DOI:10.16016/j.1000-5404.201907007

脐带间充质细胞对异基因造血干细胞移植术后出血性膀胱炎的疗效及安全性分析

刘红云,陈 果,曾韫璟,张 曦,高 力 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院血液病医学中心,全军血液病中心,创伤、烧伤与复合伤研究国家重点实验室

[摘要] **目的** 探讨输注脐带间充质细胞对异基因造血干细胞移植术后出血性膀胱炎的效果及安全性。**方法** 回顾性分析本中心2014-2018年接受异基因造血干细胞移植后出血性膀胱炎患者的资料,比较输注脐带间充质细胞28例患者(输注组)与未输注脐带间充质细胞24例患者(未输注组)出血性膀胱炎的持续时间、反应率及疼痛评分,观察脐带间充质细胞输注的安全性。**结果** 输注组患者总有效率大于未输注组(100.0% *vs* 45.8%);输注组患者疼痛消失时间较未输注组明显缩短[(20.6±13.5)d *vs* (33.9±21.7)d,$P<0.05$]。与未输注组比较,输注组出血性膀胱炎患者肉眼血尿持续时间明显缩短[(26.3±14.8)d *vs* (38.9±24.0) d,$P<0.05$];镜下血尿持续时间也明显缩短[(31.3±13.6)d *vs* (48.9±22.0)d,$P<0.05$]。输注脐带间充质细胞不增加血CMV及尿BKV感染率。**结论** 脐带间充质细胞能明显缩短出血性膀胱炎患者的病程,减少痛苦,改善预后,且无毒副作用。

[关键词] 出血性膀胱炎;脐带间充质细胞;异基因造血干细胞移植;CMV病毒;BK病毒
[中图法分类号] R329.2; R617.06; R694.3 [文献标志码] A

Efficiency and safety of umbilical cord mesenchymal stromal cell infusion in treatment of hemorrhagic cystitis after allogenic hematopoietic stem cell transplantation

LIU Hongyun, CHEN Guo, ZENG Yunjing, ZHANG Xi, GAO Li State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Medical Center of Hematology, PLA Center for Hematology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the efficiency and safety of the infusion of umbilical cord mesenchymal stromal cells (UCMSCs) for hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** Clinical data of patients with hemorrhages cystitis after allo-HSCT in our medical center from January 2014 to December 2018 were collected and analyzed retrospectively in this study. The duration of hemorrhagic cystitis, response rate and pain scores were compared between the patients undergoing UCMSCs infusion ($n=28$) and those without ($n=24$). The safety of the infusion was also observed. **Results** The UCMSCs infusion group had significantly higher overall response rate (100.0% *vs* 45.8%, $P<0.05$), shorter median time of pain disappearance (20.6±13.5 *vs* 33.9±21.7 d, $P<0.05$), and shorter duration of hematuria macroscopically (26.3±14.8 *vs* 38.9±24.0 d, $P<0.05$) and microscopically (31.3±13.6 *vs* 48.9±22.0 d, $P<0.05$) when compared the infusion group. Infusion of UCMSCs had no effect on the infection rates of blood cytomegalovirus and urinary BK virus. **Conclusion** Infusion of UCMSCs can significantly shorten the course of hemorrhagic cystitis, reduce pain, improve general prognosis, and have no side effect in the patients after allo-HSCT.

[**Key words**] hemorrhagic cystitis; umbilical cord mesenchymal stromal cells; allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; cytomegalovirus; BK virus

Corresponding author: GAO Li, E-mail: 1575423600@qq.com

[通信作者] 高 力,E-mail:1575423600@qq.com

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)是治疗血液系统恶性疾病、骨髓衰竭性疾病等的有效手段之一。出血性膀胱炎(hemorrhagic cystitis,HC)是移植后常见的并发症,发生率在无预防措施的情况下高达40%~68%[1]。按照发生时间分为早发型(移植时间≤4周)和迟发型(late-onset HC,LOHC,移植超过4周)。出血性膀胱炎增加患者痛苦,降低生活质量,严重者甚至危及生命,因此受到越来越多的关注。出血性膀胱炎的发病原因目前尚不明确,近年来的研究显示病毒感染及移植物抗宿主病(graft versus host disease,GVHD)是导致迟发型出血性膀胱炎的重要危险因素[2],预防性使用抗病毒药物后LOHC的发生率可显著下降至25%左右[3]。出血性膀胱炎常规的治疗方法包括水化、碱化和持续膀胱冲洗,如出现血尿加重或者尿管堵塞时可给予外科干预,如膀胱切除、膀胱动脉栓塞及尿道改流,但效果均不理想,治疗难度大。间充质细胞(mesenchymal stromal cell,MSC)是一种低免疫原性具有多向分化潜能的干细胞,具有调节免疫和促进组织修复的作用,并且不增加病毒DNA载量,目前在GVHD的防治中应用较为广泛。近年来有学者尝试应用MSCs治疗出血性膀胱炎,而我们也在这方面进行了探索,且取得了一定的效果。现将本院血液病医学中心2014-2018年接受异基因造血干细胞移植术后迟发性出血性膀胱炎患者病例资料总结汇报如下,以期为临床治疗出血性膀胱炎提供新思路。

1 资料与方法

1.1 患者资料

回顾性分析2014-2018年在本院血液病医学中心行异基因造血干细胞移植术,术后发生迟发型出血性膀胱炎的患者共52例,其中男性42例,女性10例,中位发病年龄为26.5(8~54)岁。疾病类型包括急性髓系白血病28例,急性淋巴细胞白血病17例,慢性髓系白血病急淋变1例,骨髓增生异常综合征2例,急性混合细胞白血病2例、重型再生障碍性贫血1例,淋巴瘤1例。移植类型包括:单倍体造血干细胞移植32例,同胞间全相合造血干细胞移植17例,非血缘关系全相合造血干细胞移植3例。患者均予水化、碱化、抗排异及预防病毒感染等常规治疗。根据患者意愿是否输注脐带间充质细胞分为2组,输注组:28例,其中男性24例,女性4例;年龄≤18岁者3例,急性髓系白血病15例,急性淋巴细胞白血病10例,其他疾病类型3例;在出血性膀胱炎发生1周内开始输注脐带间充质细胞(1×10^6/kg,1次/2周,输注4~6次,观察终点为患者发生出血性膀胱炎后90 d)。未输注组:24例,其中男性18例,女性6例;年龄≤18岁者2例;急性髓系白血病13例,急性淋巴细胞白血病7例,其他疾病类型4例。两组间基线指标差异无统计学意义。患者均签署相关知情同意书。

1.2 预处理及GVHD的预防

预处理方案按文献[4]的方法。亲缘间HLA全合:BU+CY;无关供者HLA全合:BU+CY+ATG;亲缘间半相合:司莫司汀+Arac+BU+CY+ATG+Ara-c。

GVHD的预防按文献[4]的方法。HLA全合:环孢素+短程MTX+晓悉;HAL半相合:他克莫司+短程MTX+晓悉。

1.3 感染预防及支持治疗

按我科常规[5]入仓前1周开始口服氟康唑、复方磺胺甲噁唑片、诺氟沙星胶囊清洁肠道。移植过程中每周输注1次人免疫球蛋白0.4 mg/kg。CMV的预防:移植前7 d开始予以更昔洛韦静滴预防,移植前1 d换为阿昔洛韦,造血重建稳定后更换为更昔洛韦预防。

1.4 出血性膀胱炎的诊断、分度和疗效评判

出血性膀胱炎诊断依据《邓家栋血液学》中的标准:①有尿路刺激征如尿频、尿急、尿痛等;②排除尿路细菌、真菌等感染;③出现镜下血尿或肉眼血尿。

出血性膀胱炎分度根据《邓家栋血液学》血尿程度分为4度:镜下血尿为Ⅰ度,肉眼血尿为Ⅱ度,肉眼血尿伴血凝块为Ⅲ度,肉眼血尿伴血块和尿道梗阻为Ⅳ度。Ⅰ~Ⅱ度为轻度,Ⅲ~Ⅳ度为重度。

疗效评判标准分为完全缓解(治愈):尿路刺激征缓解及肉眼血尿消失;部分缓解(显效):尿路刺激征及肉眼血尿缓解程度大于50%;无效:尿路刺激征及肉眼血尿缓解程度小于50%。

1.5 病毒指标监测

定期监测血巨细胞病毒CMV病原学证据(1~2次/周)、尿BK病毒(1次/周);一旦出现病原学证据,予以更昔洛韦(5 mg/kg,q12 h)或膦甲酸钠(60 mg/kg,q12 h)治疗。

1.6 出血性膀胱炎的处理

常规给予水化(每日尿量2 500~3 000 mL)、碱化(尿pH>7.5)、止血及输注血小板(血小板低于20×

10^9/L)等对症支持治疗;合并 GVHD 者加用甲强龙(1~2 mg/kg)治疗,CMV 病毒指标阳性者加用抗病毒治疗。Ⅲ~Ⅳ度出血性膀胱炎予留置导尿,等渗液持续冲洗,血凝块消失及尿色变清亮时拔除导尿管。

1.7 统计学处理

应用 SPSS 19.0 统计软件,连续性变量以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 发病情况

出血性膀胱炎分度:Ⅱ度 9 例(17.3%),Ⅲ度 34 例(65.4%),Ⅳ度 9 例(17.3%)。中位发生时间为 47.5(30~67)d。Ⅱ度出血性膀胱炎的中位病程为 10.5(8~15)d;Ⅲ~Ⅳ度出血性膀胱炎的中位病程为 39(18~64)d。8 例患者合并肾功能异常,肌酐中位数为 142.2(115.7~184.3)μmol/L,无一例发展为肾功能衰竭,且治疗后均恢复正常。

2.2 治疗效果

输注组 28 例患者,有 26 例镜下血尿消失(Ⅱ度 4 例、Ⅲ度 20 例,Ⅳ度 2 例),2 例(Ⅳ度)肉眼血尿消失,总有效率为 100.0%;未输注组 24 例患者 8 例(Ⅱ度 5 例、Ⅲ度 3 例)镜下血尿及疼痛消失,3 例(Ⅲ度)肉眼血尿及疼痛消失,8 例(Ⅲ度)肉眼血尿及疼痛均未消失,5 例(Ⅲ度)进展为Ⅳ度出血性膀胱炎,总有效率为 45.8%(表 1)。输注组疼痛消失时间为治疗后(20.6±13.5)d,显著短于未输注组[(33.9±21.7)d,$P<0.05$]。输注组出血性膀胱炎肉眼血尿持续时间为(26.3±14.8)d,镜下血尿持续时间为(31.3±13.6)d,均显著短于未输注组[(38.9±24.0)d,(48.9±22.0)d,$P<0.05$]。

表 1 两组出血性膀胱炎患者治疗效果比较

组别	n	完全缓解	部分缓解	无效	总有效率
输注组	28	26	2	0	100.0%
未输注组	24	8	3	13	45.8%

2.3 病毒情况

输注脐带间充质细胞不增加血 CMV 及尿 BKV 感染率。输注组 HC 患者治疗前血 CMV 病毒阳性 8 例,输注后 CMV 病毒阳性 1 例;未输注组 HC 患者治疗前 CMV 病毒阳性 6 例,输注后 CMV 病毒阳性 2 例。

输注组 HC 患者治疗前尿 BK 病毒阳性 23 例,输注后尿 BK 病毒阳性 8 例;未输注组 HC 患者治疗前尿 BK 病毒阳性 22 例,输注后尿 BK 病毒阳性 12 例。

2.4 安全性

输注组患者在输注期间均未出现发热、皮疹等过敏反应,且未出现原有急性 GVHD 加重或新发 GVHD;MSC 治疗后多次检测传染病(如肝炎、HIV、梅毒等)相关指标均无异常。

2.5 随访

随访截至发生出血性膀胱炎后 90 d,观察患者尿量、疼痛、血尿情况,52 例出血性膀胱炎患者在随访期内 1 例死于肺部真菌感染,1 例死于消化道大出血,无 1 例疾病复发。

3 讨论

出血性膀胱炎是异基因造血干细胞移植术后严重的并发症之一。早发型出血性膀胱炎主要和大剂量化疗相关,尤其是环磷酰胺等烷化剂的使用直接损伤膀胱黏膜,另外预处理后血小板减少也可能引起膀胱出血。而迟发型出血性膀胱炎的病因相对复杂,目前仍未完全明确,可能与病毒感染(如 BK/CMV 等)[6]和 GVHD[7]及 HLA 相合程度有关,处理起来非常棘手。Ⅰ~Ⅱ度出血性膀胱炎临床表现有自限性,也可迁延不愈或发展为Ⅲ~Ⅳ度 HC,严重者导致患者肾功能衰竭甚至死亡。我中心 HC 患者发生轻度肾功能损害者仅有 8 例(15%),无一例发生肾功能衰竭。既往研究发现,行异基因造血干细胞移植术患者中 50%~100%存在尿 BK 病毒阳性,但仅有 5%~40%出现出血性膀胱炎[8-9],考虑其与 BK 病毒 DNA 载量相关[10]。本研究 52 例 HC 患者 BK 病毒阳性者有 45 例(86.5%),BK 病毒 DNA 载量范围>2×10^2,治疗后拷贝数明显下降。CMV 血症是否为 HC 发生的高危因素目前存在争议,有研究显示[11]仅有 CMV 病毒血症并不增加 HC 的发生,但其可促进 BK 病毒 DNA 扩增,导致 HC 的发生。我中心 14 例患者血 CMV 病毒阳性,治疗后 CMV 病毒阳性 3 例;尿 BK 及血巨细胞病毒 DNA 均阳性者 28 例。本研究显示输注脐带间充质细胞后 CMV 及 BK 病毒 DNA 均较前下降。异基因造血干细胞移植术后存在 GVHD 者,出血性膀胱炎发生率增加,且 HC 的发生与 GVHD 的严重程度呈正相关。其原因考虑可能为膀胱作为 GVHD 的靶器官之一,在免疫抑制剂及激素治疗下,膀胱内皮细胞受损、充血、水肿、出血[12],

同时激活病毒感染,导致抗原抗体反应,增加膀胱内皮的损伤。LEE 等[13]回顾性分析行 allo-HSCT 后出血性膀胱炎患者发现 GVHD 为其重要的危险因素之一。我中心 HC 患者合并Ⅱ~Ⅳ度 GVHD 的患者 28 例,治疗后 GVHD 缓解。

目前,治疗出血性膀胱炎尚无统一规范,除常规水化、碱化、止血、解痉及抗病毒等,等渗液膀胱内持续灌注、膀胱内药物灌注及血凝块清除、口服雌激素、高压氧治疗及外科手术干预等效果有限,且存在一定的风险[14]。间充质细胞是一种具有多项分化潜能的种子细胞,其来源丰富,体外扩增迅速,能分泌多种生长因子(如血管内皮生长因子),在特定的诱导分化条件下可分化为内皮细胞,促进组织修复,且由于其低免疫原性,异体移植后不产生排异反应。FU 和 WANG 等[15]对异基因造血干细胞移植术后 33 例 LOHC 患者中的 7 例予间充质干细胞输注,全部治愈且未产生副作用。脐血源间充质细胞在治疗 GVHD 及出血性膀胱炎中有效性及安全性得到进一步证实[16]。邱坤银等[17]应用 MSC 治疗 7 例难治性持续性膀胱炎均治愈,且无发热、皮疹、栓塞等不良反应。本中心 28 例 HC 患者在出现出血性膀胱炎早期输注脐带间充质细胞,26 例得到治愈,2 例显效,未产生皮疹、过敏等不良反应。MSC 治疗出血性膀胱炎发生的机制目前考虑可能与 GVHD 的防治相关,MSC 分泌多种细胞因子,如血管内皮生长因子、转化生长因子及血小板生成因子等,通过细胞间相互作用,抑制供者淋巴细胞增殖,降低供者淋巴细胞对受者膀胱黏膜上皮的免疫反应,诱导机体免疫耐受的产生;同时,MSC 亦有修复炎症坏死组织的功能。国外动物实验研究证实,正常小鼠经静脉输注 MSC 后各个组织器官均有分布,当机体某个部位受损时或发生炎症时,MSC 会迅速归巢到损伤或炎症部位,分化为不同的细胞及多种相应的细胞因子促进组织修复。RINGDEN 等[18]应用间充质干细胞治疗难治性迟发型出血性膀胱炎患者 12 例,10 例有效,尸检其中 1 例因多器官功能衰竭死亡患者发现其膀胱黏膜上皮存在供者来源的 MSC 细胞。

治疗出血性膀胱炎目前方法众多,但其有效性需进一步提升,间充质细胞输注需进一步规范化;同时完善 HC 危险度分层相关指标,为预防和治疗出血性膀胱炎提供指导。我中心在出血性膀胱炎早期规律输注脐血间充质细胞可有限控制 HC 的进展,减少患者痛苦,改善患者预后。

参考文献:

[1] SATYANARAYANA G, HAMMOND S P, BROGE T A Jr, *et al*. BK polyomavirus reactivation after reduced-intensity double umbilical cord blood cell transplantation[J]. Transpl Immunol, 2015, 32(2): 116-120. DOI:10.1016/j.trim.2014.12.002.

[2] SILVA L D E P, PATAH P A, SALIBA R M, *et al*. Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplants is the complex result of BK virus infection, preparative regimen intensity and donor type[J]. Haematologica, 2010, 95(7): 1183-1190. DOI:10.3324/haematol.2009.016758.

[3] TZANNOU I, PAPADOPOULOU A, NAIK S, *et al*. Off-the-shelf virus-specific T cells to treat BK virus, human herpesvirus 6, cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(31): 3547-3557. DOI: 10.1200/JCO.2017.73.0655.

[4] 曾韫璟, 高力, 陈幸华, 等. 造血干细胞移植后出血性膀胱炎的临床研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(11): 1149-1150, 1153.
ZENG Y J, GAO L, CHEN X H, *et al*. Study on hemorrhagic cystitis in patients after hematopoietic stem cell transplantation[J]. Int J Lab Med, 2011, 32(11): 1149-1150, 1153.

[5] GAO L, GAO L, GONG Y, *et al*. Reduced-intensity conditioning therapy with fludarabine, idarubicin, busulfan and cytarabine for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome [J]. Leuk Res, 2013, 37(11): 1482-1487. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.08.016.

[6] MANIKANDAN R, KUMAR S, DORAIRAJAN L N. Hemorrhagic cystitis: A challenge to the urologist[J]. Indian J Urol, 2010, 26(2): 159-166. DOI:10.4103/0970-1591.65380.

[7] PARK Y H, LIM J H, YI H G, *et al*. BK virus-hemorrhagic cystitis following allogeneic stem cell transplantation: Clinical characteristics and utility of leflunomide treatment[J]. Turk J Haematol, 2016, 33(3): 223-230. DOI: 10.4274/Tjh.2015.0131.

[8] AZZI A. Human polyomavirus BK (BKV) load and haemorrhagic cystitis in bone marrow transplantation patients[J]. J Clin Virol, 1999, 14(2): 79-86. DOI: 10.1016/s1386-6532(99)00055-4.

[9] CESARO S, BRUGIOLO A, FARACI M, *et al*. Incidence and treatment of hemorrhagic cystitis in children given hematopoietic stem cell transplantation: a survey from the Italian association of pediatric hematology oncology-bone marrow

transplantation group[J]. Bone Marrow Transplant, 2003, 32(9): 925-931. DOI:10.1038/sj.bmt.1704252.

[10] LEE Y J, ZHENG J T, KOLITSOPOULOS Y, *et al*. Relationship of BK polyoma virus (BKV) in the urine with hemorrhagic cystitis and renal function in recipients of T cell-depleted peripheral blood and cord blood stem cell transplantations[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(8): 1204-1210. DOI:10.1016/j.bbmt.2014.04.017.

[11] DOSIN G, AOUN F, EL RASSY E, *et al*. Viral-induced hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplant[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2017, 17(7): 438-442. DOI:10.1016/j.clml.2017.05.013.

[12] 刘代红, 许兰平, 黄晓军, 等. 异基因造血干细胞移植后迟发性出血性膀胱炎的临床分析[J]. 中华医学杂志, 2007, 87(2): 124-127.
LIU D H, XU L P, HUANG X J, *et al*. Analysis of etiology of hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Natl Med J China, 2007, 87(2): 124-127.

[13] LEE G W, LEE J H, CHOI S J, *et al*. Hemorrhagic cystitis following allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. J Korean Med Sci, 2003, 18(2): 191-195. DOI:10.3346/jkms.2003.18.2.191.

[14] 王彦华, 李春富, 吴学东, 等. 造血干细胞移植后出血性膀胱炎[J]. 实用儿科临床杂志, 2012, 27(3): 218-220.
WANG Y H, LI C F, WU X D, *et al*. Hemorrhagic cystitis after hematopoietic stem cell transplantation[J]. J Appl Clin Pediatr, 2012, 27(3): 218-220.

[15] FU Y W, WANG Q, ZHOU J, *et al*. Reduced intensity conditioning and co-transplantation of unrelated peripheral stem cells combined with umbilical cord mesenchymal stem/stroma cells for young patients with refractory severe aplastic Anemia[J]. Int J Hematol, 2013, 98(6): 658-663. DOI:10.1007/s12185-013-1425-6.

[16] BAYGAN A, ARONSSON-KURTTILA W, MORETTI G, *et al*. Safety and side effects of using placenta-derived decidual stromal cells for graft-versus-host disease and hemorrhagic cystitis[J]. Front Immunol, 2017, 8: 795-804. DOI:10.3389/fimmu.2017.00795.

[17] 邱坤银, 廖雄宇, 郭淑仪, 等. 间充质干细胞治疗儿童难治性迟发性出血性膀胱炎疗效和安全性的临床研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(3): 900-904.
QIU K Y, LIAO X Y, GUO S Y, *et al*. Efficacy and safety of MSC infusion in treatment of children with refractory LOHC: A clinical study[J]. J Exp Hematol, 2018, 26(3): 900-904.

[18] RINGDEN O, LE BLANC K. Mesenchymal stem cells for treatment of acute and chronic graft-versus-host disease, tissue toxicity and hemorrhages[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011, 24(1): 65-72. DOI:10.1016/j.beha.2011.01.003.

(**收稿**:2019-07-02;**修回**:2019-09-27)

(编辑 汪勤俭)