

- 2003, 133(2):180-185.
- 4 Hermann M, Alk G, Roka R, et al. Laryngeal recurrent nerve injury in surgery for benign thyroid diseases: effect of nerve dissection and impact of individual surgeon in more than 27,000 nerves at risk[J]. *Ann Surg*, 2002, 235(2):261-268.
 - 5 Costanzo M, Marziani A, Condorelli F, et al. Post-thyroidectomy hypocalcemic syndrome: predictive value of early PTH. Preliminary results[J]. *Ann Ital Chir*, 2010, 81(4):301-305.
 - 6 Phitayakorn R, McHenry CR. Incidence and location of ectopic abnormal parathyroid glands[J]. *Am J Surg*, 2006, 191(3):418-423.
 - 7 Wang TS, Pasiaka JL, Carry SE. Techniques of parathyroid exploration at north American endocrine surgery fellow ship programs: what the next generation is being taught[J]. *Am J Surg*, 2014, 207(4):527-532.
 - 8 Yang F, Jin C, Yang D, et al. Magnetic functionalised carbon nanotubes as drug vehicles for cancer lymph node metastasis treatment [J]. *Eur J Cancer*, 2011, 47(12):1873-1882.
 - 9 Hagiwara A, Takahashi T, Sawai K, et al. Lymph nodal vital staining with newer carbon particle suspensions compared with India ink: experimental and clinical observations[J]. *Lymphology*, 1992, 25(2):84-89.
 - 10 张筱骅, 郝儒田, 尤捷, 等. 甲状腺淋巴管造影在鉴别甲状腺中的意义[J]. *温州医学院学报*, 2010, 40(1):31-35.
 - 11 王晓雷, 吴跃煌, 徐震纲, 等. 纳米碳在鉴别甲状腺周围淋巴结和甲状旁腺中的作用[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2009, 44(2):136-140.
 - 12 朱精强, 汪淘理, 魏涛, 等. 纳米碳甲状旁腺负显影辨认保护技术在甲状腺癌手术中的应用[J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2013, 20(9):992-994.
 - 13 Gu J, Wang J, Nie X, et al. Potential role for carbon nanoparticles identification and preservation in situ of parathyroid glands during total thyroidectomy and central compartment node dissection[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6):9640-9648.
 - 14 白云城, 程若川, 洪文娟, 等. 甲状腺淋巴示踪技术对甲状旁腺保护作用的研究[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2013, 48(9):721-725.

[收稿日期 2018-04-23][本文编辑 刘京虹]

博硕论坛·论著

化疗联合 HLA 不全相合 G-PBSC 输注治疗恶性血液病的临床分析

王盼盼, 卡毛加, 张锦, 张鹏鹏, 马转珍, 袁茂文,
王丽娜, 李明, 张豪, 赵龙, 席亚明

作者单位: 730000 甘肃, 兰州大学第一医院血液科

作者简介: 王盼盼(1990-), 女, 在读研究生, 研究方向: 恶性血液病的诊治。E-mail: 2674871501@qq.com

通讯作者: 席亚明(1967-), 男, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 血液系统疾病的诊治。E-mail: xiyaming02@163.com

[摘要] 目的 初步探讨化疗联合 HLA 不全相合 G-PBSC 输注(微移植)治疗恶性血液病的临床应用。

方法 回顾性分析 2015-05~2016-12 接受微移植治疗的 13 例恶性血液病患者的临床及随访资料。根据病情, 对 13 例患者行不同的预处理方案化疗后, 计划给予微移植 3~4 次。观察微移植后患者的缓解情况, 生存时间, 血象恢复时间, 急、慢性移植物抗宿主病(GVHD)及其他不良反应发生情况。**结果** 随访至 2017-04, 中危组 8 例, 其中存活 6 例, 死亡 2 例; 高危组 5 例, 其中存活 2 例, 死亡 3 例。中位生存期为 9 个月(4~24 个月)。微移植治疗后, 中性粒细胞和血小板平均恢复时间分别为 8 d(5~14 d)和 11 d(6~20 d)。所有患者在微移植过程中均未出现急、慢性 GVHD 及其他不良反应。**结论** 微移植在供者选择上不受限制, 移植后血小板及中性粒细胞恢复较快, 且无急、慢性 GVHD 及其他不良反应发生; 微移植在中高危恶性血液病的临床应用尚处于探索阶段, 仍需多中心、大样本的临床研究来进一步验证。

[关键词] 微移植; 恶性血液病; 治疗

[中图分类号] R 733 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2018)10-0995-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2018.10.10

Clinical analysis of chemotherapy combined with HLA-mismatched G-PBSC infusion for hematologic malignancies

WANG Pan-pan, KA Mao-jia, ZHANG Jin, et al. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Lanzhou University, Gansu 730000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical efficacy of chemotherapy combined with HLA-mismatched G-PBSC infusion(microtransplantation) for hematologic malignancies. **Methods** 13 patients with hematologic malignancies received microtransplantation in our hospital from May 2015 to December 2016 and their clinical data were retrospectively analyzed. According to the different conditions, the 13 patients were treated with different conditioning regimens and then hematopoietic stem cell infusion was performed on them for 3 to 4 times. The recovery time of platelet and neutrophils, the occurrence of acute and chronic graft versus host disease(GVHD) and other adverse reactions were observed. **Results** During the follow-up that was conducted to April 2017, 6 cases survived and 2 cases died in the intermediate risk group(n=8); 2 cases survived and 3 died in the high risk group(n=5). The medium survival time was 9 months(4 to 24 months). The recovery time of neutrophil and platelet was 8 days(5 to 14 days) and 11 days(6 to 20 days) respectively after microtransplantation. All the patients had no acute and chronic GVHD during microtransplantation. **Conclusion** Microtransplantation is unrestricted in the choice of donors, and the recovery time of platelet and neutrophils is shorter. No cases of GVHD is observed. Large randomized clinical trials of microtransplantation are needed to verify the results in the intermediate-risk and high-risk hematologic malignancies.

[Key words] Microtransplantation; Hematologic malignancies; Treatment

化疗联合 HLA 不全相合 G-PBSC 输注(造血干细胞微移植,简称微移植)由艾辉胜教授首次提出^[1],是在保存受者正常免疫功能正常条件下进行 HLA 不全相合的造血干细胞移植的治疗模式,近年来成为国际、国内关注的焦点^[2]。相对传统移植模式,微移植具有适应证广泛、不受年龄和供者限制、费用低、风险小、避免移植物抗宿主病(GVHD)的发生、减少毒副作用等优点。现就我院 13 例中危和高危恶性血液病患者行微移植治疗的临床资料进行回顾性分析,初步探究微移植在恶性血液病中的应用。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2015-05 ~ 2016-12 我院收治的行微移植治疗的恶性血液病患者 13 例,其中男 8 例,女 5 例,中位年龄 44 岁(9 ~ 75 岁)。所有入组患者经骨髓形态学、组织化学及免疫分型后明确诊断,均符合 2008 世界卫生组织(WHO)造血和淋巴组织分类标准^[3]。供者 13 例中男 7 例,女 6 例。11 例为血缘相关的 HLA 部分相合供者,2 例为血缘相关的 HLA 完全不相合供者。13 例临床资料见表 1。13 例患者、供者和(或)其家属均知情同意,并签署知情同意书。

表 1 13 例恶性血液病患者微移植的临床资料

患者序号	性别	年龄(岁)	诊断	供者与患者关系	危险分层	血型	相合位点	移植前状态	第 1 次移植后	随访结果
1	女	44	AML	弟弟	高危	相合	0	缓解	缓解	复发
2	女	9	MAL	父亲	中危	相合	5	复发	缓解	死亡
3	女	75	NHL	儿子	中危	不合	5	部分缓解	死亡	死亡
4	男	55	AML	儿子	高危	相合	6	缓解	缓解	死亡
5	女	35	ALL	弟弟	中危	相合	5	缓解	缓解	缓解
6	男	16	AML	姐姐	高危	相合	1	缓解	复发	死亡
7	男	19	AML	舅婶	高危	相合	0	复发	缓解	死亡
8	男	54	AML	儿子	中危	相合	3	缓解	缓解	缓解
9	男	59	MDS	女儿	中危	相合	5	缓解	缓解	复发
10	女	16	ALL	哥哥	中危	相合	3	缓解	缓解	缓解
11	男	49	AML	姐姐	中危	相合	3	复发	缓解	缓解
12	男	16	ALL	妈妈	高危	不合	7	缓解	缓解	缓解
13	男	65	AML	女儿	中危	相合	7	缓解	缓解	缓解

注:AML,急性髓系白血病;ALL,急性淋巴细胞白血病;MAL,混合细胞白血病;NHL,非霍奇金淋巴瘤;MDS,骨髓增生异常综合征

1.2 微移植方法

1.2.1 微移植相关的预处理方案见表2。

表2 患者的预处理方案

诊断	预处理方案
AML	Ara-C 2~2.5 g/m ² q12h d1-3
ALL	CTX 300 mg/m ² q12h d1-3, VCR 2.0 mg d4, MIT 24 mg/m ² d4, DEX 40 mg/d d1-4
MAL	CTX 300 mg/m ² q12h d1-3, VCR 1.6 mg d4, MIT 24 mg/m ² d4, DEX 30 mg/d d1-4
NHL	GEM 800~1 000 mg/m ² d1, d8, DDP 30 mg/d d1-3, DEX 20 mg/d d1-4
MDS	DAC 25 mg/m ² qd d1-4, Ara-C 1.5~2 g/m ² q12h d1-3

注:Ara-C,阿糖胞苷;CTX,环磷酰胺;VCR,长春新碱;MIT,米托蒽醌;DEX,地塞米松;GEM,吉西他滨;DDP,顺铂;DAC,地西他滨

1.2.2 GVHD的预防及血制品的输注 急性和慢性GVHD的诊断和临床分级分别按照西雅图Glucksberg标准和Shulman标准进行,治疗期间均不进行GVHD的预防^[4]。输注辐照血制品以避免GVHD,全部血液制品均需过滤后输注。

1.2.3 造血干细胞采集及输注 供者以粒细胞集落刺激因子(G-CSF)给予5~7 μg/(kg·d)的总剂量,于早晚两次皮下注射进行动员5 d,使外周血白细胞维持在30×10⁹/L~40×10⁹/L,于动员后第6天采集外周血造血干细胞。每次输注造血干细胞在预处理方案结束后第1天开始,输注单核细胞(MNC)值>3.0×10⁸/kg,CD3⁺T细胞值>1.0×10⁸/kg。

1.2.4 疗效检测 (1)中性粒细胞计数(ANC)恢复时间:连续3 d ANC>0.5×10⁹/L的第1天;血小板计数(PLT)恢复时间:连续3 d PLT>30×10⁹/L(未输血)的第1天;微移植治疗过程中每周2~3次复查血常规,微移植结束后每1~2周复查1次。(2)骨髓抑制持续时间:ANC<0.5×10⁹/L持续时间及PLT<50×10⁹/L持续时间;治疗结束后7 d或28 d左右复查骨髓穿刺判定疗效,标准参照《血液病诊断及疗效标准》^[5]。(3)微移植治疗过程中留取患者的骨髓标本经NAVIOS流式细胞仪通过对骨髓细胞的表面标志物及细胞的多种成分进行分析,从而检测残留白血病细胞;通过序列特异性引物引导的聚合酶链反应(SSP-PCR)的方法监测微嵌合;微移植治疗结束后每1~3个月行残留白血病和微嵌合检测。(4)微移植治疗期间监测心、肝、肾功能,免疫及凝血指标等;微移植治疗结束后每3~3.5个月复查1次,共复查3~4次。

2 结果

2.1 13例患者行微移植时造血干细胞输注结果见表3。

表3 造血干细胞输注量/体重比值(10⁶/kg)

患者	第1次		第2次		第3次		第4次	
	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)	(CD3/CD34/MNC)
1	104.72/2.6/390		104.72/2.6/390		104.72/2.6/390			
2	174.5/1.18/301.5		174.5/1.18/321.5		-			
3	186.4/6.1/355		-		-			
4	271/1.41/321		277/1.5/316		234/1.13/338			
5	164.9/1.9/376		-		-			
6	111.6/1.0/317		111.6/1.0/317		111.6/1.0/317		111.6/1.0/317	
7	241/13.72/415.9		-		-			
8	103/7.3/357		103/7.3/357		-			
9	146.4/357/359		146.4/357/359		146.4/357/359			
10	103/7.3/357		103/7.3/357		-			
11	132/1.7/354		-		-			
12	120/3.4/310		-		-			
13	100/207/321		-		-			

2.2 造血重建及植入情况的监测 13例患者在微移植后均进入骨髓抑制期。ANC和PLT平均恢复时间为8 d(5~14 d)和11 d(6~20 d)。对3例男供女患者(序号1~3)于移植后1~2周内测微嵌合比值,1例为2.94E-3,2例为0.00E+00。对10例其他供受者关系的患者(序号4~13)行STP-PCR方法的植入证据的基因测定,8例受者外周血中均为完全受者性基因,2例为供者性基因。

2.3 不良反应 13例患者在25次输注造血干细胞过程中均出现不同程度的发热,给予物理降温及抗感染治疗后12例患者体温恢复正常,1例患者持续高烧,经痰培养后考虑假单胞菌导致的肺部感染,最终死亡。2例患者出现口腔溃疡,给予清洁口腔等治疗均愈合。7例患者在微移植过程中出现轻度的肝肾功能异常,给予保肝、护肾等药物治疗后好转。1例患者在3次微移植预处理后出现恶心、呕吐。研究对象中均未出现急慢性GVHD及其他不良反应。

2.4 疗效及随访 13例患者中,在第一次微移植后11例患者完全缓解,其中包括微移植前复发的3例患者和微移植前完全缓解的8例患者;微移植前完全缓解的1例患者经微移植后复发;微移植前部分缓解的1例患者在微移植过程中因假单胞菌所致肺部感染而死亡。第一次微移植后完全缓解的11例患者中7例患者行第二次后仍完全缓解。第二次微移植后完全缓解的7例患者中4例患者行第三次微移植后仍完全缓解;第三次微移植后完全缓解的4例患者中1例患者行第四次微移植后仍完全缓解。随访至2017-04,13例患者中,5例死亡,2例复发,6例仍处于缓解期。总中位生存期为9个月(4~24个月),死亡患者中位生存期为7个月(1~20个月),其中4例死于复发,1例死于移植相关性感染。

3 讨论

3.1 微移植即化疗联合HLA不全相合G-PBSC输

注^[6],可以显著改善中低危组 AML 患者的预后,此项研究的目的是为了检测微移植作为一种新的治疗方法,在治疗中高危恶性血液病患者过程中是否可以产生显著的抗肿瘤效应,并且减少治疗相关并发症的发生来提高患者的远期生存率。我们对 13 例恶性血液病患者行 25 次微移植,其随访结果显示,中危组 8 例,其中存活 6 例,死亡 2 例;高危组 5 例,其中存活 2 例,死亡 3 例。13 例患者在微移植后 ANC 和 PLT 平均恢复时间分别为 8 d(5~14 d)和 11 d(6~20 d)。3 例微移植前复发的患者在微移植后均达到缓解。13 例患者在微移植过程中均无急、慢性 GVHD 及其他不良反应发生。

3.2 军事医学科学院附属医院对 101 例确诊的中青年中低危组 AML 患者进行微移植,结果显示低危组 6 年无白血病生存率(LFS)及总生存率(OS)分别为 84.4%和 89.5%,高于高危组的 59.2%和 65.2%($P < 0.05$),且输注高剂量 $CD3^+$ T 细胞($\geq 1.1 \times 10^8/\text{kg}$)的患者 6 年无病生存率(DFS)和 OS 与输注低剂量 $CD3^+$ T 细胞患者组相比差异具有统计学意义^[1]。另外一项对老年 AML 患者行微移植的研究结果显示微移植组患者造血恢复时间短于单纯化疗组^[7]。这两项研究中,所有受试者均未发生 GVHD。急、慢性 GVHD 是移植后期重要的并发症,供受者间的组织相容性抗原的差异是触发 GVHD 的根本原因,此外,干细胞的来源、供受者年龄、疾病的状态等因素都与 GVHD 的发生存在一定的联系^[8]。我院 13 例微移植患者,尽管输注了大剂量的 HLA 不全相合造血干细胞且移植过程中无 GVHD 预防,但在微移植后均未观察到急性或慢性 GVHD,与军事医学科学院附属医院报道相似^[6],其确切机制仍不清楚。13 例患者在微移植后 ANC 和 PLT 水平的平均恢复时间分别为 8 d(5~14 d)和 11 d(6~20 d),考虑微移植可加快化疗后骨髓抑制恢复^[8]。研究发现,造血干细胞在造血应激状态下可分泌成骨细胞诱导骨髓间充质细胞转化为骨内膜细胞,促进骨髓微环境的形成,因此,短暂植入的供者造血干细胞可能参与造血微环境的恢复,起到促进造血的作用^[9]。此外,既往的观点认为只有稳定的完全植入才能起到支持造血的作用,而 Guo 等^[7]研究发现大剂量化疗后联合不全相合的造血干细胞能起到支持造血恢复的作用。微移植的供体来源包括血缘相关 HLA 部分相合供体、非血缘相关供体及 HLA 完全不相合供体,彻底解决了移植的供体来源问题,真正完全跨越了 HLA 屏障^[10]。

3.3 本组 13 例患者共进行 25 次微移植,完成 4 次微移植 1 例,完成 3 次微移植 3 例,完成 2 次微移植 3 例,完成 1 次微移植 6 例。本组患者依从性差,未完成规定的 3~4 次微移植,考虑与本组患者疗效欠佳、复发率高有关。3 例微移植前复发的患者在完成第一次微移植后均达到血液学缓解,说明微移植后近期疗效较好。目前,微移植的临床应用尚处于探索阶段^[11],通过降低传统移植预处理相关毒副作用、避免 GVHD 来达到供者微嵌合植入而发挥有效的抗肿瘤效应,实现了化疗、移植和免疫的有机结合,是对异基因造血干细胞移植的革新和扩展。随着微移植技术的问世与发展,白血病乃至恶性肿瘤的治疗进入了“高效微毒”新时期,是继骨髓移植及非骨髓移植后恶性血液病治疗的第二次革命。

参考文献

- 1 Guo M, Hu KX, Liu GX, et al. HLA-mismatched stem-cell microtransplantation as postremission therapy for acute myeloid leukemia: long-term follow-up [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(33): 4084 - 4090.
- 2 汪弘毅,鲍协炳,唐晓文,等.不同巩固治疗方式对低危组急性髓系白血病患者预后的影响[J].*中华血液学杂志*,2017,38(6): 517 - 522.
- 3 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008: 40 - 43.
- 4 焦雯静,张亚莉,刘接班,等.微移植治疗成人急性髓性白血病 17 例疗效观察[J].*中国医药导刊*,2015,17(11): 1122 - 1123.
- 5 张之南,沈 梯.血液病诊断及疗效标准[M].第 3 版.北京:科学出版社,2007:232 - 235.
- 6 艾辉胜,孙琪云.《微移植治疗完全缓解期中青年急性髓细胞白血病的长期随访》解读[J].*临床血液学杂志*,2015,(3): 367 - 369.
- 7 Guo M, Hu KX, Yu CL, et al. Infusion of HLA-mismatched peripheral blood stem cells improves the outcome of chemotherapy for acute myeloid leukemia in elderly patients[J]. *Blood*, 2011, 117(3): 936 - 941.
- 8 蓝 梅,林金盈.异基因造血干细胞移植治疗白血病的研究进展[J].*中国临床新医学*,2013,6(12):1217 - 1221.
- 9 Nie W, Huang Q, Chen Y, et al. Treatment of an elderly patient with acute myeloid leukemia and invasive pulmonary aspergillosis infection with combined allogeneic hematopoietic stem cells microtransplantation and voriconazole[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2016, 32(Suppl 1): 56 - 58.
- 10 Spitzer TR. Microtransplantation: a new paradigm for the separation of graft versus host disease and graft versus tumor[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(33): 4051 - 4052.
- 11 吴惠惠,刘铁强,孙雪冬,等.白血病小鼠 H-2 全不相合微移植模型的建立及鉴定[J].*中国实验血液学杂志*,2014,22(3): 779 - 784.