

亲缘半相合与无关供者造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血的疗效比较

卢岳 吴彤 曹星玉 赵艳丽 刘德琰 孙瑞娟
熊敏 魏志杰 张建平 周葭蕤 陆道培

【摘要】 目的 评价亲缘半相合造血干细胞移植(Haplo-HSCT)治疗重型再生障碍性贫血(SAA)的疗效,并且与同期进行的无关供者造血干细胞移植(UD-HSCT)进行比较。方法 回顾性分析2012年9月至2014年7月接受替代供者造血干细胞移植的50例SAA患者临床资料;其中24例接受Haplo-HSCT,26例接受UD-HSCT。结果 中位随访时间9(2~26)个月,总生存(OS)率为91.3%。UD-HSCT组和Haplo-HSCT组OS率分别为96.1%和86.0%($P=0.30$)。3例(6%)患者原发植入失败。Haplo-HSCT组患者Ⅱ~Ⅳ度急性移植物抗宿主病、慢性移植物抗宿主病、CMV血症、EBV血症发生率分别为37.5%、37.5%、78.2%及43.1%,均明显高于UD-HSCT组(3.83%、15.3%、46.1%及16.0%)(P 值分别为0.003、0.030、0.005、0.040);出血性膀胱炎发生率差异无统计学意义(39.1%对23.0%, $P=0.120$)。结论 Haplo-HSCT治疗SAA OS率较高,疗效与UD-HSCT相近。

【关键词】 造血干细胞移植; 贫血,再生障碍性,重型; 治疗结果; 半相合供者; 无关供者

HLA- haploidentical donor hematopoietic transplantation for severe aplastic anemia achieved comparable outcomes with HLA-unrelated donor transplantation Lu Yue, Wu Tong, Cao Xingyu, Zhao Yanli, Liu Deyan, Sun Ruijuan, Xiong Min, Wei Zhijie, Zhang Jianping, Zhou Jiarui, Lu Daopei. Ludaopei Hematology & Oncology Center, Yanda International Hospital, Hebei Langfang 065200, China
Corresponding author: Wu Tong, Email: tongwu-qian@vip.sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy of HLA- haploidentical donor hematopoietic transplantation (Haplo- HSCT) for severe aplastic anemia (SAA) by compared with the same period of unrelated donor transplantation (UD- HSCT). **Methods** Of a cohort of 50 SAA patients between September 2012 and July 2014, 26 patients underwent UD- HSCT and 24 patients Haplo- HSCT. **Results** OS rate was 91.3% with a median follow-up of 9 (2-26) months. According to transplant type, there was no significant difference between UD- and Haplo- HSCT (96.1% vs 86.0%, $P=0.30$). 3 of 50 (6%) patients had primary engraft failure. Haplo- HSCT developed higher significantly incidence of Ⅱ-Ⅳ aGVHD (37.5% vs 3.83%, $P=0.003$) and cGVHD (37.5% vs 15.3%, $P=0.030$) than UD- HSCT. Haplo- HSCT also had significantly higher incidences of CMV viremia (78.2% vs 46.1%, $P=0.005$) and EBV viremia (43.1% vs 16.0%, $P=0.040$), respectively than UD- HSCT. But the incidences of hemorrhagic cystitis were similar between two transplant types (39.1% vs 23.0%, $P=0.120$). **Conclusion** This study showed favorable outcome of Haplo- HSCT for SAA, which was comparable with UD- HSCT.

【Key words】 Hematopoietic transplatation; Severe aplastic anemia; Similar outcome; Haplo-donor; Unrelated donor

免疫抑制剂(IST)治疗失败的重型再生障碍性贫血(SAA)患者,如果缺乏同胞相合供者(MSD),首选无关供者(UD)HSCT^[1]。但是能够找到UD的患者毕竟有限,其次部分SAA患者病情紧急而没有时间去等待搜索UD。半相合供者(Haplo-D)由于

方便寻找,而且仅需1~2周的准备时间,越来越多的国内外移植中心尝试采用Haplo-D作为重要的替代供者^[2]。2014年中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识推荐儿童SAA患者如果没有MSD,年龄小于50岁SAA患者IST失败或复发推荐UD或Haplo-HSCT^[3]。但是Haplo-HSCT治疗SAA患者总生存(OS)率却有待提高,植入失败率较高和移植物抗宿主病(GVHD)是两大原因。我们最近采用Haplo-HSCT作为SAA患者既无MSD又缺UD的

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.01.007

作者单位:065200 河北廊坊三河市,燕达医院陆道培血液肿瘤中心干细胞治疗科

通信作者:吴彤,Email:tongwu-qian@vip.sina.com

首选,并且与同期进行的UD-HSCT进行比较,评估其疗效。

病例与方法

1. 病例:以2012年9月至2014年7月我院行HSCT的50例SAA患者为研究对象。男27例,女23例,中位年龄15(2~60)岁。32例(64%)患者移植前输注红细胞>20 U;21例(42%)接受过1个疗程抗胸腺细胞球蛋白(ATG)(法国赛诺菲公司产品)/抗淋巴细胞球蛋白(ALG)(武汉生物制品研究所产品)治疗。其中2例存在阵发性血红蛋白尿(PNH)克隆阳性。患者一般临床特征见表1。

表1 50例重型再生障碍性贫血(SAA)患者一般临床特征

临床特征	亲缘半相合供者(24例)	无关供者(26例)	P值
性别(男/女)	13/10	14/12	0.652
年龄[岁,M(范围)]	20(3~42)	12(2~60)	0.061
移植时年龄(岁)			0.740
≤14	9	14	
>14	15	12	
疾病严重程度			0.581
SAA	9	11	
VSAA	15	15	
移植前病程[月,M(范围)]	17(2~84)	11(2~132)	0.231
应用ATG/ALG(例)	11	8	0.653
移植前红细胞输注量(例)			0.861
<20 U	6	12	
>20 U	18	14	
供受者ABO血型相合程度(例)			0.650
主次均相合	10	8	
次要不合	1	5	
主要不合	6	6	
主次均不相合	7	7	
供受者CMV IgG(例)			0.893
+/+	24	25	
+/-		1	
MNC[×10 ⁶ /kg,M(范围)]	5.73 (3.21~20.30)	5.33 (3.82~16.40)	
CD34 ⁺ 细胞[×10 ⁶ /kg,M(范围)]	4.82 (2.23~12.30)	5.01 (2.53~14.01)	

注:VSAA:极重型再生障碍性贫血;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;ALG:抗淋巴细胞球蛋白;MNC:单个核细胞

2. HLA-配型及供者选择原则:移植前供受者采用顺序特异引物聚合酶链反应(PCR-SSP)HLA基因分型技术对A、B、Cw, DRB1, DQ位点进行高分辨配型。供者选择原则为无MSD患者,选择中华骨髓库或我国台湾骨髓库≥9/10 UD,如果前两种供者均无,在亲缘间选择Haplo-D。

3. 预处理方案:34例患者采用以白消安(Bu)

(0.8 mg/kg,每6 h 1次,-7,-6 d)+环磷酰胺(Cy)(500 mg·m⁻²·d⁻¹, -5~-2 d)+氟达拉滨(Flu)(30 mg·m⁻²·d⁻¹, -5~-2 d)为基础的方案;11例采用全身照射(TBI)(200 cGy,-6 d)+Flu(30 mg·m⁻²·d⁻¹, -5~-2 d)+Cy(500 mg/m², -5~-2 d)为基础的方案;5例采用Flu(30 mg/m², -5~-2 d)+Cy(500 mg/m², -5~-2 d)为基础的方案。其中13例联合阿伦单抗(Campath- I)0.2 mg/kg,-6~-2 d;17例联合ATG 2.5 mg/kg,-4~-2 d;20例联合ALG(阿斯泰来制药集团产品)5 mg/kg,-5~-2 d。

4. 移植前采集和干细胞数量:采用G-CSF 7.5~10 μg/kg连续动员供者干细胞5 d,Haplo-D组第4天采集骨髓,第5天采集外周血造血干细胞(PBSC);UD组第5天采集PBSC。如果到第5天单个核细胞(MNC)总数和CD34⁺细胞数均未达到移植需要,第6天再次采集。Haplo-HSCT采用BM+PBSC,UD-HSCT采用单纯PBSC。输注的MNC中位细胞数为5.73(3.21~20.30)×10⁸/kg,CD34⁺中位细胞数为4.82(2.23~12.30)×10⁶/kg。

5. GVHD的预防和治疗:采用环孢素(CsA)或他克莫司(FK506)+霉酚酸酯(MMF)+短程甲氨蝶呤(MTX)预防GVHD。当出现II~IV度急性GVHD(aGVHD)时,予甲泼尼龙(总量1~2 mg/kg)或CD25单克隆抗体或间充质干细胞(每次5×10⁵/kg)进行治疗。患者如果移植后9个月血象正常、嵌合体均为供者型、无明显GVHD,CsA或FK506每月减量10%,直到减停。

6. 植活检测:连续3 d中性粒细胞绝对计数(ANC)≥0.5×10⁹/L、连续7 d在不输注血小板的情况下PLT持续≥20×10⁹/L,为达到植入指标。原发植入失败为+28 d内ANC持续≤0.5×10⁹/L。

7. 移植后供受者嵌合体检测:采用短串联重复基因位点和性染色体基因位点AMEL的DNA测序分析对造血功能重建后患者进行供受者嵌合体的检测。移植后前3个月每月检测1次,之后血常规正常的情况下每2~3个月检测1次。血常规不正常情况下每0.5~1个月检测1次。供者成分在95.0%以上定义为完全供者嵌合体。供者成分2.5%~95.0%定义为混合嵌合体。供者成分在2.5%以下为完全患者型,表明供者细胞原发植入失败。

8. 随访:总生存(OS)时间定义为确诊至患者死亡或随访截止日期的时间,随访截至2014年12月31日,观察患者造血重建情况、GVHD的发生情况及OS率等指标。Haplo-HSCT组患者中位随访12

(5~25)个月,UD-HSCT组中位随访12(1~21)个月。

9. 统计学处理:采用SPSS 17.0软件进行统计学分析,均数的比较采用独立样本 *t* 检验,样本率的比较采用 χ^2 检验,采用Kaplan-Meier法进行生存分析,率的比较采用Log-rank检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 造血功能重建:50例患者中47例顺利植入,ANC中位植活时间为14(9~23)d,血小板中位植活时间为15(8~25)d。3例(6%)原发植入失败(2例为Haplo-HSCT,1例为UD-HSCT),分别在+45、+50、+54 d进行了第2次Haplo-HSCT,均顺利植活。

2. 供受者嵌合体检测:所有患者植活后第1次供受者嵌合检测结果均为完全供者型,仅有1例患者在+67 d因为CMV感染出现供者成分下降为混合嵌合,其他49例患者至随访截止日均为100%供者型。

3. GVHD:10例发生II~IV度aGVHD,发生率为20%。Haplo-HSCT组的发生率明显高于UD-HSCT组(37.5%对3.83%, $P=0.003$)。在三种不同GVHD预防方案中,阿伦单抗组、ALG组、ATG组II~IV度aGVHD发生率差异无统计学意义(30.7%、20.0%、11.7%, $P=0.430$)。13例(26%)发生cGVHD(8例广泛型,5例局限型),Haplo-HSCT组的发生率明显高于UD-HSCT(37.5%对5.3%, $P=0.030$)。

4. 移植后感染:32例(64%)发生CMV血症,Haplo-HSCT组发生率明显高于UD-HSCT组(78.2%对46.1%, $P=0.005$)。11例(22%)发生EBV血症,Haplo-HSCT组发生率明显高于UD-HSCT组(43.1%对16.0%, $P=0.040$),其中1例进展为淋巴组织增殖性疾病,1例进展为EBV肺炎。12例发生出血性膀胱炎,Haplo-HSCT组与UD-HSCT组的发生率差异无统计学意义(39.1%对23%, $P=0.120$)。13例(26%)发生新发肺部细菌/真菌感染,Haplo-HSCT组与UD-HSCT组的发生率差异无统计学意义(36.1%对22.0%, $P=0.100$)。

5. 转归:中位随访时间9(1~26)个月,OS率为91.3%。按照移植类型分组显示,Haplo-HSCT组和UD-HSCT组患者OS率分别为86.0%和96.1%,差异无统计学意义($P=0.300$)。6例患者死亡,1例死于毛霉菌病,2例死于颅内出血,1例死于EBV病肺炎,1例死于颅内感染,1例死于cGVHD,中位死亡时间为移植后7(1~11)个月。

讨 论

随着HLA高分辨配型技术的进步、预处理方案的改进及支持治疗的加强,UD-HSCT治疗SAA患者已经取得与MSD-HSCT相似的疗效^[4]。免疫抑制剂治疗失败又无MSD的SAA患者,首先推荐UD-HSCT。年龄小于14岁,而又无MSD的SAA患儿,UD-HSCT推荐为一线治疗^[5-6]。但是能够获得无关供者的患者毕竟有限。近几年来国内外很多移植中心尝试Haplo-HSCT治疗SAA,但是目前无统一预处理方案,疗效有待进一步提高。

早期Wagner等^[7]采用大剂量TBI(1 200 cGy)和Cy(60 mg·kg⁻¹·d⁻¹×2 d)的预处理方案对16例AA患者进行半相合移植,OS率为50%。同时国内许多移植中心也开始进行这方面的临床研究。韩伟等^[8]采用Bu联合大剂量Cy和ATG的预处理方案对17例SAA患者进行半相合移植,干细胞均顺利植入,但是GVHD发生率高,II~IV度aGVHD为(42.1±11.3)%,cGVHD为(56.2±12.4)%,移植相关死亡率为30%,OS率为63%。陈欣等^[9]对19例SAA患者进行替代供者HSCT,其中12例为半相合移植,5年预期OS率为67.5%。吴亚妹等^[10]采用Flu/Cy/ATG或Bu/Cy/ATG的预处理方案联合间充质干细胞对27例SAA患者进行半相合移植,达到100%干细胞植入,但是II~IV度aGVHD和cGVHD分别高达42.8%和50.0%,2年OS率为76.3%。Gao等^[11]采用Flu/Cy/ATG预处理方案对26例SAA患者进行半相合移植,干细胞植入率为92.3%,aGVHD和cGVHD分别为12.4%和40.0%,OS率为84.6%,较其他中心临床研究有所提高。

本组50例SAA患者,红细胞输注量>20 U占64.0%,ATG/ALG治疗无反应占35.2%,对于这些患者,需要加强免疫抑制以促进干细胞顺利植入,特别是对于半相合供者,需要有效跨越HLA不合的免疫屏障。既往的研究结果提示,在Flu/Cy的基础上加入Bu或TBI以加强免疫抑制,可以更加有效促进干细胞植入^[12-13]。本组患者共有3例原发植入失败,这3例患者分别在距离第1次移植后45、50、54 d进行了二次半相合移植(均更换了半相合供者),3例干细胞均顺利植活。47例顺利植入的患者在移植后进行了供受者嵌合体检测均为100%供者型。3例原发植入失败的患者在第二次移植干细胞顺利植活后检测供受者嵌合体均为100%供者型。50例患者仅有1例在移植后67 d因为严重病毒感染供者

成分下降成为混合嵌合状态,输注两次供者干细胞之后因为严重cGVHD而死亡。

GVHD的发生率是影响SAA患者allo-HSCT重要预后因素之一。Marsh等^[14]采用阿伦单抗替代ATG联合Flu+CTX的FCC预处理方案,应用于MSD及UD-HSCT治疗SAA, I~II度aGVHD和cGVHD的发生率分别为13.5%和4.0%。本研究我们采用CsA或FK506+MMF+短程MTX预防GVHD。50例患者中13例联合阿伦单抗、17例联合ATG、20例联合ALG,三组II~IV度aGVHD发生率差异无统计学意义($P=0.430$)。阿伦单抗在本组研究中对降低GVHD没有显示出优势,可能与本组患者数量较少及部分患者是半相合供者有关。但是,Haplo-HSCT组患者II~IV度aGVHD和cGVHD发生率明显高于UD-HSCT组。总体来说,本中心采用的预处理方案和GVHD预防方案体系,II~IV度aGVHD和cGVHD发生率分别为20%和26%,低于文献^[7,9-10]的报道。

在本组研究中,CMV血症和EBV血症总体发生率分别为64%和22%,低于文献^[15]报道;Haplo-HSCT组的发生率明显高于UD-HSCT组。仅有1例进展至淋巴组织增殖性疾病,1例进展为EBV肺炎。出血性膀胱炎和移植后新发肺部细菌/真菌感染的发生率差异均无统计学意义。

卢静等^[16]采用3种不同供者对SAA患者进行移植,取得与MSD-HSCT相似的疗效,其中Haplo-HSCT与UD-HSCT的疗效相似(81.0%对88.9%, $P>0.05$)。本组50例SAA患者,Haplo-HSCT这组也取得和同期UD-HSCT相似的疗效(86.0%对96.1%, $P=0.300$),并且OS率较高。

综上所述,在本组研究中,Haplo-HSCT与同期UD-HSCT相比,虽然GVHD和病毒激活的发生率相对来说要高,但是取得了较高的OS率,与同期UD-HSCT疗效相似。因此,Haplo-D可以作为重要的替代供者,特别是对于无MSD而病情紧急需要立即移植的SAA患者。

参考文献

- [1] Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia [J]. Br J Haematol, 2009, 147(1):43-70. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07842.x.
- [2] 左书凝,许兰平.单倍体相合造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血的现状与进展[J].中华血液学杂志,2015,36(8):707-710. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.08.019.
- [3] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组.中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识(I)——适应证、预处

理方案及供者选择(2014年版)[J].中华血液学杂志,2014,35(8):775-780. doi:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.08.029.

- [4] Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, et al. Comparison of matched-sibling donor BMT and unrelated donor BMT in children and adolescent with acquired severe aplastic anemia [J]. Bone Marrow Transplant, 2010, 45(10):1508-1513. doi: 10.1038/bmt.2009.378.
- [5] Shin SH, Lee SE, Lee JW. Recent advances in treatment of aplastic anemia [J]. Korean J Intern Med, 2014, 29(6):713-726. doi: 10.3904/kjim.2014.29.6.713.
- [6] Bacigalupo A, Socié G, Hamladji RM, et al. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia: an EBMT analysis [J]. Haematologica, 2015, 100(5):696-702. doi: 10.3324/haematol.2014.115345.
- [7] Wagner JL, Deeg HJ, Seidel K, et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia from genotypically HLA-non-identical relatives. An update of the Seattle experience [J]. Transplantation, 1996, 61(1):54-61.
- [8] 韩伟,黄晓军,刘开彦,等.配型不合造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血的疗效及安全性[J].中华内科杂志,2011,50(4):287-290. doi: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2011.04.006.
- [9] 陈欣,魏嘉璘,黄勇,等.替代供者异基因造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血19例疗效分析[J].中华血液学杂志,2014,35(1):9-12. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.01.003.
- [10] 吴亚妹,曹永彬,李晓红,等.间充质干细胞联合单倍体异基因造血干细胞移植治疗27例重型再生障碍性贫血临床疗效[J].解放军医学院学报,2014,35(2):1191-1195.
- [11] Gao L, Li Y, Zhang Y, et al. Long-term outcome of HLA-haplo-identical hematopoietic SCT without in vitro T-cell depletion for adult severe aplastic anemia after modified conditioning and supportive therapy [J]. Bone Marrow Transplant, 2014, 49(4):519-524. doi: 10.1038/bmt.2013.224.
- [12] Dullely FL, Vigorito AC, Aranha FJ, et al. Addition of low-dose busulfan to cyclophosphamide in aplastic anemia patients prior to allogeneic bone marrow transplantation to reduce rejection [J]. Bone Marrow Transplant, 2004, 33(1):9-13.
- [13] Bacigalupo A, Socié G, Lanino E, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party [J]. Haematologica, 2010, 95(6):976-982. doi: 10.3324/haematol.2009.018267.
- [14] Marsh JC, Gupta V, Lim Z, et al. Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia [J]. Blood, 2011, 118(8):2351-2357. doi: 10.1182/blood-2010-12-327536.
- [15] Wang Z, Zheng X, Yan H, et al. Good outcome of haploidentical hematopoietic SCT as a salvage therapy in children and adolescents with acquired severe aplastic anemia [J]. Bone Marrow Transplant, 2014, 49(12):1481-1485. doi: 10.1038/bmt.2014.187.
- [16] 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. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.08.001.

(收稿日期:2015-06-04)

(本文编辑:刘爽)