DOI:10.16016/j.2097-0927.202310048

低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 预防单倍型相合移植患者移植物抗宿主病的回顾性分析

雷金美[1,2],刘 林[1],袁忠涛[1],李 玉[1],罗 乐[1],李小平[1],黎诗琦[1],王三斌[1] 650100 昆明,中国人民解放军联勤保障部队第九二〇医院血液科[1];671000 大理,大理大学研究生院[2]

[摘要] **目的** 回顾性分析低剂量抗胸腺细胞球蛋白(antithymocyte globulin, ATG)联合低剂量移植后环磷酰胺(post transplantation cyclophosphamide, PTCY)预防单倍型相合移植患者移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)的疗效及安全性。**方法** 收集 2022 年 1 月至 2023 年 2 月在中国人民解放军联勤保障部队第九二〇医院血液科行单倍型相合移植的 90 例患者资料,按照研究对象接受不同的 GVHD 预防方案分为研究组和对照组,研究组为低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 组,总共 47 例;对照组为标准剂量 PTCY 组,总共 43 例。对两组患者的植入情况、GVHD 的发生情况、生存情况等指标进行分析。**结果** ①两组患者均成功植入,研究组中性粒细胞植入的中位时间显著短于对照组(11 *vs* 17 d,$P<0.05$)、血小板植入的中位时间显著短于对照组(12 *vs* 20 d,$P<0.05$)。研究组Ⅱ~Ⅳ度 aGVHD 发生率显著低于对照组(12.8% *vs* 34.9%,$P<0.05$)、Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 发生率显著低于对照组(6.4% *vs* 20.9%, $P<0.05$)、非复发死亡率显著低于对照组(6.4% *vs* 20.9%,$P<0.05$)、出血性膀胱炎的发生率显著低于对照组(12.8% *vs* 34.9%,$P<0.05$)。②截至研究结束,两组轻度 cGVHD 的发生率、中重度 cGVHD 的发生率、复发率、EB 病毒及巨细胞病毒再激活率、总生存率、无进展生存率差异均无统计学意义。**结论** 对于单倍型相合移植而言,低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 方案具有较低的 GVHD 发生率、非复发死亡率、出血性膀胱炎发生率及植入较快的优势。

[关键词] 单倍型相合移植;移植物抗宿主病;抗胸腺细胞球蛋白;移植后环磷酰胺;药物联合;低剂量

[中图法分类号] R181.32; R392.8; R552.05 [文献标志码] A

Low-dose ATG combined with low-dose PTCY in preventing GVHD after haploidentical transplantation: a retrospective analysis of 90 cases

LEI Jinmei[1,2], LIU Lin[1], YUAN Zhongtao[1], LI Yu[1], LUO Le[1], LI Xiaoping[1], LI Shiqi[1], WANG Sanbin[1]

[1]Department of Hematology, No. 920 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force, Kunming, Yunnan Province, 650100; [2]Graduate School of Dali University, Dali, Yunnan Province, 671000, China

[**Abstract**] **Objective** To retrospectively analyze the efficacy and safety of low-dose antithymocyte globulin (ATG) combined with low-dose post transplantation cyclophosphamide (PTCY) in prevention of graft versus host disease (GVHD) after haploidentical transplantation. **Methods** Clinical data of 90 patients receiving haplotype matched transplantation in No. 920 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force from January 2022 to February 2023 were collected, and they were divided into study group ($n=47$) and control group ($n=43$) according to different GVHD prevention programs. The patients of the study group were given low-dose ATG combined with low-dose PTCY, and those of the control group received standard dose of PTCY. The implantation status, occurrence of GVHD, survival status and other indicators were analyzed between the 2 groups. **Results** ① Both groups of patients were successfully implanted, the median duration for

[基金项目] 云南省重大科技专项-生物医药专项(202102AA100011)

[通信作者] 王三斌,E-mail:Sanbin1011@163.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

neutrophil implantation (11 *vs* 17 d, $P<0.05$) and platelet implantation (12 *vs* 20 d, $P<0.05$) was significantly shorter in the study group than the control group. The incidence of grade Ⅱ~Ⅳ aGVHD (12.8% *vs* 34.9%, $P<0.05$) and grade Ⅲ~Ⅳ aGVHD (6.4% *vs* 20.9%, $P<0.05$) was significantly lower in the study group than the control group, so was the non-recurrent mortality rate (6.4% *vs* 20.9%, $P<0.05$) and the incidence of hemorrhagic cystitis (12.8% *vs* 34.9%, $P<0.05$). ② By the end of the study, there were no significant differences in the incidence of mild and moderate and severe cGVHD, recurrence rate, reactivation rates of EBV and CMV, overall survival rate or progression-free survival rate between the 2 groups. **Conclusion** For haploidentical transplantation, low-dose ATG combined with low-dose PTCY has the advantages of lower incidence of GVHD, non-recurrent mortality, incidence of hemorrhagic cystitis and faster implantation.

[**Key words**] haploidentical transplantation; graft versus host disease; antithymocyte globulin; post transplantation cyclophosphamide; drug combination; low dose

Supported by the Major Science and Technology Project of Yunnan Province-Biomedicine Project (202102AA100011). Corresponding author: WANG Sanbin, E-mail: Sanbin1011@163.com

异基因造血干细胞移植在血液病的治疗中占有重要地位,而单倍型相合供者干细胞是异基因造血干细胞的主要来源之一,移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)是单倍型相合移植常见的并发症之一,严重影响单倍型相合移植的临床疗效。目前预防单倍型相合移植 GVHD 的方法有:体外去 T[1]、抗胸腺细胞球蛋白(antithymocyte globulin,ATG)、移植后应用大剂量环磷酰胺(post transplantation cyclophosphamide,PTCY),尤以后两种方法应用较广泛,但各有优缺点,本研究将 ATG 方案与 PTCY 方案进行融合,扬长避短,优化单倍型相合移植 GVHD 预防方案,以期更好地控制 GVHD 的同时克服单独应用任一方案的固有不足。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2022 年 1 月至 2023 年 2 月在中国人民解放军联勤保障部队第九二〇医院血液科行单倍型相合移植的 90 例患者资料,按照研究对象接受不同的 GVHD 预防方案分为研究组和对照组,研究组为低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 组,总共 47 例;对照组为标准剂量 PTCY 组,总共 43 例。纳入标准:行单倍型相合移植的血液系统疾病患者。排除标准:病例资料不完整者。本研究经中国人民解放军联勤保障部队第九二〇医院伦理委员会审批通过[伦审 2023-150(科)-01]。

1.2 方法

1.2.1 预处理方案 两组预处理方案相同,预处理方案根据不同疾病制定:①再生障碍性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症:氟达拉滨 40 mg/m^2×5 d[移植前第 6 天(d-6)至 d-2]+环磷酰胺 50 mg/kg×2 d(d-6、d-4)+美法仑 100 mg/m^2×1 d(d-2);②急性白血病、骨髓增生异常综合征、地中海贫血及噬血细胞综合征:氟达拉滨 40 mg/m^2×5 d(d-6 至 d-2)+白消安 130 mg/m^2×1 d(d-6)+美法仑 100 mg/m^2×1 d(d-2)。

1.2.2 GVHD 预防方案 研究组:ATG2 mg/kg,d-1;1 mg/kg,粒细胞植入当天。PTCY 25 mg/kg,移植后第 4 天(d4)。同时给予芦可替尼 5 mg,bid,d-1 至 d21;2.5 mg,bid,d22 至 d28;2.5 mg,qd,d29 至 d35。环孢素从 d5 开始使用,2 mg/(kg·d),d100 后逐渐减量,d180 停用。甲氨蝶呤:5 mg/m^2,d3。麦考酚钠肠溶片 10 mg/kg,tid,d5 至 d35 预防 GVHD。对照组:PTCY 50 mg/kg,d3、d4。同时给予芦可替尼、环孢素、甲氨蝶呤、麦考酚钠肠溶片预防 GVHD,芦可替尼、环孢素、甲氨蝶呤、麦考酚钠肠溶片的给药剂量及给药时间与研究组相同。根据急性移植物抗宿主病国际联盟分级标准对急性 GVHD 进行诊断和临床分级[2]。根据美国国立卫生研究院共识标准对慢性 GVHD 进行诊断和分度[3]。

1.2.3 干细胞动员及采集 干细胞动员前供者均进行移植前常规检查,明确无禁忌证后于 d-4 给予粒细胞集落刺激因子 5 μg/(kg·d)皮下注射进行干细胞动员,连续使用 4 d,于移植当天(d0)采用血细胞分离机采集供者外周血造血干细胞。

1.2.4 并发症防治及其他支持治疗 所有患者完成移植前全身评估,药浴后进入百级层流病房,移植过程中预防真菌感染、细菌感染、卡氏肺孢子菌肺炎、抗病毒等。d5 开始予粒细胞集落刺激因子促进粒细胞植入,当中性粒细胞绝对值≥0.5×10^9/L 时停用,当血红蛋白<60 g/L、血小板<20×10^9/L 或伴活动性出血或严重凝血功能障碍时,积极输注血制品。

1.2.5 造血重建标准 粒细胞植入标准为患者外周血中性粒细胞连续监测3 d绝对值≥0.5×10^9/L;血小板植入标准为不依赖输血,血小板计数连续7 d≥20×10^9/L[4]。

1.2.6 观察指标 两组患者的一般临床资料、植入情况、急性移植物抗宿主病(acute graft versus host disease,aGVHD)和慢性移植物抗宿主病(chronic graft versus host disease,cGVHD)的发生情况、其他移植相关并发症的发生情况、生存情况。

1.2.7 随访方式 主要采用门诊复诊、住院治疗及电话随访,当患者出现死亡、失访或研究停止时随访结束。

1.3 统计学分析

应用SPSS 27.0统计软件进行分析,符合正态分布的计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,采用独立样本t检验;符合偏态分布的计量资料以中位数表示,采用Mann-Whitney U检验;计数资料以例(%)表示,采用χ^2检验;采用Kaplan-Meier生存曲线分析两组患者的总体生存情况。检验水准$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 一般临床资料

两组患者的性别、疾病种类、移植前疾病状态、供受者关系、供受者性别等指标相比,差异均无统计学意义($P>0.05$)。两组患者的一般临床资料比较见表1。

表1 两组患者的一般临床资料比较[例(%)]

指标	研究组($n=47$)	对照组($n=43$)	χ^2值	P值
患者性别			0.004	0.947
男	20(42.6)	18(41.9)		
女	27(57.4)	25(58.1)		
疾病种类			0.239	0.888
AML	20(42.5)	17(39.5)		
ALL	17(36.2)	15(34.9)		
其他	10(21.3)	11(25.6)		
移植前疾病状态			0.233	0.630
CR	37(78.7)	32(74.4)		
NR	10(21.3)	11(25.6)		
供受者关系			0.354	0.838
父母	20(42.5)	18(41.9)		
子女	13(27.7)	10(23.2)		
同胞	14(29.8)	15(34.9)		
供受者性别			0.004	0.947
女供男	20(42.6)	18(41.9)		
其他	27(57.4)	25(58.1)		

2.2 植入情况

两组患者均成功植入,研究组中性粒细胞植入的中位时间为11 d,显著短于对照组(17 d,$P<0.05$,图1A);研究组血小板植入的中位时间为12 d,显著短于对照组(20 d,$P<0.05$,图1B)。

2.3 GVHD发生情况

研究组Ⅱ~Ⅳ度、Ⅲ~Ⅳ度aGVHD的发生率均显著低于对照组[12.8%(6/47) *vs* 34.9%(15/43),$\chi^2=6.141$,$P=0.013$;6.4%(3/47) *vs* 20.9%(9/43),$\chi^2=4.112$,$P=0.043$]。两组轻度、中重度cGVHD的发生率差异均无统计学意义[31.9%(15/47) *vs* 46.5%(20/43),$\chi^2=2.013$,$P=0.156$;12.8%(6/47) *vs* 18.6%(8/43),$\chi^2=0.583$,$P=0.445$]。见图1C。

2.4 其他移植相关并发症的发生情况

两组EB病毒(Epstein-Barr virus,EBV)及巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)再激活率均无显著差异[34.0%(16/47) *vs* 32.6%(14/43),$\chi^2=0.022$,$P=0.881$;14.9%(7/47) *vs* 11.6%(5/43),$\chi^2=0.207$,$P=0.649$]。研究组出血性膀胱炎(hemorrhagic cystitis,HC)的发生率显著低于对照组[12.8%(6/47) *vs* 34.9%(15/43);$\chi^2=6.141$,$P=0.013$]。见图1C。

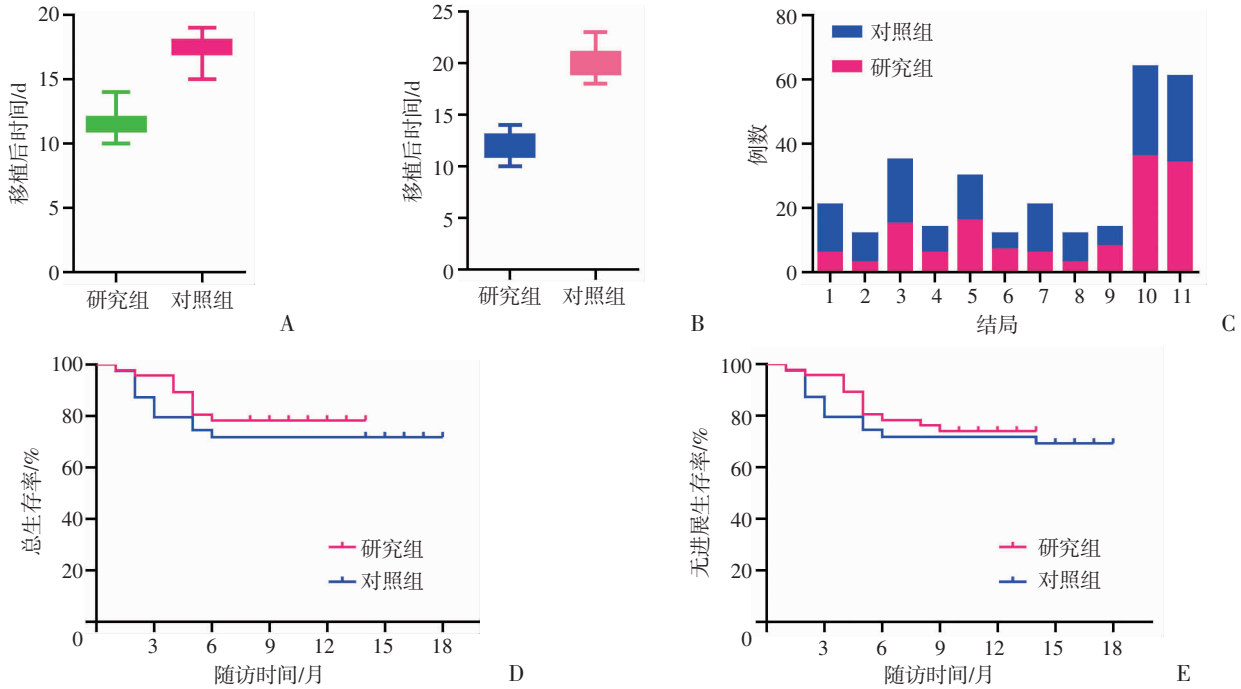
2.5 生存情况

截止随访结束,研究组中位随访时间为11个月,显著短于对照组15个月($P<0.05$),研究组非复发死亡(non-recurrent mortality,NRM)率显著低于对照组[6.4%(3/47) *vs* 20.9%(9/43),$\chi^2=4.112$,$P=0.043$]。两组复发率、总生存率、无进展生存率差异均无统计学意义[17.0%(8/47) *vs* 13.9%(6/43),$\chi^2=0.161$,$P=0.688$;76.6%(36/47) *vs* 65.1%(28/43),$\chi^2=1.44$,$P=0.23$;72.3%(34/47) *vs* 62.8%(27/43),$\chi^2=0.938$,$P=0.33$]。见图1C~E。

3 讨论

北京方案和PTCY方案是目前常用的单倍型相合移植GVHD预防方案。北京方案以ATG为核心,是我国常用的GVHD预防方案,植入成功率较高、复发率较低,但GVHD发生率、感染发生率较高,国内研究者通过大量的临床试验探索ATG的最佳剂量,剂量范围为4.5~10.0 mg/kg,发现总量7.5 mg/kg是目前最佳的剂量,实现了较低的GVHD发生率及CMV/EBV相关死亡率[5-6]。

PTCY方案是国外常用的GVHD预防方案,GVHD发生率较低,但植入失败率及复发率较高[7]。标准剂量PTCY 50 mg/kg(d3、d4)有较高的心脏毒性、3~4级黏膜炎、出血性膀胱炎发生率[8-9]。由于PTCY标准剂量伴有较多的毒副作用,有研究者探索降低PTCY用量的可行性。WACHSMUTH等[10]在动物实验中发



A:中性粒细胞植入时间;B:血小板植入时间;C:移植结局 1:Ⅱ~Ⅳ度 aGVHD;2:Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD;3:轻度 cGVHD;4:中重度 cGVHD;5:EBV 再激活;6:CMV 再激活;7:HC;8:NRM;9:复发;10:总生存;11:无进展生存;D:总生存曲线;E:无进展生存曲线

图 1 两组患者的生存情况

现 PTCY 25 mg/kg(d3、d4)是最佳剂量,能有效预防致命性 GVHD 的发生。一项关于 PTCY 不同剂量用于单倍型相合移植的Ⅰ/Ⅱ期研究,比较了 PTCY 3 种剂量(50 mg/kg,d3、d4;25 mg/kg,d3、d4;25 mg/kg,d4)的疗效,发现 PTCY 减量至 25 mg/kg(d3、d4)和 25 mg/kg(d4)是可行的,能有效预防严重 aGVHD 的发生,同时能获得更快的植入,且移植后早期毒性较小、持续时间较短[11]。

国内外的移植中心尝试将上述两种方案进行结合[12-17],ATG 在移植前及移植后均有应用,但大多数在移植前应用,剂量范围在 2.5~10.0 mg/kg,PTCY 在移植后 d3、d4 使用,剂量范围在 29~100 mg/kg。结果显示Ⅱ~Ⅳ度 aGVHD 的发生率为 11.5%~34.6%,Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 的发生率为 1.4%~8.9%,与标准剂量 ATG 或标准剂量 PTCY 方案相比,低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 方案具有更好的 GVHD 预防效果,但两者联用时最佳的给药剂量及给药时机尚未明确。

本研究选取研究报道中较低剂量的 ATG(总量 3 mg/kg)联合报道中最低剂量的 PTCY(25 mg/kg×1 d)预防 GVHD,ATG 在移植前 1 d(d-1)使用 2 mg/kg,兼具促进植入、降低移植排斥和 GVHD 的多重作用,在粒细胞植入当天再使用 1 mg/kg,主要目的是继续清除供者 T 细胞,进一步降低 GVHD 的发生。结果显示与对照组标准剂量 PTCY 方案相比,低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 方案具有更低的 GVHD 发生率,Ⅱ~Ⅳ度 aGVHD 的发生率从 34.9%降到 12.8%,Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 的发生率从 20.9%降到 6.4%。在植入方面,研究组植入更快,中性粒细胞植入的中位时间从 17 d 缩短到 11 d,血小板植入的中位时间从 20 d 缩短到 12 d。此外,研究组具有更低的非复发死亡率和出血性膀胱炎发生率,且不增加 EBV 及 CMV 感染风险。因 ATG 和 PTCY 均能较好地预防 cGVHD,研究组 PTCY 剂量虽低于对照组,但加入了 ATG 协同预防 cGVHD,两组总体的免疫抑制强度相差不大,所以两组 cGVHD 发生率差异无统计学意义。因此 ATG 与 PTCY 联用时,在剂量方面,ATG 可安全减量至总量 3 mg/kg,比研究报道的最低剂量 2.5 mg/kg 略高,ATG 是否还能继续减量值得进一步探索。PTCY 剂量可安全降至 25 mg/kg×1 d,是目前研究报道中的最低剂量,预防 GVHD 的效果比较满意。在应用时机方面,ATG 可在移植前及移植后应用,PTCY 可只在移植后第 4 天(d4)应用。

综上所述,低剂量 ATG 联合低剂量 PTCY 预防单倍型相合移植 GVHD 有效且优于标准剂量 PTCY 方案。因本研究属于回顾性研究,样本量偏少,随访时间不够长,有一定的局限性,尚需更多前瞻性、大样本、多中心、随机对照试验证明该方案的优选性。

参考文献:

[1] DIAZ M A, GASIOR M, MOLINA B, *et al*. "*Ex-vivo*" T-cell depletion in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: new clinical approaches for old challenges [J]. Eur J Haematol, 2021, 107(1): 38-47. DOI: 10.1111/ejh.13636.

[2] SCHOEMANS H M, LEE S J, FERRARA J L, *et al*. EBMT-NIH-CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment[J]. Bone Marrow Transplant, 2018, 53(11): 1401-1415. DOI: 10.1038/s41409-018-0204-7.

[3] CUVELIER G D E, SCHOETTLER M, BUXBAUM N P, *et al*. Toward a better understanding of the atypical features of chronic graft-versus-host disease: a report from the 2020 National Institutes of Health Consensus Project Task Force [J]. Transplant Cell Ther, 2022, 28(8): 426-445. DOI: 10.1016/j.jtct.2022.05.038.

[4] HUTT D. Engraftment, graft failure, and rejection[M]// KENYON M, BABIC A. The European blood and marrow transplantation textbook for nurses: under the auspices of EBMT. Cham(CH): Springer, 2018: 259-270. DOI:10.1007/978-3-319-50026-3_13.

[5] CHANG Y J, WU D P, LAI Y R, *et al*. Antithymocyte globulin for matched sibling donor transplantation in patients with hematologic malignancies: A multicenter, open-label, randomized controlled study [J]. J Clin Oncol, 2020, 38(29): 3367-3376. DOI:10.1200/JCO.20.00150.

[6] WANG Y, LIU Q F, LIN R, *et al*. Optimizing antithymocyte globulin dosing in haploidentical hematopoietic cell transplantation: long-term follow-up of a multicenter, randomized controlled trial[J]. Sci Bull, 2021, 66(24): 2498-2505. DOI: 10.1016/j.scib.2021.06.002.

[7] SUGITA J, KAGAYA Y, MIYAMOTO T, *et al*. Myeloablative and reduced-intensity conditioning in HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation using post-transplant cyclophosphamide [J]. Bone Marrow Transplant, 2019, 54(3): 432-441. DOI: 10.1038/s41409-018-0279-1.

[8] OMAR A, SEONGHO K, ANUPAMA K, *et al*. Incidence, risk factors and outcomes of cardiac toxicity in haploidentical peripheral stem cell transplantation with high dose cyclophosphamide[J]. Blood, 2020, 136(Supplement 1): 35-36. DOI: 10.1182/blood-2020-141416.

[9] MODI D, ALBANYAN O, KIM S, *et al*. Toxicities after high dose post-transplant cyclophosphamide in haploidentical donor transplants: risk factors and impact on survival[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(15_suppl): 7545. DOI: 10.1200/jco.2020.38.15_suppl.7545.

[10] WACHSMUTH L P, PATTERSON M T, ECKHAUS M A, *et al*. Posttransplantation cyclophosphamide prevents graft-versus-host disease by inducing alloreactive T cell dysfunction and suppression[J]. J Clin Investig, 2019, 129(6): 2357-2373. DOI: 10.1172/jci124218.

[11] MCADAMS M J, HYDER M, DIMITROVA D, *et al*. Phase Ⅰ/Ⅱ study of reduced dosing of post-transplantation cyclophosphamide (PTCy) after HLA-haploidentical bone marrow transplantation [J]. Blood, 2021, 138(Supplement 1): 101. DOI:10.1182/blood-2021-146997.

[12] BARKHORDAR M, KASAEIAN A, JANBABAI G, *et al*. Modified combination of anti-thymocyte globulin (ATG) and post-transplant cyclophosphamide (PTCy) as compared with standard ATG protocol in haploidentical peripheral blood stem cell transplantation for acute leukemia [J]. Front Immunol, 2022, 13: 921293. DOI: 10.3389/fimmu.2022.921293.

[13] ZHANG W L, GUI R R, ZU Y L, *et al*. Reduced-dose post-transplant cyclophosphamide plus low-dose post-transplant anti-thymocyte globulin as graft-versus-host disease prophylaxis with fludarabine-busulfan-cytarabine conditioning in haploidentical peripheral blood stem cell transplantation: a multicentre, randomized controlled clinical trial[J]. Br J Haematol, 2023, 200(2): 210-221. DOI: 10.1111/bjh.18483.

[14] ZU Y L, LI Z, GUI R R, *et al*. Low-dose post-transplant cyclophosphamide with low-dose antithymocyte globulin for prevention of graft-versus-host disease in first complete remission undergoing 10/10 HLA-matched unrelated donor peripheral blood stem cell transplants: a multicentre, randomized controlled trial[J]. Bone Marrow Transplant, 2022, 57(10): 1573-1580. DOI: 10.1038/s41409-022-01754-y.

[15] WANG Y, WU D P, LIU Q F, *et al*. Low-dose post-transplant cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin as an effective strategy for GVHD prevention in haploidentical patients[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 88. DOI: 10.1186/s13045-019-0781-y.

[16] SALAS M Q, PREM S, ATENAFU E G, *et al*. Reduced intensity allogeneic stem cell transplant with anti-thymocyte globulin and post-transplant cyclophosphamide in acute myeloid leukemia[J]. Eur J Haematol, 2019, 103(5): 510-518. DOI:10.1111/ejh.13321.

[17] MAKANGA D R, GUILLAUME T, WILLEM C, *et al*. Posttransplant cyclophosphamide and antithymocyte globulin versus posttransplant cyclophosphamide as graft-versus-host disease prophylaxis for peripheral blood stem cell haploidentical transplants: comparison of T cell and NK effector reconstitution [J]. J Immunol, 2020, 205(5): 1441-1448. DOI: 10.4049/jimmunol.2000578.

(收稿:2023-10-13;修回:2023-12-22)

(编辑 汪勤俭)