DOI:10.16016/j.1000-5404.201603051

未去除 T 细胞的单倍型相合造血干细胞移植的研究进展



张 曦,高 蕾 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院全军血液病中心)

[关键词] 造血干细胞移植;单倍型相合;移植物抗宿主病;复发
[中图法分类号] R617;R733.7 [文献标志码] A

Research progress of haploidentical hematopoietic transplantation without T-cell depletion

Zhang Xi, Gao Lei (Center of Hematology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] Human leukocyte antigen (HLA)-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation (HLA-haplo HSCT) without T-cell depletion has tremendously progressed over the past 20 years. Advances in graft manipulation, conditioning regimens, and pharmacological graft-versus-host disease (GVHD) prophylaxis have reduced the risk of fatal graft failure and severe GVHD. Donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) negative status and killer immunoglobulin-like receptor (KIR) mismatch play potential roles in reducing the risk of graft failure and GVHD following HLA-haplo HSCT. New strategies to improve HLA-haplo HSCT outcomes include donor lymphocyte, selected T-cell subset and NK cell infusion, mesenchymal stem cell (MSC) co-transplantation and interleukin-2 application. Future challenges remain in improving post-transplant immune reconstitution and finding the best approach to reduce the incidence and severity of GVHD while simultaneously preserving the graft-versus leukemia effect to prevent the recurrence of underlying malignancy.

[**Key words**] hematopoietic stem cell transplantation; haploidentical; graft-versus-host disease; relapse

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81070388, 81270569). Corresponding author: Zhang Xi, E-mail: zhangxxi@sina.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81070388, 81270569)

[通信作者] 张 曦,男,博士,主任医师,教授,博士研究生导师。担任中华医学会血液学分会委员、中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤组委员、中华医学会血液学分会造血干细胞应用学组委员、中国医师协会血液科医师分会委员、全军血液学专业委员会常务委员、重庆市医学会血液病专业委员会主任委员。主持国家重点基础研究发展计划("973"计划子课题)、国家自然科学基金面上项目、军队课题重点项目和重庆市自然科学基金重点项目等 10 余项。发表 SCI 论文 25 篇,主编专著 1 部,副主编 2 部。获全军育才银奖,享受军队优秀人才特殊津贴。获重庆市科技进步一等奖 2 项、二等奖 1 项、军队医疗/科技成果二等奖 3 项、中国抗癌协会科技奖三等奖 1 项、重庆市高等院校优秀教育科研成果三等奖 1 项;获国家发明专利/实用新型 12 项。主要从事造血干细胞移植与造血微环境功能损伤机制及重建新策略的临床与基础方面的研究。E-mail: zhangxxi@sina.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160425.1427.003.html(2016-04-25)

HLA 单倍型相合造血干细胞移植(human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation,HLA-haplo HSCT)是大多数血液病患者可选择的一种移植方式,能够节约寻找供者的时间和花费[1-2]。二十多年以来,多种单倍型相合移植方式,包括保留或去除 T 细胞的单倍型移植显示出了较好的预后[3-4]。多个移植中心报道,去除 T 细胞的外周血干细胞移植发生移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD)的概率较低,但是,由于免疫功能恢复的延迟,该移植方式有较高的感染和肿瘤复发风险,增加了移植后死亡率,尤其是 $CD34^+$ 细胞纯化移植[2,5-6]。因此,许多中心尝试采用不去除 T 细胞的骨髓干细胞方案[2,4,7],使用抗胸腺细胞免疫球蛋白(antithymocyte globulin,ATG)达到在体内去除 T 细胞的目的;用粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor,

G-CSF)动员造血干细胞,以期达到诱导 T 淋巴细胞向 Th2 方向分化的目的;或者移植后大剂量环磷酰胺选择性杀灭异体激活 T 细胞[7-8]。我们将从预处理方案、GVHD 预防、移植后真菌和巨细胞病毒感染、提高移植预后的方法等方面作一评述,并展望这一移植技术的未来。

1 预处理方案

1.1 清髓性预处理造血干细胞移植

北京大学研究了采用 G-CSF 动员后的骨髓和外周血干细胞联合移植,并使用 ATG 体内去除 T 细胞的方案;预处理药物包括阿糖胞苷、白消胺、环磷酰胺、司莫斯丁,GVHD 预防采用环孢素 + 马替麦考酚酯 + 短程甲氨蝶呤[8]。在他们的首次报道中,比较了单倍型相合造血干细胞移植和不使用 ATG 的同胞间全相合造血干细胞移植的预后,其中Ⅱ到Ⅳ度急性 GVHD 的累积发生率分别为 40% 和 32% ($P=0.13$);令人惊讶的是,两者的移植相关死亡率(22% 和 14%)、复发率(18% 和 13%)、总体生存率(71% 和 72%)都非常接近。其后,他们进一步总结了未去除 T 细胞的单倍型相合造血干细胞移植治疗 145 例 Ph^+ 急性淋巴细胞白血病(Ph^+ acute lymphoblastic leukemia,ALL)和 450 例急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)患者,预处理方案如下:全身放疗(total body irradiation,TBI) + 洛莫司汀 + 阿糖胞苷 + 环磷酰胺 + ATG,或白消胺 + 洛莫司汀 + 阿糖胞苷 + 环磷酰胺 + ATG。AML 患者的 3 年预期无白血病生存率为 74%,Ph^+ ALL 患者 5 年预期无白血病生存率为 65.8%[6,9]。以上结果提示未去除 T 细胞的单倍型相合造血干细胞移植与同胞间 HLA 全相合移植预后相当。

一项来自中国西部地区的多中心随机对照研究比较了 G-CSF 预激的预处理方案对非去除 T 细胞的单倍型相合造血干细胞移植治疗高危 AML 预后的影响。G-CSF 剂量为 5 mg/(kg·d),-10 d ~ -7 d 皮下注射;尼莫司汀 200 mg/m^2,-9 d 顿服;大剂量阿糖胞苷 4 g/(m^2·d),-8 d ~ -7 d;白消胺 3.2 mg/(kg·d),-6 d ~ -4 d;环磷酰胺 1.8 g/(m^2·d),-3 d ~ -2 d[10]。G-CSF 可以使静止期的白血病干细胞进入增殖周期、诱导 T 细胞向 Th2 方向分化,故预处理中 G-CSF 和大剂量阿糖胞苷联合可以增强对白血病细胞的杀伤作用,并能减轻 GVHD、减少白血病复发[11-12]。

1.2 非清髓性预处理造血干细胞移植

虽然清髓性预处理能够减少植入失败和 GVHD 发生的概率,但也伴随着高预处理相关毒性、感染发生率及移植相关死亡率,因而限制了其在单倍型相合造血干细胞移植的应用范围。于是,多个移植中心均尝试了非清髓性预处理方案,得到了较好的结果[13]。

多数非清髓性预处理方案包含一种强效免疫抑制药物——氟达拉滨。德国杜宾根大学、美国杜克大学研究采用氟达拉滨联合 OKT3[14] 或者阿仑单抗[15] 体内去除 T 细胞的预处理方案,这些方案血液学毒性小,同时又能保证供者造血干细胞植入,移植后 1 年总生存期为 31% ~37%[14-15],移植年龄最大可达 66 岁,拓宽了单倍型相合造血干细胞移植的适用范围。

近期,日本的一项由 5 家中心参加的前瞻性Ⅰ/Ⅱ期临床试验观察了低剂量 ATG 联合糖皮质激素用于非清髓性单倍型相合造血干细胞移植预处理[16],一共纳入 34 例处于疾病进展期或有高复发风险血液肿瘤患者。预处理方案为:氟达拉滨 + 白消胺 + ATG(费森尤斯,8 mg/kg),GVHD 预防采用他克莫司 + 甲氨蝶呤(1 mg/kg)。33 例患者供者细胞植入成功,Ⅱ ~ Ⅳ度急性 GVHD 和广泛型慢性 GVHD 累积发生率分别为 30.7% 和 20%;14 例患者复发(42.2%);移植后 1 年累积移植相关死亡率(transplantation related mortality,TRM)为 26.5%。1 年生存率,完全缓解/慢性期(8 例)患者为 62.5%,未达完全缓解患者(26 例)为 42.3%。结果表明,这一移植方案对于那些短时间内无全相合供者的患者来说是安全可行的。

2 GVHD 的预防

2.1 G-CSF 动员后的骨髓 + 外周血干细胞联合移植

G-CSF 能够通过增加浆细胞样树突状细胞和抑制 CD28-CD80/86 信号通路,诱导 T 细胞向 Th2 细胞转化[17]。基于以上研究结果,中国科学家黄晓军等提出了一种新的非清髓单倍型相合移植方案,加入 ATG 以增强免疫抑制,移植物采用 G-CSF 动员后的供者骨髓 + 外周血干细胞[7,10,17]。他们最新报道了 450 例急性白血病患者,231 例(51.3%)采用了该移植方案[18]。供者采用 G-CSF 5 mg/(kg·d)动员造血干细胞,动员第 4 天采集骨髓,第 5 天采集外周血干细胞。GVHD 预防方案为:环孢素 + 马替麦考酚酯 + ATG + 甲氨蝶呤。Ⅱ ~ Ⅳ度和Ⅲ ~ Ⅳ度急性 GVHD 累积发生率分别为 36%、10%。1 年慢性 GVHD 累积发生率为 42%,3 年无病生存率(disease-free survival, DFS)为 74%,3 年总体生存(overall survival,OS)为 79%[18]。

2.2 短程他克莫司

钙调节蛋白抑制剂他克莫司在体外对 T 细胞的

抑制强度是环孢素的100倍,以往单独或联合其它免疫抑制剂用于HLA全相合造血干细胞移植的GVHD预防[19]。低剂量他克莫司可以诱导调节性T细胞[20];他克莫司和马替麦考酚酯都有抑制Th1相关基因转录、维持Treg/Th2表型的作用[21]。我们以往的单臂回顾性研究证实,采用他克莫司预防单倍型相合造血干细胞移植患者GVHD是可行的;但是,长疗程使用他克莫司可能增加感染特别是巨细胞病毒感染的发生率[22]。基于前期研究结果,我们比较了短疗程他克莫司+甲氨蝶呤+马替麦考酚酯和经典的环孢素+甲氨蝶呤+马替麦考酚酯方案预防单倍型相合造血干细胞移植患者GVHD的疗效和安全性。移植后100 d累积Ⅲ度急性GVHD发生率分别为29.1%和50.0%($P=0.005$),Ⅳ度急性GVHD发生率分别为3.6%和13.5%($P=0.0027$)。两组在慢性GVHD、移植后复发、巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)感染、无病生存和总体生存上没有明显差别。淋巴细胞亚群分析显示,短程他克莫司组患者T淋巴细胞在移植后3个月内有小幅度下降。综上,短程他克莫司能够降低单倍型相合移植急性GVHD发生率和严重程度,同时不增加复发和CMV感染。

2.3 移植后环磷酰胺

因为具有廉价、高效且操作简单的特点,移植后使用环磷酰胺成为了一项非常有吸引力的GVHD预防措施。移植后环磷酰胺诱导双向免疫耐受有多种可能的机制:①选择性杀伤抗原激活T细胞一系列的证据证实幼稚T细胞和效应性/记忆性T细胞对环磷酰胺介导的杀伤作用敏感性不同。小鼠实验表明,效应性/记忆性T细胞对环磷酰胺的杀伤有相对较强的耐受性,这一特性或许有利于长期外周血T细胞池和免疫功能恢复[23]。②环磷酰胺可以清除胸腺中供者来源的抗宿主T细胞。这一机制不受TOR样受体的影响,对终生免疫耐受的维持至关重要[23]。③晚期克隆清除和调节性/抑制性T细胞的产生。$CD4^+$调节性T细胞可能对环磷酰胺介导的移植后免疫耐受至关重要——这一观念与近期的一项研究结果一致[24]。

基于上述临床前研究结果,许多中心开始了单倍型相合移植后环磷酰胺预防GVHD的临床研究。Luznik等[25]采用减低剂量预处理,在移植+3、+4 d给予患者100 mg/kg的环磷酰胺。移植后200 d内Ⅱ~Ⅳ度和Ⅲ~Ⅳ度急性GVHD累积发生率分别为34%和6%;广泛型慢性GVHD累积发生率为5%;2年总生存为36%,无事件生存率为26%。除了最初用于降低剂量预处理的移植外,近期几项小样本的临床研究尝试将环磷酰胺用于非清髓的外周血干细胞移植。Bacigalupo等[26]报道了148例单倍型相合移植的血液肿瘤患者,所有患者采用非清髓预处理方案:塞替派+Bu+Flu或者TBI+Flu;移植后+3、+5 d给予环磷酰胺,0 d起给予环孢素,+1 d起给予马替麦考酚酯预防GVHD。Ⅱ~Ⅳ度急性GVHD累积发生率为24%,Ⅲ~Ⅳ急性GVHD发生率为10%;中到重度慢性GVHD发生率为12%。22个月的总体生存率CR1患者为77%,CR2患者为38%,而复发患者为38%。此项研究表明,非清髓单倍型相合造血干细胞移植后给予环磷酰胺治疗,急性、慢性GVHD发生率较低,移植相关死亡和总体生存均较满意。

3 移植后侵袭性真菌病和CMV感染

3.1 移植后侵袭性真菌病

由于免疫功能重建缓慢,侵袭性真菌病(invasive fungal disease,IFD)成为体外去T单倍型相合造血干细胞移植患者移植相关死亡和感染相关死亡的重要因素[27]。Perugia大学一项样本量为205例的临床研究表明,体外去除T细胞的单倍型相合移植后侵袭性曲霉菌病发生率比HLA全相合移植高2.7倍[28]。非体外去除T细胞的单倍型相合移植采用包含ATG的预处理方案实现体内部分去除T细胞;G-CSF动员后的移植物可诱导T细胞向Th2分化;移植后使用雷帕霉素可促进调节性T细胞亚群恢复;移植后大剂量环磷酰胺可以选择性去除同种反应性T细胞[6,22,25-26]。一项单中心的头对头临床研究[29]评估上述治疗措施是否有助于降低侵袭性真菌病的发生。在1 042例患者中,有390例接受HLA全相合造血干细胞移植,652例接受非去除T细胞的单倍型相合造血干细胞移植;IFD的评价标准参照欧洲癌症治疗研究组织/美国国家过敏症与传染病研究所霉菌病研究组(EORTC/MSG)标准,将确诊和拟诊的患者纳入统计。共有61例(5.8%)患者发生IFD,包括15例确诊和46例拟诊。单倍型相合移植患者的IFD发生率较全相合患者稍高,分别为7.1%、3.3%($P=0.007$);发生时间单倍型相合移植患者早于全相合患者,分别为移植后23.0、141.5 d($P=0.04$)。在多因素分析中,Ⅲ~Ⅴ度急性GVHD发生率、广泛型慢性GVHD发生率、单倍型相合移植是IFD发生的危险因素。IFD的预后与移植类型无关。上述结果表明,我们需要采取更多积极的措施来预防单倍型相合移植患者的IFD。

3.2 移植后 CMV 感染

尽管采用了相应的预防和抢先治疗措施,CMV 感染仍是影响单倍型相合造血干细胞移植预后的重要因素[30]。来自北京大学的研究者建立了 GIAC 单倍型相合造血干细胞移植体系,他们发现,采用该体系移植的患者移植 100 d 后 CMV 感染率高于全相合移植患者(65% *vs* 39%),而 CMV 肺炎的发生率两组相似(均为 17%)[31]。Kurokawa 等[32]日本学者进行了 66 例成年血液肿瘤患者非去除 T 细胞的单倍型相合造血干细胞移植,所有患者采用减低剂量预处理,在 57 例可统计患者中,有 45 例发生了 CMV 血症,中位发生时间为移植后 19 d;3 例诊断为 CMV 相关性疾病,1 例因 CMV 结肠炎死亡。

免疫细胞亚群重建可能是影响移植预后最重要的因素。在免疫功能正常的 CMV 血清学阳性个体,其血清中能够检测到大量的 $CD4^+$、$CD8^+$ CMV 特异性 T 细胞,这些细胞可以抑制 CMV 病毒的激活[33]。移植后 CMV 特异性 T 细胞数量和活性的恢复对 CMV 感染的控制至关重要。目前临床上可以通过检测 CMV 特异性 T 细胞功能来决定开始抗 CMV 治疗,这一技术能够减少抗病毒治疗的支出。移植后免疫重建受多重因素的影响,包括供患者年龄、基础疾病、移植类型、预处理方案、干细胞来源、HLA 相合程度、GVHD、感染等[34]。近期一项研究提示年轻供者、外周血来源干细胞、抗病毒治疗时亚临床的 CMV 再激活、无 GVHD 和减少糖皮质激素的使用有利于抗 CMV 特异性免疫的恢复[35]。

4 改善移植预后的方法

4.1 供者选择

多数患者能找到 1 个以上的潜在单倍型相合供者,如何选择最合适的供者? 在众多选择因素中,杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer immunoglobulin-like receptor,KIR)错配和供者特异性抗 HLA 抗体(donor-specific anti-HLA antibodies,DSA)是两个主要因素。

多个临床研究发现供受者 KIR 错配与较好的移植预后相关[36-37]。Ruggeri 等[36]观察发现,AML 患者如果选择 KIR 错配供者,有利于减少植入失败、GVHD 和疾病复发。Symons 等[37]也报道了类似的研究结果,在一项 86 例血液肿瘤患者参与的队列研究中,所有患者接受了非清髓预处理和移植后环磷酰胺治疗,其中选择 KIR 错配供者的患者在非复发死亡率、总体生存和无事件生存率上优于非错配患者。T 细胞同种异体反应在单倍型相合移植中占据重要地位,我们需要进一步研究 KIR 错配在供者选择中的意义和机制,以期改善移植预后。

因为 DSA 阳性可能增加植入失败风险,故 DSA 阳性是供者选择的绝对禁忌。目前有 3 种方法检测 DSA:①淋巴细胞毒 3 交叉配型,②流式细胞交叉配型,③基于 HLA 单分子的荧光免疫磁珠的固态免疫测定法(solid-phase immunoassay,SPI);其中 SPI 是目前敏感性最高的 DSA 测定方法[38]。Cruiea 等[39]分析了 122 例单倍型相合移植受者的 C1q 结合 DSA(C1q + DSA)。结果有 22 例受者 C1q + DSA 为阳性,其中 19 例为女性,7 例植入失败。植入失败病例移植时中位 DSA 浓度为 10 055 MFI(median fluorescence intensity),而植入成功病例 DSA 中位浓度仅为 2 065 MFI(P = 0.007)。该试验表明,患者具有高 DSA 水平(>5 000 MFI)是植入失败的高度危险因素;C1q + DSA 检测应该作为异基因移植前的必要检测项目,同时,降低 C1q + DSA 水平也可能提高植入成功率。

4.2 供者淋巴细胞输注

单倍型相合移植后供者淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion,DLI)的临床研究较少。Lewalle 等[40]提出,单倍型相合移植后 DLI 起始输注的细胞量应为 10^5/kg。在一项以色列的研究中,有 28 例患者接受了预防性(n = 6)或治疗性(n = 22)DLI,输注细胞数量从 $1\times10^2 \sim 1.5\times10^9$/kg 不等[41];在 22 例患者中有 6 例治疗有效,肿瘤负荷较高的患者疗效较差。Wang 等[42]采用 G-CSF 动员后的 DLI 预防肿瘤复发,他们共观察了 88 例移植后急性白血病进展的患者,其中 61 例进行 G-CSF 动员后 DLI,27 例未使用 DLI。采用了预防性 DLI 的患者 2 年复发率和未采用 DLI 的患者分别为 36% 和 55%(P = 0.017);3 年预期 OS 分别为 31% 和 11%(P = 0.001),无事件生存率为 22% 和 11%(P = 0.003)。在多因素分析中,移植后预防性 DLI 是一项独立的预后良好因素。作者随后回顾性分析了单纯化疗、化疗 + G-CSF 动员 DLI 对单倍型移植后复发患者的疗效。结果移植后 DLI + 化疗患者的完全缓解率明显高于单纯化疗患者(64.0% *vs* 12.5%,P = 0.000),复发率明显降低(50.0% *vs* 100.0%,P = 0.000),无病生存期有较大提高(36.0% *vs* 0.0%,P = 0.000)[43]。Zhou 等[44]长期随访了 10 例 HLA 单倍型相合移植后输注半胱氨酸蛋白酶 9 修饰的 T 细胞(iC9-T)患者,输注后患者立刻获得了持久性的对 CMV、腺病毒、BK 病毒以及 EB 病毒免疫力,但是并没有出现急性或慢性 GVHD,提示单倍型相合移植后淋巴细胞输注对免疫

功能恢复具有积极的效果。

4.3 供者 NK 细胞输注

NK 细胞的同种反应性可改善 HLA 单倍体造血干细胞移植的疗效及安全性。NK 细胞被认为可通过其抑制和激活受体识别他们的靶点。Duke 大学研究中心对接受了 51 次 NK 细胞输注的造血干细胞移植的患者(其中包含 14 例相合及 16 例不相合)分析时发现,接受 NK 细胞输注且具有持续反应的患者具有更好的预后[45]。基于这一惊喜的结果,许多研究者评估了 HLA 单倍体造血干细胞移植术后 NK 细胞输注的可行性,并利用其自身免疫性的特点针对不同肿瘤进行了研究。近年来,NK 细胞纯化技术的成功为 NK 细胞输注作为 HLA 单倍型造血干细胞移植术后的肿瘤的预防或复发提供了实验基础[46]。Yoon 等[47]报道了 14 例接受了 HLA 单倍型造血干细胞移植的急性髓系白血病及 MDS 患者,术后接受了 6~7 周的造血干细胞来源的 NK 细胞输注,研究结果表明所有患者皆未出现输注相关的副作用,4 例患者发生了 cGVHD,4 例患者移植术后的无病生存期可达 18~20 个月,只有 2 例患者接受 NK 细胞输注后无疗效。Choi 等[48]对 41 例接受了减低剂量的造血干细胞移植的恶性血液病患者研究时发现,所有患者在移植术后 2~3 周接受两次 NK 细胞输注,剂量按(2~10)$\times 10^7$个/kg 梯度进行输注。研究结果发现,所有剂量组皆未出现毒副作用,并且与同时期接受移植但未接受 NK 细胞输注的患者相比较,移植后相关事件(如植入、Ⅱ~Ⅳ的 aGVHD、中度及重度的 cGVHD 及 TRM)皆无统计学差异。然而,移植术后接受 NK 细胞输注的患者肿瘤进展的比例(46%)较未接受 NK 细胞输注的患者(74%)明显减少,同时预后危险因素回归分析时发现,移植后接受 NK 细胞输注是减少白血病进展的独立预后因子(风险比 =0.527)。为了进一步明确 NK 细胞输注的治疗效果,仍然需要更多的前瞻性研究进行验证。

4.4 T 细胞亚群输注

未经修饰的供者 T 细胞输注可作为一种理想的替代治疗手段,许多研究者对以下 2 种方式的可行性作了测试:①输注已经清除自身反应性 T 细胞亚群的供者 T 细胞[49];②将 T 细胞转导单纯疱疹病毒胸苷激酶自杀基因载体,此种 T 细胞在发生严重 GVHD 的情况下能被清除[50]。Amrolia 等[51]采用 CD25 单抗清除具有自身免疫活性的淋巴细胞及去除自身免疫活性的 T 细胞的干细胞液输注入受者体内后,接受大剂量 T 细胞输注的患者约 4/6 可观察到病毒特异性反应,并且所有患者严重 GVHD 的发生率皆较低。近年来有研究表明,白血病细胞可以改变其自身的 HLA 表达,从而逃避供者 T 细胞的杀伤作用,这可能是肿瘤复发的另一重要原因,但具体机制有待进一步探讨[52]。因此在进行供者 T 细胞输注时,复发的白血病细胞的 HLA 位点有必要进行重新检测。Di-Ianni 等[53]作了如下研究,28 例高风险的恶性血液病患者分别接受清髓性的预处理方案后再输注 2×10^6/kg 剂量的 Treg 细胞,4 d 后,所有患者再接受 1×10^6 Tcons 细胞及 10×10^6 CD34$^+$ 细胞,研究人员发现在未给予免疫抑制的治疗下,所有患者发生 GVHD 的风险都较低,有趣的是,移植后的免疫重建的方式与标准的去除 T 细胞的造血干细胞移植不同,此种移植方式患者 T 细胞亚群重建较快,种类较均衡,同时抗原特异性的 CD4$^+$ 及 CD8$^+$ T 细胞比例较高,值得注意的是 CMV 病毒的检出率及 CMV 相关性死亡皆较低。这种创新的移植方式可确保此后成熟 T 细胞的输注,有利于早期免疫系统的重建和改善患者的预后。

4.5 骨髓间充质干细胞

大量研究表明骨髓间充质干细胞在体内和体外均具有免疫调节功能[54]。骨髓间充质干细胞在体外以剂量依赖性和时间限制的方式调节 T、B 淋巴细胞的增殖,活化和成熟[55]。成年 HLA 同胞间相合移植患者,输注骨髓间充质干细胞是安全的,它可能加速造血功能的恢复和减少急性及慢性 GVHD 的发生率。Lazarus 等[56]已经证实骨髓间充质干细胞与造血干细胞共移植是可行的、安全的,没有出现速发以及迟发的输注不良反应。和 HLA 单倍型造血干细胞移植相比,在接受骨髓间充质干细胞输注的持续供者植入的患者中观察到的排斥反应的风险较小。Ball 等[57]在 14 例接受去 T 细胞单倍体移植的儿童患者中,采用了共移植供体来源的骨髓间充质干细胞的方法。这些患者中没有一例出现了不良反应以及移植失败。此外,Zhou 等[58]以及 Zhao 等[59]同时提出输注体外扩增的骨髓间充质干细胞,对于治疗激素抵抗的慢性 GVHD 是安全、有效的。我们中心的研究评估的是 HLA 单倍型移植患者间断输注骨髓间充质干细胞,预防慢性 GVHD 的疗效及安全性。我们发现这些患者的慢性 GVHD 以及严重的肺部慢性 GVHD 的 2 年累积发生率降低。输注骨髓间充质干细胞后,NK 细胞数量下降,但是记忆 B 淋巴细胞的数量和 Th1:Th2 比例增高。

4.6 白介素-2

白介素-2 是一种多功能细胞因子,在免疫反应中

起着重要的作用。在造血干细胞移植后出现微小残留病时,早期使用白介素-2,可以降低患者复发率,提高患者的免疫功能[59]。这种效应的产生可能是由于原始 $CD34^+CD105^+$ 细胞的淋巴定位(lymphoid orientation),表达高亲和力的白介素-2 受体。因此,外源性的 IL-2 可能导致 GVL 效应的增强[60]。Liu 等[61]的临床研究中,观察了 19 例成人急性淋巴系统恶性肿瘤,其中包括了 6 例接受了半相合移植的患者,这 6 例患者在移植后有高复发的概率,在移植后均接受了白介素-2 的治疗。中位随访时间为 6(3~19)个月,15 例可评价的患者中,14 例患者的无病生存率为 93.33%,而有 1 例在移植被评定为高危的患者复发。IL-2 的毒性反应包括发热、注射部位的疼痛、发红以及肿胀。我们认为皮下注射低剂量 IL-2 长达 100 d 甚至更长,对于预防异基因造血干细胞移植后有高复发风险的成人急性淋巴系统恶性肿瘤的复发,是一种安全、有效的方法。

5 未来方向

过去几年,HLA 单倍型移植已经被越来越多的全球移植中心所采用[3, 10, 16, 62]。HLA 单倍型移植为可以从移植中获益但是又没有全相合供者的患者提供了一个机会。HLA 单倍型移植的最终目的是成功克服 HLA 屏障,获得中度 GVHD 所带来的最优的 GVL 效应。未来有几个新的方法是很有前途的:①选择性的但是有效的异体清除(allo-depletion),有利于供体成功植入和改进移植后的免疫重建,同时降低 GVHD 发生率;②改进 DLI,产生不伴有 GVHD 或者伴有有限 GVHD 的 GVL 效果;免疫细胞疗法,例如调节性 T 细胞、NK 细胞、T 细胞,骨髓间充质干细胞和供体 NK 细胞以及第三方细胞输注;③病原体或白血病特异性供体来源的细胞输注,这可能是 HLA 单倍型造血干细胞移植后预防机会性感染和减少白血病复发率的新方法。

编译自:Gao Lei, Zhang Xi. Haploidentical hematopoietic transplantation without T-cell depletion: current status and future perspectives. Stem Cell Investigation, 2015[2016-03-31]. http://sci.amegroups.com/article/view/8117/8889. DOI: 10.3978/j.issn.2306-9759.2015.10.02

参考文献:

[1] Bashey A, Zhang X, Sizemore C A, *et al*. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation [J]. J Clin Oncol, 2013, 31(10): 1310-1316. DOI: 10.1200/JCO.2012.44.3523

[2] Huang X J, Zhu H H, Chang Y J, *et al*. The superiority of haploidentical related stem cell transplantation over chemotherapy alone as postremission treatment for patients with intermediate- or high-risk acute myeloid leukemia in first complete remission[J]. Blood, 2012, 119(23): 5584-5590. DOI: 10.1182/blood-2011-11-389809

[3] Chen X H, Gao L, Zhang X, *et al*. HLA-haploidentical blood and bone marrow transplantation with anti-thymocyte globulin: long-term comparison with HLA-identical sibling transplantation[J]. Blood Cells Mol Dis, 2009, 43(1): 98-104. DOI: 10.1016/j.bcmd.2009.02.005

[4] Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, *et al*. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculums [J]. Blood, 1994, 84(11): 3948-3955.

[5] Mulanovich V E, Jiang Y, de-Lima M, *et al*. Infectious complications in cord blood and T-cell depleted haploidentical stem cell transplantation[J]. Am J Blood Res, 2011, 1(1): 98-105.

[6] Chen X H, Zhang C, Zhang X, *et al*. Role of antithymocyte globulin and granulocyte-colony stimulating factor-mobilized bone marrow in allogeneic transplantation for patients with hematologic malignancies[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(2): 266-273. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.11.029

[7] Bashey A, Solomon S R. T-cell replete haploidentical donor transplantation using post-transplant CY: an emerging standard-of-care option for patients who lack an HLA-identical sibling donor[J]. Bone Marrow Transplant, 2014, 49(8): 999-1008. DOI: 10.1038/bmt.2014.62

[8] Lu D P, Dong L, Wu T, *et al*. Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation[J]. Blood, 2006, 107(8): 3065-3073. DOI: 10.1182/blood-2005-05-2146

[9] Chen H, Liu K Y, Xu L P, *et al*. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without *in vitro* T cell depletion for the treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(6): 1110-1116. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.02.009

[10] Gao L, Wen Q, Chen X, *et al*. Effects of priming with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on conditioning regimen for high-risk acute myeloid leukemia patients undergoing human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: a multicenter randomized controlled study in southwest China[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(12): 1932 – 1939. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.08.001

[11] Schuettpeltz L G, Borgerding J N, Christopher M J, *et al*. G-CSF regulates hematopoietic stem cell activity, in part, through activation of Toll-like receptor signaling[J]. Leukemia, 2014, 28(9): 1851 – 1860. DOI: 10.1038/leu.2014.68

[12] Zhang X, Li Y, Zhang Y, *et al*. Etoposide in combination with low-dose CAG (cytarabine, aclarubicin, G-CSF) for the treatment of relapsed or refractory acute myeloid leukemia: a multicenter, randomized control trial in southwest China[J]. Leuk Res, 2013, 37(6): 657 – 664. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.03.005

[13] Kanda J, Chao N J, Rizzieri D A. Haploidentical transplantation for leukemia[J]. Curr Oncol Rep, 2010, 12(5): 292 – 301. DOI: 10.1007/s11912-010-0113-4

[14] Bethge W A, Faul C, Bornhauser M, *et al*. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: an update[J]. Blood Cells Mol Dis, 2008, 40(1): 13 – 19. DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.07.001

[15] Rizzieri D A, Koh L P, Long G D, *et al*. Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: clinical outcomes and immune reconstitution[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(6): 690 – 697. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.0953

[16] Federmann B, Bornhauser M, Beelen D W, *et al*. Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: a phase Ⅱ study [J]. Haematologica, 2012, 97(10): 1523 – 1531. DOI: 10.3324/haematol.2011.059378

[17] Jun H X, Jun C Y, Yu Z X. *In vivo* induction of T-cell hyporesponsiveness and alteration of immunological cells of bone marrow grafts using granulocyte colony-stimulating factor [J]. Haematologica, 2004, 89(12): 1517 – 1524.

[18] Wang Y, Liu Q F, Xu L P, *et al*. Haploidentical *vs* identical-sibling transplant for AML in remission: a multicentre, prospective study[J]. Blood, 2015, 125(25): 3956 – 3962. DOI: 10.1182/blood-2015-02-627786

[19] Ziakas P D, Zervou F N, Zacharioudakis I M, *et al*. Graft-versus-host disease prophylaxis after transplantation: a network meta-analysis [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114735. DOI: 10.1371/journal.pone.0114735

[20] Wang Z, Shi B, Jin H, *et al*. Low-dose of tacrolimus favors the induction of functional CD4(t)CD25(t)FoxP3(t) regulatory T cells in solid-organ transplantation[J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(5): 564 – 569. DOI: 10.1016/j.intimp.2009.01.029

[21] Abadja F, Atemkeng S, Alamartine E, *et al*. Impact of mycophenolic acid and tacrolimus on Th17-related immune response[J]. Transplantation, 2011, 92(4): 396 – 403. DOI: 10.1097/TP.0b013e3182247b5f

[22] Physicians abstracts[J]. Bone Marrow Transplant, 2015, 50(Suppl 1): S1 – S96. DOI: 10.1038/bmt.2015.27

[23] Luznik L, Fuchs E J. High-dose, post-transplantation cyclophosphamide to promote graft-host tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Immunol Res, 2010, 47(1/3): 65 – 77. DOI: 10.1007/s12026-009-8139-0

[24] Kendal A R, Chen Y, Regateiro F S, *et al*. Sustained suppression by Foxp3 + regulatory T cells is vital for infectious transplantation tolerance[J]. J Exp Med, 2011, 208(10): 2043 – 2053. DOI: 10.1084/jem.20110767

[25] Luznik L, O'Donnell P V, Symons H J, *et al*. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2008, 14(6): 641 – 650. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.03.005

[26] Bacigalupo A, Dominietto A, Ghiso A, *et al*. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and post-transplant cyclophosphamide for hematologic malignanices following a myeloablative conditioning: an update[J]. Bone Marrow Transplant, 2015, 50(Suppl 2): S37 – S39. DOI: 10.1038/bmt.2015.93

[27] Aversa F, Reisner Y, Martelli M F. The haploidentical option for high-risk haematological malignancies [J]. Blood Cells Mol Dis, 2008, 40(1): 8 – 12. DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.07.004

[28] Cunha C, Di-Ianni M, Bozza S, *et al*. Dectin-1 Y238X polymorphism associates with susceptibility to invasive aspergillosis in hematopoietic transplantation through impairment of both recipient- and donor-dependent mechanisms of antifungal immunity[J]. Blood, 2010, 116(24): 5394 – 5402. DOI: 10.1182/blood-2010-04-279307

[29] Sun Y, Xu L, Liu D, *et al*. Incidence of invasive fungal disease after unmanipulated haploidentical stem cell transplantation was significantly higher than that after HLA-matched sibling transplantation[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(11): 1029 – 1034. DOI: 10.1111/1469 – 0691.12120

[30] Rizzieri D A, Koh L P, Long G D, *et al*. Partially matched,

nonmyeloablative allogeneic transplantation: clinical outcomes and immune reconstitution[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(6): 690-697. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.0953

[31] Lu R N, Miao K R, Zhang R, *et al*. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation following myeloablative conditioning regimens in hematologic diseases with G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells grafts without T cell depletion: a single center report of 38 cases[J]. Med Oncol, 2014, 31(8): 81. DOI: 10.1007/s12032-014-0081-x

[32] Kurokawa T, Ishiyama K, Ozaki J, *et al*. Haploidentical hematopoietic stem cell transplantation to adults with hematologic malignancies: analysis of 66 cases at a single Japanese center[J]. Int J Hematol, 2010, 91(4): 661-669. DOI: 10.1007/s12185-010-0561-5

[33] Kern K, Bunde T, Faulhaber N, *et al*. Cytomegalovirus (CMV) phosphoprotein 65 makes a large contribution to shaping the T cell repertoire in CMV-exposed individuals [J]. J Infect Dis, 2002, 185(12): 1709-1716. DOI: 10.1086/340637

[34] Auletta J J, Lazarus H M. Immune restoration following hematopoietic stem cell transplantation: an evolving target [J]. Bone Marrow Transplant, 2005, 35(9): 835-857. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704966

[35] Luo X H, Chang Y J, Huang X J. Improving cytomegalovirus-specific T cell reconstitution after haploidentical stem cell transplantation[J]. J Immunol Res, 2014, 2014: 631951. DOI: 10.1155/2014/631951

[36] Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, *et al*. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value[J]. Blood, 2007, 110(1): 433-440. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687

[37] Symons H J, Leffell M S, Rossiter N D, *et al*. Improved survival with inhibitory killer immunoglobulin receptor (KIR) gene mismatches and KIR haplotype B donors after nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(4): 533-542. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.022

[38] Pei R, Lee J H, Shih N J, *et al*. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities[J]. Transplantation, 2003, 75(1): 43-49. DOI: 10.1097/ /01.TP.0000040431.80510.98

[39] Ciurea S O, Thall P F, Milton D R, *et al*. Complement-binding donor-specific anti-HLA antibodies and risk of primary graft Failure in Hematopoietic Stem Cell Transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(8): 1392-1398. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.05.001

[40] Lewalle P, Triffet A, Delforge A, *et al*. Donor lymphocyte infusions in adult haploidentical transplant: a dose finding study[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 31(1): 39-44. DOI: 10.1038/sj.bmt.1703779

[41] Or R, Hadar E, Bitan M, *et al*. Safety and efficacy of donor lymphocyte infusions following mismatched stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(12): 1295-1301. DOI: 10.1016/j.bbmt.2006.07.014

[42] Wang Y, Liu D H, Xu L P, *et al*. Prevention of relapse using granulocyte CSF-primed PBPCs following HLA-mismatched/haploidentical, T-cell-replete hematopoietic SCT in patients with advanced-stage acute leukemia: a retrospective risk-factor analysis[J]. Bone Marrow Transplant, 2012, 47(8): 1099-1104. DOI: 10.1038/bmt.2011.213

[43] Yan C H, Wang J Z, Liu D H, *et al*. Chemotherapy followed by modified donor lymphocyte infusion as a treatment for relapsed acute leukemia after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without *in vitro* T-cell depletion: superior outcomes compared with chemotherapy alone and an analysis of prognostic factors[J]. Eur J Haematol, 2013, 91(4): 304-314. DOI: 10.1111/ejh.12168

[44] Zhou X, Di-Stasi A, Tey S K, *et al*. Long-term outcome after haploidentical stem cell transplant and infusion of T cells expressing the inducible caspase 9 safety transgene[J]. Blood, 2014, 123(25): 3895-3905. DOI: 10.1182/blood-2014-01-551671

[45] Rizzieri D A, Storms R, Chen D F, *et al*. Natural killer cell-enriched donor lymphocyte infusions from A 3-6/6 HLA matched family member following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(8): 1107-1114. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.02.018

[46] Nguyen S, Beziat V, Norol F, *et al*. Infusion of allogeneic natural killer cells in a patient with acute myeloid leukemia in relapse after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation[J]. Transfusion, 2011, 51(8): 1769-1778. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2010.03058.x

[47] Yoon S R, Lee Y S, Yang S H, *et al*. Generation of donor natural killer cells from CD34(+) progenitor cells and subsequent infusion after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic cell transplantation: a feasibility study[J]. Bone Marrow Transplant, 2009, 45(6): 1038-1046. DOI: 10.1038/bmt.2009.304

[48] Choi I, Yoon S R, Park S Y, *et al*. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigene-haploidentical hematopoietic cell transplantation: adose-escalation study[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(5): 696-704. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.01.031

[49] Stuehler C, Mielke S, Chatterjee M, *et al*. Selective depletion of alloreactive T cells by targeted therapy of heat shock protein 90: a novel strategy for control of graft-versus-host disease[J]. Blood, 2009, 114(13): 2829 – 2836. DOI: 10.1182/blood-2009-06-224600

[50] Ciceri F, Bonini C, Stanghellini M T, *et al*. Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-Ⅱ study [J]. Lancet Oncol, 2009, 10(5): 489 – 500. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70074-9

[51] Amrolia P J, Muccioli-Casadei G, Huls H, *et al*. Adoptive immunotherapy with allodepleted donor T-cells improves immune reconstitution after haploidentical stem cell transplantation[J]. Blood, 2006, 108(6): 1797 – 1808. DOI: 10.1182/blood-2006-02-001909

[52] Vago L, Perna S K, Zanussi M, *et al*. Loss of mismatched HLA in leukemia after stem-cell transplantation[J]. N Engl J Med, 2009, 361(5): 478 – 488. DOI: 10.1056/NEJMoa0811036

[53] Di-Ianni M, Falzetti F, Carotti A, *et al*. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation[J]. Blood, 2011, 117(14): 3921 – 3928. DOI: 10.1182/blood-2010-10-311894

[54] Ball L M, Bernardo M E, Locatelli F, *et al*. Potential role of mesenchymal stromal cells in pediatric hematopoietic SCT [J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 42(Suppl 2): S60 – S66. DOI: 10.1038/bmt.2008.286

[55] Aggarwal S, Pittenger M F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses[J]. Blood, 2005, 105(4): 1815 – 1822. DOI: 10.1182/blood-2004-04-1559

[56] Lazarus H M, Koc O N, Devine S M, *et al*. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2005, 11(5): 389 – 398. DOI: 10.1016/j.bbmt.2005.02.001

[57] Ball L M, Bernardo M E, Roelofs H, *et al*. Cotransplantation of ex vivo expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation[J]. Blood, 2007, 110(7): 2764 – 2767. DOI: 10.1182/blood-2007-04-087056

[58] Zhou H, Guo M, Bian C, *et al*. Efficacy of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of sclerodermatous chronic graft-versus-host disease: clinical report [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(3): 403 – 412. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.006

[59] Zhao X S, Wang X H, Zhao X Y, *et al*. Non-traditional CD4+CD25-CD69+ regulatory T cells are correlated to leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Transl Med, 2014, 12: 187. DOI: 10.1186/1479-5876-12-187

[60] Schlegel P, Teltschik H M, Pfeiffer M, *et al*. Long-term IL-2 therapy after transplantation of T cell depleted stem cells from alternative donors in children[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011, 24(3): 443 – 452. DOI: 10.1016/j.beha.2011.04.007

[61] Liu K Y, Chen Y H, Liu D H, *et al*. A pilot study of low-dose recombinant interleukin-2 for acute lymphoblastic malignancy after unmanipulated allogeneic blood and marrow transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2008, 42(8): 535 – 539. DOI: 10.1038/bmt.2008.208

[62] Kasamon Y L, Luznik L, Leffell M S, *et al*. Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(4): 482 – 489. DOI: 10.1016/j.bbmt.2009.11.011

(收稿:2016-03-09;修回:2016-03-30)

(编辑 郭建秀)