

• 临床研究 •

G-CSF 动员供者外周血单个核细胞输注治疗异基因造血干细胞移植后复发白血病的临床研究^{*}

刘 嘉,高 力[#],陈幸华,刘 耀,高 蕾,曾韞璟,张 诚,张 曦[△]

(第三军医大学新桥医院血液科/重庆市医学重点学科,重庆 400037)

摘要:目的 观察重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员的供者外周血单个核细胞输注治疗异基因造血干细胞移植后,白血病复发的有效性及安全性。方法 对 2009 年 7 月至 2011 年 2 月该科 20 例异基因造血干细胞移植后复发的白血病患者,予以输注 G-CSF 动员后供者外周血单个核细胞。其中 5 例急性淋巴细胞白血病-CR2,8 例急性髓系白血病-CR2,2 例急性髓系白血病-CR3,3 例急性混合细胞白血病,2 例加速期慢性髓系白血病。在异基因造血干细胞移植后,半年内,20 例患者均复发,予 G-CSF 动员后,供者外周血单个核细胞输注,每次输注细胞量按 $1 \times 10^5/\text{kg}$, $2 \times 10^5/\text{kg}$, $4 \times 10^5/\text{kg}$ 逐级增加,每次输注间隔 4 周。结果 12 例患者再次完全缓解,8 例患者未缓解。输注后,3 例患者发生了 I ~ II 度急性移植物抗宿主病,12 例患者发生了慢性移植物抗宿主病,5 例未发生并发症,未观察到输注相关的全血细胞减少。结论 G-CSF 动员供者外周血单个核细胞输注治疗异基因造血干细胞移植后,白血病复发有较好的疗效,不良反应小,值得临床进一步推广。

关键词:造血干细胞移植; 白血病; 复发; G-CSF 动员的供者外周血单个核细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.003

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)11-1151-03

Research on the therapeutic effect of peripheral blood mononuclear cells infusion from donors stimulated with granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of patient with relapsed leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation^{*}

Liu Jia, Gao Li[#], Chen Xinghua, Liu Yao, Gao Lei, Zeng Wenjing, Zhang Cheng, Zhang Xi[△]

(Department of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the efficacy and safety of growth factor-primed donor hematopoietic stem cells infusion (GPBSCI) from donors stimulated with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in the treatment of patients with relapsed leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** 20 cases of patients with relapsed leukemia, occurring in six months after allo-HSCT, among whom 5 cases were acute lymphoblastic leukemia (ALL) in CR2, 8 were acute myeloid leukemia (AML) in CR2, 2 were AML in CR3, 3 were acute mixed lineage leukemia (MAL) and 2 were chronic myeloid leukemia at accelerated phase, received GPBSCI, during Jul. 2009 to Feb. 2011. The dose of cells infusion was $1 \times 10^5/\text{kg}$ for the first time, $2 \times 10^5/\text{kg}$ for the second time, $4 \times 10^5/\text{kg}$ for the third time and so on, and the cells infusion was performed once for every four weeks. **Results** After receiving GPBSCI, 12 patients received complete remission again, 3 patients developed grade I ~ II acute GVHD, 12 patients developed chronic GVHD, 5 patients had not any complication and no transfusion related pancytopenia was observed in all patients. **Conclusion** This research could suggest that GPBSCI might be an effective method for the treatment of patients with relapsed leukemia after allo-HSCT, which deserves further study and extended clinical application.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation; leukemia; recurrence; growth factor-primed donor hematopoietic stem cells infusion

1989 年 Slavin 在大量实验研究基础上率先应用供者淋巴细胞输注(DLI)治疗 1 例去 T 淋巴细胞骨髓移植后 1 个月复发的难治性急性淋巴细胞白血病患者获得成功,此后许多学者研究证明了 DLI 的可行性及有效性,但此方法可能引起严重的 GVHD 及骨髓造血功能抑制^[1-3]。国内外有报道,应用重组人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)动员的供者外周血单个核细胞输注,替代 DLI 治疗 allo-HSCT 后白血病复发的患者,取得了较好的疗效^[4]。2009 年 7 月至 2011 年 2 月本科对在 allo-HSCT 后复发的白血病患者予以输注 G-CSF 动员的供者外周血单个核细胞,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 7 月至 2011 年 2 月本科 20 例在异基因造血干细胞移植后复发的白血病患者。其中男 12 例,女 8 例,中位年龄 32 岁。5 例急性淋巴细胞白血病-CR2,8 例急性髓系白血病-CR2,2 例急性髓系白血病-CR3,3 例淋巴瘤细胞白血病,2 例加速期慢性髓系白血病。其中 15 例为同胞间 HLA 全相合造血干细胞移植,5 例为 HLA 单倍型相合移植。同胞间 HLA 全相合造血干细胞移植的干细胞来源于 G-CSF 动员的外周血造血干细胞,HLA 单倍型相合造血干细胞移植的干细胞来源于 G-CSF 动员的外周血混合骨髓造血干细胞。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81070388);重庆市自然科学基金重点资助项目(2009BA5056);第三军医大学临床科研基金资助项目(2010D249)。 [△] 通讯作者, E-mail: zhangxxi@sina.com.cn。 [#] 共同第一作者。

1.2 预处理方案 急性淋巴细胞白血病、淋巴瘤细胞白血病及慢性髓系白血病采用白消安+环磷酰胺(Bu+Cy)方案:Bu 3.2 mg/kg×4 d;Cy 60 mg/kg×2 d。急性髓系白血病采用FBA 方案:氟达拉滨 30 mg/m²×5 d;白消安 3.2 mg/kg×3 d;阿糖胞苷 1.5 g/m²×5 d。或 FBC 方案:氟达拉滨 30 mg/m²×5 d;Bu 3.2 mg/kg×3 d;Cy 50 mg/kg×2 d。

1.3 GVHD 的预防 20 例患者均采用环孢素+马替麦考酚酸酯(MMF)+短程小剂量甲氨蝶呤(MTX)方案预防 GVHD,单倍型相合移植加用抗人胸腺细胞球蛋白(ATG)预防 GVHD。

1.4 造血干细胞动员及采集 全部供者均予 G-CSF(欣粒生,北京四环或吉赛欣,华北制药)动员干细胞,剂量为 10 μg/(kg·d),动员第 5 天采集外周血干细胞,单倍型相合移植供者在动员第 6 天再采集骨髓干细胞,采集单个核细胞(MNC)为(4~6)×10⁸/kg(按患者体质量计算),CD34⁺细胞(2~4)×10⁶/kg(按患者体质量计算)。单倍型相合移植供受者血型为主侧不合时,骨髓去除红细胞,血型次侧不合时,骨髓去除血浆,主、次侧均不合时去除红细胞及血浆。20 例均为移植后存在高复发风险的患者,故移植时均将移植需要之外的外周血干细胞冻存,按 1×10⁵/kg、2×10⁵/kg、4×10⁵/kg 梯度冻存,以备移植后复发时行 GPBSCI 治疗。

1.5 供者外周血单个核细胞输注 20 例患者在复发后予输注冻存的供者外周血单个核细胞,每次输注细胞量按 1×10⁵/kg、2×10⁵/kg、4×10⁵/kg 逐级增加,每次输注间隔 4 周,其中 12 例接受了 1 次 DMNCI,5 例接受了 2 次 DMNCI,3 例接受了 3 次 DMNCI,中位输注时间为+90 d(+52~+179 d),输注次数根据复查骨髓及植入指标决定。

1.6 疗效监测 定期复查血常规、骨髓形态学、融合基因及植入相关检查(包括血型转换、性染色体检查、供受者 DNA 短重复序列)。

2 结 果

2.1 GPBSCI 疗效 12 例患者再次达到血液学及分子生物学完全缓解(其中 4 例接受了 2 次 GPBSCI 后达到完全缓解,7 例接受了 1 次 GPBSCI 后达到完全缓解,1 例接受了 3 次 GPBSCI 后达到完全缓解),8 例患者未缓解,完全缓解率为 60%。具体输注情况见表 1。

表 1 接受 GPBSCI 患者的输注次数、输注相关 GVHD 及治疗效果					
患者	诊断	输注次数	aGVHD	cGVHD	治疗效果
1	ALL-CR2	1	无	局限型(皮肤)	完全缓解
2	ALL-CR2	2	无	广泛型(肝脏及皮肤)	完全缓解
3	ALL-CR2	1	I度	无	未缓解
4	ALL-CR2	1	无	广泛型(皮肤)	未缓解
5	ALL-CR2	1	II度	无	完全缓解
6	AML-CR2	1	无	广泛型(皮肤)	完全缓解
7	AML-CR2	1	无	局限型(皮肤)	完全缓解
8	AML-CR2	1	无	广泛型(皮肤)	完全缓解
9	AML-CR2	2	无	广泛型(皮肤)	完全缓解
10	AML-CR2	1	无	广泛型(皮肤)	未缓解

续表 1 接受 GPBSCI 患者的输注次数、输注相关 GVHD 及治疗效果					
患者	诊断	输注次数	aGVHD	cGVHD	治疗效果
11	AML-CR2	2	无	广泛型(皮肤及肝脏)	完全缓解
12	AML-CR2	3	I度	无	完全缓解
13	AML-CR2	2	无	广泛型(皮肤及肝脏)	完全缓解
14	AML-CR3	3	无	无	未缓解
15	AML-CR3	3	无	无	未缓解
16	MAL	1	无	无	未缓解
17	MAL	3	无	无	未缓解
18	MAL	1	无	无	未缓解
19	CML	1	无	局限型(皮肤)	完全缓解
20	CML	1	无	局限型(皮肤)	完全缓解

2.2 GPBSCI 相关并发症及疗效 输注后,3 例患者发生了 I~II 度 aGVHD。经 1 mg/kg 甲泼尼松治疗后均得到控制,12 例患者发生了 cGVHD,4 例表现为局限型 cGVHD,8 例表现为广泛型 cGVHD,经治疗后均能控制,5 例未发生并发症,无一例患者发生严重的骨髓抑制。经过上述治疗后,12 例患者再次达到完全缓解,占 60%;8 例患者未达到完全缓解,占 40%。

2.3 随访结果 移植后,中位随访时间为 452 d(212~610 d);GPBSCI 后,中位随访时间 180 d(30~582 d)。12 例再次获得血液学及分子生物学缓解的患者,无复发存活 10 例;2 例分别于移植+412、+440 d 再次复发,移植+446 和+507 d 死亡。

3 讨 论

allo-HSCT 是治疗白血病的最有效手段,但对于 allo-HSCT 后白血病复发的治疗措施少。国内外有报道,应用 G-CSF 动员的 GPBSCI,替代 DLI 治疗 allo-HSCT 后白血病复发的患者,其优点在于 GPBSCI 比单纯的 DLI 具有更强的移植物抗白血病作用(GVL),输注相关的 GVHD 较 DLI 更容易控制^[5]。GPBSCI 与 DLI 均是一种过继性免疫治疗方法,主要机制是供者的造血干细胞与宿主细胞表面组织相容性抗原和肿瘤相关抗原不同,供者造血干细胞识别相关抗原后被激活,通过其自身的攻击能力和释放的具有细胞毒作用的细胞因子,对宿主细胞及白血病细胞进行破坏性攻击,从而产生 GVHD 和 GVL 效应。而 G-CSF 动员后,供者外周血淋巴细胞亚成分发生改变可能对减轻输注后 GVHD 起到了重要作用。有研究提示,I 型细胞因子(包括 IL-2 和 IFN-γ)会促进 GVHD 的发生,而 II 型细胞因子(包括 IL-4 和 IL-10)会抑制 GVHD 的发生^[6];G-CSF 的应用可以降低 T 细胞的异体活性,从而发生由 I 型向 II 型细胞因子的转向^[7-8];国内外及本研究所有 DMNCI 输注后,GVHD 均得到有效控制且无相关死亡,直接证明了 DMNCI 能有效降低 GVHD 的程度及发生率。DLI 另一个常见并发症是严重的骨髓抑制。国外有研究表明,G-CSF 动员后,造血干细胞输注可以加强供者的正常造血,从而避免了输注相关的骨髓抑制,本研究中无一例患者出现此并发症,为此提供了佐证^[9]。

本研究中,20 例患者在复发后予输注冻存的供者外周血单个核细胞,每次输注细胞量按 $1 \times 10^5/\text{kg}$ 、 $2 \times 10^5/\text{kg}$ 、 $4 \times 10^5/\text{kg}$ 逐级增加,每次输注间隔 4 周,其中 12 例接受了 1 次 DMNCI,5 例接受了 2 次 DMNCI,3 例接受了 3 次 DMNCI,中位输注时间为 $+90 \text{ d}(+52 \sim +179) \text{ d}$;其中 12 例患者再次达到血液学及分子生物学完全缓解(其中 4 例接受了 2 次 GPB-SCI 后达到完全缓解,7 例接受了 1 次 GPBSCI 后达到完全缓解,1 例接受了 3 次 GPBSCI 后达到完全缓解),8 例患者未缓解,完全缓解率为 60%;12 例再次获得血液学及分子生物学缓解的患者,无复发、存活 10 例,2 例分别于移植 $+412$ 、 $+440 \text{ d}$ 再次复发,移植 $+446$ 、 $+507 \text{ d}$ 死亡。本研究结果表明,GPB-SCI 可能具有 GVL 作用,输注相关 GVHD 较易控制,值得临床进一步推广。

参考文献

- [1] 陈运贤,孟凡义,钟雪云,等.现代造血干细胞移植[M].广州:广东科技出版社,2005:290.
- [2] Komori T,Sugiyama H,Ogawa H,et al. Treatment of a patient in a relapse after bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia with the systemic administration of allogeneic lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2[J]. Eur J Haematol,1989,43(5):184-185.
- [3] Neudorf S,Nourani A,Kempert P,et al. Chemotherapy and donor leukocyte infusions for relapsed juvenile myelomonocytic leukemia

(JMML)[J]. Bone Marrow Transplant,2004,33(10):1069.

- [4] 薛梅,王恒湘,段连宁,等.同一供者外周血单个核细胞输注治疗单倍相合骨髓移植后白血病复发[J].中国实验血液学杂志,2007,15(4):819-822.
- [5] Sohn SK, Jung JT, Kim DH, et al. Prophylactic growth factor-primed donor lymphocyte infusion using reserved at the time of transplantation after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with high-risk hematologic malignancies[J]. Cancer,2002,94:18-24.
- [6] 刘代红,黄晓军,陈欢,等.异基因造血干细胞移植后供者外周血造血干细胞输注预防高危白血病复发[J].中华血液学杂志,2006,27(1):6-9.
- [7] Chen SH, Li X, Huang XJ. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor on T-lymphocyte function and the mechanism of this effect[J]. Int J Hematol,2004,79(2):178-184.
- [8] Huang XJ, Chang YJ, Zhao XY. In vivo induction of T-cell hyporesponsiveness and alteration of immunological cell of bone marrow grafts using granulocyte colony-stimulating factor[J]. Haematological,2004,89(12):1517-1524.
- [9] Abecasis MM,Guimaraes A,Machado A,et al. PBPC as an alternative cell therapy for post-transplant relapse in CML[J]. Bone Marrow Transplant,1998,22(6):613-614.

(收稿日期:2011-03-07)

(上接第 1150 页)

发生出血性膀胱炎危险因素的分析[J].临床内科学杂志,2009,26(2):132-134.

- [2] 张纯,夏凌辉,何静,等.造血干细胞移植后出血性膀胱炎的病因与治疗[J].华中科技大学学报:医学版,2006,35(1):87-89.
- [3] 郭超,章卫平,王健民,等.外周血干细胞移植中出血性膀胱炎的病因与防治[J].第二军医大学学报,2002,23(9):949-951.
- [4] Bielora B, Shulman LM, Reehavi G, et al. CMV reactivation induced BK virus-associated late onset hemorrhagic cystitis after peripheral blood stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant,2001,28(6):613-614.
- [5] de Padua Silva L, Patah PA, Saliba RM, et al. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplants is the complex result of BK virus infection, preparative regimen intensity and donor type[J]. Haematologica,2010,95(7):1183-1190.
- [6] Comar M, Agaro PD, Andolina M, et al. Hemorrhagic cystitis in children undergoing bone marrow transplantation: a putative role for simian virus 40[J]. Transplantation,2004,78(4):544-548.
- [7] Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, et al. Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow

transplantation[J]. Clin Infect Dis,2001,32(9):1325-1330.

- [8] Wang LR, Dong LJ, Zhang MJ, et al. The impact of human herpesvirus 6B reactivation on early complications following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant,2006,12(10):1031-1037.
- [9] Lee GW, Lee JH, Choi SJ, et al. Hemorrhagic cystitis following allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. J Korean Med Sci,2003,18(2):191-195.
- [10] Leung AY, Mak R, Lie AK, et al. Clinicopathological features and risk factors of clinically overt hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation[J]. Bone Marrow Transplant,2002,29(6):509-513.
- [11] Batista CK, Mota JM, Souza ML, et al. Amifostine and glutathione prevent ifosfamide and acrolein-induced hemorrhagic cystitis[J]. Cancer Chemother Pharmacol,2007,59(1):71-77.
- [12] 唐晓文,刘一之,朱晓黎,等.选择性双侧髂内动脉栓塞治疗异基因造血干细胞移植术后重度出血性膀胱炎[J].中华器官移植杂志,2006,27(6):26-28.

(收稿日期:2011-03-07)