

· 临床研究 ·

非血缘相关脐血移植治疗儿童高危白血病的临床观察

唐湘凤, 栾佐, 徐世侠, 吴南海, 黄友章, 王凯

(中国人民解放军海军总医院儿科, 北京 100037)

[摘要] 目的 非血缘脐血具有快速寻求、容易得到和 HLA 配型不严格的特点, 该文进行了非血缘相关脐血移植(UD-UCBT)治疗儿童恶性白血病的研究并探讨其疗效问题。**方法** 对6例难治性白血病患者, 包括3例急性淋巴细胞白血病(2例高危 CR1, 1例标危 CR2), 2例幼年慢性粒单细胞白血病(1例缓解期, 1例加速期)和1例急性髓系白血病(AML-M5, CR1)进行了非血缘相关脐血移植, HLA 高分辨1例全相合, 1例5个位点相合, 1例4个位点相合, 3例3个位点相合。预处理选用白消安/环磷酰胺/ATG 或全身放疗/环磷酰胺/ATG 为主方案。于0 d 回输脐血, 有核细胞中位数为 $8.51 \times 10^7/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞中位数为 $1.81 \times 10^5/\text{kg}$ 。预防移植物抗宿主病(GVHD)采用环孢霉素 A、甲基泼尼松龙和骁悉或 CD25 单抗。**结果** 中性粒细胞绝对值(ANC) $\geq 0.5 \times 10^9/\text{L}$ 和 $\text{PLT} \geq 20 \times 10^9/\text{L}$ 的中位天数分别是 +13 d、+30 d, 移植证据均为供者型。4例出现 I ~ III 度 GVHD, 均控制。随访中位时间12个月, 未发生慢性 GVHD, 现存活4例血型均转为供者型, 无复发。**结论** 脐血提供快速有效的造血干细胞, 为治疗儿童白血病提供良好时机, 非血缘相关脐血移植能耐受 HLA 多个位点不相合。急性 GVHD 发生率也较高, 存在移植物抗白血病作用。

[中国当代儿科杂志, 2008, 10(1): 5-8]

[关键词] 非血缘脐血移植; 白血病; 移植物抗宿主病; 儿童

[中图分类号] R733.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)01-0005-04

Unrelated umbilical cord blood transplantation as a treatment for children with malignant leukemia

TANG Xiang-Feng, LUAN Zuo, XU Shi-Xia, WU Nan-Hai, HUANG You-Zhang, WANG Kai. Department of Pediatrics, Navy General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100037, China (Email: txfeng70@sina.com.cn)

Abstract: Objective Unrelated umbilical cord blood has the clear benefits of rapid availability and a reduced stringency of requirement for HLA match. The aim of this study was to investigate the efficacy of unrelated umbilical cord blood transplantation (UCBT) in the treatment of malignant leukemia in children. **Methods** Six children with malignant leukemia, including three cases of acute lymphocyte leukemia [two high-risk patients and one standard-risk patient in complete remission (CR)], two juvenile myelomonocytic leukemia (one in CR and one in the accelerating stage), and one acute myeloblastic leukaemia (in CR), received a UCBT. The umbilical cord blood grafts were HLA-matched ($n=1$) or HLA-mismatched at 1 ($n=1$) or 2 ($n=1$) or 3 ($n=3$) loci. Busulfan/cyclophosphamide/antithymocyte globulin (ATG) or total body irradiation (TBI)/cyclophosphamide/ATG was involved in the myeloablative pretreatment regimen. The median infused donor nucleated cell was $8.51 \times 10^7/\text{kg}$ of recipient weight, and the $\text{CD}34^+$ cell was $1.81 \times 10^5/\text{kg}$ of recipient weight. Cyclosporin, corticoid, mycophenolate mofetil and daclizumab were used for prophylaxis of acute graft versus host disease (GVHD). **Results** The time to reach an absolute neutrophil count of $0.5 \times 10^9/\text{L}$ ranged from 11 to 35 days (median: 13 days) and the time to reach a platelet count of $20 \times 10^9/\text{L}$ ranged from 27 to 68 days (median: 30 days) after transplantation, and the donors' hematopoietic stem cells were shown in these patients. Four patients developed grade I to III acute GVHD but responded to steroids and daclizumab. Chronic GVHD was not found during a 3-16-month follow-up. Four patients survived and did not relapse during the follow-up. **Conclusions** Unrelated umbilical cord blood is an alternative source of hematopoietic stem cells for patients with leukemia. UCBT can tolerate 1-2 HLA mismatches. The incidence of acute GVHD is high in UCBT recipients.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10(1): 5-8]

Key words: Unrelated umbilical cord blood transplantation; Leukemia; Graft versus host disease; Child

由于非血缘脐血具有快速寻求、HLA 配型不严格等独特优势, 因此其发展很快, 是目前治疗儿童恶性白血病主要措施之一。为了观察人类白细胞抗原 不全相合非血缘相关脐血移植(UD-UCBT)治疗儿童恶性白血病疗效, 我科于 2005 年 11 月至 2006 年 1 月对 6 例难治性白血病患者进行了 UD-UCBT 治

[收稿日期] 2007-03-13; [修回日期] 2007-04-12
[作者简介] 唐湘凤, 女, 硕士, 主治医师。主攻方向: 造血干细胞移植。
[通讯作者] 栾佐, 男, 教授, 中国人民解放军海军总医院儿科, 邮编: 100037。

疗,现报道如下。

1 病例和方法

1.1 病例资料

白血病患者6 例,男5 例,女1 例,中位年龄5.1 (1.4~8.0)岁,中位体重21(10~36)kg,急性淋巴细胞白血病(ALL)3 例,其中2 例高危CR1(1 例为婴儿型,另1 例为BCR-ABL 阳性),1 例标危CR2,幼年慢性粒单细胞白血病(JMML)2 例,其中1 例缓解期,1 例加速期,急性髓系白血病(AML-M5)1 例,为CR1。4 例CMV-IgG 为阳性,CMV-IgM 均为阴性。

1.2 脐血资料

6 例患儿均接受单份非血缘供体脐血,来自于山东脐血库2 例,广州脐血库2 例,四川脐血库1 例,北京脐血库1 例,HLA 配型见表1。检测乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎抗体(HCV-Ab)、单纯疱疹病毒及巨细胞病毒(CMV)IgM 和IgG 均阴性,HLA 初分辨2 例全相合,3 例5 个位点相合,1 例4 个位点相合,HLA 高分辨1 例全相合,1 例5 个位点相合,1 例4 个位点相合,3 例3 个位点相合。

1.3 预处理

均采用清髓性预处理。2 例ALL 采用全身放疗(TBI)/环磷酰胺(Cy)/ATG,4 例采用白消安(Bu)/环磷酰胺(Cy)/ATG,其中2 例JMML 加马法兰,1 例ALL 和1 例ANLL 加鬼臼乙叉甙(VP16)。于0 d 回输脐血有核细胞中位数为8.51(4.27~12.2)×10⁷/kg,CD34⁺细胞的中位数为1.81(1.27~2.31)×10⁵/kg。

1.4 移植抗宿主病(GVHD)的预防

采用环孢霉素A(CsA)和小剂量甲基泼尼松龙(MP),CsA 从-1 d 开始每日按3 mg/kg 持续24 h

静滴,待肠道恢复正常时改口服,使用CsA 期间,采用荧光偏振免疫测定法,每周监测CsA 血药浓度,根据其调整剂量,使其维持在200~400/L,移植后180 d,逐渐减量停药。3 例另加骁悉(MMF),1 例加用CD20 单抗。

1.5 肝静脉闭塞症和巨细胞病毒感染的预防

给予凯时、低分子肝素预防肝静脉闭塞症(VOD);移植前静滴更昔洛韦,移植后口服阿昔洛韦预防巨细胞病毒感染。

1.6 支持治疗

预处理同时给予水化、碱化,莪丹西酮止吐,移植后最初每周2~3 次予以人血免疫丙种球蛋白,5~10 g/d,待植入改为每周1 次。酌情给予脂肪乳、氨基酸、人血白蛋白等治疗;当血小板和血红蛋白分别低于20×10⁹/L 和70 g/L 时输注机采血小板和红细胞悬液,血制品输注前均经⁶⁰Co 20Gy 照射,相应过滤器过滤。自移植后1 d 开始至白细胞数上升>10×10⁹/L 给予应用粒细胞刺激因子。

1.7 移植证据的检测

移植后WBC≥2.0×10⁹/L 时采骨髓行如下检测:对于HLA 不相合采用分子生物学PCR-SSO 方法检测不同位点基因分型。对于不同性别采用性染色体核型鉴定。对于HLA 全相合且同性别者采用荧光标记复合扩增短串联重复(STR)位点,即PCR-STR 方法检测。

2 结果

2.1 造血功能重建

6 例全部植入。外周血白细胞降至0 的中位时间为5(4~7) d,中性粒细胞绝对值(ANC)≥0.5×10⁹/L 的中位时间是13(11~35) d,PLT≥20×10⁹/L 的中位时间为30(27~68) d,其后脱离血小板输注。

表1 6 例难治性白血病患者和所用脐血的HLA 配型情况

例数	患儿/脐血	性别	血型	HLA-A		HLA-B		HLA-DRB1		相合情况初/高
1	患儿	女	B	110101	240201	1301	5801	030101	150101	5/6 和 5/6
	脐血	男	O	330301	24020101	1301	5801	030101	150101	
2	患儿	男	O	1101	3201	3501	5801	0301	1301	4/6 和 3/6
	脐血	女	O	1101	0101	5701	5801	0301	1302	
3	患儿	男	B	020101	020102	1511	1518	1201	090102	5/6 和 3/6
	脐血	男	A	0206	0206	4801	1518	1201	090102	
4	患儿	男	B	110101	240201	3901	1518	0701	150101	5/6 和 4/6
	脐血	女	A	1102	2402	3901	1518	1101	150101	
5	患儿	男	A	020101	020101	150101	4801	1405	0901	6/6 和 6/6
	脐血	男	B	020101	020101	150101	4801	1405	090102	
6	患儿	男	A	020101	030101	4601	3503	0402	1201	6/6 和 3/6
	脐血	男	B	0207	030101	4601	3503	040301	120201	

2.2 GVHD 的发生情况

6例患儿中,4例发生急性GVHD,其中3例为Ⅰ~Ⅱ度皮肤型,1例为Ⅲ度皮肤型,表现全身布满皮疹。3例给予中剂量MP(每日5 mg/kg)冲击控制,1例使用大剂量每日(10 mg/kg)MP冲击5 d,皮疹增多,随后给予4剂CD25单抗,皮疹控制,未出现肠道GVHD表现。

2.3 感染其他并发症与治疗

6例均在30 d内发热,1例血培养为大肠埃希菌,给予泰能及去甲万古霉素治疗控制,2例合并真菌感染,1例为鼻腔曲霉菌感染,1例肺部真菌感染,均给予抗真菌药物控制。1例+92 d出现发热,颈部淋巴结肿大,通过荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测EBV-DNA为阳性,颈部淋巴结活检确诊为EB病毒相关性淋巴结增殖性疾病,给予4剂CD20单克隆抗体控制。5例出现CMV感染,给予可耐、更昔洛韦和大剂量丙种球蛋白治疗控制,其中1例在+130 d再次感染CMV而出现间质性肺炎治疗无效死亡。1例于+64 d出现出血性膀胱炎,给予大量水化碱化后约40 d治愈。

2.4 植入证据

移植后28 d或42 d抽骨髓进行性染色体检测或PCR-SSO方法检测不同的位点基因分型均为供者型。

2.5 随访

随访至2006年10月,现随访中位时间12(3~16)个月,1例于+130 d死于间质性肺炎,1例婴儿白血病于+80 d白血病复发,现在治疗中,其他4例均在缓解中,血型均为供体型,其中包括1例并发EB病毒相关性淋巴细胞增殖性疾病的患儿。

3 讨论

本组6例患儿给予非血缘相关HLA全相合或部分相合脐血移植均植入,植入率达100%,其中1例在原发病复发前查嵌合体为100%供者型,死于间质性肺炎的1例在死亡前仍为100%供体型,其他4例现血型均为供体型,这说明非血缘相关脐血是有效的造血干细胞来源,尤其对于那些由于疾病需要,不能快速取得合适供体的患者,非血缘相关脐血能提供及时的供源。本组患儿中性粒细胞和血小板植入的中位时间分别是13 d、30 d,而国内外相关文献报道^[1,2],中性粒细胞植入的中位时间分别是17.8 d或28 d,而血小板植入的中位时间分别或44.7 d或54 d,本组植入时间较快,这与预处理给予

的清髓和强力的免疫抑制有关,同时与输入的单个核细胞数和CD34⁺细胞数高也成正比,这证实了脐血植入不仅与输入的单个核细胞数有关,更与CD34⁺细胞数有关^[3]。

通常认为脐血移植GVHD发生率及严重程度比骨髓移植低^[4],原因是由于脐血淋巴细胞和NK细胞功能不成熟,其免疫原性低,脐血淋巴细胞参与免疫反应的细胞因子量不足。而本组6例患儿有4例发生GVHD,GVHD发生率高的因素有:与HLA不相合有关,因为6例中有3例高分辨3个位点相合者,其次与低体重、CD34⁺细胞数高有关,如本文1例发生Ⅲ度GVHD,而此例HLA为全相合,正如文献报道^[5]观察了69例脐血移植患儿,发现低体重常伴随GVHD的发生,体重<12 kg比体重>12 kg急性GVHD的发生率高,有统计学意义,与CD3⁺和CD34⁺细胞数高有相关性。所发生的GVHD均能够有效地控制,但有时也需要二线药物控制。

根据相关报道^[4,6],UD-CBT与无关骨髓移植(UD-BMT)相比,疾病复发率无明显统计学意义,所不同处是:UD-CBT后慢性GVHD发生率低,造血免疫恢复明显慢。由于UD-CBT后免疫恢复慢,致使合并感染相对重些,尤其CMV感染机会大,与相关报道不同,其认为由于脐血受CMV感染机会少,因此移植后CMV感染机会较骨髓少,本组CMV感染机会大,原因尚不明,这可能与检查手段敏感有关,且与患儿在移植前曾受CMV感染,在免疫力低下时复燃有关,此种因素需要进一步研究。给予相应的处理后均控制,仅1例患儿在给予足量诱导和维持治疗达8周后,于+130天再次出现CMV血症,并且给予相应处理,效果差,其原因是本例患儿的植入时间明显延迟,导致发生顽固的CMV血症,其后出现耐药,致使最后死于间质性肺炎。因此对于造血重建慢、发生CMV血症者,除了给予足够疗程的治疗外,更要注意严密观察CMV感染的变化,争取尽早发现和控制CMV感染,适当延长维持治疗时间。同时本组病例中有1例患儿在移植后80 d原发病复发,此例为婴儿白血病,进一步提示婴幼儿白血病预后极差,有关报道^[7]其1年存活率仅56%。

脐血移植也会出现一些少见并发症,如1例在+92天出现EB病毒相关性淋巴结增殖性疾病,此例经过有效治疗后,现仍处于缓解期。治疗之所以有效,与及早确诊有很大关系,因此对于临床上移植后如发现不能解释的发热和扁桃体、淋巴结肿大者,要给予查EB病毒感染的情况,对此病要提高认识。

本组 6 例脐血移植患儿中,4 例缓解,与国内相关文献报道相比死亡率较低,可能与病例数少及随访时间短有关。通过本研究 6 例脐血移植治疗儿童恶性白血病的疗效观察认为:脐血是有效的造血干细胞供体来源之一,但非血缘相关脐血移植的 GVHD 发生率也较高,程度也重,而且脐血移植会出现许多并发症,应尽早做出诊治,挽救患者生命。

[参 考 文 献]

[1] Ohnuma K, Isoyama K, Nishihira H. Cord blood transplantation from HLA-mismatched unrelated donors [J]. *Leukem Lymph*, 2002, 43(5):1029-1034.

[2] 周敦华,黄绍良,方建培,黄科,黎阳,陈纯等.非血缘供者脐血移植治疗 14 例儿童白血病的临床研究[J]. *中华血液学杂志*, 2005, 26(2):112-113.

[3] Wagner JE, Barker JN, Defor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related

mortality and survival[J]. *Blood*, 2002, 100(5):1611-1618.

[4] Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia[J]. *Blood*, 2001, 97(10):2962-2971.

[5] Martin PL, Carter SL, Kernan NA, Sabdev I, Wall D, Pietryga D, et al. Results of the cord blood transplantation study (COBLT): Outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006, 12(2):184-194.

[6] Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? [J]. *Blood*, 2003, 101(11):4233-4244.

[7] Wall DA, Carter SL, Kernan NA, Kapoor N, Kamani NR, Brochstein SA, et al. Busulfan/melphalan/Antithymocyto globulin followed unrelated donor cord blood transplantation for treatment of infant leukemia and leukemia in young children: the cord blood transplantation study (COBLT) experience[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, 11(8):637-646.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

欢迎订阅《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊和国际权威检索机构美国 MEDLINE、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊,是《中国医学文摘·儿科学》引用的核心期刊,同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》和《万方数据——数字化网络期刊》全文收录。已被复旦大学、浙江大学、中南大学和中国医科大学等国内著名大学认定为儿科核心期刊。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、社区医师园地、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为双月刊,大 16 开本,80 页,亚光铜版纸印刷,逢双月 15 日出版(2009 年起将改为月刊),向国内外公开发行人。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价 12 元,全年 72 元。邮发代号:42-188。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免审稿费,审稿周期短(4~8 周)。请登录本刊网站了解详情。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008
电话:0731-4327402 传真:0731-4327922 Email:ddek@vip.163.com
投稿网址: [http:// www. cjcp. org](http://www.cjcp.org)