胞相合移植^[17]。当前父母供儿童子女单倍体造血干细胞移植治疗儿童恶性血液病已经成为一个热点^[18-20]。文章回顾性分析了郑州大学第一附属医院血液科干细胞移植中心35例父母供子女单倍体相合外周血造血干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病中移植相关死亡、移植物抗宿主病发生情况及临床疗效。

1 对象和方法 Subjects and methods

设计: 回顾性病例资料分析。

时间及地点: 于2006年8月至2014年1月在郑州大学第一附属医院血液科造血干细胞移植中心完成。

对象: 收集于郑州大学第一附属医院进行治疗的儿童复发难治急性白血病患者。

诊断标准: 儿童复发难治急性白血病患者需满足下列条

件之一: ①急性淋巴细胞白血病用经典方案诱导化疗四五周末获完全缓解。②首次缓解6个月内复发或6个月后复发经正规诱导化疗失败者。③急性髓系白血病(M3除外)用经典方案诱导化疗2个疗程未获完全缓解。④儿童急性淋巴细胞白血病复发。⑤慢性粒细胞白血病急变期^[21-22]。确诊标准还参照WHO的MICM分型(形态学、免疫学、细胞遗传学、分子生物学特征分型)^[23]。

纳入标准: ①符合诊断标准。②患者年龄<18岁。③行父母供者外周血单倍体造血干细胞移植。

排除标准: ①合并严重慢性消耗性疾病或严重心肝肾功能损害以及影响生存其他疾病的患儿。②家属要求应用其他方法治疗者。

最终收集35例复发难治性急性白血病患者, 其中男20例, 女15例; 年龄5–18岁, 中位年龄14岁; 复发急性B淋巴细胞白血病15例(CR2 10例, PR 5例), 其中4例BCR/ABL基因阳性; 复发急性T淋巴细胞白血病4例(CR2 3例, PR 1例), 其中2例为T淋巴母淋巴瘤性白血病; 急性混合淋巴细胞白血病1例(CR2); 慢性粒细胞白血病急变期6例(CR1 2例, CR2 2例, PR 2例), 其中4例为急淋变, 2例为急粒变, 其中甲磺酸伊马替尼原发耐药1例; 急性髓系白血病M2 7例(CR1 3例, CR2 3例, PR1例), 其中1例为BCR/ABL基因阳性, 2例ETO基因阳性; 急性髓系白血病M5 2例(CR1), 其中1例FLT3基因阳性; 35例中CR1期7例, CR2期19例, 原发难治性9例。

供者情况: 父供子女移植15例, 母供子女移植组20例, 人类白细胞抗原5个点相合10例, 6位点相合12例, 7个点相合8例, 8个点相合4例, 9个点相合1例。供者的纳入标准: 供者均为患者的亲生父母, 年龄<60岁, 血型尽量与患者相同。排除标准: ①有心脑血管疾病者。②丙氨酸氨基转移酶> 0.68 $\mu\text{kat/L}$ 。③乙型肝炎病毒表面抗原阳性。④丙型肝炎病毒抗体阳性。⑤艾滋病病毒抗体阳性。⑥梅毒试验阳性。⑦有风湿病史及慢性感染性疾病。⑧有精神心理障碍性疾病。移植方案已经郑州大学第一附属医院伦理委员会讨论批准, 患者及家属在充分了解单倍体移植的临床疗效及预后的情况下, 签写知情同意书。

父母供者外周血单倍体造血干细胞移植治疗儿童复发难治急性白血病所用药物及仪器:

药物及仪器	来源
环孢素、抗 CD25 单克隆抗体	Novartis Pharma Schweiz AG, Switzerland
兔抗人胸腺 T 细胞免疫球蛋白	Genzyme Polyclonais S. A. S
甲氨蝶呤	山西普德药业有限公司
吗替麦考酚酯	上海罗氏制药有限公司
伊曲康唑胶囊	西安杨森制药有限公司
盐酸小檗碱片	亚宝药业四川制药有限公司
复方磺胺甲恶唑	河南凤凰制药股份有限公司
白消安片	The Wellcome Toundation Limited
白舒菲	Ben Venue Laboratories, Inc
阿糖胞苷针	砒码西亚普强(中国)有限公司
环磷酰胺针	江苏恒瑞医药股份有限公司
尼莫司汀	上海市医药有限公司
重组人粒细胞集落刺激因子	哈药集团生物工程有限公司及 华北制药金坦生物技术股份有限公司
人免疫球蛋白针	华兰生物工程股份有限公司
脂质体前列腺素 E1	北京泰德制药有限公司
还原型谷胱甘肽	重庆药友制药有限责任公司
门冬氨酸鸟氨酸	武汉启瑞科技发展有限公司
复方二氯醋酸二异丙胺	大连金港制药有限公司
核黄素磷酸钠针	山西泰盛制药有限公司
更昔洛韦针	南京海辰药业有限公司
血细胞分离机(COBE spectra™)	Gambro BCT, Inc
流式细胞仪	Beckman Coulter Inc

方法:

预处理方案: 采用“改良1, 4-丁二醇二甲磺酸酯/环磷酰胺+胸腺细胞免疫球蛋白”预处理方案^[24-25], 移植前第9, 10天受者静脉滴注阿糖胞苷针4 g/(m²·d); 移植前第6-8天受者口服白消安片(化学名为1, 4-丁二醇二甲磺酸酯)4 mg/(kg·d)或静脉白舒菲3.2 mg/(kg·d); 移植前第4, 5天, 受者静脉滴注环磷酰胺针1.8 g/(m²·d); 移植前第2-5天受者静脉滴注兔抗人胸腺T细胞免疫球蛋白2.5 mg/(kg·d); 移植前第3天, 受者静脉滴注尼莫司汀2.5 mg/(m²·d)。

供者干细胞的动员与采集: 供者在预处理前5 d入院, 接受重组人粒细胞集落刺激因子5 μg/(kg·d), 分2次皮下注射, 7:30及19:30, 连续5 d。监测供者外周血细胞计数和形态性质分类及CD34⁺细胞计数, 根据检测结果决定采集干细胞时间, 若白细胞计数达40×10⁹ L⁻¹, 且外周血单个核细胞比例大于20%即可提前1 d进行血细胞分离机采集外周血造血干细胞, 并应用流式细胞仪对采集的造血干细胞悬液进行分析, 若输入单个核细胞数小于4×10⁸/kg, CD34⁺细胞

数小于4×10⁶/kg, 于次日补充采集外周血造血干细胞1次^[26], 其中3例患者回输单个核细胞数小于4×10⁸/kg(最低3.23×10⁸/kg), 10例患者CD34⁺细胞数小于4×10⁶/kg(最低2.37×10⁶/kg), 患者造血干细胞仍植入成功^[27]。

移植抗宿主病的诊断和预防: 移植抗宿主病的诊断标准参照文献^[28-29]。应用环孢素+吗替麦考酚酯+甲氨蝶呤三联短程预防移植抗宿主病^[30-31]。从预处理开始应用环孢素2.5 mg/(kg·d)持续24 h静脉滴注, 期间定期复查血清环孢素浓度, 使之保持在150-250 μg/L, 根据血药浓度调整剂量, 待患者胃肠道功能恢复后改环孢素静脉滴注为口服, 干细胞移植后50 d开始减量应用, 经验上大约每周减总量的10%, 以环孢素血药浓度决定减量速度; 若无急性移植抗宿主病的发生, 移植后180 d停药^[26]。移植过程中患者发生真菌感染, 需应用抗真菌药物, 如应用唑类抗真菌药物, 注意该类药会使环孢素血清浓度提高, 防止血清环孢素过高引起癫痫, 高血压, 肝功能损害, 及严重恶心呕吐等不良反应; 吗替麦考酚酯15 mg/(kg·d), 从预处理开始口服至移植后50 d; 移植后第1天应用甲氨蝶呤15 mg/m², 移植后第3, 6天, 应用甲氨蝶呤10 mg/m²。患者若发生III-IV度急性移植抗宿主病, 加用甲泼尼龙2-4 mg/(kg·d)治疗, 必要时联合应用抗CD25单克隆抗体、他克莫司等强效免疫抑制药物。

肝窦阻塞综合征的预防: 从预处理开始至干细胞回输后28天, 静脉注射脂质体前列腺素E1 20 μg, 1次/d, 同时应用还原型谷胱甘肽(1.2-2.4 g/d)、门冬氨酸鸟氨酸(2.5-5.0 g/d)及二氯醋酸二异丙胺(40-80 mg/d)等药物联合治疗, 定期监测肝功能, 调整保肝药物应用。

出血性膀胱炎的防治: 于应用环磷酰胺当日开始水化、碱化尿液并强迫利尿, 应用环磷酰胺的同时及用后4, 8 h静滴美司钠, 以预防出血性膀胱炎^[32]。若血小板低于20×10⁹ L⁻¹, 及时给予输注辐照机采血小板, 减轻症状。

间质性肺炎的预防: 所有患者进入层流病房后, 预处理前9 d开始直至前3 d或前2 d静滴5 mg/(kg·d)更昔洛韦, 预防巨细胞病毒感染, 并每周检测巨细胞病毒DNA复制率及CMV-IgM水平, 所有患者在造血干细胞移植后半年内间断静滴丙种球蛋白。

胃肠道菌群失调的防治: 大剂量化疗及广谱抗生素预防性应用, 造成肠道黏膜受损, 微环境破坏, 益生菌定植改变等, 进而导致肠球菌相关性腹泻^[33], 给予替考拉宁口服, 并应用美沙拉嗪颗粒、金双歧、思连康、美常安等肠道活菌剂, 出现发热伴腹泻症状, 及时给予沙门、志贺菌属粪便培养, 根据药敏试验, 给予敏感抗生素应用。

感染的预防: 自移植预处理前14 d开始受者口服肠道消毒药物: 复方磺胺甲恶唑1.0 g/次, 2次/d预防卡氏肺孢子菌肺炎; 伊曲康唑胶囊0.1 g/次, 2次/d; 盐酸小檗碱片0.3 g/次, 3次/d, 患儿若出现强烈胃肠道反应, 可减少剂量或缩短服药时间。所有患者均进入百级无菌层流病房,

给予复方氯己定漱口水漱口及生理盐水口腔护理, 预防口腔感染, 因甲氨蝶呤的应用可能导致口腔黏膜糜烂, 应用亚叶酸钙及复合维生素B片配制漱口水漱口, 静脉应用核黄素, 并给予维生素B2片10 mg 3次/d口服减轻口腔溃疡; 对于痔疮患儿睡前给予太宁栓纳肛, 预防肛周感染。患者若发生感染, 对于感染部位可送拭子细菌培养, 根据病原学检查结果, 应用敏感抗生素治疗。干细胞回输第2, 9, 16天间断应用人免疫球蛋白针0.4 g/kg, 若患儿病毒DNA复制率高于正常或患儿严重感染, 可继续应用免疫球蛋白, 每周1次, 辅助治疗。

移植效果观察: ①回输单个核细胞数及CD34⁺细胞个数。②植入情况: 以持续3 d中性粒细胞 $\geq 0.5 \times 10^9 L^{-1}$, 连续7 d不输注血小板, 血小板 $\geq 20 \times 10^9 L^{-1}$, 作为造血功能重建的指标^[34]。定期监测染色体(包括性染色体的转化、费城染色体消失)、微卫星标记等作为直接植活及完全嵌合体形成的证据。如果供、受者ABO血型不合者以检测患儿血型转变为供者血型作为植活直接证据^[35-36]。③干细胞回输后100 d内, 移植相关死亡率。④移植抗宿主病发生情况。⑤原发病复发情况。⑥临床疗效: 2年总生存率和2年无白血病生存率。

主要观察指标: 复发难治急性白血病患儿的治疗效果。

统计学分析: 应用SPSS 17.0软件对样本资料进行统计描述; 生存分析应用Kaplan-Meier生存分析法。

2 结果 Results

2.1 患者数量分析及患者临床信息 共纳入35例儿童复发难治急性白血病行父母供者外周血单倍体造血干细胞移植, 均进入结果分析, 无数据脱落。患儿基本信息见表1。

2.2 儿童复发难治急性白血病患者的回输细胞数量 回输单个核细胞中位数为 $5.82(3.23-8.45) \times 10^8/kg$, CD34⁺细胞中位数 $4.52(2.37-11.51) \times 10^6/kg$; 其中3例患者回输外周血干细胞小于 $4 \times 10^8/kg$, 10例患者CD34⁺细胞小于 $4 \times 10^6/kg$, 患者造血干细胞仍植入成功。

2.3 儿童复发难治急性白血病患者的植入情况 以持续3 d中性粒细胞 $\geq 0.5 \times 10^9 L^{-1}$, 连续3 d不输注血小板, 血小板 $\geq 20 \times 10^9 L^{-1}$, 作为造血功能重建的指标^[18]。中性粒细胞中位植入时间为13(9-20) d, 血小板中位植入时间14(10-58) d。所有患者经微卫星标记、性染色体及血型检测为完全供者嵌合体^[35-36], 证明造血重建成功。

2.4 儿童复发难治急性白血病患者的移植抗宿主病发生情况 干细胞回输后前100 d内35例患儿中23例出现急性移植抗宿主病, 发生中位时间为48.5(27-85) d, 其中I-II度12例, 8例以皮肤为主, 4例以肠道为主, 发生率为34.3%; III-IV度13例, 3例以皮肤为主, 9例以肠道为主, 1例以肝脏为主, 发生率为37.1%; 急性移植抗宿主病累积发生率为65.7%; 干细胞回输后随访2-47个

月, 15例出现不同脏器不同程度慢性移植抗宿主病, 发生时间中位数为121(98-360) d, 其中4例广泛型皮肤慢性移植抗宿主病, 11例为局限型慢性移植抗宿主病, 多见于口、眼、皮肤, 总发生率42.9%。发生移植抗宿主病的患儿中2例死于腹泻, 均为急性肠道排斥反应。

2.5 儿童复发难治急性白血病患者的原发病复发情况 随访至2014年1月, 移植后半年内共有6例复发, 均为骨髓象复发, 3例为急性B淋巴细胞白血病(BCR/ABL阳性), 2例为复发B急淋, 1例为慢粒急淋变; 移植半年后6例复发, 其中2例为复发急性B淋巴细胞白血病中枢神经系统侵犯, 接受放疗, 2例M5为粒细胞肉瘤, 给予化疗+放疗; 2例骨髓象复发, 1例为M2合并BCR/ABL阳性, 1例为复发B急淋。总复发率达34.3%。

2.6 儿童复发难治急性白血病患者的不良反应 儿童复发难治急性白血病行父母供者外周血单倍体造血干细胞移植35例, 6例死于重度感染(其中肺部感染3例, 肠道感染1例, 中枢神经系统感染2例); 2例死于超急性移植抗宿主病肠道反应; 1例死于移植后淋巴细胞增殖性疾病; 1例因应用蒽环类药物导致心肌损伤, 进而心脏骤停; 2例患儿出现癫痫样抽搐; 2例发生皮肤黑曲霉菌感染, 其中1例死于多脏器功能衰竭; 2例发生纯红再障, 分别在干细胞移植后7个月, 11个月后血红蛋白恢复至正常范围。

2.7 儿童复发难治急性白血病患者的临床疗效 35例患者随访2-47个月, 移植相关死亡率14.3%, 2年无白血病生存率为42.9%, 2年总体生存率为51.4%, 中位生存时间为25个月; 生存曲线见图1。

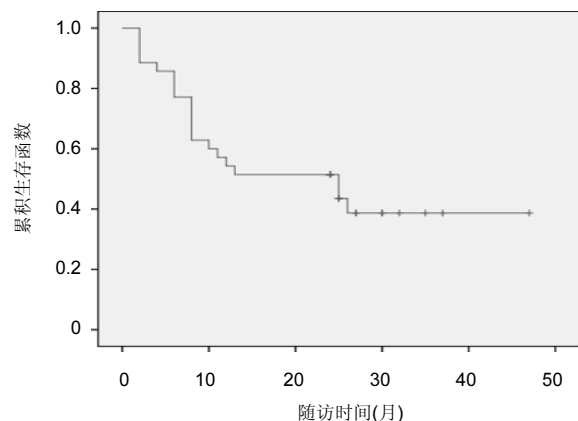


图1 复发难治急性白血病患儿35例移植后生存曲线

Figure 1 Survival curve of 35 children with relapsed and refractory acute leukemia after stem cell transplantation

图注: 复发难治急性白血病患儿经父母供者外周血单倍体干细胞移植治疗后的中位生存时间为25个月。

3 讨论 Discussion

目前儿童复发难治性急性白血病化疗疗效极差, 异基因造血干细胞移植是目前惟一有效的根治途径^[37-38]。单倍体移植早期并发症有重度移植抗宿主病, 造血及免疫重建延迟, 机会性感染, 疾病复发等, 这些因素是造成单倍

表 1 儿童复发难治急性白血病 35 例患者的临床信息

Table 1 Clinical data of children with relapsed and refractory acute leukemia

患者别	性 别	年 龄 (岁)	发病年龄 (岁)	白血病类型	基因型	供者亲属关系	HLA 合位点数量	回输单个核细胞数量($\times 10^8$ /kg)	回输 CD34 ⁺ 细胞数量($\times 10^6$ /kg)	中性粒细胞植入时间(d)	血小板植入时间(d)	移植抗宿主病的发生与类型	随访时间(月)	原发病复发情况	不良反应	生存时间(月)	无病生存时间(月)
1	男	9	9	M2	-	母	6	4.24	3.80	12	14	I-II+慢性	32	-	-	32	32
2	男	14	6	B-ALL	-	父	6	5.43	4.34	14	20	无	2	-	淋巴细胞增殖	2	死亡
3	男	14	14	M2	ETO	母	7	3.23	3.01	14	14	III-IV+慢性	24	-	-	24	24
4	男	13	12	ALL(BT 混合)	-	母	5	4.95	4.32	9	21	I-II+慢性	27	-	-	27	27
5	女	17	6	B-ALL	-	母	6	4.71	3.78	10	16	III-IV	10	复发	-	10	死亡
6	男	12	8	B-ALL	-	母	6	7.80	6.51	10	14	慢性	6	-	肺部感染	6	死亡
7	男	17	5	CML 急淋变	BCR/ABL	父	7	7.76	9.32	11	13	I-II+慢性	24	-	-	24	24
8	男	5	4	B-ALL	E2A-HLF	父	5	6.03	7.20	16	19	I-IV	25	复发	-	25	死亡
9	女	5	5	M2(BCR)	BCR/ABL	母	7	7.56	4.56	19	14	III-IV	11	复发	-	11	死亡
10	男	14	14	M2	ETO	母	5	8.45	6.60	12	26	I-II+慢性	30	-	-	30	30
11	女	5	2	CML 急粒变	BCR/ABL	父	8	8.45	7.83	13	12	III-IV	2	-	心脏骤停	2	死亡
12	女	18	4	B-ALL	-	母	6	6.71	8.71	13	14	III-IV	2	-	超急性肠道排斥	2	死亡
13	女	14	14	T 淋巴瘤	-	母	6	5.56	4.40	14	17	I-II+慢性	25	-	-	25	25
14	女	6	5	B-ALL(BCR)	BCR/ABL	父	7	7.80	10.50	9	11	III-IV	3	-	中枢系统感染	3	死亡
15	女	17	4	B-ALL	-	父	6	5.82	6.47	10	13	I-II+慢性	47	-	-	47	47
16	男	6	4	T-ALL	-	父	7	7.26	6.65	10	13	III-IV+慢性	37	-	-	37	37
17	男	15	7	B-ALL	-	母	8	4.80	2.37	17	9	III-IV+慢性	27	-	纯红再障	27	27
18	男	12	7	CML 急淋变	BCR/ABL	父	6	4.50	4.00	16	10	无	8	复发	-	8	死亡
19	男	14	9	B-ALL	-	母	6	6.42	7.68	17	13	I-II+慢性	24	-	-	24	24
20	女	12	12	M5	FLT3-ITD	父	7	5.82	4.13	15	9	无	12	复发	-	12	死亡
21	女	12	8	B-ALL	-	父	5	8.23	3.44	15	12	无	25	复发	-	25	死亡
22	男	7	7	M2	-	父	8	6.31	4.45	13	12	慢性	35	-	纯红再障	35	35
23	男	13	9	T-ALL	-	母	5	5.43	4.43	11	24	III-IV	2	-	超急性肠道排斥	2	死亡
24	女	14	12	B-ALL	-	母	5	4.72	3.76	16	15	无	6	复发	肠道感染	6	死亡
25	女	11	11	M2	-	母	7	5.03	3.80	9	12	I-II	8	复发	-	8	死亡
26	男	8	4	CML 急淋变	BCR/ABL	父	6	6.45	9.03	14	14	慢性	24	-	-	24	24
27	男	9	9	B-ALL(BCR)	BCR/ABL	母	8	6.30	5.67	12	10	I-II	6	复发	睾丸黑曲霉菌感染+多脏衰	6	死亡
28	女	14	9	CML 急粒变	BCR/ABL	母	5	4.68	3.78	20	16	I-IV	25	-	抽搐	25	25
29	女	12	11	B-ALL(BCR)	BCR/ABL	母	9	3.45	3.56	14	18	I-II	8	复发	面部皮肤黑曲霉菌感染	8	死亡
30	男	17	17	B-ALL(BCR)	BCR/ABL	父	7	5.62	5.61	14	17	无	8	复发	-	8	死亡
31	女	16	16	M5	-	母	6	3.45	2.37	13	19	III-IV	26	复发	肺部感染	26	死亡
32	男	9	8	M2	-	父	5	4.82	5.16	16	16	慢性	30	-	-	30	30
33	女	14	13	T 淋巴瘤	-	母	5	4.73	4.21	13	58	III-IV	24	-	-	24	24
34	男	14	11	CML 急淋变	BCR/ABL	母	6	6.86	4.52	10	14	无	8	-	中枢系统感染	8	死亡
35	男	10	6	B-ALL	-	父	5	8.42	11.51	14	16	慢性	13	-	肺部感染	13	死亡

表注: M2: 伴成熟型白血病; B-ALL: 急性 B 型淋巴细胞白血病; BT: T、B 混合细胞型白血病; ALL: 急性淋巴细胞白血病; CML 急淋变: 慢性粒细胞白血病变成急性淋巴细胞白血病; BCR: BCR-ABL 异常急性髓性白血病; T 淋巴瘤: T 淋巴瘤细胞白血病; T-ALL: 急性 T 型淋巴细胞型; M5: 急性粒-单细胞白血病。

体造血干细胞移植后患者主要死亡原因。近几年, 单倍体造血干细胞移植在治疗恶性血液病方面取得重大进展, 主要表现在: 临床上改良移植预处理方案及早期应用免疫抑制剂及单克隆抗体等, 特别是胸腺细胞免疫球蛋白体内选择性去T细胞移植技术的进一步提高, 降低了移植排斥反应的严重程度, 明显降低移植相关死亡率^[39]; 给予供者应用重组人粒细胞集落刺激因子动员外周血造血干细胞, 进而实现采集外周血干细胞及CD34⁺细胞数满足单倍体造血干细胞移植要求, 提高干细胞输入量, 使得几乎全部植入成功^[16]; 再者防治感染的综合水平的提高, 也进一步降低了移植相关死亡率。

本次试验对35例儿童复发难治性急性白血病应用“改良1, 4-丁二醇二甲磺酸酯/环磷酰胺+胸腺细胞免疫球蛋白”预处理方案, 行父母单倍体外周血造血干细胞移植术后临床疗效回顾性分析。预处理方案中应用胸腺细胞免疫球蛋白, 发挥体内去除部分T淋巴细胞的作用, 既促进移植物有效植入, 又对急性移植物抗宿主病及慢性移植物抗宿主病有积极的预防作用, 使移植相关死亡率明显下降, 患者长期无病生存率进一步提高^[38-40]。临床研究资料表明移植物中外周血干细胞和CD34⁺细胞数为影响造血重建成功的关键因素^[41-44], 郑州大学第一附属医院血液科干细胞移植中心资料显示所有患者均植入成功, 回输单个核细胞中位数为 $5.82 (3.23-8.45) \times 10^8 / \text{kg}$, CD34⁺细胞中位数 $4.52 (2.37-11.51) \times 10^6 / \text{kg}$, 其中3例患者回输外周血干细胞小于 $4 \times 10^8 / \text{kg}$, 10例患者CD34⁺细胞小于 $4 \times 10^6 / \text{kg}$, 患者造血干细胞仍植入成功。统计结果示急性移植物抗宿主病总发生率为65.7%, III-IV度急性移植物抗宿主病发生率34.3%, 高于相关报道的14.3%^[40], 可能与郑州大学第一附属医院血液科干细胞移植中心移植前未常规预防性使用抗CD25单克隆抗体有关; 慢性移植物抗宿主病总发生率为42.9%; 2年总生存率51.4%, 2年无白血病生存率为42.9%, 低于同期北京大学人民医院大样本报道59%-78.9%^[38], 可能与郑州大学第一附属医院血液科干细胞移植中心病例数较少, 随访时间短, 而且均为儿童复发难治性急性白血病及未常规给予预防性供者淋巴细胞输注和供者干细胞输注治疗有关, 仍需进一步积累移植经验, 提高移植水平, 增加移植疗效。在随访2-47个月中, 患儿总复发率达34.3%, 低于外国文献报道复发及难治性白血病同胞相合移植复发率44%-63%^[45], 可能由于单倍体干细胞供者具有更强的移植物抗白血病效应, 降低了原发病复发率, 并可及时采集供者供者干细胞输注及供者淋巴细胞输注^[17,46-47], 增加移植物抗白血病效应; 北京大学人民医院在2012年报道的单倍体造血干细胞移植与同胞全相移植治疗高危急性白血病的比较研究中发现, 单倍体移植组2年累计复发率和3年无病生存率分别为26%和42%; 而同胞相合组分别为49%和15%; 这种结果可能得益于高危白血病单倍体造血干细胞移植后有着较强

的移植物抗白血病效应^[34]。因此, 对于复发难治性白血病来说, 单倍体移植可能取得优于同胞相合造血干细胞移植相同的疗效^[17-18]。有相关文献显示FLAG化疗方案(氟达拉滨+高剂量阿糖胞苷+粒细胞集落刺激因子)治疗儿童复发难治性急性白血病, 高达57%缓解率, 但是, 后期随访未行干细胞移植患儿无一例长期存活^[48]。因此, 对于复发难治性白血病患者在缺乏全相同胞及非血缘供者情况下, 而又必须采取造血干细胞移植治疗, 应用父母供者单倍体造血干细胞移植, 可以实现抢救性移植, 赢得治疗时机, 是一种治愈儿童复发难治性急性白血病的可行有效途径, 具有广阔应用前景, 值得进一步临床研究。

致谢: 衷心感谢郑州大学第一附属医院血液科李丽、周雪芳、陈诗戛、陈晓娜及石聪聪的帮助!

作者贡献: 试验设计及评估为第一作者, 实施为所有作者, 试验评估为万鼎铭、何海燕, 资料搜集为谢新生、孙玲、孙慧, 万鼎铭及何海燕成文, 边志磊辅助, 万鼎铭审校, 万鼎铭及何海燕对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 治疗方案获郑州大学第一附属医院伦理委员会批准, 所有供者、受者及监护人均获完全知情同意。

学术术语: 单倍体干细胞-指只含有一套染色体, 但拥有类似于正常干细胞分裂分化能力的细胞群。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 顾龙君. 儿童急性淋巴白血病诊疗建议[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(5): 392-396.
- [2] 卢新天. 儿童高危急性淋巴细胞白血病治疗策略[J]. 北京大学学报(医学版), 2013, 45(2): 327-332.
- [3] 汤静燕, 薛惠良, 陈静, 等. 儿童B系急性淋巴细胞性白血病 SCMC-ALL-2005方案评估[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(8): 546-550.
- [4] Gorman MF, Ji L, Ko RH, et al. Outcome for children treated for relapsed or refractory acute myelogenous leukemia (rAML): a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia (TACL) Consortium study. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(3): 421-429.
- [5] 王昱, 刘开彦, 许兰平, 等. 异基因造血干细胞移植治疗高危恶性血液病[J]. 中华内科杂志, 2007, 46(11): 903-906.
- [6] 黄晓军, 刘代红. 人类白细胞抗原不合或单倍体亲属供者造血干细胞移植[J]. 临床内科杂志, 2006, 23(9): 581-583.
- [7] 陈惠仁. 单倍体造血干细胞移植的新进展及其临床研究结果[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(34): 6735-6738.
- [8] 李慧文. 遴选和回访对提高造血干细胞捐献者资料库有效率的探讨[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(11): 937-938.
- [9] Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical-cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med*. 2001; 344(24): 1815-1822.
- [10] Lu DP. Blood and marrow transplantation in mainland China. *Hong Kong Med J*. 2009;15(3 Suppl 3):9-12.

- [11] Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med.* 1998;339(22):1565-1577.
- [12] 孙巍, 王晓华. 父供子单倍体异基因造血干细胞移植治疗高危白血病2例临床分析[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2013, 18(3): 135-138.
- [13] 刘代红, 黄晓军. 亲属HLA单倍体相合/部分相合造血干细胞移植进展[J]. *中华器官移植杂志*, 2010, 31(2): 125-127.
- [14] 黄晓军. 造血干细胞移植的挑战及对策[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(2): 89-92.
- [15] Huang XJ. Hematopoietic stem cell transplantation in China: current status and prospects. *Am J Blood Res.* 2011;1(1):90-97.
- [16] Lu DP, Dong L, Wu T, et al. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood.* 2006;107(8): 3065-3073.
- [17] 王昱, 刘代红, 刘开彦, 等. 单倍型异基因造血干细胞移植治疗难治/复发急性白血病患者疗效观察[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 11(33): 917-921.
- [18] Liu DH, Xu LP, Liu KY, et al. Long-term outcomes of unmanipulated haploidentical HSCT for paediatric patients with acute leukaemia. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48(12): 1519-1524.
- [19] van Walraven SM, Ball LM, Koopman HM, et al. Managing a dual role--experiences and coping strategies of parents donating haploidentical G-CSF mobilized peripheral blood stem cells to their children. *Psychooncology.* 2012;21(2): 168-175.
- [20] Cavazzana-Calvo M, André-Schmutz I, Fischer A. Haematopoietic stem cell transplantation for SCID patients: where do we stand? *Br J Haematol.* 2013;160(2):146-152.
- [21] 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, 2008.
- [22] 吕善根. 儿童难治性急性白血病的诊断和治疗[J]. *中国实用儿科杂志*, 2002, 17(6): 325-326.
- [23] Ruggeri L, Mancusi A, Burchielli E, et al. NK cell alloreactivity and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Cells Mol Dis.* 2008;40(1):84-90.
- [24] Chang YJ, Huang XJ. Use of G-CSF-stimulated marrow in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation settings: a comprehensive review. *Clin Transplant.* 2011;25(1):13-23.
- [25] 王智明, 王琳, 徐丹丹, 等. 改良预处理方案在单倍体移植治疗恶性血液病中的应用[J]. *中国医药*, 2010, 65(6): 527-529.
- [26] 万鼎铭, 石聪聪, 谢新生, 等. 父母供子女单倍型造血干细胞移植治疗恶性血液病[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(10): 1753-1760.
- [27] 万鼎铭, 索金燕, 孙慧, 等. 同胞相合移植单个核细胞和CD34+细胞输入数量与造血重建的关系[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2010, 15(4): 654-655.
- [28] Thomas E, Storb R, Clift RA, Fefer A, et al. Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med.* 1975; 292(16): 832-843.
- [29] 黄晓军, 陈育红, 韩伟, 等. 人类白细胞抗原不相合造血干细胞移植治疗白血病的临床研究[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2003, 35(2): 115-118.
- [30] Ji SQ, Chen HR, Wang HX, et al. G-CSF-primed haploidentical marrow transplantation without ex vivo T cell depletion: an excellent alternative for high-risk leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2002;30(12):861-866.
- [31] 万鼎铭, 张诚, 谢新生, 等. 单倍体相合造血干细胞移植治疗高危白血病[J]. *中国组织工程与临床康复*, 2011, 15(19): 3485-3488.
- [32] 施继敏, 景晶, 罗依, 等. 异基因造血干细胞移植后并发出血性膀胱炎的高危因素和防治措施[J]. *中华器官移植杂志*, 2011, 32(3): 148-151.
- [33] 万鼎铭, 周雪芳, 谢新生, 等. 异基因造血干细胞移植后肠球菌相关性腹泻的临床分析[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2014(2): 284-287.
- [34] Wang Y, Liu DH, Xu LP, et al. Superior graft-versus-leukemia effect associated with transplantation of haploidentical compared with HLA-identical sibling donor grafts for high-risk acute leukemia: an historic comparison. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(6):821-830.
- [35] 许兰平, 黄晓军. 干细胞移植的HLA配型和植入证据检测[J]. *中国实用儿科杂志*, 2005, 20(11): 649-651.
- [36] 汪定春, 刘霆. 造血干细胞移植后植入证据检测方法的研究现状[J]. *中国输血杂志*, 2003, 16(1): 54-57.
- [37] 陈惠仁, 何学鹏, 司英健, 等. 单体型造血干细胞移植治疗儿童白血病研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2008, 35(3): 293-294.
- [38] 刘代红, 刘开颜, 许兰平, 等. 亲属单倍体非体外去T细胞造血干细胞移植治疗儿童恶性血液病[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2009, 41(3): 291-296.
- [39] Stern M, Ruggeri L, Mancusi A, et al. Survival after T cell-depleted haploidentical stem cell transplantation is improved using the mother as donor. *Blood.* 2008;112(7): 2990-2995.
- [40] Wang Y, Liu DH, Xu LP, et al. Haploidentical/mismatched hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T cell depletion for T cell acute lymphoblastic leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18(5):716-721.
- [41] Zhang C, Zhang X, Chen XH. Cellular mechanism for granulocyte-colony stimulating factor in the prevention of graft-versus-host disease in combined bone marrow and peripheral blood transplantation for hematological malignancies: the composition in collection. *Transfus Apher Sci.* 2013;48(1):3-9.
- [42] Di Bartolomeo P, Santarone S, De Angelis G, et al. Haploidentical, unmanipulated, G-CSF-primed bone marrow transplantation for patients with high-risk hematologic malignancies. *Blood.* 2013;121(5):849-857.
- [43] Zhang C, Zhang X, Chen XH, et al. Factors influencing engraftment in HLA-haploidentical/mismatch related transplantation with combined granulocyte-colony stimulating factor-mobilized peripheral blood and bone marrow for patients with leukemia. *Transfus Apher Sci.* 2011;44(3):249-255.
- [44] 孙于谦, 刘代红, 许兰平, 等. 重组人粒细胞集落刺激因子动员的供者外周血采集物治疗异基因造血干细胞移植后植入功能不良的疗效和安全性[J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(9): 730-733.
- [45] Aversa F, Terenzi A, Tabilio A, et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol.* 2005;23(15):3447-3454.
- [46] Kanda Y, Chiba S, Hirai H, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991-2000). *Blood.* 2003;102(4):1541-1547.
- [47] Huang XJ. Current status of haploidentical stem cell transplantation for leukemia. *J Hematol Oncol.* 2008;1:27.
- [48] 徐应永, 陈静, 薛惠良, 等. FLAG方案治疗小儿复发难治性急性白血病临床研究[J]. *癌症进展*, 2010, 8(3): 279-284.