论著

文章编号:1000-5404(2010)20-2228-04

造血干细胞移植治疗儿童血液肿瘤及难治性血液病53例临床观察

向茜茜,孔佩艳,赵 艳,曾东风,刘 红,陈幸华,张 曦,李杰平,彭贤贵,高 蕾,高 力 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院血液科)

[摘要] **目的** 观察造血干细胞移植治疗儿童血液肿瘤及其他难治性血液病的临床疗效。**方法** 自2007年4月至2009年12月,我们共对53例血液病患儿实施了造血干细胞移植治疗,其中自体移植15例,异基因移植38例,观察其临床疗效和并发症。**结果** 15例患者行自体外周血造血干细胞移植后造血功能均能顺利重建,无严重并发症发生。异基因移植患儿除1例发生颅内出血早期死亡外,其余均顺利达到造血重建,但其中急性移植物抗宿主病发生率为18.4% ,慢性移植物抗宿主病发生率2.6% ;15例患儿于移植后0~24个月分别死于颅内出血、感染和疾病复发或进展;移植后6个月至2年存活率65%。**结论** 造血干细胞移植是治疗儿童血液肿瘤及其他难治性血液病的有效方法,可明显改善预后;临床可根据患者原发疾病诊断、供者情况及家庭经济条件选择移植方式。

[关键词] 儿童血液病;造血干细胞移植;自体;异基因

[中图法分类号] R730.54;R733.7;R725.5 **[文献标志码]** A

Hematopoietic stem cell transplantation for children's hematologic malignancies and refractory hematological diseases: report of 53 cases

Xiang Xixi, Kong Peiyan, Zhao Yan, Zeng Dongfeng, Liu Hong, Chen Xinghua, Zhang Xi, Li Jieping, Peng Xiangui, Gao Lei, Gao Li (Department of Hematology, Xingqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[Abstract] Objective To evaluate the therapeutic effect of hematopoietic stem cell transplantation for children's hematologic malignancies and refractory hematological diseases. Methods A total of 53 children with hematologic malignancies and refractory hematological diseases were subjected in hematopoietic stem cell transplantation (allogenetic in 38 patients, autologous in 15 patients) from April 2007 to December 2009. There were 14 cases of acute myeloid leukemia (AML), 12 cases of acute lymphoblastic leukemia (ALL), 3 cases of acute mixed lineage leukemia (AMLL), 4 cases of chronic myeloid leukemia (CML), 6 cases of non-Hodgkin's lymphoma (NHL), 4 cases of NHL-ALL, 4 cases of β-thalassanemia, 3 cases of Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP), 1 cases of severe aplastic anemia (SAA), 1 case of myelodysplastic syndrome (MDS-RAEB) and 1 case of Langerhans cell histiocytosis. Chemotherapy of 2 to 3 cycles was performed on refractory hematological diseases before transplantation. The therapeutic effect, complication and total survival rate were observed, respectively. Results Hematopoietic reconstitution was quickly obtained after autologous hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in 15 patients and no severe complication was seen. But after allo-HSCT, the incidence rate of acute and chronic GVHD was 18.4% and 2.6%. There were 15 cases died of GVHD, infection, disease relapse or development in 0 to 24 months, and 65% in this group were disease-free survival (DFS) from 6 to 24 months. Conclusion Hematopoietic stem cell transplantation is effective for the treatment of children's hematologic malignancies and refractory hematological diseases, and improves their prognosis. And it is strongly suggested to select suitable mode of transplantation on account of diagnosis, age, physical status, economy of patient and the condition of donor.

[Key words] children's refractory hematologic diseases; children's hematologic malignancies; hematopoietic stem cell transplantation; autologous; allogenetic

Supported by Development Fund for key Subject in Chongqing (CSTC2009BA5011). Corresponding author: Kong Peiyan, Tel: 86-23-68755209, E-mail: peiyankong@yahoo.com.cn

[基金项目] 重庆市重点学科建设基金(CSTC2009BA5011)

[通信作者] 孔佩艳,电话:(023)68755209, E-mail:peiyankong@yahoo.com.cn

血液肿瘤和难治性血液病是严重威胁儿童健康的疾病。随着近年血液病治疗水平的提高，儿童血液肿瘤的治愈率也得到进一步提高，但某些儿童难治性血液肿瘤和血液病的治疗效果仍不尽人意。造血干细胞移植是治疗儿童难治性血液肿瘤和其他一些难治性血液病，如重型 β 地中海贫血、急性重型再生障碍性贫血(acute severe aplastic anemia，SAA)、难治性原发性血小板减少性紫癜(idiopathic thrombocytopenic purpura，ITP)等的重要手段，其成功实施也明显改善了这些患者的预后[1]。为了加强对移植治疗儿童血液病的疗效和副作用的认识，并进一步促进和推广此项技术在儿童难治性血液病中的广泛应用，以进一步提高临床治疗水平，我们对本科 2007 年 4 月至 2009 年 12 月实施了造血干细胞移植治疗的 53 例难治性儿童血液病患儿的临床情况进行总结和分析，现报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例资料

选取 2007 年 4 月至 2009 年 12 月在本科实施了造血干细胞移植治疗的 53 例血液病患儿，其中男性 25 例，女性 28 例，年龄 2～18 岁，中位年龄 8 岁；自体移植 15 例，异基因移植 38 例。疾病种类及其移植方式如下：急性髓系白血病(acute myeloid leukemia，AML)14 例(其中自体 2 例，异基因 12 例)；急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia，ALL)12 例(其中自体 2 例，异基因 10 例)；急性混合细胞白血病(MAL)3 例(均为异基因)；慢性髓系白血病(chronic myeloid leukemia，CML)4 例(均为异基因)，非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin 's lymphoma，NHL)6 例(均为自体)；淋巴瘤细胞白血病(NHL-ALL)4 例(其中自体 1 例，异基因 3 例)；重型 β 地中海贫血 4 例(均为异基因)；ITP 3 例(均为自体)；SAA 1 例(异基因)；骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome，MDS-RAEB)1 例(异基因)；朗格罕组织细胞增生症 1 例(自体)。入选病例中急性白血病(包含 ALL、AML)均为高危类型。

1.2 移植前治疗

对于难治性儿童急性白血病患者，在移植前行 2～3 个疗程的化疗，均按照原则在标准诱导化疗基础上给予大剂量巩固化疗，AML 及 ALL 的巩固治疗采用含大剂量阿糖胞苷(1.0～2.0 g/m^2，1 次/12 h×3 d)的方案。ALL、MAL、高度恶性的 NHL 患儿均在大剂量巩固化疗后采用大剂量甲氨喋呤(1.0～3.0 g/m^2)。3 例 CML 患儿处于慢性期，经羟基脲治疗使白细胞控制在正常范围内；1 例加速期患儿经化疗达完全缓解后再进行移植。所有白血病的患儿按正规治疗要求行中枢神经系统白血病的预防和治疗。1 例骨髓增生异常综合征患儿经联合化疗方案骨髓达完全缓解后行异基因移植。重型 β 地中海贫血患儿在移植前 3 个月始采用高输血和去铁治疗。

1.3 移植方式的选择

对于高危类型 ALL 和 AML、MAL、CML、高度恶性 NHL、重型 β 地中海贫血首选异基因造血干细胞移植，其中有 6 例患儿因经费不足选择行自体造血干细胞移植。ITP、朗格罕组织细胞增生症均选择自体造血干细胞移植，其中 ITP 患儿进行了 CD34 阳性细胞分选移植。

1.4 异基因造血干细胞移植供者的选择

亲子间异基因造血干细胞移植 21 例，其中母亲供者 10 例，父亲供者 11 例；配型 5/6 相合 3 例，4/6 相合 3 例，3/6 相合 15 例。同胞间造血干细胞移植 9 例，其中同基因造血干细胞移植 1 例，异基因移植中全相合 4 例，1 个位点不合 3 例，3 个位点不合 1 例。非血缘异基因造血干细胞移植 8 例。非血缘异基因造血干细胞移植选择 HLA 高分辨配型全相合的健康供者，由中华骨髓库安排供者的动员及体检工作。

1.5 干细胞的动员、采集和回输

①儿童血液肿瘤患者自体外周血造血干细胞移植的动员方案为联合化疗加粒细胞集落刺激因子(G-CSF)，化疗方案原则上采用对相应肿瘤有效的联合化疗方案并适当增加剂量。ALL、NHL、朗格罕组织细胞增生症的动员方案为 CMOP 或 MOEP。CMOP 方案组成：环磷酰胺 600～800 mg/m^2×1 d；米托蒽醌 6 mg/m^2×3 d；长春新碱 1.4 mg/m^2×1 d；强的松 1～2 mg/kg×7 d。MOEP 方案组成：米托蒽醌 6 mg/m^2×3 d；长春新碱 1.4 mg/m^2×1 d；足叶乙甙 100 mg/m^2×3 d；强的松 1～2 mg/kg×7 d。AML 采用 MA 方案：米托蒽醌 6 mg/m^2×3 d；阿糖胞苷 1.0～2.0 g/m^2，1 次/12 h ×3 d。ITP 患者的动员采用单用环磷酰胺加 G-CSF 的方案。②异基因移植的健康供者采用 G-CSF 5 μg/(kg·d)，皮下注射 进行动员，第 5 天采集供者外周血干细胞。其采集标准：获得单个核细胞(MNC)数 > 5×10^8/kg(按受者体质量计算)，CD34$^+$细胞 > 2×10^6/kg。联合骨髓移植的供者第 6 天在持续硬膜外麻醉下行双侧髂后骨髓采集术，同时回输预存的自体血。收集的外周血造血干细胞和骨髓干细胞于采集后立即回输患者体内。回输时受者予抗过敏治疗。回输骨髓干细胞时予鱼精蛋白对抗其内混有的肝素。对 ABO 血型主侧不合的病例，采用羟乙基淀粉分离沉降红细胞后再输注。

1.6 预处理方案

1.6.1 自体移植 ALL、NHL、朗格罕组织细胞增生症的自体外周血造血干细胞移植采用 CEAC 方案，其具体组成为：洛莫斯汀 0.2/m^2×1 d；环磷酰胺 1.5 g/m^2×4 d；阿糖胞苷 100 mg/m^2，1 次/12 h ×4 d；足叶乙甙 100 mg/m^2×4 d，在此方案基础上部分高危患儿加用铂类或蒽环类药物。对于有巨大病灶的原发部位，在移植后再给予局部巩固性放疗。ITP 患儿采用 CD34$^+$纯化的自体造血干细胞移植，预处理基本方案采用 CTX + ATG，其具体组成为：环磷酰胺 50 mg/kg×2 d；抗胸腺细胞球蛋白 5 mg/kg×4 d；根据病情加用氟达拉滨 25～30 μg/m^2×(4～5) d。2 例 AML 患者选用含大剂量 Ara-C 方案。此 15

例患儿行自体造血干细胞移植均未使用含全身照射(total-body irradiation, TBI)方案。

1.6.2 异基因移植 AML和CML异基因造血干细胞移植中,HLA全相合者采用以白消安+环磷酰胺为基础的方案,不全相合者采用洛莫斯汀+阿糖胞苷+白消安+环磷酰胺+抗胸腺细胞球蛋白(ATG)方案。ALL、MAL、NHL-ALL患儿采用含TBI的方案。

1.7 移植后造血重建的观察

移植后定期复查血常规、骨髓穿刺细胞学及活检、血型鉴定、性染色体检查、STR(短串联重复序列)检测,以明确造血功能重建和干细胞植入的情况。

1.8 移植后主要并发症的防治

1.8.1 移植物抗宿主病(GVHD)的预防 采用环孢素(CsA)、骁悉(MMF)、甲氨喋呤(MTX)、抗胸腺细胞球蛋白(ATG)联合方案预防。如效果不佳,可加用CD25单抗或换用他可莫司(tacrolimus,FK506)等治疗。对慢性GVHD患者采用强的松和(或)环孢菌素治疗。

1.8.2 肝静脉闭塞病(VOD)采用低分子肝素钙 5 000 IU/d;前列地尔注射液20~40 μg/d;血小板未明显降低前予低分子右旋糖酐、阿魏酸钠或复方丹参注射液输注。

1.8.3 巨细胞病毒(CMV)感染的监测、预防和治疗 从预处理开始监测血CMV-DNA每周1次。予以膦甲酸钠和(或)单磷酸阿糖腺苷预防CMV感染。一旦出现CMV-DNA拷贝数增高和(或)出现CMV感染相关临床症状时,予以更昔洛韦5 mg/(kg·12 h),和(或)膦甲酸钠60 mg/(kg·12 h)输注。定期予静脉丙种球蛋白5~10 g/d辅助治疗。

1.8.4 其他移植并发症的处理 患者移植期间均常规给予保肝、护心、保胃、抑酸和止吐治疗;予白消安治疗时常规给予苯妥英钠预防癫痫发作;PLT < 20×10^9/L时输注新鲜血小板,HGB < 50~60 g/L时输注红细胞悬液等。

1.9 移植后治疗

自体造血干细胞移植患者造血重建稳定后,给予大剂量白介素-2(IL-2)100万U/d,5 d为1个疗程,共4个疗程,或连用15 d。少数患者可出现发热、乏力等症状,予对症治疗后症状缓解。ALL及高度侵袭性NHL自体移植的患儿,定期给予强化治疗、鞘内化疗及维持治疗。化疗方案原则上采用标准剂量联合化疗。

2 结果

2.1 移植物细胞数量

2.1.1 自体造血干细胞移植 外周血干细胞采集MNC数(3.8~18.6)$\times10^8$/kg,$CD34^+$细胞数(1.9~20.5)$\times10^6$/kg。

2.1.2 异基因造血干细胞移植 所有全相合供者采用经G-CSF动员的外周血造血干细胞移植,而HLA单倍型相合的HSCT供者,采用G-CSF动员外周血联合骨髓干细胞移植方式。采集外周血MNC(5.2~10.1)$\times10^8$/kg,$CD34^+$(4.5~12.7)$\times10^6$/kg;采集骨髓有核细胞(3.8~84.5)$\times10^8$/kg,$CD34^+$(1.1~20.6)$\times10^6$/kg。

2.2 造血重建

本组患儿除2例因预处理期间发生颅内出血死亡外,其余51例患者均成功造血重建。

2.2.1 自体干细胞移植 血常规检查白细胞和血小板降至最低的中位时间分别于移植+5 d和+7 d,持续3~8 d后血象开始回升。中性粒细胞绝对值 > 0.5×10^9/L、血小板 > 20×10^9/L的中位时间分别为移植+10 d和+13 d。所有患者分别经ABO血型、性染色体检测或STR检测证实为完全转化为供者型。

2.2.2 异基因干细胞移植 中性粒细胞绝对值 > 0.5×10^9/L、血小板 > 20×10^9/L的中位时间分别为移植+11 d和+14 d。

2.3 血型转化

18例患者供受者间血型不同,其中4例主侧不合,8例次侧不合,3例主、次侧均不合。血型完全转变为供者血型的中位时间为35 d。无1例出现延迟性溶血反应及纯红再障者。

2.4 移植相关并发症、复发及死亡

本组患儿移植过程中出现严重并发症者共18例,占34%。出现颅内出血2例,尿路感染2例,急性左心衰1例,肺部并发症5例(其中巨细胞病毒感染1例,真菌感染1例,特发性肺炎综合征1例),GVHD8例(其中急性GVHD7例,慢性GVHD1例)。

异基因移植后的常见并发症GVHD在本组病例中的发生率为21.1%。其中急性GVHD病例主要表现为皮疹和腹泻,为Ⅰ~Ⅱ度,经加用甲强龙及对症处理后迅速得到控制;1例慢性GVHD者表现为皮肤红斑、色素沉着和肝功损害,加用激素治疗后未再进展。

在发生严重并发症者中,6例死亡:死于肺部巨细胞病毒感染、肺部真菌感染合并中枢神经系统真菌感染、特发性肺炎综合征、急性左心衰各1例,另外2例死于颅内出血。

本组中另有9例出现移植后骨髓复发,其中6例死亡,3例复发后放弃治疗。其中AML复发4例(M5型2例,M1和M2各1例),T-ALL复发2例,其余3例分别为MAL、T-NHL和Burkitt淋巴瘤。上述移植后复发患儿因家庭的原因均未再接受积极的正规治疗。

另有4例ALL患儿移植后出现中枢神经系统白血病复发,即在脑脊液中发现典型的白血病细胞或涂抹细胞,经积极治疗后均长期存活,具体处理办法为:迅速减停免疫抑制剂,行腰椎穿刺术及三联鞘内化疗。

3 讨论

造血干细胞移植是治疗儿童难治复发性血液肿瘤及其他难治性血液病的有效手段,特别是对于改善高危患儿及复发难治性患儿的预后有积极作用和重要价值。近年来,随着治疗手段的不断进步,血液肿瘤的治

疗效果取得了长足的进步,但如何进一步提高儿童难治复发性血液肿瘤的治疗效果及改善其预后是亟待解决的问题[2]。通过对本组53例儿童血液病的移植治疗经验和疗效分析,我们认为在充分掌握移植治疗的适应证的前提下,造血干细胞移植可进一步提高难治性儿童血液肿瘤的治愈率[3,4]。

造血干细胞的植入主要依赖于强烈的预处理方案、免疫抑制剂的应用以及回输造血干细胞和T细胞的数量和功能。为达到增强预处理强度且不增加药物毒性的目的,我们采用主要毒副反应不重叠的多药联合预处理方案。本组53例患儿未出现明显的药物性肝功、肾功损害,无出血性膀胱炎和肝静脉闭塞病发生。

本组儿童造血干细胞移植所并发的感染及GVHD发生率明显低于成人。GVHD在本组病例中的发生率为21.1%,其中患儿急性GVHD的发生率为13.2%,多见于皮疹及肠道,以Ⅰ~Ⅱ度多见,以环孢素和皮质激素治疗后症状很快得以控制及逐渐好转,未发生由严重GVHD引起的死亡病例。国内包宇实等[5]报道的一组异基因造血干细胞移植成人患者,其急性GVHD发生率为47.7%(21/44)。国内及国外近期报道的异基因造血干细胞移植治疗儿童血液病的病例,也提示GVHD发生率较成人低,GVHD症状较较轻且一般容易控制[6-8]。慢性GVHD的预防方法有限,预防急性GVHD最为重要,选择年轻、男性供体,限制$CD34^+$细胞数量和淋巴细胞量等可减少慢性GVHD危险[9]。

亲子间的半相合移植解决了独生子女的供者来源困难的问题。以往的研究认为,母亲作为供者可能更为有利[10],但就我们的移植经验,由于母亲孕产史的因素,如其他条件相近时,父亲与母亲供者比较,父亲更安全。特别是母亲孕产史较多的,应尽量选父亲供者。近年来在儿童HSCT中,国外有报道女性供者特别是有孕产史的女性供者移植给男性受者时,会增加GVHD发生率[11]。

在缺乏HLA全相合的供者时,亲缘间HLA半相合供者成为造血干细胞移植供者的重要选择之一。目前国内外异基因造血干细胞移植,更多选用HLA配型相合位点多的供者,以促进干细胞植入,减少GVHD的发生[12-14]。如父母与其子女间HLA配型为4~5位点相合,则在植入时间及减少GVHD等移植相关并发症的发生率方面明显优于3/6相合者。

当儿童急性淋巴细胞白血病发生中枢神经系统白血病复发时,及时处理可不发生骨髓复发,预后良好。在脑脊液中发现典型的白血病细胞或涂抹细胞后,迅速减停免疫抑制剂,行腰穿及三联鞘内化疗,达到脑脊液细胞学3次阴性后,定期行腰椎穿刺复查脑脊液细胞学检查,并按预防中枢神经系统白血病方案行后续的三联鞘注预防,并逐渐拉长鞘注间歇期,获得了良好的防治效果。

参考文献:

[1] 张曦,陈幸华,高蕾,等. 外周血干细胞移植治疗血液肿瘤283例临床观察[J]. 重庆医学,2007,36(17):1709-1712.
[2] 黄治虎,陈宝安,欧阳建,等. 我国白血病流行病学调查的现状和对策[J]. 临床血液学杂志,2009,22(3):166-167.
[3] 孔佩艳. 合理掌握造血干细胞移植适应证,进一步提高儿童血液肿瘤的治疗水平[J]. 西部医学,2007,19(5):759-760.
[4] 栾佐. 造血干细胞移植治疗儿童白血病[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2009,14(3):97-99.
[5] 包宇实,姜尔列,王玫,等. 自体与异基因造血干细胞移植治疗114例成人急性淋巴细胞白血病长期随访分析[J]. 中国实验血液学杂志,2008,16(6):1325-1329.
[6] Rocha V, Cornish J, Sievers E L, *et al*. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia [J]. Blood, 2001, 97(10):2962-2971.
[7] Eapen M, Rubinstein P, Zhang M J, *et al*. Outcomes of transplantation of unrelated donor umbilical cord blood and bone marrow in children with acute leukaemia: a comparison study [J]. Lancet, 2007, 369(9577):1947-1954.
[8] 刘代红,刘开彦,许兰平,等. 亲属单倍体非体外去T细胞造血干细胞移植治疗儿童恶性血液病[J]. 北京大学学报:医学版,2009,41(3):291-296.
[9] 黄绍良,周敦华. 移植物抗宿主病的防治进展[J]. 中国实用儿科杂志,2009,24(10):737-740.
[10] Ichinohe T, Maruya E, Saji H. Long-term feto-maternal microchimerism: nature 's hidden clue for alternative donor hematopoietic cell transplantation?[J]. Int J Hematol, 2002, 76(3):229-237.
[11] Jacobsohn D A. Acute graft-versus-host disease in children[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 41(2):215-221.
[12] Lee J W, Joachim-Deeg H. Prevention of chronic GVHD[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2008, 21(2):259-270.
[13] 李栋梁,王志伟,郭晓,等. 亲缘间HLA半相合外周血造血干细胞移植治疗急性白血病的临床研究[J]. 临床军医杂志,2009,37(1):38-40.
[14] 闫洪敏,薛梅,王志东,等. 骨髓联合外周血单倍体相合造血干细胞移植治疗白血病[J],中国实验血液学杂志,2009,17(5):1330-1334.

(收稿:2010-05-25 修回:2010-07-13)
(编辑 王小宴)