

非清髓单倍体造血干细胞移植联合格列卫治疗慢性粒细胞白血病

刘利¹ 刘强¹ 郝淼旺¹ 陈任安¹ 蒋姗姗¹ 张继良¹
王黎红¹ 何华¹ 吴绒丽¹ 杜娟¹ 叶盛开¹ 尹单单¹ 梁英民¹

[摘要] **目的:**探讨格列卫联合非清髓性单倍体造血干细胞移植在治疗慢性粒细胞白血病(CML)中的作用。**方法:**4例 CML患者,采用移植前、后口服格列卫,以环磷酰胺、阿糖胞苷、抗胸腺细胞球蛋白、赛尼派、环胞素 A 等作非清髓性预处理的单倍体异基因外周血造血干细胞移植。**结果:**移植过程顺利,4例患者均植入成功,嵌合性植入。中性粒细胞 $>0.5\times 10^9/L$ 天数,16(10~21)d血小板 $>20\times 10^9/L$ 天数,10(4~15)d。3例发生 I~II 度皮肤急性移植物抗宿主病(GVHD),1例发生 IV 度皮肤慢性 GVHD。1例+27 d死于肺部感染并多脏器功能衰竭,1例死于 IV 度皮肤慢性 GVHD 并发感染。2例无病存活(随访 16 个月仍健在),且 Ph⁺染色体, bcr/abl 融合基因转阴。**结论:**非清髓单倍体造血干细胞移植联合格列卫治疗 CML 具有降低移植前白血病细胞负荷,抑制残留白血病细胞增殖,促进供者完全嵌合状态的转变,增强抗移植物白血病(GVL)效应的作用,是一种有效的治疗方法,值得进一步临床研究。

[关键词] 造血干细胞移植;白血病,粒细胞性,慢性;非清除性预处理

[中图分类号] R617;R733.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1004-2806(2006)01-0003-04

Haploidentical nonmyeloablative allogeneic transplantation combined with Glivec for treatment of chronic myelogenous leukemia

LIU Li LIU Qiang HAO Miaowang CHEN Renan JIANG Shanshan ZHANG Jiliang
WANG Lihong HE Hua WU Rongli DU Juan YE Shengkai
YIN Dandan LIANG Yingmin

(Department of Hematology Tangdu Hospital the Fourth Military Medical University Shanxi 710038 China)

Abstract **Objective:** To study effect of the treatment of Glivec combined with transplantation of haploidentical nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cells (NST) for chronic myelogenous leukemia **Method:** 4 patients of CML received haploidentical nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cells transplantation combined with Glivec. They all took glivec before and after transplantation. Using CTX, Ara-C, Fludarabine, ATG, Zenapax, CSA as the conditioning regimen for transplantation of haploidentical nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cells. **Result:** All the 4 patients had engraftments of mixed chimerism donor cells. The time of neutrophils greater than $0.5\times 10^9/L$ was 16 days (Range 10~21 days). The time of platelets greater than $20\times 10^9/L$ was 10 days (Range 4~15 days). 4 cases had I~II degree of acute GVHD of skin. 1 case had IV degree of chronic GVHD of skin. 1 case died of lung infection and multi organ failure. 1 case died of IV degree of chronic GVHD of skin and infection. 2 cases survived for 16 months with negative Ph⁺ chromosome and bcr/abl gene. **Conclusion:** The treatment of haploidentical NST combined with Glivec before and after the transplantation for CML could reduced leukemic cell load, inhibited the proliferation of residual leukemic cells, promoted full chimerism change and enhanced the effect of GVL. It provided an effective method for CML.

Key words Hematopoietic cell transplantation; Chronic myelogenous leukemia; Nonmyeloablative preconditioning

慢性粒细胞白血病(CML)生存期多为 2~5 年,尤其在加速、急变后,发展迅速,体内耐药细胞负荷增加,无论是化疗,清髓性移植还是非清髓性移植(NST),长期无病生存均很差^[1],急变后的中位生存期仅 3~6 个月,尚无标准有效的治疗方案。

我们尝试用格列卫联合非清髓性单倍体干细胞移植的方法治疗了 4 例 CML 患者,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

4 例 CML 患者为我科 2002 年 5 月~2003 年 11 月收治的患者。其中男 3 例,女 1 例。中位年龄 26(20~43)岁,平均年龄 31(21~41)岁。慢性

¹西安第四军医大学唐都医院血液科(西安,710038)
通讯作者:梁英民, E-mail: liangym@fmmu.edu.cn
(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

期 (CP) 1例,加速期 (AP) 2例,急变期 (BP) 1例, 1例患者骨髓活检有明显骨髓纤维化。确诊 CML 的时间 8个月~10年不等。

1.2 方法

1.2.1 格列卫治疗 4例患者移植前均接受了格列卫 1~4个月治疗,开始治疗剂量 300~600 mg/d 其中 1例急变患者口服格列卫缓解后 1个月复发,应用化疗方案,同时加用 800 mg/d 1.5个月后再次获得完全血液学缓解,此后进行 NST。移植期间停药。移植后根据移植前疾病状态、血细胞下降程度及嵌合体情况,加用格列卫 300~1500 mg/d。BCR/ABL检测阴性,供者嵌合体达 100%停药。

1.2.2 非清髓性预处理方案 抗胸腺细胞球蛋白 (ATG) 100 mg/d×4~5 d 环磷酰胺 (CTX) 40~50 mg/kg×2 d 阿糖胞苷 (Ara-C) 150~200 mg/kg 分 3或 4 d用,氟达拉滨 50 mg/d×5 d 2例于 +1 d +4 d应用抗 CD25单抗 (赛尼派 50 mg), 2例加用抗 CD3单抗。

1.2.3 移植抗宿主病的预防 4例患者从 -5 d 开始用环胞素 A 250 mg/d 静脉滴注,至 +30 d改口服;同时合用霉酚酸酯 (骁悉, MMF) 2.0 g/d 2例患者移植后 +1、+3、+6 d加用甲氨喋呤 (MTX) 12~15 mg/d 2例于 +1 d +4 d应用抗 CD25单抗 50 mg 2例加用抗 CD3单抗。

1.2.4 供者及干细胞动员 HLA配型 1例 2个位点不相合的同胞, 1例 3个位点不相合的同胞及 2例半匹配的母亲供者。干细胞动员供者用重组粒细胞集落刺激因子 (rhG-CSF, 格拉诺赛特, 日本中外制药公司生产) 5 μg/(kg·d)皮下注射共 5 d于第 4~6天连续 3 d用 COBE SPECTRA (COBE公司)血细胞分离机分离外周血干细胞。每次采集循环血量 8~12 L 终体积为 0.05~0.10 L。其中第 1、2天采集的细胞输入受者体内,第 3天所采细胞梯度降温后低温冻存储备用。每例输注单个核细胞数 (MNC) >4.0×10⁸/kg CD34⁺细胞 >4.0×10⁶/kg体重。

1.2.5 供者动员后造血干细胞输注 2例半匹配母亲为供者的患者移植后根据检测情况 and 有无移植抗宿主病 (GVHD)征象,于 +22 d开始进行了 1~8次的造血干细胞输注 (DSI)每次 MNC数量为 5×10⁷~4.5×10⁸/kg体重。其余 2例均未予分次

DSI

1.2.6 植入指标检测 4例患者均进行嵌合体检测;采用 STR-PCR方法检测。

1.2.7 残留病变检测 G带染色体分析技术和 RT-PCR检测 bcr/ab转录本的表达情况。

2 结果

2.1 移植前格列卫治疗

移植前格列卫治疗结果见表 1。

2.2 移植结果

移植前接受不同时间的格列卫治疗的患者均接受了非清髓性预处理方案的单倍体造血干细胞移植,结果见表 2。

4例患者均获得不同程度的嵌合状态, 1例获得完全嵌合 (FC=100%), 3例获得 50%~66%的混合嵌合。0~+13 d外周血白细胞降至最低 (<0.1×10⁹/L), 血小板于 +2~+12 d降至最低 (<1.0×10⁹/L)。中性粒细胞 >0.5×10⁹/L天数, 16 (10~21) d 血小板 >20×10⁹/L天数, 10 (4~15) d。1例患者 +25 d嵌合体检测为 100%,但因多脏器衰竭于 27 d死亡。3例患者随访 7~17个月,除 1例因慢性 GVHD (cGVHD)死于感染,余 2例仍存活,平均无病生存 12.5 (7~16)个月,无复发病例, 3例患者有 bcr/ab动态检测结果,均在 +61~+130 d转阴。移植相关的并发症主要有黏膜炎 4例,肺部感染 2例,肠道感染 1例, I / II 度急性 GVHD (aGVHD) 3例, IV 度 cGVHD 1例。

2.3 移植后嵌合体、bcr/ab状态与格列卫治疗

移植后 3例患者因混合嵌合状态继续接受了格列卫治疗, 2例同时应用了供者动员后造血干细胞输注, 3例动态观察了嵌合状态及白血病残留病变的变化与格列卫治疗的关系。

其中病例 4联合应用 DSI 3次, 3个月完全转化为完全嵌合,病例 3为首次移植联合格列卫 (600~800 mg/d)治疗再次急变的病例,在增加格列卫 1200~1500 mg/d 同时进行 2次移植, +42 d供者嵌合体检测为 100%,但骨髓增生低下,造血很难恢复,此后 79 d内反复 8次 DSI输注,血常规恢复正常, BCR/ABL检测转阴。

2.4 DSI输注

4例患者中 2例半相合母亲为供者的患者在 +22~79 d之间因混合嵌合体接受了 DS输注,其

表 1 CML 患者移植前格列卫治疗结果

例号	性别	年龄/岁	确诊时间	治疗时疾病状态	治疗剂量/mg	时间	治疗效果
1	女	41	2001年 4月	加速期	400	3个月	CR、BM抑制
2	男	21	2002年 2月	慢性期	400	4个月	CR
3	男	29	1993年 3月	急变期	600	1个月	CR之后复发
					800	1.5个月	二次 CR
4	男	21	2001年 8月	加速期、纤维化	400	50 d	PR

表 2 CML 患者移植后格列卫治疗效果

例号	供者配型	移植时间	治疗 剂量 /mg	开始 时间 /d	DSI 时间 /d	嵌合体 时间 /d	bcr/abl	aGVHD /cGVHD	随访时间
1	胞弟 (3/6)	2003年 5月		无	无	100% (+25)	无	II/	多脏器衰竭死亡 1个月
2	胞妹 (4/6)	2003年 6月	300	(+31)	无	55% (+21) 73% (+41) 95% (+72) 100% (+100) 100% (+6.5月)	(-)+61 (-)+72 (-)+100 (-)+6.5m	I/II	16个月
3	母亲 (4/6)	2003年 11月	800	(-7)	无	50%		+38d复发	
	二次移植	2004年 01月	1200 1500	(-7) (+15)	(5×10 ⁷ /kg)+22 (5×10 ⁷ /kg)+29 (5×10 ⁷ /kg)+31 (10×10 ⁷ /kg)+35 (15×10 ⁷ /kg)+40 (5.4×10 ⁸ /kg)+48 (5.4×10 ⁸ /kg)+49 (3.55×10 ⁸ /kg)+79	44% (+37) 100% (+42) 100% (+54) 100% (+91)	(-)+69 (-)+90 (-)+120 (-)+200	I/II	10个月
4	母亲 (3/6)	2003年 12月	600 800	(+2) (+25)	(3.2×10 ⁸ /kg)+22 (3.6×10 ⁸ /kg)+51 (2.0×10 ⁸ /kg)+57 (2.3×10 ⁸ /kg)+68	66% (+22) 45% (+45) 65% (+64) 85% (+94) 95% (+98) 100% (+180)	(+)+45 (+)+64 (-)+130	II/IV	7个月

中, 1例移植后, 血常规恢复很慢, 首次嵌合体为 66%, 输注 DSI(同时格列卫剂量 800 mg/d)后半个月, 嵌合体又降至 45%, 后在 1周内连续 3次输注 DSI嵌合比例逐渐增加, 95 d以后达到 95%以上。另 1例患者首次移植后 38 d复发, 在大剂量格列卫 (1200~1500 mg/d)和非清髓性预处理方案的基础上, 在 +79 d因连续 8次输注供者的 DSI +42 d 供者嵌合体为 100%。第 69天 RT-PCR bcr/abl mRNA 检测转阴性, 此后血常规完全恢复正常。2例接受 DSI输注的患者, 仅皮疹稍增多, 未发现 GVHD明显加重的变化, 1例 5个月后发展广泛性皮肤 GVHD外, 另 1例共接受 8次供者 DSI输注患者, 未出现任何 GVHD反应, 随访 8个月, 供者嵌合仍为 100%, bcr/abl检测为阴性。

3 讨论

非清髓异基因造血干细胞移植 (NST)是 20世纪 90年代末伴随免疫学和移植学研究进展而发展起来的一种新的移植模式。近年来大量研究表明, 传统致死剂量的预处理并不足以彻底杀灭白血病细胞, 而且实际上 Allo-SCT卓越的疗效主要得益于供体细胞植入后产生的移植物抗白血病 (GVL)效应而非大剂量致死性预处理^[2~4]。由于 NST具有并发症少、安全性高、疗效好等优点, 备受国内外学者关注。近年来越来越多地用于 CML的治疗, 并

取得了较好的疗效。对于加速、急变的 CML患者, 由于已经接受了较多化疗, 脏器功能较差且往往存在较多并发症, 难以耐受传统 Allo-SCT的致死性大剂量预处理, 更适合行非清髓异基因造血干细胞移植。

4例患者由于无 HLA 完全相合的供者只能行单倍体非清髓性的造血干细胞移植。我们应用供者 G-CSF动员和受者联合应用多种免疫抑制剂治疗控制单倍体移植高危 GVHD的发生, 取得令人满意的效果。供者应用 G-CSF可促进植入物免疫细胞生物学功能的改变, G-CSF可诱导骨髓 CD4⁺、CD8⁺ T淋巴细胞, 抑制混合淋巴细胞反应及致死性 GVHD的发生^[5,6]。移植时预防 GVHD除 CSA 与 MTX外, 还加用了 ATG、CD25单抗和 MMF进一步加强免疫抑制作用。我们从 -5 d~-1 d使用 ATG, 其抗 CD4、CD8、CD16、CD28和 MHC I 类抗原作用可持续 10~15 d 在 HLA 匹配及不匹配移植中, 对预防急性重度 GVHD的发生有明显疗效^[7]。应用 MMF联合 CSA 预防 GVHD, 在单倍体造血干细胞移植中越来越多, 并且取得了良好的效果^[8]。本组病例, 我们还使用了 CD25单抗, 它能有效抑制 IL-2介导的 T细胞克隆增殖活性。T细胞活化后, IL-2受体 α链迅速表达和被激活, 并与受体 β和 γ结合, 形成 IL-2受体 αβγ复合体, 它与 IL-2具有极

高的亲和力,刺激 T 细胞增殖。CD25 抗体是在 T 细胞克隆增殖前,针对性作用于活化后的 T 细胞 IL-2 受体 α 链,具有选择性抑制 T 细胞功能^[4]。CD25 抗体具清除细胞毒淋巴细胞前体 (CTL p) 细胞的作用,CTL p 在异基因骨髓移植中诱导重度 GVHD 起关键作用,因此具有降低急性重度 GVHD 的疗效^[5,6]。

CML 近年治疗的最大进展是应用酪氨酸激酶抑制剂格列卫,它是在 CML 分子生物学研究成果的基础上针对 CML 致病分子 bcr/abl 而设计的靶向药物,为肿瘤治疗药物的设计提供了新的方向,其意义是划时代的。格列卫做为分子靶向药物,能特异性地抑制 bcr/abl 酪氨酸激酶活性,并抑制 bcr/abl 阳性细胞的生长,且毒副作用小,耐受性好^[2,7]。本研究对 4 例 CML 患者进行了非清髓性单倍体造血干细胞移植,在移植前和移植后联合应用了格列卫治疗。4 例患者移植前均接受 1~4 个月格列卫治疗。4 例患者均获得不同程度的血液学缓解,为移植创立了一个良好条件,此后,对所有患者进行了 NST 均获得不同程度的植入。为防止移植后体内残留白血病细胞的过快增殖,尽可能减少白血病细胞的的负荷,防止复发,有利于供者嵌合体的转变及更有效地发挥 GVL 作用,对移植后 3 例混和性嵌合状态继续服用格列卫治疗,很快转化为完全供者嵌合状态。随访 7~16 个月,4 例患者中,除 1 例分别在 +27 d 移植相关并发症死亡外,1 例于移植后 17 个月因 α GVHD 并发感染死亡,余 2 例仍存活,平均无病生存 12.5 (7~16) 个月,无复发病例。我们的病例中,慢性期仅 1 例,加速期 2 例,急变期 1 例,且 1 例患者骨髓活检有明显骨髓纤维化。并且进行的是单倍体非清髓性的造血干细胞移植,取得了较好的移植成功率和长期无病生存率可能与移植前后联合应用了格列卫治疗有关。

非清髓性造血干细胞移植后混和性嵌合状态向完全供者嵌合状态的转化,通常通过减少或停用免疫抑制剂,进行 DLI 治疗^[4,8]。本组对 3 例移植后混合嵌合状态的患者应用格列卫治疗,结果提示,移植后联合应用格列卫治疗,有利于混合嵌合体向完全嵌合体转变的作用。

格列卫治疗剂量通常为 400~600 mg/d 最大剂量不超过 1000 mg/d 本组 1 例 CML BP 的患者移植后用 800 mg/d 格列卫治疗,但 38 d 再次复发^[1,7,9],随即接受了 1200~1500 mg/d 格列卫治疗同时进行 2 次移植并获得成功,说明更大剂量的格列卫治疗可能有克服 CML 耐药性的问题,值得

进一步临床验证。

非清髓单倍体造血干细胞移植前、后联合格列卫治疗 CML 具有降低移植前白血病细胞负荷,抑制残留白血病细胞增殖,促进了混合嵌合体向完全嵌合体的转变,增强 GVL 效应的作用,而对植入率和并发症未产生明显不良影响,是一种安全有效的治疗方法。由于本研究病例数仍较少,研究期间所发现的问题仍有待于进一步临床验证。

参考文献

- 1 Wadhwa J, Szydlo R M, Apperley J F, et al Factors affecting duration of survival after onset of blastic transformation of chronic myeloid leukemia Blood 2002, 99: 2304-2309.
- 2 Deininger M W, Goldman J M, Lydon N, et al The tyrosine kinase inhibitor CGP571 48B selectively inhibits the growth of BCR-ABL positive cells Blood 1997, 90: 3691-3698.
- 3 梁辉,王昀,邓晓辉,等. 无关供体非清髓性干细胞移植治疗慢性粒细胞白血病一例. 临床血液学杂志, 2002, 15(4): 175-177.
- 4 Champlin R, Khouri I, Shimon A, et al Harnessing graft versus malignancy: Non myeloablative preparative regimens for allogeneic haematopoietic transplantation: an evolving strategy for adoptive immunotherapy Br J Haematol 2000, 111: 18-29.
- 5 Baker M B, Altman N H, Podack E R, et al The role of cell mediated cytotoxicity in acute GVHD after MHC mediated bone marrow transplantation in mice J Exp Med 1996, 183: 2645-2656.
- 6 Harris D T, Sakiestewa D, Lyons C, et al Prevention of graft-versus-host disease (GVHD) by elimination of recipient-reactive donor T cells with recombinant toxins that target the interleukin-2 (IL-2) receptor Bone Marrow Transplantation 1999, 23: 137-144.
- 7 Druker B J Imatinib A lone and in Combination for Chronic Myeloid Leukemia Seminars in Hematology 2003, 40: 50-58.
- 8 Slavik 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 Blood 1998, 91: 756-763.
- 9 Druker B J, Talpaz M, Resta D J, et al Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia N Engl J Med 2001, 344: 1031-1037.

(收稿日期: 2004-10-18)