

· 间充质干细胞研究与应用专题 ·

脐血间充质干细胞治疗 GVHD 的效果*
(附 5 例异基因造血干细胞移植术后 GVHD 的治疗)

肖燕妮¹ 张曦² 刘耀² 张根玲¹ 曾钰竹¹ 苗莹莹¹ 李忠俊^{1△}
(第三军医大学 附属新桥医院 1. 输血科 2. 血液科, 重庆 400037)

摘要:目的 探讨脐血间充质干细胞在异基因移植术后移植物抗宿主病 (GVHD) 的临床应用。方法 回顾性分析了 5 例髓细胞白血病异基因造血干细胞移植患者移植后 GVHD 治疗情况, 经常规抗 GVHD 药物治疗无效后, 均行脐带血间充质干细胞 (UCMSCs) 治疗, 观察 GVHD 相关症状的恢复、再发及生存等指标。结果 其中 2 例经 UCMSCs 治疗疗效良好, 生存至今, 无再发 GVHD; 2 例治疗后好转, 但数月后复发, 再次 UCMSCs 治疗后好转; 1 例无效, 再次输注 UCMSCs, 无效死亡。结论 输注 UCMSCs 对 GVHD 治疗有效。

关键词:脐血间充质干细胞; 异基因移植; 髓细胞白血病; GVHD

中图分类号:R457. 7 R733. 73 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-549X(2013)04-0318-03

移植物抗宿主病 (graft versus host disease, GVHD) 是由移植物的抗宿主效应引起的 1 种免疫性疾病, 是由免疫效应细胞引起的免疫排斥反应。行异基因造血干细胞移植后, 自身组织便成了外来的抗原, 被抗原提呈细胞提呈后激活 T 细胞, 继而分化成效应细胞, 产生大量细胞因子, 这一系列免疫排斥反应所引起的疾病称之为移植物抗宿主病^[1]。依据供受者的来源, 造血干细胞移植可以分为自体造血干细胞移植和异基因造血干细胞移植。对于自体造血干细胞移植时往

往不能保证所采集的造血干细胞中完全清除残留的白血病细胞, 因此原始疾病的复发阻碍了自体造血干细胞移植的临床前景^[2]。而对于异基因造血干细胞移植, HLA 配型的要求高, 供者来源有限, 所以大部分患者都不能找到全相合的捐赠者。且有研究报道在异基因造血干细胞移植中, 大部分患者在移植后都会发生不同程度的急性或者慢性 GVHD, 尽管 HLA 相匹配的造血干细胞移植 GVHD 的发生率为 30% ~ 50%, 而 HLA 不完全相合的造血干细胞移植中 GVHD 的发生率高达 60% ~ 80%^[3,4]。尽管如此, 异基因造血干细胞移植是目前治疗某些血液恶性肿瘤及自身免疫性疾病首选方法, GVHD 是其并发症中最棘手, 也是最致命的, 是异基因移植成功与否的关键点。脐血间充质干细胞 (umbilical cord

* 基金项目: 军队十二五课题 (CWS11J321); △通信作者: 李忠俊 (1974. 1 ~), 男, 医学博士, 副主任医师, 副教授, 博士研究生导师, 主要从事临床血液保存损伤机制、骨髓微环境与白血病细胞耐药、抗凋亡相关研究, 电话: 023-68755319, Email: johnneyusc@gmail.com

参 考 文 献

[1] 肖燕妮, 李忠俊, 冉倩. 白血病患者造血干细胞移植期间成分输血治疗效果的临床观察. 中国输血杂志, 2011, 1(24): 18-20.
[2] Arora M, Nagaraj S, Wagner JE, et al. Chronic graft-versus-host disease (cGVHD) following unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): higher response rate in recipients of unrelated donor (URD) umbilical cord blood (UCB). Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2007, 13 (10): 1145-1152.
[3] Yao L, xinghua C, xi Z, et al. Reconstruction of hematopoietic inductive microenvironment after transplantation of VCAM-1-modified human umbilical cord blood stromal cells. Plos One, 2012, 7(2): e31741.
[4] Lazarus HM, Koc ON, Devine SM, et al. Cotransplantation of HLA-Identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2005, 11(5): 389-398.
[5] Gluckman E. Milestones in umbilical cord blood transplantation. Blood Reviews, 2011, 25(6): 255-259.
[6] Masuda S, Ageyama N, Shibata H, et al. Cotransplantation with MSCs improves engraftment of HSCs after autologous intra-bone

marrow transplantation in nonhuman primates. Experimental Hematology, 2009, 37(10): 1250-1257.
[7] Willy A, Alwine B, Pietermella S, et al. Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood - derived CD34 + cells in NOD/SCID mice. Experimental Hematology, 2002, 30(8): 870-878.
[8] ColitãA, Colitã A, Zamfirescu D, et al. Combined procedure of vascularized bone marrow transplantation and mesenchymal stem cells graft-An effective solution for rapid hematopoietic reconstitution and prevention of graft-versus-host disease. Medical Hypotheses, 2012, 79(3): 302-303.
[9] Koc O, Gerson S, Cooper B, et al. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy. J Clin Oncol, 2000, 18(2): 307-316.
[10] Wang H, Yan H, Wang Z, et al. Cotransplantation of allogeneic mesenchymal and hematopoietic stem cells in children with aplastic anemia. Pediatrics, 2012, 129(6): 1612-1615.

(2013-02-29 收稿, 04-20 修回)

本文编辑: 刘晓明

blood mesenchymal stem cells, UCMSCs) 作为 1 种多潜能干细胞, 已成为 1 个研究热点。近来有研究发现, UCMSCs 抗原提呈作用弱, 不表达 MHC II 类分子和 CD80 等细胞因子, 体外实验中能抑制混合淋巴细胞反应^[5], 说明它具有一定的免疫调节的特性, 理论上 UCMSCs 是可以一定程度地预防排斥反应的发生, 降低 GVHD 的严重程度, 且有报道证实了这一点。而关于治疗 GVHD 方面的报道却鲜有。所以我们就 5 例患髓细胞白血病行异基因造血干细胞移植术后发生 GVHD, 且经常规药物治疗无效, 遂行 UCMSCs 输注治疗 GVHD 的病例进行回顾分析。

1 材料与方法

1.1 病例选择 病例全部来源于第三军医大学第二附属医院(新桥医院)血液科 2010 年 8 月~2012 年 1 月患髓细胞白血病的患者行异基因造血干细胞移植术, 术后发生 GVHD, 且用常规的抗 GVHD 治疗药物治疗无效的病例, 共 5 例。年龄 13~42 岁, 其中男 4 例, 女 1 例(表 1)。移植后 +100 d 内发生的 GVHD 称为急性 GVHD (aGVHD), +100 d 以后的则称为慢性 GVHD (cGVHD)^[6,7]。

1.2 UCMSCs 来源 由四川脐血库提供, 且要求每份脐血间

表 1 UCMSCs 用于治疗 5 名髓细胞白血病患者行异基因移植后发生 GVHD 情况

病种	供受者 HLA 配型	aGVHD	cGVHD	患者输注 UCMSCs 次数	末次 GVHD 治疗后随访时间
病例 1	AML-M5 亲缘间 3/6 相合	+24 d 皮肤	无	1	存活至今; 随访 10 月
病例 2	CML 慢性期 亲缘间全相合	无	+5 月全血细胞减少; 全身大面积瘀点	1	存活至今; 随访 5 月
病例 3	AML-M6 亲缘间全相合	无	+16 月 全身 +19 月 全身	2	存活至今; 随访 7 月
病例 4	AML-M2 亲缘间全相合	+24 d 肠道 +43 d 肠道	+5 月 肝	3	死亡; cGVHD 复发, 治疗无效
病例 5	AML-M5 亲缘间 4/6 相合	+71 d 肠道	无	2	存活至今; 随访 17 月

3 讨论

由于异基因造血干细胞移植预处理阶段使用药物的毒性及感染等因素造成组织损伤、大量释放细胞因子, 使靶组织上的主要组织相容性抗原及粘附分子表达量增加, 有利于供体 T 细胞受体对宿主 MHC 抗原提呈细胞的识别, 形成 TCR-MHC 复合物, 启动抗原识别信号即第 1 信号。同时免疫球蛋白超家族的 B7 共刺激分子与 T 细胞上的受体分子结合产生第 2 信号。在双信号的刺激下, 激活的 T 细胞在细胞因子的作用下放大、增殖和分化。这一系列程序便启动了复杂的免疫排斥反应^[10]。所以罪魁祸首乃是移植物中的 T 细胞。设想: 是否完全去除移植物中的 T 细胞就能杜绝 GVHD 的发生呢? 有研究发现, 去除 T 细胞确实可以使 GVHD 的发生率降低, 但免疫重建大大推迟, 增加了原发疾病的复发率和感染等风险, 最终导致治疗失败。本文中这 5 例输注 UCMSCs 治疗 GVHD 的病例, 采用的移植方式都为异基因移植, 且常规预防和治疗 GVHD 无效的。除了例 4 发生慢性 GVHD 后, 输注了 2 次 UCMSCs 都没有使病情得到有效控制, 最终全身感染、死亡。其余 4 例治疗后都恢复很好, 且存活至今, 无再发 GVHD。对常规治疗 GVHD 无效的患者, 输注 UCMSCs 后 80% 的患者存活至今, 且无再发。可见 UCM-

SCs 对 GVHD 的治疗有一定的参考价值。结合文献报道 Klyushnenkova 等^[11]研究: 当加入与反应细胞同源的间充质干细胞, 或第三方来源的间充质干细胞, 都可快速抑制初级和次级混合淋巴细胞反应。Nicola 等^[12]也发现, 间充质干细胞能抑制有丝分裂原诱导的淋巴细胞增殖和同种异体混合淋巴细胞反应。在体内试验中: 有皮肤和脏器移植实验表明间充质可抑制 GVHD, 延长移植对象的生存时间。其与 T 淋巴细胞混合培养可以抑制 T 淋巴细胞增殖, 而 T 淋巴细胞是引发 GVHD 的主要效应细胞, 因此推测间充质干细胞通过抑制 T 淋巴细胞的反应起到治疗 GVHD 的作用。近年来间充质干细胞的免疫调节作用受到越来越广泛的关注, 其不仅具有较低的免疫原性且能够明显抑制淋巴细胞的活化, 为 GVHD 的临床治疗提供了 1 种新的可能性。

- 1.3 并发症的预防和一般治疗^[9]
- 1.3.1 GVHD 的预防 环孢素 A (CsA) + 短程甲氨蝶呤 (MTX) + 霉酚酸酯 (MMF) CsA: 预处理当天开始 1.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 24 h 持续静滴, -1 d 增量至 2.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 患者移植后 2~3 周改为口服, 按照静脉剂量加倍 (1 次/12 h), 移植后 +150 d 开始减量, 每周减量 5%, 直到移植后 1 年左右停药。MTX: +1 d 开始使用, 15 mg/m², +3、+6、+11 d 10 mg/m², 1 次/d。MMF: 预处理开始口服, 0.5 g/次, 2 次/d, 至移植后 +100 d 停药。
- 1.3.2 aGVHD 的预防常规治疗 甲强龙 2 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 冲击治疗。
- 1.3.3 cGVHD 的预防常规治疗 CsA + 强的松。

2 结果(表 1)

参 考 文 献

[1] Kebriai P, Robinson S. Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of acute and chronic graft versus host disease. *Frontiers in oncology*, 2011, 1:16. doi: 10.3389/fonc.2011.00016

[2] Jing Y, Li H, Zhao Y, et al. Efficacy of allogeneic and autologous hematopoietic SCT in patients with AML after first complete remission. *Bone Marrow Transplant*, 2013, 48(3):383-389.

· 论 著 ·

鼻咽癌高发区非癌人群 *HLA-A*02* 分子多态性及分布^{*}

汤敏中^{1,2} 李军² 蔡永林² 郑裕明² 廖建³ Stephen J. O'brien⁴ 曾毅^{1,5△}

(1. 北京工业大学 生命科学与生物工程学院,北京 100124;2. 梧州市红十字会医院 鼻咽癌病因学及分子机理重点实验室;
3. 苍梧县鼻咽癌防治所流行病学室;4. National Cancer Institute at the National Institutes of Health, USA;
5. 中国疾病预防控制中心 传染病预防控制国家重点实验室)

摘要:目的 了解中国南方鼻咽癌高发区非癌人群 *HLA-A*02* 等位基因多态性及其分布特点。**方法** 采用 PCR-SSOP 方法对来源于广西鼻咽癌高发区的 342 例非癌对照标本作 *HLA-A* 基因分型;等位基因频率统计采用直接计数法,并应用卡方检验将其与已报道的中国南方及北方汉族群体 *HLA-A*02* 等位基因频率作比较。**结果** 所检测的广西鼻咽癌高发区非癌人群的 *HLA-A*02* 等位基因分布频率为 33.77% (231/684),共检测出 5 种 *HLA-A*02* 等位基因亚型,检出比例依次为:*A*02:03* 占 48.92% (113/231)、*A*02:07* 占 33.77% (78/231)、*A*02:01* 占 9.52% (22/231)、*A*02:06* 占 7.36% (17/231) 和 *A*02:11* 占 0.05% (1/231);对比分析显示 *A*02:01*、*A*02:03*、*A*02:06* 及 *A*02:07* 在不同地区汉族人群中呈现出明显的分布差异 ($P < 0.05$)。**结论** 中国南方鼻咽癌高发区非癌人群 *HLA-A*02* 等位基因中以 *A*02:03* 最为常见,*A*02:07* 次之,其 *HLA-A*02* 等位基因亚型与中国其地域的汉族人群相比存在明显的差异分布特征,提示该等位基因亚型是人群分析中较好的多态性标志。

关键词:HLA;分子多态性;*A*02* 等位基因;鼻咽癌;高发区;非癌人群;中国南方;汉族

中图分类号:R446.11⁺2 R739.63 R457.1⁺1 文献标识码:A 文章编号:1004-549X(2013)04-0320-04
Molecular polymorphism and distribution of *HLA-A*02* subtypes in non-cancer population of nasopharyngeal carcinoma high incidence rates area in Southern China TANG Minzhong^{1,2}, LI Jun², CAI Yonglin², ZHENG Yuming², LI-AO Jian³, Stephen J. O'Brien⁴, ZENG Yi^{1,5}. Corresponding author: ZENG Yi^{1,5}. 1. College of Life Science and Bio-engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Key Laboratory for Nasopharyngeal Carcinoma Etiology and Molecular Mechanism, Wuzhou Red Cross Hospital; 3. Department of Epidemiology, Cangwu Institute for Nasopharyngeal Carcinoma Control and Prevention; 4. National Cancer Institute at the National Institutes of Health, USA; 5. State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention

^{*} 基金项目:National Cancer Institute, NIH, USA Grant (N01-CO-12400)、广西科技计划项目 (114003A-49)、梧州市科技计划项目 (201102062);△通信作者:曾毅 (1929.3~),男,中国科学院院士,研究员,教授,博士研究生导师,现主要从事肿瘤及艾滋病的预防与诊断研究,电话:010-63519366, Email: zengyi@public.bta.net.cn

Abstract: Objective To explore the molecular polymorphism and the distribution of *HLA-A*02* in the region of high nasopharyngeal carcinoma incidence rates of Southern China. **Methods** *HLA-A* alleles were characterized using PCR-SSOP(sequence-specific oligonucleotide probe) typing protocol for 342 non-cancer controls from the region of high nasopharyn-

[3] Nakamura K, Amakawa R, Takebayashi M, et al. IL-4-producing CD8(+) T cells may be an immunological hall2mark of chronic GVHD. Bone Marrow Transplant, 2005, 36(7): 639-647.

[4] Lin Y, Hogan WJ. Clinical application of mesenchymal stem cells in the treatment and prevention of graft-versus-host disease. Advances in Hematology, 2011: 427863.

[5] De Schauwer C, Meyer E, Van de Walle GR, et al. Markers of stemness in equine mesenchymal stem cells: a plea for uniformity. Therogenology, 2011, 75(8): 1431-1443.

[6] Horwitz ME, Sullivan KM. Chronic graft-versus-host disease. Blood Recievs, 2006, 20(1): 15-27.

[7] Cutler C, Antin JH. Peripheral blood stem cell for allogeneic transplantation: a review. Stem Cells, 2001, 19(2): 108-117.

[8] Weng JY, Geng SX, Peng YW, et al. Mesenchymal stem cell as salvage treatment for refractory chronic GVHD. Bone Marrow Transplant, 2010, 45(12): 1732-1740.

[9] 高力, 陈幸华, 张曦, 等. 异基因造血干细胞移植 55 例 GVHD 的临床观察. 重庆医学, 2007, 17(36): 1722-1724.

[10] Bucher CM, Passweg JR. Towards rational graft-versus-host disease prophylaxis. Haematologica, 2012, 97(12): 1779-1780.

[11] Klyushnenkova E, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells suppress allergenic T cell responses in vitro: implications for allergenic transplantation. Blood, 1998, 92(suppl 1): 2652.

[12] Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular of nonspecific mitogenic stimuli. Blood, 2002, 99(10): 3838-3843.

(2013-02-26 收稿, 04-20 修回)

本文编辑: 闻欣