

我如何用单份脐血干细胞移植 治疗成人恶性血液病

孙自敏 汤宝林

中国科学技术大学附属第一医院, 合肥 230001

通信作者: 孙自敏, Email: zmsun_vip@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.06.001

How I treat adult malignant hematological diseases with single cord blood transplantation

Tang Baolin, Sun Zimin

The First Affiliated Hospital of USTC, University of Science and Technology of China, Hefei 230001, China

Corresponding author: Sun Zimin, Email: zmsun_vip@163.com

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是许多恶性血液病的唯一根治手段。在缺乏HLA全相合同胞供者的情况下,目前主要的替代供者包括:非血缘骨髓库供者、亲缘单倍型供者以及非血缘脐血。随着移植预处理方案、植入机制以及植入前免疫反应(PIR)、移植物抗宿主病(GVHD)和感染等移植相关并发症的基础和临床研究的不断进展,脐血移植技术已非常成熟并被广泛应用于儿童及成人的恶性和非恶性血液病的治疗。根据世界骨髓捐献者协会(WMDA)的最新数据,目前全球已有超过35 000例患者接受了同胞或非血缘脐血造血干细胞移植(UCBT)。笔者通过1例成人慢性髓性白血病急髓变患者的脐血干细胞移植治疗过程介绍单份脐血干细胞移植治疗成人恶性血液病的诊疗体会。

一、病例

患者,男,54岁,江苏籍。于2016年5月体检发现血小板及白细胞明显升高,确诊为“慢性髓性白血病(加速期),Sokal评分高危”。予口服伊马替尼3个月治疗,未能达到完全血液学反应,改为尼洛替尼治疗,服用10 d后因出现骨髓抑制而停药3个月,予以输血、刺激造血等处理后好转。2016年12月再次开始口服伊马替尼,半个月后患者再次因骨髓抑制而停药,未再服用酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。2017年5月骨穿检查示进展为急性髓系白血病(AML)。予以达沙替尼联合伊达比星+阿糖胞苷化疗1个疗程,骨髓未获得完全缓解。患者HLA-I类

和II类抗体强阳性,无合适的同胞造血干细胞供者,在中国造血干细胞捐献者资料库中未查询到合适供者,其独子为地中海贫血基因携带者伴供者特异性抗体(DSA)阳性。既往有糖尿病病史,乙型肝炎病毒(HBV)携带。移植前B超示“轻度肝脏弥漫性病变”。移植前血常规:WBC $2.75 \times 10^9/L$, HGB 67.0 g/L, PLT $17 \times 10^9/L$;骨髓原始细胞0.205。KPS评分90分,HCT-CI评分2分。浙江公共脐血库搜寻1份HLA低分辨配型4/6个位点相合脐血(高分辨配型7/10个位点相合),脐血血型为A型Rh(+),患者血型为B型Rh(+);性别:女供男。患者体内HLA-I类和II类非特异性抗体强阳性,DSA阴性。给予2次利妥昔单抗治疗,移植前患者非特异性抗体仍为强阳性。预处理方案:氟达拉滨($30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, -8 ~ -5 d)+白消安(0.8 mg/kg 每6 h 1次, -7 ~ -4 d)+环磷酰胺($60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, -3 ~ -2 d)。2017年9月16日行UCBT,输注脐血总有核细胞(TNC) $2.75 \times 10^7/\text{kg}$, CD34⁺细胞 $0.88 \times 10^5/\text{kg}$, CD3⁺细胞 $4.4 \times 10^6/\text{kg}$, CD56⁺细胞 $2.92 \times 10^6/\text{kg}$ 。采用霉酚酸酯(MMF)联合环孢素A(CsA)预防GVHD。移植后2 d(+2 d)出现发热,血培养检出大肠埃希菌,予以亚胺培南西司他汀联合阿米卡星治疗后体温逐渐降至正常;+16 d出现植入前免疫反应(发热、皮疹),加用甲泼尼龙($0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)治疗后体温及皮疹控制。+20 d粒细胞植入,+38 d血小板植入。移植后2个月发生出血性膀胱炎,移植后

9个月发生带状疱疹,予对症治疗后好转。随访至移植后15个月,各项检测指标正常,无不适主诉。

二、如何选择合适的脐血

脐血的TNC、CD34⁺细胞数、供受者HLA位点匹配程度以及存在与受者特异性HLA抗体相匹配抗原对UCBT的粒细胞和血小板植入延迟、急性GVHD发生率和移植相关死亡率(TRM)有着较大影响。

Gluckman等^[1]分析了550例接受UCBT的恶性血液病患者的资料,脐血冷冻前TNC和CD34⁺细胞数是造血和免疫恢复以及最终移植效果的决定性因素。由于CD34⁺细胞及CFU-GM含量难以标准化,临床上常常仅依靠TNC来进行脐血筛选。但是最近来自日本JSHCT的一项研究表明,TNC较低但CD34⁺细胞数较高仍可获得较好的植入率,生存率不低于TNC较高但CD34⁺细胞数较低的脐血^[2]。在搜寻脐血干细胞时,TNC和CD34⁺细胞数都不太理想的情况下,CD34⁺细胞数似乎更重要^[3]。这一点在美国的另一项研究中也得到证实^[4]。

总体来说,欧美国家在单份脐血移植选择脐血时对TNC、CD34⁺细胞数要求较高。英国血液和骨髓移植协会脐血工作组(CBWG)指南推荐UCBT供受者HLA配型采用HLA-A、B、C和DRB1 8个位点进行匹配^[5]。

恶性血液病UCBT的脐血选择:①HLA 8/8个位点完全相合时,选择冷冻前TNC $\geq 3.0 \times 10^7/\text{kg}$ 、CD34⁺细胞 $\geq (1.0 \sim 1.7) \times 10^5/\text{kg}$ 或解冻后TNC $\geq (2.0 \sim 2.5) \times 10^7/\text{kg}$ 、CD34⁺细胞 $\geq (1.0 \sim 1.2) \times 10^5/\text{kg}$ 的脐血用于移植。②缺乏HLA完全相合的脐血时,可以次选择5/8~7/8个位点相合的脐血,尽量选择HLA-DRB1相合且TNC $> 5 \times 10^7/\text{kg}$ 的脐血。③HLA 4/8个位点相合的脐血很少被用于移植,如果没有其他选择,则要求选择TNC $> 5 \times 10^7/\text{kg}$ 的脐血;不推荐选择HLA 3/8个位点相合的脐血。HLA不相合 $\leq 2/6$ 位点时,Eurocord推荐选用TNC $> 3 \times 10^7/\text{kg}$ 或CD34⁺细胞 $\geq 2 \times 10^5/\text{kg}$ 的脐血进行移植^[6]。美国多家移植中心单份脐血移植的选择标准为TNC $> 2.5 \times 10^7/\text{kg}$ 且CD34⁺细胞 $\geq (1.5 \sim 2.0) \times 10^5/\text{kg}$ ^[7]。纽约血液中心纳入1 061例行UCBT恶性血液病患者的研究结果显示,选择脐血时需同时考虑HLA相合情况及TNC,当HLA位点不合 $> 2/6$ 位点时,如果TNC $\geq 5 \times 10^7/\text{kg}$,并不会增加TRM^[8]。而来自日本东京大学的一项研究表明,TNC $< 2 \times 10^7/\text{kg}$ 的脐血也能获得较好的植入^[9]。截止2017年12月,本中心共

43例患者接受了TNC $< 2.5 \times 10^7/\text{kg}$ 的脐血干细胞移植,粒细胞植入率达94.9%,1年总生存(OS)率为54.3%。因此,在没有其他供者又急需接受移植的患者,也可选择低细胞数脐血作为干细胞来源,但是需要结合HLA配型、CD34⁺细胞数等指标综合判断。

脐血中存在DSA对粒细胞和血小板植入影响较大。目前建议移植前所有患者都需要筛选抗-HLA抗体,应避免选择DSA阳性的脐血^[5]。CFU-GM是反映造血祖细胞增殖能力的很好指标,可以提供该数据的脐血在选择时应予以关注。另外在选择脐血时还需要综合考虑脐血库的资质、母系非遗传性抗原(NIMA)、RBC去除率和ABO血型等因素。

三、UCBT的预处理方案

由于脐血中造血干/祖细胞数目少,TNC仅为骨髓移植的1/10,因此不含全身照射(TBI)的预处理植入率较低且植入较慢,移植后早期易并发感染、出血等并发症。在目前尚未突破脐血干细胞数量限制而改善植入的前提下,预处理方案是影响UCBT植入率的重要因素。能够清除患者免疫功能的预处理方案是保证UCBT植入的前提,所以我们一般首选以TBI为主或以化疗为主的清髓性预处理方案。根据患者的基础疾病状态、脏器功能、年龄、是否有合并症等,部分患者也可考虑减低剂量预处理方案。

(一)清髓性预处理方案

1. 以TBI为主的预处理方案:TBI总剂量为12.00~13.75 Gy(分4~9次照射),剂量率5.00~7.00 cGy/min。由于单用TBI还不足以消灭体内的肿瘤细胞或抑制患者免疫功能,故常联合应用环磷酰胺、氟达拉滨、阿糖胞苷(Ara-C)等药物。TBI为主的预处理方案已成为多数移植中心清髓性UCBT的标准方案^[7]。这些含高剂量分次TBI的方案在保证充分的抗白血病作用的同时也能彻底清除患者免疫功能,植入率均在90%以上。

2. 以化疗药物为主的预处理方案:白消安是不含TBI清髓性预处理方案的基础。大剂量白消安虽然具有清髓作用,但对成熟淋巴细胞的毒性是有限的,故没有明显的免疫抑制作用,通常在白消安/环磷酰胺(Bu/Cy)方案的基础上加用氟达拉滨或塞替派(TT)或Ara-C等促进植入。美法仑(Mel)也可作为化疗药物为主预处理方案的重要组成部分,同时可联合环磷酰胺、塞替派、低剂量TBI等

来促进植入。

TBI/Cy 和 Bu/Cy 是目前应用最广泛的两种清髓性 UCBT 预处理方案。早期, TBI/Cy 是急性淋巴细胞白血病(ALL)和晚期或难治性 AML 患者的标准预处理方案^[10-11]。在口服白消安时代, 由于吸收和代谢的变异性可能导致白消安血浆浓度 3 倍以上差异, 因此关于两种方案比较的临床结果差异也较大^[12-15]。对于 AML 和 ALL 等特定类型的疾病, 基于 TBI 的方案与口服白消安的方案相比似乎显示出微弱优势。白消安静脉制剂则避免了口服剂型的首过效应以及血药浓度不稳定的缺点。欧洲血液和骨髓移植小组急性白血病工作组和国际骨髓移植登记处的研究显示, 同胞全相合移植预处理方案中采用静脉白消安显示出与 TBI 同等的疗效^[16-18], 甚至在部分研究中具有更高的存活率。

此前并没有研究比较脐血移植中静脉注射 Bu/Cy 与 TBI/Cy 的疗效差异。本中心刚发表的一项的回顾性队列研究中, 来自国内 8 家中心的 331 例单份 UCBT 患者, 其中 131 例采用 Bu/Cy、200 例采用 TBI/Cy 预处理方案。结果显示, TBI/Cy 组粒细胞植入率高于 Bu/Cy 组(98.0% 对 91.6%, $P < 0.001$)。但是 Bu/Cy 组粒细胞植入时间较 TBI/Cy 组短(16 d 对 19 d, $P < 0.001$), 但两组的非复发死亡率、复发率和生存率均无明显差异。

(二) 减低剂量预处理方案

减低剂量预处理方案 UCBT 在欧美应用较广泛。但是从文献资料来看, 减低剂量预处理方案 UCBT 总体疗效不佳, 除了采用该预处理方案的患者移植前身体状况较差、年龄较大以外, 较低的植入率和较高的疾病复发率是影响生存的主要原因。因此主要用于疾病控制良好、对放疗敏感的老年或并发症较多不能耐受清髓性预处理的患者。

四、UCBT 的并发症处理

UCBT 并发症与其他类型 allo-HSCT 的处理原则大致相同。由于 UCBT 植入延缓(尤其是血小板植入), 往往在处理时增加了一定的复杂性。此外, UCBT 区别于其他类型移植的特异性并发症是 PIR。

PIR 亦称为植入前综合征(PES), 是 UCBT 独有且发生率较高的并发症。日本学者 Kishi 等^[19]于 2005 年首次提出 UCBT 后 PIR 的概念, 并按时间将 allo-HSCT 后早期免疫反应分为植入前免疫反应(PIR)、植入综合征(ES)和急性 GVHD(植入后免疫反应)。粒细胞植入前 6 d 发生广谱抗生素治疗无

效或无感染相关证据的发热(体温 ≥ 38.3 °C)、非药物引起的皮疹、水样腹泻(≥ 2 次/d 连续 3 d 以上而无病原菌发现)、黄疸(血清总胆红素 > 20 mg/L)、体重较基础体重增加 $> 10\%$, 则被定义为 PIR; 上述症状发生于植入前后 5 d 之内被定义为 ES, 发生于植入 5 d 之后者为急性 GVHD。不同移植中心报道 UCBT 后 PES 发生率差异较大(20% ~ 70%), 其具体发病机制尚不明确。

本中心研究发现 PES 与植入率和急性 GVHD 相关, 而与粒细胞植入时间、慢性 GVHD、TRM 及 OS 无关^[20]。严重 PES 可迁延不愈转变为难治性 GVHD, 亦可导致脏器功能损伤, 因此早期诊断、治疗 PES 可降低 TRM。大部分 PES 患者对糖皮质激素反应良好, 但如果治疗不及时和部分重症患者可出现激素耐药或迁延为急性 GVHD。治疗原则类似于急性 GVHD, 糖皮质激素治疗无效需要及早加用二线药物(抗 CD25 单抗、芦可替尼等)治疗。针对 PES 患者临床高危因素及危险度的分层治疗研究正在进行中, 以期能够保留轻症 PES(有益于植入)、预测重症 PES、阻断重症 PES 发展为重症急性 GVHD。

五、结语和展望

自巴黎圣路易斯医院开展全球首例 UCBT 至今已 30 年, 脐血由于其来源广泛以及其自身特殊的免疫学特性, 作为新的造血干细胞移植的供源具有极大优势和潜能, 在治疗儿童和成人恶性及非恶性血液系统疾病已得到广泛应用。随着移植技术的进步, 本中心 UCBT 的植入率已达 97% 以上。虽然 UCBT 还面临着一些问题和挑战(植入延缓、重症 PES 等), 但 UCBT 在某些方面已显示出优于骨髓及外周血干细胞移植的特性, 如对 HLA 表型不相合的耐受、较强的移植物抗白血病效应(GVL)、较低的复发率和慢性 GVHD 发生率等。因此很多情况下接受 UCBT 治疗患者的 OS 率并不低于其他类型移植, 甚至在某些较高危、疾病进展期或移植前微小残留病(MRD)阳性恶性血液病患者中显示出明显的生存优势^[21]。由于接受 UCBT 的患者移植后无 GVHD、无复发生存(GRFS)率高于其他类型移植, 移植成功后能够获得更高的生存质量^[22], UCBT 有着广阔的临床应用前景。

参考文献

- [1] Gluckman E, Rocha V. Cord blood transplantation for children with acute leukaemia: a Eurocord registry analysis [J]. Blood

- Cells Mol Dis, 2004, 33 (3): 271-273. DOI: 10.1016/j.bcmd.2004.08.015.
- [2] Nakasone H, Tabuchi K, Uchida N, et al. Which is more important for the selection of cord blood units for haematopoietic cell transplantation: the number of CD34-positive cells or total nucleated cells? [J]. Br J Haematol, 2018, May 29. DOI: 10.1111/bjh.15418.
- [3] Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival [J]. Blood, 2002, 100 (5):1611-1618. DOI:10.1182/blood-2002-01-0294.
- [4] Purtill D, Smith K, Devlin S, et al. Dominant unit CD34+ cell dose predicts engraftment after double-unit cord blood transplantation and is influenced by bank practice [J]. Blood, 2014, 124 (19):2905-2912. DOI:10.1182/blood-2014-03-566216.
- [5] Hough R, Danby R, Russell N, et al. Recommendations for a standard UK approach to incorporating umbilical cord blood into clinical transplantation practice: an update on cord blood unit selection, donor selection algorithms and conditioning protocols [J]. Br J Haematol, 2016, 172 (3):360-370. DOI: 10.1111/bjh.13802.
- [6] Gluckman E. Ten years of cord blood transplantation: from bench to bedside [J]. Br J Haematol, 2009, 147 (2):192-199. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07780.x.
- [7] Barker JN, Kurtzberg J, Ballen K, et al. Optimal practices in unrelated donor cord blood transplantation for hematologic malignancies [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2017, 23 (6): 882-896. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.03.006.
- [8] 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 [J]. Blood, 2010, 115(9):1843-1849. DOI: 10.1182/blood-2009-07-231068.
- [9] Takahashi S, Ooi J, Tomonari A, et al. Posttransplantation engraftment and safety of cord blood transplantation with grafts containing relatively low cell doses in adults [J]. Int J Hematol, 2006, 84(4):359-362. DOI:10.1532/IJH97.06109.
- [10] Mitsuhashi K, Kako S, Shigematsu A, et al. Comparison of cyclophosphamide combined with total body irradiation, oral busulfan, or intravenous busulfan for allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults with acute lymphoblastic leukemia [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2016, 22 (12):2194-2200. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.09.007.
- [11] Nagler A, Savani BN, Labopin M, et al. Outcomes after use of two standard ablative regimens in patients with refractory acute myeloid leukaemia: a retrospective, multicentre, registry analysis [J]. Lancet Haematol, 2015, 2 (9):e384-392. DOI: 10.1016/S2352-3026(15)00146-5.
- [12] Hassan M, Ljungman P, Bolme P, et al. Busulfan bioavailability [J]. Blood, 1994, 84(7):2144-2150.
- [13] Schiltmeyer B, Klingebiel T, Schwab M, et al. Population pharmacokinetics of oral busulfan in children [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2003, 52 (3):209-216. DOI: 10.1007/s00280-003-0631-y.
- [14] Tran HT, Madden T, Petropoulos D, et al. Individualizing high-dose oral busulfan: prospective dose adjustment in a pediatric population undergoing allogeneic stem cell transplantation for advanced hematologic malignancies [J]. Bone Marrow Transplant, 2000, 26(5):463-470. DOI:10.1038/sj.bmt.1702561.
- [15] Blaise D, Maraninchi D, Archimbaud E, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of a busulfan- cytoxan versus Cytoxan-total body irradiation as preparative regimen: a report from the Group d'Etudes de la Greffe de Moelle Osseuse [J]. Blood, 1992, 79(10):2578-2582.
- [16] Copelan EA, Hamilton BK, Avalos B, et al. Better leukemia-free and overall survival in AML in first remission following cyclophosphamide in combination with busulfan compared with TBI [J]. Blood, 2013, 122 (24):3863-3870. DOI: 10.1182/blood-2013-07-514448.
- [17] Bredeson C, LeRademacher J, Kato K, et al. Prospective cohort study comparing intravenous busulfan to total body irradiation in hematopoietic cell transplantation [J]. Blood, 2013, 122(24): 3871-3878. DOI: 10.1182/blood-2013-08-519009.
- [18] Kebriaei P, Anasetti C, Zhang MJ, et al. Intravenous busulfan compared with total body irradiation pretransplant conditioning for adults with acute lymphoblastic leukemia [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2018, 24 (4):726-733. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.11.025.
- [19] Kishi Y, Kami M, Miyakoshi S, et al. Early immune reaction after reduced-intensity cord-blood transplantation for adult patients [J]. Transplantation, 2005, 80(1):34-40. DOI: 10.1097/01.TP.0000163289.20406.86.
- [20] Wang X, Liu H, Li L, et al. Pre-engraftment syndrome after unrelated donor umbilical cord blood transplantation in patients with hematologic malignancies [J]. Eur J Haematol, 2012, 88 (1):39-45. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2011.01709.x.
- [21] Milano F, Gooley T, Wood B, et al. Cord-blood transplantation in patients with minimal residual disease [J]. N Engl J Med, 2016, 375(10):944-953. DOI: 10.1056/NEJMoa1602074.
- [22] Zheng CC, Zhu XY, Tang BL, et al. Clinical separation of cGvHD and GvL and better GvHD-free/relapse-free survival (GRFS) after unrelated cord blood transplantation for AML [J]. Bone Marrow Transplant, 2017, 52 (1):88-94. DOI: 10.1038/bmt.2016.182.

(收稿日期:2019-01-24)

(本文编辑:徐茂强)