

# 137例单份非亲缘脐血造血干细胞移植患者的临床研究

朱华 章毅 金焕英 王引婷 邵夏炎 孔静思  
黄文昊 洪艳 李春丽 高峰 陈亮 王锋 陆瑶

**【摘要】** 目的 分析单份非亲缘脐血造血干细胞移植(sUCBT)的预后影响因素及脐血深低温冻存时间长短与细胞活力、移植预后的相关性。方法 回顾性研究2007年3月15日至2013年12月26日使用上海脐血库提供的脐血进行sUCBT的来自28家医院的137例患者,脐血平均冻存时间为698(96~1968)d,复苏后细胞活力平均为87.4%。结果 脐血冻存2年以下及2年以上两组患者,细胞活力及患者的造血重建天数、植入失败率、急性移植物抗宿主病(GVHD)发生率及总体生存(OS)率差异均无统计学意义,两组5年OS率分别为55.6%和67.9%( $P=0.124$ )。2011年以后移植的患者OS率显著高于2011年及以前移植的患者(79.6%对48.7%, $P=0.001$ )。多因素分析中,年龄 $>16$ 岁( $RR=2.830$ , $P=0.027$ )及2011年及以前移植( $RR=0.203$ , $P<0.001$ )是治疗相关死亡的危险因素。结论 近两年sUCBT预后明显改善,脐血复苏后细胞活力、移植临床预后与脐血冻存时间长短无关。

**【关键词】** 胎血; 造血干细胞移植; 冻存时间; 治疗结果

**Clinical study on 137 cases of unrelated single unit umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation** Zhu Hua, Zhang Yi, Jin Huanying, Wang Yinting, Shao Xiayan, Kong Jingsi, Huang Wenhao, Hong Yan, Li Chunli, Gao Feng, Chen Liang, Wang Feng, Lu Yao. Shanghai Cord Blood Bank, Shanghai Stem Cell Technology Co., LTD., Shanghai 200051, China  
Corresponding author: Lu Yao, Email: luyao@shanghaicordblood.org

**【Abstract】** **Objective** To evaluate relevant prognostic factors of unrelated single unit umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation (sUCBT), and to explore the correlation between cryopreservation time of cord blood and cell viability and outcome of sUCBT. **Methods** Retrospective analysis of 137 patients undergoing sUCBT with cord blood provided by Shanghai Cord Blood Bank from Mar. 15, 2007 to Dec. 26, 2013 were performed in this study. The mean cryopreservation time of 137 units cord blood was 698 (96–1968) days, with mean cell viability of 87.4% after thawing. **Results** No statistical difference on cell viability, hematopoietic reconstitution, graft failure, acute graft versus host disease (GVHD) and overall survival (OS) was found between patients transfused with cord blood preserved below and above 2 years. The 5-year OS of patients transfused with cord blood preserved below and above 2 years were 55.6% and 67.9%, respectively ( $P=0.124$ ). OS of the UCBT at 2011 and before, and after 2011 was 48.7% and 79.6%, respectively ( $P=0.001$ ). Age above 16-year-old ( $RR=2.830$ ,  $P=0.027$ ) and UCBT at 2011 and before ( $RR=0.203$ ,  $P<0.001$ ) were two risk factors of treatment related mortality. **Conclusion** Outcome of sUCBT in China had significant improvement in recent 2 years. Cryopreservation time of cord blood had no statistical correlation to cell viability after thawing and clinical outcome.

**【Key words】** Fetal blood; Hematopoietic stem cell transplantation; Cryopreservation time; Treatment outcome

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.02.012

基金项目:上海市科技成果转化与产业化项目(12431902202);上海市科技小巨人(培育)企业项目(13HX11810000)

作者单位:200051 上海市脐带血造血干细胞库、上海市干细胞技术有限公司、中国干细胞集团有限公司

通信作者:陆瑶, Email: luyao@shanghaicordblood.org

造血干细胞移植(HSCT)是多种恶性血液病、骨髓衰竭性疾病、实体肿瘤、遗传代谢性疾病最有效的治疗手段之一。由于脐血来源丰富、采集过程无伤害、HLA配型要求相对较低、免疫原性弱、发生移植物抗宿主病(GVHD)的风险低等优点,脐血造血干细胞移植(UCBT)已被广泛应用于临床,移植效果接近于骨髓移植<sup>[1-2]</sup>。对于缺乏HLA全相合骨髓/外周血供体的患者,UCBT是较好的治疗选择<sup>[3]</sup>。

上海脐血库自2006年成立以来,库存脐血2万份,已向国内53家医院提供脐血超过1000份,用于单份、双份USCT以及半相合+第三方脐血移植。我们对2007至2013年的137例单份USCT患者进行回顾性研究,分析单份非亲缘USCT(sUCBT)预后的影响因素,探讨脐血冻存时间长短与移植预后的相关性。

## 病例和方法

### 一、病例

2007年3月15日至2013年12月26日使用上海脐血库提供的脐血进行sUSCT的来自国内28家医院的137例患者,其中2007-2011年移植78例,2011年以后移植59例。男性84例,女性53例,中位年龄6(1~47)岁。患者原发病以白血病为主(94例),还包括骨髓增生异常综合征9例,先天性疾病19例,实体瘤7例,其他疾病9例(6.6%)(表1)。

### 二、移植基本特征

137例sUCBT的患者中,供受体性别相合59例,血型相合58例,供受体HLA配型(A、B、DRB1位点血清学配型)6/6相合47例,5/6相合68例,4/6相合22例。根据原发病类型、患者临床状况、移植医院的不同,移植预处理方案及GVHD预防方案的个体化差异较大,65.0%的患者采用白消安(Bu)为主的预处理方案,21.1%的患者采用全身照射(TBI)为主的预处理。GVHD预防方案见表1。

### 三、脐血情况

137份脐血平均冻存时间(从脐血采集日期到临床移植日期)为698(96~1968)d,冻存时间在1年以内的脐血有36份(26.3%),冻存1~2年的有47份(34.3%),2~3年的有31份(22.6%),冻存3年以上的有23份(16.8%)。脐血采集后制备过程中,细胞回收率平均为82.9%(40.0%~95.6%),复苏后细胞活力(活细胞比例)平均为87.4%(67.0%~99.0%)。患者输入的有核细胞数为 $(8.13 \pm 4.95) \times 10^7/\text{kg}$ ,

表1 137例单份脐血移植病例基本情况

临床资料	例数(%)
性别	
男	84(61.3)
女	53(38.7)
年龄	
0~16岁	113(82.5)
17~40岁	18(13.1)
>40岁	6(4.4)
原发病	
ALL	43(31.4)
AML	42(30.7)
CML、JMML、MAL等	8(5.8)
MDS	9(6.6)
先天性疾病(免疫缺陷、代谢病、地中海贫血、范可尼贫血等)	19(13.9)
实体瘤(神经母细胞瘤、慢性肉芽肿、粒细胞肉瘤等)	7(5.1)
其他(噬血细胞综合征、骨髓纤维化、进行性肌营养不良等)	9(6.6)
供受体性别	
相合	59(43.1)
不相合	78(56.9)
供受体血型	
相合	58(42.3)
不相合	79(57.7)
供受体HLA配型	
6/6	47(34.3)
5/6	68(49.6)
4/6	22(16.1)
预处理方案	
Bu为主	89(65.0)
TBI为主	29(21.2)
其他	19(13.9)
GVHD预防方案	
CsA+MMF	72(52.6)
CsA+MTX	23(16.8)
其他	42(30.7)

注:ALL:急性淋巴细胞白血病;AML:急性髓系白血病;CML:慢性髓性白血病;JMML:幼年慢性粒-单核细胞白血病;MAL:急性混合细胞白血病;MDS:骨髓异常增生综合征;Bu:白消安;TBI:全身照射;CsA:环孢素;GVHD:移植物抗宿主病;MMF:霉酚酸酯;MTX:甲氨蝶呤

CD34<sup>+</sup>细胞数为 $(2.66 \pm 2.78) \times 10^5/\text{kg}$ 。

### 四、定义和标准

1. 移植后造血重建:外周血中性粒细胞计数连

续3 d $\geq 0.5 \times 10^9/L$ 为粒系造血重建;在未输注血小板的情况下,连续3 d外周血 $PLT \geq 20 \times 10^9/L$ 为血小板重建;粒系重建后采用染色体原位杂交(FISH)或短串联重复序列-聚合酶链反应(STR-PCR)检测供受者嵌合体。

2. 植入失败:指移植后60 d内未重建造血,或供受嵌合体检测不到供体成分。

3. 急性GVHD的诊断和分级:参照文献[4]标准进行GVHD的诊断和分级。

4. 细胞回收率:是脐血复苏后与液氮冻存前有核细胞比例。

5. 细胞活力:深低温冻存的脐血经复苏后,经锥虫蓝染色测得的活细胞比例。

### 五、统计学处理

采用SPSS17.0软件进行统计学处理,移植病例基本特征用描述性统计分析;脐血移植预后采用方差分析、非参数分析统计;植入失败和治疗相关死亡的多因素分析采用二变量线性回归;总体生存率采用Kaplan-Meier生存分析。生存曲线图采用GraphPad Prism 5.0软件进行绘制。

## 结 果

根据脐血冻存的时间长短,将137例患者分为2组,冻存时间0~2年组83例,2年以上组54例。复苏后细胞活力0~2年组为(88.20 $\pm$ 4.80)%,2年以上组为(87.26 $\pm$ 3.79)%,两组之间差异无统计学意义( $P=0.813$ )。对这两组患者移植预后的评估指标进行比较。

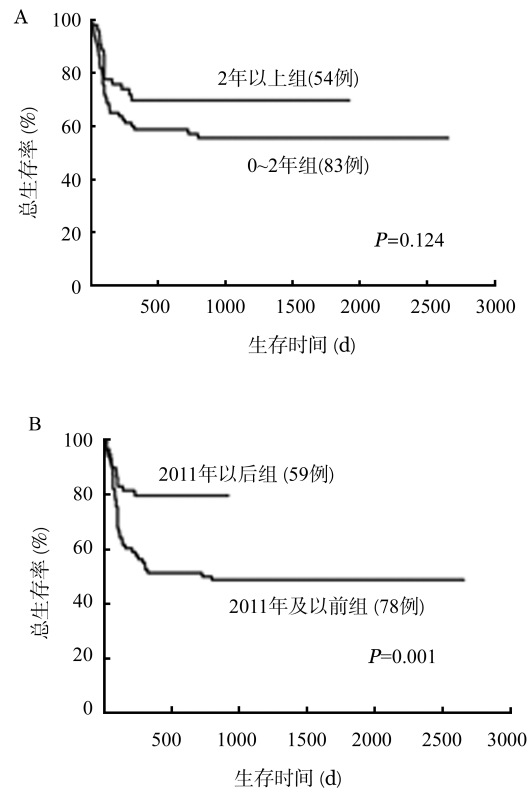
1. sUCBT的植入及造血重建情况:0~2年组19例患者发生植入失败,2年以上组12例患者发生植入失败,差异无统计学意义( $P=0.927$ )。0~2年组中性粒细胞重建的中位时间为16(9~37)d,血小板重建的中位时间30(10~94)d;2年以上组的中性粒细胞重建中位时间14(7~40)d,血小板重建中位时间为33(17~79)d,差异均无统计学意义( $P=0.203$ ,  $P=0.310$ )。

2. 急性GVHD及治疗相关死亡(TRM):两组患者急性GVHD发生率分别为51.6%和61.9%( $P=0.574$ ),TRM率分别为43.4%和29.6%( $P=0.124$ )。

对植入失败、TRM进行多因素分析,相关因素分别为HLA配型、预处理方案、输注细胞数、年龄、原发病、移植年份(2011年及以前/2011年以后)、脐血冻存时间。年龄、移植年份是治疗相关死亡的2

个危险因素,TRM在年龄越大的患者中发生率越高( $RR=2.830$ , 95% $CI$  1.127~7.104,  $P=0.027$ ),2011年以后移植的患者比以前的TRM率较低( $RR=0.203$ , 95% $CI$  0.088~0.468,  $P<0.001$ )。其他因素未发现差异有统计学意义。

3. UCBT后生存情况:移植后死亡52例,失访11例,中位随访时间为799(215~2 656)d。死于严重感染25例、复发8例、重度GVHD 6例、出血5例、多器官功能衰竭2例,6例患者死亡原因不详。移植的脐血保存时间在0~2年和2年以上的两组患者,5年生存率分别为55.6%和69.8%( $P=0.124$ )(图1A);2011年及以前移植的患者OS率为48.7%,2011年以后移植的患者OS率为79.6%,两组OS率差异有统计学意义( $P=0.001$ )(图1B)。



A: 脐血保存时间0~2年和2年以上患者;B: 2011年及以前和2011年以后移植患者

图1 137例单份非亲缘脐血移植总体生存情况

## 讨 论

1989年报道了世界上首例USCT<sup>[5]</sup>,短短20余年,全球已开展2 000余例UCBT<sup>[6]</sup>。UCBT治疗的疾病谱越来越广。本研究137例sUCBT患者,所涉及的原发病种类包括白血病、骨髓衰竭性疾病、实体肿瘤、遗传性疾病(免疫缺陷、代谢性疾病、地中

海贫血、范可尼贫血)等。

本组病例以儿童为主,0~16岁患者为113例(82.5%)。多因素分析提示UCBT在儿童患者中预后较好,年龄越大,TRM率越高( $RR=2.830$ ,  $P=0.027$ )。欧洲脐血库2014年亦进行大样本sUCBT的报道,也提示年龄增大是与死亡相关的高危因素之一<sup>[7]</sup>。柳叶刀杂志在2007年报道了国际血液和骨髓移植研究中心(CIBMTR)的一项对照研究结果,儿童sUCBT的疗效与骨髓移植相当<sup>[1]</sup>。国内临床移植专家提出,对于缺乏HLA相合骨髓供体的患者,UCBT也是较好的可供选择的移植方案<sup>[3]</sup>。

除年龄以外,本研究中与TRM有关的另一个危险因素是移植的年份。2011年以后移植的患者,5年OS率达79.6%,与2007至2011年移植患者OS率(48.7%)相比有显著提高。一项来自韩国13个移植中心的报道,1996至2006年进行UCBT的236例儿童患者5年OS率为47.5%<sup>[8]</sup>。孙自敏等<sup>[9]</sup>报道的40例UCBT治疗恶性血液病2年OS率为58.8%。近年来UCBT预后显著改善,主要原因是HLA高分辨配型的普及优化了脐血的选择,新药的应用及临床预处理、支持治疗水平的提高,患者及家庭经济实力的改善。

本研究用于移植的137份脐血,60.6%冻存时间(脐血采集日期至移植日期)在2年以下,对冻存2年以下及2年以上的脐血复苏后细胞活力及UCBT造血重建时间、植入失败率、急性GVHD发生率、TRM进行比较,结果提示,冻存时间长短对细胞活力、移植预后无显著影响。黄璐等<sup>[10]</sup>研究了20份液氮深低温保存1~20年的脐血标本,结果提示,冻存的降温和复苏过程会造成细胞数量下降,但移植效果不受影响。国外有学者提出,复苏后活细胞比例下降,主要是分化成熟细胞的丢失,因此不影响造血干细胞的植入<sup>[11]</sup>。

综上所述,USCT已被广泛应用于多种疾病的治疗。近两年来,UCBT临床疗效有明显改善,小于16岁的患者比成人预后更好。脐血冻存时间对复苏后细胞活力、移植的预后无显著影响。

## 参考文献

- [1] Eapen M, Rubinstein P, Zhang MJ, et al. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study [J]. Lancet, 2007, 369(9577): 1947-1954.
- [2] Rocha V, Cornish J, Sievers EL, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia [J]. Blood, 2001, 97(10): 2962-2971.
- [3] 孙自敏. 脐血造血干细胞移植的现状 [J]. 中华器官移植杂志, 2014, 35(1): 1-2.
- [4] Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors [J]. Transplantation, 1974, 18(4): 295-304.
- [5] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling [J]. N Engl J Med, 1989, 321(17): 1174-1178.
- [6] Solves P, Mirabet V, Roig R. Volume reduction in routine cord blood banking [J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2010, 5(4): 362-366.
- [7] Tucunduva L, Ruggeri A, Sanz G, et al. Risk factors for outcomes after unrelated cord blood transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia: a report on behalf of Eurocord and the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation [J]. Bone Marrow Transplant, 2014, 49(7): 887-894.
- [8] Yoo KH, Lee SH, Sung KW, et al. Current status of pediatric umbilical cord blood transplantation in Korea: a multicenter retrospective analysis of 236 cases [J]. Am J Hematol, 2011, 86(1): 12-17.
- [9] 孙自敏, 刘会兰, 耿良权, 等. TBI为主的不含ATG的清髓性预处理方案在非血缘脐血移植治疗成人恶性血液病中的应用 [J]. 中华医学杂志, 2012, 92(24): 1660-1664.
- [10] 黄璐, 宋瑰琦, 吴云, 等. 深低温冻存不同时间对脐血细胞质量的影响 [J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(1): 177-180.
- [11] Picardi A, Arcese W. Quality assessment of cord blood units selected for unrelated transplantation: a transplant center perspective [J]. Transfus Apher Sci, 2010, 42(3): 289-297.

(收稿日期:2014-07-02)

(本文编辑:董文革)