

二次同胞全合移植治疗幼年型 粒单细胞白血病1例

茅君卿 宋华 杨世隆 赵芬英 沈笛颖 汤永民

(浙江大学医学院附属儿童医院血液肿瘤科,浙江 杭州 310003)

患儿,男性,3岁4个月,因皮疹半月、口腔溃疡伴咽痛1周入院。入院时体查:双侧颈部触及数枚黄豆大小淋巴结,质地中等,活动可,无触痛,口腔黏膜有多处溃烂,咽部充血,双侧扁桃体Ⅱ度肿大,心肺听诊无特殊,腹软,肝脏肋下1 cm,质软,边锐,无压痛,脾脏肋下未及,神经系统无阳性体征,全身皮肤散在出血性皮疹,以双下肢为主。血常规:白细胞 $23.1 \times 10^9/L$ (↑),单核细胞绝对值 $4.01 \times 10^9/L$ (↑),中性粒细胞绝对值 $10.8 \times 10^9/L$ (↑),淋巴细胞绝对值 $7.75 \times 10^9/L$ (↑),血红蛋白104 g/L(↓),血小板计数 $34 \times 10^9/L$ (↓),异常细胞5%(↑)。血红蛋白电泳 HbA 24%(↓),HbF 75.5%(↑),HbA2 0.5%。B超提示肝脾肿大。骨髓常规:单核系统极度增生,幼稚单核细胞12%,成熟单核细胞3%,原始粒细胞3%。骨髓活检未见异常细胞。骨髓流式细胞仪免疫学分析:成熟单核细胞占9.7%,中性粒细胞占80%,粒、单核细胞比例增高。BCR/ABL融合基因阴性。染色体核型:46,XY[20]。诊断为幼年型粒单细胞白血病(juvenile myelomonocytic leukemia, JMML),未予化疗。患儿与胞姐HLA分型10/10全相合,血型相同。确诊3个月后进行同胞全合外周血造血干细胞移植。预处理采用Ara-C+Bu/Cy方案,具体药物及剂量如下:阿糖胞苷(Ara-C)(12 g/m^2) + 白舒非(Bu)(12.8 mg/kg) + 环磷酰胺(Cy)(3.6 g/m^2)。移植抗宿主病(GVHD)预防方案:环孢素A(CSA) + 吗替麦考酚酯胶囊(MMF) + 甲氨蝶呤(MTX)。输注有核细胞数 $7.9 \times 10^8/\text{kg}$,CD34⁺细胞数 $6.1 \times 10^6/\text{kg}$ 。移植后+6 d起应用粒细胞集落刺激因子(G-CSF)(惠尔血 $75 \text{ } \mu\text{g/d}$),+15 d起粒细胞 $>0.5 \times 10^9/L$,血小板 $>20 \times 10^9/L$ 。+16 d定量PCR检测短串联重复序列(STR)显示供者造血干细胞完全植入,染色体检查为女性型(X/X)。复查骨髓常规:增生活跃,未见单核细胞

及原始粒细胞。皮疹消退,口腔溃疡愈合,肝脾肋下未及。供者成分植活后患儿外周血单核细胞比例一直偏高,波动在16.4%~27.4%,+43 d起恢复正常。+44 d HbF恢复至正常水平(1.5%)。移植后出现Ⅰ度GVHD,仅于+18 d时出现少许皮疹,经地塞米松口服治疗后即好转。+15 d停用MMF。+67 d患儿出现发热,伴有口腔溃疡及全身皮肤散在出血性皮疹,双下肢为主,体查肝脾肋下刚及。血常规:白细胞 $14.3 \times 10^9/L$,单核细胞40%,淋巴细胞30.2%,中性粒细胞26.7%,血红蛋白116 g/L,血小板 $13 \times 10^9/L$,外周血单核细胞再次增多,血小板再度降低。复查STR:患者自身特异性等位基因比例22.5%,供者特异性等位基因比例5.3%,两者相同等位基因比例72.2%,供者成分减少,自身造血部分恢复。复查血红蛋白电泳:HbA 95.5%,HbF 3.0%,HbA 21.5%,HbF再次升高。考虑患儿JMML复发,立即停用CSA。+80 d予供者淋巴细胞输注,输注有核细胞数 $9.68 \times 10^7/\text{kg}$,CD3⁺细胞数 $6.37 \times 10^7/\text{kg}$ 。+84 d患儿出现皮肤GVHD(Ⅰ度),未做特殊处理,+95 d皮疹消退。+103 d复查骨髓常规:单核细胞明显增多,幼稚单核细胞1%,成熟单核细胞17%,另有18%分类不明幼稚细胞。+113 d复查STR:患者自身特异性等位基因比例25.6%,供者特异性等位基因比例2.5%,两者相同等位基因比例71.9%。+114 d起予免疫增强治疗:胸腺肽1.6 mg,隔天一次;白介素2从每天20万U逐渐增量至每天60万U,+124 d因患儿出现气促症状而停用。上述处理未能改善患儿疾病状态,HbF逐渐升高,+120 d HbF升至14.5%。

移植后5.8个月患儿行第二次造血干细胞移植。选择同一供者再次动员分离外周血造血干细胞。预处理采用FLAG+BU/CY方案,具体如下:G-CSF($200 \text{ } \mu\text{g/kg}$,qd×5 d) + 氟达拉滨(Flu)(30 mg/m^2 ,qd

[收稿日期]2013-01-22;[修回日期]2013-03-15
[基金项目]浙江省教育厅科研项目。
[作者简介]茅君卿,女,硕士,主治医师。

$\times 5 \text{ d}$) + Ara-C(2 g/m^2 , qd $\times 5 \text{ d}$) + Bu(0.8 mg/kg , q6h $\times 4 \text{ d}$) + Cy(1.0 g/m^2 , qd $\times 2 \text{ d}$)。以 CSA + MTX 方案预防 GVHD。输注有核细胞数 $9.1 \times 10^8/\text{kg}$, $\text{CD}34^+$ 细胞数 $4.3 \times 10^6/\text{kg}$ 。二次移植供者细胞回输后未再用 G-CSF, +10 d 起粒细胞 $>0.5 \times 10^9/\text{L}$, +12 d 起血小板 $>20 \times 10^9/\text{L}$ 。+22 d 送检 STR 提示供者完全植入,染色体检查为女性型(X/X)。+45 d HbF 降至正常。移植后患儿无明显 GVHD 表现, +22 d 停用 CSA, +28 d 起予免疫增强治疗:白介素 2 从每天 20 万 U 增加至每天 40 万 U。+36 d 患儿出现皮疹, +51 d 出现肝酶升高,考虑白介素 2 诱发 GVHD, +53 d 停用白介素 2。肝酶继续升高,并出现轻度黄疸,于 +55 d 加用甲泼尼龙、+58 d 加用 CSA、+62 d 加用 MMF 抗 GVHD 治疗。目前患儿二次移植后 31 个月,全身基本无皮疹。存在肝脏慢性 GVHD(cGVHD)表现。肝酶及胆红素波动在如下范围,时高时低:TBIL $4.5 \sim 42.8 \mu\text{mol/L}$, DBIL $1.7 \sim 19.5 \mu\text{mol/L}$, IBIL $2.8 \sim 23.3 \mu\text{mol/L}$, GPT $79 \sim 667 \text{ U/L}$, GOT $47 \sim 451 \text{ U/L}$, r-GT $164 \sim 893 \text{ U/L}$, LDH $134 \sim 734 \text{ U/L}$ 。外周血三系、单核细胞计数及 HbF 一直处于正常水平。复查 STR 示 100% 供者型。目前以小剂量 CSA 治疗 cGVHD。

讨论:JMML 是一种克隆性骨髓多潜能造血干细胞疾病,主要发生在婴幼儿及儿童。Loh^[1]报道本病年发病率为 $(0.12 \sim 0.30)/(10 \times 10^4)$,占儿童期白血病 1% ~ 2%。临床表现为贫血、血小板减低、外周血出现幼稚细胞、HbF 与年龄不符的增高、感染、皮肤黏膜浸润等,骨髓表现为增生明显活跃,但原始细胞 $<20\%$ 。2008 年 WHO 分型将本病归为骨髓增生异常综合征/骨髓增殖性肿瘤。

JMML 发病率不高,但治疗效果极差,如果仅进行常规治疗,80% 以上患儿将在 3 年内死亡。有研究显示,血小板计数 $<40 \times 10^9/\text{L}$ 、高 HbF ($>15\%$)、诊断时年龄大于 2 岁是 JMML 预后的不利因素^[2]。近年有人提出将不同的基因异常作为判断 JMML 预后的因素^[3],但尚未得到一致的结论。Mizoguchi 等^[4]报道 NUP98-HOX11 融合基因阳性可能预示相对较好的预后。目前唯一可能治愈该病的办法是异基因造血干细胞移植,Locatelli 等^[5]报道相关供者移植后的长期无事件生存率(EFS)为 55%,非相关供者为 49%,相关供者和无关供者的移植效果无明显差别。移植后复发是 JMML 患儿移植失败的主要原因,诊断时年龄大于 4 岁、女性、高 HbF、骨髓原始细胞 $>20\%$ 是移植后复发的危险因素^[5-6]。本病例患儿诊断时 HbF 高达 75.5%,具有移植后复发的高危因素。

研究发现,cGVHD 与移植后复发减少有关,移植抗白血病病(GVL)效应可能是 JMML 移植后预后良好的重要因素。目前普遍认为移植后 GVL 伴随着 GVHD 发生。本例患儿在第一次移植过程中以 CSA、MMF 及小剂量短程 MTX 为预防 GVHD 方案,仅发生轻度皮肤 GVHD,口服糖皮质激素后即好转,之后一直口服 CSA,未再发生 GVHD 征象,所以与之伴随的 GVL 作用也弱。Maguire 等^[7]报道 JMML 复发的中位时间是移植后 6 个月,而本例患儿移植后 2 月余即复发,考虑与同胞全合移植在免疫抑制剂应用下 GVHD 弱,同时也不能发挥良好的 GVL 作用有关,虽然我们积极采取了供者淋巴细胞输注及应用免疫增强剂的措施,但仍不能使患儿达到再次缓解。Yoshimi 等^[6]报道供者淋巴细胞输注对 JMML 移植后复发的治疗并无太大作用。

已有充分证据显示二次造血干细胞移植是治疗移植后复发 JMML 患者的有效手段^[5,8-10]。患儿首次同胞全合移植后早期复发,供者淋巴细胞输注无效,本应寻找非血缘供者行二次移植,以期得到较好的 GVL 作用,但因患儿病情不允许长时间等待寻找供者,且家长坚决要求仍以胞姐为移植供者,故进行了原同胞全合二次移植。

虽然 JMML 对化疗敏感性不强,但 Bergstraesser 等^[11]研究报道,根据对患儿白细胞计数及脾脏大小的影响为判断指标,发现 Ara-C、嘌呤类似物及依托泊甙(VP-16)对 JMML 患儿有一定的治疗效果,故本例患儿两次移植的预处理方案中均加入了 Ara-C。二次移植前患儿骨髓中幼稚细胞已占到 19%,肿瘤负荷比首次移植前还高,所以预处理中我们加用了 FLAG 方案化疗加强移植前杀肿瘤作用。考虑到患儿距首次移植仅 6 个月,耐受性下降,故将 Cy 减量应用。两次移植均输入了较高数量的供者外周血干细胞。

我们认为首次移植的失败主要在于应用了相对过强的免疫抑制治疗,导致移植不能发挥良好的 GVL 作用,从而发生早期复发。二次移植时我们主要努力于诱发 GVHD,以便得到伴随的 GVL 作用。在 GVHD 预防上减轻用药,仅用了 CSA 和 MTX。在无 GVHD 发生的情况下,早期(移植后 +22 d)停用免疫抑制剂,并早期(+28 d)应用免疫增强剂来诱导 GVHD 的发生。经过上述处理后,患儿出现 I ~ II 的 GVHD,主要表现在皮肤及肝脏,再次加用免疫抑制剂后症状能够控制。移植后至今观察 31 个月患儿有轻度 cGVHD 表现,无复发征象。

另一点值得探讨的问题是,JMML 发病机制涉

及到肿瘤细胞对粒单细胞集落刺激因子(GM-CSF)的高度敏感性,本例患儿首次移植+6 d起我们应用了G-CSF,可能与其复发有一定关系。所以二次移植时我们在预处理方案中加入了G-CSF,期望增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,尽可能地减少移植前肿瘤负荷。而供者细胞回输后我们未再应用G-CSF,减少肿瘤复发的可能性。基于GM-CSF第一个螺旋结果的21位残基在生物活性和与受体结合方面的重要作用,研究者已构建出一种21位点突变的GM-CSF模拟物(GM-CSF-E21R),体外培养显示它能抑制JMML细胞的增殖并可诱导其凋亡^[12]。设想移植后如能同时应用G-CSF和GM-CSF-E21R,可能会收到即加快造血重建又预防复发的双重效果。

总结本病例,我们体会到:对于JMML这类移植后有高复发率的疾病,如果采用同胞全合这种GVHD发生率低的移植方式,需尽量减少免疫抑制剂的应用,甚至可以早期应用免疫增强剂来诱导GVHD的发生,从而使移植物能够发挥良好的GVL作用。通过本病例我们看到了JMML患儿同胞全合造血干细胞移植后复发再进行原供者二次移植的可行性。另外,JMML不像其他白血病可以通过检测骨髓常规、微小残留病或特定基因来观察肿瘤残留,除了STR-PCR,迫切需要找到其他一些检测手段评估、观察移植后疾病的状态。在对本病例的研究中我们发现HbF的升降与疾病的演变过程有很好的相关性,故建议JMML患儿移植后定期监测HbF作为肿瘤残留的观察指标,指导临床治疗。

[参 考 文 献]

[1] Loh ML. Recent advances in the pathogenesis and treatment of juvenile myelomonocytic leukaemia[J]. Br J Hematol, 2011, 152(6): 677-687.

[2] Passmore SJ, Chessells JM, Kempski H, Hann IM, Brownbill

PA, Stiller CA. Paediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukemia in the UK: a population-based study of incidence and survival[J]. Br J Haematol, 2003, 121(5): 758-767.

[3] Bresolin S, Zecca M, Flotho C, Trentin L, Zangrando A, Sainati L, et al. Gene expression-based classification as an independent predictor of clinical outcome in juvenile myelomonocytic leukemia[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(11): 1919-1927.

[4] Mizoguchi Y, Fujita N, Taki T, Hayashi Y, Hamamoto K. Juvenile myelomonocytic leukemia with t(7;11)(p15;p15) and NUP98-HOXA11 fusion[J]. Am J Hematol, 2009, 84(5): 295-297.

[5] Locatelli F, Nolke P, Zecca M, Korthof E, Lanino E, Peters C, et al. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial[J]. Blood, 2005, 105(1): 410-419.

[6] Yoshimi A, Kojima S, Hirano N. Juvenile myelomonocytic leukemia epidemiology, etiopathogenesis, diagnosis, and management considerations[J]. Pediatr Drugs, 2010, 12(1): 11-21.

[7] Maguire AM, Vowels MR, Russell S, Cohn RJ, Cole C, Saxon B, et al. Allogeneic bone marrow transplant improves outcome for juvenile myelomonocytic leukemia[J]. J Paediatr Child Health, 2002, 38(2): 166-169.

[8] Chang YH, Jou ST, Lin DT, Lu MY, Lin KH. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: case report and literature review[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2004, 26(3): 190-193.

[9] MacMillan ML, Davies SM, Orchard PJ. Haematopoietic cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukaemia[J]. Br J Haematol, 1998, 103(2): 552-558.

[10] Matthes-Martin S, Mann G, Peters C, Lion T, Fritsch G, Haas OA, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a single centre experience and review of the literature[J]. Bone Marrow Transplant, 2002, 26(4): 377-382.

[11] Bergstraesser E, Hasle H, Rogge T, Fischer A, Zimmermann M, Noellke P, et al. Non-hematopoietic stem cell transplantation treatment of juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis and definition of response criteria[J]. Pediatr Blood Cancer, 2007, 49(5): 629-633.

[12] Koike K, Matsuda K. Recent advances in the pathogenesis and management of juvenile myelomonocytic leukemia[J]. Br J Haematol, 2008, 141(5): 567-575.

(本文编辑:邓芳明)