

# 同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血输注治疗重型再生障碍性贫血

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3516>

韦中玲, 蒋艺枝, 黄来全, 严家炜, 余正芝, 王娜娜, 黄辰, 王然, 黄东平

2095-4344.3516

投稿日期: 2020-03-17

送审日期: 2020-03-21

采用日期: 2020-04-15

在线日期: 2020-10-20

中图分类号:

R457; R394.2; R556.5

文章编号:

2095-4344(2021)13-02049-06

文献标识码: B

## 文章快速阅读:

### 文章特点一

△首次应用同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血移植治疗35岁以上重型再生障碍性贫血患者,结果显示急性移植物抗宿主病发生率低,患者无移植物抗宿主病无复发生存率高;

△同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血移植可以使年龄较大的重型再生障碍性贫血患者获得较好的疗效。

**对象:**  
同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血移植治疗4例年龄较长的重型再生障碍性贫血患者。

**移植物:**  
经粒细胞集落刺激因子动员的骨髓和外周血造血干细胞联合第三方非血缘脐血。

**结果:**  
(1)所有患者移植后均获得造血重建;  
(2)仅1例患者发生II度急性移植物抗宿主病;  
(3)中位随访21(15-30)个月,生存率为75%。

**结论:**  
(1)同胞相合异基因造血干细胞移植是治愈重型再生障碍性贫血的首选方法;  
(2)联合非血缘脐血双重移植明显减少急性移植物抗宿主病,对年龄稍长的重型再生障碍性贫血患者可以获得良好的疗效。

## 文题释义:

**双重移植:**是指同一种移植中的造血干细胞来源于2种不同类型的供体,其目的在于通过同时输注2种不同的移植物,既能快速获得造血重建,又能减轻急性移植物抗宿主病。

**移植物抗宿主病:**是异基因造血干细胞移植最常见的并发症,是受者抗原递呈细胞和供者成熟T细胞相互作用的结果。根据发病时间和临床表现分为急性移植物抗宿主病和慢性移植物抗宿主病。目前认为移植物中含有免疫活性细胞或成分、供受者之间存在组织不相容性、受者存在免疫耐受不能对移植物产生免疫应答、效应细胞迁移至靶器官是发生急性移植物抗宿主病的4个条件。

## 摘要

**背景:**同胞相合异基因造血干细胞移植目前仍然是治疗重型再生障碍性贫血的一线治疗方法,但是随着患者年龄增长,移植疗效明显下降。

**目的:**探讨同胞相合造血干细胞移植联合非血缘脐血输注治疗重型再生障碍性贫血的疗效以及安全性。

**方法:**纳入2017年7月至2018年2月在皖南医学院第一附属医院进行非血缘脐血联合同胞相合造血干细胞移植的4例重型再生障碍性贫血患者,对临床资料进行回顾性分析。

**结果与结论:**①4例患者均为男性,中位年龄为40岁,诊断至移植的中位时间为2.5个月;同胞供者采集骨髓及外周血干细胞,非血缘脐血采用单份,HLA配型 $\geq 4/6$ 相合;②输注同胞供者干细胞中位总有核细胞为 $13.67 \times 10^8/\text{kg}$ ,中位CD34<sup>+</sup>细胞数为 $2.7 \times 10^6/\text{kg}$ ;输注非血缘脐血干细胞中位总有核细胞为 $2.1 \times 10^7/\text{kg}$ ,中位CD34<sup>+</sup>细胞数为 $1.21 \times 10^5/\text{kg}$ ;③移植后中性粒细胞和血小板中位植入时间分别为+10 d、+20 d;④移植后1例患者为同胞供者完全植入,3例患者为双供者混合嵌合;至随访日,3例双供者混合嵌合患者中,1例转为非血缘脐血完全植入,1例转为同胞供者完全植入,1例患者出现供受者混合嵌合,因感染而放弃治疗;⑤1例发生II度急性移植物抗宿主病;III-IV度急性移植物抗宿主病及慢性移植物抗宿主病发生率均为0%;⑥2年的无病生存率和总生存率均为75%,无移植物抗宿主病无复发生存率为100%;⑦结果表明,同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血输注治疗年龄稍长重型再生障碍性贫血患者的移植物抗宿主病发生率低,疗效肯定,但2种供者干细胞的植入动力学值得进一步研究。

**关键词:**干细胞;骨髓;外周血;脐血;再生障碍性贫血;同胞相合;移植;嵌合度

## Severe aplastic anemia treated with unrelated cord blood combined with matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Wei Zhongling, Jiang Yizhi, Huang Laiquan, Yan Jiawei, Yu Zhengzhi, Wang Nana, Huang Chen, Wang Ran, Huang Dongping

Department of Hematology, First Affiliated Hospital (Yijishan Hospital) of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China

皖南医学院第一附属医院(弋矶山医院)血液科,安徽省芜湖市 241001

第一作者:韦中玲,女,1979年生,安徽省芜湖市人,汉族,2008年皖南医学院毕业,硕士,副主任医师,主要从事恶性血液病诊治和造血干细胞移植治疗。

共同第一作者:蒋艺枝,女,1987年生,安徽省芜湖市人,汉族,在读博士,住院医师,主要从事恶性血液病诊治和造血干细胞移植工作。

通讯作者:黄东平,主任医师,副教授,皖南医学院第一附属医院(弋矶山医院)血液科,安徽省芜湖市 241001

<https://orcid.org/0000-0003-2750-7517> (韦中玲)

**基金资助:**安徽省重点研究与开发项目(201904a07020036),项目负责人:黄东平;皖南医学院重点培育项目(WK2018ZF09),项目负责人:韦中玲;芜湖市科技计划项目(2019cg22),项目负责人:韦中玲

**引用本文:**韦中玲,蒋艺枝,黄来全,严家炜,余正芝,王娜娜,黄辰,王然,黄东平.同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血输注治疗重型再生障碍性贫血[J].中国组织工程研究,2021,25(13):2049-2054.



Wei Zhongling, Master, Associate chief physician, Department of Hematology, First Affiliated Hospital (Yijishan Hospital) of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China

Jiang Yizhi, Doctoral candidate, Resident physician, Department of Hematology, First Affiliated Hospital (Yijishan Hospital) of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China

Wei Zhongling and Jiang Yizhi contributed equally to this paper.

**Corresponding author:** Huang Dongping, Chief physician, Associate professor, Department of Hematology, First Affiliated Hospital (Yijishan Hospital) of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Sibling matched allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is still the first-line treatment for severe aplastic anemia. However, with the increase of patients' age, the effect of transplantation decreases significantly.

**OBJECTIVE:** To explore the efficacy and safety of unrelated cord blood combined with matched sibling hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe aplastic anemia.

**METHODS:** A total of four severe aplastic anemia patients who underwent unrelated cord blood combined with matched sibling hematopoietic stem cell transplantation in First Affiliated Hospital (Yijishan Hospital) of Wannan Medical College from July 2017 to February 2018 were enrolled and their clinical data were used for retrospective analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** (1) All the four patients were male. The median age was 40 years old and the median time from diagnosis to transplantation was 2.5 months. Bone marrow and peripheral blood stem cells from a sibling donor as well as a unit of unrelated cord blood with HLA matching  $\geq 4/6$  were applied. (2) The median stem cells of total nucleated cells and CD34<sup>+</sup> were  $13.67 \times 10^8/\text{kg}$  and  $2.7 \times 10^6/\text{kg}$  of the sibling donor,  $2.1 \times 10^7/\text{kg}$  and  $1.21 \times 10^5/\text{kg}$  of the unrelated cord blood, respectively. (3) The median implantation time of neutrophils and platelets was +10 days and +20 days, respectively. (4) After transplantation, one patient was sibling donor chimerism while that of another three patients was double donors. At the follow-up date, among the three cases of mixed chimerism from two donors, one was completely implanted with unrelated cord blood; one was completely implanted with sibling donor; the third case had mixed chimerism with sibling donor and recipient giving up treatment because of infection. (5) Only one patient developed grade II acute graft versus host disease. The incidence of III-IV acute graft versus host disease and chronic graft versus host disease was 0%. (6) Two-year post-transplant disease free survival and overall survival rates were both 75% and graft versus host disease-free and relapse-free survival was 100%. (7) The results show that sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation combined with unrelated cord blood transfusion for the treatment of older patients with severe aplastic anemia has a low incidence of graft versus host disease and a positive effect, but the dynamics for the implantation of two kinds of donor stem cells is worthy of further study.

**Key words:** stem cells; bone marrow; peripheral blood; cord blood; aplastic anemia; siblings; transplantation; chimerism

**Funding:** the Key Research and Development Project in Anhui Province, No. 201904a07020036 (to HDP); the Key Cultivation Project of Wannan Medical College, No. WK2018ZF09 (to WZL); the Wuhu Science and Technology Project, No. 2019cg22 (to WZL)

**How to cite this article:** WEI ZL, JIANG YZ, HUANG LQ, YAN JW, YU ZZ, WANG NN, HUANG C, WANG R, HUANG DP. Severe aplastic anemia treated with unrelated cord blood combined with matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(13):2049-2054.

## 0 引言 Introduction

再生障碍性贫血是造血干细胞衰竭性疾病。重型再生障碍性贫血表现为造血细胞极度减少，病死率高，严重威胁患者生命。同胞相合异基因造血干细胞移植是一线治疗方案，在年龄小于 20 岁的患者中 5 年总生存率在 90% 以上<sup>[1]</sup>。但随着患者年龄增加，同胞相合异基因造血干细胞植入失败率和移植物抗宿主病发生率增加，明显影响这部分患者移植疗效<sup>[2]</sup>。非血缘脐血免疫原性弱，所含的细胞因子具有免疫调节功能，在单倍体造血干细胞移植中联合输注可以促进单倍体造血干细胞植入，并降低移植物抗宿主病发生<sup>[3]</sup>。由此作者设想同胞相合异基因造血干细胞移植联合非脐血输注能够提高年龄稍长的重型再生障碍性贫血患者的移植疗效。皖南医学院第一附属医院在 2017 年 7 月至 2018 年 2 月对 4 例 35 岁以上的重型再生障碍性贫血患者进行同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血输注，取得良好疗效，现报道如下。

## 1 对象和方法 Subjects and methods

1.1 设计 回顾性临床病例资料分析。

1.2 时间及地点 2017 年 7 月至 2018 年 2 月在皖南医学院第一附属医院完成。

1.3 对象

1.3.1 纳入标准 ①所有患者经过临床检查，诊断十分明确：均为重型再生障碍性贫血或极重型再生障碍性贫血；②患者与家属在充分知情同意的情况下签字同意行同胞相合造血干细胞移植联合非血缘脐血移植。

1.3.2 排除标准 有异基因造血干细胞移植禁忌的患者。

1.3.3 剔除标准 有以下情况者，一般应予以剔除：①不符合入选标准患者；②选择其他方法治疗的患者；③不同意进行

双重移植的患者。

1.3.4 病例资料 纳入 2017 年 7 月至 2018 年 2 月在皖南医学院第一附属医院血液科进行同胞相合异基因造血干细胞移植联合非血缘脐血输注的 4 例重型再生障碍性贫血患者，均为男性，中位年龄 40 岁 (35-45 岁)，重型再生障碍性贫血诊断标准依据中国再生障碍性贫血治疗指南<sup>[4]</sup>。基线资料见表 1。

1.4 方法

1.4.1 干细胞动员、采集和输注 所有同胞供者采用粒细胞集落刺激因子  $10 \mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-3 d 至 02 d) 动员造血干细胞，01 d 在手术室行骨髓采集术，骨髓采集量为 600-800 mL，骨髓采集后进行 CD34<sup>+</sup> 细胞计数确定骨髓干细胞数量，根据供受者血型情况选择去浆或去红细胞后输注；02 d 利用血细胞分离机分离动员后一般采用外周静脉 (贵要静脉、股静脉等) 进行外周血干细胞采集，目标干细胞采集量为总的有核细胞  $> 2 \times 10^8/\text{kg}$ ，CD34<sup>+</sup> 细胞  $> 2 \times 10^6/\text{kg}$ ，采集后立即输注。受者在 03 d 输注非血缘脐血 1 份 (来源于中国脐血库)，脐血血型与受者相同。

1.4.2 预处理方案 病例 1 采用环磷酰胺联合兔抗胸腺细胞免疫球蛋白 (CY/rATG) 方案：环磷酰胺  $50 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-6 d 至 -3 d) 联合兔抗胸腺细胞免疫球蛋白  $3.25 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-5 d 至 -2 d)；其余患者采用氟达拉滨联合环磷酰胺及兔抗胸腺细胞免疫球蛋白 (Flu/CY/rATG) 方案：氟达拉滨  $30 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-7 d 至 -4 d)，兔抗胸腺细胞免疫球蛋白  $2.75 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-6 d 至 -3 d)，环磷酰胺  $60 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  (-3 d 至 -2 d)。

1.4.3 移植物抗宿主病预防方案 病例 1 采用环孢素 (CSA) 联合吗替麦考酚酯 (MMF) 治疗，病例 2, 3, 4 采用环孢素联合吗替麦考酚酯及短程甲氨蝶呤 (MTX) 方案：环孢素起始剂量  $3 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  24 h 持续静脉泵入，目标平均血药浓度为

表 1 | 重型再生障碍性贫血 4 例患者基线资料

Table 1 | Baseline data of four patients with severe aplastic anemia

病例	性别	诊断	诊断到移植的时间(月)	供受者关系	供受者年龄	供受者血型	铁超载	HLA 抗体(I 类和 II 类)筛查
病例 1	男性	重型再生障碍性贫血	1	妹供哥	44 岁 /45 岁	B/B	否	阴性
病例 2	男性	慢性再生障碍性贫血 (输血依赖)	8	姐供弟	41 岁 /35 岁	A/O	是	阴性
病例 3	男性	极重型再生障碍性贫血	1	姐供弟	48 岁 /42 岁	O/A	否	阴性
病例 4	男性	极重型再生障碍性贫血	4	妹供哥	48 岁 /38 岁	O/A	否	阴性

200–300 μg/L, 根据血药浓度调整剂量, -1 d 开始应用, 移植后胃肠道反应消失, 改为 2 倍剂量口服治疗, 维持谷浓度在 150–300 μg/L, 持续至少 12 个月, 如无急性移植物抗宿主病则逐渐减停; 吗替麦考酚酯 25–30 mg/(kg·d), +1 d 开始应用, +30 d 开始减量, 如无急性移植物抗宿主病逐渐停用; 短程甲氨蝶呤 +1 d 时 15 mg/m<sup>2</sup>, +3, +6, +11 d 时 10 mg/m<sup>2</sup>。

**1.4.4 支持治疗** 移植前采用复方磺胺甲恶唑预防卡氏肺囊虫病, 在移植前 1 d 停用; 使用阿昔洛韦预防疱疹病毒感染, 移植后 +1 d 开始; 使用伊曲康唑预防真菌感染; 使用黄连素进行肠道清洁; 采用肝素、熊去氧胆酸联合前列地尔预防肝静脉闭塞综合征, 肝素在患者血小板降至 20×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup> 以下时停用。当血红蛋白 < 60 g/L 时, 输注辐照红细胞; 当血小板计数 < 20×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup> 以下时输注辐照机采血小板 (根据供受者血型相合程度选择不同血型的血制品, 所有血制品均经过 γ 射线照射)。移植后给予粒细胞集落刺激因子、血小板生成素促进干细胞植入。出现感染时, 给予积极抗感染治疗。同时监测 EB 病毒 DNA 和巨细胞病毒 DNA 的变化, 出现拷贝数升高, 积极给予抗病毒、免疫球蛋白输注治疗, 对于 EB 病毒感染患者加用利妥昔单抗治疗。

**1.4.5 干细胞植入评估** 移植后外周血中性粒细胞 > 0.5×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup> 超过 3 d 的第 1 天, 为中性粒细胞植入时间; 不依赖血小板输注的情况下, 血小板 > 20×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup> 超过 7 d 的第 1 天, 为血小板植入时间。网织红细胞 ≥ 1% 为红系植入时间。移植后监测供、受者 DNA 短程串联重复序列聚合酶链式反应嵌合度以及性染色体核型为植入依据。

**1.4.6 随访和生存分析** 采用门诊或电话联系对所有患者进行随访。随访终点为 2020-02-28, 中位随访 21(15–30) 个月。总生存时间: 造血干细胞回输至因任何原因引起死亡的时间或截止随访终点; 无病生存时间: 造血干细胞植入至任何原因引起死亡的时间或截止随访终点; 无移植物抗宿主病无复发生存时间: 从造血干细胞移植后至出现 3 级或 4 级急性移植物抗宿主病、需要全身免疫抑制治疗的慢性移植物抗宿主病、疾病复发或死亡的时间。

**1.5 主要观察指标** ①造血重建情况: 包括粒系重建时间 (中性粒细胞绝对数 ≥ 0.5×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup>, 连续 3 d)、血小板重建时间 (连续 7 d 不输血小板的情况下, 血小板 ≥ 20×10<sup>9</sup> L<sup>-1</sup>)、红系植入时间 (网织红细胞绝对值百分比 ≥ 1%); ②移植相关并发症及移植物抗宿主病发生情况; ③生存情况。

## 2 结果 Results

**2.1 参与者数量分析** 所有患者均进入结果分析。

**2.2 试验流程图** 见图 1。

**2.3 非血缘脐血配型情况** 4 例患者输注的非血缘脐血均为

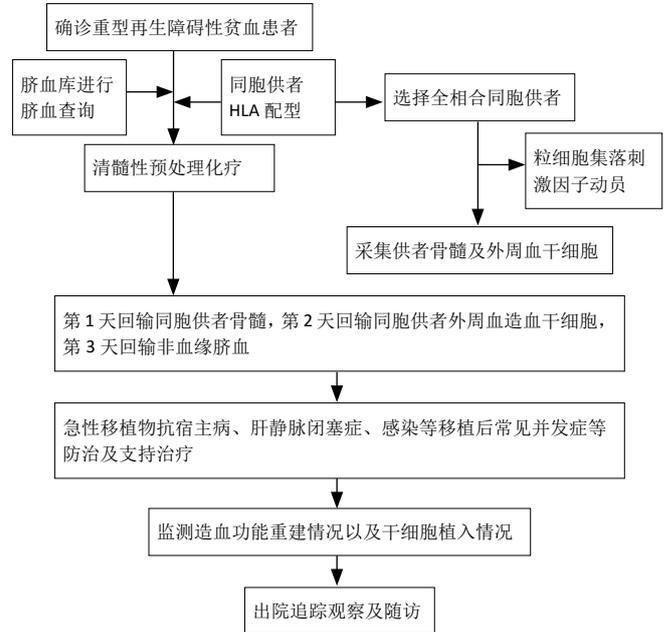


图 1 | 试验流程图

Figure 1 | Flow chart of the study

男性, 血型与受者相同, HLA 血清型分型结果: 病例 1、病例 3 患者均为 5/6 相合, 病例 2 为 4/6 相合, 病例 4 为 6/6 相合; HLA 基因型分型结果: 病例 1 和病例 4 为 9/10 相合, 病例 2 为 3/10 相合, 病例 3 为 2/10 相合。配型结果见表 2。

**2.4 回输的干细胞计数** 4 例患者输注同胞供者干细胞中位总的有核细胞数为 13.67×10<sup>8</sup>/kg, CD34<sup>+</sup> 细胞数为 2.7×10<sup>6</sup>/kg; 输注非血缘脐血, 脐血干细胞中位总的有核细胞数为 2.1×10<sup>7</sup>/kg, 中位 CD34<sup>+</sup> 细胞数为 1.21×10<sup>5</sup>/kg, 见表 3。

**2.5 干细胞植入情况** 所有患者在移植后 1 个月均获得干细胞稳定植入, 造血重建。中性粒细胞中位植入时间为 +10 d (9–18 d), 血小板中位植入时间为 +20 d (12–24 d), 红系中位植入时间为 19.5 d (15–27 d), 见表 3。

**2.6 短串联重复序列 (STR) 监测嵌合状态** 移植后 1 例患者 (病例 2) 为同胞供者嵌合; 其余 3 例患者为 2 种供者干细胞混合嵌合, 总的供者嵌合率 > 95%。移植后 4 例患者检测短串联重复序列嵌合变化如图 2 所示。病例 1 在移植后 3 个月开始出现非血缘脐血成分, 并逐渐取代同胞供者成为优势植入。病例 3 在移植后 6 个月以内一直存在 2 种供者的混合植入, 至移植后 8 个月逐渐转为同胞供者完全植入; 病例 4 在移植后 8 个月出现供者嵌合明显下降, 脐血干细胞丢失, 供受者混合嵌合状态, 给予输注同胞供者动员后外周血干细胞 2 次, 回输后同胞供者嵌合率增加。

**2.7 染色体监测** 所有同胞供者均为女性, 输注的非血缘脐血均为男性; 在移植后监测性染色体核型转变如图 3 所示,

表 2 | 受者与非血缘脐血 HLA 分型分析

Table 2 | Analysis of HLA typing between recipients and unrelated cord blood

HLA 配型	A	B	C	DRB1	DQ	HLA 血清型相合程度	HLA 基因型相合程度
病例 1 受者	30:01:00	13:02	6:02	7:01	2:02	5/6	9/10
	30:01:00	13:02	6:02	7:01	2:02		
	脐血 (男性)	2:01:01	13:02:01	6:02:01	7:01		
病例 2 受者	11:02	15:01	4:01	8:03	6:01	4/6	3/10
	26:01:00	40:06:00	08:01/22	11:01	3:01		
	脐血 (男性)	11:01	39:01:00	7:02	4:10		
病例 3 受者	2:01	15:11	3:03	4:03	3:02	5/6	2/10
	11:01	35:01:00	3:03	4:05	4:01		
	脐血 (男性)	2:03:01	15:27:01	04:01:01G	4:03:01		
病例 4 受者	2:01	40:01:00	1:02	8:03	6:01	6/6	9/10
	2:07	46:01:00	15:02	9:01	3:03		
	脐血 (男性)	2:06	40:01:00	1:02	8:03		
	2:07	46:01:00	3:04	9:01	3:03		

表 3 | 干细胞输注及植入时间、并发症和生存情况

Table 3 | Stem cell infusion and implantation time, complications and survival

病例	同胞供者干细胞输注数		脐血干细胞输注数		中性粒细胞植入时间	血小板植入时间	红系植入时间	并发症	总生存期	无移植物抗宿主病无复发生存期						
	总的有核细胞	CD34 <sup>+</sup> 细胞	总的有核细胞	CD34 <sup>+</sup> 细胞												
病例 1	12.03×10 <sup>8</sup> /kg	1.04×10 <sup>6</sup> /kg	2.80×10 <sup>7</sup> /kg	1.87×10 <sup>5</sup> /kg	+9 d	+17 d	+15 d	无	无	肺部、肛周	无	无	有	疑诊	30 个月	30 个月
病例 2	11.63×10 <sup>8</sup> /kg	2.33×10 <sup>6</sup> /kg	3.10×10 <sup>7</sup> /kg	1.65×10 <sup>5</sup> /kg	+10 d	+12 d	+27 d	I 级	无	肺部、泌尿系统	无	有	有	无	28 个月	28 个月
病例 3	19.51×10 <sup>8</sup> /kg	5.26×10 <sup>6</sup> /kg	1.36×10 <sup>7</sup> /kg	0.43×10 <sup>5</sup> /kg	+18 d	+24 d	+19 d	无	无	肺部	无	有	有	无	24 个月	24 个月
病例 4	15.31×10 <sup>8</sup> /kg	3.07×10 <sup>6</sup> /kg	1.40×10 <sup>7</sup> /kg	0.78×10 <sup>5</sup> /kg	+10 d	+23d	+20 d	无	无	肺部、关节腔、血流	无	有	有	无	15 个月	-

病例 2 为完全同胞供者核型；其余 3 例患者存在 2 种供者混合染色体核型，病例 1 逐渐转为脐血染色体核型，病例 3 和 4 转为同胞供者核型。

**2.8 移植物抗宿主病及其他并发症发生情况** 4 例患者中，病例 2 出现上消化道 I 级急性移植物抗宿主病，给予小剂量甲强龙治疗后症状消失；其余患者未发生任何级别的急性移植物抗宿主病或慢性移植物抗宿主病。在移植过程中，均发生肺部感染，病例 1 合并出现肛周脓肿；病例 4 出现败血症和双侧踝关节腔感染，关节腔穿刺病理提示阿萨西毛孢子菌感染，给予关节腔局部注射两性霉素 B 及全身静脉使用两性霉素 B 脂质体和伏立康唑治疗，感染部分控制，但患者放弃治疗自动出院；病例 1, 2, 3 经过积极抗感染治疗，感染均治愈。有 3 例患者发生巨细胞病毒感染，均为巨细胞病毒血症，经过更昔洛韦和 / 或膦甲酸钠治疗后巨细胞病毒转阴；EB 病毒感染发生率为 100%，病例 1 同时出现肝脾肿大，临床上疑诊移植后淋巴瘤组织增殖性疾病，所有患者经过减撤免疫抑制剂、应用免疫球蛋白及利妥昔单抗，获得临床治愈，见表 3。

**2.9 随访与生存分析** 随访至 2020-02-28，中位随访 21(15-30) 个月，病例 4 患者由于反复肺部和关节腔感染，于移植后 15 个月放弃治疗后自动出院；其余 3 例患者均无病生存。生存时间见表 3。

**2.10 不良反应发生情况** 所有患者输注同胞供者骨髓和外周血干细胞以及非血缘脐血过程顺利，未发生输注相关死亡。

### 3 讨论 Discussion

重型再生障碍性贫血是再生障碍性贫血中严重类型，常因重症感染和出血而死亡。抗胸腺细胞免疫球蛋白 / 抗淋巴细胞免疫球蛋白联合环孢素的强化免疫抑制治疗和同胞相合异基因造血干细胞移植均可以作为重型再生障碍性贫血的一线治疗方案<sup>[4]</sup>。随着患者年龄的增加，植入率下降、移植物抗宿主病升高、治疗相关性死亡增加，使得同胞相合异基因造血干细胞移植在年长的重型再生障碍性贫血患者中的疗效呈现下降趋势。40 岁以上的重型再生障碍性贫血在同胞相合异基因造血干细胞移植后 5 年总生存率只有 50% 左右，明显低于 40 岁以下患者<sup>[2]</sup>。抗人胸腺细胞球蛋白 / 抗淋巴细胞免疫球蛋白联合环孢素的强化免疫抑制治疗需要在 4-6 个月才能评判疗效，总体疗效仅 60% 左右，而且可能带来二次肿瘤和疾病复发的风险<sup>[5-6]</sup>。因此，如果存在 HLA 全相合同胞供者，年龄即使是 40 岁以上重型再生障碍性贫血患者仍然倾向于选择同胞相合异基因造血干细胞移植作为一线治疗方案。作者所在单位在对 1 例 45 岁重型再生障碍性贫血患者进行同胞相合异基因造血干细胞移植过程中由于供者出现外周血干细胞采集不能耐受，只获得同胞供者骨髓及外周血干

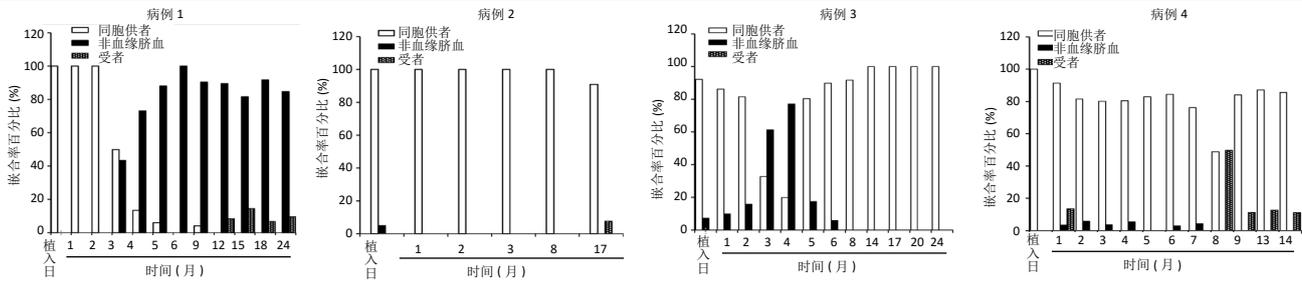


图2 | 重型再生障碍性贫血4例患者植入时间以及移植后短串联重复序列 (STR) 变化  
Figure 2 | Implantation time and short tandem repeat changes in four patients with severe aplastic anemia

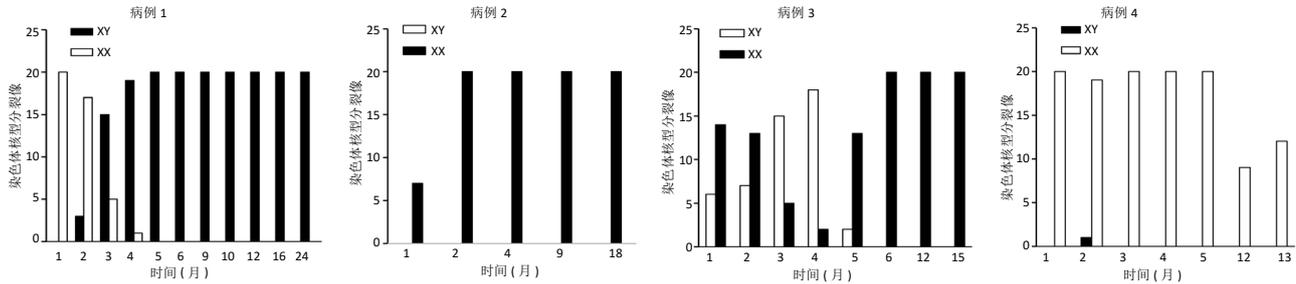


图3 | 重型再生障碍性贫血4例患者移植后染色体核型变化  
Figure 3 | Chromosome karyotype changes in four patients with severe aplastic anemia after transplantation

细胞 CD34<sup>+</sup> 细胞数 1.04×10<sup>6</sup>/kg, 考虑到只有植入标准的 1/2 造血干细胞数不能确保患者获得干细胞稳定植入, 所以在外周血干细胞输注的次日为患者输注了 1 份 HLA 配型 5/6 的非血缘脐血, 输注脐血总的有核细胞数为 2.8×10<sup>7</sup>/kg, CD34<sup>+</sup> 细胞数为 1.87×10<sup>5</sup>/kg。患者于移植后第 9 天获得粒系植入, +17 d 获得血小板植入, 并且未发生任何级别移植物抗宿主病。作者设想非血缘脐血联合同胞相合异基因造血干细胞移植可能起到增加年龄稍长重型再生障碍性贫血患者移植疗效的作用。作者所在科室再次对另 3 例重型再生障碍性贫血患者进行上述移植治疗。所有 4 例患者全部成功植入, 未发生重度急性移植物抗宿主病和任何级别的慢性移植物抗宿主病; 至随访日, 2 年总生存率和无病生存率均为 75%, 存活患者中无移植物抗宿主病无复发生存率为 100%, 疗效甚好。无独有偶, KUM 等<sup>[7]</sup>在对 1 例 6 岁重型再生障碍性贫血患者进行同胞移植时, 在供者外周血干细胞 CD34<sup>+</sup> 细胞数只有 0.92×10<sup>6</sup>/kg 情况下, 联合输注了供者脐血 1 份, 脐血干细胞总的有核细胞数为 1.4×10<sup>7</sup>/kg, CD34<sup>+</sup> 细胞数为 0.3×10<sup>5</sup>/kg, 在移植后 +12 d 获得粒系植入, +21 d 获得血小板植入, 未发生任何级别的移植物抗宿主病, 无病生存 1 年。作者认为脐血起到促进干细胞植入、降低移植物抗宿主病的作用。由于该研究病例数尚少, 需要扩大样本量后进行进一步分析。

国内吴德沛等<sup>[8]</sup>将 2 种不同供者的干细胞联合输注进行造血干细胞移植称为双重移植。双重移植的供者种类主要为非血缘脐血联合 HLA 不全相合亲缘供者<sup>[9-10]</sup>。研究发现, 对亲缘供者的干细胞是否进行体外去除 T 细胞, 将决定双重移植中最终植入的干细胞种类。国外学者利用体外 CD34<sup>+</sup> 分选的第三方 HLA 不全相合亲缘供者干细胞输注联合非血缘脐血移植<sup>[9]</sup>, 弥补非血缘脐血植入慢的缺点, 移植后早期第三方干细胞先植入, 获得造血重建, 继而被非血缘脐血逐渐取代, 最终脐血稳定植入, 发挥非血缘脐血移植物抗宿主病低, 无移植物抗宿主病无复发生存率高的优势。而国内选择非体外去 T 细胞的模式进行非血缘脐血联合亲缘单倍体造血

干细胞移植<sup>[10]</sup>, 目的在于发挥脐血免疫调节作用, 达到促进单倍体干细胞植入、降低移植物抗宿主病的目的。该研究采用了非血缘脐血联合同胞相合供者干细胞输注的双重移植类型, 移植选择非血缘脐血标准: 首选与受者血型相同; 其次 HLA 相合程度高; 最后选择总的有核细胞数高的那一份。对患者移植后的嵌合度监测发现各具特点, 推测原因可能是: 病例 1 输注同胞供者的干细胞量偏少, 而其输注的非血缘脐血干细胞数量已经基本达到单份脐血移植的植入标准<sup>[11-12]</sup>, 而且, 与骨髓和外周血干细胞相比, 脐血中的造血干细胞更原始, 有更强的增殖分化能力, 因此非血缘脐血取代了同胞供者干细胞而最终植入; 病例 2 和病例 3 所输注同胞供者干细胞的总有核细胞数和 CD34<sup>+</sup> 细胞数远远超过非血缘脐血, 根据欧洲血液和骨髓移植组织推荐的脐血植入标准<sup>[13]</sup>: 对于非恶性疾病, 如果选择 0/6-1/6 个 HLA 位点不合的脐血, 冷冻时最小的总的有核细胞要求达到 (2.5-3.0)×10<sup>7</sup>/kg, 复温时总的有核细胞达到 (2.0-2.5)×10<sup>7</sup>/kg, 冷冻或复温后 CD34<sup>+</sup> 细胞数应达到 (1.2-1.7)×10<sup>5</sup>/kg; 对于 2 个位点不合, 冷冻时总的有核细胞要求至少达到 (4.0-5.0)×10<sup>7</sup>/kg, 复温时总的有核细胞达到 3.5×10<sup>7</sup>/kg, CD34<sup>+</sup> 细胞数应超过 (2.0-2.5)×10<sup>5</sup>/kg。2 例患者的非血缘脐血 HLA 高分辨配型与患者只有 3/10 和 2/10 相合, 所以这 2 例患者最终植入的是同胞供者干细胞, 其中病例 2 输注的脐血在移植后早期就被排斥, 病例 4 所输注的同胞干细胞数量与脐血干细胞数量从植入标准看, 势均力敌, 两相竞争下最终出现同胞供者干细胞部分丢失, 嵌合率下降。作者认为在以后进行的上述双重移植时, 非血缘脐血选择标准可能需要进行进一步调整, 以期获得更稳定的优势干细胞植入。

鉴于重型再生障碍性贫血是一种非恶性疾病, 因此同胞相合异基因造血干细胞移植在获得造血干细胞成功植入后, 需要最大限度减少移植物抗宿主病发生。文献报道发现, 与青年患者相比, 年龄超过 40 岁的重型再生障碍性贫血在同胞相合异基因造血干细胞移植后出现移植相关死亡和

移植物抗宿主病发生率增高,使得患者的总体生存下降<sup>[2]</sup>。国内外多位学者从改良预处理方案、联合阿仑单抗等方面着手来期望提高这部分患者的移植疗效<sup>[14-16]</sup>。脐血是从胎儿自母体娩出后连接胎盘的脐带中分离出的部分。人脐血中富含造血干细胞及间充质干细胞,前者可分化为造血细胞及免疫细胞,而后者可分化为造血系统重要的支持组织,其中CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>亚群细胞具有强大的自我复制能力、多向分化能力,临床上广泛用于血液病的治疗。研究发现,在单倍体造血干细胞移植中加入第三方非血缘脐血会明显降低HLA不相合干细胞所带来的植入失败率和重度移植物抗宿主病的发生<sup>[10]</sup>,目前机制尚不能明确。该研究中所有患者均获得稳定植入,无一例患者发生重度急性移植物抗宿主病和任何级别慢性移植物抗宿主病,较国内外报道的同胞相合移植治疗年龄较长的重型再生障碍性贫血患者移植物抗宿主病发生率<sup>[17-18]</sup>,获得了非常好的无移植物抗宿主病无复发生存。因此推测脐血输注联合同胞相合异基因造血干细胞移植可能部分扭转年龄对同胞相合异基因造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血带来的疗效差异。当然,这一结论还需要积累更多的临床病例加以佐证。

不可忽视的是重型再生障碍性贫血患者进行造血干细胞移植后EB病毒感染。90%以上的正常人群均可能发生EB病毒潜伏感染,异基因造血干细胞移植中预处理化疗和大量免疫抑制剂的使用会明显增加EB病毒的活化和EB病毒病的发生。文献报道,异基因造血干细胞移植中EB病毒感染发生率为24.6%–87.5%,发生EB病毒感染相关的移植后淋巴细胞增殖性疾病的高危因素有HLA不全相合移植、发生重度移植物抗宿主病、抗人胸腺细胞球蛋白的使用、输注非血缘脐血或间充质干细胞、年龄>50岁、二次移植等<sup>[19-21]</sup>。该研究4例患者存在抗人胸腺细胞球蛋白的使用、脐血输注等危险因素,在监测中发现均出现EB病毒DNA拷贝数升高,其中病例1患者合并出现肝脾肿大,临床上疑诊淋巴细胞增殖性疾病可能。所有患者在经过减撤免疫抑制剂、输注丙种球蛋白及利妥昔单抗治疗后,EB病毒DNA降至正常,未发生临床确诊的淋巴细胞增殖性疾病及相关死亡。因此作者认为,对于存在EB病毒感染高危因素的移植类型在移植后通过加强EB病毒DNA监测频次,尽早发现,尽早治疗,从而可以减少淋巴细胞增殖性疾病发生。

综上所述,该研究发现非血缘脐血联合同胞相合异基因移植治疗成人重型再生障碍性贫血获得良好疗效,重复上述的移植类型再次治疗3例患者仍获得类似结果;这一研究已经注册中国临床试验,注册号:ChiECTR1800019034,有待临床扩大样本量进一步研究。

**致谢:** 向皖南医学院第一附属医院弋矶山医院血液科移植病房全体医护人员致谢。

**作者贡献:** 研究设计由黄东平主任负责;移植实施由韦中玲、蒋艺枝、黄来全、严家炜、余正芝、王娜娜、黄辰、王然医师负责,研究结果评估由黄东平、韦中玲负责;研究资料收集整理由韦中玲负责。

**经费支持:** 该文章接受了“安徽省重点研究与开发项目(201904a07020036)”“皖南医学院重点培育项目(WK2018ZF09)”“芜湖市科技计划项目(2019cg22)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**机构伦理问题:** 该临床研究的实施符合《赫尔辛基宣言》并通过中国临床试

验注册(注册号:ChiECTR1800019034)。实施治疗的医生/医疗机构符合造血干细胞移植的资质要求。

**知情同意问题:** 参与试验的患者及其家属为自愿参加,所有供者、受者均对试验过程完全知情同意,在充分了解本治疗方案的前提下签署了“知情同意书”。

**写作指南:** 该研究遵守《观察性临床研究报告指南》(STROBE指南)。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

**生物统计学声明:** 文章统计学方法已经通过外审专家审核。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

## 4 参考文献 References

- BURROUGHS LM, WOOLFREY AE, STORER BE, et al. Success of allogeneic marrow transplantation for children with severe aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2012; 158(1):120-128.
- GIAMMARCO S, PEFFAULT DE LATOUR R, SICA S, et al. Transplant outcome for patients with acquired aplastic anemia over the age of 40: has the outcome improved? *Blood*. 2018;131(17):1989-1992.
- 刘立民,张彦明,周惠,等.单倍体造血干细胞联合第三方脐血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血127例临床观察[J].中华血液学杂志,2018,39(8):624-628.
- 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组.再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017年版)[J].中华血液学杂志,2017,38(1):1-5.
- SCHEINBERG P, RIOS O, SCHEINBERG P, et al. Prolonged cyclosporine administration after antithymocyte globulin delays but does not prevent relapse in severe aplastic anemia. *Am J Hematol*. 2014;89(6):571-574.
- PEZESHKI A, PODDER S, KAMEL R, et al. Monosomy 7/del(7q) in inherited bone marrow failure syndromes: A systematic review. *Pediatr Blood Cancer*. 2017; 64(12):10.
- KUM CD, LEE MJ, PARK JE. Successful engraftment after infusion of multiple low doses of CD34+ cells from a poorly matched sibling donor in a patient with severe aplastic anemia. *Yeungnam Univ J Med*. 2019;36(2):148-151.
- 吴德沛,陈佳.改善移植预后的新方向:双重造血干细胞移植[J].中华医学杂志,2014,94(40):3121-3123.
- SANZ J, KWON M, BAUTISTA G, et al. Single umbilical cord blood with or without CD34+ cells from a third-party donor in adults with leukemia. *Blood Adv*. 2017; 1(15):1047-1055.
- 杜振兰,陈鹏,罗荣壮,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.
- BARKER JN, SCARADAVOU A, STEVENS CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies. *Blood*. 2010;115(9):1843-1849.
- 孙自敏.非血缘脐血移植是GVHD与GVL分离的最佳移植类型[J].中国科学技术大学学报,2018,48(10):791-796.
- ROCHA V, GLUCKMAN E; EUROCORD-NETCORD REGISTRY AND EUROPEAN BLOOD AND MARROW TRANSPLANT GROUP. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. *Br J Haematol*. 2009;147(2):262-274.
- YANG D, YANG J, HU X, et al. Aplastic Anemia Preconditioned with Fludarabine, Cyclophosphamide, and Anti-Thymocyte Globulin. *Ann Transplant*. 2019;24: 461-471.
- SHIN SH, JEON YW, YOON JH, et al. Comparable outcomes between younger ( $\leq 40$  years) and older ( $> 40$  years) adult patients with severe aplastic anemia after HLA-matched sibling stem cell transplantation using fludarabine-based conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(11):1456-1463.
- SHETH VS, POTTER V, GANDHI SA, et al. Similar outcomes of alemtuzumab-based hematopoietic cell transplantation for SAA patients older or younger than 50 years. *Blood Adv*. 2019;3(20):3070-3079.
- 卢静,吴德沛,胡绍,等.不同方式异基因造血干细胞移植治疗63例重型再生障碍性贫血患者的预后比较[J].中华血液学杂志,2015,36(8):633-636.
- KAKO S, KANDA Y, ONIZUKA M, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for aplastic anemia with pre-transplant conditioning using fludarabine, reduced-dose cyclophosphamide, and low-dose thymoglobulin: A KSGCT prospective study. *Am J Hematol*. 2020;95(3):251-257.
- 张钦,邹秉余,楼晓,等.异基因造血干细胞移植后EB病毒感染的危险因素及预后分析[J].中华内科杂志,2016,55(8):619-623.
- UHLIN M, WIKELL H, SUNDIN M, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014;99(2):346-352.
- LIU L, ZHANG X, FENG S. Epstein-Barr Virus-Related Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorders After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(7):1341-1349.