

单倍型造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症17例疗效和安全性研究

夏晶 陈苏宁 陈佳 范祎 陈峰 马骁 苗瞄 吴德沛

【摘要】 目的 探讨单倍型造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)的疗效和安全性。方法 回顾性分析2013年1月至2017年9月采用亲缘单倍型移植治疗的17例PNH患者临床资料。结果 17例患者中原发PNH 4例,再生障碍性贫血(AA)-PNH综合征13例。所有患者均以改良白消安+环磷酰胺联合抗胸腺细胞球蛋白(ATG)进行清髓性预处理。G-CSF动员的供者骨髓联合外周血干细胞作为移植物来源。环孢素A+吗替麦考酚酯+短程甲氨蝶呤预防移植物抗宿主病(GVHD)。移植后17例患者均获粒系及巨核系造血重建,粒细胞中位植入时间为移植后12(10~15)d,血小板中位植入时间为移植后14(11~45)d。所有患者在+30 d经植入鉴定证实为完全供者嵌合体。7例患者发生Ⅱ~Ⅳ度急性GVHD,4例发生慢性GVHD。中位随访时间为27.1(8.6~60.4)个月,17例患者中15例存活,2例死亡,死因分别为肺部重症感染和移植相关的血栓性微血管病。3年总生存率为(77.8±15.2)%。结论 对于无完全相合供者的PNH患者,尝试进行单倍型造血干细胞移植有效、安全。

【关键词】 阵发性睡眠性血红蛋白尿症; 单倍型; 造血干细胞移植

基金项目: 国家临床重点专科建设项目;江苏省科教兴卫工程-临床医学中心(zx201102);江苏省科技厅生命健康专项(BL2012005)

Efficacy and safety of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation for 17 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria Xia Jing, Chen Suning, Chen Jia, Fan Yi, Chen Feng, Ma Xiao, Miao Miao, Wu Depei. Jiangsu Institute of Hematology, Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Key Lab of Thrombosis and Hemostasis of Ministry of Health, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Chen Suning, Email: chensuning@sina.com

【Abstract】 **Objective** To explore the efficacy and safety of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation (Haplo-HSCT) for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). **Methods** A total of 17 patients with PNH who received Haplo-HSCT from January 2013 to September 2017 were analyzed retrospectively. **Results** Of them, 4 patients had de novo PNH, 13 patients had aplastic anemia-PNH syndrome (AA-PNH). All patients received modified busulfan and Cytoxan (BuCy)-based regimens combined with anti-thymocyte globulin (ATG). Granulocyte colony-stimulating factor-mobilized bone marrow and peripheral blood stem cells were transplanted as graft. Prophylaxis for graft-versus-host disease (GVHD) was ciclosporin A+ mycophenolate mofetil (MMF)+short-term methotrexate (MTX). All patients were engrafted successfully. The median time of neutrophils to $0.5 \times 10^9/L$ and platelets to $20 \times 10^9/L$ was 12 (10-15) days and 14(11-45) days, respectively. All of the 17 patients achieved full donor chimerism at 30 d after Haplo-HSCT. Seven patients developed grade Ⅱ-Ⅳ acute GVHD, and 4 chronic GVHD. Median follow-up time was 27.1 (8.6-60.4) months. Of the 17 patients, 15 survived and 2 died of severe pulmonary infection and transplant associated thrombotic microangiopathy. Three-year overall survival was (77.8±15.2)%. **Conclusion** Haplo-HSCT may be effective and safe for PNH patients who did not have matched donor.

【Key words】 Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; Haplotypes; Hematopoietic stem cell transplantation

Fund program: National Clinical Key Subject Project; Jiangsu Provinces Key Medical Center (ZX201102); Jiangsu Province Science and Technology Department of Life and Health Project (BL2012005)

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)是一种起源于造血干细胞的PIG-A基因突变导致的获得性造血干细胞克隆性疾病。allo-HSCT是治愈PNH的唯一手段,但由于移植相关死亡的不确定性及HLA全相合供者较难获得,HSCT在PNH中的应用受到限制,且有关单倍型HSCT的报道不多。我中心自2013年1月至2017年9月采用亲缘单倍型造血干细胞移植治疗17例PNH患者,取得了较好疗效,现报告如下。

病例与方法

1. 病例:以2013年1月至2017年9月行亲缘单倍型移植的17例PNH患者为研究对象,其中男10例,女7例,中位年龄24(6~54)岁。诊断至移植的中位时间为3(1~84)个月。17例患者中原发PNH 4例,再生障碍性贫血(AA)-PNH综合征13例。所有患者均以血管内溶血为主要临床表现,酸化血清溶血试验、糖水试验、蛇毒因子溶血试验及尿含铁血黄素等试验两项以上阳性,并经荧光标记的嗜水气单胞菌溶素变异体(Flaer)流式细胞术检测外周血CD55/CD59阴性红细胞、粒细胞、单核细胞均>10%,符合PNH的诊断标准^[1]。原发PNH患者移植前曾给予糖皮质激素及成分输血治疗,AA-PNH患

者曾接受环孢素A(CsA)、雄激素、细胞生长因子及成分输血等治疗。移植前所有患者均存在输血依赖,移植前检测血清铁蛋白(SF)中位数为767(10~3 782) $\mu\text{g/L}$,铁过载患者移植前均接受去铁治疗。患者无全相合供者,从而选择亲缘Haplo-HSCT。17例PNH患者供受者配对临床特征见表1,其中例6、11、14已在既往文献中报道。

2. 预处理方案:所有患者采用改良白消安/环磷酰胺(Bu/Cy)+兔抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)为主的预处理方案,具体为:司莫司汀 $250\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, -10 d;阿糖胞苷(Ara-C) $4\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, -9~-8 d; Bu $3.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, -7~-5 d;环磷酰胺(CTX) $1.8\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, -4~-3 d;ATG $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, -5~-2 d。

3. 移植抗宿主病(GVHD)的预防及治疗:采用CsA+短程甲氨蝶呤+霉酚酸酯(MMF)预防GVHD。-9 d开始静脉滴注CsA $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$;至肠道功能恢复正常时改为口服。定期检测血清药物浓度,调整CsA剂量维持血药浓度为200~300 $\mu\text{g/L}$ 。MTX $15\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, +1 d; $10\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$, +3、+6、+11 d。-9 d开始口服MMF $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, +30 d开始减量,+60 d停用。CsA应用时间根据GVHD情况进行个体化调整。发生急慢性GVHD后可予甲泼尼龙、甲氨蝶呤、他克莫司、间充质干细

表1 17例阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)患者临床资料及移植情况

例号	年龄(岁)	性别	疾病类型	诊断至移植时间 (月)	移植前血清铁蛋白 ($\mu\text{g/L}$)	供受者关系	供受者血型
1	18	女	AA-PNH	2	109	父供女	A供A
2	29	女	AA-PNH	1	640	哥供妹	B供B
3	16	男	AA-PNH	1	205	父供子	A供A
4	31	男	AA-PNH	58	10	父供子	O供B
5	13	男	AA-PNH	3	922	母供子	B供O
6	24	男	AA-PNH	48	2 000	母供子	A供A
7	38	女	AA-PNH	3	3 782	哥供妹	AB供AB
8	6	男	AA-PNH	2	824	父供子	A供A
9	15	男	AA-PNH	3	767	哥供弟	O供O
10	47	女	AA-PNH	3	1 658	弟供姐	A供AB
11	54	男	AA-PNH	84	1 403	子供父	AB供B
12	21	女	AA-PNH	5	1 790	父供女	B供O
13	20	女	AA-PNH	2	119	弟供姐	A供A
14	28	男	PNH(原发)	6	927	妹供哥	O供O
15	31	男	PNH(原发)	40	12	哥供弟	B供O
16	46	男	PNH(原发)	3	170	弟供哥	AB供AB
17	17	女	PNH(原发)	2	41	父供女	B供B

注:AA:再生障碍性贫血

胞及抗CD25单抗等治疗。

4. 其他并发症的预防: -10~-2 d开始应用更昔洛韦($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)预防巨细胞病毒(CMV)感染。移植后每周检测外周血CMV-pp65抗原及CMV-DNA,阳性者给予更昔洛韦或膦甲酸钠系统治疗。-1 d起至移植后1年予阿昔洛韦预防疱疹病毒感染。移植期间常规应用复方磺胺甲恶唑预防肺孢子菌感染,伏立康唑或米卡芬净预防真菌感染。低剂量肝素持续静脉滴注联合前列地尔预防肝静脉闭塞病(VOD),至+30 d。输注用血液制品均以 ^{60}Co 辐照(剂量为30 Gy)。

5. 植活标准:中性粒细胞绝对计数(ANC)持续 $3 \text{ d} \geq 0.5 \times 10^9/\text{L}$ 为粒细胞植入,脱离血小板输注情况下PLT持续 $7 \text{ d} \geq 20 \times 10^9/\text{L}$ 为血小板植入;其首日分别为粒细胞和血小板植入时间。

6. 随访:所有患者均纳入随访,采用门诊或住院复查、电话等方式进行随访。随访截止日期为2018年6月15日。总生存(OS)定义为移植当天至患者死亡或随访终点。

结 果

1. 造血重建情况:移植后所有患者均获造血重建,移植后粒细胞植入的中位时间为移植后12(10~15)d,血小板植入的中位时间为移植后14(11~45)d。输注供者单个核细胞(MNC)中位数为 $11.04(5.39 \sim 17.76) \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞中位数为 $3.61(1.97 \sim 5.91) \times 10^6/\text{kg}$ 。所有患者在+30 d经STR、性染色体荧光原位杂交及血型检测证实获得完全供者植入。

2. GVHD发生情况:7例患者发生II~IV度急性GVHD(aGVHD),其中1例患者发生II度皮肤aGVHD;4例患者发生肠道aGVHD,II度2例,IV度2例;2例患者发生II度肝脏aGVHD。中位发生时间为移植后26(19~81)d。经甲泼尼龙、普乐可复、甲氨蝶呤、间充质干细胞及抗CD25单克隆抗体治疗后好转。4例患者发生慢性GVHD(cGVHD),分别为3例局限型cGVHD,1例广泛型cGVHD,给予甲泼尼龙治疗后好转。

3. 感染并发症:并发上呼吸道感染1例,肺部感染9例,肛周感染4例,血流感染2例,所有患者经相应的抗感染治疗后好转。并发CMV血症2例,EBV血症1例,经更昔洛韦、膦甲酸钠及抗CD20单克隆抗体治疗后均转为阴性。

4. 移植相关死亡:17例患者中死亡2例。1例(例5)并发肺部细菌真菌混合感染,于移植后34.6个月死亡。1例(例11)移植后11个月死于移植相关的血栓性微血管病(TA-TMA)。

5. 其他并发症:3例患者并发出血性膀胱炎,经抗病毒、碱化利尿等治疗后好转;7例并发轻至中度消化道黏膜炎,对症处理后均好转;1例发生TA-TMA;所有患者均未发生VOD。

6. 移植后疗效:全部患者移植后CD55/CD59均阴性,无血红蛋白尿症状。中位随访27.1(8.6~60.4)个月,例2于移植后10个月失访。至随访终点15例患者存活,定期行流式细胞术检测分析,均达到临床痊愈标准,3年OS率为 $(77.8 \pm 15.2)\%$ 。4例患者随访3年以上均存活。

讨 论

PNH的传统治疗主要是控制临床症状,预防血栓的发生。目前国外已上市的药物Eculizumab是一种人源型抗补体蛋白C5单克隆抗体,虽可控制溶血、减少输血依赖及血栓形成,但对骨髓衰竭无效,也不能清除PNH克隆细胞,同样不能改善有致命血栓发生的PNH患者的预后^[2]。allo-HSCT已证实是目前唯一能够达到治愈目标的手段^[3]。但PNH作为一种良性克隆性疾病,部分PNH患者生存期仍可在10年以上,合理地选择移植时机至关重要。根据2013年《阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国专家共识》^[4]意见,有HLA相合的同胞供者,且临床上出现骨髓衰竭、输血依赖难治性PNH、难以控制的血栓事件反复发生时就具备了allo-HSCT治疗指征。

随着移植总体技术的进步,PNH患者的移植预后也在不断改善。1999年Bemba等^[5]报道了57例进行HSCT的PNH患者,同胞全相合的48例患者2年OS率为56%,2例双胞胎全相合患者移植后生存时间分别为8、12年,6例无关供者移植患者仅1例存活,1例单倍型移植植入失败,提示同胞HLA全相合移植治疗PNH有一定疗效,但无关、单倍型移植风险性较大。2014年Lee等^[6]报道20例HLA相合供者移植的AA-PNH患者,5年预期OS率高达 $(90.0 \pm 6.7)\%$ 。国内共报道30余例PNH移植^[7-11],多为全相合移植,最大宗单倍型病例为我中心陈峰等^[12]2015年报道的9例单倍型移植,患者2年预期无病生存率为 $(72.9 \pm 16.5)\%$ 。近几年,单倍型移植

进展迅猛,治疗恶性血液病达到了与HLA相合或无关供者移植相近的疗效。因此我们回顾性分析了本中心近5年接受单倍型供者移植的17例PNH患者的临床资料,取得了较好疗效。

我国仅有约30%的患者能找到HLA相合的供者,在青少年及儿童患者中这个比例更低。单倍型移植是一种具有独特优势的移植方式,几乎所有患者都能迅速找到单倍型相合的亲缘供者,单倍型移植为所有患者解决了干细胞来源。我中心前期单倍型移植治疗PNH取得不错的治疗效果^[13]。

Santarone等^[14]回顾了26例allo-HSCT的PNH患者,15例选择清髓性预处理方案,11例选择非清髓性预处理方案,结果显示清髓性预处理方案明显好于非清髓性预处理方案。应用含G-CSF和ATG的预处理方案,G-CSF不仅能动员扩增造血干细胞,而且对T细胞功能有调节作用,可以诱导淋巴免疫系统功能发生改变,有利于免疫耐受的形成;与ATG体内去T细胞等作用联合有效降低GVHD的风险。鉴于此,我们选择了改良白消安+环磷酰胺联合ATG方案进行清髓性的预处理,最终获得100%的供者植入率,造血重建迅速(粒细胞及血小板植入中位时间仅为12和14d)。中位随访27.1(8.6~60.4)个月,15例存活,均达到临床痊愈标准,3年OS率为(77.8±15.2)%。7例发生Ⅱ~Ⅳ度aGVHD,4例发生cGVHD,其中1例为广泛型。国内各移植中心数据显示:单倍型移植患者Ⅱ~Ⅳ度aGVHD发生率为26.8%~54.8%^[15-16]。作者的数据提示单倍型移植组aGVHD发生率为41.2%,与其他中心数据基本一致。2例死亡患者1例死于重症肺部感染,1例出现TA-TMA,提示单倍型移植针对这类患者是有效、安全的。清髓性亲缘单倍型移植是治疗PNH患者的有效方法,拟移植PNH患者如缺少HLA相合同胞供者,单倍型供者可以和HLA相合无关供者平行选择,作为替代移植手段。

参考文献

- [1] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:51.
- [2] Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2010, 78(4):211-230. DOI: 10.1002/cyto.b.20525.
- [3] de Latour RP, Schrezenmeier H, Bacigalupo A, et al. Allogeneic stem cell transplantation in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. Haematologica, 2012, 97 (11):1666- 1673. DOI: 10.3324/haematol.2012.062828.
- [4] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组.阵发性睡眠性血红蛋白尿症诊断与治疗中国专家共识[J].中华血液学杂志, 2013, 34(3): 276-279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.03.024.
- [5] Bemba M, Guardiola P, Garderet L, et al. Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. Br J Haematol, 1999, 105(2):366-368.
- [6] Lee SE, Jeon Yw, Yoon JH, et al. Long-term outcome of allogeneic stem cell transplantation in patients with combined paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia (AA/PNH syndrome) [J]. Blood (ASH Annual Meeting), 2014, 124(12): abstract 4398.
- [7] 韩利杰,周健,魏旭东,等.异基因外周血造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症[J].白血病·淋巴瘤, 2014, 23(9): 553-555. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2014.09.013.
- [8] 胡亮钉,陈虎,江岷.异基因外周血造血干细胞移植治疗一例阵发性睡眠性血红蛋白尿症[J].中华血液学杂志, 2000, 21(10): 552-552.
- [9] 王娴静,陈蕾,赛亚,等.异基因外周血造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿-再生障碍性贫血综合征一例[J].中华血液学杂志, 2011, 32(8): 563-563. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.08.018.
- [10] 陈峰,吴德沛,唐晓文,等.异基因造血干细胞移植治疗18例阵发性睡眠性血红蛋白尿症疗效分析[J].中华血液学杂志, 2015, 36(12): 1005-1010. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.12.005.
- [11] 薛慧,胡永超,高峰,等.异基因外周血造血干细胞移植治疗再生障碍性贫血-阵发性睡眠性血红蛋白尿综合征一例[J].中华血液学杂志, 2018, 39(1): 86-86. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.01.024.
- [12] 陈峰,吴德沛,唐晓文,等.单倍型造血干细胞移植治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症的临床观察[J].中华器官移植杂志, 2015, 36(7): 407-410. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2015.07.006.
- [13] Tian H, Liu L, Chen J, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplant in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. Leuk Lymphoma, 2016, 57(4): 835-841. DOI: 10.3109/10428194.2015.1068309.
- [14] Santarone S, Bacigalupo A, Risitano AM, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: long-term results of a retrospective study on behalf of the Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo (GITMO) [J]. Haematologica, 2010, 95(6):983-988. DOI: 10.3324/haematol.2009.017269.
- [15] Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(2):257-265. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.11.025.
- [16] Chen XH, Gao L, Zhang X, et al. HLA-haploidentical blood and bone marrow transplantation with anti-thymocyte globulin: long-term comparison with HLA-identical sibling transplantation [J]. Blood Cells Mol Dis, 2009, 43(1):98-104. DOI: 10.1016/j.bbmd.2009.02.005.

(收稿日期:2018-06-22)

(本文编辑:刘爽)