

重型再生障碍性贫血 60 例应用脐血与外周血造血干细胞移植的对比性研究

葛林阜 周芳 余喆 孔凡盛 刘希民 方圆 解琳娜 宋宁霞 盛帅

【摘要】 目的 探讨脐血移植(UCBT)与外周血造血干细胞移植(PBSCT)治疗重型再生障碍性贫血的临床疗效,同时通过对比性研究,为患者选择合适的治疗方案。**方法** PBSCT组以环磷酰胺(CTX)、抗胸腺细胞球蛋白(ATG)、氟达拉滨(FLU)为主要预处理药物,术后以环孢素A(CsA)+骁悉(MMF)+甲氨蝶呤(MTX)预防移植物抗宿主病(GVHD);UCBT组以CTX+ATG为主要预处理药物,术后以CsA预防GVHD。**结果** 两组移植病例中粒系恢复情况相当,但UCBT的红系、巨核系恢复较慢。PBSCT组植入率为85.71%。而UCBT组仅有1例完全植入(亲缘供者),植入率仅为3.12%。PBSCT组完全缓解22例,部分缓解1例,死亡5例,总有效率78.57%;脐血移植完全缓解25例,无效2例,死亡5例,总有效率78.12%。**结论** UCBT虽植入率低但临床疗效与PBSCT相当,是重型再生障碍性贫血患者无合适人类白细胞抗原配型时有效的治疗方案。

【关键词】 贫血,再生障碍性; 脐血; 对比研究

An comparative study of curative effect in the treatment of 60 cases severe aplastic anemia with umbilical cord blood transplantation and peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation

GE Lin-fu, ZHOU Fang, YU Zhe, KONG Fan-sheng, LIU Xi-min, FANG Yuan, XIE Lin-na, SONG Ning-xia, SHENG Shuai. Department of Hematology, General Hospital of Jinan Military Command, Jinan 250031, China
Corresponding author: YU Zhe, Email: jijisos@sina.com

【Abstract】 Objective To explore the clinical effects of allogeneic peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation (PBSCT) and umbilical cord blood transplantation (UCBT) for severe aplastic anemia (SAA). At the same time, Choose the appropriate treatment for patients through the comparative study. **Methods** Cyclophosphamide (CTX), thymoglobulin (ATG) and fludarabine (FLU) were took as the main pretreatment drugs in peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation group. Combination of Cyclosporine A (CsA), mycophenolate mofetil (MMF) and methotrexate (MTX) were used for GVHD prophylaxis after treatment. **Results** Neutrophils recovery time were similar in the two groups, but the recovery of erythrocyte series and the megacaryocyte series of UCBT were more slowly than PBSCT. Implanted rate of PBSCT was 85.71%, and only one patient of UCBT implanted. The total effective rate of the two groups were 78.57% and 78.12%. **Conclusions** Though the implanted rate of UCBT is low but the clinical curative effect is similar with PBSCT. UCBT is an effective treatment when the patient had no suitable donor.

【Key words】 Anemia, aplastic; Cord blood; Comparative study

重型再生障碍性贫血(SAA)是常见的难治性血液系统疾病,进展迅速,预后差,死亡率高。异基因造血干细胞移植(Allo-HSCT)是目前根治该病的有效疗法^[1],然而大多数患者因没有适合的供者而不能应用该方法治疗。我们采用抗淋巴细胞球蛋白(ALG)/抗人体胸腺细胞球蛋白(ATG)、环磷酰胺(CTX)和环孢素A(CsA)联合的预处理方案进行脐血移植(UCBT)治疗SAA并与外周血造血干细胞移植(PBSCT)治疗SAA进行了对比性研究,以观察该方法的疗效和可行性。

对象和方法

一、对象

济南军区总医院2004年1月至2010年3月收治的60例患者,均诊断为SAA^[2]。非随机分成PBSCT组[有相合人类白细胞抗原(HLA)配型的患者进入该治疗组]共28例,男19例,女9例;中位年龄26岁;SAA I型(SAA-I)16例,SAA II型(SAA-II)12例;亲缘供者24例,非亲缘供者4例;供受者HLA 6/6相合23例,5/6相合3例,4/6相合2例;供受者血型完全相合17例,主侧不合6例,次侧不合5例。UCBT组共32例(无相合HLA配型患者),男17例,女15例;中位年龄14岁;SAA-I 25例,SAA-II 7例;亲缘供者1例,非亲缘供者31例;供受者HLA 6/6相合5例,5/6相合7例,4/6相合20例;供受者血型完全相合23例,主侧不合6例,次侧不合3例。见表1。

表1 临床病例资料(例)

组别	例数	性别		年龄(岁)		供者		HLA 配型			血型完全相合	疾病诊断(SAA)	
		男	女	范围	中位数	亲缘	非亲缘	6/6	5/6	4/6		I型	II型
PBSCT组	28	19	9	7~55	26	24	4	23	3	2	17	16	12
UCBT组	32	17	15	3~28	14	1	31	5	7	20	23	25	7

二、方法

1. 预处理方案:PBSCT组:CTX 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续2 d(D2~D3),ATG 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹+ALG 15 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续5 d(D1~D5);HLA不全相合者加用氟达拉滨 30 mg·(m²)⁻¹·d⁻¹,连续5 d(D1~D5);UCBT组:CTX 50 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续2 d(D2~D3),ATG 2.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹+ALG 15 mg·kg⁻¹·d⁻¹,连续5 d(D4~D8)。

2. 预防移植物抗宿主病(GVHD):PBSCT组:CsA 1.5~3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹,移植前一天开始,待胃肠道不良症状缓解,可口服用药时改为6~8 mg·kg⁻¹·d⁻¹,分两次口服,同时根据CsA血药浓度(维持在150~400 μg/ml)调整药物使用剂量,共使用3~6个月,霉酚酸酯(MMF)每次600~1000 mg/m²,口服1次/12 h,移植前第3天开始,共用35 d,甲氨蝶呤(MTX)移植后第1天15 mg/m²,移植后第3、6、11天剂量10 mg/m²。UCBT组同上,但不应用MTX和MMF,以减少对脐血的损伤。

3. 干细胞供应:外周血造血干细胞供应:亲缘供应共24例,由北京中华骨髓库提供非血缘供者4例,其中2例为HLA 6/6相合,1例5/6相合,1例4/6相合。脐血供应:32例脐血除1例为同胞姐妹供者外,其余31例分别采用山东脐血库,北京脐血库,上海脐血库,广州脐血库,四川脐血库供应的合格脐血。

4. 脐血输注:脐血输注前给予地塞米松5 mg静脉推注,异丙嗪25 mg口服,哌替啶50 mg肌肉注射预防脐血中二甲亚砷保存液可能会引起的头痛症状。

5. 输入的细胞数:单份脐血:有核细胞数(TNC)(3.98~13.6)×10⁷/kg(5.97×10⁷/kg),CD 34⁺ 3.98×10⁵/kg;双份脐血 TNC(9.1~17.31)×10⁷/kg(7.2×10⁷/kg),CD 34⁺ 5.33×10⁵/kg;外周血 TNC(2.83~7.8)×10⁸/kg(6.3×10⁸/kg),CD 34⁺ 5.2×10⁶/kg。

6. 支持治疗:第2天开始静脉滴注粒细胞集落刺激因子(G-CSF)5 μg·kg⁻¹·d⁻¹,直到白细胞恢复至4.0×10⁹/L以上逐渐减量至停用。每天行血常规分析检查,当Hb低于60 g/L,PLT低于20×10⁹/L时输注经过射线辐照的浓缩红细胞、浓缩血小板,移植期间根据患者饮食情况及监测肝功能生化,及时对症使用氨基酸、脂肪乳、白蛋白等营养用药及保肝用药。

7. 移植患者植活证据的检测:所有患者和治疗后造血重建顺利的患者于1个月、2个月、3个月、6个月、1年采用PCR检测DNA短串重复序列(STR)证实是否植活及植入情况。

8. 临床疗效评估:按参考文献^[1]评估疗效,分完全缓解、部分缓解、未缓解,完全缓解率和部分缓解率之和统计为总有效率。

三、统计学分析

应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析,组间比较采用 χ^2 检验或 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 移植后造血恢复情况(表2):脐血与外周血两组移植病例中,血象中粒系恢复情况两组相当,但脐血移植的外周血 Hb 和 PLT 恢复较慢($P < 0.05$)。经骨髓细胞学检查脐血与外周血粒系恢复时间无统计学差异,红系与巨核系外周血恢复时间明显早于脐血($P < 0.05$)。

表2 造血恢复情况(d)

组别	血象恢复情况					骨髓象恢复情况		
	WBC $> 1.0 \times 10^9/L$	PNC $> 0.5 \times 10^9/L$	WBC $> 4.0 \times 10^9/L$	Hb $> 60 g/L$	PLT $> 20 \times 10^9/L$	粒系	红系	巨核系
PBSCT 组	8 ~ 17 (11.69)	9 ~ 24 (12.56)	11 ~ 23 (14.92)	8 ~ 52 (26.36)	9 ~ 49 (16.33)	42 ~ 68 (52.31)	73 ~ 91 (82.15)	68 ~ 104 (93.22)
UCBT 组	8 ~ 38 (18.37)	18 ~ 35 (18.17)	15 ~ 62 (29.87)	8 ~ 68 (43.33)	12 ~ 123 (46.10)	36 ~ 76 (54.68)	85 ~ 167 (134.56)	99 ~ 187 (168.89)
t 值	0.645	0.783	0.614	1.998	2.013	0.978	2.372	2.879
P 值	0.528	0.449	0.548	0.049	0.046	0.336	0.025	0.008

注:括号中为中位数

2. 植入情况:PBSCT 组 24 例患者经 STR-PCR 检测提示完全植入,4 例混合型植入,其中 1 例术后第 66 天再次输注供者外周血单个核细胞(MNC) $2.5 \times 10^8/kg$,于术后第 82 天后形成完全植入;1 例 SAA-I 患者 1 年后转为患者型,目前长期口服环孢素维持。2 例 SAA-II 患者于术后 15 d、56 d 经检测均提示为混合型植入,目前死亡。植入率为 85.71%。而 UCBT 组仅有 1 例完全植入(亲缘供者),植入率仅为 3.12%,两组经统计学分析 $P = 0.018 < 0.05$ 。

3. 临床疗效:PBSCT 组完全缓解 22 例,部分缓解 1 例,死亡 5 例,总有效率 78.57%;脐血移植完全缓解 25 例,无效 2 例,死亡 5 例,总有效率 78.12%。两组经统计学分析 $P = 0.0813 > 0.05$,无统计学差异。

4. 并发症(表3):移植后并发症主要包括:感染(上呼吸道感染、肺部感染、败血症、肛周脓肿等)、出血、GVHD 等其他并发症。经统计学分析,感染、出血及出血性膀胱炎的发生率两组无统计学差异($P > 0.05$),但 GVHD 的发生率经分析 $P = 0.032 < 0.05$,即 PBSCT 组 GVHD 发生率明显高于 UCBT 组。

表3 并发症发生情况[例,(%)]

组别	感染	出血	GVHD	出血性膀胱炎
PBSCT 组	13(46.42)	2(7.14)	5(17.86)	2(7.14)
UCBT 组	17(53.13)	3(9.37)	0(0.00)	1(3.12)
t 值	0.978	1.926	4.114	0.817
P 值	0.336	0.065	0.032	0.421

5. SAA-I 型和 SAA-II 型造血重建的比较(表4):SAA-I 型患者和 SAA-II 型患者均能达到造血重建迅速,完全缓解率通过统计学研究发现两者之间差异无统计学意义。通过统计学分析发现 SAA-I 型患者较 SAA-II 型患者植入率高,但仍有 63.15% 的 SAA-II 型患者在单纯免疫抑制剂治疗无效的情况下能获得快速造血重建,临床达到基本治愈,并能长期无病生存。

表4 SAA-I型和SAA-II型造血恢复情况

分型	例数	血常规恢复情况 ^a (d)			植入例数 [例,(%)]	完全缓解[例,(%)]
		WBC > 1.0 × 10 ⁹ /L	Hb > 60 g/L	PLT > 20 × 10 ⁹ /L		
SAA-I	41	8 ~ 38 (16.56)	11 ~ 68 (39.64)	9 ~ 123 (33.69)	21 (51.22)	34 (82.92)
SAA-II	19	9 ~ 15 (12.00)	13 ~ 54 (42.33)	9 ~ 95 (48.36)	4 (21.05)	12 (63.15)
<i>t</i> 值/ χ^2 值		<i>t</i> = 1.944	<i>t</i> = 1.559	<i>t</i> = 0.514	χ^2 = 7.538	χ^2 = 0.477
<i>P</i> 值		0.057	0.153	0.348	0.006	0.490

注:^a:括号中为中位数

讨 论

造血干细胞移植是治疗 SAA 的有效手段,传统的预处理方案主要采用大剂量全身照射(TBI)和化疗做清髓性预处理,移植后造血重建及免疫重建过程较艰难,治疗相关并发症和死亡率高;再生障碍性贫血(AA)患者,尤其是 SAA 患者往往无法耐受强剂量的放化疗而死亡,同时严重的 GVHD 严重影响了患者的生存率^[3]。我们采取的非清髓外周血造血干细胞移植,在传统方案的基础上加强了免疫抑制,减低了化疗剂量,同样达到了很好临床疗效,完全缓解率达 82.92%,但与相关文献报道相比植入率略低,考虑与预处理剂量减少,患者清髓效果减轻有关,具体剂量还有待临床进一步研究。

随着我国独生子女家庭越来越多,仅有不到 20% 的 SAA 患者可能有合适的同胞供者^[4]。目前非血缘关系志愿供者库在世界各地得到建立。HSCT 找到 HLA-A、B、DR 完全相合供者的概率随骨髓库、民族及受者 HLA 基因及其在人群分布频度而有差异,同时由于骨髓库不可能无限扩大,因此,不能为所有患者找到 HLA-A、B、DR 完全相合非血缘关系供者;另一方面,非血缘关系志愿供者查找平均需 3 ~ 4 个月,而有些 SAA 患者特别是急性 SAA 患者,病情危重又不允许等待,因此,限制了非血缘患者供者的应用^[5]。脐血作为干细胞的另一种主要来源,近年来国内外对其进行了大量的基础研究和临床探索。已经证实脐血中含有大量造血干细胞、丰富的间充质干细胞^[6]。脐血中早期干细胞与骨髓相比,不但造血干细胞/祖细胞数量丰富,而且自我更新能力、扩增潜力更强,是造血干细胞移植的另一个理想来源^[7]。非血缘异基因脐血移植自 1988 年第一例发展至今已经经历了 20 年。全世界报道脐血移植的病例已经累积 10 000 例以上,并取得了良好的疗效^[8]。

在 Rubinstein 等^[9]的文献报道中,UCBT 后造血重建速度较骨髓、外周血移植造血重建速度慢。本研究 UCBT 较外周血造血干细胞移植粒系造血恢复相当,但红系和巨核系造血重建恢复较慢,与其研究相似。这就提示我们:UCBT 更需要加强抗感染及支持治疗的力度。本研究中发现虽然 UCBT 植入率较外周血干细胞移植明显低下,但其总有效率之间并无明显差异,这提示了 UCBT 治疗 SAA 即使在未植入的情况下仍能获得造血重建,与造血干细胞移植疗效相当。这就为更多的 SAA 患者,特别是儿童及低体重 SAA 患者提供了更多的治疗机会。分析植入率低的原因:(1)脐血中有效细胞数低,而当 HLA 不合时,细胞量是保证 UCBT 后植入和提高存活率最重要因素;(2)HLA 相合程度,这同时也是导致造血恢复延迟的重要原因;(3)SAA 患者往往存在反复输血,从而导致异基因抗原致敏,发生植入失败^[10]。考虑 UCBT 仍能获得良好疗效的原因:(1)免疫抑制剂 CTX、ALG/ATG 联合脐血的免疫作用对免疫缺陷所致的 SAA 起到了良好的调节作用;(2)SAA 为非恶性血液病,在骨髓衰竭的情况下,脐血及细胞因子起到了支持作用。但脐血在体内的免疫作用还有待大量的基础研究进行证实。

同时我们研究发现虽然 SAA-I 型和 SAA-II 型患者造血恢复时间及完全缓解率相当,但 SAA-I 型患者的植入率高于 SAA-II 型,考虑 SAA-II 型植入率低的原因:(1)长期大量输注血制品,体内产生血制品抗体,影响疗效,同时在移植过程中易出现血制品输注无效而并发出血死亡;(2)长期贫血,导致脏器功能往往失代偿,无法耐受强剂量的预处理;(3)存在造血微环境的异常、同时存在造血干细胞缺陷,在脐血未植入的情况下无法得到有效纠正等因素。

下一步我们致力研究问题:(1)调整预处理方案、增加双份、多份脐血临床病例的研究,以增加植入率;

(2)如何减少脐血造血恢复延迟期的感染及死亡;(3)增加SAA-II型患者临床植入率及缓解率。

参 考 文 献

- [1] 葛林阜,周芳,余喆,等. 减低剂量的脐血造血干细胞移植/输注治疗重型再生障碍性贫血21例临床研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2008,2:755-762.
- [2] 张之南,沈娣. 血液病诊断及疗效标准. 3版. 北京:科学出版社,2007:21-23.
- [3] 刘晓溪,李潮. 非清髓性造血干细胞移植治疗再生障碍性贫血. 中国小儿血液,2004,9:49-50.
- [4] 毛平,廖灿,朱志刚,等. 无关供者脐血造血干细胞移植治疗一例成人重型再生障碍性贫血. 中华血液学杂志,2000,21:28-31.
- [5] Rosenthal J, Woolfrey AE, Pawlowska A, et al. Hematopoietic cell transplantation with autologous cord blood in patients with severe aplastic anemia: an opportunity to revisit the controversy regarding cord blood banking for private use. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, 56:1009-1012.
- [6] Bojanić I, Golubić Cepulić B. Umbilical cord blood as a source of stem cells. *Acta Med Croatica*, 2006, 60:215-225.
- [7] Ballen K. Challenges in umbilical cord blood stem cell banking for stem cell reviews and reports. *Stem Cell Rev*, 2010, 6:8-14.
- [8] 黄绍良,周敦华. 非血缘异基因脐血造血干细胞移植现状、问题与对策. 中国实验血液学杂志, 2009, 17:1-7.
- [9] Rubinstein P, Hillyer C. Histocompatibility and immunogenetics in cord blood transplantation. *Biol Res*, 2010, 43:339-345.
- [10] Young NS, Bacigalupo A, Marsh JC. Aplastic anemia: pathophysiology and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, 161 Suppl:119-125.

(收稿日期:2011-05-19)

(本文编辑:梁雷)

葛林阜,周芳,余喆,等. 重型再生障碍性贫血60例应用脐血与外周血造血干细胞移植的对比性研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(22):6622-6626.