论著

文章编号:1000-5404(2012)24-2442-04

减低剂量 Bu + Cy 预处理方案进行异基因造血干细胞移植治疗白血病的效果观察

陈 姝,李 文,罗 云,周 慷,张 颖,陈 林,邓建川,娄世锋 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院血液科)

[摘要] **目的** 观察采用减低剂量 Bu + Cy 预处理方案在白血病患者异基因造血干细胞移植中的应用价值。**方法** 采用减低剂量 Bu + Cy 预处理方案:马利兰 4 mg/(kg·d),3 d;环磷酰胺 50 mg/(kg·d),2 d;兔抗胸腺细胞球蛋白(ATG)2.5 mg/(kg·d),2/4 d。行异基因造血干细胞移植治疗白血病共 15 例,其中急性淋巴细胞白血病 2 例,急性非淋巴细胞白血病 3 例,慢性粒细胞白血病 9 例,慢性粒细胞白血病急性粒细胞变 1 例。**结果** ①造血重建:患者均顺利植入,中性粒细胞 $>0.5\times10^9$/L 的中位时间为 12(10~17)d,血小板 $>20\times10^9$/L 的中位时间为 15(12~27)d。30 d 行短串联重复序列复合扩增(STR-PCR)检测均为完全嵌合型。②移植相关并发症:15 例患者中 6 例(40.0%)发生急性移植物抗宿主病(aGVHD),其中Ⅰ度 2 例,Ⅱ度 4 例,无Ⅲ~Ⅳ度;8 例(53.3%)发生慢性移植物抗宿主病(cGVHD),其中广泛型 2 例,局限型 6 例;3 例(20.0%)出血性膀胱炎;4 例(26.7%)血巨细胞病毒感染。③复发及生存情况:随访中位时间 15.4(6~30)个月,1 例(6.7%)移植相关死亡,2 例(13.3%)血液学复发,余 12 例(80.0%)无病存活 6~30 个月。**结论** 减低剂量 Bu + Cy 预处理方案行异基因造血干细胞移植,造血重建快,移植并发症少,术后复发率低,且预处理相关死亡率低,是治疗白血病安全有效的方法。

[关键词] 白血病;异基因造血干细胞移植;预处理方案

[中图法分类号] R617;R730.53;R733.7 [文献标志码] A

Therapeutic effect of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimen of Bu + Cy for leukemia

Chen Shu, Li Wen, Luo Yun, Zhou Kang, Zhang Ying, Chen Lin, Deng Jianchuan, Lou Shifeng (Department of Hematology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the clinical value of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) with reduced intensity Bu+Cy conditioning regimen in the treatment of patients with leukemia. **Methods** The reduced intensity Bu+Cy conditioning regimen including busulfan (Bu) 4 mg/(kg·d), for 3 d; cyclophosphamide (Cy) 50 mg/(kg·d), for 2 d, antithymocyte globulin (ATG) 2.5 mg/(kg·d), for 2/4 d, were used in 15 leukemia patients who underwent allo-HSCT in our department from April 2010 to March 2012. There were 2 cases of acute lymphocytic leukemia, 3 cases of acute non-lymphoid leukemia, 9 cases of chronic myeloid leukemia, and 1 case of Crisis phase of CML. **Results** All patients achieved successful hemopoietic reconstruction. The median time of the neutrophil recovery $>0.5\times10^9$/L was 12 (ranging from 10 to 17) d and the platelet recovery $>20\times10^9$/L was 15 (12 to 27) d after transplantation. In 15 patients, short tandem repeat polymerase chain reaction (STR-PCR) confirmed that the donor cells were fully implanted on day 30. Transplant-related complications were acute graft-versus-host disease (aGVHD) in 6 patients (40%) (2 patients with aGVHD = grade Ⅰ, 4 patients with aGVHD = grade Ⅱ, and none with aGVHD = grade Ⅲ-Ⅳ), chronic graft-versus-host disease (cGVHD) in 8 patients (53.3%) (2 cases of extensive-type, and 6 cases of limited-type), hemorrhagic cystitis in 3 patients (20%), and infected cytomegalovirus in 4 patients (26.7%). There was no other serious complication. All patients were followed up for a median time of 15.4 months (ranging from 6 to 30). One patient (6.7%) died of side effect related to the conditional regimen. Two patients (13.3%) got recurrence, and the rest (80.0%) survived event-free for 4 to 30 months. **Conclusion** After treated with reduced intensity Bu+Cy conditioning regimen-HSCT, leukemia patients have a better hematopoietic reconstitution and less transplant-related complications. It is also suggested that the pre-

[通信作者] 娄世锋,E-mail: loushifeng@hotmail.com

conditioning regimen has a low recurrence rate and a lower mortality. Therefore, this method maybe one of the safe and effective treatments for leukemia.

[**Key words**] leukemia; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; conditioning regimen

Corresponding author: Lou Shifeng, E-mail: loushifeng@hotmail.com

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)仍是目前根治白血病最有效的手段[1],其预处理方案是重要环节。传统预处理方案中,马利兰起主要清髓作用,用量为4 mg/(kg·d)×4 d,一般认为低于4 mg/(kg·d)×2 d则为非清髓剂量。大剂量马利兰也是导致肝静脉阻塞综合征等严重移植并发症的主要原因。传统预处理方案[2]已应用多年,虽疗效可靠,但毒副反应显著,移植相关死亡率高;非清髓性预处理方案大大降低了毒性和移植相关死亡率,但由于杀灭白血病细胞效应减弱,白血病复发率升高[3],患者总体生存率并未显著改善。近年来,介于清髓与非清髓移植之间的减低剂量预处理方案[4]逐渐受到关注。减低预处理强度可降低放化疗毒性,减少骨髓抑制的时间,但因其强度仍高于传统非清髓方案,故能相对充分地杀灭肿瘤细胞,同时也保留移植物抗肿瘤效应(GVL)[5],可望在降低毒副反应的同时减少复发,提高患者总体生存率。

我院2010年4月至2012年3月采用减低剂量Bu+Cy预处理方案行allo-HSCT治疗白血病15例,其清髓强度介于传统清髓与非清髓之间,即将马利兰剂量改为4 mg/(kg·d)×3 d,初步观察表明,该预处理方案可在减轻预处理毒性同时减少白血病复发,值得进一步研究。

1 资料与方法

1.1 观察对象

2010年4月至2012年3月我科收治白血病患者15例,包括男性7例,女性8例,年龄17~48岁,中位年龄32岁。其中慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia,CML)10例,慢性期(CP)9例,急变期(BP)1例;急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia,ALL) CR1 2例,急性髓系白血病未分化型(AML-M1) PR 1例,急性粒细胞白血病部分分化型(AML-M2)CR1 2例。其中行无关供者造血干细胞移植7例(6例HLA全相合,1例HLA 8/10个位点相合,1个Cw和1个DQ位点不合),同胞供者8例(6例HLA全相合,2例HLA 5/6个位点相合,均为1个HLA-A位点不合)。供受者均签署知情同意书,临床观察经医院医学伦理委员会批准。

1.2 预处理方案

减低剂量Bu+Cy预处理方案:15例白血病患者均采用马利兰+环磷酰胺+ATG预处理方案:马利兰4 mg/(kg·d),3 d(移植前6、5、4 d),口服;环磷酰胺50 mg/(kg·d),2 d(移植前3、2 d),静脉滴注。根据供受者HLA位点不合情况用兔抗胸腺细胞球蛋白2.5 mg/(kg·d),2/4 d(移植前2、1 d或移植前4、3、2、1 d),静脉滴注。

1.3 外周血干细胞的动员与移植

供者外周血干细胞动员采用特尔津-重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)5~10 μg/(kg·d),分2次皮下注射,4~5 d。于动员第4、5天应用SPECTRA血细胞分离机采集外周血干细胞,连续2次。15例白血病患者行异基因造血干细胞移植,通过深静脉输入单个核细胞(6.70~11.36)×10^8/kg,$CD34^+$细胞(2.9~7.7)×10^6/kg。

1.4 移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD)的预防

GVHD预防均采用经典环孢素A+短程甲氨蝶呤+ATG方案。即ATG术前2.5 mg/(kg·d),2/4 d(同胞全相合,2 d;非血缘无关供者或不全相合同胞供者,4 d);环孢素4~5 mg/(kg·d),24 h持续静脉滴注,术前1 d开始(HLA不相合时从术前7 d开始),移植后第2周改为(4.0~6.0)mg/(kg·d)口服,术后60 d起每周减量5%,4~6个月停药,无关供者或不相合同胞供者则维持用药1年以上;甲氨蝶呤术后1 d,20 mg,术后3、6 d分别给予10 mg静注。GVHD诊断标准及分级采用文献[6]标准。

1.5 肝静脉闭塞病(hepatic veno-occlusive disease,HVOD)的防治

用复方丹参注射液20 ml/d,低分子右旋糖酐500 ml/d,静脉滴注,部分患者加用凯时20 μg/d,从开始预处理至血小板降至20×10^9/L或有出血倾向时停用。

1.6 支持治疗及其他并发症预防

患者移植前全面体检,清除口腔、耳鼻道、肛周及呼吸道等的感染灶;预防感染入住层流室全环境保护,服肠道抑菌药(移植前10~7 d);移植后第1天始予rhG-CSF 5 μg/(kg·d),升白细胞至大于2.0×10^9/L;用更昔洛韦(移植前10~6 d),阿昔洛韦(移植后1~10 d),免疫丙种球蛋白(移植后1~14 d)静脉滴注预防巨细胞病毒等感染;水化、碱化、强迫利尿及应用美司那(剂量为环磷酰胺的2倍)预防出血性膀胱炎,应用苯妥英钠(0.1 g每6小时1次口服)预防药物性癫痫,加强止吐保肝及营养等支持治疗。血小板<20×10^9/L时用血小板过滤器输注单采的血小板,血红蛋白<80 g/L时用红细胞过滤器输注同型红细胞悬液。

1.7 植入证据

检测ABO血型,性别不同检测性染色体,性别相同采用DNA短串联重复序列复合扩增(STR-PCR)分析供者细胞嵌合状态。

1.8 主要观察指标

造血功能重建检测、移植相关并发症、术后复发及生存情况。

1.9 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件,计数资料计算率进行分析。

2 结果

2.1 造血功能重建检测

15例患者均顺利完成造血重建。经预处理后外周血白细胞最低值(0.01~0.40)×10^9/L,血小板最低值(1~10)×10^9/L,达最低值中位时间6(3~8)d;中性粒细胞恢复到0.5×10^9/L的中位时间为12(10~17)d,血小板恢复到20×10^9/L的中位时间为15(12~27)d。术后30 d,行STR-PCR检测示15例患者均为完全供者型,骨髓象均完全缓解,增生明显活跃。

2.2 移植物相关并发症

2.2.1 GVHD 6例(40.0%)患者移植后出现Ⅰ~Ⅳ度急性移植物抗宿主病(aGVHD),其中2例(13.3%)Ⅰ度表现是移植后30 d内出现面部或躯干部皮疹,4例(26.7%)Ⅱ度表现包括腹痛腹泻2例,转氨酶,胆红素升高2例;无Ⅲ~Ⅳ度;经加用甲强龙为主的免疫抑制剂后都得到控制,治愈或转化为慢性移植物抗宿主病(cGVHD)。在可评估的14例患者中,8例(53.3%)出现cGVHD,其中广泛型2例,局限型6例,除2例最终死于疾病复发合并cGVHD外,余患者经CsA、泼尼松、霉酚酸酯、他克莫司等治愈。

2.2.2 其他移植相关并发症 感染的发生率为100%,体温大于38.3 ℃的持续时间为2~10 d,中位时间4 d;包括口腔、呼吸道、消化道、泌尿道等的常见感染,经抗生素对症治疗后发热逐渐得到控制。其他并发症包括:血巨细胞病毒(CMV-DNA)阳性4例(26.7%),出血性膀胱炎3例(20.0%),经对症处理后好转;均无肝静脉闭塞病及间质性肺炎等其他严重并发症。

2.3 术后复发及生存情况

15例患者随访截止至2012年9月,中位随访时间为15.4(6~30)个月:①1例慢性粒细胞白血病(CP)患者,移植2个月后合并病毒性脑炎,放弃治疗后死亡,移植相关死亡率6.7%。②2例患者复发,复发率13.3%,复发时间为移植后2~10个月,其中1例慢性粒细胞白血病急粒变患者移植后6个月复发,放弃治疗后死亡;1例急性淋巴细胞白血病(CR1)患者,缓解10个月后复发,治疗无效后死亡。③余12例(80.0%)患者均获得血液学缓解,无病存活。

3 讨论

近年,造血干细胞移植治疗白血病有两个移植理论进展[7]:一是充分的免疫抑制而不是骨髓抑制能够使供者细胞植入,故可应用相对减低强度的预处理方案;二是移植物或供者淋巴细胞输注(DLI)具有抗白血病效应(GVL效应),能够清除患者体内的微小残留病变,allo-HSCT卓越的疗效正是来源于产生的GVL效应而非大剂量放、化疗的清髓性预处理[8]。但大量研究表明,真正非清髓预处理方案由于缺乏对肿瘤细胞的有效杀灭,事实上导致肿瘤复发率增加;而标准清髓性预处理方案则意味着更高的移植相关并发症和死亡率。因此,探讨一种折中的预处理方案,有望获得更好的治疗效果。

本研究采用减低剂量Bu+Cy预处理方案:马利兰4 mg/(kg·d),3 d;环磷酰胺50 mg/(kg·d),2 d;ATG 2.5 mg/(kg·d),2/4 d,加强免疫抑制诱导受者免疫耐受,实现干细胞植入[9]。结果显示:本组除1例移植相关死亡,其余均获得了快速的完全嵌合,与传统移植术相比,体现出一定的优势:(1)造血功能恢复快,粒细胞缺乏时间短,血小板恢复时间早。15例患者移植后中性粒细胞数>0.5×10^9/L、血小板数>20×10^9/L的中位时间分别为12 d和15 d,无严重感染和出血发生,经骨髓、STR-PCR等检查证实均获得造血重建。和传统移植术相比,造血恢复时间较清髓性移植缩短,与非清髓性移植相当[10]。一方面可能与回输的造血干细胞数量,即$CD34^+$细胞数量和MNC总数密切相关;另一方面则是因为减低预处理强度能减少骨髓抑制的程度和时间,有利于造血重建。(2)根据目前临床观察,本组患者移植相关并发症轻。①Ⅰ~Ⅳ度aGVHD 6例(40.0%),Ⅰ度2例,Ⅱ度4例,无Ⅲ~Ⅳ度发生;可评估的14例患者中cGVHD 8例(53.3%),均得到有效控制,结果好于其他国内外报道[11-12]。一方面可能与应用大量免疫抑制剂以及供受者HLA配型相合等有关;另一方面则是因为减低预处理强度能有效减少或延迟GVHD的发生。Couriel等[13]研究认为GVHD的发生与预处理的强度相关,强剂量预处理方案会带来严重组织损伤,释放更多的组织促炎性因子,会促进GVHD发生,减低预处理强度是一种有效的预防手段。值得注意是GVHD和GVL效应尚不能分离,但GVL的益处可能被GVHD相关死亡因素抵消,因此需积极防治重度aGVHD,而局限型cGVHD可能是长期生存的有益因素[14]。②本组除1例移植后合并病毒性脑炎死亡,余患者无出现严重出血性膀胱炎、VOD及间质性肺炎等并发症。移植相关死亡率仅6.7%,明显好于国内报道的19.8%[15]。分析原因一方面是支持治疗和预防措施的改善;另一方面是马利兰剂量的减低,预处理相关毒性减轻,特别是马利兰毒性直接相关的VOD发生率显著降低[16]。结果显示allo-HSCT后相关致死性并发症减少,优于清髓性移植[17],与非清髓性移植相当。(3)本组15例患者共2例(13.3%)复发,复发率并未高于清髓下移植普遍认为的白血病复发率(20.0%左右);与de-Lima等[18-19]报道的减低剂量方案情况相符,较真正的非清髓性移植复发率显著降低。随访至2012年9月,本组15例患

者死亡3例,1例CP患者,移植2个月后合并病毒性脑炎,放弃治疗后死亡,1例CML急变者移植6个月后复发,放弃治疗后死亡,1例ALL缓解10个月后再次复发,单倍体挽救移植治疗无效后死亡。余12例无病存活6~30个月,无病存活率(DFS)80.0%。不过移植后的长期DFS各家报道不一,受预处理方案、疾病状态、年龄、并发症、HLA配型等因素的影响。但值得注意的是本组9例CML(CP)患者中8例获得完全缓解,无病生存,具有显著的疗效。可见GVL效应的敏感性可能在不同的恶性血液系统中敏感度不一致[20-21],有待深入研究。

综上所述,减低剂量Bu+Cy预处理方案行异基因干细胞移植治疗白血病是一种安全、有效的方法,其肿瘤复发率较传统非清髓方案更低,而毒副反应又较传统清髓方案更低。初步观察总体生存率可能优于传统的清髓或非清髓性预处理方案。由于本研究观察病例数目有限,尚需要进一步扩大病例研究。

参考文献:

[1] Koreth J, Schlenk R, Kopecky K J, *et al*. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials[J]. JAMA, 2009, 301(22): 2349-2361.

[2] Shimoni A, Nagler A. Optimizing the conditioning regimen for allogeneic stem-cell transplantation in acute myeloid leukemia; dose intensity is still in need[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011, 24(3): 369-379.

[3] 牛小青, 鹿全意, 王昭, 等. 减低预处理剂量异基因造血干细胞移植后的白血病复发[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(8): 1453-1456.

[4] Giralt S, Ballen K, Rizzo D, *et al*. Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(3): 367-369.

[5] Alousi A, de-Lima M. Reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2007, 5(7): 560-570.

[6] Thomas E D, Storb R, Clift R A, *et al*. Bone-marrow transplantation (second of the two parts)[J]. N Engl J Med, 1975, 292(17): 895-902.

[7] Slavin S, Nagler A, Naparstek E, *et al*. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases[J]. Blood, 1998, 91(3): 756-763.

[8] Baron F, Labopin M, Mohty M, *et al*. Graft-Versus-Leukemia (GVL) effect after reduced intensity conditioning (RIC) allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) as treatment for acute myeloid leukemia (AML): a survey from the acute leukemia working party of the EBMT[J]. Blood, 2009, 114(22): 1284-1285.

[9] Mohty M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond[J]. Leukemia, 2007, 21(7): 1387-1394.

[10] Prebet T, Ladaique P, Ferrando M, *et al*. Platelet recovery and transfusion needs after reduced intensity conditioning allogeneic peripheral blood stem cell transplantation[J]. Exp Hematol, 2010, 38(1): 55-60.

[11] 邓雪蓉, 任汉云, 岑溪南, 等. 100例异基因造血干细胞移植后移植物抗宿主病的发生及其对患者复发和生存的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(4): 994-998.

[12] Horwitz M E. Reduced intensity versus myeloablative allogeneic stem cell transplantation for the treatment of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome and acute lymphoid leukemia[J]. Curr Opin Oncol, 2011, 23(2): 197-202.

[13] Couriel D R, Saliba R M, Giralt S, *et al*. Acute and chronic graft-versus-host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2004, 10(3): 178-185.

[14] Valcarcel D, Martino R, Caballero D, *et al*. Sustained remissions of high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after reduced-intensity conditioning allogeneic hematopoietic transplantation: chronic graft-versus-host disease is the strongest factor improving survival[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(4): 577-584.

[15] 靖彧, 于力, 刘海川. 异基因造血干细胞移植治疗恶性血液病临床疗效分析[J]. 生物医学工程与临床, 2008, 12(3): 198-202.

[16] Andersson B S, Thall P F, Madden T, *et al*. Busulfan systemic exposure relative to regimen-related toxicity and acute graft-versus-host disease: defining a therapeutic window for i. v. BuCy2 in chronic myelogenous leukemia[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2002, 8(9): 477-485.

[17] Antin J H. Reduced-Intensity stem cell transplantation: "... whereof a little More than a little is by much too much." King Henry IV, part 1, I, 2[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2007: 47-54.

[18] de-Lima M, Anagnostopoulos A, Munsell M, *et al*. Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Blood, 2004, 104(3): 865-872.

[19] Champlin R, Khouri I, Shimoni A, *et al*. Harnessing graft-versus-malignancy: non-myeloablative preparative regimens for allogeneic haematopoietic transplantation, an evolving strategy for adoptive immunotherapy[J]. Br J Haematol, 2000, 111(1): 18-29.

[20] Crawley C, Szydlo R, Lalancette M, *et al*. Outcomes of reduced-intensity transplantation for chronic myeloid leukemia: an analysis of prognostic factors from the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT[J]. Blood, 2005, 106(9): 2969-2976.

[21] Giralt S. Reduced-intensity conditioning regimens for hematologic malignancies: what have we learned over the last 10 years[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2005, 384-389.

(**收稿**:2012-08-31;**修回**:2012-11-11)

(编辑 王 红)