

[文章编号] 1007-385X(2005)02-0150-02

FBC 方案预处理进行异基因造血干细胞移植的临床研究

黄 宁, 葛林阜, 马焯文, 刘希民, 郭 鹏 (济南军区总医院血液科, 济南 250031)

造血干细胞移植对根治恶性血液病的作用已得到充分肯定,但传统预处理方案所用的致死性放、化疗剂量对患者心、肝、肾等重要脏器有进一步损伤,致使移植相关死亡率一直居高不下^[1]。为降低预处理的毒性,我们对 14 例恶性血液病患者进行了 FBC 预处理方案的异基因造血干细胞移植。

1 材料与方 法

1.1 患者与供者

14 例患者均为住院病人,其中:男性 9 例,女性 5 例;平均年龄: 38.6 ± 12.8 岁;原发病:慢性粒细胞白血病 8 例,急性淋巴细胞白血病 1 例,急性非淋巴细胞白血病 2 例,非霍奇金氏淋巴瘤 2 例,骨髓增生异常综合征 1 例。14 例供者均为患者的兄弟姐妹或父亲,其中:男性 8 例,女性 6 例;平均年龄: 31.6 ± 12.7 岁。供、受者间 HLA 配型 A, B, DR 位点完全相合者 12 例, 5/6 相合者 1 例, 4/6 相合者 1 例。红细胞 ABO 血型相合 8 例,主要不合 2 例,次要不合 3 例,主次均不合 1 例。

1.2 预处理方案

磷酸氟达拉滨(Flud) $30 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$, 静滴,

$-5 \text{ d} \sim -1 \text{ d}$; 白消安(Bu) $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 口服, 6 h, $-7 \text{ d} \sim -4 \text{ d}$; 环磷酰胺(CTX) $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 静滴, $-3 \text{ d} \sim -2 \text{ d}$ 。

1.3 移植方法

移植前 $-13 \sim -8 \text{ d}$ 住入层流室, 进无菌饮食, 服肠道消毒剂, 置中心静脉导管, 预处理后, 0 天静脉输注供者外周血造血干细胞 9 例, 单个核细胞数(MNC) $3.7 \pm 1.9 \times 10^8/\text{kg}$; 输注骨髓悬液 5 例, 有核细胞数 $2.7 \pm 1.1 \times 10^8/\text{kg}$; $6 \sim 12 \text{ d}$ WBC 最低降至 $0 \sim 0.6 \times 10^9/\text{L}$, 加 G-CSF $5 \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 注射至 WBC 达到 $4.0 \times 10^9/\text{L}$ 以上。移植术后用 STR-PCR 定量方法检测供者细胞植入情况, 若供者嵌合比率降低, 则进行供者淋巴细胞输注(DLI)^[2-3]。

1.4 术中并发症防治

1.4.1 防治感染

严格无菌操作, 不预防性使用抗生素; 出现感染时酌情选用抗生素, 并根据细菌培养结果及时调整抗生素。

1.4.2 肝静脉阻塞综合征的预防

自预处理开始加低分子右旋糖酐每天 500 ml 静滴; 7 d 后, 每天改用复方丹参 20 ml 静滴至 28 d。

COS7 来源于非洲绿猴肾成纤维细胞, 是一个高效的真核细胞表达系统, 转染 pEGFP-N1/MUC1/Y 真核表达载体 18 h 后, 即可在荧光显微镜下看到明显的绿色荧光, 且定位于细胞膜, 24 h 后荧光增强, 转染 48 h 荧光仍无明显减弱, 同时 RT-PCR 检测 MUC1/Y 表达量明显高于内对照基因 β -actin。对照组荧光位于胞浆, MUC1/Y 没有表达, 这些结果分别从蛋白水平和 mRNA 水平说明转染成功, 并证实 MUC1/Y 蛋白是一种跨膜蛋白。本实验中 pEGFP-N1/MUC1/Y 真核表达载体的成功构建, 将为卵巢癌核酸疫苗的进一步研究和临床应用奠定实验基础。

[关键词] MUC1/Y; 真核表达载体; 真核细胞; 脂质体; 转染

[中图分类号] R730.3

[文献标识码] A

[参 考 文 献]

- [1] Schut IC, Waterfall PM, Ross M, *et al.* MUC1 expression, splice variant and short form transcription (MUC1/Z, MUC1/Y) in prostate cell lines and tissue[J]. *BJU Int*, 2003, 91(3): 278.
- [2] J. 萨姆布鲁克, D. W. 拉塞尔著, 黄培堂, 等译, 分子克隆实验指南(第 3 版) [M], 北京: 科学出版社出版, 2002. 30-32.
- [3] Obermair A, Schmid BC, Packer LM, *et al.* Expression of MUC1 splice variants in benign and malignant ovarian tumors[J]. *Int J Cancer*, 2002, 100(2): 166-171.

[收稿日期] 2004-09-28

[修回日期] 2005-01-26

[本文编辑] 王 莹

1.4.3 出血性膀胱炎的预防

静滴 CTX 后 0,4,8 h 加美司钠 0.4~0.8 静注,同时水化、碱化尿液,强迫性利尿,每天排尿量 > 80 ml/kg。

1.4.4 防治宿主排斥移植反应(HVG)及移植抗宿主病(GVHD)

-3 d 给予环孢素 A(CsA) $2 \sim 3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 静滴及骁悉 500 mg~1 000 mg,每日 2 次口服。部分加用抗胸腺球蛋白(ATG)、赛尼哌(CD25 抗体)。一旦出现 GVHD,立即检测 CsA 血药浓度,调整 CSA 浓度维持血药浓度至 200~400 ng/ml, I~II 度仅加地塞米松 $2 \sim 3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 静注或强地松 20 mg,每日 3 次口服; III 度予甲基强地松龙 $2 \sim 3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 静滴。当出现 HVG 或供者嵌合比率下降时,立即 DLI。

1.5 嵌合体检测

染色体由本院细胞室采用常规 G 带检测方法。STR-PCR 定量方法检测供者细胞植入情况:由山东省脐血造血细胞中心测定。

2 结果与讨论

14 例 WBC 分别于 4~11 d 最低降至 $0.0 \sim 0.6 \times 10^9/\text{L}$, WBC 升至 $1.0 \times 10^9/\text{L}$ 以上为 $11.3 \pm 4.9 \text{ d}$; 中性粒细胞(PNC)升至 $0.5 \times 10^9/\text{L}$ 以上为 $11.8 \pm 6.8 \text{ d}$; 血小板(Plt)升至 $20 \times 10^9/\text{L}$ 以上为 $12.1 \pm 3.6 \text{ d}$ 。较传统的异基因造血干细胞移植术,白细胞、血小板恢复时间提前,大大提高了安全性。本组 14 例中,8 例(57.1%)出现急性 GVHD,其中 I~II 度 6 例(42.9%), III~IV 度 2 例(14.3%); 5 例(35.7%)出现慢性 GVHD,治疗后缓解; 1 例出现 HVG,进行 DLI 2 次,再次达到完全供者嵌合。急、慢性移植抗宿主病的发生较传统方案增加,但急性重型并不增加,宿主排斥移植不增加,分析原因,认为:Flud 作为一种具有强效免疫抑制任用的嘌呤用类似物,它可减少常规预处理方案中的化、放疗剂量,而成功植入供体造血干细胞,

供体造血干细胞一旦成功植入,不受 Flud 的免疫抑制,因而能在受体内起到较明显的抗宿主及清除残余肿瘤细胞的作用,进而达到治愈恶性血液病的目的。

本组病例随访 3~52 月,至今仍存活 11(78.6%)例,3(21.4%)例死亡,分别死于:复发 1 例,急性 GVHD 2 例。除 4 例出现口腔炎外,未出现造血性膀胱炎、肝静脉阻塞综合征等严重并发症。疗效明显好于传统的标准预处理方案和非清髓性预处理方案进行的异基因移植术。本预处理方案的特点是:在约半量传统标准 BuCy 方案的基础上,应用 Slavin 提出的非清髓理论,加用 Flud,明显抑制受体的免疫功能。比较传统标准方法,造血功能重建时间较短,使用抗生素及血制品减少,副作用明显减少,降低危险性,移植相关死亡率减低,尤其可适用于年龄较大,有肝、肾等重要脏器损伤的患者。并且纯非清髓法,由于移植前预处理中化疗剂量过小,患者自身残留的免疫细胞和肿瘤细胞较多,因此复发和出现排斥移植物的机率较大。本 FBC 方案较非清髓方案预处理增加了化疗剂量,大大提高了植入率,减少复发率,进一步提高疗效。

[关键词] 造血干细胞移植; 异基因; 恶性血液病; 预处理方案

[中图分类号] R733.7; R457.7 [文献标识码] A

[参考文献]

- [1] 王 玫, 韩明哲, 冯四洲, 等. 异基因外周血干细胞移植和异基因骨髓移植的临床疗效比较[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20(8): 427-430.
- [2] Slavin S, Nagler A, Naparstek E, et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreductive for treatment of malignant and nonmalignant hematologic disease[J]. Blood, 1998, 91(3): 756-763.
- [3] 刘启发, 周淑芸. 供者淋巴细胞输注对异基因造血干细胞移植后白血病复发的防治作用[J]. 中华血液学杂志, 2002, 23(4): 200-202

[收稿日期] 2004-07-10

[修回日期] 2004-10-20

[本文编辑] 韩 丹