

异基因造血干细胞移植后复发急性髓系白血病患者地西他滨治疗前后免疫学变化

曹勋红 赵晓甦 常英军 许兰平 张晓辉 王昱 刘开彦 黄晓军 赵翔宇

北京大学人民医院、北京大学血液病研究所,北京市造血干细胞移植治疗血液病重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,北京 100044

通信作者:赵翔宇,Email:zhao_xy@bjmu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(81670166、81870140);首都临床特色应用研究项目(Z171100001017098);首都卫生发展科研专项(首发2018-2-4084)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.12.012

Preliminary study on immunological changes and clinical significance of decitabine treatment for relapsed acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Cao Xunhong, Zhao Xiaosu, Chang Yingjun, Xu Lanping, Zhang Xiaohui, Wang Yu, Liu Kaiyan, Huang Xiaojun, Zhao Xiangyu

Peking University People's Hospital & Peking University Institute of Hematology, Beijing Key Laboratory of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Beijing 100044, China

Corresponding author: Zhao Xiangyu, Email: zhao_xy@bjmu.edu.cn

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是恶性血液病的主要治疗手段,移植后复发仍然是影响移植疗效的主要问题。目前,复发后的治疗包括化疗、供者淋巴细胞输注(DLI)及靶向药物治疗。单纯化疗或靶向药物可诱导缓解,但是不能维持;DLI具有抗白血病效应,可诱导缓解并改善预后,但是如果不用免疫抑制剂,将加重移植后移植物抗宿主病(GVHD)发病,尤其是对于DLI后仍然处于复发状态或者持续微小残留病患者,治疗选择受限。以往的临床前研究提示去甲基化药物可以增强NK细胞功能^[1]、增加肿瘤细胞抗原表达有助于恢复T细胞免疫识别^[2],同时可扩增调节性T细胞(Treg)^[3-4],具有潜在的降低GVHD同时保留移植物抗白血病作用。因此,去甲基化药物地西他滨、阿扎胞苷等被尝试应用于allo-HSCT后复发的急性髓系白血病(AML)患者^[3,5-6]。此外,去甲基化药物也被用于移植后白血病复发的预防和干预^[7-9]。我们采用小剂量地西他滨($20\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}\times 5\text{ d}$ 或 $15\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}\times 5\text{ d}$)治疗4例改良DLI/大剂量化疗无效的移植后复发AML患者,采用8色流式细胞术检测CD4⁺T细胞及CD8⁺T细胞CD25⁺Foxp3⁺、CD127、IL-17a及IFN- γ 表达并采用流式细胞术检测基于CD107a表达及胞内因子IFN- γ 的分泌,检测不同亚群NK细胞毒性及胞内细胞因子IFN- γ 分泌功能的差异。

病例与方法

1. 病例:4例患者均于2011年11月至2013年3月期间在北京大学血液病研究所进行allo-HSCT且移植后复发、经化

疗联合改良DLI效果不佳。患者主要临床特征见表1。

2. 预处理方案:全部采用常规的改良BU/CY(白消安/环磷酰胺)方案,HLA配型不合移植预处理中加用抗胸腺细胞球蛋白(ATG)。

3. 干细胞的动员和采集:全部患者采用骨髓联合外周血干细胞移植,所有患者均以G-CSF进行干细胞动员。

4. 急性GVHD的预防:采用环孢素A(CsA)+霉酚酸酯(MMF)+短程甲氨蝶呤(MTX)方案。

5. 植活标准:中性粒细胞绝对计数(ANC) $\geq 0.5\times 10^9/\text{L}$ 连续3d为粒细胞植活,PLT $\geq 20\times 10^9/\text{L}$ 连续7d且脱离血小板输注为血小板植活。

6. 移植后微小残留病(MRD)监测:对于伴重现性染色体异常的急性白血病患者,以其特征性标志基因作为监测指标,高于0.4%定义为阳性^[10];对于没有特征性标志基因的急性白血病患者,我们采用WT1基因作为监测指标, $\geq 0.6\%$ 定义为阳性^[11]。采用流式细胞术检测白血病相关免疫表型(LAIP)。移植后1、2、3、4.5、6、9、12个月检测MRD,基因检测或LAIP阳性者2周后复查。MRD阳性(分子生物学复发)定义如下:①连续2次出现特异性基因或LAIP阳性;②同时检出特异性基因和LAIP阳性。血液学复发定义为骨髓中原始细胞大于5%。

入组标准:对于复发患者(血液学复发/分子生物学复发),给予改良DLI^[12],改良DLI疗效不满意的患者给予地西他滨治疗。改良DLI和地西他滨治疗后继续监测MRD。所有接受治疗的患者均签署知情同意书。

表 1 4 例异基因造血干细胞移植后复发急性髓系白血病患者一般资料及地西他滨治疗前情况

例号	年龄(岁)	性别	移植前疾病状态	染色体核型	供者	HLA 位点不合数	急性 GVHD	慢性 GVHD	地西他滨前植活状态
1	14	女	复发,ETO 3.4%,C-KIT 突变(+)	正常	兄供妹	3	Ⅱ度	中度	完全供者型
2	42	男	CR ₁	良好,t(8;22)	弟供兄	0	无	中度	完全供者型
3	41	女	复发,NPM1 14.32%,FLT3-ITD(+)	正常	兄供妹	0	无	无	移植后 1 个月完全供者型,地西他滨治疗前未查
4	48	男	复发,WT1 61.1%	正常	非血缘	1	Ⅰ度	轻度	完全供者型

例号	年龄(岁)	性别	移植后 MRD 阳性时间	移植后血液学复发时间	地西他滨前治疗			
					IL-2	改良 DLI	干扰素	化疗
1	14	女	1 个月 ETO 5.0%,2 个月 ETO 3.6%	无	2 个疗程	移植后 55 d 预防性	无	HAA
2	42	男	移植后 3 个月	移植后 6 个月	2 个疗程	移植后 8 个月治疗性	2 个月	IA
3	41	女	移植后 1.5 个月	移植后 1.5 个月	无	移植后 1 个月预防性	无	无
4	48	男	移植后 2 个月 WT1 4.3%,2.5 个月 WT1 11.1%,FCM(+)	无	无	移植后 1.5 个月预防性	无	无

注:GVHD:移植物抗宿主病;MRD:微小残留病;CR₁:第一次完全缓解;FCM:流式细胞术;DLI:供者淋巴细胞输注;HAA:高三尖杉酯碱+阿克拉霉素+阿糖胞苷;IA:去甲氧柔红霉素+阿糖胞苷

7. 改良 DLI 疗效判定:①完全有效(CR):治疗后 1 个月特异性基因或 WT1 转阴,且在随访过程中未再转阳;②部分有效:治疗后 1 个月特异性基因或 WT1 下降≥1 个 log,且在随访过程中上升 < 1 个 log;③稳定:治疗后特异性基因下降 ≤ 1 个 log,但在随访过程中无进一步下降;WT1 治疗后 1 个月没有上升,且较前有所下降,但在随访过程中未能转阴;④无效:治疗后 1 个月基因进一步上升;⑤失去疗效:特异性基因或 WT1:曾经达到完全有效,但在随访过程中再次从阴性转成阳性。

将稳定、无效和失去疗效定义为 DLI 疗效不满意,可以考虑给予地西他滨干预。

8. 治疗方案:患者的预处理、GVHD 预防、移植复发后化疗和改良 DLI 的方案按照我所常规方案^[10,13-14]进行。在改良 DLI 治疗后,对于疗效稳定的患者可以根据患者意愿,选择观察 3~6 个月,若仍判断改良 DLI 疗效为稳定可尝试停用免疫抑制剂,同时给予小剂量 IL-2 治疗(1×10⁶ U·kg⁻¹·d⁻¹,连续 2 周为 1 个疗程);若停用免疫抑制剂后 1~2 个月判断疗效仍为稳定、无效或失去疗效则给予干扰素 α 或小剂量地西他滨治疗;对于改良 DLI 无效或失去疗效的患者直接给予地西他滨治疗,同时停用免疫抑制剂。地西他滨选用 20 mg·m⁻²·d⁻¹(2 例)或 15 mg·m⁻²·d⁻¹(2 例),连续应用 5 d。

9. 标本采集:地西他滨治疗前、采集外周血标本;治疗后 5 周内,每周采集 1 次外周血标本。采用 8 色流式细胞术分别检测 CD4⁺CD25⁻CD127⁺效应性 T 细胞(Tcon 细胞)、CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}、CD4⁺Treg 细胞、CD3⁺CD8⁺IFN-γ⁺T 细胞(Th1 细胞)、CD3⁺CD8⁺IL17a⁺T 细胞(Th17 细胞)、CD8⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg 细胞(CD8⁺Treg 细胞)、CD3⁺CD8⁺IFN-γ⁺T 细胞(Tc1 细胞)、CD3⁺CD8⁺IL17⁺T 细胞(Tc17 细胞)表达,同时检测 NK 细胞 IFN-γ 分泌水平以及杀伤活性。

10. 流式细胞术检测:①第 1 管(膜表面抗体标记):采用

8 色抗体组合,CD62L-FITC、CD56-PE、CD4-Percp、CD69-APC、CD3-V500(美国 Becton Dickinson 公司产品)、CD16-APC/CY7、CD25-PE/CY7、CD127-Brilliant Violet(美国 BioLegend 公司产品);②第 2 管(FoxP3 及胞内细胞因子 IL-17a、IFN-γ 检测):免疫荧光抗体包括 CD3-APC/CY7、CD25-PE/CY7、CD8-Eflour 660(美国 ebioscience 公司产品);按照 Cytofix/Cytoperm 试剂盒(美国 ebioscience 公司产品)说明操作固定破膜后,标记胞质内 FoxP3-Eflour 450、ROR-γ-PE、IFN-γ-Percp 和 IL-17a-FITC 的表达(美国 ebioscience 公司产品);③第 3 管 CD107a 及 IFN-γ 检测:具体方法检测按我所之前研究^[15]。所用细胞膜表面免疫荧光包括:CD3-多甲藻黄素叶绿素蛋白质复合物(PerCP),CD107a-PE,CD158a-异硫氰酸荧光素(FITC),CD158b-FITC,CD158e-FITC(美国 Becton Dickinson 公司产品)及 CD56-APC/cy7,CD57-太平洋蓝(美国 Biolengend 公司产品);所用细胞内免疫荧光抗体为 IFN-γ-PE-CY7。固定破膜采用 Cytofix/Cytoperm 试剂盒(美国 Becton Dickinson 公司产品)。

结 果

1. 一般资料:如表 1 所示,1 例接受同胞 HLA 单倍型造血干细胞移植,1 例接受非血缘 HLA9/10 相合造血干细胞移植,2 例接受同胞 HLA 全相合造血干细胞移植。其中 2 例为伴 t(8;21)染色体异位的 AML(例 1、2),1 例为 NPM1 阳性,伴有 FLT3-ITD 突变 AML(例 3);男性 2 例,女性 2 例;1 例移植时处于完全缓解状态,移植后 8 个月复发,3 例移植前为复发状态。3 例移植前复发状态患者,在移植后 1~2 个月给予预防性改良 DLI,1 例移植后复发的患者在移植后 8 个月接受治疗性改良 DLI 输注。在地西他滨治疗前,例 1 接受了化疗+改良 DLI、停免疫抑制剂加 IL-2 治疗,仍持续 MRD 阳性;例 2 接受化疗+改良 DLI、停免疫抑制剂加 IL-2、干扰素治疗,

表 2 4 例异基因造血干细胞移植后复发急性髓系白血病患者地西他滨治疗情况及转归

例号	地西他滨前疾病状态	地西他滨前 MRD 水平	地西他滨剂量	地西他滨后疾病状态	地西他滨后 MRD 水平	地西他滨后 GVHD	血液学毒性	地西他滨后治疗			转归
								DLI	干扰素	化疗	
1	CR	ETO 0.69%	20 mg·m ⁻² ·d ⁻¹ ×5 d	CR	ETO 0.02%	无变化	Ⅱ级	无	每周 2 次	无	移植后 5 年, 无病生存
2	CR	ETO 3.0%	20 mg·m ⁻² ·d ⁻¹ ×5 d	NR	ETO 179.6%	无变化	Ⅱ级	无	无	无	移植后 1 年死于复发
3	NR	WT1 2.9%; NPM 18.88%	20 mg·m ⁻² ·d ⁻¹ ×5 d	NR	WT1 36.1%, NPM1 127.58%	无	Ⅲ级	地西他滨后 15 d、 移植后 3 个月治疗性 DLI	无	MA, FLAG、 ME	移植后 7 个月死于复发
4	NR	WT1 11.3%	20 mg·m ⁻² ·d ⁻¹ ×5 d	CR	WT1 0.48%	轻度慢性 GVHD	Ⅳ级	无	无	无	移植后 19 个月死于心律失常

注: DLI: 供者淋巴细胞输注; HAA: 高三尖杉酯碱+阿克拉霉素+阿糖胞苷; MA: 米托蒽醌+阿糖胞苷; FLAG: 氟达拉滨+阿糖胞苷+G-CSF; ME: 米托蒽醌+依托泊苷。CR: 血液学完全缓解, NR: 血液学未缓解

MRD 持续阳性; 例 3 和例 4 仅接受预防性改良 DLI。例 1、2、3、4 从改良 DLI 到地西他滨治疗的间隔分别为 150、90、46、24 d。地西他滨治疗前, 4 例患者均为复发状态(分子生物学复发、血液学复发各 2 例)。

2. 疗效及转归: 2 例治疗有反应(例 1、例 4)。例 1 地西他滨治疗后 ETO 基因水平下降 1 个 Log(地西他滨前 ETO 基因 0.69%, 地西他滨后 ETO 基因 0.02%); 例 4 地西他滨治疗后获得血液学缓解且 MRD 阴性, WT1 基因由 11.3% 降至 0.48%。地西他滨治疗前, 例 1、例 4 嵌合状态均为 100% 供者型, 地西他滨治疗后嵌合未查; 例 1 随访至 allo-HSCT 后 5 年, 持续保持无白血存活状态; 例 4 于 allo-HSCT 后骨髓持续 MRD 阴性, 移植后 19 个月死于心律失常。

2 例(例 2、例 3)治疗无反应。例 2 地西他滨治疗后由分子生物学复发变为血液学复发, 地西他滨治疗前 ETO 基因 3%, 治疗后 ETO 基因升至 179.6%, 骨髓原始细胞 6%。例 3 地西他滨治疗前为血液学复发, 治疗后无变化。例 2 地西他滨治疗前后嵌合状态均为 100% 供者型, 例 3 在移植后 1 个月(DLI 前)为完全供者型, 但地西他滨治疗前未查, 地西他滨治疗后为供受者混合型(表 1)。例 2、例 3 分别在 allo-HSCT 后 12、7 个月死于血液学复发。

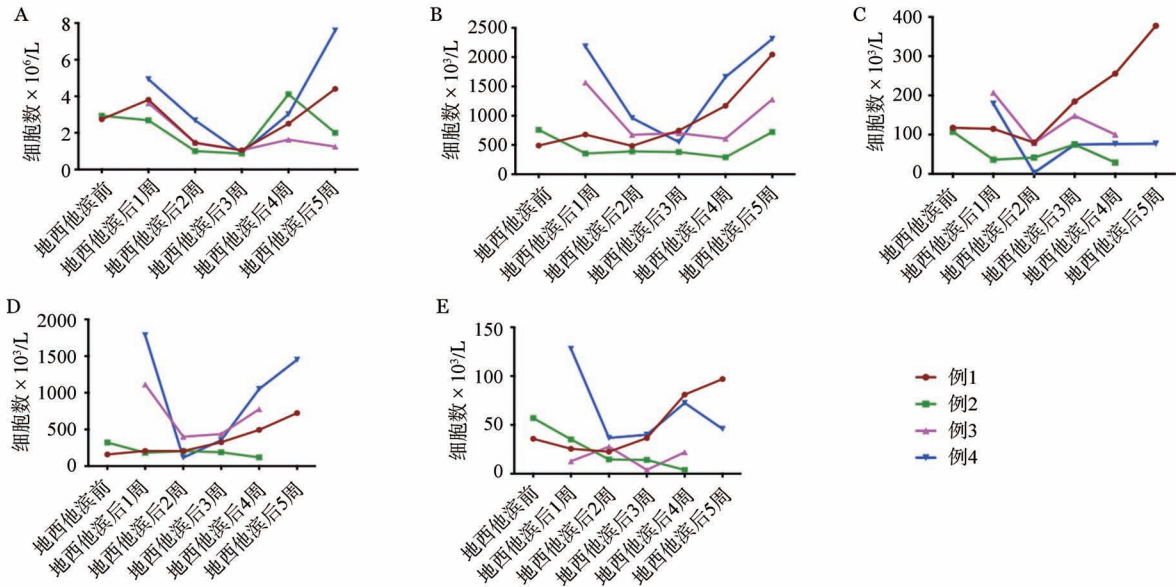
3. 移植后应用地西他滨的不良反应: 如图 1A 所示, 地西他滨不良反应主要为骨髓抑制, 持续时间为 2 周左右, 均在应用后 3 周血象达到低谷, 在第 4 周明显回升。例 1、2 在接受地西他滨治疗前有中度慢性 GVHD, 地西他滨治疗后患者慢性 GVHD 无变化, 例 3 在接受地西他滨治疗前后均无 GVHD, 例 4 在地西他滨治疗前急性 GVHD 已缓解, 地西他滨治疗后出现皮疹, 诊断轻度慢性 GVHD, 给予糖皮质激素治疗后迅速缓解, 未观察到其他明显不良反应。

4. 地西他滨体内应用前后淋巴细胞数量的变化: 如图 1B 所示, 地西他滨在治疗后 2 周淋巴细胞总数达到最低点。其中地西他滨治疗有反应 2 例患者(例 1 和例 4), 在达珂后第 5 周淋巴细胞恢复超过 2000 个/μl, 而地西他滨治疗无反应

且最终死于复发的 2 例患者(例 2 和例 3), 在地西他滨治疗后第 5 周淋巴细胞绝对值低于 1000 个/μl。NK 细胞亚群(图 1C)、T 细胞亚群(图 1D)以及 NKT 细胞亚群(图 1E)数量重建规律与淋巴细胞总数相近, 恢复快慢与疾病最终预后相关。

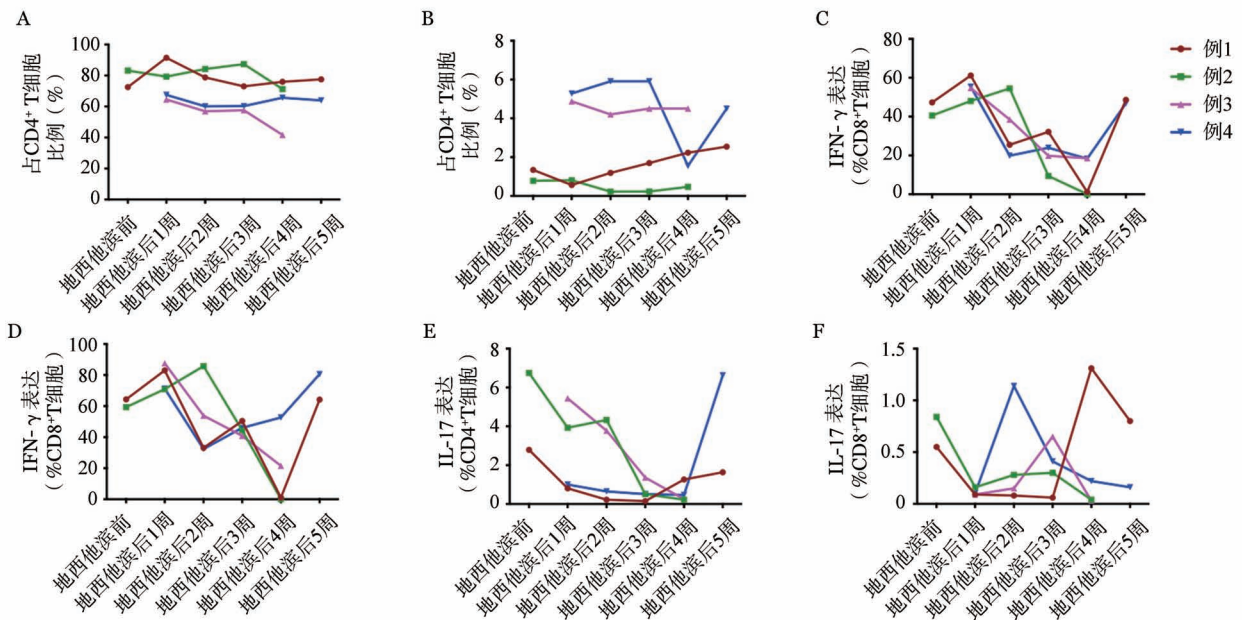
5. 地西他滨体内应用对 T 淋巴细胞亚群的影响: 如图 2A 所示, 地西他滨治疗前后对 Tcon 在 CD4⁺T 细胞中所占比例影响不大, 而且持续缓解病例(例 1 与例 4)与最终死于复发病例(例 2、例 3)效应性 T 细胞比例非常接近。地西他滨治疗后, 例 1 的 Treg 逐渐扩增, 而例 2、3、4 地西他滨治疗前后 Treg 在 CD4⁺T 细胞中所占比例变化不大。治疗有反应组 CD4⁺T 细胞 IFN-γ 和 IL-17α 的分泌水平, 在地西他滨治疗后第 4 周达到最低点, 在第 5 周恢复至治疗前水平; CD8⁺T 细胞 IFN-γ 和 IL-17α 的分泌水平与 CD4⁺T 细胞基本一致; 而且地西他滨治疗有反应病例(例 1 与例 4)CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞 IFN-γ 和 IL-17α 的分泌恢复水平与淋巴细胞总数恢复规律一致(先下降, 然后上升), 而地西他滨治疗无反应患者(例 2、例 3)则持续下降。

6. 地西他滨体内应用对 NK 细胞亚群及功能的影响: 如图 3 所示, CD56^{dim}NK 细胞亚群比例在复发病例(例 2、3)中明显低于持续缓解患者(例 1、4), CD56^{bright}NK 细胞亚群比例则相反, 且复发病例(例 2、3)在地西他滨治疗后 3 周 CD56^{bright}呈现明显回升趋势。与地西他滨治疗对 NK 数量影响一致, 地西他滨治疗后 NK 杀伤功能和 IFN-γ 分泌水平大约在地西他滨治疗后 2 周达到最低点, 在第 3 周很快恢复; 而且似乎地西他滨治疗无反应病例(例 2、3), NK 杀伤活性恢复要快于地西他滨治疗有反应患者(例 1、4); 同样, 例 3 的 NK 细胞 IFN-γ 分泌水平要高于地西他滨治疗有反应患者, 与 CD56^{bright}NK 细胞亚群的变化趋势一致。提示地西他滨治疗对 NK 细胞功能只有短暂影响; 最终地西他滨治疗后无反应患者 NK 数量恢复差, 尽管 NK 杀伤活性增强并未能阻止最终白血病复发。



A: 白细胞总数; B: 淋巴细胞总数; C: NK 细胞; D: T 细胞; E: NKT 细胞

图1 地西他滨治疗前后白细胞总数及淋巴细胞亚群变化



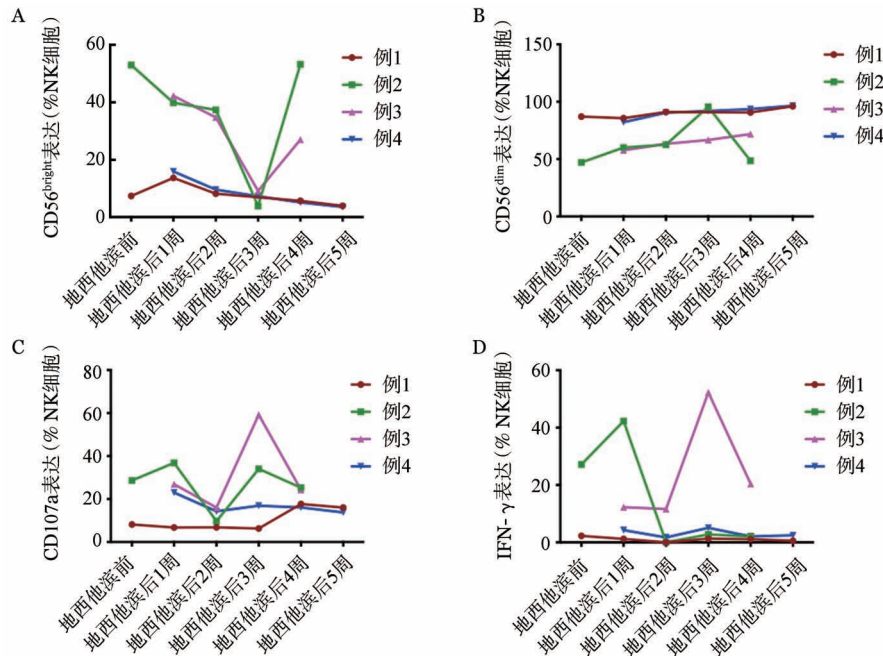
A: 效应性 T 细胞 (Tcon) 占 CD4⁺T 细胞的比例; B: 调节性 T 细胞 (Treg) 占 CD4⁺T 细胞的比例; C: CD4⁺T 细胞分泌 IFN- γ 的变化; D: CD8⁺T 细胞分泌 IFN- γ 的变化; E: CD4⁺T 细胞分泌 IL-17 的变化; F: CD8⁺T 细胞分泌 IL-17 的变化

图2 流式细胞术检测地西他滨治疗前后 T 细胞亚群及其功能改变

讨 论

改良 DLI 可通过增强移植物抗白血病效应清除白血病,但同时有诱发 GVHD 的风险,如果患者改良 DLI 后持续不缓解或持续残留白血病阳性,限制了进一步复发治疗的选择。以往研究显示 CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺调节性 T 细胞降低可移植后急性 GVHD 的发病率和严重程度,但并不减弱移植物抗

白血病效应。Choi 等^[16]在小鼠模型中进行的研究显示,移植后早期给予 Azacitidine 可体内扩增 CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺调节性 T 细胞,降低 GVHD 的发病率和严重程度,同时不影响中性粒细胞植入,仍具有抗白血病效应。但地西他滨在人体内中是否有类似的免疫学变化尚无报道。基于 Choi 等动物实验的结果,我们在本研究中纳入 4 例对改良 DLI/大剂量化疗效果不满意、无效或失去疗效的移植后复发 AML 患者,给予



A: CD56^{bright} NK 细胞亚群; B: CD56^{dim} NK 细胞亚群; C: CD107a 在 NK 细胞中的表达; D: NK 细胞分泌 IFN- γ 水平的变化

图 3 流式细胞术检测地西他滨治疗前后 NK 细胞亚群比例及功能变化

小剂量地西他滨 ($20 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \times 5 \text{ d}$ 或 $15 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \times 5 \text{ d}$) 治疗, 地西他滨治疗有反应的患者, 在地西他滨治疗后 T 细胞分泌 IL-17a 及 IFN- γ 能力要明显优于无反应患者, 提示肿瘤负荷的下降有助于 T 细胞功能恢复, 与刘龙等^[17] 研究结果一致。在本组 4 例患者中, 只有 1 例观察到了地西他滨治疗后调节性 T 细胞数量增多, 另外 3 例治疗前后无明显变化, 也和治疗反应无明显关系。

NK 细胞从细胞表型可区分为 CD56^{dim} NK 亚群和 CD56^{bright} NK 亚群, 前者具有更成熟的细胞表型, 以发挥杀伤功能为主, 后者表型幼稚, 主要以分泌细胞因子功能为主, 以往研究提示在初诊急性白血病患者中 CD56^{dim} NK 细胞亚群减少, 治疗缓解后有所恢复^[18], 本研究也发现在地西他滨治疗有反应患者存在 NK 细胞 (主要是 CD56^{dim} NK 细胞) 恢复, 而无反应患者总体 NK 细胞数量少, 而且主要为 CD56^{bright} 亚群, CD56^{dim} 亚群不恢复, 提示白血病细胞可诱导 NK 细胞数量减少且对 CD56^{dim} NK 细胞亚群影响更大。动物实验结果显示, 地西他滨联合体外扩增 NK 细胞回输在清除小鼠急 AML 肿瘤负荷方面具有协同作用^[19]。而本研究结果显示, 地西他滨无反应患者治疗后 NK 细胞功能较治疗前有所增强, 但 NK 细胞数量很低, 而地西他滨有反应患者, NK 细胞功能变化不大, 也提示当存在大量肿瘤负荷时, 肿瘤联合地西他滨可进一步激活体内 NK 细胞功能, 但 NK 数目低, 最终未能清除白血病。进一步研究白血病复发时 NK 细胞数量减少的机制, 促进 NK 细胞数量和抗白血病功能, 可进一步增强小剂量地西他滨的疗效。

从本组 4 例患者结果来看, 有 2 例能够诱导缓解或 MRD

转阴, 其中 1 例后续经过干扰素联合治疗持续 MRD 阴性, 另外 1 例骨髓持续 CR, 但最终死于心律失常。Motabi 等^[20] 回顾性分析了强化疗 (73 例) 或去甲基化药物 (27 例) 单用或联合 DLI 治疗造血干细胞移植后复发患者, 化疗组比去甲基化药物组具有更好的反应率 (51% 对 19%, $P = 0.004$) 和更好的缓解率 (40% 对 7%, $P = 0.002$)。与上述结果不同, 本组 2 例有反应患者后续随访持续缓解状态, 分析原因可能为: ① 4 例患者都是在改良 DLI 后, 2 例为血液学复发, 2 例为分子生物学复发, 相对肿瘤负荷较低; ② DLI 治疗后再用地西他滨是否会有更好的协同作用值得进一步探讨。

本研究重点为初步探讨改良 DLI/大剂量化疗无效的移植后复发 AML 患者地西他滨治疗前后体内免疫学变化, 该方案的安全性和有效性尚需进一步探讨。

参考文献

- [1] Chan HW, Kurago ZB, Stewart CA, et al. DNA methylation maintains allele-specific KIR gene expression in human natural killer cells [J]. J Exp Med, 2003, 197 (2): 245-255. DOI: 10.1084/jem.20021127.
- [2] Lübbert M, Bertz H, Wäsch R, et al. Efficacy of a 3-day, low-dose treatment with 5-azacytidine followed by donor lymphocyte infusions in older patients with acute myeloid leukemia or chronic myelomonocytic leukemia relapsed after allografting [J]. Bone Marrow Transplant, 2010, 45 (4): 627-632. DOI: 10.1038/bmt.2009.222.
- [3] Jabbour E, Giral S, Kantarjian H, et al. Low-dose Azacitidine

- after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia[J]. *Cancer*, 2009, 115(9): 1899-1905. DOI: 10.1002/cncr.24198.
- [4] Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY, et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML)[J]. *Blood*, 2012, 119(14): 3361-3369. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377044.
- [5] Ravandi F, Kantarjian H, Cohen A, et al. Decitabine with allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in the therapy of leukemia relapse following a prior transplant: results of a phase I study[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2001, 27(12): 1221-1225. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703028.
- [6] Platzbecker U, Wermke M, Radke J, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial[J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 381-389. DOI: 10.1038/leu.2011.234.
- [7] McCarty JM, Shickle L, Roberts CH, et al. 5-Azacytidine prior to allogeneic transplantation effectively reduces relapse, TRM and overall mortality in high risk myelodysplasia and secondary AML[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 41: S212-S213.
- [8] Lübbert M, Bertz H, Rüter BH, et al. Non-intensive AML/MDS treatment with low-dose decitabine prior to reduced-intensity conditioning (RIC) and allogeneic blood stem cell transplantation of older patients[J]. *Blood*, 2006, 108(11): 5257. DOI: <https://DOI.org/10.1182/blood.V108.11.5257.5257>.
- [9] de Lima M, Ravandi F, Shahjahan M, et al. Long-term follow-up of a phase I study of high-dose decitabine, busulfan, and cyclophosphamide plus allogeneic transplantation for the treatment of patients with leukemias[J]. *Cancer*, 2003, 97(5): 1242-1247. DOI: 10.1002/cncr.11184.
- [10] Wang Y, Chen H, Chen J, et al. The consensus on the monitoring, treatment, and prevention of leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in China[J]. *Cancer Lett*, 2018, 438: 63-75. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.08.030.
- [11] Zhao XS, Jin S, Zhu HH, et al. Wilms' tumor gene 1 expression: an independent acute leukemia prognostic indicator following allogeneic hematopoietic SCT[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2012, 47(4): 499-507. DOI: 10.1038/bmt.2011.121.
- [12] Yan CH, Liu DH, Liu KY, et al. Risk stratification-directed donor lymphocyte infusion could reduce relapse of standard-risk acute leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Blood*, 2012, 119(14): 3256-3262. DOI: 10.1182/blood-2011-09-380386.
- [13] Huang XJ, Wang Y, Liu DH, et al. Modified donor lymphocyte infusion (DLI) for the prophylaxis of leukemia relapse after hematopoietic stem cell transplantation in patients with advanced leukemia-- feasibility and safety study[J]. *J Clin Immunol*, 2008, 28(4): 390-397. DOI: 10.1007/s10875-008-9193-4.
- [14] Huang XJ, Liu DH, Liu KY, et al. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T cell depletion for the treatment of hematological malignancies[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2006, 38(4): 291-297. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705445.
- [15] Yu XX, Han TT, Xu LL, et al. Effect of the in vivo application of granulocyte colony-stimulating factor on nk cells in bone marrow and peripheral blood[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(6): 3025-3034. DOI: 10.1111/jcmm.13539.
- [16] Choi J, Ritchey J, Prior JL, et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia[J]. *Blood*, 2010, 116(1): 129-139. DOI: 10.1182/blood-2009-12-257253.
- [17] Liu Long, Chang Yingjun, Xu Lanping, et al. Reversal of T cell exhaustion by the first donor lymphocyte infusion is associated with the persistently effective anti-leukemic responses in patients with relapsed AML after allo-HSCT[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(7): 1350-1359. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.03.030.
- [18] MacFarlane AW 4th, Jilab M, Smith MR, et al. NK cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia is associated with loss of the mature cells expressing inhibitory killer cell Ig-like receptors[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(7): e1330235. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1330235.
- [19] Cany J, Roeven MWH, Hoogstad-van Evert JS, et al. Decitabine enhances targeting of AML cells by CD34⁺ progenitor-derived NK cells in NOD/SCID/IL2Rg^{null} mice[J]. *Blood*, 2018, 131(2): 202-214. DOI: <https://DOI.org/10.1182/blood-2017-06-790204>.
- [20] Motabi IH, Ghobadi A, Liu J, et al. Chemotherapy versus hypomethylating agents for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after allogeneic stem cell transplant[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016, 22(7): 1324-1329. DOI: 10.1016/j.bbmt.2016.03.023.

(收稿日期:2020-02-05)

(本文编辑:徐茂强)