DOI:10.16016/j.1000-5404.201907015

高危急性白血病异基因造血干细胞移植后行预防性改良供者淋巴细胞输注的疗效及安全性分析

杨露欣,谭亚敏,施继敏,赵妍敏,余 建,胡永仙,来晓瑜,黄 河,罗 依 310003 杭州,浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心

[摘要] **目的** 探讨异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,allo-HSCT)后,早期预防性改良供者淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion,DLI)预防高危急性白血病复发的疗效及安全性。**方法** 回顾性分析2013年1月至2017年6月在本中心行allo-HSCT并接受预防性改良DLI的62例高危急性白血病患者的临床资料。患者均在原发病完全缓解(complete remission,CR)状态下输注由重组人粒细胞集落刺激因子动员的外周血干细胞并联合短程小剂量环孢素预防移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)。**结果** 62例高危急性白血病患者在距移植中位时间为105.5(59~355)d接受预防性DLI,中位CD3细胞量为3.95(0.4~7.6)×10^7/kg。移植后中位随访33.2(3.4~64.7)个月,41例患者获得长期无病生存,其中17例患者复发;共21例患者死亡。3年总体生存率(overall survival,OS)、无白血病生存率(leukemia-free survival,LFS)分别为69.6%及63.6%。3年累积复发率及无复发死亡率分别为29.7%及6.7%。Ⅱ~Ⅳ度及Ⅲ~Ⅳ度急性移植物抗宿主病(aGVHD)的100 d累积发生率分别为22.6%和11.3%。3年中重度慢性移植物抗宿主病(cGVHD)的累积发生率为32.9%。3年无复发无排异生存率(GVHD-free and relapse-free survival,GRFS)为31.7%。**结论** 高危急性白血病异基因造血干细胞移植后,早期行改良供者淋巴细胞输注能有效预防复发,且不增加GVHD发生率及治疗相关死亡率。

[关键词] 异基因造血干细胞移植;供者淋巴细胞输注;急性白血病;移植物抗宿主病

[中图法分类号] R181.32;R730.59;R733.71 [文献标志码] A

Efficacy and safety of prophylactic modified donor lymphocyte infusion following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for high-risk acute leukemia

YANG Luxin, TAN Yamin, SHI Jimin, ZHAO Yanmin, YU Jian, HU Yongxian, LAI Xiaoyu, HUANG He, LUO Yi
Bone Marrow Transplantation Center, First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang Province, 310003, China

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the efficacy and safety of prophylactic modified donor lymphocyte infusion (DLI) early after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) to prevent the relapse of patients with high-risk acute leukemia. **Methods** We retrospectively analyzed the clinical data of 62 patients with high-risk acute leukemia, who underwent allo-HSCT and received prophylactic modified DLI in our center between January 1, 2013 and June 30, 2017. All the patients received infusion of recombinant human colony-stimulating factor-primed peripheral blood progenitor cells and short-term immunosuppressant therapy with low-dose closporine A in complete remission (CR) to prevent graft versus host disease (GVHD). **Results** At a median time of 105.5 (59~355) days after the transplantation, the 62 patients received prophylactic modified DLI of a median of 3.95 (0.4~7.6)×10^7/kg $CD3^+$ cells. The patients were followed up for 3.4~64.7 months (median 33.2 months), during which 41 patients were alive with CR, 17 had relapses, and 21 died. The 3-year probability of overall survival (OS) and leukemia-free survival (LFS) was

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81370644)

[通信作者] 罗 依,E-mail:luoyijr@zju.edu.cn

69.6% and 63.6% and the 3-year cumulative incidences of relapse and non-relapse mortality (NRM) were 29.7% and 6.7% in these patients, respectively. The incidences of grades Ⅱ~Ⅳ and Ⅲ~Ⅳ acute GVHD at 100 d after DLI were 22.6% and 11.3%, respectively, and the 3-year cumulative incidence of moderate and severe chronic GVHD was 32.9%; the 3-year cumulative GVHD-free and relapse-free survival (GRFS) was 31.7% in these patients. **Conclusion** In patients with high-risk acute leukemia, prophylactic modified DLI early after allo-HSCT is effective for preventing relapse without increasing the incidences of GVHD morbidity or NRM.

[**Key words**] allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; donor lymphocyte infusion; acute leukemia; graft versus host disease

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81370644). Corresponding author: LUO Yi, E-mail: luoyijr@zju.edu.cn

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,allo-HSCT)虽然是目前治愈恶性血液病最重要的手段,但原发耐药、具有不良遗传学改变(如 IKZF1 突变、TP53、FLT3-ITD 等)、移植前未能取得深度缓解等高危急性白血病移植后复发率高达 40%~60%,复发后长期生存甚至不到 10%[1-4]。得益于移植物抗白血病(graft versus leukemia,GVL)效应,供者淋巴细胞输注(donor lymphocyte infusion, DLI)被广泛用于各种恶性血液病移植后复发的治疗[5-6]。但由于 GVL 效应起效较缓慢,DLI 对移植后血液学及骨髓复发的急性白血病作用有限。目前认为回输时的疾病状态及肿瘤负荷显著影响 DLI 反应率及生存率[5]。因此,对移植后高复发风险的急性白血病如何提早 DLI 干预时机是目前探索的热点。已有研究开始尝试对 allo-SCT 原发病持续缓解的高危急性白血病予预防性 DLI,样本量较小,回输方案各异,且临床疗效差异较大[7-9]。目前研究均未能回答高危急性白血病 allo-HSCT 后早期行改良 DLI 是否能预防复发且带来生存获益。本研究尝试回顾性分析本中心近 5 年 allo-HSCT 后接受预防性改良 DLI 的 62 例高危急性白血病患者资料,对预防性 DLI 进行临床疗效及安全性分析。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集 2013 年 1 月至 2017 年 6 月在浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心接受 allo-HSCT 的急性白血病患者共 477 例。具有较高复发风险的极高危白血病的特征包括:原发耐药、移植时疾病未缓解(not remission,NR)或第 3 次完全缓解(third complete remission,CR3)以上、移植时微小残留病(minimal residual disease,MRD)阳性、高危遗传学改变[如 t(4;11)、IKZF1、TP53]、携带 BCR-ABL 或 FLT3-ITD 在移植后不能耐受靶向维持治疗。共 62 例高危急性白血病在 allo-HSCT 后接受了预防性改良 DLI。其中男性 31 例,女性 31 例,中位年龄 29.5(9~51)岁,发病至移植时间为 246(145~2 426)d。具体临床特征见表 1。本研究经本院科研伦理审查委员会审批通过[2019 科研快审第(1244)号],患者均签署知情同意书,并随访至 2019 年 1 月 1 日,无失访。

表 1 62 例预防性 DLI 患者临床信息

基本临床特征	例数(%)
原发病	
急性淋巴细胞白血病	38(61.3)
急性髓细胞白血病	24(38.7)
诱导治疗次数	
≤2	48(77.4)
>2	14(22.6)
移植时疾病状态	
CR1	34(54.8)
CR2	19(30.7)
CR3	2(3.2)
NR	7(11.3)
移植时 MRD	
阳性	34(54.8)
阴性	28(45.2)

1.2 移植流程

40 例患者接受亲缘半相合外周血造血干细胞异基因移植,16 例接受亲缘全相合外周血造血干细胞异基因移植,余 6 例接受非亲缘外周血造血干细胞异基因移植。所有供者皮下注射重组人粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor,G-CSF)动员后分离外周血干细胞,留取部分造血干细胞在液氮中冻存备用。供者选择、移植预处理方案及移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)方案详见本中心既往报道[10]。33 例患者在预防性 DLI 前曾出现不同程度急性移植物抗宿主病(aGVHD),其中Ⅰ度 27 例,Ⅱ度 6 例,经抗 GVHD 治疗后,患者获得完全缓解。

1.3 DLI 方案

高危急性白血病移植后进行预防性 DLI 的条件:①原发病处于 CR 且 MRD<0.01%,且融合基因、基因

突变均阴性;②供受者嵌合度≥98%;③既往无Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 发生;④目前无现症 aGVHD 或慢性移植物抗宿主病(cGVHD);⑤无严重现症感染。供者淋巴细胞来自于移植时由 G-CSF 动员后采集冻存的外周血造血干细胞。输注后小剂量环孢素(cyclosporin,CSA)[1~2 mg/(kg·d)]口服预防 GVHD,如果无明显排异发生,可在 DLI 后 3~4 周内逐渐撤停。

1.4 原发病及并发症监测

所有患者回输后每周门诊随访血常规、肝肾功能、药物浓度、感染、aGVHD、cGVHD 发生情况。每月进行骨髓细胞学、MRD 及融合基因监测。

1.5 研究终点及统计学分析

总体生存率(overall survival,OS)定义为从造血干细胞回输开始至各种原因引起死亡的时间。无白血病生存率(leukemia-free survival,LFS)为从造血干细胞回输开始至白血病复发或者死亡的时间。无排异无复发生存率(GVHD-free and relapse-free survival,GRFS)定义为从造血干细胞回输开始至Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD、中重度 cGVHD、复发或者死亡的时间。

复发、GVHD、非复发死亡的累积发生率通过竞争风险模型分析[11]。OS、LFS 及 GRFS 采用 Kaplan-Meier 方法计算。采用 SPSS 20.0 统计软件及 R 3.4.0 分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者 DLI 后情况

62 例高危急性白血病患者在 allo-HSCT 后,于中位时间 105.5(59~355)d 接受了预防性改良 DLI,中位 CD3 细胞量为 $3.95(0.4\sim7.6)\times10^7$/kg。

2.2 预防性 DLI 后 GVHD 发生情况

预防性 DLI 后,分别有 10 例、8 例、3 例、4 例患者发生Ⅰ度、Ⅱ度、Ⅲ度、Ⅳ度 aGVHD,中位发生时间为 DLI 后 40(7~92) d。Ⅱ~Ⅳ度及Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 的 100 d 累积发生率分别为 22.6%(95%*CI*:22.1%~23.1%)及 11.3%(95%*CI*:11.0%~11.6%)。Ⅱ度以上 aGVHD 加用糖皮质激素 2 mg/(kg·d)治疗,激素耐药者加用益赛普、卢克替尼等二线抗 GVHD 药物治疗,患者 aGVHD 均得到有效控制。

31 例患者在 DLI 后出现 cGVHD,其中轻度 11 例,中度 9 例,重度 11 例,中位发生时间在 DLI 后 93.5(25~739) d。中重度 cGVHD 的 3 年累积发生率为 32.9%(95%*CI*:32.2%~33.6%)。其中 1 例患者接受 DLI 后出现消化道Ⅳ度 aGVHD,经益赛普、舒莱、间充质干细胞输注后排异控制,+103 d 出现肺部排异,并进展为闭塞性细支气管炎,移植后 19.64 个月因 GVHD 合并严重肺部感染死亡。

2.3 改良预防性 DLI 后复发及生存情况

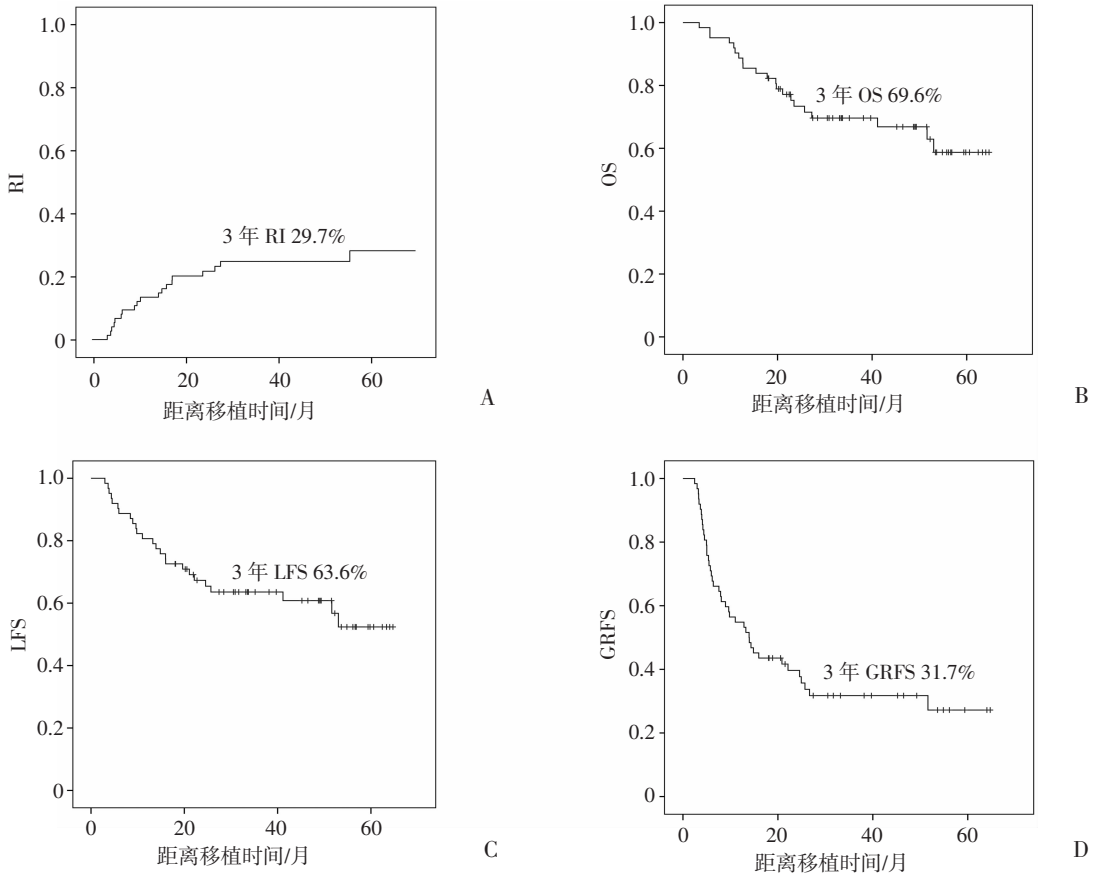
随访截止至 2019 年 1 月 1 日。移植后中位随访 33.2(3.4~64.7)个月。共 17 例患者复发,中位复发时间为移植后 9.6(2.9~51.6)个月。复发患者接受了包括化疗、治疗性 DLI、放疗等治疗,仅 3 例患者取得再次缓解。3 年总体累积复发率为 29.7%(95%*CI*:29.0%~30.4%)(图 1A)。

至随访终点,41 例患者疾病处于长期缓解状态,共 21 例患者死亡,其中 15 例患者死于原发病,2 例死于严重感染,4 例死于严重 GVHD。3 年的 OS、LFS、GRFS 分别为 69.6 %(95%*CI*:57.9 %~81.3%)、63.6%(95%*CI*:51.5%~75.7%)和 31.7%(95%*CI*:19.6%~43.8%)(图 1B~D)。3 年无复发死亡率为 6.7%(95%*CI*:6.5%~6.9%)。

3 讨论

疾病复发仍然是急性白血病 allo-HSCT 后最大的难题,尤其是复发难治、携带不良遗传学改变等高危患者移植后复发率及生存令人失望。DLI 作为一种过继性细胞免疫治疗,通过其 GVL 效应进一步清除宿主体内的残留白血病细胞,是防治移植后复发的有效手段之一。DLI 后 GVHD 及治疗相关的死亡,不同程度地限制了其在临床上的广泛应用。一方面,许多研究致力于改进 DLI 方案,减少相关死亡的发生而保留其 GVL 效应。另一方面,相对于复发后予以治疗性 DLI,抢先性 DLI 或预防性 DLI 被逐渐应用于临床。由于缺乏大样本前瞻性随机研究及不同中心 DLI 方案的异质性,移植后预防性 DLI 的干预时机、适用人群、最佳方案及其临床疗效仍不明确。

传统 DLI 直接输注未动员的供者外周血淋巴细胞,输注后 aGVHD 发生率可达 49%~91%,20%~40%患者会出现血细胞减少,且感染风险增加。近年,研究者通过输注由 G-CSF 动员的外周血细胞改良了传统 DLI,在保留淋巴细胞免疫活性的同时降低了治疗相关死亡率,大大改善了 DLI 的临床疗效。许多研究也证实由 G-CSF 动员的改良 DLI 可显著降低 GVHD 发生率,而不影响其抗白血病作用[12-13],相关机制可能与 G-CSF 将 T 细胞从 Th1 极化为 Th2、促进调节性 T 细胞和耐受性树突细胞的分化、增加 T 细胞种类等有关。另外 DLI 相关 GVHD 与回输后是否预防性抗 GVHD、免疫抑制剂剂量及疗程直接相关。北大人民医院报道:在 DLI 后采用 CSA[起始剂量为 2.5 mg/(kg·d),目标血药浓度≥100 ng/mL]或者甲氨蝶呤(methotrexate,MTX,10 mg,DLI 后 2~4 周内每周 1 次)抗 GVHD 治疗,总疗



A:累积复发率(RI);B:总体生存率(OS);C:无白血病生存率(LFS);D:无复发无排异生存率(GRFS)

图 1 62 例患者累积复发率、总体生存率、无白血病生存率及无复发无排异生存率情况

程为输注后 2~6 周。此方案下,Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD 及 cGVHD 的发生率分别为 13.2%~28.4%及 45.4%~48.1%,累积复发率及 OS 分别为 35.7%~51.3%、30.5~50.2%[14-15];该中心的进一步探索显示:预防 GVHD 治疗超过 2 周组 DLI 相关 aGVHD 显著低于抗 GVHD 治疗不足 2 周组(6/10 *vs* 2/29, $P=0.001$),而两组 cGVHD 发生率、累积复发率、OS 差异均无统计学意义[12]。本中心预防性 DLI 后 CSA 剂量低于北大人民医院方案,Ⅲ~Ⅳ度 aGVHD、中重度 cGVHD 无明显增加,且 3 年累积复发率低于 30%,说明较小剂量的 CSA 足以预防 DLI 后 GVHD 发生,而不影响 GVL 效应。除上述淋巴细胞来源及输注后抗 GVHD 方案外,移植供者来源、回输距离移植时间、DLI 次数及淋巴细胞中 $CD3^+$细胞量均影响 DLI 相关 GVHD 发生率及治疗相关死亡率。因此,仍需要大量研究探索预防性 DLI 最佳方案。

虽然目前预防性 DLI 的临床疗效缺乏前瞻性随机试验证实,小样本研究已尝试异基因移植后早期 DLI 预防高危急性白血病复发。一项回顾性研究报道:31 例高危恶性血液病在半相合造血干细胞移植后接受预防性 DLI,2 年 OS、GRFS 及复发率分别为 40.1%、31.9%及 52.0%[9]。CAUCHOIS 等[16]对 36 例高危恶性血液病在半相合移植后进行了预防性 DLI,1 年无进展生存及 OS 高达 76%及 83%,累积复发率仅 16%,鉴于中位随访时间仅 10 个月,此结果需要谨慎对待。欧洲血液和骨髓移植(EBMT)的急性白血病工作组将 allo-SCT 后接受预防性 DLI 的 105 例急性白血病患者与 13 827 例对照组患者进行病例匹配,分析 DLI 是否能带来获益,结果显示:AML 和标危 AML 中预防性 DLI 组与对照组复发及生存指标无明显差异,而 27 例高危 AML 明显可从预防性 DLI 中获益(5 年 OS:69.8% *vs* 40.2%, $P=0.027$;5 年复发率:30.5% *vs* 46.0%, $P=0.200$;5 年非复发死亡率:7.4% *vs* 18.6%, $P=0.022$),而治疗相关死亡率无增加[13]。但此研究缺乏患者初发病时分子遗传学情况、移植后供受者嵌合度、MRD 监测情况等重要信息,一定程度影响两组病例的匹配性及结果的可信度。本研究是目前纳入样本量较大的预防性 DLI 研究之一,62 例患者在中位时间为 33.2 个

月的随访后,得出与以上 EBMT 相似结果:3 年 OS 及 LFS 分别为 69.6%及 63.6%,3 年累积复发率为 29.7%。既往研究报道的高危白血病异基因移植后复发率在 40%~60%,长期无病生存不到 30%[1-2,4,17]。与以上研究及历史数据相比,本中心方案的预防性改良 DLI 可以降低高危急性白血病移植后复发,改善患者生存。

综上所述,高危急性白血病患者接受 allo-HSCT 后,予以预防性输注由 G-CSF 动员的冻存外周血淋巴细胞并联合小剂量 CSA 抗 GVHD 治疗,可降低复发率,提高 OS 及 LFS,而 GVHD 发生率及治疗相关死亡在可接受范围之内。

参考文献:

[1] YAO Q M, LIU K Y, GALE R P, *et al*. Prognostic impact of IKZF1 deletion in adults with common B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 269. DOI: 10.1186/s12885-016-2300-7.

[2] MIDDEKE J M., HEROLD S, RÜCKER-BRAUN E, *et al*. TP53 mutation in patients with high-risk acute myeloid leukaemia treated with allogeneic haematopoietic stem cell transplantation[J]. Br J Haematol, 2016, 172(6): 914-922. DOI: 10.1111/bjh.13912.

[3] ZHOU Y, OTHUS M, ARAKI D, *et al*. Pre- and post-transplant quantification of measurable (minimal) residual disease via multiparameter flow cytometry in adult acute myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2016, 30(7): 1456-1464. DOI: 10.1038/leu.2016.46.

[4] WEISDORF D J, MILLARD H R, HOROWITZ M M, *et al*. Allogeneic transplantation for advanced acute myeloid leukemia: The value of complete remission[J]. Cancer, 2017, 123(11): 2025-2034. DOI: 10.1002/cncr.30536.

[5] DEOL A, LUM L G. Role of donor lymphocyte infusions in relapsed hematological malignancies after stem cell transplantation revisited[J]. Cancer Treatment Rev, 2010, 36(7): 528-538. DOI: 10.1016/j.ctrv.2010.03.004.

[6] MIYAMOTO T, FUKUDA T, NAKASHIMA M, *et al*. Donor lymphocyte infusion for relapsed hematological malignancies after unrelated allogeneic bone marrow transplantation facilitated by the Japan marrow donor program[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2017, 23(6): 938-944. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.02.012.

[7] LEGRAND F, LE FLOCH A C, GRANATA A, *et al*. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation for high-risk AML[J]. Bone Marrow Transplant, 2017, 52(4): 620-621. DOI: 10.1038/bmt.2016.326.

[8] ORTÍ G, GARCÍA-CADENAS I, LÓPEZ-CORRAL L, *et al*. Donor lymphocyte infusions for B-cell malignancies relapse after T-cell replete allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2019, 54(7): 1133-1137. DOI: 10.1038/s41409-018-0422-z.

[9] GAO X N, LIN J, WANG S H, *et al*. Donor lymphocyte infusion for prevention of relapse after unmanipulated haploidentical PBSCT for very high-risk hematologic malignancies[J]. Ann Hematol, 2019, 98(1): 185-193. DOI: 10.1007/s00277-018-3482-7.

[10] LUO Y, XIAO H, LAI X, *et al*. T-cell-replete haploidentical HSCT with low-dose anti-T-lymphocyte globulin compared with matched sibling HSCT and unrelated HSCT[J]. Blood, 2014, 124(17): 2735-2743. DOI: 10.1182/blood-2014-04-571570.

[11] SCRUCCA L, SANTUCCI A, AVERSA F. Competing risk analysis using R: an easy guide for clinicians[J]. Bone Marrow Transplant, 2007, 40(4): 381-387. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705727.

[12] HUANG X J, WANG Y, LIU D H, *et al*. Administration of short-term immunosuppressive agents after DLI reduces the incidence of DLI-associated acute GVHD without influencing the GVL effect[J]. Bone Marrow Transplant, 2009, 44(5): 309-316. DOI: 10.1038/bmt.2009.26.

[13] SCHMID C, LABOPIN M, SCHAAP N, *et al*. Prophylactic donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation in acute leukaemia-a matched pair analysis by the Acute Leukaemia Working Party of EBMT[J]. Br J Haematol, 2019, 184(5): 782-787. DOI: 10.1111/bjh.15691.

[14] HUANG X J, WANG Y, LIU D H, *et al*. Modified donor lymphocyte infusion (DLI) for the prophylaxis of leukemia relapse after hematopoietic stem cell transplantation in patients with advanced leukemia: feasibility and safety study[J]. J Clin Immunol, 2008, 28(4): 390-397. DOI: 10.1007/s10875-008-9193-4.

[15] 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.

[16] CAUCHOIS R, CASTAGNA L, PAGLIARDINI T, *et al*. Prophylactic donor lymphocyte infusions after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation for high risk haematological malignancies: a retrospective bicentric analysis of serial infusions of increasing doses of CD3(+) cells[J]. Br J Haematol, 2019, 185(3): 570-573. DOI: 10.1111/bjh.15544.

[17] DUVAL M, KLEIN J P, HE W, *et al*. Hematopoietic stem-cell transplantation for acute leukemia in relapse or primary induction failure[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(23): 3730-3738. DOI: 10.1200/JCO.2010.28.8852.

(收稿:2019-07-02;修回:2019-09-16)

(编辑 汪勤俭)