

• 临床检验研究 •

利妥昔单抗治疗难治性广泛 cGVHD 的疗效观察

李杰平, 曾东风, 陈幸华, 张 曦, 刘 红, 王庆余, 向茜茜, 孔佩艳[△]

(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 探讨利妥昔单抗治疗难治性广泛性慢性移植物抗宿主病治疗中的疗效及作用机制。方法 对 2 例难治性广泛性慢性移植物抗宿主病患者, 在原有治疗基础上联合利妥昔单抗治疗后部分缓解患者的临床资料进行分析, 并结合文献复习, 为难治性广泛性慢性移植物抗宿主病的治疗提供新的思路。2 例患者均表现广泛或局限的硬皮病、干眼症、肝功能损害、口腔广泛性溃疡损害和(或)增殖性病变等广泛性慢性移植物抗宿主病, 利妥昔单抗治疗方案: 静脉注射利妥昔单抗 375 mg/m², 每周 1 次, 连用 4 周后改为每个月 1 次, 共用 6 次。结果 2 例患者均获得明显改善并明显减少激素用量, 患者慢性移植物抗宿主病持续好转并无病存活。利妥昔单抗治疗期间未发生任何严重不良反应。结论 利妥昔单抗治疗难治性广泛性 cGVHD 安全有效, 对于激素和环孢素耐药的 cGVHD 具有良好效果。提示 B 细胞在 cGVHD 发病机制中具有重要的作用。

关键词: 移植物抗宿主病; 造血干细胞移植; 利妥昔单抗

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 11. 009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)11-1165-03

Therapeutic effect of Rituximab on refractory extensive chronic graft-versus-host disease

Li Jieping, Zeng Dongfeng, Chen Xinghua, Zhang Xi, Liu Hong, Wang Qingyu, Xiang Xixi, Kong Peiyan[△]

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

Abstract: **Objective** To evaluate the therapeutic effect and mechanism of Rituximab in the treatment of refractory extensive chronic graft-versus-host disease(cGVHD). **Methods** The clinical data of 2 cases of patients with refractory extensive cGVHD, getting partial remission after the combined therapy of routine method and Rituxmab therapy, were analyzed to provide new protocol for the treatment of refractory extensive cGVHD. Both patients were with extensive cGVHD, such as diffusing or localized scleroderma, xerophthalmia, liver damage, extensive ulcer of oral cavity, proliferation diseases, and so on, were treated with Rituximab(375 mg/m²) once per-week for 4 consecutive weeks and then once per-month for 2 consecutive months. **Results** Both of the 2 cases showed partial response, while the application dose of steroids was reduce, with the improvement of pathogenetic condition, and acquire survival without complications. **Conclusion** Rituximab therapy might be safe and effective for the treatment of refractory extensive cGVHD, especially for the treatment of steroid and ciclosporin resistant cGVHD. Findings in this research suggest that B lymphocytes take an important role in the pathogenesis of cGVHD.

Key words: graft vs host disease; hematopoietic stem cell transplantation; Rituximab

在异基因干细胞移植后, cGVHD 是除复发之外最主要的并发症和死亡原因, 同时也严重影响生存者的生存质量。对于广泛型 cGVHD 患者, 如果一线治疗失败, 其长期生存率仅为 20%~50%。cGVHD 的最有效治疗药物为糖皮质激素联合环孢素。大部分广泛型 cGVHD 患者的治疗时间很长, 停用免疫抑制前的中位治疗时间为 2~3 年。长期激素治疗除了会带来较多不良反应外, 其疗效也很有限, 据报道, 仅有 50% 患者对该治疗策略有效^[1]。因此, 寻求更有效且不良反应更少的治疗广泛型 cGVHD 的方法实属必需。美罗华是一种抗 CD20 的嵌合单克隆抗体, 国外有报道, 使用美罗华能阻止广泛型难治性 cGVHD 的病理进展, 而且无任何不良反应^[2]。国内尚未有关利妥昔单抗治疗广泛型 cGVHD 的病例报道。作者对 2 例广泛型难治性慢性移植物抗宿主病患者在原有治疗基础上联合利妥昔单抗治疗取得较好疗效, 现将有关情况报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 例 1, 男, 62 岁。因头昏、乏力就诊, 查外周血白细胞 $1.62 \times 10^9/L$, 外周血分类计数: 原始细胞占 80%, 骨髓

穿刺形态学和免疫分型诊断为急性髓系白血病 M5 型, 化疗后达到完全缓解(CR)。2009 年 2 月 23 日进层流病房, 使用氟达拉滨加白消安加阿糖胞苷(Flu+Bu+Ara-C)预处理, 进行同胞间全相合 allo-HSCT。供者是患者同胞妹妹, 56 岁, 已婚, 未孕未育。2009 年 3 月 5、6 日回输供者外周血造血干细胞, 单个核细胞计数为 $9.1 \times 10^8/kg$, CD34⁺ 计数为 $7.5 \times 10^6/kg$ 。移植+13 d 白细胞、血小板均植入。+153 d 定期腰穿脑脊液发现涂沫细胞, 考虑中枢神经系统白血病, 将环孢素胶囊快速减停后出现 I~II 度 GVHD 反应, 使用泼尼松口服治疗后好转。2009 年 10 月 5 日(+213 d)患者逐渐出现广泛性胸部、背部、腹部、腋下、双手掌、脚掌扁平苔藓样斑丘疹, 局部红斑、脱屑、融合成片, 口腔黏膜大片白膜、溃疡、发红、苔藓样改变伴张口困难、疼痛, 眼干、易痒, 肌肉疼痛。予以手掌皮疹以及背部皮疹活检考虑 cGVHD 反应, 予以泼尼松片 30 mg+环孢素胶囊 50 mg 治疗 1 个月效果不理想, 同时伴随肝功能氨基转移酶胆红素异常。2010 年 1 月 30 日(+330 d)开始予以静脉注射利妥昔单抗 375 mg/m², 每周 1 次, 连用 4 周后改为每个月 1

[△] 通讯作者, E-mail: peiyankong@yahoo. com. cn。

次,共用 6 次,使用美罗华的同时将激素及环孢素胶囊逐步缓慢减量。治疗期间未出现任何利妥昔单抗不良反应。2010 年 3 月 23 日来院行第 5 次美罗华治疗时复查双手掌、脚掌扁平苔藓样斑丘疹颜色明显变淡,皮疹明显隐退、口腔黏膜苔藓样改变均有明显改善。肝功能完全恢复正常。

例 2,男,50 岁。因体检发现白细胞异常高,3 d 后就诊,查外周血白细胞 $144.9 \times 10^9/L$,骨髓穿刺形态学诊断为慢性髓细胞白血病慢性期,Ph 阳性率 40%。予以羟基脲口服降白细胞治疗,白细胞维持在 $(3 \sim 9) \times 10^9/L$ 左右。2007 年 6 月 28 日药浴后进层流病房,使用 TBI+Cy 预处理,进行同胞间全相合 allo-HSCT。供者是患者同胞妹妹,48 岁,已婚,孕 3 产 1 人流 2。2007 年 7 月 4、5 日回输供者外周血造血干细胞,单个核细胞计数为 $15.6 \times 10^8/kg$,CD34⁺ 计数为 $8.9 \times 10^6/kg$ 。+11 d 白细胞植入、+13 d 血小板植入。2007 年 11 月及 2008 年 1 月 2 日复查 BCR/ABL 融合基因分别为 0.007 9% 和 0.012%,考虑 CML 有复发倾向,将环孢素胶囊加快减量停用,于 2008 年 3 月 13 日停用环孢素后,全身开始出现皮疹、微痒、皮肤局部色素脱失,并出现双眼结膜充血、分泌物增多、干涩、视物模糊、口腔黏膜溃疡、苔藓样改变,进食时疼痛,尤其进食辛辣、咸食为甚,伴随肝功能异常,皮肤科行右前臂皮疹活检考虑诊断为 cGVHD。查体:全身皮肤黏膜可见大量片状色素沉着,表面无鳞屑,以上胸部及双上肢明显,口腔黏膜见片状白膜、散在多发溃疡糜烂,整个口腔黏膜充血明显。四肢、胸腹部肌肉绷紧感、弹性极差,关节僵硬,并逐渐出现较为明显的胸闷、气促。肝功能:ALT 76 IU/L,AST 69 IU/L, γ -GGT 373 IU/L,TB 及 DB 正常。肺功能:中、重度阻塞性通气功能障碍;中度阻塞性肺气肿;肺弥散功能降低;气道阻力正常;小气道功能减低;肺部 CT:双肺未见实质性病灶。骨髓细胞学:增生性骨髓象。荧光原位杂交技术 BCR/ABL 融合基因阳性率占 0%。性染色体检测:XX 占 100%,XY 占 0%。予以泼尼松片 30 mg+环孢素胶囊 75 mg 口服,妥布霉素地塞米松滴眼液滴双眼,多次复查 BCR/ABL 融合基因均为阴性。肝功能、皮疹均部分改善,但是容易反复,并有加重。2009 年 6 月患者逐渐出现躯干、四肢肌肉、皮肤、关节僵硬,长期静止状态后不能自行活动,肌肉压之紧绷感。2009 年 8 月 20 日开始予以静脉注射利妥昔单抗 375 mg/m²,每周 1 次,连用 4 周后改为每个月 1 次,共用 6 次,使用美罗华的同时,将激素及环孢素胶囊逐步缓慢减量。治疗期间未出现任何利妥昔单抗不良反应。患者皮肤、肌肉僵硬感较前有缓解,能够自行做旋转运动,口腔黏膜、全身皮疹均有较大改善。2011 年 2 月 10 日患者出现进行性加重的胸闷、气促,稍微活动即呼吸困难。行肺部 CT:慢性支气管炎伴肺气肿,肺部未见感染病灶。肺功能:重度阻塞性为主的混合性通气功能障碍,小气道功能降低,中度阻塞性肺气肿,肺弥散功能轻度减低,气道阻力增高,支气管舒张实验阴性。

1.2 GVHD 的预防及 cGVHD 诊断 2 例患者均为 HLA 全相合同胞间异基因造血干细胞移植,采用标准的环孢素 A (CsA)+霉酚酸酯(MMF)+短程甲氨蝶呤(MTX)方案。2 例患者在 allo-HSCT 后均未发生急性 GVHD,按照 cGVHD 诊断标准,2 例患者均为广泛型^[3]。根据 2006 年分级标准^[4]:例 1 为中度 cGVHD,例 2 为重度 cGVHD。诊断为 cGVHD 后,

例 1 予以激素+环孢素 A 治疗,超过 2 个月疾病未获部分缓解,例 1 予以激素+环孢素 A+MMF 治疗超过 2 个月疾病仍然进展。

1.3 激素耐药性 cGVHD 诊断标准及疗效标准 根据参考文献,当具有以下特征之一时提示患者可能对激素治疗耐药,即标准的以糖皮质激素为基础的免疫抑制治疗方案进行至少 2 个月后,患者症状无改善或治疗 1 个月 after 出现疾病进展^[5]。本组例 1 予以激素+环孢素 A 治疗超过 2 个月疾病未获部分缓解,例 2 予以激素+环孢素 A 后加用 MMF 治疗超过 2 个月疾病仍然进展。治疗疗效判断标准:CR 表示 cGVHD 症状及体征消失;部分缓解(PR)为 1 个或多个受累器官临床症状及相关指标明显改善大于 50%,并且其他器官症状无加重;疾病稳定(SD)为 cGVHD 症状及体征无改变;疾病进展(PD)为治疗期间 cGVHD 症状进行性加重。

1.4 利妥昔单抗治疗方案 2 例患者均在原有免疫抑制剂治疗的基础上接受利妥昔单抗治疗,具体治疗方案:静脉注射利妥昔单抗 375 mg/m²,每周 1 次,连用 4 周后改为每个月 1 次,共用 6 次。利妥昔单抗治疗后其余免疫抑制剂逐渐减量。

1.5 疗效评价

1.5.1 利妥昔单抗治疗 cGVHD 的疗效 2 例广泛性中、重度 cGVHD 患者接受利妥昔单抗 375 mg/m²,每周 1 次,连用 4 周后改为每个月 1 次,共 6 次。2 例患者 cGVHD 症状包括皮肤、口腔黏膜溃疡、关节强直、肝功、眼睛、肌肉紧绷感等均获明显好转。但是最终均未达到完全缓解。

1.5.2 利妥昔单抗对肺脏 cGVHD 的疗效 第 52 届 ASH 有作者认为至少有 15%~40% 的患者在 allo-BMT 后并发生显著的气道和肺实质的晚期毒性。慢性阻塞性肺病见于超过 20% 的 allo-BMT 后的长期生存患者,慢性 GVHD 损伤肺组织,常常表现为以非特异性的炎症损害为主的,主要累及细支气管的闭塞性细支气管炎综合征。例 2 患者出现明显的肺脏 cGVHD 症状,行美罗华治疗前,肺部 CT 未见明显实质性改变。肺功能:中、重度阻塞性通气功能障碍;中度阻塞性肺气肿;肺弥散功能降低;气道阻力正常;小气道功能减低;经过 6 次美罗华治疗后,肺部症状未见减轻并有进行性加重症状。2011 年 2 月 10 日患者出现进行性加重的胸闷、气促,稍微活动即呼吸困难。行肺部 CT:慢性支气管炎伴肺气肿,肺部未见感染病灶。肺功能:重度阻塞性为主的混合性通气功能障碍,小气道功能降低,中度阻塞性肺气肿,肺弥散功能轻度减低,气道阻力增高,支气管舒张实验阴性。例 2 患者于 2011 年 2 月 10 日来院后予以脐带间充质干细胞治疗后,肺部症状有较大改善。

1.5.3 临床转归 2 例患者在美罗华治疗 30 d 左右开始免疫抑制剂减量,一直使用小剂量激素维持治疗至今,2 例患者仍然病情稳定并生存至今。例 2 因为呼吸困难及肝功严重异常于 2011 年再次来院。复查肺功能、肝功能:予以间充质干细胞治疗 2 次后,肝功能达到正常、肺功能有明显改善。

2 讨论

cGVHD 是 allo-HSCT 后最严重的晚期并发症之一,不仅严重影响移植后患者的生活质量,而且也是 allo-HSCT 后非复发致死的最主要原因。据文献报道,其发病率高达 40%~70%^[5-6]。cGVHD 临床表现复杂,可累及多个器官系统,类似

于自身免疫性疾病。但最常累及的器官为皮肤(65%~80%)、口腔(48%~72%)、肝脏(40%~73%)、眼睛(18%~47%)。乏力、肌肉僵硬、关节挛缩及严重的免疫抑制导致的反复细菌和其他病原体感染是未治疗或未充分治疗的严重慢性 GVHD 患者的突出特点,也是导致患者死亡的重要原因。慢性 GVHD 的中位发病时间大约是移植后 6 个月,且大多数在移植后 2 年内症状很明显。虽然大多数患者的慢性 GVHD 患者经治疗预后良好,但仍然有一部分患者生活质量受到严重的不可逆影响(如早期的干燥综合征、闭塞性细支气管炎、皮肤萎缩等),因此也限制了异基因造血干细胞移植治疗的广泛开展。

激素及 CsA 是治疗 cGVHD 的首选药物。对于轻度 cGVHD 患者,可以单用激素或联合 CsA 治疗。对于难治性患者,因其对一线药物治疗耐药,需要联合其他免疫抑制剂治疗,包括 FK506、骁悉、反应停、干扰素等,但其疗效往往并不理想。国内外文献报道,CsA+激素联合治疗进展型 cGVHD 有效率约 50%,生存率为 50%~80.9%。cGVHD 最新的治疗还有间充质干细胞及抗 CD20 单抗等。本组 2 例患者均在一线治疗无效情况下加用了沙利度胺和维 A 酸治疗,但病情仍未得到有效控制。但加用抗 CD20 单抗治疗后获得了较为满意的效果。

cGVHD 的发病机制至今尚未完全阐明,多种细胞以及体液机制可能参与了 cGVHD 的发生。目前绝大多数学者认为其属于一类免疫调节功能紊乱性疾病,供者 T 淋巴细胞在 cGVHD 的发生中起主导作用。但越来越多的证据证实,B 细胞和体液免疫在 cGVHD 发病机制发生重要的作用。近年的一些研究表明,慢性 GVHD 患者同样存在 B 细胞功能紊乱,并针对细胞表面和细胞内抗原成分分泌自身抗体。研究也已经证实,B 细胞既可作为一类特殊的抗原递呈细胞启动 T 细胞免疫应答,又可作为效应细胞产生抗体和细胞因子^[7]。国外有作者临床上使用抗 CD20 单抗美罗华治疗,能够有效阻止难治性慢性 GVHD 的病理进展,提示 B 淋巴细胞及其产生的自身抗体在慢性 GVHD 的病理过程中具有重要作用。在 2 例患者使用美罗华治疗慢性 GVHD 效果显著,也证实了 B 细胞活化与慢性 GVHD 发生密切相关。

美罗华是一种抗 CD20 的嵌合单克隆抗体,在 cGVHD 和其他自身免疫性疾病治疗中有显著作用。von Bonin 等^[8]报道,用小剂量的美罗华(50 mg/m²)治疗 13 例激素难治性的 cGVHD 和自身免疫性疾病患者(膜性肾小球肾炎及免疫性血小板减少性紫癜)有效率 69%,其中 2 例获得完全缓解。由于 cGVHD 发病机制中 B 细胞及其所产生自身抗体所起的重要作用,美罗华治疗 cGVHD 的作用机制尚不完全清楚。国外已有研究发现,抗 CD20 单抗具有明显的效果,但也有研究者认为其疗效并不肯定。Kharfan-Dabaja 等^[9]回顾了 7 个研究(3 个为前瞻性、4 个回顾性,患者 111 例)的结果,但由于研究对象数量相对较少,不同报道中衡量器官反应的标准不同、患者的基础状态不同等,最终并不能完全确定美罗华治疗 cGVHD 的效果,认为美罗华治疗慢性 GVHD 的效果还需要

大样本的进一步深入研究。2 例患者均为年龄较大的男性患者,供者为其全相合的胞姐或胞妹,供者的年龄也均在 50 岁以上。2 例患者发生了广泛 cGVHD 后一线治疗效果不理想,但加用美罗华治疗后均获得了较好的疗效。证实了美罗华在治疗难治性 cGVHD 时可能是 1 个安全、有效的选择。但是美罗华有其局限性,尤其对于肺部 cGVHD 症状无明显治疗效果,而脐带间充质干细胞对于肺部 cGVHD 治疗效果可能较好^[10]。

参考文献

- [1] Koc S, Leisenring W, Flowers ME, et al. Therapy for chronic graft-versus-host disease: a randomized trial comparing cyclosporine plus prednisone versus prednisone alone[J]. Blood, 2002, 100(1): 48-51.
- [2] Bates JS, Engemann AM, Hammond JM. Clinical utility of rituximab in chronic graft-versus-host disease[J]. Ann Pharmacother, 2009, 43(2): 316-321.
- [3] Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. NIH consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. diagnosis and staging working group report[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(12): 945-956.
- [4] Pavletic SZ, Martin P, Lee SJ, et al. Measuring therapeutic response in chronic graft-versus-host disease: national institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: IV. response criteria working group report[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(3): 252-266.
- [5] Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse[J]. Blood, 2002, 100(2): 406-414.
- [6] Akpek G, Lee SJ, Flowers ME, et al. Performance of a new clinical grading system for chronic graft-versus-host disease: a multicenter study[J]. Blood, 2003, 102(3): 802-809.
- [7] Kapur R, Ebeling S, Hagenbeek A. B-cell involvement in chronic graft-versus-host disease[J]. Haematological, 2008, 93(11): 1702-1711.
- [8] von Bonin M, Oelschlaegel U, Radke J, et al. Treatment of chronic steroid-refractory graft-versus-host disease with low-dose rituximab[J]. Transplantation, 2008, 86(6): 875-879.
- [9] Kharfan-Dabaja MA, Mhaskar AR, Djulbegovic B, et al. Efficacy of rituximab in the setting of steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(9): 1005-1013.
- [10] 张乐试, 刘启发, 黄科, 等. 间充质干细胞治疗糖皮质激素耐药性慢性移植抗宿主病临床疗效观察[J]. 中华内科杂志, 2009, 48(7): 542-546.

(收稿日期: 2011-03-07)

启事: 本刊对基金资助项目文章开通绿色通道, 欢迎投稿。