



格列卫治疗慢性粒细胞白血病Ph染色体转阴后进行自体外周血干细胞移植的结果

作者报告2例应用格列卫(STI 571)治疗慢性粒细胞白血病(CML)Ph染色体转阴后自体外周血造血干细胞移植的初步结果。

1 资料与方法

1.1 病例

2例患者均为男性,年龄分别为33岁和46岁。初诊时脾大平脐,外周血WBC $150\sim 210\times 10^9/L$ 、Hb $120\text{ g}\sim 100\text{ g}/L$ 、Plt $500\sim 603\times 10^9/L$ 。中、晚幼粒细胞 $15\%\sim 36\%$,中性粒细胞碱性磷酸酶阴性,骨髓增生极度活跃,中、晚幼粒细胞增生为主,诊断为CML慢性期(CML-CP)。

应用羟基脲治疗WBC达到正常水平后,以IFN- α 300万 \sim 500万单位皮下注射,隔日1次,间断加用羟基脲0.5 g,1次/d,治疗疗程至第7和8个月期间血液学持续缓解,中性粒细胞碱性磷酸酶正常,细胞培养法检查染色体(观察分裂像细胞20 \sim 40个)和荧光原位杂交技术检测间期细胞(I-FISH)bcr/abl融合基因[1](bcr/abl融合基因探针为双色双融合,购于vysis公司,每次观测间期细胞500个),Ph染色体阳性细胞和bcr/abl融合基因阳性细胞分别为90%和96%,此后停用IFN- α 和羟基脲,改用格列卫0.3 \sim 0.4 g口服,1次/d,疗程满3个月时复查染色体和I-FISH,Ph染色体和bcr/abl融合基因均为阴性,继续以格列卫分别治疗2和3个月,复查Ph染色体和I-FISH 2次仍然全部阴性。

1.2 外周血造血干细胞动员和骨髓细胞激活

1.2.1 动员方案 2例患者分别在格列卫治疗第168天和130天时停用格列卫并开始动员外周血干细胞。动员方案为:d1应用环磷酰胺(CTX)1.0 g,d1 \sim 3应用阿糖胞苷2.0 g/d和足叶乙甙(VP16)0.2 g/d,均静脉输注,2例分别在化疗后第7和第8天WBC $<1.0\times 10^9/L$ 时开始应用惠尔血(G-CSF)300 $\mu\text{g}/\text{d}$,皮下注射5 d和6 d,当WBC达到 $(11.6\sim 14.9)\times 10^9/L$ 时应用CS3000 Pluse采集外周血单个核细胞1次(循环血量10和12 L),液氮保存待用。

1.2.2 产品分析 单个核细胞占98 \sim 99%,流式细胞术分析CD34 $^+$ 细胞分别占0.91%和1.04%,比分离前增加1.0和2.5倍,CD34 $^+$ /CD38 $^-$ 细胞分别占CD34 $^+$ 细胞的20.66%和30.7%。粒单系集落形成单位(CFU-GM)平均为 $144\pm 20/2\times 10^5$ 个细胞。产品经miniMAC分选富集CD34 $^+$ 细胞[2],获得CD34 $^+$ 细胞纯度分别为83%和93%,将动员后的产品和富集的CD34 $^+$ 细胞分别应用I-FISH技术检测bcr/abl融合基因,纯化前bcr/abl融合基因阳性细胞分别为3%和4%,纯化后阳性率分别上升为14%和11%。

1.2.3 骨髓细胞激活 预处理前在局部麻醉下抽取患者骨髓血500 ml,分离单个核细胞后按以往常用的方法与IL-2混合,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、含5%二氧化碳的孵箱中培养72 h[3],最终所得骨髓单个核细胞分别为 $0.54\times 10^8/\text{kg}\cdot\text{b.w.}$ 和 $1.39\times 10^8/\text{kg}\cdot\text{b.w.}$ 。

1.3 移植方案

1.3.1 预处理方案 动员后分别于第3和第4周开始预处理,期间停用格列卫。-3 d全身照射(TBI)9 Gy,分2次照射,于-3、-2 d每天静脉滴注CTX 60 mg/kg·b.w.和VP16 300 mg,0 d回输液氮冻存的外周血干细胞和IL-2激活的骨髓细胞,输注的单个核细胞(MNC)分别为 $4.17 \times 10^8/\text{kg} \cdot \text{b.w.}$ 和 $3.9 \times 10^8/\text{kg} \cdot \text{b.w.}$,CD34⁺细胞分别为4.89和 $4.8 \times 10^6/\text{kg} \cdot \text{b.w.}$ 。

1.3.2 移植后治疗 2例患者均在-1 d~+14 d每天应用CsA 2 mg/kg·b.w.联合皮下注射IL-2 100万U/d诱导移植物抗宿主病,+3 d~+12 d皮下注射G-CSF 300 μg/d,血小板严重减少者输注血小板悬液。造血恢复后口服百仕欣30 mg/d治疗,其中1例在移植后5个月加用格列卫400 mg/d治疗3个月。

1.3.3 移植后监测 定期检测血常规、肝、肾功能,每3个月复查骨髓细胞分类和染色体及I-FISH检测bcr/abl融合基因,并记录不良反应。

2 结果

2.1 造血重建

移植后中性粒细胞绝对值(ANC) $>0.5 \times 10^9/\text{L}$ 分别需要12和10 d,血小板 $>20 \times 10^9/\text{L}$ 分别需要21和19 d,其中1例在移植后第5个月血小板才恢复至 $60 \times 10^9/\text{L}$,未见有移植物抗宿主病(GVHD)样表现,1例发生细菌感染被抗生素治愈,肝肾功能均正常。

2.2 随访

造血重建后每1~2周检查血常规1次,每3个月复查染色体和I-FISH检测bcr/abl融合基因,2例在移植后300 d和120 d bcr/abl阳性细胞分别为40%和20%,其中1例WBC $10 \times 10^9/\text{L}$,无自觉症状,肝脾不大。应用IFN-α治疗;另1例每日口服格列卫0.5~0.6 g治疗2月余。目前2例患者血液学仍然持续缓解。

3 讨论

应用化学药物治疗CML容易取得血液学缓解,在其后进行自体外周血造血干细胞移植的白血病复发率很高,其主要原因是移植物中残留较多的Ph阳性克隆细胞没能清除。格列卫是2001年5月研发上市的基因靶向药物,临床治疗3个月能使CML-CP患者的Ph染色体转阴率高达68%[4]<HZ[5]>,明显优于目前应用的其他药物,但长期应用易产生耐药,停药后又又有白血病复发的危险。因此我们设想在Ph染色体转阴后进行移植治疗,有可能进一步消灭残留白血病细胞,解决格列卫长期治疗带来的问题,类似的研究目前尚未见报告。

本组2例研究的初步结果显示,尽管在外周干细胞动员前多次检查染色体和I-FISH检测bcr/abl融合基因阴性,但在移植后仍有复发,分析其主要原因仍然是残留白血病细胞所致。本研究CD34⁺细胞纯化前后的结果显示,纯化后的CD34⁺细胞I-FISH检测bcr/abl融合基因平均阳性率比纯化前和动员前明显增高(12.5%:3.5%:0),进一步证明CD34⁺造血干细胞含有Ph阳性克隆的成份,是慢性粒细胞白血病多系受累的关键机制。此类细胞处于非增殖期、对放疗不敏感,难以清除,常常是白血病复发的根源。又因Ph阳性细胞含量少,用染色体和I-FISH技术检测不敏感,通过动员富集CD34⁺细胞能够提高其检出率,但技术过程复杂,用于前瞻性诊断还不实际。应用定量PCR技术检测bcr/abl融合基因能够提高敏感性,有助于指导选择进行自体干细胞移植的最佳时机。格列卫对造血干细胞生物学行为的影响还在研究中,尤其对干细胞移植后造血重建的影响研究报告较少。本研究的初步结果显示,用格列卫治疗半年左右时进行外周血干细胞动员的效率及其在移植后造血重建时间均无影响,用格列卫治疗后的患者可以按常规方法进行干细胞移植治疗。

(责任编辑:段咏慧)

参考文献:

[1] 杜庆锋,周淑芸,刘晓力,等.应用间期荧光原位杂交技术检测慢性髓系白血病患者的肿瘤负荷[J].癌症,2003,22(6):612~5.

Du QF, Zhou SY, Liu XL, et al. Application of interphase fluorescence in situ hybridization for determination of the tumor load in chronic myeloid leukemia[J]. Chin J Cancer, 2003, 22(6): 612-5.

[2] 林芸, 孟凡义, 杨艺, 等. 免疫磁珠纯化小鼠CD34⁺造血干细胞[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(12): 908-11.

Lin Y, Meng FY, Yang Yi, et al. Purification of murine CD34⁺ hematopoietic stem cells using immunomagnetic beads[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(12): 908-11.

[3] 刘启发, 周淑芸, 伍柏松, 等. 激活骨髓自体移植治疗白血病和淋巴瘤的疗效分析[J]. 中华内科杂志, 2000, 39(8): 524.

Liu QF, Zhou SY, Wu BS, et al. Autologous transplantation with recombinant interleukin-2 activated bone marrow for leukemia and lymphoma: an analysis of factors influencing the effect[J]. Chin J Intern Med, 2003, 39(8): 524.

[4] Kantarjian HM, Cortes JEO, Brien S, et al. Imatinib mesylate therapy in newly diagnosed patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia: high incidence of early complete and major cytogenetic response[J]. Blood, 2003, 101(1): 97-100.

孟凡义, 郑维扬, 刘晓力, 等. ST1 571 治疗慢性粒细胞白血病的初步观察[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(12): 908-11.

Meng FY, Zheng WY, Liu XL, et al. ST1 571 for treating 19 patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(12): 908-11.

参考文献:

[1] 杜庆锋, 周淑芸, 刘晓力, 等. 应用间期荧光原位杂交技术检测慢性髓系白血病患者的肿瘤负荷[J]. 癌症, 2003, 22(6): 612~5.

Du QF, Zhou SY, Liu XL, et al. Application of interphase fluorescence in situ hybridization for determination of the tumor load in chronic myeloid leukemia[J]. Chin J Cancer, 2003, 22(6): 612-5.

[2] 林芸, 孟凡义, 杨艺, 等. 免疫磁珠纯化小鼠CD34⁺造血干细胞[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(12): 908-11.

Lin Y, Meng FY, Yang Yi, et al. Purification of murine CD34⁺ hematopoietic stem cells using immunomagnetic beads[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(12): 908-11.

[3] 刘启发, 周淑芸, 伍柏松, 等. 激活骨髓自体移植治疗白血病和淋巴瘤的疗效分析[J]. 中华内科杂志, 2000, 39(8): 524.

Liu QF, Zhou SY, Wu BS, et al. Autologous transplantation with recombinant interleukin-2 activated bone marrow for leukemia and lymphoma: an analysis of factors influencing the effect[J]. Chin J Intern Med, 2003, 39(8): 524.

[4] Kantarjian HM, Cortes JEO, Brien S, et al. Imatinib mesylate therapy in newly diagnosed patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia: high incidence of early complete and major cytogenetic response[J]. Blood, 2003, 101(1): 97-100.

孟凡义, 郑维扬, 刘晓力, 等. ST1 571 治疗慢性粒细胞白血病的初步观察[J]. 第一军医大学学报,

2001, 21(12): 908-11.

Meng FY, Zheng WY, Liu XL, et al. ST1 571 for treating 19 patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(12): 908-11.

[回结果列表](#)