

脐血间充质干细胞在难治性重型再生障碍性贫血异基因造血干细胞移植中的应用

赵鸣悦 符粤文 王倩 艾昊 王勇奇 周健 房佰俊 魏旭东 宋永平

郑州大学附属肿瘤医院血液科 450008

通信作者:符粤文,Email:zhzhfyw@sina.com

【摘要】 目的 评价脐血间充质干细胞(UC-MSC)在难治性重型再生障碍性贫血(RSAA)异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)中的疗效及安全性。方法 回顾性分析郑州大学附属肿瘤医院2010年3月至2018年7月间接受UC-MSC联合同胞相合供者及无关供者)外周血干细胞移植的25例RSAA患者,其中同胞相合供者组10例,无关供者组15例。结果 25例患者中男13例,女12例。1例患者原发性植入失败,1例患者血小板植入不良,其余23例患者成功植入。粒细胞、血小板植入的中位时间分别为12.5(10~23)d、15(11~25)d。I/II度急性GVHD、慢性GVHD发生率分别为37.5%(9/24)、21.7%(5/23),未发生重度GVHD和严重移植相关并发症。中位随访22.9(1.6~107.8)个月,25例患者中4例死亡,21例(84%)存活,移植后5年总生存率为(83.6±7.5)%。结论 UC-MSC联合allo-HSCT治疗RSAA疗效确切、安全性好。

【关键词】 间充质干细胞; 外周血干细胞; 重型再生障碍性贫血

基金项目:河南省医学科技攻关计划重点项目(201502026)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.003

The role of mesenchymal stem cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with refractory severe aplastic anemia

Zhao Mingyue, Fu Yuewen, Wang Qian, Ai Hao, Wang Yongqi, Zhou Jian, Fang Baijun, Wei Xudong, Song Yongping

Haematology Department of the Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China

Corresponding author: Fu Yuewen, Email: zhzhfyw@sina.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the efficacy and safety of mesenchymal stem cells in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with refractory severe aplastic anemia (R-SAA). **Method** The clinical data of 25 R-SAA patients receiving co-transplantation of mesenchymal stem cells combined with peripheral blood stem cells from sibling donors (10 cases) and unrelated donors (15 cases) from March 2010 to July 2018 in Zhengzhou University Affiliated Tumor Hospital were retrospectively analyzed. Antithymocyte globulin (ATG) treatment was ineffective/relapsed in 11 cases, and cyclosporine (CsA) treatment ineffective/relapsed in 14 cases. **Results** There were 13 male and 12 female among these patients. One patient had a primary graft failure, one patient had a poorly engraftment of platelets, and the remaining 23 patients achieved hematopoietic engraftment. The median time of granulocyte engraftment was 12.5 (10–23) days and 15 (11–25) days for megakaryocyte. Incidences of grade I/II acute graft-versus-host disease (aGVHD) and chronic graft-versus-host disease (cGVHD) were 37.5% (9/24) and 21.7% (5/23), respectively. There was no severe GVHD and no severe complications that related to transplantation. 21 of 25 (84%) patients were alive with a median follow-up of 22.9(1.6–107.8) months. The 5-year overall survival rate after transplantation was (83.6±7.5)%. **Conclusion** The combination of mesenchymal stem cells is reliable and safe in the treatment of R-SAA in peripheral blood stem cell transplantation of unrelated donors and sibling donors, which could significantly reduce the incidence of GVHD and severe transplantation-related complications.

【Key words】 Mesenchymal stem cell; Peripheral blood stem cell; Severe aplastic anemia

Fund programs: Key Projects of Henan Medical Science and Technology Research Program (201502026)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.003

重型再生障碍性贫血(SAA)是严重危及患者生命的骨髓造血衰竭性疾病,造血干细胞移植(HSCT)和免疫抑制治疗(IST)是其主要的治疗手段^[1-2]。环孢素A(CsA)联合抗胸腺细胞球蛋白(ATG)是SAA患者的标准一线IST方案,治疗有效率约70%,5年总生存(OS)率为60%~85%^[1-3]。SAA患者IST后4~6个月仍未脱离输血或血象和骨髓象仍符合SAA标准,称为难治性SAA(RSAA)^[4]。异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是RSAA的有效治疗方法。间充质干细胞(MSC)具有低免疫原性、促进造血、免疫调控的特点,动物及临床研究证实MSC与造血干细胞(HSC)共移植可预防GVHD、促进造血^[5-6],因此MSC与HSC共移植可作为RSAA患者的治疗方法^[7]。本中心应用同胞相合供者(MSD)及无关供者(UD)外周血干细胞(PBSC)联合脐血MSC(UC-MSC)共移植治疗25例RSAA患者,获得较好的疗效。

病例与方法

1. 病例:本回顾性研究纳入2010年3月至2018年7月在郑州大学附属肿瘤医院接受MSD-PBSC及UD-PBSC联合UC-MSC共移植的25例RSAA患者(表1),诊断标准符合文献^[8]。根据供者来源分为MSD组和UD组,其中MSD组10例均为ATG无效/复发患者。所有患者及其监护人均签署移植相关风险同意书,本研究通过我院伦理审查委员会批准。采用高分辨基因分型检测方法,分别检测供者和患者的HLA-A、B、DR、DQ、Cw共10个位点,HLA相合情况见表1。所有患者均采用免疫抑制为主的减低剂量预处理方案,以氟达拉滨(Flu)+ATG+环磷酰胺(Cy)±白消安(Bu)±低剂量全身照射(TBI)为主(11例患者加用2~3 Gy TBI,4例患者加用Bu)。

2. GVHD的预防、诊断:所有患者均应用CsA、

表1 25例间充质干细胞联合异基因外周血干细胞共移植患者的临床特征

临床特征	MSD组(10例)	UD组(15例)
患者年龄[岁, M(范围)]	18(9~31)	20(8~42)
患者性别(例,男/女)	6/4	7/8
疾病类型(例)		
SAA	7	7
VSAA	3	8
移植前病程[月, M(范围)]	61.0(32.2~169.7)	48.8(36.3~262.5)
移植前血清铁蛋白[μg/L, M(范围)]	4 151(709~11 814)	2 706(760~18 220)
移植前存在活动性感染(例)	0	4
移植前IST方案(例)		
CsA+糖皮质激素	0	14
CsA+ATG	10	1
供受者性别(例)		
相同	5	8
不同	5	7
HLA配型(例)		
10/10	10	8
9/10	0	5
8/10	0	2
ABO血型(例)		
相合	4	5
不相合	6	10
预处理方案(例)		
Flu+ATG+Cy	3	10
Flu+ATG+Cy+TBI	5	3
Flu+ATG+Cy+Bu	1	0
Flu+ATG+Cy+Bu+TBI	1	2
回输MNC[×10 ⁸ /kg, M(范围)]	14.9(7.6~22.8)	10.6(5.1~25.9)
回输CD34 ⁺ 细胞[×10 ⁶ /kg, M(范围)]	6.1(2.5~18.4)	3.9(2.3~15.0)
回输UC-MSC[×10 ⁶ /kg, M(范围)]	1(1~1)	1(1~1)

注:MSD:同胞相合供者;UD:无关供者;SAA:重型再生障碍性贫血;VSAA:极重型再生障碍性贫血;IST:免疫抑制治疗;MNC:单个核细胞;UC-MSC:脐血间充质干细胞;Flu:氟达拉滨;CsA:环孢素A;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;Cy:环磷酰胺;Bu:白消安;TBI:全身照射

霉酚酸酯(MMF)、短程甲氨蝶呤(MTX)预防GVHD。从干细胞回输前1周开始,给予CsA 2.5~3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹静脉滴注,恶心、呕吐等症状好转后改为口服4.5~5.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹至少1年,维持血药浓度200~400 μg/L,根据GVHD情况进行个体化剂量调整。MMF从干细胞回输后第1天开始口服,成人1.0 g/d,儿童0.5 g/d,+30 d开始减量,+60 d减停。MTX 10 mg/m²于移植后第1、3、6、11天静脉给药。

急、慢性GVHD的诊断和分级分别依据西雅图标准和NIH标准^[9-10]。

3. 其他移植相关并发症的预防及支持治疗:所有患者均住百级层流病房,预处理前1周始给予肠道抗菌药物预防肠道感染、复方磺胺甲噁唑片预防卡氏肺孢子虫病、更昔洛韦预防巨细胞病毒(CMV)感染,预防性应用抗真菌药物。预处理过程中加强水化、碱化尿液,预防出血性膀胱炎;静脉应用前列腺素E1预防肝静脉闭塞病(VOD)。移植期间输注的红细胞及血小板均经辐照处理。

4. PBSC和UC-MSc的采集及输注:PBSC的动员和采集均根据中华骨髓库制定的标准,全部25例患者中位单个核细胞(MNC)输注量为11.7(5.1~25.9)×10⁸/kg,中位CD34⁺细胞输注量为4.9(2.3~18.4)×10⁶/kg。UC-MSc来自天津昂赛细胞基因工程有限公司。PBSC输注结束后6 h输注UC-MSc 1×10⁶/kg。

5. 疗效评价及随访:以外周血中性粒细胞绝对计数>0.5×10⁹/L连续3 d为粒细胞植入,PLT>20×10⁹/L连续7 d且脱离血小板输注为血小板植入。采用DNA短串联重复序列-聚合酶链式反应(STR-PCR)检测嵌合体,嵌合体中供者成分>95%、5%~95%分别定义为完全供者嵌合体、混合嵌合体,低于5%为植入失败。采用门诊复查的方式,随访至2019年1月20日。OS时间定义为HSC回输至随访截止或任何原因所致死亡的时间。

6. 统计学处理:应用SPSS 19.0统计软件进行数据分析。计数资料以例数和百分率表示,OS率分析采用Kaplan-Meier法。

结 果

1. 造血重建:25例患者中,UD组1例患者原发性植入失败(+30 d供者嵌合率为31%,+37 d为0),至今造血未重建,仍为SAA疾病状态,输血依赖;MSD组1例患者+22 d粒细胞植入,至+41 d患者死

亡时血小板仍未植入。MSD组1例患者回输同胞PBSC后造血重建较慢,+17 d嵌合率95%,+18 d回输UC-MSc,+25 d嵌合率20.57%,行二次移植,先后回输同胞PBSC和UC-MSc,二次移植后13 d粒细胞植入,14 d血小板植入,嵌合率100%。其余22例患者在回输后30 d内检测嵌合率均为完全嵌合。随访中,植入成功的23例患者中,仅UD组1例混合嵌合(65.8%~92.5%),其余22例患者持续保持完全嵌合状态。MSD组粒细胞、血小板植入的中位时间分别为13(11~23)d、12(11~22)d,UD组分别为12(12~18)d、15.5(11~25)d。详见表2。

2. 移植相关并发症:预处理过程顺利,未发生预处理相关的肠道、肝脏、肾脏不良反应,供者干细胞及UC-MSc回输顺利。25例患者中16例(64%)发生移植后细菌感染,包括粒细胞缺乏期感染、血流感染、皮肤软组织感染等,其中重度感染8例(32%)(MSD组3例,UD组5例),4例患者死亡。17例(68%)患者发生CMV血症,14例(56%)患者发生EB病毒(EBV)血症,13例(52%)患者同时存在CMV血症、EBV血症,经更昔洛韦、阿昔洛韦、大剂量静脉丙种球蛋白治疗后病毒转阴,其中UD组2例进展为CMV病(肺CMV感染,抗病毒治疗后痊愈),UD组1例患者进展为EBV相关移植后淋巴瘤组织增殖性疾病(PTLD),经联合利妥昔单抗治疗后痊愈。出血性膀胱炎(HC)6例(24%),尿多瘤病毒检测均为高滴度(>1×10³/拷贝),给予水化、碱化、抗病毒等治疗后5例痊愈,UD组1例给予二次回输UC-MSc后痊愈。未发生VOD、毛细血管渗漏综合征、移植相关性血栓性微血管病(TMA)。详见表2。

3. GVHD发生情况:除外1例原发性植入失败的患者,共9例(37.5%)发生急性GVHD(MSD组5例,UD组4例),中位发生时间为26(4~60)d,均为I/II度急性GVHD,给予糖皮质激素、MTX、CsA、II型TNF受体-抗体融合蛋白等免疫抑制剂治疗后均完全控制。除外+100 d内死亡的1例患者及1例植入失败患者,共5例(21.7%)发生慢性GVHD(MSD组1例,UD组4例),中位发生时间为210(141~240)d,其中局限型3例,广泛型2例,给予糖皮质激素、他克莫司、MMF等免疫抑制剂治疗后4例患者症状得到控制,UD组1例患者移植后持续蛋白尿(24 h尿蛋白定量3~5 g),肾脏穿刺活检病理示“系膜增生性肾小球病变缺血性肾损伤”,加用环磷酰胺等免疫抑制剂后得到控制。详见表2。

表2 25例难治性重型再生障碍性贫血患者移植结果

临床结局	MSD组(10例)	UD组(15例)
粒细胞/血小板植入成功[例(%)]	9(90.0)	14(93.3)
粒细胞植入时间[d, M(范围)]	13(11~23)	12(12~18)
血小板植入时间[d, M(范围)]	12(11~22)	15.5(11~25)
急性GVHD[例(%)]		
I度	1(10.0)	3(21.4)
II度	4(40.0)	1(7.2)
慢性GVHD[例(%)]		
局限型	1(11.1)	2(14.3)
广泛型	0(0)	2(14.3)
CMV血症[例(%)]	7(70.0)	10(66.7)
EBV血症[例(%)]	5(50.0)	9(60.0)
CMV血症+EBV血症[例(%)]	4(40.0)	9(60.0)
EBV-PTLD[例(%)]	0(0)	1(6.7)
移植后出血性膀胱炎[例(%)]	3(30.0)	3(20.0)
移植后细菌感染[例(%)]	6(60.0)	10(66.7)
重度感染[例(%)]	3(30.0)	5(33.3)

注: MSD: 同胞相合供者; UD: 无关供者; CMV: 巨细胞病毒; EBV: EB病毒; PTLD: 移植后淋巴组织增殖性疾病

4. 生存情况: 所有患者中位随访时间为22.9(1.6~107.8)个月, 无失访病例。随访期内4例(16%)患者死亡(MSD组1例, UD组3例), 死亡原因分别为肺感染+心肾功能衰竭+植入不良+肠道II度急性GVHD+消化道出血、肺感染+脓毒症+感染性休克、肺感染+心衰、肺感染+颅内出血。存活的21例患者中1例植入失败, 目前带病生存, 其余20例患者造血重建后生存状态良好。全部25例患者5年OS率为(83.6±7.5)%, MSD组、UD组移植后5年OS率分别为(90.0±9.5)%、(80.0±10.3)%。随访期内所有患者平均生存时间为91.0(95%CI 75.9~106.1)个月。MSD组、UD组OS曲线见图1。

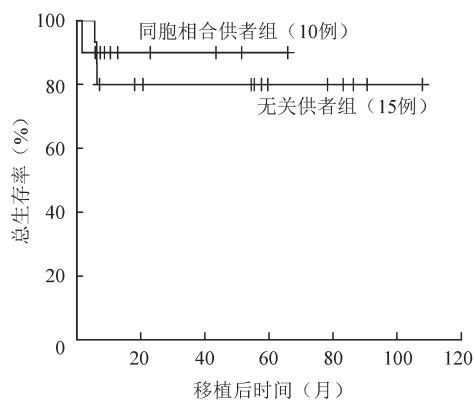


图1 难治性重型再生障碍性贫血患者脐血间充质干细胞联合异基因造血干细胞移植后总生存曲线

讨论

CsA联合ATG是SAA患者的标准IST方案, 有效率约70%, IST后5年OS率为60%~85%^[2-3,11]。MSC是从骨髓、外周血、脐血、胎盘或其他组织(如肺、肌肉等)分离获得的具有干细胞样生物学特性基质细胞群体, 其生物学特性包括: 体外培养条件下对塑料具有黏附性、多向分化潜能、低免疫原性(不表达MHC-II类分子和Fas配体, 不表达或者低表达MHC-I类分子, 也不表达CD80、CD86、CD40、CD40L等共刺激分子)、免疫调控和自我更新能力^[12-13]。以动物实验和临床研究为基础, 目前MSC已广泛应用于血液病的治疗, 尤其是造血干细胞移植, 可促进HSC植入、治疗植入失败、植入不良以及预防和改善GVHD^[6]。Meuleman等^[14]对移植后植入不良的6例患者输注MSC, 其中2例造血功能很快恢复。欧洲一项大型多中心研究应用MSC治疗糖皮质激素耐药的急性GVHD, 55例患者中30例完全缓解(CR), 9例部分缓解(PR)^[15]。Lazarus等^[16]应用同胞来源的MSC与HSC共移植治疗血液系统恶性肿瘤, 统计结果表明, MSC能促进移植后造血功能的恢复, 可显著降低急性GVHD的发生率。一些小样本量研究结果显示, 仅输注MSC治疗RSAA具有较好的安全性, 但造血反应率仅为20%~35%^[17-18], 与行二次挽救性IST有效率相当。Si等^[19]应用UC-MSC联合allo-HSCT治疗37例儿童SAA患者, 粒细胞、血小板植入中位时间分别为14(11~20)d、19(14~29)d, 急、慢性GVHD发生率分别为45.9%、18.9%, 3年OS率为74.2%。Fu等^[20]对5例病史>5年的VSAA患者行UD-HSC联合UC-MSC共移植, 4例造血重建, 未发生重度GVHD和移植相关并发症。我中心的25例RSAA患者虽病史较长、移植前身体状态差, 但移植后中位随访22.9(1.6~107.8)月, 仍存活21例, 5年OS率为(83.6±7.5)%。

移植后GVHD和植入失败是影响SAA患者allo-HSCT疗效的主要并发症。MSC在体内外均可抑制T细胞、B细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞的增殖, 可促进造血重建、预防移植物排斥和GVHD的发生, 还可用于治疗GVHD^[21]。Deeg等^[22]回顾分析了87例RSAA患者行UD-HSCT的疗效, HLA全相合组II~IV度急性GVHD、慢性GVHD发生率分别为69%、52%, HLA 1~3位点不合组II~IV度急性GVHD、慢性GVHD发生率分别为77%、57%。

Lee等^[23]报道了50例(46例为ATG联合CsA治疗失败/无效)行UD-HSCT的SAA患者,Ⅱ~Ⅳ度急性GVHD和慢性GVHD发生率分别为46%、50.3%。本研究急、慢性GVHD的发生率分别为37.5%、21.7%,均在给予免疫抑制剂后得到有效控制,且无重度GVHD的发生,GVHD发生情况与相关文献报道^[19-20]一致,比Deeg等^[22]和Lee等^[23]的报道(仅回输HSC)显著降低。MSD组粒细胞、血小板植入的中位时间分别为13 d、12 d,UD组分别为12 d、15.5 d,比陈欣等^[24]报道的显著缩短。1例患者发生原发性植入失败,可能与病史长达16年、输血量、供受者ABO血型不合、无关供者、HLA抗原8/10有关。以往研究表明,植入延迟与活动性感染有关^[25]。MSD组1例患者造血重建前即合并较重的肺部感染,导致植入延迟,+22 d粒系植入,直至+49 d患者死亡血小板仍未植入。Le Blanc等^[26]报道了3例行HSCT(仅回输HSC)后植入失败的病例,再次行MSC与HSC共移植后均达到造血重建。本组病例中,1例患者第一次仅回输同胞PBSC,+25 d查嵌合率20.57%,行二次移植,先后回输同胞PBSC和UC-MSC,粒细胞、血小板分别于+13、+14 d植入,嵌合率100%。

值得注意的是,移植后重度细菌感染8例(32%),且直接/间接(部分患者因肺部感染导致心力衰竭、呼吸衰竭死亡,部分患者因感染治疗过程中的并发症死亡)导致了4例患者的死亡。CMV血症、EBV血症发生率分别为68%、56%,两种病毒血症并存占52%,UD组1例患者发展为EBV相关PTLD,可能与其病史长达8年、长期IST、HLA抗原8/10及预处理应用ATG有关。以往研究显示,MSC免疫抑制的特点会导致机体对移植后感染的免疫反应受到抑制,进而使感染相关风险增加^[14,27]。Sundin等^[27]研究表明,MSC可能会感染CMV且病毒DNA无法在体外培养的MSC中检测到,加之MSC会抑制淋巴细胞增殖,从而使机体抗病毒能力下降。但Karlsson等^[28]的体外研究显示,MSC并不能抑制病毒特异性T淋巴细胞的增殖。也有研究显示,移植后感染可能与早期免疫重建不佳、GVHD的发生、激素的长期应用有关,与MSC输注的相关性并不作为首要考虑^[26,28]。HC与预处理相关药物(尤其是环磷酰胺)导致膀胱黏膜上皮损伤有关,MSC可参与组织修复过程^[29]。本研究UD组1例Ⅳ度HC患者水化、碱化、抗病毒治疗无效,在二次输注UC-MSC后病情很快好转。

对于移植前存在活动性感染且抗感染治疗无效的患者,通过移植达到快速的粒细胞、血小板植入尤为重要。而MSC能调节骨髓微环境、促进造血^[5-6,21],因此联合MSC的HSCT能达到快速造血重建^[30]。移植前存在活动性感染的4例患者全部造血重建,重建时间无明显延迟,其中2例患者因粒细胞植入,抗感染治疗有效而获得良好生存。

本回顾性研究结果显示,MSD-PBSC/UD-PBSC联合UC-MSC共移植治疗RSAA安全可行,但仍需扩大样本量、进行随机双盲对照临床试验加以验证。

参考文献

- [1] Brodsky RA, Jones RJ. Aplastic anaemia[J]. *Lancet*, 2005, 365(9471):1647-1656. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)66515-4.
- [2] Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia[J]. *Blood*, 2012, 120(6): 1185-1196. DOI: 10.1182/blood-2011-12-274019.
- [3] Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(5): 430-438. DOI: 10.1056/NEJMoa1103975.
- [4] 周卢琨. 难治性获得性重型再生障碍性贫血的治疗进展[J]. *国际输血及血液学杂志*, 2012, 35(5):415-418. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2012.05.010.
- [5] 符粤文. 间充质干细胞在造血干细胞移植中的应用[J]. *国际输血及血液学杂志*, 2014, 37(2):175-178. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-419X.2014.02.020.
- [6] Zhao K, Liu Q. The clinical application of mesenchymal stromal cells in hematopoietic stem cell transplantation[J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 46. DOI: 10.1186/s13045-016-0276-z.
- [7] Pang Y, Xiao HW, Zhang H, et al. Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells Expanded In Vitro for Treatment of Aplastic Anemia: A Multicenter Phase II Trial[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(7): 1569-1575. DOI: 10.1002/sctm.16-0227.
- [8] 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.001.
- [9] Sung AD, Chao NJ. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(1): 25-32. DOI: 10.5966/sctm.2012-0115.
- [10] Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21(3): 389-401. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001.
- [11] Bacigalupo A, Giammarco S, Sica S. Bone marrow transplanta-

- tion versus immunosuppressive therapy in patients with acquired severe aplastic anemia [J]. *Int J Hematol*, 2016, 104 (2): 168-174. DOI: 10.1007/s12185-016-2037-8.
- [12] da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues [J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt 11): 2204-2213.
- [13] Kern S, Eichler H, Stoeve J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue [J]. *Stem Cells*, 2006, 24 (5): 1294-1301. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0342.
- [14] Meuleman N, Tondreau T, Ahmad, et al. Infusion of mesenchymal stromal cells can aid hematopoietic recovery following allogeneic hematopoietic stem cell myeloablative transplant: a pilot study [J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18 (9):1247- 1252. DOI: 10.1089/scd.2009.0029.
- [15] Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study [J]. *Lancet*, 2008, 371 (9624): 1579-1586. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60690-X.
- [16] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA- identical sibling culture- expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11 (5): 389-398.
- [17] Fouillard L, Bensidhoum M, Bories D, et al. Engraftment of allogeneic mesenchymal stem cells in the bone marrow of a patient with severe idiopathic aplastic anemia improves stroma [J]. *Leukemia*, 2003, 17 (2):474- 476. DOI: 10.1038/sj.leu.2402786.
- [18] Clé DV, Santana-Lemos B, Tellechea MF, et al. Intravenous infusion of allogeneic mesenchymal stromal cells in refractory or relapsed aplastic anemia [J]. *Cytotherapy*, 2015, 17 (12): 1696-1705. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.09.006.
- [19] Si Y, Yang K, Qin M, et al. Efficacy and safety of human umbilical cord derived mesenchymal stem cell therapy in children with severe aplastic anemia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective case series of 37 patients [J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2014, 31 (1): 39- 49. DOI: 10.3109/08880018.2013.867556.
- [20] Fu Y, Wang Q, Zhou J, et al. Reduced intensity conditioning and co-transplantation of unrelated peripheral stem cells combined with umbilical cord mesenchymal stem/stroma cells for young patients with refractory severe aplastic anemia [J]. *Int J Hematol*, 2013, 98 (6): 658- 663. DOI: 10.1007/s12185- 013-1425-6.
- [21] Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, et al. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis [J]. *Blood Rev*, 2006, 20(3):161-171. DOI: 10.1016/j.blre.2005.11.002.
- [22] Deeg HJ, O'Donnell M, Tolar J, et al. Optimization of conditioning for marrow transplantation from unrelated donors for patients with aplastic anemia after failure of immunosuppressive therapy [J]. *Blood*, 2006, 108 (5): 1485- 1491. DOI: 10.1182/blood-2006-03-005041.
- [23] Lee JW, Cho BS, Lee SE, et al. The outcome of unrelated hematopoietic stem cell transplants with total body irradiation (800 cGy) and cyclophosphamide (120 mg/kg) in adult patients with acquired severe aplastic anemia [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011, 17 (1): 101- 108. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.06.014.
- [24] 陈欣, 魏嘉璘, 黄勇, 等. 异基因造血干细胞移植治疗重型再生障碍性贫血 70 例的疗效分析 [J]. *中华器官移植杂志*, 2014, 35 (2): 106-111. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2014.02.010.
- [25] Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, et al. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 306 patients [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2009, 44 (6): 361-370. DOI: 10.1038/bmt.2009.39.
- [26] Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells [J]. *Leukemia*, 2007, 21 (8): 1733-1738. DOI: 10.1038/sj.leu.2404777.
- [27] Sundin M, Orvell C, Rasmusson I, et al. Mesenchymal stem cells are susceptible to human herpesviruses, but viral DNA cannot be detected in the healthy seropositive individual [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 37 (11): 1051- 1059. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705368.
- [28] Karlsson H, Samarasinghe S, Ball LM, et al. Mesenchymal stem cells exert differential effects on alloantigen and virus-specific T-cell responses [J]. *Blood*, 2008, 112(3):532-541. DOI: 10.1182/blood-2007-10-119370.
- [29] Ringdén O, Uzunel M, Sundberg B, et al. Tissue repair using allogeneic mesenchymal stem cells for hemorrhagic cystitis, pneumomediastinum and perforated colon [J]. *Leukemia*, 2007, 21(11): 2271-2276. DOI: 10.1038/sj.leu.2404833.
- [30] Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, et al. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *Blood*, 2007, 110 (7): 2764-2767. DOI: 10.1182/blood-2007-04-087056.

(收稿日期:2019-02-20)

(本文编辑:徐茂强)