

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.14.021

文章编号: 1005-8982(2017)14-0099-04

造血干细胞移植治疗恶性淋巴瘤的临床疗效

陈如寿¹, 李日彩², 陈琰², 钟佳芳¹

(海南省第三人民医院 1. 检验科, 2. 肿瘤科, 海南 三亚 572000)

摘要: 目的 评价大剂量化疗联合自体造血干细胞移植治疗高危恶性淋巴瘤序贯白介素 2 生物治疗的效果。**方法** 分析 20 例高危、复发难治恶性淋巴瘤患者行自体造血干细胞移植前后免疫功能的变化。治疗组加用白介素 2 治疗后检测其免疫功能前后变化, 并对治疗、对照组患者进行生存时间分析。**结果** 治疗组移植后 6 个月 CD4⁺ 水平值为(24.29 ± 3.64), 高于对照组(20.23 ± 2.14); CD4/CD8 为(0.56 ± 0.35)高于对照组(0.30 ± 0.11), 自然杀伤细胞水平(17.46 ± 10.20)高于对照组(14.41 ± 8.10), 组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 移植后加用白介素 2 免疫治疗, 能有效改善移植患者免疫功能, 延长患者生存时间。

关键词: 恶性淋巴瘤; 自体造血干细胞移植; 白介素 2

中图分类号: R733.1

文献标识码: A

Clinical efficacy of hematopoietic stem cell transplantation in treatment of malignant lymphoma

Ru-shou Chen¹, Ri-cai Li², Long Chen², Jia-fang Zhong¹

(1. Clinical Laboratory, 2. Department of Oncology, the Third People's Hospital of Hainan Province, Sanya, Hainan 572000, China)

Abstract: Objective To evaluate the effect of sequential IL-2 biological treatment on high-risk malignant lymphoma after high-dose radiochemotherapy combined with autologous hematopoietic stem cell transplantation. **Methods** The changes of immune function before and after autologous hematopoietic stem cell transplantation were analyzed in 20 cases of high-risk, relapsed and refractory malignant lymphoma patients. The immune function was detected before and after additional IL-2 treatment in the treatment group, and the survival time was analyzed in both treatment and control groups. **Results** Six months after transplantation, the CD4⁺ cell level in the treatment group (24.29 ± 3.64) was higher than that in the control group (20.23 ± 2.14), CD4⁺/CD8⁺ of the treatment group (0.56 ± 0.35) was higher than that of the control group (0.30 ± 0.11), the NK cell level of the treatment group (17.46 ± 10.20) was higher than that of the control group (14.41 ± 8.10), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** After autologous hematopoietic stem cell transplantation, IL-2 immune therapy can significantly improve the immune function of the patients with high-risk malignant lymphoma, and prolong their survival time.

Keywords: malignant lymphoma; autologous hematopoietic stem cell transplantation; interleukin-2

对于高危淋巴瘤或难治复发淋巴瘤来说,大剂量化疗联合自体造血干细胞移植是一种有效的治疗方法,和传统化疗相比,无病生存率、总生存率有较大的提高^[1-2]。但是移植后患者免疫功能受到抑制,部分患者免疫功能长期低下,导致本病复发。选

取 2007~2013 年于海南省第三人民医院血液科高危、难治复发的恶性淋巴瘤患者,大剂量化疗后行自体造血干细胞移植,监测移植前后患者免疫功能变化规律,及加用白介素 2 生物治疗前后免疫功能的变化,观察其生存期,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2007 年 1 月 -2013 年 5 月于本院确诊的高危组恶性淋巴瘤患者 20 例。其中,男性 16 例,女性 4 例;中位年龄 43 岁(11 ~ 57 岁);弥漫大 B 细胞淋巴瘤 14 例,T 淋巴瘤母细胞淋巴瘤 3 例,Burkitt 淋巴瘤 1 例,间变大细胞淋巴瘤 1 例,滤泡淋巴瘤 III 级 1 例。霍奇金病分期属 III 期或 IV 期,淋巴瘤国际预后指数(lymphoma international prognostic index, IPI)评分 > 2 分的高危组患者,骨髓侵犯 3 例,其中复发难治恶性淋巴瘤 2 例。移植前采用环磷酰胺(浙江海正药业有限公司)、阿霉素(上海罗氏药业有限公司)、长春新碱(深圳万乐药业有限公司)及强的松(台州市仙琚制药股份有限公司),环磷酰胺 + 美司钠 + 长春新碱 + 多柔比星 + 地塞米松等方案化疗 > 3 次,移植前 16 例完全缓解(complete remission, CR),4 例部分缓解(partial remission, PR)。将 20 例患者按照随机数字表法分为治疗组和对照组,每组 10 例患者。对照组采用大剂量放化疗后的自体造血干细胞移植术,治疗组在对照组基础上加用白介素 2(北京四环生物制药有限公司)生物治疗。治疗组患者年龄 11 ~ 55 岁,平均(44.76 ± 8.93)岁,其中男性 7 例,女性 3 例;Ann Arbor 分期中 III 期 4 例,IV 期 6 例。对照组患者年龄 13 ~ 57 岁,平均(45.92 ± 9.34)岁;其中男性 5 例,女性 5 例,Ann Arbor 分期中 III 期 5 例,IV 期 5 例。两组患者在年龄、性别及病情分类等基础资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 干细胞动员采集

重组人粒细胞集落刺激因子(colony stimulating factor, G-CSF)(日本协和发酵麒麟制药有限公司),化疗方案采用环磷酰胺、阿霉素、长春新碱及强的松,化疗后外周血白细胞降至最低点时皮下注射 G-CSF, 5 ug/kg, 1 次 /d, 连用 5 d, 至外周血白细胞上升至 $> 5.0 \times 10^9/L$ 时开始采集干细胞,用 CS-3000 plus 血细胞分离机(美国 Baxter 公司)分离自体外周血造血干细胞。自体外周血干细胞的采集 1 ~ 2 次,要求单个核细胞(mononuclear cell, MNC)数量 $\geq 3.0 \times 10^9/kg$ 。将采集的自体干细胞加冷冻保护剂置于 $-80^\circ C$ 冰箱冷冻保存。

1.3 预处理方案及干细胞回输

有 14 例患者采用相应的化疗方案预处理,具体为司莫司汀 $300 mg/m^2$, 顿服, 1 次 /6 周;依托泊苷

$200 mg/m^2$, 连续给药 3 d, 每隔 3 周重复用药;阿糖胞苷 $200 mg/m^2$, 12 h / 次, 连续用药 2 ~ 6 d; 马法兰 $140 mg/m^2$, 1 次 /d, 共 4 d, 间隔 6 周重复给药。有 6 例患者采用总胆红素加环磷酰胺方案, 总胆红素剂量 12 GY, 环磷酰胺 $60 mg/kg/d$, 1 次 / 周, 连续给药 2 周后停药 2 周再重复给药。

1.4 白介素 2 的治疗

有 10 例患者在行自体造血干细胞移植 1 个月达到稳定造血重建后开始序贯白介素 2 治疗, 剂量 100 万 u/(d·次) 静脉滴注, 连续 2 周。以后每 2 ~ 3 个月 1 次, 维持 1 ~ 2 年。

1.5 T 淋巴细胞亚群的检测

取患者外周静脉血 2ml, 用乙二胺四乙酸(长沙中国国药集团)抗凝, 充分混匀后采用美国雅培公司提供 CD3、CD4 及 CD8 单克隆细胞自动检测仪进行检测。各指标的正常值水平为 CD3 60% ~ 80%、CD4 35% ~ 55%、CD8 20% ~ 30%、CD4/CD8 1.4 ~ 2.0。

1.6 统计学方法

数据处理采用 SPSS 17.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 做重复测量的方差分析; 计数资料以率表示, 用 Fisher 确切概率法比较, Kaplan-Meier 法制作生存分析曲线, 比较用 Log-Rank χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造血干细胞采集数量

20 例患者采集的 MNC 中位数为 $5.8 \times 10^8/kg$ ($3.08 \times 10^8 \sim 10.27 \times 10^8/kg$), CD34⁺ 细胞中位数为 $11.08 \times 10^6/kg$ ($9.0 \times 10^6 \sim 43.0 \times 10^6/kg$)。

2.2 造血重建时间

20 例患者均移植成功, 顺利出仓, 造血重建时间平均为 12.1 d (7 ~ 25 d)。无移植相关死亡发生。

2.3 两组患者疗效比较

在中位随访期 20 个月(13 ~ 84 个月)后, 治疗组患者 CR 7 例(70%)、PR 2 例(20%)、复发 1 例(10%), 死亡 0 例(0%), 总有效率为 90%; 对照组患者中 CR 3 例(30%)、PR 1 例(10%), 复发 2 例(20%), 死亡 4 例(40%)(1 例弥漫大 B 细胞淋巴瘤 IV 期移植后 4 个月, 本病复发导致死亡; 1 例弥漫大 B 细胞淋巴瘤 III 期移植后 8 个月死于复发伴感染; 2 例 T 淋巴瘤母细胞淋巴瘤 IV 期分别于移植后 6、8 个月死于本病复发), 总有效率为 40%, 组间比较, 经

Fisher 确切概率法,差异有统计学意义($P=0.027$)。

2.4 移植前后患者免疫功能变化

治疗组和对照组患者移植后免疫功能的变化进行比较,采用重复测量数据的方差分析,结果显示:①不同时间患者的免疫功能 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4/CD8$ 及自然杀伤细胞(natural killer cell,NK)比较,差异有统计学意义($F=9.902$ 、 8.765 、 8.017 、 11.233 和 7.162 , $P=0.000$);②治疗组免疫功能与对照组比较,差异有统计学意义($F=11.072$ 、 18.263 、 21.009 、 9.236

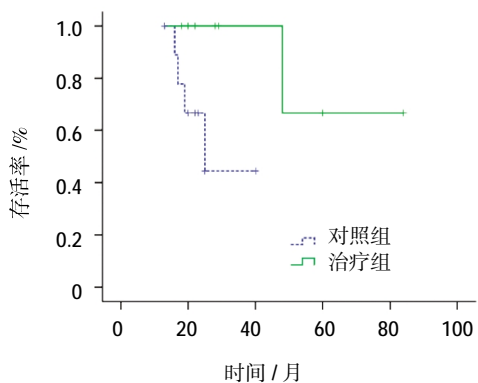
和 15.16428 , $P=0.000$);③治疗组免疫功能的变化趋势与对照组比较,差异有统计学意义($F=8.923$ 、 10.286 、 15.954 、 17.239 和 13.578 , $P=0.000$)。见附表。

2.5 生存分析结果

除 4 例死亡患者,2 例复发患者,其余患者已无病存活 8~80 个月,中位生存期为 26 个月。采用 Kaplan-Meier 法制作生存分析曲线,加用白介素 2 治疗组生存时间与未行白介素 2 生物治疗组比较,差异有统计学意义($\chi^2=4.238$, $P=0.035$)。见附图。

附表 两组患者移植前后患者免疫功能变化 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别		CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8	NK
治疗组	移植前	79.43 ± 13.17	37.05 ± 10.05	36.88 ± 8.58	1.07 ± 0.43	14.56 ± 10.53
	移植后 1 个月	75.90 ± 6.32	15.96 ± 3.27	54.32 ± 7.36	0.29 ± 0.16	10.19 ± 7.60
	移植后 3 个月	76.97 ± 6.83	21.58 ± 3.41	57.20 ± 3.67	0.40 ± 0.16	11.36 ± 2.02
	移植后 6 个月	75.09 ± 5.29	24.29 ± 3.64	50.44 ± 5.75	0.56 ± 0.35	17.46 ± 10.20
对照组	移植前	80.13 ± 14.07	37.45 ± 10.56	37.48 ± 9.03	1.06 ± 0.41	15.57 ± 11.53
	移植后 1 个月	70.02 ± 11.02	12.56 ± 2.67	48.02 ± 6.36	0.20 ± 0.11	8.10 ± 5.63
	移植后 3 个月	70.23 ± 5.13	18.18 ± 3.21	52.20 ± 2.12	0.27 ± 0.09	9.42 ± 1.13
	移植后 6 个月	70.11 ± 4.20	20.23 ± 2.14	45.44 ± 2.15	0.30 ± 0.11	14.41 ± 8.10



附图 生存曲线图

3 讨论

如何提高高危、复发难治恶性淋巴瘤的治疗效果,一直是研究重点。对于高危恶性淋巴瘤常规化疗 CR 率大约为 40%,5 年总生存率为 26%左右。大剂量放化疗联合自体造血干细胞移植对高危患者,特别是复发难治淋巴瘤是一种有效的方法^[9]。自体造血干细胞移植较异基因造血干细胞移植有不受来源限制、造血重建快及无排异反应等优点,但由于缺乏移植抗肿瘤效应,复发患者较多,如何减少自体造血干细胞移植后的复发,显得尤为重要^[4]。

ARRUDA 等^[9]研究认为,自体造血干细胞移植

后 T 细胞亚群($CD3$ 、 $CD4$ 及 $CD8$)数量和功能恢复要 ≥ 1 年,B 细胞恢复要 18 个月,移植后早期 $CD4/CD8$ 严重倒置。长期存在介导抗肿瘤免疫的 Th1 型淋巴细胞数量的低下、 $CD4/CD8$ 的失衡,会导致肿瘤复发可能^[6]。移植后早期调节 T 和 B 细胞无法清除残留肿瘤病灶,而自然杀伤细胞在移植后恢复最快,一般于移植后 1 个月即恢复正常。在移植后早期,机体免疫系统的抗肿瘤效应主要依靠 NK 细胞。白介素 2 本身有促进活化的 T、B 淋巴细胞增殖和分化的作用,且能在体内外增加 NK 细胞活性,通过其免疫共刺激作用发挥抗肿瘤作用^[7]。近年来,多项研究证实白介素 2 在自体或 allo-HSCT 中促进 NK 细胞活性^[8]。GIUSEPPINA 等^[9]研究急性淋巴瘤行 allo-HSCT 后,低剂量白介素 -2 维持治疗预防疾病复发的结果,发现 allo-HSCT 术后第 100 天开始长期皮下注射白介素 2 维持可有效预防疾病复发。

笔者医院从 2007 年 1 月-2013 年 5 月对 20 例高危、难治复发的恶性淋巴瘤患者行大剂量放化疗联合自体造血干细胞移植,治疗组随访 1~5 年处于 CR8 例,PR1 例,总有效率 90%,移植前后免疫功能检测发现移植后患者外周血 T 细胞亚群 $CD3^+$ 细胞数,尤其是 $CD4^+$ 细胞数, $CD4/CD8$ 水平下降,至移植后 6 个月患者 $CD4/CD8$ 比值仍倒置,说明移植后

患者处于免疫功能缺陷状态。笔者对移植后的 1 个月达到稳定造血重建的部分患者,给予中等剂量的白介素 2 免疫治疗,加用白介素 2 的治疗组患者移植后外周血 T 细胞亚群 CD4⁺ 细胞数,CD4/CD8 水平, NK 细胞数均较对照组上升,说明加用白介素 2 治疗组患者细胞免疫功能得到提升。治疗组复发 2 例,复发率为 20%,死亡 1 例,中位生存期为 28 个月(14~84 个月);对照组复发 4 例,复发率为 40%,其中 3 例死亡,中位生存期 24.5 个月(13~43 个月)。

蔡坤等^[10]采用大剂量白介素 2 治疗自体造血干细胞移植后的恶性淋巴瘤患者,200~400 IU/d 静脉滴注,持续 3~4 周一疗程,发现能提高患者免疫功能,延长患者生存期,和笔者观察的一致。但大剂量白介素 2 应用可能会出现毛细血管渗漏综合征、低血压、水肿及呼吸困难等副反应,笔者选用中剂量白介素 2 100 IU/d 静脉滴注治疗,2 周 1 疗程,无不良反应,仅个别患者有低热,都能耐受,且疗效肯定,达到提高免疫功能的作用,移植后细菌、病毒感染发生率低,治疗组患者复发率小于对照组^[11]。因此,针对恶性淋巴瘤自体造血干细胞移植后第 1 年的高复发率,在移植后给予白介素 2 作为免疫调节剂可能会根除或控制微小残留病^[12]。

自体造血干细胞移植后免疫重建及时恢复,有利于清除残留的肿瘤细胞,防止复发,延长缓解期和无病生存期。由于病例数较少,随访期较短,尚需要积累更多病例观察白介素 2 应用后免疫功能指标的改善对移植后患者生存期的影响。随着特异性瘤苗、细胞因子和基因治疗的发展将会进一步减少自体造血干细胞移植后淋巴瘤的复发。

参 考 文 献:

- [1] 刘鹏,石远凯,何小慧,等.序贯高剂量化疗联合自体造血干细胞移植治疗复发耐药的腹腔原发卵黄囊瘤 1 例并文献复习[J].中国肿瘤临床,2015,42(1):32-33.
- [2] SHAH N, SHI Q, WILLIAMS L A, et al. Higher stem cell dose infusion after intensive chemotherapy does not improve symptom burden in older patients with multiple myeloma and amyloidosis[J]. *Biology of Blood & Marrow Transplantation Journal of the American Society for Blood & Marrow Transplantation*, 2015, 22(2): 226-231.
- [3] BUCHHOLZ T A, TUCKER S L, MOORE R A, et al. Importance of radiation therapy for high-risk breast cancer patients treated with high-dose chemotherapy and stem cell transplantation[J]. *Archives of Medical Science*, 2015, 12(5): 1000-1007.
- [4] ABDEL-AZIM H, MAHADEO K M, QUAN Z, et al. Unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of non-malignant genetic diseases: An alemtuzumab based regimen is associated with cure of clinical disease; earlier clearance of alemtuzumab may be associated with graft rejection[J]. *American Journal of Hematology*, 2015, 90(11): 1021-1026.
- [5] ARRUDA L C, CLAVE E, MOINS-TEISSERENC H, et al. Setting the immune response after autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases[J]. *Current Research in Translational Medicine*, 2016, 64(2): 107-113.
- [6] VANDERSON R. Umbilical cord blood cells from unrelated donor as an alternative source of hematopoietic cells for transplantation in children and adults[J]. *Seminars in Hematology*, 2016, 53(4): 237-245.
- [7] NIERKENS S, LANKESTER A C, EGELER R M, et al. Challenges in the harmonization of immune monitoring studies and trial design for cell-based therapies in the context of hematopoietic cell transplantation for pediatric cancer patients[J]. *Cytherapy*, 2015, 17(12): 1667-1674.
- [8] LOCATELLI F, MASETTI R, RONDELLI R, et al. Outcome of children with high-risk acute myeloid leukemia given autologous or allogeneic hematopoietic cell transplantation in the AIEOP AML-2002/01 study[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2015, 50(2): 181-188.
- [9] GIUSEPPINA L P, STEFANO D C, MAURO M, et al. Specific removal of alloreactive T-cells to prevent GvHD in hematopoietic stem cell transplantation: rationale, strategies and perspectives[J]. *Blood Reviews*, 2016, 30(4): 297-307.
- [10] 蔡坤,王昭前,庞海云.自体造血干细胞移植对恶性淋巴瘤患者血清微量元素及乳酸脱氢酶活性的影响研究[J].中国生化药物杂志,2015,35(8):83-85.
- [11] TOMATSU S, SAWAMOTO K, ALMÉCIGADÍAZ C J, et al. Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation in patients with morquio a syndrome[J]. *Drug Design Development & Therapy*, 2015, 9(2): 1937-1953.
- [12] ANTOS S, MICHAEL P. Autologous mesenchymal stromal cells as a therapeutic in ALS and epilepsy patients: Treatment modalities and ex vivo neural differentiation[J]. *Cytherapy*, 2016, 18(10): 1245-1255.

(李科 编辑)